

**AVALIAÇÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE
RESÍDUOS DE CARBOFURAN E TEBUCONAZOLE EM BANANA
PARA EXPORTAÇÃO**

POR

DELMA FALCÃO TORQUILHO



2001

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

**AVALIAÇÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE
RESÍDUOS DE CARBOFURAN E TEBUCONAZOLE EM BANANA PARA
EXPORTAÇÃO**

POR

DELMA FALCÃO TORQUILHO

SOB A ORIENTAÇÃO DOS Drs.
RONOEL LUIZ DE OLIVEIRA GODOY
IZABELA MIRANDA DE CASTRO

Tese submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de
mestre em Ciência e Tecnologia de
Alimentos.

Seropédica, Rio de Janeiro
Outubro, 2001

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

DELMA FALCÃO TORQUILHO

Aprovada em 22 de outubro de 2001

BANCA EXAMINADORA:

Dr. Ronoel Luiz de Oliveira Godoy
Embrapa Agroindústria de
Alimentos

Dra. Ana Lúcia da Rocha Nobre
Dep. Química-ICEEx-UFRRJ

Dra. Helena de Souza Torquillo

Dr. Maurício Cordeiro Mancini
DTQ-IT-UFRRJ (suplente)

Ronaldo Luiz de O. Godoy

Ana Lucia da Rocha Nobre

Helena de Souza Torquillo

Mauricio Cordeiro Mancini

**"Para Renato e Lucas Torquillo, meus amores.
Que se não fosse o incentivo e apoio do
primeiro, seria impossível a realização deste
trabalho e sem cujo amor e atenção
dispensados ao segundo, ele seria escrito na
metade do tempo."**

"Se não houver frutos, valeu a beleza das flores.

Se não houver flores, valeu a sombra das folhas.

**Se não houver folhas, valeu a intenção da
semente."**

Henfil.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Dr. Ronoel Luiz de Oliveira Godoy, que me auxiliou e me incentivou durante todos esses anos de trabalho, com paciência, competência e dedicação. Agradeço por todos os ensinamentos que me foram concedidos que com certeza foram fundamentais para a realização deste trabalho e que serão essenciais para minha vida científica daqui para frente.

Agradeço a Dra. Izabela Miranda de Castro pela sua orientação, paciência, compreensão e também pela sua grandiosa experiência profissional que tanto contribuiu durante o decorrer deste trabalho.

Agradeço a Dra. Helena de Souza Torquillo pelo seu encorajamento, ajuda em alguns experimentos e principalmente pela sua força e determinação, que foram exemplos grandiosos para mim no término deste trabalho. A Leila Quinteiro pela dedicação e pelo seu valioso auxílio durante o desenvolvimento da pesquisa. A Glória Naise pela sua grande contribuição na realização deste trabalho.

Agradeço a Dra. Regina Lago como minha orientadora de iniciação científica e apoio técnico. Pela sua competência, organização e profissionalismo, que foram exemplos fundamentais ao meu amadurecimento científico, proporcionando-me um melhor desempenho nesta pesquisa.

Agradeço aos funcionários Frederico e Jeane da Embrapa Agroindústria de Alimentos pela simpatia e paciência nos inúmeros empréstimos de materiais realizados. Agradeço também ao estagiário Ronaldo pela grandiosa ajuda nos experimentos.

Agradeço em especial a minha família, minha mãe Alzira, Joaquim e meus irmãos Altemar, Jonas e Nilo, que me apoiaram de um jeito ou de outro nas conquistas de minha vida, me incentivando e me ajudando nos momentos difíceis.

Agradeço aos meus amigos de turma: Denise, Gesilene e Alessandro, pelo apoio, amizade e companheirismo demonstrados já na sala de aula e que prevalecem até hoje.

Agradeço a UFRRJ pela oportunidade oferecida e ao seu corpo docente pelos ensinamentos. A Embrapa Agroindústria de Alimentos pelas condições oferecidas ao desenvolvimento da pesquisa e ao Instituto de Pesquisas Especiais do Ministério do exército (IPE - CETEX), pela oportunidade de realizar alguns experimentos, permitindo assim, a obtenção dos espectros de massas.

Agradeço ao meu marido Renato de Souza Torquillo, que esteve sempre comigo, compartilhando todos os meus momentos de alegrias e tristezas, dando-me seu incentivo, encorajamento, carinho e atenção. Como eu já disse e repito sem ele seria impossível a realização deste trabalho. Agradeço também ao meu filho Lucas Falcão Torquillo, de um ano e quatro meses, que nos momentos de angústia e inquietação, trouzia-me a paz com seu sorriso lindo.

Agradeço a CAPES pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

| | |
|---------------------------------------------------------------|------|
| LISTA DE ABREVIACÕES | X |
| LISTA DE FIGURAS..... | XI |
| LISTA DE TABELAS..... | XIV |
| RESUMO..... | XV |
| ABSTRACT..... | XVII |
| | |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2. AGROTÓXICOS..... | 3 |
| 2.1. Definição e Classificação..... | 3 |
| 2.2. Importância do Uso de Agrotóxicos..... | 8 |
| 2.3. Regulamentação e Controle..... | 10 |
| 2.4. Legislações e Limites Permitidos..... | 11 |
| 2.5. Extração de Resíduos de Agrotóxicos..... | 13 |
| 2.6. Purificação do Extrato..... | 15 |
| 2.7. Concentração do Extrato..... | 16 |
| 2.8. Identificação de Resíduos de Agrotóxico..... | 17 |
| 2.9. Quantificação dos Resíduos..... | 23 |
| 2.10. Algumas Publicações Sobre Determinação de Resíduos..... | 25 |
| 3. BANANA-CLASSIFICAÇÃO, DOENÇAS E PRAGAS..... | 27 |
| 3.1. Banana <i>Musa</i> spp (Simmonds)..... | 27 |
| 3.1.1. Classificação Botânica e Principais Cultivares..... | 27 |
| 3.1.2. Subgrupo Prata..... | 31 |
| 3.1.3. Doenças e Pragas de Bananeiras..... | 31 |
| 3.1.3.1. Sigatoka - Amarela..... | 32 |
| 3.1.3.2. Mal-do-Panamá ou Murcha-de-Fusarium..... | 35 |

| | | |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.1.3.3. | Nematóides e seu Controle..... | 36 |
| 3.1.3.4. | Broca do Rizoma (<i>Cosmopolites sordidus</i>)..... | 37 |
| 4. | OBJETIVO | 44 |
| 5. | MATERIAIS E MÉTODOS | 44 |
| 5.1. | Tratamento Químico da Bananeira..... | 44 |
| 5.2. | Coleta das Amostras..... | 47 |
| 5.3. | Preparo das Amostras..... | 48 |
| 5.4. | Material..... | 49 |
| 5.4.1. | Reagentes..... | 49 |
| 5.4.2. | Equipamentos..... | 51 |
| 5.5. | Métodos..... | 54 |
| 5.5.1 | Preparo das soluções Padrões de Agrotóxicos | 54 |
| 5.5.1.1. | Preparo das soluções padrão de Dieldrin..... | 54 |
| 5.5.1.2. | Preparo das soluções padrão de Metoxicloro..... | 55 |
| 5.5.1.3. | Preparo das soluções padrão de Malation..... | 55 |
| 5.5.1.4. | Preparo das soluções padrão de Tebuconazole..... | 56 |
| 5.5.1.5. | Preparo das soluções padrão de Carbofuran..... | 57 |
| 5.5.2. | Preparo das amostras de banana fortificadas com agrotóxicos para estudos de recuperação..... | 58 |
| 5.5.2.1. | Adição dos padrões de Dieldrin, Metoxicloro e Malation..... | 58 |
| 5.5.2.2. | Adição dos padrões de Tebuconazole e Carbofuran..... | 58 |
| 5.5.3. | Extração das amostras de banana..... | 59 |
| 5.5.3.1. | Extração e "Clean-up"(Pesticide Analitycal Manual vol. 1 - seção 304, 1999)..... | 59 |
| 5.5.3.2. | Extração (Analytical Methods for Pesticide Residue in Foodstuffs, Sixth edition, Part I, page 4, june1996)..... | 62 |
| 6. | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 64 |
| 6.1. | Escolha do Método de Extração..... | 64 |
| 6.2. | Extração de Residuos com Acetonitrila..... | 65 |

| | | |
|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 6.3 | Extração de Resíduos com Acetato de Etila..... | 68 |
| 6.4. | Quantificação dos Resíduos no Extrato Fortificado..... | 69 |
| 6.5. | Padronização dos Parâmetros Cromatográficos..... | 73 |
| 6.6. | Análise Cromatográfica dos Extratos Contendo Resíduos de Carbofuran e Tebuconazole em Amostras de Polpa de Banana..... | 75 |
| 6.7. | CGAR-DSM como técnica confirmativa para análise de Resíduos de Carbofuran e Tebuconazole..... | 82 |
| 7. | CONCLUSÃO | 90 |
| 8. | SUGESTÃO | 90 |
| 9. | BIBLIOGRAFIA | 91 |
| | ANEXO I - Cromatogramas dos padrões de Carbofuran e Tebuconazole com diferentes concentrações em CGAR-DNP..... | 97 |
| | ANEXO II - Cromatogramas dos extratos com resíduos de Tebuconazole em CGAR-DNP..... | 93 |

LISTA DE ABREVIAÇÕES

| | | |
|---------|---------------------------------------------------------|----|
| UFRRJ | Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro..... | ii |
| EMBRAPA | Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária..... | ii |
| IPE | Instituto de Pesquisa do Exército..... | vi |
| EPAMIG | Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais..... | xv |
| BHC | Hexaclorobenzeno..... | 2 |
| DDT | 2,2-BIS-(<i>p</i> -clorofenil)1,1,1-tricloroetano..... | 2 |
| WHO | Organização Mundial de Saúde..... | 3 |
| ITAL | Instituto de Tecnologia de Alimentos..... | 4 |
| EPA | Agência de Proteção Ambiental..... | 10 |
| LMR | Limite Máximo de Resíduo..... | 11 |
| FAO | Organização de Alimentos e Agricultura..... | 11 |
| FDA | Administração de Drogas e Alimentos..... | 11 |
| ILSE | Instituto Internacional de Ciência do Brasil..... | 12 |
| ISDF | Instituto de Saúde do Distrito Federal..... | 12 |
| MRM | Multiresíduo..... | 14 |
| SMRM | Multiresíduo Especial..... | 14 |
| CG | Cromatografia Gasosa..... | 15 |
| DCE | Detetor por Captura de Elétrons..... | 15 |
| DNP | Detetor de Nitrogênio e Fósforo..... | 18 |
| DSM | Detetor Seletivo de Massas..... | 18 |
| MEFS | Microextração por Fase Sólida..... | 26 |
| EPI | Equipamento de Proteção Individual..... | 40 |
| BPA | Boas Práticas Agrícolas..... | 44 |
| MSI | Monitoramento Seletivo de Íons..... | 82 |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| FIGURA 1: | Exemplos de estruturas moleculares dos agrotóxicos organofosforados, piretróide, organoclorado e carbamato..... | 7 |
| FIGURA 2: | Iustração de aparelhos concentradores Kuderna - Danish e Evaporador Rotativo..... | 17 |
| FIGURA 3: | Ilustração geral de operação do CGAR-DNP..... | 21 |
| FIGURA 4: | Ilustração da bananeira adulta..... | 30 |
| FIGURA 5: | Ilustração da Broca do Rizoma (<i>Cosmopolites Sordidus</i>)..... | 39 |
| FIGURA 6: | Ilustração da isca Tipo "Queijo"..... | 42 |
| FIGURA 7: | Ilustração da isca Tipo "Telha"..... | 42 |
| FIGURA 8: | Estruturas moleculares dos agrotóxicos Metoxicloro, Malation e Dieldrin..... | 65 |
| FIGURA 9: | Estruturas moleculares dos agrotóxicos Carbofuran e Tebuconazole..... | 68 |
| FIGURA 10: | Curva de calibração do padrão de Carbofuran..... | 70 |
| FIGURA 11: | Curva de calibração do padrão de Tebuconazole..... | 70 |
| FIGURA 12: | Analise do extrato da polpa de banana em CGAR-DNP..... | 72 |
| FIGURA 13: | Analise do extrato da polpa de banana fortificada com Carbofuran e Tebuconazole (1 μ g/mL) em CGAR-DNP..... | 72 |
| FIGURA 14: | Analise da solução padrão de Carbofuran e Tebuconazole (1 μ g/mL) em CGAR-DNP..... | 73 |
| FIGURA 15: | Sobreposição dos picos do extrato da casca (T6PIII) e do padrão de Carbofuran..... | 79 |
| FIGURA 16: | Cromatograma de Íons Totais (TIC) do padrão de Carbofuran no modo MSI..... | 84 |
| FIGURA 17: | Espectro de íons de massas selecionados do padrão de Carbofuran no modo MSI..... | 84 |
| FIGURA 18: | Cromatograma de Íons Totais (TIC) do padrão de Carbofuran no modo SCAN..... | 85 |

| | | |
|------------|------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| FIGURA 19: | Espectro de massas do padrão de Carbofuran no modo SCAN..... | 85 |
| FIGURA 20: | Espectro de massas do padrão de Carbofuran na biblioteca NIST..... | 86 |
| FIGURA 21: | Proposta de Fragmentação para o Carbofuran..... | 86 |
| FIGURA 22: | Cromatograma de Íons Totais (TIC) do padrão de Tebuconazole no modo SCAN..... | 88 |
| FIGURA 23: | Espectro de massas do padrão de Tebuconazole no modo SCAN..... | 88 |
| FIGURA 24: | Proposta de Fragmentação para o Tebuconazole..... | 89 |
| FIGURA 25: | Análise da solução padrão de Carbofuran (1,5 μ g/mL). Análise por CGAR-DNP..... | 98 |
| FIGURA 26: | Análise da solução padrão de Carbofuran (1,0 μ g/mL). Análise por CGAR-DNP..... | 98 |
| FIGURA 27: | Análise da solução padrão de Carbofuran (0,5 μ g/mL). Análise por CGAR-DNP..... | 98 |
| FIGURA 28: | Análise da solução padrão de Carbofuran (0,1 μ g/mL). Análise por CGAR-DNP..... | 99 |
| FIGURA 29: | Análise da solução padrão de Carbofuran (0,05 μ g/mL). Análise por CGAR-DNP..... | 99 |
| FIGURA 30: | Análise da solução padrão de Carbofuran (0,01 μ g/mL). Análise por CGAR-DNP..... | 99 |
| FIGURA 31: | Análise da solução padrão de Tebuconazole (1,5 μ g/mL). Análise por CGAR-DNP..... | 100 |
| FIGURA 32: | Análise da solução padrão de Tebuconazole (1,0 μ g/mL). Análise por CGAR-DNP..... | 100 |
| FIGURA 33: | Análise da solução padrão de Tebuconazole (0,5 μ g/mL). Análise por CGAR-DNP..... | 100 |
| FIGURA 34: | Análise da solução padrão de Tebuconazole (0,1 μ g/mL). Análise por CGAR-DNP..... | 101 |

| | | |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| FIGURA 35: | Análise da solução padrão de Tebuconazole (0,05 μ g/mL). | |
| | Análise por CGAR-DNP..... | 101 |
| FIGURA 36: | Análise da solução padrão de Tebuconazole (0,01 μ g/mL). | |
| | Análise por CGAR-DNP..... | 101 |
| FIGURA 37: | Sobreposição dos picos do extrato da polpa (C23/04) e do padrão de Tebuconazole..... | 103 |
| FIGURA 38: | Sobreposição dos picos do extrato da casca (C23/04) e do padrão de Tebuconazole..... | 103 |
| FIGURA 39: | Sobreposição dos picos do extrato da casca (C26/04) e do padrão de Tebuconazole..... | 104 |
| FIGURA 40: | Sobreposição dos picos do extrato da casca (C23/04) e do padrão de Tebuconazole..... | 104 |
| FIGURA 41: | Sobreposição dos picos do extrato da casca (C20/04) e do padrão de Tebuconazole..... | 105 |
| FIGURA 42: | Sobreposição dos picos do extrato da casca (C20/05) e do padrão de Tebuconazole..... | 105 |
| FIGURA 43: | Sobreposição dos picos do extrato da casca (C30/04) e do padrão de Tebuconazole..... | 106 |
| FIGURA 44: | Sobreposição dos picos do extrato da casca (C23/04) e do padrão de Tebuconazole..... | 106 |
| FIGURA 45: | Sobreposição dos picos do extrato da casca (C26/04) e do padrão de Tebuconazole..... | 107 |
| FIGURA 46: | Sobreposição dos picos do extrato da casca (C07/05) e do padrão de Tebuconazole..... | 107 |

LISTA DE TABELAS E ESQUEMAS

| | | |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| TABELA 1: | Classificação cronológica dos agrotóxicos..... | 4 |
| TABELA 2: | Exemplos de agrotóxicos utilizados na plantação de banana..... | 43 |
| TABELA 3: | Formas de Tratamento da Plantação com Furadan..... | 47 |
| TABELA 4: | Padrões de agrotóxicos..... | 49 |
| TABELA 5: | Descrição dos agrotóxicos | 50 |
| TABELA 6: | Solventes e fases preparativas para extração..... | 51 |
| TABELA 7: | Condições de análises para CGAR-DNP..... | 52 |
| TABELA 8: | Condições de análise para CGAR-DSM..... | 53 |
| TABELA 9: | Equipamentos utilizados na extração..... | 54 |
| TABELA 10: | Resultados obtidos da solução padrão de Dieldrin, Metoxiclor e Malation em CGAR-DCE e CGAR-DNP..... | 67 |
| TABELA 11: | Resultados obtidos do extrato da banana fortificada com Dieldrin, Malathion e Metoxiclor em CGAR-DCE e CGAR-DNP..... | 67 |
| TABELA 12: | Analise da mistura dos padrões de Carbofuran e Tebuconazole..... | 71 |
| TABELA 13: | Recuperação dos padrões de Carbofuran e Tebuconazole no extrato fortificado..... | 71 |
| TABELA 14: | Comparação dos tempos de retenção do padrão de Tebuconazole com os resíduos nos extratos e suas concentrações em amostras de polpa e casca de banana..... | 77 |
| TABELA 15: | Exemplos da avaliação dos resíduos nos extratos da casca de banana de três amostras relacionadas a cada tratamento..... | 80 |
| TABELA 16: | Exemplos da avaliação dos resíduos nos extratos da polpa de banana de três amostras relacionadas a cada tratamento..... | 81 |
| ESQUEMA 1: | Fluxograma do processo de extração com acetonitrila..... | 61 |
| ESQUEMA 2: | Fluxograma do processo de extração com acetato de etila..... | 63 |

RESUMO

No presente trabalho foi realizada a avaliação da extração dos resíduos de dois agrotóxicos, (Carbofuran e Tebuconazole), em amostras de banana (*Musa* - spp, Simmonds) provenientes de uma estação experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), cuja plantação foi tratada com esses dois ingredientes ativos. Um método de extração foi escolhido para melhor análise desses agrotóxicos.

A escolha do método de extração foi avaliada através de ensaios de recuperação dos padrões de organoclorados (Dieldrin e Metoxicloro), organofosforado (Malation), carbamato (Carbofuran) e triazol (Tebuconazole) que foram adicionados na amostra e submetidos ao processo de extração e identificação. Os resultados de recuperação obtidos foram em média de 67% para o Dieldrin, 77% para o Metoxicloro, 59% para o Malation, 120% para o Carbofuran e 70% para o Tebuconazole.

Foi utilizado como instrumento de análise dos extratos a cromatografia gasosa de alta resolução com detetor de nitrogênio e fósforo (CGAR-DNP) e para a confirmação dos padrões Carbofuran e Tebuconazole a cromatografia gasosa com detetor seletivo de massas (CGAR-DSM).

A quantificação dos resíduos desses agrotóxicos nos extratos foi realizada com auxílio de uma curva padrão de calibração externa com seis diferentes pontos de concentração.

Os resultados obtidos em 79 amostras analisadas, demonstraram em uma delas a presença do resíduo de Carbofuran e em 19 amostras a presença do resíduo de Tebuconazole, todas com teor dentro dos Limites Máximos de Resíduos estabelecidos pelo Codex Alimentarius.

O trabalho mostrou que os resíduos de Carbofuran e Tebuconazole podem ser analisados por cromatografia gasosa com detetor de Nitrogênio e Fósforo, bem como podem ser manipulados, aplicando-se o método adotado pela EPAMIG em plantações de banana com bons resultados.

ABSTRACT

In the present work the evaluation of two pesticide residues (Carbofuran and Tebuconazole) was accomplished in banana samples (*Musa* - spp, Simmonds). The samples came from an experimental station of the Agricultural Research Company of Minas Gerais (EPAMIG), whose plantation was treated with those two active ingredients. An extraction method was chosen for better analysis of the pesticides.

The choice of the extraction method was evaluated through assays of recovery of the following standards: organochlorines (Dieldrin and Methoxychlor), organophosphorus (Malathion), carbamate (Carbofuran) and triazole (Tebuconazole), which were added in the sample and submitted to the extraction process and identification. The obtained recovery results were on the average of 67% for Dieldrin, 77% for Methoxychlor, 59% for Malathion, 125% for Carbofuran and 70% for Tebuconazole.

The high resolution gas chromatography with nitrogen-phosphorus detector (HRGC - NPD) was applied as an instrument of analysis of the extracts and for the confirmation of standards, Carbofuran and Tebuconazole, the gas chromatography with mass selective detector (HRGC - MSD).

The quantification of those pesticide residues was done by the aid of an external calibration curve, elaborated for each standard with six different concentration points.

The results obtained in 79 analyzed samples demonstrated in one of them the presence of Carbofuran residue and in 19 samples the presence of Tebuconazole residue

and all with concentration inside of the Maximum Limits of Residues established by the Codex Alimentarius.

The work showed that the residues, Carbofuran and Tebuconazole, can be analyzed by HRGC - NPD and also they can be manipulated by method used by EPAMIG in banana plantations with good results.

1. INTRODUÇÃO

No princípio, o homem era um nômade, vivendo exclusivamente da caça e de frutos silvestres. A agricultura teve seu início há 10 mil anos, na Revolução Neolítica, fixando o homem ao solo. As técnicas de cultivo foram, então, se aprimorando e se difundindo. Nos solos argilosos da Europa, as áreas eram cultivadas de 3 a 4 anos, e abandonados, a seguir, para se regenerarem. Todavia, esta técnica falhou completamente, quando aplicada nas Américas e na África, gerando áreas estéreis, com erosões incontroláveis. Somente a revolução industrial, iniciada na Inglaterra em 1780, com a substituição da força muscular pela força das máquinas, e o desenvolvimento de fertilizantes artificiais salvaram a agricultura nessas áreas. As práticas culturais foram então aperfeiçoadas.

O estabelecimento de plantações uniformes em grandes áreas veio a contribuir para o aparecimento de pragas. Com o desenvolvimento da agricultura, fez-se necessário novas áreas e com a colonização, houve a introdução de espécies exóticas em um novo *habitat* que, na ausência de inimigos naturais, se reproduziam rapidamente, tornando-se outro ponto de origem de pragas. Isto motivou o uso de produtos químicos para o controle dessas espécies. Em 1867, o acetoarsenito de cobre foi preparado comercialmente e, a seguir, vários outros produtos de origem vegetal, como a nicotina, estricnina, piretrós, etc e inorgânicos como arsênio, flúor, antimônio, bário, boro, chumbo, cádmio e mercúrio foram utilizados no combate às pragas. Em 1939, a metodologia de controle de pragas foi

bruscamente mudada com a descoberta das propriedades inseticidas do DDT (fig 1-d) por Paul Muller. Em 1941, pesquisadores franceses e ingleses descobriram as propriedades inseticidas do BHC (fig 1-e) e, no final da década de 40, os alemães introduziram os inseticidas organofosforados (fig 1-a,b). Os carbamatos somente foram introduzidos em meados de 1956.

Entretanto, o alto nível de ação biológica e a persistência dos agrotóxicos organoclorados no meio ambiente passaram a causar preocupação, por seus possíveis efeitos, a longo prazo, provocado pelo uso muitas vezes indiscriminado desses agrotóxicos, motivando estudos sobre os níveis de resíduos desses agrotóxicos em alimentos .

Hoje, para disciplinar o seu uso, cada país conta com legislação específica. No Brasil os órgãos encarregados de seu registro são os Ministério da Saúde, da Agricultura e do Meio Ambiente. Após diferentes estudos realizados com o produto estabelece-se a quantidade máxima a ser ingerida de modo a não oferecer risco à saúde e a tolerância, que é a quantidade máxima de resíduo que pode permanecer no alimento, como decorrência de sua aplicação adequada, numa fase específica, desde a sua aplicação até o consumo.

2. AGROTÓXICOS

2.1- DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO

Uma das mais completas definições para os agrotóxicos é, sem dúvida, a da Organização para a Alimentação e Agricultura das Nações Unidas (FAO), que define um agrotóxico como sendo: "Qualquer substância ou mistura de substâncias utilizadas com o objetivo de prevenir, destruir ou controlar qualquer praga, incluindo vetores de doenças animais ou humanas, espécies indesejáveis de plantas ou animais que causem dano ou que, de alguma forma interfiram durante a produção, processamento, estocagem, transporte ou comercialização de alimentos, produtos relacionados a agricultura, madeira e seus derivados, rações ou ainda substâncias que possam ser administradas em animais para o controle de insetos, aracnídeos ou outras pragas dentro ou sobre seus corpos". O termo inclui ainda substâncias utilizadas como reguladores do crescimento de plantas, desfolhadores, dissecadores, ou ainda agentes para prevenir a queda prematura de frutas e substâncias aplicadas a plantação, antes ou depois da colheita, para prevenir a deterioração durante a estocagem ou o transporte (WHO/UNEP, 1997).

Os resíduos de agrotóxicos são definidos como sendo todas as substâncias nos alimentos de humanos ou animais, resultante do uso de agrotóxico, incluindo-se todos os derivados, tais como: produtos de degradação e conversão, metabólitos e produtos de reação que são considerados de significância toxicológica (ITAL, 1985).

Os agrotóxicos podem ser classificados segundo sua toxicidade e ao organismo a que se destina controlar. Segundo este parâmetro, podemos classificá-los em inseticidas, herbicidas, fungicidas, acaricidas, carrapaticidas e assim por diante. Em função da enorme variedade de estruturas químicas, dentro de cada uma destas classes, estes agrotóxicos são ainda classificados em função de sua estrutura, em organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides (ITAL, 1985). Cronologicamente, segundo TOLEDO e colaboradores 1997, os agrotóxicos podem ser classificados conforme tabela 1.

Tabela 1: Classificação cronológica dos agrotóxicos

| GERAÇÃO | CLASSIFICAÇÃO |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Primeira | Inorgânicos (Enxofre, Arsênio, Fluoretos) Orgânicos vegetais (Nicotina, Piretrinas naturais, Rotenona) Orgânicos minerais (Óleos minerais) |
| Segunda | Orgânicos sintéticos Clorados (DDT, Heptaclor, etc.) Fosforados (Malation, Paration, Monocrotofós, etc.) Carbamatos (Carbaril, Carbofuran, etc.) Piretróides (Deltametrina, Permetrina, Cipermetrina, etc.) |
| Terceira | Microbianos e Feromônios |
| Quarta | Hormônios juvenis (Diflubenzuron, Metroprene, etc.) |
| Quinta | Antihormônios Vegetal (Precocenos) Microorganismos (Avermectin) |

Dos agrotóxicos citados na Tabela 1 os mais usados são os organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides (figura 1- a-f).

Organoclorados: São hidrocarbonetos clorados que formam um grupo relativamente grande de agrotóxicos, com considerável diversidade de estruturas, propriedades e uso. São substâncias bioacumulativas, estáveis, com baixa solubilidade em água e alta lipossolubilidade (WALKER e colaboradores, 1996) (figura 1 - d-e).

Organofosforados: É uma importante classe de agrotóxicos, na maioria dos casos ésteres dos ácidos fosfórico e fosfônico ou seus ácidos derivados. Sua nomenclatura mais usual está baseada nos átomos e/ou radicais que se ligam ao átomo central de fósforo. São altamente tóxicos, agindo no sistema nervoso central levando a morte por insuficiência respiratória (RICKET e colaboradores, 1986) (figura 1 - a-b).

Carbamatos: São derivados dos ácidos N-metilcarbâmico e N, N-dimetilcarbâmico. Uma grande quantidade de agrótoxicos contendo nitrogênio são caracterizados pela presença em sua estrutura dos grupos funcionais carbamato, urea ou anéis de triazina. São considerados bastante tóxicos para os mamíferos, inibindo a acetilcolinestérase de maneira reversível (LOOSLI, 1994) (figura 1 - f).

Piretróides: São compostos sintéticos que formam o grupo mais recente de inseticidas no mercado. Derivam de um grupo de inseticidas bem mais antigo chamado piretrinas, que são extraídas de folhas secas de crisântemos. As piretrinas são ésteres dos ácidos crisantêmico ou pirétrico, com os ceto-álcoois piretolona ou cinerolona. Dentre esse grupo destacam-se a nicotina e a rotenona, extraídos respectivamente das plantas *Nicotiana tabacum* e *Derris elliptica* (LOOSLI, 1994) (figura 1 - c).

Os agrotóxicos podem também ser classificados quanto a sua ação e sua toxicidade (ITAL, 1985).

De acordo com sua ação, são classificados em:

De contato: que matam os insetos por meio de contato com alguma parte do seu corpo;

Estomacais: que penetram nos insetos através dos órgãos de seu sistema alimentar e os matam como resultado da entrada do veneno no intestino;

Sistêmicos: que são capazes de se movimentar inalterados ou transformados em metabólitos tóxicos, através do sistema vascular das plantas e invenenam os insetos que delas se alimentam

Fumigantes: que penetram no inseto através do sistema respiratório.

De acordo com a sua toxicidade, são classificados em:

I- altamente tóxicos,

II- mediamente tóxicos,

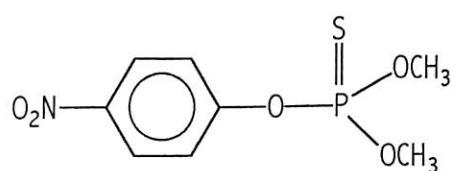
III- pouco tóxicos

IV- praticamente não tóxicos.

As formulações também são avaliadas e classificadas e é possível um mesmo princípio ativo ter formulações de classes diferentes.

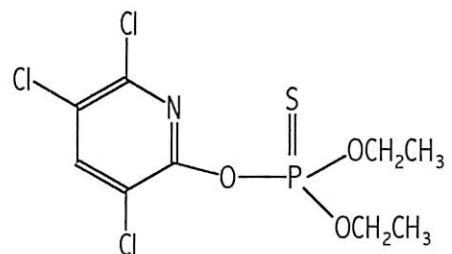
Esta classificação é de grande importância para normas regulamentadoras de rotulagem, comercialização e aplicação desses produtos.

No Brasil os produtos da classe I e II são de venda controlada (receituário agronômico) bem como os das classes III e IV que são considerados poluentes ambientais.



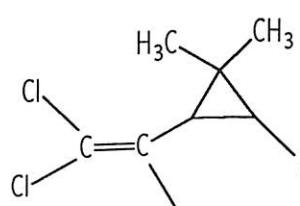
METIL - PARATION

a



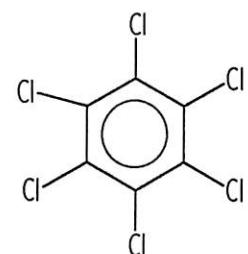
CLORPIRIFOS

b



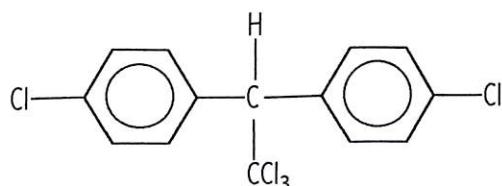
PERMETRINA

c



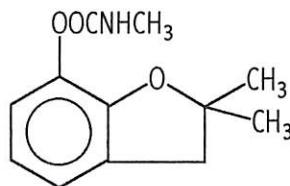
BHC

e



DDT

d



CARBOFURAN

f

Figura 1- Exemplos de estruturas moleculares dos agrotóxicos: organofosforados (a) e (b), piretróide (c) organoclorado (d) e (e), e carbamato (f).

2.2- IMPORTÂNCIA DO USO DE AGROTÓXICOS

Enquanto o aumento da população mundial atinge mais ou menos 20 milhões de pessoas por ano, o que evidentemente resulta em maior consumo de alimentos, requerendo um melhor aproveitamento das colheitas, a importância da produção e da aplicação dos agrotóxicos é inquestionável. Nos Estados Unidos, 34 mil produtos fitossanitários derivados de 600 ingredientes ativos estão registrados, dos quais 20 mil para uso agrícola. Unicamente como referência, cabe destacar que a produção mundial de agrotóxicos passou de 0,13 milhão de ton em 1945 a 1,8 milhões em 1975. O consumo mundial de agrotóxicos por parte dos agricultores foi avaliado em 20 trilhões de dólares (HERRMAN, 1993). Só na União Européia são utilizadas mais de 300 mil ton. O menor consumo, em termos mundiais, localiza-se nos países subdesenvolvidos, que representam 49% da população mundial e 46% da área total cultivada (LOMBARDO, 1989).

Aos países desenvolvidos são atribuídos aproximadamente 50% da produção agrícola, inclusive com a aplicação de agrotóxicos em grande escala, enquanto que no terceiro mundo se perde cerca de 70% das colheitas. A expectativa de que estes países venham a dobrar sua produtividade para suportar o aumento da população nos próximos 20 anos é ainda remota. Em contraste com esta necessidade, parte das regiões em desenvolvimento (situadas na África, América Latina e Ásia) não conta ainda com infra-estrutura suficiente para regular e controlar eficazmente o uso de agrotóxicos e para assegurar efeitos mínimos à saúde pública e ao meio ambiente. Consequentemente, grande parte dos casos de mortes por intoxicação com agrotóxicos e contaminação ambiental se produzem nestes países. Só para exemplificar, durante as décadas de 70 - 80, o Governo

chinês generalizou o uso de agrotóxicos, para duplicar a produtividade e, como resultado tornou-se um dos países mais afetados por contaminação (EL SEBAE, 1993).

O consumo de agrotóxicos no Brasil cresceu cerca de 44% em apenas 10 anos. Vários fatores têm contribuído para o aumento no consumo destes produtos. Um deles é a falta de informação básica por parte dos agricultores, além da utilização de equipamentos obsoletos, que têm levado grande parte dos trabalhadores rurais a pulverizar mais veneno que o necessário. Como consequência, os casos de intoxicação e óbitos por ingestão e/ou inalação de agrotóxicos têm crescido assustadoramente nos últimos 20 anos. Paralelamente, o faturamento no setor de vendas de agrotóxicos no Brasil sinaliza que o consumo continua em alta. Somente entre 93 e 97, as vendas cresceram 104%, de US\$ 1,05 bilhões para US\$ 2,161 bilhões. Apesar disso, as perdas atribuídas às pragas e doenças não sofreram redução drástica no mesmo período. Estes e outros dados demonstram que somente o uso e o manejo adequados dos agrotóxicos podem resultar em ganhos de produtividade, sem no entanto ocasionar contaminação nos alimentos e no ambiente (FOLHA DE SÃO PAULO, 1999).

Os alimentos podem ser contaminados por resíduos de agrotóxicos de diversas maneiras: através de pulverização direta das culturas, rações contaminadas e ingeridas pelos animais, afetando a carne, leite, gordura, etc; arraste dos agrotóxicos pelas chuvas e descarte de agrotóxicos em rios e mares pelas indústrias químicas, contaminando os animais aquáticos, principalmente os peixes. A contaminação e os prejuízos, em sua maioria, resultam do uso excessivo, indiscriminado e incontrolado de agrotóxicos. O homem, como último integrante do ciclo biológico, contamina-se ao se alimentar de

produtos contaminados tanto *in natura* como processados, e pode-se até contaminar o bebê ao amamentá-lo (ITAL, 1985).

2.3 - REGULAMENTAÇÃO E CONTROLE

O registro de novo composto com propriedades de agrotóxico é cada vez mais complexo, exigindo controles ambientais e toxicológicos crescentemente mais rigorosos, a fim de minimizar a presença de seus resíduos e sua ação nociva contra a saúde humana e o ecossistema em geral. Neste sentido, pode-se destacar os poucos meses de investigação que eram exigidos para o registro de agrotóxicos em 1950, frente ao período de cerca de 10 anos imprescindíveis para que se possa concluir todos os ensaios de toxicidade e persistência que a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) exige, na atualidade (HERRMAN, 1993). Assim sendo, a introdução de novos compostos mais seguros e eficazes no mercado é muito lenta e onerosa. Por outro lado, os compostos que causam preocupação internacional, por motivos relacionados à proteção do ser humano e do ambiente, são proibidos ou severamente restringidos, tanto na sua comercialização quanto aplicação. Aqui, cabe destacar diversos agrotóxicos clorados como o Aldrin, Dieldrin, DDT, Endrin, Hexaclorociclodieno, Heptacloro ou Hexaclorobenzeno.

A regulamentação quanto ao uso dos produtos fitossanitários está baseada não só no controle das classes químicas dos princípios ativos autorizados para uso como agrotóxico, mas também no estabelecimento de nível de referência, que corresponde à quantidade máxima de resíduo de determinado agrotóxico que pode ser aceita em cada alimento, quando destinado ao consumo humano. Em tese, o cumprimento destes limites

máximos de resíduos (LMR) permite preservar a saúde do consumidor da ação tóxica destes compostos. Neste sentido, diversos organismos nacionais e internacionais estão encarregados de estabelecer tais limites. Em 1962 foi criada, em nível internacional, a chamada "Codex Alimentarius Commission", um corpo subsidiário da FAO e da Organização Mundial da Saúde (WHO), encarregado de proteger a saúde dos consumidores. Esta comissão constitui-se, na atualidade, numa organização multinacional, aberta a todos os membros da FAO e da WHO. Em 1991, 137 nações participaram no Codex. A contribuição do Codex de particular relevância é o estabelecimento dos valores de LMR recomendados, e que podem ser aceitos livremente pelos países membros.

2.4- LEGISLAÇÕES E LIMITES PERMITIDOS

Nos Estados Unidos, o orgão responsável pelo estabelecimento das tolerâncias é a EPA, e o responsável pelo cumprimento dos limites fixados pela legislação é a Administração de Drogas e Alimentos (FDA) (MARKUS, 1992). O rígido controle estabelecido por tais organismos surgiu, paulatinamente, com os casos de contaminação por agrotóxicos em alimentos, que foram ainda mais pronunciados no final da década de 80 (FERRER & CABRAL, 1991). Tais órgãos contam com legislação própria, e os valores de referência estipulados têm sido freqüentemente revistos, uma vez que os métodos analíticos e a instrumentação têm se tornado, ao longo dos anos, cada vez mais eficazes.

Na União Européia existem diversas diretrizes que estabelecem os LMR, e estas devem ser adotadas por todos os Estados membros (KLEIN e colaboradores, 1993). Tais diretrizes variam conforme a classe dos agrotóxicos e os tipos de alimentos estudados. A

harmonização adotada por estas nações incluem duas linhas fundamentais. A primeira é a fixação dos Limites Máximos de Resíduos Comunitários para cada agrotóxico nos diferentes produtos ou grupos de produtos vegetais. A segunda é o estabelecimento de sistema de vigilância das concentrações de resíduos de agrotóxicos nos produtos vegetais que são colocados em circulação no Mercado Comunitário. Neste sentido, cada estado membro da União Européia é encarregado de executar programas de inspeção para impedir que produtos de origem vegetal ou animal que contenham resíduos superiores aos conteúdos máximos estabelecidos sejam colocados no mercado.

No Brasil, a fixação dos valores de referência é feita pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, mediante portarias que são publicadas em Diário Oficial. Tais portarias estabelecem os valores de LMR, as culturas para os quais o princípio ativo é liberado, as formas de aplicação e o tempo de carência, isto é, o tempo estabelecido entre a aplicação do produto e a colheita do alimento. Estes dados dos diversos agrotóxicos foram compilados pela Fundação Cargil (FUNDAÇÃO CARGIL, 1991) e outra versão mais atualizada, que exclui os agrotóxicos recentemente banidos do mercado, foi elaborada pelo International Life Science Institute of Brazil (ILSE). O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento lançou, por meio da Secretaria de Defesa e Inspeção Vegetal e da Coordenação de Fiscalização de Agrotóxicos, o AGROFIT 97, cujo principal objetivo seria padronizar os valores de LMR e direcionar os órgãos estaduais de controle de uso e aplicação dos agrotóxicos. O Instituto de Saúde do Distrito Federal (ISDF) colocou informações acerca das culturas e dos agroquímicos destinados à sua proteção, quantidades a serem aplicadas e tempos de carência, suficientes para organizar o programa computacional denominado LabPest (ISDF, 1997). A versão mais atual do referido

programa contém informações bem detalhadas também sobre as últimas portarias que foram lançadas pelo Ministério da Agricultura.

Cada Governo Estadual conta com seu próprio mecanismo de controle e vigilância, mediante suas Secretarias Municipais, o que dificulta, de certa forma, a regulamentação e a fiscalização em nível nacional. Indiscutivelmente, a legislação vigente necessita ser revista com certa urgência, a fim de estabelecer diretriz única para controle e vigilância de resíduos de agrotóxicos em alimentos e no ambiente.

Outro ponto que deve ser ressaltado é o fato da legislação ser baseada em valores de LMR calculados para países europeus, como por exemplo a Alemanha, e extraídos principalmente dos registros do Codex, sem ter sido ainda revista com relação a estes valores. Para exemplificar, hoje os países membros da União Européia estabelecem como LMR para o inseticida Carbaril - um inseticida carbamato largamente utilizado na agricultura em todo o mundo - na cultura da laranja, o valor de 2 ppm. No Brasil, este valor continua sendo, desde o dia em que foi fixado, de 7 ppm (ILSE, 1995).

2.5- EXTRAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS

As análises de resíduos de agrotóxicos são extremamente trabalhosas e criteriosas devido as pequenas quantidades dos analitos a serem extraídas e quantificadas e as grandes quantidades de substâncias interferentes as técnicas analíticas utilizadas. O procedimento de extração é determinado pelo tipo de amostra e quais agrotóxicos serão analisados.

Os métodos de análise de resíduos de agrotóxico podem ser classificados em: monoresíduo, quando destinado a um composto específico, multiresíduo (MRM), quando destinado a analisar uma faixa de classes de agrotóxicos ou multiresíduo especial (SMRM) quando destinado a resíduos de uma classe específica de agrotóxicos. Em geral, os métodos consistem dos seguintes passos básicos: extração dos analitos da matriz da amostra; limpeza para remover co-extrativos interferentes, conversão do analito para derivados mais detectáveis, se for o caso; separação dos analitos um dos outros e de interferentes remanescentes, usualmente por cromatografia gasosa ou por cromatografia líquida de alta eficiência, seguida pela detecção dos analitos; quantificação utilizando padrões das substâncias e confirmação do resultado por técnica suplementar, como espectrometria de massas (SHERMA, 1993).

Existem alguns critérios para a escolha do solvente de extração, são eles: o solvente não deve reagir com os agrotóxicos; deve-se considerar: a polaridade dos agrotóxicos e sua solubilidade; tipo de amostra laboratorial (conteúdo de água, gordura, açúcar, etc.); toxicidade do solvente; volatilidade do solvente; pureza do solvente; preço do solvente e o tipo de método: multiresíduo ou não (ITAL, 1985).

Como as amostras têm diferentes características empregam-se diferentes metodologias de extração. Solventes polares são usados com frequência, como: acetonitrila saturada com hexano. Como solventes apolares são muito utilizados o hexano e o éter de petróleo (ITAL, 1985).

Sob o ponto de vista operacional, os primeiros métodos de análise eram extremamente longos, tediosos e complexos, quando comparados com outros métodos desenvolvidos posteriormente. Técnicas como a cromatografia em papel ou determinações

colorimétricas exigiam numerosas e laboriosas purificações do extrato da amostra, de modo a permitir identificação apropriada e quantificação dos resíduos presentes. A implantação da cromatografia gasosa (CG), assim como o desenvolvimento do detetor por captura de elétrons (DCE), estendeu e facilitou o desenvolvimento dos métodos de análise dos agrotóxicos halogenados. No entanto, a capacidade de certos compostos naturais com átomos eletronegativos para produzir resposta com o DCE implica ainda na necessidade de se realizar adequada purificação (TOLEDO e colaboradores, 1997).

2.6- PURIFICAÇÃO DO EXTRATO

O procedimento de purificação é uma das etapas mais importantes da metodologia, pois os agrotóxicos e interferentes (coextrativos) estão presentes juntos no extrato. Dentre os interferentes citamos: aminas voláteis, fenóis, ácidos orgânicos, ftalatos orgânicos, açúcares, óleos vegetais, gordura, clorofila e outros pigmentos (TOLEDO e colaboradores, 1997).

Na partição líquido-líquido entre duas fases imiscíveis ocorre a separação de compostos de diferentes solubilidades. Levando-se em consideração a capacidade extrativa do solvente ou sistemas de solventes, os resíduos de agrotóxicos podem ser extraídos e separados da maioria dos coextrativos das amostras.

Dependendo do sistema de detecção é necessário outro tipo de purificação o qual é realizado através de coluna cromatográfica. Esse sistema cromatográfico consiste de uma fase estacionária (adsorvente) e uma fase móvel (eluente). A fase estacionária é um material sólido ativo (florisil, silica gel, celite, alumina) e a fase móvel é um solvente

orgânico ou mistura de diferentes solventes. Os compostos que ficam fortemente adsorvidos na superfície da fase estacionária levam mais tempo para serem eluidos, e consequentemente os que ficam menos adsorvidos levam menos tempo para eluição. Os adsorventes devem ter partículas uniformes e esféricas de 0,1 - 0,2 mm de área, devendo ser previamente ativados e guardados em dessecador. A porcentagem de desativação deve ser realizada de acordo com a metodologia estabelecida envolvendo estudos de recuperação.

2.7- CONCENTRAÇÃO DO EXTRATO

Uma vez que o enfoque analítico é a detecção de resíduos de agrotóxicos e estes se encontram numa faixa de concentração muito baixa classificada como traço, mg/kg , é necessário que o extrato seja concentrado.

As concentrações podem ser efetuadas em Kuderna-Danish ou evaporador rotativo. A temperatura do banho maria de ambos os sistemas deve ser rigorosamente controlada devido a instabilidade de certos agrotóxicos a altas temperaturas.

Kuderna-Danish é um aparelho muito eficiente para remover grandes quantidades de solventes. Consiste de um tubo, frasco coletor e de uma coluna de Snyder (figura 2-a).

O sistema de evaporador rotativo tem a vantagem de, uma vez fixada a temperatura do banho maria, promover uma rotação do balão que contém o extrato. Esse movimento rotativo permite que todo extrato entre em contato com a temperatura do banho tornando a evaporação mais suave, evitando-se explosões do solvente (figura 2-b).

O extrato nessa etapa, não é levado a secura. Concentra-se até aproximadamente 5 mL a fim de se evitar que certos agrotóxicos sejam arrastados durante o processo final de evaporação.

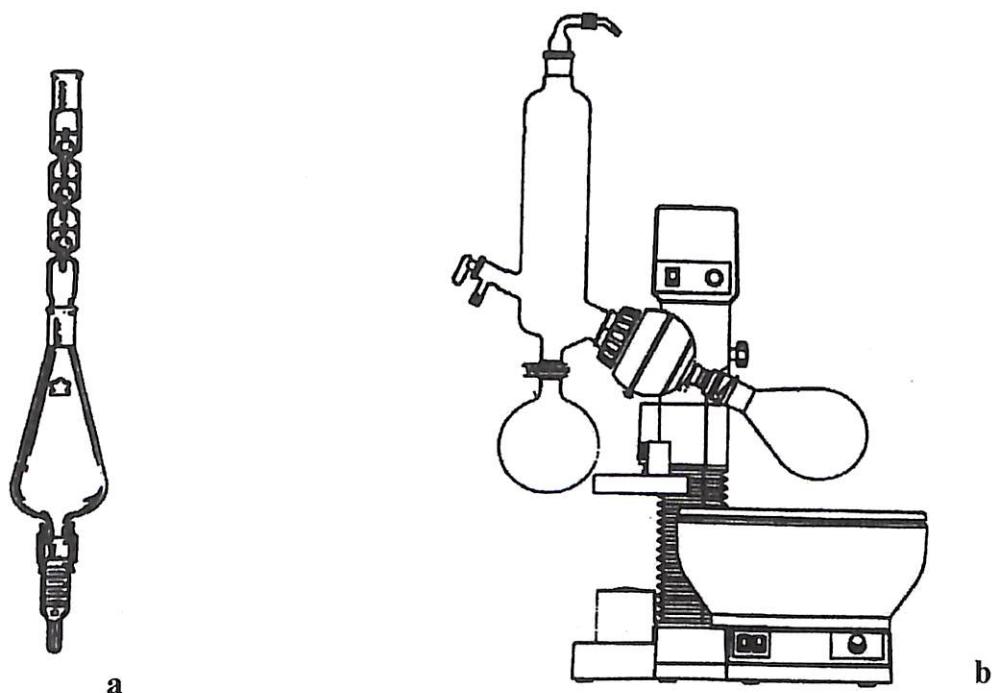


Figura 2- Ilustração de aparelhos concentradores de Kuderna - Danish (a) e Evaporador rotativo (b).

2.8- IDENTIFICAÇÃO DE RESÍDUO DE AGROTÓXICO

A cromatografia é uma das técnicas mais difundidas para a determinação de resíduos de agrotóxicos (TOLEDO e colaboradores, 1997). É um processo físico-químico de separação, onde a amostra ou padrão, após serem volatilizados no injetor, são

transportados em uma fase móvel (gás ou líquido) e percolam através da fase estacionária da coluna, onde ocorre a separação de seus componentes químicos. Estas substâncias são particionadas se a fase é líquida, ou adsorvidas quando sólidas. Existe um equilíbrio dinâmico entre as duas fases de acordo com as solubilidades relativas e demais características físico-químicas.

A seletividade, eficiência e capacidade da coluna são os fatores cuja combinação levam a uma maior ou menor resolução.

No sistema cromatográfico, os detetores específicos fornecem a informação sobre os compostos separados na coluna. Existem diversos tipos de detetores disponíveis no mercado, sendo que os mais utilizados são o DFC (Detetor fotométrico de chama), DNP (Detetor de nitrogênio e fósforo), DCT (detetor de condutividade térmica), o DCE (detetor de capturas de elétrons) e o DSM (detetor seletivo de massas).

Cada detetor possui características próprias, que estão resumidas nas descrições abaixo.

Detetor Fotométrico de Chama – **DFC**

Tem uma chama redutora onde os compostos são queimados. Detecta a luz emitida pelo S2 (394 nm) ou HPO (526 nm) como sinal. É sensível a compostos orgânicos contendo S e P orgânicos (troca de filtros), não é linear para S, o C rouba sinal do S ou do P e é muito sensível as vazões.

Detector de Termocondutividade – DTC

É uma montagem onde um filamento só recebe gás de arraste e outro recebe gás da coluna. Quando um componente sai da coluna, muda a temperatura do filamento e o desequilíbrio da ponte é o sinal.

É universal, não destrutivo, pouco sensível, muito sujeito a corrosão por compostos corrosivos e queima os filamentos se faltar gás de arraste.

Detector de Captura de Elétrons – DCE

Tem uma fonte radioativa (Ni^{63}) que emite partículas beta, elétrons de altíssima velocidade, que se transformam em elétrons lentos pelo choque com o gás de arraste e são coletados pelo ânodo, gerando uma corrente elétrica constante. Quando algum componente que sai da coluna consegue capturar elétrons, a corrente de fundo diminui, gerando o sinal.

Os detetores específicos de nitrogênio e fósforo e o seletivo de massas, estão aqui mais detalhados por terem sido utilizados no presente trabalho.

Detector de Nitrogênio e Fósforo – DNP

O detector de nitrogênio e fósforo é constituído de uma fonte de metal alcalino polarizada e um coletor. Em suas condições de operação, não existe chama mas só um plasma, que forma íons negativos por interação catalítica entre metais alcalinos e compostos de nitrogênio ou fósforo.

Os íons negativos são coletados para produzir uma corrente que é medida num amplificador eletrométrico.

O DNP é altamente indicado na detecção seletiva e específica de compostos orgânicos contendo N ou P na presença de outras classes de compostos ou em quantidades extremamente pequenas. A operação ocorre com N₂, H₂ e ar como no detetor de ionização de chama ou no fotométrico, porém com uma relação otimizada para N ou P que mantém, devido a um potencial elétrico, um estado de plasma sem chama.

O gás de arraste, que carrega os compostos provenientes da coluna é misturado com H₂ antes de sair pelo bocal de quartzo. Lateralmente ao bocal, passam cerca de 120mL de ar por minuto.

A pastilha alcalina é aquecida com uma fonte de corrente e polarizada negativamente com 150V ou cerca de 20V, constituindo-se no eletrodo polarizador. O eletrodo coletor acha-se situado sobre a pastilha aquecida (eletrodo polarizador) e é ligado diretamente no amplificador com um cabo blindado de alta isolação (figura 3).

A resposta do detetor é uma função da temperatura de aquecimento da pastilha e é medida indiretamente pela corrente de fundo, que deve ser medida e ajustada ao mesmo valor antes de cada análise.

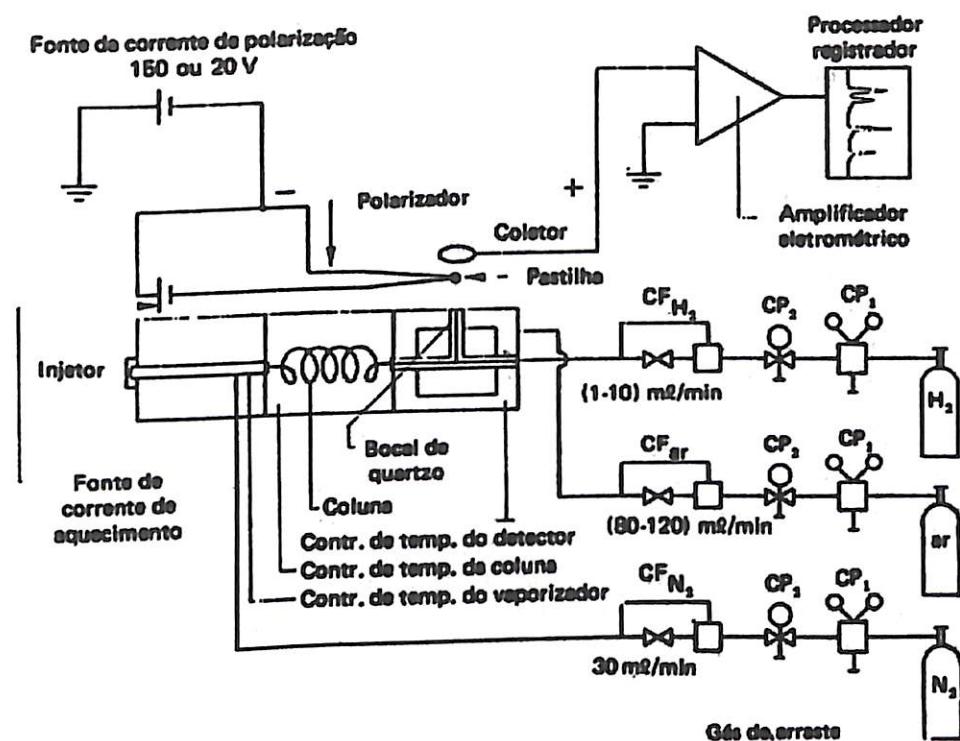


Figura 3: Ilustração geral de operação do CGAR-DNP.

Com o decorrer do tempo de uso, o limite de detecção e a seletividade diminuem, tornando-se necessárias maiores correntes de aquecimento para se obterem a mesma corrente de fundo e a mesma sensibilidade.

A vida útil de uma pastilha está estimada entre 3 meses a 1 ano. Ela depende do cuidado de uso, dos tipos de solventes empregados, das condições de operação, da corrente de aquecimento, etc. um excesso da corrente de aquecimento pode queimar a pastilha em fração de segundo (CIOLA, 1985)

Detetor Seletivo de Massas – DSM.

O detetor seletivo de massas é uma ferramenta poderosa que permite ao analista obter a massa molecular dos compostos e pode, inclusive, permitir a identificação da fórmula molecular. O princípio da espectrometria de massa é simples, uma molécula é fragmentada gerando um íon de carga positiva ou negativa, que será detectado. A abundância da detecção dos íons associada a sua massa (m/z) gera um espectro de massas que pode ser interpretado. Os dados gerados pelo coletor de íons podem ser tabelados ou demonstrados graficamente. As diferenças entre os espectrômetros estão, principalmente nos métodos de ionização e de detecção, existindo diversos modelos disponíveis no mercado (SPLITTER & TURECEK, 1993).

Um equipamento muito utilizado é o CGAR-EM, com ionização por feixe de elétron, gerado através de um filamento que gera 70 eV, com filtro de massas tipo quadrupolo. O filtro tipo quadrupolo utiliza quatro barras sujeitas a diferença de potencial, por onde os íons atravessam paralelamente aos pólos na direção z, porém oscilam de modo complexo nas direções x e y descrevendo um movimento helicoidal, devido a aplicação simultânea de corrente contínua de voltagem e radiofrequência de voltagem aos pólos. Existe uma "oscilação estável" que faz com que um íon particular chegue a extremidade do quadrupolo sem tocar nos pólos. Esta condição depende da razão m/z do íon, desta maneira, o filtro é feito variando-se a condição de voltagem, o que permite realizar uma varredura de massas, conhecida como SCAN. (SILVERSTEIN e colaboradores, 1994).

2.9- QUANTIFICAÇÃO DOS RESÍDUOS

A precisão da quantificação depende do uso de padrões de referência de alta pureza e de se trabalhar na faixa de linearidade entre a quantidade do analito e o nível analítico do detector. Quando a resposta não é linear, ajustes devem ser feitos.

A quantificação é baseada na proporção simples da quantidade de analito do padrão com a da amostra. Em análise cromatográfica, Pode-se utilizar como base para quantificação a altura do pico, quando o mesmo é estreito e área para os picos mais largos, corrigindo-se os desvios da linha de base. O cálculo pode ser manual ou eletrônico. Integradores fornecem dados de retenção, área, altura e atualmente os microcomputadores, além destes dados, possuem recursos para minimizar erros no cálculo, bem como efetuar outros, além de elaboração destes dados com a utilização de programas específicos.

Na maioria das análises trabalha-se com padronização externa. Pode-se trabalhar com padrão interno em casos específicos.

As curvas de calibração são realizadas com padrões em concentrações que respondam na faixa de linearidade do detector.

Durante os últimos anos, a introdução de novos agrotóxicos, a necessidade de maiores controles e o incremento nas exigências relativas à duração, ao custo das análises e à confiabilidade dos resultados analíticos tornaram imprescindível contínua revisão e melhoria nos métodos analíticos disponíveis. Preferencialmente, os métodos multiresíduos deveriam permitir rápidas identificações e quantificações de grande número de agrotóxicos em grande variedade de amostras, com a sensibilidade exigida pelas legislações vigentes. No entanto, embora os métodos multiresíduos disponíveis permitam analisar um número

elevado de agrotóxicos, em determinados tipos de matrizes as condições analíticas podem não ser adequadas, e a sensibilidade dos métodos propostos tende a ser baixa. Muitos agrotóxicos e seus produtos de degradação, em especial os de elevada polaridade, não podem ser determinados pelos métodos por CGAR anteriormente citados. Atualmente, os principais métodos multiresíduos podem detectar cerca de 200 dos aproximadamente 750 agrotóxicos ou metabólitos que devem ser analisados pelas agências de controle. Por outro lado, os métodos multiresíduos devem ser suficientemente sensíveis (com limites de quantificação inferiores aos LMR), precisos (com desvios padrões inferiores a 20%) e exatos (com recuperações superiores a 70%), para que possam ser utilizados com propósitos de regulamentação e controle, e aceitos pela comunidade científica (WALSH e colaboradores, 1993). Além disso, os métodos devem ser econômicos e facilmente aplicados pelos laboratórios de análise de resíduos.

Vários autores já cogitaram a necessidade de se efetuar certas modificações nas diferentes etapas experimentais dos métodos analíticos atuais, de modo a simplificá-los e adaptá-los às necessidades dos organismos de controle. Além disso, em futuro próximo, a maioria dos métodos de análise deverão dispor de procedimentos que respeitem mais a saúde humana e o ambiente.

Concretamente, a investigação e o desenvolvimento de novos métodos, sejam eles multiresíduos ou não, multimatrizes ou não, pretendem alcançar os seguintes objetivos gerais: Simplificar e automatizar os procedimentos de tratamento das amostras, reduzir o consumo de solventes orgânicos e eliminar aqueles que são considerados tóxicos ou prejudiciais.

A microextração por fase sólida (MEFS) é uma opção relativamente recente, tendo como grande vantagem a não utilização de solventes e alto poder de concentração, além de aplicável a muitos tipos de analitos e facilitar o transporte do material extraído para o cromatógrafo gasoso (PAWLISZYN, 1997).

2.10- ALGUMAS PUBLICAÇÕES SOBRE DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS

São numerosos os trabalhos existentes na literatura sobre a determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos.

RIPLEY e colaboradores (2000), verificaram a existência de resíduos de agrotóxicos detectáveis em frutas (91,4% das amostras) e em vegetais (56,6%). As análises efetuadas por este grupo, revelaram que 3,2% dos vegetais e 3,1% das frutas apresentaram teores de agrotóxicos que excedem os LMRs recomendados. Em algumas frutas detectou-se resíduos pertencentes a cinco grupos de agrotóxicos diferentes tais como captan, ditiocarbamato, endosulfan, paration, iprodione, azinfos, etc.

BARCELÓ e colaboradores (1993) utilizaram para extração de agrotóxicos organofosforados uma fase sólida através de cartuchos C18, onde os ensaios de recuperação de padrão demonstraram que o uso destes cartuchos permite atingir valores dentro da faixa de 70-130%, recomendada pela EPA para este nível de detecção. Eles utilizaram, para identificação, diferentes técnicas cromatográficas aplicadas à identificação de agrotóxicos organofosforados, onde um CGAR-DNP com três diferentes tipos de coluna capilares foi utilizado. A espectrometria de massas foi utilizada como técnica confirmativa.

OKUMURA & NISHIKAWA (1995), determinaram 14 agrotóxicos organofosforados em amostras ambientais utilizando um CGAR-DSM como técnica única de identificação e para quantificar, foi utilizado monitoramento seletivo de íons (MIS). Para extração foi realizada uma partição líquido-líquido com diclorometano. Os resultados apresentaram um limite de detecção bastante baixo, na ordem de $0,01\mu\text{g/mL}$, confirmando a sensibilidade do monitoramento seletivo de íons para quantificação.

LACASSIE e colaboradores (1998), utilizaram um método de multiresíduo para análise de várias classes de agrotóxicos usados no tratamento de maçãs e pêras. Para extração foi utilizada uma mistura de solventes (acetona-diclorometano-hexano, 50:20:30, v/v/v) e para determinação utilizou-se CGAR-DSM. A recuperação foi entre 55 e 98% e os limites de detecção e quantificação variaram respectivamente, de 0,01 para 0,05 mg/kg e de 0,02 para 0,1 mg/kg.

SILVA e colaboradores (1999), determinaram 11 agrotóxicos organofosforados em água usando MEFS e CGAR-DSM. A fibra utilizada foi de $100\mu\text{m}$ de polidimetilsiloxano. O método foi avaliado com relação ao tempo de exposição, limite de detecção, linearidade e precisão. O limite de detecção dependeu de cada agrotóxico e variou em torno de $\mu\text{g/mL}$. A linearidade foi satisfatória com coeficientes de correlação de 0,993. A precisão do método foi determinada por extração de padrão aquoso de $4,0\mu\text{g/mL}$ com coeficiente de variação entre 5,7 a 17,2%.

VITALI e colaboradores (1999), determinaram em vinho, 14 agrotóxicos mais frequentemente usados em uvas, aplicando MEFS combinada com CGAR-DSM. Sobre agitação magnética a fibra de $100\mu\text{m}$ de polidimetilsiloxano foi imersa diretamente na

amostra. O tempo de absorção foi de 30 min e o de dessorção no injetor foi de 3 min a 250°C. Os resultados mostraram quantidade mínima detectável variando de 0,10 μ g/mL a 6,0 μ g/mL e precisão de 9,7% a 18%.

3. BANANA - CLASSIFICAÇÃO, DOENÇAS E PRAGAS

3.1- BANANA - *Musa* spp, Simmonds

A bananicultura tem evoluído consideravelmente nas últimas três décadas, por ser um dos cultivos perenes de mais rápido retorno do capital investido. Apresenta um fluxo contínuo de produção a partir do primeiro ano, o que a torna muito atraente para os agricultores. É uma das frutas mais consumidas no mundo, sendo o Brasil o quarto maior produtor, o maior consumidor e um dos maiores exportadores (ALVES 1997). Contudo, os sistemas de cultivo utilizados precisam buscar, sempre, os avanços tecnológicos disponíveis, para que se obtenham boas produtividades e um produto da melhor qualidade possível, atingindo-se adequadamente a etapa final da cadeia produtiva da banana, ou seja o consumidor. O que torna indispensável estudos sobre os níveis de resíduos de agrotóxicos na banana para exportação.

3.1.1- CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA E PRINCIPAIS CULTIVARES

As bananeiras produtoras de frutos comestíveis são plantas da classe das Monocotiledôneas, ordem Scitaminales, família Musaceae, onde se encontram as

subfamílias Heliconioideae, Strelitzioideae e Musoideae. Esta última inclui, além do gênero Ensete, o gênero *Musa*, constituído por quatro séries ou seções: Australimusa, Callimusa, Rhodochlamys e (Eu-) *Musa* (SIMMONDS, 1973).

A maioria das cultivares de banana originou-se do Continente Asiático, embora existam centros secundários de origem na África Oriental e nas ilhas do Pacífico, além de um importante centro de diversidade na África Ocidental (ALVES, 1997).

A bananeira é uma planta herbácea, caracterizada pela exuberância de suas formas e dimensões das folhas. Possui tronco curto e subterrâneo, denominado de rizoma, que constitui um órgão de reserva, onde se inserem as raízes adventícias e fibrosas. O pseudocaule, resultante da união das bainhas foliares, termina com uma copa de folhas longas e largas, com nervura central desenvolvida. Do centro da copa emerge a inflorescência com brácteas ovaladas de coloração normalmente roxo - avermelhada, em cujas axilas nascem as flores. Cada grupo de flores reunidas forma uma penca (mão) com um número variável de frutos (dedos), originados por partenocarpia. Os frutos inicialmente são verdes, tornando-se amarelos com a maturação, posteriormente começam a escurecer e nesse estádio diz-se que a planta morreu. Entretanto, durante o desenvolvimento há formação de rebentos (filhos), que surgem na base da planta, possibilitando a constante renovação e a vida permanente dos bananais (ALVES, 1997) (figura 4).

O cacho da bananeira é formado por pedúnculo (engaço), ráquis, pencas (mão), dedos (frutos) e botão floral (coração). O engaço ou pedúnculo da inflorescência é o alongamento do cilindro central do rizoma, iniciando-se no ponto de fixação da última folha e terminando na inserção da primeira penca. A continuação do engaço é denominada ráquis, onde são inseridas as flores. A ráquis inicia no ponto de inserção da primeira

penca e termina no coração (conjunto de pencas de flores masculinas ainda em desenvolvimento e com as respectivas bráceas) (MEDINA, 1990). A penca ou mão é o conjunto de frutos ou dedos reunidos pelos seus pedúnculos, em uma estrutura chamada de almofada, em duas fileiras paralelas (MOREIRA, 1987). Os frutos partenocápicos são bagas alongadas e triloculares. O pericarpo corresponde à casca e o mesocarpo é a polpa comestível.

RAM e colaboradores (1962) definiram três estádios de crescimento dos frutos: 1) até 4 semanas após a emergência, com a paralisação da divisão celular; 2) entre 4 a 12 semanas, um estádio de intenso crescimento celular; 3) 12 a 15 semanas após a emergência, a fase de maturação. O tempo de maturação dos frutos depende da temperatura, quando a umidade não é limitante (STOVER & SIMMONDS, 1987). Existe uma grande variação no tamanho, número e formato dos frutos que dependem da cultivar e das condições de vegetação da planta. Os frutos podem ser retos a curvos, atingirem comprimento de até 50cm e diâmetro até próximo a 10cm. A casca apresenta coloração que vai do creme-palha a quase preta, passando por verde-clara, amarela e avermelhada. A coloração da polpa pode variar entre branca, creme, amarelada e rósea (MOREIRA, 1987).

A bananeira é uma planta tipicamente tropical, exigindo calor constante e elevada umidade para seu bom desenvolvimento. Essas condições favoráveis são registradas na faixa compreendida entre os paralelos de 30° de Latitude Norte e Sul, nas regiões onde as temperaturas se situam entre os limites de 10°C e 40°C.

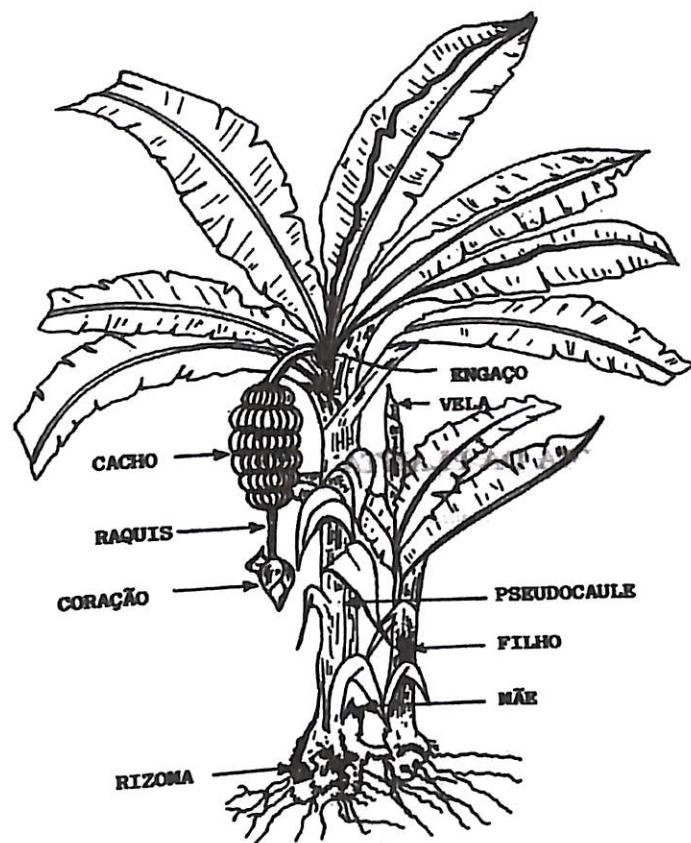


Figura 4: Ilustração da bananeira adulta.

Embora exista um número expressivo de variedades de banana no Brasil, quando se consideram aspectos como preferência dos consumidores, produtividade, tolerância a pragas e doenças, resistência à seca, porte e resistência ao frio, restam poucas cultivares com potencial agronômico para serem usadas comercialmente. As cultivares mais difundidas no Brasil são: Prata, Pacovan, Prata Anã, Maçã, Mysore, Terra e D'Angola, Nanica, Nanicão e Grande Naine. As cultivares Prata e Pacovan são responsáveis por aproximadamente 60% da área cultivada com banana no Brasil (ALVES, 1997).

3.1.2- SUBGRUPO PRATA

As bananas do subgrupo Prata foram introduzidas no Brasil pelos portugueses, consequentemente, uma grande tradição faz com que os brasileiros, especialmente os do Norte e Nordeste, manifestem uma clara e constante preferência pelo sabor da "Prata". As principais cultivares deste subgrupo são: Prata, Branca, Prata do Nordeste, Pacovan e Prata Ponta Aparada.

As cultivares do subgrupo Prata apresentam porte alto com cacho de cor verde-amarelo claro e brilhante, com frutos pequenos, de secção transversal pentagonal, casca de espessura média e cor amarela quando maduros, com polpa creme e róseo-pálida. (ALVES, 1984).

3.1.3- DOENÇAS E PRAGAS DA BANANEIRA

A bananeira, além de ser uma cultura bastante sensível aos efeitos de fatores edafoclimáticos como geadas, frio, vento e umidade do solo e do ar, é também atacada por um grande número de doenças e pragas. De maneira geral, o nível tecnológico da bananicultura brasileira é baixo, contribuindo ainda mais para incidência elevada de problemas fitossanitários. Existem doenças de ocorrência generalizada em todas as regiões do mundo, onde se cultiva a bananeira, como por exemplo o mal - do - panamá e a sigatoka - amarela. Outras, também muito destrutivas, como a sigatoka - negra, o moko, a podridão - mole - do - rizoma e viroses, são mais restritas à algumas regiões, provavelmente por causa das limitações edafoclimáticas, ou mesmo por não terem sido disseminadas para outras

regiões produtoras. Para o Brasil, o mal - do - panamá e a sigatoka - amarela constituem, até o momento, as doenças mais importantes da bananeira por causarem perdas elevadas na produção ou até mesmo a destruição de plantações e o impedimento de plantio de determinadas cultivares (PEREIRA et al, 1999).

3.1.3.1- SIGATOKA-AMARELA

Como exemplo das principais doenças que afetam a bananeira, a sigatoka-amarela, causada pelo fungo *Mycospharella musicola* Leach é a mais grave doença desta musácea no País. Em estágios avançados da doença, principalmente em casos de ataques severos, as lesões coalescem e, consequentemente, uma grande área foliar é comprometida, resultando na morte prematura das folhas, em decorrência disso, observa-se uma redução no crescimento e produção das plantas, além da maturação precoce dos frutos, prejudicando a qualidade deles. (CORDEIRO, 1997).

Para o controle da sigatoka-amarela, o número de pulverizações com fungicidas nas áreas comerciais de plantio no Brasil, vem aumentando nos últimos anos e sem critérios. Tratamentos realizados de forma desorganizada, com utilização inadequada de equipamentos e produtos disponíveis, têm favorecido a manutenção de um potencial de inóculo continuamente elevado. Essa situação tem-se agravado em função da expansão de grandes áreas de plantio de forma contínua em algumas regiões, sem considerar a necessidade de controle de doenças. Em consequência, a sigatoka vem se manifestando a cada ano, de forma mais severa e com prejuízos elevados (ALVES, 1997).

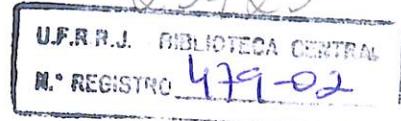
Diante dessas dificuldades, faz-se necessário, além da organização dos produtores e da utilização de maneira correta de equipamentos e produtos, um estudo dos elementos que atuam no desenvolvimento da doença em cada região. Este estudo servirá de base para a adoção de sistemas de previsão para os bananicultores, com a finalidade de alertá-los para o momento mais adequado de dar início ao controle da doença, observando sua freqüência e período. Como vantagens desses sistemas, podem-se citar a redução sensível dos custos com a aplicação de fungicidas e, por consequência, do impacto ambiental; o aumento na eficiência dos tratamentos com redução das perdas provocadas pela maturação precoce de bananas.

O monitoramento permite determinar o momento certo de iniciar as aplicações dos fungicidas. Entretanto, o conhecimento da epidemiologia da doença é de fundamental importância, para saber em qual época ou estação do ano ela é mais severa. Para as condições do Brasil, principalmente nas Regiões Sudeste e Sul, a incidência maior da sigatoka-amarela ocorre nos meses de novembro a maio (período quente e chuvoso).

Dentre os métodos mais simples que foram desenvolvidos, o monitoramento pode ser considerado o mais prático e de fácil uso pelos produtores.

Os produtos utilizados no controle químico são o óleo mineral, os fungicidas de contato e os sistêmicos.

Quando o óleo mineral é aplicado sobre a folha, ele penetra atingindo ambas as faces da mesma, exercendo ação fungistática capaz de paralisar o desenvolvimento do patógeno no interior da folha e aumentar o período de incubação e o período de desenvolvimento da lesão. O óleo mineral passou a ser utilizado como um agente veiculante de fungicidas sistêmicos ou em mistura de óleo, fungicida e água. Neste caso,



sua dosagem baixou para 5 litros, sendo o volume da calda de 22 a 23 litros/ha completado com água e fungicida, necessitando, porém, de um emulsificante (CALDERÓN & VELIZ, 1987). Com o uso dessa mistura, óleo mineral mais fungicida, principalmente os sistêmicos, foi possível aumentar os intervalos entre pulverizações para quatro a seis semanas, diminuindo consideravelmente o número de aplicações, sem comprometer a eficiência do controle, reduzindo-se assim o seu custo.

Os fungicidas de contato são produtos que não penetram na folha, ou seja, sua ação protetora depende de uma ótima distribuição sobre a mesma, para formar uma capa protetora que evita a penetração do fungo. Não atuam, portanto, de forma curativa, necessitando de alta frequência de aplicação para garantir a proteção das folhas que se formam a cada semana. São conhecidos como produtos de ação multi-sítio, razão pela qual a probabilidade de ocorrer resistência do patógeno, a estes, é bastante baixa. Fazem parte deste grupo os ditiocarbamatos (Maneb, Zineb e Mancozeb), utilizados em doses que variam de 750g a 1500g de ingrediente ativo por hectare, e o clorotalomil, em doses que variam de 875 a 1625g de ingrediente ativo por hectare (CALDERÓN & VELIZ, 1987).

Os fungicidas sistêmicos são capazes de penetrar no tecido das folhas e translocar na lâmina foliar ou em direção a outras partes da planta. A ação dos mesmos é muito específica, limitando-se à inibição da síntese de alguma substância essencial ao metabolismo do patógeno, o que aumenta as possibilidades de aparecimento de resistência. Os principais produtos sistêmicos estão incluídos em dois grupos químicos: os benzimidazóis e os triazóis. Os benzimidazóis atuam impedindo a divisão celular na fase de mitose (BUREAU e colaboradores, 1992). São considerados de baixa translocação lateral e de grande risco de desenvolvimento de resistência por parte do patógeno (STOVER &

SIMMONDS, 1987). Desse grupo, o mais utilizado é o benomil e, em menor escala, o metiltiofanato e o tiobendazol.

Os triazóis são produtos inibidores da biossíntese do ergosterol, mediante a inibição de um processo de dimetilação (BUREAU e colaboradores, 1992). O fungicida mais importante é o propiconazol, normalmente aplicado em mistura com óleo mineral.

Ainda que se disponha de um fungicida excelente, não é recomendável o uso contínuo deste em pulverizações consecutivas. Isto poderá induzir o patógeno a desenvolver resistência ao produto. Portanto, a alternância de fungicidas nas pulverizações, principalmente aqueles do grupo dos benzimidazóis, é muito importante para evitar tal problema (ALVES, 1997).

3.1.3.2- MAL-DO-PANAMÁ OU MURCHA-DE-FUSARIUM

Sua primeira constatação no Brasil, segundo KIMATI & GALLI (1980), data de 1930, no município de Piracicaba, São Paulo, na cultivar Maçã. Em apenas 3-4 anos (DESLANDES, 1938), foram dizimados cerca de um milhão de pés de banana naquele município paulista. A doença ocorre em caráter endêmico por todo o território nacional e, como nos demais países produtores, o cultivo de variedades altamente suscetíveis e de grande aceitação popular, como a banana Maçã, tem cada vez mais cedido espaço às variedades do subgrupo Cavendish, que são resistentes.

O mal-do-panamá é causado pelo fungo *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (E.F. Smith) Sn & Hansen, pertencente à classe dos Deuteromycetos ou fungos imperfeitos, não se conhecendo seu estádio sexuado. É um fungo de solo, com grande capacidade de

sobrevivência na ausência do hospedeiro. A hipótese mais provável para esta sobrevivência é a formação de estruturas de resistência denominadas de clamidosporos. Porém, baseado no fato de existirem no solo linhares não patogênicas de *F. oxysporum*, morfologicamente indistinguíveis de *F. oxysporum* f.sp. *cubense*, é possível que a sobrevivência ocorra em estado saprofítico. Esta hipótese pode ser reforçada pelo fato de linhares não patogênicas serem capazes de formar heterocárions com linhares patogênicas.

Os sintomas exibidos pelas plantas atacadas por fusariose podem ser observados externa e internamente (cortes do pseudocaule e do rizoma). Nas folhas, geralmente, se observa um amarelecimento progressivo das mais velhas para as mais novas, começando pelos bordos do limbo em direção à nervura principal. Progressivamente ao amarelecimento, ocorre murcha com posterior quebra do pecíolo junto ao pseudocaule, que dá à planta o aspecto típico de um guarda-chuva fechado (CORDEIRO e colaboradores, 1997).

3.1.3.3 - NEMATÓIDES E SEU CONTROLE

São várias as espécies de fitonematóides associadas à bananeira. Sendo que a *Radopholus similis* destaca-se quanto aos danos causados e pela sua ampla distribuição nas principais regiões produtoras de banana do mundo (VILARDEBO, 1981).

A espécie *R. similis* recebe a denominação de "nematóide cavernícola", devido ao sintoma por ela causado no córtex das raízes e nos rizomas de bananeiras, em função do endoparasitismo migratório exercido por este nematóide.

R. similis apresenta-se vermiforme, tanto nos estádios larvais como no adulto. É marcante o dimorfismo sexual nesta espécie, e o macho apresenta o aparelho digestivo degenerado e é tido como não parasita.

Os danos causados nas raízes e no rizoma são atribuídos às larvas de fêmeas que se alimentam do citoplasma e, às vezes, do núcleo das células corticais. Estas, por sua vez, tornam-se necrosadas por terem suas paredes danificadas e o seu conteúdo exaurido, agravado ainda pelo movimento contínuo do nematóide no tecido, formando assim extensas áreas necróticas de coloração avermelhada (BLAKE, 1972).

O tratamento químico do solo é o método utilizado com maior frequência no controle de nematóide em banana. Os primeiros nematicidas foram os hidrocarbonetos halogenados, evoluindo para os organofosforados e os carbamatos, em formulações granuladas e líquidos. A eficiência dos nematicidas está em função da dosagem, do tipo de solo, dos métodos de aplicação, e da época e frequência do tratamento.

Na determinação da dose adequada do produto, deve ser levado em conta não só o incremento econômico, mas também os aspectos de natureza ecológica e de saúde pública, como a acumulação de resíduos tóxicos nos frutos (ARREAGA B. e colaboradores, 1992).

3.1.3.4- BROCA DO RIZOMA (*Cosmopolites sordidus*)

Das pragas que freqüentemente exigem medidas efetivas para o seu controle, a broca-do-rizoma ou moleque-da-bananeira (*Cosmopolites sordidus*) é a mais severa, sendo a principal praga da bananicultura e é encontrado em todos os locais, onde se cultiva

banana, qualquer que seja a cultivar utilizada. Ataca o rizoma que é um caule subterrâneo, onde são armazenadas reservas para o sustento de todos os outros órgãos da planta (ALVES, 1997).

O adulto da broca, um besouro preto (Figura 5), não deve ser confundido com a falsa-broca (*Metamasius* spp.), que possui manchas amarelo-alaranjadas no dorso e é mais ágil que a broca. Os adultos do moleque geralmente abrigam-se em locais úmidos e sombreados entre as bainhas e, principalmente, nos restos culturais. As fêmeas colocam ovos isoladamente na parte externa do rizoma, próximo ao solo. Desses ovos ecodem as larvas responsáveis pelo dano causado no rizoma. Elas fazem galerias, à medida que vão-se alimentando. Essas larvas não têm pernas, apresentam uma coloração esbranquiçada com a cabeça marrom e ligeiramente mais estreita que o resto do corpo.

O ataque da broca deixa as plantas raquíticas, mais sensíveis ao tombamento, com folhas amareladas, cachos com pouco peso e menos frutos, além de torná-las mais susceptíveis aos fungos.

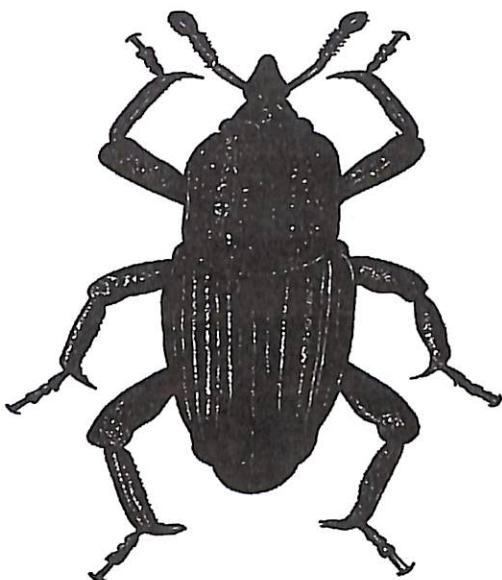


Figura 5: Ilustração da broca do rizoma (*Cosmopolites sordidus*) (Germar, 1824) (ALVES, 1997).

O controle da broca-do-rizoma deve ser iniciado na implantação do bananal, desde a aquisição das mudas, já que estas são o meio de disseminação mais comum dessa praga. O ideal seria adquiri-las em viveiros registrados, ou produzi-las através de propagação in vitro em laboratório, em cultura de meristema. Deve ser feita a inspeção das mudas antes do plantio, retirando-se os restos de terra, fazendo-se o desbaste das raízes e eliminando-se as galerias formadas nas partes do rizoma com canivete ou facão, longe da área onde será feito o plantio. Se não houver segurança da sanidade das mudas, deve-se fazer o tratamento químico. Este consiste em submergir as mudas durante 15 min em uma calda inseticida de Furadan 350 SC, colocando-se 400mL para cada 100 litros de água. É

extremamente importante usar na operação equipamento de proteção individual (EPI) completo, inclusive as luvas.

O tratamento no plantio deve ser feito através da desinfestação das covas com Furadan 350 SC (400mL para 100 litros de água), ou com outro produto registrado para tal fim, usando-se também o EPI.

No bananal já formado, é importante fazer uma limpeza, através da destruição dos restos de pseudocaules, eliminação das folhas velhas, desbastes das plantas e controle das plantas daninhas. Os pseudocaules que servem de abrigo para o inseto adulto, devem ser bem picados para uma rápida decomposição.

Antes da realização do controle químico, propriamente dito, deve ser feito o monitoramento da praga que é o acompanhamento da evolução da população do inseto, através de iscas confeccionadas com a própria bananeira. Existem dois tipos de iscas mais comuns, a telha e a queijo (figuras 6 e 7), que devem ser feitas com o terço inferior do pseudocaule das plantas que já produziram cachos. A isca tipo telha é feita, cortando-se um pedaço do pseudocaule de 40 a 50cm de comprimento e dividindo-o ao meio no sentido de maior comprimento. A parte cortada dessa isca é distribuída no bananal e colocada virada para o solo, próximo à base da planta. A isca tipo queijo é feita aproveitando-se o pseudocaule recém - cortado da bananeira por ocasião da colheita. Cortando-se um pedaço de 15 a 25cm de comprimento (queijo), que é colocado sobre a parte restante do pseudocaule, aparada bem próximo ao solo. É importante que neste tipo de isca haja um espaço entre as duas superfícies de contato, para que a praga possa ficar abrigada. A exsudação de cica na superfície protegida pela isca tipo queijo tem grande atração sobre os adultos da broca. Recomenda-se utilizar de 60 a 80 iscas/ha, sendo o maior número para

áreas mais propícias ao ataque do inseto. Após esse processo são feitas duas contagens para verificar o nível de controle, a primeira, 15 dias após a colocação das iscas e, a segunda, 30 dias. Se for constatada uma média de cinco adultos vivos por isca em qualquer uma dessas contagens, deve ser iniciado o controle da praga. Recomenda-se usar metade de cada tipo de isca, tanto para o monitoramento como para o controle. A isca tipo queijo atrai mais insetos, no entanto, é pouco mais difícil para ser confeccionada. É importante mencionar que as iscas também atraem a falsa - broca, *Metamasius* spp. A falsa - broca não causa danos à bananeira, apenas alimenta-se de restos culturais. Ela desempenha papel importante para a cultura, pois é morta pelo fungo utilizado no controle biológico da broca e serve, portanto, de agente disseminador deste fungo no bananal (REIS e colaboradores, 1986).

Constatado o nível de controle, é necessário utilizar medidas como a catação manual dos insetos que estiverem sob as iscas, matando-os mecanicamente, ou a aplicação de controle biológico e/ ou químico.

O controle químico, com utilização da iscas, é feito aplicando-se inseticidas oito a dez dias depois do preparo da isca tipo queijo, entre as duas peças, ou no solo sob a do tipo telha, evitando-se perdas por volatilização. Para maior eficiência, as iscas tipo queijo devem ser preparadas com o que sobrou da planta, logo após a colheita. Elas devem ser renovadas mensalmente, para maior atratividade de brocas.

Na Tabela 2 são apresentados alguns exemplos de agrotóxicos utilizados na plantação de banana.



Figura 6: Ilustração da isca Tipo Queijo.



Figura 7: Ilustração da isca tipo Telha

Tabela 2: Exemplos de agrotóxicos utilizados na plantação de banana (AGROFIT 1997)

| DOENÇAS E PRAGAS | LMR mg/kg | PRODUTO COMERCIAL | INGREDIENTE ATIVO | CLASSE TOXICOLÓGICA | DOSE | PERÍODO DE CARÊNCIA (DIAS) |
|-----------------------|--------------|----------------------|----------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------------------------------------|
| mal de sigatoka | 1,0 | benlate 500 | Benomil | III | 250 a 300g/há | trat. Pós colheita |
| mal de sigatoka | 0,2 | bravonil 500 sds | Clorotalonil | I | 1,0-2,0L/há | 7 |
| mal de sigatoka | 0,2 | cercobin | Tiofanato | IV | 70g/100L água | 14 |
| | | | Metílico | | | |
| mal de sigatoka | 2,0 | fungineb | Mancozeb | III | 250g/100L água | 21 |
| Traça da bananeira | 5 | lepidin | Carbaril | III | 360-500L/1000 cachos | 14 |
| mal de sigatoka | 5 | tecto | Tiabendazole | IV | 300g/ha | Não determinado devido modalidade de emprego |
| podridão do engaço | | | | | 40g/100L água | |
| Nematóides | 0,2 | temik | Aldicarb | I | 15-20g/cova | 21 |
| mal de sigatoka | 0,1 | tilt | Propiconazole | II | 0,4L/ha | 1 |
| Broca do rizoma | 0,1 | furanan | Carbofuran | I | 3 a 5 g/isca queijo | 90 |
| mal de sigatoka | 0,05 | folicur | tebuconazole | III | 500mL/ha | 5 |
| mal de sigatoka | 0,05 | counter | tebufos | I | 250g/100L água | 3 |

4. OBJETIVO

Este trabalho tem como objetivo avaliar os níveis de resíduos de Carbofuran e Tebuconazole em amostras de bananas *Musa* spp, proveniente de uma estação experimental em Minas Gerais (EPAMIG), utilizando a técnica de cromatografia gasosa de alta resolução com detetor específico de nitrogênio e fosforo (DNP).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 - TRATAMENTO QUÍMICO DA BANANEIRA

A plantação de banana prata (*Musa* spp, Simmonds) localizada em Nova Porteirinha - Minas Gerais (estação experimental da EPAMIG), de onde foram coletadas as amostras estudadas neste trabalho, foi tratada com sete agrotóxicos dentro das Boas Práticas Agropecuárias (BPA), cujos os principais ingredientes ativos são: Terbufos, Aldicarb, 1 - Tiofanato metílico e Benomil.

Carbofuran, Propiconazole, Tebuconazole, A praga conhecida por broca do rizoma (*Cosmopolites sordidus*) é um grave problema nos bananais, já que as galerias feitas por suas larvas são a porta de entrada para o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp *cubense*, agente causal da doença conhecida como Mal do

Panamá (fusariose). O combate à esta praga é habitualmente feito com a aplicação de carbamato – carbofuran, comercialmente conhecido como Furadan.

Outros problemas que causam sérios prejuízos aos produtores desta e de outras regiões, são os nematóides (*Radopholus similis*) e a Sigatoka Amarela (doença causada pelo fungo *Mycosphaerella musicola*). Para o controle destes agentes no campo são realizadas aplicações de fungicidas sistêmicos, onde recomenda-se intercalar componentes diferentes para evitar resistência dos mesmos.

A estação experimental da EPAMIG, com a finalidade de realizar a monitoração dos resíduos de Carbofuran (carbamato) realizou tratamentos diferenciados com este agrotóxico na banana destinada ao comércio exterior. Para monitoração dos demais produtos utilizados intercalou-se benzimidazóis e triazóis, avaliando-se as possíveis contaminações presentes na polpa e casca. O tratamento foi realizado através de pulverizações em toda área plantada conforme recomendações do fabricante. Amostras de banana que não passaram por nenhum tipo de tratamento foram também avaliadas para fins de comparação como teste em branco.

Para realização dos ensaios com Furadan (nome comercial do carbofuran), nove tratamentos foram utilizados (Tabela 3), sendo os mesmos aplicados de diferentes formas e épocas anteriores a colheita. O período entre a inflorescência e a colheita foi fixado em 120 dias, independente dos cachos terem ou não atingido o ponto de colheita. A fixação deste tempo foi em função do início do florescimento, definindo assim a data de colheita e portanto do tratamento. Cada tratamento foi realizado em triplicata com duas plantas por parcela, totalizando 54 amostras. Nos seis primeiros tratamentos, foram aplicados 80g por planta diretamente no solo (segundo recomendações do fabricante) e nos três últimos as

aplicações ocorreram na muda debastada ("filho"), através de furos feitos com "lurdinha", seguindo sugestão do pesquisador Dr. Raul Moreira, onde o mesmo cita que quando o produto é aplicado no interior do "filho" debastado, é succionado pela "mãe", não causando perdas e nem poluição, o que torna o tratamento mais eficiente e econômico. Segundo ele, por não haver perdas do produto, torna-se possível reduzir a dose do que seria colocado no solo. Por este motivo sua sugestão foi de 12g por planta, ou seja 1/5 da quantidade utilizada no solo sobre recomendações do fabricante (MOREIRA, 1999).

No tratamento com os demais fungicidas: Tilt (Propiconazole), Folicur (Tebuconazole), Benlate (Benomil), Cercobin (Tiofanato metílico), Counter (Terbufos) e Temik (Aldicarb), devido a pulverização ser realizada em toda a extensão da área plantada com intervalos de 28 a 35 dias, não foi possível fixar o intervalo entre a pulverização e a colheita, devido a desuniformidade da inflorescência no campo.

A identificação de cada amostragem foi de acordo com as informações descritas nos formulários de coleta, tais como: tipo de tratamento, origem, data e local da colheita.

Tabela: 3 - Formas de tratamento da plantação com Furadan

| TRATAMENTO | LOCAL DE APLICAÇÃO | APLICAÇÃO |
|------------|--------------------|---------------------------------|
| 1 | Solo | Durante o plantio |
| 2 | Solo | faltando 1 dia para colheita |
| 3 | Solo | faltando 30 dias para colheita |
| 4 | Solo | faltando 60 dias para colheita |
| 5 | Solo | faltando 90 dias para colheita |
| 6 | Solo | faltando 115 dias para colheita |
| 7 | Muda debastada | faltando 60 dias para colheita |
| 8 | Muda debastada | faltando 90 dias para colheita |
| 9 | Muda debastada | faltando 115 dias para colheita |

5.2 - COLETA DAS AMOSTRAS

As amostras de banana foram coletadas através de um despencador sendo retiradas a segunda e a penúltima penca de cada cacho ainda na planta, não havendo contato dos frutos com o solo. Imediatamente após a coleta as amostras foram mantidas ao ar livre, protegidas do sol e sobre piso de cerâmica.

Da área de coleta até o ponto de embalagem (8km), as amostras foram transportadas em carroceria de caminhonetes, onde foram embaladas em sacos plásticos e transportadas até a Embrapa Agroindústria de Alimentos em caminhões refrigerados (10-

12°C). Ao chegar no laboratório foram armazenadas em câmaras refrigeradas com temperatura de 10°C.

5.3 - PREPARO DAS AMOSTRAS

As 54 amostras de bananas foram enviadas ao laboratório decorrentes dos nove tratamentos com Furadan (com três repetições e duas plantas por parcela) e do tratamento com Folicur através de pulverização em toda área plantada, realizados na EPAMIG.

Durante o preparo das amostras, para uma maior representatividade das mesmas, foram retirados cinco dedos de cada penca de forma salteada, totalizando dez dedos por amostra. O peso em média dos dez dedos foi de 1100g. A casca foi separada da polpa para análise dos resíduos nas duas partes da fruta, totalizando assim 108 amostras que foram trituradas em multiprocessador e armazenadas sob refrigeração. Para o presente trabalho, 79 dessas amostras (44 cascas e 35 polpas) foram escolhidas aleatoriamente, preocupando-se apenas na obtenção de três amostras referentes a cada tratamento.

5.4 - MATERIAL

5.4.1 - REAGENTES

As Tabelas 4 e 5 apresentam os padrões de agrotóxicos que foram utilizados neste trabalho e suas descrições.

Tabela 4: Padrões de agrotóxicos

| AGROTÓXICO | MARCA | PUREZA % |
|--------------|-------|----------|
| Carbofuran | TNS | 98,8 |
| Dieldrin | TNS | 98 |
| Malation | TNS | 91 |
| Metoxicloro | TNS | 95 |
| Tebuconazole | Bayer | 96,6 |

Tabela 5 : Descrição dos agrotóxicos.

| INGREDIENTE ATIVO | NOME COMERCIAL | NOME QUÍMICO | FÓRMULA BRUTA | CLASSE | CLASSE TOXICOLÓ GICA |
|----------------------|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|----------------------------|
| Carbofuran | Furadan | 2,3 - dihidro-2,2- dimetil-7-benzofuranil- n-metilcarbamato. | C ₁₂ H ₁₅ NO ₃ | Inseticida nematicida sistêmico do grupo dos carbamatos | 1 |
| Tebuconazole | Folicur | alfa-terço-butil-alfa-(p- clorofenil)-1H-1,2,4- triazole-1-etanol | C ₁₆ H ₂₂ N ₃ O | Fungicida sistêmico do grupo dos triazóis | III |
| Dieldrin | - | 1,2,3,4,10,10- hexacloro-6,7-epoxi- 1,4,4 a,5,8,8 a- hexadieno-1,4,5,6 dimetanonaftaleno | C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O | Inseticida do grupo dos organoclorados | - |
| Metoxicloro | - | 1,1,1-Tricloro-2,2-bis (4-metoxi-fenil)etano | C ₁₆ H ₁₅ C ₃ O ₂ | Inseticida do grupo dos organoclorados | - |
| Malation | Carbofos | O,O - dimetil- ditiofosfato de diethylmercaptosuccinato | C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ | Inseticida e acaricida fitossanitário organofosforado | III |

Tabela 6: Solventes e fases preparativas para extração

| SOLVENTE | MARCA | PUREZA |
|--------------------------|--------|---------------------|
| Acetonitrila | TEDIA | Grau pesticida |
| Éter de petróleo | TEDIA | Grau pesticida |
| Éter etílico | TEDIA | Grau pesticida |
| Acetato de etila | TEDIA | Grau pesticida |
| Florisil 30-100 mesh | MERCK | Grau pesticida |
| Cloreto de sódio | REAGEN | Para análise (P.A.) |
| Sulfato de sódio anidro* | MERCK | Para análise (P.A.) |

* Lavado com diclorometano em aparelho Soxhlet por 18 horas

5.4.2 - EQUIPAMENTOS

A Tabela 7 demonstra as condições de trabalho realizadas no equipamento

CGAR-DNP.

Tabela 7: Condições de análise para CGAR-DNP

| PARÂMETROS SELECIONADOS | |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| Cromatógrafo | CGAR Trace série 2000 thermoQuest |
| Gás de arraste/fluxo/pressão | Hélio/2,3mL/min /30Kpa |
| Coluna | 14% cianopropilfenil, 86% metil silicone (DB 1701 P) 30m x 0,32mm x 0,25 µm |
| Detetor | DNP |
| Fluxo do H ₂ /detetor | 90mL/min |
| Fluxo do Ar/detetor | 115mL/min |
| Temp. e tipo do injetor (Split/Splitless) | 240°C/Splitless 2,74 A |
| Corrente da fonte | 300°C |
| Temperatura do detetor | 50°C |
| Temperatura inicial do forno | 250°C |
| Temperatura final do forno | 1min |
| Tempo inicial | 15min |
| Tempo final | 6°C/min |
| Progressão do aquecimento | 1µL |
| Volume de injeção | |

Na Tabela 8 são apresentadas as condições de trabalho para o equipamento CGAR-DSM.

Tabela 8: Condições de análise para CGAR-DSM

| PARÂMETROS SELECIONADOS | |
|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Cromatógrafo | Hewlett-Packard 5890 séries II |
| Espectrômetro de massas | MSD-5970 computadorizado (HP-7958 B) com analisador de massas quadrupolar e ionização por impacto de elétrons de 70 eV |
| Gás de arraste/fluxo | Hélio/31cm/s |
| Coluna | 5% difenil 95% dimetilpolisiloxano (HP-5), 25m x 0,20mm x 0,33µm |
| Injecto (Split/Splitless) | Splitless |
| Temperatura do injetor | 200°C/min |
| Temperatura inicial do forno | 60°C/min |
| Temperatura final do forno | 250°C/min |
| Tempo inicial | 1 min |
| Tempo final | 15 min |
| Progressão do aquecimento | 6°C/min |
| Volume de injeção | 1µL |

Tabela 9: Equipamentos utilizados na extração

| EQUIPAMENTO | FABRICANTE/ESPECIFICAÇÃO |
|---------------------|-----------------------------------|
| Blender | Waring - 7 velocidades |
| Evaporador rotativo | Com controle digital da fisatom |
| Homogeneizador | OMNI-MIXER - 115 volts 5 AMP 60HZ |
| Multiprocessador | Mega Master Walita 500w |

5.5 - MÉTODOS

5.5.1 - PREPARO DAS SOLUÇÕES PADRÕES DE AGROTÓXICOS

5.5.1.1 - PREPARO DAS SOLUÇÕES PADRÃO DE DIELDRIN

Para o preparo de uma concentração final de $1,8\mu\text{g}/\text{mL}$, uma alíquota de 1mL foi retirada de uma solução padrão mãe de Dieldrin com concentração de $18\mu\text{g}/\text{mL}$, transferida para balão volumétrico de 10mL e completado o volume com acetato de etila. 1mL desta solução foi transferida para frasco com tampa de 10mL e diluída com 1mL de acetato de etila, obtendo-se uma concentração final de $0,9\mu\text{g}/\text{mL}$. 1mL desta última solução foi diluída com mais 1mL de acetato de etila, finalizando uma concentração de $0,45\mu\text{g}/\text{mL}$.

5.5.1.2 - PREPARO DAS SOLUÇÕES PADRÃO DE METOXICLORO

Para o preparo de uma concentração final de $2,2\mu\text{g}/\text{mL}$, uma alíquota de 1 mL foi retirada de uma solução padrão mãe de Metoxicloro com concentração de $22\mu\text{g}/\text{mL}$, transferida para balão volumétrico de 10mL e completado o volume com acetato de etila. 1mL desta solução foi transferida para frasco com tampa de 10mL e diluída com 1mL de acetato de etila, obtendo-se uma concentração final de $1,1\mu\text{g}/\text{mL}$. 1mL desta última solução foi diluída com mais 1mL de acetato de etila, finalizando uma concentração de $0,55\mu\text{g}/\text{mL}$.

5.5.1.3 - PREPARO DAS SOLUÇÕES PADRÃO DE MALATION

Para o preparo de uma concentração final de $143,3\mu\text{g}/\text{mL}$, uma alíquota de 1 mL foi retirada de uma solução padrão mãe de Malation com concentração de $430\mu\text{g}/\text{mL}$, transferida para frasco com tampa de 10mL e diluída com 2mL de acetato de etila. 1mL desta solução foi transferida para frasco com tampa de 10mL e diluída com mais 2mL de acetato de etila, obtendo-se uma concentração final de $47,76\mu\text{g}/\text{mL}$. 1mL desta última solução foi diluída com mais 2mL de acetato de etila, finalizando uma concentração de $15,9\mu\text{g}/\text{mL}$.

5.5.1.4 - PREPARO DAS SOLUÇÕES PADRÃO DE TEBUCONAZOLE

Pesou-se 5mg de Tebuconazole e dissolveu-se em 50mL de acetato de etila, obtendo-se uma solução final de 100 μ g/mL. Uma alíquota de 150 μ L desta solução foi transferido para balão volumétrico de 10mL e o volume foi completado com acetato de etila, para o preparo de uma concentração final de 1,5 μ g/mL. Um volume de 100 μ L da solução final de 100 μ g/mL foi transferido para balão volumétrico de 10mL e o volume completado com acetato de etila, obtendo-se assim concentração final de 1,0 μ g/mL. 50 μ L da solução final de 100 μ g/mL foi transferida para balão de 10 mL e completado o volume com acetato de etila para o preparo de concentração final de 0,5 μ g/mL. Para o preparo da solução com concentração de 0,1 μ g/mL, 2 mL da solução de 0,5 μ g/mL foi transferida e completada o volume a 10 mL. 5mL desta última solução foi transferida para balão volumétrico de 10mL para obtenção de uma concentração final de 0,05 μ g/mL. 2mL desta solução foi transferida para balão volumétrico de 10 mL e completado o volume com acetato de etila, obtendo-se assim concentração final de 0,01 μ g/mL.

5.5.1.5 - PREPARO DAS SOLUÇÕES PADRÃO DE CARBOFURAN

Pesou-se 5mg de Carbofuran e dissolveu-se em 50mL de acetato de etila, obtendo-se uma solução final de 100 μ g/mL. Uma alíquota de 150 μ L desta solução foi transferido para balão volumétrico de 10mL e o volume foi completado com acetato de etila, para o preparo de uma concentração final de 1,5 μ g/mL. Um volume de 100 μ L da solução final de 100 μ g/mL foi transferido para balão volumétrico de 10mL e o volume completado com acetato de etila, obtendo-se assim concentração final de 1,0 μ g/mL. 50 μ L da solução final de 100 μ g/mL foi transferida para balão de 10 mL e completado o volume com acetato de etila para o preparo de concentração final de 0,5 μ g/mL. Para o preparo da solução com concentração de 0,1 μ g/mL, 2mL da solução de 0,5 μ g/mL foi transferida e completada o volume a 10mL. 5mL desta última solução foi transferida para balão volumétrico de 10mL para obtenção de uma concentração final de 0,05 μ g/mL. 2mL desta solução foi transferida para balão volumétrico de 10mL e completado o volume com acetato de etila, obtendo-se assim concentração final de 0,01 μ g/mL.

As amostras de polpa de banana foram fortificadas de acordo com o descrito a seguir:

5.5.2 - PREPARO DAS AMOSTRAS DE BANANA FORTIFICADAS COM AGROTÓXICOS PARA ESTUDOS DE RECUPERAÇÃO

5.5.2.1 - ADIÇÃO DOS PADRÕES DE DIELDRIN, METOXICLORO E MALATION

100g de amostra de polpa e de casca, previamente trituradas, foram fortificadas com 1mL das soluções padrão de Dieldrin, Metoxicloro e Malation com concentrações de 0,45; 0,55 e 15,9 μ g/mL, respectivamente. As misturas foram homogeneizadas e submetidas ao processo de extração com acetonitrila e *Clean-up* descrito no item 5.5.3.1.

5.5.2.2 - ADIÇÃO DOS PADRÕES DE TEBUCONAZOLE E CARBOFURAN

25g de polpa de banana, previamente trituradas, foram fortificadas com 100 μ L das soluções padrão de Tebuconazole e Carbofuran, ambos com concentrações de 1,0 μ g/mL. As misturas foram submetidas ao processo de extração com acetato de etila descrito no item 5.5.3.2.

Amostras de polpa de banana não fortificada foram utilizadas como controle.

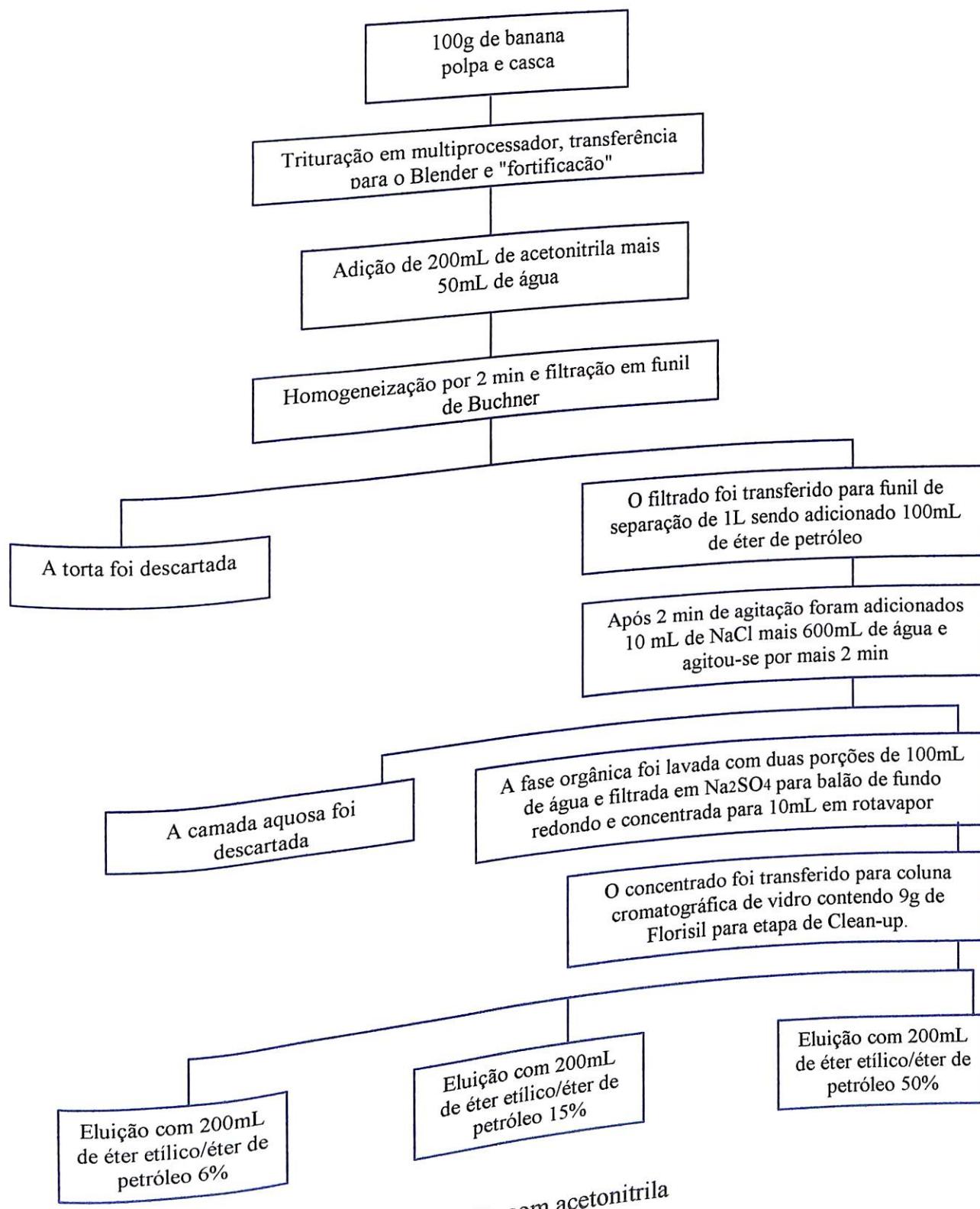
5.5.3 - EXTRAÇÃO DAS AMOSTRAS DE BANANA

5.5.3.1 - EXTRAÇÃO E "CLEAN-UP" - (PESTICIDE ANALYTICAL MANUAL VOL. 1 - SEÇÃO 304, 1999)

100g de banana (polpa e casca), foram trituradas em multiprocessador e transferidas para copo de Blender de alta rotação com 200mL de acetonitrila mais 50mL de água proveniente do sistema Milli-Q. A mistura foi homogeneizada por 2 minutos e depois filtrada em funil de Buchner à vácuo. O filtrado foi transferido para funil de separação de 1L, onde foi adicionado 100mL de éter de petróleo. Agitou-se vigorosamente por 2 minutos e depois adicionou-se 10mL de uma solução saturada de Cloreto de Sódio mais 600mL de água proveniente do sistema Milli-Q. Agitou-se vigorosamente por mais 2 minutos. Após a separação das fases, a camada aquosa foi descartada e a orgânica lavada com duas porções de 100mL de água. A camada orgânica foi transferida para balão de fundo redondo de 125mL através de funil contendo Sulfato de Sódio. A solução foi concentrada a 10mL em evaporador rotativo.

O concentrado do evaporador rotativo foi, então transferido quantitativamente, rinsando-se o balão com acetonitrila, para uma coluna cromatográfica de vidro, onde foi executado o Clean-up. A coluna foi empacotada com aproximadamente 9g de Florisil ativado, colocando-se no topo 4g de sulfato de sódio anidro, ajustando-se o fluxo a 5mL/min. O extrato concentrado foi então eluído com 200mL de cada uma das três soluções eluidoras: 6, 15 e 50% de éter etílico em éter de petróleo. Todos os extratos foram recolhidos em um mesmo balão de 1L.

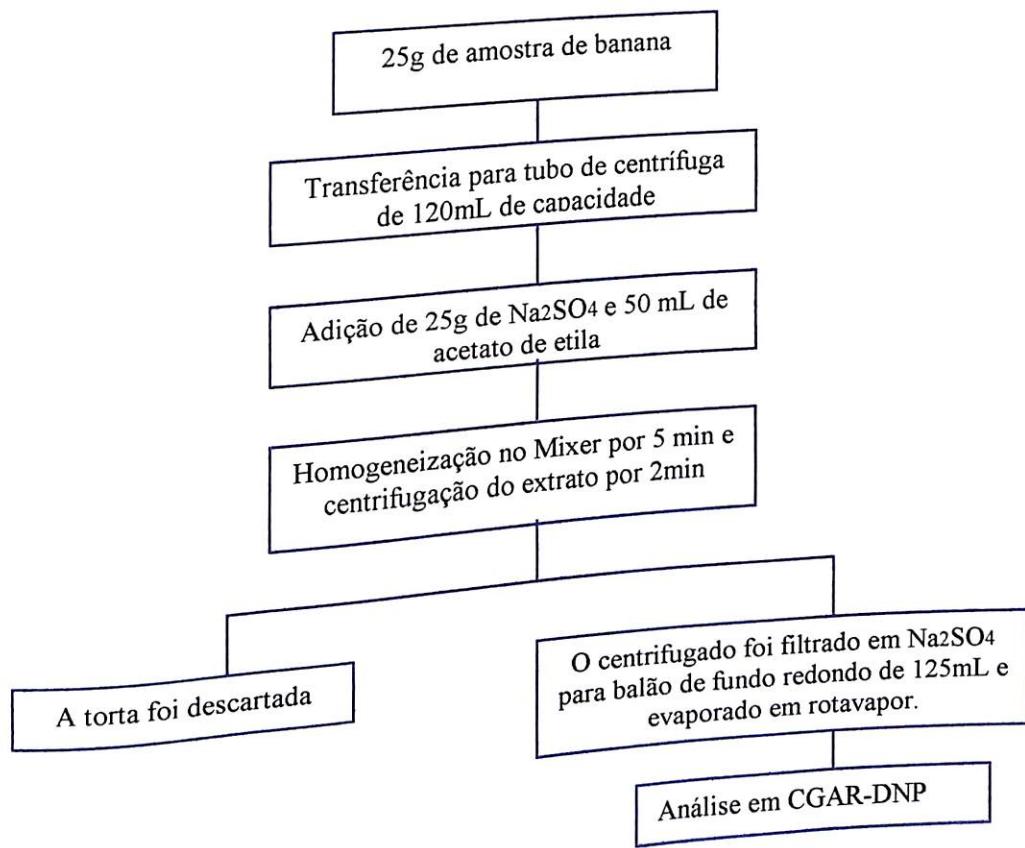
Após o "Clean-up", os eluatos recolhidos em balão de 1L foram concentrados em evaporador rotativo com banho maria de 30-35°C, até o volume variando na faixa de 5 a 10mL. A modificação no método com relação ao Clean-up, é devido o método determinar que cada fração de eluição seja recolhida em frascos diferentes, permitindo separar os agrotóxicos em três grupos distintos de acordo com suas polaridades. Por motivos de menor tempo de análise optou-se por recolher todos os eluatos em um mesmo frasco. O Esquema I demonstra o fluxograma desta extração.



Esquema 1: Fluxograma do processo de extração com acetonitrila

5.5.3.2 - EXTRAÇÃO - MÉTODO - ANALYTICAL METHODS FOR PESTICIDE
RESIDUES IN FOODSTUFFS, SIXTH EDITION, PART I, PAGE 4, JUNE 1996

Pesou-se 25g das amostras de polpa e casca de banana referentes aos tratamentos com Furadan e Tebuconazole, trituradas e armazenadas anteriormente, em tubo de centrífuga com capacidade de 120 mL. Adicionou-se 25g de sulfato de sódio anidro e 50mL de acetato de etila e homogeneizou-se em um homogeneizador tipo Mixer por 5 minutos. O extrato foi então centrifugado por 2 minutos a 4000 rpm. O líquido foi decantado através de um funil contendo sulfato de sódio anidro para secagem, sendo recolhido em balão de 125 mL de fundo redondo. O extrato foi evaporado em evaporador rotativo com banho térmico de 60°C, sob um sistema de vácuo central até o volume aproximado de 5 mL. O concentrado do evaporador rotativo, foi então transferido quantitativamente, rinsando-se o balão com acetato de etila para um balão volumétrico de 10 mL e completado o volume. O Esquema 2 apresenta o fluxograma de extração.



Esquema 2: Fluxograma do processo de extração com acetato de etila.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 - ESCOLHA DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO

A escolha do método de extração dos resíduos de agrotóxicos neste trabalho foi determinada avaliando-se três fatores fundamentais: a disponibilidade de equipamentos no laboratório, o tipo de amostra a ser analisada (neste caso a banana, que é uma matriz não gordurosa) e os componentes em que se desejava analisar (Carbofuran e Tebuconazole).

Após o estudo da literatura, verificou-se que para amostras não gordurosas como a banana (ALVES, 1997), diferentes procedimentos de extração de resíduos de agrotóxicos podem ser avaliados. Um dos métodos utiliza a mistura da amostra com acetato de etila e sulfato de sódio (KRIJGSMAN & VAN DE KAMP, 1976) e um outro método, promove a extração da amostra com acetonitrila seguida de partição com éter de petróleo (PESTICIDE ANALYTICAL MANUAL, 1999). Sendo estes dois métodos utilizados no presente trabalho.

Com o objetivo de testar o método de extração escolhido e sua recuperação neste tipo de matriz, três padrões de agrotóxicos organoclorados e organofosforado, foram utilizados neste trabalho por apresentar boas condições de conservação, apesar de não serem usados no plantio de bananas. São eles: Metoxicloro (a), Malation (organofosforado) (b) e Dieldrin (organoclorados) (c) (Figura 8).

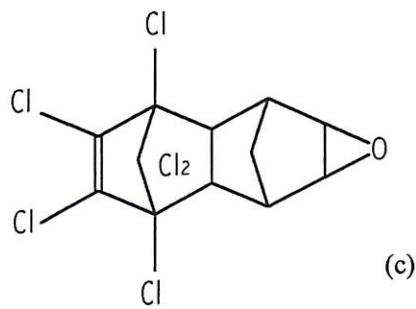
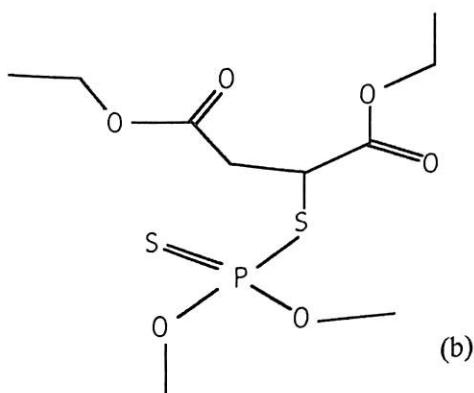
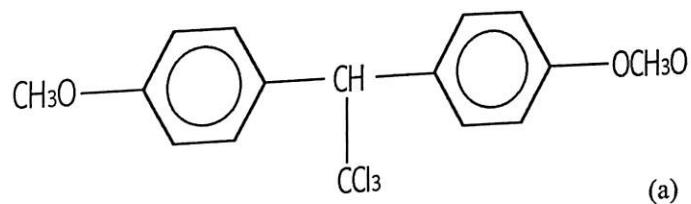


Figura 8: Estruturas moleculares dos agrotóxicos: metoxicloro (a), malation (b) e dieldrin (c).

6.2 - EXTRAÇÃO DE RESÍDUOS COM ACETONITRILA

Para primeira etapa de extração, utilizou-se o método de multiresíduo para compostos organoclorados e organofosforados em frutas não gordurosas do "Pesticide Analytical Manual", onde o mesmo utiliza como solvente de extração acetonitrila seguida de partição com éter de petróleo (esquema 1).

Devido a necessidade de um treinamento, conhecimento técnico operacional das técnicas empregadas para extração de resíduos, finalidade de se testar o método de extração na matriz (banana) e pela não disponibilidade até momento dos padrões que foram aplicados na plantação estudada, foram preparadas soluções padrões de Dieldrin,

Metoxicloro e Malation (pela disponibilidade no laboratório) para fortificação das amostras de banana e subsequente realização de ensaios de recuperação, testando-se assim o método proposto, pois não foi encontrado na literatura o seu uso para extração de banana.

Após o preparo das soluções padrões dos organoclorados (Dieldrin e Metoxicloro), os mesmos foram injetados individualmente em triplicata no cromatografo gasoso com detector de captura de elétrons, assim como o padrão de organofosforado (Malation) com detector de nitrogênio e fósforo para confirmação dos seus tempos de retenção. Uma mistura destes padrões também foi injetada. Os resultados obtidos demonstraram boa repetibilidade entre os tempos de retenção possibilitando assim as suas confirmações (Tabela 10).

Após o conhecimento desses dados, deu-se início ao processo de extração na amostra de banana fortificada e na amostra controle. As análises dos extratos foram realizadas em triplicata nas mesmas condições cromatográficas dos padrões. Os resultados obtidos demonstraram uma boa repetibilidade dos tempos de retenção e após uma simples quantificação baseada na proporção da quantidade do padrão com a da amostra, verificou-se uma recuperação de 67% para o Dieldrin, 77% para o Metoxicloro e 59% para o Malation (Tabela 11).

Tabela 10: Resultados obtidos da solução padrão de Dieldrin, Metoxicloro e Malation em CGAR-DCE e CGAR-DNP

| SOLUÇÃO PADRÃO | TIPO DE DETETOR | tr (min) | CONC. (μg/mL) |
|----------------|-----------------|----------|---------------|
| Dieldrin | DCE | 8.03 | 0,45 |
| Metoxicloro | DCE | 9.53 | 0,55 |
| Malation | DNP | 7.03 | 15,9 |

Tabela 11: Resultados obtidos do extrato da banana fortificada com Dieldrin, Metoxicloro e Malation em CGAR-DCE e CGAR-DNP.

| PADRÃO NA AMOSTRA | tr (min) | CONCENTRAÇÃO (μg/mL) | RECUP. % |
|-------------------|----------|----------------------|----------|
| Dieldrin | 8.00 | 0,45 | 67 |
| Metoxicloro | 9.50 | 0,55 | 77 |
| Malation | 7.04 | 15,9 | 59 |

Este método foi descartado devido a grande utilização de solventes (900mL), alto tempo de análise (8 horas) e por não apresentar uma boa recuperação na matriz (dentro da faixa de 70-130% recomendada pela EPA).

6.3 - EXTRAÇÃO DE RESÍDUOS COM ACETATO DE ETILA

O segundo método de extração testado foi também um método de multiresíduo para agrotóxicos organoclorados e organofosforados, conforme descrito no "Analytical Methods for Pesticide Residues", cujo solvente de extração foi acetato de etila com sulfato de sódio para retenção de água (Esquema 2).

Para realização do estudo de recuperação deste método, partiu-se de dois dos sete padrões utilizados na plantação experimental: Carbofuran e Tebuconazole (Figura 9). Por se tratar dos padrões cujos resíduos seriam pesquisados nas amostras de banana, já que foram aplicados na plantação, a "fortificação" da amostra foi realizada com uma mistura desses padrões com uma concentração escolhida de maneira a qualificar o método, permitindo assim, o monitoramento dos LMRs admissíveis destes agrotóxicos nas amostras estudadas.

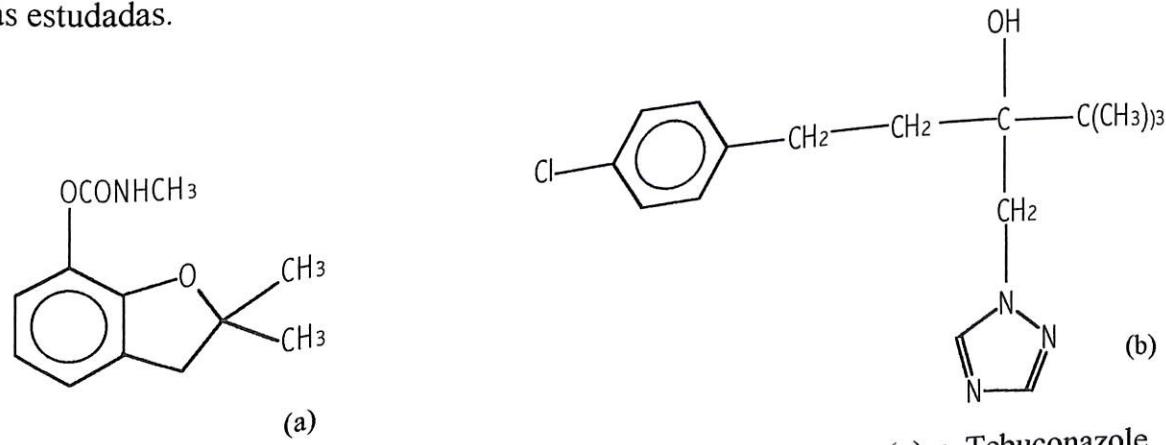


Figura 9: Estruturas moleculares dos agrotóxicos Carbofuran (a) e Tebuconazole (b).

A polpa de banana sem fortificação também passou pelo processo de extração para o teste controle.

6.4 - QUANTIFICAÇÃO DOS RESÍDUOS NO EXTRATO FORTIFICADO

Após a análise em triplicata no CGAR-DNP de todas as amostras (padrões, extrato de banana para o controle e extrato de banana fortificado) (figuras 12, 13 e 14) obteve-se as médias dos tempos de retenção para cada resíduo. Para quantificação desses resíduos recuperados na fortificação dos extratos usou-se a técnica de padronização externa, onde preparou-se uma curva de calibração para cada um dos padrões, com seis diferentes pontos de concentração. (acima e abaixo do LMRs permitidos pelo Codex Alimentarius) (figuras 10 e 11).

A quantificação ocorreu adicionando as áreas obtidas no cromatograma de cada resíduo dentro da curva de calibração dos seus respectivos padrões, onde foram fornecidos as concentrações recuperadas, as quais foram relacionadas e calculadas com as concentrações dos padrões inicialmente adicionados na polpa de banana.

Os percentuais de recuperação dos dois padrões para este método de extração apresentaram boa eficácia, expressa pelos resultados obtidos que foram de 70% para Tebuconazole e 125% para Carbofuran (dentro da faixa de 70 a 130% estabelecida pela EPA), demonstrando assim uma boa reprodutividade do método proposto (Tabela 12 e 13).

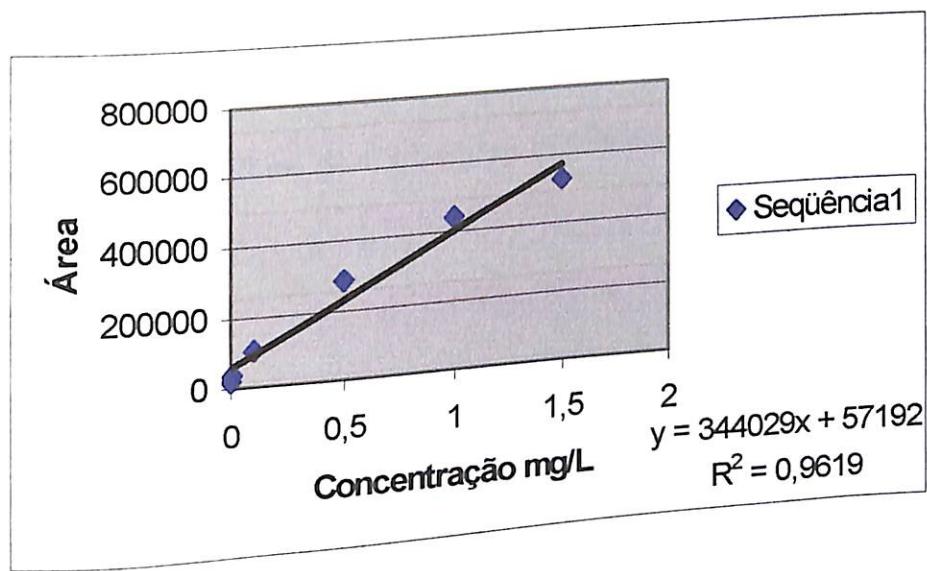


Figura 10: Curva de calibração do padrão de Carbofuran.

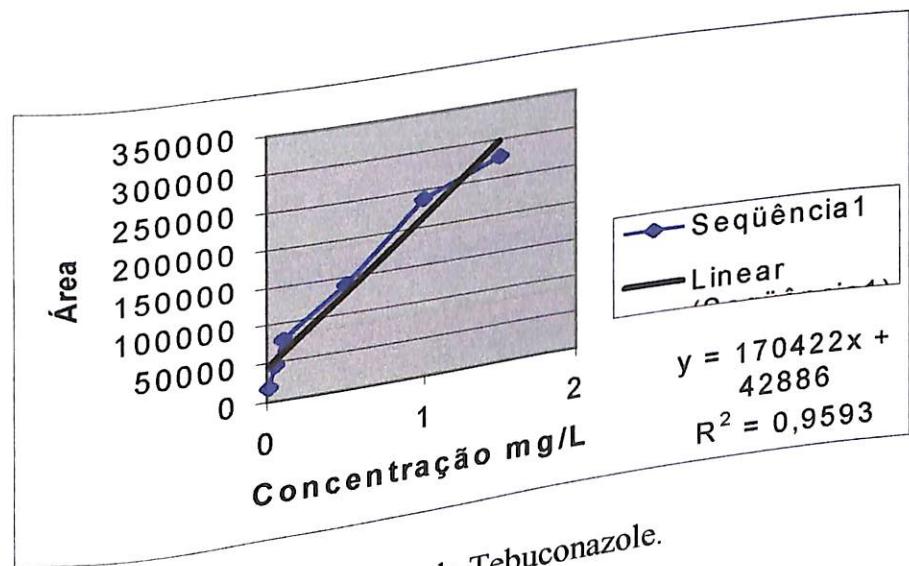


Figura 11: Curva de calibração do padrão de Tebuconazole.

Devido ao baixo consumo de solvente (300 mL), menor tempo de análise (2 horas) e aos bons resultados de recuperação dos padrões, este método foi o escolhido para extração dos possíveis resíduos de Carbofuran e Tebuconazole presentes nas amostras de banana.

Tabela 12: Análise da mistura dos padrões de Carbofuran e Tebuconazole

| PADRÃO | t_R (min) | CONC. ($\mu\text{g/mL}$) | ÁREA (cm^2) |
|--------------|----------------|-------------------------------|---------------------------|
| Carbofuran | 25,8 | 0,5 | 123172 |
| Tebuconazole | 36,1 | 0,5 | 72042 |

Tabela 13: Recuperação de Carbofuran e Tebuconazole no extrato fortificado.

| PADRÃO NA AMOSTRA | t_R (min) | CONC. ($\mu\text{g/mL}$) | ÁREA (cm^2) | RECUP. % |
|----------------------|----------------|-------------------------------|---------------------------|-------------|
| Carbofuran | 25,8 | 0,015 | 4533 | 120 |
| Tebuconazole | 36,1 | 0,015 | 1551 | 71,8 |

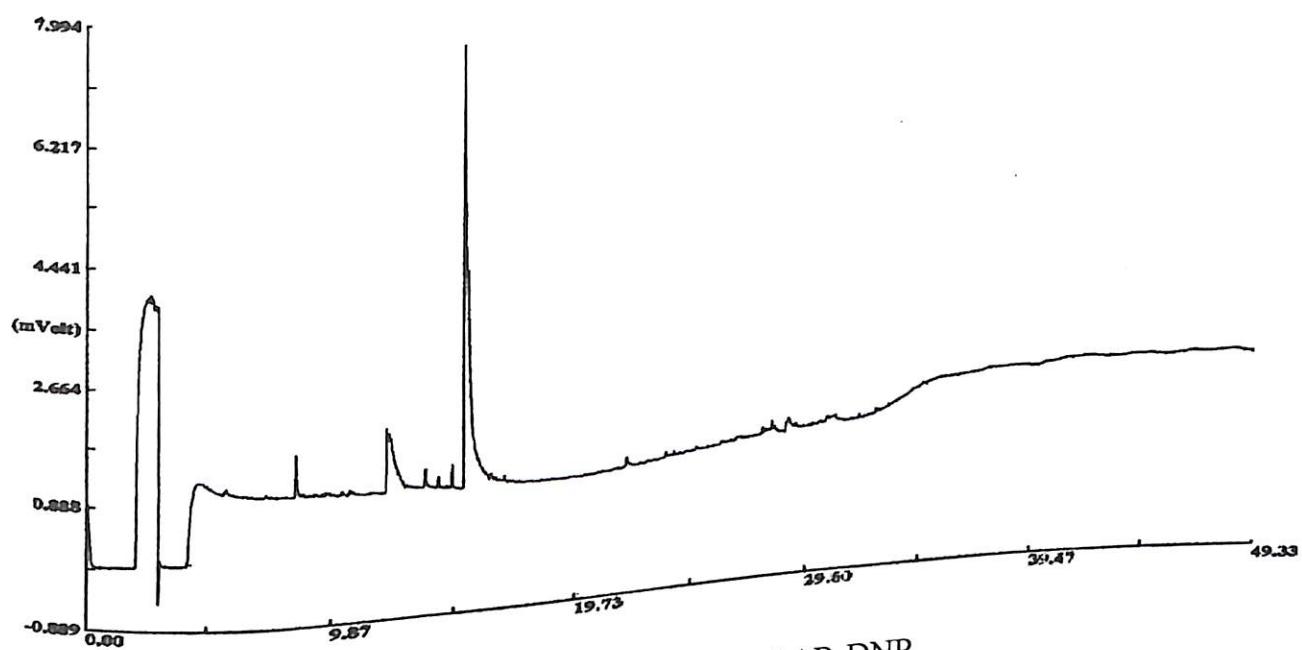


Figura 12: Análise do extrato da polpa de banana em CGAR-DNP.

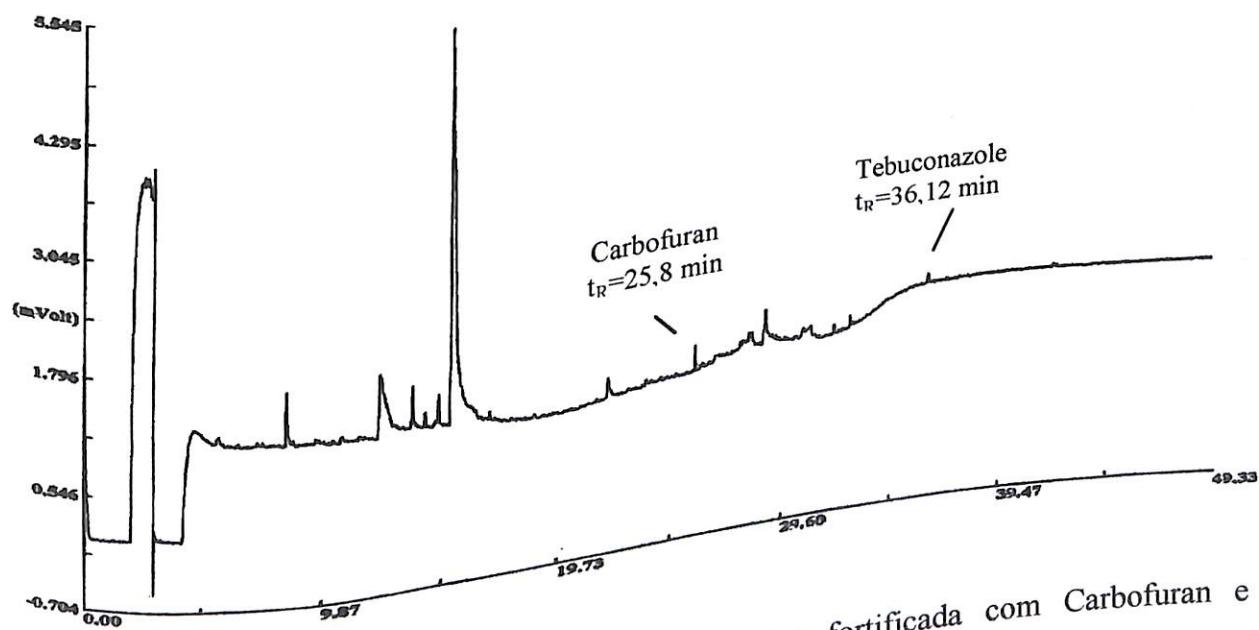


Figura 13: Análise do extrato da polpa de banana fortificada com Carbofuran e Tebuconazole (1 μ g/mL) em CGAR-DNP.

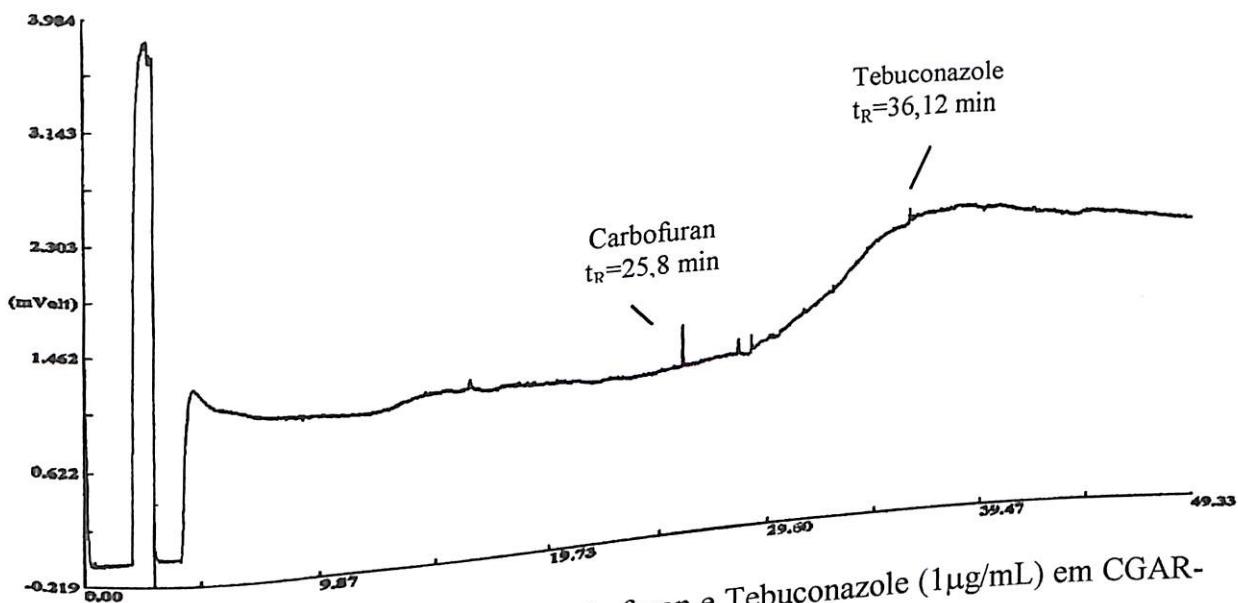


Figura 14: Análise da solução padrão de Carbofuran e Tebuconazole (1 μ g/mL) em CGAR-DNP.

6.5 - PADRONIZAÇÃO DOS PARÂMETROS CROMATOGRÁFICOS:

Observando trabalhos na literatura verificou-se que resíduos de Carbofuran e Tebuconazole são normalmente analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) utilizando derivatização pós-coluna. Os métodos utilizando a técnica de CGAR com as altas temperaturas do injetor (280-300°C).

Apesar destas informações buscou-se a utilização da cromatografia gasosa de alta resolução com DNP na tentativa de encontrar uma técnica mais rápida para análise destes compostos.

Sem parâmetros cromatográficos na literatura para análise de resíduos de Carbofuran e Tebuconazole (sem derivatização), realizou-se o estudo dos tempos de retenção para cada composto variando-se a programação de aquecimento da coluna e principalmente a temperatura do injetor.

Este estudo consistiu na injeção em triplicata dos padrões de carbofuran e tebuconazole separadamente e concomitantemente nas mesmas condições cromatográficas, para se obter a confirmação dos tempos de retenção de cada um e avaliar a repetibilidade dos mesmos.

Após otimizada essas condições, as quais foram determinadas devido a repetibilidade dos tempos de retenção obtidos para os padrões com variações dentro da faixa estabelecida pelo método EPA 8141 (diferença de 6 segundos), partiu-se para o estudo da linearidade e limite de detecção do aparelho afim de testar sua sensibilidade e ter certeza de que o mesmo seria capaz de detectar a quantidade mínima de resíduo permitido (0,1 μ g/mL para Tebuconazole e 0,05 μ g/mL para o Carbofuran) (Codex Alimentarius) na banana.

Para o estudo da resposta da linearidade e limite de detecção preparou-se uma solução de cada padrão estudado. Partindo-se dessas soluções preparou-se seis diferentes concentrações numa faixa que vai de 0,01 a 1,5 μ g/mL, com pontos de concentração abaixo e acima dos LMRs permitidos na banana. Cada ponto com diferente concentração foi injetada individualmente em triplicata em cromatógrafo gasoso com DNP (ANEXO I - Figuras 25 a 36).

Após visualização dos cromatogramas obtidos, observou-se que dentro da faixa proposta acima, obteve-se uma boa resposta para linearidade e limite de detecção do aparelho.

6.6 - ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DOS EXTRATOS CONTENDO RESÍDUOS DE CARBOFURAN E TEBUCONAZOLE EM AMOSTRAS DE POLPA DE BANANA

Todas as 79 amostras foram extraídas pelo método oficial escolhido no presente trabalho, o qual utiliza acetato de etila como solvente de extração conforme descrito na seção 5.5.3.2. O método cita que os extratos podem ou não sofrer a técnica de Clean-up, dependendo do tipo de amostra a ser analisada. Nos extratos obtidos neste trabalho não foi realizada a técnica de clean-up, pois a mesma foi testada e não ofereceu diferença na limpeza dos extratos, indicando que a banana pode ser extraída sem a necessidade desta técnica, tornando-se um fator favorável a este trabalho, já que possibilitou a diminuição da manipulação das amostras e consequentemente de possíveis erros, além de ser uma etapa demorada e exigir uma grande quantidade de solventes.

Todos os extratos das 79 amostras e os padrões (Carbofuran e Tebuconazole) foram individualmente injetados em triplicata no CGAR-DNP no mesmo dia da extração, afim de evitar uma possível degradação dos contaminantes e para comparação dos picos concidentes no extrato com os padrões. As condições cromatográficas foram as mesmas estabelecidas anteriormente (Tabela 7).

Para avaliação dos resíduos destes agrotóxicos, os tempos de retenção obtidos em cada cromatograma nos 79 extratos da casca e polpa de banana foram comparados um a um aos tempos de retenção obtidos para os padrões.

Na análise do resíduo de Tebuconazole, os resultados dos cromatogramas obtidos demonstraram sua presença em 12 amostras de casca e em 7 amostras de polpa (Tabela 14). Esses resultados sugerem que a pulverização do Folicur (nome comercial do Tebuconazole) não foi homogênea em toda área plantada, visto que algumas plantas apresentaram resíduo deste produto e outras não. A quantificação foi realizada através da técnica de padronização externa utilizando a curva de calibração preparada anteriormente para este padrão (figura 11). Nas Tabelas 15 e 16 são apresentadas as amostras que apresentam estes resíduos.

Tabela 14: Comparação dos tempos de retenção do padrão de Tebuconazole com os seus resíduos nos extratos e suas concentrações em amostras de polpa e casca de banana.

| PARTE DO FRUTO | COLHEITA (DATA) | t_R (min) DO PADRÃO | t_R (min) DO RESÍDUO NO EXTRATO | ÁREA DO RESÍDUO | CONC. DO RESÍDUO NO EXTRATO ($\mu\text{g/mL}$) | CONC. DO RESÍDUO NA AMOSTRA (mg/kg) DE BANANA |
|----------------|-----------------|-----------------------|-----------------------------------|-----------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Casca | 04/05 | 36.12 | 36.15 | 3826 | 0,014 | 0,006 |
| Casca | 04/05 | 36.12 | 36.15 | 3068 | 0,010 | 0,004 |
| Polpa | 23/04 | 36.12 | 36.07 | 2841 | 0,010 | 0,004 |
| Polpa | 03/05 | 36.11 | 36.13 | 1845 | 0,006 | 0,002 |
| Casca | 23/04 | 36.12 | 36.15 | 2821 | 0,010 | 0,004 |
| Casca | 26/04 | 36.13 | 36.11 | 5034 | 0,018 | 0,007 |
| Casca | 26/04 | 36.13 | 36.11 | 1845 | 0,006 | 0,002 |
| Casca | 20/04 | 36.12 | 36.14 | 11451 | 0,041 | 0,016 |
| Polpa | 20/05 | 36.12 | 36.10 | 211 | 0,001 | - |
| Casca | 20/05 | 36.10 | 36.14 | 7716 | 0,027 | 0,011 |
| Polpa | 07/05 | 36.13 | 36.15 | 3068 | 0,010 | 0,004 |
| Casca | 26/04 | 36.13 | 36.07 | 5034 | 0,018 | 0,007 |
| Polpa | 23/04 | 36.10 | 36.13 | 1845 | 0,006 | 0,002 |
| Polpa | 30/04 | 36.12 | 36.17 | 4114 | 0,014 | 0,006 |
| Casca | 23/04 | 36.12 | 36.13 | 14511 | 0,052 | 0,021 |
| Polpa | 23/05 | 36.12 | 36.14 | 3994 | 0,014 | 0,006 |
| Casca | 20/05 | 36.11 | 36.13 | 16600 | 0,059 | 0,024 |
| Casca | 30/04 | 36.11 | 36.13 | 9600 | 0,034 | 0,014 |
| Casca | 23/04 | 36.13 | 36.11 | 3082 | 0,011 | 0,004 |
| Casca | 23/04 | 36.12 | | | | |

Como pode ser observado na Tabela 14, as diferenças entre os tempos de retenção dos resíduos e do padrão de Tebuconazole, situaram-se dentro dos seis segundos permitidos pelo método EPA 8141. Estes resultados indicaram a grande possibilidade dos picos encontrados serem dos resíduos de Tebuconazole presentes nos extratos.

A Tabela 14, demonstra também que a quantidade deste resíduo nas 19 amostras de banana analisadas está dentro dos LMRs estabelecidos pelo Codex Alimentarius que é de 0,1mg/Kg de banana.

Alguns exemplos dos cromatogramas que demonstraram estes resultados, encontram-se em ANEXO II (Figuras 37 a 46).

Para a avaliação dos resíduos de Carbofuran o mesmo procedimento foi utilizado, ou seja a comparação detalhada de todos os cromatogramas dos extratos com o padrão de carbofuran. Os resultados obtidos para todos os 79 cromatogramas analisados, foi que em apenas um deles (T6PIII) foi detectada a presença do resíduo cujo tempo de retenção concordou com o padrão de Carbofuran (figura 15). O tratamento seis refere-se ao tratamento onde o Furadan (nome comercial do Carbofuran) foi aplicado no solo faltando 115 dias para colheita, ou seja, foi a planta que ficou com maior tempo em contato com o produto. O Carbofuran é um inseticida sistêmico e por isso é absorvido pela planta e tudo indica, através dos resultados obtidos, que quanto maior o tempo de exposição da planta com o produto maior é a sua absorção. A quantificação foi realizada utilizando a curva de calibração (figura 10), onde o resultado demonstrou uma concentração de 0,024mg/Kg de banana, sendo que o permitido é de 0,05mg/Kg, (Codex Alimentarius). A única amostra que apresentou o resíduo de Carbofuran se encontra na Tabela 15.

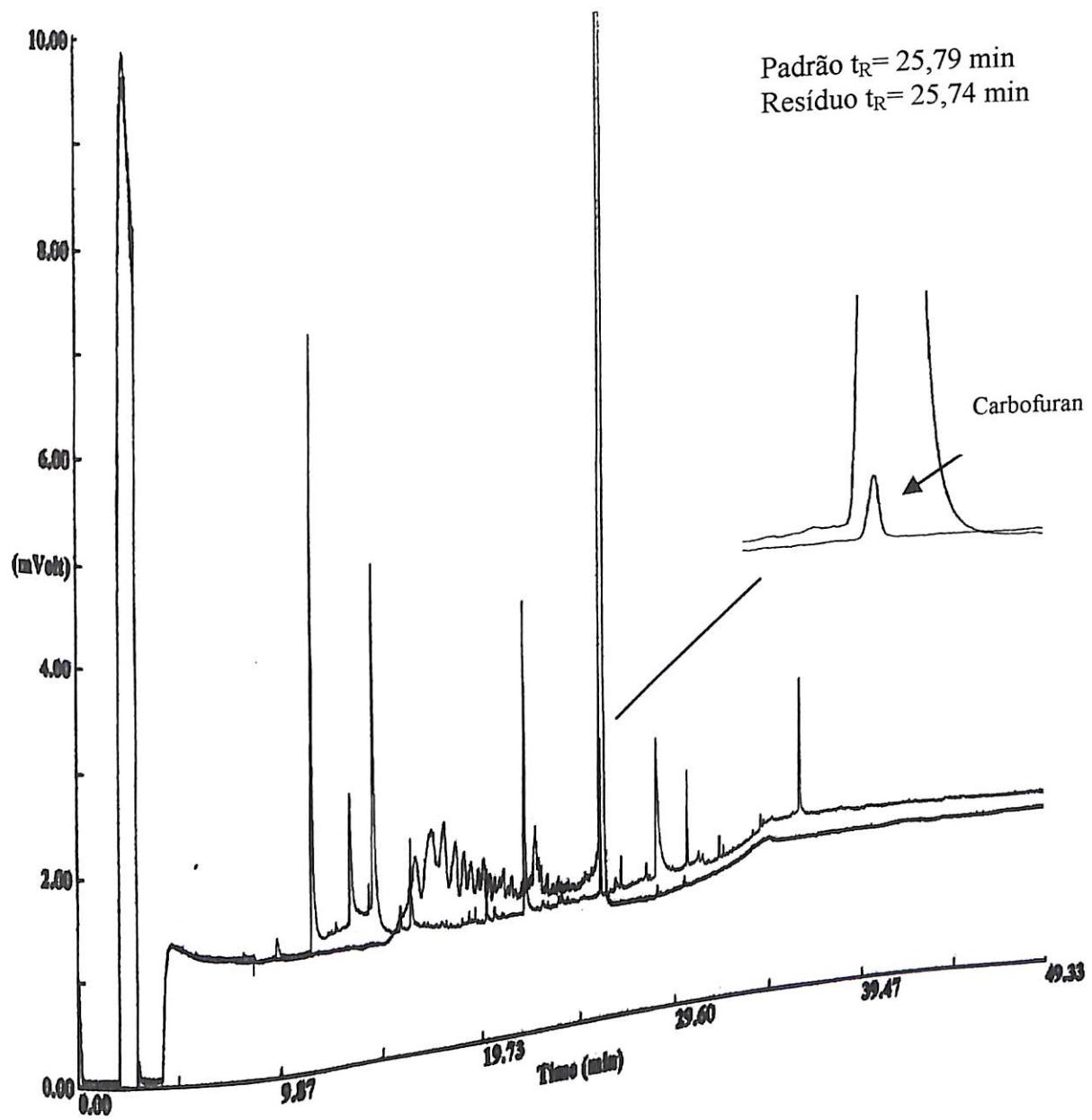


Figura 15: Sobreposição dos picos do extrato da casca (T6PIII) e do padrão de Carbofuran.

Tabela 15: Exemplos da avaliação dos resíduos nos extratos da casca de banana de três amostras relacionadas a cada tratamento.

| TRATAMENTO | RESÍDUO DE CARBOFURAN | RESÍDUO DE TEBUCONAZOLE |
|------------|--------------------------|----------------------------|
| 1 - I | - | + |
| 1 - II | - | - |
| 1 - III | - | + |
| 2 - I | - | - |
| 2 - II | - | + |
| 2 - III | - | + |
| 3 - I | - | - |
| 3 - II | - | + |
| 3 - III | - | + |
| 4 - I | - | + |
| 4 - II | - | + |
| 4 - III | - | - |
| 5 - I | - | - |
| 5 - II | - | - |
| 5 - III | - | + |
| 6 - I | - | - |
| 6 - II | + | - |
| 6 - III | - | + |
| 7 - I | - | - |
| 7 - II | - | - |
| 7 - III | - | - |
| 8 - I | - | - |
| 8 - II | - | - |
| 8 - III | - | + |
| 9 - I | - | - |
| 9 - II | - | - |
| 9 - III | - | - |

AUSENTE (-), PRESENTE (+)
I,II e III (Nº DA PLANTA/REPETIÇÃO DO TRATAMENTO)

Tabela 16: Exemplos da avaliação dos resíduos nos extratos da polpa de banana de três amostras relacionadas a cada tratamento.

| TRATAMENTO | RESÍDUO DE CARBOFURAN | RESÍDUO DE TEBUCONAZOLE |
|------------|--------------------------|----------------------------|
| 1 - I | - | + |
| 1 - II | - | - |
| 1 - III | - | + |
| 2 - I | - | - |
| 2 - II | - | - |
| 2 - III | - | - |
| 3 - I | - | + |
| 3 - II | - | - |
| 3 - III | - | - |
| 4 - I | - | - |
| 4 - II | - | + |
| 4 - III | - | + |
| 5 - I | - | + |
| 5 - II | - | - |
| 5 - III | - | - |
| 6 - I | - | - |
| 6 - II | - | - |
| 6 - III | - | + |
| 7 - I | - | - |
| 7 - II | - | - |
| 7 - III | - | - |
| 8 - I | - | - |
| 8 - II | - | - |
| 8 - III | - | - |
| 9 - I | - | - |
| 9 - II | - | - |
| 9 - III | - | - |

AUSENTE (-), PRESENTE (+)
I,II e III (Nº DA PLANTA/REPETIÇÃO DO TRATAMENTO)

6.7 - CGAR-DSM COMO TÉCNICA CONFIRMATIVA PARA ANÁLISE DE RESÍDUOS DE CARBOFURAN E TEBUCONAZOLE.

Como já foi mencionado, as informações fornecidas pela literatura de que as análises de traços dos compostos de Carbofuran e Tebuconazole são dificultadas via CGAR, por serem termolábeis, (exigindo assim a sua derivatização antes de serem analisados), tornaram-se um ponto crítico ao nosso trabalho já que o objetivo consistia nas análises destes resíduos por CGAR-DNP.

Partindo-se desse princípio utilizou-se a temperatura do injetor reduzida (240°C) das que são normalmente utilizadas (250 - 280°C), observou-se os cromatogramas dos padrões obtidos e verificou-se que os picos apresentavam-se únicos e com uma ótima linha de base, mas que apesar disso não seria possível confirmar a ausência da degradação dos compostos, já que a CGAR-DNP é uma técnica de separação e não é suficiente para realizar a confirmação. Por este motivo buscou-se a CGAR-DSM como uma técnica confirmativa para identificar estas substâncias.

Após estudo da literatura verificou-se que os resíduos de agrotóxicos são frequentemente confirmados por CGAR-DSM utilizando-se o modo de aquisição de dados em Monitoramento Seletivo de Íons (MSI). Desta maneira, este foi o modo de aquisição escolhido para análise do padrão de Carbofuran.

O modo MSI permite que o detector seletivo de massas utilize o tempo de aquisição com grupos de íons selecionados, aumentando a sensibilidade e a quantidade de informações disponíveis.

Para utilizar o método de aquisição, estabeleceu-se um grupo de três íons característicos do Carbofuran (221, 164 e 149), onde foi estabelecido o t_R de 20,98min (figura 16), o qual possibilitou a obtenção de um espectro (figura 17) com íons de abundância idêntica aos íons do Carbofuran da biblioteca de espectros da NIST (figura 20).

O padrão de Carbofuran foi injetado no modo "SCAN", trabalhando-se na faixa de aquisição de 40 a 300 m/z , suficiente para analisa-lo, já que seu peso molecular é de 221 m/z (figura 18). A redução da faixa de aquisição permite a realização de um número maior de varreduras, o que proporciona uma quantidade maior de dados por valor de m/z monitorado, aumentando a sensibilidade do detector de massas. O modo "SCAN" permite a obtenção de todos os íons presentes, fornecendo a fragmentação completa do composto.

A análise do espectro de massas do pico com tempo de retenção de 20,98 min. (figura 19), apresenta íon molecular de $m/z = 221$ (5%), o qual produz uma série de outros fragmentos ionizados. Este íon de $m/z = 221$ (5%) confirma que a molécula que estamos analisando possui um átomo de nitrogênio (regra do nitrogênio).

O íon molecular de $m/z = 221$ (5%) após rearranjo intra molecular que envolve migração de hidrogênio, gera o íon $m/z = 164$ (100%), e perda do radical ($.C_2H_3NO$), o íon $m/z = 164$ (100%) perde radical metila ($.CH_3$) gerando o íon $m/z = 149$ (60%) que também após rearranjo com abertura do anel de cinco membros e perda do radical isopropila ($.C_3H_7$), forneceu o íon molecular $m/z = 122$ (25%).

O espectro de massas do carbofuran obtido foi comparado com o espectro de massas do Carbofuran presente na espectoteca de referência da "NIST" (figura 20).

A figura 21, demonstra a proposta da rota de fragmentação da estrutura do carbofuran o que completa todos os dados para sua identificação e confirmação.

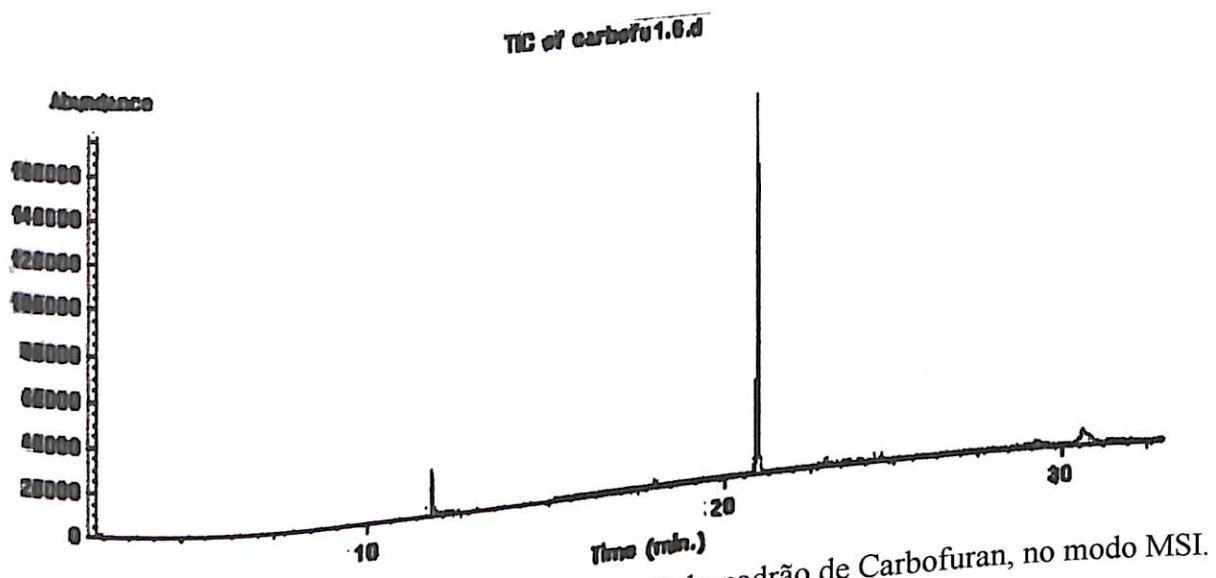


Figura 16 : Cromatograma de Íons Totais (TIC) do padrão de Carbofuran, no modo MSI.

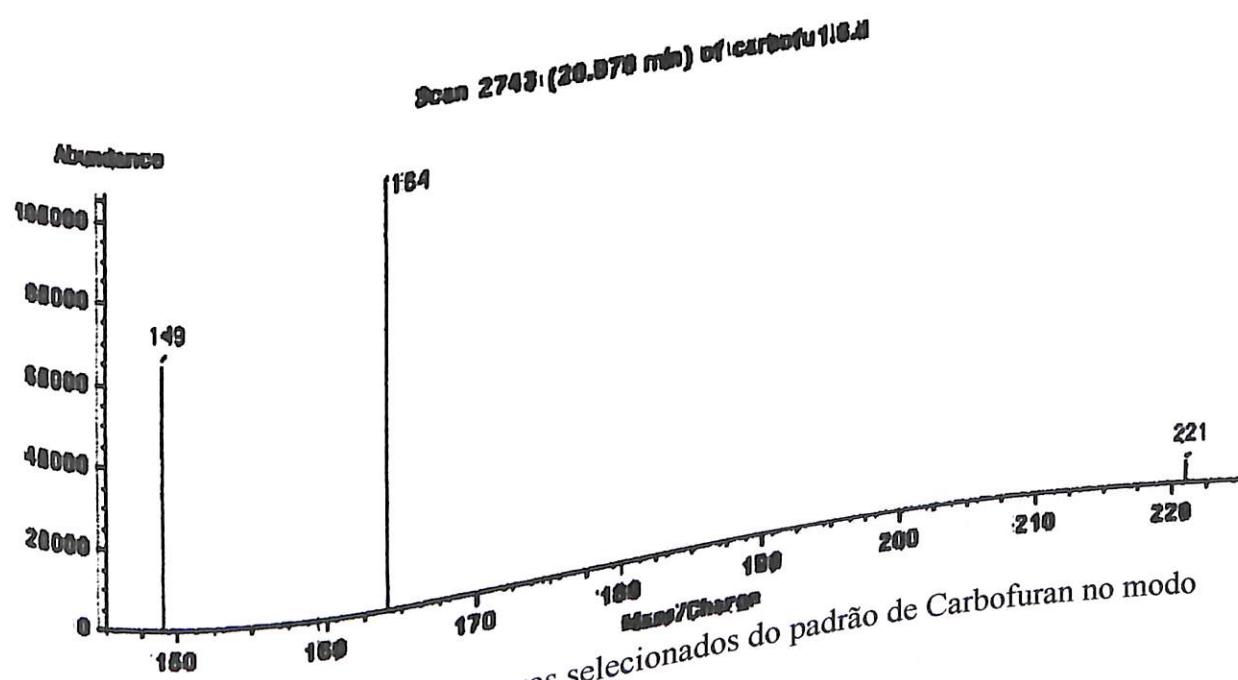


Figura 17: Espectro de íons de massas selecionados do padrão de Carbofuran no modo MSI.

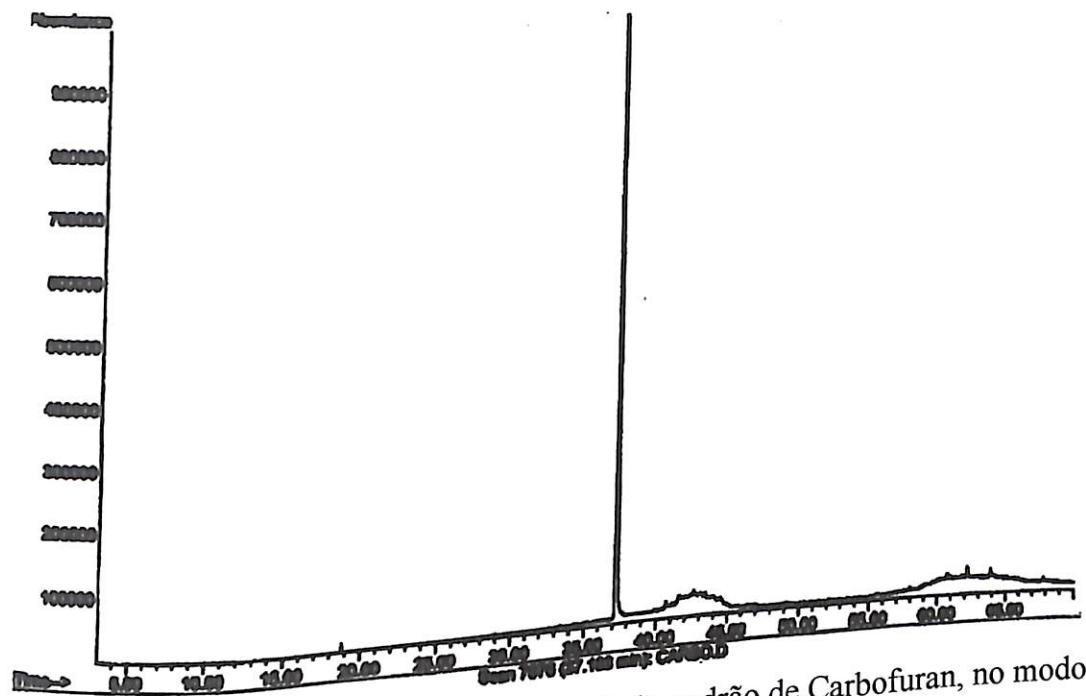


Figura 18: Cromatograma de Íons Totais (TIC) do padrão de Carbofuran, no modo SCAN.

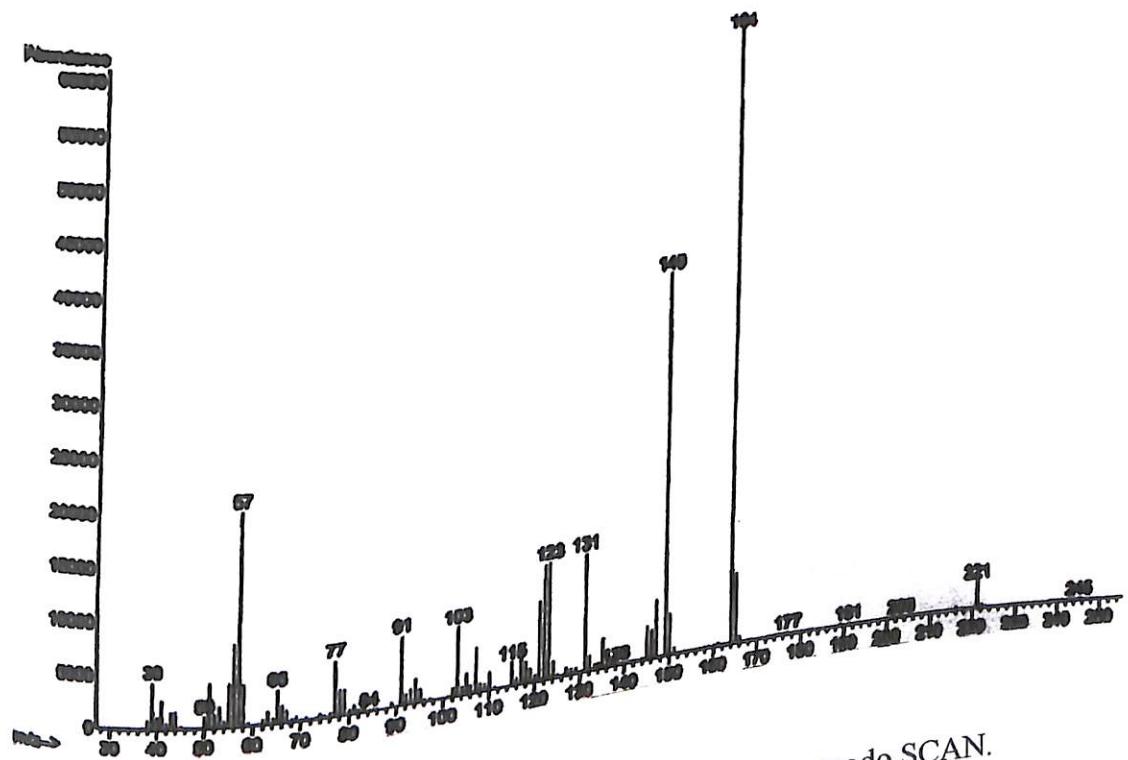


Figura 19: Espectro de massas do padrão de Carbofuran no modo SCAN.

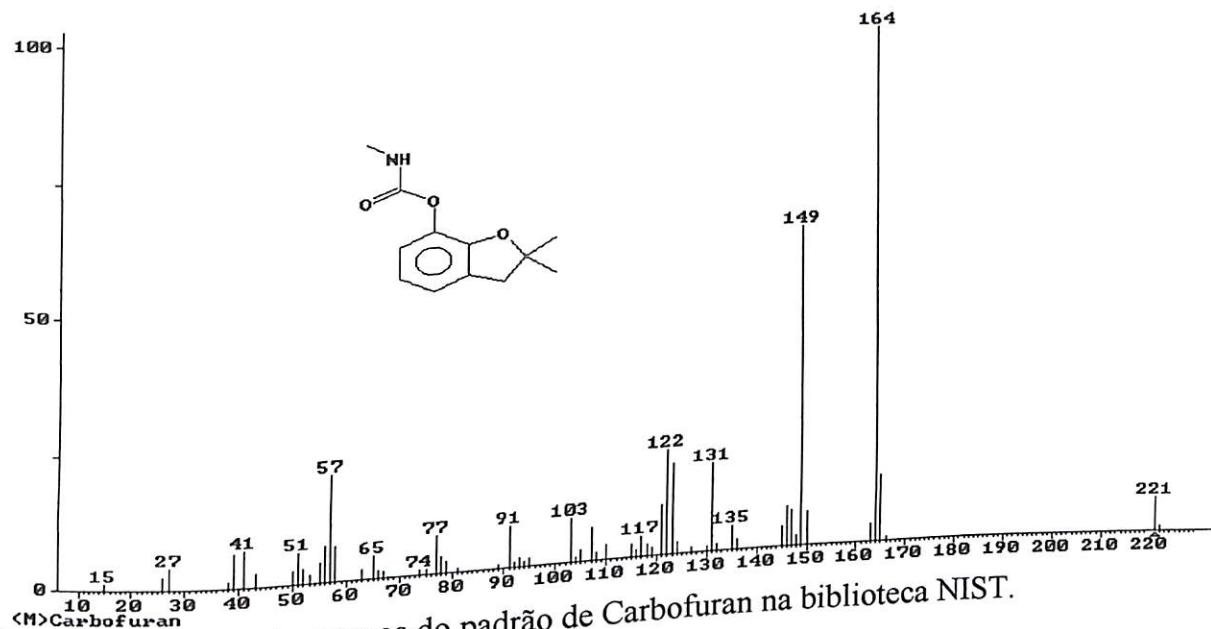


Figura 20: Espectro de massas do padrão de Carbofuran na biblioteca NIST.

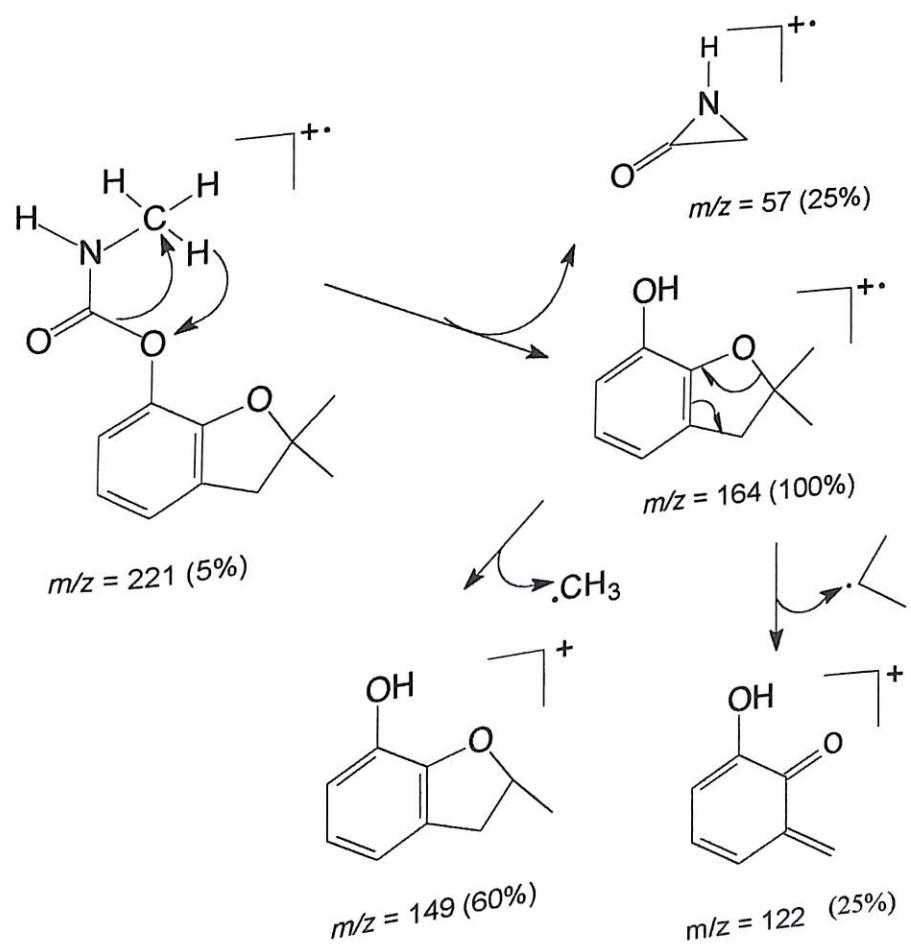


Figura 21: Proposta de fragmentação para o Carbofuran

Depois de obtido os resultados das análises do CGAR-DSM para o Carbofuran, foi feita a confirmação de que o mesmo pode ser analisado por CGAR.

A mesma análise foi então repetida para o padrão de Tebuconazole, sendo que neste padrão não foi realizado o modo de aquisição MSI, somente o modo SCAN, já que se tinha a confirmação de que o mesmo respondia as análises de traços (figura 22).

As espectrotéca NIST e Wiley não apresentava o espectro de massas do tebuconazole para análise comparativa. Assim confirmou-se seu espectro através do estudo da proposta de fragmentação (figura 24).

Na análise do espectro de massas do pico obtido no TIC do padrão de Tebuconazole (figura 23), observou-se que ele também possui íon molecular ímpar $m/z = 307$ (5%), o qual produz uma série de outros fragmentos ionizados. Outra observação é a presença de pico $M + 2$ com aproximadamente um terço da intensidade do íon molecular, confirmando a presença de um átomo de cloro na molécula em dois fragmentos, o do íon molecular $m/z = 250$ (90%) e $m/z = 125$ (100%).

Do íon molecular de $m/z = 307$ (5%) após perda do radical metila ($.CH_3$) surge o íon de $m/z = 292$ (2%), por perda de água surge o íon $m/z = 274$ (5%) e os íons $m/z = 139$ (10%), $m/z = 168$ (8%).

O íon $m/z = 168$ após perda do radical ($.CH_3$) gera o íon $m/z = 153$ (7%) que após rearranjo intra molecular que envolve migração de hidrogênio, gera os íons $m/z = 83$ (68%) e 70 (70%).

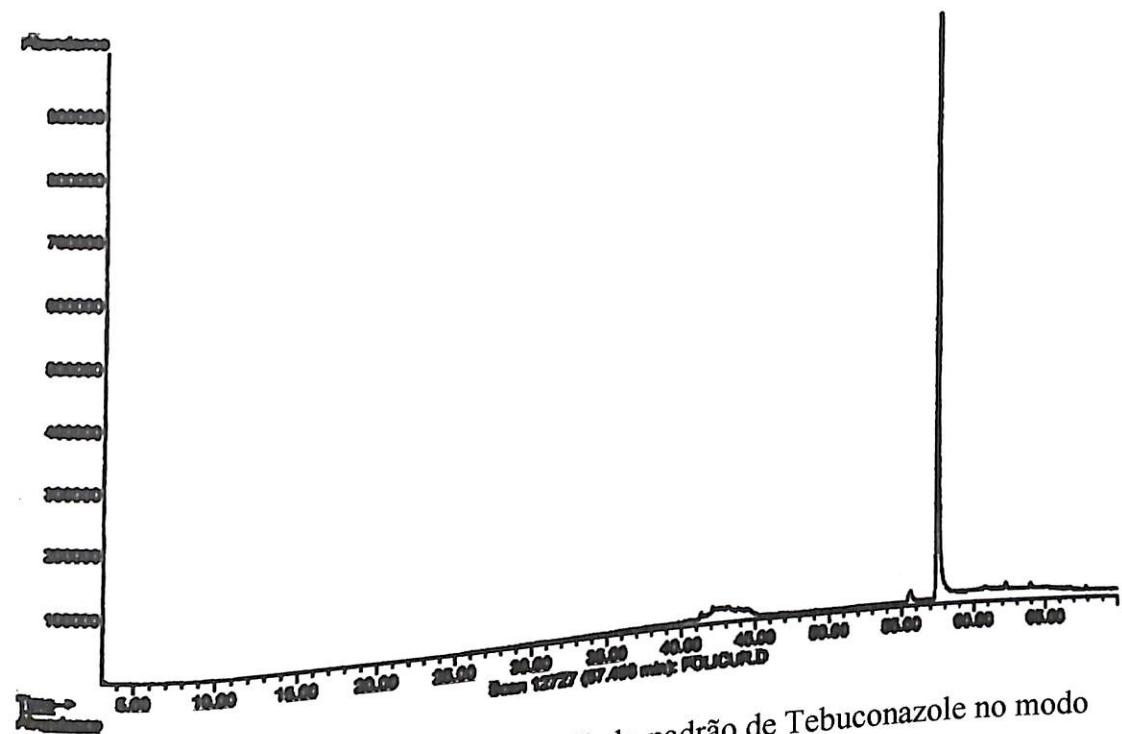


Figura 22: Cromatograma de Íons Totais (TIC) do padrão de Tebuconazole no modo SCAN.

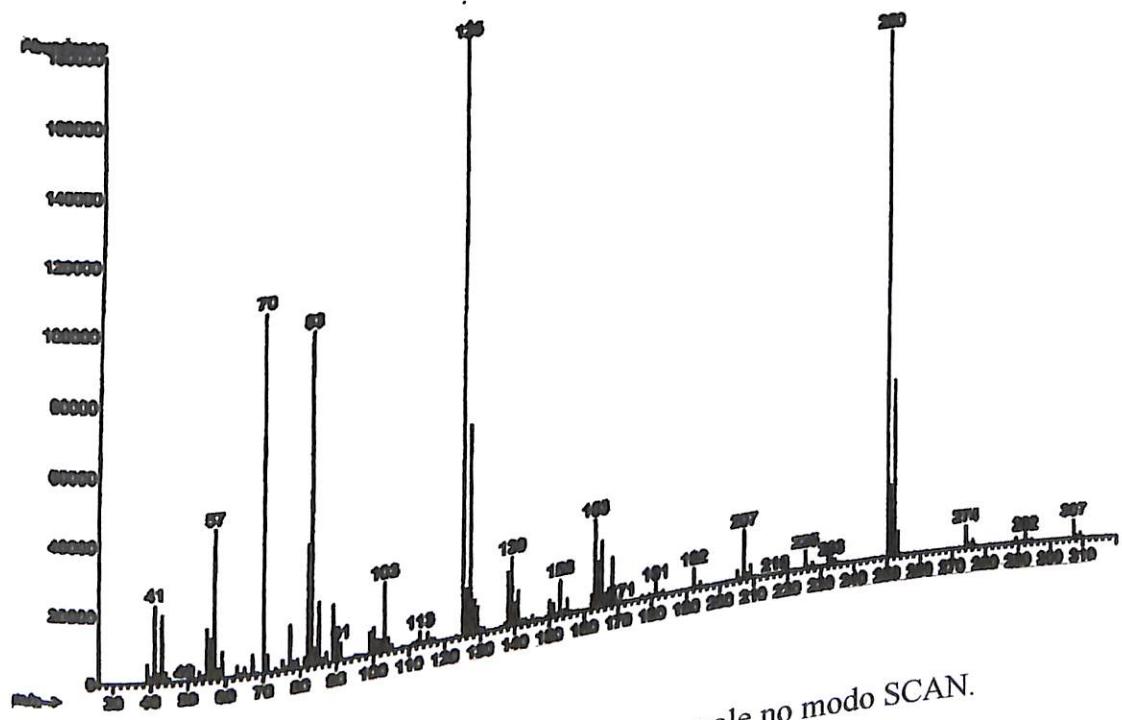


Figura 23: Espectro de massas do padrão de Tebuconazole no modo SCAN.

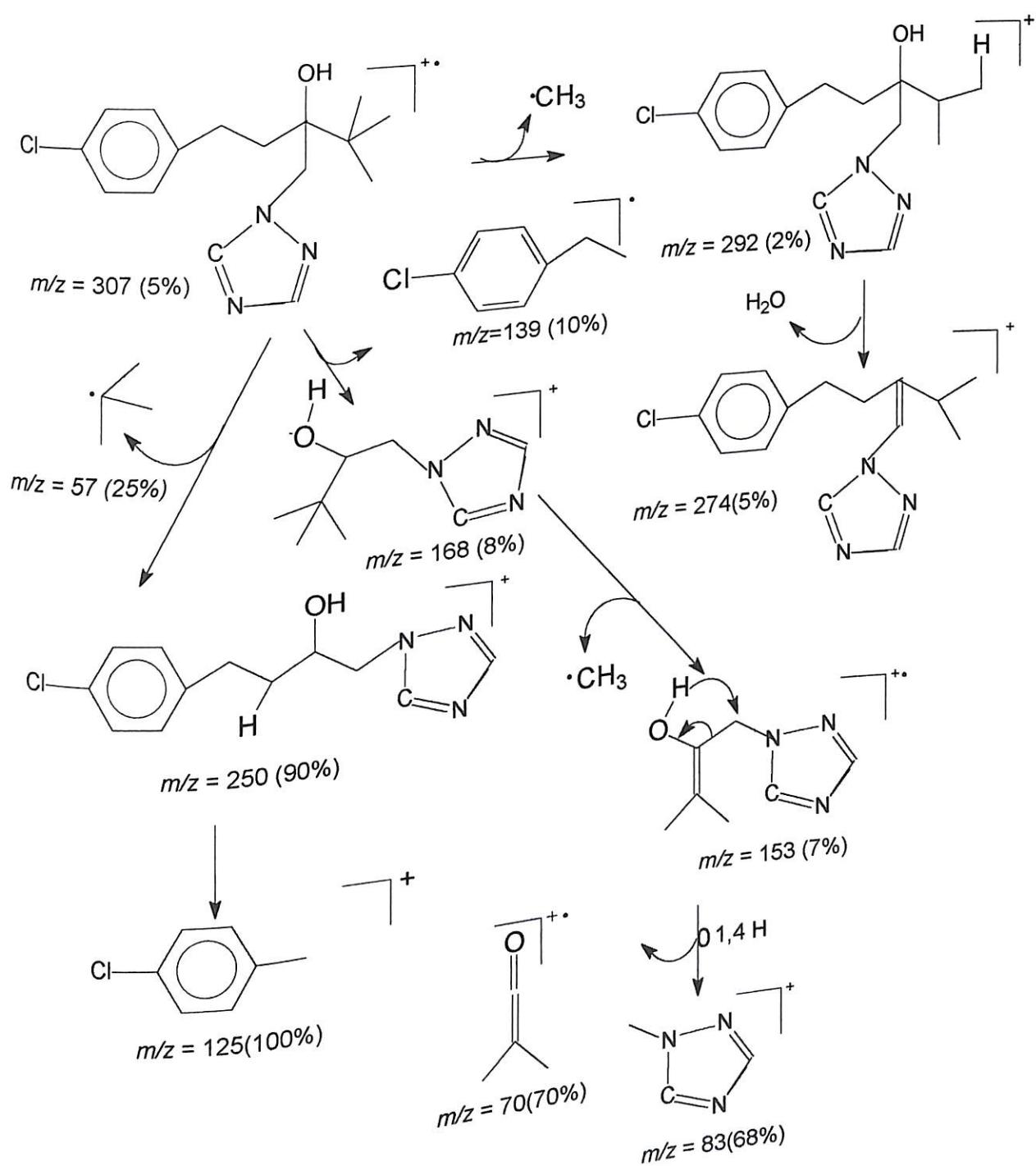


Figura 24: Proposta de fragmentação para o Tebuconazole.

7. CONCLUSÃO

O Método Oficial de extração de resíduos de agrotóxicos organoclorados e organofosforados utilizado neste trabalho, mostrou-se eficiente para análise de Carbofuran e Tebuconazole em amostras de bananas.

Após análise em CGAR-DSM dos padrões de Carbofuran e Tebuconazole ficou confirmado que os mesmos podem ser analisados por CGAR-DNP.

As 79 amostras de banana (casca e polpa) analisadas não apresentaram resíduos de Carbofuran e Tebuconazole acima dos LMRs estabelecidos pelo Codex Alimentarius. Tudo indica que os tratamentos utilizados no plantio da estação experimental da EPAMIG para estes dois agrotóxicos apresentam-se eficientes quanto ao LMR, já que por intermédio das amostras estudadas, pode-se concluir que as bananas estão aptas ao consumo e não irão prejudicar as exportações. Entretanto notou-se que os resultados obtidos para os resíduos de Tebuconazole não apresentaram semelhança para as amostras analisadas, concluindo-se que o método de pulverização aplicado com o Folicur em toda área plantada não foi homogêneo.

8. SUGESTÃO

Segundo a literatura, a possibilidade de análise dos compostos estudados neste trabalho por CGAR sem derivatização era descartada, pois os mesmos degradavam no sistema de injeção. Sugere-se que antes de dar início a análise de compostos considerados termolábeis, seja testada a técnica de CGAR, pois os sistemas de injeção estão se modernizando, diminuindo a possibilidade de degradação, o que possibilita a obtenção de uma técnica mais rápida para análise desses compostos.

9. BIBLIOGRAFIA

ALVES, E. J. **A cultura da banana.** Aspectos técnicos, sócio-econômicos e agroindustriais. Brasília: Embrapa - SPI/Cruz das Almas: Embrapa CNPMF, 1997. 585p.

ALVES, E. J.; SHEPHERD, K.; MESQUITA, A. L. M.; CORDEIRO, Z. J. M. Caracterização e avaliação de germoplasma de banana (*Musa spp*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 7, 1984, Florianópolis, **Resumo...**, Florianópolis, SC: SBF/EMPASC, 1984, v.1 p. 203-212.

ANALYTICAL METHODS FOR PESTICIDE RESIDUES IN FOODSTUFFS, Sixth Edition, Ministry of Public Health, Welfare and Sport, The Netherlands. Part I, 1996, p.4.

ARREAGA, B. J.; SYLTIE, P. W.; MANOSALVAS, L. Controle de *Radopholus Similis* (Cobb) Thorne, producción de bananos y factores económicos en Ecuador, utilizando sincocin y agrispon (agentes biológicos), aldicarb y fenamifos. **Musarama**, Montpellier, (Resumos) v.5, n.1, 1992, p. 17.

BLAKE, C. D. Nematode diseases of banana plantations. In: WRBSTER, J. M. **Economic Nematology**, London: Academic Press, 1972, p. 245-267.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Defesa e inspeção Vegetal. Coordenação de fiscalização de agrotóxicos. **AGRO FIT 97** sistema de produtos fitossanitários. Brasília, DF: Laboratório de Resíduos de Pesticidas, ISDF, 1997.

FOLHA DE SÃO PAULO. Brasil Usa e abusa de agrotóxicos. São Paulo, 03 de março, 1998. Agrofolha, Seção do 5º Caderno.

BUREAU, E., MARIN, D., GUZMAN, J. El sistema de preaviso para el combate de la sigatoka negra, em banano y plantano. **Panama**: Union de Países Exportadores de Banano, 1992. 41p.

CALDERÓN R., R., VELIZE., C. Instructivo sobre el combate de la sigatoka negra del banano. San José, Costa Rica. **ASBANA**, 1987. 14 p. (ASBANA. Boletín, 3).

CORDEIRO, Z. J. M.; KIMATI, H. Doenças da bananeira (*Musa spp*) In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997, v.2: Doenças das plantas cultivadas, cap. 13, p. 112-136.

CIOLA, R. **Fundamentos da Cromatografia Gasosa**, Editora Edgard Blucher Ltda, 1985.

EL SEBAE, A. H. Special problems experienced with pesticide use in developing countries. **Regul. Toxicol. Pharmacol.**, v.17, 1993, p.287 - 291.

FAO. **CODEX ALIMENTARIUS: Pesticides Residues in Food**. Roma, 1996. V. 2b.

FERRER, A, CABRAL, R. Toxic epidemics caused by alimentary exposure to pesticides: a review. **Food Additives and Contaminants**, v. 26, 1991, p. 755 - 776.

FUNDAÇÃO CARGILL. **Agrotóxicos: legislação básica**. Campinas, SP, 1991.

HERRMAN, J.L. The role and the world health organization in the evaluation of pesticides. **Regul. Toxicol. Pharmacol.**, v. 17, 1993, p.282-286.

INTERNATIONAL LIFE SCIENCE INSTITUTE OF BRAZIL (ILSE), Relação de substâncias para uso fitossanitário e domissanitário: Portarias do Ministério da Agricultura. São Paulo, SP: ISLE, 1995.

ITAL. Instituto de Tecnologia de Alimentos. Resíduos de Pesticidas em Alimentos, Campinas, 1985.

ISDF. Instituto de Saúde do Distrito Federal. LabPest (versão 3.1): Pesticidas para uso agropecuário. Brasília, DF: Laboratório de Resíduos de Pesticidas, ISDF, 1997.

KIMATI, M.; GALLI, F. Doenças da bamaeira *Musa* spp. In: Manual de Fitopatologia; doenças das plantas cultivadas. São Paulo. Ed. Agronômica Ceres, 1980. V.2, p.87-101.

KLEIN, A. W., GOEDICKE, J., HERCHEN, M., KORDEL, W. Environmental assessment of pesticides under Directive 91/414/EEC. Chemosphere, v. 26, 1993, p. 979-1001.

KRIJGSMAN, W.; VAN de KAMP, C. G. Analysis of organophosphorus pesticides by gas chromatography with flame photometric detection. *J. Chromatogr.* 177, 1976, p. 201.

LACASSIE, E., DREYFUSS, M. F., DAGUET, J. L., VIGNAUD, M., MARQUET, P., LACHÂTRE, G. Multiresidue determination of pesticides in apples and pears by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, 805, 1998, p. 319-326.

LACORTE, S., MOLINA, C., BARCELÓ, D.; *Anal. Chem. Acta* 1993, n. 281, p. 71-84.

LOMBARDO, P. The FDA pesticides program: goals and new approaches. *J. Assoc. off. Anal. Chem.*, v.72, 1989, p. 518-520.

LOOSLI, R. *Triazines Toxicology* 1994, 91: 59-62.

LUKE, M. A.; FORBERG, J. E.; MASUMOTO, H. T. Extraction and cleanup of organophosphorus, organonitrogen and organochlorine pesticides in procedure using flame photometric and electrolytic conductivity detectors, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 58, 1975, 1020.

MARKUS, C. M. International harmonization of pesticide tolerances: legal, procedural and policy issues. *Food and Drug Journal*, v. 47, 1992, p. 701-738.

MEDINA, J. C. Cultura. In: ITAL (Campinas, SP). **Banana**: Cultura, matéria - prima, processamento e aspectos econômicos, 2.ed. Campinas: 1990. p. 1 - 131. (ITAL. Série Frutas Tropicais, 3).

MOREIRA, R. S. **Banana, Teoria e Prática de Cultivo**. Fundação Cargill, SP. No 222, outubro de 1999.

MOREIRA, R. S. **Banana; Teoria e Prática de Cultivo**. Campinas, SP: Fundação Cargill, 1987. 335 p.

OKUMURA, T., NISHIKAWA, Y., *J. Chromatogr A*, 709 (1995) 319 - 331.

PAWLISZYN, J., **Solid Phase Microextraction. Theory and Practice**, Wiley - VHC, New York, NY, 1997, p.3.

PEREIRA, L. V., CORDEIRO, Z. J. M., FIGUEIRA, A. R., MATOS, A. P. HINZ, R. H. Doenças da bananeira. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.20, 1999, n.196, p.37-47, jan./fev.

PESTICIDE ANALYTICAL MANUAL - PAM I, 1999, U. S. Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition Office of Plant and Dairy Foods and Beverages 1994, Updated October, 1999.

RAM, M. RAM, M., STEWARD, F. C. Growth and development of the banana plant. III. A The origin of the inflorescence and the development of the flowers. B. The structure and development of the fruit. *Annals of Botany*, London, v.26, n. 104, 1962, p. 657 - 671.

REIS, P. R.; SOUZA, J. C. de Principais pragas da bananeira. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.12, n. 133, 1986, p. 45-55.

RICKET D. L., GLEEN, J.F. AND BEERS, E. T.; *Neurotoxicology*, 1986, n. 7, p. 225-236.

RIPLEY, B. D., LISSEMORE, L. I., LEISHMN, P. D., DENOMME, M. A., RITTER, L. Pesticide residues on fruits and vegetables from Ontario, Canadá, 1991 - 1995. *J. of A.O.A.C*, v. 83, 2000, p 196 - 213.

SILVA, C. F., CARDEAL, L. Z., CARVALHO, R. C. Determinação de pesticidas organofosforados em água usando microextração em fase sólida e CGAR - EM. *Química Nova* 1999, v. 22. N.2 São Paulo, mar/abri..

SILVERSTEIN, R. M., BASSLER, G. CLAYTON & MORRILL, T. C., "Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos", 5 nd. Ed., Guanabara Koogan S. A., Rio de Janeiro (1994).

SIMMONDS, N. W. *Las platanos*. Barcelona: Blume, 1973. 539p.

SPLITTER J. S., and TURECEK, F., in *Aplications of Mass Spectrometry to Organic Stereochemistry*, 1 nd ed, VCM, New York, 1993, pg 17 - 36.

STOVER, R. H.; SIMMONDS, N. W. *Bananas*, 3ed. New York: Longman Scientific & Technical, 1987, 468p.

TOLEDO, HELOISA H. B., INOMATA, ODETE N. K. & LEMES, VERA R. R., apostila do curso "análise de resíduos de pesticidas", ministrado de 06 a 07 de março de 1997, no Instituto Adolf Lutz, São Paulo.

VILARDEBO, A. Applications des resultats de recherches de lutte contre la namatose de bananier dué a *Radopholus Similis*, Cobb dans l'ouest africain. *Nematropia*, Gainsville, v.11, n.2, 1981, p.193-207.

VITALI, M., GUIDOTTI, M., GIOVINAZZO, R., CEDRONE, O. Determination of pesticide in wine by SPME and GC/MS for consumer risk assessment. *Food Additives and Contaminants*, 1999, vol.15, n° 3, p.280-287.

WALKER, C. H.; HOPKIN, S.P.; SIBLY, R. M. AND PEAKAL, D. B. 1996, Principles of Ecotoxicology. 1st edition, *Taylor & Francis Ltd.*, London.

WALSH, J. D., DEFELICE, M. S., SIMS, B. D. Soybean (Glycine mak) herbicide carryover to grain and fiber crops. *Weed Technology*, Champaign, v.7, n.3, 1993, p. 625 - 632, jul./sep.

WHO/UNEP.; *J. Chromatogr.* 1997, 774, 253-263.

ANEXO I

CROMATOGRAMAS DOS PADRÕES DE CARBOFURAN E
TEBUCONAZOLE COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES EM
CGAR-DNP

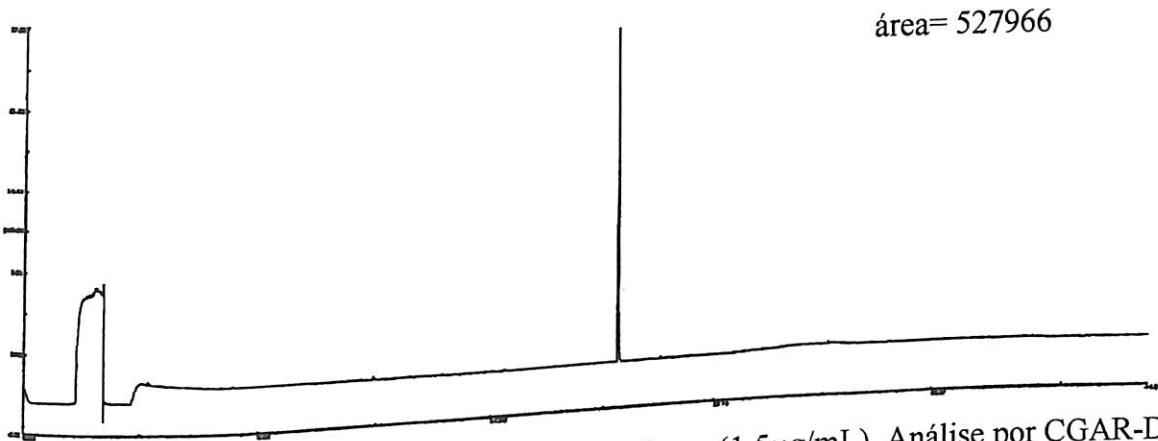


Figura 25: Análise da solução padrão de Carbofuran (1,5 μ g/mL). Análise por CGAR-DNP.

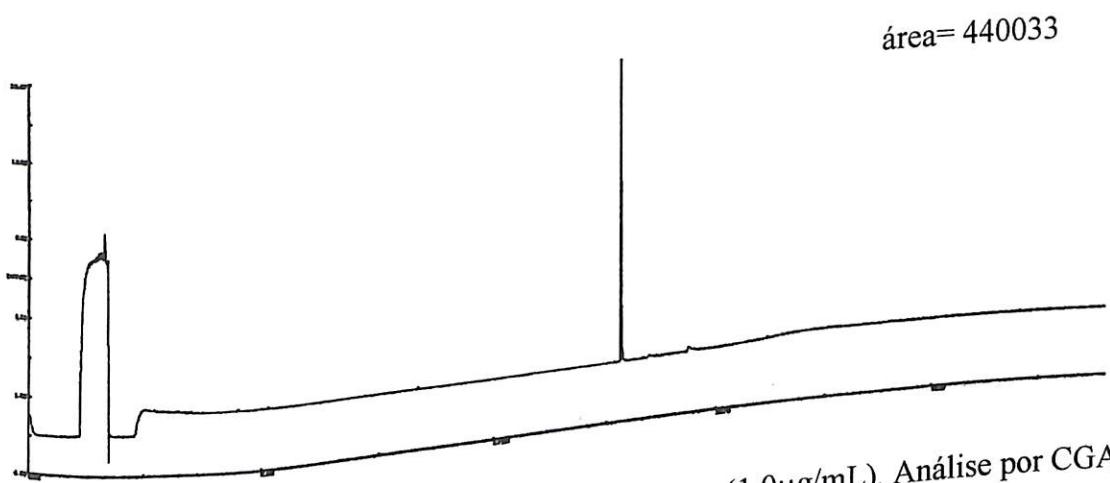


Figura 26: Análise da solução padrão de Carbofuran (1,0 μ g/mL). Análise por CGAR-DNP.

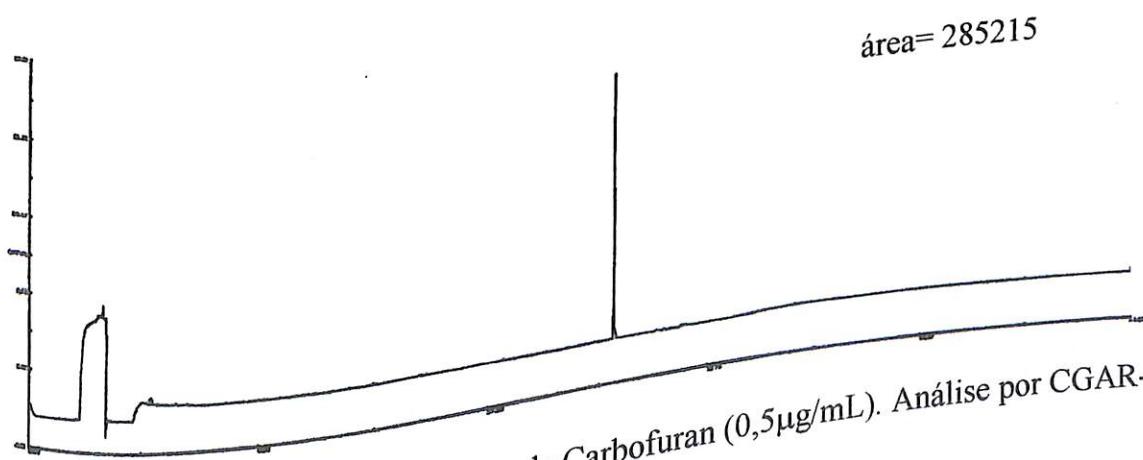


Figura 27: Análise da solução padrão de Carbofuran (0,5 μ g/mL). Análise por CGAR-DNP.

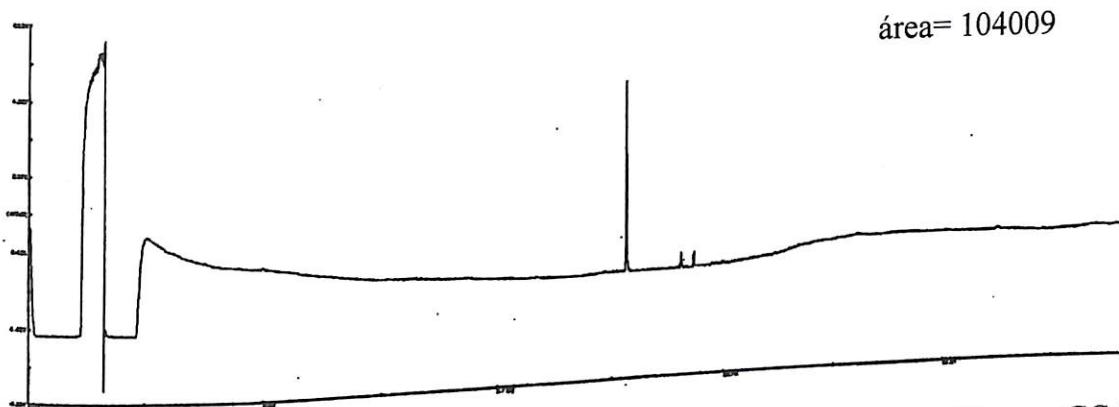


Figura 28: Análise da solução padrão de Carbofuran ($0,1\mu\text{g/mL}$). Análise por CGAR-DNP.

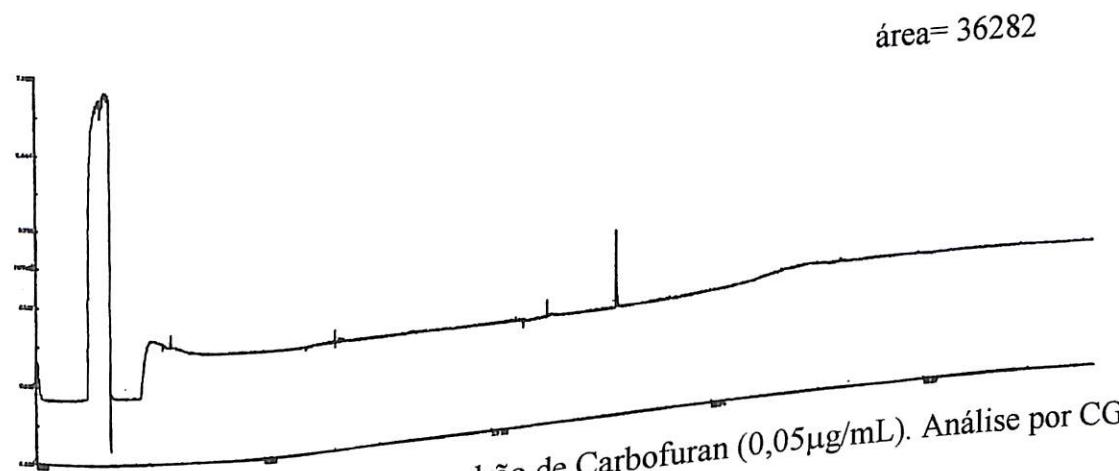


Figura 29: Análise da solução padrão de Carbofuran ($0,05\mu\text{g/mL}$). Análise por CGAR-DNP.

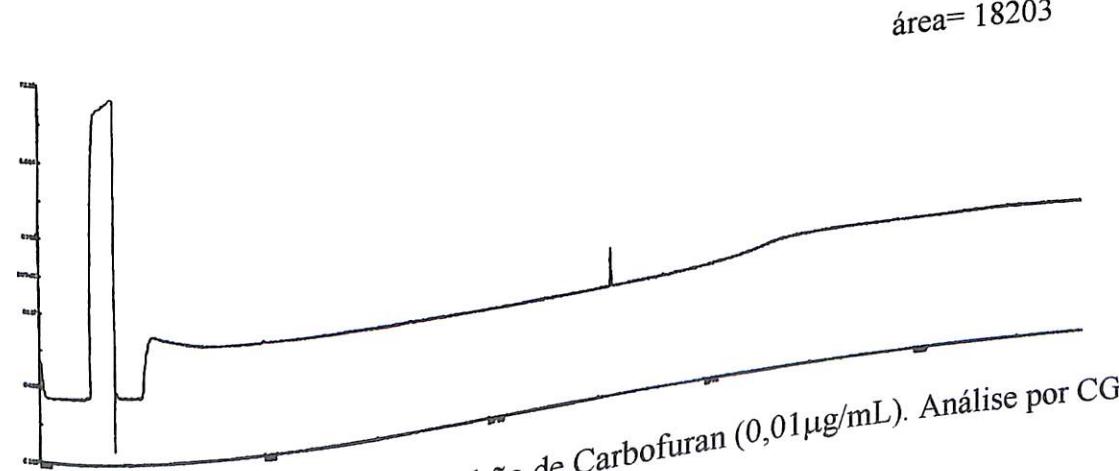


Figura 30: Análise da solução padrão de Carbofuran ($0,01\mu\text{g/mL}$). Análise por CGAR-DNP.

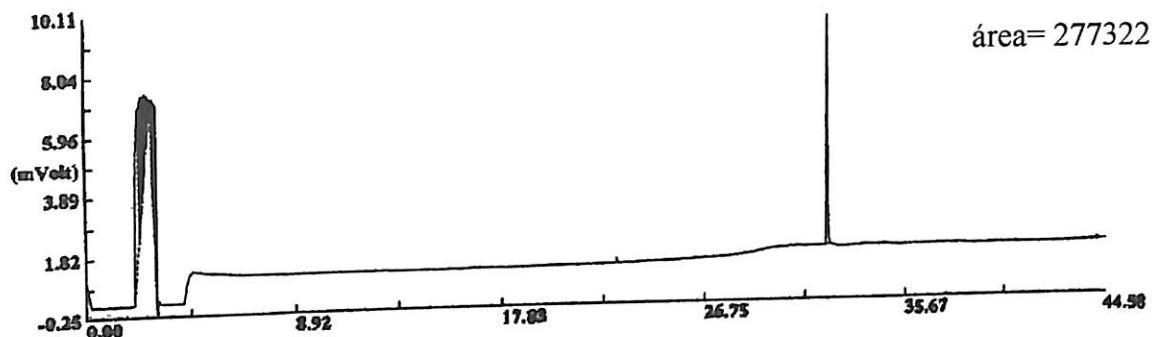


Figura 31: Análise da solução padrão de Tebuconazole ($1,5\mu\text{g/mL}$). Análise por CGAR-DNP.

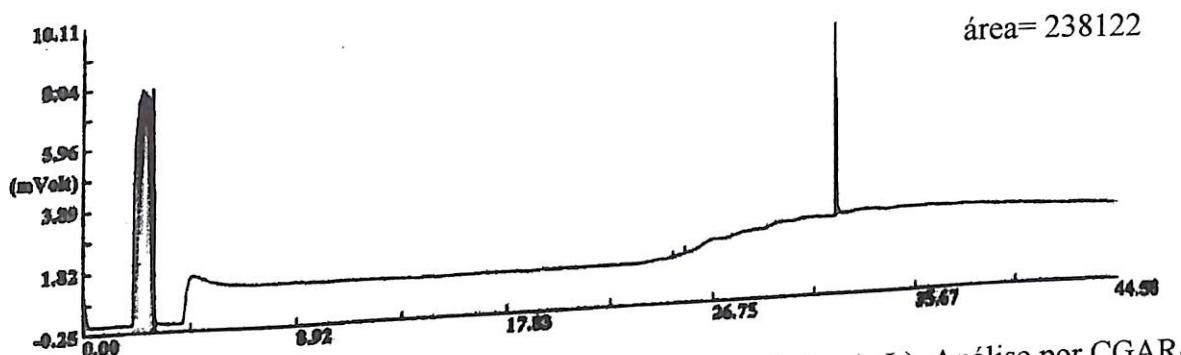


Figura 32: Análise da solução padrão de Tebuconazole ($1,0\mu\text{g/mL}$). Análise por CGAR-DNP.

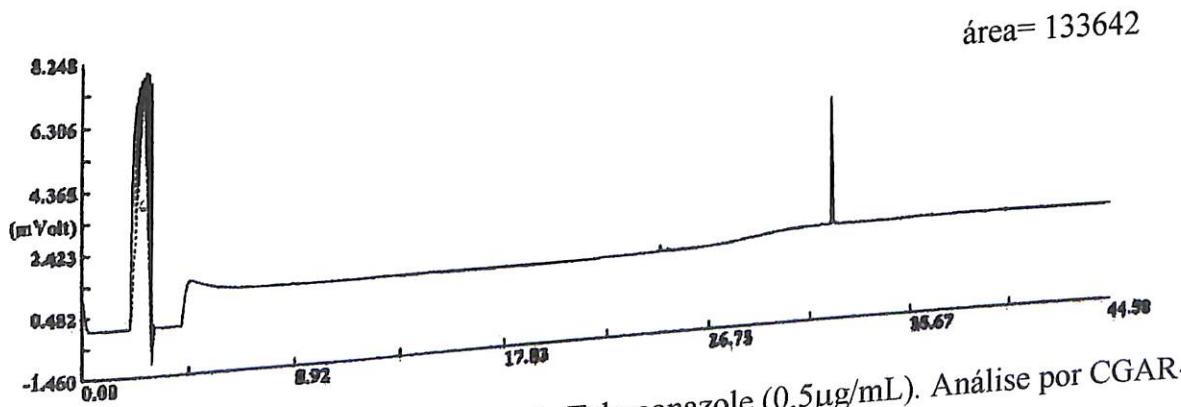


Figura 33: Análise da solução padrão de Tebuconazole ($0,5\mu\text{g/mL}$). Análise por CGAR-DNP.

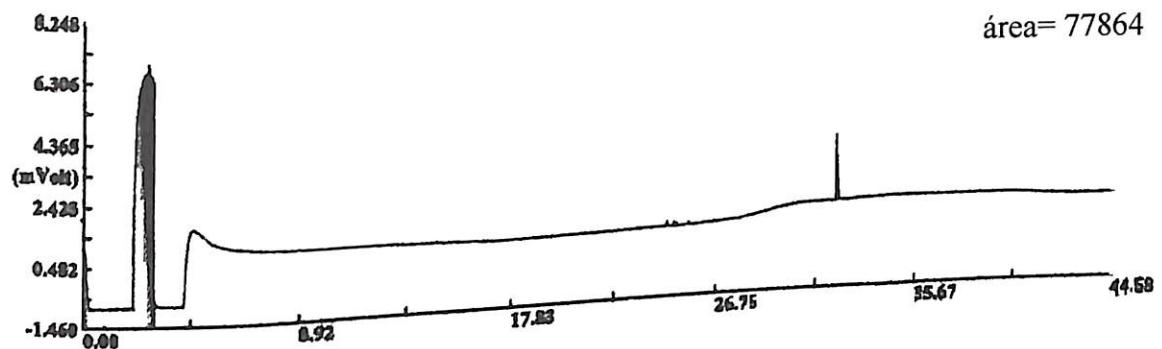


Figura 34: Análise da solução padrão de Tebuconazole ($0,1\mu\text{g}/\text{mL}$). Análise por CGAR-DNP.

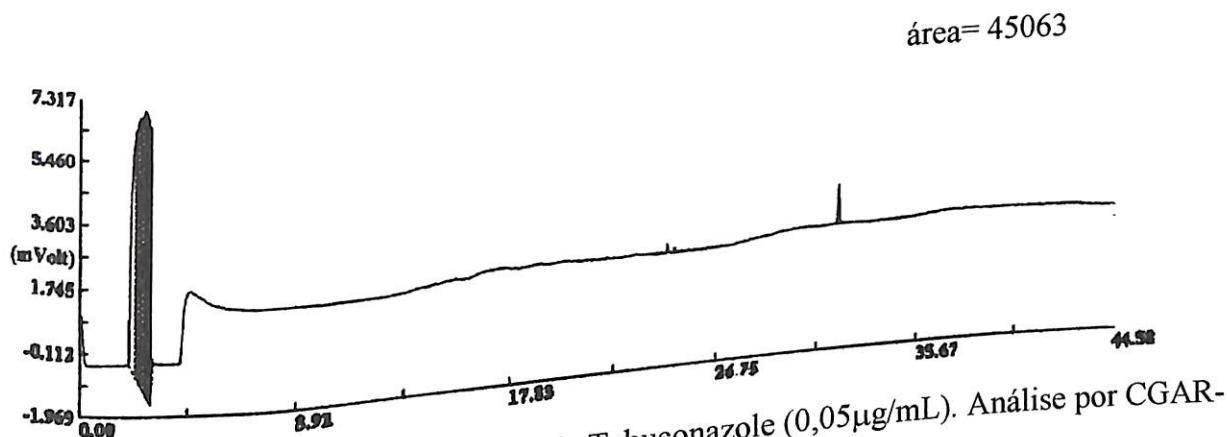


Figura 35: Análise da solução padrão de Tebuconazole ($0,05\mu\text{g}/\text{mL}$). Análise por CGAR-DNP.

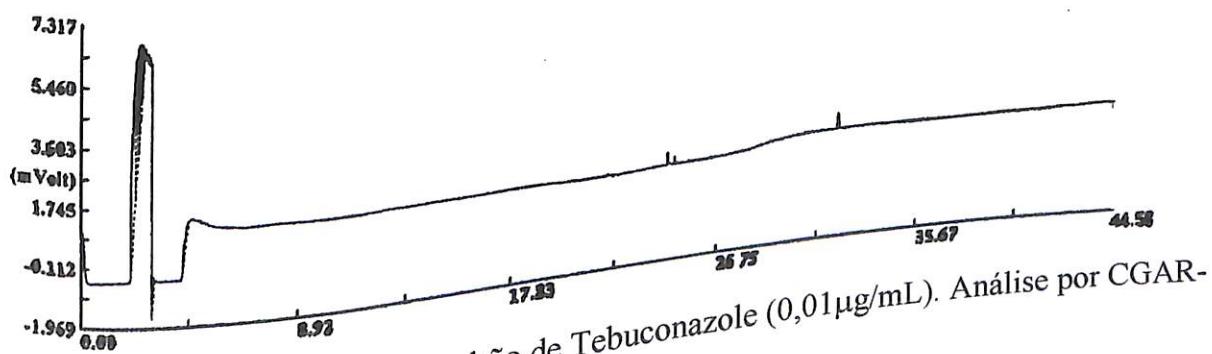


Figura 36: Análise da solução padrão de Tebuconazole ($0,01\mu\text{g}/\text{mL}$). Análise por CGAR-DNP.

ANEXO II

CROMATOGRAMAS DOS EXTRATOS COM RESÍDUOS DE
TEBUCONAZOLE EM CGAR-DNP

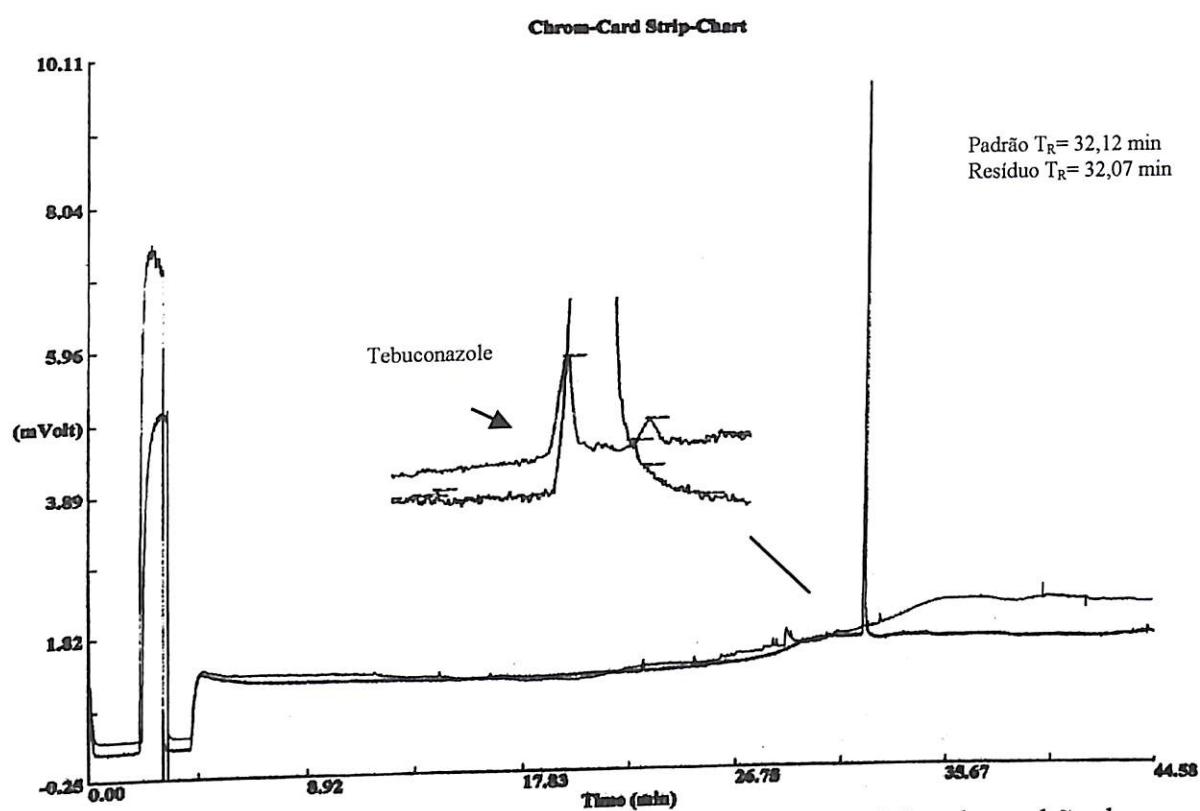


Figura 37: Sobreposição dos picos do extrato da polpa (coleta 23/04) e do padrão de Tebuconazole.

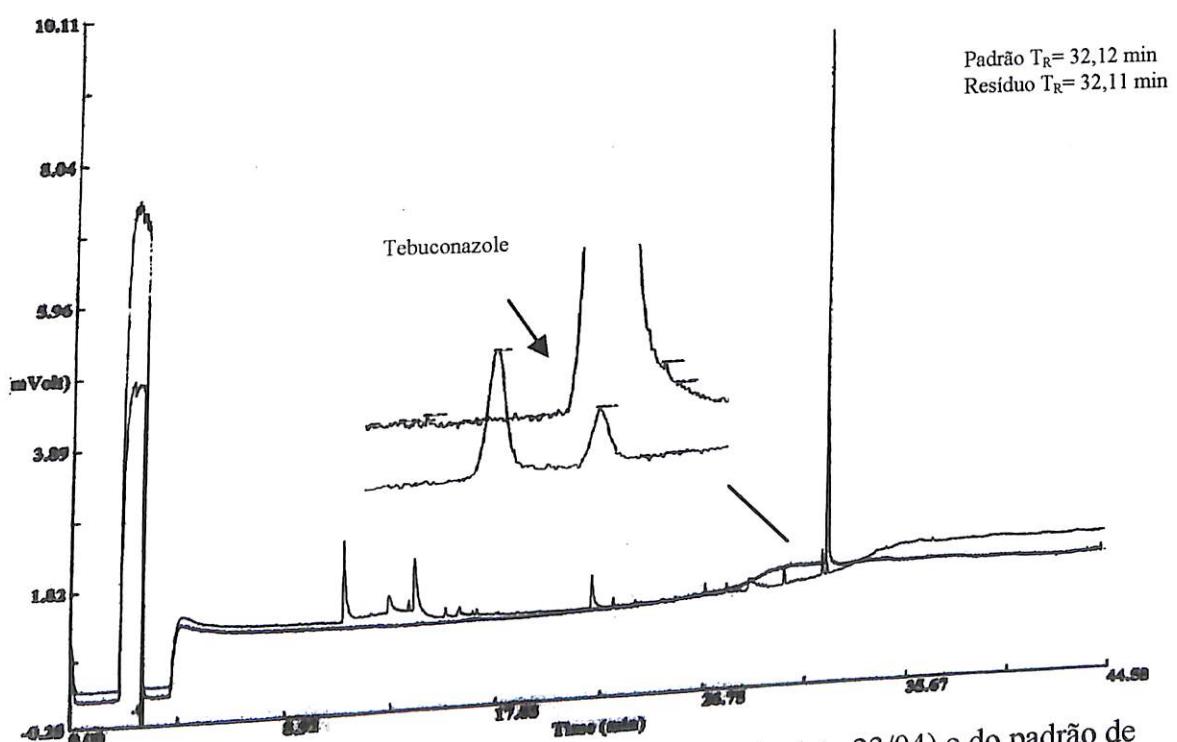


Figura 38: Sobreposição dos picos do extrato da casca (coleta 23/04) e do padrão de Tebuconazole.

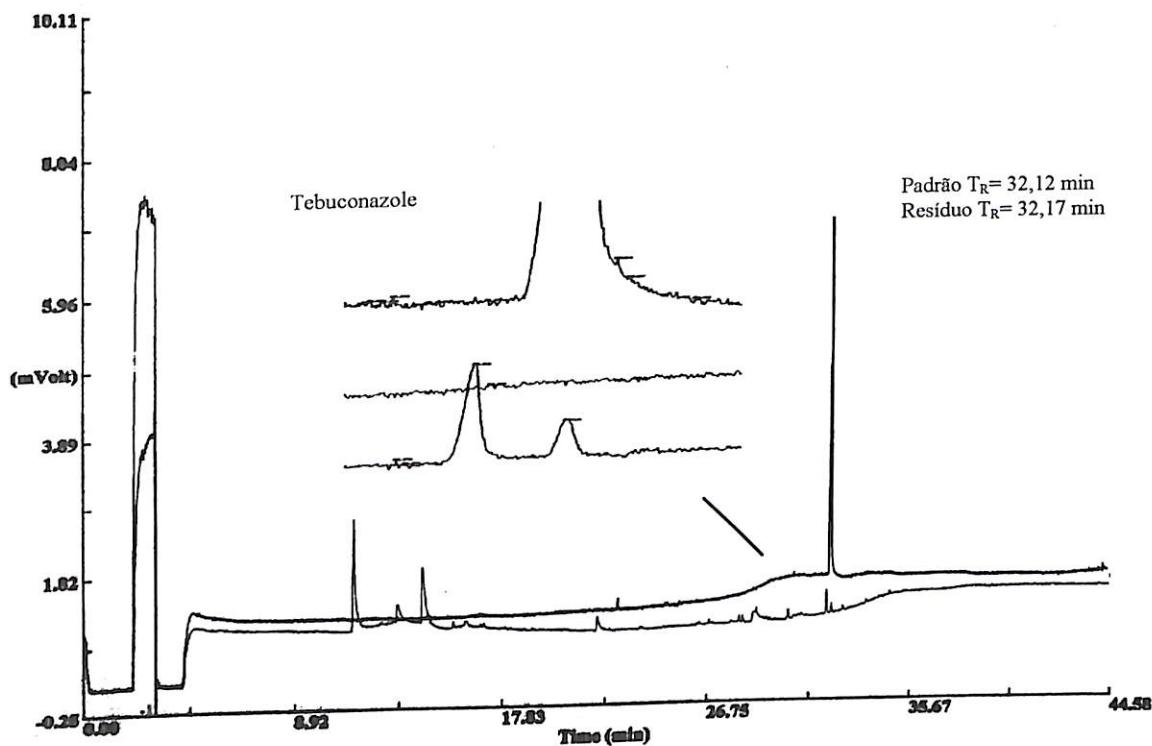


Figura 39: Sobreposição dos picos do extrato da casca (coleta 26/04) e do padrão de Tebuconazole.

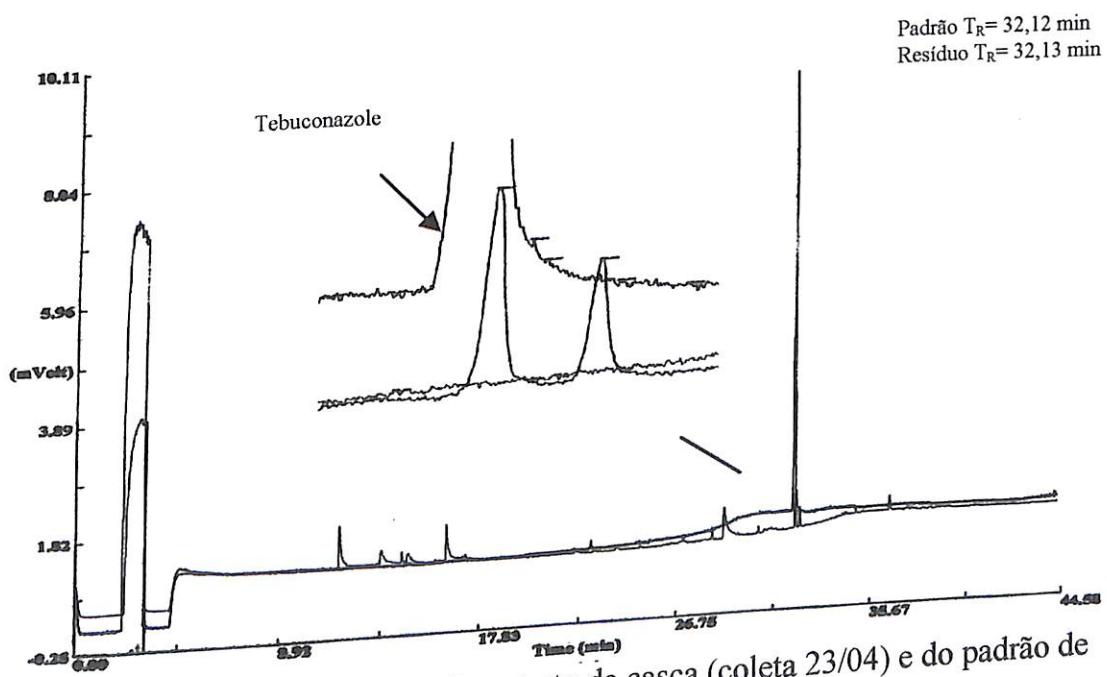


Figura 40: Sobreposição dos picos do extrato da casca (coleta 23/04) e do padrão de Tebuconazole.

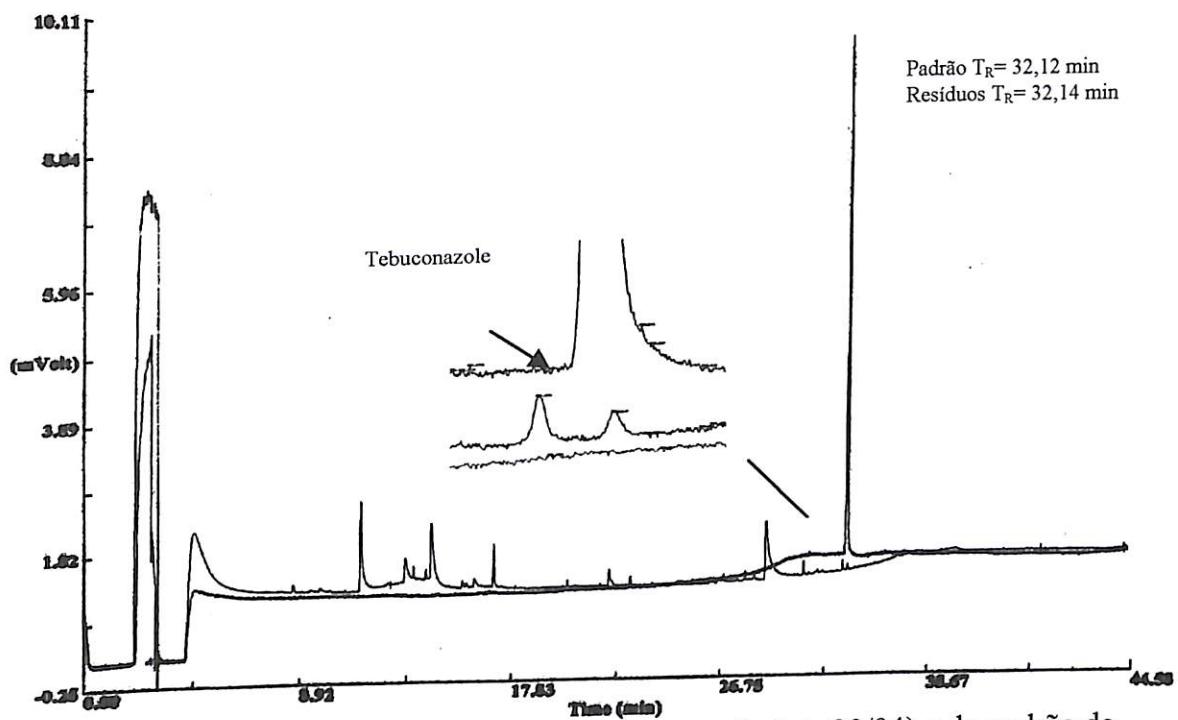


Figura 41: Sobreposição dos picos do extrato da casca (coleta 20/04) e do padrão de Tebuconazole.

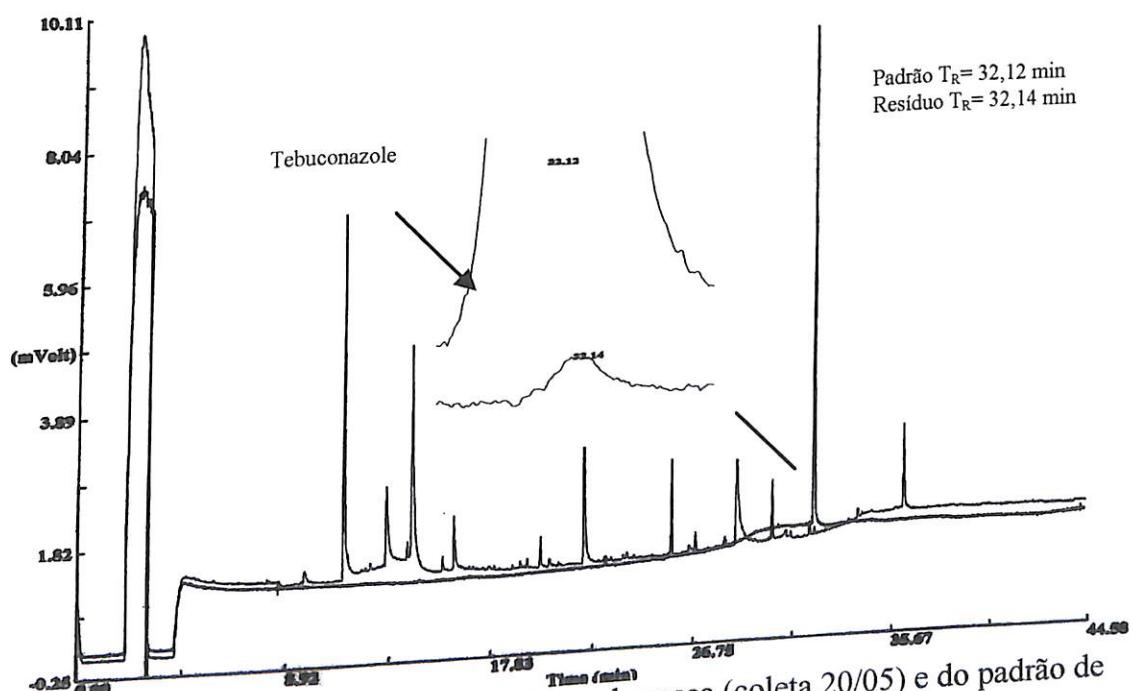


Figura 42: Sobreposição dos picos do extrato da casca (coleta 20/05) e do padrão de Tebuconazole.

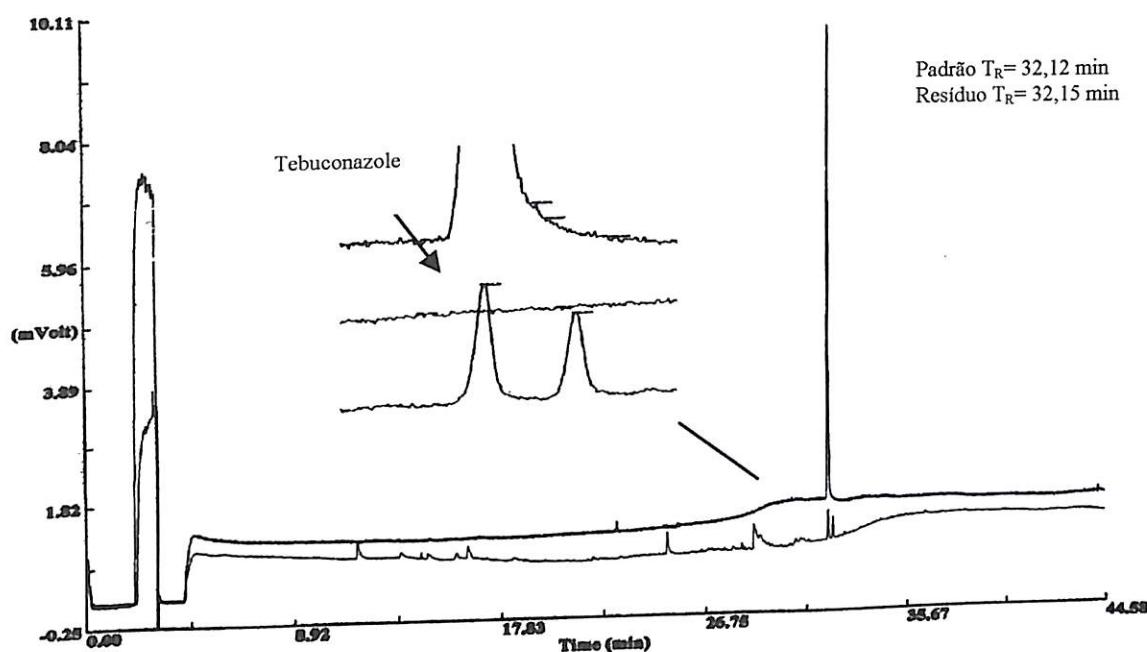


Figura 43: Sobreposição dos picos do extrato da casca (coleta 30/04) e do padrão de Tebuconazole

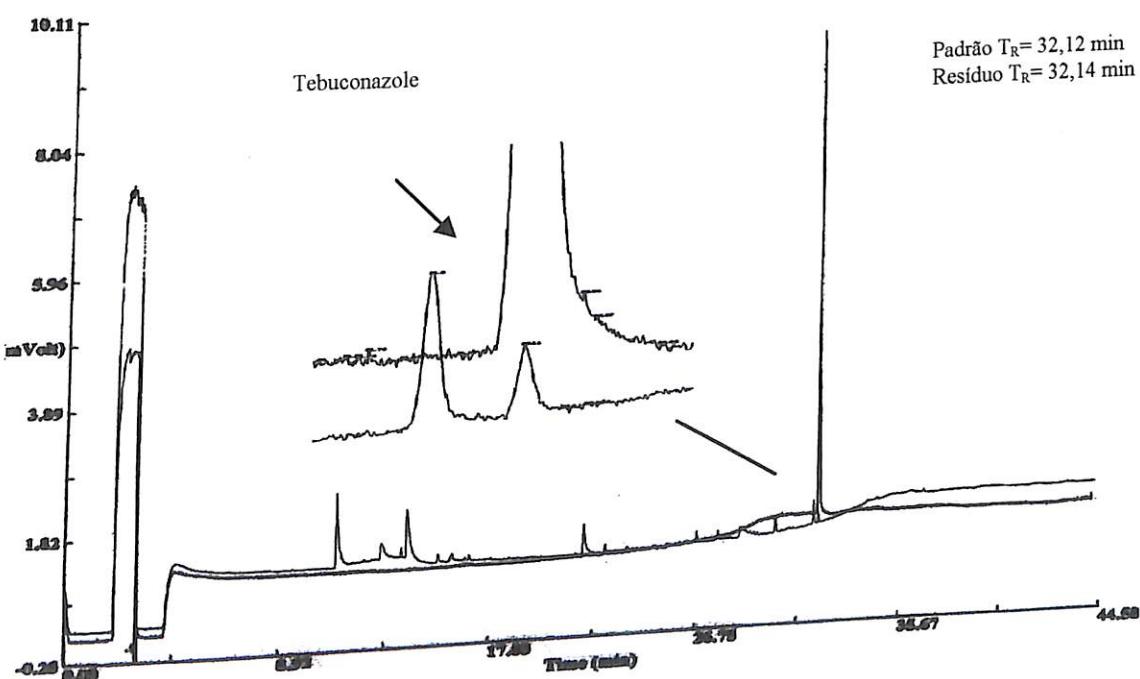


Figura 44: Sobreposição dos picos do extrato da casca (coleta 23/04) e do padrão de Tebuconazole.

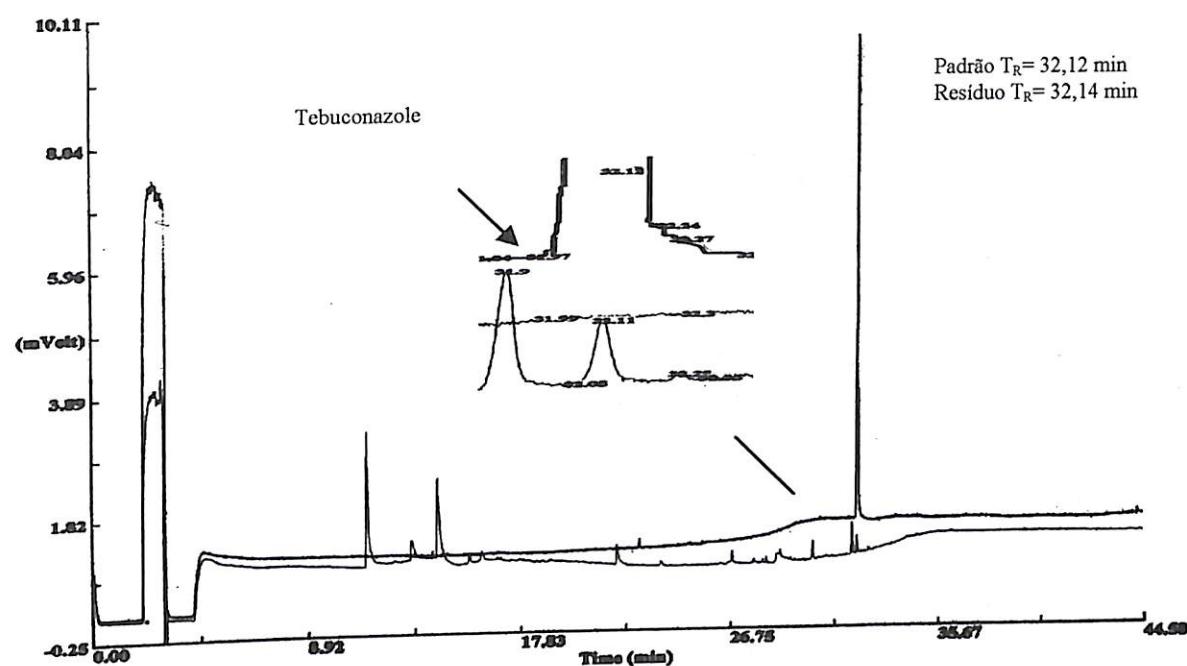


Figura 45: Sobreposição dos picos dos extratos da casca (coleta 26/04) e do padrão de Tebuconazole.

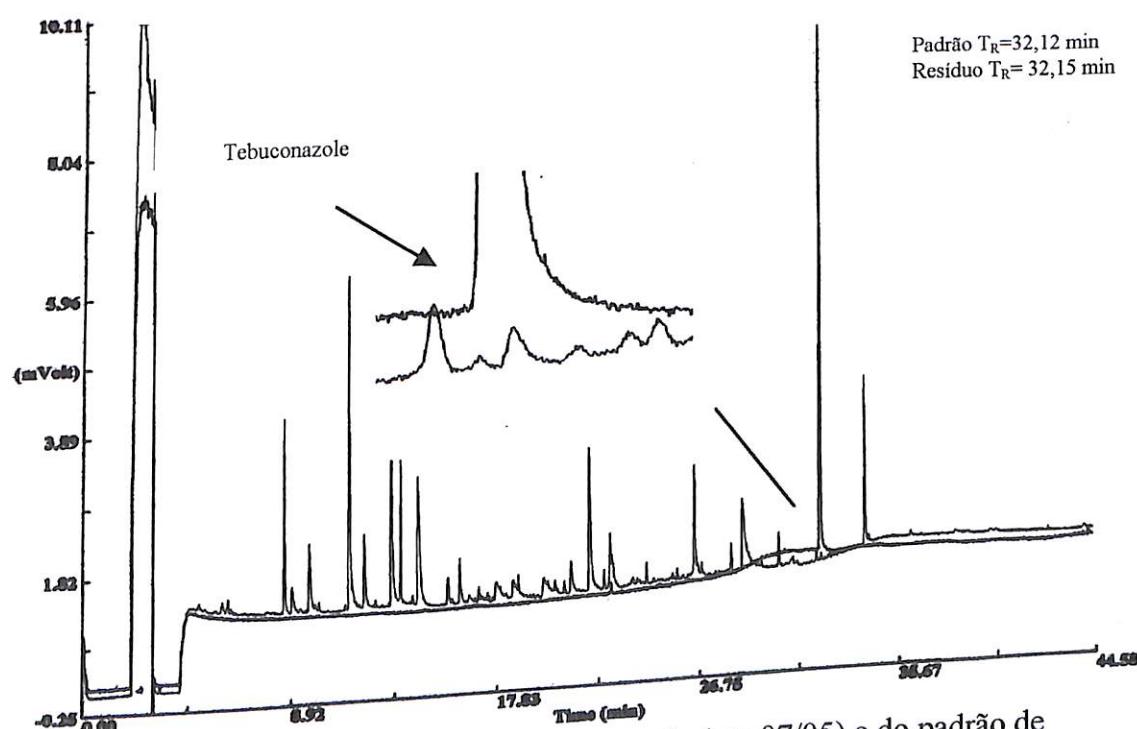


Figura 46: Sobreposição dos picos do extrato da casca (coleta 07/05) e do padrão de Tebuconazole