

**LÍVIA CARVALHO SANTOS**

**INFLUÊNCIA DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO, DOS COMPONENTES DA  
MATRIZ E DA TEMPERATURA DA COLUNA NA RESPOSTA  
CROMATOGRÁFICA DE AGROTÓXICOS**

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  
2011**

LÍVIA CARVALHO SANTOS


**INFLUÊNCIA DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO, DOS COMPONENTES DA  
MATRIZ E DA TEMPERATURA DA COLUNA NA RESPOSTA  
CROMATOGRÁFICA PARA AGROTÓXICOS**

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*.

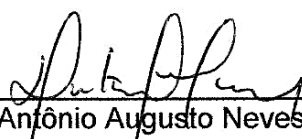
APROVADA: 18 de julho de 2011

  
\_\_\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup> Maria Eliana L.R. de Queiroz  
(Coorientadora)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Reinaldo Francisco Teófilo  
(Coorientador)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. André Fernando de Oliveira

  
\_\_\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup> Gilmore Antônia da Silva

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Antônio Augusto Neves  
(Orientador)

*A Deus,  
Aos meus pais Sebastião e Juliana,  
À minha irmã Larissa,  
À minha família e amigos.*

*Com muito amor e carinho,  
dedico este trabalho.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre estar presente em minha vida, me levando pelos caminhos certos;

Aos meus pais, Sebastião e Juliana, pelo amor, confiança e incentivo constante para que eu realizasse meus sonhos. Amo muito vocês;

À minha irmã Larissa e às meninas da república, Ana, Carla, Giselle, Ananda, Ludmila e Danila pelo companheirismo, carinho e amizade;

Aos meus amigos do LAQUA: Adley, Alessandra, Anna Isabel, Bárbara, Bruno, Carlos, Carolina, Claudia, Elenice, Elisa, Flaviane, Fernanda, Gustavo, Guilherme, Laercio, Luciana, Luiz Manoel, Paula, Rafaela, Renata, Romenique, Simone Goulart, Simone Mayrink, Soraia e Tamires pela amizade, segurança e acolhimento, e que de alguma forma contribuíram para a conquista e concretização deste trabalho;

Aos amigos de Viçosa e da Química, pelas lembranças mais felizes da minha vida;

Aos amigos de Barão de Cocais, que mesmo na distância se fizeram presentes;

Aos professores Antônio Augusto Neves, Reinaldo Francisco Teófilo e Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz, pela orientação e carinho durante toda a realização desse trabalho;

Aos professores André Fernando de Oliveira e Gilmare Antônia da Silva pela participação na banca de defesa;

Ao técnico Ricardo (LAQUA), pela amizade, disponibilidade e boa vontade em me ajudar;

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Química, pela oportunidade de desenvolvimento desse trabalho;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Capes/Reuni pela concessão da bolsa de estudos;

Enfim, a todos que torceram por mim, muito obrigada!

## **BIOGRAFIA**

LÍVIA CARVALHO SANTOS, filha de Sebastião de Moura Santos e Juliana Carvalho Moura Santos, nasceu em Nova Era, Minas Gerais, em 11 de março de 1987.

Em março de 2005, iniciou o Curso de Graduação em Química pela Universidade Federal de Viçosa – UFV, diplomando-se como bacharel e licenciada em 24 de julho de 2009.

Em agosto de 2009, iniciou o curso de pós-graduação em Agroquímica, em nível de mestrado, na Universidade Federal de Viçosa - UFV, submetendo-se à defesa de dissertação em 18 de julho de 2011.

# SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS .....	vii
LISTA DE TABELAS .....	viii
LISTA DE FIGURAS .....	ix
RESUMO .....	xii
ABSTRACT .....	xiv
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1. Análise de resíduos .....	3
2.2. Efeito de Matriz .....	4
2.2.1. Fatores que influenciam no efeito de matriz .....	7
2.2.2. Métodos para minimizar o efeito de matriz .....	9
2.3. Agrotóxicos utilizados .....	9
2.4. Matrizes analisadas .....	12
2.4.1. Tomate .....	12
2.4.2. Pimentão .....	13
2.5. Análises estatísticas .....	14
2.5.1. Teste <i>t</i> e Teste de hipóteses .....	16
2.5.2. Teste <i>t</i> pareado .....	19
2.5.3. Planejamento fatorial de três níveis .....	19
3. OBJETIVOS .....	21
3.1. Objetivos gerais .....	21
3.2. Objetivos específicos .....	21
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	22
4.1. Equipamentos .....	22
4.2. Reagentes .....	22
4.3. Extratos das matrizes .....	23
4.3.1. Extração Sólido-Líquido com Partição em Baixa Temperatura (ESL-PBT) .....	23
4.3.2. Extração Sólido-Líquido com Partição Induzida por Sal (ESL-PIS) .....	23
4.3.3. Dispersão da Matriz em Fase Sólida (DMFS) .....	24
4.4. Preparo das curvas analíticas .....	24
4.5. Análise cromatográfica .....	25
4.5.1. Efeito da temperatura, da matriz e do método de extração na resposta cromatográfica .....	26

4.6. Avaliação do efeito de matriz .....	27
4.6.1. Planejamento de três níveis .....	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	29
5.1. Análises cromatográficas .....	29
5.2. Influência da matriz e do método de extração na resposta cromatográfica .....	32
5.3. Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa .....	36
5.4. Planejamento fatorial de três níveis .....	42
5.5. Estabilidade dos agrotóxicos no extrato da matriz .....	50
6. CONCLUSÕES .....	53
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	54
APÊNDICE A .....	58
APÊNDICE B .....	67
APÊNDICE C .....	75

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA - Agência nacional de vigilância sanitária  
CG - Cromatografia em fase gasosa  
DCE - Detector por captura de elétrons  
DMFS - Dispersão de matriz em fase sólida  
EMBRAPA - Empresa brasileira de pesquisa agropecuária  
ESL-PBT - Extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura  
ESL-PIS - Extração sólido-líquido com partição induzida por sal  
IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry  
 $K_{ow}$  - Coeficiente de partição octanol-água  
LAQUA - Laboratório de Química Analítica  
LD - Limite de detecção  
LMR - Limite máximo de resíduo  
LQ - Limite de quantificação  
MQ - Média quadrática  
NC - Nível de confiança  
NEPA - Núcleo de estudo e pesquisa em alimentação  
PARA - Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos  
 $R^2$  - Coeficiente de determinação  
SQ - Soma quadrática  
TE - Temperatura de ebulição  
 $t_R$  - Tempo de retenção  
UFV - Universidade Federal de Viçosa

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Compostos utilizados no estudo (Anvisa, 2011; ChemSpider, 2011; IUPAC, 2011).....	10
Tabela 2. Composição dos frutos de tomate cru (100g de parte comestível) (NEPA, 2006).....	13
Tabela 3. Teores de vitaminas nos frutos maduros de tomate (valores médios por 100 g de fruto fresco) (Davies <i>et al.</i> , 1981).....	13
Tabela 4. Composição dos frutos de pimentão cru (100g de parte comestível) (NEPA, 2006).....	14
Tabela 5. Concentrações dos analitos nos pontos da curva analítica .....	25
Tabela 6. Concentrações de cada agrotóxico.....	28
Tabela 7. Valores dos efeitos estimados para cada agrotóxico em estudo. ....	43

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Diagrama esquemático de sítios presentes na superfície de vidro do liner do injetor em uma injeção com divisão do fluxo (split), para solução preparada em (A) solvente e (B) extratos da matriz (branco) (Pinho, 2009).....5
- Figura 2. Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill)..... 12
- Figura 3. Pimentão vermelho e amarelo (*Capsicum annuum* var. *annuum*) ..... 14
- Figura 4. Frequência de distribuição para um conjunto de medidas (Skoog et al., 2005)..... 15
- Figura 5. Regiões de rejeição para teste t: (A) teste de cauda superior; (B) teste de cauda inferior e (C) teste bicaudal ..... 18
- Figura 6. Combinações do tratamento no planejamento 33 (Montgomery, 2001).  
.....20
- Figura 7. Cromatograma de uma solução padrão de agrotóxicos, preparada em acetonitrila, com temperatura inicial da coluna de 150 °C: 1-Clorotalonil (tR=4,97), 2-Parationa Metílica (tR=5,35), 3-Clorpirifós (tR=5,95), 4-Tiametoxam (tR=6,21), 5-Procimidona (tR=6,69), 6-Ciproconazol (tR=7,95), 7-Iprodiona (tR=8,34), 8-Bifentrina (tR=10,57), 9-Azoxistrobina (tR=14,17). ..... 30
- Figura 8. Cromatograma de uma solução padrão de agrotóxicos, preparada em acetonitrila, com temperatura inicial da coluna de 100 °C: 1-Clorotalonil (tR=7,20), 2-Parationa Metílica (tR=7,66), 3-Clorpirifós (tR=8,31), 4-Tiametoxam (tR=8,56), 5-Procimidona (tR=9,08), 6-Ciproconazol (tR=10,37), 7-Iprodiona (tR=10,76), 8-Bifentrina (tR=13,06), 9-Azoxistrobina (tR=16,68). ..... 30
- Figura 9. Cromatograma de uma solução padrão de agrotóxicos, preparada em acetonitrila, com temperatura inicial da coluna de 60 °C: 1-Clorotalonil (tR=9,19), 2-Parationa Metílica (tR=9,65), 3-Clorpirifós (tR=10,31), 4-Tiametoxam (tR=10,55), 5-Procimidona (tR=11,08), 6-Ciproconazol (tR=12,37), 7-Iprodiona (tR=12,76), 8-Bifentrina (tR=15,07), 9-Azoxistrobina (tR=18,69). ...31

Figura 10. Cromatograma de extrato orgânico obtido de amostra de pimentão vermelho submetido à extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT). .....	33
Figura 11. Cromatograma de extrato orgânico obtido de amostra de pimentão vermelho submetido à extração sólido-líquido com partição induzida por sal (ESL-PIS).....	33
Figura 12. Cromatograma de extrato orgânico obtido de amostra de pimentão vermelho submetido à extração dispersão da matriz em fase sólida (DMFS). .	33
Figura 13. Cromatograma do extrato orgânico de (A) tomate a partir da técnica DMFS, (B) pimentão amarelo a partir da técnica DMFS, (C) tomate a partir da técnica ESL-PBT, (D) pimentão amarelo a partir da técnica ESL-PBT, (E) tomate a partir da técnica ESL-PIS e (F) pimentão amarelo a partir da técnica ESL-PIS. ....	35
Figura 14. Curvas analíticas obtidas de padrões de agrotóxicos preparados em acetonitrila (vermelho) e extrato orgânico de pimentão vermelho (preto), obtido pela técnica ESL-PBT, com temperatura inicial da coluna de 150 °C.....	37
Figura 15. Curvas analíticas obtidas para o padrão de bifentrina, preparada em acetonitrila (vermelho) e extrato orgânico de pimentão vermelho (preto) pela técnica ESL-PIS, com temperatura inicial da coluna de 150 °C. ....	39
Figura 16. Gráfico da porcentagem de efeito de matriz para a azoxistrobina em função da concentração do analito, para a matriz tomate, nos três métodos de extração, analisados com temperatura inicial da coluna de 150 °C. (↔) ESL-PBT, (→) ESL-PIS e (↗) DMFS. ....	41
Figura 17. Gráfico de médias marginais do efeito de matriz em função da matriz para: A) clorotalonil, B) clorpirifós, C) tiametoxam, D) procimidona, E) iprodiona, F) bifentrina e G) azoxistrobina.....	45
Figura 18. Gráfico de médias marginais do efeito de matriz em função do método de extração para: A) clorotalonil, B) clorpirifós, C) procimidona, D) iprodiona, E) bifentrina e F) azoxistrobina. ....	48
Figura 19. Gráfico de médias marginais do efeito de matriz em função da	

concentração do analito para: A) clorotalonil, B) clorpirifós, C) tiametoxam e D) procimidona. ....49

Figura 20. Gráficos de médias marginais do efeito de matriz em função da temperatura para: A) tiametoxam, B) iprodiona, C) bifentrina e D) azoxistrobina. ....50

## RESUMO

SANTOS, Livia Carvalho, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2011. **Influência do método de extração, dos componentes da matriz e da temperatura da coluna na resposta cromatográfica para agrotóxicos.** Orientador: Antônio Augusto Neves. Co-orientadores: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz e Reinaldo Francisco Teófilo.

Durante as análises cromatográficas, componentes da matriz contidos nos extratos podem influenciar na quantificação dos analitos de interesse, gerando resultados duvidosos. À alteração na resposta cromatográfica (devido à presença de co-extrativos) dá-se o nome de efeito de matriz. A ocorrência dos efeitos induzidos pela matriz e a sua extensão são influenciadas por vários fatores, como polaridade do analito, tipo da matriz analisada, histórico do sistema cromatográfico (deposição de substâncias no insertor), concentração do analito, etc. Neste trabalho avaliou-se a influência da matriz, do método de extração, da concentração do analito e da temperatura inicial da coluna na resposta cromatográfica (área do pico) de oito agrotóxicos (clorotalonil, clorpirifós, tiametoxam, procimidona, ciproconazol, iprodiona, bifentrina e azoxistrobina), em três níveis de concentração, utilizando a parationa metílica como padrão interno. Os extratos foram obtidos das matrizes pimentão vermelho, pimentão amarelo e tomate, por três métodos de extração: Extração sólido-líquido com partição à baixa temperatura (ESL-PBT), Extração sólido-líquido com partição induzida por sal (ESL-PIS) e Dispersão da matriz em fase sólida (DMFS). As análises foram realizadas por Cromatografia Gasosa com Detector por Captura de Elétrons (CG-DCE), com condições que garantiram uma boa separação dos analitos. A temperatura inicial da coluna foi avaliada em três níveis: 60, 100 e 150 °C. O efeito de matriz foi avaliado pela diferença da resposta cromatográfica para cada agrotóxico, analisado nos extratos orgânicos de três matrizes obtidos por três métodos de extração, em relação à resposta em solvente puro, variando-se a temperatura inicial da coluna. A partir dos resultados fez-se uso do planejamento fatorial de três níveis com os dados de cada agrotóxico, a um nível de confiança de 95% ( $\alpha=0,05$ ). Para a maioria dos agrotóxicos, matrizes de coloração avermelhada contribuíram mais

significativamente para o aumento do efeito de matriz. Os analitos responderam de maneira distinta em relação à temperatura; em alguns casos a temperatura ideal foi 60 °C, em outros 150 °C. Utilizando-se a técnica DMFS, as respostas obtidas para os analitos nos extratos se aproximaram das encontradas em acetonitrila. Também foi feito um estudo da estabilidade dos analitos nos extratos preparados, que foram armazenados e analisados após 20, 40 e 60 dias da primeira análise. Os resultados das respostas foram comparados pelo teste *t* pareado, a um nível de confiança de 99% ( $\alpha=0,01$ ). Os agrotóxicos clorotalonil e tiametoxam se mostraram estáveis para todos os extratos até o 60° dia de análise. O clorpirifós e a procimidona sofreram variações na concentração na presença de co-extrativos do pimentão vermelho, nos 60° e 40° dias de análise, respectivamente. O ciproconazol teve sua resposta diminuída na presença de componentes da matriz tomate a partir do 40° dia de análise. Os demais compostos não sofreram alteração na resposta devido ao longo do tempo estudado. Dessa forma, foi possível investigar a influência de diferentes variáveis na análise cromatográfica e verificar a estabilidade dos agrotóxicos ao longo do período de monitoramento.

## ABSTRACT

SANTOS, Livia Carvalho, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July 2011.  
**Influence of extraction method, matrix components and temperature of the chromatographic column in response to pesticides.** Adviser: Antônio Augusto Neves. Co-advisers: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz and Reinaldo Francisco Teófilo.

During the chromatographic analysis, components of the matrix contained in the extracts may influence the quantification of analytes, producing unreliable results. The change in the chromatographic response (due to the presence of co-extractives) receives the name of the matrix effect. The occurrence of matrix-induced effects and their extent are influenced by several factors such as analyte polarity, matrix analyzed type, chromatographic system historic (deposition of substances in the inserter), analyte concentration, etc. This study evaluated the influence of the matrix, the extraction method, the analyte concentration and the initial temperature of column chromatographic on the response (peak area) of eight pesticides (chlorothalonil, chlorpyrifos, thiamethoxam, procymidone, cyproconazole, iprodione, bifenthrin and azoxystrobin) at three concentration levels, using methyl parathion as internal standard. The extracts were obtained from the matrices red pepper, yellow pepper and tomato, by three extraction methods: solid-liquid extraction with purification at low temperature (SLE-PLT), solid-liquid extraction with salt induced partitioning (SLE-SIP) and matrix solid-phase dispersion (MSPD). The analyses were performed by Gas Chromatography with Electron Capture Detector (GC-ECD), with conditions that ensured a good analytes separation. The initial column temperature was evaluated at three levels: 60, 100 and 150 °C. The matrix effect was measured by the difference of the chromatographic response for each pesticide, analyzed in the organic extracts of three matrices obtained by three extraction methods, in relation the response in pure solvent, varying the initial temperature of the column. It was used the three level design with the data of each pesticide at a confidence level of 95% ( $\alpha = 0,05$ ), from the results. For most pesticides, the red matrixes contributed more significantly to the increase the matrix effect. The analytes responded differently in respect to

temperature; in some cases the optimal temperature was 60 °C, in another 150 °C. Using the MSPD technique, the responses from the extracts approached those found in acetonitrile. It was also made a study of the stability of analytes in extracts prepared, which were stored and analyzed after 20, 40 and 60 days of the first analysis. The results of the responses were compared by paired *t* test at a confidence level of 99% ( $\alpha = 0,01$ ). The pesticide chlorothalonil and thiamethoxam were stable in all extracts until the 60th day of reading. Chlorpyrifos and procymidone had varied their concentration in the presence of co-extractives of red pepper, in 60th and 40th day of analysis, respectively. The cyproconazole had decreased their response in the presence of matrix components tomato from the 40th day of reading. Thus, it was possible to investigate the different variables influence on the chromatographic analysis and check the stability of pesticides during the monitoring period.

# 1. INTRODUÇÃO

Algumas substâncias que causam efeitos adversos à saúde humana podem ocorrer naturalmente em alguns alimentos, mas também serem adicionadas durante a produção, a estocagem, processamento e embalagem dos mesmos. Os principais contaminantes encontrados em alimentos são os antibióticos, drogas promotoras de crescimento, metais pesados e agrotóxicos (Bolognesi e Morasso, 2000). A grande demanda por alimentos tem levado ao uso dessas substâncias em grandes quantidades, principalmente nas etapas de produção e armazenamento, a fim de aumentar a produtividade e a qualidade dos mesmos.

Os agrotóxicos, devido às propriedades de controlar pragas (como roedores, insetos, fungos e plantas daninhas), são necessários à produção global de alimentos, tanto de origem animal ou vegetal. Entretanto eles podem permanecer inevitavelmente presentes como resíduos (Bolognesi e Morasso, 2000), da mesma maneira que os promotores de crescimento. Uma alternativa para obter alimentos mais saudáveis (livres de agrotóxicos e outras substâncias) é o cultivo sem a presença de fertilizantes, pesticidas, antibióticos, etc., em detrimento à produtividade. Mesmo assim corre-se o risco do meio já conter essas substâncias devido a culturas anteriores.

A presença dessas substâncias nos alimentos tem gerado uma demanda de métodos analíticos rápidos, multirresíduos e capazes de determinar quantidades traço. Dependendo da substância que se deseja analisar, e também da matriz em que ela se encontra, é necessário que seja feita uma extração e separação dos analitos. Em seguida, geralmente, as identificações e quantificações são feitas por métodos cromatográficos.

Nessas análises, especificamente no processo de extração do(s) analito(s) de interesse, componentes da matriz podem ser também extraídos, e interferir na separação, identificação e quantificação dos mesmos. Qualquer interferência é relevante, de modo que dados analíticos não confiáveis podem conduzir a decisões desastrosas e a prejuízos financeiros irreparáveis (Ribani

*et al.*, 2004), influenciando, por exemplo, no parecer se um alimento está dentro das normas determinadas pela Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária).

A interferência desses componentes da matriz na quantificação de agrotóxicos tem sido estudada pelo grupo de pesquisa LAQUA (Laboratório de Química Analítica da UFV), que trabalha na otimização e validação de métodos que permitem a análise de diversos compostos em matrizes complexas por cromatografia gasosa.

O fato de se trabalhar com matrizes complexas pode levar a dois problemas. Primeiramente, durante as análises cromatográficas, os componentes da matriz, contidos nos extratos, podem influenciar na quantificação dos analitos de interesse, gerando resultados duvidosos (efeito de matriz) (Pinho *et al.*, 2010). Em segundo lugar, devido à variedade de contaminantes e à diversidade de alimentos, é praticamente necessário que se otimize um método para cada matriz. O ideal seria estabelecer um único procedimento capaz de quantificar analitos com propriedades diferentes em matrizes também distintas.

Nesse trabalho será avaliada a influência do método de extração e do tipo de matriz na interferência e na quantificação cromatográfica de um grupo de agrotóxicos. Serão avaliadas também algumas condições cromatográficas que podem influenciar na resposta obtida.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Análise de resíduos

Em 2001 a Anvisa iniciou o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), com o objetivo de avaliar continuamente os níveis de resíduos de agrotóxicos nos alimentos *in natura* que chegam à mesa do consumidor visando a segurança alimentar, evitando assim, possíveis agravos à saúde da população (Anvisa, 2010).

A análise de traços de contaminantes orgânicos em alimentos e/ou amostras bióticas consiste tipicamente das seguintes etapas consecutivas: (i) isolamento de analitos da matriz da amostra, (ii) remoção de co-extrativos do extrato bruto e (iii) identificação e quantificação dos analitos alvo (Hajslová e Zrostlíková, 2003).

A técnica a ser utilizada na análise deve ser capaz de promover uma separação eficiente entre o analito e quaisquer outras substâncias que estejam presentes na amostra, e também alcançar baixos níveis de detecção e quantificação, que atendam aos valores máximos estabelecidos pelas agências reguladoras. Para esse tipo de análise, a cromatografia gasosa é uma das técnicas mais empregadas (Skoog *et al.*, 2005), onde a separação baseia-se na diferente distribuição das substâncias da amostra entre uma fase estacionária (sólida ou líquida) e uma fase móvel (gasosa) (Collins *et al.*, 2006).

Embora a configuração instrumental e as condições operacionais predeterminem fortemente as características de desempenho do método, o papel chave em muitos casos é a estratégia de preparação de amostras correspondentes às etapas (i) e (ii) citadas anteriormente. Dependendo da natureza (tamanho molecular, polaridade, estabilidade térmica, volatilidade) dos co-extrativos, essas substâncias podem interferir em vários estágios do processo cromatográfico (Hajslová e Zrostlíková, 2003), assim como no processo de extração do analito. Na análise de octilfenol (um produto de degradação do surfactante octilfenol etoxilado), por exemplo, em amostras

biológicas por microextração em fase sólida, estudou-se a influência dos elementos da matriz que, ao se adsorverem na superfície da fibra, afetavam a absorção do analito na mesma (Heringa *et al.*, 2006).

Desse modo, para garantir uma resposta confiável após uma análise cromatográfica, um estudo sobre o efeito da matriz, e também das condições do sistema cromatográfico na resposta dos analitos de interesse é necessário, para que se possam adotar medidas preventivas ou corretivas.

## 2.2. Efeito de Matriz

A cromatografia em fase gasosa (CG) é a técnica analítica mais empregada na quantificação de agrotóxicos em diversas matrizes ambientais. Entretanto, durante as análises cromatográficas, os componentes da matriz contidos nos extratos podem influenciar na quantificação dos analitos de interesse, gerando resultados duvidosos (Pinho *et al.*, 2010). Em estudos bem elaborados esses resultados são avaliados, e à alteração na resposta cromatográfica (devido à presença de co-extrativos) dá-se o nome de efeito de matriz. O efeito de matriz é observado quando uma considerável diferença de resposta é obtida entre padrões preparados no solvente e aqueles preparados no extrato da matriz, com boa precisão (Picó *et al.*, 2004). Esse fenômeno permite explicar recuperações superiores a 100%, que são relatados em estudos de agrotóxicos utilizando padrões em solvente puro e comparando-os quando analisados no extrato das matrizes (Hajslová *et al.*, 1998).

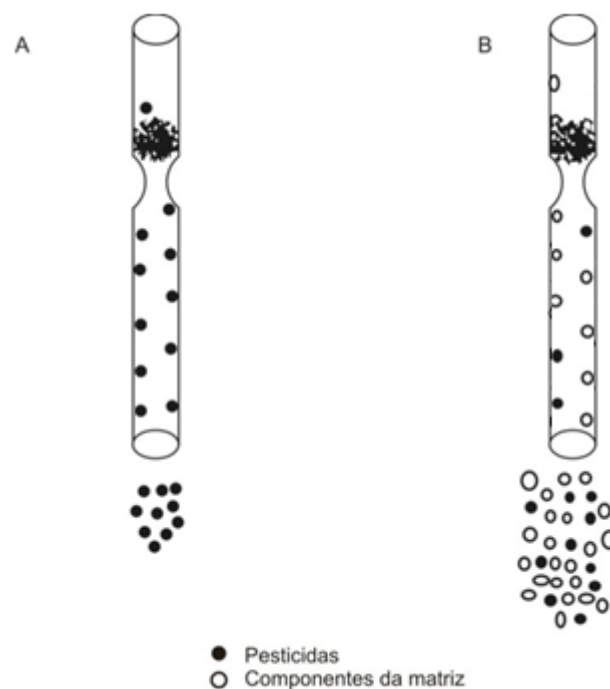
Os primeiros trabalhos sobre a influência da matriz nas análises de agrotóxicos por cromatografia foram publicados a partir de 1981 (Carson, 1981), entretanto, considera-se que o efeito de matriz foi sistematicamente estudado pela primeira vez por Erney e colaboradores (Erney *et al.*, 1993) na análise por CG.

O efeito de matriz pode ocorrer em diversas partes do sistema cromatográfico, como injetor, coluna ou detector. No injetor, as interações entre analitos e os sítios ativos do *liner* (insertor) são as principais responsáveis pelo efeito de matriz nas análises cromatográficas.

O *liner* situado na porta de injeção é um tubo de vidro, contendo grupos silanóis em sua estrutura. Esses grupos silanóis são sítios ativos que podem

induzir a degradação ou simplesmente adsorver o composto de interesse (Hajslová e Zrostlíková, 2003).

Quando as soluções padrão são preparadas no solvente puro e analisadas por cromatografia, mais sítios ativos do *liner* estão disponíveis para interagir com os pesticidas. Entretanto, quando se analisa os extratos, os pesticidas estão na presença de componentes da matriz, ocorrendo assim uma competição pelos sítios ativos. Dependendo das características do analito e da amostra, os componentes da matriz podem ser adsorvidos no *liner* e mais agrotóxicos podem ser introduzidos na coluna cromatográfica, originando uma resposta maior quando comparada à resposta em solvente puro, proporcionando, assim, erroneamente, uma alta concentração do agrotóxico. Quando a mudança na resposta cromatográfica for acima de 10% considera-se que o efeito de matriz começa a exercer influência nas análises (Hajslová e Zrostlíková, 2003). A figura 1 mostra um esquema do *liner* do injetor, e a comparação da quantidade de analito que pode ficar retida em soluções preparadas em acetonitrila e no extrato da matriz.



**Figura 1.** Diagrama esquemático de sítios presentes na superfície de vidro do *liner* do injetor em uma injeção com divisão do fluxo (*split*), para solução preparada em (A) solvente e (B) extratos da matriz (branco) (Pinho, 2009).

Por outro lado, quando a eficiência de extração do método for muito

baixa, esse resultado pode estar sendo influenciado por um efeito de matriz negativo. Nesses casos os co-extrativos podem contribuir para aumentar o número de sítios de adsorção no sistema cromatográfico, fazendo com que menos quantidade do analito chegue ao detector.

Na análise de agrotóxicos em uva (Soares, 2011), obteve-se uma variação na resposta cromatográfica do fungicida clorotalonil acima de 300%, quando analisado no extrato da matriz. Porcentagens de efeito de matriz negativas foram encontradas para a procimidona, o endossulfam e a iprodiona na análise desses agrotóxicos em alface (Costa, 2011). Isso provavelmente ocorreu devido ao acúmulo de co-extrativos não voláteis no sistema cromatográfico, levando à formação de novos sítios ativos que agiram como os grupos silanóis citados anteriormente, diminuindo a resposta dos analitos. Este fato é muitas vezes chamado de indução da diminuição da resposta pela matriz (Mastovská *et al.*, 2004).

A explicação de que os componentes da matriz mascaram os sítios ativos no sistema cromatográfico, o que faz com que menos sítios estejam disponíveis para interagir com analitos, levando a menos perdas e picos mais bem definidos também foi defendida por Anastassiades e colaboradores (Anastassiades *et al.*, 2003).

O efeito dos co-extrativos no sistema cromatográfico não se restringe ao injetor. Pode acontecer de essas substâncias possuírem tempos de retenção idênticos ao dos analitos estudados, podendo gerar múltiplas consequências desfavoráveis, sendo as mais pronunciadas (Hajslová e Zrostlíková, 2003):

- (i) O pico do analito é mascarado → resultado falso negativo;
- (ii) A impureza é falsamente identificada como a substância, que na realidade está ausente → resultado falso positivo;
- (iii) O sinal do detector é aumentado → superestimação do resultado;
- (iv) Extinção do sinal do detector.

Falsos positivos e falsos negativos são dificilmente evitados se a confirmação dos resultados não é realizada por um procedimento analítico alternativo independente (Hajslová e Zrostlíková, 2003), como espectrometria de massas.

Os dois últimos problemas podem ser compensados pela adoção de uma estratégia adequada de calibração, como por exemplo, o método de

superposição da matriz, que consiste na adição do padrão da substância (em diversas concentrações) em uma matriz similar à da amostra, isenta da substância, e construção do gráfico de calibração relacionando as áreas obtidas com as concentrações dos padrões (Ribani *et al.*, 2004). A superposição de matriz tem o inconveniente de aumentar o custo e o tempo das análises, devido à necessidade de uma curva de calibração para cada matriz estudada.

Embora existam poucos estudos na literatura sobre o efeito de matriz associado à coluna cromatográfica e ao tipo de detector, sabe-se que as conexões entre o injetor e a coluna, e as conexões entre coluna e detector podem também promover o efeito de matriz (Poole, 2007). Para as colunas, geralmente as que possuem menor diâmetro interno apresentam menores diferenças nos resultados, em detrimento àquelas de maior diâmetro (Dömötöróvá *et al.*, 2006). O tempo (e histórico) de uso também influencia nas análises: uma coluna cromatográfica que já sofreu várias injeções sucessivas de diferentes matrizes pode apresentar maior efeito de matriz que uma coluna nova (Schenck e Lehotay, 2000).

Em relação ao detector usado na análise cromatográfica, relata-se que a detecção por espectrometria de massas é mais suscetível ao efeito de matriz que outros detectores em função da sua ampla detectabilidade (Pinho *et al.*, 2009). Além disso, o próprio espectrômetro de massas pode acentuar o efeito de matriz, já que este possui uma superfície metálica e, além disso, não realiza nenhum tipo de combustão da amostra (Schenck e Lehotay, 2000).

### **2.2.1. Fatores que influenciam no efeito de matriz**

A ocorrência dos efeitos induzidos pela matriz e a sua extensão são simultaneamente influenciadas por vários fatores:

(i) Caráter dos agrotóxicos: recuperações aparentemente mais altas com pior precisão em repetidas injeções são encontradas para agrotóxicos mais polares (Pinho *et al.*, 2010);

Muitos compostos não têm sua resposta afetada pela matriz, seja por serem termicamente estáveis, por possuírem um potencial limitado de adsorção nos injetores ou pela matriz ser incapaz de realizar um efeito protetor.

Já outras substâncias são suscetíveis a uma melhoria na resposta. A maioria desses compostos é polar e possuem as seguintes características/grupos funcionais: organofosforados (-P=O), carbamatos (O-CO-NH-), hidroxicompostos (-OH), amino-compostos (R-NH-), imidazóis e benzimidazóis (-N=) e derivados da uréia (-NH-CO-NH-). Pesticidas organofosforados contendo o grupo (-PS) são menos afetados pela matriz que aqueles com o grupo (-PO) (Hajslová e Zrostlíková, 2003; Poole, 2007).

(ii) Tipo da matriz: os efeitos induzidos pela matriz para determinados pesticidas são claramente dependentes do tipo de matriz (ou seja, do tipo de co-extrativos na amostra) (Pinho *et al.*, 2010);

A maior parte dos estudos sobre o efeito de matriz é relacionada ao emprego de matrizes vegetais, animais ou alimentares. Estes tipos de matrizes são comumente estudados com organofosforados devido ao seu papel como fonte de agrotóxicos na dieta humana e também à necessidade de regulamentação para avaliar os efeitos potenciais sobre a saúde decorrentes destes contaminantes na cadeia alimentar (Poole, 2007).

(iii) Concentração do analito/matriz: uma menor precisão nas medições é encontrada especialmente em níveis mais baixos de concentração dos analitos e/ou em maior concentração de componentes da matriz na amostra (Hajslová *et al.*, 1998; Pinho *et al.*, 2010);

(iv) Histórico do sistema de CG: respostas relativas ao padrão em solvente puro (100%) da maioria dos pesticidas diminuem gradativamente ao longo do tempo em que estes analitos são injetados na solução contendo a matriz (Hajslová *et al.*, 1998). A saturação do sistema cromatográfico com injeções sucessivas de extrato isentos de agrotóxicos tem a capacidade de aumentar a resposta cromatográfica do analito em solvente puro. Essa é uma consequência do aumento da contaminação da entrada do CG, pois cada injeção anterior tem potencial de modificar a atividade do injetor pela própria deposição dos componentes da matriz no insertor (Pinho *et al.*, 2009).

Deve-se ressaltar que os efeitos induzidos pela matriz podem gerar resultados controversos por laboratórios que funcionam com diferentes métodos de preparação de extrato (e assim gerando quantidade e caráter de co-extrativos diferentes na amostra) ou que executam análises por CG em condições completamente distintas (Hajslová *et al.*, 1998).

### 2.2.2. Métodos para minimizar o efeito de matriz

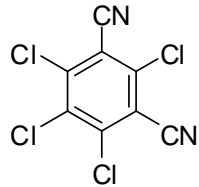
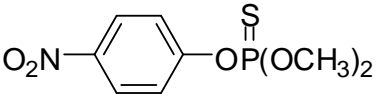
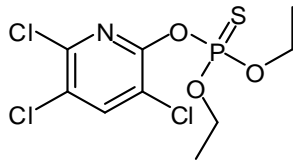
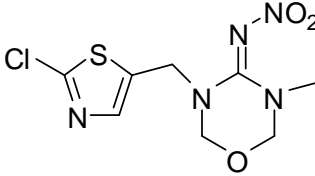
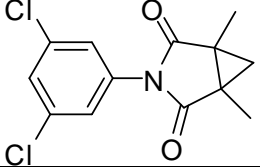
A quantificação exata de resíduos de agrotóxicos em amostras ambientais é importante, sendo necessário o desenvolvimento de métodos para contornar o problema da alta recuperação (ou de valores abaixo do esperado) de determinados agrotóxicos. Embora já existam na literatura vários métodos, nenhum deles ainda pode ser considerado universal, ou seja, nenhum é capaz de eliminar totalmente o efeito de matriz na quantificação de qualquer agrotóxico nos diversos tipos de matrizes. A escolha do método adequado para minimizar os erros depende do conjunto de agrotóxicos que se deseja analisar, do método analítico, das condições do equipamento, da disponibilidade de tempo e de recursos (Pinho *et al.*, 2009).

As propostas mais comuns encontradas em trabalhos científicos e em laboratórios oficiais para monitoramento de resíduos de agrotóxicos em alimentos são: curva analítica da matriz, formas de injeção (temperatura programada de vaporização, injeção na cabeça da coluna, controle de pressão eletrônica no injetor), limpeza dos extratos, função de correção, método de adição de padrão e protetores de analitos (Hajslová e Zrostlíková, 2003; Poole, 2007; Pinho *et al.*, 2009).

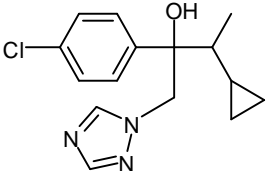
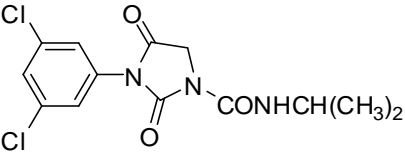
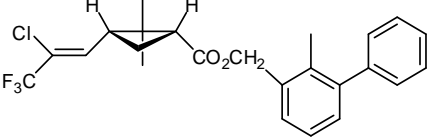
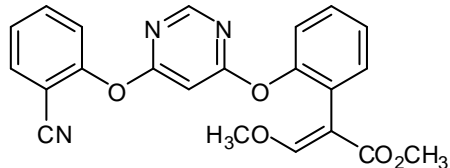
### 2.3. Agrotóxicos utilizados

A Tabela a seguir (Tabela 1) contém a fórmula estrutural, o grupo químico, a classe, a massa molar, o coeficiente de partição octanol-água ( $k_{ow}$ ) e a temperatura de ebulição (TE) dos compostos utilizados no presente trabalho. A justificativa da escolha destes agrotóxicos para análise se deve ao fato destes compostos serem alguns dos mais frequentemente empregados na agricultura para controle de pragas, contribuindo para aumentar a produtividade em diferentes tipos de matrizes.

**Tabela 1.** Compostos utilizados no estudo (Anvisa, 2010; ChemSpider, 2011; IUPAC, 2011)

Composto	Fórmula	Grupo Químico	Classe	Massa Molar (g mol <sup>-1</sup> )	K <sub>ow</sub> (pH 7,0 e a 20 °C)	TE (°C) (760 mm Hg)
Clorotalonil		Isoftalonitrila	Fungicida	265,91	8,71x10 <sup>2</sup>	350,5
Parationa Metílica		Organofosforado	Inseticida e acaricida	263,21	1,00x10 <sup>3</sup>	334,7
Clorpirifós		Organofosforado	Inseticida, formicida e acaricida	350,89	5,01x10 <sup>4</sup>	375,9
Tiametoxam		Neonicotinóide	Inseticida	291,71	7,41x10 <sup>-1</sup>	485,8
Procimidona		Dicarboximida	Fungicida	284,14	2,00x10 <sup>3</sup>	477,9

**Tabela 1 (continuação).** Compostos utilizados no estudo (Anvisa, 2011; ChemSpider, 2011; IUPAC, 2011)

Ciproconazol		Triazol	Fungicida	291,78	$1,23 \times 10^3$	479,1
Iprodiona		Dicarbocimida	Fungicida	330,17	$1,26 \times 10^3$	-
Bifentrina		Piretróide	Inseticida, formicida e acaricida	422,88	$2,0 \times 10^7$	453,2
Azoxistrobina		Estrobilurina	Fungicida	403,4	$3,16 \times 10^2$	581,3

$k_{ow}$ =coeficiente de partição octanol-água; TE= Temperatura de Ebulição.

## 2.4. Matrizes analisadas

As matrizes escolhidas para este trabalho possuem a característica de serem hortaliças com alto consumo no Brasil, além de possuírem coloração avermelhada (tomate e pimentão vermelho). Trabalhos publicados recentemente permitem supor que matrizes de coloração avermelhada apresenta efeito de matriz pronunciado (Pinho, 2007). Com o intuito de verificar se essa coloração teve uma influência maior no efeito de matriz, também se fez uso da matriz pimentão amarelo, para fins de comparação.

### 2.4.1. Tomate

O tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), apresentado na Figura 2, pertence à família *Solanaceae*, sendo originário do Peru e do Equador. Estendeu-se posteriormente à América Central e foi introduzido na Europa no século XVI, e seu nome deriva dos termos astecas “tomal”, “xitomate” e “xitotomate”. Inicialmente era usado como planta ornamental, mas em meados do século XVIII já era cultivado para fins alimentares, principalmente na Itália (Disqual, 2011).



**Figura 2.** Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill)

O fruto do tomateiro possui em sua composição de 93 a 95% de água. Nos 5 a 7% restantes, encontram-se compostos inorgânicos, ácidos orgânicos, açúcares, sólidos insolúveis em álcool e outros compostos (Tabela 2) (Embrapa, 2011b).

**Tabela 2.** Composição dos frutos de tomate cru (100g de parte comestível) (NEPA, 2006)

<b>Tomate</b>	
Umidade (%)	95,1
Energia (kcal)	15
	(kJ)
	64
Proteínas (g)	1,1
Lipídios (g)	0,2
Carboidratos (g)	3,1
Fibra Alimentar (g)	1,2
Cinzas (g)	0,5
Cálcio (mg)	7

Embora as vitaminas estejam presentes em uma pequena proporção do total da matéria seca (como apresentado na Tabela 3), essas substâncias são importantes do ponto de vista nutricional (Embrapa, 2011b).

**Tabela 3.** Teores de vitaminas nos frutos maduros de tomate (valores médios por 100 g de fruto fresco) (Davies *et al.*, 1981)

<b>Vitamina</b>	<b>Teor em mg</b>
A ( $\beta$ -caroteno)	540 – 763 mg
B1 (tiamina)	50 – 60 mg
B2 (riboflavina)	20 – 50 mg
B3 (ácido pantotênico)	50 – 750 mg
Complexo B6	80 – 110 mg
C	15000 – 23000 mg
E ( $\alpha$ -tocoferol)	40 – 1200 mg
Ácido nicotínico (niacina)	500 – 700 mg
Ácido fólico	6,4 – 20 mg
Biotina	1,2 – 4,0 mg

#### 2.4.2. Pimentão

O pimentão (Figura 3) está entre as dez hortaliças mais consumidas no Brasil, com área anual cultivada estimada em 12 mil hectares, concentrada nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Paraná (Embrapa, 2011d).

É uma das hortaliças mais ricas em vitamina C e quando maduro é excelente fonte de vitamina A. Também é fonte de cálcio, magnésio e ferro, além de possuir poucas calorias (Tabela 4). É um fruto originário do sul do México e América Central, pertencente à família *Solanaceae* (como a batata, o tomate, o jiló, a berinjela e as pimentas) e ao gênero *Capsicum*. Esse gênero possui de 20 a 25 espécies, normalmente classificadas de acordo com o nível

de domesticação. O Brasil destaca-se por possuir ampla diversidade em todas as categorias (Embrapa, 2011a, 2011c).

Com relação à coloração, os frutos são verdes quando imaturos, tornando-se vermelhos, amarelos ou alaranjados quando maduros, dependendo da variedade. Os pimentões roxo e creme formam a exceção deste padrão, pois apresentam esta cor desde o início de sua formação (Embrapa, 2011c).



**Figura 3.** Pimentão vermelho e amarelo (*Capsicum annuum* var. *annuum*)

**Tabela 4.** Composição dos frutos de pimentão cru (100 g de parte comestível) (NEPA, 2006)

	Variedade do Pimentão	
	Amarelo	Vermelho
Umidade (%)	91,9	92,9
Energia (kcal)	28	23
Energia (kJ)	117	97
Proteínas (g)	1,2	1,0
Lipídios (g)	0,4	0,1
Carboidratos (g)	6,0	5,5
Fibra Alimentar (g)	1,9	1,6
Cinzas (g)	0,5	0,4
Cálcio (mg)	10	6

## 2.5. Análises estatísticas

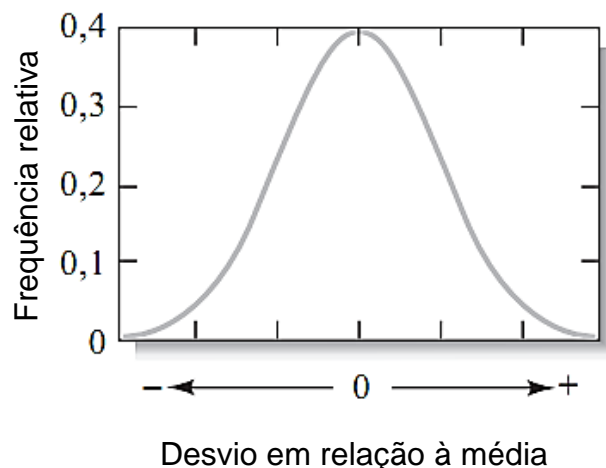
As medidas químicas invariavelmente envolvem erros e incertezas devido a equívocos cometidos pelo analista, ou mais comumente, causados por padronizações ou calibrações mal feitas ou variações aleatórias e incertezas nos resultados. Calibrações frequentes, padronizações e análises de amostras conhecidas podem ser usadas, algumas vezes, para minimizar todos

esses fatores (exceto as incertezas e os erros aleatórios), entretanto, os erros envolvidos nas medidas são inerentes. Por conta disso, é impossível realizar uma análise química que seja totalmente livre de erros ou incertezas, mas pode-se minimizá-los e estimar sua grandeza com uma exatidão aceitável (Skoog *et al.*, 2005; Devore, 2006).

Dois termos são amplamente usados quando se trata da confiabilidade dos dados: precisão e exatidão. A primeira descreve a reprodutibilidade dos resultados, enquanto a segunda indica a proximidade das medidas do seu valor verdadeiro ou valor aceitável, sendo expressa pelo erro, seja absoluto ou relativo (Holler *et al.*, 2009).

São considerados três tipos de erros: os erros aleatórios, também chamados de erros indeterminados, e os erros sistemáticos, geralmente chamados de erros determinados, e os erros grosseiros, causados pela falta de prática (imperícia) ou distração do operador.

A análise estatística dos dados analíticos se baseia comumente na suposição de que os erros aleatórios seguem uma distribuição gaussiana, ou normal. Quando um mesmo procedimento é aplicado a um grande número de amostras individuais, se obtém uma curva com forma de sino. Este gráfico é conhecido como curva de Gauss ou curva normal de erro (Figura 4). Ela mostra a distribuição simétrica dos dados em torno da média de uma série infinita de dados (Devore, 2006).



**Figura 4.** Frequência de distribuição para um conjunto de medidas (Skoog *et al.*, 2005).

Na maioria das situações encontradas em análises químicas, o valor verdadeiro da média  $\mu$  não pode ser determinado, porque um número imenso

de medidas (aproximadamente infinito) seria necessário. Com a estatística, entretanto, pode-se estabelecer um intervalo ao redor da média determinada experimentalmente, no qual se espera que a média da população  $\mu$  esteja contida com certo grau de probabilidade. Esse intervalo é conhecido como o intervalo de confiança e os limites são chamados limites de confiança. A amplitude do intervalo de confiança, que é calculada a partir do desvio padrão da amostra, depende do quão bem o desvio padrão  $s$  da amostra estima o desvio padrão  $\sigma$  da população. Se  $s$  for uma boa aproximação de  $\sigma$ , o intervalo de confiança pode ser significativamente mais estreito do que se a estimativa de  $s$  for baseada apenas em poucos valores medidos (Devore, 2006).

### 2.5.1. Teste $t$ e Teste de hipóteses

Frequentemente, as limitações no tempo ou na quantidade de amostra disponível e também o custo envolvido num experimento impedem que medidas suficientes sejam feitas para considerar  $s$  uma boa estimativa de  $\sigma$ . Nesse caso, é utilizado um importante parâmetro estatístico  $t$ , definido como:

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{s/\sqrt{N}} \quad (\text{Equação 1})$$

A variável  $t$  é geralmente chamada de  $t$  de *Student*, pseudônimo do químico e matemático britânico William Sealy Gosset que foi o primeiro a descrevê-la e demonstrar seu uso. A Equação 1 depende do nível de confiança desejado e do número de graus de liberdade disponíveis para o cálculo de  $s$ . Os valores de  $t$  são encontrados em tabelas completas, em livros de matemática (Holler *et al.*, 2009).

O intervalo de confiança para a média de  $N$  réplicas de medidas pode ser calculado a partir de  $t$  pela seguinte equação:

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{t \times s}{\sqrt{N}} \quad (\text{Equação 2})$$

Os resultados experimentais raramente concordam exatamente com aqueles previstos por um modelo teórico. Como consequência, frequentemente é necessário julgar se as diferenças numéricas são um resultado de erros

aleatórios inevitáveis de todas as medidas ou o resultado de erros sistemáticos. Certos testes estatísticos, como o teste de hipóteses, são úteis no aprimoramento desses julgamentos.

Testes deste tipo lançam mão da hipótese nula, que considera que as quantidades numéricas comparadas são, de fato, iguais.

Hipótese nula  $\rightarrow H_0: \mu = \mu_0$

Hipóteses alternativas  $\rightarrow H_a = \mu \neq \mu_0$  ou

$H_a = \mu > \mu_0$  ou

$H_a = \mu < \mu_0$

A distribuição de probabilidade é usada para calcular a probabilidade de que as diferenças observadas sejam um resultado de erros aleatórios. Normalmente, se a diferença observada é maior ou igual à diferença que ocorreria 5 vezes em 100, devido a fatores aleatórios (um nível de significância de 0,05), a hipótese nula é considerada questionável e a diferença, como significativa. Outros níveis de significância, como 0,01 (1%) ou 0,001 (0,1%), também podem ser adotados, dependendo da exatidão desejada no julgamento. Quando expresso como uma fração, ao nível de significância é frequentemente atribuído o símbolo  $\alpha$ . O nível de confiança (NC) está relacionado à  $\alpha$  em uma base porcentual por:

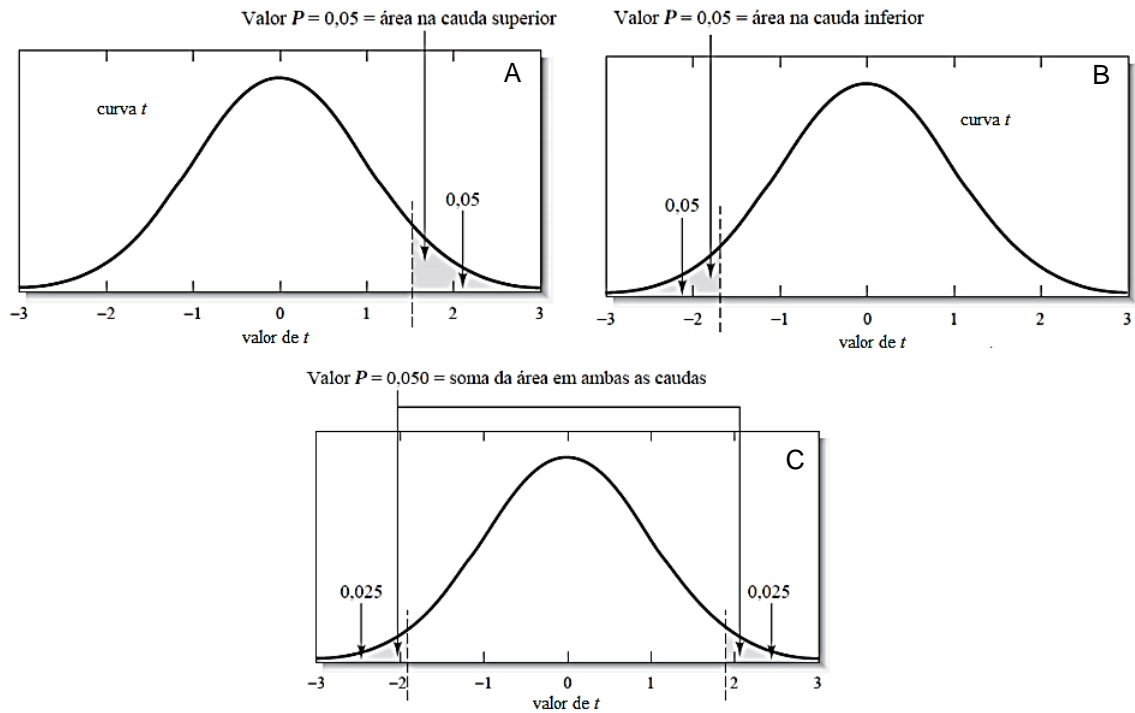
$$NC = (1 - \alpha) \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Uma forma de relatar o resultado da análise do teste de hipóteses é simplesmente dizer se a hipótese nula foi rejeitada em um nível de significância especificado. Esse tipo de afirmação é um tanto quanto inadequada, pois não informa se o valor calculado da estatística de teste apenas caiu na região de rejeição ou se excedeu o valor crítico por um valor grande. Uma dificuldade adicional é que esse relatório impõe o nível de significância especificado sobre outros tomadores de decisões.

Em muitas situações de decisão, os indivíduos podem ter visões diferentes com relação às consequências de um erro tipo I (rejeitar  $H_0$  quando

ela é verdadeira) ou tipo II (envolve a não-rejeição de  $H_0$  quando  $H_0$  é falsa) (Devore, 2006).

Para  $H_a: \mu > \mu_0$ , rejeita-se  $H_0$  se  $t \geq t_{\text{crit}}$  (Figura 5-A); para  $H_a: \mu < \mu_0$ , rejeita-se  $H_0$ ,  $t \leq -t_{\text{crit}}$  (Figura 5-B). Se a hipótese alternativa é  $H_a: \mu \neq \mu_0$ , então rejeita-se  $H_0$  se  $t \geq t_{\text{crit}}$  ou se  $t \leq -t_{\text{crit}}$ , de modo que o teste é bicaudal (duas caudas) (Figura 5-C):



**Figura 5.** Regiões de rejeição para teste  $t$ . (A) teste de cauda superior; (B) teste de cauda inferior e (C) teste bicaudal

Um valor  $p$  (área sob a curva) transmite muitas informações sobre a força da evidência contra  $H_0$  e permite que um tomador de decisões individual tire uma conclusão em qualquer nível  $\alpha$  especificado. O valor de  $p$  é o menor nível de significância em que  $H_0$  seria rejeitada, quando um procedimento de teste especificado é usado em um determinado conjunto de dados. Uma vez que o valor de  $p$  tenha sido determinado, a conclusão, em qualquer nível específico de  $\alpha$ , resulta da comparação do valor  $p$  a  $\alpha$  (Devore, 2006):

- 1)  $p \leq \alpha \rightarrow$  implica rejeição de  $H_0$  no nível  $\alpha$ .
- 2)  $p > \alpha \rightarrow$  implica não-rejeição de  $H_0$  no nível  $\alpha$ .

### 2.5.2. Teste $t$ pareado

Frequentemente é necessário avaliar se uma diferença nas médias de dois conjuntos de dados é verdadeira ou se é o resultado de erros aleatórios. Em alguns casos, os resultados de análises químicas são usados para determinar se dois materiais são idênticos. Em outros, os resultados são usados para estabelecer se dois métodos analíticos fornecem os mesmos valores ou se dois analistas que utilizam o mesmo método obtêm as mesmas médias. Uma extensão desses procedimentos pode ser empregada para analisar dados pareados. Muitas vezes os dados são coletados aos pares para eliminar uma fonte de variabilidade, observando-se as diferenças existentes em cada par (Skoog *et al.*, 2005).

Os testes  $t$  pareados usam o mesmo tipo de procedimento do teste  $t$  normal, exceto que se analisam pares de dados. O desvio padrão, nesse caso, é o desvio padrão da diferença nas médias, e a hipótese nula passa a ser:

$$H_0: \mu_d = \Delta_0$$

em que  $\Delta_0$  é um valor específico da diferença a ser testado, frequentemente zero. O valor do teste estatístico é:

$$t = \frac{\bar{d} - \Delta_0}{s_d / \sqrt{N}} \quad (\text{Equação 4})$$

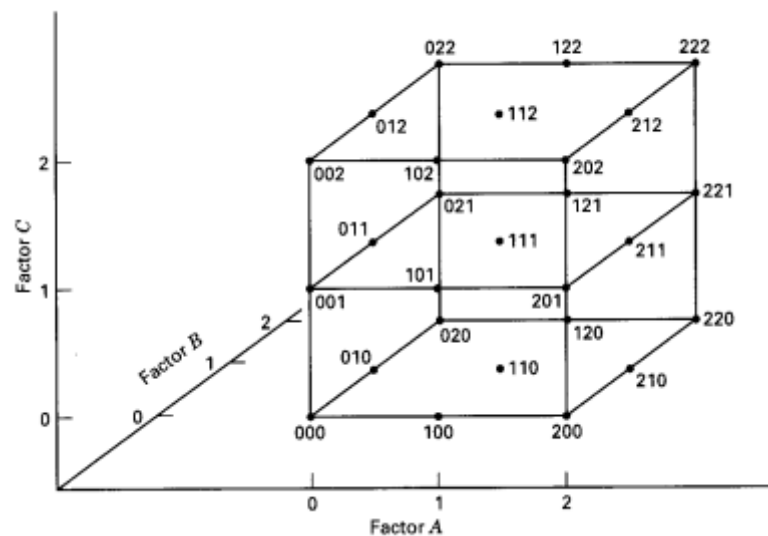
em que  $\bar{d}$  é a diferença média igual a  $\sum d_i / N$ . A hipótese alternativa pode ser:

$$\mu_d \neq \Delta_0 \text{ ou } \mu_d > \Delta_0 \text{ ou } \mu_d < \Delta_0$$

### 2.5.3. Planejamento fatorial de três níveis

Para executar um planejamento fatorial é necessário especificar os níveis em que cada fator será estudado, isto é, os valores dos fatores que serão empregados nos experimentos. Um planejamento fatorial requer a execução de experimentos para todas as possíveis combinações dos níveis dos fatores (Neto *et al.*, 1996).

Num planejamento fatorial de  $3^k$ ,  $k$  indica o número de fatores, estudado em três (3) níveis, como demonstrado na Figura 6:



**Figura 6.** Combinações do tratamento no planejamento  $3^3$  (Montgomery, 2001).

As 27 combinações possíveis possuem 26 graus de liberdade. Cada efeito principal, interação de dois fatores e interação de três fatores possui, respectivamente, dois, quatro e oito graus de liberdade. Se houver repetições, o grau de liberdade total é igual a  $n3^3-1$  e o do erro igual a  $3^3(n-1)$  (Montgomery, 2001).

A soma dos quadrados pode ser calculada utilizando o método padrão para experimentos fatoriais. Além disso, se os fatores são quantitativos, os efeitos podem ser particionados em componentes lineares e quadráticos, cada um com um único grau de liberdade (Montgomery, 2001).

Todos os cálculos necessários à execução dos planejamentos podem ser calculados em um *software* estatístico, como por exemplo, o *Statistica 7.0* utilizado nesse trabalho.

## 3. OBJETIVOS

### 3.1. Objetivos gerais

- Investigar o efeito de matriz na análise dos agrotóxicos Clorotalonil, Clorpirifós, Tiametoxam, Procimidona, Ciproconazol, Iprodiona, Bifentrina e Azoxistrobina por cromatografia gasosa em tomate e pimentão, e identificar os fatores que o influenciam no efeito de matriz.

### 3.2. Objetivos específicos

- Avaliar a influência do método de extração (Extração sólido-líquido com partição à baixa temperatura, Extração sólido-líquido induzida por sal e Dispersão da matriz em fase sólida) no efeito de matriz;
- Estudar a influência da temperatura inicial da coluna na resposta cromatográfica atribuída aos agrotóxicos na presença de co-extrativos;
- Avaliar a influência da concentração no efeito de matriz;
- Analisar a interferência dos co-extrativos presentes em amostras de tomate e pimentão (vermelho e amarelo);
- Avaliar a estabilidade dos analitos de interesse nos extratos das matrizes após períodos de 20 dias;
- Determinar as melhores condições para minimizar o efeito de matriz nas análises cromatográficas.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Equipamentos

Foi utilizado um cromatógrafo a gás da Shimadzu (GC-2014) equipado com um detector por captura de elétrons (DCE) e autoinjeter AOC-20i e uma coluna capilar HP-5 da Agilent Technologies, com fase estacionária composta de 5 % de fenil e 95 % de dimetilsiloxano, 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,1  $\mu\text{m}$  de espessura de filme.

Durante o preparo das amostras usou-se um banho ultrassônico da Unique (São Paulo, Brasil). O gerador deste banho tem uma saída de 150 W e uma frequência de 25 kHz. Também se utilizou um agitador tipo Vórtex Certomat MV (B. Braun Biotech International), um rota-vapor marca Fisatom e uma bomba de vácuo modelo TE-058, da Tecnal.

### 4.2. Reagentes

Soluções padrão estoque de clorotalonil (99,3% m/m), tiametoxam (99,7% m/m), procimidona (99,9% m/m), ciproconazol (99,8% m/m), iprodiona (99,3% m/m) e azoxistrobina (99,9% m/m), adquiridos da Sigma Aldrich, (Seelze, Alemanha), bifentrina (92,2% m/m) adquirida da FMC do Brasil, clorpirifós (99,0% m/m) e parationa metílica (99,0% m/m) adquiridos da Chem Service (West Chester, PA, USA) foram preparadas em acetonitrila na concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup> e armazenadas em temperatura de 4 °C.

Os solventes utilizados no processo de extração foram acetato de etila e acetonitrila para análises de traços, ambos da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). Sulfato de sódio anidro com grau de pureza superior a 99% e sílica gel 60 (0,2 a 0,5 mm) foram adquiridos da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). Florisil Fluka (60-100 mesh) foi obtido da Sigma Aldrich (Seelze, Alemanha) e cloreto de sódio P.A. 99% foi adquirido da Isofar.

### 4.3. Extratos das matrizes

Amostras de tomate hidropônico (isento de agrotóxicos) e de pimentão vermelho e amarelo obtidos no comércio da cidade de Viçosa (MG) foram submetidas a três processos de extração: extração sólido-líquido com partição à baixa temperatura (ESL-PBT), extração sólido-líquido com partição induzida por sal (ESL-PIS) e dispersão da matriz em fase sólida (DMFS), de acordo com as metodologias descritas por Pinho *et. al.* (2009), Rodrigues (2010) e Pinho *et. al.*, (2010).

A ausência dos agrotóxicos foi confirmada pela análise cromatográfica de seus extratos.

Ao final dos procedimentos descritos a seguir, obtiveram-se nove extratos diferentes, que foram armazenados sob refrigeração e protegidos da luz enquanto não utilizados.

#### 4.3.1. Extração Sólido-Líquido com Partição em Baixa Temperatura (ESL-PBT)

Amostras de tomate e pimentão *in natura* foram previamente lavadas com água e sabão, em seguida com água destilada e trituradas em um processador de alimentos. A 4,0000 g de amostra foram acrescentados 0,5 mL de água destilada, 1,5 mL de acetato de etila e 6,5 mL de acetonitrila. A mistura foi submetida à sonicação por 10 min e colocada em freezer por até 4 horas.

Decorrido o tempo necessário para congelamento da fase aquosa, o extrato orgânico, ainda no estado líquido, foi retirado e passado por um papel de filtro contendo 1,0000 g de sulfato de sódio anidro. O volume do extrato orgânico foi ajustado em balão volumétrico de 10,0 mL. O procedimento foi repetido com mais amostras com a finalidade de se obter volume de extrato suficiente para as análises.

#### 4.3.2. Extração Sólido-Líquido com Partição Induzida por Sal (ESL-PIS)

Amostras de tomate e pimentão *in natura* foram lavadas com água e sabão, em seguida com água destilada e trituradas em um processador de

alimentos. A 3,0000 g de amostra foram acrescentados 0,5 mL de água destilada, 1,0 mL de acetato de etila e 6,0 mL de acetonitrila, formando-se uma fase única (em relação à mistura extratora). Para romper esse equilíbrio acrescentou-se 1,0 mL de solução de NaCl 2,0 mol L<sup>-1</sup> (efeito *salting out*). A mistura foi submetida à homogeneização em vórtex por 40 segundos e deixada em repouso (por cerca de um minuto), a fim de ocorrer melhor estabilização das fases.

Decorrido este tempo, o extrato orgânico foi recolhido e passado por um papel de filtro contendo 1,0000 g de sulfato de sódio anidro. O volume do extrato orgânico foi ajustado em balão volumétrico de 5,0 mL. O procedimento foi repetido com mais amostras com a finalidade de se obter volume de extrato suficiente para as análises.

#### 4.3.3. Dispersão da Matriz em Fase Sólida (DMFS)

Amostras de tomate e pimentão *in natura* foram lavadas com água e sabão, em seguida com água destilada e trituradas em um processador de alimentos.

Amostras de massa igual a 0,5000 g foram maceradas com 1,0000 g de adsorvente florissil em cápsula de porcelana até a completa dispersão da amostra. A mistura (amostra + adsorvente) foi transferida para uma coluna de polietileno (cartucho) de 10,0 mL contendo 1,0000 g de sulfato de sódio anidro e 0,5000 g de sílica. Em seguida adicionou-se 5,0 mL de acetato de etila para eluição, mantendo-se uma vazão de aproximadamente 0,4 mL min<sup>-1</sup>.

O eluato foi evaporado em rota vapor e o extrato recuperado com 5,0 mL de acetonitrila. O procedimento foi repetido com mais amostras com a finalidade de se obter volume de extrato suficiente para as análises.

#### 4.4. Preparo das curvas analíticas

A partir da diluição das soluções estoque foram preparadas curvas analíticas contendo os oito agrotóxicos (Tabela 5). Cada curva foi preparada em acetonitrila e nos nove extratos obtidos. Em todas as soluções manteve-se a concentração de parationa metílica igual a 150 µg L<sup>-1</sup>, sendo esse agrotóxico

utilizado como padrão interno.

**Tabela 5.** Concentrações dos analitos nos níveis da curva analítica

Analito	Concentração em cada ponto ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Clorotalonil	3	88,3	173,5	258,7	343,9	429,1	514,3	600,0
Clorpirifós	2	58,9	115,7	172,5	229,3	286,1	342,9	400,0
Tiametoxam	5	147,2	289,2	431,2	573,2	715,2	857,2	1000,0
Procimidona	2	58,9	115,7	172,5	229,3	286,1	342,9	400,0
Ciproconazol	40	177,2	312,0	451,2	588,0	725,2	862,0	1000,0
Iprodiona	4	177,8	231,4	345,0	458,6	572,2	658,8	800,0
Bifentrina	3	88,3	173,5	258,7	343,9	429,1	514,3	600,0
Azoxistrobina	3	88,3	173,5	258,7	343,9	429,1	514,3	600,0

#### 4.5. Análise cromatográfica

Todas as soluções contendo os agrotóxicos foram analisadas cromatograficamente. As condições utilizadas (temperatura do injetor, temperatura do detector, razão *split*, taxa de fluxo do gás de arraste, programação da temperatura da coluna cromatográfica) permitiram a separação e quantificação dos analitos de interesse. É importante ressaltar que na análise dos extratos fortificados, também foi feita a análise dos mesmos isentos de agrotóxicos (branco), para a verificação de que nenhuma substância possuía o mesmo tempo de retenção ( $t_R$ ) dos analitos.

Durante a análise das curvas, procedeu-se primeiramente a análise dos agrotóxicos em solvente, seguido da análise dos mesmos nos extratos das matrizes. As condições das análises foram:

- Temperatura do detector: 300 °C
- Volume injetado: 1,0  $\mu\text{L}$
- Gás de arraste: Nitrogênio
- Vazão do gás de arraste: 1,2  $\text{mL min}^{-1}$
- Razão *Split* (1:5)
- Programação de aquecimento da coluna:

150 °C (2min)  $\xrightarrow{40\text{ °C min}^{-1}}$  210 °C (1min)  $\xrightarrow{10\text{ °C min}^{-1}}$  220 °C (4min)  $\xrightarrow{60\text{ °C min}^{-1}}$

290 °C (4min)

Tempo de análise: 14,67 min

As análises também foram realizadas iniciando-se em 100 °C e 60 °C, resultando em tempos de análise de 17,17 e 19,17 min, respectivamente. As programações para essas duas temperaturas iniciais foram:

$$100\text{ °C} \xrightarrow{20\text{ °C min}^{-1}} 150\text{ °C (2min)} \xrightarrow{40\text{ °C min}^{-1}} 210\text{ °C (1min)} \xrightarrow{10\text{ °C min}^{-1}} 220\text{ °C (4min)} \\ \xrightarrow{60\text{ °C min}^{-1}} 290\text{ °C (4min)}$$
$$60\text{ °C} \xrightarrow{20\text{ °C min}^{-1}} 150\text{ °C (2min)} \xrightarrow{40\text{ °C min}^{-1}} 210\text{ °C (1min)} \xrightarrow{10\text{ °C min}^{-1}} 220\text{ °C (4min)} \\ \xrightarrow{60\text{ °C min}^{-1}} 290\text{ °C (4min)}$$

As informações referentes às leituras das amostras no cromatógrafo foram coletadas e tratadas no *software* GCSolution, da Shimadzu.

#### **4.5.1. Efeito da temperatura, da matriz e do método de extração na resposta cromatográfica**

As soluções padrão de todos os agrotóxicos preparados em acetonitrila e em cada um dos nove extratos foram analisadas no cromatógrafo a gás de acordo com as condições cromatográficas citadas anteriormente (seção 4.5). Cada curva analítica (preparada em solvente e nos nove extratos) foi avaliada nas três programações de temperatura, ou seja, iniciando-se em 60, 100 e 150 °C. Essas soluções foram feitas com o extrato recém-preparado, ou seja, no dia 0.

A estabilidade dos pesticidas no extrato da matriz também foi avaliada. Para isso, os pontos 2, 4, 6 e 8 (Tabela 5) das curvas foram armazenados sob refrigeração e protegidos da luz, e lidos novamente após 20, 40 e 60 dias, a fim de verificar se ocorreria alteração na resposta cromatográfica em relação àquela obtida no dia 0. Essas leituras foram realizadas apenas com a temperatura inicial da coluna igual a 150 °C.

Extratos livres de pesticidas foram reservados, mantidos sob refrigeração e protegidos da luz. Esses extratos foram fortificados, nas mesmas concentrações dos pontos 2, 4, 6 e 8 (Tabela 5), no 20°, 40° e 60° dia, e analisados nos mesmos dias que as soluções já fortificadas, com a temperatura inicial da coluna igual a 150 °C.

## 4.6. Avaliação do efeito de matriz

Para avaliar a influência dos componentes da matriz na resposta cromatográfica, foram preparadas curvas analíticas utilizando o método da padronização interna. Para o estudo do efeito de matriz, as razões das respostas cromatográficas (área do analito/área do padrão interno) para cada agrotóxico foram utilizadas.

Com esses valores, gráficos das respostas foram plotados em função das concentrações utilizadas. Aplicou-se a regressão linear aos dados, obtendo-se as curvas analíticas para cada agrotóxico em todas as soluções preparadas.

A porcentagem do efeito de matriz foi calculada de acordo com a equação 5 (Friggi, 2008),

$$\text{Efeito de Matriz Relativo (EMR)} = \left( \frac{A_e - A_s}{A_s} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 5})$$

em que:

$A_e$  = razão área do analito/área do padrão interno de cada agrotóxico, preparado no extrato da matriz, numa determinada concentração;

$A_s$  = razão área do analito/área do padrão interno de cada agrotóxico, preparado em solvente puro, numa determinada concentração.

### 4.6.1. Planejamento de três níveis

De posse de todos os valores de porcentagem do efeito de matriz, fez-se o planejamento de três níveis com os dados obtidos em função do método de extração, da matriz utilizada, da temperatura inicial da coluna cromatográfica, da concentração, utilizando o *software Statistica 7.0*.

Para esse estudo, foram escolhidos três valores de concentração para cada agrotóxico, como mostrado na Tabela 6:

**Tabela 6.** Concentrações de cada agrotóxico

<b>Analito</b>	<b>Concentração (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>		
Clorotalonil	258,7	429,1	600,0
Clorpirifós	58,9	172,5	400,0
Tiametoxam	431,2	715,2	1000,0
Procimidona	58,9	172,5	400,0
Ciproconazol	451,2	725,2	1000,0
Iprodiona	345,0	572,2	800,0
Bifentrina	258,7	429,1	600,0
Azoxistrobina	258,7	429,1	600,0

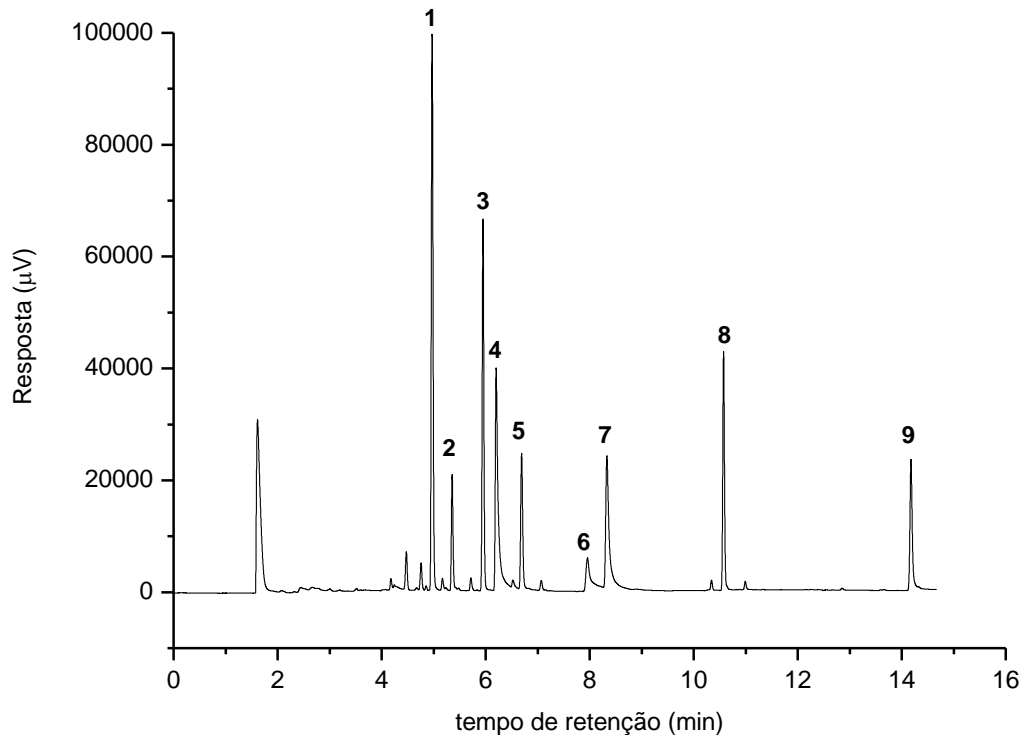
Os valores de concentração escolhidos para essa análise foram aqueles que garantiram boas respostas para os analitos descritos, não havendo nesses níveis desaparecimento de pico ou ausência de resposta.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

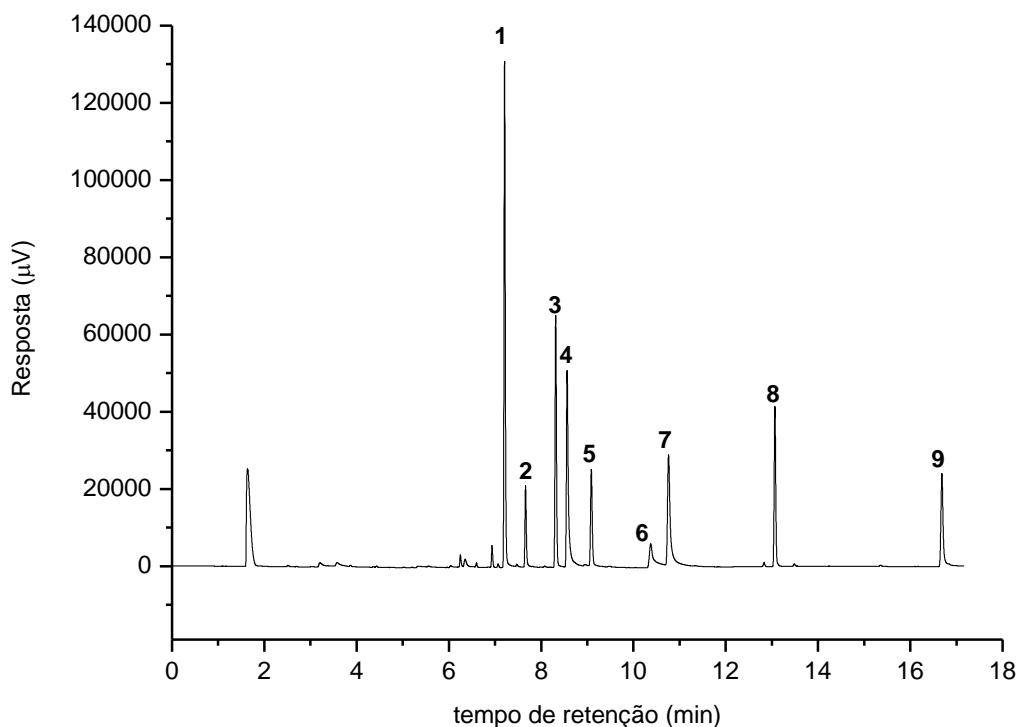
### 5.1. Análises cromatográficas

As condições cromatográficas utilizadas para análise simultânea dos nove agrotóxicos (incluindo o padrão interno), descritas no item 4.5, permitiram uma boa separação dos princípios ativos, conforme pode ser observado nos cromatogramas das Figuras 7, 8 e 9. Nos três casos trata-se de uma mistura de agrotóxicos, preparada em acetonitrila, com concentração igual ao ponto 8 apresentado na Tabela 5 (página 27). O tempo total de análise foi de 14,67 min (Figura 7), 17,17 min (Figura 8) e 19,17 min (Figura 9).

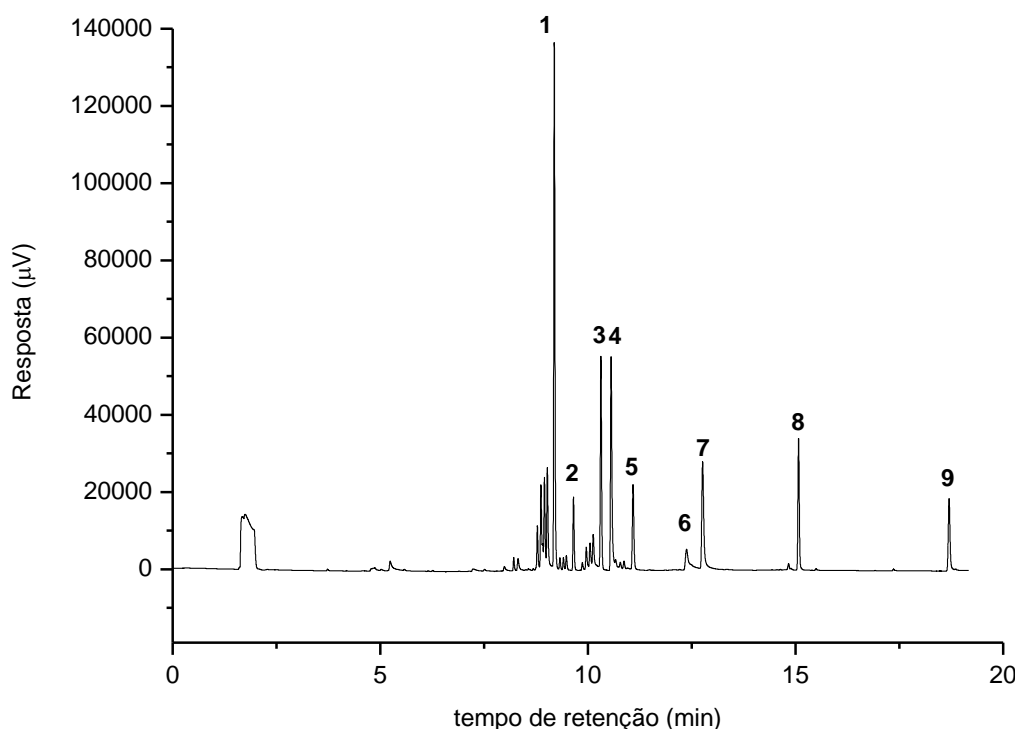
A identificação dos compostos de interesse foi realizada comparando-se os tempos de retenção ( $t_R$ ) referente aos picos de cada analito, na solução-padrão, com os tempos de retenção encontrados após análise individual de cada agrotóxico em acetonitrila.



**Figura 7.** Cromatograma de uma solução padrão de agrotóxicos, preparada em acetonitrila, com temperatura inicial da coluna de 150 °C: 1-Clorotalonil ( $t_R=4,97$ ), 2-Parationa Metílica ( $t_R=5,35$ ), 3-Clorpirifós ( $t_R=5,95$ ), 4-Tiametoxam ( $t_R=6,21$ ), 5-Procimidona ( $t_R=6,69$ ), 6-Ciproconazol ( $t_R=7,95$ ), 7-Iprodiona ( $t_R=8,34$ ), 8-Bifentrina ( $t_R=10,57$ ), 9-Azoxistrobina ( $t_R=14,17$ ).



**Figura 8.** Cromatograma de uma solução padrão de agrotóxicos, preparada em acetonitrila, com temperatura inicial da coluna de 100 °C: 1-Clorotalonil ( $t_R=7,20$ ), 2-Parationa Metílica ( $t_R=7,66$ ), 3-Clorpirifós ( $t_R=8,31$ ), 4-Tiametoxam ( $t_R=8,56$ ), 5-Procimidona ( $t_R=9,08$ ), 6-Ciproconazol ( $t_R=10,37$ ), 7-Iprodiona ( $t_R=10,76$ ), 8-Bifentrina ( $t_R=13,06$ ), 9-Azoxistrobina ( $t_R=16,68$ ).



**Figura 9.** Cromatograma de uma solução padrão de agrotóxicos, preparada em acetonitrila, com temperatura inicial da coluna de 60 °C: 1-Clorotalonil ( $t_R=9,19$ ), 2-Parationa Metílica ( $t_R=9,65$ ), 3-Clorpirifós ( $t_R=10,31$ ), 4-Tiametoxam ( $t_R=10,55$ ), 5-Procimidona ( $t_R=11,08$ ), 6-Ciproconazol ( $t_R=12,37$ ), 7-Iprodiona ( $t_R=12,76$ ), 8-Bifentrina ( $t_R=15,07$ ), 9-Azoxistrobina ( $t_R=18,69$ ).

A coluna cromatográfica utilizada nas análises é composta de 5% de fenil e 95% de dimetilpolisiloxano, possuindo um caráter apolar. Baseado nisso, os agrotóxicos deveriam eluir da coluna de acordo com a polaridade da molécula (aquelas mais apolares ficariam mais tempo retidas na coluna, enquanto as polares chegariam ao detector mais rapidamente). Entretanto, a ordem de eluição dos analitos na coluna cromatográfica depende também da temperatura de ebulição dos mesmos.

Na Tabela 1 (página 10) estão representados os valores dos coeficientes de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ) para os compostos analisados. O  $K_{ow}$  é uma medida da lipofilicidade de um composto e é definido como a razão da concentração do mesmo, no equilíbrio, após dissolução em um sistema de duas fases, formadas por dois solventes imiscíveis, água e octanol (Silva e Ferreira, 2003). Quanto maior for o valor de  $K_{ow}$  para um determinado composto, maior é seu caráter apolar.

Seguindo a ordem de polaridade, a ordem de eluição esperada seria: tiametoxam, azoxistrobina, clorotalonil, parationa metílica, ciproconazol, iprodiona, procimidona, clorpirifós e bifentrina, o que não condiz com os

resultados obtidos. O tiametoxam possui o menor valor de  $K_{ow}$  dentre esses agrotóxicos, sendo esperado que fosse o primeiro analito a chegar ao detector. Porém a temperatura de ebulição (485,8 °C) justifica o fato de ser o 4º composto a ser eluído. A temperatura influencia, de maneira mais significativa, a eluição da azoxistrobina, que é a última molécula a sair da coluna cromatográfica (TE=581,3 °C), apesar do seu menor valor de  $K_{ow}$ .

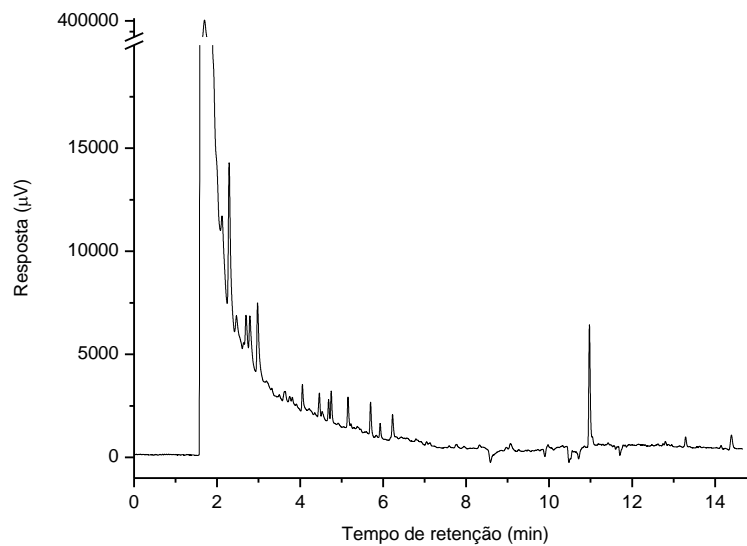
Após a saída do clorotalonil e da parationa metílica, quem chega ao detector é o clorpirifós, apesar de seu valor de  $K_{ow}=5,01 \times 10^4$ , que indica um maior caráter apolar, sendo esperado assim um maior tempo de retenção, o que não acontece, novamente, devido à sua temperatura de ebulição.

Depois da eluição do tiametoxam são detectados a procimidona ( $K_{ow}=2,00 \times 10^3$ ), o ciproconazol ( $K_{ow}=1,23 \times 10^3$ ) e a iprodiona ( $K_{ow}=1,26 \times 10^3$ ). Dentre os três, a procimidona possui a menor temperatura de ebulição, o que justifica ser o primeiro entre os três a ser eluído, apesar de possuir o maior valor de coeficiente de partição. A ordem de eluição do ciproconazol e da iprodiona pode ser discutida apenas a partir dos valores de  $K_{ow}$  (que são coerentes com a saída dos mesmos na coluna), pois segundo dados da literatura (IUPAC, 2011) a iprodiona se degrada antes de chegar à ebulição.

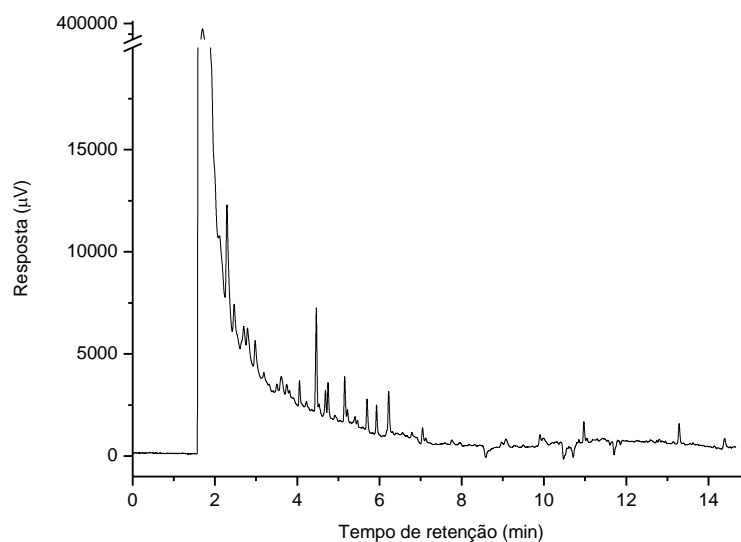
## 5.2. Influência da matriz e do método de extração na resposta cromatográfica

O efeito de matriz está relacionado ao tipo e à quantidade de co-extrativo presente na solução analisada, além de outras variáveis. Esses dois fatores dependem da matriz em estudo, no caso desse trabalho tomate, pimentão vermelho e pimentão amarelo, e também do método de extração utilizado, que podem extrair diferentes substâncias, de acordo com o procedimento adotado, que pode incluir ou não a etapa de *clean up*.

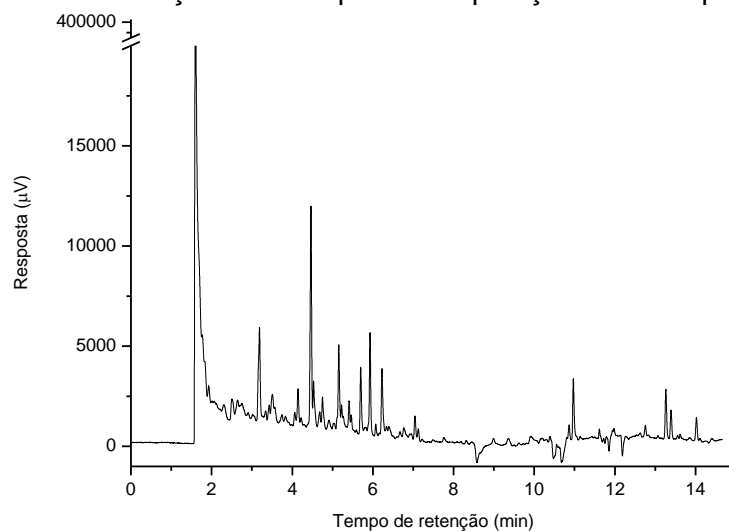
Uma maneira simples de verificar diferenças na resposta cromatográfica devido às substâncias extraídas é a análise do branco da matriz. Nas figuras a seguir (Figuras 10, 11 e 12) são apresentados os brancos dos extratos do pimentão vermelho, pelas três técnicas, após leitura com temperatura inicial da coluna igual a 150 °C.



**Figura 10.** Cromatograma de extrato orgânico obtido de amostra de pimentão vermelho submetido à extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT).



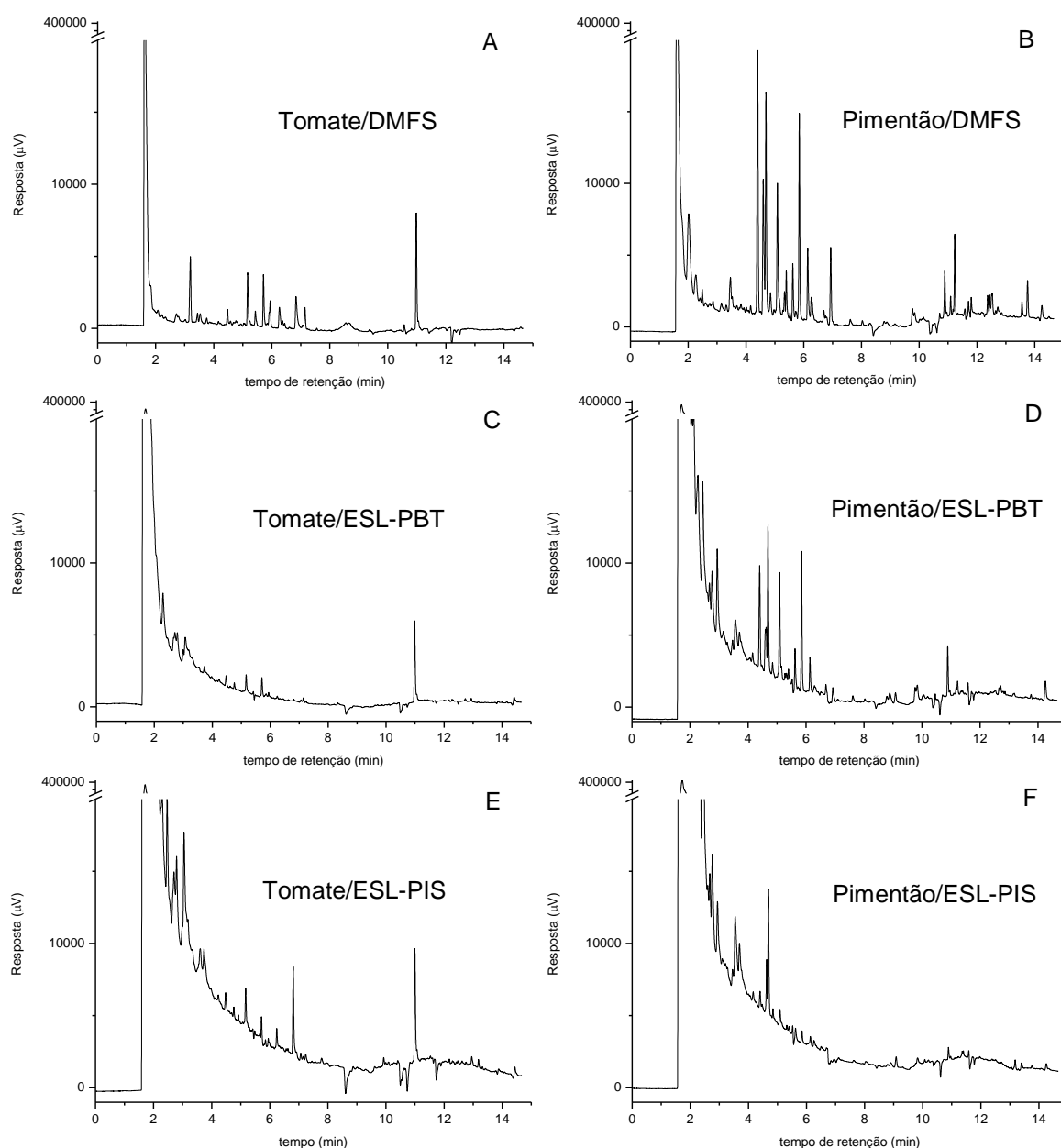
**Figura 11.** Cromatograma de extrato orgânico obtido de amostra de pimentão vermelho submetido à extração sólido-líquido com partição induzida por sal (ESL-PIS).



**Figura 12.** Cromatograma de extrato orgânico obtido de amostra de pimentão vermelho submetido à extração dispersão da matriz em fase sólida (DMFS).

O primeiro pico que aparece nos três cromatogramas é referente ao pico do solvente, e sua resposta também é afetada pela presença dos co-extrativos. Pode-se perceber que um maior sinal para o solvente foi obtido para o extrato da técnica ESL-PBT (415463  $\mu\text{V}$ ), seguido da ESL-PIS (302458  $\mu\text{V}$ ) e pela DMFS (21454  $\mu\text{V}$ ). Esse comportamento também foi verificado para as outras matrizes (tomate e pimentão amarelo). Isso acontece porque juntamente com o solvente, compostos mais voláteis também são eluídos. Como a DMFS é uma técnica que envolve uma etapa de *clean up* (o extrato passa por um cartucho contendo sulfato de sódio anidro, sílica e florisil), parte dessas substâncias que apresentam menores tempos de retenção são retiradas do extrato, de modo que o primeiro pico apresenta uma resposta muito inferior àquelas referentes aos picos do solvente das técnicas ESL-PBT e ESL-PIS. O mesmo ocorre para a linha de base, que é mais suave para a DMFS que para as demais técnicas de extração.

Apesar de uma linha de base mais baixa (principalmente no início da corrida cromatográfica) do extrato da DMFS, o cromatograma (Figura 12) apresenta picos de impurezas mais intensos que os encontrados nas figuras 10 e 11. Isso ocorre devido à etapa de maceração da amostra, que proporciona um maior contato da matriz com o adsorvente (no caso, o florisil) e expõe mais substâncias indesejáveis ao solvente extrator. A Figura 13 a seguir (A e B) mostra esses resultados para o tomate e o pimentão amarelo.



**Figura 13.** Cromatograma do extrato orgânico de (A) tomate a partir da técnica DMFS, (B) pimentão amarelo a partir da técnica DMFS, (C) tomate a partir da técnica ESL-PBT, (D) pimentão amarelo a partir da técnica ESL-PBT, (E) tomate a partir da técnica ESL-PIS e (F) pimentão amarelo a partir da técnica ESL-PIS.

Das três hortaliças, o pimentão amarelo gerou o cromatograma com mais interferentes para a técnica de DMFS, seguido do pimentão vermelho e do tomate. O mesmo ocorreu para a técnica ESL-PBT, conforme demonstrado nos cromatogramas da Figura 13 (C e D). Essa diferença atribuída à presença de interferentes da matriz não foi tão significativa para o tomate (Figura 13E) e o pimentão amarelo na técnica de ESL-PIS (Figura 13F).

### 5.3. Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa

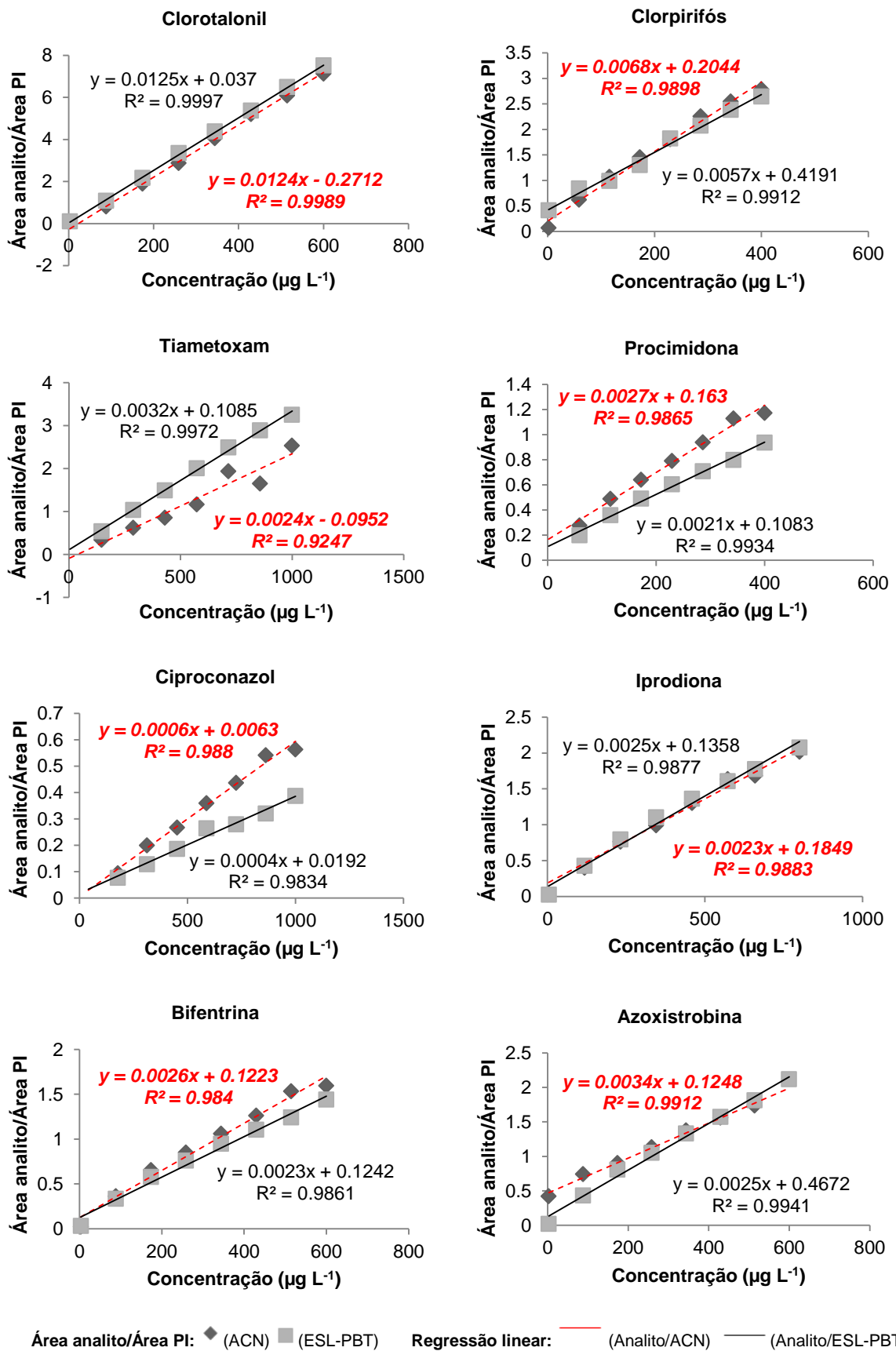
A alteração do sinal cromatográfico induzida pela matriz é um fenômeno muito comum quando se trata da análise de agrotóxicos em alimentos pela técnica de cromatografia gasosa. As diversas partes do sistema de injeção que entram em contato com a amostra podem adsorver ou induzir a degradação térmica dos analitos de interesse (Schenck e Lehotay, 2000). Quando uma solução do analito no extrato é injetada, componentes da matriz podem bloquear os sítios ativos do sistema cromatográfico, permitindo a entrada de maior quantidade do agrotóxico em estudo no sistema cromatográfico, gerando uma superestimação do resultado, que é denominada efeito de matriz positivo.

Do mesmo modo, os co-extrativos podem levar à formação de novos sítios, capazes de adsorver maior quantidade de analito, diminuindo a resposta do mesmo. Este fenômeno é chamado de indução da diminuição da resposta pela matriz (Mastovská *et al.*, 2004), ou efeito de matriz negativo.

O efeito de matriz pode ser quantificado pelos dados das curvas analíticas preparadas em solvente e no extrato da matriz, como feito por Pinho e colaboradores, 2009. Também podem ser plotados gráficos da porcentagem de efeito de matriz em função da concentração (Kruve *et al.*, 2008), onde é possível observar em que condições o efeito é mais acentuado.

Na avaliação do efeito de matriz pelas curvas analíticas (em solvente e no extrato), verifica-se que ocorre o efeito de matriz devido à diferença entre as inclinações e os coeficientes lineares das equações de regressão, para um mesmo agrotóxico, conforme exemplificado na Figura 14. Nela são apresentados os gráficos contendo as curvas analíticas dos oito agrotóxicos, preparadas em acetonitrila e no extrato de pimentão vermelho (por ESL-PBT), e as respectivas regressões lineares. Os gráficos foram construídos com os dados referentes à leitura com temperatura inicial da coluna de 150 °C.

Quando as inclinações das duas curvas (preparadas em acetonitrila e no extrato da matriz) são diferentes para o mesmo agrotóxico, diz-se que os componentes da matriz causam um erro sistemático proporcional; quando o intercepto é alterado, então esses mesmos componentes da matriz induzem a um erro sistemático constante (Pinho, 2009).



**Figura 14.** Curvas analíticas obtidas de padrões de agrotóxicos preparados em acetonitrila (vermelho) e extrato orgânico de pimentão vermelho (preto), obtido pela técnica ESL-PBT, com temperatura inicial da coluna de 150 °C.

Exemplos do tipo de erro chamado de proporcional são as curvas do tiametoxam, que apresentou efeito de matriz positivo, e da procimidona e bifentrina, que apresentaram efeito de matriz negativo (Figura 14). O gráfico do clorotalonil (Figura 14) é um exemplo de erro sistemático constante, que pode ser observado pelo fato das duas retas serem paralelas, ou seja, o aumento da resposta foi o mesmo independentemente da concentração do analito. Também pode acontecer de tanto a inclinação quanto o coeficiente linear serem diferentes, como no caso do clorpirifós e da azoxistrobina (Figura 14), que causa um cruzamento das curvas.

O comportamento de cada agrotóxico e conseqüentemente os valores dos coeficientes se devem à presença de co-extrativos que estão inevitavelmente presentes nas amostras analisadas (mesmo após a etapa de *clean-up*, quando houver). Dependendo da natureza dessas substâncias (tamanho da molécula, estabilidade térmica, polaridade, volatilidade, etc.), elas podem interferir em várias partes do sistema cromatográfico, afetando a qualidade dos dados analíticos (Hajslová e Zrostlíková, 2003).

Para melhor visualizar o efeito de matriz para cada agrotóxico, são calculadas as razões entre os coeficientes (angulares e lineares) da curva no extrato e no solvente puro, para os analitos em estudo nas três matrizes e nas três técnicas já citadas.

Para o clorpirifós em extrato de pimentão vermelho (ESL-PBT), temos:

$$\text{No solvente: } y = 0,0068x + 0,2044$$

$$\text{No extrato: } y = 0,0057x + 0,4191$$

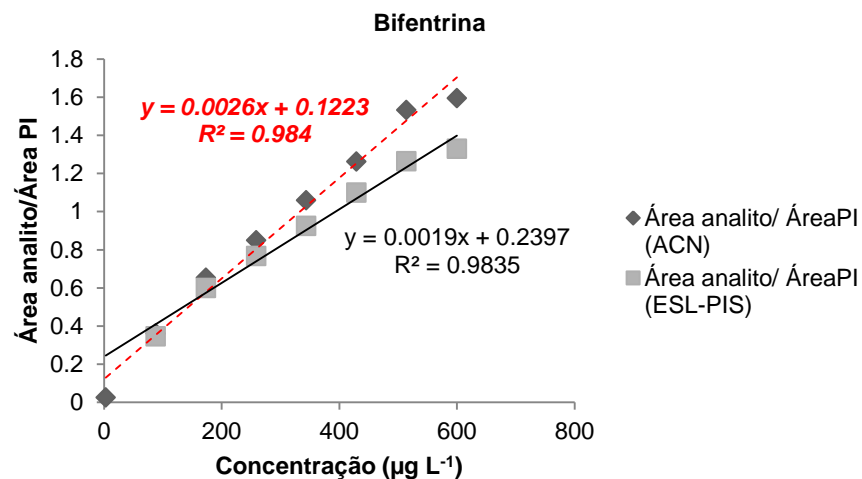
O cálculo é feito pela razão do coeficiente (angular ou linear) da matriz pelo mesmo coeficiente da curva do solvente. Desse modo, a razão das inclinações é igual a 0,84 ( $0,0057/0,0068$ ) e a razão dos coeficientes lineares igual a 2,050 ( $0,4191/0,2044$ ).

Geralmente o efeito de matriz é avaliado pelo estudo dos coeficientes angulares, uma vez que a diferença entre os coeficientes lineares (no solvente e no extrato) pode ser devida, principalmente, a um aumento da linha de base. Esse aumento acontece por influência de componentes da matriz que estão presentes e são detectados. Isso gera um erro na resposta não relacionado a

perdas no injetor (principal responsável pelo efeito de matriz), o que justifica o aumento da resposta ser constante em diferentes concentrações.

Desse modo, a partir da razão encontrada para o clorpirifós pelas inclinações (0,84) tem-se que a resposta obtida no extrato é 16% menor que a encontrada após análise em acetonitrila.

Essa maneira de avaliar o efeito de matriz é falha em alguns casos, como por exemplo, quando ocorre o cruzamento das curvas (Figura 15). Apesar da razão dos coeficientes angulares ser igual a 0,73, o que indica um efeito de matriz negativo de 27%, até a concentração de  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  verifica-se um aumento na resposta cromatográfica quando em presença dos interferentes da matriz.



**Figura 15.** Curvas analíticas obtidas para o padrão de bifentrina, preparada em acetonitrila (vermelho) e extrato orgânico de pimentão vermelho (preto) pela técnica ESL-PIS, com temperatura inicial da coluna de  $150 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Pode ocorrer também da curva do extrato ficar acima da do solvente no gráfico (indicativo de efeito de matriz positivo), porém possuir uma inclinação menor que a inclinação da curva em acetonitrila. Quando isso acontece, a razão encontrada para os coeficientes gera uma interpretação errônea de que o analito está sofrendo efeito de matriz negativo.

Como podem ocorrer essas falsas interpretações, o estudo do efeito de matriz pelas curvas analíticas não foi utilizado.

Ao invés disso fez-se a análise com todos os dados obtidos experimentalmente, através do cálculo da porcentagem do efeito de matriz relativo em cada concentração dos oito analitos, conforme descrito na seção 4.6 (página 27).

O efeito de matriz foi calculado para os oito agrotóxicos (clorotalonil, clorpirifós, tiametoxam, procimidona, ciproconazol, iprodiona, bifentrina e azoxistrobina) analisados pelas três técnicas (ESL-PBT, ESL-PIS e DMFS), nas três matrizes (pimentão vermelho, pimentão amarelo e tomate), com temperatura inicial da coluna de 60, 100 e 150 °C (para o extrato no dia 0) e de 150 °C (para os extratos em 20, 40 e 60 dias).

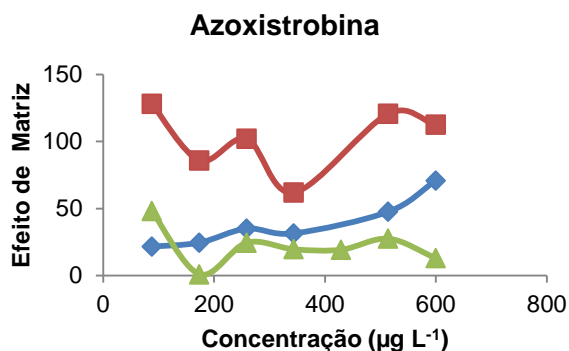
Por exemplo, para o cálculo da porcentagem de efeito de matriz para a concentração de clorotalonil igual a 173,52 µg L<sup>-1</sup>, temos que:

$$A_{e(\text{ESL-PBT})} = 2,641 \text{ e } A_s = 2,306$$

$$\text{Efeito de Matriz} = \left( \frac{2,641 - 2,306}{2,306} \right) \times 100 = 14,53\%$$

De maneira similar os demais valores de porcentagem de efeito de matriz foram calculados. Os resultados estão apresentados no Apêndice A. Nessas tabelas são mostrados os valores médios das duplicatas, e em algumas lacunas não há valor porque o aparelho não respondeu linearmente em alguns pontos, que foram retirados da curva e não utilizados para o cálculo da porcentagem de efeito de matriz.

A análise desses dados por meio de gráficos de porcentagem de efeito de matriz *versus* concentração não foi conclusiva, não sendo possível verificar uma tendência do efeito de matriz em relação às condições trabalhadas. Por exemplo, era esperado, pela literatura, que o efeito de matriz fosse mais significativo em concentrações mais baixas ou quando a proporção de componentes da matriz/analito fosse muito alta (Hajslová *et al.*, 1998), entretanto, isso não foi verificado, por exemplo, para a azoxistrobina (Figura 16):



**Figura 16.** Gráfico da porcentagem de efeito de matriz para a azoxistrobina em função da concentração do analito, para a matriz tomate, nos três métodos de extração, analisados com temperatura inicial da coluna de 150 °C. (—◆—) ESL-PBT, (—■—) ESL-PIS e (—▲—) DMFS.

Qualquer análise química envolve erros em suas medidas, seja por falhas do analista ou incertezas do aparelho. Esses erros presentes nos resultados não permitiram que fosse verificada com clareza, também para os demais analitos, uma tendência de maior efeito de matriz em função da concentração.

Uma alternativa para esse problema seria utilizar as curvas de regressão dos agrotóxicos e obter os valores previstos pelas mesmas, e novamente construir os gráficos de efeito de matriz *versus* concentração. Antes disso, porém, era necessário constatar que houve ajuste do modelo. Para isso verificou-se se os valores reais e preditos eram significativamente iguais, utilizando-se o teste estatístico *t* pareado.

Se os valores previstos e reais são estatisticamente iguais, a um dado nível de significância, então é correto utilizar os dados da previsão do modelo. Nem todas as respostas de todos os agrotóxicos foram iguais, estatisticamente, aos seus valores preditos, de modo que não foi possível plotar o gráfico citado anteriormente para todos os analitos estudados.

Mesmo que fosse possível gerar todos os gráficos para os oito analitos em estudo, a interpretação desses resultados seria trabalhosa, visto a quantidade de variáveis estudadas.

A utilização de ferramentas estatísticas foi necessária para unir todas as variáveis estudadas neste trabalho, permitindo uma análise criteriosa e facilitando o entendimento sobre o que influencia significativamente a resposta cromatográfica. As porcentagens de efeito de matriz obtidas a partir das

respostas (áreas dos picos) dos sete agrotóxicos, para todas as condições estabelecidas (concentração do analito, método de extração, temperatura inicial da coluna e tipo de matriz) foram avaliadas a partir do planejamento fatorial de três níveis.

#### 5.4. Planejamento fatorial de três níveis

O ideal num processo de extração de qualquer substância de uma matriz complexa seria a retirada isolada do analito de interesse, de modo a evitar quaisquer interferências na etapa de quantificação. Como isso não é possível, o conhecimento das condições que causam maiores distorções nos resultados é de extrema importância.

O fatorial  $3^3$  foi realizado no *software Statística 7.0*, para cada agrotóxico analisado no extrato recém-preparado (dia 0) nas diferentes condições. Procedeu-se o estudo da influência das seguintes variáveis: tipo de matriz, método de extração, temperatura inicial da coluna e concentração do analito. Cada variável foi estudada em três níveis:

- Tipo de matriz: pimentão vermelho, pimentão amarelo e tomate;
- Método de extração: ESL-PBT, ESL-PIS e DMFS;
- Temperatura inicial da coluna cromatográfica: 60 °C, 100 °C e 150 °C;
- Concentração do analito: Conforme descrito na seção 4.6.1 (página 28), foram escolhidas três concentrações para cada agrotóxico (Tabela 6).

Como não se obteve respostas para o agrotóxico ciproconazol na matriz pimentão amarelo, esse analito foi retirado do planejamento.

As Tabelas com as porcentagens de efeito de matriz utilizadas no planejamento fatorial estão apresentadas no Apêndice B.

Como as concentrações utilizadas não foram as mesmas para todos os analitos, a análise foi feita para cada agrotóxico separadamente. A partir dessa análise foi possível verificar, por exemplo, que método de extração contribuiu mais para o efeito de matriz, ou se a alteração da temperatura inicial da coluna influi sobre a resposta cromatográfica. Os efeitos estimados dos agrotóxicos clorotalonil, clorpirifós, tiametoxam, procimidona, iprodiona, bifentrina e

azoxistrobina são apresentados na tabela 7.

**Tabela 7.** Valores dos efeitos estimados para cada agrotóxico em estudo.

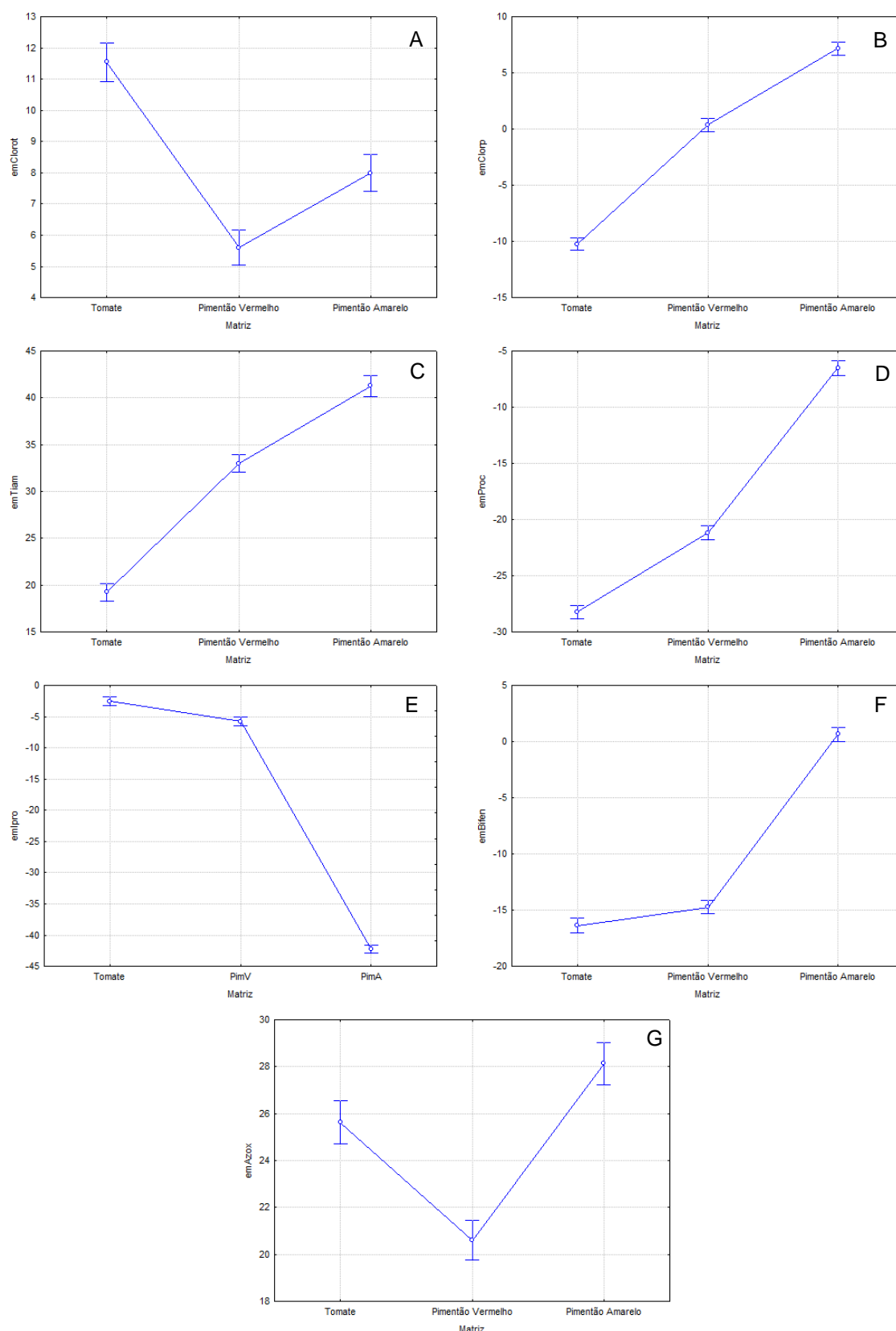
	<b>Fator</b>	<b>Efeito</b>	<b>Std.Err.</b>	<b>t</b>	<b>p</b>
<b>Clorotalonil</b>	Intercepto	<b>8,4831</b>	1,055511	8,03699	0,000000
	(1)Matriz (L)	-3,4039	2,610757	-1,30381	0,194676
	Matriz (Q)	<b>-4,9307</b>	2,182765	-2,25894	0,025606
	(2)Temperatura (L)	4,6606	2,688563	1,73349	0,085455
	Temperatura (Q)	0,6907	2,187262	0,31579	0,752686
	(3)Método (L)	<b>-12,6874</b>	2,534748	-5,00540	0,000002
	Método (Q)	-1,2483	2,243497	-0,55639	0,578933
	(4)Concentração (L)	<b>-12,4383</b>	2,544399	-4,88849	0,000003
	Concentração(Q)	<b>-5,0622</b>	2,232368	-2,26765	0,025053
<b>Clorpirifós</b>	Intercepto	-1,3817	0,817634	-1,68993	0,093268
	(1)Matriz (L)	<b>17,4739</b>	1,963212	8,90069	0,000000
	Matriz (Q)	2,1908	1,710304	1,28092	0,202340
	(2)Temperatura (L)	-0,7559	1,998276	-0,37829	0,705787
	Temperatura (Q)	-2,8453	1,696835	-1,67685	0,095803
	(3)Método (L)	<b>5,2748</b>	1,944985	2,71199	0,007527
	Método (Q)	-0,4859	1,728872	-0,28105	0,779089
	(4)Concentração (L)	<b>-10,7929</b>	1,998366	-5,40087	0,000000
	Concentração(Q)	<b>-5,5358</b>	1,708108	-3,24088	0,001489
<b>Tiametoxam</b>	Intercepto	<b>31,5810</b>	1,769685	17,84553	0,000000
	(1)Matriz (L)	<b>21,2972</b>	4,429419	4,80812	0,000005
	Matriz (Q)	3,7411	3,661680	1,02170	0,309030
	(2)Temperatura (L)	<b>50,5403</b>	4,458667	11,33530	0,000000
	Temperatura (Q)	<b>22,7242</b>	3,620782	6,27606	0,000000
	(3)Método (L)	-7,8589	4,194383	-1,87368	0,063470
	Método (Q)	<b>8,1418</b>	3,776086	2,15614	0,033120
	(4)Concentração (L)	<b>-36,2794</b>	4,330705	-8,37726	0,000000
	Concentração(Q)	<b>-13,9049</b>	3,678562	-3,77999	0,000248
<b>Procimidona</b>	Intercepto	<b>-18,2203</b>	0,822351	-22,1563	0,000000
	(1)Matriz (L)	<b>22,1101</b>	1,976896	11,1843	0,000000
	Matriz (Q)	<b>-4,3313</b>	1,704585	-2,5410	0,012221
	(2)Temperatura (L)	1,9711	1,999285	0,9859	0,326009
	Temperatura (Q)	-2,3847	1,705327	-1,3984	0,164367
	(3)Método (L)	<b>7,6135</b>	1,958283	3,8878	0,000160
	Método (Q)	-1,6075	1,710574	-0,9397	0,349081
	(4)Concentração (L)	<b>6,2412</b>	2,012917	3,1006	0,002365
	Concentração(Q)	1,5670	1,697131	0,9233	0,357524
<b>Iprodiona</b>	Intercepto	<b>-16,6994</b>	1,015068	-16,4515	0,000000
	(1)Matriz (L)	<b>-38,9532</b>	2,511093	-15,5124	0,000000
	Matriz (Q)	<b>18,7701</b>	2,128165	8,8199	0,000000
	(2)Temperatura (L)	<b>23,8664</b>	2,570274	9,2855	0,000000
	Temperatura (Q)	2,1017	2,114776	0,9938	0,322108
	(3)Método (L)	<b>18,4884</b>	2,467566	7,4926	0,000000
	Método (Q)	<b>-12,0604</b>	2,160952	-5,5811	0,000000
	(4)Concentração (L)	-2,6985	2,516041	-1,0725	0,285433
	Concentração(Q)	-2,1287	2,118665	-1,0047	0,316845
<b>Bifentrina</b>	Intercepto	<b>-9,99118</b>	0,724399	-13,7924	0,000000
	(1)Matriz (L)	<b>17,15812</b>	1,778189	9,6492	0,000000
	Matriz (Q)	<b>-7,59172</b>	1,520649	-4,9924	0,000002
	(2)Temperatura (L)	<b>6,15275</b>	1,835014	3,3530	0,001038
	Temperatura (Q)	1,50645	1,511570	0,9966	0,320734
	(3)Método (L)	-0,50111	1,756660	-0,2853	0,775882
	Método (Q)	<b>6,93033</b>	1,537602	4,5072	0,000014
	(4)Concentração (L)	-2,99005	1,774913	-1,6846	0,094373
	Concentração(Q)	-2,98984	1,530610	-1,9534	0,052845

<b>Azoxistrobina</b>	<b>Intercepto</b>	<b>25,53802</b>	1,207721	21,14563	0,000000
	<b>(1)Matriz (L)</b>	1,55061	2,994919	0,51775	0,605522
	<b>Matriz (Q)</b>	<b>-7,29633</b>	2,495180	-2,92417	0,004081
	<b>(2)Temperatura (L)</b>	<b>11,61124</b>	3,083887	3,76513	0,000252
	<b>Temperatura (Q)</b>	1,95207	2,495305	0,78230	0,435474
	<b>(3)Método (L)</b>	2,56074	2,849754	0,89858	0,370549
	<b>Método (Q)</b>	<b>11,06096</b>	2,623570	4,21600	0,000046
	<b>(4)Concentração (L)</b>	2,77427	2,949515	0,94059	0,348675
	<b>Concentração(Q)</b>	-0,81710	2,520024	-0,32424	0,746281
	L = Linear	Q = Quadrático	t = valor de t	p = valor p	Nível de significância: 0,05

Os valores em itálico e negrito na Tabela 7 representam as variáveis que se mostraram significativas a um nível de confiança de 95% ( $\alpha=0,05$ ). Para todos os agrotóxicos estudados utilizou-se esse nível de confiança.

Apenas as somas quadráticas significativas das variáveis principais foram discutidas nesse trabalho, pois a partir das interações não foi obtida nenhuma informação conclusiva que contribuísse efetivamente para o entendimento destas interações sobre o efeito de matriz. Assim, análises dos gráficos de médias marginais foram realizadas por serem mais informativas e conclusivas. Verificou-se o ajuste dos dados ao modelo para todos os analitos.

A variável matriz foi a única significativa para todos os agrotóxicos, conforme a Figura 17. O efeito de matriz é dado em porcentagem.



**Figura 17.** Gráfico de médias marginais do efeito de matriz em função da matriz para: A) clorotalonil, B) clorpirifós, C) tiametoxam, D) procimidona, E) iprodiona, F) bifentrina e G) azoxistrobina.

Para o clorotalonil, o clorpirifós, a procimidona e a bifentrina, as matrizes

de coloração avermelhada foram as que causaram maior efeito de matriz. Mesmo o tiametoxam (Figura 17-C), cujo maior efeito foi causado pela matriz pimentão amarelo, também mostrou valores altos (entre 30 e 35%) para a matriz pimentão vermelho, e próximo a 20% para o tomate.

O efeito dos componentes da matriz tomate sobre a resposta do clorotalonil (Figura 17-A) já foi verificado em estudos anteriores, onde se observaram taxas de recuperação superiores a 250% para este agrotóxico (Menkissoglu-Spiroudi e Fotopoulou, 2004).

Para o clorpirifós (Figura 17-B) -10% de efeito de matriz quando analisado no extrato orgânico do tomate. Essa porcentagem de efeito de matriz condiz com resultados de estudos anteriores realizados no LAQUA, na extração de agrotóxicos dessa hortaliça. Inicialmente era esperada, para esse agrotóxico, a ausência de efeito de matriz, porém as taxas de recuperação para este analito em acetonitrila e no branco mostraram-se estatisticamente diferentes (6%) no nível de confiança estabelecido (Pinho, 2007).

Para a procimidona (Figura 17-D) o efeito de matriz causado pelo pimentão vermelho e pelo tomate foi próximo (entre -20 e -30%). Estudos anteriores relataram efeitos de matriz positivos (50%) para a procimidona, na análise do extrato de tomate (Menkissoglu-Spiroudi e Fotopoulou, 2004). Ao contrário do observado nesse trabalho, os componentes da matriz causaram um aumento da resposta cromatográfica. Deve-se levar em consideração, porém, que as condições dos dois estudos não foram idênticas, os operadores, a origem das matrizes, o cromatógrafo, etc., não foram os mesmos, o que pode ser a causa desse comportamento diferenciado.

A bifentrina sofreu uma diminuição na resposta de 15% em pimentão vermelho e de 17% em tomate. Este analito foi utilizado como padrão interno no estudo da extração de agrotóxicos de tomate por ESL-PBT e DMFS. Os experimentos realizados com este analito revelaram que no decorrer das análises cromatográficas ele praticamente não apresentou efeito de matriz (Pinho, 2007), o que condiz com os valores relativamente baixos de porcentagem de efeito apresentados na Figura 17-F.

Apenas a iprodiona sofreu maior (e única) influência dos componentes do pimentão amarelo (Figura 17-E).

Pode-se verificar, portanto, que os analitos citados sofreram uma forte

influência sobre a resposta na presença de co-extrativos de matrizes de coloração avermelhada, o que reforça os resultados encontrados na análise de tomate, onde o efeito de matriz se mostrou pronunciado (Pinho, 2007).

O pimentão vermelho possui maior teor de carboidratos (5,5% m/m) que o tomate (3,1% m/m) (Tabelas 2 e 4, páginas 13 e 14). A utilização de açúcares como agente protetor em análises cromatográficas gerou bons resultados na análise de 30 agrotóxicos (Anastassiades *et al.*, 2003). Isso pode explicar o motivo das matrizes com maior teor dessa substância causarem maior efeito de matriz.

Dentre os métodos de extração utilizados nesse trabalho, a DMFS foi a que gerou valores mais baixos de efeito de matriz para os agrotóxicos, com exceção dos agrotóxicos bifentrina e azoxistrobina, como pode ser observado na Figura 18. A vantagem desta técnica se deve ao fato de que a extração dos analitos e o *clean up* das amostras são realizados simultaneamente (Kristenson *et al.*, 2006), o que provavelmente gera um extrato com menos interferentes.

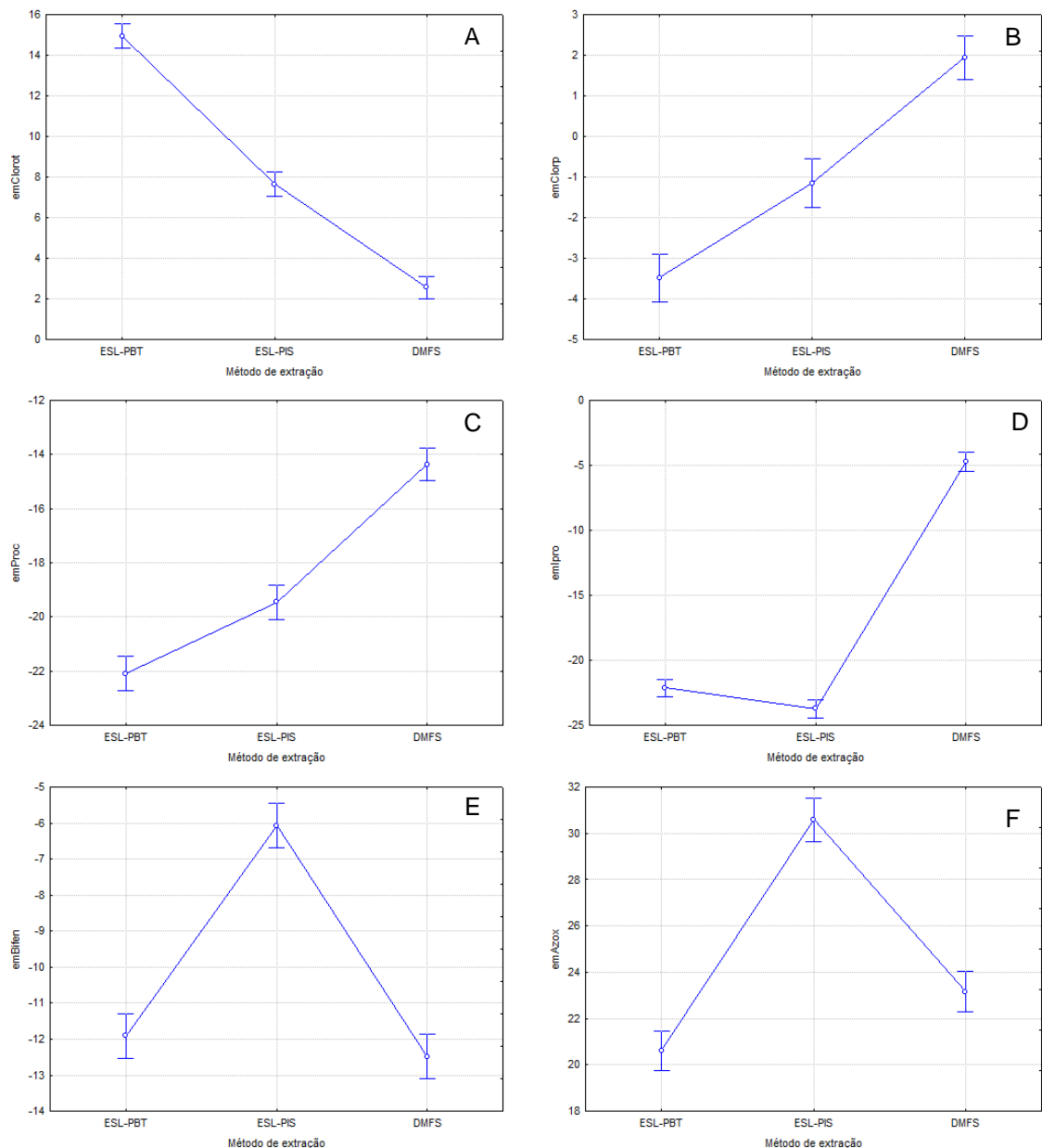
A técnica ESL-PIS foi responsável pela maior alteração da resposta cromatográfica no extrato em relação ao solvente para a iprodiona e azoxistrobina (Figuras 18-D e 18-F).

O extrato proveniente dessa técnica provavelmente continha substâncias mais suscetíveis à formação de sítios ativos no injetor, o que justifica os efeitos de matriz positivos para o clorotalonil e azoxistrobina.

Os valores negativos encontrados para a procimidona, iprodiona e bifentrina podem ser devidos a uma etapa desse método. Durante a extração, conforme descrito no item 4.3.2 (página 23), faz-se uso de uma solução de NaCl para rompimento do equilíbrio. Trabalhos recentes no grupo têm demonstrado o efeito do íon Cl<sup>-</sup> na resposta cromatográfica. Por mais que esse ânion tenha maior afinidade pela fase aquosa, uma pequena quantidade pode migrar para a fase orgânica e chegar ao detector durante as análises. Quando isso acontece, ocorre um aumento da linha de base no cromatograma, conforme observado pela comparação dos cromatogramas A, C e E da Figura 13 (página 35). Com o aumento da linha, a área do pico correspondente ao analito fica menor, de maneira que a resposta no extrato se torna menor que no solvente, justificando as porcentagens negativas de efeito de matriz.

Deve-se ressaltar que para o clorpirifós, a bifentrina e a azoxistrobina, os

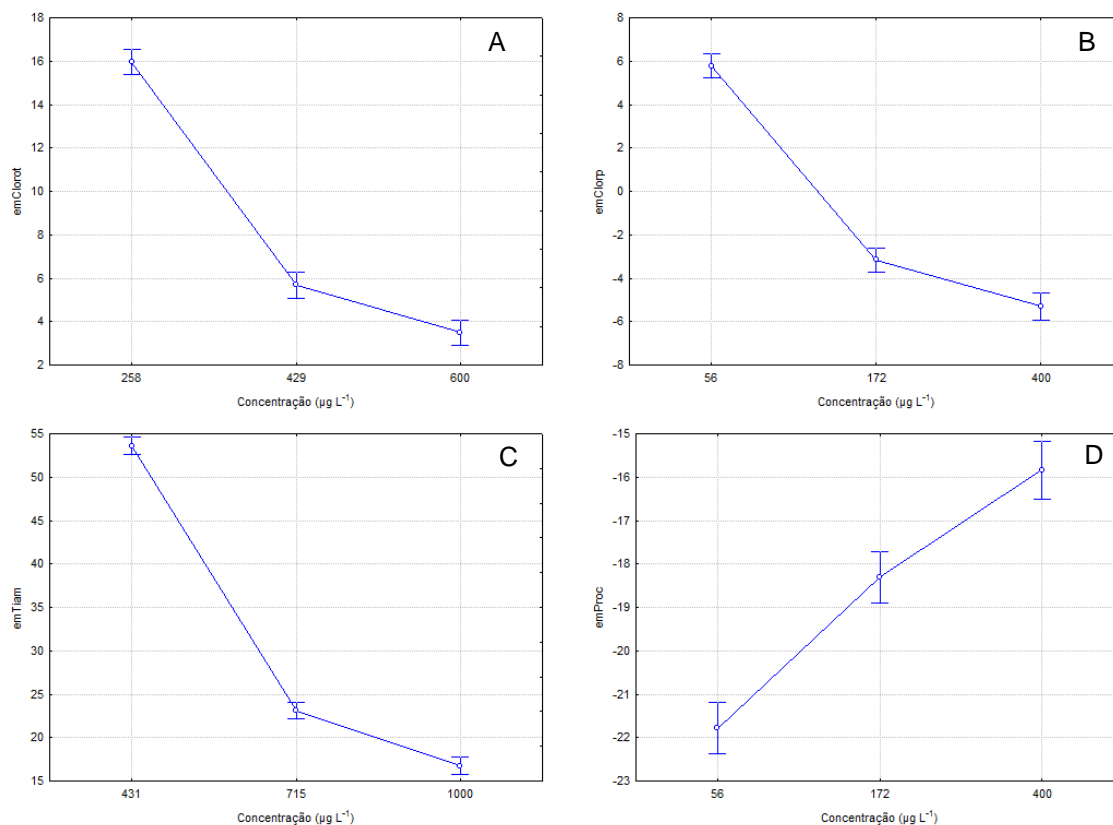
efeitos causados pela técnica DMFS foram próximos (mesmo que em módulo) aos valores encontrados para a ESL-PBT. Isso deve ser levado em consideração, pois, ao se realizar qualquer experimento, deve-se escolher uma técnica com maior frequência analítica, e comparando-se a DMFS com a ESL-PBT, esta última se mostra mais eficiente em relação ao tempo gasto e por apresentar menor possibilidade de perda de amostra durante o processo de extração.



**Figura 18.** Gráfico de médias marginais do efeito de matriz em função do método de extração para: A) clorotalonil, B) clorpirifós, C) procimidona, D) iprodiona, E) bifentrina e F) azoxistrobina.

Das variáveis estudadas, a concentração foi o único fator que apresentou a mesma influência para todos os agrotóxicos em que se mostrou

significativa, como pode ser verificado na Figura 19.



**Figura 19.** Gráfico de médias marginais do efeito de matriz em função da concentração do analito para: A) clorotalonil, B) clorpirifós, C) tiametoxam e D) procimidona.

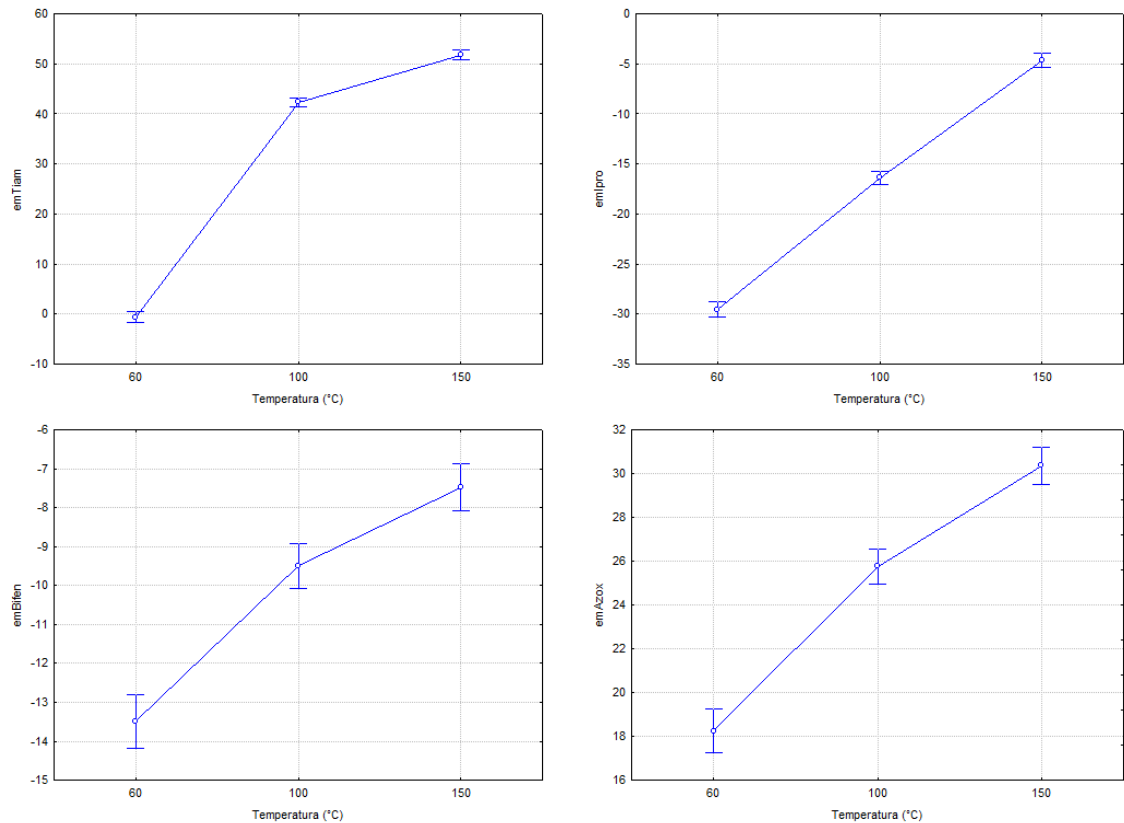
Para os analitos clorotalonil, clorpirifós, tiametoxam e procimidona, os maiores efeitos de matriz foram encontrados nas análises de soluções com menor concentração dos mesmos. Já foi verificado que uma menor precisão nas medições é encontrada especialmente em níveis mais baixos de concentração dos analitos e/ou em maior concentração de componentes da matriz na amostra (Hajslová *et al.*, 1998; Pinho *et al.*, 2010), o que reforça os resultados encontrados.

A variável concentração contribuiu para o efeito de matriz conforme previsto na literatura: o menor valor foi o que apresentou maior variação dos resultados entre as análises feitas em acetonitrila e no extrato da matriz.

Quando uma solução de agrotóxico em solvente puro é analisada, uma quantidade do analito fica retida no injetor. Quando a solução do agrotóxico é preparada no extrato de alguma matriz, parte dos co-extrativos ficam retidos no lugar do analito, o que justifica uma maior resposta no extrato em comparação à leitura no solvente, para um mesmo valor de concentração. Quanto menor a

concentração do analito em estudo, maior é a proporção do mesmo que fica retido nos sítios do injetor. A partir de concentrações mais altas, o que se perde no processo de injeção passa a ser menos significativo em relação ao total que é injetado. Isso explica o comportamento demonstrado na Figura 19 (A, B e C).

A variável temperatura inicial da coluna cromatográfica se mostrou significativa para quatro analitos apenas, não sendo possível chegar a uma conclusão geral sobre sua influência sobre o efeito de matriz (Figura 20).



**Figura 20.** Gráficos de médias marginais do efeito de matriz em função da temperatura para: A) tiametoxam, B) iprodiona, C) bifentrina e D) azoxistrobina.

Para o tiametoxam e a azoxistrobina, o efeito foi mais pronunciado quando a leitura foi realizada partindo-se de 150 °C, conforme observado nas Figuras 20-A e 20-D. Já para a iprodiona e a bifentrina (Figuras 20-C e 20-D) o comportamento foi o oposto do citado anteriormente: foram observados maiores efeitos iniciando-se a análise em 60 °C.

### 5.5. Estabilidade dos agrotóxicos no extrato da matriz

A estabilidade do analito nos extratos preparados foi avaliada com o intuito de investigar se estes sofriam degradação por estarem armazenados na

presença de componentes da matriz.

Para verificar se a resposta cromatográfica dos analitos se alterava ao longo do tempo, as soluções foram reservadas e analisadas após 20, 40 e 60 dias de armazenamento.

Ao longo do tempo podia ocorrer do extrato sofrer alguma modificação (degradação dos co-extrativos, por exemplo) e isso afetar a resposta cromatográfica, gerando falsas interpretações. Desse modo o estudo não foi feito comparando-se as leituras do 20°, 40° e 60° dia com a leitura do dia 0. Ao invés disso, nos dias escolhidos para a leitura dessas amostras, soluções com a mesma concentração dos analitos foram preparadas no extrato livre de agrotóxicos que havia sido armazenado sob refrigeração e analisadas nas mesmas condições.

Os resultados das análises cromatográficas (das soluções lidas após n dias e das soluções preparadas após n dias) estão apresentados no Apêndice D e foram comparados, a um nível de confiança de 99% ( $\alpha=0,01$ ), pelo teste *t* de dados pareados.

Os agrotóxicos clorotalonil e tiametoxam se mostraram estáveis para todos os extratos até o 60° dia de leitura.

O clorpirifós apresentou um decréscimo significativo ao nível de confiança estabelecido no extrato de pimentão vermelho (obtido por DMFS), após 60 dias de armazenamento. Desse modo, pode-se garantir a estabilidade deste analito até 40 dias (para o extrato de pimentão vermelho por DMFS) e de até 60 dias para os demais extratos.

Valores não esperados de aumento de resposta foram obtidos para a procimidona (extrato de pimentão vermelho por DMFS) no 20° dia, para a iprodiona (extrato de pimentão amarelo por ESL-PBT) no 40° dia, para a bifentrina (extrato de tomate por ESL-PIS) no 40° dia e para a azoxistrobina (extrato de pimentão amarelo por ESL-PIS) no 20° dia. Não foi possível chegar a uma conclusão a partir desses resultados.

A procimidona apresentou um decréscimo na resposta no 40° dia para o extrato de pimentão vermelho obtido por ESL-PBT, de modo que a estabilidade nesse extrato, para esse analito, só pode ser garantida até 20 dias de armazenamento na solução.

O mesmo ocorreu para o ciproconazol em extrato de tomate (DMFS),

que apresentou uma diminuição na resposta no 40º dia de análise. É importante lembrar que esse agrotóxico não foi estudado na matriz pimentão amarelo, pois sua resposta nessa matriz não apresentou uma boa linearidade.

## 6. CONCLUSÕES

O tratamento dos dados a partir do planejamento permitiu uma análise criteriosa do efeito de matriz para sete agrotóxicos (clorotalonil, clorpirifós, tiametoxam, procimidona, iprodiona, bifentrina e azoxistrobina), sendo possível confirmar que este fenômeno é dependente do método de extração empregado, da concentração do analito, dos co-extrativos da matriz e da temperatura inicial da coluna cromatográfica. Também foi verificado que a estrutura do agrotóxico influencia no efeito de matriz, uma vez que em condições idênticas de análise, obteve-se diferentes interpretações sobre a alteração da resposta cromatográfica para analitos distintos.

O estudo da variação do efeito em função da alteração da temperatura inicial da coluna não foi conclusivo. Metade dos agrotóxicos afetados por essa variável apresentou resultados dos analitos nos extratos mais próximos dos obtidos em acetonitrila quando as análises foram iniciadas a 60 °C, enquanto para o restante os melhores resultados foram referentes à temperatura de 150 °C. Em relação ao método de extração, os co-extrativos provenientes da técnica DMFS menos influenciaram no efeito de matriz.

Os componentes do pimentão vermelho causaram maior alteração na resposta cromatográfica, provavelmente pelo alto teor de carboidrato dessa hortaliça. Estudos posteriores podem investigar a utilização de componentes dessa matriz como agente protetor.

O estudo da estabilidade dos agrotóxicos ao longo do tempo mostrou que a maioria dos analitos não sofre degradação na presença dos componentes da matriz, e que aqueles que tiveram sua resposta alterada foram afetados pelas matrizes que contém coloração avermelhada.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anastassiades, M.; Mastovská, 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. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home>>. Acesso em: 20 set. 2010.

Bolognesi, C.;Morasso, G. Genotoxicity of pesticides: potential risk for consumers. **Trends in Food Science & Technology**, v. 11, n. 4-5, p. 182-187, 2000.

Carson, L. J. Modified Storch method for determination of organophosphorus pesticides in nonfatty food Total Diet composites, **Journal of AOAC International**, v. 64, n. 3, p. 714-719, 1981.

ChemSpider. **The free chemical database**. Disponível em: <<http://www.chemspider.com/Search.aspx>>. Acesso em 17 jun. 2011.

Collins, C. H.; Braga, G. L.;Bonato, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2006. 456 p.

Costa, A. I. G. **Análise multirresíduos de agrotóxicos em alface por cromatografia gasosa**. 2011. 118 f. Dissertação (Mestrado). Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2011.

Davies, J. N.; Hobson, G. E.;Mcglasson, W. B. The constituents of tomato fruit—the influence of environment, nutrition, and genotype. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** v. 15, n. 3, p. 205-280, 1981.

Devore, J. L. **Probabilidade e Estatística para Engenharia e Ciências**. 6ª ed. São Paulo: Thomson, 2006. 692 p.

Disqual. **Manual de boas Práticas – Tomate**. Disponível em: <<http://opac.iefp.pt:8080/images/winlibimg.exe?key=&doc=11404&img=44>> Acesso em: 11 mai. 2011.

Dömötöróvá, M.; Kirchner, M.; Matisová, E.;De Zeeuw, J. Possibilities and limitations of fast GC with narrow-bore columns. **Journal of Separation Science**, v. 29, n. 8, p. 1051-1063, 2006.

Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (a). **Capsicum – Pimentas e Pimentões no Brasil**. Disponível em:

<<http://www.cnph.embrapa.br/capsicum/especies.htm>>. Acesso em 11 mai. 2011.

Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (b). **Cultivo de Tomate para Industrialização**. Disponível em: <[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial\\_2ed/composicao.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial_2ed/composicao.htm)>. Acesso em 11 mai. 2011.

Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (c). **Embrapa Hortaliças – Pimentão**. Disponível em: <[http://www.cnph.embrapa.br/paginas/dicas\\_ao\\_consumidor/pimentao.htm](http://www.cnph.embrapa.br/paginas/dicas_ao_consumidor/pimentao.htm)>. Acesso em 11 mai. 2011.

Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (d). **Principais atributos do pimentão sob a ótica de consumidores do Distrito Federal**. Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra/13/524.pdf>>. Acesso em: 11 mai. 2011.

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.

Friggi, C. A. **Avaliação de um modulador a ar comprimido para CGxCG e sua aplicação para determinação de resíduos de pesticidas piretróides em uva**. 2008. 107 f. Dissertação (Mestrado). Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2008.

Hajslová, 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.

Hajslová, 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.

Heringa, M. B.; Hogevoender, C.; Busser, F.; Hermens, J. L. M. Measurement of the free concentration of octylphenol in biological samples with negligible depletion-solid phase microextraction (nd-SPME): Analysis of matrix effects. **Journal of Chromatography B**, v. 834, n. 1-2, p. 35-41, 2006.

Holler, F. J.; Skoog, D. A.; Crouch, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. Porto Alegre: Bookman, 2009. 1056 p.

IUPAC. **Global availability of information on agrochemicals**. Disponível em: <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/>>. Acesso em 17 jun. 2011.

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.

Kruve, A.; Künnapas, A.; Herodes, K.; Leito, I. Matrix effects in pesticide multi-residue analysis by liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1187, n. 1-2, p. 58-66, 2008.

Lehotay, S. J.; Eller, K. I. Development of a method of analysis for 46 pesticides in fruits and vegetables by supercritical fluid extraction and gas chromatography/ion trap mass spectrometry. **Journal of AOAC International**, v. 78, n. 3, p. 821-830, 1995.

Mastovská, K.; Hajslová, J.; Lehotay, S. J. Ruggedness and other performance characteristics of low-pressure gas chromatography-mass spectrometry for the fast analysis of multiple pesticide residues in food crops. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, n. 1-2, p. 335-349, 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.

Montgomery, D. C. **Design and Analysis of Experiments**. 5ª ed. New York: John Wiley & Sons, 2001.

NEPA – Núcleo de estudo e pesquisa em alimentação. **Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO**. Campinas: Editora da Unicamp, 2006, 113 p.

Neto, B. D. B.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. 2ª ed. Editora da Unicamp, 1996. 299 p.

Picó, Y.; Blasco, C.; Font, G. Environmental and food applications of LC–tandem mass spectrometry in pesticide-residue analysis: An overview. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 23, n. 1, p. 45-85, 2004.

Pinho, G. P. **Extração de pesticidas em amostras de tomate pelas técnicas: Extração sólido-líquido e purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) e Dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) para análise por cromatografia gasosa**. 2007. 96 f. Dissertação (Mestrado). Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2007.

Pinho, G. P. **Efeitos de componentes da matriz na análise de agrotóxicos por cromatografia gasosa**. 2009. 121 f. Tese (Doutorado). Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2009.

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**, v. 32, n. 4, p. 987-995, 2009.

Pinho, G. P. D.; Silvério, F. O.; Neves, A. A.; Queiroz, M. E. L. R.; Starling, M. A. V. M. Influência dos constituintes químicos dos extratos de diferentes matrizes na resposta cromatografia de agrotóxicos. **Química Nova**, v. 33, n. 4, p. 909-

913, 2010.

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.

Ribani, M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; Melo, L. F. C. Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

Rodrigues, A. A. Z. **Otimização e validação da técnica de extração líquido – líquido com partição induzida por sal para análise de agrotóxicos em amostras de água por cromatografia gasosa e aplicações**. 2010. 123p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2010.

Schenck, F. J.; Lehotay, S. J. Does further clean-up reduce the matrix enhancement effect in gas chromatographic analysis of pesticide residues in food? **Journal of Chromatography A**, v. 868, n. 1, p. 51-61, 2000.

Silva, L. R.; Ferreira, M. Estudo do coeficiente de partição octanol-água de bifenilas policloradas (PCBs) utilizando parâmetros topológicos. **Química Nova**. v. 26, n. 3, p. 312-318, 2003.

Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J.; Crouch, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª ed. Thomson, 2005. 1124 p.

Soares, C. E. D. S. **Extração sólido-líquido com partição a baixa temperatura e seu emprego na análise multirresíduos de agrotóxicos em uva e derivados**. 2011. 108 f. Dissertação (Mestrado). Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2011.

## APÊNDICE A

**Tabela A1.** Porcentagens de efeito de matriz para os oito agrotóxicos nos extratos de pimentão vermelho, obtidos pelos três métodos de extração e analisados em três temperaturas iniciais da coluna, no dia 0.

	Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	60 °C			100 °C			150 °C		
		Pimentão Vermelho								
		PBT <sup>1</sup>	PIS <sup>2</sup>	DMFS	PBT	PIS	DMFS	PBT	PIS	DMFS
Clorotalonil	3	2,5	-79,1	-	-	-	-	-	-	-
	88,32	60,0	75,6	58,4	26,1	28,2	23,4	34,6	35,5	27,0
	173,52	36,4	44,0	34,2	7,9	13,9	12,5	15,1	19,1	13,9
	258,72	28,8	8,5	27,8	12,2	-10,4	9,2	16,3	4,7	14,3
	343,92	19,0	8,6	14,8	7,4	4,4	9,9	8,2	5,1	7,9
	429,12	75,4	82,9	77,3	-2,8	2,8	8,9	3,1	1,4	3,0
	514,32	6,1	-9,9	-3,9	-4,3	-6,4	-1,0	6,7	3,5	6,3
600	-1,8	-8,5	-10,9	0,0	-3,8	13,9	5,5	-1,1	8,0	
Clorpirifós	2	416,8	5,9	72,5	359,4	93,6	50,2	492,6	227,5	84,7
	58,88	27,4	-8,4	-7,1	34,3	162,0	0,8	36,1	*	-1,1
	115,68	-13,0	-7,5	-9,4	-6,0	-5,4	1,0	-7,2	-5,8	-2,6
	172,48	-6,8	-4,7	2,8	-7,7	-6,7	1,1	-10,3	-1,4	-2,8
	229,28	-1,4	-6,6	-39,4	-2,1	-6,7	-2,8	0,7	-7,5	-3,9
	286,08	-6,8	-7,1	-5,4	-9,5	-0,2	-4,4	-8,1	-2,9	-9,5
	342,88	-5,4	-12,5	-10,3	-9,6	-3,7	-1,4	-6,4	-7,9	-4,3
400	-10,5	-12,4	-21,0	-3,8	-5,7	2,7	-5,2	-9,0	-4,5	
Tiametoxam	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	147,2	22,2	-6,2	2,2	23,6	38,8	53,5	56,5	65,6	75,8
	289,2	56,3	39,0	29,3	78,7	68,9	82,4	66,9	68,6	75,5
	431,2	36,6	42,6	72,8	63,7	68,8	95,6	73,6	82,7	105,1
	573,2	89,8	129,1	116,1	55,0	64,7	51,3	71,8	73,2	85,0
	715,2	-2,4	-46,7	-1,1	34,9	37,7	38,7	28,3	24,9	24,8
	857,2	23,9	36,7	32,3	70,0	73,5	81,6	74,9	74,4	90,7
1000	-11,4	-3,8	-23,8	32,7	25,2	30,7	28,5	33,4	36,1	
Procimidona	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	58,88	-44,8	-47,9	-45,8	-24,9	-23,5	-15,1	-28,1	-27,7	-27,1
	115,68	-41,3	-40,6	-42,7	-26,4	-25,5	-17,3	-26,7	-25,6	-27,5
	172,48	-32,8	-38,9	-29,0	-21,0	-19,0	-8,1	-23,5	-23,9	-20,5
	229,28	-33,9	-34,5	-32,0	-21,3	-20,9	-19,1	-23,6	-23,2	-22,1
	286,08	-31,9	-31,2	-27,6	-21,3	-12,8	-13,8	-24,5	-22,7	-20,2
	342,88	-46,1	-37,0	-48,5	-28,1	-17,6	-19,3	-29,3	-28,5	-25,8
400	-37,6	-38,9	-45,0	-15,1	-15,9	-8,6	-20,1	-57,8	-17,0	
Ciproconazol	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	177,2	-65,7	-	-53,6	-5,1	-4,5	-13,7	-18,5	-23,3	-29,7
	312	-46,2	-47,6	-51,4	-19,3	-15,8	-17,6	-35,9	-34,2	-37,3
	451,2	-46,8	-53,8	-44,5	-31,0	-35,8	-32,1	-30,2	-35,2	-37,2
	588	-55,1	-57,1	-53,8	-30,5	-38,3	-29,0	-26,7	-46,4	-40,4
	725,2	-54,4	-51,4	-54,2	-32,1	-36,0	-37,2	-36,0	-38,6	-38,7
	862	-71,1	-72,1	-75,5	-48,6	-38,0	-47,8	-40,9	-44,9	-25,1
1000	-66,4	-65,3	-69,3	-27,0	-32,8	-24,5	-31,2	-42,2	-28,4	

**Tabela A1 (continuação).** Porcentagens de efeito de matriz para os oito agrotóxicos nos extratos de pimentão vermelho, obtidos pelos três métodos de extração e analisados em três temperaturas iniciais da coluna, no dia 0.

		60 °C			100 °C			150 °C		
		Pimentão Vermelho								
	Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	PBT <sup>1</sup>	PIS <sup>2</sup>	DMFS	PBT	PIS	DMFS	PBT	PIS	DMFS
Iprodiona	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	117,76	5,6	-11,4	-3,1	-0,6	6,8	6,7	7,4	1,5	0,3
	231,36	1,9	5,7	-1,1	-4,1	3,3	3,3	4,1	5,8	15,3
	344,96	7,1	-6,2	20,3	2,4	-10,2	0,3	11,3	-6,1	17,2
	458,56	-11,8	2,4	2,1	1,1	-2,0	8,3	4,5	6,1	7,5
	572,16	-20,8	-8,8	-4,3	-14,8	-6,2	-5,5	-1,8	-3,0	2,7
	658,76				-8,3	3,1	-4,3	5,4	8,3	14,8
800	-12,1	1,9	-6,1	-8,1	-6,6	13,9	2,9	1,9	8,6	
Bifentrina	3	-	-	-	-17,7	141,4	123,6	29,0	-	99,2
	88,32	-31,7	-45,2	-43,4	-6,6	1,5	-7,8	-7,5	-4,4	-10,9
	173,52	-29,6	-24,7	-38,2	-13,0	-6,5	-13,5	-11,5	-8,1	-18,3
	258,72	-22,8	-29,6	-25,7	-7,8	-12,3	-13,5	-10,3	-9,7	-16,9
	343,92	-32,9	-27,2	-32,7	-8,3	-8,7	-13,6	-10,5	-12,7	-17,9
	429,12	-32,9	-26,8	-30,9	-12,7	-8,9	-12,5	-12,5	-12,9	-17,5
	514,32	-44,5	-41,9	-48,2	-19,4	-11,9	-18,3	-18,9	-17,6	-22,4
600	-40,7	-35,2	-48,1	-6,9	-10,2	-5,8	-9,6	-16,6	-13,8	
Azoxistrobina	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	88,32	46,6	30,2	34,3	2,1	12,3	7,8	2,0	16,1	15,0
	173,52	24,3	35,9	15,7	4,7	17,2	13,0	9,0	16,2	11,3
	258,72	34,2	26,6	45,1	16,3	13,8	22,0	16,4	23,6	23,0
	343,92	16,7	23,5	20,9	15,2	24,6	21,3	17,6	24,9	19,9
	429,12	5,8	14,6	16,9	11,6	24,1	23,4	14,5	21,8	19,3
	514,32	-	-	-	11,9	27,1	22,2	16,1	22,4	18,8
600	17,1	22,7	4,2	15,1	18,8	24,8	22,1	21,8	24,6	

<sup>1</sup>ESL-PBT<sup>2</sup>ESL-PIS

**Tabela A2.** Porcentagens de efeito de matriz para os oito agrotóxicos nos extratos de pimentão amarelo, obtidos pelos três métodos de extração e analisados em três temperaturas iniciais da coluna, no dia 0.

	Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	60 °C			100 °C			150 °C		
		Pimentão Amarelo								
		PBT <sup>1</sup>	PIS <sup>2</sup>	DMFS	PBT	PIS	DMFS	PBT	PIS	DMFS
Clorotalonil	3	-	-	-	131,2	2282,2	105,3	86,6	-43,8	45,4
	88,32	53,4	36,6	15,2	42,5	52,8	37,3	46,5	52,8	39,5
	173,52	-12,2	-4,1	-20,5	11,1	18,3	5,8	13,4	18,3	4,2
	258,72	3,8	-5,5	4,5	20,0	24,3	11,0	23,5	28,3	19,4
	343,92	-5,2	-8,3	-11,3	-0,5	5,1	-5,7	7,1	9,4	2,9
	429,12	-11,7	-15,0	-19,8	7,1	11,0	-3,0	12,7	16,1	3,6
	514,32	0,1	0,4	-8,1	5,7	6,4	-6,3	10,5	9,7	0,5
600	-7,8	-30,9	2,8	-0,3	2,9	-8,1	7,0	8,4	-0,5	
Clorpirifós	2	113,6	162,9	222,8	215,6	2021,5	364,2	218,7	149,3	193,3
	58,88	17,4	14,2	15,6	9,2	7,0	23,3	9,2	28,8	23,0
	115,68	9,9	-9,1	-4,6	-1,9	-7,2	-5,7	-6,8	-14,5	-11,4
	172,48	5,9	-10,1	10,7	4,4	1,3	8,1	1,6	2,9	12,7
	229,28	1,4	-12,1	-7,3	-6,3	-7,0	-13,4	-9,4	-11,6	-10,9
	286,08	-6,9	-9,3	-1,6	-2,6	4,0	8,7	-7,4	-1,4	7,7
	342,88	8,7	7,9	9,6	-0,3	-0,6	3,2	-5,0	-5,0	3,1
400	-1,9	10,7	9,2	-1,1	-0,4	-6,3	-3,7	-3,8	0,1	
Tiametoxam	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	147,2	37,5	44,8	38,8	-	-	-	182,9	200,5	203,8
	289,2	5,4	-12,2	1,8	84,8	98,7	66,5	70,7	77,0	78,1
	431,2	-6,1	-18,1	3,7	110,1	119,4	81,6	125,4	163,1	124,5
	573,2	-23,1	-38,7	-41,1	73,8	87,4	51,9	71,5	95,5	62,2
	715,2	-23,1	-14,0	-44,5	78,4	94,6	36,0	106,4	115,9	44,3
	857,2	-26,2	-15,0	-19,2	57,5	65,5	39,4	85,8	93,1	71,6
1000	-10,3	-4,2	1,7	30,6	36,7	12,1	70,4	76,2	56,9	
Procimidona	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	58,88	1,8	-2,0	-11,4	-0,3	-11,3	-4,1	-11,1	-6,7	-6,0
	115,68	-9,9	-17,1	-13,6	-20,6	-17,9	-15,4	8,8	-10,5	-8,2
	172,48	-11,0	-23,5	-7,7	-14,8	-5,9	-17,2	15,2	8,2	1,2
	229,28	-17,7	-29,7	-24,5	-24,4	-18,9	-26,0	-11,0	-13,1	-18,7
	286,08	-22,5	-24,6	-24,8	-18,7	-8,6	-2,8	-12,7	-10,8	-3,0
	342,88	-17,9	-10,9	-14,5	-13,7	-11,1	-18,4	-15,1	-16,3	-16,4
400	-12,7	-0,4	-1,2	-14,7	-10,5	-17,5	-14,0	-13,8	-16,4	
Ciproconazol	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	177,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	312	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	451,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	588	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	725,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	862	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Iprodiona	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	117,76	-19,9	-23,6	27,2	-	-	-	-21,2	-26,2	8,2
	231,36	-36,8	-49,0	-4,3	-48,0	-52,3	-27,8	-43,3	-45,4	-21,4
	344,96	-44,3	-54,5	1,9	-47,1	-49,3	-23,0	-37,8	-39,7	-9,0
	458,56	-49,7	-60,0	-37,1	-58,4	-57,4	-48,0	-47,8	-47,2	-35,8
	572,16	-55,0	-49,9	-33,4	-53,8	-53,0	-20,5	-44,2	-42,7	-4,4
	658,76	-54,4	-47,3	-20,3	-55,7	-55,4	-35,8	-44,9	-44,1	-22,9
800	-47,8	-40,2	6,9	-57,8	-57,2	-39,2	-48,6	-47,5	-27,4	

**Tabela A2 (continuação).** Porcentagens de efeito de matriz para os oito agrotóxicos nos extratos de pimentão amarelo, obtidos pelos três métodos de extração e analisados em três temperaturas iniciais da coluna, no dia 0.

		60 °C			100 °C			150 °C		
		Pimentão Amarelo								
	Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	PBT <sup>1</sup>	PIS <sup>2</sup>	DMFS	PBT	PIS	DMFS	PBT	PIS	DMFS
Bifentrina	3	-	-	-	-	-	-	85,4	-	-13,6
	88,32	23,5	19,0	-1,0	-	-	-	27,3	29,2	5,1
	173,52	2,6	-5,4	-17,1	-8,7	-3,3	-11,9	-7,7	-4,5	-15,3
	258,72	10,5	-7,6	-6,2	9,4	15,2	-3,2	6,3	11,2	-1,8
	343,92	1,3	-17,0	-22,1	-7,4	-0,6	-16,7	-9,2	-5,5	-16,1
	429,12	-5,3	-2,9	-16,3	0,2	6,6	12,4	-4,5	-0,5	9,4
	514,32	-4,4	7,6	-11,5	2,2	4,3	-4,6	-4,1	-2,1	-7,8
	600	1,3	12,0	1,6	0,1	3,2	-10,2	-0,9	1,0	-5,2
Azoxistrobina	3	-	-	-	-	-	-	51,6	71,9	-8,0
	88,32	14,2	36,8	8,3	42,1	66,4	29,9	22,6	40,1	17,2
	173,52	18,4	5,1	6,4	13,7	37,2	13,9	9,2	23,4	4,9
	258,72	4,1	-7,0	13,5	31,2	47,1	20,0	24,7	38,3	21,6
	343,92	0,3	-22,0	-15,1	18,0	32,3	9,0	16,0	24,9	9,6
	429,12	-5,5	3,2	-14,6	30,4	43,3	38,9	35,4	41,6	35,2
	514,32	-4,1	7,7	4,0	32,3	37,3	21,1	41,1	42,9	26,5
	600	15,0	24,6	31,8	26,8	31,7	15,2	39,5	41,3	30,0

<sup>1</sup>ESL-PBT

<sup>2</sup>ESL-PIS

**Tabela A3.** Porcentagens de efeito de matriz para os oito agrotóxicos nos extratos de tomate, obtidos pelos três métodos de extração e analisados em três temperaturas iniciais da coluna, no dia 0.

	Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	60 °C			100 °C			150 °C		
		Tomate								
		PBT <sup>1</sup>	PIS <sup>2</sup>	DMFS	PBT	PIS	DMFS	PBT	PIS	DMFS
Clorotalonil	3	-	-	-	-	-	-63,3	-2,3	-	-
	88,32	118,6	-1,7	100,4	96,3	33,1	88,5	80,8	37,9	118,6
	173,52	35,2	-8,0	67,4	32,5	6,4	71,0	37,3	-40,9	35,2
	258,72	20,0	-6,2	60,1	80,7	3,7	65,2	30,2	-21,6	20,0
	343,92	8,4	3,0	41,2	7,0	-3,1	57,9	54,0	2,0	8,4
	429,12	9,9	11,4	36,8	3,3	-8,0	136,7	80,0	-7,4	9,9
	514,32	-4,5	-3,9	25,6	-2,4	2,1	40,4	17,5	-2,6	-4,5
Clorpirifós	600	-4,3	15,9	17,6	2,4	-6,4	29,6	20,8	-6,9	-4,3
	2	169,5	533,8	-24,8	225,4	67,3	-15,6	284,4	85,7	169,5
	58,88	-15,7	4,6	-21,2	-8,9	-1,3	-21,0	4,8	3,7	-15,7
	115,68	-17,9	28,3	-25,0	-15,5	-14,4	-22,9	-13,6	6,0	-17,9
	172,48	-10,9	7,0	-23,9	22,1	-16,7	-21,1	-6,0	-5,4	-10,9
	229,28	-8,9	8,6	-23,6	-9,2	-12,4	-20,8	-17,5	-3,4	-8,9
	286,08	-11,6	10,3	-22,0	-11,5	-20,9	43,6	59,3	-9,1	-11,6
Tiametoxam	342,88	-10,0	-0,1	-23,5	-11,1	-32,8	-20,7	-8,8	-5,8	-10,0
	400	7,4	8,5	-23,2	-4,5	-25,0	-9,3	-0,8	-7,9	7,4
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	147,2	2,5	59,7	25,9	107,8	-24,8	32,8	97,1	57,2	2,5
	289,2	0,5	-1,6	31,1	85,7	8,8	41,6	54,7	62,1	0,5
	431,2	10,1	6,0	29,2	122,0	15,8	40,5	58,2	34,2	10,1
	573,2	19,8	8,6	29,1	71,2	12,8	42,5	40,5	50,4	19,8
Procimidona	715,2	-0,8	-2,9	22,5	49,9	-2,4	116,2	134,7	7,4	-0,8
	857,2	4,0	14,2	32,6	50,5	-15,7	45,0	51,3	27,1	4,0
	1000	0,4	6,0	25,3	56,6	-22,1	41,2	51,5	-1,9	0,4
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	58,88	-44,9	-5,3	-36,3	-8,9	-42,3	-36,4	-28,6	-34,1	-44,9
	115,68	-41,7	-15,5	-37,1	-20,1	-42,8	-36,9	-36,8	-0,5	-41,7
	172,48	-30,6	-3,0	-33,5	-2,3	-34,8	-34,9	-31,5	-10,3	-30,6
Ciproconazol	229,28	-28,4	11,0	-36,1	-29,5	-33,0	-35,0	-34,4	-18,3	-28,4
	286,08	-34,5	0,3	-35,4	-30,1	-33,9	-18,8	-15,4	-18,8	-34,5
	342,88	-27,6	-5,9	-38,6	-33,0	-60,4	-37,5	-31,7	-22,3	-27,6
	400	-16,3	6,2	-37,5	-18,0	-42,4	-26,0	-21,1	-17,0	-16,3
	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	177,2	-40,2	-9,1	-33,3	-28,4	-37,4	-33,5	-15,0	-30,6	-40,2
	312	-37,9	-23,7	-44,8	-37,1	-46,5	-34,2	-31,1	-5,2	-37,9
Iprodiona	451,2	-51,5	-15,8	-49,8	-24,0	-37,3	-39,6	-42,2	-15,3	-51,5
	588	-39,5	-1,7	-49,3	-52,0	-47,8	-38,4	-45,4	-33,3	-39,5
	725,2	-47,0	-2,1	-56,5	-58,7	-39,5	-34,2	-41,4	-23,9	-47,0
	862	-57,4	-20,7	-59,8	-61,6	-65,6	-56,7	-59,3	-44,8	-57,4
	1000	-53,8	6,3	-58,6	-58,4	-31,2	-45,6	-47,1	-22,7	-53,8
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	117,76	-50,2	-25,5	-24,4	-31,9	78,9	-11,9	4,4	63,0	-50,2
Iprodiona	231,36	-50,4	-47,4	-18,5	-31,1	52,4	2,8	9,4	42,7	-50,4
	344,96	-47,2	-17,3	-16,7	-32,9	61,6	6,8	8,4	63,1	-47,2
	458,56	-41,9	-19,6	-20,3	-25,9	36,6	2,7	-3,2	37,5	-41,9
	572,16	-41,6	-23,9	-21,3	-28,6	24,3	75,1	77,5	33,4	-41,6
	658,76	-36,5	-45,2	-20,9	-17,8	109,2	3,3	13,0	45,4	-36,5
	800	-19,7	-19,5	-22,8	-14,4	56,3	7,4	13,9	25,4	-19,7

**Tabela A3 (continuação).** Porcentagens de efeito de matriz para os oito agrotóxicos nos extratos de tomate, obtidos pelos três métodos de extração e analisados em três temperaturas iniciais da coluna, no dia 0.

	Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	60 °C			100 °C			150 °C		
		Tomate								
		PBT <sup>1</sup>	PIS <sup>2</sup>	DMFS	PBT	PIS	DMFS	PBT	PIS	DMFS
Bifentrina	3	-	27,6	-	-	-	-	-	-	-
	88,32	-17,9	-1,9	-18,7	43,9	-29,7	-12,4	98,0	-23,9	-17,9
	173,52	-15,5	-6,0	-25,2	19,4	-35,2	-21,9	20,9	-0,4	-15,5
	258,72	-5,5	8,4	-25,8	-5,4	-28,4	-21,8	8,7	-9,6	-5,5
	343,92	-10,8	11,4	-28,4	5,2	-26,8	-25,0	-21,8	-16,3	-10,8
	429,12	-23,6	11,1	-27,4	-1,2	-29,1	13,1	43,2	-15,0	-23,6
	514,32	-16,8	7,7	-30,9	-7,1	-53,2	-28,6	-8,8	-18,3	-16,8
	600	-3,8	16,0	-30,7	-2,8	-36,8	-10,9	2,0	-14,0	-3,8
Azoxistrobina	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	88,32	31,2	-4,9	8,3	62,4	73,8	21,6	128,1	48,0	31,2
	173,52	19,5	-10,0	4,4	52,3	30,5	24,5	85,9	0,8	19,5
	258,72	32,6	9,5	11,5	56,1	33,5	35,0	102,0	24,5	32,6
	343,92	53,7	10,9	14,4	80,2	25,5	31,5	61,9	19,5	53,7
	429,12	59,3	2,4	13,0	72,7	17,8	93,9	184,3	19,2	59,3
	514,32	66,3	7,2	20,1	83,3	130,8	47,6	120,8	27,4	66,3
	600	39,3	11,2	10,4	84,8	34,4	70,9	112,6	12,9	39,3

<sup>1</sup>ESL-PBT

<sup>2</sup>ESL-PIS

**Tabela A4.** Porcentagens de efeito de matriz para os oito agrotóxicos nos extratos de pimentão vermelho, obtidos pelos três métodos de extração e analisados na temperatura inicial da coluna de 150 °C, nos dias 20, 40 e 60.

	Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	20 dias			40 dias			60 dias		
		Pimentão Vermelho								
		PBT <sup>1</sup>	PIS <sup>2</sup>	DMFS	PBT	PIS	DMFS	PBT	PIS	DMFS
Clorotalonil	88,32	109,2	116,4	124,4	15,4	13,3	8,2	30,4	47,5	47,4
	258,72	50,4	20,4	56,3	10,2	4,7	4,6	22,2	8,5	30,2
	429,12	24,1	23,0	29,0	4,1	6,4	-3,9	11,9	14,9	14,2
	600	18,2	14,0	27,2	1,1	-1,5	-3,6	3,7	2,5	3,7
Clorpirifós	58,88	35,7	-	-4,9	29,7	-	-10,5	17,5	-	-21,1
	172,48	-11,6	-2,2	-6,5	-0,5	4,2	4,9	-4,7	4,2	5,5
	286,08	-12,2	-6,1	-15,4	6,3	17,1	-0,1	3,0	8,9	-3,3
	400	-7,2	-8,9	-7,1	3,2	3,1	0,0	1,6	-2,5	-4,4
Tiametoxam	147,2	186,3	171,0	208,4	7,4	-1,9	3,1	32,0	-6,8	9,5
	431,2	248,6	233,2	324,0	34,0	35,7	41,2	87,1	101,0	123,8
	715,2	117,6	93,3	114,1	12,5	16,7	1,7	112,9	88,8	57,7
	1000	111,9	109,1	122,3	2,5	-0,7	-3,8	76,6	72,1	64,2
Procimidona	58,88	-40,7	-35,8	-33,9	-20,9	-19,8	-12,5	-11,3	-18,9	-19,4
	172,48	-31,6	-30,7	-30,7	-12,7	-13,1	-9,3	-14,7	-17,9	-13,1
	286,08	-31,7	-25,7	-29,2	-12,0	-4,6	-8,8	-3,1	-14,7	-10,6
	400	-25,5	-21,4	-22,8	-10,1	-7,5	-8,7	-6,1	-12,1	-13,2
Ciproconazol	177,2	-20,8	-25,6	-35,9	-3,0	-8,2	-13,2	-9,7	-23,1	-26,6
	451,2	-35,5	-39,5	-45,7	-38,0	-37,6	-34,9	-26,8	-38,2	-35,5
	725,2	-39,8	-31,7	-34,6	-25,1	-30,9	-12,4	-23,3	-37,6	-23,9
	1000	-32,2	-39,4	-29,5	-22,7	-23,3	-13,2	-24,2	-28,9	-22,4
Iprodiona	117,76	146,4	159,9	161,5	-51,6	-48,5	-31,3	22,6	-20,2	13,6
	344,96	105,3	98,2	101,8	-48,2	-48,7	-38,2	-16,7	-40,7	-10,5
	572,16	44,7	45,8	49,1	-47,8	-41,0	-21,8	-29,1	-42,8	-19,4
	800	40,3	41,7	47,5	-49,7	-40,3	-21,7	-28,9	-42,6	-29,9
Bifentrina	88,32	-9,2	-12,7	-26,5	4,6	-0,7	-0,2	2,2	-1,7	-10,4
	258,72	-17,0	-17,0	-28,5	3,9	3,1	-0,7	-3,0	-4,9	-6,6
	429,12	-19,6	-19,7	-26,5	6,3	8,8	1,9	1,5	1,8	-4,9
	600	-15,2	-14,9	-19,9	7,4	4,4	-0,2	-1,8	-1,8	-6,2
Azoxistrobina	88,32	134,5	149,9	124,9	21,2	20,3	9,9	32,7	34,3	26,5
	258,72	98,9	96,3	81,9	37,2	34,4	18,7	48,0	46,5	47,1
	429,12	46,9	49,6	38,0	35,6	36,8	15,0	46,9	52,3	32,9
	600	51,2	53,1	40,2	30,3	26,3	10,6	31,8	33,4	20,3

<sup>1</sup>ESL-PBT

<sup>2</sup>ESL-PIS

**Tabela A5.** Porcentagens de efeito de matriz para os oito agrotóxicos nos extratos de pimentão amarelo, obtidos pelos três métodos de extração e analisados na temperatura inicial da coluna de 150 °C, nos dias 20, 40 e 60.

	Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	20 dias			40 dias			60 dias		
		Pimentão Amarelo								
		PBT <sup>1</sup>	PIS <sup>2</sup>	DMFS	PBT	PIS	DMFS	PBT	PIS	DMFS
Clorotalonil	88,32	-	-	-	24,6	29,7	-89,2	112,8	146,0	-83,6
	258,72	64,9	72,7	-87,7	16,2	19,2	-90,3	73,5	85,8	-88,1
	429,12	39,0	42,4	-87,9	4,6	6,3	-91,1	54,3	61,5	-87,5
	600	21,4	25,0	-88,8	-0,1	2,4	-89,8	35,9	39,0	-88,4
Clorpirifós	58,88	11,9	31,5	19,1	21,4	42,9	39,0	10,6	28,6	43,7
	172,48	2,1	2,4	-15,5	12,5	11,5	-9,3	-6,9	-7,3	-11,6
	286,08	-3,2	8,0	8,1	1,8	15,2	6,6	-13,4	-1,7	0,0
	400	-1,9	-0,7	-9,5	3,2	3,0	-7,8	-11,2	-10,8	-17,0
Tiametoxam	147,2	-	-	-	90,5	98,1	28,7	123,9	166,0	93,4
	431,2	87,6	98,9	35,3	49,1	44,2	-4,4	87,9	98,7	47,4
	715,2	55,3	64,2	24,9	24,1	30,1	-18,4	65,2	79,5	22,7
	1000	31,8	34,6	3,0	10,1	9,4	-21,1	43,6	48,4	8,0
Procimidona	58,88	-21,5	-24,6	-28,6	3,7	-14,3	-13,6	-28,7	-25,0	-33,6
	172,48	-16,8	-21,2	-35,0	10,9	5,3	-13,6	-14,4	-22,6	-25,8
	286,08	-16,8	-15,4	-28,2	-1,7	-2,0	-25,8	-28,6	-28,3	-43,3
	400	-19,3	-20,9	-25,7	-4,8	-13,7	-12,8	-28,0	-25,3	-31,1
Ciproconazol	177,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	451,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	725,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Iprodiona	117,76	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	344,96	-5,4	-23,1	-10,5	-41,9	-44,5	-30,8	-5,2	-14,4	-13,6
	572,16	-27,9	-37,8	-31,7	-47,2	-48,4	-45,2	-9,2	-14,7	-19,1
	800	-39,3	-46,0	-35,0	-51,3	-48,4	-37,3	-25,1	-22,6	-20,5
Bifentrina	88,32	4,7	14,5	-30,8	36,7	40,1	-16,9	3,7	19,8	-34,1
	258,72	-2,1	5,2	-30,3	21,4	26,8	-15,1	-6,9	5,2	-32,0
	429,12	-6,6	1,0	-29,0	7,1	12,0	-28,5	-20,4	-12,0	-42,9
	600	-5,8	0,3	-25,8	6,3	11,9	-17,7	-17,6	-8,6	-34,6
Azoxistrobina	88,32	-	-	-	40,2	58,6	15,8	0,1	113,3	80,5
	258,72	102,3	123,5	78,0	236,6	49,9	11,8	48,2	67,9	34,2
	429,12	61,2	75,7	49,4	27,3	36,4	-0,6	69,8	87,5	54,4
	600	42,0	52,4	36,3	23,5	30,5	12,2	46,0	58,5	45,3

<sup>1</sup>ESL-PBT

<sup>2</sup>ESL-PIS

**Tabela A6.** Porcentagens de efeito de matriz para os oito agrotóxicos nos extratos de tomate, obtidos pelos três métodos de extração e analisados na temperatura inicial da coluna de 150 °C, nos dias 20, 40 e 60.

	Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	20 dias			40 dias			60 dias		
		Tomate								
		PBT <sup>1</sup>	PIS <sup>2</sup>	DMFS	PBT	PIS	DMFS	PBT	PIS	DMFS
Clorotalonil	88,32	46,9	-10,1	38,0	137,8	-6,8	115,6	31,5	28,6	-3,5
	258,72	27,6	-20,5	13,2	67,8	-35,1	22,6	20,2	-2,1	-1,7
	429,12	17,2	-26,4	5,3	48,7	-34,3	-3,6	19,8	-4,8	3,3
	600	13,0	-16,3	-12,4	34,4	-16,9	-6,5	12,2	8,3	0,2
Clorpirifós	58,88	-16,1	11,3	3,7	-19,5	31,4	-32,2	-14,7	2,8	-13,2
	172,48	-10,7	10,8	-11,6	-13,7	36,0	-31,4	3,9	-0,3	7,4
	286,08	-12,5	3,2	-11,7	-18,0	17,9	-15,0	6,1	-1,3	4,7
	400	-9,0	15,9	-22,9	-12,0	20,6	-19,7	5,9	9,7	3,7
Tiametoxam	147,2	68,6	114,6	23,9	67,5	189,6	21,4	7,8	50,8	5,6
	431,2	110,2	127,2	28,7	169,0	271,4	21,0	48,4	56,1	15,3
	715,2	44,4	42,4	7,5	58,1	98,9	11,8	16,4	20,8	5,3
	1000	45,9	59,1	-16,9	64,9	106,8	1,1	8,3	24,9	1,2
Procimidona	58,88	-26,7	-16,7	-29,5	-33,3	-5,5	-53,4	-11,7	4,4	-14,8
	172,48	-25,7	-14,7	-22,0	-31,2	12,5	-48,7	-8,5	-21,3	-4,1
	286,08	-21,6	-10,5	-18,8	-27,2	9,9	-25,2	-3,9	-16,6	-1,8
	400	-20,5	6,2	-33,1	-22,7	13,1	-28,2	-4,3	-5,8	-3,2
Ciproconazol	177,2	-22,3	13,5	-	-24,4	37,2	-0,7	-1,1	-16,5	113,5
	451,2	-35,8	-20,2	-38,4	-37,7	13,8	-45,6	-32,6	-42,5	-12,6
	725,2	-31,5	-25,1	-26,6	-30,3	-1,0	-20,9	-11,2	-35,9	-10,8
	1000	-32,3	-19,7	-34,1	-27,8	-6,3	-14,8	-13,5	-27,1	3,0
Iprodiona	117,76	-4,6	23,2	95,8	171,7	169,1	75,8	-49,4	-61,4	-48,3
	344,96	3,8	31,5	43,3	118,7	130,4	-24,6	-48,8	-58,6	-38,1
	572,16	0,4	22,9	26,1	62,8	78,7	-23,4	-41,9	-49,4	-24,2
	800	5,2	39,5	8,4	56,1	74,9	-30,9	-43,6	-41,8	-13,6
Bifentrina	88,32	-16,4	62,5	-16,5	-25,8	72,4	-43,8	-0,4	-0,2	-1,0
	258,72	-14,1	22,0	-20,8	-23,8	49,8	-41,3	0,0	10,0	1,8
	429,12	-9,8	20,0	-18,8	-18,6	42,5	-21,1	9,6	8,8	1,0
	600	-10,9	29,0	-28,1	-16,3	32,7	-24,1	4,5	16,8	-14,9
Azoxistrobina	88,32	14,9	68,9	34,7	100,7	266,5	26,9	7,3	27,2	-7,3
	258,72	20,9	67,9	36,7	69,9	198,8	-2,6	19,5	45,4	2,6
	429,12	19,5	66,4	23,7	33,1	134,6	8,3	25,0	45,4	7,1
	600	16,3	76,7	-6,8	30,2	131,7	-6,0	20,2	61,5	4,7

<sup>1</sup>ESL-PBT<sup>2</sup>ESL-PIS

## APÊNDICE B

**Tabela B1.** Valores de porcentagem de efeito de matriz utilizados no planejamento, para o clorotalonil, bifentrina e azoxistrobina, nos extratos de pimentão vermelho, obtidos pelas três técnicas de extração e analisados em três temperaturas iniciais da coluna.

		PIMENTÃO VERMELHO									
		Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	60 °C			100 °C			150 °C		
			PBT <sup>1</sup>	PIS <sup>2</sup>	DMFS	PBT	PIS	DMFS	PBT	PIS	DMFS
1ª leitura	Clorotalonil	258,72	24,42	7,80	28,88	12,48	-10,04	8,78	17,20	5,62	14,69
		429,12	311,80	323,19	318,78	-2,17	2,12	9,14	4,28	1,64	3,75
		600	-0,05	-4,04	-2,75	0,49	-3,67	13,81	6,99	0,02	9,00
	Bifentrina	258,72	-18,71	-31,02	-26,41	-6,33	-12,76	-12,17	-9,49	-8,96	-16,12
		429,12	-35,71	-31,43	-33,81	-12,89	-9,24	-12,29	-12,43	-12,81	-17,63
		600	-45,31	-43,44	-41,51	-5,95	-8,97	-5,52	-7,35	-14,20	-12,59
	Azoxistrobina	258,72	32,63	21,78	41,90	17,29	13,83	22,05	15,64	23,07	22,01
		429,12	3,75	7,35	13,22	11,58	22,69	23,29	17,99	24,77	21,94
		600	8,21	7,18	23,44	15,34	19,57	24,64	23,36	23,09	26,18
2ª leitura	Clorotalonil	258,72	33,29	9,32	26,66	11,92	-10,74	9,70	15,50	3,78	13,93
		429,12	11,07	17,44	11,55	-3,41	3,55	8,58	1,94	1,25	2,35
		600	-3,51	-12,75	-18,75	-0,47	-3,86	14,08	4,01	-2,14	7,06
	Bifentrina	258,72	-26,67	-28,31	-24,96	-9,24	-11,87	-14,78	-11,19	-10,48	-17,66
		429,12	-30,00	-22,02	-27,93	-12,61	-8,51	-12,71	-12,60	-12,92	-17,40
		600	-35,60	-26,28	-55,31	-7,94	-11,47	-6,14	-11,73	-19,03	-14,99
	Azoxistrobina	258,72	35,71	31,60	48,45	15,22	13,75	22,01	17,07	24,08	23,90
		429,12	7,82	21,86	20,62	11,69	25,54	23,47	11,12	19,01	16,88
		600	26,32	38,74	-15,71	14,84	18,13	24,95	20,91	20,55	23,07

<sup>1</sup>ESL-PBT <sup>2</sup>ESL-PIS

**Tabela B2.** Valores de porcentagem de efeito de matriz utilizados no planejamento, para o clorotalonil, bifentrina e azoxistrobina, nos extratos de pimentão amarelo, obtidos pelas três técnicas de extração e analisados em três temperaturas iniciais da coluna.

		PIMENTÃO AMARELO									
		60 °C			100 °C			150 °C			
		Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	PBT <sup>1</sup>	PIS <sup>2</sup>	DMFS	PBT	PIS	DMFS	PBT	PIS	DMFS
1ª leitura	Clorotalonil	258,72	6,15	2,93	13,84	21,06	26,22	11,99	24,65	29,20	19,60
		429,12	-12,34	-7,01	-26,78	7,11	10,90	-2,04	11,72	15,27	4,05
		600	-2,93	-56,61	4,14	-0,61	2,42	-9,48	5,10	6,10	-3,00
	Bifentrina	258,72	9,19	-0,64	-6,41	10,40	16,26	-2,47	6,11	11,25	-1,70
		429,12	-7,45	11,31	-24,49	-0,46	5,92	12,27	-5,40	-1,80	8,43
		600	16,87	32,02	8,23	-1,48	2,49	-11,84	-3,85	-2,33	-7,62
	Azoxistrobina	258,72	1,53	2,88	8,40	31,27	49,84	20,95	22,36	37,34	21,68
		429,12	-9,34	26,44	-21,49	27,85	41,34	36,29	33,79	40,33	32,81
		600	43,73	57,78	47,05	23,94	30,24	12,51	36,03	38,24	27,22
2ª leitura	Clorotalonil	258,72	1,75	-13,09	-4,02	18,97	22,44	10,06	22,29	27,46	19,19
		429,12	-11,09	-23,21	-12,54	7,05	11,06	-3,92	13,64	17,04	3,10
		600	-12,53	-5,70	1,53	0,03	3,39	-6,73	9,08	10,73	2,20
	Bifentrina	258,72	11,91	-14,69	-5,93	8,33	14,19	-3,95	6,40	11,14	-1,97
		429,12	-3,10	-17,80	-7,81	0,85	7,32	12,57	-3,55	0,92	10,43
		600	-12,13	-5,30	-4,13	1,60	4,00	-8,64	2,32	4,60	-2,65
	Azoxistrobina	258,72	6,65	-17,05	18,60	31,17	44,37	19,16	26,96	39,24	21,56
		429,12	-1,36	-21,79	-7,20	32,99	45,32	41,58	36,94	42,92	37,60
		600	-8,90	-3,08	19,09	29,63	33,27	17,90	43,13	44,57	32,99

<sup>1</sup>ESL-PBT <sup>2</sup>ESL-PIS

**Tabela B3.** Valores de porcentagem de efeito de matriz utilizados no planejamento, para o clorotalonil, bifentrina e azoxistrobina, nos extratos de tomate, obtidos pelas três técnicas de extração e analisados em três temperaturas iniciais da coluna.

		TOMATE									
		Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	60 °C			100 °C			150 °C		
			PBT <sup>1</sup>	PIS <sup>2</sup>	DMFS	PBT	PIS	DMFS	PBT	PIS	DMFS
1ª leitura	Clorotalonil	258,72	32,32	25,13	-8,09	57,66	143,37	3,67	65,29	35,96	-23,48
		429,12	25,98	18,72	7,14	36,71	4,93	-6,81	51,19	12,97	-3,98
		600	2,47	-6,86	19,04	16,34	0,72	-3,70	39,71	22,03	-6,11
	Bifentrina	258,72	-18,77	-6,81	11,10	-25,54	-21,20	-27,20	-20,89	10,11	-8,03
		429,12	-33,50	-21,82	4,76	-27,96	-1,52	-28,58	-25,62	-4,92	-14,04
		600	-29,72	-5,51	22,73	-32,46	-6,44	-38,21	-24,87	0,64	-13,54
	Azoxistrobina	258,72	12,97	28,29	11,29	9,02	44,12	33,65	31,92	97,07	20,31
		429,12	16,33	65,69	0,81	12,59	71,51	19,78	37,23	100,01	18,91
		600	17,87	50,62	22,13	8,31	78,76	37,79	31,88	115,84	13,46
2ª leitura	Clorotalonil	258,72	23,52	15,15	-4,22	62,61	16,89	3,82	65,06	24,62	-19,78
		429,12	17,33	2,03	16,07	36,95	1,72	-9,09	438,47	316,47	-10,71
		600	10,37	-1,50	12,87	18,85	4,12	-8,97	19,67	19,67	-7,75
	Bifentrina	258,72	-21,49	-4,14	5,72	-26,11	10,17	-29,57	-22,79	7,28	-11,12
		429,12	-31,54	-25,34	18,32	-26,81	-0,88	-29,66	137,16	197,36	-16,03
		600	-13,51	-1,77	9,74	-28,94	0,99	-35,31	3,33	3,33	-14,44
	Azoxistrobina	258,72	6,78	37,02	7,59	13,95	68,30	33,29	38,14	107,21	28,80
		429,12	12,24	53,51	4,11	13,44	73,86	15,83	232,95	391,35	19,56
		600	17,64	28,54	1,26	12,67	91,13	31,21	109,35	109,35	12,39

<sup>1</sup>ESL-PBT <sup>2</sup>ESL-PIS

**Tabela B4.** Valores de porcentagem de efeito de matriz utilizados na no planejamento, para o tiametoxam, nos extratos de pimentão vermelho, pimentão amarelo e tomate, obtidos pelas três técnicas de extração e analisados em três temperaturas iniciais da coluna.

		<b>PIM. VERMELHO</b>										
		<b>Concentração (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>60 °C</b>	<b>100 °C</b>			<b>150 °C</b>					
		<b>PBT<sup>1</sup></b>	<b>PIS<sup>2</sup></b>	<b>DMFS</b>	<b>PBT</b>	<b>PIS</b>	<b>DMFS</b>	<b>PBT</b>	<b>PIS</b>	<b>DMFS</b>		
2ª leitura	1ª leitura	Tiametoxam	431,2	23,82	29,97	47,19	62,17	69,47	93,56	71,26	80,65	107,13
			715,2	-1,23	-95,98	-3,70	33,13	30,63	38,89	30,85	27,40	28,34
			1000	-22,30	-22,05	-13,27	29,01	24,34	29,94	30,51	36,20	38,31
	2ª leitura	Tiametoxam	431,2	52,08	57,91	103,63	65,30	68,18	97,60	75,91	84,72	103,00
			715,2	-3,50	0,37	1,34	36,69	44,79	38,45	25,89	22,56	21,41
			1000	0,82	16,78	-35,67	36,53	26,03	31,53	26,58	30,62	34,04
		<b>PIM. AMARELO</b>										
2ª leitura	1ª leitura	Tiametoxam	431,2	-15,89	-16,35	-8,65	113,51	122,69	85,41	116,65	154,22	116,75
			715,2	-25,00	11,93	-43,81	70,83	88,45	31,36	97,59	104,27	36,83
			1000	17,18	22,49	17,25	23,03	28,39	4,41	65,19	70,72	51,15
	2ª leitura	Tiametoxam	431,2	5,53	-20,17	18,51	106,89	116,20	78,03	134,81	172,70	132,82
			715,2	-21,23	-39,24	-45,22	86,52	101,10	40,93	116,32	128,80	52,57
			1000	-31,95	-25,29	-10,56	39,15	46,03	20,77	76,03	82,10	63,10
		<b>TOMATE</b>										
2ª leitura	1ª leitura	Tiametoxam	431,2	4,76	5,31	8,23	30,57	181,64	14,38	38,72	60,09	27,26
			715,2	-10,08	0,84	-4,50	20,82	50,12	-1,84	40,46	51,19	11,06
			1000	3,33	6,74	17,31	23,09	53,72	-21,25	32,41	53,03	-1,74
	2ª leitura	Tiametoxam	431,2	3,02	15,15	3,74	27,86	65,02	17,27	42,31	56,23	41,88
			715,2	-8,16	-2,33	-1,15	24,25	49,60	-2,90	374,75	419,90	3,74
			1000	4,52	-5,75	-4,54	27,60	59,53	-22,87	50,05	50,05	-2,15

**Tabela B5.** Valores de porcentagem de efeito de matriz utilizados no planejamento, para a iprodiona, nos extratos de pimentão vermelho, pimentão amarelo e tomate, obtidos pelas três técnicas de extração e analisados em três temperaturas iniciais da coluna.

		<b>PIM. VERMELHO</b>										
		<b>Concentração (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>60 °C</b>	<b>100 °C</b>			<b>150 °C</b>					
		<b>PBT<sup>1</sup></b>	<b>PIS<sup>2</sup></b>	<b>DMFS</b>	<b>PBT</b>	<b>PIS</b>	<b>DMFS</b>	<b>PBT</b>	<b>PIS</b>	<b>DMFS</b>		
2ª leitura	1ª leitura	Iprodiona	344,96	5,58	-10,35	15,41	-0,93	-11,74	0,62	9,26	-7,16	15,38
			572,16	-17,29	-7,68	-0,03	-14,42	-6,30	-5,52	-0,96	-1,90	4,40
			800	-14,73	-9,29	16,11	-8,30	-6,43	14,57	5,25	5,05	10,27
	2ª leitura	Iprodiona	344,96	8,65	-1,93	25,45	5,72	-8,60	0,03	13,41	-4,96	19,07
			572,16	-24,01	-9,80	-8,10	-15,14	-6,00	-5,51	-2,58	-4,08	1,10
			800	-9,50	12,90	-27,83	-7,95	-6,87	13,15	0,62	-1,16	6,97
		<b>PIM. AMARELO</b>										
2ª leitura	1ª leitura	Iprodiona	344,96	-48,61	-52,33	-9,00	-46,59	-49,43	-22,49	-35,92	-39,36	-7,41
			572,16	-53,38	-37,20	-31,10	-52,86	-52,29	-19,37	-45,18	-43,56	-7,13
			800	-35,67	-24,96	22,79	-57,60	-56,43	-38,91	-49,59	-48,92	-29,02
	2ª leitura	Iprodiona	344,96	-39,47	-56,91	14,20	-47,69	-49,10	-23,41	-39,63	-40,09	-10,48
			572,16	-56,59	-62,06	-35,65	-54,62	-53,72	-21,52	-43,27	-41,73	-1,62
			800	-57,51	-52,41	-5,84	-58,07	-57,86	-39,45	-47,63	-46,03	-25,61
		<b>TOMATE</b>										
2ª leitura	1ª leitura	Iprodiona	344,96	-21,93	-47,67	-8,48	-15,98	-37,07	56,99	5,79	7,78	54,72
			572,16	-16,99	-40,46	-25,67	-21,25	-28,55	22,21	-2,65	0,21	30,19
			800	-23,09	-11,01	-17,98	-24,75	-17,20	58,28	-5,27	7,20	26,72
	2ª leitura	Iprodiona	344,96	-19,59	-46,63	-25,28	-17,40	-28,69	66,63	7,83	9,06	72,17
			572,16	-22,97	-42,65	-22,03	-21,40	-28,65	26,46	832,00	829,58	36,61
			800	-19,80	-28,50	-20,86	-20,78	-11,37	54,45	21,37	21,37	24,14

<sup>1</sup>ESL-PBT <sup>2</sup>ESL-PIS

**Tabela B6.** Valores de porcentagem de efeito de matriz utilizados no planejamento, para o clorpirifós e procimidona nos extratos de pimentão vermelho obtidos pelas três técnicas de extração e analisados em três temperaturas iniciais da coluna.

		PIMENTÃO VERMELHO									
		60 °C			100 °C			150 °C			
		Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	PBT <sup>1</sup>	PIS <sup>2</sup>	DMFS	PBT	PIS	DMFS	PBT	PIS	DMFS
1 <sup>a</sup> leitura	Clorpirifós	58,88	30,83	-8,47	-8,47	33,46	126,06	2,96	35,42	400,04	-1,50
		172,48	-7,38	-5,00	3,16	-6,60	-5,72	2,19	-9,87	-1,26	-2,24
		400	-15,07	-16,96	-14,68	-3,79	-6,03	2,34	-3,47	-7,41	-3,48
	Procimidona	58,88	-48,75	-51,96	-51,96	-24,59	-23,58	-14,35	-27,27	-27,19	-26,68
		172,48	-30,78	-38,34	-28,52	-20,15	-17,62	-7,53	-22,22	-21,57	-20,43
		400	-41,97	-44,64	-40,14	-16,79	-17,28	-7,65	-18,29	-16,30	-16,16
2 <sup>a</sup> leitura	Clorpirifós	58,88	24,10	-8,40	-5,87	35,06	198,77	-1,47	36,84	403,66	-0,63
		172,48	-6,17	-4,46	2,37	-8,75	-7,62	-0,06	-10,69	-1,58	-3,32
		400	-5,62	-7,36	-27,86	-3,90	-5,39	2,98	-6,79	-10,54	-5,56
	Procimidona	58,88	-40,42	-43,33	-38,77	-25,30	-23,49	-15,82	-29,01	-28,31	-27,43
		172,48	-34,70	-39,45	-29,49	-21,76	-20,40	-8,64	-24,70	-26,27	-20,47
		400	-32,66	-32,46	-50,38	-13,34	-14,45	-9,55	-21,80	-98,39	-17,75

<sup>1</sup>ESL-PBT <sup>2</sup>ESL-PIS

**Tabela B7.** Valores de porcentagem de efeito de matriz utilizados no planejamento, para o clorpirifós e procimidona, nos extratos de pimentão amarelo obtidos pelas três técnicas de extração e analisados em três temperaturas iniciais da coluna.

		PIMENTÃO AMARELO									
		60 °C			100 °C			150 °C			
		Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	PBT <sup>1</sup>	PIS <sup>2</sup>	DMFS	PBT	PIS	DMFS	PBT	PIS	DMFS
1 <sup>a</sup> leitura	Clorpirifós	58,88	21,99	16,94	17,92	8,99	6,48	22,87	8,53	27,54	22,31
		172,48	7,45	-2,02	9,90	5,39	2,69	8,65	2,17	3,47	13,41
		400	2,34	17,55	8,69	-2,24	-0,32	-7,45	-6,17	-6,45	-2,45
	Procimidona	58,88	10,11	-1,95	-12,46	1,58	-9,99	-1,97	-10,96	-7,06	-6,17
		172,48	-13,39	-20,82	-12,84	-19,54	-8,76	-21,86	15,06	8,17	1,36
		400	-2,42	11,00	5,05	-16,25	-12,17	-20,23	-18,72	-19,36	-22,16
2 <sup>a</sup> leitura	Clorpirifós	58,88	12,99	11,55	13,43	9,31	7,61	23,81	9,84	30,00	23,67
		172,48	4,37	-17,54	11,51	3,35	-0,12	7,61	0,99	2,39	12,05
		400	-6,13	3,92	9,70	-0,03	-0,47	-5,15	-1,08	-1,05	2,74
	Procimidona	58,88	-6,12	-2,12	-10,32	-2,23	-12,63	-6,14	-11,31	-6,42	-5,83
		172,48	-8,49	-26,28	-2,23	-9,59	-2,70	-11,94	15,37	8,13	1,06
		400	-21,77	-10,36	-6,75	-13,04	-8,68	-14,66	-8,71	-7,47	-9,89

<sup>1</sup>ESL-PBT

<sup>2</sup>ESL-PIS

**Tabela B8.** Valores de porcentagem de efeito de matriz utilizados no planejamento, para o clorpirifós e procimidona, nos extratos de tomate obtidos pelas três técnicas de extração e analisados em três temperaturas iniciais da coluna.

		TOMATE									
		Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	60 °C			100 °C			150 °C		
			PBT <sup>1</sup>	PIS <sup>2</sup>	DMFS	PBT	PIS	DMFS	PBT	PIS	DMFS
1 <sup>a</sup> leitura	Clorpirifós	58,88	-17,79	-13,37	4,65	-21,20	-12,08	-1,93	-20,84	6,21	2,84
		172,48	-18,05	-10,21	6,42	-24,18	57,73	-16,64	-20,57	-6,30	-4,77
		400	-16,52	8,40	10,90	-24,76	-7,89	-25,80	-18,59	-1,71	-8,03
	Procimidona	58,88	-41,82	-43,47	-4,95	-35,63	-14,28	-42,15	-35,55	-30,08	-34,20
		172,48	-32,33	-30,64	-2,88	-33,04	27,75	-34,01	-34,52	-31,27	-7,96
		400	-37,61	-17,85	8,37	-40,42	-22,09	-43,81	-32,41	-22,58	-16,90
2 <sup>a</sup> leitura	Clorpirifós	58,88	-25,08	-17,91	4,51	-21,25	-5,64	-0,63	-21,23	3,31	4,61
		172,48	-17,75	-11,57	7,51	-23,58	-13,30	-16,69	-21,64	-5,67	-6,06
		400	-8,55	6,29	6,19	-21,51	-1,02	-24,18	0,10	0,10	-7,79
	Procimidona	58,88	-48,40	-46,38	-5,63	-36,91	-3,58	-42,43	-37,19	-27,07	-34,10
		172,48	-34,77	-30,57	-3,18	-33,91	-31,53	-35,59	-35,22	-31,74	-12,59
		400	-25,43	-14,46	4,04	-34,28	-13,56	-41,00	-19,48	-19,48	-17,15

<sup>1</sup>ESL-PBT

<sup>2</sup>ESL-PIS

## APÊNDICE C

Nas tabelas a seguir, o número 1 representa as soluções originais, armazenadas e lidas no 20°, 40° e 60° dia. O número 2 representa as soluções preparadas no 20°, 40° e 60°, para fins de comparação.

**Tabela C1.** Valores de área do analito/área do padrão interno de agrotóxicos, nos extratos de pimentão vermelho, pimentão amarelo e tomate, obtidos pelas três técnicas de extração, após 20 dias de armazenamento.

		20 dias																	
		Pimentão vermelho						Pimentão amarelo						Tomate					
	Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	PBT <sup>1</sup> 1	PBT 2	PIS <sup>2</sup> 1	PIS 2	DMFS 1	DMFS 2	PBT 1	PBT 2	PIS 1	PIS 2	DMFS 1	DMFS 2	PBT 1	PBT 2	PIS 1	PIS 2	DMFS 1	DMFS 2
Clorotalonil	88,32	0,721	0,663	0,664	0,686	0,754	0,711	0,134	1,428	0,144	1,586	1,367	0,104	1,293	1,185	0,695	0,725	0,796	0,708
	258,72	2,360	2,480	2,323	1,984	2,641	2,578	0,384	4,085	0,385	4,279	3,810	0,305	3,608	3,668	2,109	2,284	2,877	2,772
	429,12	4,292	4,175	4,133	4,138	4,604	4,339	0,634	6,563	0,667	6,722	5,498	0,570	6,003	6,097	3,793	3,830	5,455	5,158
	600	6,239	5,995	6,006	5,781	6,561	6,450	0,928	8,549	0,909	8,796	7,222	0,786	8,397	8,046	5,679	5,958	8,439	6,218
Clorpirifós	58,88	0,552	0,876	0,625	0,753	0,588	0,614	1,068	0,551	1,098	0,647	0,626	0,586	0,745	0,519	0,644	0,688	0,743	0,784
	172,48	1,229	1,336	1,298	1,479	1,273	1,414	1,058	1,276	1,035	1,280	1,411	1,056	1,324	1,294	1,720	1,604	1,540	1,611
	286,08	1,886	2,108	1,946	2,256	1,884	2,033	1,590	1,798	2,227	2,006	2,082	2,010	2,026	1,972	2,520	2,324	2,385	2,407
	400	2,507	2,659	2,710	2,609	2,550	2,660	2,468	2,320	2,324	2,348	2,390	2,139	2,713	2,534	4,626	3,227	3,223	2,534
Tiametoxam	147,2	0,483	0,553	0,453	0,524	0,470	0,596	0,713	0,767	0,712	0,820	0,897	0,595	0,783	0,583	0,773	0,742	0,492	0,596
	431,2	1,291	1,467	1,256	1,402	1,331	1,785	1,514	2,080	1,524	2,206	2,199	1,501	1,809	1,808	2,077	1,955	1,582	1,733
	715,2	2,214	2,345	2,119	2,083	2,126	2,306	2,497	3,444	2,664	3,641	2,668	2,770	2,958	2,805	3,024	2,765	2,610	2,912
	1000	3,134	3,069	2,912	3,029	3,052	3,221	3,515	4,454	3,650	4,549	4,219	3,483	4,241	3,697	4,125	4,030	3,843	2,896
Procimidona	58,88	0,215	0,209	0,216	0,227	0,211	0,233	0,192	0,195	0,164	0,187	0,202	0,177	0,207	0,203	0,236	0,231	0,292	0,306
	172,48	0,493	0,517	0,521	0,524	0,481	0,524	0,430	0,509	0,412	0,481	0,493	0,397	0,491	0,477	0,596	0,547	0,721	0,745
	286,08	0,743	0,741	0,785	0,805	0,722	0,767	0,659	0,759	0,624	0,773	0,795	0,656	0,753	0,736	0,900	0,840	1,090	1,035
	400	0,963	0,955	1,005	1,007	0,951	0,990	0,859	0,948	0,892	0,930	0,880	0,873	0,994	0,932	1,185	1,245	1,475	1,018

**Tabela C1 (continuação).** Valores de área do analito/área do padrão interno de agrotóxicos, nos extratos de pimentão vermelho, pimentão amarelo e tomate, obtidos pelas três técnicas de extração, após 20 dias de armazenamento.

Ciproconazol	177,2	0,081	0,084	0,102	0,079	0,081	0,068	-	-	-	-	-	-	0,076	0,073	0,109	0,107	-	0,073
	451,2	0,200	0,217	0,211	0,204	0,194	0,183	-	-	-	-	-	-	0,197	0,172	0,221	0,213	0,285	0,258
	725,2	0,317	0,305	0,334	0,346	0,303	0,331	-	-	-	-	-	-	0,312	0,299	0,333	0,327	0,487	0,428
	1000	0,432	0,417	0,441	0,373	0,426	0,433	-	-	-	-	-	-	0,490	0,381	0,447	0,453	0,682	0,464
Iprodiona	117,76	0,517	0,507	0,511	0,535	0,527	0,538	0,219	0,308	0,181	0,222	0,306	0,289	0,395	0,377	0,513	0,487	0,330	0,394
	344,96	1,133	1,182	1,205	1,141	1,138	1,161	0,524	0,687	0,450	0,558	0,766	0,649	1,137	1,026	1,546	1,299	0,941	1,017
	572,16	1,684	1,696	1,779	1,709	1,682	1,747	0,774	1,013	0,714	0,874	1,230	0,960	1,753	1,640	2,201	2,006	1,539	1,637
	800	2,197	2,157	2,317	2,178	2,223	2,269	0,989	1,270	0,939	1,130	1,392	1,359	2,298	2,120	2,829	2,809	2,219	1,865
Bifentrina	88,32	0,401	0,378	0,390	0,363	0,337	0,306	0,276	0,341	0,310	0,373	0,294	0,225	0,343	0,302	0,605	0,587	0,407	0,437
	258,72	0,822	0,807	0,862	0,807	0,732	0,695	0,619	0,753	0,635	0,810	0,710	0,536	0,750	0,729	1,132	1,036	0,911	0,941
	429,12	1,203	1,148	1,251	1,147	1,100	1,049	0,920	1,110	0,957	1,201	1,294	0,844	1,145	1,138	1,599	1,513	1,383	1,328
	600	1,572	1,477	1,632	1,481	1,487	1,395	1,174	1,420	1,247	1,512	1,335	1,119	1,520	1,419	2,060	2,056	1,922	1,428
Azoxistrobina	88,32	0,459	0,477	0,483	0,508	0,444	0,458	0,385	0,382	0,388	0,442	0,369	0,358	0,504	0,484	0,739	0,712	0,342	0,295
	258,72	1,031	1,135	1,127	1,120	0,988	1,038	0,909	0,905	0,889	0,999	0,885	0,796	1,063	1,092	1,711	1,517	0,850	0,907
	429,12	1,544	1,645	1,660	1,676	1,459	1,545	1,347	1,343	1,348	1,463	1,432	1,244	1,554	1,642	2,453	2,287	1,336	1,379
	600	2,019	2,162	2,165	2,189	1,926	2,004	1,742	1,729	1,757	1,856	1,599	1,661	2,026	2,020	3,101	3,068	1,906	1,498

<sup>1</sup>ESL-PBT

<sup>2</sup>ESL-PIS

**Tabela C2.** Valores de área do analito/área do padrão interno de agrotóxicos, nos extratos de pimentão vermelho, pimentão amarelo e tomate, obtidos pelas três técnicas de extração, após 40 dias de armazenamento.

		40 dias																	
		Pimentão vermelho						Pimentão amarelo						Tomate					
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )		PBT <sup>1</sup> 1	PBT 2	PIS <sup>2</sup> 1	PIS 2	DMFS 1	DMFS 2	PBT 1	PBT 2	PIS 1	PIS 2	DMFS 1	DMFS 2	PBT 1	PBT 2	PIS 1	PIS 2	DMFS 1	DMFS 2
Clorotalonil	88,32	1,432	1,334	1,314	1,311	1,204	1,251	0,143	1,589	0,153	1,653	0,136	0,137	0,848	0,753	0,743	0,295	0,822	0,980
	258,72	3,653	3,905	3,648	3,711	3,487	3,706	0,427	4,362	0,437	4,473	0,393	0,363	2,596	2,767	2,585	1,069	1,785	2,941
	429,12	5,944	6,007	5,524	6,141	5,543	5,545	0,696	6,884	0,714	6,994	0,666	0,583	4,850	5,001	4,454	2,209	4,827	4,583
	600	8,067	8,131	7,922	7,929	7,546	7,753	0,984	8,753	1,007	8,970	0,910	0,897	6,758	6,813	6,325	4,215	6,191	6,690
Clorpirifós	58,88	0,494	0,781	0,521	0,757	0,521	0,539	0,489	0,565	0,616	0,665	0,510	0,647	0,841	0,520	0,567	0,848	0,754	0,656
	172,48	1,098	1,217	1,136	1,274	1,162	1,283	1,683	1,278	1,301	1,267	1,115	1,031	1,198	1,305	1,379	2,056	1,333	1,303
	286,08	1,691	1,902	1,722	2,095	1,685	1,786	1,688	1,807	1,641	2,044	1,657	1,892	2,058	1,970	1,946	2,831	2,017	2,065
	400	2,224	2,394	2,289	2,391	2,156	2,319	2,265	2,282	2,219	2,276	2,099	2,038	2,409	2,522	2,531	3,454	2,523	2,513
Tiametoxam	147,2	0,818	0,799	0,767	0,730	0,621	0,767	0,610	0,870	0,648	0,905	0,618	0,588	0,449	0,324	0,617	0,560	0,539	0,834
	431,2	2,064	2,093	1,926	2,119	1,805	2,206	1,719	2,390	1,731	2,311	1,666	1,531	1,140	1,132	1,700	1,563	1,797	1,905
	715,2	3,242	3,329	3,019	3,453	2,751	3,007	2,876	3,657	2,950	3,835	2,729	2,406	2,212	1,703	2,732	2,143	2,955	3,195
	1000	4,335	4,275	4,159	4,144	3,738	4,012	3,766	4,646	3,952	4,619	3,386	3,328	3,051	2,388	4,047	2,995	4,015	4,125
Procimidona	58,88	0,181	0,166	0,172	0,168	0,174	0,183	0,178	0,224	0,172	0,185	0,177	0,187	0,224	0,236	0,214	0,334	0,272	0,237
	172,48	0,410	0,423	0,422	0,421	0,412	0,439	0,448	0,547	0,428	0,520	0,497	0,426	0,492	0,520	0,505	0,851	0,566	0,521
	286,08	0,627	0,615	0,611	0,667	0,632	0,637	0,776	0,781	0,762	0,778	0,712	0,590	0,776	0,789	0,749	1,191	0,893	0,819
	400	0,822	0,814	0,844	0,837	0,806	0,827	0,935	0,943	0,957	0,854	0,882	0,863	0,966	0,992	0,989	1,450	1,109	0,993
Ciproconazol	177,2	0,064	0,066	0,070	0,062	0,063	0,059	-	-	-	-	-	-	0,083	0,080	0,109	0,146	0,086	0,130
	451,2	0,161	0,149	0,178	0,150	0,158	0,156	-	-	-	-	-	-	0,217	0,210	0,227	0,383	0,296	0,261
	725,2	0,266	0,253	0,280	0,234	0,270	0,296	-	-	-	-	-	-	0,347	0,353	0,319	0,501	0,472	0,438
	1000	0,350	0,338	0,381	0,335	0,365	0,379	-	-	-	-	-	-	0,444	0,444	0,416	0,576	0,615	0,564

**Tabela C2 (continuação).** Valores de área do analito/área do padrão interno de agrotóxicos, nos extratos de pimentão vermelho, pimentão amarelo e tomate, obtidos pelas três técnicas de extração, após 40 dias de armazenamento.

Iprodiona	117,76	0,133	0,125	0,154	0,133	0,234	0,178	0,178	0,229	0,187	0,201	0,283	0,280	0,537	0,559	0,534	0,554	0,291	0,267
	344,96	0,338	0,363	0,417	0,360	0,529	0,433	0,447	0,547	0,475	0,522	0,700	0,651	1,168	1,259	1,232	1,326	0,723	0,594
	572,16	0,539	0,500	0,617	0,564	0,899	0,747	0,709	0,838	0,748	0,819	1,033	0,869	1,843	1,908	1,760	2,094	1,198	0,975
	800	0,734	0,661	0,886	0,785	1,086	1,029	0,898	1,014	1,021	1,076	1,355	1,307	2,331	2,400	2,231	2,690	1,501	1,227
Bifentrina	88,32	0,346	0,291	0,314	0,276	0,302	0,278	0,336	0,388	0,345	0,397	0,257	0,236	0,322	0,309	0,422	0,717	0,395	0,335
	258,72	0,716	0,701	0,714	0,696	0,677	0,670	0,685	0,831	0,699	0,868	0,650	0,581	0,728	0,741	0,913	1,457	0,804	0,734
	429,12	1,081	1,011	1,027	1,034	1,010	0,969	1,058	1,224	1,044	1,280	0,953	0,818	1,187	1,162	1,310	2,034	1,265	1,123
	600	1,426	1,376	1,425	1,338	1,325	1,279	1,336	1,515	1,381	1,595	1,220	1,173	1,530	1,457	1,651	2,310	1,626	1,410
Azoxistrobina	88,32	0,473	0,452	0,407	0,449	0,408	0,410	0,379	0,390	0,399	0,441	0,363	0,322	0,411	0,408	0,544	0,746	0,419	0,410
	258,72	1,008	1,098	0,937	1,075	0,891	0,950	0,899	2,301	0,913	1,025	0,879	0,764	0,891	0,969	1,204	1,705	0,832	0,849
	429,12	1,480	1,577	1,337	1,591	1,298	1,337	1,414	1,416	1,417	1,517	1,294	1,105	1,392	1,491	1,738	2,627	1,284	1,343
	600	1,938	2,051	1,845	1,988	1,669	1,741	1,848	1,768	1,902	1,868	1,712	1,607	1,780	1,862	2,228	3,312	1,579	1,664

<sup>1</sup>ESL-PBT

<sup>2</sup>ESL-PIS

**Tabela C3.** Valores de área do analito/área do padrão interno de agrotóxicos, nos extratos de pimentão vermelho, pimentão amarelo e tomate, obtidos pelas três técnicas de extração, após 60 dias de armazenamento.

		60 dias																	
		Pimentão vermelho						Pimentão amarelo						Tomate					
	Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	PBT <sup>1</sup> 1	PBT 2	PIS <sup>2</sup> 1	PIS 2	DMFS 1	DMFS 2	PBT 1	PBT 2	PIS 1	PIS 2	DMFS 1	DMFS 2	PBT 1	PBT 2	PIS 1	PIS 2	DMFS 1	DMFS 2
Clorotalonil	88,32	1,276	1,100	1,245	1,244	1,218	1,244	0,097	1,234	0,122	1,427	0,070	0,095	1,517	1,520	1,798	1,487	1,521	1,470
	258,72	3,291	3,649	3,693	3,240	3,342	3,890	0,346	3,753	0,366	4,019	0,242	0,258	4,206	4,259	4,355	3,468	4,426	4,218
	429,12	5,635	5,658	5,396	5,809	5,670	5,771	0,614	6,101	0,612	6,384	0,466	0,495	6,302	6,914	6,698	5,497	6,730	6,607
	600	7,991	7,850	7,884	7,762	7,881	7,852	0,912	8,051	0,912	8,235	2,284	0,689	8,924	9,023	8,747	8,711	8,964	9,213
Clorpirifós	58,88	0,489	0,810	0,524	0,624	0,630	0,544	0,729	0,580	0,767	0,674	0,546	0,754	0,588	0,513	0,548	0,619	0,495	0,547
	172,48	1,145	1,201	1,167	1,314	1,217	1,330	1,159	1,284	1,517	1,278	1,168	1,219	1,163	1,271	1,225	1,220	1,199	1,269
	286,08	1,662	1,875	1,754	1,981	1,643	1,759	1,752	1,833	1,982	2,080	1,874	2,117	1,852	1,899	1,822	1,766	1,760	1,816
	400	2,259	2,418	2,289	2,320	2,215	2,276	2,359	2,316	2,377	2,325	2,370	2,165	2,413	2,456	2,509	2,545	2,226	2,516
Tiametoxam	147,2	0,565	0,750	0,571	0,529	0,332	0,622	0,602	0,698	0,646	0,830	0,490	0,603	0,960	0,803	0,991	1,123	0,800	0,961
	431,2	1,472	1,704	1,766	1,830	1,540	2,038	1,565	2,056	1,656	2,174	1,536	1,613	2,295	2,317	2,365	2,438	2,294	2,453
	715,2	2,316	3,090	2,507	2,740	2,247	2,289	2,702	3,298	2,899	3,584	2,480	2,449	3,522	3,444	3,616	3,574	3,775	3,561
	1000	3,296	3,968	3,160	3,867	3,778	3,690	3,833	4,337	3,982	4,481	3,416	3,262	5,277	4,519	5,038	5,209	4,933	4,937
Procimidona	58,88	0,188	0,191	0,176	0,175	0,187	0,174	0,181	0,195	0,185	0,205	0,181	0,182	0,176	0,185	0,193	0,219	0,193	0,173
	172,48	0,448	0,457	0,448	0,440	0,430	0,465	0,453	0,529	0,449	0,479	0,490	0,459	0,440	0,443	0,429	0,381	0,487	0,449
	286,08	0,646	0,701	0,626	0,617	0,652	0,647	0,764	0,781	0,775	0,785	0,714	0,620	0,649	0,671	0,639	0,583	0,691	0,675
	400	0,877	0,911	0,885	0,854	0,867	0,842	1,000	0,938	1,027	0,973	0,963	0,897	0,883	0,867	0,828	0,854	0,897	0,893
Ciproconazol	177,2	0,075	0,075	0,073	0,064	0,062	0,061	-	-	-	-	-	-	0,072	0,067	0,071	0,057	0,063	0,130
	451,2	0,189	0,186	0,192	0,157	0,179	0,164	-	-	-	-	-	-	0,171	0,162	0,163	0,138	0,224	0,186
	725,2	-	0,287	-	0,233	-	0,285	-	-	-	-	-	-	0,283	0,300	0,251	0,217	0,333	0,298
	1000	0,400	0,361	0,407	0,339	0,381	0,369	-	-	-	-	-	-	0,355	0,378	0,315	0,319	0,462	0,477

**Tabela C3 (continuação).** Valores de área do analito/área do padrão interno de agrotóxicos, nos extratos de pimentão vermelho, pimentão amarelo e tomate, obtidos pelas três técnicas de extração, após 60 dias de armazenamento.

Iprodiona	117,76	0,258	0,336	0,254	0,219	0,356	0,311	0,381	0,458	0,349	0,383	0,436	0,442	0,133	0,131	0,122	0,100	0,130	0,079
	344,96	0,678	0,657	0,627	0,468	0,662	0,706	0,861	1,012	0,824	0,914	0,988	0,922	0,359	0,359	0,314	0,290	0,420	0,293
	572,16	0,979	0,906	0,806	0,730	1,132	1,030	1,304	1,476	1,329	1,387	1,481	1,315	0,599	0,556	0,513	0,484	0,542	0,457
	800	1,366	1,278	1,274	1,033	1,421	1,260	1,744	1,707	1,808	1,765	2,054	1,813	0,807	0,741	0,635	0,765	0,790	0,684
Bifentrina	88,32	0,333	0,306	0,324	0,294	0,323	0,268	0,329	0,379	0,378	0,437	0,241	0,241	0,292	0,277	0,338	0,278	0,292	0,266
	258,72	0,720	0,712	0,750	0,698	0,678	0,686	0,707	0,805	0,769	0,910	0,621	0,588	0,729	0,675	0,771	0,743	0,717	0,651
	429,12	1,059	1,015	1,024	1,018	1,006	0,951	1,076	1,205	1,161	1,333	0,945	0,865	1,085	1,042	1,153	1,034	1,043	0,919
	600	1,445	1,330	1,433	1,330	1,375	1,271	1,439	1,496	1,537	1,660	1,333	1,188	1,492	1,339	1,513	1,496	1,362	1,359
Azoxistrobina	88,32	0,394	0,404	0,414	0,409	0,428	0,385	0,422	0,222	0,435	0,473	0,405	0,400	0,494	0,401	0,487	0,475	0,350	0,339
	258,72	0,902	0,987	0,999	0,978	0,898	0,981	1,029	0,966	1,031	1,094	0,959	0,875	1,099	0,956	1,158	1,163	0,848	0,811
	429,12	1,300	1,441	1,330	1,493	1,269	1,303	1,607	1,469	1,617	1,622	1,432	1,336	1,545	1,454	1,684	1,691	1,178	1,210
	600	1,771	1,898	1,829	1,921	1,733	1,732	2,198	1,859	2,170	2,018	1,924	1,850	2,136	1,893	2,128	2,542	1,534	1,672

<sup>1</sup>ESL-PBT

<sup>2</sup>ESL-PIS