

Carolina Faria Monteiro

Avaliação da contaminação de tomate hidropônico com agrotóxicos por cromatografia líquida de alta eficiência

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
2012**

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

T

M775a
2012

Monteiro, Carolina Faria, 1984-

Avaliação da contaminação de tomate hidropônico com
agrotóxicos por cromatografia líquida de alta eficiência /
Carolina Faria Monteiro. – Viçosa, MG, 2012.
xv, 60f. : il. ; (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Antônio Augusto Neves

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 53-60

1. Cromatografia a líquido de alta eficiência. 2. Tomate.
3. Hidroponia. 4. Produtos químicos agrícolas. I. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Química. Programa de Pós-
Graduação em Agroquímica. II Título.

CDD 22. ed. 543.84

Carolina Faria Monteiro

Avaliação da contaminação de tomate hidropônico com agrotóxicos por cromatografia líquida de alta eficiência

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: 21 de setembro de 2012.

Prof^a. Maria Eliana L. R. de Queiroz
(Co-orientadora)

Prof. André Fernando de Oliveira
(Co-orientador)

Prof. Laercio Zambolim

Prof^a. Alessandra Regina Pepe Ambrozini

Prof. Antônio Augusto Neves
(Orientador)

*A Deus,
Aos meu pais, Carlos e Tânia,
Ao meu irmão Vitor
e ao meu noivo Felipe.*

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

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser minha fortaleza e por me proporcionar momentos de consolação em Sua presença;

Aos meus pais, Carlos e Tânia, pelo incessante incentivo e pelo amor e carinhos incondicionais;

Ao meu irmão Vitor, pelos conselhos, apoio e carinho a mim dedicados;

Ao meu noivo Felipe, pelo amor e atenção incondicionais, e pelo incentivo na realização deste trabalho;

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Química, pelos ensinamentos e pela contribuição na realização deste estudo;

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

Em especial, aos professores Antônio Augusto Neves, Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz e André Fernando pela orientação, dedicação e amizade durante a realização deste trabalho;

Aos professores, Alessandra Regina Pepe Ambrozini e Laercio Zambolim por aceitarem o convite para compor a banca examinadora desta dissertação;

Ao Sérgio e ao Paulo Henrique, pelo fornecimento das amostras e pelas informações do cultivo de tomates hidropônicos.

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

Às amigas de república, pelos momentos de felicidade e tristezas divididos comigo durante os anos vividos em Viçosa;

Aos amigos verdadeiros que fiz no grupo JSC, obrigada pelo carinho e amizade;

A todos os amigos do laboratório de química analítica (LAQUA): Adley, Alessandra, Anna Isabel, Bethânia, Bruno, Carlos, Fernanda, Fernando, Flaviane, Gustavo, Lívia Carvalho, Lívia França, Luiz Manoel, Paula e Renata, que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Enfim, a todos que de alguma forma torceram por mim, muito obrigada!

BIOGRAFIA

CAROLINA FARIA MONTEIRO, filha de Carlos Alberto Soares Monteiro e Tânia Mara Faria Monteiro, nasceu em Bragança Paulista, São Paulo, em 30 de outubro de 1984.

Em agosto de 2004, iniciou o curso de graduação em Química na Universidade Federal de Alfenas. No ano de 2006, foi como estudante de mobilidade acadêmica para a Universidade Federal de Viçosa, sendo no ano seguinte aprovada no vestibular deste mesmo curso nesta universidade.

Em julho de 2010, diplomou-se bacharel e licenciada em Química. Em agosto deste mesmo ano, iniciou o curso de pós-graduação em Agroquímica, em nível mestrado, submetendo-se à defesa de dissertação em setembro de 2012.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMO.....	xii
ABSTRACT	xiv
1 Introdução.....	1
2 Revisão de Literatura.....	4
2.1 Monitoramento de resíduos de agrotóxicos	4
2.2 Cultura do tomate	6
2.3 Agrotóxicos	8
2.4 Métodos de extração	12
2.5 Técnicas de análise	14
2.6 Análise de cobre	15
3 Objetivos.....	18
3.1 Objetivo geral.....	18
3.2 Objetivos específicos	18
4 Materiais e Métodos.....	19
4.1 Características da cultura de tomate hidropônico	19
4.2 Agrotóxicos	19
4.3 Coleta de amostras para a avaliação dos níveis de contaminação de tomates hidropônicos produzidos na região de Viçosa-MG	20
4.4 Preparo das soluções-padrão	23
4.5 Análise cromatográfica.....	23
4.6 Método de extração	24
4.7 Validação do método de extração.....	24
4.7.1 Seletividade e efeito de matriz	25
4.7.2 Linearidade de resposta do método.....	26
4.7.3 Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método	26
4.7.4 Veracidade/Recuperação.....	26
4.7.5 Precisão	27

4.7.5.1	Repetitividade	27
4.7.5.2	Precisão Intermediária	27
4.8	Preparação da amostra e análise de cobre (II)	28
5	Resultados e Discussão	29
5.1	Análise cromatográfica.....	29
5.2	Validação do método de extração.....	30
5.2.1	Seletividade e efeito de matriz	31
5.2.2	Linearidade de resposta do método.....	35
5.2.3	Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método	39
5.2.4	Veracidade/Recuperação.....	41
5.2.5	Precisão	43
5.2.5.1	Repetitividade	43
5.2.5.2	Precisão intermediária	44
5.3	Monitoramento da contaminação por agrotóxicos e cobre (II) em tomates hidropônicos.....	45
6	Conclusões	52
7	Referências.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS

AGROFIT - Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários

ANOVA – Análise de Variância

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BPA- Boas Práticas Agrícolas

CEAGESP – Companhia de Entrepósitos e Armazém de São Paulo

CG – Cromatografia Gasosa

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CV - Coeficiente de Variação

DMFS - Dispersão de Matriz em Fase Sólida

Dp - Desvio-Padrão

EAM – Extração Assistida por Micro-ondas

EBS – Extração por Barra Sortiva

EFS - Extração em Fase Sólida

EFS – Extração por Fluido Supercrítico

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

ESA - *Entomological Society of America*

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

EU - *European Union*

f_{rec} – fator de recuperação

HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICH – *International Conference on Harmonisation*

IMA – Instituto Mineiro de Agropecuária

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

IUPAC – *International Union of Pure and Applied Chemistry*

LAQUA - Laboratório de Química Analítica

LD - Limite de Detecção

LMR - Limite Máximo de Resíduo

LQ - Limite de Quantificação

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MEFS - Microextração em Fase Sólida

MRC – Material de Referência Certificado

NF- Não Fornecido

PARA - Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos

PTFE - Politetrafluoretileno

QuEChERS – *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe.*

R^2 - Coeficiente de Determinação

r – Coeficiente de Correlação

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

s – Desvio padrão da sensibilidade analítica

S – Inclinação da curva analítica

t_R - Tempo de Retenção

TVNL – Tomate Verde Não-Limpo

TVL – Tomate Verde Limpo

TMNL – Tomate Maduro Não-Limpo

TML – Tomate Maduro Limpo

UV-Vis – Ultravioleta Visível

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Fórmula estrutural, classe, grupo químico, classificação toxicológica, massa molar, K_{ow} e solubilidade em água dos princípios ativos analisados. 9
- Tabela 2.** Limite máximo de resíduos para os agrotóxicos analisados. 12
- Tabela 3.** Produto comercial (princípio ativo), dosagem da calda, data de aplicação e datas de amostragens do tomate cultivado no sistema hidropônico. 21
- Tabela 4.** Estimativa do desvio-padrão do branco estimado (s), inclinação da curva analítica (S), limites de detecção (LD), limites de quantificação (LQ) e coeficiente de correlação (r). 40
- Tabela 5.** Faixas de aceitação do fator de recuperação acima e abaixo de 100% (MAPA, 2011). 42
- Tabela 6.** Fator de recuperação (f_{rec}) obtido após extração da amostra de tomate, fortificada pelos princípios ativos em três concentrações diferentes. 42
- Tabela 7.** Avaliação da repetitividade do método para os analitos de interesse. 43
- Tabela 8.** Avaliação da precisão intermediária do método. 44

LISTA DE FIGURAS

- Figura 10.** Cromatograma de uma solução-padrão de flubendiamida (1 – $t_R = 3,6$ min) e abamectina (B_{1a}) (2 – $t_R = 11,2$ min) na concentração de 6 mg L^{-1} em acetonitrila. 30
- Figura 11.** Superposição de dois cromatogramas obtidos pela ESL-PBT: Cromatograma da matriz branca (preto) e cromatograma de uma solução-padrão (rosa) de (1) flubendiamida ($t_R = 3,6$ min) e (2) abamectina(B_{1a}) ($t_R = 11,2$ min) a 10 mg L^{-1} 31
- Figura 12.** Curvas analíticas construídas a partir da análise cromatográfica de soluções-padrão de flubendiamida preparadas em solvente (acetonitrila) e no extrato da matriz isenta de contaminação. 32
- Figura 13.** Curvas analíticas construídas a partir da análise cromatográfica de soluções-padrão de abamectina (B_{1a}) preparadas em solvente (acetonitrila) e no extrato da matriz isenta de contaminação. 33
- Figura 14.** Porcentagem do efeito de matriz para a flubendiamida em amostras de tomate. 34
- Figura 15.** Porcentagem do efeito de matriz para a abamectina (B_{1a}) em amostras de tomate. 35
- Figura 16.** Curva analítica preparada a partir de extratos de amostras de tomate fortificadas com padrão de flubendiamida na faixa de concentração entre 1,5 e 16,5 mg/kg. 37
- Figura 17.** Curva analítica preparada a partir de extratos de amostras de tomate fortificadas com padrão de abamectina (B_{1a}) na faixa de concentração entre 1,5 e 16,5 mg/kg. 37
- Figura 18.** Gráficos de resíduos do ajuste linear para a flubendiamida. 38
- Figura 19.** Gráficos de resíduos do ajuste linear para a abamectina (B_{1a}). 39

- Figura 20.** Cromatograma de um extrato obtido da ESL-PBT de uma amostra de tomate hidropônico..... 45
- Figura 21.** Cromatograma de uma matriz branca fortificada com flubendiamida (1; $t_R = 3,6$ min) e abamectina (B_{1a}) (2; $t_R = 11,2$) a 5 mg L^{-1} 46
- Figura 22.** Superposição do cromatograma de extrato obtido da ESL-PBT de amostra de tomate hidropônico (preto) com um cromatograma da matriz branca fortificada (rosa). 46
- Figura 23.** Cromatograma de extrato de uma amostra de tomate hidropônico não concentrado (preto) e cromatograma do mesmo extrato concentrado (rosa)... 47
- Figura 24.** Concentração de cobre (II) nas amostras de tomate hidropônico. TVNL (tomate verde não-limpo), TVL (tomate verde limpo), TMNL (tomate maduro não-limpo), TML (tomate maduro limpo). 49

RESUMO

MONTEIRO, Carolina Faria, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2012. **Avaliação da contaminação de tomate hidropônico com agrotóxicos por cromatografia líquida de alta eficiência.** Orientador: Antônio Augusto Neves. Co-orientadores: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz e André Fernando de Oliveira.

Na cultura hidropônica a ocorrência de doenças e pragas acontece em menor proporção quando comparada ao cultivo convencional. Mesmo que a incidência de doenças e pragas seja menor, não é descartada a utilização de agrotóxicos nesta cultura. Por este motivo, estudos envolvendo a avaliação da contaminação com agroquímicos em uma cultura hidropônica são relevantes. No presente trabalho, uma cultura de tomate hidropônico localizada na região de Viçosa-MG foi avaliada quanto à contaminação por agrotóxicos, tal avaliação foi realizada utilizando cromatografia líquida de alta eficiência com detector UV-Vis (CLAE-UV-Vis) e espectrofotometria de absorção atômica, respectivamente. Os agrotóxicos aplicados nesta cultura foram: Vertimec 18EC[®], Belt[®] e Supera[®], que têm como princípios ativos abamectina, flubendiamida e hidróxido de cobre, respectivamente. Para a extração dos agrotóxicos, flubendiamida e abamectina, das amostras de tomate foi adaptado o método de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT), o protocolo experimental do método foi avaliado abrangendo os seguintes parâmetros de desempenho analítico: seletividade e efeito de matriz, linearidade de resposta do método, limite de detecção, limite de quantificação, veracidade/recuperação e precisão (repetitividade e precisão intermediária). Os resultados obtidos mostraram que o método ESL-PBT e a subsequente análise por CLAE-UV-Vis foram eficientes para a extração e análise dos agrotóxicos de interesse. Entretanto, os limites de detecção foram de 0,56 e 0,72 mg/kg para a flubendiamida e abamectina, respectivamente. Estes são maiores do que o LMR (limite máximo de resíduos) dos princípios ativos, que para a flubendiamida é igual a 0,10 mg/kg e para a abamectina é igual a 0,01 mg/kg. O método validado foi utilizado para o monitoramento dos níveis de contaminação do tomate hidropônico no período de novembro de 2011 a junho de 2012. Durante o período de monitoramento não foi detectada a presença destes agrotóxicos nas amostras. Na

avaliação do teor de cobre (II), as mesmas amostras foram submetidas à digestão seca, na qual as cinzas obtidas foram diluídas em HNO_3 1 mol/L. A solução obtida foi analisada em um espectrofotômetro de absorção atômica em chama. As concentrações de cobre (II) obtidas ficaram entre 0,45 e 1,71 mg/kg do fruto, concentrações estas que ficaram abaixo do limite máximo permitido, que é de 10 mg/kg. Desta forma, pode-se dizer que os tomates hidropônicos estão livres de contaminação, tanto nos níveis dos limites de detecção obtidos na validação do método quanto ao teor de cobre (II) encontrado.

ABSTRACT

MONTEIRO, Carlina Faria, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, september, 2012. **Assessment of contamination of hydroponic tomato with pesticides by high performance liquid chromatography.** Adviser: Antônio Augusto Neves. Co-Advisers: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz and André Fernando de Oliveira.

In hydroponic culture the occurrence of diseases and pests happens to a lesser proportion when compared to conventional tillage. Even though the incidence of pests and diseases is lower, it is not ruled out the use of pesticides in this culture. For this reason, studies involving the evaluation of contamination in a hydroponic culture are relevant. In this project, a culture of hydroponic tomato located in Viçosa-MG was used to assess contamination by pesticides such determination was carried out using high performance liquid chromatography coupled with UV-Vis detector (HPLC-UV-Vis) and atomic absorption spectrophotometry. The pesticides used in this culture were: Vertimec 18EC[®], Belt[®] and Supera[®], which have the active ingredients abamectin, flubendiamide and copper hydroxide, respectively. For extraction of pesticides flubendiamide and abamectin, from the tomato samples, the method of solid-liquid extraction with low temperature partitioning (SLE-LTP) was used. This method was adapted from a previously performed optimization. Hence a validation was performed covering the following analytical performance parameters: selectivity and matrix effect, response linearity of the method, detection limit, quantification limit, accuracy/recovery and precision (repeatability and intermediate precision). The results showed that the method SLE-LTP and analysis by HPLC-UV-Vis are efficient for the extraction and analysis of pesticides of interest. However, the detection limits presented in the order of 0,56 and 0,72 mg/kg for flubendiamide and abamectin, respectively, are considered high when compared with MRL (maximum limit of residues) of active ingredients. For flubendiamide is 0,10 mg/kg and abamectin is 0,01 mg/kg. The validated method was used to monitor the contamination levels of hydroponic tomatoes from November 2011 to June 2012. During the monitoring period was not detected the presence of these pesticides in the samples. In the evaluation of copper (II), the same samples were subjected to dried digestion, in which the ashes obtained were diluted in HNO₃ 1 mol/L. The resulting solution was analyzed in a atomic absorption spectrophotometry with flame. The concentrations of

copper (II) were between 0,45 and 1,71 mg/kg of the fruit. Such concentrations are below the maximum allowed limit, which is 10 mg/kg. Thus, it can be said that the hydroponic tomatoes are free from contamination, as in levels of detection limits achieved in the validation of the method as the content of copper (II) found.

1 Introdução

A partir da industrialização iniciada no século XVIII e intensificada desde então, alterou-se muito a relação homem-natureza, acarretando uma nova configuração na distribuição demográfica no Brasil, na qual a agricultura se constituiu como empresa e a população da zona rural teve de suprir a alimentação do homem urbano (RODRIGUES, 2006). A grande demanda dos produtos agrícolas foi acompanhada pelo intenso uso de agrotóxicos nas culturas e, conseqüentemente, pela presença de resíduos desses agrotóxicos nos alimentos.

Atualmente, a preocupação com a presença desses resíduos vem aumentando e, como se sabe, eles são os mais indicados para combater os fatores limitantes da produção de alimentos, que são, sem dúvida, as pragas, doenças e ervas invasoras. O uso desordenado e excessivo desses produtos, além de causar impactos ambientais, provoca contaminação de solos, água e alimentos, podendo acarretar problemas de saúde ao consumidor.

Ao longo das duas últimas décadas, o monitoramento de resíduos de agrotóxicos em alimentos no Brasil foi marcado por uma série de esforços isolados de órgãos estaduais de saúde, agricultura e instituições de pesquisas. Esse fato impediu que o país tivesse uma noção clara dos níveis de agrotóxicos encontrados em seus produtos agrícolas (ANVISA, 2006).

Por esse motivo o Governo Federal, juntamente com a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), criou, em 2001, o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), o qual tem como objetivo avaliar continuamente os níveis de resíduos de agrotóxicos nos alimentos *in natura* que chegam à mesa do consumidor. A ANVISA coordena o programa em conjunto com as vigilâncias sanitárias dos estados que coletam os alimentos nos supermercados e os enviam aos laboratórios para análise (ANVISA, 2012a).

O monitoramento realizado pelo PARA está chamando a atenção dos produtores e autoridades da área agrícola em relação à aplicação desses produtos, mas, mesmo assim, ainda é grande a quantidade de irregularidades encontradas no uso de agrotóxicos (ANVISA, 2006).

Segundo o relatório do PARA, no ano de 2007 foram encontrados para as amostras de tomate percentuais de irregularidade superiores a 40%, atribuídos ao

uso de ingredientes ativos não autorizados, ou amostras que apresentaram níveis de resíduos de agrotóxicos acima do limite máximo permitido pela legislação. Os índices de irregularidade decresceram em 2008 (18,7%), mas cresceram novamente no ano seguinte, com valores superiores a 32%. Em 2010, o percentual de amostras irregulares voltou a cair, chegando a 16,3% do valor total de amostras. Não só o tomate, mas outros alimentos consumidos *in-natura*, como abacaxi, alface, cenoura, couve e laranja, possuem um histórico de irregularidades desde 2007. No último relatório emitido pelo PARA, em 2011, o pimentão apresentou o maior percentual de irregularidades, que foi de 91,8%; em seguida vieram o morango, com valores superiores a 60%; o pepino, 57,4%; a alface, 54,2%; e a cenoura, com 49,6% das amostras com irregularidades.

Uma alternativa para a diminuição dessas irregularidades seria o cultivo hidropônico, que utiliza quantidades menores de agrotóxicos, pois o cultivo, além de ser feito longe do solo, é realizado em ambientes controlados, procurando atender a exigência de cada cultura. Em razão de o cultivo ser realizado em ambiente fechado e controlado, o ataque de pragas e doenças é relativamente pequeno, diminuindo ou anulando a aplicação de agrotóxicos (MARTINEZ; FILHO, 2006).

A baixa incidência de doenças é uma das principais vantagens da hidroponia, mas a falta de cuidados para prevenir a ação de patógenos pode ser uma ameaça à produtividade do sistema (ZUAZO, 2011). Atualmente, uma opção sustentável e menos tóxica para o controle de pragas e doenças no manejo hidropônico é o emprego de princípios ativos de produtos naturais, os chamados defensivos biológicos. Porém, por ainda responder por uma pequena fatia do mercado agrícola, o segmento hidropônico não comporta um mercado em condições de absorver a produção de agrotóxicos específicos para este segmento. Em razão disso, os defensivos disponíveis no mercado (destinados ao controle de solo) são adaptados ao manejo do cultivo hidropônico, assim é relevante o estudo da análise de resíduo de agrotóxicos em produtos hidropônicos (VOLKWEIS, 2011).

O LAQUA (Laboratório de Química Analítica), da UFV, vem desenvolvendo, nos últimos anos, trabalhos de análise de resíduos de agrotóxicos em diferentes matrizes, como água (VIEIRA *et al.*, 2007), leite (GOULART *et al.*, 2008), mel (PINHO *et al.*, 2010a), manteiga (MARTHE *et al.*, 2010) e tomate (PINHO *et al.*, 2010b). Nesses trabalhos foram desenvolvidos e ou adaptados métodos de extração

e análise, como o método de **Extração Sólido-Líquido com Partição em Baixa Temperatura (ESL-PBT)**, para amostras sólidas, e a **Extração Líquido-Líquido com Partição em Baixa Temperatura (ELL-PBT)**, para amostras líquidas.

Com o propósito de ter um diagnóstico da situação real do local, neste trabalho o objetivo foi avaliar durante o ciclo produtivo do tomate hidropônico, produzido na região de Viçosa-MG, os níveis de sua contaminação por abamectina, flubendiamida e cobre (II), usando-os quando necessário. Para a avaliação da contaminação, as amostras foram submetidas ao método ESL-PBT, seguida de análise por cromatografia líquida de alta eficiência com detector UV-Vis. Vale ressaltar que na literatura não são encontrados estudos com esses compostos em tomates hidropônicos.

2 Revisão de Literatura

2.1 Monitoramento de resíduos de agrotóxicos

A agricultura brasileira tem-se destacado com números cada vez mais expressivos na produção, em área plantada, na exportação e na quantidade de tecnologias empregadas no campo. Tal crescimento leva também à utilização de maiores quantidades de agrotóxicos na produção agrícola, colocando o Brasil como o maior consumidor mundial. De forma geral, a aplicação de agrotóxicos está presente na maior parte das culturas, mas as que mais trazem preocupação são aquelas consumidas em grande quantidade pela população na forma *in natura* (ANVISA, 2006).

Como o Brasil é um país de território extenso e possui várias pequenas propriedades, os agricultores geralmente recebem pouca ou nenhuma informação sobre a utilização dos agrotóxicos e, conseqüentemente, sobre sua periculosidade. Muitas vezes não escolhem o agrotóxico correto nem possuem conhecimento no preparo, aplicação, transporte, armazenamento e descarte das embalagens e sobras desses agrotóxicos. Por esse motivo, um programa de monitoramento é imprescindível para população (RODRIGUES, 2006).

Devido a importância quanto à exposição dos produtores rurais e dos consumidores aos resíduos de agrotóxicos nos alimentos, vários países implementaram o monitoramento de resíduos de agrotóxicos. No Brasil, no Estado de Minas Gerais, a instituição responsável pelas análises é o IMA (Instituto Mineiro de Agropecuária), no Estado de São Paulo esse monitoramento é realizado pela Companhia de Entrepósitos de Armazém Gerais de São Paulo (CEAGESP), em programa conjunto com o Instituto Biológico da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do estado. Nos demais estados e no Distrito Federal, a ANVISA, juntamente com as vigilâncias sanitárias de cada estado, são as responsáveis pelo monitoramento. Em nível internacional, países como Estados Unidos e Canadá e membros da comunidade europeia têm programas nacionais de monitoramento de resíduos de agrotóxicos em alimentos *in natura* e processados (AMARAL, 2007).

Com o objetivo de implantar ações de controle de resíduos de agrotóxicos e estruturar um serviço para avaliar a qualidade dos alimentos, o Governo Federal iniciou em 2001 o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), o qual se transformou em um programa da ANVISA (Agência de Vigilância Sanitária), no ano de 2003, através da resolução RDC 119. Este programa é uma ação do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS), coordenado pela ANVISA em conjunto com os órgãos de vigilância sanitária de 25 estados participantes e o Distrito Federal. Ao longo de 9 anos foram obtidas conquistas que ainda beneficiam todos os agentes das cadeias produtivas das culturas monitoradas pelo PARA. De posse dos resultados do programa, eles podem desenhar estratégias integradas e intervirem com ações na produção e comercialização de alimentos que estejam livres da contaminação por agrotóxicos (ANVISA, 2009).

O monitoramento de resíduos de agrotóxicos em alimentos não é um trabalho simples. Em cada uma das amostras, os laboratórios participantes do PARA fazem uma busca por 92 tipos diferentes de substâncias, incluindo aquelas proibidas no país (ANVISA, 2006). Entre julho de 2001 e dezembro de 2009 foram analisadas 12.072 amostras (JARDIM; CALDAS, 2012).

No ano de 2010, o PARA realizou coleta de amostras em 25 estados e no Distrito Federal, seguindo o plano de amostragem estabelecido pelo programa. Foram monitorados 18 tipos de alimentos: abacaxi, alface, arroz, batata, cebola, cenoura, feijão, laranja, maçã, mamão, manga, morango, pimentão, repolho, tomate, couve, beterraba e pepino. A escolha dessas culturas baseou-se nos dados de consumo obtidos pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), na disponibilidade desses alimentos nos supermercados das diferentes unidades da Federação e no uso intensivo de agrotóxicos nessas culturas (ANVISA, 2010). Os resultados do monitoramento deste ano apresentados pelo PARA mostraram a necessidade de se desenvolver um planejamento estratégico que pudesse reduzir os efeitos nocivos do uso dos agrotóxicos. Nesse planejamento, cabem aos órgãos responsáveis pela formação dos produtores, como o serviço de extensão rural, difundir a informação e multiplicar os eventos de formação dos agricultores em Boas Práticas Agrícolas (BPA). Aos responsáveis pelo controle do comércio e uso dos agrotóxicos, como as Secretarias Estaduais e Municipais de Agricultura, cabe

incrementar a fiscalização dos pontos de vendas, da indicação, da manipulação e da aplicação dos produtos nos locais de produção (ANVISA, 2010).

2.2 Cultura do tomate

O tomate, originário das Américas, Central e do Sul, é cultivado em quase todo o mundo, e a sua produção global duplicou nos últimos 20 anos. Um dos principais fatores para a expansão da cultura é o crescimento do consumo. O tomate é um alimento funcional devido aos altos teores de vitaminas A e C, além de ser rico em licopeno. Pesquisas apontam que o consumo dessa substância, presente tanto no fruto fresco como no processado, ajuda na prevenção de cânceres, principalmente aqueles relacionados ao aparelho digestivo (CARVALHO; PAGLIUCA, 2007).

O cultivo do tomateiro exige alto nível tecnológico e intensa utilização de mão de obra. Como os preços dos produtos derivados do tomate são muito influenciados pelo mercado internacional, a tecnologia de produção deve buscar competitividade, reduzindo custos de produção e elevando os índices de produtividade e qualidade (SILVA *et al.*, 2003).

O cultivo convencional de tomate exige grande quantidade e variedade de adubos químicos e de agrotóxicos (inseticidas, acaricidas, fungicidas etc); esses últimos representam aproximadamente 17% do custo da produção (PENTEADO, 2004). Consequentemente, o uso dos agrotóxicos no tomateiro pode contaminar o solo, a água e os próprios frutos. Pode provocar também desequilíbrios ecológicos, por eliminar ou diminuir a eficiência dos inimigos naturais das pragas, resultando, provavelmente, em surgimento de novas pragas, mais resistentes e persistentes para a cultura (ALVARENGA, 2004).

A contaminação do fruto do tomateiro se dá predominantemente por resíduos de agrotóxicos que podem persistir como camadas superficiais nele depositadas. Alguns pesticidas podem penetrar na superfície do fruto, dissolver-se e mover-se para o interior, incorporando à polpa. A persistência dos pesticidas no fruto do tomate é, entre outros fatores, fortemente influenciada pela umidade, temperatura e suas características físico-químicas. Para minimizar impactos ambientais causados

pela aplicação de pesticidas, deve haver orientação técnica e agrônômica durante a aplicação, com relação à dosagem necessária, à época e às condições climáticas favoráveis (chuvas, velocidade e direção do vento etc.), para evitar a contaminação do alimento (CABRAS *et al.*, 1985).

Uma alternativa para a melhoria da cultura de tomate seria o cultivo por meio de técnica hidropônica, na qual as plantas são alimentadas com solução nutritiva. Essa técnica tem sido muito utilizada, pois permite o plantio durante todo o ano, além de atender às exigências de produção com uniformidade, alta qualidade, alta produtividade, desperdício mínimo de água e nutrientes e o mínimo uso de defensivos agrícolas (ALBERONI, 2004).

Um aspecto fundamental para o sucesso do cultivo hidropônico é a escolha da solução nutritiva, que deve ser formulada de acordo com o requerimento nutricional da espécie a ser cultivada, ou seja, conter proporções adequadas de todos os nutrientes essenciais para o crescimento da planta (SCHMIDT *et al.*, 2001).

O cultivo hidropônico pode acontecer por dois sistemas: aberto e fechado. No sistema aberto, a solução com os nutrientes não é reaproveitada após passar pelas raízes das plantas. Normalmente os substratos usados para este cultivo são o substrato inorgânico (areia, pedras diversas, argila expandida, casca de arroz), o orgânico (fibra de coco, espumas diversas, casca de pínus compostada e turfa) e misturas diversas contendo componentes inorgânicos e orgânicos. A principal função do substrato é a sustentação da planta. No sistema fechado, a solução com os nutrientes é reaproveitada após passar pelas raízes das plantas. Neste sistema, também podem ser usados substratos. No cultivo em substrato, são utilizados tubos gotejadores para distribuir a solução nutritiva, e cada planta recebe individualmente esta solução (ALVARENGA, 2004).

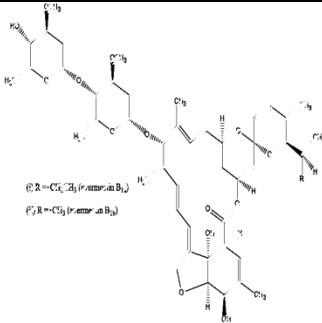
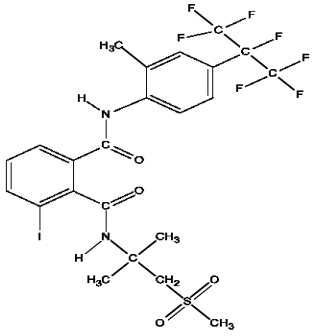
No Brasil, o cultivo de hortaliças usando as técnicas hidropônicas é de introdução recente e vem se expandindo rapidamente nas proximidades dos grandes centros urbanos, onde há grande demanda por produtos hortícolas e as terras agricultáveis são escassas e caras. Nessas regiões, as hortaliças são produzidas, em sua maior parte, sob cultivo protegido, situação em que o sistema hidropônico apresenta-se como alternativa vantajosa (MARTINEZ; FILHO, 2006).

2.3 Agrotóxicos

Vários são os agrotóxicos usados na plantação de tomate. Alguns são: abamectina, bifentrina, carbofurano, enxofre, mancozebe, profenofós, hidróxido de cobre, estreptomicina, azoxistrobina, flubendiamida, clorotalonil, difenoconazol, idropiona, procimidona, acefato, cipermetrina, deltametrina e imidacloprido. Mesmo com uma grande variedade de agrotóxicos autorizados para a cultura do tomate, ainda sim encontra-se resíduos de agrotóxicos não autorizados para essa cultura, como: pirazofós, clorpirifós, diclorvós e matamidofós, encontrados no último PARA (ANVISA, 2010).

Neste estudo, a análise de resíduos de agrotóxicos restringiu-se aos princípios ativos usados em plantações de tomates hidropônicos na região de Viçosa-MG. Os agrotóxicos estudados foram a Abamectina, a Flubendiamida e o Hidróxido de Cobre (II). Na Tabela 1 encontram-se a fórmula estrutural, a classe, o grupo químico, a classificação toxicológica, a massa molecular, o K_{ow} (coeficiente de partição octanol-água), e a solubilidade em água de cada um dos princípios ativos analisados.

Tabela 1. Fórmula estrutural, classe, grupo químico, classificação toxicológica, massa molar, K_{ow} e solubilidade em água dos princípios ativos analisados.

Agrotóxico	Fórmula Estrutural	Classe	Grupo Químico	Classificação Toxicológica	Massa Molar (g mol ⁻¹)	K_{ow} (pH 7,0 e a 20 °C)	Solubilidade em Água (mg L ⁻¹)
Abamectina		Acaricida e Inseticida	Avermectina	Classe III (Moderadamente tóxico)	866,6	$2,51 \times 10^4$	1,21
Flubendiamida		Inseticida	Diamida do ácido ftálico	Classe III (Moderadamente tóxico)	682,39	$1,58 \times 10^4$	0,029
Hidróxido de Cobre (II)	<chem>Cu(OH)2</chem>	Fungicida e Bactericida	Composto inorgânico	Classe III (Moderadamente tóxico)	97,56	2,75	0,506

Fonte: (ANVISA, 2012c); (IUPAC, 2012); (AGROFIT, 2012).

A Abamectina é produzida pelo fungo ascomiceto *Streptomyces avermitilis*. É uma mistura de dois homólogos das avermectinas denominados B_{1a} e B_{1b}, que consiste em uma quantidade maior ou igual a 80% do componente B_{1a} e uma quantidade menor ou igual a 20% do componente B_{1b} (HERNÁNDEZ-BORGES *et al.*, 2007). Agrotóxicos com este princípio ativo podem ser aplicados em pulverizações com equipamento manual, motorizado, costal, estacionário ou tratorizado. As doses de preparação da calda, usada na plantação de tomate, variam entre 75 e 100 mL do produto comercial/100 L de água, conforme a praga que se queira combater. Para a cultura de tomate, o período de carência, que é o intervalo de tempo, em dias, que deve ser observado entre a aplicação do agrotóxico e a colheita do produto agrícola, deste agrotóxico é de 3 dias (AGROFIT, 2012).

A flubendiamida é um novo pesticida pertencente ao grupo químico das diamidas de ácidos ftálicos. Apresenta excelente atividade em insetos, tanto na fase adulta quanto na fase larval, tendo uma rápida ação e excelente atividade residual contra um amplo espectro de pragas de insetos lepidópteros (PARAMASIVAM; BANERJEE, 2011). Tem um perfil ecológico, ecotoxicológico e ambiental favorável, pois apresenta baixa toxicidade em mamíferos, não possuindo propriedades genotóxicas, mutagênicas e oncogênicas (ESA, 2006). O produto comercial que contém a flubendiamida como princípio ativo deve ser aplicado com equipamentos terrestres (pulverizador costal manual, motorizado e tratorizado). Para a cultura de tomate, a dose recomendada para a preparação da calda é de 10 – 12,5 mL do produto comercial/20 – 30L de água, e seu período de carência é de 7 dias (AGROFIT, 2012).

O cobre (II) é de vital importância para o metabolismo das plantas. Participa de muitos processos fisiológicos, como: fotossíntese, respiração, distribuição de carboidratos, redução e fixação de nitrogênio e metabolismo de proteínas e da parede celular. Além disso, influencia na permeabilidade dos vasos do xilema à água e está envolvido em mecanismo de resistência a doenças. Produtos à base de cobre são utilizados como fungicidas, os quais apresentam baixa toxicidade para as plantas, animais e ambiente, bem como proporcionam ação nutricional para as plantas e exibem certa ação sobre doenças causadas por bactérias (PRADO, 2004)

Os fungicidas cúpricos são considerados produtos preventivos de contato, ou seja, não possuem ação curativa contra doenças fúngicas quando num grau mais

adiantado de infecção; também não são sistêmicos na planta. Portanto, esses fungicidas precisam ser utilizados antes que a doença se estabeleça, devendo a aplicação da calda proporcionar boa cobertura na planta. Apesar de o fungicida cúprico ser um produto relativamente pouco solúvel em água, suas partículas liberam, ao longo do tempo, os íons de cobre (Cu^{2+}) na superfície do tecido vegetal. Estes íons irão interferir fisiologicamente no patógeno (fungo), impedindo a ocorrência da doença. No caso de doenças causadas por bactérias, a ação de controle do íon caracteriza-se mais por uma ação física na superfície do tecido vegetal (“endurecimento da cutícula”), dificultando o estabelecimento das bactérias neste tecido (COOPERCITRUS, 2012).

Os fungicidas cúpricos são aplicados com pulverizador costal ou tratorizado. Na cultura de tomate recomenda-se utilizar de 3 a 4 L do produto comercial/1000 L de água, para a preparação da calda. Essa dose depende da doença a ser combatida. Para esta cultura, o período de carência não apresenta restrições (AGROFIT, 2012).

O limite máximo de resíduos (LMR) é a quantidade máxima de resíduo do princípio ativo, oficialmente aceita no alimento, em decorrência da aplicação adequada numa fase específica, desde sua produção até o consumo, expressa em miligramas do princípio ativo por quilo do alimento analisado (mg/kg). Este parâmetro é o mais importante, não só para a saúde pública, mas também para o comércio internacional, visto que ocasiona diversos impactos que podem representar, em alguns casos, obstáculos ao comércio entre os países, especialmente quando os valores estabelecidos por um país diferem dos estabelecidos por organizações internacionais (FERMAM; ANTUNES, 2009).

Por estas razões, torna-se importante conhecer os LMR's de alguns órgãos nacionais e internacionais, como os designados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária brasileira (ANVISA), a “*European Union*” (EU) e o “*CODEX Alimentarius*” para os princípios ativos em estudo. Esses limites são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Limite máximo de resíduos para os agrotóxicos analisados.

Agrotóxico	LMR – ANVISA (mg kg ⁻¹)	LMR – EU (mg kg ⁻¹)	LMR – CODEX (mg kg ⁻¹)
Abamectina	0,01	0,02	0,02
Flubendiamida	0,10	0,20	2,00
Hidróxido de Cobre (II)	10,00	5,00	n.f.

n.f.: não fornecido

Fonte: (ANVISA, 2012c); (ANVISA, 2012b); (EU, 2012); (CODEX, 2012).

2.4 Métodos de extração

A análise de resíduos de pesticidas em amostras alimentícias geralmente é dificultada devido à presença de interferentes em matrizes complexas (LAMBROPOULOU; ALBANIS, 2007). Por este motivo, vários métodos foram desenvolvidos com o objetivo de maximizar a recuperação de analitos e minimizar a presença de interferentes.

O primeiro método multirresíduo foi desenvolvido na década de 1960 por Mills. Ele se baseia em uma extração com acetonitrila, sendo usado basicamente na determinação de compostos organoclorados apolares em amostras não gordurosas (DÍEZ *et al.*, 2006). Posteriormente, foi desenvolvido o método denominado método de Luke, em 1975, que consiste em uma etapa de extração de 100 g de amostra utilizando acetona (200 mL), seguida de uma partição líquido-líquido com solventes apolares (éter de petróleo e diclorometano), sendo utilizados 100 mL de cada. Com objetivo de obter maiores percentuais de recuperação para os compostos polares, adicionou-se cloreto de sódio (NaCl) na fase aquosa para favorecer a transferência destes para a fase orgânica (SCHENCK, 2002). Devido às questões ambientais, estes métodos foram muito estudados com o intuito de reduzir o volume de solventes utilizado na etapa de extração (PRESTES *et al.*, 2009).

Recentemente, os métodos para análise de resíduos de pesticidas em frutas e vegetais evoluíram significativamente em termos de simplificação, minimização e

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

Entre os métodos analíticos existentes, os mais usados para a extração de pesticidas em amostras alimentícias são a microextração em fase sólida (MEFS) (KATAOKA *et al.*, 2000), extração por barra sortiva (EBS) (SANDRA *et al.*, 2001), extração em fase sólida (EFS) (DI MUCCIO *et al.*, 2006), dispersão de matriz em fase sólida (DMFS) (KRISTENSON *et al.*, 2006), extração assistida por microondas (EAM) (ESKILSSON; BJORKLUND, 2000), e extração por fluido supercrítico (EFS) (LEHOTAY, 1997). Estes métodos são robustos, eficientes e fornecem boa quantidade de dados analíticos. Porém, recentemente, com o objetivo de superar limitações práticas dos métodos já existentes, introduziu-se um novo procedimento de preparo de amostra para a extração de resíduo de agrotóxicos denominado QuEChERS (*quick, easy, cheap, effective, rugged and safe*), que, desde seu desenvolvimento e publicação, tem sido um dos métodos mais usados (PRESTES *et al.*, 2009 & WILKOWSKA; BIZIUK, 2011).

Mesmo com o desenvolvimento dos métodos citados, a extração líquido-líquido continua sendo muito empregada para amostras líquidas, por ser uma técnica simples, que não exige instrumentação sofisticada, e é de fácil execução. Uma variação da técnica de extração líquido-líquido foi, no passado, desenvolvida para extração de pesticidas em plantas e matrizes animais, em que os materiais gordurosos eram separados por precipitação em baixa temperatura. O abaixamento da temperatura a valores tão baixos como o recomendado (-70°C) impedia o uso intensivo do método. Recentemente, o emprego do método de extração líquido-líquido e partição em baixa temperatura (ELL-PBT) foi desenvolvido para a análise de piretróides em leite (GOULART *et al.*, 2008). O método aplicado em amostras de leite consistiu na adição de acetonitrila à amostra em uma proporção de 2:1 (v/v). Com a adição da acetonitrila é formada uma fase única líquida contendo água e

solvente. A mistura formada pela fase líquida e o material sólido do leite é resfriada a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Com o abaixamento da temperatura, o material sólido é precipitado e aprisionado na fase aquosa congelada. A acetonitrila, de temperatura de congelamento igual a $-46\text{ }^{\circ}\text{C}$ mantêm-se líquida e é retirada facilmente. As taxas de recuperação dos piretróides ficaram próximas de 90%, não sendo necessários outros processos de purificação (VIEIRA *et al.*, 2007).

Outro método bastante empregado na extração de pesticidas em amostras ambientais é a extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura. Este método foi adaptado para análise simultânea de quatro pesticidas em amostras de batata (DARDENGO, 2007).

Os solventes mais empregados nos métodos ELL-PBT e ESL-PBT são a acetonitrila, acetato de etila, metanol e acetona. Estes métodos apresentam como vantagens: baixo consumo de solvente e ausência de etapas de *clean-up*, muitas vezes requeridas em vários outros métodos de extração.

2.5 Técnicas de análise

Devido às baixas concentrações de resíduos de agrotóxicos nos alimentos, torna-se um grande desafio monitorá-los. Uma técnica bastante aplicada na análise de resíduos de agrotóxicos é a cromatografia, podendo ela ser a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ou a gasosa (CG). Cromatografia é empregada de forma ampla, permitindo a separação, identificação e determinação de componentes químicos em misturas complexas. A cromatografia é considerada uma técnica poderosa e de aplicação bastante generalizada (SKOOG *et al.*, 2005).

Na cromatografia gasosa (CG), a separação baseia-se na diferente distribuição das substâncias da amostra entre uma fase estacionária (sólida ou líquida) e uma fase móvel (gasosa). A amostra, por meio de um sistema de injeção, é introduzida em uma coluna contendo a fase estacionária. O uso de temperaturas convenientes no local de injeção da amostra e na coluna possibilita a vaporização dessas substâncias que, de acordo com suas propriedades e as da fase estacionária, são retidas por tempos determinados e chegam à saída da coluna em

tempos diferentes. O uso de detector adequado na saída da coluna torna possível a detecção e quantificação dessas substâncias (COLLINS *et al.*, 2006).

Na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), o analito a ser analisado dilui na fase móvel, a qual o levará até uma coluna cromatográfica, onde ocorrerá a separação, devido à partição entre as fases. O sucesso do uso da cromatografia líquida requer a combinação certa de uma variedade de condições, como o tipo de coluna, seu diâmetro e temperatura; o tipo da fase móvel e seu fluxo, e a quantidade de amostra. Para selecionar a melhor condição cromatográfica, faz-se necessário um estudo destes parâmetros (LANÇAS, 2009).

A instrumentação da CLAE é composta basicamente de oito componentes, que são: reservatório da fase móvel, bombas de alta pressão, sistema de introdução da amostra, coluna, detector, reservatório de resíduos, tubos conectores e computador com um programa de integração de picos (SETTLE, 1997).

Neste estudo, os compostos flubendiamida e abamectina foram analisados por cromatografia líquida. Os cromatógrafos podem ser acoplados a diferentes detectores. No entanto para a abamectina, muitos estudos reportam o uso dos detectores de fluorescência, UV-Vis e espectrometria de massa em diversas matrizes analisadas (VUIK, 1991 & DISERENS; HENZELIN, 1999 & VALENZUELA *et al.*, 2000 & WU *et al.*, 2001 & POZO *et al.*, 2003 & SARI *et al.*, 2004 & HERNÁNDEZ-BORGES *et al.*, 2007). Na análise da flubendiamida, os detectores de UV-Vis (feixe simples) e UV com arranjo de diodos são usados para a avaliação de resíduos deste pesticida em diferentes matrizes (BATTU *et al.*, 2008 & MOHAPATRA *et al.*, 2011 & PARAMASIVAM; BANERJEE, 2011 & SINGH *et al.*, 2011 & KALE *et al.*, 2012 & PARAMASIVAM; BANERJEE, 2012).

2.6 Análise de cobre

A ingestão de cobre (II) é indispensável à saúde humana, sendo essencial para diversas funções, como: mobilização do ferro para a síntese de hemoglobina e componente de várias enzimas. Sua deficiência provoca anemia e retardo do crescimento. No entanto, quantidades elevadas de cobre podem ser prejudiciais à saúde, causando irritação no nariz e na garganta, náusea, vômitos e diarreia. Além

disso, doses muito elevadas de cobre podem causar danos ao fígado e rins (ANDRADE *et al.*, 2004 & TOKALIOĞLU; LIVKEBABCİ, 2009).

Devido a esses fatores, vê-se a importância da análise de cobre (II) em amostras de tomate. Vários métodos são sugeridos para análise de metais em amostras vegetais, porém o mais recomendado refere-se à digestão da amostra e análise por absorção atômica. A digestão da amostra pode ser feita via seca ou via úmida. A digestão por via seca é uma das técnicas mais antigas e simples de análise de amostras vegetais. Na digestão por via seca a matéria orgânica do vegetal é incinerada na mufla a 450-550 °C, e o resíduo inorgânico (cinza) é dissolvido na solução de ácido diluído. Já na digestão por via úmida a matéria da amostra vegetal é oxidada com ácidos minerais concentrados e a quente. Os ácidos HCl, HNO₃, HClO₄ e H₂SO₄ são utilizados individualmente ou misturados (SILVA, 1999).

Um método bem sucedido e um dos mais utilizados na determinação de metais em baixa concentração é a espectrofotometria de absorção atômica em chama (EAA), em razão de sua simplicidade, efetividade e custo relativamente baixo. Este método é muito usado para determinações de rotina de traços (SKOOG *et al.*, 2005).

A determinação de espécies atômicas somente é feita em meio gasoso. Por esse motivo, a primeira etapa de todos os procedimentos da espectrofotometria atômica é a atomização, processo no qual a amostra é volatilizada e decomposta em átomos em fase gasosa (HARVEY, 2000). Esse processo, aliado a introdução da amostra, é um dos mais importantes nas determinações por EAA, uma vez que está diretamente relacionado com a sensibilidade do método.

Na EAA com chama, a solução a ser analisada é aspirada por um nebulizador, que introduz a amostra constantemente, convertendo-a em uma névoa. Dito mais detalhadamente, a amostra, que passa por um tubo capilar, é aspirada por uma câmara de pulverização por passagem de uma corrente de gás de alta vazão, a qual pode ser constituída por um ou mais gases de combustão. O impacto da amostra com dispersores (usualmente pérolas de vidro), presente no nebulizador, produz um aerossol. A névoa de aerossol se mistura com os gases de combustão na câmara de pulverização antes de passar para o queimador, onde a energia térmica da chama transforma a névoa de aerossol em névoa de aerossol seco, constituído

por pequenas partículas sólidas. Esta energia térmica volatiliza as partículas, produzindo um vapor que consiste em espécies iônicas e átomos livres (HARVEY, 2000).

A fonte mais usual é a lâmpada de catodo oco, que contém o analito de interesse. Esse elemento é excitado pela passagem de corrente, gerando um conjunto de linhas de radiação. Esse feixe de radiação é incidido no vapor formado por espécies iônicas e átomos livres. Esta radiação atenuada da fonte entra em um monocromador, o qual isola a linha de interesse. Em seguida, a potência radiante da fonte (intensidade de luz transmitida), ou seja, aquela atenuada pela absorção dos átomos no estado gasoso é medida pelo detector (um fotomultiplicador ou um detector de estado sólido). O sinal é então processado e dirigido para um sistema computacional (SKOOG *et al.*, 2005).

3 Objetivos

3.1 Objetivo geral

- Avaliar a contaminação por agrotóxico de uma cultura de tomate hidropônico produzido na região de Viçosa-MG, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência e espectrofotometria de absorção atômica.

3.2 Objetivos específicos

- Validar o método de extração, ESL-PBT (extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura), e análise para avaliar a contaminação da cultura de tomate, por agrotóxicos;
- Aplicar o método validado para a identificação e quantificação, se presentes, dos agrotóxicos, em amostras de tomate coletadas no período de novembro de 2011 a junho de 2012;
- Avaliar o teor de cobre (II) presente nas amostras de tomate hidropônico, no período de novembro de 2011 a junho de 2012, utilizando espectrofotometria de absorção atômica em chama.

4 Materiais e Métodos

4.1 Características da cultura de tomate hidropônico

O cultivo do tomate hidropônico foi realizado pelo Sítio Gameleira, localizado nas proximidades de Viçosa-MG, sendo a variedade do tomate hidropônico Dominador F₁. O cultivo foi realizado em 5 estufas com dimensões iguais a 60 x 8 m. Nestas, os tomateiros foram plantados em vasos, de capacidade de aproximadamente 10 L, contendo areia como substrato. Fez-se a irrigação das plantas por gotejamento com a solução nutritiva.

Os tomateiros estavam organizados nas estufas em linhas. Cada estufa tinha aproximadamente 6 linhas, e cada linha, aproximadamente 220 plantas.

O tutoramento, que consiste na condução das plantas à medida que desenvolvem, foi feito com fitilhos, que servem de apoio e sustentação para as plantas.

Realizou-se o cultivo hidropônico dos tomateiros por meio do sistema aberto, no qual a solução nutritiva não é reaproveitada.

4.2 Agrotóxicos

Os produtos comerciais Vertimec 18EC® (Syngenta), Belt® (Bayer) e Supera® (Oxiquímica), que têm como princípio ativo a abamectina, a flubendiamida e o hidróxido de cobre (II), respectivamente, foram pulverizados com um pulverizador manual. Aplicaram-se os agrotóxicos nas plantas de tomates hidropônicos, quando necessário.

Utilizaram-se os agrotóxicos Vertimec 18EC® e Belt® somente no período de verão, com o objetivo de prevenção de ácaros e larvas de insetos. Já o Supera® foi aplicado durante todo o período do monitoramento da contaminação dos tomates hidropônicos, visando controle de doenças fúngicas e bacterianas.

Na preparação da calda utilizaram-se 50 mL do Supera®, 20 mL de Vertimec 18EC® e 2 mL de Belt® em 20 L de água.

Os agrotóxicos foram aplicados durante a fase inicial de 30 a 50 dias, utilizando-se 20 L de calda, uma vez por semana, e na fase adulta, de 60 a 90 dias, usando-se 40 a 60 L de calda, também uma vez por semana. Essas quantidades não variaram nos períodos em que se usavam todos os agrotóxicos ou apenas um.

4.3 Coleta de amostras para a avaliação dos níveis de contaminação de tomates hidropônicos produzidos na região de Viçosa-MG

O período de coleta dos frutos iniciou-se em novembro de 2011, estendendo-se até junho de 2012. A coleta, de aproximadamente 10 frutos por estufa, ocorreu semanalmente, em duas fases de maturação: verdes e maduros. Os frutos foram retirados de plantas aleatórias, de diferentes estufas e em diferentes alturas das plantas.

Durante o processo de embalagem dos frutos fez-se uma limpeza deles utilizando toalhas de papel, numa tentativa de reduzir o material particulado em sua superfície externa. Dessa forma, quatro tipos de amostras foram denominadas para este estudo: tomate verde não-limpo (TVNL), tomate verde limpo (TVL), tomate maduro não-limpo (TMNL) e tomate maduro limpo (TML).

Na Tabela 3, são apresentados os produtos comerciais, princípios ativos, dosagens para a preparação das caldas, data de aplicação e datas das amostragens dos frutos analisados.

Tabela 3. Produto comercial (princípio ativo), dosagem da calda, data de aplicação e datas de amostragens do tomate cultivado no sistema hidropônico.

Produto comercial (princípio ativo)	Dosagem da calda	Data de aplicação	Datas de amostragens
Período de amostragem: 14/11/2011 – 24/11/2011 (Estufa 5)			
Supera® (Hidróxido de Cobre)	2,5 mL/L	07/11/2011	14/11/2011 24/11/2011
Período de amostragem: 20/12/2011 – 18/01/2012 (Estufa 3)			
Supera® (Hidróxido de Cobre)	2,5 mL/L	07/12/2011	20/12/2011 18/01/2012
Período de amostragem: 25/01/2012 – 15/02/2012 (Estufa 2)			
Supera® (Hidróxido de Cobre)	2,5 mL/L	21/01/2012	25/01/2012 01/02/2012 08/02/2012 15/02/2012
Vertimec 18EC® (Abamectina)	1 mL/L		
Belt® (Flubendiamida)	0,1 mL/L		
Período de amostragem: 06/03/2012 – 23/03/2012 (Estufa 1)			
Supera® (Hidróxido de Cobre)	2,5 mL/L	31/01/2012	06/03/2012 13/03/2012 23/03/2012
Belt® (Flubendiamida)	0,1 mL/L		
Período de amostragem: 12/04/2012 – 25/04/2012 (Estufa 4)			
Supera® (Hidróxido de Cobre)	2,5 mL/L	20/03/2012	12/04/2012 18/04/2012 25/04/2012

Tabela 3 (cont.). Produto comercial (princípio ativo), dosagem da calda, data de aplicação e datas de amostragens do tomate cultivado no sistema hidropônico.

Produto comercial (princípio ativo)	Dosagem da calda	Data de aplicação	Datas de amostragens
Período de amostragem: 09/05/2012 – 06/06/2012 (Estufa 5)			
Supera® (Hidróxido de Cobre)	2,5 mL/L	08/05/2012 15/05/2012	09/05/2012
Vertimec 18EC® (Abamectina)	1 mL/L		23/05/2012
Belt® (Flubendiamida)	0,1 mL/L		30/05/2012
			06/06/2012

4.4 Preparo das soluções-padrão

Soluções-estoque de 1000 mg L⁻¹ foram preparadas pela solubilização de quantidade adequada dos princípios ativos abamectina (93% m/m – Dr. Ehrenstorfer GmbH) e flubendiamida (98% m/m - Dr. Ehrenstorfer GmbH) em acetonitrila (Sigma-Aldrich) grau HPLC. A solução trabalho contendo os dois princípios ativos, na concentração de 100 mg L⁻¹, foi preparada pela diluição das soluções-estoque no mesmo solvente.

Estas soluções foram armazenadas em freezer à temperatura de aproximadamente -20 °C.

4.5 Análise cromatográfica

As análises cromatográficas foram feitas por CLAE (Shimadzu LC20AT) equipado com detector UV-Vis (Shimadzu SPD 20A), forno da coluna (Shimadzu CTO 10ASVP), injetor automático (Shimadzu SIL 10AF) e sistema de integração (Shimadzu LabSolution). A coluna utilizada foi a Phenomenex Luna 3µm, C₁₈, 150 x 4,6 mm.

Como as análises dos princípios ativos foram realizadas por CLAE acoplado a um detector UV-Vis, fez-se uma varredura para obtenção do espectro de absorção de cada princípio ativo em um espectrofotômetro (Varian – Cary 50), na região do UV-Vis (190 – 290 nm), a fim de se conhecer o comprimento de onda de máxima absorção dos princípios ativos de interesse (HERNÁNDEZ-BORGES *et al.*, 2007 & PARAMASIVAM; BANERJEE, 2011).

As leituras foram feitas com os padrões diluídos nas concentrações de 10 mg L⁻¹ e 5 mg L⁻¹ de flubendiamida e abamectina, respectivamente.

Otimizaram-se as seguintes condições cromatográficas: proporção de fase móvel (acetonitrila:água), vazão da fase móvel e comprimento de onda de máxima absorção dos compostos.

4.6 Método de extração

O método de extração usado para o monitoramento de resíduo de agrotóxicos em tomate foi adaptado de estudos desenvolvidos por Pinho *et al.* (2010b).

O tomate foi triturado em um liquidificador doméstico (Walita) até completa homogeneização, transformando-se em polpa. Após este procedimento, em frascos de vidro, com capacidade de 22 mL, foram medidos 4,0000 g da polpa em uma balança analítica (Sartorius), com precisão de 0,1 mg. Em seguida, a mistura extratora, na proporção 1:2 (amostra:mistura extratora), que consistia em 0,5 mL de água destilada, 1,5 mL de acetato de etila (Vetec) e 8,0 mL de acetonitrila (Sigma-Aldrich – grau HPLC), foi adicionada à polpa de tomate. A mistura foi homogeneizada em mesa agitadora (Tecnal - 420) por 15 minutos, a 275 oscilações por minuto. Logo depois, a mistura foi levada para uma centrífuga (FANEM – modelo 206 MP) e centrifugada a 854,7 g, por 5 minutos. Após a centrifugação, os frascos foram deixados em freezer por 3 horas, para que houvesse a separação das fases pelo congelamento da fase aquosa e da polpa. Posteriormente, 1,8 mL da fase orgânica, que fica como sobrenadante, foi recolhido em uma seringa, na qual foi acoplado um filtro (Millex™) com membrana PTFE modificada, de 13 mm de diâmetro, com 0,45 µm de porosidade. Por último, as amostras foram filtradas em *vials* e analisadas por CLAE-UV-Vis, nas condições previamente estabelecidas.

4.7 Validação do método de extração

Na validação do método de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT), em tomate, e na análise por cromatografia líquida de alta eficiência com detector UV-Vis foram avaliados os seguintes parâmetros de desempenho analítico: seletividade e efeito de matriz, linearidade de resposta do método, limites de detecção e de quantificação do método, veracidade e precisão (repetitividade e precisão intermediária). Os procedimentos realizados para a validação do método foram baseados em orientações encontradas na literatura (MAPA, 2011), (INMETRO, 2010), (EURACHEM, 2005), (RIBANI *et al.*, 2004), (ANVISA, 2003), (INMETRO, 2003), (THOMPSON *et al.*, 2002), (ICH, 1995).

4.7.1 Seletividade e efeito de matriz

Seletividade de um método refere-se à extensão até a qual ele pode determinar analito(s) específico(s) numa mistura complexa, sem interferência de outros componentes na mistura (EURACHEM, 2005).

A avaliação da seletividade foi feita comparando-se cromatogramas de extratos da matriz isenta dos princípios ativos estudados, matriz branca, com cromatogramas de uma solução-padrão contendo os princípios ativos.

Para avaliação do efeito de matriz, fizeram-se duas curvas analíticas: uma contendo flubendiamida e abamectina em acetonitrila, e outra, os mesmos compostos fortificados no extrato da matriz. Este extrato foi obtido de amostras de tomate isentas dos princípios ativos, submetida à técnica ESL-PBT adaptada. Todas as soluções deste ensaio foram preparadas em triplicata.

As concentrações de flubendiamida e abamectina usadas para a construção das curvas foram: 0,6; 1,9; 3,2; 4,4; 5,7; 6,9 mg L⁻¹.

Concluída a análise das soluções em acetonitrila e no extrato da matriz por CLAE-UV-Vis, foram construídas duas curvas analíticas para cada princípio ativo. Posteriormente, calculou-se a porcentagem do efeito de matriz, sendo o cálculo realizado segundo a Equação (1) (Pinho *et al.*, 2010c).

$$\text{Efeito de matriz (\%)} = \frac{(X_1 - X_2)}{X_2} \times 100 \quad \text{Equação (1)}$$

Em que:

X_1 = média das áreas da solução analítica de cada agrotóxico, preparada no extrato da matriz, em dada concentração.

X_2 = média das áreas da solução analítica de cada agrotóxico, preparada no solvente, em dada concentração.

Com o objetivo de compensar um possível efeito de matriz na análise cromatográfica dos compostos estudados, a curva analítica foi obtida pelo método de superposição de matriz.

4.7.2 Linearidade de resposta do método

Na avaliação da linearidade, amostras de tomate isentas do princípio ativo foram fortificadas em níveis de concentração iguais a: 1,5; 4,5; 7,5; 10,5; 13,5; 16,5 mg/kg de flubendiamida e abamectina. Após 1 hora da fortificação, as amostras foram submetidas à técnica de extração e análise do extrato por CLAE/UV-Vis.

A linearidade foi avaliada pelo coeficiente de correlação obtido pela regressão linear e pelos resíduos da curva analítica.

4.7.3 Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método

O limite de detecção é determinado como a menor concentração do analito que pode ser diferenciada do ruído do sistema, com segurança (LANÇAS, 2009).

Nesta validação, o LD foi determinado usando-se o método baseado nos parâmetros da curva analítica, descrito no item 4.7.2, sendo calculado segundo a Equação (2) (ICH, 1995).

$$LD = 3,3 \times \frac{s}{S} \quad \text{Equação (2)}$$

Em que:

s = estimativa do desvio padrão do branco estimado.

S =sensibilidade analítica.

O limite de quantificação é a menor concentração do analito que pode ser quantificada na amostra, com um erro máximo pré-estabelecido. No seu cálculo usa-se o mesmo critério de LD, segundo a Equação (3) (ICH, 1995).

$$LQ = 10 \times \frac{s}{S} \quad \text{Equação (3)}$$

4.7.4 Veracidade/Recuperação

Neste ensaio, a matriz branca foi fortificada em três níveis de concentração: 1,5; 7,5 e 13,5 mg/kg; em cada nível de concentração fizeram se seis repetições.

Feita a fortificação, as amostras foram submetidas ao processo de extração, conforme descrito no item 4.6, e analisadas por CLAE-UV-Vis. A veracidade/recuperação foi avaliada pelo fator de recuperação (f_{rec}), ou seja, pela concentração final do analito presente no extrato.

4.7.5 Precisão

A precisão avalia o grau de dispersão entre várias medidas efetuadas na mesma amostra. Esta pode ser expressa por meio da repetitividade e da precisão intermediária, que são avaliadas em termos do coeficiente de variação.

4.7.5.1 Repetitividade

É a precisão relacionada a medições feitas sob condições que podem ser repetidas, isto é: mesmo método, mesmo material, mesmo operador, mesmo laboratório e curto período de tempo entre as medições (EURACHEM, 2005).

A repetitividade foi expressa quantitativamente em termos da característica da dispersão dos resultados, sendo determinada por meio da adição dos analitos ao branco da amostra, em três níveis de concentração, baixa, média e alta, que foram: 1,5; 7,5 e 13,5 mg/kg. Após a adição dos analitos, as amostras foram submetidas à técnica de extração. Este ensaio foi realizado com seis repetições.

4.7.5.2 Precisão Intermediária

O ensaio da precisão intermediária é basicamente o mesmo da repetitividade, apresentando pequenas variações, como: ensaios realizados por diferentes analistas, diferentes equipamentos ou diferentes dias (INMETRO, 2010).

Para a avaliação da precisão intermediária decidiu-se realizar o ensaio em diferentes dias, e este foi realizado em três dias consecutivos.

4.8 Preparação da amostra e análise de cobre (II)

A mesma polpa que se utilizou para a determinação de resíduos de flubendiamida e abamectina foi usada para a determinação de cobre (II) na amostra.

Em cadinhos de porcelana foram medidos 2,0000 g de polpa, em balança analítica. Em seguida, os cadinhos foram levados para a mufla (Fornitec), aumentando-se a temperatura gradativamente, até atingir 550 °C. Atingida esta temperatura, os cadinhos permaneceram por 3 horas dentro da mufla, até total incineração das amostras. Posteriormente, os cadinhos foram esfriados a temperatura ambiente. Em seguida, 25 mL de uma solução de HNO₃ 1 mol L⁻¹ foram adicionados aos cadinhos para a solubilização das cinzas formadas pela incineração. Após a solubilização, as soluções da digestão seca foram armazenadas em frascos de polietileno até o momento da análise. Este ensaio foi realizado em triplicata.

As análises das amostras foram feitas em um espectrofotômetro de absorção atômica (Varian – modelo Spectr. AA 200). As amostras foram aspiradas diretamente em chama ar:acetileno (cerca de 2200 °C), sendo ajustados a altura da fenda e o fluxo de aspiração das amostras.

O comprimento de onda usado para a determinação do cobre (II) foi de 324,8 nm, e a curva analítica compreendeu uma faixa de concentração entre 0,5 mg L⁻¹ e 5 mg L⁻¹.

5 Resultados e Discussão

5.1 Análise cromatográfica

Os comprimentos de onda de máxima ($\lambda_{\text{máx}}$) absorção dos princípios ativos flubendiamida e abamectina foram próximos de 230 nm, alcançando uma absorvidade molar suficiente para poder identificar os compostos. Além disso, esse comprimento de onda é próximo aos encontrados na literatura para determinação desses agrotóxicos por CLAE-UV-Vis (MAYNARD *et al.*, 1989 & VUIK, 1991 & SARI *et al.*, 2004 & PARAMASIVAM; BANERJEE, 2011 & SINGH *et al.*, 2011 & KALE *et al.*, 2012). Por esse motivo, decidiu-se iniciar a otimização das condições cromatográficas com o comprimento de onda de máxima absorção de 230 nm para os dois compostos.

As condições cromatográficas otimizadas que permitiram a separação adequada, com picos bem separados e simétricos, dos princípios ativos flubendiamida e abamectina em menor tempo foram: fase móvel: acetonitrila:água (80:20); vazão da fase móvel: 0,8 mL/min; e comprimento de onda: 230 nm. A temperatura da coluna e o volume de injeção foram de 30 °C e 20 μ L, respectivamente. O tempo total da análise foi de 15 minutos.

A abamectina é composta por dois homólogos das avermectinas B_{1a} e B_{1b}, sendo o homólogo B_{1a} presente em maior quantidade e B_{1b} em menor quantidade (HERNÁNDEZ-BORGES *et al.*, 2007). Porém, neste estudo foi monitorada somente a presença do homólogo B_{1a}, pois os cromatogramas dos padrões puros continham muitos ruídos, não sendo possível a confirmação do homólogo B_{1b}. Então as análises cromatográficas restringiram-se apenas à identificação da avermectina B_{1a}.

Na Figura 10 é apresentado um cromatograma da solução-padrão dos princípios de interesse.

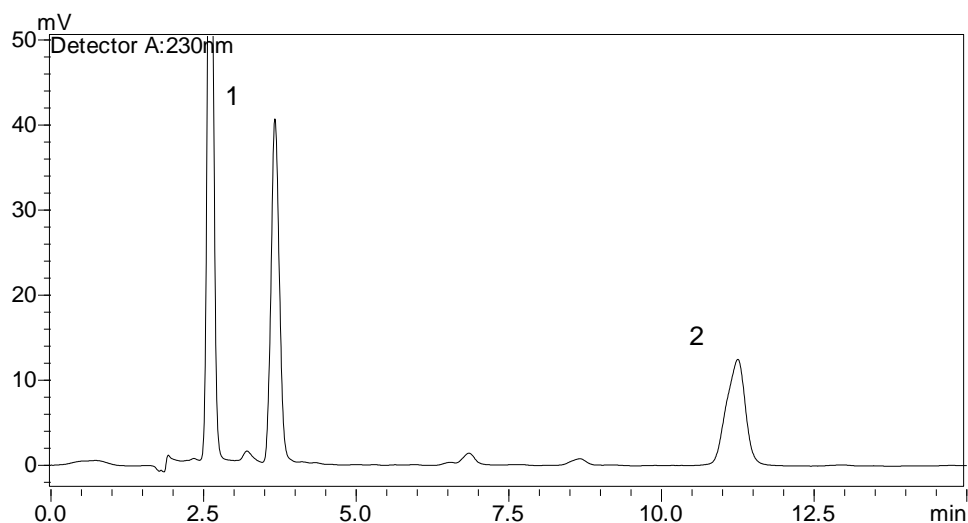


Figura 1. Cromatograma de uma solução-padrão de flubendiamida (1 – $t_R = 3,6$ min) e abamectina (B_{1a}) (2 – $t_R = 11,2$ min) na concentração de 6 mg L^{-1} em acetonitrila.

5.2 Validação do método de extração

Para garantir que as características de desempenho de um método sejam entendidas e demonstrar que o método seja coerente, sob as condições nas quais ele deve ser aplicado, verificações precisam ser realizadas. A validação de um método estabelece, através de estudos sistemáticos de laboratório, que o método é adequado à finalidade, isto é, suas características de desempenho são capazes de produzir resultados correspondentes às necessidades do problema analítico (EURACHEM, 2005).

A validação deve ser considerada quando se desenvolvem ou efetuam adaptações em metodologias já validadas, inclusão de novas técnicas ou uso de diferentes equipamentos (BRITO *et al.*, 2003). Neste trabalho, o método utilizado foi desenvolvido para determinação de diferentes agrotóxicos por cromatografia a gás (PINHO *et al.*, 2010b), por esse motivo fez-se necessária a validação do método para determinação por CLAE.

Na avaliação do desempenho do método analítico usado para a determinação de resíduos de flubendiamida e abamectina (B_{1a}), foram considerados os parâmetros descritos a seguir, segundo recomendações do MAPA (2011), INMETRO (2010), (RIBEIRO *et al.*, 2008), EURACHEM (2005), (RIBANI *et al.*, 2004), (INMETRO, 2003) e (ANVISA, 2003).

5.2.1 Seletividade e efeito de matriz

A seletividade, que corresponde à capacidade de um método para determinar um ou mais analitos de maneira inequívoca na presença de substâncias que possam interferir em uma determinação, foi comprovada pela comparação de cromatogramas de uma solução-padrão com amostras livres de contaminação (Figura 11), as quais foram submetidas à ESL-PBT e à análise por CLAE-UV-Vis.

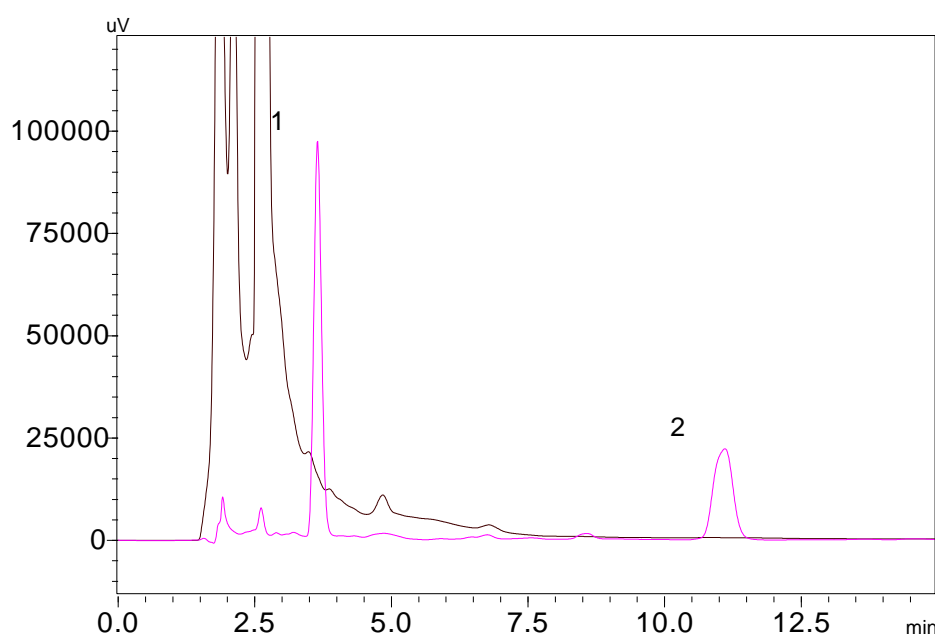


Figura 2. Superposição de dois cromatogramas obtidos pela ESL-PBT: Cromatograma da matriz branca (preto) e cromatograma de uma solução-padrão (rosa) de (1) flubendiamida ($t_R = 3,6$ min) e (2) abamectina(B_{1a}) ($t_R = 11,2$ min) a 10 mg L^{-1} .

A amostra de tomate, mesmo sendo uma matriz complexa, não apresentou interferentes no mesmo tempo de retenção da flubendiamida e abamectina (B_{1a}), o que torna o método seletivo.

Outro estudo da seletividade é o efeito de matriz, que tem como objetivo avaliar possíveis interferências causadas pelas diversas substâncias que compõem a matriz, gerando, basicamente, diminuição ou ampliação da resposta instrumental (MAPA, 2011).

No estudo de amostras complexas, a quantificação dos compostos de interesse pode ser afetada pelos coextrativos existentes na matriz, levando a um aumento (efeito de matriz positivo) ou diminuição (efeito de matriz negativo) da resposta cromatográfica (HAJSLOVÁ; ZROSTLÍKOVÁ, 2003). Por esse motivo, o efeito de matriz é considerado como um ponto chave na validação do método. A avaliação do efeito de matriz deve ser demonstrada em uma faixa de concentração de interesse (MENKISSOGLU-SPIROUDI; FOTOPOULOU, 2004).

O efeito de matriz foi avaliado de acordo com o procedimento descrito no item 4.7.1. As curvas analíticas obtidas foram preparadas pela dissolução da solução-padrão dos compostos em acetonitrila (solvente) e no extrato da matriz branca (extrato), e avaliadas por comparação das inclinações das retas, como mostrado nas Figuras 12 e 13.

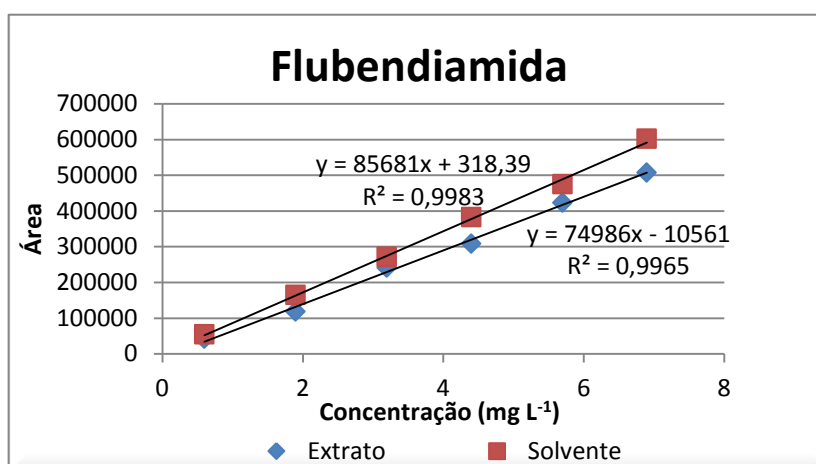


Figura 3. Curvas analíticas construídas a partir da análise cromatográfica de soluções-padrão de flubendiamida preparadas em solvente (acetonitrila) e no extrato da matriz isenta de contaminação.

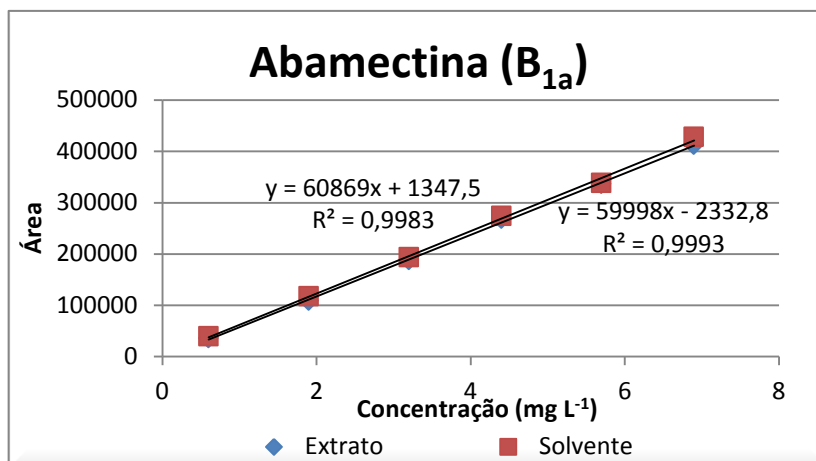


Figura 4. Curvas analíticas construídas a partir da análise cromatográfica de soluções-padrão de abamectina (B_{1a}) preparadas em solvente (acetonitrila) e no extrato da matriz isenta de contaminação.

Na Figura 12, observa-se que na faixa de concentração estudada as inclinações das curvas analíticas preparadas em acetonitrila e no extrato da matriz não são correspondentes. Ao analisar as inclinações das retas, vê-se uma diferença em seus valores: a maior inclinação da curva preparada no solvente indica respostas cromatográficas maiores, quando comparada com a inclinação da curva preparada no extrato. Isso comprova que para este composto a presença da matriz interfere, significativamente, na análise cromatográfica.

Já as curvas analíticas do princípio ativo abamectina (B_{1a}), Figura 13, são semelhantes, e suas inclinações não apresentam grande diferença em seus valores, o que indica que a presença da matriz não interfere na análise cromatográfica.

A avaliação da porcentagem do efeito de matriz nos extratos de tomate nas análises por CLAE-UV-Vis foi feita pela comparação entre as áreas obtidas das soluções analíticas preparadas em solvente e nos extratos da matriz. Os cálculos foram realizados empregando a Equação (1). Os resultados da porcentagem do efeito de matriz são apresentados nas Figuras 14 e 15 (PINHO *et al.*, 2010c).

$$\text{Efeito de matriz (\%)} = \frac{(X_1 - X_2)}{X_2} \times 100 \quad \text{Equação (1)}$$

Em que:

X_1 = média das áreas da solução analítica de cada agrotóxico, preparada no extrato da matriz, em dada concentração.

X_2 = média das áreas da solução analítica de cada agrotóxico, preparada no solvente, em dada concentração.

Como visto pelas curvas analíticas, a matriz influencia na análise cromatográfica da flubendiamida, e isso pode ser confirmado pela Figura 14. Segundo HAJŠLOVÁ e ZROSTLÍKOVÁ (2003), quando o resultado apresentar variação de 10%, considera-se que o efeito de matriz começa a exercer influência nas análises. No gráfico, observa-se que a matriz exerce efeito negativo, reduzindo a resposta cromatográfica da flubendiamida no extrato, fato este que pode ser visto na curva analítica. Quanto ao comportamento do efeito de matriz, não é possível traçar nenhuma tendência em relação às concentrações estudadas.

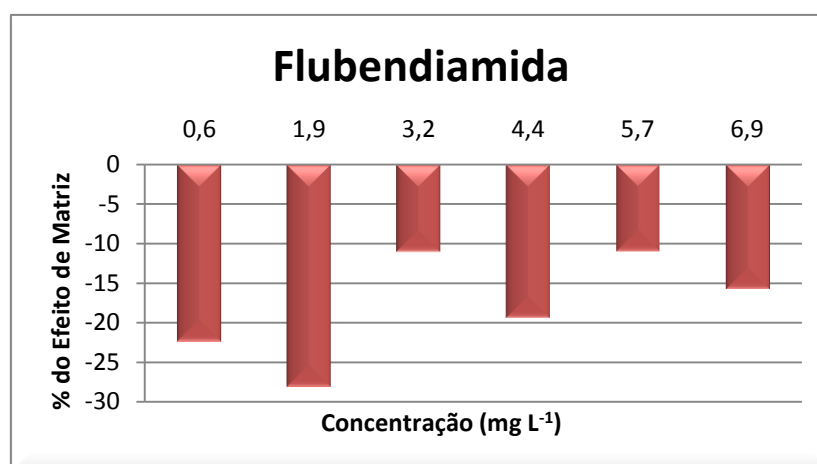


Figura 5. Porcentagem do efeito de matriz para a flubendiamida em amostras de tomate.

Confirmando a ausência do efeito de matriz na análise da abamectina (B_{1a}) tem-se a Figura 15, que apresenta efeito de matriz menor que 10%.

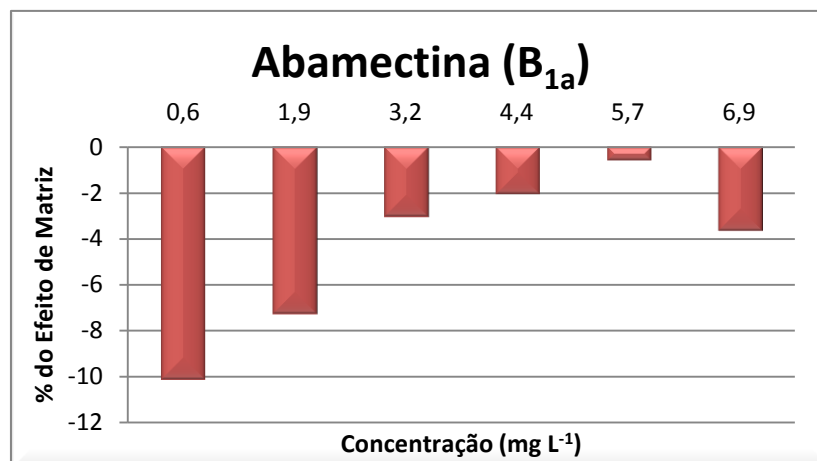


Figura 6. Porcentagem do efeito de matriz para a abamectina (B_{1a}) em amostras de tomate.

Dessa forma, pode-se concluir que somente a flubendiamida sofre influência dos componentes da matriz, influência esta que se caracteriza por um efeito negativo, no qual os componentes da matriz reduzem a resposta cromatográfica.

Com o objetivo de reduzir a presença de interferentes da matriz, foi usado o método de superposição de matriz na avaliação da linearidade de resposta do método, limite de detecção e quantificação, veracidade/recuperação e precisão. Este método consiste na adição das substâncias de interesse em diferentes concentrações na matriz a ser estudada, isenta dos princípios ativos de interesse. Posteriormente, constrói-se uma curva analítica relacionando as áreas obtidas com as concentrações dos padrões das substâncias. O método de superposição de matriz é usado para compensar o efeito de matriz, sendo de suma importância em determinações quando interferentes podem afetar a pré-concentração, extração, separação ou detecção da substância de interesse (RIBANI *et al.*, 2004).

5.2.2 Linearidade de resposta do método

A linearidade do método expressa, dentro de um intervalo específico, quanto o sinal analítico, denominado variável dependente y_i , é linearmente proporcional à sua concentração, denominada variável independente x_i . A equação matemática que descreve esta dependência é conhecida como curva analítica (RIBEIRO *et al.*, 2008). Para a obtenção da curva analítica utiliza-se o modelo de regressão linear com ajuste por mínimos quadrados.

Julga-se satisfatória a linearidade do gráfico quando o coeficiente de correlação (r) da reta obtida for próximo de 1; neste caso tem-se menor dispersão do conjunto dos pontos experimentais. O INMETRO (2003) e a ANVISA (2003) recomendam um coeficiente de correlação acima de 0,90 e 0,99, respectivamente. No entanto, apenas o valor do coeficiente de correlação não é suficiente para garantir a adequação do ajuste linear à curva analítica. Curvas analíticas que apresentam valores de resíduos elevados no sinal analítico ou pontos mal distribuídos ao longo da faixa analítica poderão fornecer bom coeficiente de correlação, mesmo que uma função linear não seja a melhor descrição para o comportamento entre as variáveis dependente e independente. Para evitar problemas de falta de ajuste durante a modelagem, faz-se necessária a análise cuidadosa do gráfico dos resíduos do sinal analítico (RIBEIRO *et al.*, 2008).

Na obtenção da curva analítica pelo método dos mínimos quadrados, considera-se que os erros são aleatórios, com média igual a zero e variância constante, caracterizando a homocedasticidade, que é a homogeneidade da variância dos resíduos. Estes constituem a diferença entre o sinal analítico medido (y_i) e o sinal analítico predito (\hat{y}_i) e são calculados a partir da equação de regressão. O resíduo do modelo auxilia na avaliação das suposições necessárias ao modelo de regressão, através do gráfico de resíduos (ANDERSON, 1987).

Dessa forma, a linearidade de resposta do método foi verificada pela análise dos extratos preparados a partir de amostras de tomate fortificadas com diferentes concentrações e submetidas à técnica ESL-PBT. Após a análise cromatográfica, foram construídas curvas analíticas para os dois compostos em estudo. As curvas foram avaliadas por métodos estatísticos, como regressão linear pelo método dos mínimos quadrados, análise dos resíduos do sinal analítico e pelo teste de homocedasticidade dos dados.

Nas Figuras 16 e 17 são apresentadas as equações das curvas analíticas bem como os valores de R^2 (coeficiente de determinação) obtidos para a flubendiamida e abamectina (B_{1a}) pelo método de superposição de matriz.

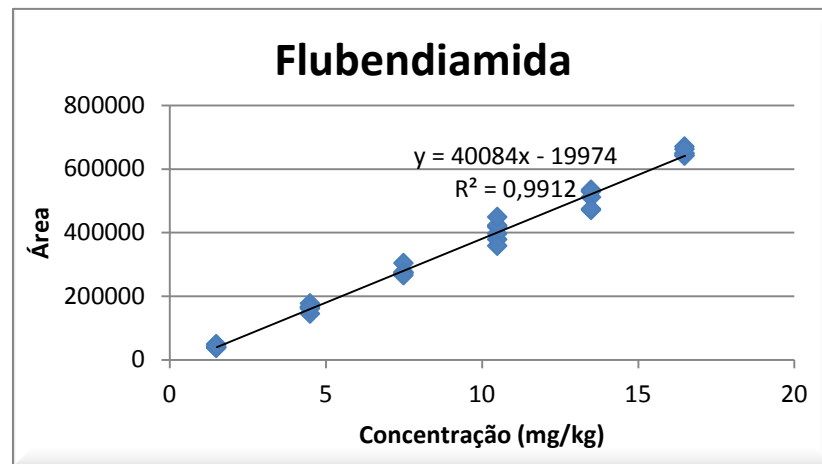


Figura 7. Curva analítica preparada a partir de extratos de amostras de tomate fortificadas com padrão de flubendiamida na faixa de concentração entre 1,5 e 16,5 mg/kg.

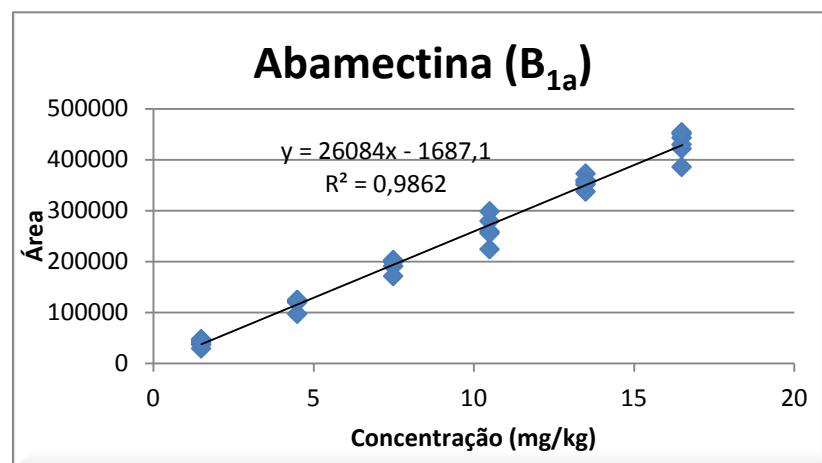


Figura 8. Curva analítica preparada a partir de extratos de amostras de tomate fortificadas com padrão de abamectina (B_{1a}) na faixa de concentração entre 1,5 e 16,5 mg/kg.

Os valores dos coeficientes de correlação (r) foram de 0,9956 e 0,9931 para a flubendiamida e abamectina (B_{1a}), respectivamente. Eles se apresentaram acima do recomendado pela ANVISA (2003) e INMETRO (2003).

Para verificar se o ajuste linear é adequado à curva analítica, plotou-se o gráfico de resíduos para os compostos de interesse. Nas Figuras 18 e 19 são

apresentados os resíduos dos sinais analíticos da flubendiamida e da abamectina (B_{1a}).

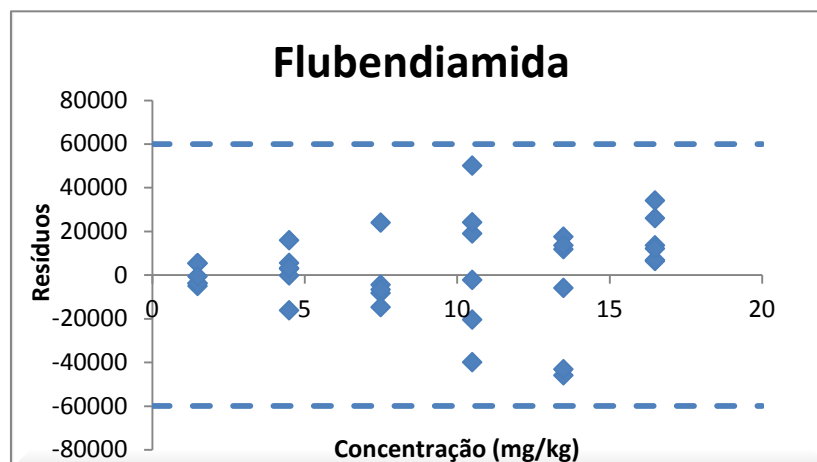


Figura 9. Gráficos de resíduos do ajuste linear para a flubendiamida.

Ao avaliar a Figura 18, observa-se que o gráfico apresenta uma variância dos erros não constante, caracterizando a heterocedasticidade. Para confirmar esta constatação aplicou-se o teste de Levene, ao nível de significância 0,05, calculado pelo programa Statistica, confirmando a heterocedasticidade dos dados.

A presença da heterocedasticidade dos dados causa uma menor exatidão do modelo obtido, principalmente dos parâmetros estimados do modelo. Uma alternativa para a correção da heterocedasticidade é a transformação dos dados, em que o cálculo do modelo de regressão é realizado através do método dos quadrados mínimos ponderados. A transformação mais utilizada é “ $1/s_i^2$ ”, em que s_i^2 é a variância em cada valor de concentração dos analitos de interesse (MASSART *et al.*, 1988). Um inconveniente é a ausência de rotinas desse cálculo em muitos programas de estatística ou no Microsoft Excel.

Dessa maneira, o uso do modelo de regressão linear, ao invés do modelo de regressão linear ponderado, tem sido uma prática, assim como o erro na variável independente (x_i) é usualmente descartado na química (MASSART *et al.*, 1988).

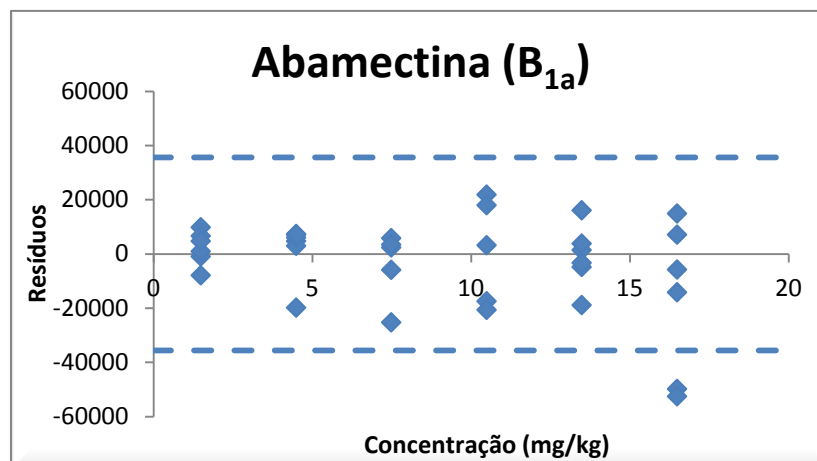


Figura 10. Gráficos de resíduos do ajuste linear para a abamectina (B_{1a}).

Analisando a Figura 19, pode-se dizer que a análise de resíduos do ajuste linear para a abamectina (B_{1a}) é adequado, pois esse gráfico indica que a variância dos erros é constante para as concentrações estudadas, sendo os resíduos distribuídos aleatoriamente em torno do zero (ANDERSON, 1987). Além disso, ao aplicar o teste de Levene, ao nível de significância 0,05, calculado no programa Statistica, nos dados percebeu-se que os resíduos são homocedásticos, indicando que há uma homogeneidade das variâncias.

Com as análises dos gráficos de resíduos e dos coeficientes de correlação, as curvas analíticas obtidas pela superposição de matriz, na faixa de concentração estudada, mostraram-se lineares para a abamectina (B_{1a}). Enquanto que para a flubendiamida, considerou-se o modelo de regressão linear adequado para prosseguir o estudo da validação.

5.2.3 Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método

A sensibilidade de um método é definida pelos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ). Quando são realizadas medidas em amostras com baixos níveis do analito, como análise de traços, é importante saber qual o menor valor de concentração do analito que pode ser detectado pelo método; neste caso determina-se o limite de detecção (INMETRO, 2010). Para que a menor concentração do analito possa ser quantificada com exatidão e precisão aceitáveis, determina-se o limite de quantificação (BRITO *et al.*, 2003).

Na determinação dos LD e LQ, foram construídas curvas analíticas utilizando soluções-padrão contendo os princípios ativos nas concentrações 1,5; 4,5; 7,5; 10,5; 13,5; 16,5 mg/kg. A estimativa do desvio-padrão da sensibilidade analítica e a inclinação da curva analítica foram usadas na determinação dos LD e LQ, através das Equações 2 e 3 (ICH, 1995).

$$LD = 3,3 \times \frac{s}{S} \quad \text{Equação (2)}$$

Em que:

s = estimativa do desvio padrão do branco estimado.

S =sensibilidade analítica.

$$LQ = 10 \times \frac{s}{S} \quad \text{Equação (3)}$$

Na Tabela 4 são mostrados os valores de LD e LQ do método.

Tabela 4. Estimativa do desvio-padrão do branco estimado (s), inclinação da curva analítica (S), limites de detecção (LD), limites de quantificação (LQ) e coeficiente de correlação (r).

Princípios ativos	s/ mV/min	S/ kg.mV /mg.min	LD/ mg/kg	LQ/ mg/kg	r
Flubendiamida	6867,13	40084,06	0,56	1,71	0,9956
Abamectina (B _{1a})	5688,46	26084,12	0,72	2,18	0,9931

Segundo Ribeiro *et. al.* (2008), a determinação dos limites de detecção e quantificação baseando-se nos parâmetros da curva analítica apresenta maior confiabilidade estatística, pois leva em consideração o intervalo de confiança da regressão.

5.2.4 Veracidade/Recuperação

A veracidade/recuperação representa o grau de concordância entre a média encontrada em determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro. A determinação da veracidade deve ser feita por meio de ensaios de recuperação utilizando material de referência certificado – MRC. Quando este não estiver disponível, a determinação da recuperação deve ser feita por intermédio de matriz branca fortificada, ou seja, o “matrix matching” (MAPA, 2011).

Este estudo tem por objetivo avaliar o resultado da análise dos erros sistemáticos oriundos dos efeitos de extração e das perdas advindas de todas as etapas de um procedimento analítico, realizadas até a leitura da resposta instrumental (MAPA, 2011).

A avaliação da veracidade/recuperação da ESL-PBT foi realizada com ensaios de recuperação a partir da matriz branca, na qual os princípios ativos foram adicionados em concentrações iguais a 1,5; 7,5 e 13,5 mg/kg. Assim, os ensaios de recuperação foram realizados extraíndo-se as substâncias de interesse presentes na matriz de tomate, conforme descrito no item 4.6.

Para o cálculo do fator de recuperação foi usada a Equação 4 (MAPA, 2011)

$$frec (\%) = \frac{c_f - c_{nf}}{c_{ad}} \times 100 \quad \text{Equação (4)}$$

Em que:

C_f = concentração após a fortificação da matriz branca (mg/kg);

C_{nf} = concentração na matriz branca não fortificada (mg/kg);

C_{ad} = concentração do analito puro adicionada à matriz branca (mg/kg).

A Tabela 5 apresenta os critérios de aceitação para a veracidade aplicáveis a análise de resíduos (MAPA, 2011).

Tabela 5. Faixas de aceitação do fator de recuperação acima e abaixo de 100% (MAPA, 2011).

Concentração (c)	Intervalos (%)
$c \leq 1 \mu\text{g/kg}$	-50% a +20%
$1 \mu\text{g/kg} < c < 10 \mu\text{g/kg}$	-30% a +10%
$c \geq 10 \mu\text{g/kg}$	-20% a +10%

Os resultados obtidos para a extração dos princípios ativos flubendiamida e abamectina (B_{1a}) no tomate, bem como os respectivos coeficientes de variação, estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Fator de recuperação (f_{rec}) obtido após extração da amostra de tomate, fortificada pelos princípios ativos em três concentrações diferentes.

Concentração/ mg/kg	Flubendiamida		Abamectina (B_{1a})	
	f_{rec}	CV%	f_{rec}	CV%
1,5	104,85	7,58	107,60	13,61
7,5	100,54	6,74	102,89	7,18
13,5	94,57	7,18	99,54	3,16

CV: coeficiente de variação.

De acordo com os resultados obtidos, os valores do fator de recuperação para as três concentrações estudadas estão dentro da faixa de aceitação para este estudo, conforme a Tabela 5, onde o intervalo do fator de recuperação aceitável está entre 80 e 110%. Além disso, pode-se dizer que estes resultados são estatisticamente equivalentes entre si, ao nível de 95% de confiança, pelo teste F usado pela ANOVA ($F_{cri} = 5,05$ e $F_{flubendiamida} = 3,09$ e $F_{abamectina} = 1,01$, como os valores de F dos compostos são menores que o F_{cri} , então diz-se que os resultados são estatisticamente iguais). Os maiores coeficientes de variação foram de 7,58% e 13,61% para a flubendiamida e a abamectina (B_{1a}), respectivamente, estando abaixo do valor aceitável para amostras complexas, que é de 20%, segundo RIBANI *et al.* (2004).

5.2.5 Precisão

5.2.5.1 Repetitividade

Repetitividade, também conhecida como precisão intra-corrída, ou seja, efetuada sob as mesmas condições de medição, foi estudada pelo cálculo da estimativa do coeficiente de variação (CV) de seis repetições do procedimento de extração, isto é, pelo preparo, injeção e análise no mesmo dia de amostras de tomate fortificadas com dois princípios ativos flubendiamida e abamectina (B_{1a}), em diferentes concentrações.

Os resultados do coeficiente de variação das concentrações determinadas para a amostra de tomate variaram entre 3,16% e 13,61%, como mostrado na Tabela 7. Este teste foi o mesmo realizado para a avaliação da veracidade/recuperação.

Tabela 7. Avaliação da repetitividade do método para os analitos de interesse.

	Concentração média/ mg/kg	Dp	CV%
Flubendiamida	1,57	0,12	7,58
	7,54	0,51	6,74
	12,77	0,92	7,18
Abamectina (B _{1a})	1,61	0,22	13,61
	7,72	0,55	7,18
	13,44	0,42	3,16

Dp: desvio padrão e CV: coeficiente de variação.

Analisando os resultados obtidos, vê-se que estes apresentam boa repetitividade, uma vez que os coeficientes de variação se encontram abaixo dos valores aceitáveis para amostras complexas, como o tomate, que é de até 20% (RIBANI *et al.*, 2004).

5.2.5.2 Precisão intermediária

A precisão intermediária, ou precisão inter-corrída, define a precisão dentro de um mesmo laboratório para medidas obtidas por diferentes analistas, ou em diferentes dias, ou ainda por equipamentos diferentes (RIBEIRO *et al.*, 2008).

Neste trabalho, a precisão intermediária do método foi avaliada pelas concentrações médias dos princípios ativos e seus respectivos desvios-padrão (Dp) e coeficientes de variação (CV), analisados em três dias diferentes. As análises foram realizadas no 1º, 2º e 3º dias, pelo mesmo analista e mesmo equipamento. Os resultados obtidos são mostrados na Tabela 8.

Tabela 8. Avaliação da precisão intermediária do método.

	Flubendiamida			Abamectina (B _{1a})		
	Concentração/ mg/kg	Dp	CV%	Concentração/ mg/kg	Dp	CV%
1º dia	1,57	0,12	7,58	1,61	0,22	13,61
	7,54	0,51	6,74	7,72	0,55	7,18
	12,77	0,92	7,18	13,44	0,42	3,16
2º dia	1,55	0,10	6,31	1,56	0,15	9,73
	7,95	0,98	12,29	6,89	1,12	16,10
	12,63	0,67	5,28	13,40	0,53	3,94
3º dia	1,52	0,17	11,55	1,40	0,18	13,00
	7,57	1,12	14,75	6,43	0,89	13,76
	12,92	1,38	10,70	12,20	1,74	14,26

Dp: desvio padrão e CV: coeficiente de variação.

Feita a avaliação dos resultados, verificou-se que a técnica ESL-PBT para a determinação de resíduos de flubendiamida e abamectina (B_{1a}) em amostras de tomate por CLAE-UV-Vis apresentou resultados satisfatórios em relação à precisão intermediária. As concentrações obtidas apresentaram-se estatisticamente iguais ao nível de confiança de 95% pelo teste *F* usado pela ANOVA ($F_{\text{cri}} = 5,05$ e $F_{\text{flubendiamida}} = 0,27$ e $F_{\text{abamectina}} = 2,16$, como os valores de *F* dos compostos são menores que o F_{cri} , então diz-se que os resultados são estatisticamente iguais), e coeficientes de

variação menores que 16,10% para os compostos em estudo.

5.3 Monitoramento da contaminação por agrotóxicos e cobre (II) em tomates hidropônicos

Durante o monitoramento, que compreendeu o período de novembro de 2011 a junho de 2012, os agrotóxicos usados na plantação de tomate hidropônico foram: Vertimec 18EC® (abamectina), Belt® (flubendiamida) e Supera® (hidróxido de cobre). Destes, somente o Supera® foi aplicado durante todo o período monitorado.

Para a determinação de resíduos dos princípios ativos flubendiamida e abamectina (B_{1a}) foi usado o método validado. No período do monitoramento, fez-se uma análise minuciosa de todos os cromatogramas obtidos no CLAE-UV-Vis. Os cromatogramas foram analisados por comparação, tendo as amostras reais sido comparadas com cromatogramas de amostras de matriz branca fortificada. As Figuras 20 e 21 mostram um cromatograma de amostra real e um cromatograma de matriz branca fortificada. A comparação dos cromatogramas das Figuras 20 e 21 são apresentadas na Figura 22.

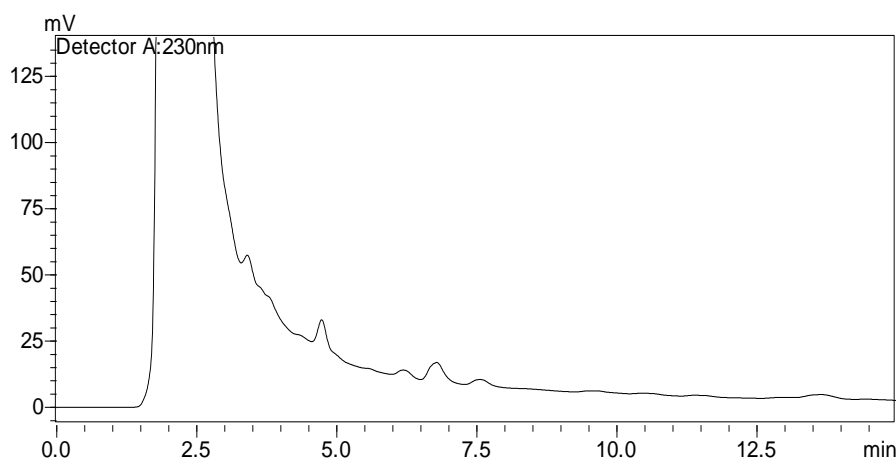


Figura 11. Cromatograma de um extrato obtido da ESL-PBT de uma amostra de tomate hidropônico.

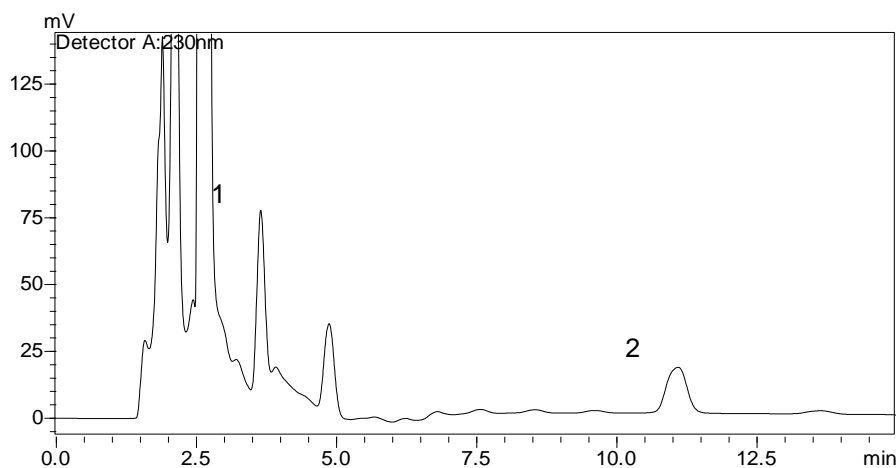


Figura 12. Cromatograma de uma matriz branca fortificada com flubendiamida (1; $t_R = 3,6$ min) e abamectina (B_{1a}) (2; $t_R = 11,2$) a 5 mg L^{-1} .

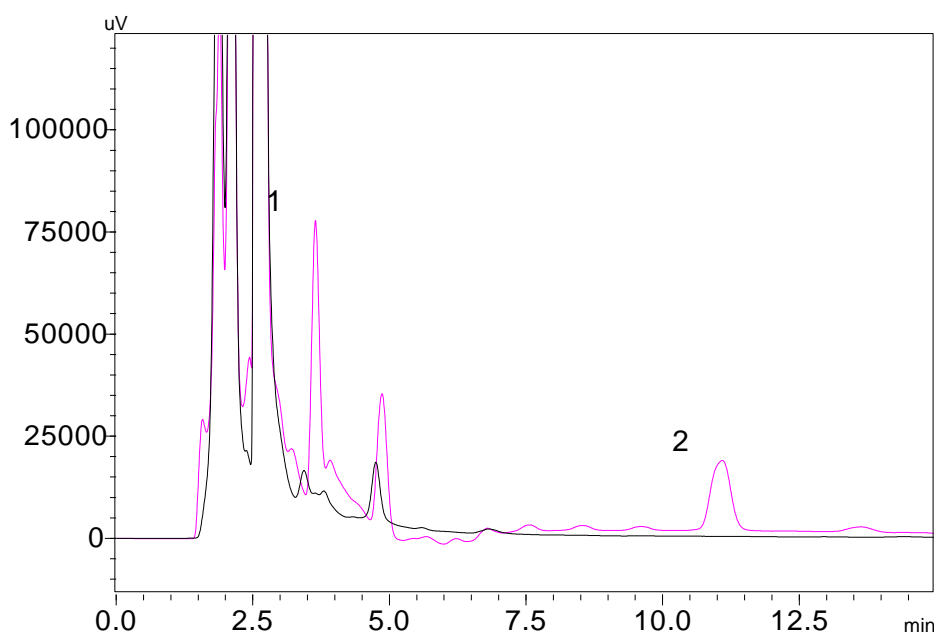


Figura 13. Superposição do cromatograma de extrato obtido da ESL-PBT de amostra de tomate hidropônico (preto) com um cromatograma da matriz branca fortificada (rosa).

Na análise dos cromatogramas, não foi detectada a presença de resíduo das substâncias de interesse. Inicialmente, suspeitou-se que os compostos poderiam estar muito diluídos, pois o volume de extrato orgânico recuperado era de 8,5 mL. Por esse motivo, decidiu-se concentrar os extratos orgânicos. A pré-concentração foi feita em um evaporador rotativo (Fisatom), no qual os extratos foram totalmente

evaporados e seus resíduos recuperados em 1,5 mL de acetonitrila, que foram transferidos, imediatamente, para *vials* e, posteriormente, analisados por CLAE-UV-Vis. Na Figura 23 é apresentada a superposição de dois cromatogramas de extratos de amostras de tomate, sendo um obtido a partir da ESL-PBT não concentrada e o outro obtido da mesma amostra, porém após a etapa de concentração no evaporador rotativo.

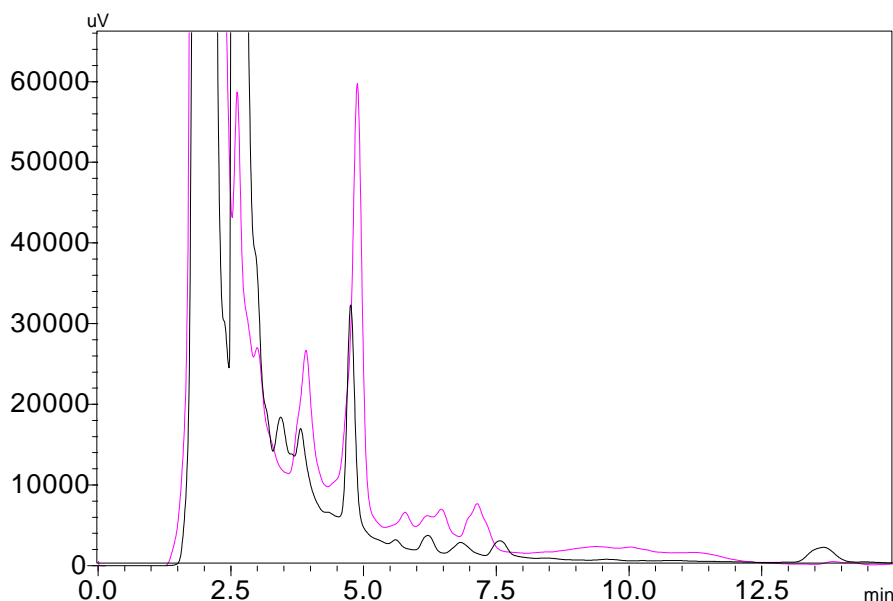


Figura 14. Cromatograma de extrato de uma amostra de tomate hidropônico não concentrado (preto) e cromatograma do mesmo extrato concentrado (rosa).

Quando as amostras foram concentradas, os limites de detecção do método apresentaram-se na ordem de 0,01 e 0,13 mg/kg para a flubendiamida e a abamectina (B_{1a}), respectivamente. Para a flubendiamida, a detecção seria possível em concentrações próximas ao LMR, sendo esta de 0,10 mg/kg. Já para a abamectina (B_{1a}) não seria possível a detecção para concentrações próximas ao LMR desta substância, que é de 0,01 mg/kg. Mesmo passando pela etapa de concentração, os princípios ativos não foram detectados durante o período do monitoramento, até mesmo nas amostras que tiveram as datas de amostragens próximas das datas de aplicação dos agrotóxicos, que foram dos meses de janeiro e fevereiro e do mês de maio, como pode ser visto na Tabela 3 do item 4.3.

A dosagem recomendada para a preparação da calda dos produtos comerciais Vertimec 18 EC® (abamectina) e Belt® (flubendiamida) é de 10 mL do

produto comercial/10 L de água e 12,5 mL do produto comercial/30 L de água, respectivamente. A dosagem utilizada pelo produtor foi de 20 mL do produto comercial/20 L de água de Vertimec 18 EC® e 2 mL do produto comercial/20 L de água de Belt®. No caso do Vertimec 18 EC®, a dosagem que o produtor usou foi igual à recomendada, e a dosagem do produto comercial Belt® por volume de calda foi inferior à recomendada. Para este último agrotóxico, a ausência de resíduos nas amostras pode estar relacionada ao volume reduzido do produto comercial na preparação da calda. Vale ressaltar que na determinação do LQ do método as quantidades obtidas foram de 1,71 mg/kg e 2,18 mg/kg de flubendiamida e abamectina (B_{1a}), respectivamente, ou seja, se a amostra estivesse contaminada com quantidades menores que essas o método utilizado para a determinação destes resíduos não seria capaz de quantificar os princípios ativos.

Em trabalhos realizados com amostras de tomate e grãos de ervilha, os autores observaram a degradação da flubendiamida por fotodegradação em condições ambientais. Para as amostras de tomate, as concentrações encontradas apresentaram-se abaixo do limite de quantificação, que foi de 0,01 mg/kg. Em amostras de grãos de ervilha nenhum resíduo de flubendiamida foi detectado, e o limite de detecção (LD) do método encontrado para a determinação dos resíduos foi na ordem de 0,05 mg/kg (KALE *et al.*, 2012 & PARAMASIVAM; BANERJEE, 2012). Nestes trabalhos, as análises foram feitas por CLAE com detector UV-Vis.

Em 2007, HERNÁNDEZ-BORGES *et al.* desenvolveram um método para análise de resíduos de abamectina em amostras de abacate. Neste estudo, nenhum resíduo de abamectina foi encontrado, sendo os LD e LQ na ordem de 0,001 mg/kg e 0,003 mg/kg, respectivamente. É importante ressaltar que no desenvolvimento deste trabalho as análises foram feitas por CLAE com detecção por fluorescência, que é uma das técnicas mais sensível para a determinação de abamectina (VALENZUELA *et al.*, 2001).

Em trabalho feito com frutas cítricas (laranja, limão e uva), os autores relatam que a degradação da abamectina pode ser reforçada pela presença de luz, formando produtos de degradação voláteis. (MAYNARD *et al.*, 1989).

No monitoramento da concentração de cobre (II) foi obtido o gráfico apresentado na Figura 24, que relaciona a concentração de cobre (II) com as datas das amostras analisadas.

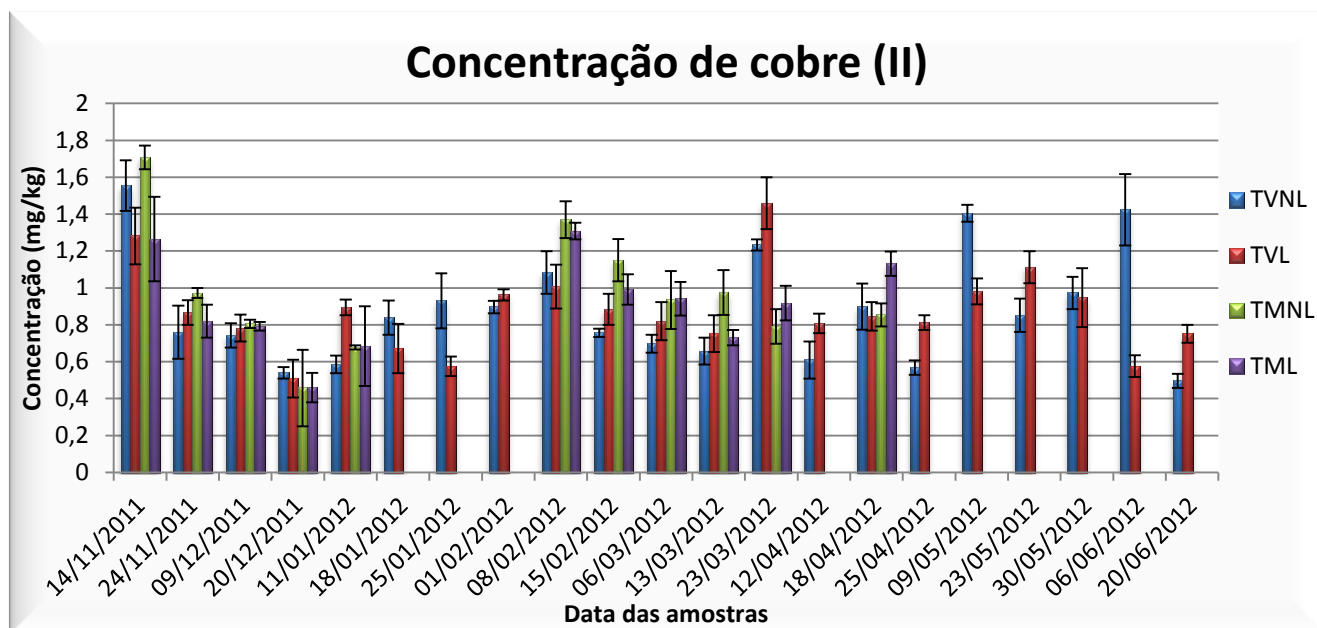


Figura 15. Concentração de cobre (II) nas amostras de tomate hidropônico. TVNL (tomate verde não-limpo), TVL (tomate verde limpo), TMNL (tomate maduro não-limpo), TML (tomate maduro limpo).

As concentrações de cobre (II) variaram entre 0,46 e 1,71 mg/kg, no período de monitoramento.

Analisando a Figura 24 e a Tabela 3, não foi possível observar nenhum tipo de tendência quanto à quantidade de cobre (II) encontrada e a data de aplicação do produto comercial, Supera® (hidróxido de cobre (II)), como também a presença de maior ou menor quantidade de cobre (II) nas amostras de tomate verde limpo e não-limpo (TVL e TVNL) e amostras de tomate maduro limpo e não-limpo (TML e TMNL).

Entre todas as amostras analisadas, nenhuma apresentou quantidade de cobre (II) acima do limite máximo de resíduo estabelecido pela ANVISA, que é de 10 mg/kg do fruto.

A absorção de cobre pela planta acontece na forma de Cu (II), que é a forma bioativa. Nela, o cobre (II) é transportado, via xilema e floema, onde são complexados por ligantes que contenham o grupo amino, o qual atua como carregador de cobre. Porém, no floema, o cobre (II) possui pouca mobilidade (FANQUIN; ANDRADE, 2004 & DUPONT, 2008). No floema, o transporte de substâncias absorvidas pela planta acontece das folhas em direção aos demais órgãos. Este fato pode ser justificado pela presença de pouca quantidade de cobre (II) nas amostras, uma vez que a pulverização do fungicida Supera® acontece via

foliar. Além disso, vários fatores afetam a absorção foliar, como: temperatura amena, umidade do ar elevada e presença de luz, que favorecem a absorção devido a uma menor evaporação da água da solução a ser pulverizada, mantendo a cutícula hidratada e, também, pela abertura dos estômatos, via importante da absorção foliar (FANQUIN; ANDRADE, 2004).

Para o Supera®, a dosagem recomendada na preparação da calda é de 4 L do produto comercial/1000L de água. O produtor usou uma proporção de 0,05 L/20L de água, portanto menor que a recomendada. Isto também pode ter influenciado na presença das baixas concentrações encontradas nas amostras. Vale ressaltar que a presença de cobre (II) nos frutos não provém somente do fungicida aplicado, mas também da solução nutritiva usada na cultura hidropônica, em que a solução possui uma concentração de cobre (na forma de EDTA) igual a 7,28 mg/L.

O cultivo do tomate em sistema hidropônico oferece inúmeras vantagens quando comparado ao cultivo tradicional no solo: produção de melhor qualidade: as plantas crescem em um ambiente controlado, procurando atender às exigências da cultura; com isso, o tamanho e a aparência de qualquer produto hidropônico são sempre iguais durante todo o ano. Alta produtividade e colheita precoce: como se fornecem às plantas boas condições para seu desenvolvimento, não ocorre competição por nutrientes e água e, além disso, as raízes nestas condições de cultivo não empregam demasiada energia para crescer, antecipando o ponto de colheita e aumentando a produção. Menor uso de agrotóxicos: os insetos, microorganismos de solo, nematóides e plantas daninhas dificilmente atacam a planta na mesma proporção do cultivo em solo, reduzindo a quantidade de defensivos utilizada. Mínimo desperdício de água e nutrientes: o aproveitamento dos insumos em questão é mais racional. Maior tempo de prateleira; entre outros (SILVA; MELO, 2012).

Os sistemas hidropônicos não apresentam somente vantagens. Os inconvenientes mais importantes são os seguintes: maior investimento inicial, comparado ao cultivo convencional; dependência de energia elétrica; necessidade de conhecimentos técnicos e de fisiologia vegetal; acúmulo de resíduos quando se utiliza água de má qualidade para o preparo de soluções nutritivas; riscos de contaminação de aquíferos quando se procede à descarga de soluções usadas sem os devidos cuidados; os equipamentos necessários para trabalhar nas culturas

hidropônicas devem ser mais precisos e sofisticados que para o solo, portanto mais caros de aquisição, instalação e manutenção (ALVARENGA, 2004).

Quanto à qualidade dos frutos, o sistema hidropônico apresenta muitas condições favoráveis, agregando valor ao produto perante o mercado, com uma boa aceitação, devido às suas características agronômicas.

6 Conclusões

Na validação, o método de extração mostrou-se seletivo, exato e preciso para os princípios ativos em estudo, no qual se obtiveram limites de detecção iguais a 0,56 e 0,72 mg/kg e limites de quantificação iguais a 1,71 e 2,18 mg/kg para a flubediamida e a abamectina (B_{1a}), respectivamente.

No período do monitoramento não foi detectada e nem quantificada a presença de resíduos dos agrotóxicos utilizados na plantação do tomate hidropônico. Após a etapa de pré-concentração dos extratos, os limites de detecção foram iguais a 0,01 e 0,13 mg/kg para a flubendiamida e abamectina (B_{1a}), respectivamente, sendo estes valores próximos dos LMR's. Mesmo assim não foi possível detectar a presença dos princípios ativos nas amostras de tomate.

Na quantificação do cobre (II) nas amostras de tomate, obtiveram-se resultados entre 0,45 e 1,71 mg/kg do fruto, os quais se mostraram muito abaixo do limite máximo permitido de cobre.

Diante desses resultados, viu-se que as amostras analisadas estavam livres de resíduos de agrotóxicos.

7 Referências

- AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. 2012. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em 19 jul. 2012.
- ALBERONI, R. D. B. **HIDROPONIA - Como instalar e manejar o plantio de hortaliças dispensando o uso do solo**. São Paulo: Nobel, 2004, 102 p.
- ALVARENGA, M. A. R. **TOMATE: Produção em Campo, em Casa-de-Vegetação e em Hidroponia**. Lavras: Ed. UFLA, 2004, 393 p.
- AMARAL, E. H. **Resíduos de Agrotóxicos Organofosforados: Validação de Método de Cromatografia a Gás e Quantificação em Produtos Agrícola**. 2007. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Belo Horizonte, Belo Horizonte, 2007.
- ANDERSON, R. L. **Practical statistics for analytical chemists**. New York: Van Nostrand Reinhold Company, 1987, 316 p.
- ANDRADE, É. C. B. D.; TEODORO, A. J.; TAKASE, I. Determinação dos teores de cobre em diferentes extratos de hortaliças do tipo A e B. v. 24, n. 2, p. 277-281, 2004.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Resolução, n. 899. 2003, p.
- _____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resíduos de agrotóxicos em alimentos. **Revista Saúde Pública**, v. 40, n. 2, p. 361-363, 2006.
- _____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)**. Relatório de atividades. 2009, 22 p.
- _____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)**. Relatório de atividades. 2010, 26 p.
- _____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Agrotóxicos e Toxicologia**. 2012a. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia>>. Acesso em 10 jul. 2012.
- _____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Limites Máximos de Tolerância para Contaminantes Inorgânicos em Alimentos**. 2012b. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/685_98.htm>. Acesso em 19 jul. 2012.

- _____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Monografia de agrotóxicos**. 2012c. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/>>. Acesso em 07 mar. 2012.
- BATTU, R. S.; SINGH, B.; KOONER, R.; SINGH, B. Simple and efficient method for the estimation of residues of flubendiamide and its metabolite desido flubendiamide. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 7, p. 2299-2302, 2008.
- BRITO, N. M.; JUNIOR, O. P. D. A.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, n. 0, p. 129-146, 2003.
- BRONDI, S. H. G.; LANÇAS, F. M. Development and validation of a multi-residue analytical methodology to determine the presence of selected pesticides in water through liquid chromatography. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 3B, p. 650-653, 2005.
- CABRAS, P.; CABITZA, F.; MELONI, M.; PIRISI, F. M. Behavior of some pesticide residues on greenhouse tomatoes. 2. Fungicides, acaricides, and insecticides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 33, n. 5, p. 935-937, 1985.
- CARVALHO, J. L. D.; PAGLIUCA, L. G. Tomate, um mercado que não pára de crescer. **Hortifruti Brasil**, v. 6, n. 1, p. 6-14, 2007.
- CODEX. Alimentarius. **Pesticide Residues in Food and Feed**. 2012. Disponível em: <<http://www.codexalimentarius.net/pestres/data/pesticides/index.html>>. Acesso em 19 jul. 2012.
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2006, 453 p.
- COOPERCITRUS. Revista Agropécuaria. **Entenda a ação dos fungicidas cúpricos**. 2012. Disponível em: <<http://www.revistacoopercitrus.com.br/?pag=materia&codigo=484>>. Acesso em 16 ago. 2012.
- DARDENGO, R. P. **Análise multiressíduo de inseticidas em batata (*Solanum tuberosum* L)**. 2007. 117 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.
- DI MUCCIO, A.; FIDENTE, P.; BARBINI, D. A.; DOMMARCO, R.; SECCIA, S.; MORRICA, P. Application of solid-phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry to the determination of neonicotinoid pesticide residues in fruit and vegetables. **Journal of Chromatography A**, v. 1108, n. 1, p. 1-6, 2006.
- DÍEZ, C.; TRAAG, W. A.; ZOMMER, P.; MARINERO, P.; ATIENZA, J. Comparison of an acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” method with classical multi-residue methods for the extraction of herbicide residues in barley samples **Journal of Chromatography A**, v. 1131, n. 1-2, p. 11-23, 2006.

DISERENS, H.; HENZELIN, M. Determination of abamectin residues in fruits and vegetables by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 833, n. 1, p. 13-18, 1999.

DUPONT. DuPont do Brasil S.A. **A evolução do cobre**. Informe Técnico. 2008, 11 p.

ESA. Entomological Society of America (Annual Meeting). **Flubendiamide: The next generation in Lepidoptera pest management**. 2006. Disponível em: <http://esa.confex.com/esa/2006/techprogram/paper_26476.htm>. Acesso em 19 jul. 2012.

ESKILSSON, C. S.; BJORKLUND, E. Analytical-scale microwave-assisted extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 902, n. 1, p. 227-250, 2000.

EU. European Union. **Pesticide Residues MRLs**. 2012. Disponível em: <http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm?event=substance.resultat&s=1>. Acesso em 19 jul. 2012.

EURACHEM. **Seleção, uso e interpretação de programas de ensaios de proficiência (EP) por laboratórios: 2000/Eurachem Nederland Laboratory of the Government Chemist of United Kingdom; tradução ANVISA**. Brasília: SENAI/DN, 2005, 70 p.

FANQUIN, V.; ANDRADE, A. T. **Nutrição Mineral e Diagnóstico do Estado Nutricional das Hortaliças**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2004, 88 p.

FERMAM, R. K. S.; ANTUNES, A. M. D. S. Uso de Defensivos Agrícolas, Limites Máximos de Resíduos e Impacto no Comércio Internacional: Estudo de Caso. **Revista de Economia e Agronegócio**, v. 7, n. 2, p. 197-214, 2009.

GOULART, S. M.; DE QUEIROZ, M. E. L. R.; NEVES, A. A.; DE QUEIROZ, J. H. Low-temperature clean-up method for the determination of pyrethroids in milk using gas chromatography with electron capture detection. **Talanta**, v. 75, n. 5, p. 1320-1323, 2008.

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.

HARVEY, D. **Modern Analytical Chemistry**. New York: McGraw-Hill, 2000, 781 p.

HERNÁNDEZ-BORGES, J.; RAVELO-PÉREZ, L. M.; HERÁNDEZ-SUÁREZ, E. M.; CARNERO, A.; RODRÍGUEZ-DELGADO, M. Á. Analysis of abamectin residues in avocados by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1165, n. 1-2, p. 52-57, 2007.

ICH. International Conference on Harmonisation. **Validation of Analytical Procedures: Methodology**. Q2B (CPMP/ICH/281/95). 1995, 10 p.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**. DOQ-CGCRE-008. 2003, 35 p.

_____. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre validação de métodos analíticos**. DOQ-CGCRE-008. 2010, 20 p.

IUPAC. International Union of Pure and Applied Chemistry. **IUPAC Agrochemical Information**. 2012. Disponível em: <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/175.htm>>. Acesso em 07 mar. 2012.

JARDIM, A. N. O.; CALDAS, E. D. Brazilian monitoring programs for pesticide residues in food - Results from 2001 to 2010. **Food Control**, v. 25, n. 2, p. 607-616, 2012.

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

KALE, V.; WALUNJ, A.; BATTU, R.; SAHOO, S.; SINGH, B.; PARAMASIVAM, M.; ROY, S.; BANERJEE, T.; BANERJEE, H.; RAO, C.; REDDY, D.; REDDY, K.; REDDY, C.; TRIPATHY, V.; JAYA, M.; PANT, S.; GUPTA, M.; SINGH, G.; SHARMA, K. Assessment of flubendiamide residues in pigeon pea in different agro-climatic zones of India. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n. 7, p. 4267-4270, 2012.

KATAOKA, H.; LORD, H. L.; PAWLISZYN, J. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 880, n. 1-2, p. 35-62, 2000.

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

LAMBROPOULOU, D.; ALBANIS, T. Methods of sample preparation for determination of pesticide residues in food matrices by chromatography–mass spectrometry-based techniques: a review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 389, n. 6, p. 1663-1683, 2007.

LANÇAS, F. M. **Cromatografia Líquida Moderna: HPLC/CLAE**. Campinas, SP: Ed. Átomo, 2009, 382 p.

LEHOTAY, S. J. Supercritical fluid extraction of pesticides in foods. **Journal of Chromatography A**, v. 785, n. 1-2, p. 289-312, 1997.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Manual de garantia da qualidade analítica**. Secretária de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS. 2011, 227 p.

MARTHE, D. D. B.; BITTENCOURT, L. M.; QUEIROZ, M. E. L. R. D.; NEVES, A. N. A. Desenvolvimento de metodologia para determinação de piretroides em manteiga. **Química Nova**, v. 33, n. 0, p. 1389-1393, 2010.

MARTINEZ, H. E. P.; FILHO, J. B. D. S. **Introdução ao Cultivo Hidropônico de Plantas**. Viçosa: Ed. UFV, 2006, 111 p.

MASSART, D. L.; VANDEGINSTE, B. G. M.; MICHOTTE, S. N. D. Y.; KAUFMAN, L. **Chemometrics: A textbook**. Elsevier, Volume 2, 1988, cap. 5, p. 75-92.

MAYNARD, M. S.; IWATA, Y.; WISLOCKI, P. G.; KU, C. C.; JACOB, T. A. Fate of avermectin B1a on citrus fruits. 1. Distribution and magnitude of the avermectin B1a and carbon-14 residue on citrus fruits from a field study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 37, n. 1, p. 178-183, 1989.

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.

MOHAPATRA, S.; AHUJA, A. K.; DEEPA, M.; JAGADISH, G. K.; RASHMI, N.; SHARMA, D. Development of an analytical method for analysis of flubendiamide, des-iodo flubendiamide and study of their residue persistence in tomato and soil. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 46, n. 3, p. 264-271, 2011.

PACÁKOVÁ, V.; STULÍK, K.; JISKRA, J. High-performance separations in the determination of triazine herbicides and their residues. **Journal of Chromatography A**, v. 754, n. 1-2, p. 17-31, 1996.

PARAMASIVAM, M.; BANERJEE, H. Simultaneous Determination of Flubendiamide its Metabolite Desiodo Flubendiamide Residues in Cabbage, Tomato and Pigeon Pea by HPLC. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 87, n. 4, p. 452-456, 2011.

_____. Persistence and Dissipation of the Insecticide Flubendiamide and its Metabolite Desiodo Flubendiamide Residues in Tomato Fruit and Soil. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 88, n. 3, p. 344-348, 2012.

PENTEADO, S. R. **Cultivo Orgânico de Tomate**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2004, 215 p.

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

PINHO, G. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R. D.; SILVÉRIO, F. O. Pesticide determination in tomatoes by solid-liquid extraction with purification at low

- temperature and gas chromatography. **Food Chemistry**, v. 121, n. 1, p. 251-256, 2010b.
- PINHO, G. P.; 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 cromatográfica de agrotóxicos. **Química Nova**, v. 33, n. 4, p. 909-913, 2010c.
- POZO, O. J.; MARIN, J. M.; SANCHO, J. V.; HERNÁNDEZ, F. Determination of abamectin and azadirachtin residues in orange samples by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 992, n. 1-2, p. 133-140, 2003.
- PRADO, R. D. M. Nutrição de Plantas. **A chave para a alta produção com qualidade**. 2004. Disponível em: <<http://www.nutricaoeplantas.agr.br/site/culturas/algodao/funcoes.php>>. Acesso em 07 mai. 2012.
- PRESTES, O. D.; FRIGGI, C. A.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. QuEChERS: um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 32, n., p. 1620-1634, 2009.
- RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n., p. 771-780, 2004.
- RIBEIRO, F. A. D. L.; FERREIRA, M. R. M. C.; MORANO, S. C.; SILVA, L. R. D.; SCHNEIDER, R. P. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 164-171, 2008.
- RODRIGUES, N. R. Agrotóxicos: Análises de Resíduos e Monitoramento. **MultiCiência: Construindo a História dos Produtos Naturais**, v. 1, n. 7, p. 1-7, 2006.
- SANDRA, P.; TIENPONT, B.; VERCAMMEN, J.; TREDoux, A.; SANDRA, T.; DAVID, F. Stir bar sorptive extraction applied to the determination of dicarboximide fungicides in wine. **Journal of Chromatography A**, v. 928, n. 1, p. 117-126, 2001.
- SARI, P.; RAZZAK, M.; TUCKER, I. G. Rapid, simultaneous determination of levamisole and abamectin in liquid formulations using HPLC. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 27, n. 2, p. 351-364, 2004.
- SCHENCK, F. J. C., PATRICK; GANNETT, PETER M.; DAFT, JONATHAN R.; LEHOTAY, STEVEN J. Comparison of Magnesium Sulfate and Sodium Sulfate for Removal of Water from Pesticide Extracts of Foods. **Journal of AOAC International**, v. 85, n. 5, p. 1177-1180, 2002.

SCHMIDT, D.; SANTOS, O. S.; BONNECARRÈRE, R. A. G.; MARIANI, O. A.; MANFRON, P. A. Desempenho de soluções nutritivas e cultivares de alface em hidroponia. **Horticultura Brasileira**, v. 19, n., p. 122-126, 2001.

SETTLE, F. A. **Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry**. New Jersey: Prentice Hall, 1997, 979 p.

SILVA, A. P. P.; MELO, B. Núcleo de estudo em fruticultura no cerrado. **Hidroponia**. 2012. Disponível em: <<http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/hidropo.htm>>. Acesso em 25 ago. 2012.

SILVA, F. C. D. **Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999, 370 p.

SILVA, J. B. C. D.; GIORDANO, L. D. B.; FURUMOTO, O.; BOITEUX, L. D. S.; FRANÇA, F. H.; BÔAS, G. L. V.; BRANCO, M. C.; MEDEIROS, M. A. D.; MAROUELLI, W.; SILVA, W. L. C. E.; LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C.; NASCIMENTO, W. M.; PEREIRA, W. Embrapa Hortaliças. **Importância econômica**. 2003. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/sistprod/tomate/index.htm>>. Acesso em 18 jul. 2012.

SINGH, G.; SAHOO, S. K.; TAKKAR, R.; BATTU, R. S.; SINGH, B.; CHAHIL, G. S. Residual behaviour and risk assessment of flubendiamide on Chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Chemosphere**, v. 84, n. 10, p. 1416-1421, 2011.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**: Thomson, 2005, 1124 p.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized Guidelines for Single-Laboratory Valitation of Methods os Analysis. **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 835-855, 2002.

TOKALIOĞLU, Ş.; LIVKEBABCı, A. A new solid-phase extraction method for the determination of Cu(II) and Fe(III) in various samples by flame atomic absorption spectrometry using *N*-benzoyl-*N*-phenylhydroxylamine. **Microchimica Acta**, v. 164, n. 3, p. 471-477, 2009.

VALENZUELA, A. I.; POPA, D. S.; REDONDO, M. J.; MAÑES, J. Comparison of various liquid chromatographic methods for the analysis of avermectin residues in citrus fruits. **Journal of Chromatography A**, v. 918, n. 1, p. 59-65, 2001.

VALENZUELA, A. I.; REDONDO, M. J.; PICO, Y.; FONT, G. Determination of abamectin in citrus fruits by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 871, n. 1-2, p. 57-65, 2000.

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

VOLKWEIS, A. A vez dos defensivos biológicos - Aumenta a importância do controle biológico no manejo de sistemas hidropônicos. **Revista Hidroponia - Cultivando Negócios Sustentáveis**, v. 1, n. 2, p. 20-26, 2011.

VUIK, J. Rapid determination of abamectin in lettuce and cucumber by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 553, n. 1, p. 299-304, 1991.

WILKOWSKA, A.; BIZIUK, M. Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology. **Food Chemistry**, v. 125, n. 3, p. 803-812, 2011.

WU, Z.; LI, J.; ZHU, L.; LUO, H.; XU, X. Multi-residue analysis of avermectins in swine liver by immunoaffinity extraction and liquid chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 755, n. 1, p. 361–366, 2001.

ZUAZO, P. Diversidade de cultivos - Brasil avança na oferta de produtos cultivados sem terra. **Revista Hidroponia - Cultivando Negócios Sustentáveis**, v. 1, n. 3, p. 38, 2011.