

ELISA HELENA DA COSTA

**ANÁLISE MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM ABACAXI POR
CG/DCE**

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
2010**

ELISA HELENA DA COSTA

**ANÁLISE MULTIRRESÍDUO DE
AGROTÓXICOS EM ABACAXI POR CG/DCE**

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: 10 de fevereiro de 2010

Prof. César Reis

Prof. Leonardo Luiz Okumura

Prof. Antônio Augusto Neves
(Co-orientador)

Prof. Laércio Zambolim
(Co-orientador)

Prof^a. Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz
(Orientadora)

*A Deus,
Aos meus pais José Maria e Aparecida,
A minha irmã Érika,
Ao Paulo Henrique,*

*Pelo amor e apoio incondicionais,
dedico este trabalho.*

AGRADECIMENTOS

Expresso meus agradecimentos a todos aqueles que de alguma forma, colaboraram com a realização do presente estudo.

A Deus, que em todos os momentos me fez sentir a sua presença, e por tudo que Ele tem me proporcionado.

A meus pais, José Maria e Aparecida, que mesmo distantes sempre foram presença viva nos momentos felizes e de dificuldades. Obrigada por todo amor e incentivo.

À minha irmã Érika pela convivência e amizade.

Ao Paulo Henrique, meu melhor amigo e marido, que em todos os momentos me apoiou e me deu forças para a realização deste trabalho.

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

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

Em especial, aos professores Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz e Antônio Augusto Neves, pelos ensinamentos transmitidos, incentivo, pela dedicada orientação e, sobretudo, pela eterna amizade.

Ao Ricardo, pela disposição em me ajudar e pela amizade.

Aos amigos Eder, Franck, Guilherme, Juliana, Lidiane, Michelly, Roselaine e Viviane que estiveram presentes nesta fase da minha vida.

A todos os amigos do laboratório de química analítica - LAQUA: Adrianna, Alessandra, Anna Isabel, Armanda, Bárbara Diniz, Bárbara Sábado, Carlos, Carolina, Cláudia, Elenice, Fernanda, Flaviane, Guilherme, Iara, Juliana, Laércio, Lívia, Luciana, Luiz Manoel, Renata, Simone Goulart, Simone Mairink, Soraia e Tamires, que direta ou indiretamente, contribuíram de forma positiva para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

ELISA HELENA DA COSTA, filha de José Maria Veríssimo da Costa e Aparecida da Silva Costa, nasceu em Barbacena, Minas Gerais, em 24 de fevereiro de 1984.

Em março de 2004, iniciou o curso de Graduação em Química pela Universidade Federal de Viçosa, diplomando-se como licenciada em julho de 2008. Em agosto deste mesmo ano, iniciou o curso de Pós-Graduação em Agroquímica, em nível de mestrado, submetendo-se à defesa de dissertação em fevereiro de 2010.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	ix
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xiii
RESUMO	xviii
ABSTRACT	xx
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Agrotóxicos	3
2.2. Resíduos de agrotóxicos e o meio ambiente	6
2.3. Cultura de abacaxi	8
2.4. Controle de ervas daninhas, insetos e pragas no cultivo do abacaxi...	10
2.5. Técnicas de extração de multirresíduos.....	13
2.6. Técnicas de análise multirresíduo.....	16
2.7. Validação de um método analítico	17
2.7.1. Seletividade	17
2.7.2. Linearidade de resposta do método	18
2.7.3. Limite de detecção e limite de quantificação	18
2.7.4. Exatidão	19
2.7.5. Precisão	19
2.7.5.1. Repetitividade	20
2.7.5.2. Precisão intermediária	20
2.8. Efeito de matriz	20
3. OBJETIVOS.....	23
3.1. Objetivos gerais	23
3.2. Objetivos específicos	23

4. MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1. Extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura.....	25
4.1.1. Preparo de soluções-padrão	25
4.1.2. Amostras de abacaxi	26
4.1.3. Extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT)	26
4.1.3.1. Preparo e fortificação das amostras de abacaxi	26
4.1.3.2. Extração dos agrotóxicos em abacaxi.....	26
4.1.4. Otimização da técnica extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura.....	27
4.1.4.1. Determinação da massa de abacaxi	28
4.1.4.2. Avaliação da eficiência de adsorventes no <i>clean up</i> dos extratos	28
4.1.4.3. Determinação da massa de adsorvente no <i>clean up</i> dos extratos	29
4.1.4.4. Avaliação da mistura extratora ideal	29
4.1.4.5. Avaliação do modo e tempo de homogeneização da amostra com a mistura extratora	31
4.1.4.6. Avaliação do efeito da força iônica	31
4.1.5. Validação do método analítico.....	31
4.1.5.1. Seletividade	32
4.1.5.2. Linearidade de resposta do método.....	32
4.1.5.3. Limite de detecção e limite de quantificação.....	33
4.1.5.4. Exatidão	33
4.1.5.5. Precisão	33
4.1.5.5.1. Repetitividade.....	33
4.1.5.5.2. Precisão intermediária.....	34
4.1.6. Influência dos componentes do abacaxi na quantificação dos agrotóxicos por cromatografia gasosa.....	34
4.1.7. Aplicação da técnica ESL-PBT em amostras de abacaxi.....	35
4.2. Dispersão de matriz em fase sólida	35
4.2.1. Preparo de soluções-padrão	35
4.2.2. Amostras de abacaxi	36
4.2.3. Dispersão de matriz em fase sólida (DMFS)	36
4.2.3.1. Preparo e fortificação das amostras de abacaxi	36

4.2.3.2. Extração dos agrotóxicos em abacaxi.....	37
4.2.4. Otimização da técnica de extração por dispersão de matriz em fase sólida	38
4.2.4.1. Avaliação do adsorvente para a técnica de extração por DMFS ..	38
4.2.4.2. Avaliação do eluente para a técnica de extração por DMFS	38
4.2.4.3. Planejamento fatorial 2 ³	38
4.3. Análise cromatográfica.....	40
4.3.1. Curvas analíticas e linearidade de resposta do detector	40
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1. Análise cromatográfica.....	42
5.1.1. Curvas analíticas e linearidade de resposta do detector	44
5.2. Extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura.....	45
5.2.1. Otimização da técnica extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura.....	45
5.2.1.1. Determinação da massa de abacaxi	46
5.2.1.2. Avaliação da eficiência de adsorventes no <i>clean up</i> dos extratos	47
5.2.1.3. Determinação da massa de adsorvente no <i>clean up</i> dos extratos	51
5.2.1.4. Avaliação da mistura extratora ideal	53
5.2.1.5. Avaliação do modo e tempo de homogeneização da amostra com a mistura extratora	54
5.2.1.6. Avaliação do efeito da força iônica	55
5.2.2. Metodologia otimizada.....	56
5.2.3. Validação do método analítico.....	57
5.2.3.1. Seletividade	57
5.2.3.2. Linearidade de resposta do método.....	58
5.2.3.3. Limite de detecção e limite de quantificação.....	61
5.2.3.4. Exatidão	62
5.2.3.5. Precisão	63
5.2.3.5.1. Repetitividade.....	63
5.2.3.5.2. Precisão intermediária	64
5.2.4. Influência dos componentes do abacaxi na quantificação dos agrotóxicos por cromatografia gasosa.....	65

5.2.4.1. Superposição de matriz	65
5.2.5. Aplicação da técnica ESL-PBT em amostras de abacaxi.....	70
5.3. Dispersão de matriz em fase sólida	70
5.3.1. Otimização da técnica de extração por dispersão de matriz em fase sólida	70
5.3.1.1. Avaliação do adsorvente para a técnica de extração por DMFS ..	70
5.3.1.2. Avaliação do eluente para a técnica de extração por DMFS	72
5.2.1.3. Planejamento fatorial 2^3	73
5.3.2. Metodologia otimizada.....	80
5.4. Comparação das técnicas ESL-PBT e DMFS.....	81
6. CONCLUSÕES.....	83
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85

LISTA DE ABREVIATURAS

AGROFIT - Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

C8 - Octil

C8 - Octadecil

CG/DCE - Cromatografia Gasosa com Detector por Captura de Elétrons

CV - Coeficiente de Variação

DIC - Detector por Ionização em Chama

DMFS - Dispersão de Matriz em Fase Sólida

DV - Desvio-Padrão

EFS - Extração em Fase Sólida

ELL - Extração Líquido-Líquido

ELL-PBT - Extração Líquido-Líquido com Partição em Baixa Temperatura

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EPA - United States Environmental Protection Agency

ESL - Extração Sólido-Líquido

ESL-PBT - Extração Sólido-Líquido com Partição em Baixa Temperatura

EU - European Union

FAO - Food and Agriculture Organisation

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

LAQUA - Laboratório de Química Analítica

LD - Limite de Detecção

LMR - Limite Máximo de Resíduo

LQ - Limite de Quantificação

MEFS - Microextração em Fase Sólida

PARA - Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos

R^2 - Coeficiente de Determinação

R (%) - Porcentagem de Recuperação

t_R - Tempo de Retenção

UV - Ultra-Violeta

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Fatores otimizados empregando a técnica ESL-PBT de agrotóxicos em amostras de abacaxi
- Tabela 2. Limites inferiores e limites superiores de cada solvente da mistura extratora
- Tabela 3. Composição das misturas extratoras empregadas em amostras de abacaxi fortificadas
- Tabela 4. Parâmetros analíticos avaliados para validação do método ESL-PBT em amostras de abacaxi e análise por CG/DCE
- Tabela 5. Planejamento fatorial 2^3 para avaliação de três fatores na recuperação de agrotóxicos em abacaxi usando a técnica de extração por DMFS
- Tabela 6. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) do método para os quatro agrotóxicos estudados
- Tabela 7. Porcentagens de recuperação e coeficientes de variação (CV) obtidos pela análise de extratos obtidos de amostra de abacaxi fortificada com os agrotóxicos em três concentrações diferentes
- Tabela 8. Porcentagens de recuperação e coeficientes de variação (CV) dos sete extratos obtidos de amostras de abacaxi fortificadas com os agrotóxicos

- Tabela 9. Porcentagens de recuperação e coeficientes de variação (CV) obtidos pela análise de extratos de amostra de abacaxi fortificada com os agrotóxicos, em três dias diferentes
- Tabela 10. Coeficientes angulares e coeficientes lineares das curvas analíticas obtidas pela análise de soluções-padrão preparadas em extratos da matriz e em solvente puro
- Tabela 11. Razão entre os coeficientes angulares e razão entre os coeficientes lineares das curvas analíticas obtidas pela análise de soluções-padrão preparadas em extratos da matriz e em solvente puro
- Tabela 12. Porcentagens de recuperação, R (%), e respectivos desvios-padrão, DP, obtidos pela análise de extratos obtidos de amostra de abacaxi fortificada com os agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina, onde se avaliou o adsorvente
- Tabela 13. Porcentagens de recuperação, R (%), e respectivos desvios-padrão, DP, obtidos pela análise de extratos obtidos de amostra de abacaxi fortificada com os agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina, onde se avaliou o eluente
- Tabela 14. Porcentagens de recuperação dos agrotóxicos e desvio-padrão relativo obtidos dos experimentos do planejamento fatorial 2^3 para amostras de abacaxi
- Tabela 15. Porcentagens de recuperação média (\pm erro da média), efeitos de cada fator e das interações entre os fatores (\pm estimativa do erro experimental) na extração de cada um dos agrotóxicos, obtidos nos experimentos do planejamento fatorial 2^3 para amostras de abacaxi
- Tabela 16. Porcentagens de recuperação dos agrotóxicos e seus respectivos desvios-padrão empregando as técnicas ESL-PBT e DMFS

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Estrutura química das s-triazinas.
- Figura 2. Estrutura química dos piretroides.
- Figura 3. Presença de pulgões associados à murcha do abacaxi (AGROFIT, 2009a).
- Figura 4. Sintomas da podridão-negra causada por fungo. Infecções pelo pedúnculo e ferimento na casca (EMBRAPA, 2009b).
- Figura 5. Abacaxi atacado pela broca-do-fruto (AGROFIT, 2009b).
- Figura 6. Sintomas da fusariose causada por fungo (AGROFIT, 2010).
- Figura 7. Fórmula estrutural do herbicida atrazina.
- Figura 8. Fórmula estrutural do inseticida thiamethoxam.
- Figura 9. Fórmula estrutural do fungicida triadimenol.
- Figura 10. Fórmula estrutural do inseticida deltametrina.
- Figura 11. Região demarcada pelos limites inferiores e superiores, determinando as proporções dos solventes das misturas extratoras.

- Figura 12. Representação esquemática da eluição dos extratos na técnica de extração por dispersão de matriz em fase sólida em cartuchos de polietileno.
- Figura 13. (A) Cromatograma da solução-padrão dos agrotóxicos atrazina e triadimenol na concentração de $500,0 \mu\text{g L}^{-1}$, e dos agrotóxicos thiamethoxam e deltametrina na concentração de $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$, (B) cromatograma de extrato obtido de amostra de abacaxi fortificada e submetida à técnica ESL-PBT, com $1,67 \mu\text{g g}^{-1}$ de atrazina e triadimenol, e $0,33 \mu\text{g g}^{-1}$ de thiamethoxam e deltametrina, (C) cromatograma de extrato obtido de amostra de abacaxi fortificada e submetida à técnica de extração por DMFS, com $1,67 \mu\text{g g}^{-1}$ de atrazina e triadimenol, e $0,33 \mu\text{g g}^{-1}$ de thiamethoxam e deltametrina ($t_R = 6,3 \text{ min}$: atrazina, $t_R = 8,5 \text{ min}$: thiamethoxam, $t_R = 8,9 \text{ min}$: triadimenol, $t_R = 11,7 \text{ min}$: bifentrina, $t_R = 17,0 \text{ min}$: deltametrina).
- Figura 14. Curvas analíticas obtidas pela análise de soluções-padrão contendo os agrotóxicos (A) atrazina, (B) thiamethoxam, (C) triadimenol, (D) deltametrina, utilizando como padrão interno a bifentrina.
- Figura 15. Influência da massa de abacaxi na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos.
- Figura 16. Influência de adsorventes na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos.
- Figura 17. Cromatogramas dos extratos obtidos pela técnica ESL-PBT (A) sem etapa de *clean up*, e com etapa de *clean up*, utilizando como adsorventes: (B) florisil, (C) C18, (D) sílica.
- Figura 18. Espectros de absorção dos extratos obtidos a partir da técnica ESL-PBT de amostras de abacaxi isentas de agrotóxicos após etapa de *clean up* com os adsorventes florisil, C18 e sílica.

- Figura 19. Influência da massa de adsorvente na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos.
- Figura 20. Cromatogramas dos extratos obtidos pela técnica ESL-PBT utilizando: (A) 1,0000 g de florisil, (B) 2,0000 g de florisil, como adsorvente na etapa de *clean up*.
- Figura 21. Influência da polaridade da mistura extratora na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos.
- Figura 22. Influência do modo e tempo de homogeneização na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos.
- Figura 23. Influência da força iônica na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos.
- Figura 24. Cromatogramas de extratos obtidos de polpa de abacaxi (A) isenta dos princípios ativos, (B) fortificada e submetida à técnica ESL-PBT, com $1,67 \mu\text{g g}^{-1}$ de atrazina e triadimenol, e $0,33 \mu\text{g g}^{-1}$ de thiamethoxam e deltametrina ($t_R = 6,3$ min: atrazina, $t_R = 8,5$ min: thiamethoxam, $t_R = 8,9$ min: triadimenol, $t_R = 11,7$ min: bifentrina, $t_R = 17,0$ min: deltametrina).
- Figura 25. Curvas analíticas obtidas pela análise de extratos de amostras de abacaxi fortificadas em sete concentrações dos princípios ativos (A) atrazina, (B) thiamethoxam, (C) triadimenol, (D) deltametrina.
- Figura 26. Gráficos da razão sinal/concentração versus concentração em escala logarítmica obtidos pela análise de extratos de amostras de abacaxi fortificadas em sete concentrações dos princípios ativos (A) atrazina, (B) thiamethoxam, (C) triadimenol, (D) deltametrina.

- Figura 27. Curvas analíticas construídas a partir da análise de soluções-padrão de agrotóxicos preparadas em acetonitrila (—) e em extrato da matriz (- -): (A) atrazina, (B) thiamethoxam, (C) triadimenol, (D) deltametrina.
- Figura 28. Porcentagem de variação da resposta cromatográfica dos agrotóxicos (A) atrazina, (B) thiamethoxam, (C) triadimenol, (D) deltametrina, quando preparadas em extratos de abacaxi em relação às preparadas em solvente puro.
- Figura 29. Influência de adsorventes utilizados na técnica de extração por DMFS na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos.
- Figura 30. Influência do eluente utilizado na técnica de extração por DMFS na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos.
- Figura 31. Diagrama para interpretação dos efeitos decorrentes da interação entre os fatores co-coluna e ultra-som observados no planejamento fatorial 2^3 em relação à atrazina.
- Figura 32. Diagrama para interpretação dos efeitos decorrentes da interação entre os fatores adsorvente/amostra e ultra-som observados no planejamento fatorial 2^3 em relação à atrazina.
- Figura 33. Diagrama para interpretação dos efeitos decorrentes da interação entre os fatores adsorvente/amostra, co-coluna e ultra-som observados no planejamento fatorial 2^3 em relação à atrazina.
- Figura 34. Diagrama para interpretação dos efeitos decorrentes da interação entre os fatores adsorvente/amostra, co-coluna e ultra-som observados no planejamento fatorial 2^3 em relação ao thiamethoxam.

- Figura 35. Diagrama para interpretação dos efeitos decorrentes da interação entre os fatores adsorvente/amostra e ultra-som observados no planejamento fatorial 2^3 em relação ao triadimenol.
- Figura 36. Diagrama para interpretação dos efeitos decorrentes da interação entre os fatores adsorvente/amostra, co-coluna e ultra-som observados no planejamento fatorial 2^3 em relação ao triadimenol.
- Figura 37. Cromatogramas de extratos obtidos pela utilização da técnica de extração por DMFS: (A) sem utilização de co-coluna e (B) com utilização de co-coluna.

RESUMO

COSTA, Elisa Helena, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2010. **Análise multirresíduo de agrotóxicos em abacaxi por CG/DCE.**
Orientadora: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz. Co-orientadores: Antônio Augusto Neves e Laércio Zambolim.

Os objetivos deste trabalho foram otimizar a técnica de extração por dispersão de matriz em fase sólida (DMFS) e a técnica extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT), e validar esta última, para análise de resíduos dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina em amostras de abacaxi, por cromatografia gasosa com detector por captura de elétrons (CG/DCE). Na etapa de otimização da técnica extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura, fatores que influenciam na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos, e proporcionam condições ideais de análise, foram avaliados. O método otimizado foi validado determinando-se a seletividade, a linearidade de resposta do método, o limite de detecção, o limite de quantificação, a exatidão e a precisão. Os resultados obtidos mostraram que a técnica ESL-PBT é eficiente para análise dos agrotóxicos thiamethoxam, triadimenol e deltametrina, com porcentagens de recuperação superiores a 90%, e atrazina, com porcentagem de recuperação de aproximadamente 60%. Além disso, os limites de quantificação para o thiamethoxam, triadimenol e deltametrina (0,050; 0,17 e 0,040 $\mu\text{g g}^{-1}$) foram menores que os limites máximos de resíduos (LMR), estabelecidos para estes agrotóxicos em abacaxi, pela União Européia. A técnica otimizada e validada foi aplicada a amostras de abacaxi, cultivar 'Pérola', procedentes das cidades Marataízes (ES), Miracema do Tocantins (TO) e Monte Alegre de Minas (MG), não sendo detectada a presença de resíduos dos agrotóxicos estudados nas amostras de abacaxi analisadas. Foi estudada também, a influência dos

componentes do abacaxi na quantificação dos agrotóxicos por cromatografia gasosa, empregando o método de superposição de matriz. Os resultados mostraram que co-extrativos da matriz afetam significativamente na quantificação dos agrotóxicos em estudo. Com o intuito de comparar a técnica ESL-PBT, a técnica de extração por dispersão de matriz em fase sólida foi otimizada, sendo avaliados o adsorvente, o eluente, e posteriormente realizado um planejamento fatorial 2^3 , para avaliar o comportamento simultâneo dos fatores: (1) proporção entre adsorvente e amostra, (2) utilização de co-coluna e (3) utilização de ultra-som. A presença de co-coluna, além de influenciar na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam e triadimenol, afeta qualitativamente os cromatogramas. Comparando-se as técnicas de extração ESL-PBT e DMFS, ambas apresentam altos níveis de recuperação para os agrotóxicos em estudo, exceto para a atrazina, em que a ESL-PBT apresentou porcentagens de recuperação mais altas. Além disso, os extratos obtidos na ESL-PBT são menos susceptíveis à presença de interferentes.

ABSTRACT

COSTA, Elisa Helena, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2010.

Analysis multiresidue of pesticides in pineapple by GC/ECD. Adviser: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz. Co-advisers: Antônio Augusto Neves and Laércio Zambolim.

The objectives of this work were to optimize the technique of extraction by matrix solid-phase dispersion (MSPD) and the solid-liquid with partition in low temperature extraction technique (SLE-LTP), and to validate this latter, to the residues analysis of the pesticides atrazine, thiamethoxam, triadimenol and deltamethrin in pineapple samples, by gas chromatography with electron capture detector (GC/ECD). In the optimization stage of the extraction technique solid-liquid with partition in low temperature, factors that influence in the percentage of recovery of pesticides, and provide ideal conditions of analysis, were evaluated. The optimized method was validated through the determination of the selectivity, the linearity of answer of the method, the limit detection, the limit quantification, the accuracy and the precision. The obtained results showed that the technique SLE-LTP is efficient for analysis of the pesticides thiamethoxam, triadimenol and deltamethrin, with superior recovery percentages up to 90%, and atrazine, with percentage of recovery of approximately 60%. Besides, the quantification limits for the thiamethoxam, triadimenol and deltamethrin (0,050; 0,17 e 0,040 $\mu\text{g g}^{-1}$) were smaller than the allowed maximum limits of residues (LMR), established for these pesticides in pineapple, by the European Union. The optimized and validated technique was applied to samples of pineapple, 'Pérola' cultivar, from the cities Marataízes (ES), Miracema do Tocantins (TO) e Monte Alegre de Minas (MG), not being detected the presence of residues of the pesticides studied in the pineapple samples analyzed. It was also studied, the influence of the components of the

pineapple in the quantification of the pesticides in analyses for chromatography in gaseous phase, using the matrix method overlap. The results showed that the co-extractives of the matrix affect significantly in the quantification of the pesticides in study. With the intention of comparing the technique SLE-LTP, the technique of extraction matrix solid-phase dispersion was optimized, being appraised the adsorbent, the eluent, and later accomplished a planning factorial 2^3 to evaluate the simultaneous behavior of the factors: (1) proportion between adsorbent and sample, (2) co-column use and (3) ultrasound use. The co-column presence, besides influencing in the percentage of recovery of the pesticides atrazine, thiamethoxam and triadimenol, affects qualitatively the chromatogram. Comparing the extraction techniques SLE-LTP and MSPD, both present high recovery levels for the pesticides in study, except for the atrazine, in that SLE-LTP presented recovery percentages higher. Besides, the extracts obtained in SLE-LTP are less susceptible to the presence of interferences.

1. INTRODUÇÃO

A agricultura vem crescendo intensamente em produtividade, em menor área cultivada. Entretanto, houve aumento do emprego de agrotóxicos, devido à incidência indesejada de doenças, ervas daninhas, insetos e pragas. Estes produtos químicos vêm sendo usados de forma inadequada e indiscriminada, acarretando impactos ambientais negativos, como contaminação de lençóis freáticos, águas superficiais, solo e alimentos (SANCHES et al., 2003).

O abacaxi, *Ananas comosus* L. Merrill., pertencente à família *Bromeliaceae*, é uma fruta originária das regiões costeiras da América do Sul. É uma fruta presente na alimentação de grande parte da população mundial, por possuir grande valor nutritivo que se resume praticamente ao seu valor energético, principalmente à presença de açúcares em sua composição. Além disso, seu consumo é de suma importância devido à sua atividade proteolítica, que se constitui em coadjuvante na digestão dos alimentos (LICODIEDOFF, 2008).

O Brasil é o terceiro maior produtor de abacaxi, sendo superado apenas pela Tailândia e Filipinas (FAO, 2010).

A cultivar 'Smooth Cayenne' é a mais conhecida e cultivada mundialmente, dada sua qualidade e aceitação comercial. Mas, a cultivar 'Pérola' é mais produzida no Brasil. Esta espécie é muito apreciada no mercado interno graças a sua polpa suculenta e saborosa, considerada insuperável para o consumo ao natural, fazendo com que os frutos tenham grande potencial de comercialização internacional (SOUTO et al., 2004).

No Brasil, a produção de abacaxi concentra-se nas Regiões Sudeste e Nordeste. Os Estados de Minas Gerais e Paraíba são os maiores produtores de abacaxi, cujas produções somadas, representam mais da metade da produção brasileira. Em seguida, com produções menos representativas,

destacam-se: Pará, Bahia, São Paulo, Rio Grande do Norte, Espírito Santo e Rio de Janeiro (MORGADO et al., 2004).

O abacaxizeiro é uma das culturas mais exigentes. Além do processo de florescimento ser desuniforme, comprometendo a regularidade da produção, podendo resultar em frutos não enquadrados no padrão comercial, outro problema consiste na presença de doenças, ervas daninhas, insetos e pragas, que afetam marcadamente o desenvolvimento da cultura do abacaxi, exigindo, portanto o uso de agrotóxicos (POEL et al., 2009).

Com isso é necessária a realização de controles biológicos, mecânicos ou químicos para proteger o abacaxizeiro do ataque de pragas. O controle químico se destaca como o mais utilizado por apresentar resultados mais rápidos e significativos, porém o uso exagerado de agrotóxicos pode causar impactos ambientais negativos para a população, uma vez que resíduos desses produtos podem permanecer no abacaxi e no ambiente.

Devido às negligências e a conseqüente exposição da saúde pública a agrotóxicos, aumentou-se a demanda por alimentos isentos destes ou que contenham resíduos de agrotóxicos dentro do limite máximo permitido, e a instigação de pesquisas para monitorar e avaliar o risco do consumo de alimentos contaminados (NASREDDINE & PARENT-MASSIN, 2002).

O LAQUA, Laboratório de Química Analítica da UFV, vem desenvolvendo e aprimorando técnicas de extração e análise de agrotóxicos em diferentes matrizes como leite, água, solo, batata, tomate, entre outras. A aplicação de técnicas que permitam a extração simultânea de resíduos de agrotóxicos com uma menor demanda de solvente e com um número reduzido de etapas de preparação e purificação de amostras complexas, como o abacaxi, tais como a extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT) e a técnica de extração por dispersão de matriz em fase sólida (DMFS), têm apresentado resultados satisfatórios para determinação de resíduos de agrotóxicos nessas matrizes.

Neste trabalho estas técnicas foram adaptadas para extração de quatro agrotóxicos aplicados na cultura de abacaxi: atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina.

Com o desenvolvimento deste trabalho, almeja-se disponibilizar estas técnicas de forma confiável para análise multirresíduo em abacaxi.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Agrotóxicos

Há algumas formas de classificar os agrotóxicos, dentre elas de acordo com a finalidade. Destacam-se: acaricidas, escorpionicidas, moluscocidas, nematocidas, rodenticidas, vampiricidas, fungicidas, herbicidas, inseticidas, entre outros.

Os herbicidas são os agrotóxicos mais utilizados no meio rural, seguido dos inseticidas e fungicidas, sendo usados na agricultura para controlar ervas classificadas como daninhas. Dentre as vantagens da utilização destes agrotóxicos destacam-se a rapidez de ação deles nas culturas, o baixo custo e em geral a baixa toxicidade, quando comparada aos inseticidas. Mas, existem problemas decorrentes da utilização de herbicidas, como a contaminação ambiental e o surgimento de ervas resistentes (OLIVEIRA-SILVA et al., 2001).

Em 1952, na Suíça, J. R. Geigy sintetizou e iniciou estudos com derivados de triazinas, na possibilidade de uso destes compostos como herbicidas. Em 1955, as propriedades herbicidas destes compostos foram registradas, sendo as triazinas inseridas no mercado (RODRIGUES e ALMEIDA, 2005).

Mais de 30% dos herbicidas utilizados na agricultura são do grupo químico das triazinas, que são derivados nitrogenados heterocíclicos. A maioria das triazinas possui estrutura química simétrica, ou seja, possuem anel heterocíclico de seis membros, com átomos de nitrogênio localizados simetricamente, e os substituintes localizados nas posições 2, 4 e 6. Esses compostos são chamados de s-triazinas (CABRAL et al., 2003). A estrutura química destas triazinas é mostrada na Figura 1.

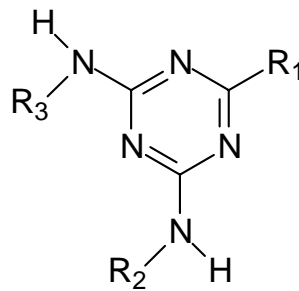


Figura 1. Estrutura química das s-triazinas.

Apesar da grande variedade de compostos químicos utilizados no controle de insetos, a maioria pertence a quatro grupos químicos: os carbamatos, os organoclorados, os organofosforados e os piretroides (OLIVEIRA-SILVA et al., 2001).

Segundo GUERRA et al. (1976 apud LAGE, 2001), os carbamatos, compostos derivados do ácido carbâmico, merecem destaque por apresentarem vantagens em relação aos demais inseticidas, devido às seguintes características: são hidrofílicos e rapidamente degradáveis, principalmente os sistêmicos; são quimicamente instáveis e não persistentes, entre outros. No entanto, são em sua maioria muito tóxicos, especialmente ao sistema nervoso central.

Os organoclorados, grupo pioneiro dos inseticidas sintéticos, apresentam baixa solubilidade em água, baixa volatilidade a temperatura ambiente, moderada a alta toxicidade para mamíferos, e alta persistência no ambiente (SILVA et al., 2008). Além disso, a degradação dos organoclorados ocasiona formação de metabólitos também persistentes e de efeitos muito nocivos (LARA e BATISTA, 1992).

Devido à alta toxicidade e persistência no ambiente, os organoclorados tiveram seu uso agrícola proibido no Brasil desde 1985, sendo somente autorizados em campanhas de saúde pública (Portaria nº 329 de 02/09/85 do Ministério da Agricultura) (MANNA et al., 2006; SANTOS et al., 2007).

Os compostos pertencentes ao grupo químico dos organofosforados são mais tóxicos que os compostos clorados, mas por não serem bioacumuladores, proporcionam menos danos ao meio ambiente (WESSELING et al., 2005).

Os organofosforados agem no sistema nervoso central do inseto, inibindo ação das enzimas acetilcolinesterases. Como consequência, ocorre acúmulo de acetilcolina nas fibras nervosas dos insetos, impedindo a transmissão de novos impulsos, o que provoca uma série de efeitos no

organismo, como convulsões, paradas respiratórias, coma e morte (COUTINHO et al., 2005; OLIVEIRA-SILVA et al., 2001).

Atualmente, as indústrias agroquímicas vêm trabalhando na síntese e formulação de moléculas que sofram degradação, desaparecendo no ambiente em pouco tempo. Assim, os piretroides tiveram seu uso difundido como alternativa aos organoclorados, muito persistentes no ambiente, e aos carbamatos e organofosforados, que são muito tóxicos (SANTOS et al., 2007).

Os piretroides são inseticidas sintéticos, derivados das piretrinas. A piretrina, componente ativo extraído das flores do *Chrysanthemum cinerariaefolium*, tem sido utilizada há mais de dois séculos no controle de inúmeras espécies de insetos (VALENTINE, 1990).

A utilização dos piretroides na agricultura iniciou-se na década de 70, após mudança estrutural das piretrinas, com o intuito de se obter substâncias com maior estabilidade à luz solar e ao ar, aumentando-se assim o potencial inseticida (SANTOS et al., 2007). Estes compostos são atualmente os inseticidas mais utilizados, pois apresentam baixa toxicidade em mamíferos, baixo impacto ambiental e são eficientes contra um grande número de insetos. Além disso, é necessária a aplicação de baixa quantidade desses para exercerem sua ação. Os piretroides são neurotoxinas que atuam na transmissão dos impulsos nervosos dos insetos, interferindo no fluxo normal dos íons sódio responsável por estes estímulos (SODERLUND et al., 2002).

A estrutura química dos piretroides é mostrada na Figura 2.

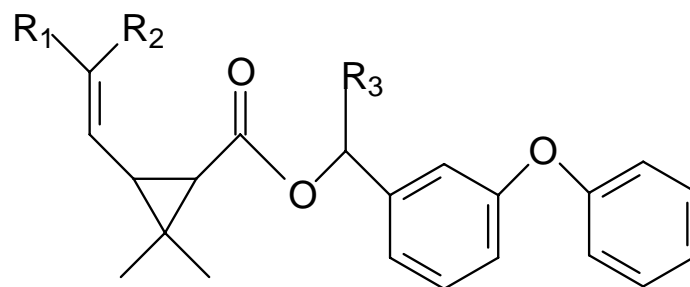


Figura 2. Estrutura química dos piretroides.

O grupo químico dos neonicotinoides engloba inseticidas muito utilizados em diversas culturas. Estes compostos tiveram origem de moléculas de nicotina, mas, somente em 1972, a ação inseticida deles foi demonstrada. A nitiazina, composto nunca comercializado como inseticida, deu origem à síntese de todos os neonicotinoides. Estes compostos normalmente são muito

pouco tóxicos devido à sua grande seletividade para os receptores nicotínicos, mas apresentam alguns problemas para outros seres vivos, sendo que muitos deles são carcinogênicos em humanos (WARE & WHITACRE, 2009).

Os neonicotinoides apresentam ação sistêmica, e estão registrados em vários países, inclusive no Brasil, para o controle de insetos-praga sugadores e mastigadores. Em geral, são razoavelmente solúveis em água, biodegradáveis e seletivos (EMBRAPA, 2010).

Os neonicotinoides imitam a acetilcolina, um neurotransmissor excitatório dos insetos, competindo pelos seus receptores. Ao contrário da ligação natural da acetilcolina com seu receptor, a ligação entre o neonicotinoide e o receptor é persistente e insensível à ação da enzima acetilcolinesterase. A ativação dos receptores da acetilcolina é prolongada de forma anormal, ocasionando transmissão contínua e descontrolada de impulsos nervosos, e conseqüente convulsões e morte (MORAES et al., 2006).

Os fungicidas também são agrotóxicos muito utilizados em diversas culturas. Os fungicidas à base de cobre foram, por muito tempo, quase que os únicos produtos utilizados no controle de fungos. A partir dos anos 60, surgiram novos produtos de diferentes composições químicas, alguns de amplo espectro, e outros, de uso mais específico.

Fungicidas sistêmicos do grupo químico dos triazóis têm sido muito utilizados no controle químico de fungos, atuando como inibidor do esterol, mais especificamente, no bloqueio da biossíntese do ergosterol nos fungos e da biossíntese da giberilina, provavelmente interferindo nas reações de dimetilação oxidativa (FLETCHER & NATH, 1984).

2.2. Resíduos de agrotóxicos e o meio ambiente

O crescimento da demanda mundial por alimentos tem provocado aumento na utilização de agrotóxicos nas lavouras no controle de doenças, ervas invasoras e pragas (PAULA, 2007). Como consequência, surgiu o problema relacionado à exposição a essas substâncias, que pode ser atribuída tanto ao consumo de alimentos contaminados, quanto ao contato direto, no

caso dos trabalhadores rurais e/ou manipuladores, ou ainda ao contato indireto, como no caso de populações que são atingidas por resíduos de agrotóxicos levados pela ação dos ventos durante a aplicação.

Resíduos de agrotóxicos podem permanecer nos alimentos ou ser inseridos no meio ambiente, acarretando contaminação em águas superficiais, lençóis freáticos e solo, e grande mortalidade de animais, além de afetar a saúde da população (SANCHES et al., 2003).

No entanto, a tendência no mundo atual é a busca de compostos mais específicos, menos persistentes e tóxicos para o ambiente. Assim, associado ao uso destes produtos, o monitoramento deles no meio ambiente é de suma importância, especialmente para garantir a qualidade dos alimentos que chegam ao consumidor.

Com o intuito de controlar o uso inadequado de agrotóxicos e a concentração de resíduos desses compostos nos alimentos, órgãos internacionais e nacionais estabelecem limites máximos de resíduos (LMR) permitidos para vários agrotóxicos, em diferentes culturas. O termo “limite máximo de resíduos” é entendido como a máxima concentração de resíduos de agrotóxicos que pode estar presente nos alimentos, consumidos pela população, sem prejudicar a saúde humana. Em âmbito internacional, esses limites são estabelecidos pela Comissão do Codex Alimentarius e pela União Européia. Em âmbito nacional, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA) é o órgão regulador responsável pela avaliação toxicológica dos agrotóxicos.

Decorrente desses estímulos, a ANVISA em 2001 desenvolveu o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), envolvendo diversas regiões do país e instituições de pesquisas, devido à preocupação crescente da presença de resíduos em alimentos, muitas vezes potencialmente carcinogênicos.

2.3. Cultura de abacaxi

Cerca de 85 espécies de organismos já foram encontradas associadas com o abacaxi no mundo. Para as condições brasileiras, entre as doenças, ervas daninhas, insetos e pragas que atacam o cultivo de abacaxi, exigem atenção: o capim-colchão (*Digitaria horizontalis*), a cochonilha-do-abacaxi (*Dysmicoccus brevipes*), a podridão-negra causada por fungo (*Ceratocystis paradoxa*), a broca-do-fruto (*Strymon basalides*) e a fusariose causada por fungo (*Fusarium subglutinans*) (EMBRAPA, 2009a).

O capim-colchão, *Digitaria horizontalis* é uma erva daninha que reduz significativamente os teores de nitrogênio, fósforo, potássio e cálcio na folha do abacaxizeiro, sendo que a redução destes e de outros nutrientes interferem na produtividade e na qualidade dos frutos produzidos (CATUNDA et al., 2005).

A murcha associada à cochonilha *Dysmicoccus brevipes* é considerada um dos maiores problemas mundiais da cultura do abacaxi. Essa doença vem causando elevados prejuízos aos abacaxicultores. Este inseto, ao sugar a seiva da planta, introduz uma toxina que causa a conhecida "murcha do abacaxi", como pode ser observado na Figura 3. Essa praga é encontrada nas axilas das folhas, nas raízes e ainda nos frutos e rebentos, sempre sugando a seiva. A presença de *Dysmicoccus brevipes* em plantas sintomáticas fez com que, por muito tempo, a murcha fosse considerada como resultante do ataque deste inseto. A constatação de partículas virais em plantas atacadas, entretanto, tem indicado a possibilidade do envolvimento desse agente na etiologia da murcha (EMBRAPA, 2009a).



Figura 3. Presença de pulgões associados à murcha do abacaxi (AGROFIT, 2009a).

Também conhecida como podridão-mole, a podridão-negra, causada pelo fungo *Ceratocystis paradoxa* é uma doença de pós-colheita responsável por perdas elevadas, tanto em frutos para consumo in natura, quanto naqueles destinados à indústria de processamento. A principal porta de entrada do fungo é o corte do pedúnculo, resultante da colheita, porém a infecção se processa também por ferimentos na casca do fruto, devido ao manuseio inadequado. A infecção pelo corte na colheita provoca o desenvolvimento de uma lesão de coloração amarela, em formato de cone enquanto a infecção por ferimentos na superfície dos frutos resulta em lesão que progride em direção ao eixo central como mostrado na Figura 4. (EMBRAPA, 2009b).



Figura 4. Sintomas da podridão-negra causada por fungo. Infecções pelo pedúnculo e ferimento na casca (EMBRAPA, 2009b).

A broca-do-fruto, *Strymon basalides* é considerada uma das principais pragas do abacaxi no Brasil, presente praticamente em todas as regiões produtoras. Ela é uma larva de uma pequena borboleta que ataca a inflorescência do abacaxi, cavando galerias e provocando o aparecimento de uma substância com aspecto de goma, como pode ser mostrado na Figura 5. (EMBRAPA, 2009a).

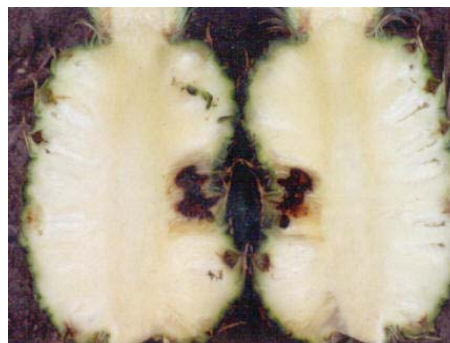


Figura 5. Abacaxi atacado pela broca-do-fruto (AGROFIT, 2009b).

Outro problema consiste na presença de fungos causadores da fusariose que afeta marcadamente o desenvolvimento da cultura do abacaxi (VAILLANT et al., 2001).

Causada pelo fungo *Fusarium subglutinans*, a fusariose é a doença mais importante do abacaxizeiro no Brasil. Essa doença causa prejuízos devidos à infecção das mudas, morte dos abacaxizeiros no campo, infecção das inflorescências e, conseqüentemente, dos frutos, os quais perdem seu valor comercial, resultando em perdas bastante elevadas na produção. De maneira geral, o *Fusarium subglutinans* pode infectar 40% das mudas, 20% das quais morrem antes de atingir a fase de floração. Nos frutos a incidência da fusariose varia com a época de produção, podendo ser superior a 80%, caso o desenvolvimento do fruto ocorra em períodos favoráveis à incidência da doença. O principal sintoma da fusariose é a exsudação de goma a partir da região infectada. Com a evolução da doença os frutinhos infectados expressam coloração marrom, como mostrado na Figura 6., apresentando-se deprimidos em relação aos vizinhos saudáveis, em decorrência da exaustão dos tecidos internos (REINHARDT, 2004).



Figura 6. Sintomas da fusariose causada por fungo (AGROFIT, 2010).

2.4. Controle de ervas daninhas, insetos e pragas no cultivo do abacaxi

O controle de ervas daninhas, insetos e pragas que prejudicam o abacaxizeiro pode ser realizado por controle cultural e químico, sendo este último o mais utilizado.

Para o controle de ervas daninhas infestantes em culturas de abacaxi é indicada a utilização de ametrina, bromacila, dicloreto de paraquate, diurom, simazina e atrazina, sendo esta última muito utilizada no controle do capim-colchão. A fórmula estrutural da atrazina é mostrada na Figura 7. (ANVISA, 2009).

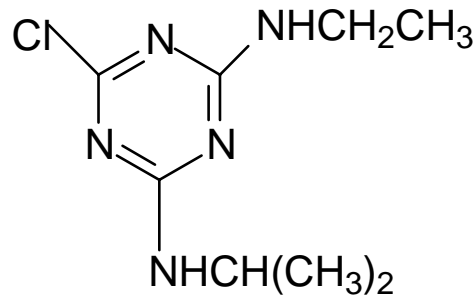


Figura 7. Fórmula estrutural do herbicida atrazina.

A atrazina, herbicida do grupo químico das triazinas, além de ter aplicação pré e pós-emergência nas plantas infestantes na cultura de abacaxi é utilizada nas culturas de cana-de-açúcar, milho, pinus, seringueira, sisal e sorgo (ANVISA, 2009). Suas principais características como herbicida são: alto potencial de lixiviamento, lenta reação de hidrólise, baixa pressão de vapor e moderada solubilidade em água (33 mg L⁻¹ a 25 °C). A toxicidade da atrazina é bastante alta para os seres vivos (EPA, 2009).

A cochonilha-do-abacaxi pode ser controlada pela utilização dos inseticidas imidaclopride, etiona e thiamethoxam. A fórmula estrutural deste último composto é mostrada na Figura 8. (AGROFIT, 2009a).

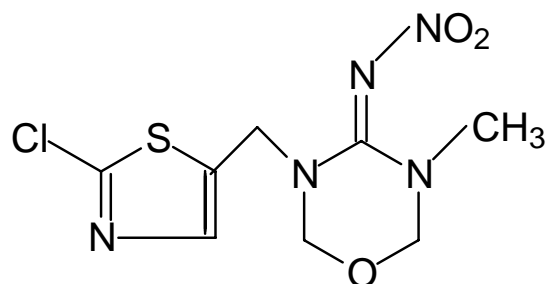


Figura 8. Fórmula estrutural do inseticida thiamethoxam.

O thiamethoxam, inseticida do grupo químico dos neonicotinoides tem sido testado com sucesso em muitas espécies vegetais de importância econômica no controle de insetos sugadores interferindo no receptor da acetilcolina destes. Esse agrotóxico, quando usado no tratamento de

sementes, controlou 90% de pulgões e tripses do algodoeiro nas doses de 210 e 300 g/100 kg de sementes (MORAES et al., 2006).

Este agrotóxico foi registrado para o controle de várias pragas, em diferentes culturas e, por suas características de seletividade, baixa toxicidade, flexibilidade de uso e eficácia, tornou este agroquímico uma nova ferramenta no manejo integrado de pragas, em particular no controle de insetos com grande capacidade de desenvolver populações resistentes a outros inseticidas (LARA et al., 2001).

A podridão-negra é controlada pelo uso de fungicidas tais como: captana, mancozebe, oxicloreto de cobre, tiabendazol, triadimefom (ANVISA, 2009), triadimenol, entre outros, sendo este último muito utilizado mundialmente no controle da praga causadora desta doença (EU, 2009). A fórmula estrutural deste composto é mostrada na Figura 9.

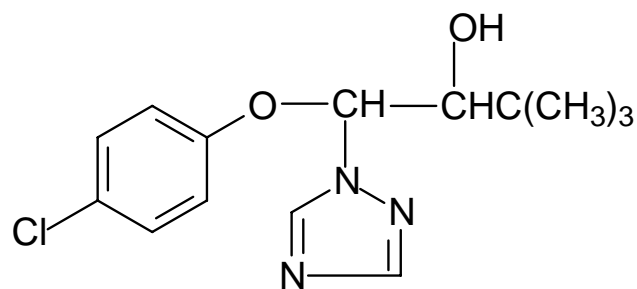


Figura 9. Fórmula estrutural do fungicida triadimenol.

O triadimenol é um fungicida do grupo químico dos triazóis (SILVA et al., 2001). Este fungicida é registrado para aplicação em diversas culturas, tais como: abóbora, alho, banana, café, cevada, trigo e uva (ANVISA, 2009).

Segundo COPPING & HEWITT (1998 apud CARVALHO et al., 2002), o triadimenol é efetivo a baixas concentrações, flexível no uso quanto a uma gama de fungos e estágios de crescimento e promove o controle de doenças por um longo período. Sua ação ocorre pela inibição nos fungos da biosíntese do esterol, que possui um papel fundamental no crescimento, desenvolvimento, metabolismo e integridade das células desses organismos.

Para o controle químico da broca-do-fruto, os produtos recomendados são: beta-ciflutrina, carbaril, deltametrina e triclorfom (AGROFIT, 2009b). O uso de deltametrina no controle deste inseto tem se mostrado muito eficiente em culturas de abacaxi (REINHARDT, 2004). Este inseticida é largamente utilizado em diversas culturas, tais como: algodão, batata, maçã, milho, tomate, etc.

(ANVISA, 2009). A fórmula estrutural deste composto é mostrada na Figura 10.

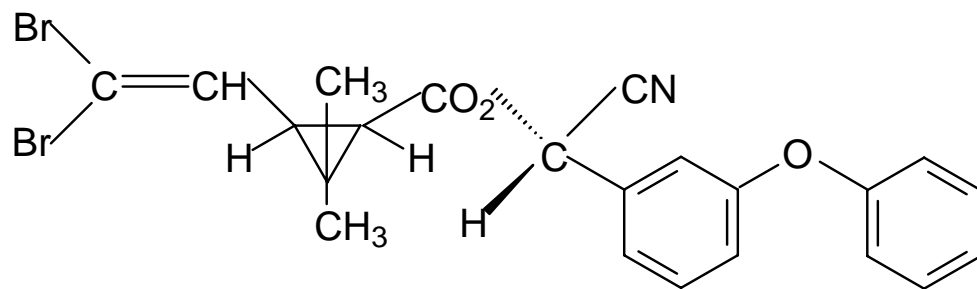


Figura 10. Fórmula estrutural do inseticida deltametrina.

A deltametrina é um inseticida do grupo químico dos piretroides, que apresenta caráter lipofílico. É o piretroide mais tóxico para vertebrados dentre todos os conhecidos até o momento.

Os valores de limite máximo de resíduo (LMR), ou seja, a quantidade máxima de resíduo de agrotóxico oficialmente aceita em abacaxi, para a atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina estabelecidos pela União Européia (2009), são respectivamente, 0,050; 0,050; 3,00 e 0,050 mg/kg.

2.5. Técnicas de extração de multirresíduos

Os resíduos de agrotóxicos são amplamente encontrados em nosso ambiente, incluindo os compartimentos aquáticos e terrestres, além de serem detectados nos alimentos (LIU et al., 2005).

Para efeito de controle e regulamentação, surgiu a necessidade de se analisar esses resíduos de agrotóxicos em alimentos. Mas, problemas analíticos complexos são evidenciados, devido a uma variedade de substâncias estruturalmente diferentes analisadas.

Diversos métodos são usados para identificação e quantificação de resíduos de agrotóxicos. Estes métodos exigem uma técnica de extração do analito da matriz, *clean up* dos extratos para remoção de impurezas, e em alguns casos, pré-concentração dos mesmos, para posterior análise instrumental (KAIPPER et al., 2001).

Os métodos mais usados para determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos, geralmente empregam a extração líquido-líquido (ELL), extração sólido-líquido (ESL), extração em fase sólida (EFS) e extração com fluido supercrítico (GOBO et al., 2004).

Uma nova técnica de extração e pré-concentração, a partir de 1990, denominada microextração em fase sólida (MEFS), foi aplicada na extração de diversos grupos de analitos voláteis e semivoláteis em matrizes, como água, ar, solo e alimentos (SILVA et al., 1999). Esta técnica de extração apresenta vantagens com relação à simplicidade da amostragem, baixo custo, a não utilização de solventes, fácil automação, reutilização da fibra, etc.

Dentre os métodos de extração de agrotóxicos comumente empregados em amostras de abacaxi destacam-se a extração por solvente seguida por extração em fase sólida (KHOURI, 2007; RAVELO-PÉREZ et al., 2008), e a microextração em fase sólida (ALBERO et al., 2005; FYTIANOS et al., 2006; CORTÉS-AGUADO et al., 2008).

No entanto, atualmente as técnicas para análise de resíduos de agrotóxicos em frutas e vegetais evoluíram significativamente em termos de simplificação e melhoria de extração, e purificação das amostras. Neste cenário, as técnicas extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT) e dispersão de matriz em fase sólida (DMFS) tem revelado bons resultados na extração de agrotóxicos em matrizes sólidas, devido à possibilidade de se realizar simultaneamente a extração de agrotóxicos e o *clean up* dos extratos.

Em 2004, GOULART desenvolveu uma metodologia simples e de baixo custo, para análise de cipermetrina e deltametrina em leite sem etapas de *clean up*, denominada extração líquido-líquido e purificação por precipitação a baixa temperatura. A taxa de recuperação para estes compostos foi alta, comprovando a eficiência desta.

Em 2005, VIEIRA utilizou esta técnica para extração de piretroides em amostras de água e solo, passando a técnica a ser denominada para essas matrizes de extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) e extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT), respectivamente.

O método consiste em colocar a amostra líquida ou sólida em contato com um solvente extrator, miscível em água, menos denso que ela e que se

mantenha líquido a -20 °C. Posteriormente, a mistura, constituída de amostra e mistura extratora é agitada e levada ao freezer por um período mínimo de seis horas. Nesta etapa, a fase aquosa junto com a amostra congela, ficando na parte inferior do recipiente utilizado, e a fase superior, contendo o solvente e os agrotóxicos extraídos, é filtrada, utilizando sulfato de sódio anidro com o intuito de eliminar possível presença de água. Finalmente, o extrato é analisado por cromatografia gasosa.

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

Já a técnica de extração por dispersão de matriz em fase sólida envolve o uso de um suporte sólido, geralmente contendo uma fase quimicamente ligada, como um abrasivo para produzir ruptura na arquitetura da amostra, facilitando o processo de extração. A amostra sofre dispersão na superfície do material suporte, fase quimicamente ligada, formando uma nova fase mista, o que proporciona o isolamento de analitos presentes em várias matrizes (LANÇAS, 2004).

A técnica foi empregada pela primeira vez em 1989 por Barker et al., onde se isolou resíduos de drogas em tecidos de animais (BARKER, 2000). A principal vantagem desta técnica é o baixo consumo de amostra, solvente e adsorvente. Além disso, os processos de extração dos agrotóxicos e *clean up* dos extratos ocorrerem simultaneamente.

A DMFS consiste em combinar pequena quantidade da matriz com um adsorvente (florisil, sílica, C8, C18, etc.), misturá-las até homogeneização, aplicando certa força à mistura para produzir ruptura completa da amostra e interações da matriz com o adsorvente sólido. Em seguida, o material, constituído de matriz e adsorvente, é transferido para uma coluna e submetido a uma eluição com um solvente apropriado. O filtrado é concentrado e analisado por cromatografia gasosa (LANÇAS, 2004).

2.6. Técnicas de análise multirresíduo

Técnicas analíticas têm sido estudadas e empregadas para identificação e quantificação de uma variedade de agrotóxicos. Os métodos mais utilizados são baseados em técnicas de cromatografia em fase gasosa ou líquida. Estas técnicas são muito importantes na análise química em função de sua facilidade em efetuar as separações, identificar e quantificar as espécies presentes na amostra (COLLINS et al., 2006).

As aplicações das técnicas cromatográficas cresceram intensamente nos últimos 50 anos. Isto se deve não somente ao desenvolvimento de novos tipos de técnicas de preparação, separação e detecção, mas também pela necessidade crescente de técnicas mais precisas e sensíveis para caracterização e quantificação de analitos de interesse em matrizes complexas (GALLI et al., 2006). No entanto, as técnicas cromatográficas também podem ser utilizadas em conjunto com outras, como as espectroscópicas (JIANG et al., 2005) e eletroanalíticas (COLLINS et al., 2006).

A quantificação de compostos orgânicos utilizando técnicas cromatográficas fornece excelentes resultados com limites de detecção na faixa de nanogramas a microgramas/L (ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$), dependendo do detector utilizado e da técnica de extração. Essa quantificação pode ser atingida pela utilização de detectores cromatográficos específicos, tais como detector por captura de elétrons, fluorescência e ionização em chama, entre outros.

O detector por captura de elétrons (DCE) destina-se principalmente à análise de compostos que têm afinidade por elétrons como compostos halogenados, aldeídos conjugados, nitrilas, nitratos e organometálicos. Este detector possui a vantagem de ser um dos mais sensíveis entre todos os detectores, sendo possível com a sua utilização a detecção de 10^{-12} a 10^{-14} g de espécies eletroafins (COLLINS et al., 2006).

2.7. Validação de um método analítico

A necessidade de se expor a qualidade de medições químicas, principalmente através de sua confiabilidade, está sendo cada vez mais exigida. Dados analíticos incertos podem conduzir a decisões desastrosas. Portanto, para que um método analítico gere informações seguras e interpretáveis sobre uma amostra, e se torne verdadeiramente confiável, este deve passar por uma avaliação denominada validação.

Existem alguns conceitos sobre validação de métodos analíticos:

Validação é o processo que deve garantir, por estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados (ANVISA, 2003).

Validação é a comprovação, através do fornecimento de evidência objetiva, de que os requisitos para uma aplicação ou uso específicos pretendidos foram atendidos (INMETRO, 2007).

Os principais parâmetros a serem avaliados para a validação de um método analítico são: seletividade, linearidade de resposta do método, limite de detecção e limite de quantificação, exatidão e precisão.

2.7.1. Seletividade

A seletividade é o primeiro passo no desenvolvimento e validação de um método analítico e deve ser reavaliada durante a validação e subsequente utilização do método.

A seletividade de um método analítico é a capacidade de avaliar as substâncias em exame, mesmo na presença de componentes que possam interferir na análise, com sua determinação em uma amostra complexa (RIBANI et al., 2004). Este parâmetro garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse.

2.7.2. Linearidade de resposta do método

A linearidade de resposta de um método corresponde à capacidade do mesmo demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (ANVISA, 2003). Em uma análise cromatográfica esta resposta corresponde à área do pico referente a cada composto.

Através do coeficiente de determinação estima-se a qualidade da curva analítica, e conseqüentemente a linearidade de resposta do método. Se este valor for próximo a 1,00, verifica-se pequena dispersão dos pontos experimentais e que menor é a incerteza dos coeficientes. A ANVISA (2003) recomenda um coeficiente de determinação igual a 0,99 e o INMETRO (2007) um valor acima de 0,90.

2.7.3. Limite de detecção e limite de quantificação

Limite de detecção (LD) é a quantidade mínima do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições do método analítico otimizado (ANVISA, 2003).

Limite de quantificação (LQ) é a quantidade mínima do analito que pode ser determinado com precisão e exatidão, sob as condições do método analítico otimizado (ANVISA, 2003).

Uma das maneiras de se determinar os limites de detecção e quantificação é utilizar o método da relação sinal-ruído, podendo este ser aplicado somente em instrumentos analíticos que mostram o ruído da linha de base.

Para determinar a relação sinal-ruído é feita a comparação entre a medição dos sinais obtidos pela injeção de extratos de amostras com baixas concentrações conhecidas dos compostos de interesse e a medição dos sinais obtidos pela injeção de extratos de amostras isentas desses compostos. Assim, fica estabelecida uma concentração mínima na qual a substância pode ser facilmente detectada ou quantificada. A relação sinal-ruído 3:1 e 10:1 são as

proporções aceitas como estimativas do limite de detecção e do limite de quantificação, respectivamente (RIBANI et al., 2004).

2.7.4. Exatidão

A exatidão de um método representa o grau de concordância entre os resultados individuais em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro (INMETRO, 2007).

A exatidão é considerada dentro de limites, a um dado nível de confiança. Ou seja, aparece associada a valores de precisão (RIBANI et al., 2004).

O número de ensaios varia segundo a legislação ou diretriz adotada e com as características da pesquisa. A ANVISA recomenda ensaios no mínimo em triplicata para três níveis de concentração.

Os processos normalmente utilizados para avaliar a exatidão de um método são: uso de materiais de referência, comparação de métodos, adição padrão e ensaios de recuperação.

Nos ensaios de recuperação, a porcentagem de extração do analito pode ser estimada pela análise de amostras adicionadas com quantidades conhecidas do mesmo, ou seja, é definida como a proporção da quantidade de analito, presente ou adicionada na porção analítica do material teste, que é extraída e passível de ser quantificada (RIBANI et al., 2004).

2.7.5. Precisão

A precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra (ANVISA, 2003).

2.7.5.1. Repetitividade

A repetitividade é um dos parâmetros empregados para se avaliar a precisão, e definido como o grau de concordância entre os resultados, sob as mesmas condições de medição (INMETRO, 2007).

2.7.5.2. Precisão intermediária

A precisão intermediária é o outro parâmetro utilizado para se determinar a precisão de um método e se refere à precisão avaliada sobre a mesma amostra, utilizando o mesmo método, no mesmo laboratório, mas definindo a(s) condição(ões) a variar, tais como: diferentes analistas, equipamentos ou tempos (INMETRO, 2007).

2.8. Efeito de matriz

Os métodos de análise multirresíduo representam formas eficientes de identificação e quantificação de vários agrotóxicos simultaneamente em uma determinada matriz. No entanto, dependendo da complexidade da matriz, as porcentagens de recuperação para alguns agrotóxicos nem sempre são satisfatórias, por apresentarem porcentagens de extração superiores a 100%, além de se obter baixa precisão dos resultados. A exatidão e a precisão dos resultados obtidos nas análises são muito importantes. Qualquer fonte de erros deve ser investigada e caracterizada, como o efeito de matriz durante as análises dos agrotóxicos. O efeito de matriz, também conhecido como “aumento da resposta cromatográfica induzida pela matriz”, é usado para explicar esses problemas (MENKISSOGLU-SPIROUDI & FOTOPOULOU, 2004).

ERNEY et al. (1993) foram os primeiros a estudar o efeito de matriz, analisando organofosforados em leite e manteiga por cromatografia gasosa. Esses pesquisadores observaram que compostos similares ao acefato e ao metamidofós quando preparados em solvente puro adsorviam ou degradavam

no sistema de injeção. Entretanto, quando injetados juntamente com os componentes da matriz, ou seja, diluídos no extrato da matriz, estes agrotóxicos apresentavam uma maior resposta quando comparada com as respostas de um padrão livre de componentes da matriz.

Os extratos obtidos por um método de extração apropriado são constituídos de agrotóxicos e de um grande número de componentes da matriz, denominados co-extrativos. Estes compostos podem interferir durante a análise cromatográfica, pelo fato de influenciarem na quantificação dos agrotóxicos que são transferidos para a coluna (GONZÁLEZ et al., 2002).

Alguns fatores podem influenciar no efeito de matriz, como: característica do analito, concentração do analito, natureza da matriz e sistema do cromatógrafo a gás.

Existem diversos trabalhos relacionados ao efeito de matriz que pode ocorrer na coluna, no detector e principalmente no injetor do sistema cromatográfico. O *liner* (insertor) do injetor é o principal responsável pelo efeito de matriz, já que nos sítios ativos deste pode ocorrer adsorção ou degradação térmica de analitos. Quando as soluções-padrão são preparadas em solvente, injetadas e analisadas por cromatografia gasosa, os sítios ativos do *liner* estão disponíveis para interagir com os agrotóxicos. Entretanto, quando as soluções-padrão são preparadas em extrato da matriz, injetadas e analisadas em cromatógrafo a gás, os agrotóxicos competem com os componentes da matriz pelos sítios ativos do insertor. Dependendo das características da matriz e do analito, os componentes da matriz podem ser adsorvidos no *liner* e mais agrotóxicos podem ser introduzidos na coluna cromatográfica, originando uma resposta maior para o analito quando comparado com a resposta deste em solvente puro (HAJŠLOVÁ & ZROSTLÍKOVÁ, 2003).

A magnitude do efeito de matriz pode variar de acordo com a amostra ou de acordo com a concentração do analito presente na matriz. Estudos realizados por HAJŠLOVÁ et al. (1998), mostraram que quanto menor a concentração do analito na amostra, maior será o efeito de matriz.

A exatidão na quantificação de resíduos de agrotóxicos em amostras ambientais é de suma importância, sendo necessário o desenvolvimento de estratégias para contornar o problema de alta recuperação de certos compostos. Este problema pode estar associado à presença nos extratos, que são analisados por cromatografia em fase gasosa, de co-extrativos da matriz

(MENKISSOGLU-SPIROUDI & FOTOPOULOU, 2004).

Um método bem comum e simples usado em laboratórios oficiais e em trabalhos científicos que monitoram resíduos de agrotóxicos é a utilização de curva analítica proveniente de soluções-padrão preparadas em extratos da matriz, para quantificação dos compostos de interesse. Esse método é denominado superposição de matriz.

Nesta técnica, as soluções-padrão são preparadas em extratos da matriz, livres de agrotóxicos (branco) e analisadas por cromatografia gasosa. Com isso, os próprios componentes da matriz ocupam os sítios ativos do injetor durante análise do padrão, assim como acontece na análise dos extratos (PINHO et al., 2009b).

Pode-se também utilizar o método de adição de padrão na própria matriz, ou ainda, realizar etapas de *clean up* dos extratos para reduzir a concentração dos co-extrativos (POOLE, 2007).

Outro método muito utilizado para contornar o problema de alta recuperação de determinados agrotóxicos é a realização de injeção de amostra diretamente na coluna, denominada de on-column. Embora ocorra uma transferência indiscriminada dos componentes da matriz no sistema cromatográfico, a injeção direta na coluna em alguns casos apresenta efeito de matriz, associada à coluna cromatográfica, e não à forma de injeção (ANASTASSIADES et al., 2003).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivos gerais

- Analisar resíduos de agrotóxicos em abacaxi por cromatografia gasosa com detecção por captura de elétrons;
- Otimizar e validar a técnica extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura, e otimizar a técnica de extração por dispersão de matriz em fase sólida, para extração e análise dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina em abacaxi.

3.2. Objetivos específicos

- Estabelecer as condições de análise dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina em extratos de amostras de abacaxi por cromatografia gasosa com detecção por captura de elétrons;
- Otimizar a técnica extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura para extração e análise multirresíduo de agrotóxicos em abacaxi;
- Validar a metodologia otimizada para análise multirresíduo de agrotóxicos em abacaxi;

- Avaliar a influência dos componentes do abacaxi na quantificação dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina em análise de abacaxi por cromatografia gasosa;
- Empregar a metodologia otimizada e validada para a extração e quantificação dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina em amostras de abacaxi obtidas no comércio;
- Otimizar a técnica de extração por dispersão de matriz em fase sólida para extração e análise multirresíduo de agrotóxicos em abacaxi;
- Comparar a metodologia otimizada para a extração e quantificação dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina em amostras de abacaxi, com a técnica extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura

4.1.1. Preparo de soluções-padrão

Soluções-padrão estoque de cada agrotóxico estudado, na concentração de $1000,0 \text{ mg L}^{-1}$, foram preparadas pela solubilização de padrões de atrazina (97,5% m/m) e thiamethoxam (99,7% m/m), obtidos da Sigma-Aldrich, triadimenol (99,06% m/m), obtido da Bayer, e deltametrina (99,0% m/m), obtido da Chem Service, em acetonitrila da Vetec/HPLC. A solução de trabalho contendo os agrotóxicos atrazina e triadimenol na concentração de $50,0 \text{ mg L}^{-1}$, e thiamethoxam e deltametrina na concentração de $10,0 \text{ mg L}^{-1}$, foi preparada a partir da diluição das soluções-padrão estoque, com o mesmo solvente.

A solução-padrão estoque do padrão interno, na concentração de $1000,0 \text{ mg L}^{-1}$, foi preparada pela solubilização do padrão de bifentrina (92,2% m/m), obtida da FMC em acetonitrila. A partir da diluição da solução-padrão estoque foi preparada uma solução de trabalho na concentração $10,0 \text{ mg L}^{-1}$, com o mesmo solvente.

Estas soluções foram armazenadas em geladeira à temperatura de aproximadamente $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.1.2. Amostras de abacaxi

Para a realização da otimização e validação da técnica extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura foi utilizado abacaxi orgânico, do cultivar Pérola, proveniente do estado de Tocantins, e adquirido do Carrefour de Belo Horizonte.

Foram preparados brancos de cada amostra de abacaxi para confirmar a ausência dos agrotóxicos.

4.1.3. Extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT)

4.1.3.1. Preparo e fortificação das amostras de abacaxi

O abacaxi foi descascado, picado em pedaços e triturado em um multiprocessador doméstico até total homogeneização. Em seguida, em frascos de vidro transparente de 22,0 mL de capacidade, foram adicionadas 3,0000 g de polpa de abacaxi, medida em balança analítica (Sartorius BP 2215), sendo a amostra fortificada com 100,0 μL da solução de trabalho contendo os quatro agrotóxicos. As amostras fortificadas com 1,67 $\mu\text{g g}^{-1}$ de atrazina e triadimenol, e 0,33 $\mu\text{g g}^{-1}$ de thiamethoxam e deltametrina, foram deixadas em repouso por aproximadamente 3 horas em recipiente aberto, para que houvesse maior interação dos agrotóxicos com a amostra e para a evaporação do solvente. Posteriormente, estas amostras foram submetidas aos procedimentos de extração dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina em abacaxi.

4.1.3.2. Extração dos agrotóxicos em abacaxi

Aos frascos de vidro transparente contendo amostras de abacaxi trituradas e fortificadas, foram adicionados 10,0 mL de uma mistura extratora, constituída de 1,5 mL de água e 8,5 mL de acetonitrila. Após agitação

mecânica em mesa agitadora (Tecnal TE - 420) por 10 minutos a 25 °C e 200 oscilações por minuto, a mistura foi resfriada em freezer a -20 °C, por aproximadamente 12 horas. Após a separação das fases pelo congelamento da polpa de abacaxi juntamente com a fase aquosa, o líquido sobrenadante foi passado por um papel de filtro contendo 1,5000 g de sulfato de sódio anidro da Vetec, para eliminar possível presença de água. Ao extrato coletado em balão volumétrico de 10,0 mL, foram adicionados 100,0 µL de solução de bifentrina na concentração de 10,0 mg L⁻¹, sendo o mesmo recuperado em acetonitrila e armazenado em frasco de vidro no freezer, até o momento da análise.

Para análise dos extratos foi utilizado cromatógrafo a gás (Shimadzu GC-2014) com detector por captura de elétrons (CG/DCE), sendo que as concentrações dos agrotóxicos foram determinadas pela utilização do método do padrão interno.

4.1.4. Otimização da técnica extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura

A otimização da técnica extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura para análise dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina em amostras de abacaxi foi adaptada das técnicas para extração de deltametrina e cipermetrina em leite (GOULART, 2004) e para extração de clorpirifós, cipermetrina, λ-cialotrina e deltametrina em tomate (PINHO, 2007).

No processo de otimização desta técnica foram avaliados fatores que influenciam na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos, bem como proporcionam condições ótimas de análise.

Os fatores que foram avaliados para otimizar a técnica ESL-PBT em amostras de abacaxi, são mostrados na Tabela 1., sendo os ensaios realizados em triplicata.

Tabela 1. Fatores otimizados empregando a técnica ESL-PBT de agrotóxicos em amostras de abacaxi

Fatores otimizados	Níveis
Massa de abacaxi (g)	2,0000; 3,0000; 4,0000 e 5,0000
Adsorvente	Florisil, octadecil e sílica
Massa de adsorvente (g)	1,0000 e 2,0000
Mistura extratora (mL)	Acetonitrila/água/acetato de etila (7,0/ 1,5/ 1,5) (5,5/ 3,0/ 1,5) (7,0/ 3,0/ 0,0)
Modo de homogeneização	Mesa agitadora (10 e 20 minutos) Ultra-som (5 e 10 minutos) Vortex (30 segundos e 1 minuto)
Força iônica	1,5 mL de solução de NaCl 0,2 mol L ⁻¹

4.1.4.1. Determinação da massa de abacaxi

Avaliou-se a quantidade de abacaxi ideal para aplicar a técnica ESL-PBT. Nesse estudo, massas de 2,0000; 3,0000; 4,0000 e 5,0000 g foram medidas separadamente em frascos de vidro com 22,0 mL de capacidade e fortificadas como descrito no item 4.1.3.1. Em seguida, a técnica ESL-PBT foi utilizada como descrito no item 4.1.3.2.

4.1.4.2. Avaliação da eficiência de adsorventes no *clean up* dos extratos

Os extratos orgânicos obtidos de amostras de abacaxi submetidas à técnica ESL-PBT (item 4.1.3.2.) passaram por uma etapa de *clean up* com adsorventes. Após a etapa de resfriamento a -20 °C, por aproximadamente 12 horas, a fase orgânica foi passada por um papel de filtro contendo 0,5000 g de adsorvente e 1,5000 g de sulfato de sódio anidro, como camada superior. Antes dos extratos serem recuperados para 10,0 mL em balão volumétrico, com acetonitrila e armazenados em frasco de vidro no freezer, até o momento da análise, foram adicionados a eles 100,0 µL de solução de bifentrina na concentração de 10,0 mg L⁻¹.

Os adsorventes avaliados foram: florisil, obtido da Sigma-Aldrich, octadecil - C18, obtida da Supelco, e sílica gel, obtida da Merck.

Com o objetivo de se avaliar qual adsorvente remove de forma mais efetiva os pigmentos dos extratos de abacaxi, foi avaliada a intensidade da cor destes em espectrofotômetro UV-visível, (Hitachi U-1100), realizando varredura na região do UV-visível de 250 a 700 nm. Os extratos orgânicos foram obtidos de amostras de abacaxi submetidas à técnica ESL-PBT, após etapa de *clean up*, como no procedimento descrito anteriormente.

4.1.4.3. Determinação da massa de adsorvente no *clean up* dos extratos

Foi avaliada a massa de adsorvente ideal para ser empregada no *clean up* dos extratos, usando o método proposto no item 4.1.4.2. Para esse estudo, massas de 1,0000 e 2,0000 g do adsorvente que proporcionaram os melhores resultados no item anterior foram utilizadas.

4.1.4.4. Avaliação da mistura extratora ideal

Para a ESL-PBT dos agrotóxicos de interesse em abacaxi foram avaliadas três misturas de solventes, constituídas de acetonitrila, água e acetato de etila (Vetec), com o objetivo de avaliar a taxa de recuperação dos princípios ativos a partir das modificações da polaridade da mistura extratora. Para o estudo das misturas de três componentes, o espaço experimental chamado de simplex, foi esboçado em um triângulo equilátero (GARCIA, 2003).

Foram determinados limites inferiores e limites superiores para cada solvente. Nesses limites, as misturas extratoras mantêm as características necessárias para a técnica ESL-PBT, ou seja, inicialmente elas devem ser homogêneas, e com o abaixamento da temperatura deve ocorrer separação de fases.

A Tabela 2. apresenta os limites estabelecidos.

Tabela 2. Limites inferiores e limites superiores de cada solvente da mistura extratora

Solvente	Limite inferior (% v/v) - Limite superior(% v/v)
Acetonitrila	55 - 70
Água	15 - 30
Acetato de etila	0 - 15

Os limites demarcaram no triângulo equilátero um novo triângulo menor, como mostrado na Figura 11.

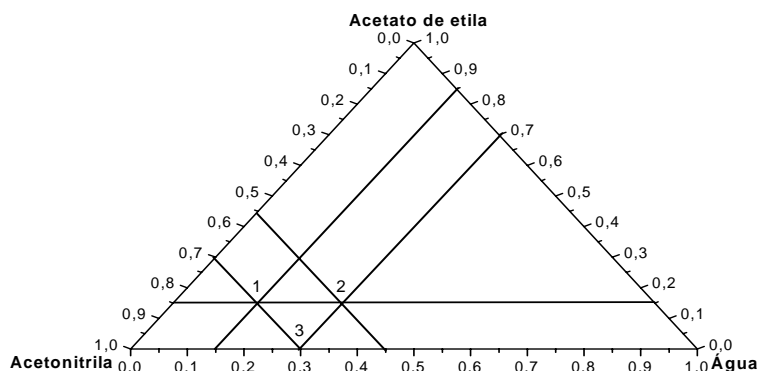


Figura 11. Região demarcada pelos limites inferiores e superiores, determinando as proporções dos solventes das misturas extratoras.

Os vértices 1, 2 e 3 deste triângulo representam as misturas extratoras obtidas pelos limites estabelecidos. O volume total das misturas extratoras adicionadas às amostras de abacaxi fortificadas de acordo com o item 4.1.3.1. foi igual a 10,0 mL, sendo estabelecidos os volumes de cada solvente nas misturas extratoras estudadas (Tabela 3.).

Tabela 3. Composição das misturas extratoras empregadas em amostras de abacaxi fortificadas

Mistura extratora	Componentes			Volumes adicionados (mL)		
	Acetonitrila	Água	Acetato de etila	Acetonitrila	Água	Acetato de etila
1	70	15	15	7,0	1,5	1,5
2	55	30	15	5,5	3,0	1,5
3	70	30	0	7,0	3,0	0,0

Em seguida, a técnica ESL-PBT foi utilizada como descrito no item 4.1.3.2.

Para cada mistura extratora foi avaliada as porcentagens de recuperação dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina.

4.1.4.5. Avaliação do modo e tempo de homogeneização da amostra com a mistura extratora

Analisou-se a influência do modo e tempo de homogeneização de amostras de abacaxi com a mistura extratora na eficiência de extração dos agrotóxicos estudados. Os seguintes sistemas e tempos de homogeneização foram avaliados: agitação mecânica em mesa agitadora por 10 e 20 minutos a 25 °C e 200 oscilações por minuto, ultra-som (Unique) por 5 e 10 minutos, e vortex (Certomat) por 30 segundos e 1 minuto. Seguiu-se o método proposto no item 4.1.3., usando a mistura extratora que proporcionou os melhores resultados no item 4.1.4.4.

4.1.4.6. Avaliação do efeito da força iônica

O efeito da força iônica na eficiência de extração dos agrotóxicos em abacaxi foi estudado usando o método descrito no item 4.1.3., utilizando a mistura extratora, o modo e o tempo de homogeneização que proporcionaram os melhores resultados nos item 4.1.4.4. e 4.1.4.5., respectivamente. No entanto, a água adicionada à amostra foi substituída por uma solução de cloreto de sódio (Isofar) na concentração de 0,2 mol L⁻¹, aumentando-se assim a força iônica do meio.

4.1.5. Validação do método analítico

Os parâmetros analíticos considerados neste trabalho para validação do método extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura em abacaxi e análise por cromatografia gasosa com detector por captura de elétrons estão dispostos na Tabela 4.

Tabela 4. Parâmetros analíticos avaliados para validação do método ESL-PBT em amostras de abacaxi e análise por CG/DCE

Parâmetros analíticos	
Seletividade	
Linearidade de resposta do método	
Limite de detecção e limite de quantificação	
Exatidão	Ensaio de recuperação
Precisão	Repetitividade
	Precisão intermediária

Os procedimentos realizados na validação do método analítico proposto foram baseados nas orientações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2003), do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO, 2007), e no artigo sobre normas de validação publicado por RIBANI et al. (2004).

4.1.5.1. Seletividade

A seletividade do método analítico foi avaliada comparando-se cromatogramas de extratos da matriz isenta dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina, com cromatogramas de extratos da matriz fortificada com estes. Todos os extratos foram preparados e analisados de acordo com a metodologia otimizada.

4.1.5.2. Linearidade de resposta do método

A linearidade de resposta do método foi determinada pela injeção de extratos obtidos de amostras fortificadas em 7 concentrações dos princípios ativos atrazina (1,17 a 2,67 $\mu\text{g g}^{-1}$), thiamethoxam (0,040 a 0,67 $\mu\text{g g}^{-1}$), triadimenol (0,13 a 1,33 $\mu\text{g g}^{-1}$) e deltametrina (0,042 a 0,42 $\mu\text{g g}^{-1}$), submetidas à técnica de extração otimizada.

Após a análise cromatográfica dos extratos foram construídas curvas analíticas, relacionando as razões das áreas dos analitos e do padrão interno com as concentrações mencionadas. A linearidade foi avaliada pelo coeficiente de determinação obtido pela regressão linear destas curvas, e por avaliação de gráficos da razão sinal/concentração versus concentração em escala logarítmica.

4.1.5.3. Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção (LD) do método proposto foi determinado considerando o valor igual a três vezes o sinal da linha de base (ruído) obtido pela injeção e análise por CG/DCE de extrato de amostra de abacaxi isenta de agrotóxicos. O limite de quantificação (LQ) foi determinado considerando um sinal dez vezes maior que o sinal do ruído.

Extratos da matriz contaminados pelos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina em diferentes concentrações foram injetados até ser observada a relação sinal ruído nas proporções 3:1 e 10:1 para os limites de detecção e quantificação, respectivamente.

4.1.5.4. Exatidão

Para avaliar a exatidão do método proposto foram realizados ensaios de recuperação.

Nos ensaios de recuperação os agrotóxicos foram adicionados às amostras de abacaxi em concentrações iguais a uma, duas e dez vezes os seus limites de quantificação, com exceção à terceira concentração referente à atrazina. Ou seja, as concentrações nessas amostras foram iguais a: 1,17; 2,34 e 2,50 $\mu\text{g g}^{-1}$ para a atrazina, 0,17; 0,34 e 1,70 $\mu\text{g g}^{-1}$ para o triadimenol, e 0,050; 0,10 e 0,50 $\mu\text{g g}^{-1}$ para o thiamethoxam e para a deltametrina.

4.1.5.5. Precisão

A precisão do método foi avaliada, por um estudo intralaboratorial, onde se analisaram a repetitividade e a precisão intermediária.

4.1.5.5.1. Repetitividade

A repetitividade, conforme recomendado pelo INMETRO (2007), foi avaliada pelo preparo, injeção e análise no mesmo dia de sete extratos de amostras de abacaxi fortificadas com os quatro agrotóxicos, e submetidas à técnica de extração otimizada, em concentrações iguais a duas vezes o limite de quantificação de cada agrotóxico. Para tal avaliação, foram determinados os

coeficientes de variação (CV) referentes às porcentagens de recuperação de cada agrotóxico.

4.1.5.5.2. Precisão intermediária

A precisão intermediária foi avaliada por meio da porcentagem de recuperação dos agrotóxicos em estudo, e seus respectivos coeficientes de variação, obtidos da análise dos extratos de sete amostras de abacaxi fortificadas com os quatro agrotóxicos, e submetidas pela técnica de extração otimizada, em concentrações iguais a duas vezes o limite de quantificação de cada um, em três dias diferentes (1^o, 7^o e 28^o dias).

4.1.6. Influência dos componentes do abacaxi na quantificação dos agrotóxicos por cromatografia gasosa

A influência dos componentes do abacaxi na resposta do detector foi avaliada pela análise e comparação de curvas analíticas, em que as soluções-padrão foram preparadas em solvente puro e em extrato da matriz isenta dos agrotóxicos em estudo. Duas séries de soluções-padrão contendo os agrotóxicos nas concentrações 200,0; 250,0; 300,0; 400,0 e 500,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para a atrazina, 50,0; 75,0; 100,0; 250 e 500,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o triadimenol, e 10,0; 50,0; 100,0; 250,0 e 500,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o thiamethoxam e deltametrina, foram preparadas. Na primeira série, as soluções-padrão foram preparadas pela diluição da solução de trabalho contendo os quatro analitos em acetonitrila pura. Na segunda série, as soluções-padrão foram preparadas pela diluição da mesma solução de trabalho em extrato da matriz. Este extrato foi obtido a partir de amostras de abacaxi, isentas dos princípios ativos, submetidas à técnica ESL-PBT otimizada. Todas as soluções deste ensaio foram preparadas em duplicata.

4.1.7. Aplicação da técnica ESL-PBT em amostras de abacaxi

A técnica ESL-PBT desenvolvida para determinação dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina otimizada e validada, foi aplicada em amostras de abacaxi, cultivar 'Pérola' procedentes das cidades Marataízes (ES), Miracema do Tocantins (TO) e Monte Alegre de Minas (MG). Estas amostras foram adquiridas aleatoriamente em cada cidade, sendo constituída de dois abacaxis por amostra.

Após receber as amostras, essas foram descascadas, trituradas até que uma massa homogênea fosse obtida, acondicionadas em potes de polietileno, vedadas, identificadas e conservadas em freezer. No momento da extração as amostras foram deixadas a temperatura ambiente até descongelarem. Massas de 3,0000 g das amostras de abacaxi foram retiradas e submetidas ao processo de extração ESL-PBT otimizado, sendo os extratos obtidos analisados por CG/DCE. Todas as análises foram realizadas em triplicata, tomando-se cuidado especial na limpeza do material utilizado.

4.2. Dispersão de matriz em fase sólida

4.2.1. Preparo de soluções-padrão

Soluções-padrão estoque de cada agrotóxico estudado, na concentração de 1000,0 mg L⁻¹, foram preparadas pela solubilização de padrões de atrazina (97,5% m/m) e thiamethoxam (99,7% m/m), obtidos da Sigma-Aldrich, triadimenol (99,06% m/m), obtido da Bayer, e deltametrina (99,0% m/m), obtido da Chem Service, em acetonitrila da Vetec/HPLC. A solução de trabalho contendo os agrotóxicos atrazina e triadimenol na concentração de 5,0 mg L⁻¹, e thiamethoxam e deltametrina na concentração de 1,0 mg L⁻¹ foi preparada a partir da diluição das soluções-padrão estoque, com o mesmo solvente.

A solução-padrão estoque do padrão interno, na concentração de 1000,0 mg L⁻¹, foi preparada pela solubilização do padrão de bifentrina (92,2% m/m), obtida da FMC em acetonitrila. A partir da diluição da solução-padrão estoque foi preparada uma solução de trabalho na concentração 1,0 mg L⁻¹, com o mesmo solvente. Estas soluções foram armazenadas em temperatura de 4 °C em geladeira.

4.2.2. Amostras de abacaxi

Para a realização da otimização da técnica de extração por dispersão de matriz em fase sólida foi utilizado abacaxi orgânico, do cultivar Pérola, proveniente do estado de Tocantins, e adquirido do Carrefour de Belo Horizonte.

Foram preparados brancos de cada amostra de abacaxi para confirmar a ausência dos agrotóxicos.

4.2.3. Dispersão de matriz em fase sólida (DMFS)

4.2.3.1. Preparo e fortificação das amostras de abacaxi

O abacaxi foi descascado, picado em pedaços e triturado em um multiprocessador doméstico até total homogeneização. Em seguida, quantidades da polpa obtida iguais a 1,0000 g, medida em balança analítica (Sartorius BP 2215), foram colocadas em cápsula de porcelana, e fortificadas com 100,0 µL da solução de trabalho contendo os quatro agrotóxicos. As amostras fortificadas com 1,67 µg g⁻¹ de atrazina e triadimenol, e 0,33 µg g⁻¹ de thiamethoxam e deltametrina, foram deixadas em repouso por aproximadamente 3 horas em recipiente aberto, para que houvesse maior interação dos agrotóxicos com a amostra e para a evaporação do solvente. Posteriormente, estas amostras foram submetidas aos procedimentos de extração dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina

em abacaxi.

4.2.3.2. Extração dos agrotóxicos em abacaxi

Às cápsulas de porcelana contendo 1,0000 g de polpa de abacaxi contaminada, foram acrescentados 0,5000 g de adsorvente. Em seguida, macerou-se a mistura constituída de adsorvente e polpa de abacaxi, na proporção 1:2, até completa dispersão da amostra. A mistura foi transferida para uma coluna de polietileno (cartucho) de 6,0 mL, contendo 1,0000 g de sulfato de sódio anidro da Vetec, retido por camada de papel adsorvente, para eliminar possível presença de água.

Adicionaram-se 10,0 mL de acetato de etila (Vetec), ao cartucho em duas porções de 5,0 mL. A eluição ocorreu a uma vazão de aproximadamente $0,5 \text{ mL min}^{-1}$. Uma representação esquemática da eluição dos extratos nesta técnica de extração pode ser mostrada na Figura 12.

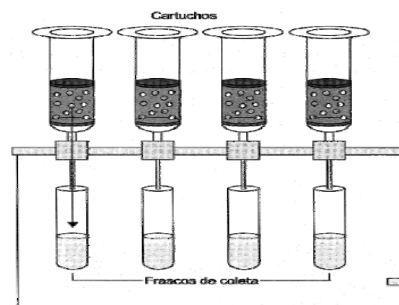


Figura 12. Representação esquemática da eluição dos extratos na técnica de extração por dispersão de matriz em fase sólida em cartuchos de polietileno.

Ao extrato coletado acrescentaram-se $100,0 \mu\text{L}$ de solução de bifentrina na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$. Evaporou-se o solvente sob corrente de ar, e o extrato recuperado em $1,0 \text{ mL}$ de acetonitrila foi armazenado em frasco de vidro no freezer, até o momento da análise.

Após a extração dos agrotóxicos, as concentrações dos mesmos foram determinadas em cromatógrafo a gás (Shimadzu GC-2014) com detecção por captura de elétrons (CG/DCE), utilizando o método do padrão interno.

4.2.4. Otimização da técnica de extração por dispersão de matriz em fase sólida

No processo de otimização da técnica de extração por dispersão de matriz em fase sólida foram avaliados primeiramente os parâmetros adsorvente e eluente.

4.2.4.1. Avaliação do adsorvente para a técnica de extração por DMFS

O procedimento descrito no item 4.2.3. foi empregado para avaliar a influência dos adsorventes florisil, obtido da Sigma-Aldrich, octil - C8, obtida da Supelco, e sílica gel, obtida da Merck, na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos e na remoção dos componentes da matriz, sendo os ensaios realizados em duplicata.

4.2.4.2. Avaliação do eluente para a técnica de extração por DMFS

O procedimento descrito no item 4.2.3. foi empregado para avaliar o eluente ideal para a técnica de extração por DMFS em amostras de abacaxi, no que diz respeito à porcentagem de recuperação dos agrotóxicos, sendo os ensaios realizados em duplicata.

Acetato de etila e mistura entre hexano e acetona na proporção 9:1, foram utilizados nesta etapa de otimização. Estes solventes foram obtidos da Vetec.

4.2.4.3. Planejamento fatorial 2^3

A técnica de extração por DMFS foi submetida à outra etapa de otimização para extração dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina em abacaxi, para avaliar o comportamento simultâneo dos fatores: (1) proporção entre adsorvente e amostra, (2) utilização de co-coluna e (3) utilização de ultra-som, onde foi realizado um planejamento fatorial 2^3 . Para cada um dos fatores foram estudados dois níveis, nível mínimo (-) e nível máximo (+).

Como o experimento envolve três fatores com dois níveis cada um, a execução do planejamento foi realizada em oito ensaios, com todas as possíveis combinações dos níveis (-) e (+). Cada ensaio foi realizado em duplicata, totalizando dezesseis experimentos (Tabela 5.).

Tabela 5. Planejamento fatorial 2^3 para avaliação de três fatores na recuperação de agrotóxicos em abacaxi usando a técnica de extração por DMFS

Experimentos	Fatores codificados			Fatores originais		
	F(1)	F(2)	F(3)	Adsorvente/ amostra (1)	Co-coluna (2)	Ultra-som (3)
1 e 2	-	-	-	1:1	sem	sem
3 e 4	+	-	-	1:2	sem	sem
5 e 6	-	+	-	1:1	com	sem
7 e 8	+	+	-	1:2	com	sem
9 e 10	-	-	+	1:1	sem	com
11 e 12	+	-	+	1:2	sem	com
13 e 14	-	+	+	1:1	com	com
15 e 16	+	+	+	1:2	com	com

Em cápsula de porcelana foi adicionado 1,0000 g de amostra de abacaxi orgânico, fortificada com os agrotóxicos (item 4.2.3.1.). Acrescentou-se 1,0000 ou 0,5000 g do adsorvente sílica correspondentes aos níveis (-) e (+) do fator F(1) do planejamento, respectivamente (Tabela 5.). Triturou-se a mistura até completa dispersão da matriz, sendo esta em seguida, transferida para um cartucho contendo 1,0000 g de sulfato de sódio anidro e co-coluna constituída de 0,5000 g de florisil, caso o experimento correspondesse ao nível (+) do fator F(2) do planejamento. Ao cartucho, foram adicionados 5,0 mL de acetato de etila, sendo este levado ao banho ultra-sônico (Unique) por 10 min. Esta última etapa foi realizada somente para os experimentos pertencentes ao nível (+) do fator F(3) do planejamento. Posteriormente, foi realizada a eluição com mais 5,0 mL de acetato de etila, e o extrato foi coletado em frasco de vidro. Ao mesmo foram adicionados 100,0 μL de solução do padrão interno (bifentrina) a $1,0 \text{ mg L}^{-1}$. O solvente foi evaporado sob corrente de ar e o extrato recuperado em 1,0 mL de acetonitrila, transferido e armazenado em frasco de vidro no freezer até o momento da análise.

As porcentagens de recuperação obtidas nos experimentos para cada um dos agrotóxicos foram utilizadas para avaliar os efeitos de cada fator.

4.3. Análise cromatográfica

As análises qualitativa e quantitativa dos princípios ativos estudados foram realizadas em cromatógrafo a gás Shimadzu, modelo GC-2014, com detector por captura de elétrons (DCE), equipado com auto-injetor AOC-20i.

As condições analíticas otimizadas para as análises, 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 pequeno tempo de análise, uma boa resolução e separação dos picos dos agrotóxicos de interesse.

A seguir encontram-se descritas as condições ideais determinadas:

- Coluna capilar HP-5 da Agilent Technologies, com fase estacionária composta de 5 % de fenilmetilsiloxano e 95 % de dimetilsiloxano, 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,1 μm de espessura de filme.
- Programação de aquecimento da coluna:
 $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ (2 min) $\xrightarrow{20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}}$ $210\text{ }^{\circ}\text{C}$ $\xrightarrow{10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}}$ $290\text{ }^{\circ}\text{C}$ (5 min)
- Tempo total de análise: 18 minutos
- Temperatura do injetor: $280\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Temperatura do detector: $300\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Volume injetado: $1,0\text{ }\mu\text{L}$
- Divisão de fluxo: 1:5
- Gás de arraste: nitrogênio
- Vazão do gás de arraste: $1,2\text{ mL min}^{-1}$

4.3.1. Curvas analíticas e linearidade de resposta do detector

A quantificação dos agrotóxicos foi realizada pelo método da padronização interna.

Soluções-padrão de concentrações crescentes dos analitos ($100,0$; $300,0$; $400,0$; $500,0$; $600,0$; $700,0$ e $750,0\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ para a atrazina; $50,0$; $75,0$;

100,0; 300,0; 500,0; 600,0 e 750,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o triadimenol; 10,0; 50,0; 100,0; 300,0; 500,0; 600,0 e 750,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o thiamethoxam e deltametrina), contendo como padrão interno bifentrina na concentração 100,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, foram preparadas em acetonitrila, e analisadas em cromatógrafo a gás nas condições analíticas pré-determinadas.

Após análise dessas soluções foram construídas curvas analíticas, uma para cada princípio ativo, relacionando a razão entre as áreas dos picos atribuídos às substâncias de interesse e a área do pico do padrão interno (área do analito/área do padrão interno) com as respectivas concentrações dos analitos.

Pelas regressões lineares destas curvas analíticas, foram obtidas equações da reta que foram utilizadas para calcular as concentrações dos agrotóxicos nas amostras.

Nos extratos das amostras de abacaxi também foi adicionada a mesma quantidade de padrão interno, permitindo determinar pela razão das áreas, a concentração dos compostos.

Avaliou-se a linearidade de resposta do detector por captura de elétrons frente aos compostos estudados, pelo coeficiente de determinação (R^2) das curvas analíticas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análise cromatográfica

A cromatografia gasosa é um método analítico, de alto potencial de separação e resolução, o que torna possível a identificação e quantificação de muitos compostos orgânicos, inclusive os de interesse ambiental, como os agrotóxicos (COLLINS et al., 2006).

A identificação dos compostos de interesse é realizada por comparação entre os tempos de retenção (t_R) referentes aos picos destes em solução-padrão e em extratos (COLLINS et al., 2006).

A análise cromatográfica das soluções-padrão contendo os agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina, e dos extratos obtidos a partir de amostras de abacaxi fortificadas com os mesmos, pelas técnicas extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura e dispersão de matriz em fase sólida, foi realizada como descrito no item 4.3.

A identificação dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol, bifentrina e deltametrina foi realizada por comparação entre os tempos de retenção referentes aos picos destes em solução-padrão e em extrato de abacaxi. Cromatogramas característicos de uma solução-padrão contendo os quatro agrotóxicos e de extratos da matriz fortificada com os mesmos são mostrados na Figura 13.

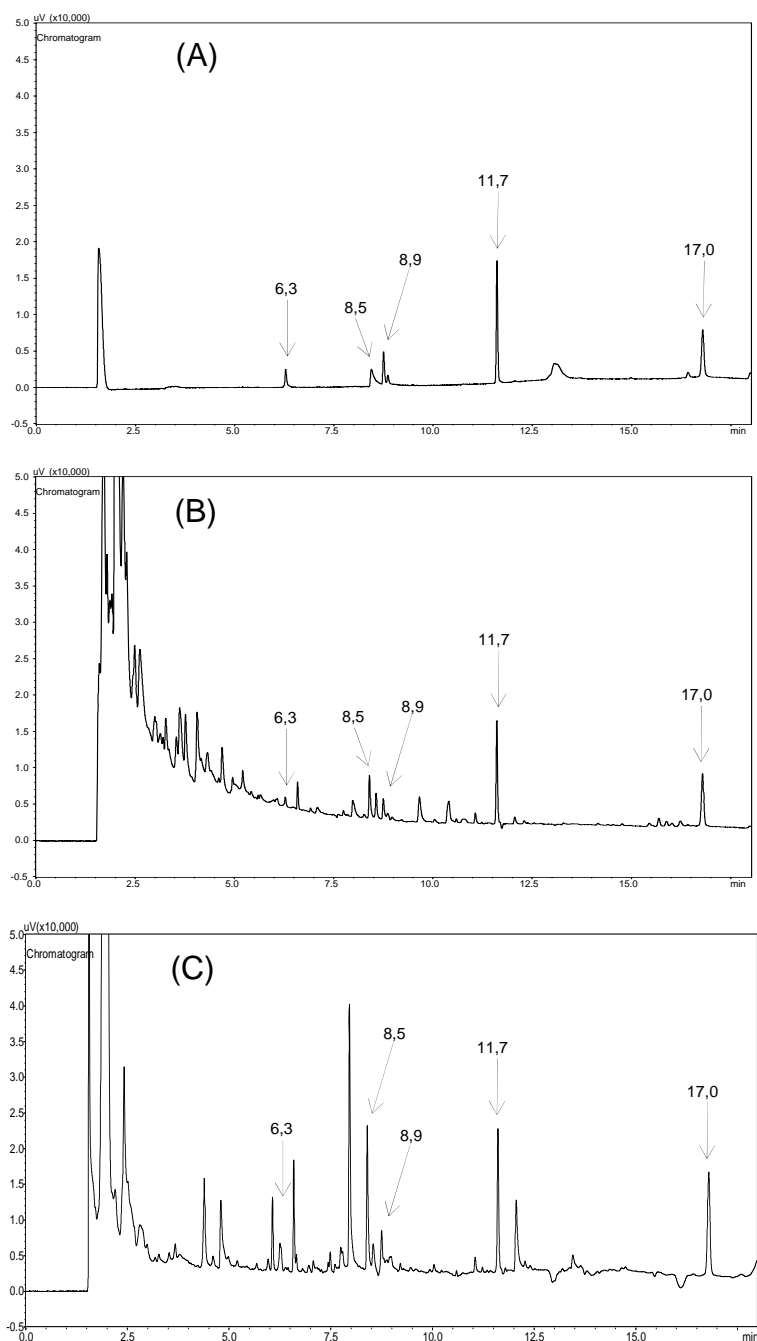


Figura 13. (A) Cromatograma da solução-padrão dos agrotóxicos atrazina e triadimenol na concentração de $500,0 \mu\text{g L}^{-1}$, e dos agrotóxicos thiamethoxam e deltametrina na concentração de $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$, (B) cromatograma de extrato obtido de amostra de abacaxi fortificada e submetida à técnica ESL-PBT, com $1,67 \mu\text{g g}^{-1}$ de atrazina e triadimenol, e $0,33 \mu\text{g g}^{-1}$ de thiamethoxam e deltametrina, (C) cromatograma de extrato obtido de amostra de abacaxi fortificada e submetida à técnica de extração por DMFS, com $1,67 \mu\text{g g}^{-1}$ de atrazina e triadimenol, e $0,33 \mu\text{g g}^{-1}$ de thiamethoxam e deltametrina ($t_R = 6,3$ min: atrazina, $t_R = 8,5$ min: thiamethoxam, $t_R = 8,9$ min: triadimenol, $t_R = 11,7$ min: bifentrina, $t_R = 17,0$ min: deltametrina).

As condições cromatográficas estabelecidas possibilitaram separação e alta resolução dos quatro princípios ativos analisados.

O tempo total de análise foi de 18,0 minutos, que pode ser considerado relativamente curto, pela quantidade de compostos presentes no extrato. Observam-se nos cromatogramas dos extratos (cromatogramas B e C da Figura 13.), a presença de vários picos, atribuídos aos componentes do abacaxi, próximos ao pico referente ao solvente acetonitrila, principalmente nos cinco primeiros minutos de análise.

A presença de picos duplos para o piretroide deltametrina está relacionada com a conversão deste composto em isômeros durante a injeção de soluções no cromatógrafo a gás (MAŠTOVSKÁ & LEHOTAY, 2004), sendo que a quantificação foi realizada somando-se as áreas dos dois picos com tempos de retenção próximos a 17,0 minutos.

5.1.1. Curvas analíticas e linearidade de resposta do detector

A quantificação dos agrotóxicos foi realizada pelo método da padronização interna. Dessa forma, após a análise das soluções-padrão preparadas em solvente puro em concentrações entre 10,0 e 750,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, foram construídas curvas analíticas para cada um dos compostos, escrevendo no gráfico a razão entre a área do pico do composto de interesse e a área do padrão interno, versus a concentração de cada agrotóxico.

O padrão interno escolhido, a bifentrina, é um composto do grupo químico dos piretroides. Este composto foi selecionado para tal função já que é similar aos analitos em estudo, possui pico bem resolvido e bem separado das demais substâncias, não se degrada, não reage com os componentes da matriz e possui tempo de retenção diferente dos tempos de retenção dos compostos analisados e dos componentes da matriz. Além disso, não é um produto autorizado para a cultura do abacaxi.

Dessa forma, foram obtidas por regressão linear, as equações das retas que permitiram calcular as concentrações dos analitos nas amostras (Figura 14.).

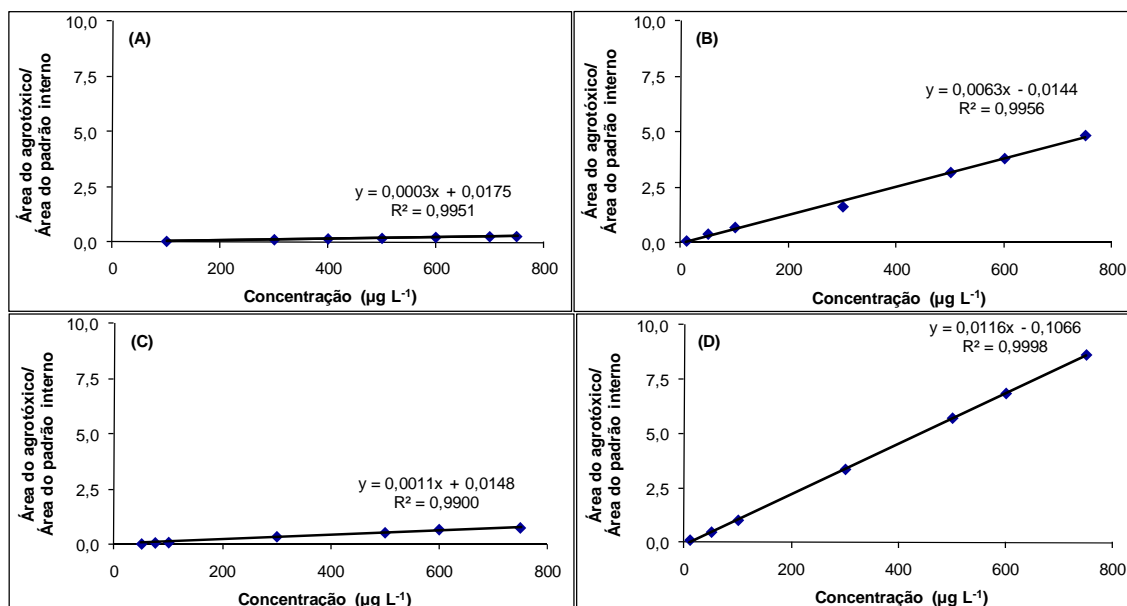


Figura 14. Curvas analíticas obtidas pela análise de soluções-padrão contendo os agrotóxicos (A) atrazina, (B) thiamethoxam, (C) triadimenol, (D) deltametrina, utilizando como padrão interno a bifentrina.

Os coeficientes de determinação (R^2) maiores que 0,9900, estão de acordo com as normas da ANVISA, e indicam que existe uma resposta linear do detector por captura de elétrons na faixa de concentração estudada.

Além disso, pode-se notar pelos coeficientes angulares das curvas analíticas, que o detector por captura de elétrons é mais sensível aos compostos thiamethoxam e deltametrina, que aos outros dois compostos. Esta sensibilidade está relacionada com a presença e a quantidade de átomos eletronegativos que capturam elétrons, cloro e bromo, nas moléculas de thiamethoxam e deltametrina, respectivamente.

5.2. Extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura

5.2.1. Otimização da técnica extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura

Segundo RIBANI et al. (2004), os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos geralmente estão entre 70 e 120%, com precisão de

até $\pm 20\%$. Porém, dependendo da complexidade analítica e da amostra, este valor pode ser de 50 a 120%, com precisão de até $\pm 15\%$.

Dessa forma, nesse trabalho foram otimizados alguns fatores de modo que a porcentagem de recuperação estivesse entre os intervalos aceitáveis de 50 e 120 %, devido à complexidade da amostra em estudo.

5.2.1.1. Determinação da massa de abacaxi

Inicialmente, foi avaliada a massa ideal de abacaxi a ser utilizada na técnica. Os resultados obtidos após avaliação desta variável para amostras de abacaxi são apresentados na Figura 15.

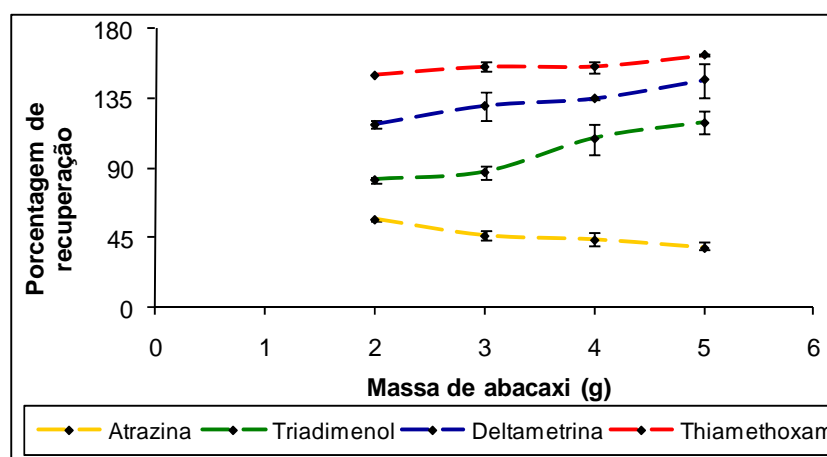


Figura 15. Influência da massa de abacaxi na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos.

Observa-se que quanto maior a presença de componentes do abacaxi em água, maior é a extração dos agrotóxicos para a fase orgânica, exceto para a atrazina que apresenta maior solubilidade em água em relação aos outros princípios ativos.

No entanto, durante a condução dos experimentos, observou-se que a massa de 2,0000 g de abacaxi era pequena para ser trabalhada, e que os extratos obtidos das massas 4,0000 e 5,0000 g de abacaxi apresentaram coloração amarelada mais intensa, possivelmente devido à extração de maior quantidade de componentes da matriz, aumentando significativamente a resposta cromatográfica dos agrotóxicos triadimenol, deltametrina e thiamethoxam.

Em 2008, SILVA otimizou e validou a técnica ESL-PBT para análise de clorpirifós, endosulfan, cipermetrina e deltametrina em carne bovina, onde foi observado que a massa de amostra influenciava na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos. Uma das vantagens de se utilizar maior massa de amostra é que maiores quantidades de analito são extraídos em um mesmo volume de solvente extrator. Entretanto, o uso de quantidades maiores de amostra pode levar a uma maior extração de co-extrativos da matriz.

Desta forma, decidiu-se trabalhar com a massa de 3,0000 g de abacaxi, já que esta proporcionou bons rendimentos de extração e obtenção de extratos com concentração mais baixa de co-extrativos.

5.2.1.2. Avaliação da eficiência de adsorventes no *clean up* dos extratos

Devido à coloração amarelada, consequência da presença de pigmentos nos extratos obtidos a partir de amostras de abacaxi, e à presença de outros co-extrativos, tornou-se necessário avaliar a eficiência de adsorventes no *clean up* desses extratos.

Neste trabalho foram utilizadas duas etapas de limpeza. A primeira etapa ocorreu durante o congelamento, em que parte dos componentes da matriz foi solidificada com a água. A segunda etapa sucedeu-se devido à utilização de adsorvente durante a filtração.

As taxas de recuperação dos agrotóxicos na ESL-PBT, utilizando os adsorventes florisil, C18 e sílica no *clean up* dos extratos são mostradas na Figura 16.

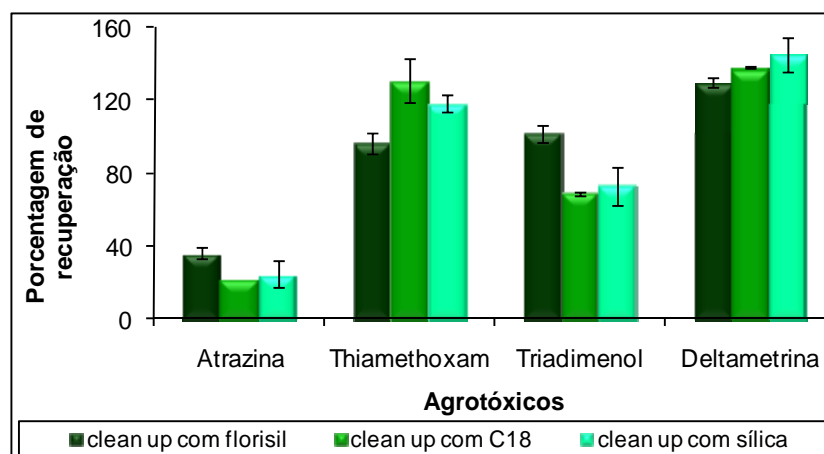


Figura 16. Influência de adsorventes na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos.

O uso do adsorvente C18 na tentativa de limpar os extratos não proporcionou o clareamento destes, além de diminuir os níveis de recuperação dos agrotóxicos atrazina e triadimenol (21,9% e 68,5%, respectivamente). As porcentagens de recuperação do thiamethoxam (131,1%) e da deltametrina (138,6%) foram superiores a 100% quando se utilizou este adsorvente, mostrando que este não elimina possíveis efeitos de matriz.

O adsorvente sílica influenciou positivamente no *clean up* dos extratos, proporcionou baixas taxas de recuperação para a atrazina e para o triadimenol (24,5% e 72,9%, respectivamente), e altos níveis de extração para o thiamethoxam (118,7%) e para a deltametrina (145,2%).

Já a adição do adsorvente florasil durante o processo de extração, mostrou-se ser mais eficiente na remoção dos componentes indesejáveis da matriz, e gerou maiores porcentagens de recuperação dos agrotóxicos atrazina e triadimenol (36,1% e 101,4%, respectivamente), quando comparadas aos outros dois adsorventes, e altos níveis de extração para os compostos thiamethoxam (96,5%) e deltametrina (129,9%).

A alta capacidade de adsorção do florasil e da sílica pode ser explicada pelo fato de que os componentes do abacaxi remanescentes no extrato, principalmente açúcares e flavonóides, interagem com as superfícies destes, que são polares, permitindo que os resíduos de agrotóxicos sejam eluídos com o solvente.

Observa-se um aumento significativo na resposta cromatográfica dos agrotóxicos thiamethoxam e deltametrina em extratos de abacaxi, ou seja, as taxas de recuperação destes compostos são superiores a 100%. Esse efeito é mais pronunciado quando se utiliza como adsorvente C18 ou sílica. Isso comprova que o florasil é mais eficiente na remoção de alguns componentes da matriz que interferem na análise cromatográfica, ou seja, ele atua na eliminação de co-extrativos.

A Figura 17. mostra os cromatogramas dos extratos obtidos pela técnica ESL-PBT utilizando os três adsorventes na etapa de *clean up*.

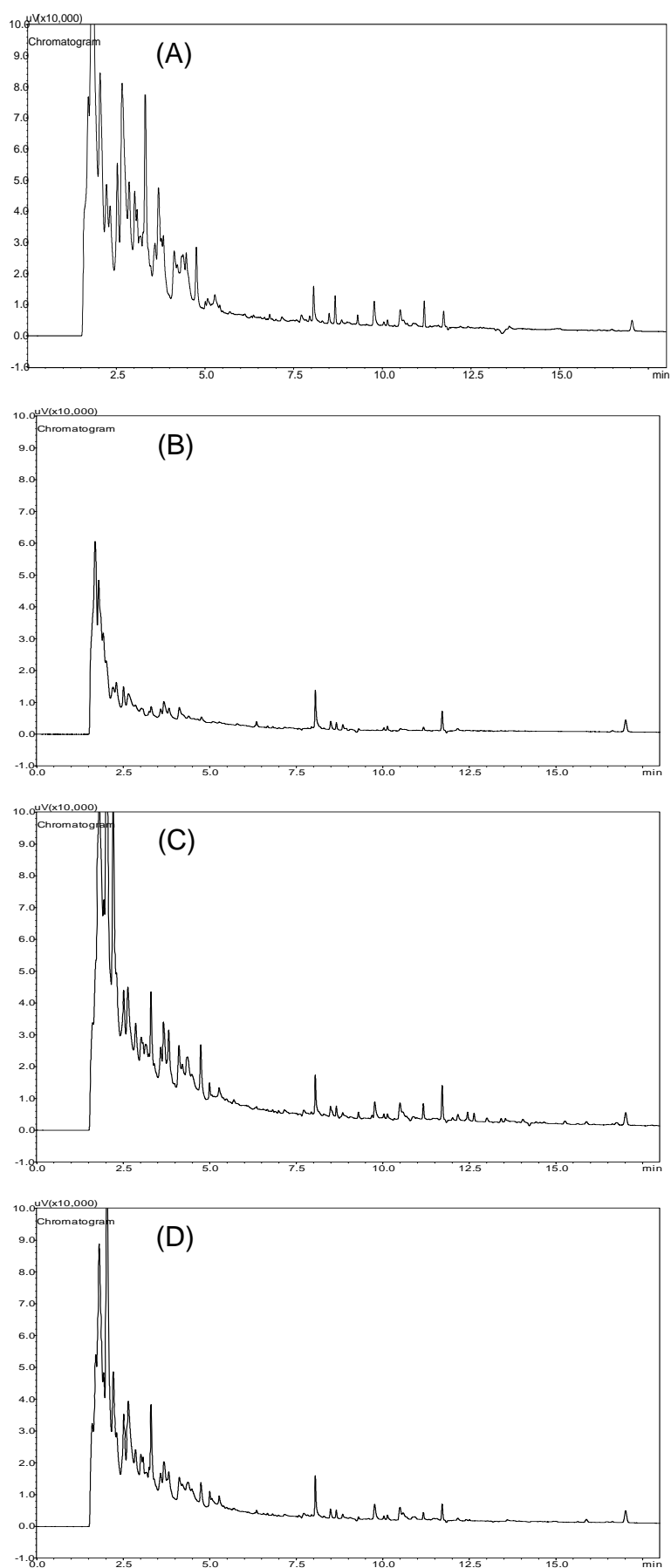


Figura 17. Cromatogramas dos extratos obtidos pela técnica ESL-PBT (A) sem etapa de *clean up*, e com etapa de *clean up*, utilizando como adsorventes: (B) florisil, (C) C18, (D) sílica.

Trabalho realizado por OVIEDO et al. (2003), onde foram analisados resíduos de cipermetrina, deltametrina e permetrina em diversas hortaliças, como, alface, acelga, batata, cenoura, chicória, chuchu, mandioca, repolho, tomate, entre outros, empregando extração sólido-líquido, seguida de *clean up* em coluna de florisil, demonstrou que este adsovente influenciou positivamente na limpeza dos extratos.

A remoção dos pigmentos observada nos extratos submetidos à etapa de *clean up* também foi acompanhada por espectrofotômetro na região do UV-visível.

Segundo BOBIN et al. (1995 apud SOUZA et al., 2005) nos comprimentos de onda entre 300 e 550 nm, há absorção de energia de pigmentos naturais denominados flavonóides. Estes antioxidantes estão presentes em várias frutas, inclusive no abacaxi (MANETTI et al., 2009).

Avaliando os espectros de absorção mostrados na Figura 18., verifica-se que a utilização dos adsorventes florisil e sílica promovem remoção de parte destes compostos, comportamento esse observado pelas menores absorbâncias no comprimento de onda de 320 nm.

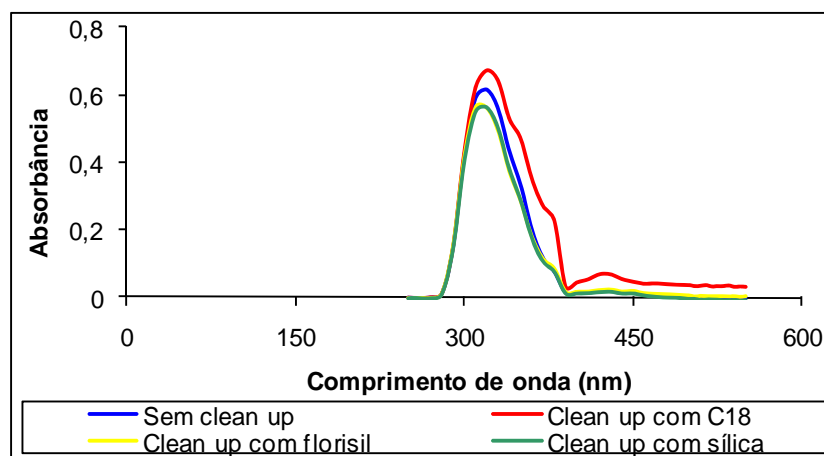


Figura 18. Espectros de absorção dos extratos obtidos a partir da técnica ESL-PBT de amostras de abacaxi isentas de agrotóxicos após etapa de *clean up* com os adsorventes florisil, C18 e sílica.

Em função dos resultados obtidos, decidiu-se utilizar o adsorvente florisil na etapa de *clean up*.

5.2.1.3. Determinação da massa de adsorvente no *clean up* dos extratos

Dependendo da complexidade da amostra é relevante avaliar a massa de adsorvente ideal utilizado no *clean up* dos extratos.

Neste sentido, avaliou-se o *clean up* dos extratos com 1,0000 e 2,0000 g de florisil. As taxas de recuperação dos agrotóxicos utilizando a técnica ESL-PBT, acompanhada de *clean up* com este adsorvente são mostradas na Figura 19.

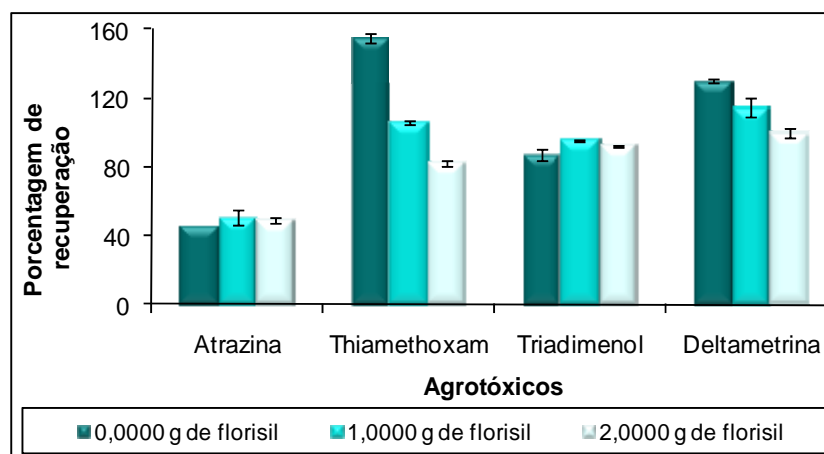


Figura 19. Influência da massa de adsorvente na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos.

Observa-se uma diminuição significativa na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos thiamethoxam e deltametrina, quando se realiza *clean up* nos extratos. Isso comprova que 1,0000 e 2,0000 g de florisil são eficientes na remoção de alguns componentes da matriz que interferem na análise cromatográfica, ou seja, ele atua na eliminação de co-extrativos.

No entanto, os resultados indicaram que o aumento da massa de florisil diminui a porcentagem de recuperação para os quatro agrotóxicos.

Observando os cromatogramas mostrados na Figura 20., pode-se perceber que o aumento de 1,0000 para 2,0000 g de florisil na etapa de *clean up* dos extratos não resultou cromatogramas com menor número de interferentes.

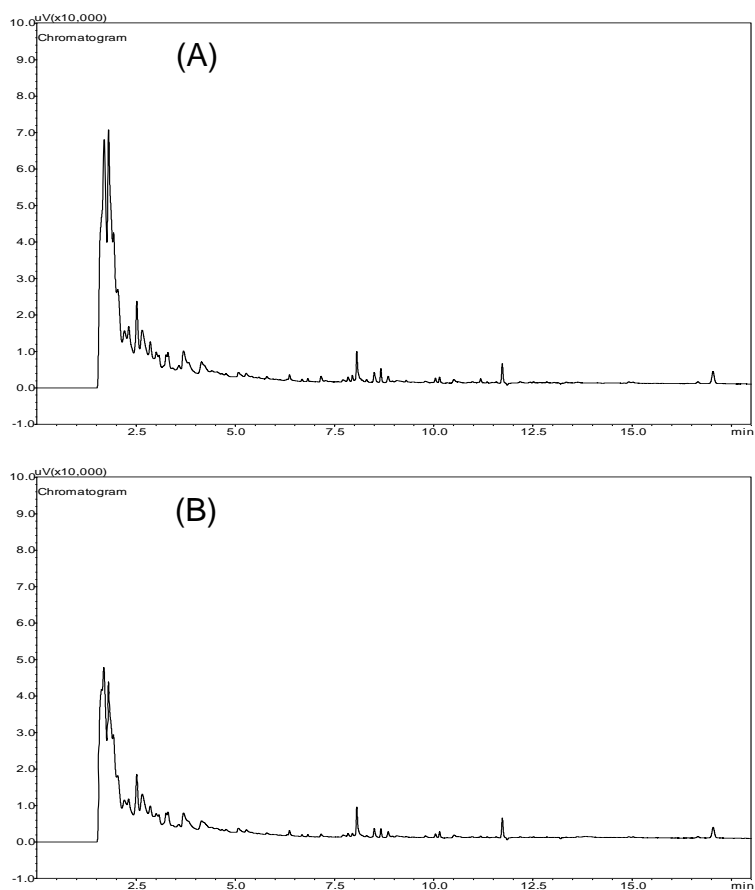


Figura 20. Cromatogramas dos extratos obtidos pela técnica ESL-PBT utilizando: (A) 1,000 g de florisil, (B) 2,000 g de florisil, como adsorvente na etapa de *clean up*.

PINHO (2009), realizando *clean up* em extratos obtidos após extração líquido-líquido com purificação em baixa temperatura (ELL-PBT) para análise de agrotóxicos em amostras de mel por cromatografia gasosa, observou também que a massa de adsorvente influencia na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos e na qualidade dos cromatogramas obtidos pela análise dos extratos. Os resultados indicaram que o aumento da massa de florisil (de 1,000 para 2,000 g), provoca diminuição da taxa de extração dos agrotóxicos estudados, entretanto proporciona obtenção de cromatogramas com menor número de interferentes.

Por estes motivos, optou-se por usar a massa de 1,000 g de florisil no *clean up* dos extratos.

5.2.1.4. Avaliação da mistura extratora ideal

Considerando que o abacaxi contém aproximadamente 85% de água, a cada 3,0000 g de amostra optou-se por adicionar 1,5 mL de água e 8,5 mL de fase orgânica para que a proporção água:fase orgânica se aproximasse da relação 1:2.

No intuito de se avaliar a influência da água na extração dos agrotóxicos, analisaram-se também as misturas extratoras acrescentando um volume máximo de água de 3,0 mL em 7,0 mL de fase orgânica, para a obtenção aproximada da proporção 1:1 entre água e fase orgânica.

A influência da redução da polaridade da mistura extratora na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos em abacaxi foi avaliada pela adição de acetato de etila, à mistura constituída de acetonitrila e água. Assim, a extração dos agrotóxicos menos polares pode ser favorecida por esta combinação. No entanto, a miscibilidade do acetato de etila em acetonitrila e água é limitada. VIEIRA et al. (2007) determinaram que para a proporção 1:2 entre água e fase orgânica, o volume máximo adicionado de acetato de etila é de 1,5 mL, para não romper o equilíbrio da fase única. Então, o volume máximo de acetato de etila adicionado à fase orgânica foi 1,5 mL.

Neste sentido, foram realizados testes a fim de se estabelecer a mistura extratora ideal para recuperação dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina em abacaxi.

A mistura extratora constituída por 7,0 mL de acetonitrila e 3,0 mL de água é a mistura de maior polaridade. Em contra partida, a mistura extratora composta por 7,0 mL de acetonitrila, 1,5 mL de água e 1,5 mL de acetato de etila é a menos polar. Já, a mistura extratora que contém 5,5 mL de acetonitrila, 3,0 mL de água e 1,5 mL de acetato de etila possui polaridade intermediária.

Os resultados mostrados na Figura 21. indicam que à medida que se diminui a polaridade da mistura extratora, a porcentagem de recuperação dos agrotóxicos aumenta. Ou seja, a mistura extratora menos polar, além de promover um aumento na taxa de recuperação dos compostos menos polares como a deltametrina, possibilitou também um aumento na porcentagem de extração dos compostos mais polares, como a atrazina. Resultados semelhantes a estes foram obtidos por PINHO (2007), que empregando um

planejamento de misturas extratoras, observou que a mistura menos polar proporcionou melhores níveis de recuperação de agrotóxicos em tomate.

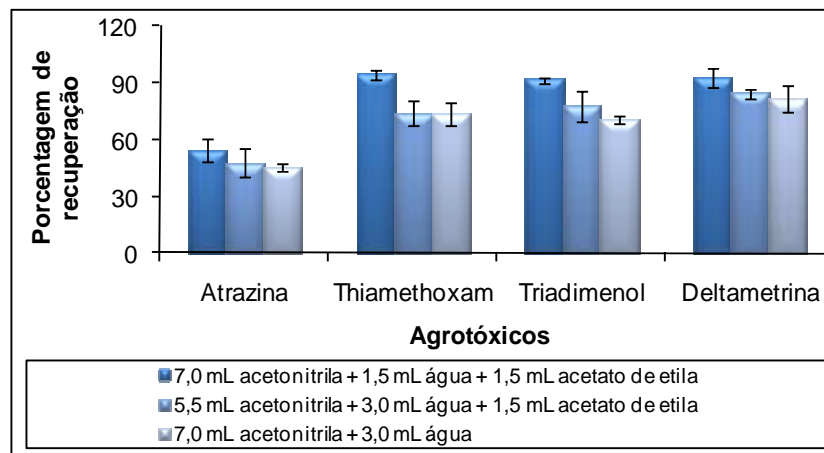


Figura 21. Influência da polaridade da mistura extratora na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos.

Portanto, foi considerada como mistura extratora ideal a menos polar, constituída por 7,0 mL de acetonitrila, 1,5 mL de água e 1,5 mL de acetato de etila, já que proporcionou os melhores rendimentos de extração.

5.2.1.5. Avaliação do modo e tempo de homogeneização da amostra com a mistura extratora

Uma das etapas mais importantes na extração de agrotóxicos é o contato entre a mistura extratora e a amostra. Em função disto, as amostras foram submetidas a três modos de homogeneização por tempos diferentes: mesa agitadora por 10 e 20 minutos, ultra-som por 5 e 10 minutos, e vortex por 30 segundos e 1 minuto. Os resultados são apresentados na Figura 22.

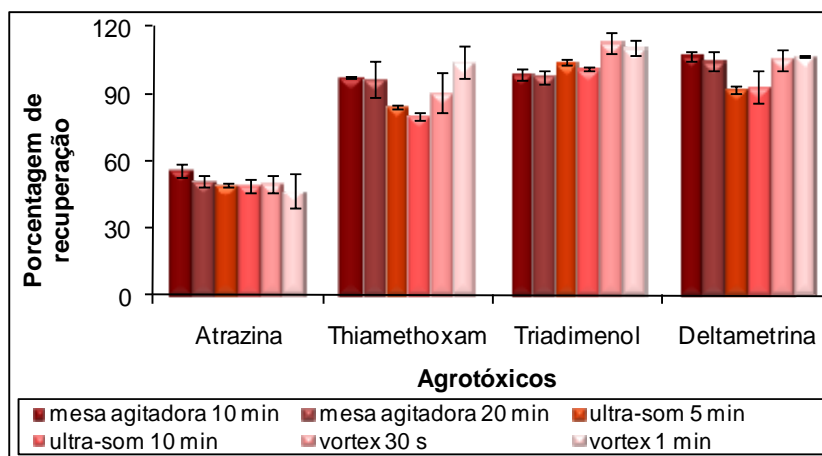


Figura 22. Influência do modo e tempo de homogeneização na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos.

De acordo com os resultados mostrados na Figura 22. e aplicando o teste de “student” (teste t), ao nível de 95% de probabilidade, pode-se afirmar que os modos de homogeneização proporcionam porcentagens de recuperação estatisticamente iguais para a atrazina e para o triadimenol.

Em relação aos agrotóxicos thiamethoxam e deltametrina pode-se observar que a utilização de 5 e 10 minutos de ultra-som provocam um decréscimo na porcentagem de extração, quando comparados aos modos de homogeneização, 10 e 20 minutos de mesa agitadora, e 30 segundos ou 1 minuto de vortex, considerados estatisticamente iguais pelo teste t.

No entanto, a homogeneização no vortex produziu maiores desvios-padrão, o que pode estar associado à aderência dos compostos nas paredes dos recipientes.

Portanto, optou-se por utilizar 10 minutos de mesa agitadora na homogeneização entre mistura extratora e amostra, já que esta proporcionou melhor precisão dos resultados e altos rendimentos de extração.

5.2.1.6. Avaliação do efeito da força iônica

Segundo LANÇAS (2004), na extração de agrotóxicos é aconselhável o aumento da força iônica, já que a adição de certa quantidade de sal à mistura extratora pode provocar aumento na porcentagem de recuperação, principalmente de compostos polares, já que propicia redução da solubilidade destes na matriz, facilitando sua extração para a fase orgânica. Os resultados obtidos após avaliação desta variável estão mostrados na Figura 23.

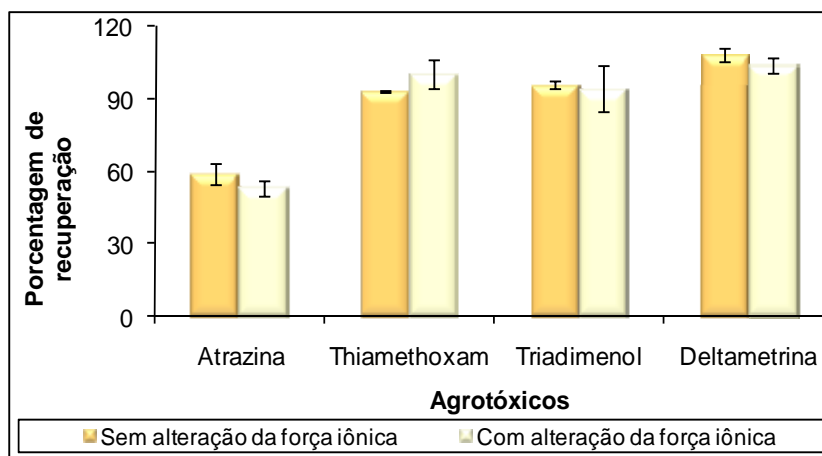


Figura 23. Influência da força iônica na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos.

A extração dos agrotóxicos sem e com alteração da força iônica proporciona resultados estatisticamente iguais, ao nível de 95% de probabilidade pelo teste t. Portanto, optou-se por não acrescentar sal à mistura extratora.

5.2.2. Metodologia otimizada

A técnica extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura para os agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina de amostras de abacaxi foi otimizada. Além disso, foram determinadas as condições ótimas para identificação e quantificação desses, sendo empregadas nas demais análises de amostras de abacaxi, assim como no processo de validação.

Propõe-se como metodologia otimizada: extração de 3,0000 g de abacaxi com 7,0 mL de acetonitrila, 1,5 mL de água e 1,5 mL de acetato de etila, seguida de agitação em mesa agitadora, a 25 °C e 200 oscilações por minuto, por 10 minutos.

Posteriormente, a mistura é deixada em freezer a aproximadamente -20 °C por 12 horas. Decorrido o tempo estabelecido, o extrato é passado por um papel de filtro, contendo 1,0000 g de florisil e 1,5000 g de sulfato de sódio anidro. Ao extrato são adicionados 100,0 µL de solução de bifentrina na concentração de 10,0 mg L⁻¹, sendo este recuperado em balão volumétrico de

10,0 mL e aferido com acetonitrila. Em seguida, o mesmo é armazenado em frasco de vidro no freezer, até o momento da análise cromatográfica.

A técnica ESL-PBT otimizada proporcionou extratos com menos co-extrativos após etapa de *clean up*. Além disso, requer consumo de pequeno volume de mistura extratora, evitando-se a necessidade de etapas de evaporação e troca de solvente. Conseqüentemente, reduziram-se os riscos de contaminação e perdas de amostras, favorecendo a obtenção de taxas de recuperação na faixa de 58,8% para a atrazina, 93,3% para o thiamethoxam, 95,8% para o triadimenol, e 108,2% para a deltametrina.

5.2.3. Validação do método analítico

Para avaliação do desempenho do método analítico otimizado foram levados em consideração os seguintes parâmetros analíticos: seletividade, linearidade de resposta do método, limite de detecção e limite de quantificação, exatidão e precisão.

5.2.3.1. Seletividade

Comparando-se cromatogramas de extratos da matriz isenta dos agrotóxicos em estudo, com cromatogramas de extratos da matriz contaminada por estes, avaliou-se a seletividade. Na Figura 24., são mostrados esses cromatogramas.

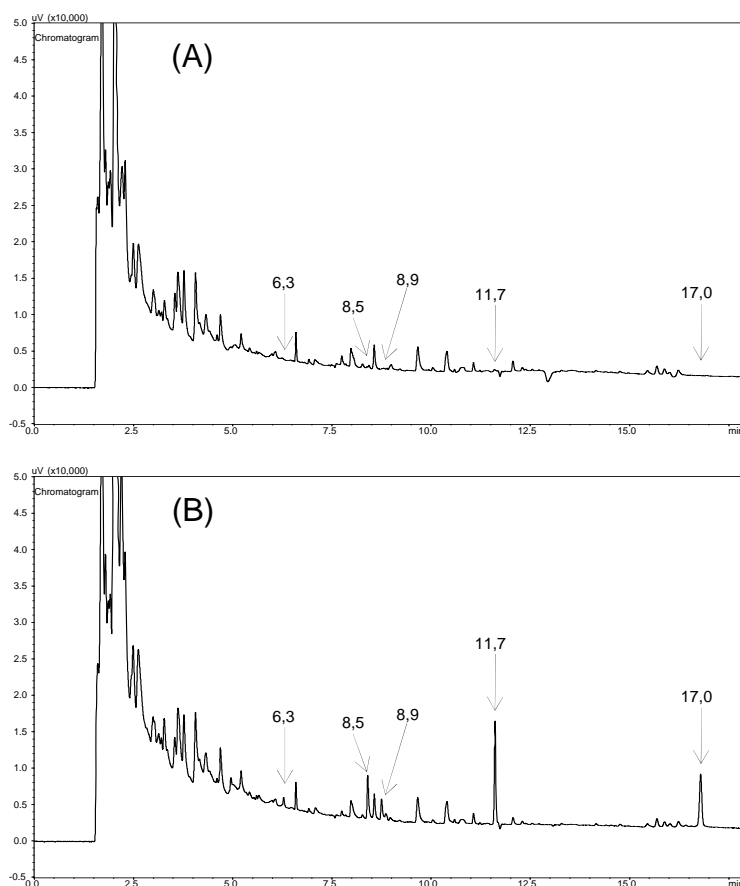


Figura 24. Cromatogramas de extratos obtidos de polpa de abacaxi (A) isenta dos princípios ativos, (B) fortificada e submetida à técnica ESL-PBT, com $1,67 \mu\text{g g}^{-1}$ de atrazina e triadimenol, e $0,33 \mu\text{g g}^{-1}$ de thiamethoxam e deltametrina ($t_R = 6,3 \text{ min}$: atrazina, $t_R = 8,5 \text{ min}$: thiamethoxam, $t_R = 8,9 \text{ min}$: triadimenol, $t_R = 11,7 \text{ min}$: bifentrina, $t_R = 17,0 \text{ min}$: deltametrina).

Os extratos das amostras de polpa de abacaxi, apesar de possuírem composição complexa, não apresentaram interferentes nos mesmos tempos de retenção dos compostos analisados, o que torna o método seletivo.

A seletividade do detector por captura de elétrons que detecta apenas átomos que capturam elétrons (COLLINS et al., 2006), também contribuiu para obtenção desses resultados.

5.2.3.2. Linearidade de resposta do método

A linearidade de resposta do método foi determinada pela injeção e análise de extratos obtidos de amostras de abacaxi fortificadas em sete concentrações diferentes dos princípios ativos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina, submetidas à técnica de extração otimizada (item 5.2.2.).

Após análise cromatográfica destes extratos foram construídas curvas analíticas, relacionando as razões das áreas dos analitos e do padrão interno com as concentrações, obtendo-se assim as equações de reta e os coeficientes de determinação. Estas curvas são apresentadas na Figura 25.

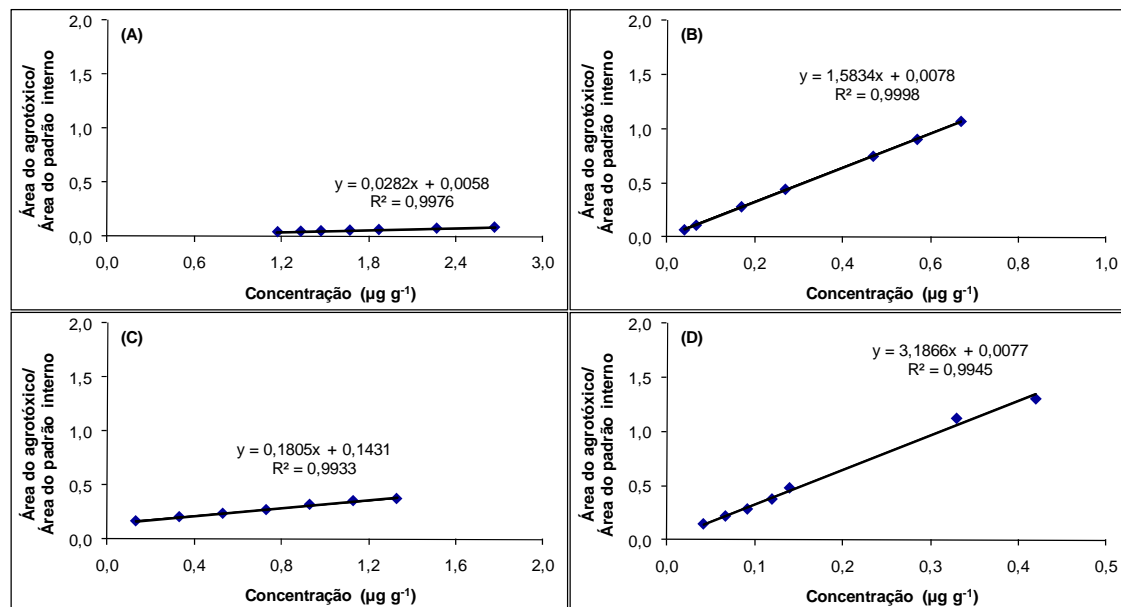


Figura 25. Curvas analíticas obtidas pela análise de extratos de amostras de abacaxi fortificadas em sete concentrações dos princípios ativos (A) atrazina, (B) thiamethoxam, (C) triadimenol, (D) deltametrina.

Os coeficientes de determinação encontrados foram maiores que 0,9900, caracterizando um bom ajuste aos dados experimentais, e linearidade de resposta do método proposto.

Segundo PASCHOAL et al. (2008), os valores dos coeficientes de determinação correspondentes às curvas analíticas, não são suficientes para avaliar a linearidade de um método analítico. Uma maneira alternativa de estabelecer a linearidade de resposta de um método é construir um gráfico resposta/concentração versus log da concentração. A linha obtida deve ser horizontal em toda a faixa avaliada, com desvios positivos e negativos para baixas e altas concentrações, respectivamente. Traçando duas linhas paralelas a 95 e 105% da linha obtida, os pontos de intersecção delimitam a faixa linear do método.

Levando em consideração este método utilizado para se avaliar a linearidade da curva analítica, foram construídos gráficos, onde $\text{Log}[\text{agrotóxico}]$ é a abscissa x , e $(\text{Área do agrotóxico}/\text{Área do padrão interno})/[\text{agrotóxico}]$ é a coordenada y . Estes gráficos foram construídos após

injeção e análise de extratos obtidos de amostras fortificadas em sete concentrações diferentes dos princípios ativos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina, submetidas à técnica de extração otimizada (item 5.2.2.). Estes gráficos são mostrados na Figura 26.

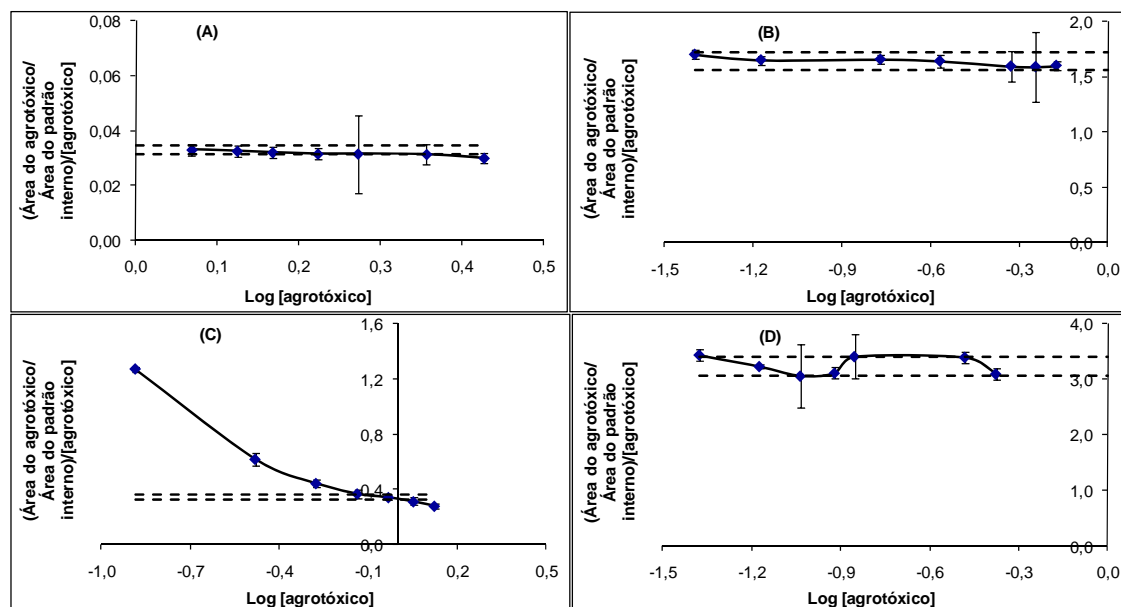


Figura 26. Gráficos da razão sinal/concentração versus concentração em escala logarítmica obtidos pela análise de extratos de amostras de abacaxi fortificadas em sete concentrações dos princípios ativos (A) atrazina, (B) thiamethoxam, (C) triadimenol, (D) deltametrina.

Levando-se em consideração que uma curva analítica é considerada linear até o ponto onde a resposta relativa intercepta a linha de 95% ou 105%, e observando os gráficos mostrados na Figura 26., conclui-se que para os agrotóxicos thiamethoxam e deltametrina, a faixa de concentrações estudada é considerada linear. Ou seja, a metodologia aplicada para amostras de abacaxi apresenta linearidade de resposta na faixa de concentração de 0,040 a 0,67 $\mu\text{g g}^{-1}$, para o thiamethoxam, e de 0,042 a 0,42 $\mu\text{g g}^{-1}$, para a deltametrina.

Em relação à atrazina, a metodologia aplicada para amostras de abacaxi apresenta linearidade de resposta na faixa de concentração de 1,17 a 2,27 $\mu\text{g g}^{-1}$, já que o ponto correspondente à última concentração estudada (2,67 $\mu\text{g g}^{-1}$) não se encontra dentro da faixa linear.

Para o triadimenol, observa-se que a curva analítica não é linear, uma vez que a resposta relativa ultrapassou a linha de 95-105%, ou seja, verifica-se um desvio da linearidade.

5.2.3.3. Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) do método proposto foram determinados considerando o valor igual a três vezes e dez vezes maior que o sinal da linha de base (ruído) obtido para amostras de abacaxi isentas de agrotóxicos e analisadas por CG/DCE, respectivamente. Estes valores correspondentes aos compostos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) do método para os quatro agrotóxicos estudados

Agrotóxico	LD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Atrazina	0,35	1,17
Thiamethoxam	0,015	0,050
Triadimenol	0,050	0,17
Deltametrina	0,012	0,040

Verificou-se que os valores dos limites de detecção obtidos para os compostos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina utilizando CG/DCE estão entre 0,012 e 0,35 $\mu\text{g g}^{-1}$, enquanto os limites de quantificação estão entre 0,040 e 1,17 $\mu\text{g g}^{-1}$. Os menores valores de LD e LQ são observados para os agrotóxicos thiamethoxam e deltametrina.

Levando-se em consideração os limites máximos de resíduos (LMR) estabelecidos pela União Européia, iguais a 0,050; 0,050; 3,00; e 0,050 $\mu\text{g g}^{-1}$, para a atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina, respectivamente, pode-se observar que os valores de LQ obtidos estão abaixo do permitido para cada agrotóxico no tipo de alimento avaliado, com exceção à atrazina, cujo LQ está acima do limite máximo de resíduo estabelecido.

Os limites de detecção e de quantificação podem ser afetados pelas condições cromatográficas, como tempo de uso da coluna cromatográfica e estabilidade do detector, bem como do detector utilizado (RIBANI et al., 2004).

PINHO et al. (2009a) ao analisar os agrotóxicos clorpirifós, λ -cialotrina, cipermetrina e deltametrina em tomate por CG/DCE, obteve valores de LD igual a 0,0060 $\mu\text{g g}^{-1}$ e LQ igual a 0,020 $\mu\text{g g}^{-1}$ para a deltametrina.

Para o thiamethoxam, observou-se também resultado semelhante em estudo realizado por BITTENCOURT (2008), no monitoramento dos inseticidas

clorpirifós e thiamethoxam em batata, sendo os valores de LD e LQ para este último iguais a 0,011 e 0,033 $\mu\text{g g}^{-1}$.

PAULA (2007) em seu trabalho utilizou cromatógrafo a gás com detector por ionização em chama (DIC), em análises de extratos de latossolo, para identificação e quantificação de ametrina e atrazina. Os limites de detecção e quantificação encontrados para a atrazina foram iguais a 0,050 e 0,17 $\mu\text{g g}^{-1}$, o que comprova grande eficiência e sensibilidade do detector por ionização em chama frente a este composto. Ou seja, este detector é mais apropriado que o por captura de elétrons para análise da atrazina.

Diversos trabalhos são encontrados na literatura sobre injeção dos extratos das amostras em cromatógrafo a gás, sem divisão de fluxo, também denominado de modo "splitless" (SHULING et al., 2007). Este tipo de procedimento permite que menores valores de LD e LQ sejam determinados, pois ocorre a introdução de maior quantidade de amostra na coluna cromatográfica. No entanto, para amostras complexas, como o abacaxi, onde a presença de co-extrativos é grande, este procedimento não é conveniente.

5.2.3.4. Exatidão

A exatidão do método foi avaliada realizando ensaios de recuperação, onde os agrotóxicos foram adicionados em amostras de abacaxi em concentrações iguais a uma, duas e dez vezes o limite de quantificação do método, com exceção à terceira concentração referente à atrazina. Desta forma, os ensaios foram realizados conforme o método otimizado (item 5.2.2.), sendo que as concentrações de cada agrotóxico nas amostras de abacaxi foram: 1,17; 2,34 e 2,50 $\mu\text{g g}^{-1}$ para a atrazina, 0,17; 0,34 e 1,70 $\mu\text{g g}^{-1}$ para o triadimenol, e 0,050; 0,10 e 0,50 $\mu\text{g g}^{-1}$ para o thiamethoxam e deltametrina.

Os resultados obtidos para extração destes agrotóxicos em abacaxi, bem como os coeficientes de variação (CV) referentes às porcentagens de recuperação de cada agrotóxico estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Porcentagens de recuperação e coeficientes de variação (CV) obtidos pela análise de extratos obtidos de amostra de abacaxi fortificada com os agrotóxicos em três concentrações diferentes

(Porcentagem de recuperação (CV)) (%)						
Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Atraz.	Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Triad.	Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Thiam.	Delta.
1,17 ^a	57,8 (9,6)	0,17 ^a	98,2 (1,8)	0,050 ^a	97,3 (2,6)	103,4 (1,9)
2,34 ^b	55,4 (9,9)	0,34 ^b	97,4 (8,3)	0,10 ^b	96,4 (3,7)	104,0 (5,5)
2,50 ^a	56,0 (7,1)	1,70 ^a	95,2 (4,6)	0,50 ^a	92,3 (10,5)	105,5 (1,2)

^a Resultados representam a média de três replicatas (CV).

^b Resultados representam a média de sete replicatas (CV).

Os resultados obtidos para a extração dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina em abacaxi são iguais, ao nível de 95% de probabilidade, pelo teste t, mostrando exatidão do método. Além disso, os coeficientes de variação foram menores do que 10%.

5.2.3.5. Precisão

A precisão foi avaliada em termos de repetitividade dos resultados e precisão intermediária.

5.2.3.5.1. Repetitividade

A repetitividade do método ESL-PBT dos quatro agrotóxicos estudados em abacaxi foi estudada pelo cálculo da estimativa do coeficiente de variação de sete repetições da metodologia otimizada (item 5.2.2.), ou seja, pelo preparo, injeção e análise no mesmo dia de sete extratos de amostras de abacaxi fortificadas pelos quatro agrotóxicos, em concentrações iguais a duas vezes o limite de quantificação de cada agrotóxico.

Os coeficientes de variação dos resultados obtidos para amostras de abacaxi variaram entre 3,7% e 9,9%, como pode ser observado na Tabela 8. Esses resultados indicam boa repetitividade, já que para amostras complexas são aceitáveis coeficientes de variação de até 20% (RIBANI et al., 2004).

Tabela 8. Porcentagens de recuperação e coeficientes de variação (CV) dos sete extratos obtidos de amostras de abacaxi fortificadas com os agrotóxicos

Agrotóxico	Porcentagem de recuperação (%)	Coeficiente de variação (%)
Atrazina	55,4	9,9
Thiamethoxam	96,4	3,7
Triadimenol	97,4	8,3
Deltametrina	104,0	5,5

5.2.3.5.2. Precisão intermediária

Neste trabalho a precisão intermediária do método foi verificada pelas porcentagens de recuperação dos analitos e respectivos coeficientes de variação, obtidos pelo preparo, injeção e análise dos extratos de amostras de abacaxi fortificadas pelos quatro agrotóxicos, e submetidas à técnica de extração otimizada (item 5.2.2.), em concentrações iguais a duas vezes o limite de quantificação de cada um, em três dias diferentes (1^o, 7^o e 28^o dias) e em sete repetições. Os resultados obtidos estão dispostos na Tabela 9.

Tabela 9. Porcentagens de recuperação e coeficientes de variação (CV) obtidos pela análise de extratos de amostra de abacaxi fortificada com os agrotóxicos, em três dias diferentes

Dia	(Porcentagem de recuperação (CV)) (%)			
	Atrazina (Concentração = 2,34 µg g ⁻¹)	Thiamethoxam (Concentração = 0,10 µg g ⁻¹)	Triadimenol (Concentração = 0,34 µg g ⁻¹)	Deltametrina (Concentração = 0,10 µg g ⁻¹)
1 ^o	55,4 (9,9)	96,4 (3,7)	97,4 (8,3)	104,0 (5,5)
7 ^o	56,4 (8,1)	95,5 (8,2)	99,9 (9,3)	103,2 (3,6)
28 ^o	58,9 (6,6)	94,6 (2,3)	93,8 (7,5)	104,4 (2,7)

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 9., pode-se afirmar que a técnica de extração proporciona porcentagens de recuperação iguais (ao nível de 95% de probabilidade pelo teste t). Portanto, verificou-se que a técnica ESL-PBT para a análise de resíduos dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina em abacaxi, apresentou resultados sem diferenças significativas.

5.2.4. Influência dos componentes do abacaxi na quantificação dos agrotóxicos por cromatografia gasosa

5.2.4.1. Superposição de matriz

Neste trabalho, o efeito de matriz, na análise dos compostos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina em abacaxi empregando a técnica ESL-PBT foi avaliado de acordo com o procedimento descrito no item 4.1.6. Ou seja, a influência dos componentes do abacaxi na quantificação desses agrotóxicos, foi verificada pela comparação de curvas analíticas construídas a partir da análise de soluções-padrão de agrotóxicos preparadas em solvente puro e em extratos da matriz livres de agrotóxicos (Figura 27.).

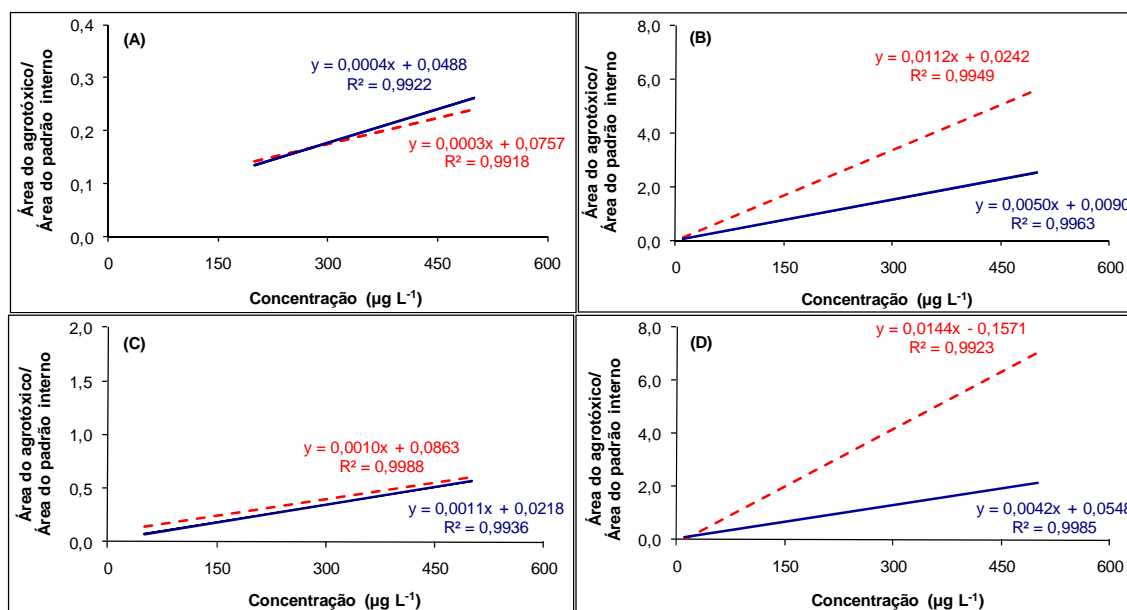


Figura 27. Curvas analíticas construídas a partir da análise de soluções-padrão de agrotóxicos preparadas em acetonitrila (—) e em extrato da matriz (- -): (A) atrazina, (B) thiamethoxam, (C) triadimenol, (D) deltametrina.

Na Figura 27. são apresentados os resultados, apontando diferenças entre os coeficientes angulares e lineares das equações de reta das duas curvas analíticas para cada agrotóxico.

Pela comparação dessas curvas analíticas, podemos observar que para os agrotóxicos atrazina e triadimenol houve pequena mudança dos coeficientes lineares das equações de reta dessas curvas. Isso comprova que para estes compostos, a presença dos componentes da matriz não interferiu,

significativamente, em suas análises cromatográficas.

Já para os agrotóxicos thiamethoxam e deltametrina, os resultados obtidos mostraram menores coeficientes angulares para as curvas preparadas em acetonitrila, indicando menores respostas cromatográficas quando comparadas com as curvas analíticas preparadas no extrato da matriz. Ou seja, estes sofrem maior interferência devido à presença dos co-extrativos da matriz, sendo o efeito de matriz mais pronunciado para esses compostos.

SÁNCHEZ-BRUNETE et al. (2005) observaram que compostos menos polares, com maiores massa molar e ponto de ebulição, como os piretroides, tiveram suas respostas cromatográficas aumentadas, quando extratos dos brancos das matrizes foram fortificados, com padrões desses compostos, e analisados.

Essa observação explica o efeito de matriz mais pronunciado em relação à deltametrina. Este composto é um inseticida do grupo químico dos piretroides, e é muito influenciado pelo efeito de matriz, já que possui elevada massa molar, o que dificulta a volatilização do mesmo. Conseqüentemente, menor quantidade deste analito é introduzida na coluna cromatográfica quando preparado em solvente puro, produzindo menores respostas cromatográficas.

Durante injeções de soluções-padrão, observou-se nos cromatogramas, que os picos referentes ao composto thiamethoxam apresentavam uma calda, o que dificultou a integração dos mesmos. Por isso, a quantificação deste composto pode ter sido comprometida, gerando erros e afetando os resultados referentes à avaliação do efeito de matriz. Além disso, o thiamethoxam, assim como a deltametrina, possui uma grande massa molar, o que dificulta sua volatilização. Com isso, as moléculas do mesmo interagem com os sítios ativos do insertor, acarretando a chegada de um menor número de moléculas na coluna cromatográfica, quando as soluções-padrão são preparadas em solvente puro.

Comparando-se as duas curvas analíticas, como mostrado na Figura 27., quando somente o coeficiente angular muda, os componentes da matriz contribuem para introduzir nos resultados um erro sistemático proporcional. Quando somente o coeficiente linear varia, significa que existe um erro sistemático constante (CUADROS-RODRÍGUEZ et al., 2003).

Como as equações de reta das curvas analíticas referentes aos agrotóxicos atrazina e triadimenol apresentaram coeficientes lineares

diferentes, e relativos aos agrotóxicos thiamethoxam e deltametrina apresentaram coeficientes angulares e lineares distintos, avaliaram-se esses erros como sistemáticos. Para isso, devemos levar em consideração os coeficientes angulares e os coeficientes lineares das equações de reta das curvas analíticas referentes a estes compostos obtidas pela análise de soluções-padrão preparadas em extratos da matriz e em solvente puro. Estes valores se encontram na Tabela 10.

Tabela 10. Coeficientes angulares e coeficientes lineares das curvas analíticas obtidas pela análise de soluções-padrão preparadas em extratos da matriz e em solvente puro

Agrotóxico	Extrato da matriz		Solvente puro	
	Coeficiente angular	Coeficiente linear	Coeficiente angular	Coeficiente linear
Atrazina	0,0003	0,0757	0,0004	0,0488
Thiamethoxam	0,0112	0,0242	0,0050	0,0090
Triadimenol	0,0010	0,0863	0,0011	0,0218
Deltametrina	0,0144	-0,1571	0,0042	0,0548

Desta forma, calculou-se a razão entre os coeficientes angulares e a razão entre os coeficientes lineares das equações de reta das curvas analíticas provenientes da injeção e análise das soluções-padrão preparadas no extrato da matriz e em solvente puro (Tabela 11.).

Tabela 11. Razão entre os coeficientes angulares e razão entre os coeficientes lineares das curvas analíticas obtidas pela análise de soluções-padrão preparadas em extratos da matriz e em solvente puro

Agrotóxico	Razão entre os coeficientes angulares (extrato da matriz/ solvente puro)	Razão entre os coeficientes lineares (extrato da matriz/ solvente puro)
Atrazina	-	1,55
Thiamethoxam	2,24	2,69
Triadimenol	-	3,96
Deltametrina	3,43	-2,87

Quando a razão entre os coeficientes angulares for superior a 1,00, o efeito de matriz é considerado positivo. Caso esta razão seja inferior a 1,00, há indicação de que o efeito de matriz seja negativo (PINHO et al., 2009).

Em relação ao thiamethoxam e à deltametrina, houve aumento desta resposta em 124% e 243%, respectivamente. Ou seja, constatou-se efeito de matriz positivo para esses agrotóxicos.

Considerando a relação entre os coeficientes lineares, o aumento da resposta cromatográfica foi de 55%, 169% e 296% para os agrotóxicos atrazina, thiamethoxam e triadimenol, respectivamente, e a diminuição desta resposta foi de 187% para a deltametrina.

Esses resultados podem ser melhor visualizados na Figura 28., onde foi determinada a porcentagem de aumento da resposta cromatográfica dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina, em diferentes concentrações, segundo a fórmula: $\% = [(A_{\text{matriz}} - A_{\text{solvente}})/A_{\text{solvente}}] \times 100$, onde: A_{matriz} = média das razões das áreas do pico correspondente ao agrotóxico sobre as áreas do pico correspondente ao padrão interno ($\text{área}_{\text{agrotóxico}}/\text{área}_{\text{PI}}$), em solução-padrão preparada em extrato da matriz; A_{solvente} = média das razões das áreas do pico correspondente ao agrotóxico sobre as áreas do pico correspondente ao padrão interno ($\text{área}_{\text{agrotóxico}}/\text{área}_{\text{PI}}$), em solução-padrão preparada em solvente puro.

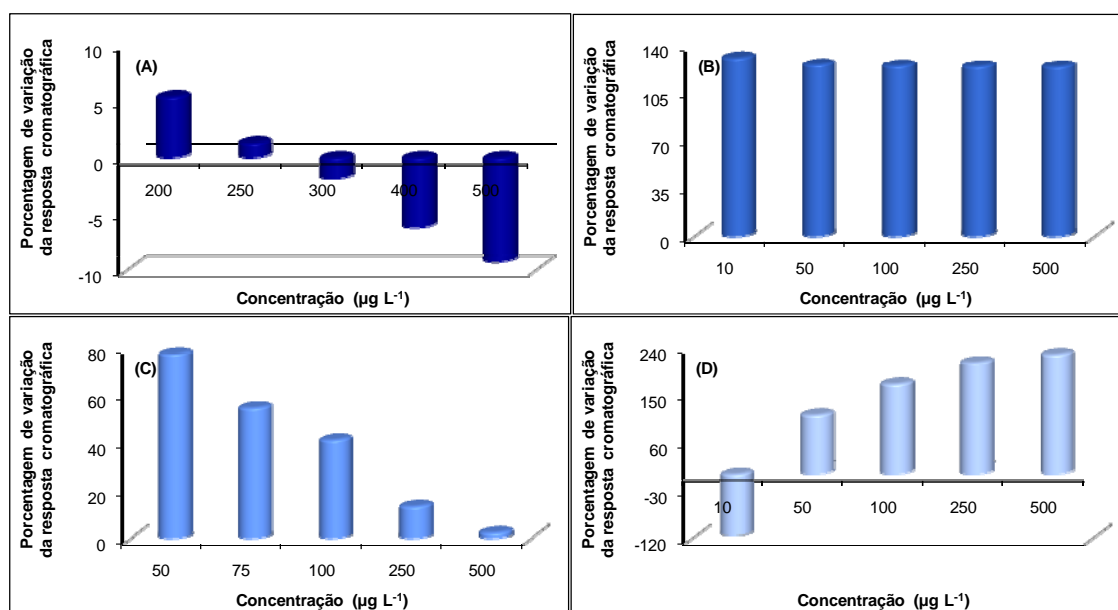


Figura 28. Porcentagem de variação da resposta cromatográfica dos agrotóxicos (A) atrazina, (B) thiamethoxam, (C) triadimenol, (D) deltametrina, quando preparadas em extratos de abacaxi em relação às preparadas em solvente puro.

Para a atrazina, observa-se efeito de matriz negativo em relação às concentrações 300,0; 400,0 e 500,0 µg L⁻¹, e baixo efeito de matriz para as concentrações 200,0 e 250,0 µg L⁻¹, introduzidos pelos componentes dos extratos de abacaxi.

Para o thiamethoxam, verifica-se efeito de matriz positivo (estimado pela razão dos coeficientes angulares), sendo este alto para as concentrações estudadas, onde a porcentagem de variação da resposta cromatográfica foi de aproximadamente 124 %, resultado este similar ao encontrado pela razão dos coeficientes angulares, em relação a este composto.

Para o triadimenol, verifica-se efeito de matriz positivo, sendo este considerado baixo para as concentrações 250,0 e 500,0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Para a deltametrina, verifica-se efeito de matriz positivo (estimado pela razão dos coeficientes angulares) em relação às concentrações 50,0; 100,0; 250,0 e 500,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, sendo este alto para estas concentrações. A porcentagem de variação da resposta cromatográfica foi de aproximadamente 243 %, para as concentrações mais altas, resultado este similar ao encontrado pela razão dos coeficientes angulares em relação a este composto.

Segundo HAJŠLOVÁ et al. (1998), o efeito de matriz é maior para as baixas concentrações de agrotóxicos. Resultados obtidos neste trabalho mostram que para os agrotóxicos atrazina e triadimenol esta afirmação é verdadeira.

Mas, em relação à deltametrina, o efeito de matriz aumentou com o aumento da concentração deste composto. Estudo realizado no LAQUA para este composto em fígado de boi (SILVA, 2008), mostrou resultados semelhantes aos obtidos para abacaxi.

Dessa forma, conclui-se que, para os quatro agrotóxicos, os componentes da matriz contribuem para introduzir nos resultados um erro sistemático proporcional. Além disso, verifica-se um erro sistemático constante.

De forma geral, considerando o efeito de matriz como uma competição entre os componentes da matriz, no caso entre os componentes do abacaxi e entre os agrotóxicos, os quais são introduzidos no sistema de injeção, a ordem crescente de efeito de matriz, levando em consideração a contribuição total dos erros foi atrazina < triadimenol < thiamethoxam < deltametrina.

5.2.5. Aplicação da técnica ESL-PBT em amostras de abacaxi

A técnica ESL-PBT otimizada e validada foi aplicada em duas amostras de abacaxi, cultivar 'Pérola', procedentes das cidades Marataízes (ES), Miracema do Tocantins (TO) e Monte Alegre de Minas (MG).

Pela análise dos extratos obtidos de polpa de abacaxi analisados, não foi constatada a presença de resíduos de nenhum dos agrotóxicos estudados.

5.3. Dispersão de matriz em fase sólida

5.3.1. Otimização da técnica de extração por dispersão de matriz em fase sólida

A dispersão de matriz em fase sólida é uma técnica onde a extração dos agrotóxicos de uma matriz sólida e o *clean up* dos extratos ocorrem simultaneamente (KRISTENSON et al., 2006). Esta técnica tem sido aplicada em amostras sólidas e semi-sólidas, como tecidos de animais, frutas e vegetais.

Com o objetivo de comparar a técnica ESL-PBT otimizada e validada, com a técnica de extração por DMFS, esta última foi também otimizada.

A fase estacionária, o adsorvente, e o solvente de eluição, o eluente, são parâmetros críticos, nesta técnica de extração. Por isso, primeiramente avaliaram-se o adsorvente e o eluente ideal a serem utilizados na técnica.

5.3.1.1. Avaliação do adsorvente para a técnica de extração por DMFS

Neste estudo, foram avaliados três adsorventes de polaridades distintas, sendo o florisil e a sílica os mais polares, e o C8 o menos polar. Os resultados obtidos na extração dos agrotóxicos variando estes adsorventes são mostrados na Figura 29. e na Tabela 12.

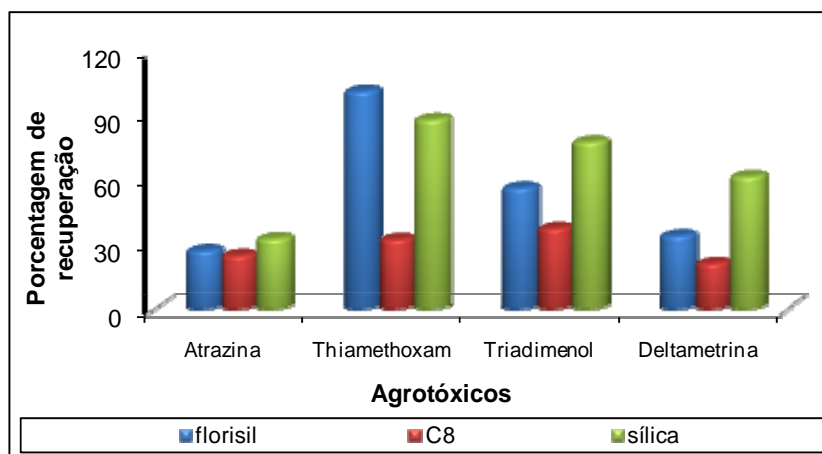


Figura 29. Influência de adsorventes utilizados na técnica de extração por DMFS na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos.

Tabela 12. Porcentagens de recuperação, R (%), e respectivos desvios-padrão, DP, obtidos pela análise de extratos obtidos de amostra de abacaxi fortificada com os agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina, onde se avaliou o adsorvente

Adsorvente	Atrazina		Thiamethoxam		Triadimenol		Deltametrina	
	R (%)	DP	R (%)	DP	R (%)	DP	R (%)	DP
Florisil	26,5	0,3	101,0	6,8	56,4	1,5	33,4	4,7
C8	24,3	0,5	31,7	1,0	36,8	9,8	20,7	10,1
Sílica	32,0	3,6	87,9	5,2	77,6	12,5	61,6	1,8

O uso da sílica como adsorvente proporcionou as maiores taxas de extração dos agrotóxicos atrazina, triadimenol e deltametrina. Estes compostos interagem fracamente com a superfície da sílica, principalmente os dois últimos, que são mais hidrofóbicos, e por isso o acetato de etila solubilizou estes agrotóxicos mais facilmente (LING & HUANG, 1995).

Por outro lado, o C8 forneceu os resultados mais baixos de extração para os quatro agrotóxicos, quando eluídos com acetato de etila. Isso pode ser explicado pela forte interação dos mesmos com este adsorvente. Este resultado foi semelhante ao observado por PINHO et al. (2009a), que encontraram baixos valores de recuperação para um organofosforado e piretroides em tomate, usando o adsorvente C8 e acetato de etila como eluente.

Avaliando-se a qualidade dos cromatogramas, percebe-se que aqueles obtidos de extratos em que o adsorvente sílica foi usado são mais puros. Ou seja, há presença de um número menor de co-extrativos se comparado aos cromatogramas obtidos de extratos onde se utilizou florisil e C8 como adsorvente.

Portanto, optou-se utilizar o adsorvente sílica na técnica de extração por DMFS.

5.3.1.2. Avaliação do eluente para a técnica de extração por DMFS

Uma etapa importante na extração de agrotóxicos e no *clean up* de extratos, utilizando a técnica de extração por dispersão de matriz em fase sólida, é a escolha do eluente. Muitos trabalhos têm mostrado eficiência da técnica, com o uso de acetato de etila (NAVARRO et al., 2002; DÓREA e LOPES, 2004) e da mistura de hexano:acetona (9:1) (LING & HUANG, 1995) como eluentes.

Os resultados obtidos na extração dos agrotóxicos utilizando esses eluentes são mostrados na Figura 30. e na Tabela 13.

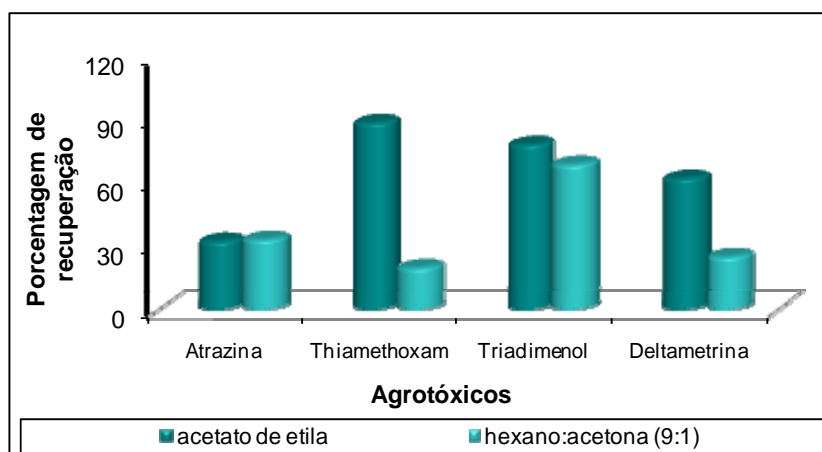


Figura 30. Influência do eluente utilizado na técnica de extração por DMFS na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos.

Tabela 13. Porcentagens de recuperação, R (%), e respectivos desvios-padrão, DP, obtidos pela análise de extratos obtidos de amostra de abacaxi fortificada com os agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina, onde se avaliou o eluente

Eluente	Atraz.		Thiam.		Triad.		Delta.	
	R (%)	DP	R (%)	DP	R (%)	DP	R (%)	DP
Acetato de etila	32,0	3,6	87,9	5,2	77,6	12,5	61,6	1,8
Hexano:acetona (9:1)	32,8	2,7	19,6	1,4	68,2	2,0	24,7	7,2

O uso de acetato de etila como eluente levou à obtenção de porcentagens de recuperação maiores para os agrotóxicos thiamethoxam e deltametrina, em relação à mistura extratora hexano:acetona (9:1). Já, os resultados obtidos para a extração dos agrotóxicos atrazina e triadimenol

utilizando acetato de etila e a mistura hexano:acetona como eluente, são estatisticamente iguais, ao nível de 95% de probabilidade pelo teste t.

Portanto, optou-se utilizar como eluente o solvente acetato de etila na técnica de extração por DMFS.

5.3.1.3. Planejamento fatorial 2³

Para verificar os efeitos que alguns fatores provocam nos resultados dos experimentos, pode ser realizada uma otimização univariada, onde um único fator é alterado e avaliado separadamente em cada experimento, enquanto os demais fatores permanecem inalteráveis.

Porém, é relevante que todos os fatores sejam variados simultaneamente, para avaliar a existência de possíveis interações entre eles (EIRAS e ANDRADE, 1996). Tal avaliação pode ser obtida pela realização de um planejamento fatorial 2³.

Por isso, este planejamento foi escolhido para avaliar simultaneamente a influência dos fatores: (1) proporção entre adsorvente e amostra, (2) utilização de co-coluna e (3) utilização de ultra-som.

A proporção entre as quantidades de adsorvente e amostra deve ser avaliada, pois pode influenciar na eficiência da extração dos agrotóxicos, e tem sido definida experimentalmente em estudos utilizando a DMFS.

Em alguns casos, o eluato da coluna utilizada na DMFS se encontra satisfatoriamente limpo para ser injetado diretamente no cromatógrafo, porém na maioria das vezes os interferentes devem ser removidos com uma purificação adicional, colocando-se uma fase sólida, como por exemplo, alumina, florisil, sílica, C8, C18, no cartucho utilizado na DMFS antes de adicionar a mistura adsorvente/amostra (DÓREA & LANÇAS, 1999). Como o abacaxi possui muitos co-extrativos, avaliou-se a presença de co-coluna constituída de florisil, como auxiliar no *clean up*.

Estudos realizados por PINHO (2007) mostraram que o emprego do banho ultra-sônico durante a extração influenciou na extração de agrotóxicos em tomate, utilizando a técnica de extração por dispersão de matriz em fase sólida, onde o rendimento da extração para o clorpirifós, λ -cialotrina e cipermetrina aumentaram, respectivamente, em 16,88%, 8,08% e 8,83%, sendo este o motivo de se avaliar tal fator.

Conforme descrito no item 4.2.4.3., a execução do planejamento fatorial 2^3 consistiu em realizar oito ensaios, num total de dezesseis experimentos, e registrar as porcentagens de recuperação para cada agrotóxico, em todas as possíveis combinações dos fatores F(1), F(2) e F(3) e dos níveis (-) e (+). Na Tabela 14., estão dispostas as porcentagens de recuperação obtidas em cada ensaio para as amostras de abacaxi fortificadas.

Tabela 14. Porcentagens de recuperação dos agrotóxicos e desvio-padrão relativo obtidos dos experimentos do planejamento fatorial 2^3 para amostras de abacaxi

Experimentos	Fatores originais			(Porcentagem de recuperação (DPR) (%))			
	Adsorvente/ amostra (1)	Co- coluna (2)	Ultra- som (3)	Atraz.	Thiam.	Triad.	Delta.
1 e 2	1:1	sem	sem	22,1 (17,9)	100,2 (1,8)	97,1 (3,1)	91,1 (1,1)
3 e 4	1:2	sem	sem	31,2 (2,7)	96,7 (15,5)	62,4 (9,3)	93,9 (17,8)
5 e 6	1:1	com	sem	42,1 (6,5)	100,1 (12,3)	122,0 (2,2)	91,0 (5,3)
7 e 8	1:2	com	sem	40,4 (13,0)	100,8 (8,3)	106,7 (17,0)	76,5 (17,3)
9 e 10	1:1	sem	com	39,1 (8,8)	93,6 (5,2)	54,9 (15,2)	89,7 (5,5)
11 e 12	1:2	sem	com	26,3 (17,1)	120,6 (4,3)	82,9 (9,7)	75,4 (14,5)
13 e 14	1:1	com	com	33,3 (11,8)	109,3 (8,2)	120,5 (13,4)	86,9 (5,8)
15 e 16	1:2	com	com	35,9 (2,1)	91,4 (7,0)	105,7 (18,1)	76,8 (14,2)

As porcentagens de recuperação de cada um dos 16 experimentos foram tratadas estatisticamente com o objetivo de avaliar a influência de cada um dos fatores isoladamente bem como as interações entre os fatores.

A Tabela 15. mostra a porcentagem de recuperação média, o erro da média, e os efeitos de cada fator e das interações entre os fatores, na extração de cada um dos agrotóxicos. Como os ensaios foram realizados em duplicata, pôde-se estimar também o erro experimental associado a cada efeito, e a partir desse, avaliar a significância estatística dos fatores sobre a porcentagem de recuperação de cada agrotóxico.

Tabela 15. Porcentagens de recuperação média (\pm erro da média), efeitos de cada fator e das interações entre os fatores (\pm estimativa do erro experimental) na extração de cada um dos agrotóxicos, obtidos nos experimentos do planejamento fatorial 2^3 para amostras de abacaxi

	Atraz.	Thiam.	Triad.	Delta.
Recuperação média	33,8 \pm 0,9	101,6 \pm 2,2	94,0 \pm 3,0	85,1 \pm 2,4
Adsorvente/amostra (1)	-0,7 \pm 1,8	1,6 \pm 4,4	-9,2 \pm 6,0	-9,0 \pm 4,8
Co-coluna (2)	8,2 \pm 1,8*	-2,3 \pm 4,4	39,4 \pm 6,0*	-4,8 \pm 4,8
Ultra-som (3)	-0,3 \pm 1,8	4,3 \pm 4,4	-6,0 \pm 6,0	-5,9 \pm 4,8
(1) e (2)	1,2 \pm 1,8	-10,2 \pm 4,4	-5,8 \pm 6,0	-3,3 \pm 4,8
(1) e (3)	-4,4 \pm 1,8*	3,0 \pm 4,4	15,8 \pm 6,0*	-3,2 \pm 4,8
(2) e (3)	-6,4 \pm 1,8*	-4,4 \pm 4,4	4,8 \pm 6,0	4,0 \pm 4,8
(1) e (2) e (3)	6,6 \pm 1,8*	-12,3 \pm 4,4*	-15,6 \pm 6,0*	5,4 \pm 4,8

*(Em negrito) Efeitos significativos ao nível de 95% de confiança pelo teste t ($t_{\text{tabelado}} = t_{0,05; 8} = 2,306$).

Para decidir quais efeitos calculados são significativamente diferentes de zero, realizou-se o teste “student” (teste t) para $\alpha = 0,05$ e $v = 8$. No nível de 95% de confiança o valor de t correspondente a 8 graus de liberdade é 2,306. Isso implica que, somente os efeitos cujos valores de t ($t_{\text{calculado}}$) foram maiores que 2,306 (t_{tabelado}), foram considerados significativos.

Verificou-se que a utilização de adsorvente e amostra, na proporção 1:2, e ultra-som não influenciou significativamente na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos utilizando a técnica de extração por DMFS, ao nível de 95% de probabilidade, pelo teste t.

Em relação ao agrotóxico atrazina foi observada a existência de efeitos: principal, de segunda ordem e de terceira ordem, sendo esses dois últimos decorrentes da interação entre os fatores estudados. A utilização de co-coluna elevou a porcentagem de recuperação em 8,2%, sendo este efeito mais pronunciado quando não se utilizou o ultra-som, ou seja, houve aumento de 14,6% sem utilização do ultra-som, e aumento de 1,9% com utilização de ultra-som. Estes efeitos de interação podem ser mais facilmente visualizados avaliando os valores médios mostrados na Figura 31.

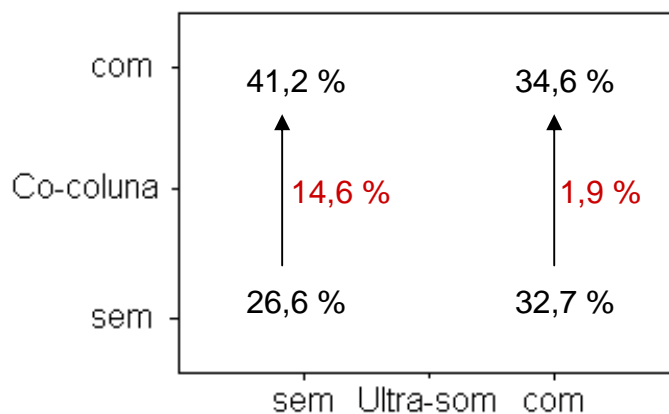


Figura 31. Diagrama para interpretação dos efeitos decorrentes da interação entre os fatores co-coluna e ultra-som observados no planejamento fatorial 2^3 em relação à atrazina.

Os maiores rendimentos (41,2%, em média) são obtidos utilizando co-coluna e não utilizando ultra-som na técnica DMFS para extração do agrotóxico atrazina.

A utilização de ultra-som proporcionou um aumento na porcentagem de recuperação em 4,1%, quando a proporção adsorvente/amostra foi 1:1, e uma queda na porcentagem de recuperação de 4,7%, quando a proporção adsorvente/amostra foi 1:2. Estes efeitos de interação podem ser visualizados com os valores médios mostrados na Figura 32.

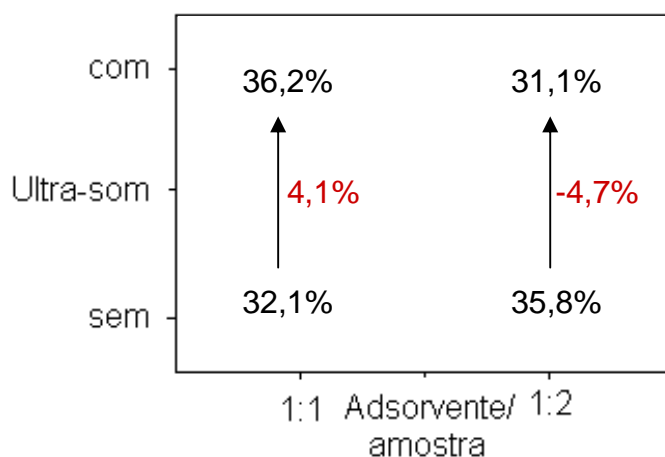


Figura 32. Diagrama para interpretação dos efeitos decorrentes da interação entre os fatores adsorvente/amostra e ultra-som observados no planejamento fatorial 2^3 em relação à atrazina.

Os maiores rendimentos (36,2%, em média) são obtidos utilizando proporção adsorvente/amostra 1:1 e ultra-som na técnica DMFS para extração do agrotóxico atrazina.

No entanto, quando se analisou o efeito de terceira ordem proveniente da interação dos três fatores simultaneamente, observou-se que a utilização de co-coluna levou a um aumento na porcentagem de recuperação em 20,0%, quando a proporção adsorvente/amostra foi 1:1, sem utilizar o ultra-som, e uma queda de 5,8%, quando o ultra-som foi empregado. Estes efeitos de interação podem ser visualizados com os valores médios mostrados na Figura 33.

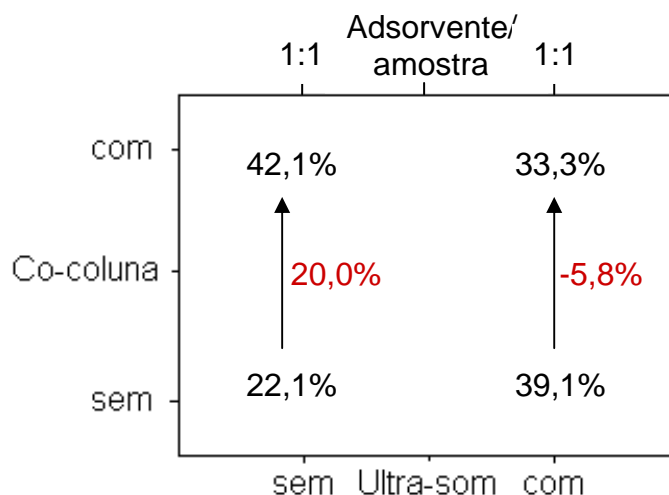


Figura 33. Diagrama para interpretação dos efeitos decorrentes da interação entre os fatores adsorvente/amostra, co-coluna e ultra-som observados no planejamento fatorial 2^3 em relação à atrazina.

Em relação ao agrotóxico thiamethoxam foi observada a existência de efeito de terceira ordem. Quando se analisou este efeito, observou-se que a utilização de co-coluna leva a um aumento na porcentagem de recuperação em 4,1%, quando a proporção adsorvente/amostra foi 1:2, sem utilizar o ultra-som, e uma queda de 29,2%, quando o ultra-som foi empregado. Estes efeitos de interação podem ser visualizados com os valores médios mostrados na Figura 34.

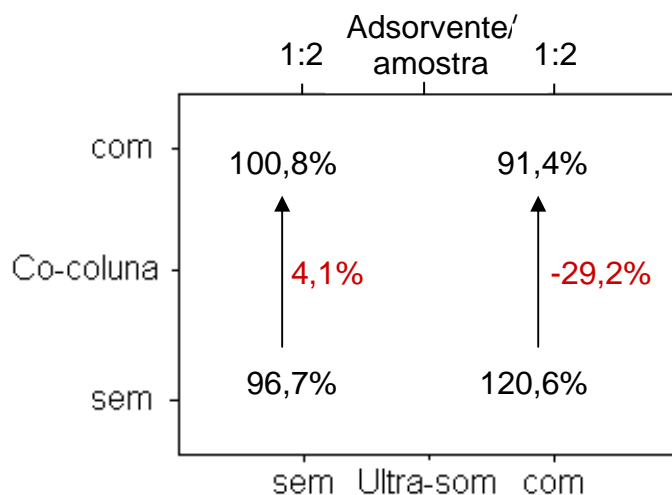


Figura 34. Diagrama para interpretação dos efeitos decorrentes da interação entre os fatores adsorvente/amostra, co-coluna e ultra-som observados no planejamento fatorial 2^3 em relação ao thiamethoxam.

Em relação ao agrotóxico triadimenol foi observada a existência de efeitos: principal, de segunda ordem e de terceira ordem. A utilização de co-coluna elevou a porcentagem de recuperação em 39,4%.

A utilização de ultra-som proporcionou uma queda na porcentagem de recuperação de 20,9%, quando a proporção adsorvente/amostra foi 1:1, e um aumento na porcentagem de recuperação em 9,7%, quando a proporção adsorvente/amostra foi 1:2. Estes efeitos de interação podem ser visualizados com os valores médios mostrados na Figura 35.

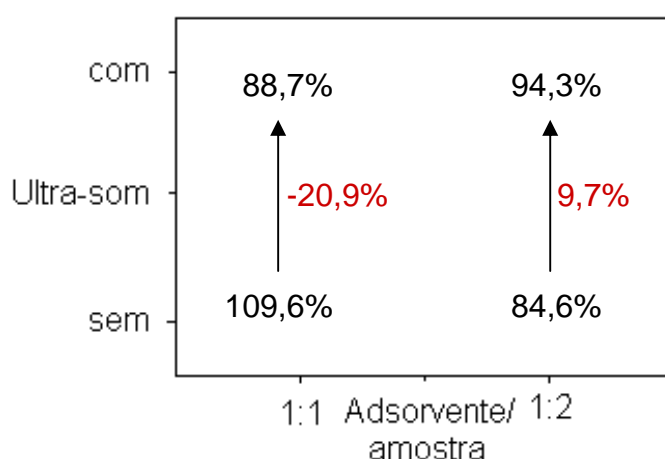


Figura 35. Diagrama para interpretação dos efeitos decorrentes da interação entre os fatores adsorvente/amostra e ultra-som observados no planejamento fatorial 2^3 em relação ao triadimenol.

Os maiores rendimentos (109,6%, em média) são obtidos utilizando proporção adsorvente/amostra 1:1 e não utilizando ultra-som na técnica DMFS para extração do agrotóxico triadimenol.

Quando se analisou o efeito de terceira ordem, observou-se que a utilização de ultra-som provocou queda na porcentagem de recuperação em 42,2%, quando a proporção adsorvente/amostra foi 1:1 e não se utilizou a co-coluna, e em 1,5 %, quando a co-coluna foi empregada. Estes efeitos de interação podem ser visualizados com os valores médios mostrados na Figura 36.

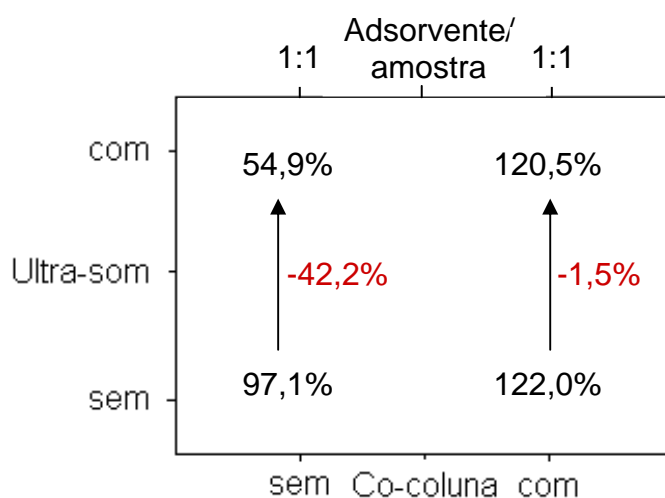


Figura 36. Diagrama para interpretação dos efeitos decorrentes da interação entre os fatores adsorvente/amostra, co-coluna e ultra-som observados no planejamento fatorial 2^3 em relação ao triadimenol.

Em relação ao agrotóxico deltametrina, não foi observada a existência de efeitos principais, de segunda ordem e de terceira ordem.

A presença de co-coluna, além de influenciar na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam e triadimenol, afeta qualitativamente os cromatogramas. Comparativamente, os cromatogramas dos extratos em que foi utilizada a co-coluna apresentaram menos picos desconhecidos, correspondentes aos componentes da matriz, em relação àqueles em que a co-coluna não foi utilizada. Observou-se também, um decaimento da linha de base e uma redução de ruídos da mesma. A Figura 37. mostra tais cromatogramas.

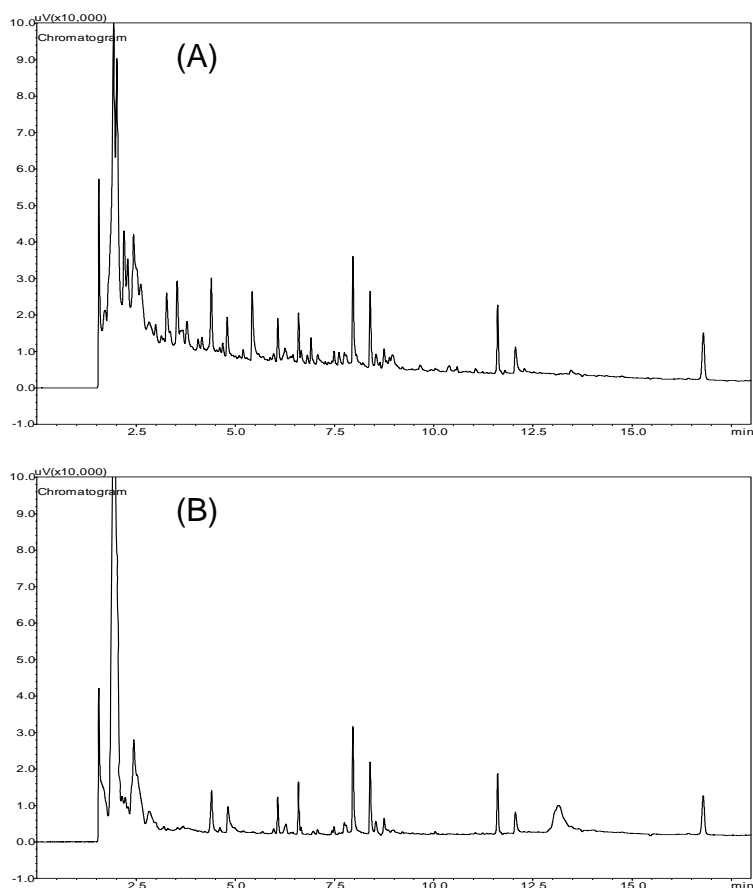


Figura 37. Cromatogramas de extratos obtidos pela utilização da técnica de extração por DMFS: (A) sem utilização de co-coluna e (B) com utilização de co-coluna.

Portanto, usar sílica na proporção adsorvente/amostra 1:1, utilizar florisil como co-coluna e não deixar o cartucho no ultra-som foram as melhores condições para análise dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina extraídos pela técnica DMFS de amostras de abacaxi.

5.3.2. Metodologia otimizada

A técnica de extração por dispersão de matriz em fase sólida para extração dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina de amostras de abacaxi foi otimizada. Além disso, foram determinadas as condições ótimas para identificação e quantificação desses compostos.

Propõe-se como metodologia otimizada: macerar em cápsula de porcelana 1,0000 g de abacaxi e 1,0000 g de sílica até completa dispersão da

matriz. Em seguida, a mistura é transferida para um cartucho contendo 1,0000 g de sulfato de sódio anidro, e co-coluna constituída de 0,5000 g de florisil, retidos por camada de papel adsorvente. São adicionados 10,0 mL de acetato de etila ao cartucho, em duas porções de 5,0 mL, sendo que a eluição ocorre numa vazão de aproximadamente $0,5 \text{ mL min}^{-1}$. Ao extrato coletado, acrescentam-se 100,0 μL de solução de bifentrina na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$. O solvente é evaporado sob corrente de ar, e o extrato recuperado em 1,0 mL de acetonitrila, sendo armazenado em frasco de vidro no freezer, até o momento da análise.

5.4. Comparação das técnicas ESL-PBT e DMFS

A dispersão de matriz em fase sólida (DMFS) é uma técnica que tem sido muito utilizada em análise de matrizes complexas, pois agrupa em uma única etapa a extração dos analitos e o *clean up* dos extratos (KRISTENSON et al., 2006).

Por esses motivos, os resultados obtidos pela técnica extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT) foram comparados com os resultados obtidos pela DMFS. A Tabela 16. mostra as porcentagens de recuperação dos agrotóxicos pelas duas técnicas, calculadas para amostras de abacaxi fortificadas com $1,67 \mu\text{g g}^{-1}$ de atrazina e triadimenol, e $0,33 \mu\text{g g}^{-1}$ de thiamethoxam e deltametrina.

Tabela 16. Porcentagens de recuperação dos agrotóxicos e seus respectivos desvios-padrão empregando as técnicas ESL-PBT e DMFS

Método	Atrazina	Thiamethoxam	Triadimenol	Deltametrina
ESL-PBT	$58,8 \pm 4,4$	$93,3 \pm 0,4$	$95,8 \pm 1,8$	$108,2 \pm 3,0$
DMFS	$42,1 \pm 2,7$	$100,1 \pm 12,4$	$122,0 \pm 2,7$	$91,0 \pm 4,9$

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 16., pode-se verificar que a técnica ESL-PBT proporcionou maiores porcentagens de extração para os compostos atrazina e deltametrina, e taxas de recuperação

estatisticamente iguais, ao nível de 95% de probabilidade pelo teste t, para o agrotóxico thiamethoxam.

Embora na técnica de extração por DMFS se utilize uma quantidade de amostra três vezes menor que na ESL-PBT (3,0000 g : 1,0000 g) é necessário que o extrato final na DMFS seja concentrado dez vezes (10,0 mL : 1,0 mL). Desta forma os interferentes estão mais concentrados na DMFS.

Comparativamente, os cromatogramas dos extratos obtidos utilizando-se a técnica ESL-PBT apresentaram menos picos desconhecidos, correspondentes aos componentes da matriz, próximos aos tempos de retenção dos compostos analisados, em relação aos obtidos pela técnica de extração por DMFS.

Portanto, a técnica extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura é uma alternativa de extração dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina em amostras de abacaxi, proporcionando resultados qualitativos mais satisfatórios, quando comparado com a técnica de extração por dispersão de matriz em fase sólida. Além disso, a técnica ESL-PBT proporciona altas porcentagens de recuperação, exceto para o agrotóxico atrazina, mas dentro do intervalo aceitável (50 e 120%), devido à complexidade da amostra.

6. CONCLUSÕES

A metodologia ESL-PBT para extração de resíduos de agrotóxicos em amostras de abacaxi e análise por CG/DCE resultou em um método simples, eficaz e de baixo custo. As porcentagens de recuperação foram superiores a 90%, exceto para a atrazina. A grande vantagem desta técnica é o baixo consumo de solventes para a extração dos agrotóxicos. A etapa de *clean up* com florisil foi necessária para remover co-extrativos presentes nos extratos provenientes do abacaxi. A modificação da polaridade da fase extratora, constituída de acetonitrila, adicionando pequena quantidade de acetato de etila favoreceu a extração dos agrotóxicos. Entretanto, o aumento da força iônica não provocou mudança significativa na porcentagem de extração dos agrotóxicos.

A metodologia ESL-PBT é eficiente para a extração dos resíduos de atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina em abacaxi, com limites de quantificação abaixo dos limites máximos de resíduos (LMR) estabelecidos pela União Européia para estes agrotóxicos neste tipo de matriz, com exceção à atrazina.

Os componentes da matriz influenciam na quantificação dos agrotóxicos em análises por cromatografia gasosa, ou seja, observou-se o efeito da matriz. Os compostos thiamethoxam e deltametrina sofrem maior interferência devido à presença dos co-extrativos da matriz, sendo o efeito de matriz mais pronunciado para esses compostos. Já para a atrazina e para o triadimenol, a presença dos componentes da matriz não interferiu, significativamente, em suas análises cromatográficas.

Não foi encontrado resíduo dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina em amostras de abacaxi, empregando-se a metodologia ESL-PBT otimizada e validada.

Na otimização da técnica de extração por DMFS foram avaliados o adsorvente, o eluente, e um planejamento fatorial 2^3 para analisar o comportamento simultâneo dos fatores. A eficiência da extração foi melhor quando a proporção adsorvente/amostra 1:1 e co-coluna foram utilizadas, sem utilização de ultra-som.

Comparando qualitativa e quantitativamente as técnicas ESL-PBT e DMFS, conclui-se que a técnica ESL-PBT proporcionou resultados mais satisfatórios que a técnica de extração por DMFS na extração dos agrotóxicos atrazina, thiamethoxam, triadimenol e deltametrina em amostras de abacaxi e análise por CG/DCE.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT - SISTEMAS DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS. **Cochonilha-do-abacaxi (*Dysmicoccus brevipes*)**. Disponível em: < http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons >. Acesso em: 12 out. 2009a.

AGROFIT - SISTEMAS DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS. **Broca-do-fruto (*Strymon basalides*)**. Disponível em: < http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons >. Acesso em: 12 out. 2009b.

AGROFIT - SISTEMAS DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS. **Fusariose (*Fusarium subglutinans*)**. Disponível em: < http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons >. Acesso em: 13 abr. 2010.

ALBERO, B.; SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; TADEO, J. L. Multiresidue determination of pesticides in juice by solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Talanta**, v. 66, n. 4, p. 917-924, 2005.

ANASTASSIADES, M.; MAŠTOVSKÁ, K.; LEHOTAY, S. J. Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides. **Journal of Chromatography A**, v. 1015, n. 1-2, p. 163-184, 2003.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Brasília, DF, 2003.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Consulta Pública nº 50, de 09 de junho de 2003**. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/index.htm> >. Acesso em: 10 out. 2009.

BARKER, S. A. Matrix solid-phase dispersion. **Journal of Chromatography A**, v. 885, n. 1-2, p. 115-127, 2000.

BITTENCOURT, L. M. **Dissipação e monitoramento dos inseticidas clorpirifós e thiamethoxam em tubérculos e solo cultivado com batata (*Solanum tuberosum* L.)**. 2008. 81f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2008.

BRASIL. Lei n. 7.802, de 11 de julho de 1989. Estabelece as Diretrizes e Bases da Educação Nacional, **Diário Oficial União**, Brasília, DF, 1989.

CABRAL, M. F.; SOUZA, D.; ALVES, C. R.; MACHADO, S. A. S. Estudo do comportamento eletroquímico do herbicida Ametryn utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada. **Eclética Química**, São Paulo, SP, v. 28, n. 2, p. 41-47, 2003.

CARVALHO, R. F.; RIGITANO, R. L. O.; LIMA, J. M. Sorção e degradação do fungicida triadimenol em solos representativos do município de Lavras - MG. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, MG, v. 26, n. 2, p. 332-341, 2002.

CATUNDA, M. G.; FREITAS, S. P.; OLIVEIRA, J. G.; SILVA, C. M. M. Efeitos de herbicidas na atividade fotossintética e no crescimento de abacaxi (*Ananas comosus*). **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 23, n. 1, p. 115-121, 2005.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**. 1. ed. Campinas, SP: Unicamp, 2006. 456p.

CORTÉS-AGUADO, S.; SÁNCHEZ-MORITO, N.; ARREBOLA, F. J.; FRENICH, A. G.; VIDAL, J. L. M. Fast screening of pesticide residues in fruit juice by solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 107, n. 3, p. 1314-1325, 2008.

COUTINHO, C. F. B.; TANIMOTO, S. T.; GALLI, A.; GARBELLINI, G. S.; TAKAYAMA, M.; AMARAL, R. B.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S. Pesticidas: mecanismo de ação, degradação e toxidez. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, PR, v. 15, p. 65-72, 2005.

CUADROS-RODRÍGUEZ, L.; GARCÍA-CAMPAÑA, A. M.; ALMANSA-LÓPEZ, E.; EGEA-GONZÁLEZ, F. J.; CANO, M. L. C.; FRENICH, A. G.; MARTÍNEZ-VIDAL, J. L. Correction function on biased results due to matrix effects. Application to the routine analysis of pesticide residues. **Analytica Chimica Acta**, v. 478, n. 2, p. 281-301, 2003.

DÓREA, H. S.; LANÇAS, F. M. Matrix solid-phase dispersion extraction of organophosphorus and synthetic pyrethroid pesticides in cashew nut and passion fruit. **Journal of Microcolumn Separations**, v. 11, n. 5, p. 367-375, 1999.

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

EIRAS, S. P.; ANDRADE, J. C. O uso do simplex modificado como estratégia de otimização em química analítica. **Química Nova**, São Paulo, SP, v. 19, n. 1, p. 24-29, 1996.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA.

Pragas. Disponível em: <

http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo_2334.pdf >. Acesso em: 25 out. 2009a.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA.

Manejo integrado da podridão-negra do fruto do abacaxizeiro. Disponível em: <

http://www.cnpmf.embrapa.br/publicacoes/produto_em_foco/abacaxi_34.pdf >. Acesso em: 15 out. 2009b.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA.

Sistemas alternativos permitem reduzir impactos com agrotóxicos.

Disponível em: <

<http://www.embrapa.br/embrapa/imprensa/noticias/2008/janeiro/3a-semana/sistemas-alternativos-permitem-reduzir-impactos-com-agrotoxicos> >. Acesso em: 04 jan. 2010.

EPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Interim reregistration eligibility decision for atrazine**. Disponível em: <

http://www.epa.gov/pesticides/reregistration/REDs/atrazine_ired.pdf >. Acesso em: 11 out. 2009.

ERNEY, D. R.; GILLESPIE, A. M.; GILVYDIS, D. M.; POOLE, C. F. 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 A**, v. 638, n. 1, p. 57-63, 1993.

EU Pesticides database. **Pineapples**. Disponível em: <
http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm?event=substance.result_t&s=1 >. Acesso em: 09 dez. 2009.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANISATION. **The global pineapple economy FAO keynote Address**. Disponível em: <
http://www.actahort.org/members/showpdf?booknrarnr=529_3 >. Acesso em:
14 jan. 2010.

FLETCHER, R. A.; NATH, V. Triadimefon reduces transpiration and increases yield in water stressed plants. **Physiologia Plantarum**, v. 62, n. 2, p. 422-426, 1984.

FYTIANOS, K.; RAIKOS, N.; THEODORIDIS, G.; VELINOVA, Z.; TSOUKALI, H. Solid phase microextraction applied to the analysis of organophosphorus insecticides in fruits. **Chemosphere**, v. 65, p. 2090-2095, 2006.

GALLI, A.; SOUZA, D.; GARBELLINI, G. S.; COUTINHO, C. F. B.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Química Nova**, São Paulo, SP, v. 29, n. 1, p. 105-112, 2006.

GARCIA, J. S. **Otimização de misturas de coagulantes para a remoção de cádmio, cobre e chumbo em sistema aquoso por coprecipitação**. 2003. 63f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2003.

GOBO, A. B.; KURZ, M. H. S.; PIZZUTTI, I. R.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Development and validation of methodology for the determination of residues of organophosphorus pesticides in tomatoes. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 6, p. 945-950, 2004.

GONZÁLEZ, F. J. E.; TORRES, M. E. H.; RODRÍGUEZ, L. C.; LÓPEZ, E. A.; VIDAL, J. L. M. Estimation and correction of matrix effects in gas chromatographic pesticide multiresidue analytical methods with a nitrogen phosphorus detector. **Analyst**, v. 127, n. 8, p. 1038-1044, 2002.

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

HAJŠLOVÁ, J.; HOLADOVÁ, K.; KOCOUREK, V.; POUSTKA, J.; GODULA, M.; CUHRA, P.; KEMPNÝ, M. Matrix-induced effects: a critical point in the gas chromatographic analysis of pesticide residues. *Journal of Chromatography A*, v. 800, n. 2, p. 283-295, 1998.

HAJŠLOVÁ, J.; ZROSTLÍKOVÁ, J. Matrix effects in (ultra)trace analysis of pesticide residues in food and biotic matrices. ***Journal of Chromatography A***, v. 1000, n. 1-2, p. 181-197, 2003.

INMETRO - INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos**. 2007.

JIANG, H.; ADAMS, C. D.; KOFFSKEY, W. Determination of chloro-s-triazines including didealkyltriazine using solid-phase extraction coupled with gas chromatography–mass spectrometry. ***Journal of Chromatography A***, v. 1064, n. 2, p. 219-226, 2005.

KAIPPER, B. I. A.; MADUREIRA, L. A. S.; CORSEUIL, H. X. Use of activated charcoal in a solid-phase extraction technique for analysis of pesticide residues in tomatoes. ***Journal of Brazilian Chemical Society***, v. 12, n. 4, p. 514-518, 2001.

KHOURI, A. G. **Análise de resíduos de atrazina e simazina em abacaxi no Estado de Goiás**. 2007. 56f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Produção Sustentável) - Universidade Católica de Goiás, Goiânia, GO, 2007.

KRISTENSON, E. M.; RAMOS, L.; BRINKMAN, U. A. TH. Recent advances in matrix solid-phase dispersion. ***Trends in Analytical Chemistry***, v. 25, n. 2, p. 96-111, 2006.

LAGE, K. A. **Efeito da remoção de frações de solo, da adição de matéria orgânica e do tempo de incubação na adsorção do aldicarbe**. 2001. 86f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

LANÇAS, F. M. **Extração em fase sólida (SPE)**. São Carlos: ed. Rima, 2004. 96 p.

LARA, W. H.; BATISTA, G. C. Pesticidas. ***Química Nova***, São Paulo, SP, v. 15, n. 2, p. 161-166, 1992.

LARA, R. I. R.; ZAMIRO, Z. A.; PERIOTO, N. W.; SANTOS, J. C. C. D. Uso de thiamethoxam no controle de *Bemisia tabaci* (GENNADIUS, 1889) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em cultura de jiló (*Solanum gilo*) (Solanaceae) no município de Ribeirão Preto, SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, SP, v. 68, n. 2, p. 83-87, 2001.

LICODIEDOFF, S. **Influência do teor de pectinas comerciais nas características físico-químicas e sensoriais da geléia de abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merrill)**. 2008. 119f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2008.

LIMA, F. J. C.; MARQUES, P. R. B. O.; NUNES, G. S.; TANAKA, S. M. C. N. Inseticida organofosforado metamidafós: aspectos toxicológicos e analíticos. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, PR, v. 11, p. 17-34, 2001.

LING, Y. C.; HUANG, I. P. Multi-residue matrix solid-phase dispersion method for the determination of six synthetic pyrethroids in vegetables followed by gas chromatography with electron capture detection. **Journal of chromatography A**, v. 695, n. 1, p. 75-82, 1995.

LIU, W.; HU, Y.; ZHAO, J.; XU, Y.; GUAN, Y. Determination of organophosphorus pesticides in cucumber and potato by stir bar sorptive extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1095, n. 1-2, p. 1-7, 2005.

MANETTI, L. M.; DELAPORTE, R. H.; LAVERDE JÚNIOR, A. Metabólitos secundários da família Bromeliaceae. **Química Nova**, São Paulo, SP, v. 32, n. 7, p. 1885-1897, 2009.

MANNA, S.; BHATTACHARYYA, D.; MANDAL, T. K.; DEY, S. Neuropharmacological effects of deltamethrin in rats. **Journal of Veterinary Science**, v. 7, n. 2, p. 133-136, 2006.

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.

MENKISSOGLU-SPIROUDI, U.; FOTOPOULOU, A. Matrix effect in gas chromatographic determination of insecticides and fungicides in vegetables. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 84, n. 1-3, p. 15-27, 2004.

MORAES, A. R. A.; MORAES, S. A.; LOURENÇÃO, A. L.; GODOY, I, J.; MARTINS, A. L. M. Efeito da aplicação de thiamethoxam para o controle do tripses na redução da severidade da verrugose do amendoim. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 164-170, 2006.

MORGADO, I. F.; AQUINO, C. N. P.; TERRA, D. C. T. Aspectos econômicos da cultura do abacaxi: sazonalidade de preços no Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v. 26, n. 1, p. 44-47, 2004.

NASREDDINE, L.; PARENT-MASSIN, D. Food contamination by metals and pesticides in the European Union. Should we worry? **Toxicology Letters**, v. 127, n. 1-3, p. 29-41, 2002.

NAVARRO, M. PICÓ, Y.; MARÍN, R.; MAÑES, J. Application of matrix solid-phase dispersion to the determination of a new generation of fungicides in fruits and vegetables. **Journal of chromatography A**, v. 968, n. 1-2, p. 201-209, 2002.

OLIVEIRA-SILVA, J. J.; ALVES, S. R.; MEYER, A.; PEREZ, F.; SARCINELLI, P. D. N.; MATTOS, R. D. C. O. D. C.; MOREIRA, J. C. Influência de fatores socioeconômicos na contaminação por agrotóxicos, Brasil. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, SP, v. 35, n. 2, p. 130-135, 2001.

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

PASCHOAL, J. A. R.; RATH, S.; AIROLDI, F. P. S.; REYES, F. G. R. Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. **Química Nova**, São Paulo, SP, v.31, n. 5, p. 1190-1198, 2008.

PAULA, R. T. **Mobilidade de atrazine e ametryn em latossolo vermelho-amarelo**. 2007. 93f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2007.

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

- PINHO, G. P. **Efeito de componentes da matriz na análise de agrotóxicos por cromatografia gasosa**. 2009. 94f. Tese (Doutorado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2009.
- PINHO, G. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R. Análise de resíduos de agrotóxicos em tomates empregando dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) e cromatografia gasosa. **Química Nova**, São Paulo, SP, v. 32, n. 1, p. 92-98, 2009a.
- PINHO, G. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.; SILVÉRIO, F. O. Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa. **Química Nova**, São Paulo, SP, v. 32, n. 4, p. 987-995, 2009b.
- POEL, B. V.; CEUSTERS, J.; PROFT, M. P. Determination of pineapple (*Ananas comosus*, MD-2 hybrid cultivar) plant maturity, the efficiency of flowering induction agents and the use of activated carbon. **Scientia Horticulturae**, v. 120, n. 1, p. 58-63, 2009.
- POOLE, C. F. Matrix-induced response enhancement in pesticide residue analysis by gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1158, n. 1-2, p. 241-250, 2007.
- RAVELO-PÉREZ, L. M.; HERNÁNDEZ-BORGES, J.; RODRIGUÉZ-DELGADO, M. A. Multi-walled carbon nanotubes as efficient solid-phase extraction materials of organophosphorus pesticides from apple, grape, orange and pineapple fruit juices. **Journal of Chromatography A**, v. 1211, n. 1-2, p. 33-42, 2008.
- REINHARDT, D. H. Abacaxi: produção, pós-colheita e mercado. In: SEMANA INTERNACIONAL DA FRUTICULTURA, FLORICULTURA E AGROINDÚSTRIA, 11., 2004, Fortaleza, CE. **Anais eletrônicos...** Fortaleza, 2004. Disponível em: <
<http://www.unitins.br/ates/arquivos/Agricultura/Fruticultura/Abacaxi/Abacaxi%20-%20Produ%C3%A7%C3%A3o%20e%20Mercado.pdf>>. Acesso em: 20 out. 2009.
- RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, São Paulo, SP, v. 27, n. 5, p.771-780, 2004.
- RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. L. S. **Guia de herbicidas**. 5. ed. Londrina, PR: IAPAR, 2005. 592p.

- SANCHES, S. M.; SILVA, C. H. T. P.; CAMPOS, S. X.; VIEIRA, E. M. Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, PR, v. 13, p. 53-58, 2003.
- SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; ALBERO, B.; MARTÍN, G.; TADEO, J. L. Determination of pesticides residues by GC-MS using analyte protectants to counteract the matrix effect. **Analytical Sciences**, v. 21, p. 1291-1296, 2005.
- SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. R. Piretróides - uma visão geral. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, SP, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2007.
- SHULING, S.; XIAODONG, M.; CHONGJIU, L. Multi-residue determination method of pesticides in leek by gel permeation chromatography and solid phase extraction followed by gas chromatography with mass spectrometric detector. **Food Control**, v. 18, n. 5, p. 448-453, 2007.
- SILVA, F. C.; CARDEAL, Z. L.; CARVALHO, C. R. Determinação de pesticidas organofosforados em água usando microextração em fase sólida e CGAR-EM. **Química Nova**, São Paulo, SP, v. 22, n. 2, p.197-200, 1999.
- SILVA, J. P.; SILVA, A, M.; KHMELINSKII, I. V.; MARTINHO, J. M. G.; FERREIRA, L. F. V. Photophysics and photochemistry of azole fungicides: triadimefon and triadimenol. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 142, n. 1, p. 31-37, 2001.
- SILVA, E. P. **Validação de método de extração e análise multirresíduo de agrotóxicos em carne bovina por cromatografia gasosa**. 2008. 102f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2008.
- SILVA, D. M. L.; CAMARGO, P. B.; MARTINELLI, L. A.; LANÇAS, F. M.; PINTO, J. S. S.; AVELAR, W. E. P. Organochlorine pesticides in Piracicaba river basin (São Paulo/Brazil): a survey of sediment, bivalve and fish. **Química Nova**, São Paulo, SP, v. 31, n. 2, p. 214-219, 2008.
- SODERLUND, D. M.; CLARK, J. M.; SHEETS, L. P.; MULLIN, L. S.; PICCIRILLO, V. J.; SARGENT, D.; STEVENS, J. T.; WEINER, M. L. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. **Toxicology**, v. 171, n. 1, p. 3-59, 2002.

SOUTO, R. F.; DURIGAN, J. F.; SOUZA, B. S.; DONADON, J.; MANEGUCCI, J. L. P. Conservação pós-colheita de abacaxi 'Pérola' colhido no estágio de maturação "pintado" associando-se refrigeração e atmosfera modificada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v. 26, n. 1, p. 24-28, 2004.

SOUZA, T. M.; SANTOS, L. E.; MOREIRA, R. R. D.; RANGEL, V. L. B. I. Avaliação da atividade fotoprotetora de *Achillea millefolium* L. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 1, p. 36-38, 2005.

STOPPELLI, I. M. B. S.; MAGALHÃES, C. P. Saúde e segurança alimentar: a questão dos agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, RJ, v. 10, p. 91-100, 2005.

VAILLANT, F.; MILLAN, A.; DORNIER, M.; DECLoux, M.; REYNES, M.. Strategy for economical optimization of the clarification of pulpy fruit juices using crossflow microfiltration. **Journal of Food Engineering**, v.48, n. 1, p.83-90, 2001.

VALENTINE, W. M. Toxicology of selected pesticides, drugs, and chemicals. Pyrethrin and pyrethroid insecticides. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v. 20, n. 2, p. 375-382, 1990.

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

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**, São Paulo, SP, v. 30, n. 3, p. 535-540, 2007.

WARE, G. W.; WITACRE, D. M. **An introduction to insecticides**. Department of Entomology, University of Arizona, Tucson, Arizona. Disponível em: < <http://ipmworld.umn.edu/chapters/ware.htm> >. Acesso em: 12 dez. 2009.

WESSELING, C.; CORRIOLS, M.; BRAVO, V. Acute pesticide poisoning and pesticide registration in Central America, **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 207, n. 2, p. 697-705, 2005.