



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

Validação intralaboratorial de Método multirresíduos para Determinação de Agrotóxicos em

Abacaxi empregando QuEChERS e UPLCTM- MS/MS

CIRO DOS SANTOS MORAIS

Sob a Orientação da Professora

D. Sc. Cristiane Hess de Azevedo Meleiro-DTA/UFRRJ

Co-orientação

D. Sc. Maria Helena Wohlers Morelli Cardoso - INCQS/Fiocruz

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção de grau de **Mestre em Ciências**, Programa de Pós- Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência dos Alimentos.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2013

634.774

M827v

T

Morais, Ciro dos Santos, 1984-
Validação intralaboratorial de
método multirresíduos para
determinação de agrotóxicos em
abacaxi empregando QuEChERS e
UPLC™-MS/MS/ Ciro dos Santos
Morais - 2013.

73 f. : il.

Orientador: Cristiane Hess de
Azevedo Meleiro.

Dissertação (mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Curso de Pós-Graduação
em Ciência e Tecnologia de
Alimentos.

Bibliografia: f. 54-62.

1. Abacaxi - Cultivo - Teses. 2.
Alimentos - Análise - Teses. 3.
Alimentos - Toxicologia - Análise -
Teses. 4. Produtos químicos
agrícolas - Teses. 5. Tecnologia de
alimentos - Teses. I. Meleiro,
Cristiane Hess de Azevedo, 1972-.
II. Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro. Curso de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia
de Alimentos. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

CIRO DOS SANTOS MORAIS

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 26/02/2013

D. Sc. Cristiane Hess de Azevedo Meleiro - DTA/UFRRJ
(Orientação)

D. Sc. Shirley de Melo Pereira Abrantes - INCQS/Fiocruz

D. Sc. Izabela Miranda de Castro – EMBRAPA/CTAA

Dedico aos Meus pais
Ciro Morais e Marinete dos Santos Morais,

pelo amor e dedicação, meus agradecimentos

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro PPGCTA-UFRRJ.

As Instituições Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) e Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS).

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

AGRADECIMENTOS PESSOAIS

A minha orientadora, Professora Cristiane Hess de Azevedo Meleiro pelo apoio e ensinamentos ao longo da trajetória acadêmica, um exemplo de mestre.

A minha co-orientadora Maria Helena Wohlers Morelli Cardoso pelo desafio de orientar-me e pelo apoio para realização do trabalho.

Aos membros da banca de avaliação, Dra. Shirley de Melo Pereira Abrantes, Dra Izabela Miranda de Castro e Dr. Marco Antônio da Silva Vasconcellos pela disponibilidade e atenção para contribuir com o trabalho.

Aos Amigos do Laboratório de alimentos e contaminantes do INCQS, Nina, Wilson Guerra, Ângela, Cristiane, Juliana, Raquel e Lucia Bastos meus agradecimentos por toda ajuda.

A Adherlene Gouvêa também do Laboratório de alimentos e contaminantes do INCQS que pela imensa ajuda em várias etapas do experimento, agradeço a paciência em todo momento.

Aos amigos do PPGCTA-UFRRJ por vários momentos de alegrias no decorrer do curso.

Aos amigos do cotidiano por fazer a minha vida mais agradável.

A minha família pelo apoio a cada passo.

A Deus por ter me sustentado até aqui.

De tanto postergar o essencial em
nome da urgência, termina-se por
esquecer a urgência do essencial
(Hadj Garm' Orin)

RESUMO

MORAIS, Ciro dos Santos. **Validação intralaboratorial de método multirresíduos para determinação de agrotóxicos em abacaxi empregando QuEChERS e UPLC™- MS/MS. 2013.** 62 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 2013.

O Brasil é um grande produtor mundial de frutas e hortaliças, conhecido mundialmente como celeiro mundial. A produção agrícola é totalmente tradicional, seguindo os moldes da revolução verde que teve início após segunda guerra mundial, que tem como princípios a utilização de insumos externos a propriedade (adubos, agrotóxicos, máquinas e etc). Além de ser um grande produtor o país se destaca como o maior consumidor de agrotóxicos, o que gera uma grande preocupação devido as contaminações pelo excesso no uso. O Ministério da Saúde por meio do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos já identificou a presença de substâncias não permitidas no Brasil e/ou nas culturas pesquisadas, além de concentrações acima do Limite Máximo Residual – LMR. O objetivo do deste trabalho foi realizar uma validação intralaboratorial para a metodologia multirresíduos de 42 agrotóxicos na matriz abacaxi *Ananas comosus*, aplicar a metodologia validada em amostras da CEASA-RJ e confirmar os resultados. Validou-se 29 agrotóxicos sendo eles: acefato, ametrina, atrazina, carbaril, carbendazim, demeton-S-metílico, diclorvós, dimetoato, Diurom, espinosade A e D, etiona, imidacloprido, malationa, metalaxil, metamidofós, miclobutanil, ometoato, piperonil butóxido, piriproxifem, propoxur, tetraconazol, tiabendazol, tiametoxam, triadimefom, triadimenol, triazofós, triclofor, triflumizol. Consegui-se validar a 9 agrotóxicos permitidos na cultura do abacaxi, 5 ingredientes ativos não permitidos, mas encontrado com frequência nas análises do PARA e 15 que são produtos de degradação ou agrotóxicos autorizados em outros países. Das 10 amostras analisadas todas apresentavam resíduos de carbendazim que não é autorizado para cultura. Em duas amostras as concentrações de carbendazim estavam elevadas (7,76 e 9,42 mg.kg⁻¹) indicando erro no manejo de controle fitossanitário que conferindo grande risco de contaminação ao consumidor e trabalhador agrícola. Os resultados foram confirmados segundo os critérios do DG-SANCO, 2012. Os resíduos não autorizados são indicativos de falta de assistência técnica e a não adoção de boas práticas agrícolas.

Palavra-chave: extração, agrotóxicos, *salting ou*, fases, UPLC™-MS/MS.

ABSTRACT

MORAIS, Ciro dos Santos. House validation of multiresidue method for determination of pesticides in pineapple using QuEChERS and UPLC™ - MS / MS. In 2013. 62 p. Dissertation (Master in Science and Food Technology) Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 2013.

Brazil is a major producer of fruits and vegetables, known worldwide as global breadbasket. Agricultural production is completely traditional, following the mold of the green revolution that began after World War II, whose principles the use of external inputs property (fertilizers, pesticides, machinery, etc.). Besides being a major producer country stands as the largest consumer of pesticides, which creates a major concern due to contamination by excessive use. The Ministry of Health through the Program for the Analysis of Pesticide Residues in Foods has identified the presence of prohibited substances in Brazil and / or cultures studied, and concentrations above the Maximum Residual Limit - MRL. The aim of this study was to house validation methodology for multiresidue pesticides in the matrix of 42 Pineapple *Ananas comosus*, apply the methodology validated in samples of WM of-RJ and confirm the results. Was validated 29 pesticides which are: acephate, ametrina, atrazine, carbaryl, carbendazim, demeton-S-methyl, dichlorvos, dimethoate, diuron, spinosad A and D, etiona, imidacloprid, malathion, metalaxyl, methamidophos, myclobutanil, omethoate, piperonyl butoxide, pyriproxyfen, propoxur, tetraconazol, thiabendazole, thiamethoxam, triadimefom, triadimenol, triazophos, triclofor, triflumizole. I was able to validate the 9 allowed pesticides in pineapple crop, 5 active ingredients not allowed, but often found in analyzes of the TO and 15 which are degradation products or pesticides allowed in other countries. Of the 10 samples analyzed showed all residues carbendazim is not approved for culture. In both samples the concentrations of carbendazim were high (7.76 and 9.42 mg.kg⁻¹) indicating the error handling control fitossantário that confer high risk of contamination to the consumer and farm worker. The results were confirmed using the criteria of DG-SANCO, 2012. Unauthorized waste are indicative of a lack of technical and non-adoption of good agricultural practices.

Key words: extraction, pesticides, salting ou ,stages, UPLC™-MS/MS

LISTA DE ABREVIACOES E SÍMBOLOS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
UPLCTM-MS/MS	Cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massas sequencial
CIP	Controlador Individual de Processo
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
EPI	Equipamento de Proteção Individual
IDA	Ingestão Diária Aceitável
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
LD	Limite de Detecção
LMR	Limite Máximo Residual
LQ	Limite de Quantificação
PSA	Amina Primária Secundária
QuEChERS	<i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe</i>
μg	Micrograma
μL	Microlitro
MRM	Multiple Reaction Monitoring
PARA	Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em alimentos
CODEX ALIMENTARIUS	Fórum internacional de normatização do comércio de alimentos – FAO/OMS.
RSD	Relative Standard Deviation
DG-SANCO	<i>Directorate-General for Health and Consumers</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	Objetivos.....	3
1.1.1	Objetivo geral.....	3
1.1.2	Objetivos específicos.....	3
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1	A cultura do abacaxi.....	4
2.2	Importância econômica.....	5
2.3	Aspectos agronômicos.....	5
2.4	Controle químico de pragas, doenças e ervas espontâneas.....	8
2.5	Agrotóxicos.....	10
2.6	Agrotóxicos e a saúde.....	11
2.7	Resíduos de agrotóxicos em alimentos.....	11
2.8	Relatórios do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) .	13
2.9	Boas práticas agrícolas	13
2.10	Extração dos agrotóxicos utilizando QuEChERS.....	14
2.11	Validação.....	15
2.12	Parâmetros de validação.....	16
2.12.1	Seletividade.....	16
2.12.2	Linearidade	16
2.12.3	Faixa de trabalho.....	17
2.12.4	Limite de detecção.....	17
2.12.5	Limite de quantificação	18
2.12.6	Tendência.....	18
2.12.7	Precisão	18
2.12.8	Robustez	19
3	MATERIAS E MÉTODOS.....	20
3.1	Amostra.....	20
3.2	Instrumentação.....	20
3.3	Gases.....	24
3.4	Materiais.....	24
3.5	Solventes e Reagentes.....	25
3.6	Padrões de agrotóxicos selecionados.....	25
3.7	Soluções.....	27
3.7.1	Solução estoque.....	27
3.7.2	Soluções intermediárias.....	27
3.7.3	Solução intermediária do controlador individual do processo.....	28
3.8	Extração pelo método QuEChERS	28
3.9	Determinação do teor de agrotóxicos	29
3.10	Validação da metodologia e avaliação dos critérios de desempenho.....	30
3.10.1	Seletividade.....	30
3.10.2	Estudo da Linearidade e faixa de trabalho.....	30
3.10.3	Limite de detecção e quantificação.....	31
3.10.4	Recuperação e repetibilidade.....	32
3.11	Aplicação do método em amostras da CEASA-RJ.....	32
3.12	Confirmação dos Resultados.....	33
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	34
4.1	Validação	34

4.1.1 Seletividade.....	34
4.1.2 Determinação da estimativa do LD e LQ.....	35
4.1.3 Exatidão e precisão.....	37
4.1.4 Linearidade e curva analítica.....	38
4.1.5 Síntese da Validação	40
4.2 Aplicação do método em amostras da CEASA-RJ	41
4.5 Confirmação dos Resultados.....	43
4.5.1 Amostra 1	44
4.5.2 Amostra 2	45
4.5.3 Amostra 3	47
4.5.4 Amostra 4.....	47
4.5.5 Amostra 5.....	48
4.5.6 Amostra 6.....	48
4.5.7 Amostra 7.....	50
4.5.8 Amostra 8.....	51
4.5.9 Amostra 9.....	51
4.5.10 Amostra 10.....	52
5 CONCLUSÃO.....	53
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de frutas tropicais, com sua grande extensão territorial, disponibilidade de água, solos de boa qualidade e climas variados possui atributos suficientes para estar a frente no mercado global de produtos hortícolas. A maior parte dos cultivos de frutas no país se dá de forma convencional, ou seja, pela utilização de insumos externos a propriedade com: agrotóxicos, adubos, dentre outras tecnologias.

Acompanhando o crescimento do agronegócio hoje, o Brasil lidera o mercado mundial no consumo de agrotóxicos. Portanto, uma preocupação surge sobre a segurança deste alimento assim como questionamentos a respeito do período de carência, uso de produtos permitidos para cada cultura e até mesmas substâncias banidas de utilização no país e no mundo, sendo assim um alerta aos pesquisadores da área que vem buscado identificar a presença de moléculas de produtos fitossanitários em diversos alimentos.

Estudos em frutas e hortaliças, leite, água de rios em regiões de cultivos, solos entre outros tem sido realizados para monitoramento da presença de agrotóxico com objetivo de alertar a sociedade para mudanças em suas práticas de cultivo. A grande preocupação é que estas moléculas atuam de forma lenta e silenciosa que pode ocasionar danos futuros como câncer, doenças degenerativas, desequilíbrio ambiental, etc. Dependendo da quantidade e concentração que o manipulador ou consumidor mantenha contato os danos podem ocorrer numa velocidade muito acelerada.

A produção deve ser realizada de forma a garantir que o alimento seja seguro e adequado para o uso a que se destina. Portanto, medidas como evitar o uso de áreas onde o ambiente represente uma ameaça a segurança dos alimentos; controlar os contaminantes, as pragas e as doenças de animais e plantas; adotar boas práticas e medidas para garantir que o alimento seja produzido em condições de higiene apropriada são de fundamental importância para a saúde do consumidor. Sendo assim, todas as etapas na produção de alimentos devem ser baseadas num fundamento principal que é reduzir a probabilidade de introdução de um perigo que possa afetar a segurança do alimento ou sua adequação ao consumo em etapas posteriores da cadeia de alimentos (CODEX ALIMENTARIUS, 2006).

O cuidado para diminuir o risco de contaminação por utilização de agrotóxicos ainda é muito incipiente em nosso país, visto que os resultados de análise de resíduos são alarmantes. Os motivos reais para este problema são: a falta de assistência técnica no campo de produção e armazenamento, baixo nível de escolaridade dos produtores, dificultando a implantação de práticas

agrícolas mais seguras.

Os erros na utilização dos agrotóxicos constituem problemas de ordem de saúde pública, ambientais e econômicos. Os de saúde pública estão relacionados a doenças devido ao contato cotidiano, como o trabalhador rural ou na exposição em altas concentrações na ingestão do alimento, no caso do consumidor. Os problemas ambientais estão ligados com contaminação ou até morte da fauna e os problemas econômicos se enquadram no alto custo desnecessário na compra de agrotóxicos em quantidades elevadas e as barreiras fitossanitárias que limitam o mercado internacional de frutas estabelecendo ingredientes ativos proibidos ou limites de concentração muito baixos.

Pensando nestes problemas, as análises de resíduos de agrotóxicos em alimentos são de grande importância para a cadeia produtiva de alimentos em alguns aspectos: monitoramento, comprovação de ausência ou baixa concentração de agrotóxicos atendendo os limites especificados pelo comprador e legislação.

Os laboratórios de análise de resíduos precisam de requisitos básicos para emitir os laudos e a validação é um dos parâmetros primordiais para se começar um exame confiável. A validação consiste em comprovar por ensaios que a análise proposta de determinado analito ou múltiplos analitos em uma matriz específica será alcançada com resultados exatos.

Com isso, o abacaxi *Ananas comosus* foi escolhido para estudo pelo motivo de ser uma fruta de grande importância nacional, devido a sua alta produção e consumo além de apresentar poucos estudos de validação intralaboratorial multirresíduos de agrotóxicos na literatura.

Devido a grande produção a necessidade de utilização de produtos fitossanitários nas lavouras é de extrema importância para manutenção dos cultivos livres de pragas, doenças e ervas espontâneas. Os excessos de aplicações, utilização de produtos não autorizados para cultura e o não respeito ao período de carência estão expressos nos resultados do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos – PARA, que verificou a não conformidade de 32,8% das amostras comercializadas no Brasil segundo dados da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2010).

Sendo esta fruta de grande importância econômica, e de comercialização volumosa no estado do Rio de Janeiro, o objetivo deste estudo foi validar técnicas de análise de resíduos de agrotóxico em abacaxis da variedade pérola comercializados na CEASA-RJ.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Fazer a validação intralaboratorial do método de análise para quarenta e dois agrotóxicos (acefato, ametrina, atrazina, carbaril, carbendazim, clotianidina, deltametrina, demeton-S-metílico, diazinona, diclorvós, dimetoato, dimetomorfe e isômeros, dissulfotom, diurom, espinosade A e D, etiona, etofenproxi, imidacloprido, malationa, metalaxil, metamidofós, metidationa, miclobutanil, ometoato, oxamil, oxamil oxima, piperonil butóxido, piriproxifem, procloraz, propiconazol, propoxur, quinalfós, tebuconazol, tetraconazol, tiabendazol, tiametoxam, triadimefom, triadimenol, triazofós, tricloforn e triflumizol) utilizando a extração multirresíduos para determinação de agrotóxicos QuEChERS e técnica de cromatografia líquida de ultra performance com detecção por espectrometria de massas sequencial – UPLCTM-MS/MS.

1.1.2 Objetivos específicos

- 1) Estabelecer as condições de análise para 42 agrotóxicos da extração até a confirmação dos resultados;
- 2) Aplicar a metodologia validada em amostras da CEASA-RJ;

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura do abacaxi

Originário da América tropical e subtropical, provavelmente do Brasil, o abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. Merrill) devido a coroa é chamado de “Rei dos frutos”. Caracteriza-se por ser uma planta de clima tropical, monocotiledônea, herbácea e perene da família Bromeliácea (Figura 1), com caule (talo) curto e grosso, ao redor do qual crescem folhas estreitas, compridas e resistentes, quase sempre margeadas por espinhos e dispostas em rosetas. No caule insere-se o pedúnculo que sustenta a inflorescência e depois o fruto. Cada planta produz um único fruto saboroso e de aroma intenso (CRESTANI et al, 2010; EMBRAPA, 2005).

O fruto pode ser consumido “in natura”, congelado, enlatado, em caldas, cristalizado, sob a forma de passas e picles e utilizado na confecção de doces, sorvetes, cremes, balas e bolos. Como subproduto do processo industrial pode-se obter ainda: álcool, ácido cítrico, málico e ascórbico; rações para animais e a bromelina. A bromelina é uma substância de alto valor medicinal, trata-se de uma enzima muito utilizada como digestivo e anti-inflamatório. Na culinária, o suco de abacaxi é utilizado para o amaciamento de carnes. Além disso, os frutos do abacaxi são ótimas fontes de cálcio, pró-vitamina A, e vitamina B e C (EMBRAPA, 2005; CRESTANI et al, 2010).



Figura 1 - Abacaxizeiro na fase de frutificação

Fonte: Google imagens, 2013

O abacaxi é um fruto muito apreciado em várias regiões do mundo, constituindo-se num dos principais produtos da fruticultura nacional. Apesar da abundância do cultivo dessa fruta no Brasil, o aproveitamento industrial ainda é pequeno frente ao consumo da fruta “in natura”, sendo

necessária a busca de alternativas para o seu uso, visando o aproveitamento do excesso de safras, principalmente pela indústria, para a fabricação de produtos não tradicionais, como, por exemplo, de vinhos, em função da concentração de açúcares fermentescíveis, acidez e características sensoriais (ARAÚJO et al., 2009).

O abacaxi é característico por ser um fruto de alta umidade e muita fibra. A composição centesimal é descrita a seguir: 86,3% de umidade, 48 Kcal, 0,9g de proteínas, 0,1g de lipídeos, 12,3g de carboidratos, 1,0g de fibra alimentar e 0,4g de cinzas (UNICAMP, 2006).

2.2 Importância econômica

Segundo a FAO em 2010 o Brasil é o maior produtor mundial de abacaxis com 2.205.509 toneladas seguido das Filipinas com 2.169.230 toneladas.

A área plantada no país ocupou 55.533 ha em 2010. A região nordeste é a principal produtora nacional seguida da região sudeste e norte. Os estados que se destacam na produção nacional são: Paraíba, Pará, Minas Gerais, Bahia, São Paulo sendo que a fruta é também amplamente cultivada de norte a sul do país (IBGE, 2011).

2.3 Aspectos agronômicos

O abacaxizeiro é uma planta de clima tropical, apresentando crescimento ótimo e melhor qualidade do fruto na faixa de temperatura de 22 a 32°C, com amplitude térmica diária de 8 a 14°C, e chuvas de 1.200 a 1.500 mm anuais, bem distribuídas. A planta exige boa luminosidade, com insolação anual ótima de 2.500 a 3.000 horas, ou seja, 6,8 a 8,2 horas de luz solar por dia. Umidade relativa do ar média anual de 70% ou superior é desejável, mas a planta suporta bem variações moderadas deste fator climático. A planta adulta, das variedades comerciais, tem de 1 a 1,20m de altura e 1 a 1,5m de diâmetro (EMBRAPA, 2005).

As principais cultivares de abacaxi exploradas atualmente no Brasil são: Smooth Cayenne (Cayenne) e Pérola. Estima-se que 70% da produção mundial tenham como base a cultivar Smooth Cayenne. Esta é bastante explorada, sobretudo no Triângulo Mineiro, uma das principais regiões produtoras de abacaxi do país. Já no Nordeste brasileiro a variedade Pérola é a preferida. O estado de Tocantins e o sul do Pará vêm, atualmente, também se destacando na abacaxicultura brasileira. Tocantins está cultivando Jupí com bastante aceitação no mercado consumidor pelo seu formato mais cilíndrico, polpa mais doce e amarelada que a Pérola. No Pará, a variedade preferida é a Pérola (GONÇALVES; CARVALHO, 2000). No Rio de Janeiro a variedade mais plantada é a Jupí. As

principais variedades estão demonstradas na Figura 2.

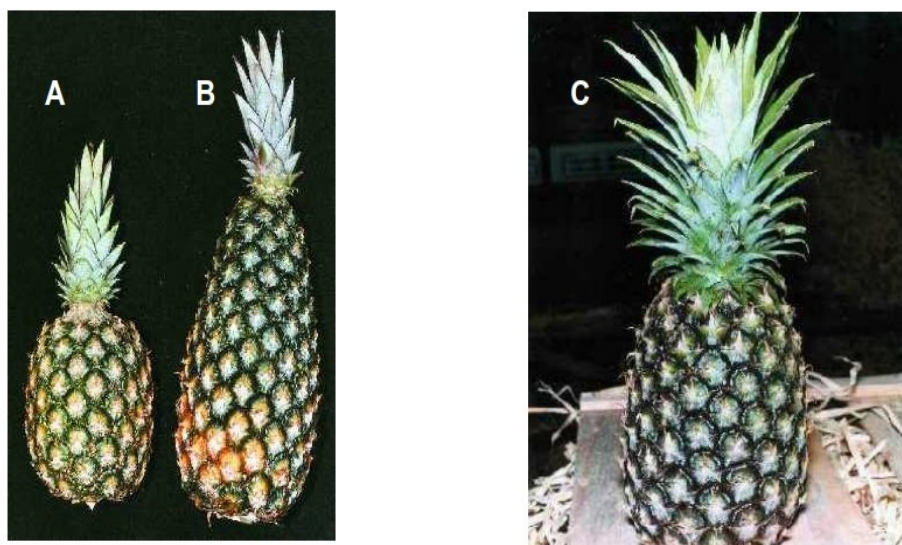


Figura 2- Principais cultivares plantas no Brasil, sendo A – variedade Jupí, B- variedade Pérola e C- variedade Smooth

Fonte: Google imagens, 2013

Souza et al., em 2007 estudaram o crescimento e o rendimento do abacaxi cultivar pérola nas condições climáticas dos tabuleiros costeiros do estado da Paraíba estabeleceu os estádios fenológicos (Figura.3). A compreensão de cada etapa de desenvolvimento da planta é de grande importância para saber as épocas dos manejos agrícolas e principais períodos de suscetibilidade a pragas e doenças.

Dentre as doenças encontradas as que mais afetam a cultura do abacaxi são: Fusariose, com perdas estimada em 30% dos frutos e 20% das mudas e Podridão Negra chegando a incidência de 70% na pós colheita. No caso da Fusariose o patógeno é o fungo *Fusarium subglutinans* e a podridão negra ocasionada pelo fungos *Ceratocystis paradoxa* e *Thielaviopsis paradoxa*. Algumas doenças se caracterizam por sua importância secundária como a podridão parda (*Penicillium funiculosum* e *Fusarium moniliforme*) e podridão do topo (*Phytophthora cinnamomi* Rands e *P. parasitica*) (GOES, 2005).

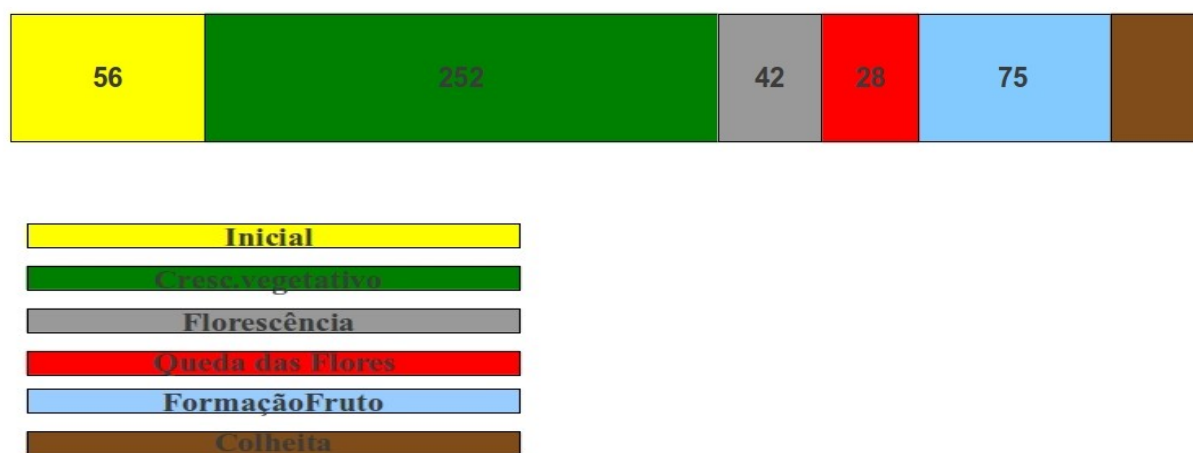


Figura 3 - Estádios fenológico da cultura do abacaxi em dias.

Fonte: Souza et al., 2007

A podridão negra é uma doença de ocorrência na pós colheita, a infecção dos frutos ocorre de duas maneiras, sendo os ferimentos no pedúnculo e no fruto ocasionados pelos erros de transporte e manuseio. Em frutos refrigerados a doença não se desenvolve, em contra partida na temperatura ambiente (24-26°C) o desenvolvimento é favorecido. Os grupos dos benzimidazóis, triazóis e imidazóis são utilizados no controle (OLIVEIRA; NASCIMENTO, 2009).

A partir do terceiro mês pós-plantio é indicado fazer o monitoramento mensal da incidência de fusariose. Se for identificada a presença nas amostras de monitoramento pelo menos 1% de ocorrência toma-se a decisão de fazer o controle. Adotando-se o controle químico a pulverização será feita com objetivo de proteger as inflorescências em desenvolvimento. Os fungicidas são aplicados logo no aparecimento das inflorescências no centro da roseta foliar até o fechamento das flores. Os benzimidazois e triazois são os grupos químicos mais indicados (EMBRAPA, 2009).

No Brasil, 29 espécies de artrópodos, pertencentes às ordens Homoptera, Coleoptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Isoptera, Hemiptera e Thysanoptera, já foram relatadas em associação com esta cultura. Entre esses, a cochonilha *Dysmicoccus brevipes*, a broca-do-fruto, *Thecla basalides*, a broca-do-talo, *Castnia icarus* e o ácaro-alaranjado, *Dolichotetranychus floridanus* têm sido considerados como causadores de problemas à abacaxicultura (REINHARDT et al., 2000).

A presença de plantas daninhas na lavoura é um fator de diminuição da produtividade, o ideal é manter o solo livre de plantas espontâneas nos primeiros seis meses a partir do plantio. O controle do mato pode ser feito por meio mecânico, ou seja, capinas manuais e uso de tração animal, uso de cobertura morta “*mulch*” e o uso químico de herbicidas. Este último é o mais utilizado devido a facilidade e economia de mão de obra.

2.4 Controle químico de pragas, doenças e ervas espontâneas

O ministério da Saúde por meio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA divulga as monografias autorizadas dos produtos fitossanitários. Cada ingrediente ativo possui uma monografia com nome químico, fórmula, grupo químico a que pertence e classe: objetivo de ação, toxicológica e modalidade de emprego, culturas autorizadas para o uso, LMR (mg.kg^{-1}) e Ingestão Diária Aceitável-IDA (mg.kg^{-1} de peso vivo).

Os princípios ativos permitidos para cultura do abacaxi com ação fungicida são os seguintes: captana, fosetil, tiofanato-metílico, tebuconazol, tiabendazol, brometo de metila e triadimefom (Tabela 1.) (ANVISA, 2013; AGROFIT, 2012). Estes produtos são os ingredientes ativos de marcas comerciais autorizadas a comercialização.

Com a função inseticida os princípios ativos permitidos são os respectivos: carbaril, deltametrina, etiona, imidacloprido, fenitrotiona e tricloform. Para regulação de crescimento o etefom e o carbaril são autorizados. Com ação herbicida os regulamentados são: ametrina, atrazina, bromacila, diurom, paraquate e simazina. Com ação nematicida o brometo de metila. Qualquer outra substância além destas empregadas na abacaxicultura é considerada não autorizada sendo ilegal a sua aplicação e assim conferindo um risco para saúde do consumidor e ao manipulador da substância (Tabela 1.) (ANVISA, 2013; AGROFIT, 2012).

Tabela 1 - Agrotóxicos permitidos na cultura do abacaxi

Nome comum	Grupo químico	LMR (mg.kg⁻¹)	Intervalo de Segurança (dias)
ametrina	triazina	0,02	83
atrazina	triazina	0,02	72
beta-ciflutrina	piretróide	0,1	14
bromacila	uracila	0,1	90
brometo de metila	alifático halogenado	75	(2)
captana	dicarboximida	10	1
carbaril	Metilcarbamato de naftila	0,5	7
Deltametrina	piretróide	0,01	14
Dicloreto de paraquate	bipiridílio	0,05	1
Diurrom	Uréia	0,1	140
Etefom	Precursor de etileno	0,5	14
Etiona	organofosforado	2,0	15
Fosetil	fosfonato	0,05	20
imidacloprido	neonicotinóide	0,05	75
simazina	triazina	0,02	(1)
sulfentrazona	triazolona		
tebuconazol	triazol	0,1	14
tiabendazol	benzimidazol	0,1	30
tiametoxam	neonicotinóide	0,02	(1)
Tiofanato-metílico	Precursor de benzimidazol	0,5	14
Triadimefom	triazol	0,1	(1)

Fonte: ANVISA, 2013

Notas: (1) Intervalo de segurança não determinado devido à modalidade de emprego.

(2) Intervalo de segurança não determinado, tratamento em procedimentos quarentenários e fitossanitários para fins de exportação e importação.

2.5 Agrotóxicos

O manejo predominante no agronegócio brasileiro é baseado no sistema convencional onde se recorre ao uso de produtos químicos sintéticos para eliminação, controle e prevenção de possíveis danos. A utilização destes produtos é de extrema importância para culturas em larga escala, visto que ocorre um desequilíbrio ecológico facilitando a ocorrência de pragas, doenças e ervas espontâneas.

A descoberta do diclorodifeniltricloroetano (DDT), em 1939, é tida como um marco nas técnicas de controle fitossanitário. O padrão agrícola pós Segunda Guerra Mundial é baseado no uso de agroquímicos (agrotóxicos e fertilizantes). A partir da década de 1960 com a modernização agrícola começou a chegar aos países em desenvolvimento, esse período foi denominado de Revolução verde (SPADOTTO, 2006).

Agrotóxico segundo a lei é o produto destinado a uso nos setores de produção, armazenamento, beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção das florestas nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais com objetivo de alterar a fauna e flora e preservá-la de seres vivos considerados danosos (BRASIL, 1989).

Os registros dos agrotóxicos comercializados no Brasil são concedidos a empresas pelos Ministérios Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Ministério do Meio Ambiente e Ministério da Saúde. Dentre as diversas atribuições estão o estabelecimento do Limite Máximo de Resíduo - LMR, o controle, fiscalização e inspeção da importação e exportação, estabelecimento de metodologias de análises de determinação de resíduos entre outras (BRASIL, 2002).

A classificação toxicológica dos agrotóxicos se dá por meio de experimentos em cobaias de laboratório. De acordo com legislação os rótulos das embalagens devem vir com a indicação da cor da classe de toxicidade. A periculosidade ambiental dos produtos é classificada em quatro categorias, sendo classe inicial a mais perigosa e a final a pouco perigosa (Tabela 2) (BRASIL, 1992; BRASIL, 1996).

Tabela 2 - Classificação toxicológica e periculosidade ambiental dos agrotóxicos

Classe	Periculosidade Ambiental	Toxicidade
Classe I	Produto Altamente Perigoso	Extremamente Tóxico
Classe II	Produto Muito Perigoso	Altamente Tóxico
Classe III	Produto Perigoso	Medianamente Tóxico
Classe IV	Produto Pouco Perigoso	Pouco Tóxico

2.6 Agrotóxicos e a saúde

Os Agrotóxicos têm o papel de proteção das culturas agrícolas de pragas, doenças e ervas espontâneas, além disso, podem oferecer um risco à saúde humana e ao ambiente. O uso frequente e certas vezes incorreto pode causar a contaminação de solos, água, atmosfera e alimentos. Com isso se estabelece um risco de consumo de alimentos contaminados, podendo ocasionar intoxicações assim com o risco de contaminação ocupacional de trabalhadores e produtores rurais (SPADOTTO, 2006).

Os inseticidas organoclorados foram proibidos no país devido a sua alta toxicidade e persistência no meio ambiente. Os piretróides surgiram com uma alternativa aos carbamatos e organoclorados. Os piretróides são amplamente utilizados por sua baixa toxicidade, mas estudos com roedores têm demonstrado que esse inseticida age nos nervos periféricos causando a síndrome do envenenamento causando tremores em todo corpo, comportamento agressivo, aumento da sensibilidade aos estímulos externos, ataxia e convulsões. Em mamíferos não roedores causa paralisia progressiva. Os fígados e os rins principais órgãos de biotransformação e excreção de substâncias tóxicas, são alvos mais frequentemente afetados por inseticidas piretróides (SANTOS et al, 2007).

2.7 Resíduos de agrotóxicos em alimentos

Os resíduos de agrotóxicos em alimentos têm sido mundialmente pesquisados, devido à busca da população por alimentos saudáveis e seguros. Os resíduos encontrados podem estar ligados ao não respeito ao período de carência do produto, ou seja, limite de segurança da aplicação do princípio ativo até a sua degradação numa concentração que não cause danos. O excesso de

aplicações certamente implicará num resultado na análise de resíduos além do permitido e o motivo mais grave a ser considerado é a presença de substâncias que já foram proibidas de utilização no Brasil em alimentos consumidos pela população. Pesquisas têm demonstrado que as exposições a estas substâncias podem levar a efeitos danosos ao ser humano.

Abreu et al., (2004) avaliaram frutos de tomate comercializados em Botucatu-SP, verificando a presença de metamidofós na quantidade de 3,56 mg.kg⁻¹. Essa quantidade é bem superior ao que preconiza o regulamento que determina o Limite Máximo de Resíduo para esta substância de 0,3 mg.kg⁻¹ e atualmente este produto está proibido.

Kouri (2007) estudando análise de resíduos de atrazina e simazina em abacaxi no estado de Goiás verificou que não havia a presença destas substâncias nos frutos de lavoura com cultivo convencional. Nos frutos considerados de origem orgânica foram encontrados resíduos com o mesmo tempo de retenção da atrazina e simazina e estes valores eram superiores ao permitido pela vigilância sanitária.

Bastos et al., (2010) realizaram uma revisão de trabalhos efetuados no Brasil a respeito de presença de agrotóxicos em leite, verificaram que diversas substâncias foram encontradas, desde drogas veterinárias até produtos aplicados nas pastagens com objetivo de eliminar pragas, doenças e ervas daninhas. Na maioria dos trabalhos consultados a quantidade de substâncias encontradas eram superiores aos limites preconizados pela ANVISA.

Uma preocupação importante é a presença de agrotóxicos nas águas de rios onde ocorrem os cultivos. A presença ocorre principalmente devido a lixiviação ocasionada nos maiores períodos de precipitações pluviométricas. Marchesan et al., (2010) estudaram a presença de resíduos de herbicidas nos rios Vacacaí e Vacacaí-Mirim no Rio Grande do Sul onde a orizicultura é feita de forma intensiva, constatou a presença de clomazona e quincloraque e o inseticida fipronil foram os agrotóxicos encontrados com mais frequência nas amostras de água dos rios. A utilização desta água para consumo humano gera uma preocupação devido à exposição a essas substâncias colocando a saúde em risco.

Em Xiamen na China foi realizado um estudo com objetivo de detectar a presença de resíduos de agrotóxicos em frutas e hortaliças. A técnica utilizada foi a cromatografia gasosa com detector por captura de elétrons. Das 1135 amostras, 37% apresentaram resíduos, sendo repolho, legumes e folhas de mostarda foram os produtos que com maior frequência de agrotóxicos. O princípio ativo mais encontrado foi a cipermetrina com 18,7%. (CHEN et al., 2011).

Costa (2010) efetuando análise multirresíduos de agrotóxicos em abacaxi orgânico por cromatografia gasosa com detector por captura de elétrons validou o método para detecção das referidas substâncias: atrazina, tiametoxam, triadimenol e deltametrina. No estudo em questão, os

agrotóxicos não foram encontrados, embora o método tenha apresentado resultados satisfatórios em sua validação. Os resultados negativos pode ser um indicativo que o cultivo seguiu as exigências para produção de orgânicos. Esta segurança não pode ser estendida para os frutos cultivados de forma convencional necessitando assim um estudo aprofundado.

2.8 Relatórios do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)

O Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos - PARA foi lançado em 2001, com o objetivo de avaliar continuamente os níveis de agrotóxicos nos alimentos, almejando assim a segurança alimentar evitando posteriores danos a saúde da população. Por meio das análises são identificadas as irregularidades na fiscalização e monitorações são realizadas (ANVISA, 2003).

Uma rede de laboratórios em todo o território nacional realiza as análises para o programa de monitoramento, no ano de 2009 o PARA monitorou vinte alimentos, sendo estes os que mais são consumidos na dieta do brasileiro. Em cada vegetal são quantificados os ingredientes ativos acima do LMR e também as substâncias não permitidas para cultura. Por meio destes resultados são geradas as tabelas de insatisfatórios (ANVISA, 2011).

O abacaxi começou a ser analisado no ano de 2008 com 9,47 % das amostras insatisfatórias de um total de 95 frutos, já em 2009 subiu para 44,1% insatisfatórias de um total de 145 frutos e finalmente em 2010 um decréscimo para 32,8% de um total de 122 amostras analisadas. Do ano de 2009 para 2010 teve uma queda nas amostras com ingredientes ativos não autorizados para cultura de 28,3% para 16,4% (ANVISA, 2009; ANVISA, 2010; ANVISA, 2011).

A divulgação dos resultados demonstrados têm sido ampla na imprensa e os consumidores tendem a ficar mais atentos sobre os produtos que se encontram com irregularidades. De acordo com relatos de produtores na CEASA-RJ alguns produtos apresentam baixa procura após notícias de alimentos vinculadas a agrotóxicos, demonstrando uma incipiente preocupação com os malefícios ocasionados por estas substâncias.

2.9 Boas práticas agrícolas

As boas práticas agrícolas são medidas de produção no campo que visam um alimento ecologicamente mais sustentável e que ofereça uma segurança ao consumidor. Dentre as medidas estão: a adoção de práticas de higiene, escolha de material genético de boa qualidade, utilização de recursos naturais de forma equilibrada e consciente, conservação do solo, etc. Um fator muito

importante é a utilização de agrotóxicos respeitando as orientações como: manutenção dos bicos pulverizadores, destinação das embalagens para local adequado, treinamento para os aplicadores de pesticidas, respeito ao período de carência e aplicação de produtos autorizados para a cultura (FAO, 2007; MORETTI, 2003).

A utilização de Equipamentos de Proteção Individual - EPI, separar um local específico para armazenamento dos produtos e embalagens vazias, respeitar os períodos de carência e somente utilizar os produtos após conhecimento do problema e orientação de um profissional capacitado são pré-requisitos essenciais para evitar que um contaminante químico esteja presente no alimento (FAO, 2007).

A falta de rastreabilidade coloca a população consumidora num grau de risco muito alto, visto que não se tem um monitoramento e nem a garantia da qualidade do produto a ser consumido.

2.10 Extração dos agrotóxicos utilizando QuEChERS

Atualmente o método mais utilizado em extração de multirresíduos é o QuEChERS desenvolvido por Anastassisades et al., (2003). O método é denominado por uma sigla, *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe* (PRESTES et al, 2009) (Figura 4).

O método apresenta, como o próprio nome sugere, vantagens de ser rápido, fácil, econômico, efetivo, robusto e seguro. O solvente utilizado é acetonitrila que apresenta a vantagem, em relação a outros solventes, de extrair baixa quantidade de compostos lipofílicos. A acidificação da acetonitrila possibilita melhores resultados de recuperação para agrotóxicos com baixa estabilidade (PRESTES et al, 2009).

O efeito *salting out* é promovido pela adição de sais no processo de extração, pois promovem melhores recuperações de agrotóxicos polares, visto que os sais diminuem a solubilidades dos analitos em água além de reduzir a quantidade de água na fase orgânica. (PRESTES et al, 2009).

Os sais secantes mais utilizados são: NaCl, Na(C₂H₃O₂) e MgSO₄ anidro, este último é mais utilizado devido a alta eficiência na remoção de água, a sua hidratação se dá com elevação da temperatura a aproximadamente 40 a 45 °C facilitando a extração de analitos apolares .

Na etapa de *clean up* são adicionados sorventes e sais secantes com objetivo de eliminar o residual de água e coextrativos polares que podem provocar o efeito induzido na matriz. Geralmente o sal secante é o MgSO₄ anidro e o sorvente PSA (amina primária secundária). Nesta etapa podem ser adicionados outros componentes (C₁₈, alumina, carbono preto grafitizado-GCB, com objetivo de reduzir os coextrativos (ANASTASSISADES et al., 2003; PRESTES et al., 2009;

KOESUKWIWAT et al., 2010, BASTOS et al., 2012).

Atualmente este método tem sido utilizado com grande sucesso para análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos (PIZZUTTI et al., 2009; KOESUKWIWAT et al., 2010; QUEIROZ et al., 2011; BASTOS et al., 2012).

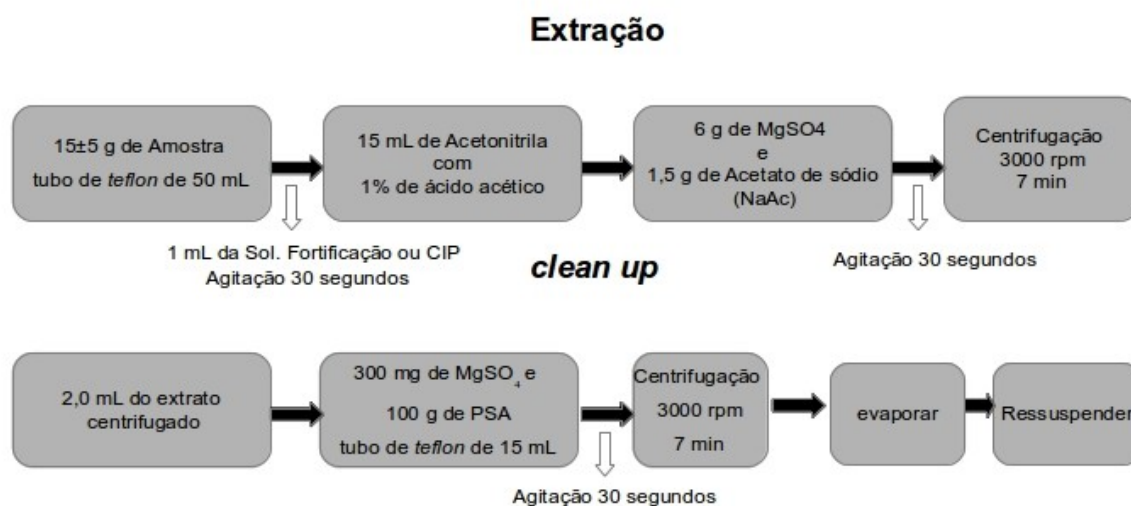


Figura 4 - Etapas do QuEChERS original (Anastassiades et al., (2003) com modificações)

2.11 Validação

Validação em química analítica é a comprovação por meio de exames que o método proposto é adequado para o uso pretendido. Os laboratórios devem validar os métodos normalizados, métodos criados/desenvolvidos pelo próprio laboratório, métodos normalizados usados fora do escopo para os quais foram produzidos, acréscimos e modificações de métodos normalizados. O laboratório deve registrar os resultados adquiridos, a metodologia utilizada e uma declaração deve ser emitida confirmando ou não que este é adequado para o uso com um grau de confiabilidade (EURACHEM, 1998; THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002; ISO, 2005, INMETRO, 2011).

Os parâmetros de validação ou parâmetros de desempenho comprovam a eficácia do método e são eles: seletividade, linearidade, faixa de trabalho, limite de detecção e quantificação, recuperação, precisão e robustez (GREEN, 1996; EURACHEM, 1998; THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002; RIBANI et al, 2004; INMETRO, 2011, DG-SANCO, 2012).

Souza (2007) abordou em seu trabalho que a maioria das validações utiliza os parâmetros: linearidade e faixa de trabalho, sensibilidade, exatidão, precisão, limite de detecção e quantificação. Este mesmo autor argumenta que sensibilidade é essencial para protocolos de validação onde se faz a comparação de métodos.

Nos estudos de validação em resíduos de agrotóxicos em alimentos verificou-se os seguintes parâmetros: linearidade e faixa de trabalho, limite de detecção e quantificação, seletividade, precisão (repetitividade) e exatidão (CHAI; TAN, 2009; PIZZUTTI et al., 2009; CARDOSO et al, 2010, ROMERO-GONZÁLEZ et al., 2011; BOTERO-COY, 2012).

No caso do estudo de validação de resíduos de agrotóxicos em alimentos, geralmente são seguidas as recomendações da Comissão Europeia - DG-SANCO (2012).

2.12 Parâmetros de validação

2.12.1 Seletividade

Capacidade que o método apresenta de identificar e/ou quantificar analitos na presença de diversos componentes em uma mesma amostra, apresentando resultados exatos e precisos (EURACHEM, 1998; THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002; RIBANI et al, 2004; INMETRO, 2009).

A matriz sendo de constituição complexa, pode conter substâncias que interferem na qualidade da medição do equipamento, ou seja, os interferentes podem reduzir ou aumentar o sinal da resposta. O efeito, também chamado de efeito matriz, pode ser observado quando se varia a concentração do analito em estudo. A elaboração de resultados sem estudo prévio da seletividade pode comprometer os dados de exatidão, linearidade e precisão (RIBANI et al, 2004; INMETRO, 2011).

2.12.2 Linearidade

Habilidade que o método possui de obter resultados diretamente proporcionais a concentração do analito na amostra, numa dada faixa de concentração. Em cromatografia a resposta corresponde a área obtida numa respectiva concentração do composto em estudo (EURACHEM, 1998; INMETRO, 2009, INMETRO, 2011).

A relação entre a área obtida e a concentração do analito é sintetizada numa expressão matemática denominada equação da reta e em laboratórios de química chamada de curva analítica (RIBANI et al., 2004) (Equação 1).

$$y=bx+a$$

Equação 1

Onde:

y = resposta medida (área do pico);

x= concentração;

a= interseção com o eixo y, quando x = 0;

b= inclinação da curva analítica = sensibilidade (INMETRO, 2011)

Os estudos para avaliação da linearidade preparam curvas com analito em solvente e/ou matriz, com cinco a sete níveis de concentração com o mínimo de duas replicatas do mesmo nível. Das ferramentas estatísticas utilizadas temos o método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO), estimativa dos parâmetros e erros de regressão, coeficiente de correlação (r) e coeficiente de determinação (R^2), análise de significância da regressão pelo teste de médias ANOVA e teste F e homogeneidade na variância da regressão utilizando o teste de Cochran (SOUZA, 2007; CARDOSO et al., 2010).

Em alguns trabalhos de validação os coeficientes de determinação e correlação tem sido utilizados como único critério para avaliação da linearidade, isto confere um erro visto que, os mesmos somente servem para avaliar o grau de ajuste dos dados a curva (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002; CARDOSO et al., 2010;).

2.12.3 Faixa de trabalho

Dentro de um método quantitativo em química analítica, após o estudo da linearidade se tem a faixa de concentração, a realização das análises de rotina dentro desta faixa confere maior grau de precisão. A faixa de trabalho para o mesmo analito pode ter diferente configurações em matrizes distintas, devido a presença de interferentes (SOUZA, 2007; INMETRO, 2011).

2.12.4 Limite de detecção

Definido como o menor nível de concentração onde a substância estudada pode ser detectada acima do nível do ruído, mas não necessariamente quantificada. Existem muitas controvérsias sobre a terminologia e com isso não se faz obrigatória a sua inclusão no documento de validação, mas muitos documentos setoriais utilizam este parâmetro. No caso de sistemas de

validação onde a faixa estudada se encontra próxima ao limite de quantificação, se faz necessária sua inclusão no documento final (GREEN, 1996; THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002; RIBANI et al, 2004; INMETRO, 2011).

Segundo Ribani et al., (2004) o limite de detecção pode ser calculado por três diferentes métodos: visual, relação sinal/ruído e baseado nos parâmetros da curva analítica.

2.12.5 Limite de quantificação

Expressa a menor concentração que um analíto pode ser quantificado com uma precisão aceitável. Este critério é importante para delimitar a menor concentração que as análises serão realizadas, apresentando resultados confiáveis (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002). Os cálculos para determinação também são descritos por Ribani et al., (2004).

2.12.6 Tendência

A exatidão é estudada por meio da recuperação que compara os resultados obtidos na amostra com os valores reais. Os intervalos aceitáveis de recuperação para resíduos de agrotóxicos se encontra na faixa de 70-120%. (GREEN, 1996; RIBANI, et al, 2004; DG-SANCO, 2012) O cálculo do percentual de recuperação é descrito na Equação 2.

$$R (\%) = \frac{C1 - C2}{C3} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Onde:

R (%) = Percentagem de recuperação;

C1 = Concentração determinada em amostra fortificada;

C2 = Concentração determinada da amostra não fortificada;

C3 = Concentração teórica que deve ser encontrada na análise da amostra fortificada.

2.12.7 Precisão

Defini-se como a dispersão dos resultados em um método analítico obtidos de várias análises de uma amostra homogênea, podendo ser dividida em três formas: repetitividade, precisão

intermediária e reprodutibilidade. Os resultados são expressos em desvio padrão ou desvio padrão relativos(Equação 3) (GREEN, 1996; THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002; INMETRO, 2009; INMETRO, 2011).

$$\text{DPR (\%)} \text{ ou } \text{CV (\%)} = \frac{S}{\bar{X}} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

CV ou DPR = Coeficiente de variação ou Desvio padrão relativo

X = Média das recuperações em n replicatas

s = Desvio padrão das recuperações em n replicatas

Seguindo os critérios do DG-SANCO, 2012 os coeficientes de variação para indicação de método preciso devem se encontrar \leq a 20 %.

2.12.8 Robustez

Estudo da resistência de mudança dos resultados de um método analítico quando o mesmo sofre pequenas mudanças no procedimento, como a concentração do solvente orgânico, variação do pH, temperatura, tempo de extração e agitação além de outros fatores. Para o método ser considerado robusto, as pequenas modificações não dever alterar significativamente os resultados. Quanto maior a robustez do método, aumenta-se a confiança em relação a sua precisão (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002; RIBANI et al., 2004; INMETRO, 2009; INMETRO, 2011; DG-SANCO, 2012).

3 MATERIAS E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Resíduos de Agrotóxicos do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

O desenvolvimento do experimento consistiu, na validação intralaboratorial da análise de resíduos de agrotóxicos utilizado a técnica de cromatografia líquida de ultra performance com detecção por espectrometria de massas sequencial – UPLCTM-MS/MS.

Para dar maior confiabilidade nos resultados obtidos, foram utilizadas vidrarias, pipetas e balões volumétricos com certificados de calibração rastreáveis a Rede Brasileira de Calibração. Assim como a balança analítica, com resolução 10⁻⁵g utilizada para pesagem de padrões de agrotóxicos e amostra.

3.1 Amostra

Validação: Para a realização da validação da técnica cromatográfica para análise de resíduos agrotóxicos foram utilizados abacaxis orgânicos da variedade Pérola adquiridos de agricultores orgânicos, localizado no município de Seropédica-RJ.

Preparo: Após remoção da coroa os abacaxis foram cortados em pequenas partes e processados em *blender* (liquidificador com copo de vidro) de acordo com a indicação do *Codex Alimentarius* (CODEX, 2003). A polpa foi mantida em recipientes de vidro e armazenada a temperatura de aproximadamente -21°C até o momento da análise. Posteriormente foram realizados testes para verificação da ausência dos agrotóxicos alvo de estudo.

3.2 Instrumentação

- Balança analítica de precisão com 5 casas decimais – Modelo AG 245 (Metler Toledo)
- Balança analítica de precisão com 5 casas decimais – Modelo XP 205 (Metler Toledo)
- banho Ultrassom – Modelo 2510 RMTM (Branson Ultrasonics);
- Liquidificador industrial – Modelo 36BL55 (Ametek)
- Módulo triplo de aquecimento/agitação - REACTI THERM III REACTI VAP III com unidade de evaporação com fluxo de N₂ (PIERCE, EUA);

- Sistema de Purificação de Água por Osmose Reversa e Eletrodeionização – Modelo Milli-Q (Merck Millipore);
- Centrifuga Modelo TJ-6R (Beckman)
- Estufa (Fanen)
- Mufla (KH Huppert)
- Sistema UPLC™- MS/MS – Cromatógrafo líquido de ultra performace (Waters, USA) modelo ACQUITY UPLC™ com sistema binário de bombas, injetor automático, degaseificador, forno para coluna. A coluna utilizada para a separação cromatográfica foi de fase reversa ACQUITY UPLC™ BEH C₁₈ com 1.7 µm de tamanho de partícula esférica, 2.1 mm de diâmetro interno e 100 mm de comprimento (Waters, USA). A pré-coluna utilizada foi a VanGuard™ BEH C₁₈ com 1.7 µm de tamanho de partícula esférica (Waters, USA). Detector acoplado espectrômetro massas/massas (Waters, USA) modelo Quattro Premier XE™ equipado com uma fonte de ionização ESI (Z-Spray™) operando no modo positivo e estação de trabalho MassLynx™ Versão 4.1.

As condições operacionais do espectrômetro de massas/massas, cromatógrafo líquido e gradiente de eluição encontram-se descritos na Tabela 3 .

Tabela 3 - Condições operacionais do espectrômetro de massas/massas Quattro Premier XE™.

Parâmetro	Valor
Voltagem do Capilar (kV)	0,98
Temperatura da Fonte ESI ⁺ (°C)	120
Temperatura do Gás de Dessolvatação N ₂ (°C)	400
Fluxo do Gás do Cone N ₂ (L.h ⁻¹)	50
Fluxo do Gás de Dessolvatação N ₂ (L.h ⁻¹)	800
Pressão do Gás de Colisão Argônio (mbar)	3,5 x 10 ⁻³

As condições operacionais do cromatógrafo líquido encontram-se descritas na Tabela 4.

Tabela 4 - Condições operacionais do cromatógrafo líquido Acquity UPLC™.

Parâmetro	Valor
Volume de Injeção (µL)	5
Vazão da Fase Móvel Constante (mL.min ⁻¹)	0,3
Temperatura do Forno da Coluna Constante (°C)	35,0
Temperatura do Amostrador Constante (°C)	8,0
Tempo Total de Corrida (min)	25

Encontram-se a seguir o gradiente de eluição (Tabela 5) e agrotóxicos analisados por UPLC™-MS/MS e as transições MRM com os parâmetros descritos nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5 - Gradiente de eluição

Tempo (min)	Vazão (mL.min ⁻¹)	Fases	
		A1 (Formato de Amônio)	B1(Metanol)
0-17	0,3	85,2	17,5
17-20	0,3	5,5	94,5
20-25	0,3	85,2	17,5

Tabela 6 - Agrotóxicos analisados por UPLC™-MS/MS, modo de ionização positivo e modo de aquisição MRM (*multiple reaction monitoring*), T_R, voltagem do cone e energia de colisão.

Agrotóxico	T _R (min)	Transição MRM	Tipo de Transição	Voltagem do Cone (V)	Energia de Colisão (eV)
Acefato	1,18	183.9>142.	Quantificação	20	25
		183.9>94.6	Qualificação	20	10
Ametrina	9,71	228.1>186	Quantificação	30	20
		228.1>96	Qualificação	30	25
Atrazina	8,04	216.1>174.1	Quantificação	39	18
		216.1>96.1	Qualificação	39	23
Carbaril	7,14	219>144.9	Quantificação	10	16
		219>126.9	Qualificação	10	35
Carbendazim	4,11	192>132	Quantificação	25	30
		192>159.9	Qualificação	25	16
Clotianidina	2,92	250>168.9	Quantificação	20	14
		250>131.8	Qualificação	20	14

Deltametrina	16,08	522.9>280.9 522.9>181.2	Quantificação Qualificação	20 20	15 30
Demeton-S- Metílico	6,59	230.7>88.9 230.7>61.1	Quantificação Qualificação	12 12	10 30
Diazinona	12,55	305.1>169 305.1>96.9	Quantificação Qualificação	25 25	22 35
Diclorvós	6,25	220.9>108.8 220.9>126.9	Quantificação Qualificação	25 25	18 18
Dimetoato	3,40	230>198.8 230>124.8	Quantificação Qualificação	20 20	10 22
Dimetomorfe (2 isômeros)	10,78	388.1>300.9 388.1>165	Quantificação Qualificação		
Dissulfotom	13,18	274.7>88.8 274.7>61	Quantificação Qualificação	12 12	10 35
Diurum	8,68	233>72 233>159.9	Quantificação Qualificação	25 25	18 25
Espinosade A	15,66	732.6>142 732.6>98.1	Quantificação Qualificação	50 50	31 59
Espinosade D	16,23	746.5>142 746.5>98.1	Quantificação Qualificação	45 45	31 55
Etiona	14,75	384.6>198.7 384.6>142.7	Quantificação Qualificação	20 20	10 25
Etofenproxi	17,01	394.3>177 394.3>106.9	Quantificação Qualificação	20 20	15 43
Imidacloprido	2,78	256.1>209 256.1>174.9	Quantificação Qualificação	25 25	12 20
Malationa	10,58	331>126.9 331>98.9	Quantificação Qualificação	20 20	12 25
Metalaxil	8,62	280.1>220 280.1>192	Quantificação Qualificação	25 25	12 18
Metamidofós	1,11	141.9>93.9 141.9>124.8	Quantificação Qualificação	30 30	12 14
Metidationa	8,92	303>144.8 303>84.9	Quantificação Qualificação	20 20	12 22
Miclobutanil	11,02	289.1>70.1 289.1>124.9	Quantificação Qualificação	30 30	18 30
Ometoato	1,25	214>124.8 214>182.8	Quantificação Qualificação	25 25	10 22
Oxamil	1,54	162.9>72 162.9>89.9	Quantificação Qualificação	15 15	10 10
Oxamil oxima	1,32	237>72 237>90	Quantificação Qualificação	20 20	12 16
Piperonil Butóxido	14,56	356.3>176.9 356.3>119	Quantificação Qualificação	20 20	11 37
Piriproxfem	14,75	322.2>95.9 322.2>184.9	Quantificação Qualificação	25 25	15 23

Procloraz	13,10	376>308 376>266	Quantificação Qualificação	20 20	15 15
Propiconazol isômeros	12,70	342.1>158.9 342.1>69.1	Quantificação Qualificação	35 35	30 20
Propoxur	6,29	210.1>110.9 210.1>92.9	Quantificação Qualificação	15 15	12 25
Quinalfós	12,02	298.8>162.8 298.8>146.8	Quantificação Qualificação	25 25	25 20
Tebuconazol	13,10	307.8>69.9 307.8>124.7	Quantificação Qualificação	30 30	20 35
Tetraconazol	11,65	372>158.9 372>70.1	Quantificação Qualificação	35 35	35 20
Tiabendazol	5,27	202>174.9 202>130.9	Quantificação Qualificação	45 45	25 30
Tiametoxam	2,01	292.1>210.9 292.1>180.9	Quantificação Qualificação	20 20	12 22
Triadimefom	10,77	294.1>69.1 294.1>196.9	Quantificação Qualificação		
Triadimenol	11,17	296.1>70 296.1>98.9	Quantificação Qualificação	15 15	10 14
Triazofós	11,1	314.1>161.9 314.1>118.9	Quantificação Qualificação	25 25	18 35
Triclorfon	3,36	256.9>108.8 256.9>126.8	Quantificação Qualificação	25 25	20 18
Triflumizol	14,03	346.1>278 346.1>73.1	Quantificação Qualificação	15 15	10 18

3.3 Gases

- Nitrogênio com pureza maior que 99,995%;
- Argônio com pureza maior que 99,999%

3.4 Materiais

- Seringas de vidro;
- Tubos Centrífuga fundo cônico (Tipo Falcon) de 15 e 50 mL;
- Frascos de vidro âmbar.
- vidrarias comuns de laboratório
- macrocontrolador de pipetas brand
- Filtro de papel (Millipore)

- Unidade filtrante GV (Millex)
- Vials de vidro (Waters)

3.5 Solventes e Reagentes

- Metanol grau para cromatografia líquida (Merck, Alemanha);
- Ácido acético glacial grau para cromatografia líquida (Tedia, México);
- Acetonitrila grau para cromatografia líquida (Sigma-Aldrich, Alemanha)
- Formato de Amônio (Fluka, EUA)
- Detergente Extran® grau alcalino (Merck, Alemanha)
- Sulfato de magnésio anidro (Merck, Alemanha)
- Sorvente Bondesil-PSA 40 µm (Varian, EUA)
- Acetato de sódio (Spectrum, EUA)

3.6 Padrões de agrotóxicos selecionados

As substâncias selecionadas para o estudo foram: acefato, ametrina, atrazina, carbaril, carbendazim, clotianidina, deltametrina, demeton-S-metílico, diazinona, diclorvós, dimetoato, dimetomorfe e isômeros, dissulfotom, diurom, espinosade A e D, etiona, etofenproxi, imidacloprido, malationa, metalaxil, metamidofós, metidationa, miclobutanil, ometoato, oxamil, oxamil oxima, piperonil butóxido, piriproxifem, procloraz, propiconazol, propoxur, quinalfós, tebuconazol, tetraconazol, tiabendazol, tiametoxam, triadimefom, triadimenol, triazofós, triclofor e triflumizol. As informações dos padrões utilizados de cada substância encontram-se descritas na Tabela 7.

Tabela 7 – Informações dos padrões dos agrotóxicos utilizados na validação.

Agrotóxico	Fornecedor	Lote	Validade	Pureza (%)
Acefato	Dr. Ehrenstorfer	80624	28/07/2012	97,5
Ametrina	Dr. Ehrenstorfer	60527	11/07/2012	99,0
Atrazina	Dr. Ehrenstorfer	61023	20/02/2013	99,5
Carbaril	Dr. Ehrenstorfer	81212	19/12/2012	99,0

Carbendazim	Dr. Ehrenstorfer	90324	15/04/2015	99,0
Clotianidina	Dr. Ehrenstorfer	90714	11/07/2013	99,5
Deltametrina	Dr. Ehrenstorfer	71206	12/12/2013	99,0
Demeton-S-Metilico	Dr. Ehrenstorfer	427	24/11/2011	98,5
Diazinona	Dr. Ehrenstorfer	70320	11/04/2011	96,0
Diclorvós	Dr. Ehrenstorfer	90904	04/12/2011	95,0
Dimetoato	Dr. Ehrenstorfer	80929	08/10/2012	98,5
Dimetomorfe (2 isómeros)	Dr. Ehrenstorfer	61109	23/11/2012	99,0
Dissulfoton	Dr. Ehrenstorfer	80423	11/07/2011	95,3
Diurom	Dr. Ehrenstorfer			97,5
Espinosade A	Dr. Ehrenstorfer	91029	26/11/2013	94,0
Espinosade D	Dr. Ehrenstorfer	91029	26/11/2013	94,0
Etiona	Dr. Ehrenstorfer	15558	13/10/2013	98,1
Etofenproxi	Dr. Ehrenstorfer	1109	09/11/2014	98,5
Imidacloprido	Dr. Ehrenstorfer	71213	07/01/2014	99,0
Malationa	Dr. Ehrenstorfer	91103	03/11/2013	99,0
Metalaxil	Dr. Ehrenstorfer	81229	01/01/2013	98,9
Metamidofós	Dr. Ehrenstorfer	70626	20/11/2011	99,0
Metidationa	Dr. Ehrenstorfer	71220	10/01/2012	98,5
Miclobutanil	Dr. Ehrenstorfer	51121	01/11/2011	99,0
Ometoato	Dr. Ehrenstorfer	70920	29/09/2011	97,0
Oxamil	Dr. Ehrenstorfer	604	14/07/2014	98,2
Oxamil oxima	Dr. Ehrenstorfer	114	03/01/2014	98,5
Piperonil Butóxido	Dr. Ehrenstorfer	70921	19/09/2013	92,5
Piriproxifen	Dr. Ehrenstorfer	90506	12/05/2013	99,0
Procloraz	Dr. Ehrenstorfer	90817	28/08/2013	99,0
Propiconazol	Dr. Ehrenstorfer	80917	19/09/2012	96,5
Propoxur	Dr. Ehrenstorfer	80111	18/01/2012	99,0
Quinalfós	Dr. Ehrenstorfer	80104	28/02/2012	96,0
Tebuconazol	Dr. Ehrenstorfer	80418	23/04/2012	98,8
Tiabendazol	Dr. Ehrenstorfer	729	26/08/2014	99,9
Tiametoxam	Dr. Ehrenstorfer	30320	03/04/2013	98,5
Triadimefom	Dr. Ehrenstorfer	90227	05/03/2015	99,0
Triadimenol	Dr. Ehrenstorfer	61212	28/12/2012	98,0
Triazofós	Dr. Ehrenstorfer	80131	24/02/2011	78,0
Triclofon	Dr. Ehrenstorfer	80131	22/02/2012	97,0
Triflumizol	Dr. Ehrenstorfer	61027	01/11/2012	98,0

3.7 Soluções

3.7.1 Solução estoque

A solução foi preparada individualmente para cada agrotóxico, onde pesou-se aproximadamente 0,01g do padrão analítico e sua dissolução ocorreu com adição de 25 mL de solvente orgânico acetato de etila, obtendo-se a concentração nominal de $400 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Após preparo as mesmas foram armazenadas em frasco de vidro âmbar e mantidas em temperatura de -21°C . A solução estoque apresenta validade de dois anos a partir da data de seu preparo.

3.7.2 Soluções intermediárias

A partir das soluções estoque foram feitas diluições afim de que se chegasse as concentrações ideais para a construção da curva analítica e fortificação da amostra branco de abacaxi.

Em seguida preparou-se 100 mL de uma mistura de concentração $4,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ contendo as 42 substâncias a serem analisadas. Para isso, transferiu-se 1 mL de cada solução estoque para balão volumétrico de 100 mL e este foi avolumado com o solvente metanol adicionado de 0,1% de ácido acético.

A partir da solução de $4,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ foi preparada a solução de $0,4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ onde, foram recolhidos 5 mL e transferidos para balão de 50 mL com o solvente metanol adicionado de 0,1% de ácido acético.

Por meio da solução de $0,4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ foram preparadas as diluições nas concentrações de 0,016; 0,032; 0,064; 0,08; 0,12; 0,16 e $0,32 \mu\text{g.mL}^{-1}$, para estudo da linearidade e confecção da curva analítica, de cada agrotóxico. Todas as soluções analíticas foram preparadas no solvente metanol adicionado de 0,1% de ácido acético.

No preparo das soluções de fortificação partiu-se da concentração $4,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ recolheram-se alíquotas de 1 mL em balão de 25 mL, 1 mL em balão de 10 mL e 2 mL em balão de 10 mL. As respectivas concentrações são: 0,4; 0,8 e $0,16 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Todas as soluções analíticas foram preparadas no solvente metanol adicionado de 0,02% de ácido acético.

Todas as soluções analíticas foram armazenadas em freezer com a temperatura de -21°C , no momento da utilização as mesmas foram retiradas e mantidas em capela de exaustão para chegarem a temperatura ambiente. Somente após este processo as soluções foram utilizadas.

As soluções intermediárias com solvente metanol possuem um prazo de validade de seis meses a contar do seu preparo.

3.7.3 Solução intermediária do controlador individual do processo

O controlador individual do processo – CIP, ou “*surrogate*” é um agrotóxico com as características físicas e químicas semelhantes a dos analitos a serem analisados. O mesmo deve ser adicionado em concentração definida nas amostras antes da extração. Seu objetivo foi verificar a variabilidade na evaporação, diluição e injeção (CARDOSO et al., 2010; DG-SANCO, 2012).

O CIP deve ser inerte e estável ao longo do processo analítico. A taxa de recuperação deve ser entre 70 e 120% para confirmar que o procedimento foi correto, se isto não ocorrer correções deverão ser realizadas para entrar em conformidade (CARDOSO et al., 2010; DG-SANCO, 2012).

O agrotóxico selecionado como CIP foi o propoxur, pois se encontra excluído da utilização no Brasil. Foi preparada uma solução a partir da estoque, em solvente metanol com 0,1% de ácido acético, na concentração nominal de $0,4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

3.8 Extração pelo método QuEChERS

Foram pesados $15 \pm 5\text{g}$ da amostra processada em tubo de teflon de 50 mL. Nas amostras foi adicionado 1mL do controlador individual do processo, propoxur, na concentração nominal de $0,4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, antes da extração e logo em seguida agitado em vortex por 30 segundos. Nas amostras “abacaxi branco” para fortificação adicionou-se 1 mL da mistura dos 42 agrotóxicos em estudo.

Em seguida foram adicionados 15 mL de acetonitrila (MeCN) com 1% (v/v) de ácido acético (HAc), seguido de agitação em vortex por 30 segundos, adição de 6 g de sulfato de magnésio (MgSO_4) e 1,5 g de Acetato de sódio (NaAc), agitação em vortex por 30 segundos e centrifugação a 3000 rpm em temperatura ambiente por 7 minutos (Figura 5).

Uma alíquota de 2,0 mL do extrato centrifugado foi recolhida e adicionada ao tubo de teflon de 15 mL contendo 300 mg de MgSO_4 e 100 mg de PSA, esta etapa é denominada de *Clean-up* que consiste na remoções de substâncias interferentes existentes no extrato. Logo em seguida, ocorreu agitação em vortex por 30 segundos e centrifugação a 3000 rpm em temperatura ambiente por 7 minutos.

O volume de 1,0 mL foi recolhido e transferido para tudo de ensaio e levado a evaporação,

em bloco de aquecimento acoplado à unidade de evaporação, até a secura sob leve atmosfera de nitrogênio. O extrato seco foi em ressuspendido em: 1mL de da mistura metanol/água na proporção 1:1 para as amostras fortificadas, 1 mL da mistura de agrotóxicos em diferentes concentrações nos pontos de quantificação, na diluição 1:1 padrão/água e 1 mL Quinalfós diluído na proporção 1:1 com água nas amostras para análise.



Figura 5 – Extrato orgânico do abacaxi na primeira fase do QuEChERS.

Nota: Foto do Arquivo pessoal do autor

3.9 Determinação do teor de agrotóxicos

Determinou-se o teor de agrotóxicos nas amostras pela interpolação das áreas dos picos cromatográficos e obtidos na curva analítica.

O cálculo da concentração do agrotóxico em mg.kg^{-1} ou $\mu\text{g.g}^{-1}$ é descrito na fórmula representada na Equação 4:

$$\text{Resultado} (\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{ ou } \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}) = \frac{\text{Conc. curva} \times \text{vol. extração} + \text{vol. CIP}}{\text{massa da matriz (g)}} \quad \text{Equação 4}$$

Onde :

Conc.curva = concentração obtida na curva em mg.L^{-1} ou $\mu\text{g.mL}^{-1}$

Vol. Extração = volume de extração (15 mL)

Vol.CIP = Volume do controlador individual de processo

3.10 Validação da metodologia e avaliação dos critérios de desempenho

Para validação do método foram utilizadas as recomendações de literatura científicas (CODEX, 2003; DG-SANCO, 2012; EURACHEM, 1998; INMETRO, 2011; MILLER, J. C.; MILLER, J. N., 1984; THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002). Os critérios de desempenho foram expressos em termos de parâmetros estatísticos de seletividade, linearidade, repetitividade, recuperação e limites de detecção.

3.10.1 Seletividade

Para avaliar se houve o efeito da resposta cromatográfica acentuada ou induzida pela a matriz também conhecido como efeito matriz foram construídas curvas analíticas em solvente e na matriz polpa de abacaxi orgânico. Foram utilizados o teste F de Snedecor e teste t de Student segundo a recomendação de Cardoso, Nóbrega e Abrantes (2008).

3.10.2 Estudo da Linearidade e faixa de trabalho

Para o estudo da linearidade e faixa de trabalho as curvas analíticas a partir das soluções analíticas tanto em solvente, quanto no extrato orgânico do branco da polpa de abacaxi, nas concentrações de 0,008; 0,016; 0,032; 0,04; 0,06; 0,08 e 0,16 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. As soluções da curva foram injetadas 4 vezes, para cada “vial”, no cromatógrafo.

A confecção da faixa linear se deu de acordo com a sensibilidade do método e o LMR dos agrotóxicos avaliados correspondendo as concentrações entre 0,01 e 0,1 mg.kg^{-1} .

A linearidade do método pôde ser observada por meio da curva analítica, utilizando o método dos mínimos quadrados ordinários obtendo-se a equação de regressão. O teste de Cochran foi utilizado para verificar a homogeneidade das variâncias dos resíduos e o coeficiente de determinação (R^2) que indica o grau de ajuste dos dados na curva, para este estudo foram

considerados $R^2 \geq 0,95$ e $r \geq 0,98$. A significância da regressão foi avaliada por meio da análise de variância - Anova e teste F (Tabela 8).

Tabela 8. Análises estatísticas necessárias para verificação da faixa da curva analítica.

Avaliações	Estatística	Critérios de aceitação
1. Existência de valores discrepantes, para cada nível de concentração	Teste de Grubbs	$G_{\text{calculado}} < G_{\text{tabelado}}$
2. Homogeneidade na variância dos resíduos da regressão	Teste de Cochran	$C_{\text{calculado}} < C_{\text{tabelado}}$
3. Significância da regressão	Análise de variância (ANOVA) Teste F	$F_{\text{calculado}} \geq p\text{-valor}$, existe relação linear entre as variáveis e a inclinação da reta não é nula. Há indicação de que a regressão é significativa $F_{\text{calculado}} \leq p\text{-valor}$, não há indicação de existência de relação linear entre as variáveis x e y e não tem sentido utilizar a regressão.
4. Desvio da linearidade e faixa de trabalho	Análise de variância (ANOVA) Teste da falta de ajuste	$a = 0,05 \leq p\text{-valor}$, se aceita a linearidade, o modelo é satisfatório $a = 0,05 \geq p\text{-valor}$, deve-se estabelecer outro intervalo para faixa de trabalho

Fonte: CARDOSO et al, 2010.

3.10.3 Limite de detecção e quantificação

O menor nível de fortificação com concentração nominal $0,013 \text{ mg.kg}^{-1}$ foi injetado 6 vezes, das áreas obtidas foram calculadas a médias e o desvio padrão. Com estes resultados foram aplicadas as equações 5 e 6 e obtivemos os limites de detecção e quantificação teóricos.

$$LD = (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}) = \frac{\text{concentração} S / R \ 3:1 \ x \ 3xS}{X} \quad \text{Equação 5}$$

$$LQ = (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}) = \frac{\text{concentração} S / R \ 3:1 \ x \ 10 \ xS}{X} \quad \text{Equação 6}$$

onde:

- Concentração S/R 3:1 = é a concentração injetada que produziu uma resposta na razão sinal/ruído (S/R) de aproximadamente 3 sobre o ruído da linha base ($\mu\text{g.mL}^{-1}$);
- X = Média das áreas do agrotóxico em cromatografia;
- S = Desvio padrão das das áreas do agrotóxico em cromatografia.

3.10.4 Recuperação e repetibilidade

O ensaio de recuperação e repetibilidade tiveram como objetivo avaliar a tendência e precisão do método. As amostras de “abacaxi branco” foram fortificadas em três níveis e cinco replicatas de cada nível. As concentrações nominais nas amostras foram de 0,013; 0,027 e 0,053 mg.kg^{-1} . A avaliação se deu com a padronização externa onde a menor concentração foi calculada com o ponto 1 da curva, a intermediária com ponto 3 e maior concentração com o ponto 5.

Para critério de aceitação dos parâmetros de tendência e precisão, foram adotados como referência os valores 70-120 % na recuperação e (DPR) ou (CV) $\leq 20\%$ estabelecidos por DG-Sanco (2012).

3.11 Aplicação do método em amostras da CEASA-RJ

Após validação da metodologia foram coletados de forma aleatória abacaxis da variedade Pérola nos boxes de comercialização da CEASA-RJ unidade Grande Rio. Foram 10 amostras no mês de julho do corrente ano. Não se padronizou o estágio de maturação dos frutos devido a falta de classificação no mercado local. A CEASA-RJ foi escolhida devido ao grande volume de comercialização desta fruta sendo responsável pelo abastecimento em toda região grande Rio, além da diversidade da origem dos produtos nela comercializados.

As amostras foram identificadas de A1 a A10, tendo o cuidado de escolher amostras de produtores diferentes, para verificar a variabilidade dos dados (Figura 6)



Figura 6 – Amostras de abacaxi comercializadas na CEASA – RJ unidade Grande Rio

Nota: Foto do arquivo pessoal do autor.

3.12 Confirmação dos Resultados

Amostras em que os agrotóxicos apresentaram concentrações acima do LMR e resíduos não autorizados pela cultura do abacaxi foram confirmados com a técnica da cromatografia líquida de ultra performance e espectrometria de massas. A espectrometria de massas em conjunto com a cromatografia fornece tempo de retenção dos íons, relação massa/carga e abundância de dados (íon molecular e fragmentos).

Após análise das amostras identificou-se as substâncias presentes, a partir daí injetou-se o ponto de quantificação em matriz na concentração de $0,032 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e otimizou-se as respostas dos íons precursores. Foram monitoradas as repostas de íons produto, modo MRM, selecionando os mais abundantes para confirmação. O equipamento operou nas mesmas condições da validação.

Um íon foi estabelecido como base dele se calculou a razão de íons e o DG-SANCO, (2012) estabelece critérios para esta relação (Tabela 9).

Tabela 9 – Razão de íons e respectiva percentagem de variação entre o padrão, amostra fortificada e amostra real.

Razão de íons (%)	RSD (%) tolerável
> 50	20
> 20 -50	25
> 10-20	30
≤ 10	50

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Validação

Nesta etapa validou-se o método para análise dos agrotóxicos em estudo em abacaxi. Sendo considerado os seguintes parâmetros: seletividade; determinação da estimativa do LD e LQ; tendência e precisão; linearidade e faixa de trabalho;

4.1.1 Seletividade

Na tabela 10 estão descritos os valores para análise da seletividade.

Tabela 10 - Parâmetros para avaliação da seletividade com a curva em solvente e matriz.

Substância	N	T cal	T crítico Bilateral	p-valor	F cal	F crítico	p-valor
Acefato	15	-0,9073	2,14	0,3727	0,548	2,48	0,2728
Ametrina	21	-1,3313	2,09	0,1916	0,475	2,12	0,1038
Atrazina	18	-1,0592	2,11	0,2974	0,613	2,27	0,3217
Carbaril	15	-0,347	2,14	0,7312	0,75	2,48	0,5969
Carbendazim	15	-1,5093	2,14	0,1499	0,358	2,48	0,06472
Clotianidina	-	-	-	-	-	-	-
Deltametrina	-	-	-	-	-	-	-
Demeton-S-metilico	21	0,2762	2,09	0,7838	0,878	2,12	0,7729
Diazinona	21	1,2717	2,09	0,214	4,938	2,12	0,000767
Diclorvós	21	-0,3515	2,09	0,727	0,853	2,12	0,7226
Dimetoato	15	-0,4932	2,14	0,6259	0,641	2,48	0,4158
Dimetomorfe (2 isômeros)	-	-	-	-	-	-	-
Dissulfotom	21	0,5242	2,09	0,5912	2,196	2,12	0,08615
Diurum	21	-0,5725	2,09	0,5703	0,732	2,12	0,4909

Espinosade A	18	-0,3871	2,11	0,7012	0,743	2,27	0,5473
Espinosade D	21	-0,6399	2,09	0,526	0,649	2,12	0,3408
Etiona	15	-1,9757	2,14	0,05995	0,402	2,48	0,09974
Etofenproxi	15	-3,975	2,14	0,001008	0,112	2,48	0,00021
Imidacloprido	18	1,1423	2,11	0,2621	1,8946	2,27	0,1979
Malationa	18	-0,3978	2,11	0,6933	0,768	2,27	0,5928
Metalaxil	18	-0,7178	2,11	0,478	0,669	2,27	0,416
Metamidofós	21	-1,3637	2,09	0,1812	0,48	2,12	0,1084
Metidationa							
Miclobutanil	18	0,3195	2,11	0,7513	0,937	2,27	0,894
Ometoato	21	-1,2895	2,09	0,2052	0,558	2,12	0,2013
Oxamil oxima	-	-	-	-	-	-	-
Oxamil	-	-	-	-	-	-	-
Piperonil butóxido	18	-1,174	2,11	0,2493	0,533	2,27	0,2042
Piriproxifem	18	-2,3365	2,11	0,02722	0,314	2,27	0,02173
Procloraz	21	-0,4366	2,09	0,6649	0,604	2,12	0,2682
Propiconazol	21		2,09			2,12	
Propoxur	18	-0,229	2,11	0,8202	0,842	2,27	0,7269
Quinalfós	-	-	-	-	-	-	-
Tebuconazol	-	-	-	-	-	-	-
Tetraconazol	21	-0,178	2,09	0,8596	1,155	2,12	0,7505
Tiabendazol	18	-0,5546	2,11	0,583	0,573	2,27	0,2616
Tiametoxam	21	-0,1573	2,09	0,8758	0,858	2,12	0,7354
Triadimefom	18	0,9089	2,11	0,3699	1,265	2,27	0,6336
Triadimenol	15	0,4392	2,14	0,6639	0,972	2,48	0,9583
Triazofós	21	-0,4826	2,09	0,632	0,769	2,12	0,5624
Triclorfon	18	0,3185	2,11	0,752	0,993	2,27	0,9889
Triflumizol	18	-1,4507	2,11	0,1571	0,484	2,27	0,1441

Conforme os resultados, descritos na Tabela 10, pode-se concluir que apresentou-se efeito matriz significativo nos seguintes agrotóxicos piriproxifem e etofenproxi, visto que o t calculado foi maior que o tabelado. Os agrotóxicos clotianidina, deltametrina, dimetomorfe (2 isômeros), metidationa, oxamil oxima, oxamil, propiconazol, quinalfós e tebuconazol não apresentaram resultados suficientes para o estudo da linearidade. Os demais agrotóxicos não apresentaram efeito induzido da matriz.

4.1.2 Determinação da estimativa do LD e LQ

As médias das áreas, desvio padrão, RSD% concentração de cada agrotóxico na solução de fortificação e os limites de quantificação e detecção teóricos encontram-se descritos na tabela 11.

No estudo de LD e LQ verificou-se que os menores valores se encontram no agrotóxico etiona com e os maiores em tebuconazol. De acordo com a rotina de trabalho do laboratório a concentração mais baixa que o equipamento consegue analisar com exatidão é a de 0,01 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Conforme o trabalho de Queiroz et al., (2012), determinou-se o LQ a partir do primeiro ponto da curva analítica, visto que o equipamento não apresentaria resultados confiáveis abaixo deste valor.

Os agrotóxicos quinalfós, propiconazol e tebuconazol apresentaram RSD% elevados, indicando maior variação das áreas medidas, com isso a precisão da medição do LQ pode ser afetada.

Segundo DG-SANCO, (2012) o limite de quantificação deve ser menor ou igual ao LMR, conclui-se então que tanto para LQ teórico atende esta exigência visto que menor LMR estabelecido pela ANVISA para cultura do abacaxi é 0,02 mg.kg^{-1} para ametrina, atrazina e tiametoxam.

Tabela 11 - Valores de LD e LQ no extrato orgânico do abacaxi.

Agrotóxico	*Média	Desvio Padrão	RSD(%)	Concentração injetada mg.kg^{-1}	LDM mg.kg^{-1}	LQM mg.kg^{-1}
Quinalfós	28437,88	7141,88	25,11	0,0109	0,00821	0,02737
Acefato	66055,46	1215,39	1,84	0,0108	0,00060	0,00199
Ametrina	152014,61	3002,97	1,98	0,0105	0,00062	0,00207
Carbaril	85420,60	1535,58	1,80	0,0107	0,00058	0,00192
Carbendazim	7479,56	447,19	5,98	0,01	0,00179	0,00598
Clotianidina	16111,61	678,94	4,21	0,0107	0,00135	0,00451
Diazinona	76446,69	14085,99	18,43	0,0107	0,00591	0,01972
Diclorvós	20796,72	467,04	2,25	0,0105	0,00071	0,00236
Dimetoato	84684,31	1604,14	1,89	0,0105	0,00060	0,00199
Dimetomorfê	86414,41	2755,72	3,19	0,0107	0,00102	0,00341
Dissulfotom	2215,37	435,98	19,68	0,0103	0,00608	0,02027
Diurum	56231,85	1927,84	3,43	0,0107	0,00110	0,00367
Espinosade A	193064,99	4416,97	2,29	0,0106	0,00073	0,00243
Etiona	34036,27	298,64	0,88	0,0069	0,00018	0,00061
imidacloprido	17416,60	533,73	3,06	0,0108	0,00099	0,00331
Malationa	152421,38	3536,95	2,32	0,0107	0,00074	0,00248
Metalaxil	100666,84	2932,77	2,91	0,0105	0,00092	0,00306
Metamidofós	33670,99	576,44	1,71	0,0107	0,00055	0,00183
Metidationa	99481,63	3246,41	3,26	0,0107	0,00105	0,00349
Miclobutanil	42302,90	1614,31	3,82	0,0106	0,00121	0,00405
Ometoato	26610,92	946,43	3,56	0,0102	0,00109	0,00363
Oxamil oxima	22711,63	882,48	3,89	0,0088	0,00103	0,00342
Piperonil butóxido	216147,96	1743,87	0,81	0,0112	0,00027	0,00090
Piriproxifem	85377,43	1378,05	1,61	0,0105	0,00051	0,00169
Procloraz	5818,26	828,67	14,24	0,0107	0,00457	0,01524
Propiconazol	20724,53	6194,43	29,89	0,011	0,00986	0,03288

Tebuconazol	9096,18	4692,62	51,59	0,0106	0,01641	0,05468
Tetraconazol	35597,82	1330,47	3,74	0,0113	0,00127	0,00422
Tiabendazol	100356,59	6961,60	6,94	0,0105	0,00219	0,00728
Tiametoxam	51962,97	1163,44	2,24	0,0108	0,00073	0,00242
Triazofós	209272,99	3895,22	1,86	0,0091	0,00051	0,00169
Triclorfon	33655,84	735,82	2,19	0,0106	0,00070	0,00232
Triflumizol	81841,80	3823,23	4,67	0,0105	0,00147	0,00491
Propoxur	60231,51	2118,30	3,52	0,0107	0,00113	0,00376
Deltametrina	-	-	-	-	-	-
Espinosade D	29511,88	962,17	3,26	0,0106	0,00104	0,00346
Etofenproxi	-	-	-	0,0106	-	-
Oxamil	35615,35	1106,10	3,11	0,0106	0,00099	0,00329
Triadimefom	42124,21	1509,45	3,58	0,0106	0,00114	0,00380
Triadimenol	12993,85	444,38	3,42	0,0105	0,00108	0,00359
Atrazina	52690,84	2384,53	4,53	0,0107	0,00145	0,00484
Triclorfon	33655,84	735,82	2,19	0,0106	0,00070	0,00232
Demeton-s-metilico	39020,39	894,69	2,29	0,0112	0,00077	0,00257

*valor da média corresponde a n = 6.

4.1.3 Exatidão e precisão

Os resultados como médias das recuperações dos agrotóxicos e coeficiente de variação das mesmas estão descritos na tabela 12.

Tabela 12 - Percentuais de recuperação em três pontos de concentração e seus respectivos RDS%.

Substâncias	Ponto 1 0,008 $\mu\text{g.mL}^{-1}$		Ponto 3 0,03 $\mu\text{g.mL}^{-1}$		Ponto 5 0,06 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	
		RSD (%)		RSD (%)		RSD (%)
Acefato	74	6	85	9	95	10
Ametrina	97	3	92	7	100	11
Atrazina	86	5	91	7	100	14
Carbaril	97	6	94	4	107	12
Carbendazim	85	7	93	6	120	15
Clotianidina	96	3	92	5	102	10
Deltametrina	-	-	-	-	-	-
Demeton-S-metilico	77	2	79	12	88	12
Diazinona	144	28	123	28	67	41
Diclorvós	68	5	71	13	78	15
Dimetoato	93	8	93	6	106	11
Dimetomorfe (2 isômeros)	102	2	87	12	95	12
Dissulfotom	119	24	82	33	74	35
Diurrom	89	4	95	5	102	11
Espinosade A	92	9	84	14	82	11
Espinosade D	95	13	77	16	77	13
Etiona	75	6	75	4	71	9
Etofenproxi	-	-	-	-	-	18

Imidacloprido	104	3	81	13	102	12
Malationa	90	6	94	4	98	12
Metalaxil	92	5	95	6	105	12
Metamidofós	74	8	80	5	94	8
Metidationa	93	5	94	6	102	12
Miclobutanil	98	3	96	8	102	11
Ometoato	73	8	89	6	112	10
Oxamil oxima	72	10	83	8	117	8
Oxamil	85	5	94	8	99	12
Piperonil butóxido	91	4	85	5	90	10
Piriproxifem	77	6	71	1	66	7
Procloraz	74	6	79	12	101	13
Propiconazol	201	25	119	33	107	54
Propoxur	92	3	97	7	105	11
Quinalfós	188	30	131	20	63	44
Tebuconazol	-	-	143	35	65	43
Tetraconazol	106	8	106	9	92	13
Tiabendazol	87	9	93	7	100	9
Tiametoxam	88	9	94	6	120	11
Triadimefom	94	4	97	7	99	10
Triadimenol	90	3	102	15	93	13
Triazofós	94	5	82	10	101	11
Triclorfon	93	5	96	9	104	10
Triflumizol	76	6	65	20	83	10

No parâmetro exatidão os agrotóxicos que não apresentaram faixa de recuperação entre 90 e 120% foram: diazinona, propiconazol, quinalfós e tebuconazol. Quando analisou-se a precisão do método os agrotóxicos diazinona, dissulfotom, propiconazol, quinalfós e tebuconazol apresentaram RSD maiores que 20% em pelo menos um ponto de concentração analisado. No caso do etofenproxi e deltametrina não obteve-se áreas após análise, com isso os dados de precisão e exatidão para esta substâncias não foram calculados.

4.1.4 Linearidade e curva analítica

Na tabela 13 estão descritos os parâmetros relativos às curvas analíticas preparadas no extrato orgânico da polpa de abacaxi, assim como a faixa linear de trabalho para cada agrotóxico em estudo.

A linearidade foi confirmada para as curvas em matriz, nas faixas de concentração estudadas. Do total dos 42 agrotóxicos, 19% não apresentaram resultados suficientes para avaliação da linearidade (clotianidina, deltametrina, metidationa, oxamil oxima, oxamil, propiconazol, quinalfós e tebuconazol), 7% apresentaram coeficientes de determinação de menores que 0,95

(dissulfotom, etofenproxi e procloraz). Dos resultados satisfatórios, 74 % dos agrotóxicos estudados apresentaram variâncias homocedásticas pelo teste de Cochran, ANOVA significativa visto que os p-valores se encontravam inferiores a $\alpha = 0,05$ e coeficientes de determinação obedecendo ao critério $R^2 \geq 0,95$. Quanto a faixa linear de trabalho verificou-se que após o estudo da linearidade 74% dos agrotóxicos continham no mínimo de cinco níveis e máximo sete níveis de concentração.

Tabela 13 - Parâmetros relativos as curvas analíticas em matriz e faixa linear de trabalho.

Agrotóxico	Variância	Faixa linear ($\mu\text{g/mL}$)	Equação de Regressão ($y = ax + b$)	Coefficiente de Determinação (R^2)	P-valor
Acefato	HOMOCEDÁSTICO	0,008182 - 0,06137	$y = 7405385,97 x + 34514,50$	0,95410	4,441E-10
Ametrina	HOMOCEDÁSTICO	0,007952 - 0,1590	$y = 15212057,86 x - 2157,92$	0,99965	2,561E-34
Atrazina	HOMOCEDÁSTICO	0,008072 - 0,08072	$y = 5589664,66 x - 51,98$	0,99129	6,559E-18
Carbaril	HOMOCEDÁSTICO	0,008118 - 0,060885	$y = 7667048,55 x + 17086,08$	0,98265	3,454E-14
Carbendazim	HOMOCEDÁSTICO	0,007548 - 0,05661	$y = 651925,51 x + 3154,01$	0,95787	2,539E-10
Clotianidina	HETEROCEDÁSTICO	0 - 0	$y = 0 x + 0,00$	0,00	0,00
Deltametrina	HETEROCEDÁSTICO	0 - 0	$y = 0 x + 0,00$	0,00	0,00
Demeton	HOMOCEDÁSTICO	0,00844 - 0,1688	$y = 4724009,12 x + 1180,92$	0,99913	1,569E-30
Diazinona	HOMOCEDÁSTICO	0,008134 - 0,16268	$y = 9345844,59 x - 114979,37$	0,97245	2,776E-16
Diclorvós	HOMOCEDÁSTICO	0,007926 - 0,1627	$y = 2812414,04 x + 6715,83$	0,99698	2,109E-25
Dimetoato	HOMOCEDÁSTICO	0,007936 - 0,0595	$y = 7301103,71 x + 29071,86$	0,97299	1,400E-11
Dimetomorfe	HETEROCEDÁSTICO	0,008078 - 0,08078	$y = 7925578,69 x - 11947,74$	0,98894	0,00
Dissulfotom	HOMOCEDÁSTICO	0,007768 - 0,1554	$y = 214388,31 x - 1474,80$	0,932125	1,485E-12
Diurum	HOMOCEDÁSTICO	0,008074 - 0,1615	$y = 5286705,86 x + 6715,67$	0,99886	1,908E-29
Espinosade A	HOMOCEDÁSTICO	0,007994 - 0,0799	$y = 19838326,65 x + 4708,04$	0,99199	3,336E-18
Espinosade D	HOMOCEDÁSTICO	0,007994 - 0,1599	$y = 3925215,12 x - 12433,71$	0,99738	5,396E-26
Etiona	HOMOCEDÁSTICO	0,005218 - 0,0391	$y = 4443938,90 x - 4497,65$	0,99730	4,383E-18
Etofenproxi	HOMOCEDÁSTICO	0,007998 - 0,0600	$y = 4543014,93 x - 13097,03$	0,84228	4,672E-13
Imidacloprido	HOMOCEDÁSTICO	0,04075 - 0,0815	$y = 1642893,45 x - 599,30$	0,98889	
Malationa	HOMOCEDÁSTICO	0,008094 - 0,08094	$y = 12956366,38 x + 37739,00$	0,99728	5,851E-22
Metalaxil	HOMOCEDÁSTICO	0,007944 - 0,0794	$y = 9694925,21 x + 12123,20$	0,99608	1,107E-20
Metamidofós	HOMOCEDÁSTICO	0,008102 - 0,16204	$y = 4298816,06 x + 2863,24$	0,98822	8,645E-20
Metidationa	HETEROCEDÁSTICO	0 - 0	$y = 0,00 x + 0,00$	0,00	
Miclobutanil	HOMOCEDÁSTICO	0,008022 - 0,08022	$y = 3686962,54 x + 12862,56$	0,99029	1,559E-17
Ometoato	HOMOCEDÁSTICO	0,009048 - 0,1810	$y = 3158737,58 x + 11393,09$	0,96860	9,648E-16
Oxamil	HETEROCEDÁSTICO	0 - 0	$y = 0,00 x + 0,00$	0,00	
Oxamil oxima	HETEROCEDÁSTICO	0 - 0	$y = 0,00 x + 0,00$	0,00	
Piperonil	HOMOCEDÁSTICO	0,008466 - 0,0847	$y = 20897464,81 x + 21075,11$	0,99872	1,387E-24
Piriproxi-fem	HOMOCEDÁSTICO	0,00796 - 0,0796	$y = 11506483,06 x - 6183,76$	0,99497	8,023E-20
Procloraz	HOMOCEDÁSTICO	0,00807 - 0,1614	$y = 387647,40 x + 24432,06$	0,22926	2,810E-02
Propiconazol	HETEROCEDÁSTICO	0 - 0	$y = 0,00 x + 0,00$	0,00	
Propoxur	HOMOCEDÁSTICO	0,008094 - 0,08094	$y = 6098927,50 x + 8027,97$	0,99309	1,029E-18
Quinalfós	HETEROCEDÁSTICO	0 - 0	$y = 0,00 x + 0,00$	0,00	0,00
Tebuconazol	HETEROCEDÁSTICO	0 - 0	$y = 0,00 x + 0,00$	0,00	0,00
Tetraconazol	HOMOCEDÁSTICO	0,008518 - 0,17036	$y = 3499641,76 x - 12145,02$	0,99741	4,801E-26
Tiabendazol	HOMOCEDÁSTICO	0,007944 - 0,07944	$y = 9091271,27 x + 51273,83$	0,97924	6,830E-15
Tiametoxam	HOMOCEDÁSTICO	0,00818 - 0,1636	$y = 4533737,07 x + 17921,62$	0,98917	3,871E-20
Triadimefom	HOMOCEDÁSTICO	0,00803 - 0,1606	$y = 3690212,54 x + 7744,46$	0,99903	1,518E-25
Triadimenol	HOMOCEDÁSTICO	0,007982 - 0,059865	$y = 1316641,66 x + 2903,03$	0,98515	2,852E-13

Triazofós	HOMOCEDEÁSTICO	0,006864	-	0,13728	$y = 19170643,05 x + 31879,37$	0,99966	1,886E-34
Tricloform	HOMOCEDEÁSTICO	0,008016	-	0,0802	$y = 3061869,07 x + 8568,88$	0,99481	1,043E-19
Triflumizol	HOMOCEDEÁSTICO	0,007974	-	0,0797	$y = 8921652,20 x + 11186,38$	0,99806	3,884E-23

4.1.5 Síntese da Validação

SELETIVIDADE: Efeito matriz Influenciando os agrotóxicos piriproxifem e etofenproxi.

LINEARIDADE E FAIXA LINEAR DE TRABALHO: Não se obteve sucesso com os agrotóxicos, clotianidina, deltametrina, dissulfotom, etofenproxi, metidationa, oxamil oxima, oxamil, procloraz, propiconazol, quinalfós e tebuconazol.

LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO: Ficou estabelecido a menor concentração que o equipamento pode identificar, ou seja, a concentração de 0,01 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, visto que os LQ e LD teóricos se encontravam abaixo desta concentração.

PRECISÃO E EXATIDÃO: O método não foi eficiente para deltametrina, diazinona, dissulfotom, etofenproxi, metidationa, propiconazol, quinalfós e tebuconazol.

Com os resultados obtidos a metodologia foi considerada validada para **29** agrotóxicos na matriz abacaxi, sendo eles: acefato, ametrina, atrazina, carbaril, carbendazim, demeton-S-metílico, diclorvós, dimetoato, diurom, espinosade A e D, etiona, imidacloprido, malationa, metalaxil, metamidofós, miclobutanil, ometoato, piperonil butóxido, piriproxifem, propoxur, tetraconazol, tiabendazol, tiametoxam, triadimefom, triadimenol, triazofós, tricloform, triflumizol.

Pizzuti (2006) trabalhando com QuEChERS e LC-MS/MS modo ESI positivo em soja obteve linearidade em 100% dos 155 agrotóxicos analisados, incluindo clotianidina, metidationa, oxamil, oxamil oxima, procloraz, propiconazol e tebuconazol. Nesse mesmo estudo a deltametrina foi analisada por CG-MS modo SIM.

Queiroz et al., (2012) validaram 29 agrotóxicos nas matrizes alface, maçã, tomate e uva utilizando QuEChERS e UPLCTM-MS/MS obtiveram resultados de recuperação entre 70-120% para todas as matrizes e precisão com variação inferiores a 20% no caso do agrotóxico diazinona.

Cortés-Aguado et al., 2007 validaram agrotóxicos em suco de abacaxi utilizando CG-MS e micro-extração em fase sólida e chegaram à resultados positivos para diclorvós, Propoxur, diazinona, metalaxil, malationa, tetraconazol, etiona e tebuconazol.

4.2 Aplicação do método em amostras da CEASA-RJ

Após validação do método, o mesmo foi aplicado em amostras da CEASA-RJ. Em todas as amostras analisadas foram detectados resíduos de pelo menos um agrotóxico. A seguir estão descritos os resultados por amostra (Tabela 14).

Tabela 14 - Resultados das 10 amostras analisadas.

Agrotóxico	Amostras									
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A9	A9	A10
	Concentração mg.kg ⁻¹									
Ametrina	0,0003	0,0009	N.E	N.E	N.E	0,0025	N.E	N.E	N.E	N.E
Carbendazim	0,0505	0,865	0,3529	0,1771	9,4215	0,0401	0,1241	0,0509	0,0769	7,7574
Diurum	N.E	0,0022	N.E	N.E	N.E	0,0031	N.E	N.E	N.E	N.E
Imidacloprido	0,0244	0,0014	N.E	N.E	N.E		N.E		N.E	N.E

Nota 1: N.E = não encontrado.

Nota 2: A1 -A10 = identificação das amostras.

O carbendazim foi encontrado em todas as amostras, este ingrediente ativo não é autorizado para cultura do abacaxi de acordo com a ANVISA e ministério da agricultura. Concentrações elevadas deste agrotóxico foram encontradas nas amostras 2, 5 e 10, o que é alarmante, visto que, os níveis estão bem elevados: 9,42 e 7,76 mg.kg⁻¹.

Analisando a monografia do carbendazim (ANVISA, 2013) verificou-se que o maior LMR se encontra na cultura da maçã com 5,0 mg.kg⁻¹ e o maior intervalo de segurança se encontra na cultura do trigo com 35 dias. A presença deste agrotóxico nas amostras indica que as práticas agrícolas no âmbito do controle de doenças está se dando de forma equivocada, visto que o agricultor e consumidor são exposto ao agrotóxico em altas concentrações e não indicado para cultura. Este erro constitui o perigo de intoxicação ocupacional no caso do trabalhador rural e intoxicação pela ingestão de alimentos no caso do consumidor.

No PARA de 2010 resíduos de carbendazim foram encontrados em 20 amostras de abacaxis, com a mínima concentração de 0,7 mg.kg⁻¹ e máxima de 3,44 mg.kg⁻¹ bem abaixo da concentração encontrada nas amostras 5 e 10 deste trabalho (ANVISA, 2011). Em 2009 o carbendazim foi encontrado em 11 amostras das 145 analisadas (ANVISA, 2010).

O abacaxi começou a ser analisado no ano de 2008 com 9,47 % das amostras insatisfatórias de um total de 95 frutos, já em 2009 subiu para 44,1% insatisfatórios de um total de 145 frutos e finalmente em 2010 um decréscimo para 32,8% de um total de 122 amostras analisadas. Do ano de

2009 para 2010 teve uma queda nas amostras com ingredientes ativos não autorizados para cultura de 28,3% para 16,4% (ANVISA, 2009; ANVISA, 2010; ANVISA, 2011).

No caso da ametrina, Diurom e imidacloprido que são agrotóxicos permitidos para cultura do abacaxi verificou-se que as concentrações estão abaixo de seus respectivos LMR: 0,02, 0,1 e 0,05 mg.kg⁻¹. Os mesmos apresentam período de carência elevado, ou seja, de 75 a 140 dias, o erro no manejo com certeza seria identificado nas análises.

A presença de carbendazim indica o intenso controle de fusariose e podridão negra que podem ocasionar perdas de até 70% dos frutos. Com a utilização de produção integrada e monitoramento das plantas é possível reduzir em 20% as pulverizações com fungicidas (EMBRAPA, 2009). Segundo Oliveira e Nascimento (2009) a simples refrigeração pode inibir o crescimento do fungo causador da podridão negra, mas em temperatura de 24-26°C tem-se o favorecimento do crescimento.

Como no Brasil a cadeia do frio não é difundida a utilização de agrotóxicos se faz necessária para evitar grandes perdas. A utilização de caminhões refrigerados e embalagens adequadas poderia reduzir consideravelmente a concentração de fungicidas nas amostras o que não é visto na realidade (Figura 7).



Figura 7 – Transporte de abacaxi comumente observado no Brasil.

Nota: Foto do arquivo pessoal do autor tirada na CEASA-RJ.

4.5 Confirmação dos Resultados

Na Tabela 15 estão descritos os íons identificados para cada agrotóxicos bem como os parâmetros do UPLCTM-MS/MS para identificação dos mesmos.

Tabela 15 – Parâmetros do equipamento para análise de confirmação dos resultados positivos.

Método Confirmação Carbendazim						Método Confirmação Imidacloprido					
Íon Precursor	Cone Novo (V)	Transições	Dwell	Colisão Nova (eV)	TR (min)	Íon Precursor	Cone Novo (V)	Transições	Dwell	Colisão Nova (eV)	TR (min)
191,80	25,00	159,8	0,1	20	2,07	255,70	25,00	174,6	0,1	20	2,8
191,80	25,00	131,7	0,1	30	2,07	255,70	25,00	208,9	0,1	15	2,8
191,80	25,00	64,9	0,1	40	2,07	255,70	25,00	146,5	0,1	30	2,8
191,80	25,00	116,5	0,1	30	2,07	255,70	25,00	105,5	0,1	40	2,8
191,80	25,00	105,8	0,1	35	2,07	255,70	25,00	56	0,1	25	2,8
191,80	25,00	58,9	0,1	30	2,07	255,70	25,00	180,4	0,1	30	2,8
Método Confirmação Diurom						255,70	25,00	225,8	0,1	10	2,8
Íon Precursor	Cone Novo (V)	Transições	Dwell	Colisão Nova (eV)	TR (min)	Método Confirmação Ametrina					
						Íon Precursor	Cone Novo (V)	Transições	Dwell	Colisão Nova (eV)	TR (min)
232,70	30,00	72	0,1	15	8,66						
232,70	30,00	46	0,1	20	8,66	227,80	40,00	185,7	0,1	20	8,49
232,70	30,00	159,6	0,1	25	8,66	227,80	40,00	95,7	0,1	25	8,49
232,70	30,00	187,6	0,1	20	8,66	227,80	40,00	90,7	0,1	25	8,49
232,70	30,00	150,7	0,1	25	8,66	227,80	40,00	70,8	0,1	25	8,49
						227,80	40,00	115,7	0,1	25	8,49
						227,80	40,00	157,8	0,1	25	8,49
						227,80	40,00	143,7	0,1	25	8,49
						227,80	40,00	109,7	0,1	30	8,49
						227,80	40,00	181,8	0,1	20	8,49

4.5.1 Amostra 1

Ametrina

Dos sete íons monitorados dois apresentaram variação acima do tolerado, a ametrina foi confirmada (Tabela 16).

Tabela 16 – Parâmetros utilizados para confirmação do agrotóxico ametrina na amostra 1.

íons	SD	Média	RSD%	RSD%	TR	TR	TR
	Razão de íons	Razão de íons	Permitido	encontrado	média	SD	RSD%
185,7*					8,51	0,00	0
95,7	0,49	2,83	25	17,41	8,52	0,00	0
90,7	0,13	4,30	25	3,10	8,52	0,00	0
70,8	2,36	4,64	30	50,77	8,53	0,02	0
115,7	0,89	9,02	30	9,92	8,52	0,01	0
157,8	1,26	11,97	50	10,49	8,50	0,01	0
143,7	6,72	10,69	50	62,88	8,51	0,00	0

Carbendazim

Dos seis íons monitorados todos foram confirmados para o carbendazim (Tabela 17)

Tabela 17 – Parâmetros utilizados para confirmação do agrotóxico Carbendazim na amostra 1.

íons	SD	Média	RSD%	RSD%	TR	TR	TR
	Razão de íons	Razão de íons	Permitido	encontrado	média	SD	RSD%
159,8*	0,16	6,24	30	2,50	2,17	0,02	0,80
131,7	5,00	26,33	50	18,98	2,17	0,02	0,80
64,9	0,80	32,29	50	2,47	2,17	0,02	0,70
116,5	10,31	125,99	50	8,18	2,17	0,02	0,96
105,8	16,82	178,10	50	9,44	2,17	0,02	0,70
58,9	0,16	6,24	30	2,50	2,17	0,02	0,80

Imidacloprido

Dos seis íons monitorados todos foram confirmados para o imidacloprido (Tabela 18)

Tabela 18 – Parâmetros utilizados para confirmação do agrotóxico Imidacloprido na amostra 1.

íons	SD Razão de íons	Média Razão de íons	RSD% Permitido	RSD% encontrado	TR média	TR SD	TR RSD%
174,6*					2,78	0,01	0,21
208,9	0,06	1,06	20	5,67	2,77	0,01	0,21
146,5	0,12	11,62	50	1,01	2,78	0,00	0,00
105,5	0,66	25,54	50	2,57	2,78	0,00	0,00
56	0,39	28,16	50	1,37	2,78	0,00	0,00
180,4	1,93	37,92	50	5,08	2,77	0,01	0,21

4.5.2 Amostra 2

Ametrina

Dos sete íons monitorados na ametrina todos foram confirmados (Tabela 19).

Tabela 19 – Parâmetros utilizados para confirmação do agrotóxico Ametrina na amostra 2.

íons	SD Razão de íons	Média Razão de íons	RSD% Permitido	RSD% encontrado	TR média	TR SD	TR RSD%
185,7*					8,51	0,01	0,07
95,7	0,24	2,98	25	8,07	8,52	0,00	0,00
90,7	0,61	3,88	25	15,78	8,52	0,00	0,00
70,8	0,30	5,84	30	5,10	8,52	0,01	0,07
115,7	0,36	8,29	30	4,32	8,52	0,01	0,07
157,8	2,77	11,09	50	24,96	8,51	0,01	0,07
143,7	5,38	11,48	50	46,82	8,51	0,01	0,07

Carbendazim

Dos seis íons monitorados todos foram confirmados para o carbendazim (Tabela 20).

Tabela 20 – Parâmetros utilizados para confirmação do agrotóxico Carbendazim na amostra 2.

íons	SD	Média	RSD%	RSD%	TR	TR	TR
	Razão de íons	Razão de íons	Permitido	encontrado	média	SD	RSD%
159,8*					2,17	0,02	0,80
131,7	0,19	6,19	30	3,08	2,17	0,02	0,80
64,9	4,93	26,08	50	18,89	2,18	0,02	0,70
116,5	0,38	32,04	50	1,18	2,17	0,02	0,96
105,8	5,84	122,10	50	4,78	2,18	0,02	0,70
58,9	12,86	169,87	50	7,57	2,18	0,02	0,79

Diurom

Todos os íons confirmados, as percentagens de variação atenderam aos critérios do DG-SANCO (Tabela 21).

Tabela 21 – Parâmetros utilizados para confirmação do agrotóxico Diurom na amostra 2.

íons	SD	Média	RSD%	RSD%	TR	TR	TR
	Razão de íons	Razão de íons	Permitido	encontrado	média	SD	RSD%
72*					8,67	0,01	0,07
46	0,07	2,70	25	2,60	8,67	0,00	0,00
159,6	0,33	15,36	50	2,14	8,66	0,00	0,00
187,6	4,47	48,14	50	9,28	8,66	0,00	0,00
150,7							

Imidacloprido

Todos os íons confirmados, as percentagens de variação atenderam aos critérios do DG-SANCO (Tabela 22).

Tabela 22 – Parâmetros utilizados para confirmação do agrotóxico Imidacloprido na amostra 2.

íons	SD	Média	RSD%	RSD%	TR	TR	TR
	Razão de íons	Razão de íons	Permitido	encontrado	média	SD	RSD%
174,6*					2,78	0,01	0,21
208,9	0,06	1,06	20	5,67	2,77	0,01	0,21
146,5	1,06	12,21	50	8,70	2,79	0,01	0,41
105,5	1,14	25,02	50	4,55	2,78	0,01	0,21
56	7,66	32,36	50	23,67	2,78	0,01	0,21
180,4	2,01	37,97	50	5,29	2,78	0,01	0,21

4.5.3 Amostra 3

Carbendazim

Dos seis íons monitorados todos foram confirmados para o carbendazim (Tabela 23).

Tabela 23 – Parâmetros utilizados para confirmação do agrotóxico Carbendazim na amostra 3.

íons	SD Razão de íons	Média Razão de íons	RSD% Permitido	RSD% encontrado	TR média	TR SD	TR RSD%
159,8*					2,170	0,017	0,798
131,7	0,25	6,15	30	4,04	2,170	0,017	0,798
64,9	4,21	25,87	50	16,27	2,177	0,015	0,702
116,5	1,23	31,84	50	3,88	2,173	0,021	0,958
105,8	7,54	122,86	50	6,14	2,177	0,015	0,702
58,9	19,39	171,92	50	11,28	2,180	0,017	0,795

4.5.4 Amostra 4

Carbendazim

Dos seis íons monitorados todos foram confirmados para o carbendazim (Tabela 24).

Tabela 24 – Parâmetros utilizados para confirmação do agrotóxico Carbendazim na amostra 4.

íons	SD Razão de íons	Média Razão de íons	RSD% Permitido	RSD% encontrado	TR média	TR SD	TR RSD%
159,8*					2,17	0,02	0,80
131,7	0,23	6,17	30	3,72	2,17	0,02	0,80
64,9	3,00	25,17	50	11,92	2,18	0,02	0,70
116,5	2,31	31,14	50	7,41	2,17	0,02	0,96
105,8	7,67	120,44	50	6,37	2,18	0,02	0,70
58,9	20,30	170,94	50	11,87	2,18	0,02	0,79

4.5.5 Amostra 5

Carbendazim

Dos seis íons monitorados todos foram confirmados cinco para o carbendazim o íon 131, 7 apresentou variação muito alta (Tabela 25).

Tabela 25 – Parâmetros utilizados para confirmação do agrotóxico Carbendazim na amostra 5.

íons	SD Razão de íons	Média Razão de íons	RSD% Permitido	RSD% encontrado	TR média	TR SD	TR RSD%
159,8*					2,17	0,02	0,80
131,7	2,30	4,94	30	46,56	2,17	0,02	0,80
64,9	7,21	19,29	50	37,40	2,18	0,02	0,70
116,5	12,40	25,25	50	49,10	2,17	0,02	0,80
105,8	45,04	96,13	50	46,85	2,18	0,02	0,70
58,9	71,44	137,43	50	51,98	2,18	0,02	0,79

4.5.6 Amostra 6

Ametrina

Todos os íons confirmados, as percentagens de variação atenderam aos critérios do DG-SANCO (Tabela 26).

Tabela 26 – Parâmetros utilizados para confirmação do agrotóxico Ametrina na amostra 5.

íons	SD Razão de íons	Média Razão de íons	RSD% Permitido	RSD% encontrado	TR média	TR SD	TR RSD%
185,7*					8,51	0,01	0,07
95,7	0,09	3,10	25	2,76	8,52	0,00	0,00
90,7	0,11	4,12	25	2,64	8,52	0,00	0,00
70,8	0,51	5,61	30	9,01	8,52	0,00	0,00
115,7	0,06	8,44	30	0,69	8,52	0,01	0,07
157,8	0,32	12,65	50	2,54	8,51	0,01	0,07
143,7	1,13	14,87	50	7,60	8,51	0,01	0,07
109,7	5,30	37,50	50	14,12	8,52	0,00	0,00

Carbendazim

Dos seis íons monitorados todos foram confirmados para o carbendazim (Tabela 27).

Tabela 27 – Parâmetros utilizados para confirmação do agrotóxico Carbendazim na amostra 6.

íons	SD	Razão de íons	Média Razão de íons	RSD% Permitido	RSD% encontrado	TR média	TR SD	TR RSD%
159,8*						2,17	0,02	0,96
131,7	0,23		6,36	30	3,57	2,17	0,02	0,96
64,9	4,37		25,97	50	16,85	2,18	0,02	0,70
116,5	1,11		31,93	50	3,48	2,17	0,02	0,96
105,8	8,66		124,46	50	6,96	2,18	0,02	0,70
58,9	17,93		173,89	50	10,31	2,18	0,02	0,79

Diurom

Todos os íons confirmados, as percentagens de variação atenderam aos critérios do DG-SANCO (Tabela 28).

Tabela 28 – Parâmetros utilizados para confirmação do agrotóxico Diurom na amostra 6.

íons	SD	Média	RSD%	RSD%	TR	TR	TR
	Razão de íons	Razão de íons	Permitido	encontrado	média	D	RSD%
72*					8,67	0,01	0,07
46	0,09	2,69	25	3,23	8,67	0,00	0,00
159,6	0,69	14,89	50	4,62	8,66	0,01	0,07
187,6	3,42	48,95	50	6,98	8,66	0,00	0,00
150,7							

4.5.7 Amostra 7

Carbendazim

Dos seis íons monitorados todos foram confirmados para o carbendazim (Tabela 29).

Tabela 29 – Parâmetros utilizados para confirmação do agrotóxico Carbendazim na amostra 7.

íons	SD Razão de íons	Média Razão de íons	RSD% Permitido	RSD% encontrado	TR média	TR SD	TR RSD%
159,8*					2,17	0,02	0,80
131,7	0,16	6,30	30	2,57	2,17	0,02	0,80
64,9	3,34	25,37	50	13,16	2,18	0,02	0,70
116,5	1,99	31,33	50	6,36	2,17	0,02	0,80
105,8	7,31	121,91	50	6,00	2,18	0,02	0,70
58,9	20,44	170,79	50	11,97	2,18	0,02	0,79

Diurom

Todos os íons confirmados, as percentagens de variação atenderam aos critérios do DG-SANCO (Tabela 20).

Tabela 30 – Parâmetros utilizados para confirmação do agrotóxico Diurom na amostra 7.

íons	SD Razão de íons	Média Razão de íons	RSD% Permitido	RSD% encontrado	TR média	TR SD	TR RSD%
72*					8,67	0,01	0,07
46	0,23	2,86	25,00	8,04	8,67	0,00	0,00
159,6	0,98	15,80	50,00	6,21	8,66	0,00	0,00
187,6	3,85	51,93	50,00	7,42	8,66	0,01	0,07
150,7							

4.5.8 Amostra 8

Carbendazim

Dos seis íons monitorados todos foram confirmados para o carbendazim (Tabela 31).

Tabela 31 – Parâmetros utilizados para confirmação do agrotóxico Carbendazim na amostra 8.

íons	SD Razão de íons	Média Razão de íons	RSD% Permitido	RSD% encontrado	TR média	TR SD	TR RSD%
159,8*					2,17	0,02	0,96
131,7	0,16	6,25	30	2,48	2,17	0,02	0,96
64,9	3,92	25,71	50	15,26	2,18	0,02	0,70
116,5	1,47	31,67	50	4,64	2,17	0,02	0,96
105,8	7,41	121,08	50	6,12	2,18	0,02	0,70
58,9	21,13	170,12	50	12,42	2,18	0,02	0,79

4.5.9 Amostra 9

Carbendazim

Dos seis íons monitorados todos foram confirmados para o carbendazim (Tabela 32).

Tabela 32 – Parâmetros utilizados para confirmação do agrotóxico Carbendazim na amostra 9.

íons	SD Razão de íons	Média Razão de íons	RSD% Permitido	RSD% encontrado	TR média	TR SD	TR RSD%
159,8*					2,17	0,02	0,80
131,7	0,18	6,21	30	2,83	2,17	0,02	0,80
64,9	4,23	25,89	50	16,35	2,17	0,01	0,53
116,5	1,22	31,85	50	3,82	2,17	0,02	0,80
105,8	7,32	122,07	50	6,00	2,17	0,01	0,53
58,9	20,63	170,61	50	12,09	2,18	0,02	0,70

4.5.10 Amostra 10

Carbendazim

Dos seis íons monitorados todos foram confirmados para o carbendazim (Tabela 33).

Tabela 33 – Parâmetros utilizados para confirmação do agrotóxico Carbendazim na amostra 10.

íons	SD Razão de íons	Média Razão de íons	RSD% Permitido	RSD% encontrado	TR média	TR SD	TR RSD%
159,8*					2,17	0,02	0,71
131,7	1,99	5,12	30	38,82	2,17	0,02	0,80
64,9	5,85	20,07	50	29,14	2,17	0,01	0,53
116,5	11,03	26,03	50	42,38	2,17	0,02	0,80
105,8	39,99	99,09	50	40,35	2,17	0,01	0,53
58,9	65,72	140,84	50	46,66	2,18	0,02	0,70

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo perfazem que o método de extração QuEChERS aliado a técnica de UPLCTMMS/MS foram eficientes para avaliação de 29 agrotóxicos na matriz abacaxi.

Dos agrotóxicos permitidos para a cultura do abacaxi, foram validados 9 sendo eles: ametrina, atrazina, carbaril, diurom, etiona, imidacloprido, tiabendazol, tiametoxam e triadimefom. No caso dos produtos não autorizados para cultura e encontrado com grande frequência nas análises do PARA conseguiu-se validar 5 agrotóxicos. Os demais ingredientes ativos validados são autorizados em outros países ou são produtos de degradação das moléculas.

Na aplicação do método verificou-se a presença de resíduos em altas concentrações nas amostras e a presença de carbendazim que não é permitido para cultura. Uma contradição é que a ANVISA e o Ministério da Agricultura não permitem o carbendazim em abacaxi, mas os resultados de tiofanato metílico que é permitido é expresso em carbendazim.

Os resíduos encontrados foram identificados de acordo com a recomendação do DG-Sanco indicando que não eram falsos positivos.

A presença de resíduos em altas concentrações indica erro grave no manejo da cultura, mas isso não se constitui somente o erro do produtor. Na verdade é o reflexo da falta de políticas públicas na produção de alimentos seguros ao consumidor. O investimento e conscientização deverão estar em toda cadeia, do produtor ao consumidor.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C.L.M.; BORGES, L.M.; CARDOSO, A.I.I. Avaliação de resíduos de metamidofós em frutos de tomate comercializados em Botucatu/SP.; Horticultura Brasileira; 2004; ; 22; 2; Suplemento; 430; 44º Congresso Brasileiro de Olericultura; Campo Grande/MS; BR; Português; 0102-0536; Impresso

AGROFIT - SISTEMAS DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. 2012 Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 10 mar. 2012.

ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S.; MAŠTOVSKÁ, K.; Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides. **Journal of Chromatography A**, 1015 (2003) 163–184.

ANVISA – ANVISA -Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos. 2009. Relatório de Atividades de 2008. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Programa+de+Analise+de+Residuos+de+Agrotoxicos+em+Alimentos> Acesso em: 22 jan. 2013.

ANVISA – ANVISA -Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos. 2010. Relatório de Atividades de 2009. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Programa+de+Analise+de+Residuos+de+Agrotoxicos+em+Alimentos> Acesso em: 22 jan. 2013.

ANVISA -Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos. 2011. Relatório de Atividades de 2010. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/8ef32a80481aa03d85989570623c4ce6/RELATORIO_PARA_2009.pdf?MOD=AJPERES. Acesso em: 20 jan.. 2013.

ANVISA. Resolução - RDC nº 119, de 19 de maio de 2003. Dispõe sobre a criação do Programa de análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos em rede nacional. DOU, 22 maio de 2003. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/rdc/119_03rdc.htm. Acesso em: 05 fev. 2012.

ANVISA-Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Monografias de Agrotóxicos: Monografias autorizadas. 2013 Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa/home/agrotoxicotoxicologia/>. Acesso em: 15 fev. 2013.

ARAÚJO, K. G. L.; SABAA-SRUR, A. U. O.; RODRIGUES, F. S.; MANHÃES, L. R. T.; CANTO, M. W. Utilização de abacaxi (*Ananas comosus* L.) cv. Pérola e Smooth cayenne para a produção de vinhos-estudo da composição e aceitabilidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 1, jan./mar. 2009.

BASTOS, L. H. P.; CARDOSO, M. H. W. M.; NÓBREGA, A. W.; JACOB, S. C.; Possíveis fontes de contaminação do leite, por agrotóxicos, e estudos de monitoramento de seus resíduos: uma revisão nacional. **Caderno. Saúde Coletiva**, v.19, n.1.2010.

BASTOS, L. H. P.; GOUVÊA, A. V.; MÁLAGA, F.; CARDOSO, M. H. W. M.; JACOB, S. C. ; NÓBREGA, A. W. Implementação de método analítico para determinação de resíduos de Organofosforados em leite por cromatografia a gás com detector fotométrico de chama. **Química Nova**, Vol. 35, No. 8, p. 1657-1663, mai. 2012.

BOTERO-COY, A. M; MARÍN, J. M; IBÁÑEZ, M. SANCHO, J. V. HERNÁNDEZ, F. Multi-residue determination of pesticides in tropical fruits using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry** , vol. 402, p. 2287-2300. 2012.

BRASIL. Decreto n. 4.074, de 04 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei no 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 05 de jan. de 2002. Disponível em <<http://www.planalto.gov.br/ccivil/leis/>>. Acesso em: 10 jul. De 2011.

BRASIL. Lei 7802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, experimentação, produção, embalagem e rotulagem, transporte, armazenamento, comercialização, além da propaganda comercial, utilização, importação e exportação, destino final dos resíduo e embalagens, registro, classificação, controle, inspeção e fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 12 de jul. de 1989. Disponível em <https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l7802.htm>. Acesso em: 10.ago.2011.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Portaria normativa IBAMA nº 84, de 15 de outubro de 1996.
Disponível em: http://servicos.ibama.gov.br/ctf/manual/html/Portaria_84.pdf. Acesso em: 15 de Fev. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 03, de 16 de janeiro de 1992. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/03_92.htm. Acesso em: 15 de Fev. 2013.

CARDOSO, M. H. W.; GOUVÊA, A. V.; NÓBREGA, A. W.; ABRANTES, S. M. P.; Efeito da resposta cromatográfica acentuada e induzida pela matriz: estudo de caso em tomates. **Analytica**, n. 34, abr/mai. 2008

CARDOSO, M. H. W.; GOUVÊA, A. V.; NÓBREGA, A. W.; ABRANTES, S. M. P.; Validação de Método para determinação de resíduos de agrotóxicos em tomate: uma experiência laboratorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. Mai. 2010.

CEASA-RJ (Centrais de Abastecimento do Rio de Janeiro S/A). Evolução histórica da quantidade comercializada de Abacaxi no ano de 2010. Rio de Janeiro: CEASA-RJ, 2011.

CHAI, M. K, TAN, G. H. Validation of a headspace solid-phase microextraction procedure with gas chromatography-electron capture detection of pesticide residues in fruits and vegetables, **Food Chemistry**, v. 117, n. Abr. 2009.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Guidelines on Good Laboratory Practice in Residue Analysis: CAC/GL 40-1993, Rev. 1-2003. Rome: FAO/WHO, 2003. vol. 2A. Disponível em: http://www.codexalimentarius.net/download/standards/378/cxg_040e.pdfAcesso em: 07. fev. 2012.

CORTÉS-AGUADO, S.; SÁNCHEZ-MORITO, N.; ARREBOLA, F. J.; GARRIDO FRENICH, A. MARTÍNEZ VIDAL, J. L. Fast screening of pesticide residues in fruit juice by solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 107, n. Set. 2007 p 1314-1325.

COSTA, E. H. Análise multirresíduo de agrotóxicos em abacaxi por CG/DCE. 2010. 115f. Dissertação (mestrado em agroquímica)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2010.

CHUNG, S. W. C.; CHAN, B. T. P. Validation and use of a fast sample preparation method and liquid chromatography–tandem mass spectrometry in analysis of ultra-trace levels of 98 organophosphorus pesticide and carbamate residues in a total diet study involving diversified food types. **Journal of Chromatography A**, v.1217, n. 8, jul. 2010. 4815–482.

CHEN, C.; QUIAN, Y.; CHEN, Q.; TAO, C.; LI, C.; LI, Y. Evaluation of pesticide residues in fruits and vegetables from Xiamen, China. **Food Control**, v.22, n. 7, jul. 2011.

CRESTANI, M.; BARBIERI, R. L.; HARWERROTH, F. J.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C. Das Américas para o Mundo - origem, domesticação e dispersão do abacaxizeiro. **Ciência Rural**, v. 40, n. 6, jun. 2010.

DARDENGO, R. P. Análise multirresíduo de inseticidas em batata (*Solanum tuberosum* L.). 2007. 107f. Dissertação (mestrado em agroquímica)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2007.

EMBRAPA-Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistema de produção de abacaxi em Rondônia. 2005 Disponível em:<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Abacaxi/CultivodoAbacaxiRO/index.htm>. Acesso em: 13 jul 2011

EMBRAPA-Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Monitoramento de fusariose em plantios de abacaxi 'pérola' conduzidos em sistema de produção integrada de no estado de Tocantins. SSN 1809-4996; 184), 2009.

EURACHEM. The fitness for purpose of analytical methods, a laboratory guide to method validation and related topics. Teddington: LCG, 1998.

DG-SANCO, EUROPEAN COMMISSION. Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticides Analysis in Food and Feed. 2012. Document N°. SANCO/12495/2011.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. The global pineapple economy FAO keynote Address. 2010 . Disponível em: <http://faostat3.fao.org/home/index.html#DOWNLOAD>. Acesso em: 21 jan. 2013.

FAO-Food and Agriculture Organization. Manual de Boas praticas Agrícolas para agricultura familiar. 2007. Disponível em:http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/bpa/pdf/manual_pr.pdf. Acesso em: 25 jul. 2011.

GENERAL INSPECTORATE FOR HEALTH PROTECTION. Analytical Methods for Pesticide Residues in Foodstuffs. 6th ed. The Hague: The Netherlands. Ministry of Public Health, Welfare and Sport, 1996. Part I.

GOES, A. Doenças do abacaxi In: KIMATI, I.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. Manual de fitopatologia. 4.ed. São Paulo, Agronômica Ceres, 2005. v.2. 651P

GONÇALVES, N.B.; CARVALHO, V. D.; Características da Fruta. In: GONÇALVES, N. B. Abacaxi. Produção: aspectos técnicos.. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. (Frutas do Brasil, 5)

GOOGLE IMAGENS. Disponível em: images.google.com.br. Acesso em: 15. Fev. 2013.

GREEN, J. M. A practical guide to analytical method validation. **Analytical Chemistry News & Features**, v. 68, n. 9, p. 305A-309A, 1996.

IBAMA. Instituto Nacional do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis. Produtos Agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil: Uma abordagem ambiental. IBAMA, Brasília, 2010. 159p

IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da produção Agrícola: Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas do ano civil. IBGE, v. 24, n. 02, fev.2011.

INMETRO- INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. Vocabulário Internacional de Metrologia: conceitos fundamentais e gerais e termos associados (VIM, 2008). 1 Edição Brasileira. Rio de Janeiro, 2009.

INMETRO - INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos. DOQ-CGCRE-008. 2011.

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

KOESUKWIWAT, U; LEHOTAY, S. J; MIAO, S; LEEPIPATPIBOO, N. High throughput analysis of 150 pesticides in fruits and vegetables using QuEChERS and low-pressure gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Vol. 1217, p. 6692–6703, mai 2010.

MARCHESAN, E.; SARTORI, G. M. S.; AVILA, L. A.; MACHADO, S. L. O.; ZANELLA, R.; PRIMEL, E. G.; MACEDO, V. R. M.; MARCHESAN, M. G. Resíduos de agrotóxicos na água de rios da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, V. 40, n.5, mai. 2010.

MILLER, J. C.; MILLER, J. N. *Statistics for Analytical Chemistry*. New York: Ellis Horwood Limited, 1984.

MENEZES, K. M. P. Extraction and Clean-Up Method for the Determination of Twenty Organochlorine Pesticides Residues in Tomatoes by GLC-ECD. **Journal of High Resolution Chromatography**. 1999, 22, (11) 619–622

MORETTI, C.L. Boas práticas agrícolas para a produção de hortaliças. Horticultura Brasileira, Campinas, v. 21, n. 2, 2003. [não paginado.] Disponível em: <<http://www.feagri.unicamp.br/tomates/pdfs/pal05.pdf>>. Acesso em 07 ago. 2011.

OLIVEIRA, M. D. M.; NASCIMENTO, L. D. Avaliação da atividade de indutores de resistência abiótica, fungicida químico e extratos vegetais no controle da podridão-negra em Abacaxi 'Pérola'. **Revista Brasileira de Fruticultura**. [online]., vol.31, n.1, p. 84-89. Mar. 2009

PEIXOTO, S. C. Validação e aplicação do método empregado QuEChERS modificado e CG-ECD para determinação de resíduos de pesticidas em grãos e casca de arroz. Tese. (Doutorado em Química). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2010.

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**, Vol. 32, No. 6, 1620-1634, 2009

PIZZUTTI, I. R. Validação de métodos multirresíduos de extração e desenvolvimento de método de purificação por GPC para análise de resíduos de pesticidas em soja utilizando CG-MS, CG-MS/MS e LC-MS/MS. Tese(Doutorado em Química). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2006.

PIZZUTTI, I. R.; KOK, A.; HIEMSTRA, M.; WICKERT, C.; PRESTES, O. D. Method validation and comparison of acetonitrile and acetone extraction for the analysis of 169 pesticides in soya grain by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Vol. 1216, 4539-4552, Mar. 2009.

QUEIROZ, S. C. N.; FERRACINI, V. L.; ROSA MARIA, A. Validação de método multirresíduo para determinação de pesticidas em alimentos empregando quechers e UPLC™-MS/MS. **Química Nova**, Vol. 35, No. 1, 185-192, jul. 2012.

REINHARDT, D.H.; SOUZA, L.F. DA S.; CABRAL, J.R.S. Abacaxi. Produção: aspectos técnicos. Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA). Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. 77p. (Frutas do Brasil; 7).

RIBANI, M.; BOTOLLI, C. B. G.; JARDIM, I. C. S.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, Vol. 27, No. 5, 771-780, 2004

ROMERO-GONZÁLEZ, R; GARRIDO FRENICH, A; Martínez Vidal, J. L; Prestes, O. D; GRIO, S. L. Simultaneous determination of pesticides, biopesticides and mycotoxins in organic products applying a quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction procedure and ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatographic A**, vol. 1218, n. p. 1477-1485, Jan. 2011.

SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. Piretróides - uma visão geral. **Alimentos e Nutrição**, v.18,n.3. Jul./set. 2007.

SPADOTTO, C. A. Abordagem interdisciplinar na avaliação ambiental de agrotóxicos. **Revista Núcleo de Pesquisa Interdisciplinar**, 2006. Disponível em: <http://www.fmr.edu.br/npi/003.pdf>. Acesso em: 27 jul. 2011.

SOUZA, S. V. C. Procedimento para validação intralaboratorial de métodos de ensaio: delineamento e aplicabilidade em análise de alimentos. 2007, 295f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia – UFMG, Belo Horizonte, 2007.

SOUZA, C.B.; SILVA, B.B.; AZEVEDO, P.V. . Crescimento e rendimento do abacaxizeiro nas condições climáticas dos Tabuleiros Costeiros do Estado da Paraíba. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.11, p.134-141, 2007.

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

UNICAMP. Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA-UNICAMP. Versão II. -- 2. ed. -- Campinas, SP: NEPA-UNICAMP, 2006.113p

WILKOWSKA, A. BIZIUK, M. Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology. **Food Chemistry**, v. 125, n. 1, Apr. 2011)