



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO
MULTIRRESÍDUO PARA DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS EM
ARROZ POLIDO UTILIZANDO MÉTODO QuEChERS MODIFICADO,
CLEAN-UP DISPERSIVO E GC-MS (NCI-SIM)**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Osmar Damian Prestes

Santa Maria, RS, Brasil

2007

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO MULTIRRESÍDUO
PARA DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS EM ARROZ POLIDO
UTILIZANDO MÉTODO QuEChERS MODIFICADO, CLEAN-UP
DISPERSIVO E GC-MS (NCI-SIM)**

por

Osmar Damian Prestes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química,
Área de Concentração em Química Analítica, da Universidade Federal
de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do
grau de **MESTRE EM QUÍMICA**

Orientador: Renato Zanella

Santa Maria, RS, Brasil

2007

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Química**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a
Dissertação de Mestrado

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO MULTIRRESÍDUO
PARA DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS EM ARROZ POLIDO
UTILIZANDO MÉTODO QuEChERS MODIFICADO, CLEAN-UP
DISPERSIVO E GC-MS (NCI-SIM)**

elaborada por
Osmar Damian Prestes

como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Química**

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Renato Zanella – Orientador
Universidade Federal de Santa Maria

Profa. Dra. Rosana de Cássia de Souza Schneider
Universidade de Santa Cruz do Sul

Profa. Dra. Martha Bohrer Adaime
Universidade Federal de Santa Maria

Santa Maria, 01 de março de 2007

“Nossa vida é um caminho cheio de incertezas,
as quais ninguém é capaz de prever,
por isso mais importante do que as coisas
que se tem na vida é quem temos na vida.”

Dedico este trabalho
a todas as pessoas importantes e
que fizeram a diferença na minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Renato Zanella agradeço a orientação neste trabalho, o apoio, o incentivo e a amizade, sempre se dispondo em ajudar incondicionalmente, propiciando um ambiente de trabalho favorável para discussão e análise de idéias e resultados.

À Profa. Dra. Martha Bohrer Adaime a quem não tive dificuldades em admirar, pela simplicidade ao lado de destacada sabedoria e, principalmente pela forma como trabalha essas virtudes. Obrigado pelas oportunidades, pelo carinho e por ter me recebido em seu laboratório, onde conduziu-me na vida científica e ensinou-me os primeiros conceitos de cromatografia.

À Prof. Dra. Ionara Pizzutti, por sua amizade, incentivo, pelas idéias e trabalhos compartilhados e que através do Projeto Alfa, possibilitou o meu aperfeiçoamento acadêmico e pessoal na Holanda.

Ao Dr. André de Kok do Food and Consumer Safety Authority Institute – VWA Amsterdã/Holanda, pela amizade, ensinamentos e acolhida em seu grupo de pesquisa. E aos amigos Peter, Marijke, Maurice, Jos e Martien que dedicaram seu tempo e tiveram paciência nos ensinamentos que foram essenciais para a realização deste estudo, sempre dispostos a me ajudar no que fosse preciso.

Aos colegas e amigos do LARP, agradeço por ter conhecido todos vocês e por fazerem parte da minha vida num universo que a cada dia se torna mais e mais desconhecido. Jamais esquecerei o que vivemos juntos, principalmente os bons momentos. Não deixem que o tempo e essa vida maluca que levamos, passem por cima de nossa amizade.

À Sandra e Márcia Botega pela maravilhosa convivência, pela parceria inigualável, pela cumplicidade e forte vínculo que se criou, pelas longas conversas e risadas. Vocês tornaram os obstáculos mais amenos e as conquistas mais saborosas e divertidas.

Aos membros da banca Profa. Dra. Rosana de Cássia de Souza Schneider, Profa. Dra. Martha Bohrer Adaime e Prof. Dr. Luis Antonio de Avila pelas excelentes contribuições e comentários na banca examinadora da defesa desta dissertação.

Aos meus antigos professores que me ensinaram com prazer e dedicação parte do que sei e, o que é mais importante, me ensinaram a aprender sozinho.

Ao Ademir e Valéria, funcionários da PPGQ, pela gentileza, simpatia e atenção no atendimento das suas tarefas.

A minha família, em especial a minha mãe que, assumindo responsabilidades de pai e mãe desde muito cedo, ensinou-me a cultivar os princípios e valores de honra, verdade e força. Obrigado pelo exemplo de trabalho, dedicação e disposição sem limites.

À todos os demais familiares e amigos, e a cada um que de alguma forma torceu por mim e assim ajudou-me a fortalecer e concretizar esse sonho.

A CAPES pelo auxílio financeiro

A Deus, que tanto me ajudou, dando-me saúde, paciência, entendimento e dirigindo meus caminhos, muitas vezes colocando pessoas especiais em minha vida.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Química
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO MULTIRRESÍDUO PARA DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS EM ARROZ POLIDO UTILIZANDO MÉTODO QuEChERS MODIFICADO, CLEAN-UP DISPERSIVO E GC-MS (NCI-SIM)

AUTOR: OSMAR DAMIAN PRESTES

ORIENTADOR: PROF. DR. RENATO ZANELLA

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 01 de março de 2007

O arroz é o principal componente da dieta básica da população mundial. É, portanto, de extrema importância para a segurança alimentar e, em função disso, aspectos relacionados à sua produção e consumo devem ser continuamente monitorados e avaliados em profundidade, para que o seu suprimento seja garantido. Neste estudo, foi desenvolvida e validada uma metodologia para a determinação, em grãos de arroz polido, de resíduos de 51 pesticidas, analisados utilizando o método de extração QuEChERS modificado e Cromatografia Gasosa com Detecção por Espectrometria de Massas, operando no modo de Ionização Química Negativa e Monitoramento do Ion Seleccionado (GC-MS NCI-SIM). Para isso, realizou-se a fortificação do arroz, previamente homogeneizado, com soluções contendo os 51 pesticidas, em 3 níveis de fortificação (10, 20 e 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$), 6 réplicas para cada nível, e aplicou-se o método QueChERS modificado. A extração por este método consistiu na pesagem de 10,0 g da matriz, adição de 10 mL de acetonitrila e procedeu-se a agitação manual e vigorosa, por cerca de 45 segundos. Acrescentou-se 3,0 g de sulfato de magnésio anidro e 1,7 g de acetato de sódio anidro, repetindo-se agitação. Foram, posteriormente, centrifugados por 8 minutos. A purificação dos extratos foi realizada através de *clean-up* dispersivo, onde 4 mL do extrato foram transferidos para outro tubo já contendo 600 mg de sulfato de magnésio anidro e 500 mg de C_{18} , repetindo-se a agitação e a centrifugação, e em seguida os extratos foram analisados por GC-MS NCI-SIM. Neste trabalho avaliou-se os seguintes parâmetros de validação do método: faixa de linearidade das curvas analíticas (7 níveis de concentração e seis injeções cada), limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), efeito matriz, bem como a precisão e a exatidão (em termos de percentual de recuperação). Em geral, os valores de LOD, LOQ e r^2 , obtidos por GC, foram influenciados pela utilização de extratos da matriz para o preparo das soluções analíticas. A faixa linear de concentração das curvas analíticas situou-se entre 1,0 ou 2,0 a 100,0 ng mL^{-1} com valores de $r^2 \geq 0,99$. A técnica GC-MS NCI modo SIM promoveu a quantificação (critérios de recuperação entre 70 e 120% e valores de $\text{RSD}\% \leq 20\%$) de 87% dos compostos que apresentaram LOQ_m de 10 ou 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Portanto, conclui-se que o método mostrou-se adequado à análise multirresíduo dos pesticidas em arroz, conciliando sensibilidade e seletividade adequadas, e todos os parâmetros de validação encontram-se dentro dos limites sugeridos para validação de métodos cromatográficos.

Palavras Chave: arroz, pesticidas, multirresíduo, método QhEChERS, GC-MS NCI-SIM

ABSTRACT

Master Dissertation
Undergraduate Program in Chemistry
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF MULTI-RESIDUE METHOD FOR PESTICIDES DETERMINATION IN POLISH RICE USING MODIFIED QuEChERS METHOD, DISPERSIVE CLEAN-UP AND GC-MS (NCI-SIM)

Author: Osmar Damian Prestes
Advisor: Prof. Dr. Renato Zanella
Santa Maria, March, 2007

The rice is the main component of the basic diet of the world-wide population, is therefore, of extreme importance for the food security. In function of this, related aspects its production and consumption must continuously be monitored and be evaluated, so that its supply is guaranteed. In this study, was development and validated a methodology for determination of residues of 51 pesticides in polish rice grains, using the modified QuEChERS extraction method and Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry with Negative Chemical Ionization and Selected Ion Monitoring (GC-MS NCI-SIM). To that end, previous homogenized rice was spiked with 51 pesticides at 3 different spiking levels (10, 20 and 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$, 6 replicates at each level) and extracted by the modified QuEChERS method. Applying this method, 10 mL of acetonitrile was added to 10.0 g of rice matrix and the tubes were vigorously shaken by hand for 45 s. The tubes were uncapped, 3.0 g of anhydrous magnesium sulfate and 1.7 g of sodium acetate were added, the shaking procedure was repeated and the extract was centrifuged for 8 min. Furthermore, a dispersive clean-up was developed for extract purification. The upper layer (4 mL) of the extracts was transferred to another tube containing 600 mg of anhydrous magnesium sulfate and 500 mg of C_{18} , the shaking procedure was repeated and the extract was centrifuged for 8 min. The extracts were analyzed by GC-MS NCI-SIM. The method validation was performed of the linear range of the analytical curves (7 concentration levels and 6 injections each), detection limit (LOD), quantification limit (LOQ), matrix effect, as well as precision (as RSD%) and accuracy (as recovery percent). In general, LOD, LOQ and r^2 results, obtained from GC, were affected by standards prepared in matrix extract compared to the preparation in solvent. The linear calibration curves was between 1.0 or 2.0 to 100.0 ng mL^{-1} with r^2 values $\geq 0,99$. The GC-MS (NCI) allowing the quantification (recovery criteria 70-120% and RSD% values $\leq 20\%$) of 87% of the target compounds, that showed LOQ_m of 10 or 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Hence, it is possible to conclude, this method proved to be adequate for the multi-residue analysis of pesticides in rice, conciliating sensitivity and acceptable selectivity and all the validation parameters were within the limits suggested for validation of chromatographic methods.

Keywords: rice, pesticides, multi-residue, QuEChERS method, GC-MS NCI-SIM

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Constituintes do grão de arroz.....	23
FIGURA 2 - Representação da produção brasileira de arroz na safra 2005/2006 (Fonte: Conselho Nacional de Abastecimento).....	26
FIGURA 3 - Representação da evolução da produtividade (kg ha^{-1}) ,em todas as regiões do Brasil, no período entre 1976/77 e 2003/04.....	28
FIGURA 4 - Classificação toxicológica das formulações de pesticidas.....	37
FIGURA 5 - Alguns materiais utilizados para a execução do método de extração com acetonitrila, a) frascos com <i>dispensers</i> , b) tubos para extração, c) tubos para <i>clean-up</i> e d) centrífuga.....	69
FIGURA 6 - Representação esquemática do método de análise de resíduos de pesticidas em grãos de soja, utilizando o método extração com acetonitrila (método QuEChERS modificado).....	70
FIGURA 7 - Cromatograma total obtido por GC-MS modo CI negativo para “branco” dos solventes e reagentes.....	76
FIGURA 8 - Estrutura química dos compostos facilmente degradáveis durante análise em cromatógrafo a gás.....	84
FIGURA 9 - Percentual de pesticidas que apresentaram faixas lineares entre 1,0 –100,0; 2,0 – 100,0; 5,0 – 100,0 e 10,0 - 100,0 ng mL^{-1} , quando preparados em acetonitrila e no extrato da matriz.....	85
FIGURA 10 - Recuperações obtidas para os pesticidas nos três diferentes níveis de fortificação (50, 20 e 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$).....	90
FIGURA 11 - Percentual de pesticidas que após os ensaios de fortificação	

e recuperação, apresentaram 10 e 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de LOQ_m , dos não quantificados (n.q.) e dos não detectados (n.d.) quando extraídos pelo método QuEChERS modificado e analisados por GC-MS modo SIM.....	91
FIGURA 12 - Percentuais de recuperação e RSD apresentados pelos pesticidas não quantificados nos três níveis de fortificação estudados 10, 20 e 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$	91
FIGURA 13 - Cromatograma total obtido por GC-MS (NCI) modo SIM, para extrato “branco” do arroz.....	92
FIGURA 14 - Cromatograma total dos 51 pesticidas analisados por GC-MS (NCI) modo SIM, quando em soluções analíticas 5,0 ng mL^{-1} preparadas em A) solvente orgânico (isooctano/tolueno 9:1); B) extrato do arroz.....	93
FIGURA 15 - Cromatograma total obtido por GC-MS modo CI negativo para arroz fortificado ao nível de (A) 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$; (B) 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e (C) 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$	94
FIGURA 16 - Percentual de efeito matriz de acordo com o tempo de retenção dos pesticidas estudados.....	96

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Evolução da produção (milhões de ton) de arroz, em todas regiões do Brasil , entre as safras 1999/00 e 2003/04. Fonte: Intituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).....	25
TABELA 2 - Comparação da área plantada, produtividade e produção de arroz, em todas regiões do Brasil, entre a safra 2005/2006 e a estimativa para a safra 2006/2007. (Fonte: Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB).....	27
TABELA 3 - Dados de exportação e importação de arroz (milhões de ton) no mundo em 2004. Fonte: FAO.....	29
TABELA 4 - Consumo <i>per capita</i> anual de arroz nos estados brasileiros. Fonte: CONAB.....	30
TABELA 5 - Número de intoxicações, por diversos usos de pesticidas, no Rio Grande do Sul, de 1999 a 2003. Fonte: Centro de Informações Toxicológicas (CIT) – RS.....	38
TABELA 6 - Exposição de seres humanos e animais a pesticidas ou classe de pesticidas e seus efeitos.....	38
TABELA 7 - Pesticidas analisados, com informações de classificação toxicológica e MRL.....	42
TABELA 8 - Pesticidas analisados por GC-MS modo SIM, com informações de pureza, classe, grupo químico e fórmula molecular.....	65
TABELA 9 - Pesticidas analisados por GC-MS, modo de ionização CI negativo, modo de aquisição SIM, valores de tempo de retenção (t_R), íons	

monitorados, segmento e <i>time window</i>	74
TABELA 10 - Médias das áreas das 6 injeções e RSD%, para as soluções 100,0; 50,0; 20,0; 10,0; 5,0; 2,0 e 1,0 ng mL ⁻¹ preparadas em acetonitrila, dos pesticidas analisados por GC-MS modo SIM.....	78
TABELA 11 - Médias das áreas das 6 injeções e RSD%, para as soluções 100,0; 50,0; 20,0; 10,0; 5,0; 2,0 e 1,0 ng mL ⁻¹ preparadas em extrato do arroz, dos pesticidas analisados por GC-MS modo SIM.....	79
TABELA 12 - Valores dos LOD e LOQ, do instrumento e do método, obtidos para os pesticidas analisados por GC-MS modo SIM, a partir das soluções 100,0; 50,0; 20,0; 10,0; 5,0; 2,0 e 1,0 ng mL ⁻¹ em acetonitrila.....	81
TABELA 13 - Valores dos LOD e LOQ, do instrumento e do método, obtidos para os pesticidas analisados por GC-MS modo SIM, a partir das soluções 100,0; 50,0; 20,0; 10,0; 5,0; 2,0 e 1,0 ng mL ⁻¹ em extrato do arroz.....	82
TABELA 14 - Valores calculados dos LOD e LOQ, do instrumento e dos métodos, em solvente e no extratos da matriz, para os pesticidas analisados por GC-MS modo SIM.....	83
TABELA 15 - Parâmetros das curvas analíticas, obtidos para os pesticidas analisados por GC-MS modo SIM, a partir das soluções 100,0; 50,0; 20,0; 10,0; 5,0; 2,0 e 1,0 ng mL ⁻¹ em acetonitrila.....	86
TABELA 16 - Parâmetros das curvas analíticas, obtidos para os pesticidas analisados por GC-MS modo SIM, a partir das soluções 100,0; 50,0; 20,0; 10,0; 5,0; 2,0 e 1,0 ng mL ⁻¹ no extrato da matriz.....	87
TABELA 17 - Média dos percentuais de recuperação, RSD% e LOQ _m , obtidos a partir da extração com acetonitrila, da soja fortificada aos níveis de 10, 20 e 50 µg kg ⁻¹ com os pesticidas analisados por CG-MS modo SIM.....	89
TABELA 18 - Efeito matriz percentual dos pesticidas analisados por GC-MS modo SIM, a partir de soluções preparadas em acetonitrila e no extrato da matriz.....	97

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

C₁₈ – Octadecilsilano

CCPR – Comitê do Codex Alimentarius sobre resíduos de pesticidas, do inglês
Codex Alimentarius Committee on Pesticide Residues

CI – Ionização Química, do inglês *Chemical Ionization*

CIT – Centro de Informações Toxicológicas

CL50 – Dose letal via respiratória

CONAB – Conselho Nacional de Abastecimento

DL50 – Dose letal via oral

DMI – Introdução de amostras complexas, do inglês *Difficult Matrix Injection*

DSI – Introdução direta da amostra, do inglês *Direct Sample Injection*

ECD – Detector por Captura de Elétrons, do inglês *Electron Capture Detector*

EI – Ionização por Impacto de Elétrons, do inglês *Electron Impact Ionization*

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

FAO – Organização do Alimento e Agricultura, do inglês *Food and Agriculture
Organization*

FPD – Detector fotométrico de chama, do inglês *Flame Photometric Detector*

GAP – Boas práticas na agricultura, do inglês *Good Agricultural Practice*

GC – Cromatografia Gasosa, do inglês *Gas Chromatography*

GC-MS – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas, do inglês
Gas Chromatography Mass Spectrometry

GPC – Cromatografia por Permeação em Gel, do inglês *Gel Permeation
Chromatography*

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia

IRGA – Instituto Riograndense do Arroz

ITD – Detector por Aprisionamento de Íons , do inglês *Ion Trap Detector*

JMPR – do inglês, *Joint Meeting on Pesticide Residue*

LC – Cromatografia Líquida, do inglês *Liquid Chromatography*

LC-MS/MS – Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas, do inglês *Liquid Chromatography - Mass Spectrometry*)

LLE – Extração Líquido-Líquido, do inglês *Liquid-Liquid Extraction*

LOD – Limite de Detecção, do inglês *Limit of Detection*

LOQ – Limite de Quantificação, do inglês *Limit of Quantification*

LVI – Injeção de grandes volumes, do inglês *Large Volume Injection*

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MRL – Limite máximo de resíduo, do inglês *Maximun Residue Limit*

MRM – Monitoramento de reações múltiplas, do inglês *Multiple Reaction Monitoring*

MS – Espectrometria de Massas, do inglês *Mass Spectrometry*

MSPD – Dispersão da Matriz em Fase Sólida, do inglês *Matrix Solid Phase Dispersion*

NPD – Detector de Nitrogênio e Fósforo , *Nitrogen and Phosphorus Detector*

OMS – Organização Mundial da Saúde

PDMS – Polidimetilsiloxano

PIB - Produto interno bruto

PSA – Amina primária secundária, do inglês *Primary Secondary Amine*

PTFE – Politetrafluretileno - Teflon[®]

PTV – Vaporização com temperatura programada, do inglês *Programmed Temperature Vaporisation*

QuEChERS – Rápido, fácil, econômico, robusto e seguro, do inglês *Quick, Easy, Cheap, Rugged and Safe*

RSD – Desvio padrão relativo, do inglês *Relative Standard Deviation*

SBSE – Extração Sortiva por Barra Magnética, do inglês *Stir Bar Sorptive Extraction*

SFE - Extração por Fluido Supercrítico, do inglês *Supercritical Fluid Extraction*

SIM – Monitoramento de Íon Selecionado, do inglês *Selected Ion Monitoring*

SPE – Extração em Fase Sólida, do inglês *Solid Phase Extraction*

SPME – Microextração em Fase Sólida, do inglês *Solid Phase Micro-Extraction*

TOF – Detector por tempo de vôo, do inglês *Time of Flight* .

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1 - Características das principais classes de pesticidas orgânicos.....	108
ANEXO 2 - Fórmulas estruturais dos pesticidas presentes na Tabela 8.....	112
ANEXO 3 – Ensaio de Recuperação.....	117

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
2.1 Arroz	21
2.1.1 Origem	21
2.1.2 Histórico	21
2.1.3 Importância Econômica.....	22
2.1.4 Importância Nutricional e Composição.....	22
2.1.5 Produção Mundial	23
2.1.6 Produção no Brasil.....	24
2.1.7 Produção no Rio Grande do Sul	27
2.1.8 Oferta e demanda mundial.....	29
2.1.9 Oferta e demanda nacional de arroz.....	30
2.1.10 Produtos derivados do arroz	31
2.2 Pesticidas	31
2.2.1 Definição	31
2.2.2 Histórico no Mundo e no Brasil	34
2.2.3 Classificação	35
2.2.4 Toxicidade.....	36
2.2.5 Limites Máximos de Resíduos (LMR's).....	38
2.2.6 Uso de pesticidas no cultivo do arroz.....	40
2.3 Análise de pesticidas em alimentos.....	43
2.3.1 Extração de pesticidas	43
2.3.2 Métodos de determinação de pesticidas	46
2.3.2.1 Análise de pesticidas por cromatografia gasosa.....	47

2.3.2.2	Análise de pesticidas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.....	47
2.3.4	Efeito matriz	54
2.4	Validação de Métodos Analíticos.....	57
2.4.1	Linearidade e Curva Analítica	58
2.4.2	Exatidão	59
2.4.3	Precisão	59
2.4.4	Limite de Detecção (LOD) e de Quantificação (LOQ)	60
3	MATERIAIS E MÉTODOS	61
3.1	Instrumentação	61
3.2	Gases	62
3.3	Materiais	62
3.4	Solventes e Reagentes.....	62
3.5	Pesticidas Seleccionados	63
3.6	Seleção do Padrão Interno	63
3.7	Preparo das Soluções Analíticas.....	63
3.8	Análise dos solventes e reagentes pelo método de extração com acetonitrila (Método QuEChERS modificado)	66
3.9	Validação do método de QuEChERS modificado para análise multirresíduo de pesticidas em arroz.....	66
3.9.1	Determinação da Linearidade das Curvas Analíticas.....	66
3.9.2	Determinação da estimativa do LOD e LOQ, dos instrumento e do método.....	67
3.9.3	Ensaio de fortificação e extração com acetonitrila (Método QuEChERS modificado) para avaliação da recuperação e precisão	68
3.10	Avaliação do efeito matriz dos extratos de arroz nas análises por GC.....	71
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	72
4.1	Condições de análise por GC-MS (Modo SIM) para os extratos obtidos pelo Método QuEChERS modificado	72
4.2	Seleção dos padrões internos	75
4.3	Análise dos solventes e reagentes pelo Método de Extração com acetonitrila (Método Quechers modificado).....	75

4.4 Validação do método de extração (Método Quechers modificado) para análise multirresíduo de pesticidas em arroz	75
4.4.1 Determinação dos valores estimados de LOD e LOQ, do instrumento e do método	76
4.4.2 Linearidade das curvas analíticas	85
4.4.3 Ensaios de Fortificação e Extração com Acetonitrila (Método Quechers modificado) para Avaliação da Recuperação.....	88
5 CONCLUSÕES.....	98
6 DIREÇÕES FUTURAS.....	100
7 REFERÊNCIAS.....	101
ANEXOS.....	108

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos 20 anos, os níveis tecnológicos alcançados pelos produtores rurais brasileiros atingiram patamares expressivos que podem ser mensurados pelo aumento da produtividade no campo. Isso explica, por exemplo, o fato do Brasil ter conseguido dobrar a produção de grãos para os atuais 100 milhões de toneladas, em relação à safra de 50,8 milhões de toneladas obtida no início da década de 80, com a mesma área plantada. Este desempenho no campo é possível graças à utilização de insumos, basicamente sementes, adubos e agrotóxicos de primeira linha, disponíveis para o setor.

Hoje, o agronegócio entendido como a soma dos setores produtivos com os de processamento do produto final e os de fabricação de insumos, responde por quase um terço do PIB do Brasil e por valor semelhante das exportações totais do país. Cabe destacar também que o sucesso do agronegócio forma parte de uma estratégia desenhada nos anos 70 que apontou para a resolução de vários problemas estruturais que entravavam o desempenho da agricultura. O desenvolvimento tecnológico promovido pela EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) é usualmente citado como um dos principais fatores, mas há outros de igual ou maior relevância, como a abertura de fronteiras agrícolas no Cerrado, através de programas de colonização dirigida e as inovações introduzidas nos mecanismos tradicionais de política agrícola no Brasil.

O arroz é o principal componente da dieta básica da população mundial. É portanto, de extrema importância para a segurança alimentar mundial e, em função disso, aspectos relacionados à sua produção e consumo devem ser continuamente monitorados e avaliados em profundidade, para que o seu suprimento seja garantido.

Os pesticidas estão presentes no meio ambiente, incluindo água, solo e alimentos, resultado de sua aplicação na agricultura moderna. Como consequência, os resíduos destes compostos, desempenham um importante papel, uma vez que são utilizados para avaliação da segurança alimentar e dos riscos à saúde humana. Embora o seu uso contribua para o aumento na produção, existe preocupação crescente com seus efeitos adversos no ambiente, tais como, contaminação dos recursos hídricos, impactos em organismos não alvo e na saúde humana. Por esta

razão, qualquer pesticida para ser usado no controle de pragas deve possuir registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), para cada situação, informando a cultura, a espécie, a praga e as restrições ao ambiente.

O uso de pesticidas na agricultura têm resultado na ocorrência destes compostos em produtos agrícolas. Contudo, para um determinado número de culturas, como o arroz, há uma limitação no número de métodos de análise multirresíduo de pesticidas. Um dos fatores limitantes, para que isso aconteça, é a grande diversidade de propriedades físico-químicas apresentada pelos pesticidas, assim como a complexidade da matriz a ser analisada. O arroz contém em sua composição, componentes não-voláteis de alto peso molecular, como por exemplo lipídios, além de componentes de baixo peso molecular. Estes componentes não-voláteis ao entrarem no sistema cromatográfico podem interagir com o mesmo, resultando na perda da eficiência de separação e induzindo o aumento do efeito matriz.

Este trabalho visa a otimização e a validação de um método multirresíduo de extração utilizando o Método QuEChERS modificado e análise por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas (GC-MS, do inglês *Gas Chromatography Mass Spectrometry*) de 51 pesticidas, de diferentes grupos químicos, em arroz. Os compostos analisados distribuem-se em 4 classes principais, sendo organoclorados, organofosforados, piretróides e outros, os quais são comumente analisados por Cromatografia Gasosa (GC, do inglês *Gas Chromatography*) .

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Arroz

2.1.1 Origem

Acredita-se que o cultivo de arroz (orizicultura) iniciou-se há mais de 6.500 anos, desenvolvendo-se paralelamente em vários países do sudeste asiático. O arroz hoje cultivado pertence à espécie *Oryza sativa*, diferenciando-se em duas subespécies principais, *Indica* e *Japônica* (FERREIRA *et al.*, 2005; PEREIRA, 2002).

Antes de qualquer evidência histórica, o arroz foi, provavelmente, o principal alimento e a primeira planta cultivada na Ásia. Duas formas silvestres são apontadas como precursoras do arroz que é hoje consumido: as espécies *Oriza rufipogon* e *Oryza breviligulata* (FERREIRA *et al.*, 2005; PEREIRA, 2002).

2.1.2 Histórico

Segundo alguns historiadores, o Brasil foi o primeiro país a cultivar arroz no continente americano. Integrantes da expedição de Pedro Álvares Cabral, regressando de uma viagem pelo país, trouxeram amostras da planta colhida em solo brasileiro, isto seria apenas a confirmação de registros feitos anteriormente por Américo Vespúcio que já havia constatado a presença do cereal em áreas alagadas do país. Entre os índios tupis era conhecido como milho d'água (do tupi *abati-uaupé*). Em 1587, lavouras de arroz já ocupavam terras na Bahia e em 1745 no Maranhão. A prática da orizicultura no Brasil, de forma organizada e racional, era notada acentuadamente em meados do século XVIII (EMBRAPA, 2005a).

A partir da primeira metade do século XIX iniciou o cultivo do arroz de sequeiro nas colônias sul-riograndenses. A lavoura de arroz irrigado no RS surgiu no ano de 1903 no município de Pelotas, a partir do cultivo com irrigação mecânica (EMBRAPA, 2005a).

2.1.3 Importância Econômica

O arroz é um dos mais importantes grãos em termos de valor econômico. É considerado o cultivo alimentar de maior importância em muitos países em desenvolvimento, principalmente na Ásia, onde vivem 70% da população total dos países em desenvolvimento e cerca de dois terços da população subnutrida mundial. É alimento básico para cerca de 2,4 bilhões de pessoas e, segundo estimativas, até 2050, haverá uma demanda para atender o dobro desta população (EMBRAPA, 2005a). O arroz é um alimento básico para a metade da população mundial, no Brasil, desempenha, juntamente com o feijão, um importante papel como componente da dieta básica, sendo parte essencial da chamada “cesta básica” distribuída pelo governo aos estratos mais carentes da população (FAO, 2004a; FAO 2004b).

2.1.4 Importância Nutricional e Composição

O arroz é considerado pela FAO (do inglês, *Food and Agriculture Organization*) como o alimento mais importante para a segurança alimentar do mundo. Além de fornecer um excelente balanceamento nutricional é uma cultura extremamente rústica, o que a faz ser considerada a espécie de maior potencial de aumento de produção para o combate à fome do mundo (FAO, 2004a).

Atualmente, o cereal ainda é pouco reconhecido pelas suas características funcionais. Rico em carboidratos, o arroz em sua forma natural, é um alimento essencialmente energético, segundo a FAO (2004a) o arroz fornece 20% da energia e 15% das proteínas necessárias ao homem e se destaca pela sua fácil digestão. Devido a isto, o arroz ocupa a base da pirâmide alimentar, que está estruturada em 4 níveis e 8 grupos de produtos escalonados de acordo com a sua participação relativa no total de calorias de uma dieta saudável.

A composição nutricional deste grão sofre variações em função das diferentes formas de processamento. O arroz é consumido principalmente como grão inteiro, constituído por diversos tecidos, que apresentam estrutura, composição química e funções diferenciadas que podem ser visualizados na figura 1. As vitaminas e sais minerais deste cereal estão concentradas no pericarpo e germe, sendo que a

remoção dessas camadas, durante o processo de beneficiamento, causam uma grande redução do seu valor nutricional, sendo o endosperma basicamente amido (VIEIRA *et al.*, 1999).

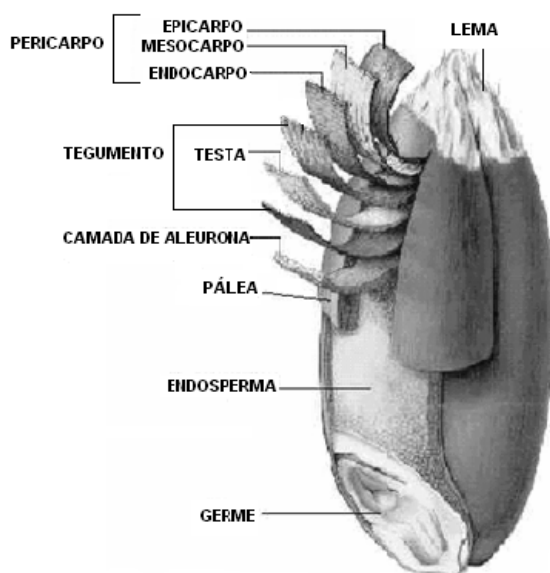


Figura 1: Constituintes do grão de arroz

2.1.5 Produção Mundial

Segundo os dados da FAO, os dez maiores produtores mundiais de arroz são: China, Índia, Indonésia, Bangladesh, Vietnã, Tailândia, Myanmar, Filipinas, Brasil e Japão. Estes países respondem a mais de 86,2% da produção mundial deste cereal (WANDER, 2006).

Aproximadamente 90% de todo o arroz produzido no mundo é proveniente da Ásia. A China é o principal produtor mundial de arroz, com 186,7 milhões de toneladas, ou seja 30,7% do total produzido, seguida pela Índia com 20,4% (WANDER, 2006).

A América Latina ocupa o segundo lugar em produção e o terceiro em consumo. O arroz é um produto importante na economia de muitos dos países latino-americanos pelo fato de ser item básico na dieta da população, como é o caso do Brasil, Colômbia e Peru, ou por ser um produto importante no comércio

internacional, como no caso do Uruguai e Argentina, como exportadores, e do Brasil, México e Cuba, entre outros, como importadores (WANDER, 2006).

A produção mundial de arroz não vem acompanhando o crescimento do consumo. Nos últimos seis anos, a produção mundial aumentou cerca de 1,09% ao ano, enquanto a população cresceu 1,32% e o consumo 1,27%, havendo grande preocupação com relação a estabilização da produção mundial. Para a safra 2006/2007 as previsões apontam uma diminuição na produção mundial de arroz em virtude da ocorrência de uma série de tufões e tempestades no sudeste asiático (WANDER, 2006).

A produção mundial de arroz deverá atingir 466,1 milhões de toneladas em 2015. Entre as de safras de 2006 e 2015 a produção mundial de arroz deverá crescer a uma taxa anual de 1,19%, pouco superior ao consumo, cuja taxa estimada é de 1% ao ano. As exportações totalizarão um total de 32,9 milhões de toneladas em 2015, sendo que mais de 30% deste total deverá ser suprido pela Tailândia, e outros 30% deverão ser fornecidos por Vietnã e Índia (WANDER, 2006).

2.1.6 Produção no Brasil

O Brasil destaca-se como o maior produtor de arroz fora do continente Asiático, O Brasil é o nono produtor mundial de arroz sendo as produções de arroz, base casca, nas safras de 1999/00 e 2003/04, foram, respectivamente, de 10,18 e 13,28 milhões de toneladas (Tabela 1). A produção brasileira corresponde a 2,2% da produção mundial e tem se mantido próxima a 10 milhões de toneladas. A produção média do país cresceu apenas 130.503 toneladas do período 1998-2001, para o período 2001-2003 (FERREIRA & WANDER, 2005).

O cultivo deste cereal é feito basicamente em dois tipos de sistemas produtivos, o irrigado e o de terras altas, também conhecido como arroz de sequeiro. Este último ocupa cerca de 65% da área cultivada com arroz no Brasil, 40% da produção nacional (FERREIRA & WANDER, 2005).

Apesar das reduções de produção nas últimas safras (2004/2005 e 2005/2006), devido a períodos de estiagem, a produção brasileira de arroz vem apresentando uma tendência de crescimento. Por outro lado, o consumo brasileiro de arroz vem aumentando num ritmo inferior ao do crescimento da produção. O

aumento da população brasileira vem sendo compensado por uma redução no consumo *per capita* do cereal, conseqüência de uma série de modificações nos padrões e hábitos de consumo que vem sendo observados na população (WANDER, 2006).

Tabela 1 - Evolução da produção (milhões de ton) de arroz, em todas regiões do Brasil , entre as safras 1999/00 e 2003/04.

Estado	1999/00	2000/01	2001/02	2002/03	2003/04
Rio Grande do Sul	4.981.014	5.256.301	5.486.333	4.697.151	6.338.139
Mato Grosso	1.851.517	1.151.816	1.181.340	1.253.363	2.177.125
Santa Catarina	799.031	892.673	922.860	1.034.558	1.011.592
Maranhão	727.442	623.684	628.672	689.051	733.484
Pará	403.815	391.465	408.427	584.884	636.645
Tocantins	391.827	360.957	309.979	384.834	417.139
demais estados	1.979.942	1.507.289	1.508.375	1.690.762	1.962.884
Brasil	11.134.588	10.184.185	10.445.986	10.334.603	13.277.088

Fonte:(IBGE, 2007)

Existem no país duas regiões com excedente de produção, uma formada pelos estados da Região Sul (Santa Catarina e Rio Grande do Sul), que respondem por 68% da produção nacional (Figura 2) e outra formada por Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Tocantins e Maranhão. Por outro lado, há uma região com *déficit* de produção, formada pelos estados da região Nordeste, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Goiás e Paraná (FERREIRA & WANDER, 2005).

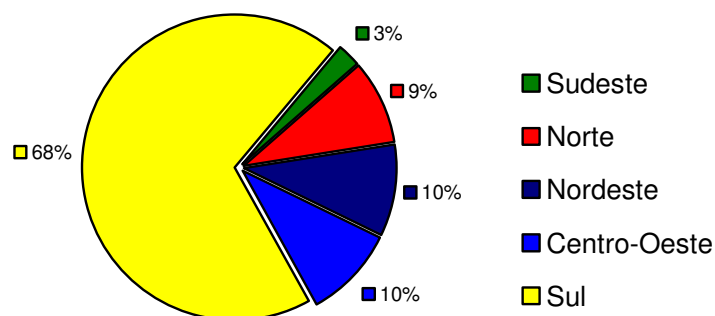


Figura 2 - Representação da produção brasileira de arroz na safra 2005/2006

Fonte: (CONAB, 2006)

A Tabela 2 mostra que a estimativa de produção para a safra 2006/2007, que ainda está em andamento, é de 11 milhões de toneladas, inferior à obtida em 2005/2006. Esta retração deve-se, notadamente, ao Rio Grande do Sul, que apresenta um decréscimo na produção e na área plantada. As regiões da Campanha e Fronteira-Oeste encontram-se com baixas reservas hídricas, razão da menor área de plantio no estado. Destaca-se ainda que Mato Grosso, principal estado produtor deste cereal no Centro-Oeste, registra um pequeno aumento na área cultivada, tendo em vista, os problemas enfrentados pelos produtores de soja na captação de crédito para continuar o plantio da oleaginosa, além do fato do arroz ter baixo custo de produção, quando cultivado no sistema de sequeiro, e também dispor de novas variedades com alta produtividade, de até 70 sacas por hectare (CONAB, 2006).

Tabela 2 - Comparação da área plantada, produtividade e produção de arroz, em todas regiões do Brasil, entre a safra 2005/2006 e a estimativa para a safra 2006/2007

Região	Área (mil ha)		Produtividade (kg ha ⁻¹)		Produção (1000 t)	
	Safra 05/06	Safra 06/07	Safra 05/06	Safra 06/07	Safra 05/06	Safra 06/07
Norte	455,4	487,1	2.228	2.278	1.014,6	1.109,5
Nordeste	727,1	739,6	1534	1.634	1.115,2	1.208,3
Centro-Oeste	442,2	492,9	2.576	2.716	1.138,9	1.339,0
Sudeste	127,4	115,7	2.361	2.382	300,8	275,6
Sul	1.236,3	1.140,9	6.479	6.254	8.009,4	7.135,2
Brasil	2.988,4	2.976,2	3.875	3.719	11.579,0	11.067,5

Fonte:(CONAB, 2006)

2.1.7 Produção no Rio Grande do Sul

O Rio Grande do Sul é o maior produtor nacional e sua participação na produção nacional vem aumentando, passando de 46,5 para 49,5% do total produzido no período (2005/2006), chegando a 5.146.595 toneladas.

A lavoura de arroz tem se destacado principalmente pela modernização por que passou nos últimos tempos em aspectos como a introdução de novas variedades com maior potencial produtivo, manejo, sistemas produtivos e gerenciamento, que acrescentaram rentabilidade a esta lavoura. Dentre os demais produtos da lavoura do Estado a lavoura arrozeira representou 15,32% do Valor Bruto da Produção Agropecuária (EMBRAPA, 2005; IBGE, 2005).

No período de 1998 a 2000, os 15 municípios com produção superior a 100.000 toneladas representavam 59,58% do total da produção de arroz gaúcha. Os maiores produtores foram os municípios de Uruguaiana com 367.376 toneladas e Santa Vitória do Palmar com 367.277 toneladas, que juntos representaram 15,52% do total da produção gaúcha. Além destes destacaram-se os municípios de Itaquí,

Dom Pedrito, Alegrete, Arroio Grande, São Borja, Cachoeira do Sul, Mostardas, São Gabriel, Camaquã, Jaguarão, Barra do Quaraí, Bagé e Rosário do Sul, todos com produção acima de 100.000 toneladas (EMBRAPA, 2005; IBGE, 2005).

Nos últimos anos o estado do Rio Grande do Sul manteve-se como o principal produtor e ampliou sua participação na produção total de arroz, atingindo, a metade da produção nacional deste grão. Tal produção deve-se ao uso de técnicas modernas; às condições climáticas favoráveis; ao emprego da técnica de irrigação por inundação contínua com lâmina d'água, resultando uma produtividade média de 5500 kg ha⁻¹ (Figura 3), conseqüentemente, em uma estabilidade anual da produção. O conhecimento e o espírito empreendedor do orizicultor na utilização de tecnologias mais apuradas de cultivo e a disponibilidade, por parte da pesquisa no RS, de cultivares de alto potencial produtivo, com características que atendem as exigências da cadeia agroindustrial deste cereal, têm contribuído significativamente para o aumento da produtividade média e, logicamente, para a produção brasileira de arroz (IBGE, 2005).

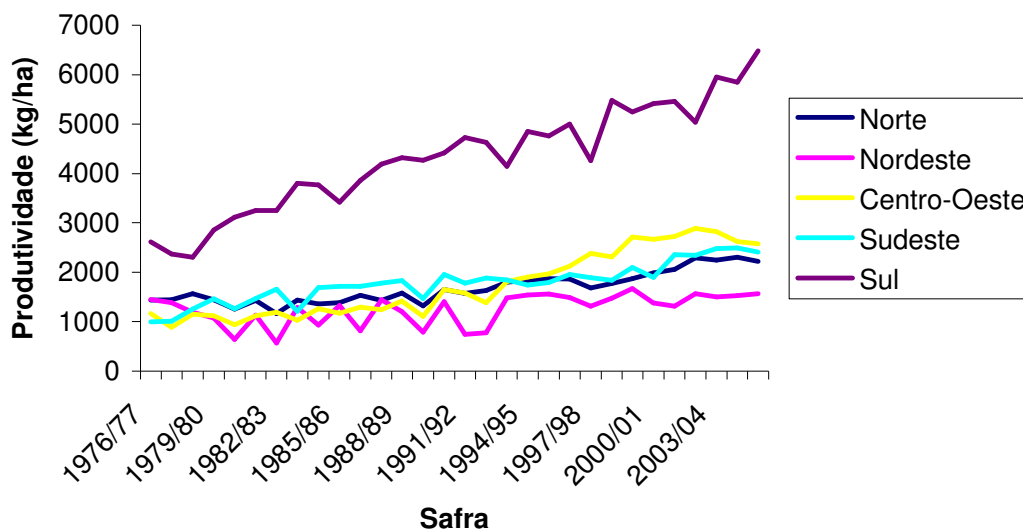


Figura 3 - Representação da evolução da produtividade (kg ha⁻¹) ,em todas as regiões do Brasil, no período entre 1976/77 e 2003/04.

2.1.8 Oferta e demanda mundial

Assim como a produção, a maior parte do consumo de arroz no mundo concentra-se nos países localizados no sudeste asiático. Intimamente ligado à cultura da região, o consumo *per capita* de arroz nestes países é muito superior ao dos países ocidentais.

O consumo mundial médio por habitante é de 84,8 kg ano⁻¹, valor considerado alto se comparado com o consumo anual dos países desenvolvidos, 16,7 kg ano⁻¹ por habitante (FERREIRA & WANDER, 2005).

A Tabela 3 apresenta os dados de exportação e importação de arroz realizados no mundo em 2004. Estimativas apontam que as exportações de arroz totalizarão um total de 32,9 milhões de toneladas em 2015, sendo que mais de 30% deste total deverá ser suprido pela Tailândia, e outros 30% deverão ser fornecidos por Vietnã e Índia (WANDER, 2006).

Tabela 3 - Dados de exportação e importação de arroz (milhões de ton) no mundo em 2004

Maiores Exportadores		Maiores Importadores	
País	Exportações (t)	País	Importações (t)
Tailândia	9.989.730	Nigéria	1.398.287
Índia	4.794.539	Arabia Saudita	1.207.265
Vietnã	4.086.700	Filipinas	1.049.165
Estados Unidos	3.066.765	Bangladesh	991.810
Paquistão	1.822.739	Irã	985.998
China	891.100	China	928.207
Egito	836.941	Costa do Marfim	868.321
Itália	668.935	Brasil	852.079
Uruguai	609.169	Senegal	822.545
Espanha	346.033	África do Sul	744.839
demais países	1.877.425	demais países	17.065.136

Fonte: (FAO, 2004a)

2.1.9 Oferta e demanda nacional de arroz

Ao longo das últimas décadas o Brasil tem sido um importador de arroz. Sua produção apesar de crescente, não consegue atender a demanda nacional que aumenta, principalmente, em função do crescimento populacional. Nos últimos anos o país tem conseguido aumentar a sua produção de arroz de maneira a conseguir a auto-suficiência na safra 2003/2004. Este alcance está relacionado ao aumento significativo da produção nacional em relação à safra 2002/2003 e também, de uma sensível redução no consumo *per capita* nas principais regiões metropolitanas do país (FERREIRA & WANDER, 2005; WANDER, 2006).

Por outro lado, o país segue importando quantidades significativas de arroz, fato que é apontado pelas organizações de defesa dos interesses dos produtores nacionais como aspecto prejudicial ao agronegócio nacional. Ao longo dos últimos anos, o Brasil passou de importador, auto-suficiente até chegar a exportador do produto. As importações históricas continuam ocorrendo, aumentando a super-oferta do produto no mercado interno (FERREIRA & WANDER, 2005; WANDER, 2006).

O consumo *per capita* anual é de 39 kg e o estado com maior consumo por habitante é Tocantins seguido de Goiás, e o de menor consumo, Amapá (Tabela 4) (FERREIRA & WANDER, 2005; WANDER, 2006).

Tabela 4 - Consumo *per capita* anual de arroz nos estados brasileiros

Consumo (kg)	Estado e participação
> 40	TO, GO
27 a 39	MG, MT, MA, MS, CE, PI, PA, RO, SP
23 a 27	ES, PR, AC, RR
15 a 22	DF, PB, RJ, BA, RS, SC
11 a 14	AM, PE, RN, AL, SE
< 10	AP

Fonte: (CONAB,2006)

As exportações brasileiras de arroz bateram recordes históricos entre os meses de janeiro e novembro de 2006, quando os embarques alcançaram 424,2 mil toneladas. Com esse resultado, o Brasil se insere entre os dez maiores exportadores

de arroz do mundo. Em novembro de 2006, o país exportou 48,6 mil toneladas com destaque para o arroz beneficiado, que foi de 15 mil toneladas (ATLAS, 2007).

2.1.10 Produtos derivados do arroz

O progresso do setor agropecuário por meio da aplicação de novas tecnologias, determinou impactos significativos no setor alimentar brasileiro, com conseqüências importantes para vários setores da economia e para a qualidade de vida da população (IBGE, 2004; IRGA, 2005).

Dentre as prioridades de pesquisa desenvolvida para a cultura do arroz, como produtividade, e a qualidade do produto final, encontra-se também a preocupação constante com a abertura de novos mercados para o arroz e seus subprodutos, no sentido de aumentar a rentabilidade da cultura e incrementar seu aproveitamento. A começar pela variedade de tipos de arroz que temos disponíveis, há um vasto potencial de utilização do arroz como matéria-prima para outros produtos ainda pouco explorados (IBGE, 2004; IRGA, 2003; IRGA, 2005).

2.2 Pesticidas

2.2.1 Definição

O *Codex Alimentarius* define pesticida como sendo toda e qualquer substância utilizada com o propósito de prevenir, destruir, atrair, repelir ou controlar qualquer peste, incluindo espécies indesejáveis de plantas, insetos ou animais, durante as etapas de produção, armazenamento, transporte, distribuição e processamento do alimento ou ração animal (ou que seja fornecido aos animais para controle de ectoparasitas). O termo inclui substâncias utilizadas como reguladoras do crescimento das plantas, desfolhantes, dessecantes, ou inibidores de brotos, e substâncias aplicadas tanto antes como após a colheita, para proteger a mesma da deterioração durante o armazenamento e transporte (FAO, 2005a).

Já o resíduo de pesticida é definido como sendo qualquer substância específica presente no alimento, “in natura” ou não, ou ainda em ração animal,

proveniente do uso de pesticidas, como os produtos de conversão, metabólitos, produtos de reações e impurezas consideradas com alguma significância toxicológica. Este termo inclui resíduos de substâncias desconhecidas ou de fontes inevitáveis (como o meio ambiente), bem como o uso de produtos químicos conhecidos (FAO, 2005a).

No Brasil (2002), o Decreto nº 4.074, regulamenta a Lei nº 7802/1989, e estabelece que os defensivos agrícolas, ou agrotóxicos, são produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias de produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento.

Observa-se uma diferença importante entre as duas definições já que aquela efetuada pelo *Codex Alimentarius* contempla substâncias que possam vir a serem utilizadas não apenas diretamente durante o plantio, mas em todas as etapas do cultivo propriamente dito e também após a colheita, como nas etapas de armazenamento, transporte, distribuição e processamento do alimento (TOMLIN, 2004).

Os pesticidas estão sendo largamente utilizados desde a metade do século XX. De acordo com os dados do British Crop Protection Council, aproximadamente 860 substâncias ativas são comercializadas como pesticidas nos mais variados tipos de formulações. Estas substâncias estão divididas em mais de 100 classes, sendo benzoiluréias, carbamatos, organofosforados, organoclorados, piretróides, sulfoniluréias e triazinas os grupos mais importantes (TOMLIN, 2004).

As características físico-químicas dos pesticidas são consideravelmente diferentes, uma vez que, podem apresentar caráter ácido, básico e neutro. Estes compostos podem conter em sua estrutura, halogêneos, fósforo, enxofre ou nitrogênio, heteroátomos que possuem uma grande relevância no método de detecção destes compostos. Um grande número de pesticidas são muito voláteis, outros não, e esta grande diversidade causa sérios problemas no desenvolvimento de um método “universal” para análise de resíduos destes compostos (ALDER *et al.*, 2006).

O uso de pesticidas para a proteção das mais diferentes culturas, permitiu um aumento no volume de produção, porém, a preocupação do aparecimento de resíduos destas substâncias nos alimentos, é atualmente, uma das principais preocupações de saúde pública, sendo assim, programas internacionais para o controle legal de pesticidas estão estabelecidos para prevenir a contaminação de gêneros alimentícios. Portanto, o controle de resíduos de pesticidas em alimentos é um dos mais importantes aspectos de segurança alimentar (AHMED, 2001; HOGENBOO & ZONEN, 2000; TOMLIN, 2004).

O emprego de pesticidas na agricultura, tem seus benefícios econômicos, uma vez que asseguram o controle e combate de pragas e doenças, protegendo a qualidade da produção. Por outro lado, os consumidores destes produtos agrícolas podem estar expostos aos pesticidas, devido a presenças destes nos alimentos. Entre os efeitos nocivos causados ao homem, por estas substâncias, podemos citar: diversos tipos de câncer, danos ao sistema nervoso central, problemas no sistema reprodutivo e locomotor, deficiência mental, entre outros (ALDER *et al.*, 2006).

Embora o seu uso contribua para o aumento na produção, existe preocupação crescente com seus efeitos adversos no ambiente, tais como, contaminação dos recursos hídricos, impactos em organismos não alvo e na saúde humana. Os pesticidas podem apresentar diferentes rotas de degradação no meio ambiente e serem transferidos em partes para diferentes compartimentos ambientais. Quando aplicados em pulverização os pesticidas podem ser transportados pelo vento para locais distantes dos quais foram aplicados. Quando aplicados diretamente no solo, podem ser levados pela água de chuva ou irrigação e atingir os mananciais de águas superficiais ou as reservas subterrâneas através da lixiviação com a água (ALDER *et al.*, 2006).

Embora existam muitas possibilidades para que os pesticidas sejam transportados no ambiente e contaminem as fontes de água, nem todos os produtos apresentam a mesma persistência e mobilidade no ambiente (ALDER *et al.*, 2006).

2.2.2 Histórico no Mundo e no Brasil

A síntese dos primeiros compostos são elaborados na Segunda Guerra Mundial. O esforço científico das principais potências econômicas e bélicas estão voltados para “soluções” de problemas decorrentes do conflito militar. Com o término da Segunda Grande Guerra seu uso militar se torna ocioso, mas aproveita-se as estruturas laboratoriais e o conhecimento na manipulação de substâncias químicas letais. Basicamente os mesmos princípios ativos passam a ser direcionados para combater insetos causadores de quebra na produção agrícola (MORAGAS & SCHENEIDER, 2003; SPADOTTO *et al*, 2004).

O crescimento populacional e econômico do pós-guerra fez aumentar a demanda por alimentos e matéria primas. Já na década de 1950, em todo mundo, especialmente nos países fornecedores de produtos agrícolas, ocorre um expressivo aumento das áreas agrícolas (MORAGAS & SCHENEIDER, 2003; SPADOTTO *et al*, 2004).

A importação e utilização de pesticidas no Brasil iniciou-se por volta de 1950. As culturas que demandavam tais produtos eram aquelas de melhor valor comercial, normalmente voltadas para a exportação, como: café, algodão, cana-de-açúcar e milho. Após um período, os cultivos de menor valor de mercado passaram a consumir essas substâncias químicas, como arroz, feijão e batata, entre outros. Posteriormente, também, foram utilizados na olericultura (legumes e verduras) (MORAGAS & SCHENEIDER, 2003; SPADOTTO *et al*, 2004).

As transformações no sistema de produção agrícola ocorridas desde o século XIX fizeram com que o uso dos pesticidas se intensificasse. Até 1930, por todo o mundo, os pesticidas utilizados eram de origem botânica ou inorgânicos. Os botânicos eram extraídos de plantas como o crisântemo (piretro) e o fumo (nicotina), enquanto os inorgânicos eram à base de arsênico, mercúrio, bário, enxofre, entre outros. Alguns destes ainda são utilizados até hoje (MORAGAS & SCHENEIDER, 2003; SPADOTTO *et al*, 2004).

2.2.3 Classificação

Há muitas formas de classificar os pesticidas, entre elas: finalidade, modo de ação, persistência, deslocamento, duração do efeito do tratamento, toxicidade e grupo químico (SANCHES, 2003; ANVISA, 2005).

Quanto a finalidade os pesticidas podem ser classificados em acaricidas (combatem os ácaros); os herbicidas (combatem as plantas daninhas); inseticidas (combatem os insetos); moluscocidas (combatem os moluscos); nematicidas (combatem os nematóides); rodenticidas (combatem os roedores); vampiricidas (combatem os morcegos), etc (SANCHES, 2003; ANVISA, 2005). Com relação ao modo de ação estes compostos possuem a seguinte classificação: contato (resultante da absorção pelo tegumento do organismo alvo em borrifações residuais ou espaciais); ingestão (o pesticida age e penetra no organismo alvo através da via oral); fumigante (alcança o organismo alvo na forma de vapor, através de suas vias respiratórias), convém salientar que alguns pesticidas possuem múltiplos mecanismos de ação (SANCHES, 2003; ANVISA, 2005).

Quanto à persistência, os pesticidas são classificados segundo o tempo de meia vida, que é o tempo necessário, após aplicação, para que tenha sua eficácia reduzida à metade. Consideram-se persistências: curta (até 90 dias); média (de 91 a 180 dias); longa (maior que 180 dias). O deslocamento dos pesticidas no ambiente durante sua meia vida pode ser pequeno (até 20 cm); médio (de 21 a 60 cm); grande (maior que 60 cm) (SANCHES, 2003; ANVISA, 2005).

A duração do efeito de tratamento pode ser classificada como efeito residual (o ingrediente ativo aplicado num determinado local, permanece em dosagens letais para um organismo alvo por um tempo prolongado, algumas semanas ou meses); ou efeito instantâneo, "knockdown" (logo que aplicado, o efeito é imediato sobre o organismo que se quer combater (SANCHES, 2003; ANVISA, 2005).

Quimicamente, os pesticidas são classificados como compostos: INORGÂNICOS: Embora o efeito inseticida do arsênico e do enxofre fossem conhecidos pelos povos gregos, romanos e chineses o uso moderno dos inseticidas inorgânicos data de 1867, quando um produto chamado verde-Paris foi preparado comercialmente e utilizado contra um grande número de pragas. Como desvantagens, destacam-se sua acumulação nos tecidos orgânicos, estabilidade e

longa persistência no ambiente por serem à base de metais. Possuem alta toxicidade e não têm antídotos. Após o surgimento de compostos orgânicos com mesma finalidade, sua utilização reduziu-se drasticamente e hoje não totalizam 10% dos produtos em uso; ORGÂNICOS: Os pesticidas orgânicos constituem o grupo de maior importância, estes são divididos em *sintéticos* e *naturais*. A utilização pelo homem de compostos orgânicos naturais é remota, sendo que os compostos de origem vegetal constituem a maioria deste grupo. Os piretros, são as substâncias mais conhecidas deste grupo, estes foram muito utilizados na antiguidade, são obtidos a partir do maceramento das flores do *Chrysanthemum*, possuem ação nervosa paralisante reversível. Além dos compostos de origem vegetal, podem-se citar os de origem animal e os derivados do petróleo. O desenvolvimento dos compostos orgânicos sintéticos possibilitou a geração de uma grande diversidade de produtos orgânicos, classificados como organoclorados, clorofosforados, organofosforados, carbamatos, piretróides, etc. No Anexo 1 estão descritas algumas características destes grupos de pesticidas (SANCHES, 2003; ANVISA, 2005).

2.2.4 Toxicidade

Com o objetivo de distinguir seu grau de toxicidade, os pesticidas são classificados em quatro classes toxicológicas. Esta classificação é baseada na identificação do componente de risco referente a uma substância química e diferencia a toxicidade dos pesticidas, com base no ingrediente ativo e sua formulação. As toxicidades aguda oral, dérmica (DL50) e inalatória (CL50) para ratos em relação aos pesticidas foram o princípio fundamental da classificação, sendo que valores de DL50 dérmica tiveram uma forma de classificação mais rígida do que os valores da DL50 oral (SANCHES, 2003).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) pode-se observar que produtos idênticos se distinguem na classificação de acordo com a sua formulação, sendo considerados mais tóxicos os de formulações sólidas quando comparados com os de formulações líquidas. É importante ressaltar que a classificação toxicológica de uma substância ou formulação não depende de todos os dados toxicológicos estarem na mesma classe, o produto será classificado segundo o dado mais agravante (SANCHES, 2003).

O uso descontrolado, a propaganda massiva, o medo de perda da produtividade da safra, a cultura “fruto bonito é aquele que as pessoas gostam de comprar”, a não utilização de equipamentos de proteção e o pouco conhecimento dos riscos, são alguns dos responsáveis pela intoxicação dos trabalhadores rurais. Várias constatações foram feitas com trabalhadores rurais, que demonstraram relação entre a exposição crônica a pesticidas e doenças, principalmente do sistema nervoso (central e periférico). Além disso, também ocorrem episódios de intoxicação aguda, colocando em risco a vida dos trabalhadores rurais (ANVISA, 2006).

Os riscos não se limitam ao homem do campo. Os resíduos das aplicações atingem os mananciais de água, o solo e o ar. Além disso, os alimentos comercializados nas cidades podem apresentar resíduos tóxicos (ANVISA, 2006).

No Brasil, as formulações de pesticidas são obrigadas a apresentar, no rótulo, a cor correspondente à classe de sua toxicidade, conforme demonstrado na Figura 4 (ANVISA, 2005), os pesticidas estão divididos em quatro classes toxicológicas (I= rótulo vermelho (extremamente tóxico), II= .rótulo amarelo (altamente tóxico), III= rótulo azul (medianamente tóxico) e IV= rótulo verde (pouco tóxicos)).

Classe I	Rótulo Vermelho – extremamente tóxico
Classe II	Rótulo Amarelo – altamente tóxico
Classe III	Rótulo Azul – medianamente tóxico
Classe IV	Rótulo Verde – pouco tóxico

Figura 4 - Classificação toxicológica das formulações de pesticidas

Na Tabela 5 estão demonstrados os casos de intoxicações humana e animal com pesticidas por uso agrícola, doméstico, raticidas, e domissanitários, no Rio Grande do Sul, de 1999 a 2003. Observa-se o elevado número de contaminações de pesticidas com uso agrícola (intoxicação do agricultor), mas também o elevado número de contaminações por uso domissanitário, que têm aumentado ao longo dos anos (CIT, 2004).

Na Tabela 6 têm-se os resumos de vários casos recentes de intoxicações, tanto de seres humanos como de animais, onde os efeitos foram desde tonturas e fadigas até alterações na reprodução.

Tabela 5 - Número de intoxicações, por diversos usos de pesticidas, no Rio Grande do Sul, de 1999 a 2003.

Agentes	Casos de Intoxicações									
	2003		2002		2001		2000		1999	
	H*	A**	H*	A**	H*	A**	H*	A**	H*	A**
Pesticidas para uso agrícola	896	74	944	81	969	54	775	52	768	38
Pesticidas para uso doméstico	393	88	395	58	459	87	322	56	388	42
Raticidas	477	74	488	63	481	71	368	66	362	64
Domissanitários	1108	51	1164	41	1135	38	829	17	816	26

H* - Humana A** - Animal
 Fonte: (CIT, 2004)

Tabela 6 - Exposição de seres humanos e animais a pesticidas ou classe de pesticidas e seus efeitos.

Pesticidas/ Classes	Efeitos	Exposição Animal/Humana	Referência
Organoclorados	Endometrioses em mulheres inférteis	Humana	(TSUKINO <i>et al.</i> , 2005)
Organofosforados	Disfunções pulmonares e respiratórias	Humana	(JOHN <i>et al.</i> , 2005)
Organoclorados	Presença em leite materno	Humana	(CHAO <i>et al.</i> , 2005)
Ometoato, Ftalimida, Metamidofós, Parationa-metílica	Sistema respiratório, depressão, falta de memória, tonturas, fadigas, dores de cabeça	Humana	(ERGONEN <i>et al.</i> , 2005)
Carbaril, Lindano, Permetrina, Dieldrim	Aletrações do sistema imunológico	Humana	(COLOSIO <i>et al.</i> , 2005)

2.2.5 Limites Máximos de Resíduos (LMR's)

A proteção das lavouras contra o ataque de pragas, plantas daninhas e doenças, utilizando pesticidas é uma prática bastante comum na agricultura. Porém, quando esta proteção não é realizada de acordo com as Boas Práticas na

Agricultura (GAP, do inglês *good agricultural practice*), resíduos destes compostos podem ser encontrados nos alimentos.

O risco potencial que os pesticidas oferecem aos consumidores, devido a uma exposição crônica diária, determinou que Limites Máximos de Resíduos (LMR's) fossem estabelecidos para diferentes combinações cultura/pesticida. Em função disto, vários países possuem programas de monitoramento dos níveis de resíduos de pesticidas, afim de, garantir a segurança alimentar (STEPAN *et al.*, 2005).

O LMR é definido, pelo *Codex Alimentarius*, como sendo a concentração máxima do resíduo de um pesticida (expresso em mg kg^{-1}), recomendado pelo Comitê do *Codex Alimentarius* sobre resíduos de pesticidas (CCPR, do inglês *Codex Alimentarius Committee on Pesticide Residues*) como sendo legalmente permitido dentro do alimento ou da ração animal (FAO, 2005a).

A princípio, os valores dos LMR's estabelecidos pelo *Codex Alimentarius* são aplicados ao comércio internacional e são provenientes de estimativas feitas pela JMPR (do inglês, *Joint Meeting on Pesticide Residues*) considerando a determinação toxicológica dos pesticidas e de seus resíduos, e considerando também as revisões dos dados de resíduos obtidos de testes e usos supervisionados (FAO, 2005a).

Os valores de LMR para pesticidas, estabelecidos pelo *Codex Alimentarius* são baseados em dados de resíduos, obtidos principalmente a partir de testes supervisionados. Esses dados obtidos refletem o uso aprovado ou registrado, de acordo com as boas práticas agrícolas, e podem variar consideravelmente de região para região, por apresentarem diferentes necessidades para o controle local das infestações, resultando em diferentes quantidades e tipos de resíduos nos alimentos. Assim, o *Codex Alimentarius* considera o máximo possível essas variações para o estabelecimento de seus LMR, desde que haja dados disponíveis que possam dar suporte a essa ação (FAO, 2005a).

Provavelmente não há outra classe de compostos químicos tão regulamentada como a dos pesticidas, LMR's estão estabelecidos, na maioria dos países, a fim de impedir impactos adversos na saúde pública e de promover Boas Práticas na Agricultura. Devido a estas razões um grande número de laboratórios está envolvido na vigilância destes limites ou na identificação e quantificação de pesticidas nos mais diversos tipos de matrizes (ALDER *et al.*, 2006).

O mercado consumidor de produtos *in natura* ou processados, tem exigido requisitos fitossanitários rigorosos, o que exige uma visão diferenciada de produção de arroz, priorizando a segurança do alimento e do meio ambiente. Nesse enfoque, a qualidade do grão é vital importância para a conquista de novos nichos de mercado, principalmente quando considerada em relação ao LMR aceito pelos países importadores e recomendado pelo *Codex Alimentarius* (FAO, 2005b).

Alimentos com resíduos químicos acima dos limites estabelecidos pelo *Codex Alimentarius* podem causar enormes prejuízos aos produtores, visto a proibição imposta por mercados externos. Além disso, não oferecem segurança alimentar e ambiental para os consumidores internos, que estão exigindo uma produção mais limpa. Assim, níveis de resíduos de agrotóxicos devem ser monitorados para evitar barreiras econômicas (CHAO *et al.*, 2005).

A Tabela 7 estão listados os valores de LMR estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2007), *Codex Alimentarius* (2007) e pela União Européia (2007) para os compostos alvo deste estudo.

2.2.6 Uso de pesticidas no cultivo do arroz

Em princípio, todas as culturas requerem o controle de plantas daninhas, doenças e pragas. A escolha do método de controle de pragas normalmente é feita baseando-se na informação disponível sobre a estimativa da perda, eficiência do método, custo de controle e impacto ambiental. No caso do arroz, o controle de pragas é realizado utilizando os poucos produtos registrados para a cultura (BARRIGOSSI *et al.*, 2004).

O arroz, como qualquer outra cultura agrícola, está sujeito a uma série de fatores do ambiente que, direta ou indiretamente, influenciam o rendimento, qualidade e custo de produção. Dentre estes fatores, as plantas daninhas assumem lugar de destaque, face aos efeitos negativos observados no crescimento, desenvolvimento e produtividade (EMBRAPA, 2005a; EMBRAPA, 2005b).

O sistema de cultivo do irrigado propicia um *habitat* especial para a infestação de plantas daninhas. Durante alguns meses da estação quente do ano, além da temperatura e luminosidade adequadas ao crescimento vegetal, somam-se os efeitos da umidade do solo e da adição de nutrientes. Em níveis satisfatórios dos

recursos do ambiente, o estabelecimento e o crescimento de plantas daninhas são muito favorecidos. Isto torna as plantas daninhas responsáveis pelos maiores problemas agrônômicos desta cultura, especialmente devido a interferência que provocam no arroz, reduzindo a produtividade de grãos, além de outros efeitos que causam ao sistema produtivo deste cereal (EMBRAPA, 2005a; EMBRAPA, 2005b).

Entre as pragas que reduzem a produtividade da cultura do arroz, destacam-se espécies de insetos, moluscos e pássaros, que causam perdas na produção na ordem de 10 a 35%. Entre as espécies de insetos, as mais prejudiciais ao arroz são *Spodoptera frugiperda* (lagarta-da-folha), *Oryzophagus oryzae* (gorgulho-aquático), *Tibraca limbativentris* (percevejo-do-colmo) e *Oebalus poecilus* (percevejo-do-grão) (EMBRAPA, 2005a).

No meio ambiente, as alterações climáticas e o aparecimento de novas pragas e doenças, são fatores que prejudicam o desempenho do arroz nas várias regiões orizícolas (EMBRAPA, 2005a).

Considerando a competitividade e a sustentabilidade da agricultura, um dos principais pontos que deve ser considerado é o manejo de pragas e doenças que, de um modo geral, tem sido focado atualmente mais no aspecto econômico que no ambiental.

A análise do consumo de pesticidas por área cultivada mostra que a produção de arroz irrigado utiliza uma maior quantidade dos principais agrotóxicos. No período entre 1997 e 2002 houve uma redução no uso de herbicidas e fungicidas, para o cultivo de arroz irrigado, por outro lado, ocorreu um aumento no uso de herbicidas por unidade de área cultivada de arroz de terras altas. No caso do uso de inseticidas, para os tipos de cultivo ocorreu um aumento não justificado, já que a produtividade não foi proporcional ao aumento do consumo de inseticida nos dois sistemas. Enquanto o consumo de inseticidas, em arroz irrigado, aumentou 166%, a produtividade média aumentou 10,3%, comportamento semelhante aconteceu em arroz de terras altas, onde o consumo de inseticida aumentou 178% para um aumento de 21,5% na produtividade. É importante considerar que a redução no consumo de herbicidas por unidade de área pode não expressar um decréscimo real no seu uso uma vez que muitos pesticidas, cujas doses necessárias para controle são elevadas, foram substituídos por novos compostos, cujas quantidades aplicadas são menores para alcançar a mesma eficiência de controle (EMBRAPA, 2005a; EMBRAPA, 2005b).

Tabela 7 – Pesticidas analisados e Limites Máximos de Resíduos (LMR's).

Nr	Pesticida	LMR (mg kg ⁻¹)		
		ANVISA	Codex Alimentarius	União Européia
1	Acrinatrina			
2	Aldrin			0,01
3	Bifentrina	0,6		
4	Bioaletrina			0,05
5	Bromofós-etílico (P.I.P)*			
6	Bromofós-metílico			
7	Captafol			0,05
8	Captana			
9	Cialotrina-lambda			0,02
10	Cifenotrina			
11	Ciflutrina	0,01		0,02
12	Cipermetrina	0,05		0,05
13	Clorotalonil	2,0		0,01
14	Cloropirifós		0,1	0,05
15	DDD-2,4			
16	DDE-2,4			
17	DDE-p,p			
18	DDT-p,p			0,05
19	Deltametrina	1,0		1,00
20	Diclofluanida			
21	Diclorana			
22	Dicofol			0,02
23	Dieldrin			0,01
24	Endossulfam-alfa		0,1	0,05
25	Endossulfam-beta		0,1	0,05
26	Endossulfam-sulfato		0,1	0,05
27	Endrim			0,01
28	Fenvalerato			0,02
29	Fempropatrina			
30	Fenitrotiona			
31	Fenotrina			
32	Flucitrinato			0,05
33	Fluvalinato			
34	Folpete			
35	HCH-alfa			0,02
36	HCH-beta			0,02
37	HCH-gama (Lindano)			0,01
38	Heptacloro			0,01
39	Heptacloro epóxido			
40	Hexaclorobenzeno			0,01
41	Mirex			
42	Parationa-etílica			
43	Parationa-metílica	0,2		
44	Permetrina	0,1		0,05
45	Protiofós			
46	Quintozeno			0,02
47	Teflutrina			
48	Tequinazeno			0,05
49	Tetradifona			
50	Tetrametrina			
51	TDCIPP (P.I.I.)**			
52	Tolilfluanida			
53	Transflutrina			

*(P.I.P.) padrão interno do prodecimento, ** (P.I.I.) padrão interno do instrumento

2.3 Análise de pesticidas em alimentos

No mundo, as perdas na agricultura chegam a 1 bilhão de toneladas, devido a ação de pragas que são responsáveis por uma redução de 20-30% na produção. Os pesticidas, desde seu desenvolvimento, desempenharam um importante papel no crescimento da agricultura moderna. Porém a preocupação com a saúde humana e segurança alimentar, promoveu o desenvolvimento de vários métodos analíticos aplicados à determinação de resíduos destes compostos em diferentes tipos de alimentos (PANG *et al.*, 2006).

A análise de resíduos de pesticidas, além de ser um instrumento de proteção a saúde humana está também relacionada a fatores econômicos (AGÜERA *et al.* 2002), . Atualmente, estima-se que no mundo, cerca de 20.000 análises de resíduos de pesticidas em alimentos sejam realizadas todos os dias (PICÓ *et al.*, 2000).

2.3.1 Extração de pesticidas

Nos últimos anos, a preocupação com a segurança alimentar, provocou um rápido desenvolvimento de métodos analíticos, necessários para a determinação de resíduos de pesticidas em produtos agrícolas. Geralmente, a complexidade da matriz destes produtos, ocasiona efeitos adversos à análise, sendo necessária então, uma etapa de pré-tratamento da amostra, como por exemplo *clean-up*. No sentido de melhorar a análise quantitativa, muitos esforços estão sendo realizados no desenvolvimento de métodos de extração e *clean-up* (HOGENBOO & ZOONEN, 2000; LUTHJE, 2005).

A determinação de pesticidas modernos, assim como seus produtos de degradação é bastante complicada devido a polaridade e termoestabilidade destes compostos (PICÓ *et al.*, 2004).

Nas amostras de alimentos e de sólidos ambientais têm-se utilizado solventes orgânicos para a extração, estes têm sido empregados com resultados satisfatórios. Contudo, eles são muitas vezes laboriosos e utilizam solventes tóxicos, e são baseados na relação água x miscibilidade do solvente orgânico. Os extratos provenientes destas técnicas, usualmente, necessitam de etapas de *clean-up*, como

por exemplo, extração em fase sólida, permeação em gel, troca-iônica, etc (PICÓ *et al.*, 2004).

A determinação de resíduos de pesticidas em produtos agrícolas e amostras de interesse ambiental é importante devido ao risco que estes compostos oferecem a saúde humana, além da sua persistência no meio ambiente e tendência a bioacumulação. Algumas etapas básicas, fazem parte da seqüência da análise de resíduos de pesticidas, entre elas podemos citar, extração com solventes orgânicos, extração líquido-líquido (LLE, do inglês *liquid-liquid extraction*), etapas de *clean-up* e pré-concentração, e finalmente a separação cromatográfica seguida da determinação dos analitos (PICÓ *et al.*, 2004).

As técnicas tradicionais de preparo de amostras possuem etapas tediosas, que consomem tempo e um grande volume de solventes. Extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*) e dispersão da matriz em fase sólida (MSPD, do inglês, *matrix solid phase dispersion*) foram técnicas, recentemente, introduzidas como métodos alternativos para o preparo de amostras destinadas a análise de resíduos de pesticidas. Estes métodos miniaturizados têm como característica a redução do uso de solventes.

Outra técnica bastante difundida é a microextração em fase sólida (SPME, do inglês *solid phase micro-extraction*), esta também consome um pequeno volume de solventes, porém, a extração e concentração dos analitos é realizada em uma única etapa. SPME têm sido aplicada com bastante sucesso na determinação de resíduos de pesticidas em alimentos, água e solo, outra característica desta técnica é o ganho de sensibilidade, uma vez que a fração extraída (na fibra) pode ser introduzida quantitativamente dentro do Cromatógrafo à Gás através de desorção térmica.

Em 1999, foi desenvolvida a extração sortiva com barra magnética (SBSE, do inglês *stir bar sorptive extraction*), o mecanismo desta extração é similar ao da SPME, porém o fator de pré-concentração é em torno de 100 vezes maior, dependendo da quantidade de adsorvente, polidimetilsiloxano (PDMS), utilizado. Esta nova metodologia permite que baixos limites de detecção (LOD, do inglês *limit of detection*) sejam atingidos, especialmente para analitos hidrofóbicos (HERNANDEZ *et al.*, 2006).

Entre os problemas que envolvem as análises multirresíduos de pesticidas em amostras reais, como por exemplo frutas, vegetais e cereais, cita-se a complexidade dos procedimentos necessários para extração e *clean-up* das amostras.

Usualmente, as técnicas de extração estão baseadas na partição líquido-líquido (LLE) ou SPE. A técnica de LLE é laboriosa e muitas vezes emprega um grande volume de solventes orgânicos tóxicos, aumentando os riscos de apresentar interferências. Por outro lado, SPE apresenta uma redução no tempo de extração, quando comparada a LLE, porém requer etapas de condicionamento e eluição dos cartuchos, que requerem a utilização de solventes orgânicos (PICÓ *et al.*, 2004).

Com o objetivo de reduzir estes problemas, nos últimos anos foram desenvolvidas várias técnicas baseadas na redução do volume de solvente utilizado para a etapa de extração (GARRIDO-FRENICH *et al.*, 2005a; MELO *et al.*, 2005; RODRIGUEZ *et al.*, 2003).

A utilização de uma etapa de *clean-up*, anterior, a análise cromatográfica, é importante, uma vez que reduz o *background* e o efeito-matriz, além de diminuir as manutenções no sistema cromatográfico. Os métodos tradicionais de *clean-up* que empregam SPE, são realizados em cartuchos, um novo método de preparo de amostras denominado de extração em fase sólida dispersiva (SPE dispersiva) foi recentemente desenvolvido. Neste método uma quantidade de 10-20 g de amostra é extraída com acetonitrila, após adiciona-se uma mistura de sais (sulfato de magnésio, cloreto de sódio e/ou sulfato de sódio), a fim de promover a partição líquido-líquido entre a fase aquosa remanescente e acetonitrila. Na próxima etapa, um determinado volume de extrato é colocado em contato com uma mistura contendo o adsorvente e sulfato de magnésio, ao contrário dos métodos já existentes para *clean-up* com SPE que utilizam cartucho, esta mistura sólida permite que a remoção da água residual e o *clean-up* sejam efetuados simultaneamente. O adsorvente retém as interferências da matriz, sendo que depois de realizada uma etapa de agitação o extrato está pronto para ser injetado do sistema cromatográfico (LEHOTAY, *in press*; TRHIN, 2006; MARTINEZ-VIDAL *et al.*, 2005).

Recentemente, ANASTASSIADES *et al.*, (2003) introduziram um método para extração de resíduos de pesticidas denominado QuEChERS (do inglês, *quick, easy, cheap, effective, rugged and safe*). Este método utiliza acetonitrila (MASTOVSKA & LEHOTAY, 2004) para extração e partição líquido-líquido dos pesticidas, resultado da adição de sulfato de magnésio (MgSO₄) (SCHENCK *et al.* 2002) e cloreto de sódio. Após etapa de centrifugação, 1 mL de extrato, é transferido para tubo contendo o adsorvente PSA e MgSO₄, depois de agitado e centrifugado o extrato está em condições de ser analisado por GC. Porém, a degradação de certos

pesticidas, como por exemplo folpete, captana, diclofluanida e clorotalonil, pode ocorrer durante a etapa de extração devido ao meio básico. A fim de, minimizar este problema, uma etapa de tamponamento do extrato foi adicionada o que promoveu um melhora nos resultados obtidos para aqueles pesticidas difíceis de serem analisados. O método QuEChERS com etapa de tamponamento envolve a extração com acetonitrila contendo 1% de ácido (v/v, de ácido acético) e simultaneamente partição líquido-líquido promovida pela adição de acetato de sódio (NaAc) e $MgSO_4$, o qual é conhecido como método QuEChERS modificado (LEHOTAY *et al.*, 2005; CEN, 2006).

2.3.2 Métodos de determinação de pesticidas

Os pesticidas são utilizados na agricultura com a finalidade de controlar as pragas e doenças e com isso aumentar a produção. A utilização destes compostos químicos, que por uma lado gera benefícios, por outro é a responsável pela contaminação ambiental do solo, água e alimentos. Há aproximadamente 40 anos, laboratórios públicos e privados têm desenvolvido métodos para a determinação de resíduos de pesticidas nos alimentos. Contudo, a maioria dos métodos oficiais de análise estão longe do considerado ideal, ou seja, métodos rápidos e com resultados inquestionáveis (MARTINEZ-VIDAL *et al.*, 2005).

Atualmente, os métodos de análise disponíveis fornecem informações qualitativas e quantitativas quanto a presença de pesticidas nas amostras, porém, há um aumento no desenvolvimento de métodos de resposta rápida, também denominados métodos de varredura ou *screening*, que fornecem resultados do tipo positivo/negativo, indicando os analitos presentes na amostra. Estes métodos apresentam algumas vantagens, entre elas: 1) redução dos custos; 2) rapidez; 3) simplicidade e diminuição de erros provocado pela diferença de tempo entre a amostragem e a análise. Após a primeira etapa de análise, as amostras positivas são reanalisadas, a fim de confirmação e quantificação dos analitos (MARTINEZ VIDAL *et al.*, 2005).

2.3.2.1 Análise de pesticidas por Cromatografia Gasosa

Desde os anos 70 têm-se utilizado a técnica de Cromatografia Gasosa (GC, do inglês *Gas Chromatography*) com sistemas clássicos de detecção, como Captura de Elétrons (ECD, do inglês *Electron Capture Detector*), Nitrogênio-Fósforo (NPD, do inglês *Nitrogen and Phosphorus Detector*) e Fotometria de Chama (FPD, do inglês *Flame Photometric Detector*), para análise de resíduos de pesticidas (HERNANDEZ *et al.*, 2006; ROMERO-GONZALES *et al.*, 2006).

Porém, muitos dos compostos que eram analisados por estes detectores, estão sendo substituídos por outros que possuem uma melhor atividade e um menor impacto ambiental. Muitos destes pesticidas modernos quando analisados por GC, não são detectados a nível de parte por bilhão(ppb) (ALDER *et al.*, 2006).

2.3.2.2 Análise de pesticidas por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas

Recentemente, têm-se utilizado GC acoplado a espectrômetros de massas (MS) (LEANDRO *et al.*, 2005), com a finalidade de monitorar a presença de pesticidas em frutas e vegetais, utilizando os modos *Full Scan* e SIM (do inglês, *selected ion monitoring*), a facilidade do acoplamento das colunas cromatográficas com estes detectores, além da disponibilidade de um banco de espectros padrões obtidos no modo de impacto de elétrons (EI, do inglês *electron impact ionization*), ajudaram na disseminação da técnica de GC-MS para a análise de resíduos de pesticidas.

A cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas é uma das principais ferramentas aplicadas em análise de resíduos de pesticidas. Isto, deve-se ao fato de esta técnica permitir que a determinação e a confirmação de um grande número de compostos seja feita simultaneamente, em um único instrumento e numa única corrida cromatográfica. Os baixos limites de detecção obtidos são consequência da alta seletividade promovida pelo uso de diferentes modos, como por exemplo, o modo SIM (FERNANDEZ-ALBA, 2005a; MERCER, 2005).

Em GC-MS os modos de ionização em fase gasosa estão descritos na literatura desde a década passada, devido ao desenvolvimento da biblioteca de

referência do modo de ionização eletrônica para identificação e quantificação de compostos em matrizes complexas, o modo EI é o mais amplamente utilizado, quando comparado com o modo de ionização química (CI, do inglês *chemical ionization*), o qual promove uma ionização mais branda quando comparado com o primeiro (FERNANDEZ-ALBA, 2005b).

As técnicas analíticas permitem a quantificação dos resíduos em baixos níveis de concentração, fornecendo evidências para confirmar a identificação e a concentração dos resíduos detectados. GC-MS tem sido utilizada para determinar resíduos de pesticidas em frutas e vegetais. O uso de Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas *tandem* (MS/MS, do inglês *Tandem Mass Spectrometry*) promove um aumento de seletividade em conjunto com uma redução do ruído, sem perder a capacidade de identificação. Permitindo assim, a análise de resíduos de pesticidas à nível de traços na presença de interferentes provenientes da matriz. Esta técnica é particularmente utilizada na análise de amostras complexas, uma vez que permite a separação e identificação de analitos que possuem estruturas diferentes e iguais tempos de retenção (MARTINEZ-VIDAL, 2002).

Os íons que são formados, tanto por EI como CI devem ser separados de acordo com suas razões m/z . Há 4 classes de analisadores (filtros de massas), que são utilizados para selecionar e filtrar os íons, sendo eles, rádio frequência (tanto filtro quadrupolo quanto aprisionamento de íons) (GARRIDO-FRENICH, 2005b); tempo de voo (TOF, do inglês *Time of Flight*); transformada de fourier e setor magnético, sendo que os mais utilizados são a rádio frequência e o TOF (DIEZ *et al.*, 2006).

O espectrômetro de massas de aprisionamento de íons, (ITD, do inglês *ion trap detector*) tem sido utilizado à vários anos na determinação de resíduos de pesticidas em alimentos. Contudo o número de pesticidas que pode ser detectado simultaneamente durante utilização deste detector é limitado, em torno de 5-6 compostos. Este limite tem como consequência o aumento do tempo de análise quando da utilização de métodos multirresíduos de pesticidas. Por outro lado, o uso de detectores do tipo quadrupolo podem solucionar este problema, uma vez que de 25-30 pesticidas podem ser analisados simultaneamente (RODRIGUEZ, 2003; PLOSSL, 2006).

A seletividade dos resultados obtidos com a técnica de GC-MS é maior do que aquela obtida com o uso de detectores clássicos, porém, interferências

provenientes da matriz podem influenciar o resultado, e a identificação dos analitos ficar comprometida. Recentes avanços em espectrometria de massas propõem um aumento da especificidade, a partir da exclusão do íon dos interferentes da matriz. Esta redução do efeito matriz também é observada quando utiliza-se CI como modo de ionização, por outro lado, a informação relacionada a estrutura dos compostos que estão analisados também é diminuída (BEGUIN *et al.*, 2006).

A ionização dos pesticidas em GC-MS pode ser realizada utilizando os modos EI ou CI positiva ou negativa. As vantagens da utilização do modo EI são a baixa influência da estrutura molecular na resposta e o grande número de fragmentos característicos que são gerados. Por outro lado, o modo CI positivo ou negativo proporciona uma melhor seletividade para muitos pesticidas quando comparado com o modo EI. A técnica de GC-MS empregando o modo CI é preferencialmente utilizada para a análise de pesticidas organohalogenados, piretróides e organofosforados. Esta técnica é raramente utilizada em métodos multirresíduos, por não ser uma técnica de ionização universal, além de fornecer espectros contendo um pequeno número de fragmentos, oferecendo menos informação (ALDER *et al.*, 2006).

A presença de resíduos de pesticidas organoclorados em arroz foi monitorada por Shubing *et al.* (2007) utilizando cromatografia gasosa bidimensional e detector μ -ECD. As amostras de arroz foram adicionadas em tubos de 100 mL de capacidade, contendo 50 mL éter de petróleo, após foram extraídas por 30 min em ultrassom na frequência de 59 kHz, decorrido este tempo 10 mL do extrato foram filtrados e evaporados sob fluxo de nitrogênio a temperatura ambiente. Utilizou-se 2 mL de éter de petróleo para redissolver o extrato seco, que após esta etapa foi submetido a procedimento de clean-up utilizando um cartucho contendo 1 g de Florisil[®] e posterior análise cromatográfica em um sistema contendo duas colunas, DB-1701 (30 m x 0,32 mm) e HP-5MS (30 m x 0,32 mm) utilizada como segunda coluna de eluição neste sistema de cromatografia gasosa bidimensional. Os resultados obtidos com este método foram satisfatórios, uma vez que os coeficientes de correlação (r) ficaram acima de 0,996 e os percentuais de recuperação entre 81,4 - 90,4%. Os limites de quantificação do método estavam na ordem de 0,6 – 8 $\mu\text{g kg}^{-1}$, e os valores de RSD entre 0,8-9,8% .

2.3.3 Métodos multirresíduos de pesticidas

Os avanços ocorridos na área de preparo de amostras tiveram como resultado o desenvolvimento de métodos multirresíduos rápidos, menos trabalhosos, com menor geração de resíduos, além de, apresentarem bons percentuais de recuperação, boa precisão e robustez (HERCEGOVA *et al.*, 2006).

O uso de pesticidas na agricultura têm resultado na ocorrência destes compostos em produtos agrícolas. Contudo, para um determinado número de culturas, como o arroz, há uma limitação no número de métodos de análise multirresíduo de pesticidas. Um dos fatores limitantes para que isso aconteça, é a grande diversidade de propriedades físico-químicas apresentada pelos pesticidas, assim como a complexidade da matriz a ser analisada. O arroz contém em sua composição, componentes não-voláteis de alto peso molecular, como por exemplo lipídios, e componentes de baixo peso molecular. Estes componentes não-voláteis ao entrarem no sistema cromatográfico poderão ficar condensados no injetor ou então em frente a coluna capilar, resultando na perda da eficiência de separação e induzindo o aumento do efeito matriz. Da mesma maneira, os componentes não-voláteis de baixo peso molecular, também interferem no cromatograma, alterando o formato dos picos e afetando as etapas de quantificação e identificação. Alumina, sílica, florissil, entre outros, são alguns dos adsorventes mais utilizados para a remoção de interferentes em amostras de cereais (ZHANG *et al.*, 2006).

Produtos agrícolas como frutas, vegetais e grãos são as matrizes mais analisadas em laboratórios de rotina, estas podem apresentar diferentes tipos de pesticidas, devido a isto, a importância do desenvolvimento de métodos de análise multirresíduos de pesticidas para o monitoramento da presença destes compostos em alimentos. A diferença de propriedades químicas entre estes compostos e a diversidade de matrizes onde estes podem estar presentes, são algumas das adversidades a serem enfrentadas no desenvolvimento destes métodos. Contudo, vários métodos para a análise multirresíduos já foram desenvolvidos, muitos destes, apresentam etapas laboriosas que demandam, tempo, dinheiro e acabam gerando uma grande quantidade de resíduos tóxicos (LEHOTAY, 2002).

A performance de um método de análise multirresíduo em alimentos não gordurosos, foi avaliada utilizando extração com fluido supercrítico (SFE, do inglês

supercritical fluid extraction) e GC-MS. Este método estava baseado na determinação de 15 pesticidas em maçã, ervilha e cenoura, 17 diferentes laboratórios receberam amostras fortificadas com a mistura de padrões, estas deveriam ser analisadas utilizando SFE e GC-MS, no modo *full scan* e SIM, dependendo de estar-se utilizando os detectores de trapeamento de íons ou triplo quadrupolo, respectivamente (LEHOTAY, 2002).

SFE utiliza um fluído supercrítico, geralmente CO₂, ao invés de solventes, durante a etapa de extração dos analitos da matriz. Pode-se citar duas grandes vantagens da utilização deste método, 1) aumento da seletividade e 2) eliminação da etapa de evaporação após o procedimento de extração. Cita-se ainda, a diminuição de tempo, dinheiro e um menor uso de solventes orgânicos durante a etapa de extração. Por outro lado, um reduzido tamanho de amostra (2-5 g), e um limitado número de compostos extraíveis, são algumas das desvantagens apresentadas por esta técnica (LEHOTAY, 2002).

O uso de solventes orgânicos na etapa de extração, como por exemplo, acetona, acetonitrila e acetato de etila, promove altos percentuais de recuperação para uma faixa de polaridade. Quando utiliza-se GC durante a análise, uma etapa de clean do extrato deve ser realizada antes da amostra ser injetada no sistema cromatográfico, esta etapa de purificação pode empregar SPE, LLE, GPC, porém o uso destas técnicas aumenta o tempo de análise e a torna mais laboriosa, o que acaba refletindo no custo da análise. Contudo, a etapa de clean-up é essencial para promover robustez e confiabilidade aos resultados obtidos pelo sistema cromatográfico, uma vez que componentes não voláteis da matriz podem ficar aderidos no conjunto injetor-insensor e também na coluna, reduzindo o desempenho do sistema e aumentando o número de manutenções do mesmo (SAITO *et al.*, 2004; UENO *et al.*, 2004).

Muitos métodos destinados à análise multiresíduos de pesticidas em produtos agrícolas foram desenvolvidos nos últimos anos. A combinação de pré-tratamentos durante a execução destas metodologias é um requisito comum, cita-se extração com acetona; extração com acetonitrila e partição utilizando "salt-out", extração com fluído supercrítico e etapas de clean-up utilizando, por exemplo, cromatografia de permeação em gel. Após estes pré-tratamentos os pesticidas são analisados por GC ou Cromatografia Líquida (LC, do inglês *liquid chromatography*) empregando detectores de espectrometria de massas ou detectores clássicos como

por exemplo, ECD, NPD, FPD. Devido os extratos provenientes de alimentos possuírem um grande número de interferentes, as etapas de pré-tratamento e clean-up das amostras, são laboriosas e exigem uma grande demanda de tempo (SAITO *et al.*, 2004; UENO *et al.*, 2004).

LIU *et al.* (in press), desenvolveram um método rápido para a determinação de resíduos de 97 pesticidas em produtos agrícolas, como, batata e arroz, utilizando cromatografia de permeação em gel (GPC, do inglês *gel permeation chromatography*) e GC-MS. Os pesticidas foram extraídos com acetonitrila e o extrato submetido a MSPD, utilizando como adsorvente amina primária secundária (PSA, do inglês *primary secondary amine*). A avaliação do sistema foi testada a partir da realização de ensaios de fortificação no nível de $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$. A combinação entre as técnicas de MSPD e GPC-GC/MS resultou em um tempo de análise de 90 min, sendo que a maioria dos pesticidas apresentaram recuperações na ordem de 70-120%, com RSD's (do inglês, *relative standard deviation*) menores que 10%.

Um método multirresíduo empregando SPE, seguida de GC-MS e cromatografia líquida acoplada a espectrômetro de massas (LC-MS/MS, do inglês *liquid chromatography - mass spectrometry*) foi desenvolvido para a determinação de 450 pesticidas em suco de frutas, vinho e mel. As amostras foram diluídas com porções de água e acetona, e após extraídas com diclorometano. Após etapa de concentração e clean-up utilizando carbono grafitizado e cartuchos de aminopropil, os pesticidas foram eluídos com mistura de acetonitrila e tolueno, sendo o eluato concentrado e reconstituído em hexano quando os pesticidas foram analisados por GC-MS e em metanol quando estes foram analisados por LC-MS/MS. O limite de detecção do método apresentou uma faixa entre $1,0 - 300 \text{ ng g}^{-1}$ dependendo do pesticida analisado. Avaliou-se três níveis de fortificação entre $2,0 - 3000 \text{ ng g}^{-1}$ e os 450 compostos analisados apresentaram recuperações médias entre 59 - 123%, sendo que 97% do total de compostos analisados apresentaram RSD abaixo de 25%, os outros 3% apresentaram RSD entre 25,0 - 30,4% (PANG, 2006b).

PANG *et al.*, (2006a), desenvolveram um novo método para à análise de 660 pesticidas em carne bovina, suína, de frango e coelho, empregando clean-up utilizando GPC seguido de análise via GC-MS (EI) e LC-MS/MS, empregando monitoramento de reações múltiplas (MRM, do inglês *multiple reaction monitoring*). O procedimento de extração deste método estava baseado na homogeneização de 10 g de amostra com 20 g de sulfato de sódio, seguido da adição de 35 mL de uma

mistura de ciclohexano e acetato de etila (1:1), posterior homogeneização em blender, centrifugação e filtração. Após etapa de centrifugação, o equivalente a 5 g de amostra era injetado na coluna de GPC S-X3, com as dimensões de 400 x 25 mm, empregando uma mistura 1:1 de ciclohexano e acetato de etila, na vazão de 5 mL/min, como fase móvel. Alíquotas eram coletadas entre 22 – 40 min e posteriormente analisadas. Para a determinação de 368 pesticidas empregando GC-MS, estas alíquotas provenientes do sistema de GPC foram concentradas até o volume de 0,5 mL. Por outro lado, para os 66 pesticidas analisados por LC-MS/MS, estas alíquotas foram evaporadas sob fluxo de N₂ e ressuspendidas em uma mistura de acetonitrila e água (60:40). Os resultados de linearidade obtidos, mostraram coeficientes de correlação $r \geq 0,98$, com exceção para os pesticidas dinobuton, linuron, fenamifós-sulfóxido. Três diferentes níveis de fortificação entre 0,2 – 4800 $\mu\text{g kg}^{-1}$ foram estudados e 417 pesticidas apresentaram percentuais de recuperação entre 60 – 120%, o restante apresentou recuperações na ordem de 40 – 60%. Os valores de RSD obtidos para os 437 pesticidas avaliados neste estudo ficaram abaixo de 28%, e os limites de detecção do método ficaram entre 0,2 – 600 $\mu\text{g kg}^{-1}$, dependendo do composto analisado.

Um método rápido para a determinação de resíduos de 114 pesticidas em espinafre, pêra, uva, tomate e arroz, foi descrito por SAITO *et al.*, (2004) este método utiliza acetonitrila na etapa de extração. A fim de remover pigmentos e ácidos graxos, efetuou-se etapa de clean-up empregando como adsorventes carbono grafitizado e amina primária secundária. A análise foi realizada em cromatógrafo à gás acoplado a espectrômetro de massas (EI/SIM), utilizou-se também sistema de injeção com temperatura de vaporização programada (PTV, do inglês *programmed temperature vaporisation*). Este método foi avaliado através de procedimento de fortificação das amostras, em diferentes níveis de concentração na faixa de 0,02 – 0,4 $\mu\text{g kg}^{-1}$, os percentuais de recuperação ficaram acima de 60%, os limites de detecção do método para os pesticidas estudados ficaram na faixa de 0,005 – 0,04 $\mu\text{g g}^{-1}$.

SANNINO *et al.* (2003), desenvolveram uma metodologia de análise multirresíduo de 12 piretróides em frutas (pêssego e laranja) e vegetais (tomate e ervilha), empregando a técnica de GC-MS, modo SIM. Um novo procedimento miniaturizado de extração-partição utilizando pequenos volumes de acetona e de

uma mistura (1:1, v/v) de acetato de etila e ciclohexano foram utilizados durante a extração das amostras. Cartuchos contendo 900 mg de Florisil[®], previamente condicionados, foram utilizados durante etapa de clean-up, após uma alíquota de 0,5 mL de extrato passar pelo cartucho o mesmo foi eluído com 7 mL de uma mistura acetato de etila-hexano (95:5, v/v), o eluato foi recolhido e evaporado até secagem sob fluxo de nitrogênio, após o mesmo foi ressuscitado em 200 µL de solução contendo padrão interno, dialifós na concentração de 0,1 mg L⁻¹. Injetou-se 1 µL no sistema cromatográfico. O procedimento de fortificação das amostras na faixa de 0,01 – 0,1 mg kg⁻¹ teve resultados de recuperação na ordem de 70,2 – 96,0%, sendo que os valores de RSD's obtidos para os compostos em estudo ficaram entre 4,0 – 13,9%.

2.3.4 Efeito matriz

A complexidade das amostras e o número de compostos que co-eluem com elas acabam gerando um problema durante a análise – o chamado efeito matriz. Este efeito pode ser notado pela significativa diferença de resposta obtida em padrões preparados no solvente daqueles preparados no extrato da matriz, quando uma boa precisão é obtida, diz-se que o efeito foi eliminado ou compensado. Uma das maneiras de minimizar e/ou eliminar este efeito é reduzir a quantidade de componentes da matriz que co-eluem com os analitos no detector, para isto, métodos de extração mais seletivos e etapas mais extensivas de clean-up devem ser desenvolvidos. Contudo outras alternativas são usualmente utilizadas, como por exemplo, a calibração externa realizada em extrato da matriz idêntico ou similar ao da amostra (PICÓ *et al.*, 2004).

O uso de GC-MS permite a quantificação e identificação de um grande número de pesticidas em amostras complexas. Os avanços tecnológicos nesta área, como o uso de novos sistemas de injeção, que permitem a injeção de um volume maior no sistema cromatográfico (LVI, do inglês *large volume injection*), são os responsáveis por limites de detecção cada vez menores. Por outro lado, etapas de clean-up realizadas em amostras complexas tornam-se cada vez mais importantes quando aliadas a sistemas LVI, uma vez que impedem a contaminação do insersor, da coluna e do sistema de detecção por componentes não-voláteis da matriz. Entre

estes componentes podemos citar, sais, carboidratos, proteínas e lipídios. Estes compostos podem não interferir diretamente na análise, porém, muitas vezes competem com os analitos de interesse pelos sítios ativos da coluna, o que acaba refletindo em um maior número de manutenções do sistema (CARERI *et al.*, 2002; STAN & LINKERHAGNER, 1996).

A análise de amostras complexas tem seus problemas minimizados com o uso da técnica denominada, introdução direta da amostra (DSI, do inglês *direct sample introduction*) a qual está disponível comercialmente numa versão automatizada denominada introdução de amostras complexas (DMI, do inglês *difficult matrix introduction*). Esta técnica está fundamentada na adição de 30 μL de extrato em um microvial e este é colocado dentro do insersor do GC, após evaporação do solvente, a temperaturas relativamente baixas, o injetor é aquecido gradualmente até que ocorra a volatilização dos analitos de interesse. Sendo assim, somente os compostos que estão numa determinada faixa de volatilização são direcionados para a coluna. No sistema DMI, a cada injeção o insersor deve ser removido para que um novo microvial seja recolocado. Entre as vantagens da utilização desta técnica estão: 1) redução no número de manutenções do sistema, uma vez que a contaminação por componentes não voláteis da matriz é quase inexistente e 2) redução do número das etapas de clean-up nas amostras. Porém, a não-realização da etapa de clean-up, permite que uma quantidade de componentes semi-voláteis da matriz seja injetada no sistema, podendo interferir na detecção dos analitos. Assim, os sistemas de detecção devem utilizar MS ou MS/MS, uma vez que fornecem resultados da quantificação de resíduos de pesticidas, com bastante exatidão (TOMAS *et al.*, 2005).

Atualmente, é praticamente consenso comum entre muitos laboratórios, que as soluções analíticas dos pesticidas devem ser preparadas em extrato da matriz ao invés de em solventes puros, a menos de que se tenha sido provada a insignificância do efeito matriz, este é observado através da análise da intensidade dos picos obtidos a partir da injeção destas soluções.

Os componentes da matriz bloqueiam os sítios ativos presentes no insersor e na coluna, reduzindo a interação dos analitos com estes sítios, aumentando portanto, a eficiência da resposta dos pesticidas, causando um efeito positivo, ou seja um aumento do sinal. Porém determinados analitos, como aqueles que possuem ligações hidrogênio, apresentam picos pouco eficientes e fornecem uma

baixa resposta na ausência de matriz durante a etapa de injeção, ou seja um efeito negativo. Em teoria, as etapas de *clean-up* na amostra têm por objetivo a remoção dos componentes da matriz. Contudo, há a possibilidade de perda dos analitos de interesse, devido a grande faixa de polaridade presente quando temos um grande número de compostos em métodos multiclases e multirresíduos de pesticidas.

Entre as diversas maneiras utilizadas para compensar o efeito matriz em GC, podemos citar: 1) uso do método da adição padrão; 2) uso de padrão interno deuterado; 3) preparo das soluções analíticas no extrato da matriz (*matrix matched standards*); 4) uso de analitos protetores, entre outras alternativas (TOMAS, 2005).

O efeito matriz que ocorre na transmissão do analito do injetor do GC para a coluna é um fenômeno bastante conhecido. Neste caso a utilização de padrões preparados no extrato da matriz, reduz esse efeito, porém a preparação destes padrões é laboriosa e geralmente amostras “branco”, sem a presença de pesticidas, não estão disponíveis no mercado. Outra alternativa é o emprego de analitos protetores (ALDER *et al*, 2006).

Os analitos protetores são compostos que interagem fortemente com os sítios ativos do sistema cromatográfico, ocorrendo com isso diminuição da degradação e/ou adsorção dos analitos de interesse, sendo portanto, a solução mais conveniente para os problemas ocasionados pelo efeito matriz na análise de resíduos de pesticidas. A adição destes compostos nas soluções analíticas preparadas tanto no extrato da matriz como no solvente, faz com que ocorra um aumento da resposta em ambas as soluções minimizando as perdas dos analitos de interesse, além de proporcionar baixos limites de detecção sejam atingidos (TOMAS *et al.*, 2005;).

Devido os pesticidas apresentarem diferentes propriedades físico-químicas é comum que ocorram perdas dos analitos durante o processo de remoção dos componentes da matriz. Cita-se como exemplo, a migração dos pesticidas de caráter básico para a fase aquosa durante a etapa de extração de amostras ácidas (frutas cítricas); outro exemplo bastante comum é a perda de pesticidas voláteis, como diclorvós, nas etapas de concentração. Uma alternativa bastante simples, utilizada para minimizar estes problemas e aumentar a reprodutibilidade e exatidão dos resultados obtidos por GC-MS ,em métodos multirresíduos de pesticidas, é o uso de padrão interno (WANG *et al.*, 2006).

2.4 Validação de Métodos Analíticos

Atualmente, há vários conceitos e definições, provenientes tanto de pesquisadores (HILL & REYNOLDS, 1999; LANÇAS, 2004) como de agências e normas reguladoras nacionais (INMETRO, 2003; ANVISA, 2003a) e internacionais (ISO, 1999; CODEX ALIMENTARIUS, 2001) que objetivam responder questões como: qual a função da validação de métodos e de que maneira deve ser realizada.

Considerando-se as diversas e inúmeras áreas que necessitam gerar dados confiáveis, é consenso que esses conceitos e definições não estão completa e rigidamente estabelecidos, mas continuam a evoluir e aprimorarem-se, no sentido de se efetuar a validação do método de maneira que atenda os objetivos e necessidades para os quais o método é proposto (LANÇAS, 2004).

Ribani *et al.*, (2004) apresentaram, de maneira clara e objetiva, a validação de métodos como sendo um processo contínuo de avaliação dos métodos, desde a etapa de planejamento, passando pelo desenvolvimento e coleta de dados, até o monitoramento constante da aplicação e transferência deste.

O objetivo desse incessante cuidado nada mais é do que garantir que os dados gerados possuam a qualidade necessária, em termos de confiabilidade e rastreabilidade, entre outros, para o fim que se propõe. Caso não haja o cumprimento desse objetivo, ou seja, caso não seja assegurada a qualidade dos resultados analíticos, raramente este fato ocorrerá sem grandes conseqüências. Essas podem ser, desde a não acreditação do laboratório pelos órgãos competentes até enormes prejuízos financeiros relacionados às barreiras alfandegárias que podem ser impostas pelo comércio exterior.

Assim, deve-se selecionar, estudar e monitorar constantemente os parâmetros mínimos necessários para garantir a interpretação inequívoca dos resultados.

Alguns dos parâmetros envolvidos no processo de validação de métodos analíticos são: curva analítica, linearidade, exatidão, precisão, limites de detecção e de quantificação e seletividade.

2.4.1 Linearidade e Curva Analítica

A linearidade de um método analítico pode ser definida como sendo a habilidade deste método em gerar resultados diretamente proporcionais à concentração do analito, em uma determinada faixa de concentração (INMETRO, 2003).

Na prática, a linearidade é determinada através das chamadas curvas analíticas, que são gráficos de calibração que relacionam a resposta do equipamento em função das diferentes concentrações do analito (LANÇAS, 2004).

Para a maioria das técnicas cromatográficas, observa-se uma relação linear de primeira ordem entre a resposta instrumental medida (eixo y) (variável dependente) e a concentração do analito (eixo x) (variável independente). Essa relação produz uma equação de regressão linear $y = ax + b$, que relaciona as duas variáveis x e y e gera os coeficientes de regressão **a** (inclinação da curva) e **b** (interseção da curva analítica com o eixo y, quando $x = 0$). Essa equação é válida para um intervalo determinado de concentração do analito, independente da técnica instrumental utilizada. Também é possível calcular o coeficiente de correlação **r**, que pode ser utilizado para estimar a qualidade da curva analítica uma vez que demonstra uma menor variação dos dados obtidos quanto mais próximo de 1 for o valor de **r** (RIBANI *et al.*, 2004). Valores de **r** iguais ou superiores a 0,99 e 0,90, são recomendados, respectivamente, pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2003a) e pelo Instituto Nacional de Metrologia (INMETRO, 2003). Já os valores do coeficiente de determinação r^2 são tidos como satisfatórios a partir de 0,98 (CHASIN *et al.*, 1998).

A faixa linear de um método de ensaio é o intervalo entre os níveis inferior e superior de concentração do analito no qual foi demonstrado ser possível a determinação com a precisão, exatidão e linearidade exigidas, sob as condições específicas do ensaio. A faixa linear é definida como sendo a faixa de concentração na qual a sensibilidade pode ser considerada constante e é normalmente expressa nas mesmas unidades do resultado obtido pelo método analítico (INMETRO, 2003).

2.4.2 Exatidão

É uma medida da concordância existente entre os dados obtidos em uma determinada medida e um valor de referência assumido como sendo o verdadeiro (RIBANI *et al.*, 2004).

A exatidão representa a existência de erros sistemáticos, e é um dos critérios mais importantes para o julgamento do desempenho de um método analítico (PRIMEL, 2003).

Na indisponibilidade de material de referência certificado, a exatidão pode ser avaliada através dos ensaios de fortificação e recuperação (CODEX ALIMENTARIUS, 2001) (geralmente expressa em percentual), podendo esta ser calculada através da Equação 1.

$$R\% = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

C_1 = Concentração determinada na amostra fortificada;

C_2 = Concentração determinada na amostra não fortificada;

C_3 = Concentração usada para fortificação.

Em geral, são aceitos intervalos de recuperação entre 70 e 120%, com precisão de até 20% para a maioria dos métodos analíticos (GARP, 1999), inclusive para análise de resíduos de pesticidas (HUBER, 1998).

2.4.3 Precisão

É o termo geral utilizado para avaliar a dispersão dos resultados de ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou soluções analíticas de referência, analisadas em condições definidas (INMETRO, 2003).

A precisão pode ser numericamente expressa em termos do desvio padrão relativo (RSD) (Equação 2).

$$RSD \% = \frac{s}{x_m} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

onde:

s = estimativa do desvio padrão absoluto = $\{\Sigma(x_i - x_m)^2 / N - 1\}^{1/2}$;

x_i = valores individuais; x_m = média das medidas em replicatas;

N = número de medidas.

Para métodos empregados em determinações ao nível de traços, valores de RSD% de até 20% são aceitáveis (MELOAN, 1996).

A precisão pode ser determinada em termos de repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade (RIBANI *et al.*, 2004).

2.4.4 Limite de Detecção (LOD) e de Quantificação (LOQ)

A detectabilidade de um método analítico pode ser definida considerando-se o LOD e o LOQ apresentado por este.

O LOD representa a menor concentração do analito que pode ser detectada, e o LOQ expressam a menor concentração do analito que pode ser quantificada, ao empregar-se um determinado procedimento experimental (RIBANI *et al.*, 2004). São geralmente expressos em unidades de concentração (CHASIN *et al.*, 1998, MELOAN, 1996).

Há várias maneiras de se calcular a estimativa do valor do LOD, como através do método visual, método da relação sinal/ruído e aquele baseado em parâmetros da curva analítica.

Nesse estudo, a maneira utilizada para a obtenção da estimativa do LOD e do LOQ, tanto do instrumento como do método, está descrita no item 3.9.2.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O desenvolvimento experimental consistiu, na avaliação de uma modificação do Método QuEChERS para a extração de pesticidas fortificados em grãos de arroz polido, sendo em seguida submetidos ao procedimento de purificação por SPE dispersiva e análise por GC-MS modo SIM.

Este trabalho foi desenvolvido no laboratório do *Food and Consumer Product Safety Authority (VWA)*, Amsterdã, Holanda.

3.1 Instrumentação

- ⇒ Sistema GC-MS: Cromatógrafo a gás CP 3800 (Varian, EUA) equipado com:
 - Amostrador automático CP 8400 (Varian, EUA);
 - Injetor 1079, com insersor de vidro silanizado, d.i. de 3,4 mm, contendo cerca de 0,5 cm de carbofrita;
 - Coluna capilar CP VF-5-MS (5% fenil 95% metilpolisiloxano), de sílica fundida, 30 m de comprimento, 0,25 mm de d.i. e 0,25 μ m de espessura de filme (Varian, Holanda);
 - Detector MS Triplo Quadrupolo 1200, atuando no modo SIM (Varian, EUA);
 - Sistema de aquisição de dados através do *software MS Workstation 6.4* (Varian, EUA);
- ⇒ Sistema de purificação de água Milli-Q[®] - resistividade 18,2 M Ω cm (MilliPore[®], EUA);
- ⇒ Balança analítica de precisão com 4 casas decimais (Sartorius, Alemanha);
- ⇒ Balança analítica de precisão com 2 casas decimais (Sartorius, Alemanha);
- ⇒ Lavadora automática de vidrarias G 7883 CD (Miele, EUA);
- ⇒ Banho de ultrassom M3510 DHT (Branson, México);
- ⇒ Centrífuga Harrier 18/80, Refrigerada (MSE, Inglaterra);
- ⇒ Homogeneizador Polytron MRS (Basel, Suíça).

3.2 Gases

- ⇒ Hélio 99,999% de pureza (Air Products, Holanda) (gás de arraste dos cromatógrafos a gás);
- ⇒ Argônio 99,999% de pureza (Air Liquid, França) (promotor das colisões no 2º quadrupolo, no GC-MS);
- ⇒ Ar sintético 99,9% de pureza (Air Products, Holanda) (para os amostradores automáticos);
- ⇒ Metano 99,9995% de pureza (Hoek Loos, Holanda) (para ionização química no GC-MS);

3.3 Materiais

- ⇒ Seringas de volumes de 10, 25, 50, 100, 250, 500 e 1000 µL (Hamilton, Suíça);
- ⇒ Tubos de polipropileno, com tampas rosqueadas, capacidade de 50 e 15 mL (BD Labware, França);
- ⇒ Frascos de vidro âmbar, capacidade de 20, 50 e 100 mL, com tampa rosqueada e batoque de Teflon® e silicone (Bester, Holanda);
- ⇒ Vidrarias comum de laboratório.

3.4 Solventes e Reagentes

- ⇒ Tolueno, grau pesticida (Mallinckrodt, EUA);
- ⇒ Isooctano (2,2,4-trimetilpentano), grau pesticida (Lab-scan Analytical Science, Irlanda);
- ⇒ Acetonitrila, Ácido acético, Acetato de sódio anidro, Sulfato de magnésio anidro, todos grau pesticida, (Merck, Alemanha);
- ⇒ Octadecilsilano (C₁₈);
- ⇒ Padrões sólidos dos pesticidas, fornecedores conforme Tabela 8

3.5 Pesticidas Seleccionados

Os pesticidas seleccionados para este estudo estão listados na Tabela 8, com sua pureza, fornecedor, classe, grupo químico e fórmula molecular, as estruturas químicas destes compostos estão localizadas no Anexo 2.

Foram analisados 51 pesticidas por GC-MS, em apenas uma única análise cromatográfica.

3.6 Seleção do Padrão Interno

As substâncias escolhidas para serem usadas como padrão interno (do procedimento (P.I.P.) e do instrumento (P.I.I.)) deveriam ser pesticidas que tiveram seus usos proibidos para fins agrícolas, pois assim apresentariam características semelhantes aos demais pesticidas analisados e não estariam presentes nas amostras encaminhadas para análise. Também deveriam apresentar boas respostas em todos os sistemas cromatográficos disponíveis no *Food and Consumer Product Safety Authority*, que são: GC-ECD; GC-NPD; GC-FPD, GC-MS, GC-MS/MS e LC-MS/MS.

3.7 Preparo das Soluções Analíticas

Para o preparo das soluções analíticas “estoques”, efetuou-se o cálculo para determinar a quantidade de cada padrão sólido puro a ser pesado, para obter-se soluções individuais de cada composto, na concentração de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Para isso, os padrões sólidos foram pesados individualmente, diretamente dentro de frascos de vidro âmbar (tampa contendo batoque de politetrafluoretileno (PTFE)), com capacidade de 20 mL, sendo em seguida, dissolvidos com 14 mL de tolueno, e homogeneizados por 5 minutos em banho de ultrassom. Estas soluções “estoques” apresentam estabilidade de cerca de 8 anos, desde que armazenadas em freezer, a $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$, e corretamente manipuladas.

Em seguida, preparou-se 200 mL de uma mistura de concentração $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$, contendo todos os pesticidas a serem estudados. Para isso, transferiu-se 200

μL de cada solução “estoque”, para balão volumétrico de 200 mL, já contendo um pequeno volume de isooctano/tolueno 9:1, sendo, posteriormente, o volume completado com este mesmo solvente. Ambas misturas, das soluções intermediárias $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, foram armazenadas em frascos âmbar (tampa contendo batoque de PTFE), com capacidade de 50 mL, para evitar manipulação constante do volume total das soluções, evitando-se com isso, problemas de contaminações e/ou evaporação, tendo assim, estabilidade por cerca de 1 ano.

Essas misturas intermediárias foram utilizadas para os ensaios de fortificação e também para preparar as soluções analíticas, através de sua diluição, nas concentrações de 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0 e 100,0 ng mL^{-1} (estabilidade de cerca de 3 meses), para o estudo de linearidade e confecção das curvas analíticas, de cada composto. Todas as soluções analíticas foram preparadas tanto em acetonitrila e no extrato do arroz. Dessa maneira pôde-se avaliar o efeito da matriz durante as análises, que será discutido no item 3.10.

Todas as soluções analíticas foram armazenadas em freezer a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$, sendo que antes de serem utilizadas foram retiradas do freezer, deixadas para atingir temperatura ambiente e em seguida, colocadas por 5 minutos em banho de ultrassom, para completa homogeneização.

Tabela 8 - Pesticidas analisados por GC-MS modo SIM, com informações de pureza, classe, grupo químico e fórmula molecular.

Nr	Pesticida	Pureza (%)	Classe	Fornecedor	Grupo Químico	Fórmula Molecular
1	Acrinatrina	99,9	A	Dr.Ehrenstorfer	Piretróide	C ₂₆ H ₂₁ F ₆ NO ₅
2	Aldrim	96	I	Dr.Ehrenstorfer	Organoclorado	C ₁₂ H ₈ Cl ₆
3	Bifentrina	98	A /I	Dr.Ehrenstorfer	Piretróide	C ₂₃ H ₂₂ ClF ₃ O ₂
4	Bioaletrina	97	I	Riedel-deHaën	Piretróide	C ₁₉ H ₂₆ O ₃
5	Bromofós-etílico (P.I.P.)	99,3		Dr.Ehrenstorfer	Organofosforado	
6	Bromofós-metilico	99,4	I	Dr.Ehrenstorfer	Organofosforado	C ₈ H ₈ BrCl ₂ O ₃ PS
7	Captafol	99,1	Fg	Dr.Ehrenstorfer	Ftalimida	C ₁₀ H ₅ Cl ₄ NO ₂ S
8	Captana	99	Fg	Riedel-deHaën	Carboximida	C ₉ H ₈ Cl ₃ NO ₂ S
9	Cialotrina-lambda	99	I	Riedel-deHaën	Piretróide	C ₂₃ H ₁₉ ClF ₃ NO ₃
10	Cifenotrina	93,5	I	Dr.Ehrenstorfer	Piretróide	C ₂₄ H ₂₅ NO ₃
11	Ciflutrina	98	I	Riedel-deHaën	Piretróide	C ₂₂ H ₁₈ Cl ₂ FNO ₃
12	Cipermetrina	91,5	I / F	Dr.Ehrenstorfer	Piretróide	C ₂₂ H ₁₉ Cl ₂ NO ₃
13	Clorotalonil	99,1	Fg	Dr.Ehrenstorfer	Ftalonitrila	C ₈ Cl ₄ N ₂
14	Cloropirifós	99	A/I	Dr.Ehrenstorfer	Organofosforado	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS
15	DDD-2,4	99,5	I	Dr.Ehrenstorfer	Organoclorado	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₄
16	DDE-2,4	97,5	I	Dr.Ehrenstorfer	Organoclorado	C ₁₄ H ₈ Cl ₄
17	DDE-p,p	99,6	I	Riedel-deHaën	Organoclorado	C ₁₄ H ₈ Cl ₄
18	DDT-p,p	99,3	I	Riedel-deHaën	Organoclorado	C ₁₄ H ₉ Cl ₅
19	Deltametrina	98,5	I/F	Dr.Ehrenstorfer	Piretróide	C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃
20	Diclofluanida	99,7	Fg	Dr.Ehrenstorfer	Sulfamida	C ₉ H ₁₁ Cl ₂ FN ₂ O ₂ S ₂
21	Diclorana	98,3	Fg	Dr.Ehrenstorfer	Cloroaromático	C ₆ H ₄ Cl ₂ N ₂ O ₂
22	Dicofol	98	A	Dr.Ehrenstorfer	Organoclorado	C ₁₄ H ₉ Cl ₅ O
23	Dieldrin	97	I	Dr.Ehrenstorfer	Organoclorado	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O
24	Endossulfam-alfa	99,3	I/F/A	Dr.Ehrenstorfer	Clorociclodieno	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S
25	Endossulfam-beta	97,5	I/F/A	Dr.Ehrenstorfer	Clorociclodieno	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S
26	Endossulfam-sulfato	99,4	I/F/A	Dr.Ehrenstorfer	Clorociclodieno	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₄ S
27	Endrim	99	I	Riedel-deHaën	Organoclorado	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O
28	Fenvalerato	99,9	I	Riedel-deHaën	Piretróide	C ₂₅ H ₂₂ ClNO ₃
29	Fempropatrina	99	A/I	Dr.Ehrenstorfer	Piretróide	C ₂₂ H ₂₃ NO ₃
30	Fenitrotona	97	F/I	Dr.Ehrenstorfer	Organofosforado	C ₉ H ₁₂ NO ₅ PS
31	Fenotrina	94	I	Riedel-deHaën	Piretróide	C ₂₃ H ₂₆ O ₃
32	Flucitrinato	99	I	Dr.Ehrenstorfer	Piretróide	C ₂₆ H ₂₃ F ₂ NO ₄
33	Fluvalinato	94	A/I	Riedel-deHaën	Piretróide	C ₂₆ H ₂₂ ClF ₃ N ₂ O ₃
34	Folpete	99	Fg	Dr.Ehrenstorfer	Dicarboximida	C ₉ H ₄ Cl ₃ NO ₂ S
35	HCH-alfa	98,7	I	Riedel-deHaën	Organoclorado	C ₆ H ₆ Cl ₆
36	HCH-beta	98,1	I	Riedel-deHaën	Organoclorado	C ₆ H ₆ Cl ₆
37	HCH-gama	99,4	I	Dr.Ehrenstorfer	Organoclorado	C ₆ H ₆ Cl ₆
38	Heptacloro	98,5	I	Dr.Ehrenstorfer	Organoclorado	C ₁₀ H ₅ Cl ₇
39	Heptacloro epóxido	99,7	I	Riedel-deHaën	Organoclorado	C ₁₀ H ₅ Cl ₇ O
40	Hexaclorobenzeno	99,5	Fg	Dr.Ehrenstorfer	Organoclorado	C ₆ Cl ₆
41	Mirex	98,5	I	Dr.Ehrenstorfer	Sulfuramida	C ₁₀ Cl ₁₂
42	Parationa-etílica	99,2	I/A	Dr.Ehrenstorfer	Organofosforado	C ₁₀ H ₁₄ NO ₅ PS
43	Parationa-metilica	99,6	A/I	Riedel-deHaën	Organofosforado	C ₈ H ₁₀ NO ₅ PS
44	Permetrina	99,4	F/I	Zeneca	Piretróide	C ₂₁ H ₂₀ Cl ₂ O ₃
45	Protiofós	93,5	I	Zeneca	Organofosforado	C ₁₁ H ₁₅ Cl ₂ O ₂ PS ₂
46	Quintozeno	99,9	Fg	Dr.Ehrenstorfer	Cloroaromático	C ₆ Cl ₅ NO ₂
47	TDCIPP (P.I.I.)					
48	Teflutrina	98,1	I	Zeneca	Piretróide	C ₁₇ H ₁₄ ClF ₇ O ₂
49	Tequinazeno	99,8	Fg	Riedel-deHaën	Cloronitrofenil	C ₈ HCl ₄ NO ₂
50	Tetradifona	99,9	A	Dr.Ehrenstorfer	Clorodifenilsulfona	C ₁₂ H ₆ Cl ₄ O ₂ S
51	Tetrametrina	99,2	I	Dr.Ehrenstorfer	Piretróide	C ₁₉ H ₂₅ NO ₄
52	Tolilfluanida	99	Fg	Riedel-deHaën	Fenilsulfamida	C ₁₀ H ₁₃ Cl ₂ FN ₂ O ₂ S ₂
53	Translutrina	95	I	Bayer	Piretróide	C ₁₅ H ₁₂ Cl ₂ F ₄ O ₂

*padrão interno do prodecimento (P.I.P.), ** padrão interno do instrumento (P.I.I.)

A: Acaricida F: Formicida Fg.: Fungicida I: Inseticida

3.8 Análise dos solventes e reagentes pelo método de extração com acetonitrila (Método QuEChERS modificado)

Adicionou-se, através de pipetador *Hand Step*[®], 10 mL de acetonitrila contendo 1% (v/v) de ácido acético, em cada tubo de polipropileno (n= 3) com tampa rosqueada (capacidade de 50 mL), e após fechá-los, efetuou-se agitação manual e vigorosa por cerca de 15 segundos, depois colocou-se estes tubos em mesa agitadora por 1 minuto à 300 rpm.

Em seguida, acrescentou-se 3,0 e 1,7 g, respectivamente, de sulfato de magnésio anidro e acetato de sódio anidro (tendo-se o cuidado para que esses sólidos não ficassem nas bordas superiores dos tubos, prejudicando o contato com o líquido). Repetiu-se a agitação manual, 15 segundos, assegurando-se da completa interação entre o extrato líquido e os reagentes sólidos.

Logo após, os tubos tampados foram levados novamente para mesa agitadora, por 1 minuto, em seguida foram levados para centrifugação a 4000 rpm, por 8 minutos.

Posteriormente realizou-se a etapa de *clean-up* do extrato, onde transferiu-se 4 mL do extrato líquido para outro tubo de polipropileno (capacidade de 15 mL), já contendo 500 mg de sulfato de magnésio anidro e 600 mg de C₁₈, sendo novamente agitados vigorosa e manualmente, por cerca de 15 segundos, colocados em mesa agitadora e centrifugados como citado anteriormente. Posteriormente, foram analisados por GC.

3.9 Validação do método de QuEChERS modificado para análise multirresíduo de pesticidas em arroz

3.9.1 Determinação da Linearidade das Curvas Analíticas

Avaliou-se a linearidade das curvas analíticas a partir das soluções analíticas preparadas no item 3.7, tanto em solvente, quanto nos extratos do arroz, nas concentrações de 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0 e 100,0 ng mL⁻¹. A seqüência de

injeção consistiu primeiramente na introdução de acetonitrila e em seguida, injetou-se 6 vezes a sequência das soluções analíticas.

Posteriormente, realizaram-se os cálculos da média das áreas, do RSD (%), da equação da curva analítica bem como do coeficiente de determinação (r^2), e da faixa de linearidade, para cada composto analisado por GC.

3.9.2 Determinação da estimativa do LOD e LOQ, dos instrumento e do método

A partir da avaliação dos dados de linearidade das curvas analíticas, de cada um dos 51 pesticidas estudados, procedeu-se à determinação da estimativa do LOD do instrumento (LOD_i) e do método (LOD_m), bem como do LOQ do instrumento (LOQ_i) e do método (LOQ_m) (VERWAAL & HIEMSTRA, 1997; THOMPSON *et al.*, 2002).

A partir, das áreas e do RSD% (6 réplicas), de cada composto, presente nas sete soluções analíticas estudadas, aplicando-se a Equação 3, obteve-se a estimativa do LOD_i , em $ng\ mL^{-1}$.

$$LOD_i (ng\ mL^{-1}) = 3 \times RSD \times C \quad \text{Equação 3}$$

onde:

RSD: Desvio padrão relativo das áreas obtidas;

C: Concentração da solução analítica.

Multiplicando-se o valor estimado do LOD_i pelo fator obtido para o método de extração (fator = 2), obtém-se a estimativa do LOD_m , em $\mu g\ kg^{-1}$. O cálculo da determinação dos fatores, para cada método de extração, encontram-se no Apêndice 3.

A partir do LOD_i , aplicando-se a Equação 4, obtém-se o LOQ_i .

$$LOQ_i (ng\ mL^{-1}) = LOD_i \times 3,33 \quad \text{Equação 4}$$

Multiplicando-se o LOQ_i , pelos fatores de cada método de extração, obtém-se o LOQ_m estimado calculado, para cada método. Mas, considera-se o valor verdadeiro do LOQ_m (em $\mu g\ kg^{-1}$), como sendo a menor concentração que, ao ser

fortificada na matriz, apresentar recuperações entre 70 e 120%, com RSD% menor ou igual a 20%.

3.9.3 Ensaio de fortificação e extração com acetonitrila (Método QuEChERS modificado) para avaliação da recuperação e precisão

Este procedimento de fortificação foi realizado 6 vezes, para cada um dos 3 níveis de fortificação e também para o arroz “branco” ($n = 6$), que é aquele sem a adição dos pesticidas, para verificação da real ausência desses compostos na matriz. Este extrato da matriz é chamado de “branco” da matriz e também foi utilizado para o preparo das soluções analíticas, quando em extrato da matriz.

Inicialmente, preparou-se uma mistura de grãos de arroz e água na proporção (1:1 m/m) em homogeneizador, após pesou-se $10,0 \pm 0,1$ g desta mistura, diretamente em tubos de polipropileno com tampa rosqueada (capacidade de 50 mL). Logo após, efetuou-se a fortificação, utilizando-se seringas Hamilton® de injeção, aos níveis de 10, 20 e 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$, adicionando-se para isso, respectivamente, 50, 100 e 250 μL de uma solução analítica $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, contendo os pesticidas a serem analisados por GC-MS. A Figura 5 mostra alguns materiais utilizados durante o procedimento de extração.

Adicionou-se, através de *Hand Step*®, 20 mL de acetonitrila contendo 1% de ácido acético, em cada tubo, e após fechá-los efetuou-se agitação manual e vigorosa por cerca de 15 segundos. Em seguida, acrescentou-se 3,0 e 1,7 g, respectivamente, de sulfato de magnésio anidro e acetato de sódio anidro (cuidou-se para que estes sólidos não ficassem nas bordas superiores dos tubos, prejudicando o contato com o líquido). Repetiram-se as agitações manuais, 15 segundos, assegurando-se da completa interação entre o extrato líquido e os reagentes sólidos.

Em seguida, os tubos tampados foram levados para mesa agitadora, por 1 min à 300 rpm, e centrifugação a 4000 rpm, durante 8 minutos, e posteriormente transferiu-se diretamente 4 mL do extrato líquido para outro tubo de polipropileno (capacidade de 15 mL), já contendo outros 500 mg de sulfato de magnésio anidro e 600 mg de C_{18} , sendo novamente agitados vigorosa e manualmente, por cerca de 15 segundos, e também centrifugados como citado anteriormente. Alíquotas de 1 mL

foram posteriormente analisadas GC. O fluxograma da Figura 6 mostra as etapas efetuadas durante procedimento de extração e *clean-up*.

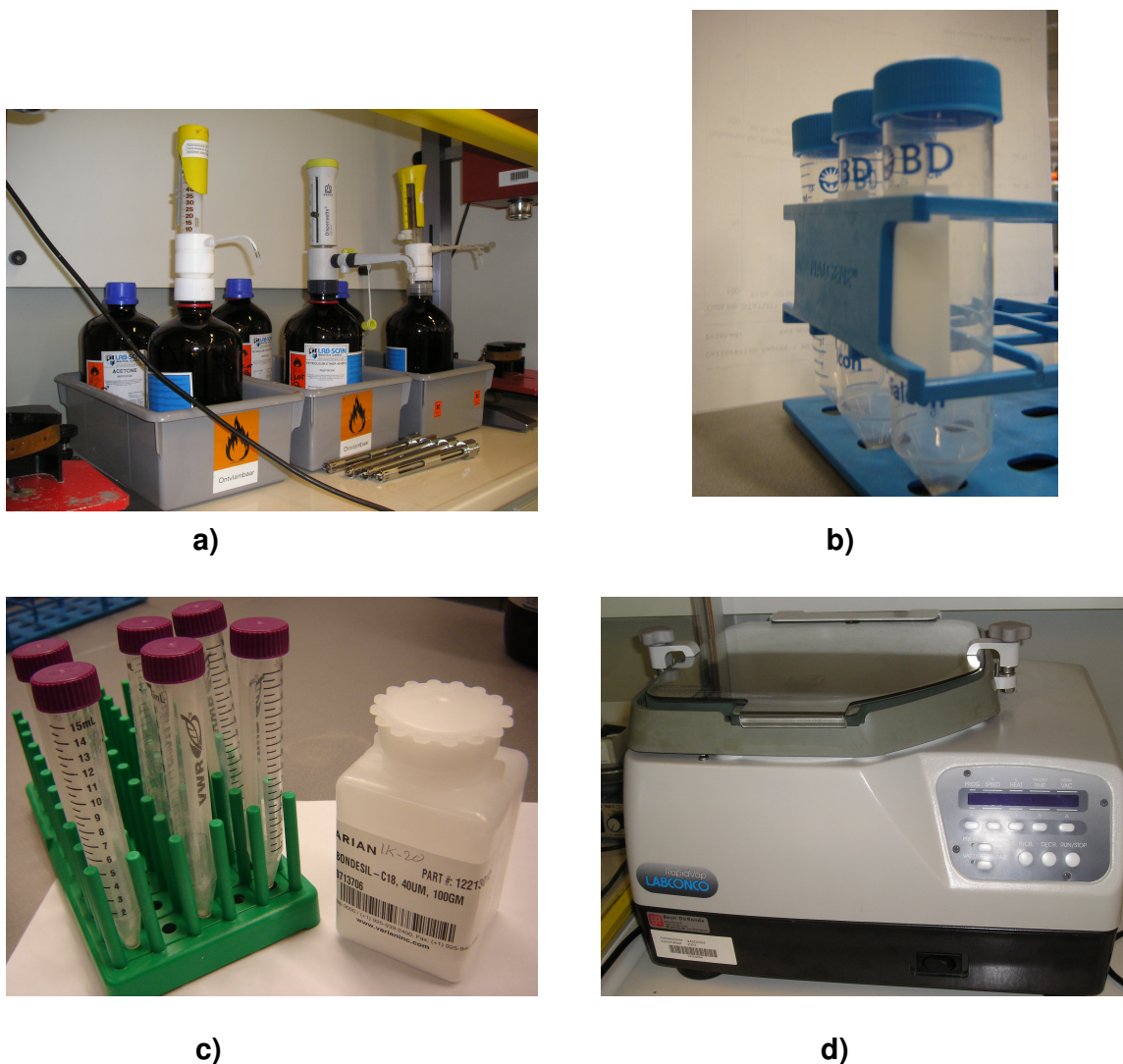


Figura 5 - Alguns materiais utilizados para a execução do método de extração com acetonitrila, a) frascos com dispensadores, b) tubos para extração, c) tubos para *clean-up* e d) centrífuga.

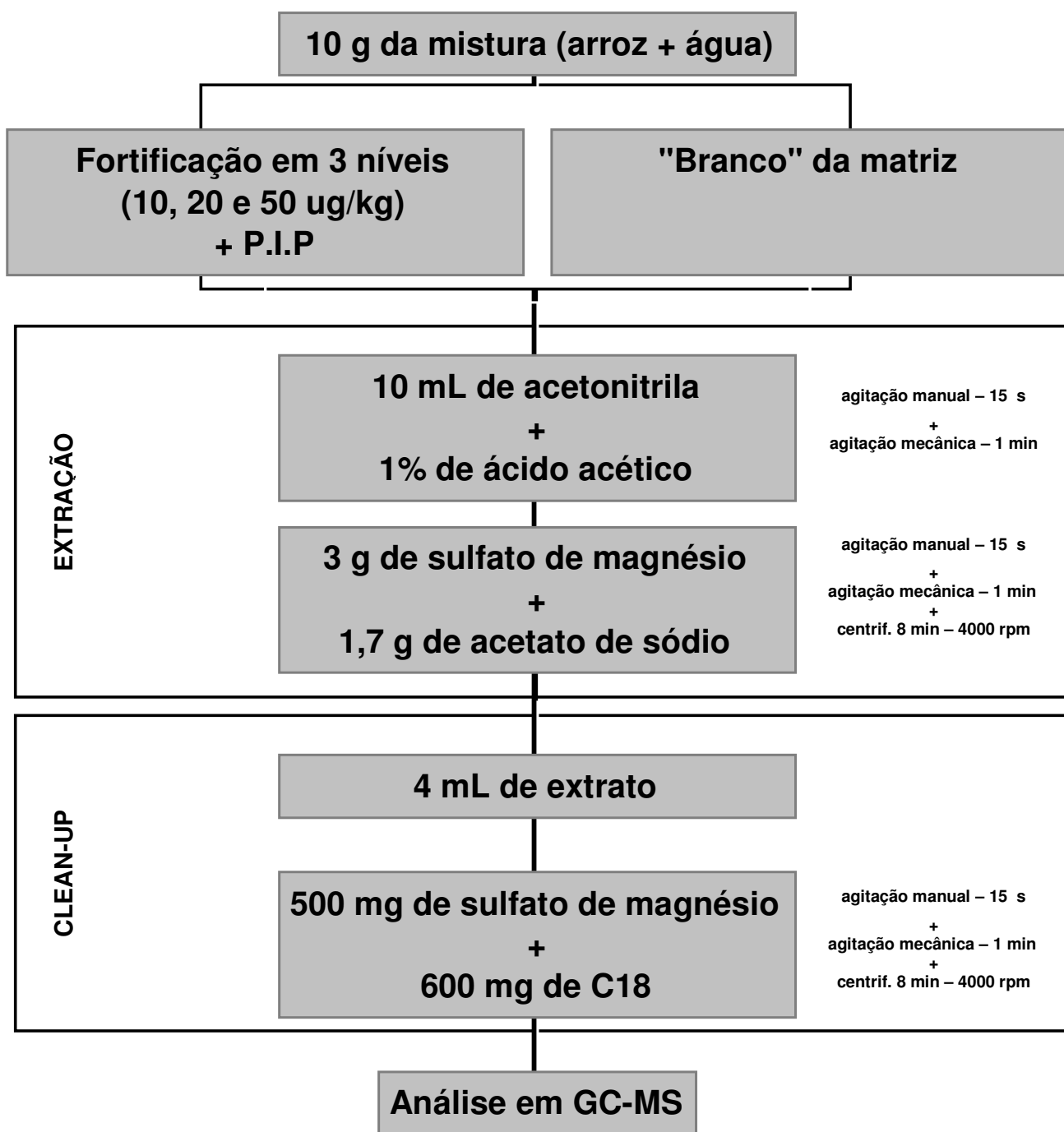


Figura 6 - Representação esquemática do método de análise de resíduos de pesticidas em grãos de arroz, utilizando o método de extração com acetonitrila (método QuEChERS modificado).

3.10 Avaliação do efeito matriz dos extratos de arroz nas análises por GC

Para a avaliação da existência do efeito matriz dos extratos de arroz, nas análises por GC-MS, realizou-se a comparação entre as áreas obtidas das soluções analíticas em acetonitrila e daquelas obtidas com soluções analíticas preparadas extrato do arroz. O cálculo foi efetuado através da Equação 5.

$$EfeitoMatriz\% = \frac{slope(X1) - slope(X2)}{slope(X2)} \times 100 \quad \text{Equação 5}$$

onde:

X₁= inclinação da curva obtida pela injeção das soluções analíticas de cada pesticida, preparadas em extrato do arroz (matriz);

X₂= inclinação da curva obtida pela injeção das soluções analíticas de cada pesticida, preparadas em acetonitrila (solvente);

Assim, verifica-se se a matriz exerce efeito positivo (aumento de sinal) ou negativo (decréscimo de sinal) sobre o resultado da análise. Quando o resultado for acima de 10% considera-se que o efeito matriz começa a exercer influência nas análises (ZROSTLIKOVA *et al.*, 2001).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As condições cromatográficas utilizadas nesse estudo foram estabelecidas de acordo com os estudos desenvolvidos por PIZZUTTI (2006) no *Food and Consumer Product Safety Authority (VWA)*, Ministério da Agricultura da Holanda.

Após os extratos serem submetidos à purificação por SPE dispersiva, conforme descrito no item 3.9.3 esses foram analisados cromatograficamente por GC-MS (modo de aquisição SIM e de ionização por NCI).

4.1 Condições de análise por GC-MS (Modo SIM) para os extratos obtidos pelo Método QuEChERS modificado

As condições instrumentais empregadas para as análises realizadas por GC-MS foram:

Para o cromatógrafo a gás:

- Programação de temperatura do injetor por vaporização com temperatura programada (PTV): temperatura inicial de 80 °C (0,1 min), com incremento de temperatura de 200 °C min⁻¹ até 320 °C ;
- Programação da válvula do *split* do injetor PTV: inicialmente válvula do split aberta na razão 1/10, após 0,1 min válvula do split fechada, e após 2,0 min válvula do split aberta na razão 1/40);
- Volume de injeção de 3 µL;
- A injeção efetuada com o auxílio de amostrador automático, consistiu na aspiração de 1,0 µL de ar, 3,0 µL de extrato ou de solução analítica e 1,0 µL de ar, com velocidade de injeção de 0,5 µL s⁻¹ ;
- Programação de temperatura do forno da coluna: temperatura inicial de 80 °C (1,0 min), com incremento de temperatura de 25 °C min⁻¹ até 180 °C; posteriormente de 5 °C min⁻¹ até 280 °C, e de 10 °C min⁻¹ até 300 °C;
- Vazão do gás de arraste (hélio) constante em 1,3 mL min⁻¹ na coluna;
- Tempo total de corrida de 35 min.

Para o espectrômetro de massas, modo CI negativo :

- Temperatura do *transfer line*: 275 °C;
- Temperatura da fonte de ionização: 150 °C;
- Modo de aquisição SIM;
- Corrente de 150 µA aplicada ao filamento gerando 70 eV de energia para o impacto dos elétrons;
- Modo de ionização CI negativo, com metano a uma pressão de 12 mbar;
- *Scan time* constante de 0,05 s.

Os íons de cada pesticida, selecionados para a análise por GC-MS no modo CI negativo de ionização e modo SIM de aquisição, estão listados na Tabela 9, com seus tempos de retenção, segmento e *time window*.

Tabela 9 - Pesticidas analisados por GC-MS, modo de ionização CI negativo, modo de aquisição SIM, valores de t_R , íons monitorados, segmento e *time window*.

NR	Pesticida	Massa Molar	t_R (min)	Íons Monitorados	Segmento	Time Window (min)
1	Tecnazeno	261	6,47	215,0 + 213,0 + 231,0	1	5,0 – 7,2
2	HCH-alfa	291	7,45	255,0 + 71,0 + 253,0	2	7,2 - 8,2
3	Hexaclorobenzeno	285	7,52	284,0 + 286,0 + 250,0	2	
4	Diclorana	207	7,69	206,0 + 208,0 + 190	2	
5	HCH-beta	291	7,93	255,0 + 71,0 + 253	2	
6	Quintozeno	295	7,99	249,0 + 265,0 + 251,0 + 250,0	2	
7	HCH-gama (Lindano)	291	8,10	255,0 + 71,0 + 253,0	2	
8	Teflutrina	266	8,41	266,0 + 241,0 + 243,0 + 205,0	3	8,2 - 9,0
9	Clorotalonil	419	8,43	264,0 + 266,0 + 230,0	3	9,0 - 9,8
10	Parationa-metilica	263	9,48	153,9 + 263,0 + 141,0	4	
11	Transflutrina	371	9,50	207,0 + 209,0	4	
12	Heptacloro	373	9,70	266,0 + 300,0 + 298,0	4	
13	Fenitrotiona	277	10,09	277,0 + 168,0 + 169,0 + 141,0	5	9,8 - 10,8
14	Diclofluanida	333	10,28	155,0 + 99,0 + 199,0	5	
15	Cloropirifós	351	10,47	313,0 + 315,0 + 214,0 + 169,0	5	
16	Aldrim	365	10,62	237,0 + 235,0 + 330	5	
17	Parationa-etilica	291	10,70	291,0 + 154,0 + 155,0 + 169,0	5	10,8 – 11,4
18	Bromofós-metilico	366	11,10	78,8 + 257,0 + 257,0 + 270 + 141,0	6	
19	Tolifluanida	347	11,67	212,0 + 133,0 + 99,0	7	11,4 - 11,9
20	Bioaletrina	301	11,76	167,0 + 134,0	7	
21	Heptacloroepóxido	302	11,82	237,0 + 354,0 + 388,0	7	
22	Captan	389	11,99	150,0 + 182,0 + 191,0 + 148,0	8	11,9 - 12,6
23	Folpete	297	12,17	146,0 + 181,0 + 148,0	8	
24	Bromofós-etílico (P.I.P.)	394	12,25	79,0 + 169,0 + 256,0	8	
25	DDE-2,4	318	12,44	246,0 + 248,0 + 318,0	8	
26	Endossulfam-alfa	407	12,77	406,0 + 372,0 + 242,0 + 237,0	9	12,6 – 13,8
27	Protiofós	345	13,14	301,0 + 237,0 + 269,0 + 281,0	9	
28	DDE-p,p	318	13,42	318,0 + 316,0 + 281,0	9	
29	Dieldrin	381	13,59	237,0 + 380,0 + 346,0	9	
30	DDD-2,4	320	13,63	248,0 + 71,0 + 246,0	9	13,8 – 14,8
31	Endrim	381	14,24	271,9 + 380,0 + 346,0	10	
32	Endossulfam-beta	407	14,60	406,0 + 372,0 + 242,0 + 272,0	10	
33	TDCIPP (P.I.I.)		15,40	317,0 + 318,0 + 319,0	11	14,8 - 17,2
34	Endossulfam-sulfato	423	15,82	386,0 + 97,0 + 388,0	11	
35	DDT-p,p	355	15,96	71,0 + 73,0 + 281,0	11	
36	Captafol	349	16,72	150,0 + 217,0 + 312,0	11	
37	Bifentrina	423	17,58	386,0 + 241,0 + 205,0	12	17,2 - 19,0
38	Tetrametrina	331	17,74	331,4 + 165,0 + 151,0 + 167,0	12	
39	Fempropatrina	349	17,94	141,0 + 198,0 + 97,0	12	
40	Dicofol	351	17,98	262,0 + 250,0 + 370,0	12	
41	Tetradifona	371	18,56	320,0 + 356,0 + 245,0	12	
42	Fenotrina	356	18,65	167,0	12	
43	Mirex	546	19,42	402,0 + 439,0 + 368,0	13	19,0 – 21,6
44	Cialotrina-lambda	450	19,45	205,0 + 241,0 + 243,0	13	
45	Acrinatrina	375	19,82	333,0 + 167,0 + 305,0	13	
46	Cifenotrina	541	20,41	167,0 + 198,0	13	
47	Permetrina-cis	391	20,95	207,0 + 209,0 + 354,0 + 171,0	13	21,6 – 23,6
48	Permetrina-trans	391	21,20	207,0 + 209,0 + 354,0 + 171,0	13	
49	Ciflutrina	434	22,22	207,0 + 209,0 + 171,0	14	
50	Cipermetrina (I-IV)	416	22,84	207,0 + 209,0 + 171,0	14	
51	Flucitrinato I	451	22,95	243,0 + 244,0 + 199,0	14	
52	Flucitrinato II	451	23,34	243,0 + 244,0 + 199,0	14	
53	Fenvalerato I	420	24,30	211,0 + 213,0	15	23,6 - 25,0
54	Fluvalinato (I-II)	503	24,55	294,0 + 296,0	15	
55	Fenvalerato II	420	24,72	211,0 + 213,0	15	
56	Deltametrina	505	25,82	297,0 + 81,0 + 79,0	16	25,0 - 28,0

4.2 Seleção dos padrões internos

Os pesticidas selecionados como padrões internos do procedimento (P.I.P.) e do instrumento (P.I.I.) foram bromofós-etílico e tris-dicloroisopropilfosfato (TDCIPP) respectivamente, uma vez que, foram os mais adequados.

4.3 Análise dos solventes e reagentes pelo Método de Extração com acetonitrila (Método Quechers modificado)

Ao efetuar-se o procedimento de extração descrito no item 3.9.3, não se observou nenhuma contaminação dos solventes e reagentes utilizados para extração do arroz pelo método da acetonitrila (Figura 7).

4.4 Validação do método de extração (Método Quechers modificado) para análise multirresíduo de pesticidas em arroz

Todas as soluções analíticas empregadas neste estudo foram preparadas em solvente (acetonitrila) e no extrato de arroz (Método de QuEChERS modificado), assim foi possível avaliar o efeito da presença do extrato da matriz na determinação dos valores de LOD e LOQ (instrumento e método), da linearidade das curvas analíticas (faixa linear, equação da curva e coeficiente de determinação), uma vez que o efeito matriz pode influenciar os resultados, dependendo dos compostos e da técnica cromatográfica empregada.

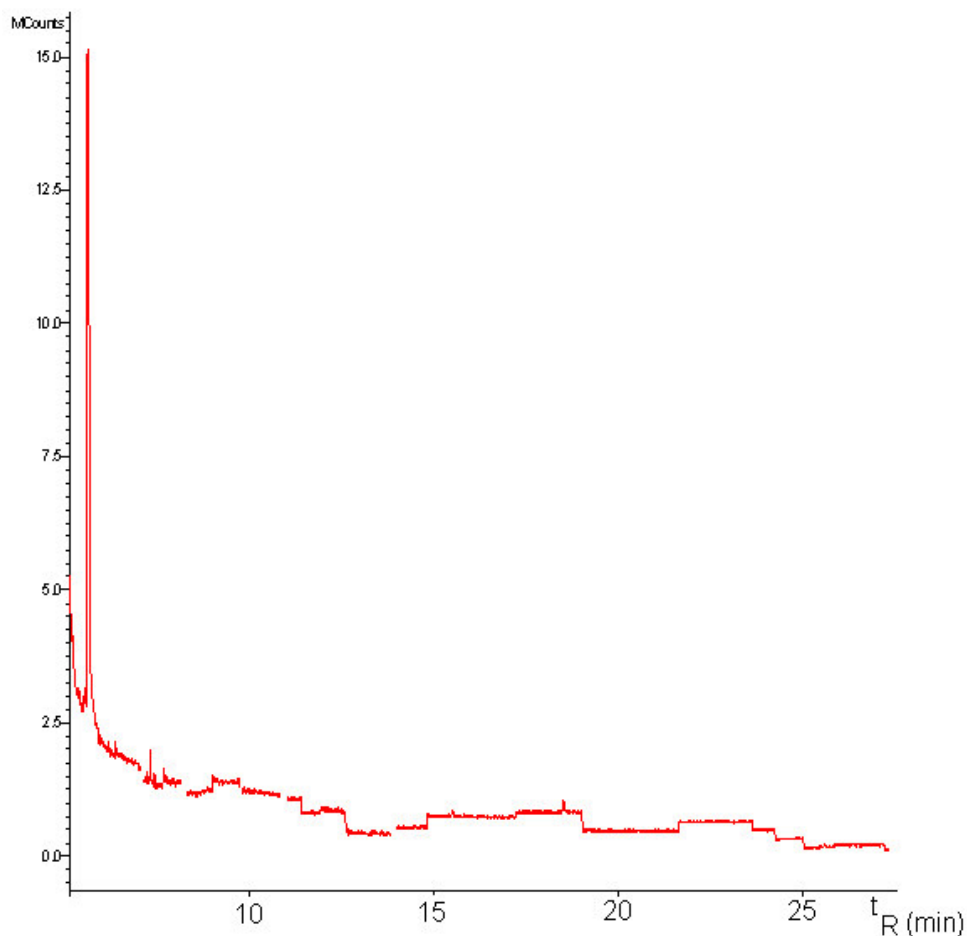


Figura 7 - Cromatograma total obtido por GC-MS modo CI negativo para “branco” dos solventes e reagentes

4.4.1 Determinação dos valores estimados de LOD e LOQ, do instrumento e do método

A partir das soluções analíticas de 100,0; 50,0; 20,0; 10,0; 5,0; 2,0 e 1,0 ng mL⁻¹, preparadas em acetonitrila e no extrato do arroz, efetuou-se o estudo da linearidade (item 3.9.1.), obtendo-se a média das áreas (n=6) e RSD%, os resultados estão apresentados nas Tabelas 10 e 11.

A utilização da média das áreas obtidas seguiu os critérios adotados pelo instituto *Food and Consumer Product Safety Authority*, estes estão baseados nas áreas das 6 injeções realizadas, em cada nível de concentração, para cada

pesticida. Se uma das 6 áreas não foi detectada, então se observou as 6 injeções da próxima concentração menor, sendo que, se nessa concentração menor, todas as 6 áreas estavam presentes, então a área faltante na concentração maior era apenas considerada *outlier*, e o cálculo da média era então realizado com as 5 áreas obtidas. Mas, se na solução de concentração menor, duas ou mais áreas, daquele pesticida, estavam ausentes, então não efetuou-se o cálculo da média das áreas, nem para a concentração menor nem para a maior, pois a detecção do pesticida não estava ocorrendo de modo reprodutível. Ou seja, o pesticida não estava sendo detectado com confiança, naquela determinada concentração, portanto não calculava-se a média das áreas que seriam utilizadas para o cálculo dos LOD e LOQ.

Ao analisar as Tabelas 10 e 11 observa-se de forma geral uma melhora na transferência dos pesticidas para o sistema cromatográfico, quando estes estão em soluções preparadas no extrato da matriz, do que quando preparadas em solvente (acetonitrila). Por exemplo, na Tabela 10 o pesticida captafol apresenta valores de área média somente para a concentração de 100 ng mL^{-1} , e o pesticida dicofol não foi identificado. Ao avaliar a Tabela 11 observa-se que o pesticida captafol quando preparado no extrato da matriz apresenta valores de área média entre 2,0 e 100 ng mL^{-1} , já o pesticida dicofol além de ser identificado, apresenta áreas médias na faixa de 5,0 a 100 ng mL^{-1} . Portanto, estes exemplos demonstram que há uma melhora na resposta cromatográfica, quando as soluções analíticas são preparadas no extrato da matriz, uma vez que diminui-se as perdas de analito durante a etapa de injeção.

Tabela 10 - Médias das áreas das 6 injeções e RSD%, para as soluções 100,0; 50,0; 20,0; 10,0; 5,0; 2,0 e 1,0 ng mL⁻¹ preparadas em acetonitrila, dos pesticidas analisados por GC-MS modo SIM.

Pesticida	Concentração das Soluções (ng mL ⁻¹)													
	100,0		50,0		20,0		10,0		5,0		2,0		1,0	
	Área Média	RSD (%)	Área Média	RSD (%)	Área Média	RSD (%)	Área Média	RSD (%)	Área Média	RSD (%)	Área Média	RSD (%)	Área Média	RSD (%)
Acrinatrina	291944	10.5	122800	13.9	45299	14.2	21333	8.9	9442	10.8	4126	11.7	2023	17.4
Aldrim	707766	5.5	361605	4.3	145966	4.8	72300	4.5	36597	8.3	15432	4.9	8047	9.4
Bifentrina	465233	7.5	228661	9.4	93880	8.9	46560	11.3	23452	12.1	9929	7.9	5062	9.7
Bioaletrina	5371633	2.8	2763095	3.9	1149058	4.4	581070	5.4	300812	5.3	123849	3.8	62274	3.7
Bromofós-metílico	4792208	1.8	2306259	3.0	895225	3.8	436152	5.4	217822	4.1	86458	6.6	43932	4.5
Captafol	2107	52.0												
Captana	118081	31.3	33130	39.0	7096	43.4	2829	106.3	723	161.3	207	244.9		
Cialotrina-lambda	2931378	3.2	1438513	3.3	572352	3.7	283944	4.3	143925	4.3	57622	4.5	29122	12.6
Cifenotrina	2818018	4.3	1313903	6.6	499659	4.0	238731	4.4	109802	5.2	46139	6.3	22449	14.7
Ciflutrina	2339993	5.3	1101525	5.7	418094	5.9	196905	5.8	91473	4.6	38844	4.4	18020	18.4
Cipermetrina	15749455	20.4	7673065	12.6	2709695	15.0	1229623	14.0	619771	22.9	224077	11.4	106132	12.9
Cloropirifós-etílico	948184	8.8	467604	8.7	184801	8.2	89145	8.2	43045	6.3	18118	9.7	8838	3.0
Clorotalonil	1724627	11.6	792721	12.0	293053	11.3	142739	9.8	65328	6.7	28249	8.3	13292	9.7
DDD-2.4	262531	2.9	131812	3.4	53084	4.3	26769	4.1	12850	7.0	5439	7.4	2491	13.6
DDE-2.4	558528	4.8	285586	3.9	115429	4.2	56710	6.3	28141	10.2	11912	6.0	6344	6.6
DDE-p.p	232479	5.2	120409	5.0	51072	7.4	26644	9.9	14053	10.6	5669	9.6	2830	9.8
DDT-p.p	159921	18.6	61624	21.1	18366	22.8	7116	22.9	2853	24.8				
Deltametrina	834170	8.0	372460	9.2	136244	12.5	61396	7.1	27386	7.1	11304	5.6	5124	17.0
Diclofluanida	899764	7.3	439087	6.6	169773	7.5	81541	6.0	39492	4.4	14540	5.5	6749	7.4
Diclorana	4737245	11.1	2252128	11.9	807251	8.9	373368	4.6	190742	15.6	67129	11.6	31824	10.3
Dicolol														
Dieldrin	802567	4.3	422731	4.2	177819	4.7	91159	5.4	46964	5.4	19055	6.6	9195	14.5
Endossulfam-alfa	970144	3.2	514990	3.4	217398	3.4	110864	4.4	57912	4.5	23418	5.1	11033	16.3
Endossulfam-beta	1659655	1.9	866674	3.7	374668	4.4	193526	4.1	102325	3.9	41517	4.9	19336	13.0
Endossulfam-sulfato	916976	6.6	443323	11.4	173956	9.9	82920	12.6	40411	13.1	15847	17.6	7473	19.1
Endrim	455629	4.5	232760	5.5	94793	5.5	47323	6.6	24708	7.7	9232	7.9	4554	11.3
Fempropatrina	20140	9.8	9486	9.9	3456	19.3	1639	9.5	510	110.1				
Fenitrotiona	1262521	9.3	623013	9.2	252095	9.9	123877	10.0	61736	7.1	25714	9.6	12031	10.8
Fenotrina	2000559	4.8	899599	8.8	334131	7.3	152985	14.3	74352	16.1	29627	18.1	14821	11.1
Fenvalerato	2084849	9.7	937949	10.3	347357	13.1	160082	9.2	70338	6.7	30465	8.7	14257	15.2
Flucitrinato	1605158	8.3	713727	9.3	257202	13.1	116147	8.9	50255	9.8	21601	8.2	10282	17.9
Fluvalinato	336732	12.2	111512	20.2	29075	17.2	13051	26.9	3801	52.8	541	244.9		
Folpete	55300	25.7	11921	37.9	1185	88.1	485	244.9						
HCH-alfa	1687102	7.3	916308	6.6	382259	5.4	197268	6.6	100965	5.2	40902	7.1	20671	6.3
HCH-beta	837348	10.2	421159	11.4	163152	9.1	78942	8.1	41370	8.2	16049	12.2	8062	9.6
HCH-gama	1691942	6.3	892921	5.5	367444	5.4	186803	6.3	94930	6.8	38080	5.2	19254	5.8
Heptacloro	750434	10.6	370503	9.7	145278	11.3	70289	10.3	35563	12.5	14492	13.7	7151	9.7
Heptacloro epóxido	688997	4.4	359503	4.1	152122	4.6	76231	7.1	40831	5.6	17148	7.7	8417	9.3
Hexaclorobenzeno	8232883	34.4	5802576	22.8	2764471	10.1	1446282	10.2	749414	11.0	314898	11.2	158367	10.5
Mirex	146595	4.3	79282	6.3	34243	6.4	17395	6.3	9107	6.4	3754	6.8	1786	14.6
Parationa-etílica	1059415	3.6	483101	7.6	181719	8.1	85796	13.3	43488	11.7	17520	13.8	9031	6.1
Parationa-metílica	1873102	5.7	845780	11.4	315663	9.0	143846	17.0	73645	14.0	27923	19.9	13982	17.0
Permetrina	187032	3.8	87862	6.5	34582	4.9	16368	11.1	7645	12.9	3356	8.5	958	79.4
Protiofós	1879470	3.5	936165	3.6	377966	4.3	187840	4.6	96244	5.3	38332	5.9	18232	11.7
Quintozeno	1734705	10.4	926868	10.0	387836	11.2	196931	11.0	108769	4.7	41944	11.1	21412	8.9
Teflutrina	11928614	10.8	7074016	8.1	3031655	7.0	1567882	7.5	881245	6.3	346419	7.8	173940	2.5
Tequinazeno	11390056	21.8	7025168	10.5	3040907	3.6	1580935	3.2	872652	12.3	338110	2.4	172600	8.3
Tetradifona	1912162	5.4	940842	5.3	378182	8.0	193565	8.5	96296	8.2	39627	9.0	18340	7.7
Tetrametrina	477864	5.5	225080	6.4	87525	7.9	41914	10.5	20581	12.3	8940	11.1	4222	15.4
Tolilfluánida	3275209	3.9	1604152	6.0	620197	8.1	299292	8.4	146323	7.5	55470	12.1	25677	6.7
Translutrina	9934824	18.9	5775553	5.5	2410449	2.3	1236996	2.8	645218	2.2	262317	2.3	133280	2.3

[†] Não identificado nessas condições de análise

Tabela 11 - Médias das áreas das 6 injeções e RSD%, para as soluções 100,0; 50,0; 20,0; 10,0; 5,0; 2,0 e 1,0 ng mL⁻¹ preparadas em extrato do arroz, dos pesticidas analisados por GC-MS modo SIM.

Pesticida	Concentração das Soluções (ng mL ⁻¹)													
	100,0		50,0		20,0		10,0		5,0		2,0		1,0	
	Área Média	RSD (%)	Área Média	RSD (%)	Área Média	RSD (%)	Área Média	RSD (%)	Área Média	RSD (%)	Área Média	RSD (%)	Área Média	RSD (%)
Acrinatrina	640068	12.6	388229	12.4	152036	9.7	21333	7.5	40060	9.7	14932	17.8	8133	9.6
Aldrim	638581	5.4	323211	4.6	126735	6.5	72300	5.4	32257	6.3	13218	4.9	7455	14.0
Bifentrina	498680	15.5	250225	17.6	101687	19.5	46560	19.1	26718	19.4	11510	16.0	5592	17.1
Bioaletrina	5479152	5.8	2840123	7.8	1172073	9.2	581070	8.5	310025	10.6	129614	8.9	64702	10.6
Bromofós-metilico	5227044	2.2	2613149	2.2	1039649	3.7	436152	4.0	269229	3.7	109399	3.0	58642	12.8
Captafol	65358	99.5	24755	106.9	2732	29.3	2659	118.0	1116	223.7	350	244.9		
Captana	419472	24.4	171042	28.1	40642	19.8	2829	27.4	11157	59.8	3971	58.5	1547	83.0
Cialotrina-lambda	2566591	3.9	1285053	3.5	509520	4.2	283944	3.4	132707	5.0	52955	11.6	28002	6.0
Cifenoctrina	1162697	6.2	597841	7.5	241772	11.7	238731	10.2	63117	12.3	23903	24.0	12892	10.8
Ciflutrina	4097808	5.2	2085856	5.1	844625	7.6	196905	5.2	220769	7.4	83048	18.4	46215	6.7
Cipermetrina	3289956	5.5	1663905	5.2	670864	7.5	1229623	5.9	177140	6.9	67986	19.0	38097	7.8
Cloropirifós-etílico	2938785	2.8	1455883	2.8	582266	3.1	89145	3.1	149110	3.3	60252	3.5	32214	14.6
Clorotalonil	15440702	23.0	8214518	11.5	2946334	10.3	142739	12.4	751276	12.5	313095	11.3	168522	7.7
DDD-2,4	247334	3.1	122216	4.8	49256	4.2	26769	7.4	11802	4.0	4715	10.4	2630	23.7
DDE-2,4	513813	3.8	260233	3.7	102293	10.1	56710	6.1	26005	6.9	10521	6.5	5105	7.7
DDE-p.p	212089	5.3	106756	6.3	45689	9.9	26644	9.6	11781	12.2	4752	8.0	2400	9.6
DDT-p.p	269459	10.2	128785	10.3	45744	9.9	7116	15.1	11749	18.5	4709	22.7	2263	33.1
Deltametrina	1794968	3.5	883573	3.2	360656	7.3	61396	2.8	93550	6.1	32989	20.3	18277	8.8
Diclofluanida	939787	7.5	471830	7.3	186801	8.6	81541	9.6	46670	9.0	17763	7.6	8396	13.4
Diclorana	5093084	21.4	2639953	14.7	1032261	14.7	373368	18.2	247354	13.0	98848	14.7	48746	21.7
Dicofol [†]														
Dieldrin	749117	3.2	387152	3.8	162387	3.7	91159	4.2	42421	4.9	17110	5.5	8638	5.4
Endossulfam-alfa	897468	2.5	465798	2.9	196017	3.1	110864	2.5	51971	3.0	21765	7.6	10585	6.4
Endossulfam-beta	1615835	4.4	823070	6.0	355159	4.0	193526	3.6	94185	5.0	40207	4.5	21158	5.9
Endossulfam-sulfato	1135443	4.9	570125	8.4	234446	3.7	82920	5.1	60648	7.8	24537	7.8	12315	7.3
Endrim	468780	3.6	239245	4.2	102358	9.9	47323	7.3	26569	8.5	10425	4.4	5112	6.0
Fempropratrina	1430918	3.0	724015	5.2	298561	5.7	1639	4.7	77532	5.2	30457	13.7	15849	8.6
Fenitrotona	2382382	9.6	1133664	8.9	423973	8.7	123877	12.3	101784	11.0	42773	10.9	22125	15.4
Fenotrina	23438	21.3	11168	24.6	4517	28.5	152985	21.9	770	110.3				
Fenvalerato	3824730	3.0	1938709	2.8	789763	5.4	160082	3.2	208774	5.3	78033	19.0	42966	6.0
Flucitrinato	3037776	3.1	1530815	3.1	598320	7.1	116147	3.4	159740	6.4	60188	17.9	32263	13.3
Fluvalinato	3261102	16.2	1615392	13.5	622989	16.6	13051	11.5	167263	16.1	60550	29.5	34311	24.0
Folpete	414554	46.3	168060	50.4	32124	19.9	485	52.9	9835	90.6	3724	83.2	1222	155.5
HCH-alfa	1540268	7.8	807909	6.5	344397	9.3	197268	8.5	87438	6.9	35178	6.0	16931	3.0
HCH-beta	806236	9.6	394208	10.0	161321	8.3	78942	9.7	40667	7.8	16140	7.4	8501	15.1
HCH-gama	1579367	6.8	799717	5.4	339181	8.1	186803	8.9	86589	7.4	35251	6.0	19172	19.1
Heptacloro	720471	10.3	354043	10.0	136056	10.2	70289	10.8	34095	13.1	13733	13.1	6557	18.8
Heptacloro epóxido	644091	4.9	326531	4.5	138040	4.7	76231	5.5	36351	5.5	14695	6.6	7322	9.1
Hexaclorobenzeno	7206663	34.4	4335521	45.3	2388919	10.6	1446282	11.1	637160	11.6	262944	11.5	127352	10.6
Mirex	139115	2.8	73283	5.4	31897	5.2	17395	5.9	8487	4.3	3356	10.1	1843	6.6
Parationa-etílica	1321349	7.5	603772	10.2	230749	7.0	85796	13.3	57335	13.5	24302	8.7	12349	11.8
Parationa-metilica	2352097	9.5	1132522	9.8	422776	9.2	143846	12.7	104252	10.1	42994	10.4	22440	13.7
Permetrina	230191	25.0	112221	27.5	43055	28.5	16368	28.0	11225	25.9	4109	37.5	1976	60.2
Protiofós	1932581	2.0	965160	4.6	397247	3.3	187840	2.5	101817	3.5	41312	3.4	20940	3.8
Quintozeno	1822895	4.2	957019	3.9	401991	3.7	196931	6.6	105088	4.4	42442	2.7	22496	12.5
Teflutrina	10578236	22.3	6292934	12.4	2787444	3.9	1567882	4.3	718950	4.2	291738	3.1	154985	14.0
Tequinazeno	11561436	14.1	6647907	5.0	2892559	3.7	1580935	3.7	759411	4.1	311430	4.2	164141	14.1
Tetradifona	1880760	2.2	937759	3.1	379484	2.1	193565	3.3	97362	2.5	37721	11.8	20133	3.7
Tetrametrina	664735	10.1	322274	11.7	125977	13.2	41914	10.0	32335	11.3	12641	18.4	6399	14.2
Tolilfluanida	3700693	5.7	1884878	7.3	773940	2.7	299292	5.2	193948	5.8	76399	5.8	33979	7.3
Transflutrina	9007588	19.4	5151238	7.3	2178443	4.0	1236996	4.7	567664	4.5	229733	3.3	121764	14.4

[†] Não identificado nessas condições de análise

Calculou-se o LOD_i estimado (item 3.9.2) de cada um dos 51 pesticidas, para cada uma das 7 concentrações, das soluções preparadas tanto em solvente (acetonitrila) como no extrato do arroz. Quando ocorria a ausência da área média de um dos pesticidas estudados, em uma solução de concentração específica, não calculou-se o LOD_i estimado, devido a ausência do valor de RSD%. Este fato, indica a falta de sensibilidade do instrumento na detecção do pesticida, naquela determinada concentração e solvente onde o mesmo se encontrava.

A partir das soluções de 100,0; 50,0; 20,0; 10,0; 5,0; 2,0 e 1,0 ng mL⁻¹, calculou-se os valores estimados dos LOD_i , LOD_m , LOQ_i e LOQ_m , colocados nas Tabelas 12 e 13. Quando a solução analítica de menor concentração apresentava um valor calculado de LOD_i , esta concentração era considerada a menor concentração detectável, para um determinado pesticida. Por exemplo, na Tabela 12 as soluções 20 ng mL⁻¹ e 1,0 ng mL⁻¹ foram as menores concentrações que apresentaram valores calculados estimados do LOD_i , para os pesticidas captana (26,0 ng mL⁻¹) e lambda-cialotrina (0,4 ng mL⁻¹), respectivamente. Nestas condições de análise os valores do LOD_i estimados são de 20 ng mL⁻¹ e 1,0 ng mL⁻¹, para os pesticidas captana e cialotrina-lambda, respectivamente. Uma vez que, estes valores são estimados, aplica-se uma margem de segurança para o resultado final, ou seja, mesmo que os valores calculados do LOD_i , sejam maiores ou menores que a concentração da solução analítica, o valor do LOD_i sempre será a concentração da respectiva solução.

Na Tabela 14 estão colocados os valores calculados dos LOD e LOQ, do instrumento e do método, para os 51 pesticidas analisados por GC-MS modo SIM, tanto em soluções preparadas em solvente (acetonitrila), bem como no extrato do arroz.

Tabela 12 - Valores dos LOD e LOQ, do instrumento e do método, obtidos para os pesticidas analisados por GC-MS modo SIM, a partir das soluções 100,0; 50,0; 20,0; 10,0; 5,0; 2,0 e 1,0 ng mL⁻¹ em acetonitrila.

Pesticida	Concentração das Soluções (ng mL ⁻¹)							LOD _i (ng mL ⁻¹)	LOD _m (µg kg ⁻¹)	LOQ _i (ng mL ⁻¹)	LOQ _m (µg kg ⁻¹)
	100,0	50,0	20,0	10,0	5,0	2,0	1,0				
	Estimativa dos LOD ² do Instrumento (ng mL ⁻¹)										
Acinatrina	31.6	20.8	8.5	2.7	1.6	0.7	0.5	1.0	2.0	3.3	6.7
Aldrim	16.4	6.5	2.9	1.4	1.2	0.3	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
Bifentrina	22.5	14.1	5.3	3.4	1.8	0.5	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
Bioaletrina	8.4	5.9	2.7	1.6	0.8	0.2	0.1	1.0	2.0	3.3	6.7
Bromofós-metilico	5.3	4.6	2.3	1.6	0.6	0.4	0.1	1.0	2.0	3.3	6.7
Captafol	156.1							100.0	200.0	333.0	666.0
Captana	93.8	58.5	26.0					20.0	40.0	66.6	133.2
Cialotrina-lambda	34.9	18.0	6.8	3.0	1.0	0.5	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7
Cifenotrina	26.4	13.0	4.9	2.5	0.9	0.6	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7
Ciflutrina	13.0	9.9	2.4	1.3	0.8	0.4	0.6	1.0	2.0	3.3	6.7
Cipermetrina	15.8	8.5	3.5	1.7	0.7	0.3	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7
Cloropirifós-etílico	9.6	4.9	2.2	1.3	0.7	0.3	0.1	1.0	2.0	3.3	6.7
Clorotalonil	61.2	18.9	9.0	4.2	3.4	0.7	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
DDD-2.4	8.8	5.1	2.6	1.2	1.0	0.4	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7
DDE-2.4	14.5	5.9	2.5	1.9	1.5	0.4	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
DDE-p.p	15.5	7.4	4.5	3.0	1.6	0.6	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
DDT-p.p	55.7	31.7	13.7	6.9	3.7			5.0	10.0	16.7	33.3
Deltametrina	24.1	13.8	7.5	2.1	1.1	0.3	0.5	1.0	2.0	3.3	6.7
Diclofluanida	21.9	9.9	4.5	1.8	0.7	0.3	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
Diclorana	33.4	17.9	5.3	1.4	2.3	0.7	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
Dicofol ¹								n.d.	n.d.	n.a.	n.a.
Dieldrin	13.0	6.3	2.8	1.6	0.8	0.4	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7
Endossulfam-alfa	9.5	5.1	2.1	1.3	0.7	0.3	0.5	1.0	2.0	3.3	6.7
Endossulfam-beta	5.6	5.6	2.6	1.2	0.6	0.3	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7
Endossulfam-sulfato	19.9	17.0	6.0	3.8	2.0	1.1	0.6	1.0	2.0	3.3	6.7
Endrim	13.4	8.3	3.3	2.0	1.1	0.5	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
Fempropatrina	28.0	13.8	5.9	3.0	1.1	0.6	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
Fenitrotona	14.3	13.2	4.4	4.3	2.4	1.1	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
Fenotrina	29.5	14.9	11.6	2.9				10.0	20.0	33.3	66.6
Fenvalerato	29.0	15.5	7.9	2.8	1.0	0.5	0.5	1.0	2.0	3.3	6.7
Flucitrinato	24.9	14.0	7.8	2.7	1.5	0.5	0.5	1.0	2.0	3.3	6.7
Fluvalinato	36.5	30.3	10.3	8.1				10.0	20.0	33.3	66.6
Folpete	77.0	56.8						50.0	100.0	166.5	333.0
HCH-alfa	22.0	10.0	3.3	2.0	0.8	0.4	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
HCH-beta	30.5	17.1	5.4	2.4	1.2	0.7	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
HCH-gama (Lindano)	18.8	8.3	3.2	1.9	1.0	0.3	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
Heptacloro	31.9	14.5	6.8	3.1	1.9	0.8	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
Heptacloro epóxido	13.3	6.1	2.8	2.1	0.8	0.5	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
Hexaclorobenzeno	103.2	34.1	6.1	3.1	1.7	0.7	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
Mirex	12.8	9.4	3.8	1.9	1.0	0.4	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7
Parationa-etílica	10.9	11.4	4.9	4.0	1.8	0.8	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
Parationa-metílica	17.2	17.1	5.4	5.1	2.1	1.2	0.5	1.0	2.0	3.3	6.7
Permetrina	11.5	9.7	2.9	3.3	1.9	0.5		2.0	4.0	6.7	13.3
Protiofós	10.4	5.4	2.6	1.4	0.8	0.4	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7
Quintozeno	31.1	15.0	6.7	3.3	0.7	0.7	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
Teflutrina	65.3	15.7	2.2	1.0	1.8	0.1	0.1	1.0	2.0	3.3	6.7
Tequinazeno	32.4	12.1	4.2	2.3	0.9	0.5	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
Tetradifona	16.3	8.0	4.8	2.6	1.2	0.5	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
Tetrametrina	16.6	9.6	4.7	3.1	1.8	0.7	0.5	1.0	2.0	3.3	6.7
Tolilfluanida	11.7	9.0	4.8	2.5	1.1	0.7	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
Transflutrina	56.8	8.3	1.4	0.8	0.3	0.1	0.1	1.0	2.0	3.3	6.7

¹ Não identificado nessas condições de análise

² LOD_i = 3 x RSD x C

Tabela 13 - Valores dos LOD e LOQ, do instrumento e do método, obtidos para os pesticidas analisados por GC-MS modo SIM, a partir das soluções 100,0; 50,0; 20,0; 10,0; 5,0; 2,0 e 1,0 ng mL⁻¹ em extrato do arroz.

Pesticida	Concentração das Soluções (ng mL ⁻¹)							LOD _i (ng mL ⁻¹)	LOD _m (µg kg ⁻¹)	LOQ _i (ng mL ⁻¹)	LOQ _m (µg kg ⁻¹)
	100,0	50,0	20,0	10,0	5,0	2,0	1,0				
	Estimativa dos LOD ² do Instrumento (ng mL ⁻¹)										
Acinatrina	37.7	18.5	5.8	2.3	1.5	1.1	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
Aldrim	16.1	6.9	3.9	1.6	0.9	0.3	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7
Bifentrina	46.4	26.4	11.7	5.7	2.9	1.0	0.5	1.0	2.0	3.3	6.7
Bioaletrina	17.3	11.8	5.5	2.5	1.6	0.5	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
Bromofós-metilico	6.6	3.3	2.2	1.2	0.6	0.2	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7
Captafol	298.5	160.3	17.6	35.4				10.0	20.0	33.3	66.6
Capitana	73.3	42.2	11.9	8.2				10.0	20.0	33.3	66.6
Cialotrina-lambda	11.7	5.3	2.5	1.0	0.8	0.7	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
Cifenoctrina	18.5	11.2	7.0	3.0	1.9		0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
Ciflutrina	15.7	7.7	4.6	1.6	1.1	1.1	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
Cipermetrina	16.6	7.9	4.5	1.8	1.0	1.1	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
Clorpirifós-etílico	8.3	4.2	1.8	0.9	0.5	0.2	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7
Clortalonil	69.0	17.3	6.2	3.7	1.9	0.7	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
DDD-2.4	9.3	7.2	2.5	2.2	0.6	0.6		2.0	4.0	6.7	13.3
DDE-2.4	11.4	5.6	6.0	1.8	1.0	0.4	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
DDE-p.p	15.9	9.4	5.9	2.9	1.8	0.5	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
DDT-p.p	30.5	15.5	6.0	4.5	2.8	1.4	1.0	5.0	10.0	16.7	33.3
Deltametrina	10.5	4.8	4.4	0.8	0.9	1.2	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
Diclofluanida	22.6	11.0	5.1	2.9	1.4	0.5	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7
Diclorana	64.3	22.0	8.8	5.5	1.9	0.9		2.0	4.0	6.7	13.3
Dicofol ¹	701.3	353.3	147.0	73.5	36.7			5.0	10.0	16.7	33.3
Dieldrin	9.6	5.7	2.2	1.2	0.7	0.3	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
Endossulfam-alfa	7.4	4.3	1.9	0.7	0.5	0.5	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
Endossulfam-beta	13.2	9.0	2.4	1.1	0.7	0.3	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
Endossulfam-sulfato	14.7	12.5	2.2	1.5	1.2	0.5	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
Endrim	10.7	6.3	5.9	2.2	1.3	0.3	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
Fempropatrina	9.1	7.8	3.4	1.4	0.8	0.8	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
Fenitrotrina	28.8	13.3	5.2	3.7	1.6	0.7	0.5	1.0	2.0	3.3	6.7
Fenotrina	63.8	37.0	17.1	6.6				10.0	20.0	33.3	66.6
Fenvalerato	8.9	4.2	3.2	1.0	0.8	1.1	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
Flucitrinato	9.3	4.6	4.3	1.0	1.0	1.1	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7
Fluvalinato	48.6	20.3	10.0	3.5	2.4	1.8	0.7	5.0	10.0	16.7	33.3
Folpete	139.0	75.5	12.0	15.9	13.6	5.0		2.0	4.0	6.7	13.3
HCH-alfa	23.5	9.7	5.6	2.5	1.0	0.4	0.1	1.0	2.0	3.3	6.7
HCH-beta	28.7	15.0	5.0	2.9	1.2	0.4	0.5	1.0	2.0	3.3	6.7
HCH-gama (Lindano)	20.5	8.2	4.8	2.7	1.1	0.4	0.6	1.0	2.0	3.3	6.7
Heptacloro	30.8	14.9	6.1	3.2	2.0	0.8	0.6	1.0	2.0	3.3	6.7
Heptacloro epóxido	14.7	6.8	2.8	1.6	0.8	0.4	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
Hexaclorobenzeno	103.1	67.9	6.3	3.3	1.7	0.7	0.3	1.0	2.0	3.3	6.7
Mirex	8.3	8.1	3.1	1.8	0.7	0.6	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
Parationa-etilica	22.5	15.4	4.2	4.0	2.0	0.5	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7
Parationa-metilica	28.5	14.7	5.5	3.8	1.5	0.6	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7
Permetrina	75.1	41.3	17.1	8.4	3.9	2.3		2.0	4.0	6.7	13.3
Protiofós	6.0	6.9	2.0	0.7	0.5	0.2	0.1	1.0	2.0	3.3	6.7
Quintozeno	12.6	5.9	2.2	2.0	0.7	0.2	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7
Teflutrina	67.0	18.6	2.4	1.3	0.6	0.2	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7
Tequinazeno	42.4	7.5	2.2	1.1	0.6	0.3	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7
Tetradifona	6.6	4.6	1.2	1.0	0.4	0.7	0.1	1.0	2.0	3.3	6.7
Tetrametrina	30.3	17.6	7.9	3.0	1.7	1.1	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7
Tolilfluanida	17.1	11.0	1.6	1.6	0.9	0.3	0.2	1.0	2.0	3.3	6.7
Transflutrina	58.2	11.0	2.4	1.4	0.7	0.2	0.4	1.0	2.0	3.3	6.7

¹ Não identificado nessas condições de análise

² LOD_i = 3 x RSD x C

Tabela 14 - Valores calculados dos LOD e LOQ, do instrumento e dos métodos, em solvente e no extratos da matriz, para os pesticidas analisados por GC-MS modo SIM.

Pesticida	LOD _i (ng mL ⁻¹) e LOD _m (µg kg ⁻¹)				LOQ _i (ng mL ⁻¹) e LOQ _m (µg kg ⁻¹)			
	Acetonitrila		Extrato da matriz ¹		Acetonitrila		Extrato da matriz ¹	
	LOD _i	LOD _m	LOD _i	LOD _m	LOQ _i	LOQ _m	LOQ _i	LOQ _m
Acrinatrina	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Aldrim	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Bifentrina	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Bioaletrina	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Bromofós-metílico	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Captafol	100.	200.0	10.0	20.0	333.0	666.0	33.3	66.6
Captana	20.0	40.0	10.0	20.0	66.6	133.2	33.3	66.6
Cialotrina-lambda	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Cifotrina	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Ciflutrina	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Cipermetrina	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Cloropirifós-etílico	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Clorotalonil	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
DDD-2,4	1.0	2.0	2.0	4.0	3.3	6.7	6.7	13.3
DDE-2,4	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
DDE-p,p	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
DDT-p,p	5.0	10.0	5.0	10.0	16.7	33.3	16.7	33.3
Deltametrina	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Diclofluanida	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Diclorana	1.0	2.0	2.0	4.0	3.3	6.7	6.7	13.3
Dicofol			5.0	10.0			16.7	33.3
Dieldrin	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Endossulfam-alfa	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Endossulfam-beta	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Endossulfam-sulfato	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Endrim	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Fempropratrina	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Fenitrotiona	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Fenotrina	10.0	20.0	10.0	20.0	33.3	66.6	33.3	66.6
Fenvalerato	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Flucitrinato	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Fluvalinato	10.0	20.0	5.0	10.0	33.3	66.6	16.7	33.3
Folpete	50.0	100.0	2.0	4.0	166.5	333.0	6.7	13.3
HCH-alfa	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
HCH-beta	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
HCH-gama (Lindano)	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Heptacloro	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Heptacloro epóxido	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Hexaclorobenzeno	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Mirex	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Parationa-etílica	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Parationa-metílica	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Permetrina	2.0	4.0	2.0	4.0	6.7	13.3	6.7	13.3
Protiofós	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Quintozeno	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Teflutrina	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Tequinazeno	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Tetradifona	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Tetrametrina	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Tolilfluanida	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7
Transflutrina	1.0	2.0	1.0	2.0	3.3	6.7	3.3	6.7

¹ Extrato da matriz: Extrato do arroz obtido com acetonitrila

Quando avaliamos os valores calculados do LOD e LOQ, para aqueles pesticidas que normalmente apresentam degradação, como por exemplo (Figura 8), captana, folpete, dicofol, captafol observa-se que para estes compostos, ocorreu uma melhora significativa destes limites, o que vêm a reforçar a importância do preparo das soluções analíticas no extrato da matriz, uma vez que este procedimento contribui para a diminuição da perda e da degradação destes compostos seja no momento da injeção ou durante o decorrer da análise das soluções analíticas no cromatógrafo a gás.

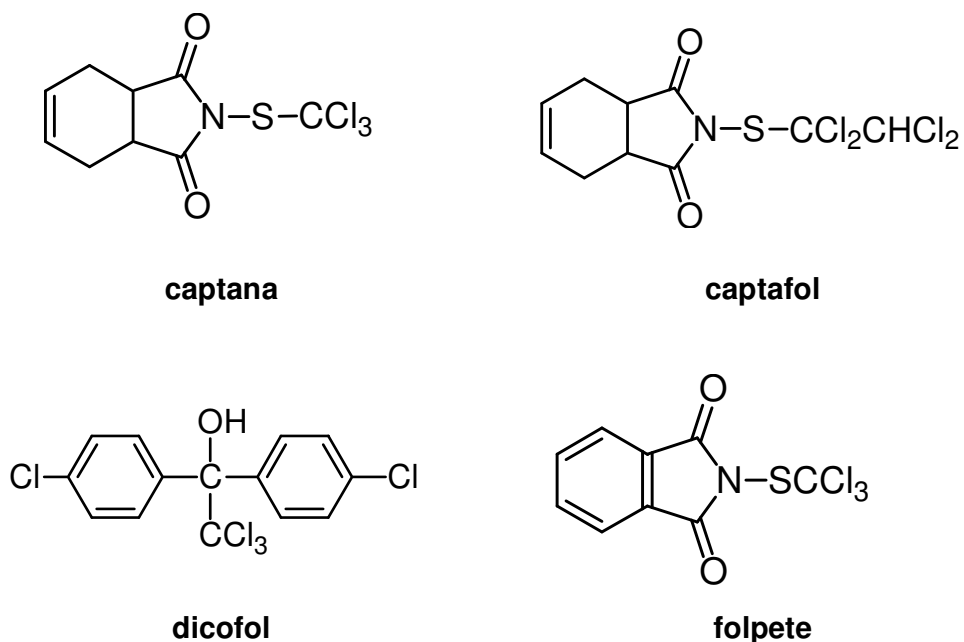


Figura 8 - Estrutura química dos compostos facilmente degradáveis durante análise em cromatógrafo a gás.

4.4.2 Linearidade das curvas analíticas

Analisando-se os resultados da Tabela 15, onde os pesticidas encontravam-se em acetonitrila, nota-se que cerca de 55% desses apresentaram coeficiente de determinação maior do que 0,99. Entretanto, quando os pesticidas estavam presentes em solução preparada no extrato da matriz (Tabela 16) o percentual de pesticidas com r^2 maior do que 0,99, foi de cerca de 73%.

Os pesticidas captafol e dicofol não apresentaram áreas médias para no mínimo 3 concentrações quando as soluções analíticas foram preparadas em acetonitrila e no extrato da matriz, respectivamente. Os compostos fenotrina, folpete, hexaclorobenzeno, cis-permetrina, trans-permetrina, teflutrina, tequinazeno e transflutrina apresentaram valores de r^2 menores que 0,99, quando presentes em ambas soluções.

A Figura 9 mostra uma comparação entre as faixas lineares obtidas quando os 51 pesticidas foram preparados em acetonitrila ($1,0 - 100 \text{ ng mL}^{-1}$ para 85% dos compostos) e no extrato da matriz ($1,0 - 100 \text{ ng mL}^{-1}$ para 90%).

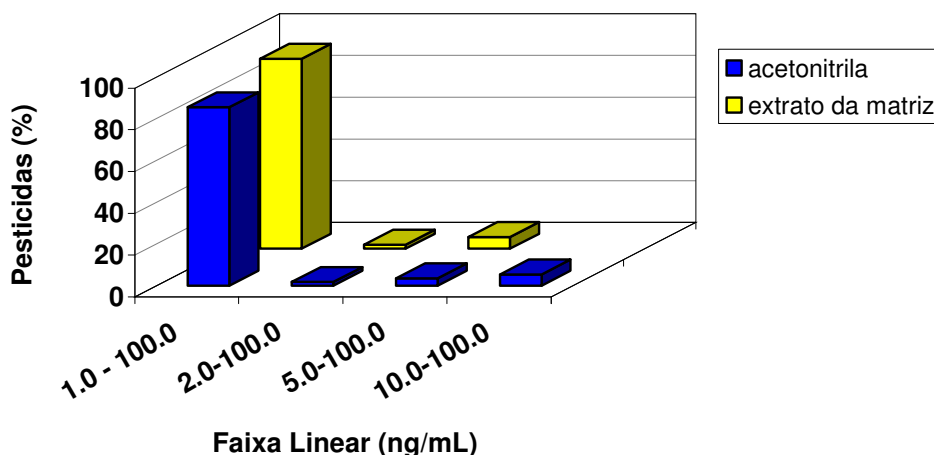


Figura 9 - Percentual de pesticidas que apresentaram faixas lineares entre $1,0 - 100,0$; $2,0 - 100,0$; $5,0 - 100,0$ e $10,0 - 100,0 \text{ ng mL}^{-1}$, quando preparados em acetonitrila e no extrato da matriz.

Tabela 15 - Parâmetros das curvas analíticas, obtidos para os pesticidas analisados por GC-MS modo SIM, a partir das soluções 100,0; 50,0; 20,0; 10,0; 5,0; 2,0 e 1,0 ng mL⁻¹ em acetonitrila.

Pesticida	Intervalo Linear (ng mL ⁻¹)	r ²	Equação da Curva
Acrinatrina	1,0 - 100,0	0,9784	y = 2902,5x - 6956,4
Aldrim	1,0 - 100,0	0,9961	y = 7082,6x - 2311,7
Bifentrina	1,0 - 100,0	0,9912	y = 4636,4x + 155,08
Bioaletrina	1,0 - 100,0	0,9984	y = 53616x + 38845
Bromofós-etílico	1,0 - 100,0	0,9990	y = 47909 - 32682
Captafol [†]			
Captana	2,0 - 100,0	0,8549	y = 1163,6x - 8097,6
Cialotrina-lambda	1,0 - 100,0	0,9809	y = 17241x + 25908
Cifotrina	1,0 - 100,0	0,9897	y = 9495,8x - 3640,4
Ciflutrina	1,0 - 100,0	0,9959	y = 28186x - 35749
Cipermetrina	1,0 - 100,0	0,9954	y = 23435x - 28696
Clorpirifós-etílico	1,0 - 100,0	0,9985	y = 29277x - 6755,1
Clorotalonil	1,0 - 100,0	0,9541	y = 158926x - 223759
DDD-2,4	1,0 - 100,0	0,9987	y = 2625,9x + 186,39
DDE-2,4	1,0 - 100,0	0,9969	y = 5593,2x + 1588,5
DDE-p,p	1,0 - 100,0	0,9956	y = 2314,3x + 2580,9
DDT-p,p	5,0 - 100,0	0,9464	y = 1605,7x - 7427,6
Deltametrina	1,0 - 100,0	0,9884	y = 8351,5x + 17428
Diclofluanida	1,0 - 100,0	0,9930	y = 9026x - 6563,2
Diclorana	1,0 - 100,0	0,9829	y = 47630x - 70673
Dicofol [†]			
Dieldrim	1,0 - 100,0	0,9966	y = 8018,1x + 8869,6
Endossulfam-alfa	1,0 - 100,0	0,9975	y = 9696,3x + 11837
Endossulfam-beta	1,0 - 100,0	0,9983	y = 16521x + 21687
Endossulfam-sulfato	1,0 - 100,0	0,9916	y = 9180,6x + 6435
Endrim	1,0 - 100,0	0,9968	y = 4558,1x + 1724,5
Fempropatrina	1,0 - 100,0	0,9883	y = 12611x - 1410,4
Fenitrotona	1,0 - 100,0	0,9983	y = 19989x - 35985
Fenotrina	10,0 - 100,0	0,9856	y = 204,26x - 452,99
Fenvalerato	1,0 - 100,0	0,9852	y = 20857x - 39397
Flucitrinato	1,0 - 100,0	0,9875	y = 16076x - 35418
Fluvalinato	5,0 - 100,0	0,9525	y = 3344,8x - 19159
Folpete	10,0 - 100,0	0,8564	y = 539,3x - 4643,6
HCH-alfa	1,0 - 100,0	0,9910	y = 16900x + 24238
HCH-beta	1,0 - 100,0	0,9855	y = 8399,6x - 1894,5
HCH-gama (Lindano)	1,0 - 100,0	0,9940	y = 16942x + 15303
Heptacloro	1,0 - 100,0	0,9852	y = 7513x + 2700,2
Heptacloro epóxido	1,0 - 100,0	0,9968	y = 6868,5x + 7213,4
Hexaclorobenzeno	1,0 - 100,0	0,8381	y = 83209x + 551882
Mirex	1,0 - 100,0	0,9947	y = 1464,8x + 2396,1
Parationa-etílica	1,0 - 100,0	0,9950	y = 10570x - 15292
Parationa-metílica	1,0 - 100,0	0,9910	y = 18710x - 31938
Permetrina	1,0 - 100,0	0,9965	y = 1870x - 1968,3
Protiofós	1,0 - 100,0	0,9983	y = 18776x + 620,6
Quintozeno	1,0 - 100,0	0,9841	y = 17339x + 22680
Teflutrina	1,0 - 100,0	0,9380	y = 114805x + 405304
Tequinazeno	1,0 - 100,0	0,9775	y = 116081x + 282262
Tetradifona	1,0 - 100,0	0,9958	y = 19072x + 2755,6
Tetrametrina	1,0 - 100,0	0,9947	y = 4770,6 - 4392
Tolilfluanida	1,0 - 100,0	0,9971	y = 32847 - 21262
Transflutrina	1,0 - 100,0	0,9573	y = 100061x + 228748

[†] Não apresentaram áreas médias de no mínimo 3 diferentes concentrações das soluções analíticas

Tabela 16 - Parâmetros das curvas analíticas, obtidos para os pesticidas analisados por GC-MS modo SIM, a partir das soluções 100,0; 50,0; 20,0; 10,0; 5,0; 2,0 e 1,0 ng mL⁻¹ no extrato da matriz.

Pesticida	Intervalo Linear (ng mL ⁻¹)	r ²	Equação da Curva
Acrinatrina	1,0 - 100,0	0,9920	y = 8132,4x - 4095,9
Aldrim	1,0 - 100,0	0,9962	y = 6392,1x - 525,6
Bifentrina	1,0 - 100,0	0,9652	y = 4971x + 1729,1
Bioaletrina	1,0 - 100,0	0,9939	y = 54705x + 45089
Bromofós-metílico	1,0 - 100,0	0,9993	y = 52195x + 5367,7
Captafol	2,0 - 100,0	0,4509	y = 658,67x - 3836,9
Captana	1,0 - 100,0	0,9176	y = 4205,4 - 16872
Cialotrina-lambda	1,0 - 100,0	0,9980	y = 25640x + 2258,2
Cifenotrina	1,0 - 100,0	0,9935	y = 11630x + 5696,2
Ciflutrina	1,0 - 100,0	0,9960	y = 40939x + 17156
Cipermetrina	1,0 - 100,0	0,9957	y = 32846x + 11474
Clorpirifós-etílico	1,0 - 100,0	0,9989	y = 29334x - 326,53
Clortalonil	1,0 - 100,0	0,9429	y = 156084x - 3250,1
DDD-2,4	1,0 - 100,0	0,9982	y = 2469,7x - 140,85
DDE-2,4	1,0 - 100,0	0,9976	y = 5146,9x + 236,1
DDE-p,p	1,0 - 100,0	0,9952	y = 2110,8x + 1369,6
DDT-p,p	5,0 - 100,0	0,9928	y = 2732,8x - 3288,6
Deltametrina	1,0 - 100,0	0,9981	y = 17896x + 480,73
Diclofluanida	1,0 - 100,0	0,9922	y = 9408,6x - 308,25
Diclorana	1,0 - 100,0	0,9912	y = 57808x - 47342
Dicofol ¹			
Dieldrim	1,0 - 100,0	0,9981	y = 7477,3x + 6201
Endossulfam-alfa	1,0 - 100,0	0,9986	y = 8950,7 + 8768,4
Endossulfam-beta	1,0 - 100,0	0,9966	y = 16053x + 16273
Endossulfam-sulfato	1,0 - 100,0	0,9955	y = 11321x + 4252,2
Endrim	1,0 - 100,0	0,9973	y = 4671,2x + 3707
Fempropatrina	1,0 - 100,0	0,9980	y = 14275x + 6670,7
Fenitrotiona	1,0 - 100,0	0,9935	y = 236,5x + 334,4
Fenotrina	5,0 - 100,0	0,9382	y = 236,5x + 334,4
Fenvalerato	1,0 - 100,0	0,9986	y = 38165x + 17424
Flucitrinato	1,0 - 100,0	0,9985	y = 30374x + 3150,5
Fluvalinato	1,0 - 100,0	0,9929	y = 33840x - 12175
Folpete	1,0 - 100,0	0,9511	y = 3196,9x - 10991
HCH-alfa	1,0 - 100,0	0,9910	y = 15385x + 16504
HCH-beta	1,0 - 100,0	0,9928	y = 7999,6x + 109,1
HCH-gama (Lindano)	1,0 - 100,0	0,9937	y = 15731x + 10464
Heptacloro	1,0 - 100,0	0,9918	y = 7423,7x + 5818,3
Heptacloro epóxido	1,0 - 100,0	0,9966	y = 6413,6x + 4517,9
Hexaclorobenzeno	1,0 - 100,0	0,8116	y = 70806x + 418971
Mirex	1,0 - 100,0	0,9971	y = 1385,5x + 2000,7
Parationa-etílica	1,0 - 100,0	0,9939	y = 12796x - 11020
Parationa-metílica	1,0 - 100,0	0,9934	y = 24630x - 31316
Permetrina	1,0 - 100,0	0,9187	y = 2301,7x + 1135,8
Protiofós	1,0 - 100,0	0,9989	y = 19667x + 5522,8
Quintozeno	1,0 - 100,0	0,9969	y = 18208x + 19313
Teflutrina	1,0 - 100,0	0,9378	y = 106459x + 316020
Tequinazeno	1,0 - 100,0	0,9733	y = 119864x + 352763
Tetradifona	1,0 - 100,0	0,9992	y = 18769x + 2755,6
Tetrametrina	1,0 - 100,0	0,9851	y = 6633,6 x - 2612,1
Tolilfluanida	1,0 - 100,0	0,9949	y = 366988x + 15781
Transflutrina	1,0 - 100,0	0,9563	y = 90616x + 189627

¹ Não apresentaram áreas médias de no mínimo 3 diferentes concentrações das soluções analíticas

4.4.3 Ensaio de Fortificação e Extração com Acetonitrila (Método Quechers modificado) para Avaliação da Recuperação

Dentre os critérios estabelecidos pela União Europeia para validação de métodos analíticos empregados para análise de resíduos de pesticidas em alimentos (EUROPEAN COMMISSION, 2004), dois dos principais são com relação a faixa percentual de recuperação aceita para métodos multirresíduos onde os compostos estejam em concentrações tão baixas quanto $10 \mu\text{g kg}^{-1}$, que deve ser de 70 a 120%, conectado ao valor do RSD% que não deve ser superior a 20%, para estabelecimento do real LOQ_m . Assim, esses também foram os critérios estabelecidos para esse estudo.

Os valores de recuperação foram calculados utilizando-se as curvas analíticas preparadas nos extratos da matriz, de acordo com o método de extração utilizado.

A Tabela 17 apresenta os resultados das recuperações médias ($n=6$) percentuais e o RSD%, para os 51 pesticidas que foram fortificados no arroz, aos níveis de 10, 20 e $50 \mu\text{g kg}^{-1}$, extraídos pelo método QuEChERS modificado, purificados por SPE dispersiva (item 3.9.3) e analisados por GC-MS modo SIM (Item 4.1). As Figuras 10a e 10b mostram uma visualização do comportamento apresentado pelos pesticidas que apresentaram recuperações entre 70 e 120% com RSD de até 20%. Dos 51 pesticidas estudados, 87% preencheram completamente os critérios de recuperação e de RSD%, sendo portanto, passíveis de serem quantificados.

A Figura 11 mostra que os LOQ_m foram de 10 e $20 \mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente para 82 e 5% dos pesticidas, perfazendo o total de 87%. Por outro lado, dos 13% dos pesticidas restantes, 2% não foram detectados em nenhum dos níveis de fortificação estudados, e 11% foram detectados, mas o percentual de recuperação e/ou o valor do RSD% não estavam de acordo com os parâmetros estipulados, para nenhum dos níveis de fortificação.

Portanto, os pesticidas captafol, captana, DDT-p,p, folpete e mirex, fortificados nos níveis estudados, extraídos pelo método QuEChERS modificado, submetidos ao procedimento de *clean-up* descrito no item 3.9.3 e analisados de acordo com o item 4.1, não foram quantificados com segurança quando presentes no arroz, em concentrações de 10, 20 ou $50 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Figura 12).

Tabela 17 - Média dos percentuais de recuperação, RSD% e LOQ_m, obtidos a partir da extração com acetonitrila, do arroz fortificada aos níveis de 10, 20 e 50 µg kg⁻¹ com os pesticidas analisados por CG-MS modo SIM.

Pesticida	Níveis de Fortificação (µg kg ⁻¹)						LOQ _m (µg kg ⁻¹)
	50		20		10		
	Rec Média (%)	RSD%	Rec Média (%)	RSD%	Rec Média (%)	RSD%	
Acrinatrina	93	7.6	93	7.7	88	3.8	10
Aldrim	76	13.0	76	9.7	77	14.3	10
Bifentrina	85	12.1	82	12.2	77	9.8	10
Bioaletrina	93	5.1	92	5.9	85	7.1	10
Bromofós-metilico	90	3.0	90	2.3	87	2.2	10
Captafol	99	69.0	90	36.6	85	41.3	n.q.
Captana	95	46.9	88	32.4	81	30.4	n.q.
Cialotrina-lambda	93	8.4	92	10.1	84	6.6	10
Cifenotrina	93	5.2	93	8.7	83	8.8	10
Ciflutrina	96	7.3	96	8.3	85	5.6	10
Cipermetrina	94	6.0	93	7.1	84	6.0	10
Cloropirifós-etílico	91	5.5	90	5.4	88	2.4	10
Clorotalonil	93	4.9	89	4.6	88	2.0	10
DDD-2,4	89	7.8	92	7.2	96	11.4	10
DDE-2,4	82	10.4	79	10.2	82	5.0	10
DDE-p,p	81	5.5	81	5.4	84	5.0	10
DDT-p,p	87	33.3	85	24.3	80	22.4	n.q.
Deltametrina	92	8.3	89	6.1	85	11.6	10
Diclofluanida	84	6.2	79	6.4	79	11.9	10
Diclorana	87	5.1	86	13.3	80	20.1	20
Dicofol ¹							
Dieldrin	88	7.6	89	7.2	89	6.6	10
Endossulfam-alfa	89	6.3	91	5.7	91	4.7	10
Endossulfam-beta	93	2.8	94	4.0	92	3.6	10
Endossulfam-sulfato	100	7.3	100	8.0	103	9.7	10
Endrim	88	3.7	88	3.0	89	3.4	10
Fempropatrina	98	5.3	96	4.4	88	9.4	10
Fenitrotiona	90	5.6	88	11.5	82	19.9	10
Fenotrina	101	11.5	99	10.0	33	137.8	20
Fenvalerato	94	5.6	91	5.5	84	5.8	10
Flucitrinato	96	7.9	95	8.4	86	6.2	10
Fluvalinato	95	7.0	93	6.8	87	5.6	10
Folpete	105	57.7	91	38.9	85	40.3	n.q.
HCH-alfa	95	5.6	98	1.8	101	5.1	10
HCH-beta	97	2.4	98	3.6	103	6.9	10
HCH-gama (Lindano)	95	4.8	98	1.6	100	4.8	10
Heptacloro	83	6.3	84	4.3	84	3.0	10
Heptacloro epóxido	90	8.1	93	6.6	94	5.8	10
Hexaclorobenzeno	72	8.4	74	6.4	73	6.0	10
Mirex	65	3.9	64	7.3	63	7.9	n.q.
Parationa-etílica	90	6.3	88	9.1	82	14.7	10
Parationa-metílica	91	5.4	89	10.6	83	19.0	10
Permetrina-cis	85	11.8	83	14.4	75	17.4	10
Permetrina-trans	86	9.8	83	16.1	67	14.1	20
Protiofós	85	5.7	82	6.3	77	4.1	10
Quintozeno	87	8.7	89	6.8	88	5.8	10
Teflutrina	90	10.8	92	9.9	91	10.3	10
Tequinazeno	87	7.3	90	6.8	87	3.7	10
Tetradifona	94	8.9	93	8.7	91	7.9	10
Tetrametrina	96	12.0	93	11.0	86	6.2	10
Tolilfluanida	89	4.7	84	3.5	79	5.5	10
Transflutrina	93	8.4	95	8.4	94	7.7	10

¹ n.d.: não detectado

n.q.: não quantificado com confiança nos níveis de fortificação estudados

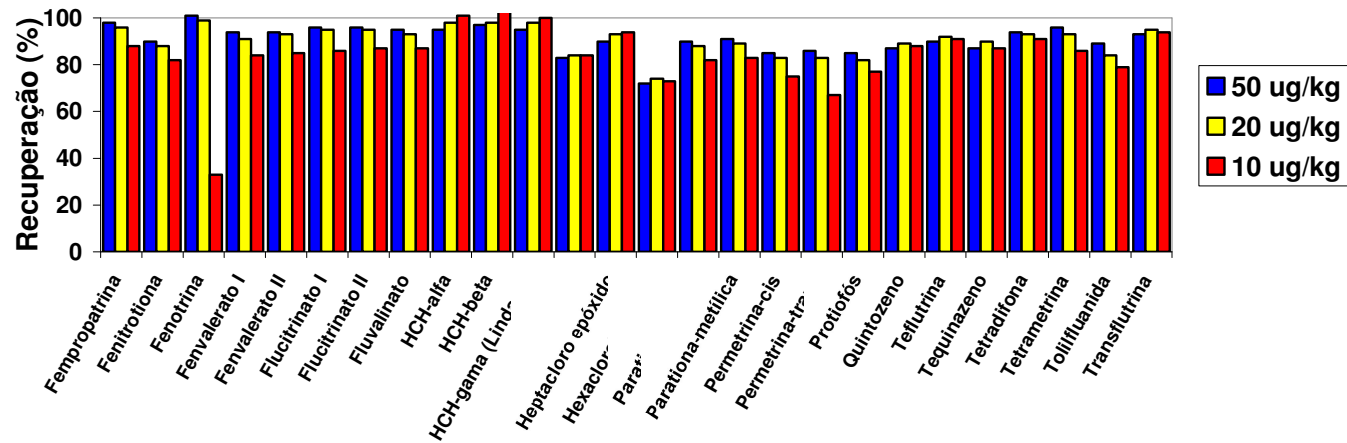
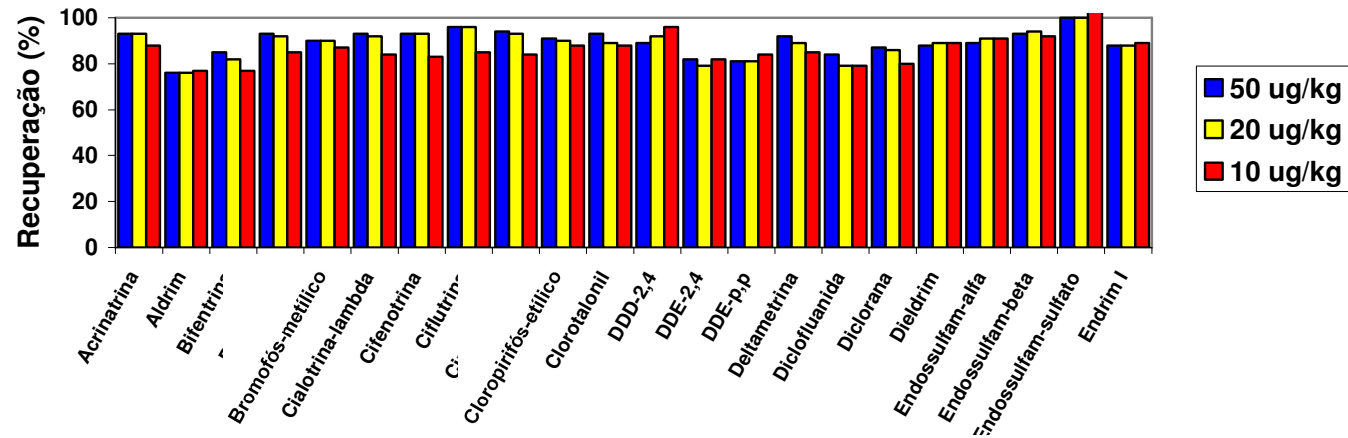


Figura 10 –Recuperações obtidas para os pesticidas nos três diferentes níveis de fortificação (50, 20 e 10 µg kg⁻¹)

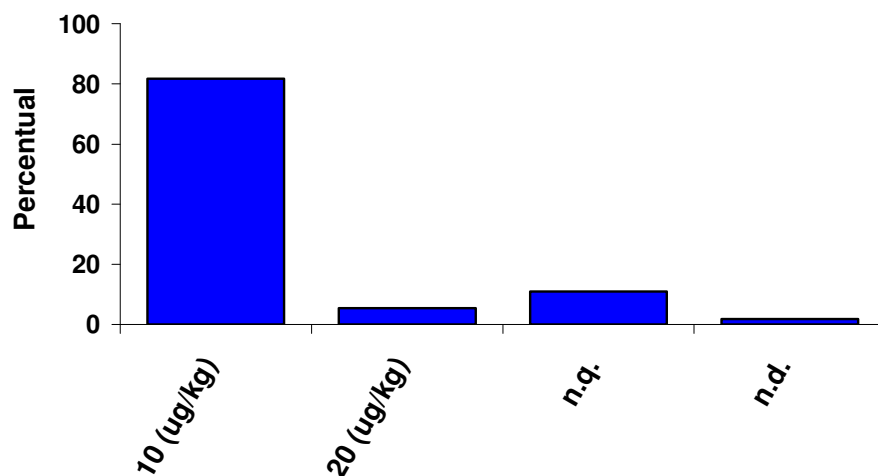


Figura 11 – Percentual de pesticidas que após os ensaios de fortificação e recuperação, apresentaram 10 e 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de LOQ_m , dos não quantificados (n.q.) e dos não detectados (n.d.) quando extraídos pelo método QuEChERS modificado e analisados por GC-MS modo SIM

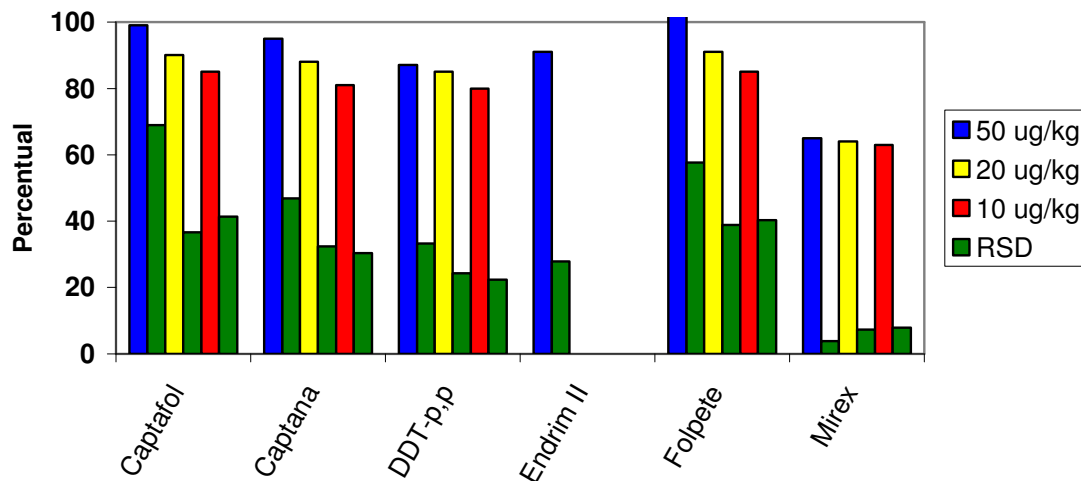


Figura 12 – Percentuais de recuperação e RSD apresentados pelos pesticidas não quantificados nos três níveis de fortificação estudados 10 , 20 e 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

As Figuras 13 e 14 apresentam os cromatogramas totais obtidos por GC-MS modo SIM do extrato da matriz “branco” e de soluções analíticas preparadas em solvente orgânico e no extrato do arroz na concentração de 5 ng mL^{-1} . A figura 15 apresenta os cromatogramas referente a fortificação com os 51 pesticidas nos níveis de 10 , 20 e $50 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$. Nota-se o cromatograma do “branco” sem qualquer pico, exceto os picos dos padrões internos bromofós metílico e tris-dicloroisopropilfosfato, ilustrando assim a alta seletividade deste modo de análise.

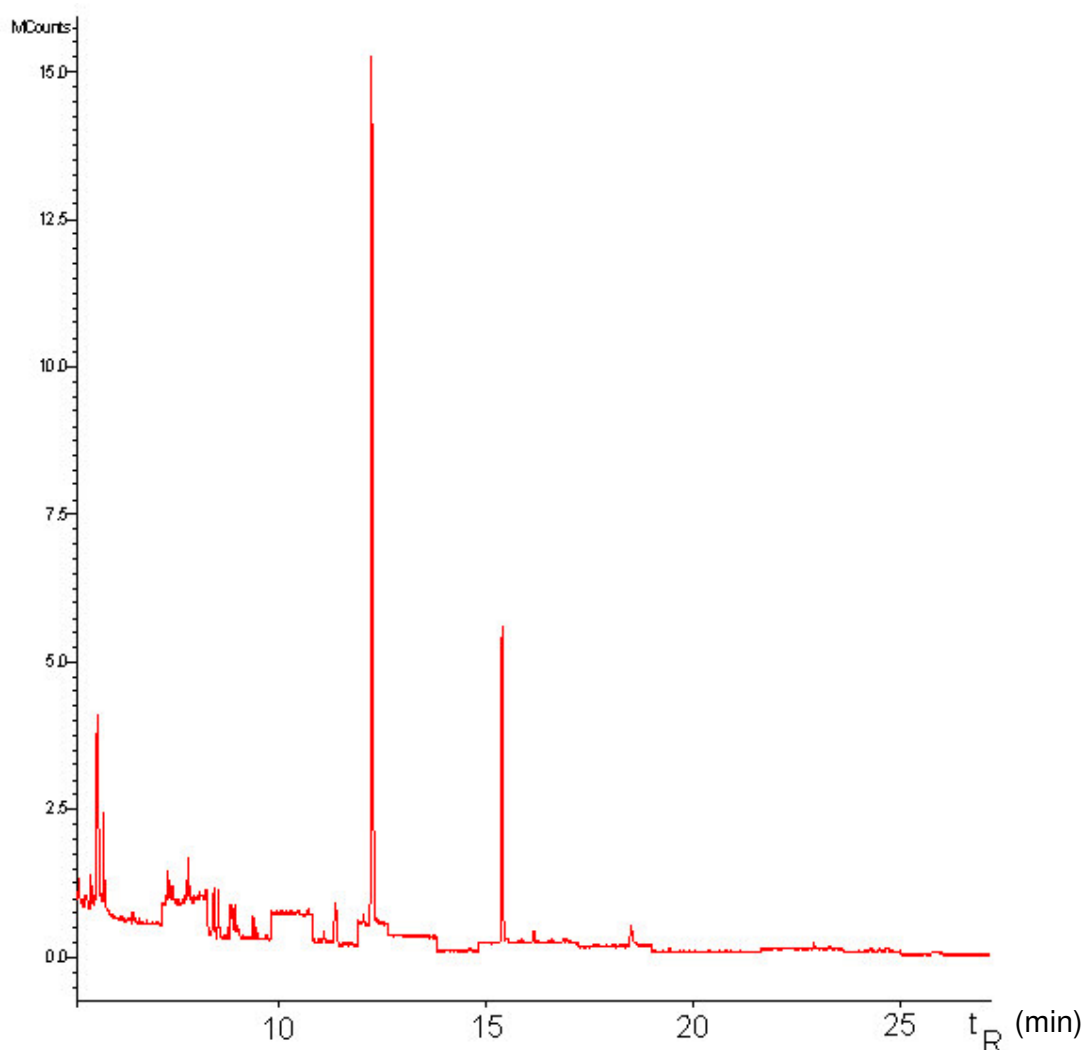


Figura 13 – Cromatograma total obtido por GC-MS (NCI) modo SIM, para extrato “branco” do arroz.

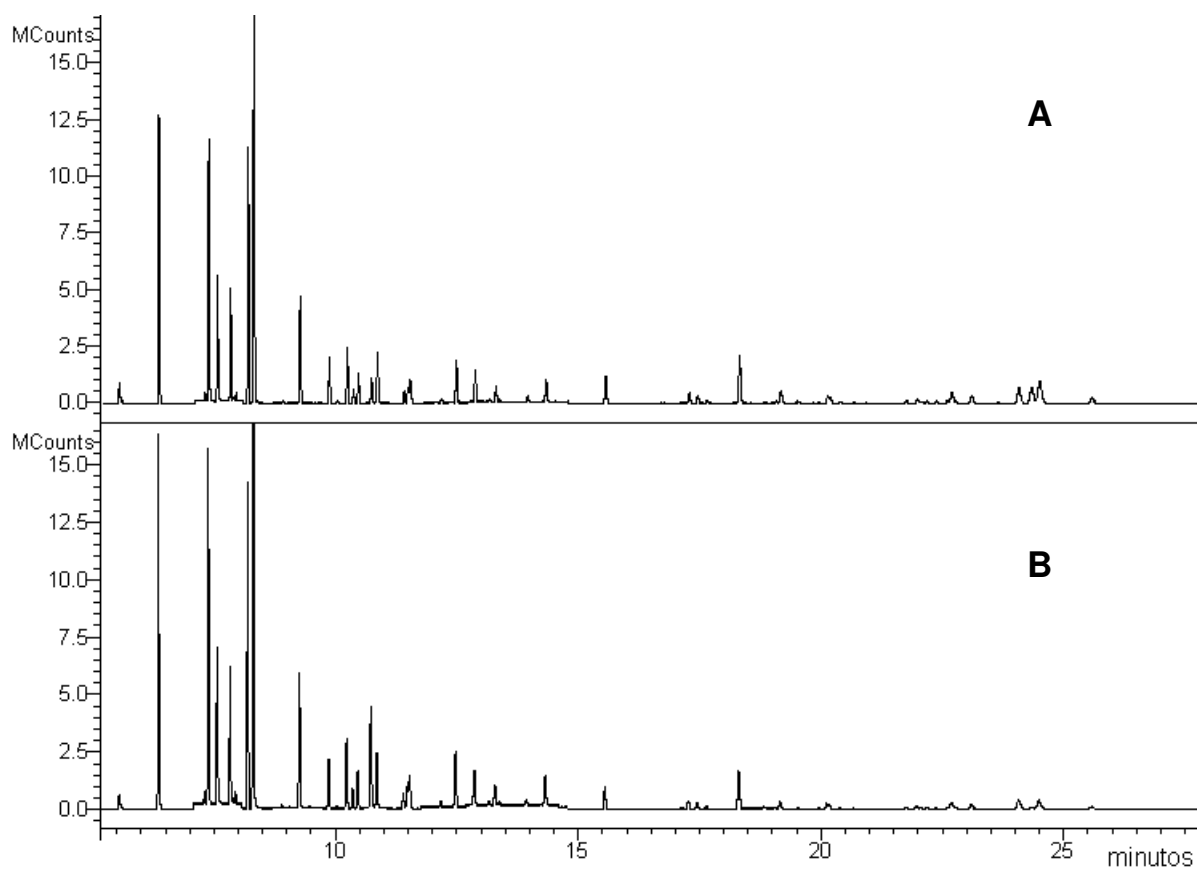


Figura 14 – . Cromatograma total dos 51 pesticidas analisados por GC-MS (NCI) modo SIM, quando em soluções analíticas $5,0 \text{ ng mL}^{-1}$ preparadas em A) solvente orgânico (isooctano/tolueno 9:1); B) extrato do arroz.

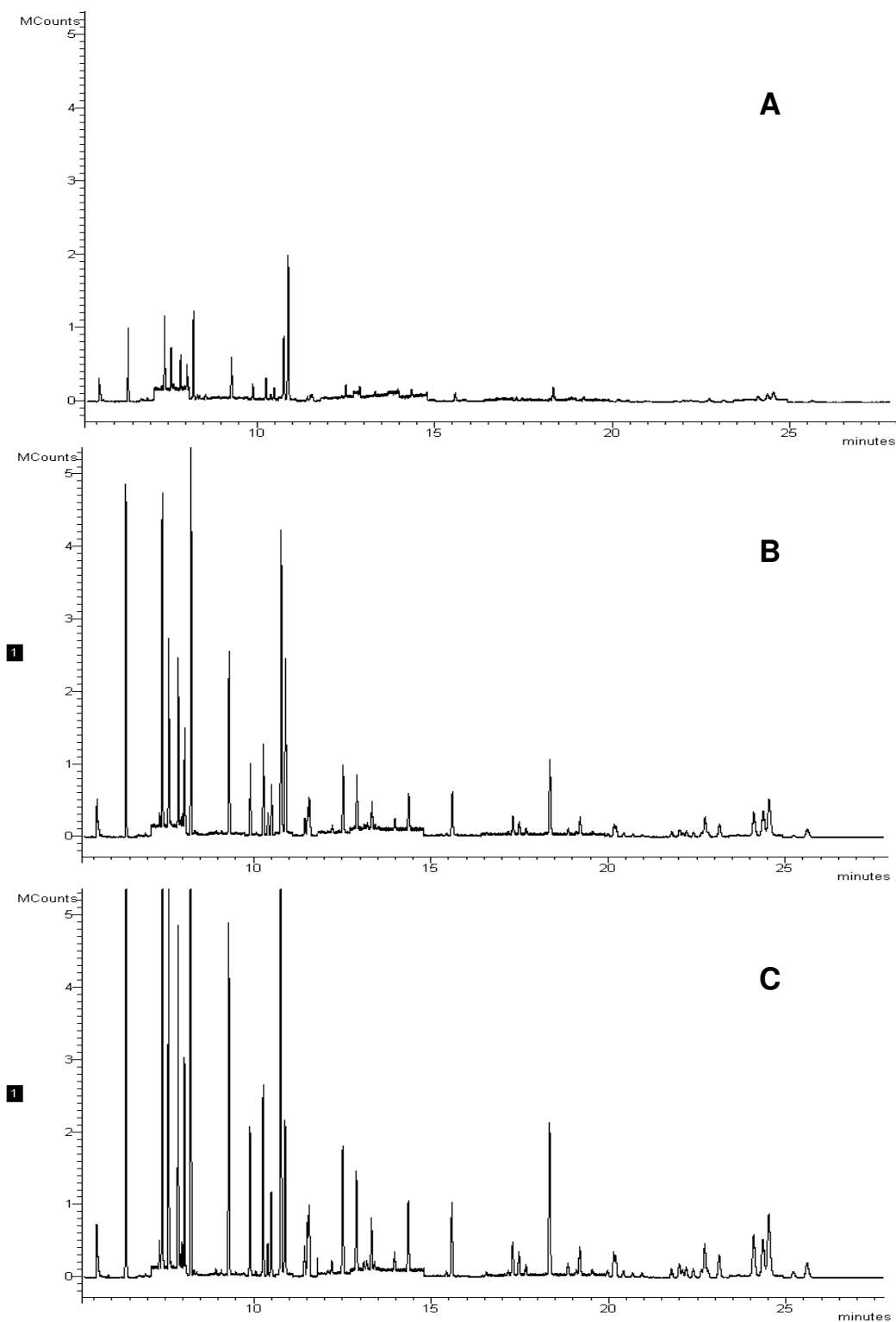


Figura 15 – Cromatograma total obtido por GC-MS modo CI negativo para arroz fortificado ao nível de (A) 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$; (B) 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e (C) 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

4.5 Efeito matriz dos extratos de arroz nas análises por GC-MS

Efeito matriz é o efeito observado pelo aumento ou decréscimo na resposta do detector, para um determinado analito, presente no extrato da matriz, comparado com a resposta do detector para o analito em solvente orgânico. Por outro lado, deve-se perceber que o efeito matriz pode facilmente tornar-se maior, em baixas concentrações do analito, pois haveria decréscimo na razão de concentração do analito/concentração da matriz.

O efeito matriz sempre sofre variações ao longo do tempo e também varia dependendo da condição do instrumento utilizado, devendo, por isso, ser constantemente avaliado, tanto na etapa de desenvolvimento do método quanto na aplicação deste método nas análises de rotina. A Figura 16 ilustra a variação do efeito matriz de acordo tempo de retenção dos pesticidas estudados.

A maioria dos 51 pesticidas estudados apresentou considerável efeito matriz positivo (Tabela 18), quando obtidos pelo método de extração com acetonitrila. Pesticidas conhecidos por serem facilmente degradáveis no sistema de injeção do cromatógrafo, captafol, captana, clorotalonil, diclofluanida, dicofol, folpete e tolifluanida, mostraram efeito matriz que podem não ser causados apenas pelo diferente grau de adsorção, mas causados também pela ocorrência do processo variável de degradação, o que pode acontecer tanto quando o pesticida está em extrato da matriz como em solvente orgânico. Esse fato torna a interpretação do efeito matriz em GC ainda mais difícil. De maneira geral, pode-se dizer que, soluções analíticas preparadas em extratos da matriz devem ser utilizadas para a quantificação dos resíduos de pesticidas em extratos de arroz, analisados por GC-MS modo SIM.

Figura 16 – Percentual de efeito matriz de acordo com o tempo de retenção dos pesticidas estudados.

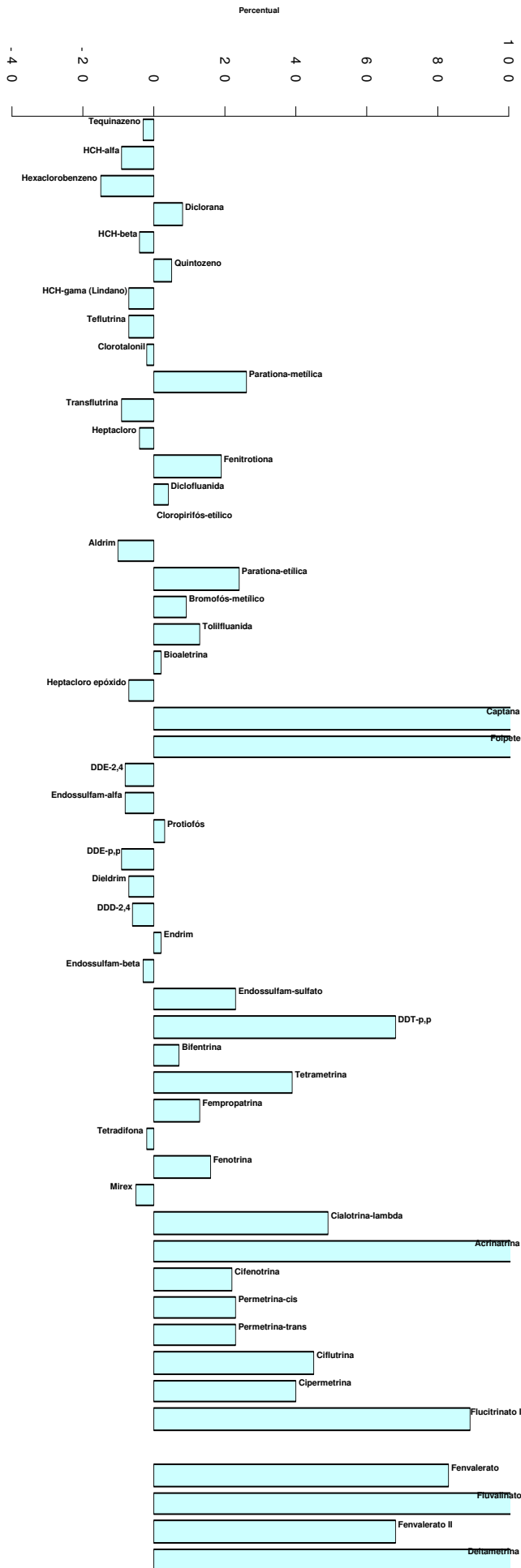


Tabela.18 - Efeito matriz percentual dos pesticidas analisados por GC-MS modo SIM, a partir de soluções preparadas em acetonitrila e no extrato da matriz.

Pesticida	Efeito Matriz (%)
Acrinatrina	173
Aldrim	-10
Bifentrina	7
Bioaletrina	2
Bromofós-metílico	9
Captafol [†]	
Captana	261
Cialotrina-lambda	49
Cifenotrina	22
Ciflutrina	45
Cipermetrina	40
Cloropirifós-etílico	0
Clorotalonil	-2
DDD-2,4	-6
DDE-2,4	-8
DDE-p,p	-9
DDT-p,p	68
Deltametrina	114
Diclofluanida	4
Diclorana	8
Dicofol [†]	
Dieldrim	-7
Endossulfam-alfa	-8
Endossulfam-beta	-3
Endossulfam-sulfato	23
Endrim	2
Fempropatrina	13
Fenitrotiona	19
Fenotrina	16
Fenvalerato	83
Flucitrinato	89
Fluvalinato	874
Folpete	673
HCH-alfa	-9
HCH-beta	-4
HCH-gama (Lindano)	-7
Heptacloro	-4
Heptacloro epóxido	-7
Hexaclorobenzeno	-15
Mirex	-5
Parationa-etílica	24
Parationa-metílica	26
Permetrina	23
Protiofós	3
Quintozeno	5
Teflutrina	-7
Tequinazeno	-3
Tetradifona	-2
Tetrametrina	39
Tolilfluanida	13
Transflutrina	-9

[†] n.d.: não detectado

5 CONCLUSÕES

O método de extração (QuEChERS modificado) utilizando *clean-up* dispersivo empregado neste estudo tem como vantagem a obtenção de um procedimento moderno e dinâmico, que pode ser aplicado em qualquer laboratório, devido a simplificação ou corte de etapas lentas e trabalhosas, empregadas em outros métodos de extração.

As vantagens desse método incluem a rapidez (preparo de 8 amostras em cerca de 30 min), simplicidade, confiabilidade, robustez (poucas e simples etapas), baixo custo, baixo consumo de solventes (somente 10 mL de acetonitrila), praticamente não necessita de vidrarias e cobre um amplo espectro de pesticidas extraídos (incluindo pesticidas com caráter ácido, básico e aqueles muito polares), podendo ser aplicado a diferentes tipos de matrizes.

O uso de GC-MS no modo NCI, proporcionou grandes vantagens como consequência de sua alta especificidade, permitindo a análise de 51 pesticidas de diferentes grupos químicos, sem interferências da matriz.

Ao empregar-se o método QuEChERS modificado, para extração dos 51 pesticidas analisados por GC-MS modo CI negativo, 87% dos pesticidas foram quantificados. O número de compostos não quantificados e não detectados foi de 2 e 11%, respectivamente.

Em termos dos valores estimados de LOD e LOQ, tanto do instrumento quanto do método observou-se melhora nesses parâmetros, para aqueles pesticidas que normalmente apresentam degradação, como por exemplo, captana, folpete, dicofol e captafol, quando as soluções analíticas foram preparadas em extratos da matriz.

Com relação aos valores de r^2 das curvas analíticas, a técnica de GC-MS modo SIM foi mais influenciada pelo uso de soluções em extratos da matriz, uma vez que 73% dos pesticidas analisados por esta técnica demonstraram $r^2 \geq 0,99$, ao passo que apenas 55% daqueles em solvente orgânico apresentaram esses valores. De forma geral, a faixa linear de concentração das curvas analíticas situou-se entre 1,0 ou 2,0 a 100,0 ng mL⁻¹.

Os resultados obtidos através do cálculo do efeito matriz percentual, possibilitam concluir que este sofreu variações ao longo do tempo, sendo maior para

aqueles pesticidas que apresentaram um maior tempo de retenção, o que promoveu uma maior interação entre os analitos e os sítios ativos do sistema cromatográfico.

Uma vez que a legislação internacional caminha em direção ao estabelecimento da "Tolerância Zero", que foi estipulada como sendo $10 \mu\text{g kg}^{-1}$, os níveis de fortificação estudados demonstraram ser adequados, sendo que a grande maioria dos pesticidas, 87%, apresentaram LOQ_m (critérios de recuperação entre 70 e 120% e valores de $\text{RSD}\% \leq 20\%$) de 10 ou $20 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Portanto, os objetivos traçados para este trabalho foram satisfatoriamente alcançados, pois avaliou-se e validou-se um método de extração, empregando-se análise por GC-MS para a determinação de um total de 51 pesticidas em arroz.

A fiscalização da excedência dos MRL bem como o monitoramento da presença de pesticidas proibidos para este alimento, visando exportação, poderá ser realizada através da aplicação do método validado.

6 DIREÇÕES FUTURAS

Desenvolvimento e validação de métodos de análise para aqueles pesticidas que não foram satisfatoriamente determinados através das condições de análise empregadas nesse estudo, como dicofol, captafol, captana e folpete, entre outros;

Aplicação do método validado para o monitoramento (identificação e quantificação) dos resíduos dos pesticidas utilizados na cultura do arroz; bem como aumento do número de pesticidas a serem analisados;

Otimização do método para sua aplicação na análise de resíduos de pesticidas em outras culturas como por exemplo milho e trigo;

7 REFERÊNCIAS

AGÜERA, A.; CONTRERAS, M.; CRESPO, J.; *et al.*, **The Analyst**, v.127, p.347-354, 2002.

AHMED, F. E., **Trends in Analytical Chemistry**, v. 20, p. 649-661, 2001.

ALDER, L.; GREULICH, K.; KEMPE, *et al.*, **Mass Spectrometry Reviews**, v.25, p.838-865, 2006.

ANASTASSIADES, M., QuEChERS- **A Mini-Multiresidue Method for the Analysis of Pesticides Residues in Low-Fat Prodcuts**. Disponível em: <http://www.quechers.com/>. Acesso em 30 jan. 2007.

ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S.; STAJNBAHER, D.; SCHENCK, F. J., **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v.83, p.412-431, 2003.

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA), 2006, Legislação em Vigilância Sanitária. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=178#>>. Acesso em 27 dez 2006.

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA), Limites Máximos de Resíduos de Pesticidas em arroz, 2007. Disponível em: http://www4.anvisa.gov.br/AGROSIA/asp/frm_dados_ingrediente.asp?iVarAux=1&C odIng=161. Acesso em 23 jan. 2007.

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA), Resolução – RE nº 899 de 29 de maio, 2003b. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm>. Acesso em 22 jan. 2007.

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA), Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 65 de 25 de fevereiro, 2003a. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/Glossario/glossario_v.htm>. Acesso em 22 jan. 2007.

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). Classificação e Rotulagem de agrotóxicos. 2005 Disponível em: <http://www.desenvolvimento.gov.br/arquivo/secex/ghs/curso>>. Acesso em 22 jan. 2007.

ATLAS SOCIO-ECONÔMICO DO RIO GRANDE DO SUL, 2006. Disponível em: <http://www.scp.rs.gov.br/ATLAS/atlas.asp?menu=264>>. Acesso em 10 jan. 2007.

BARRIGOSI, J. A. F.; LANNA, A. C.; FERREIRA, E., **Circular Técnica n. 67 – EMBRAPA**, 2004.

BEGUIN, S.; JADAS-HÉCART, A.; TABET, J. C.; **Journal of Mass Spectrometry**, v.41, p.1304-1314, 2006

BRASIL. Decreto nº 4.074, de 04 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 08 jan 2002. Disponível em: <www.planalto.gov.br/ccivil_03/Decreto/2002/D4074.htm>. Acesso em 23 nov. 2006.

CARERI, M.; BIANCHI, F.; CORRADINI, C.; **Journal Chromatography A**, v.970, p.3-64, 2002.

CEN (COMITÉ EUROPEEN DE NORMALISATION), CEN/TC 275/WG 4 N 0224, Foods of plant origin – **Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS (MS) following acetonitrile extraction/partitioning – QuEChERS Method**, 2006.

CHAO, H. R., WANG, S.L., LIN, T. C., *et al.*, **Chemosphere**, v.62, n.11, p.1774-1785, 2005.

CHASIN, A. A. M.; NASCIMENTO, E. S.; RIBEIRO-NETO, L. M. *et al.*, **Revista Brasileira de Toxicologia**, v.11, p.1-6, 1998.

CIT (CENTRO DE INFORMAÇÃO TOXICOLÓGICA DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL), 2004. Disponível em: <<http://www.cit.rs.gov.br>>. Acesso em 13 jan 2007.

CODEX ALIMENTARIUS METHOD VALIDATION, JOINT FAO/WHO FOOD STANDARDS PROGRAMME, **Codex on Methods of Analysis and Sampling**, Budapeste, 2001.

CODEX ALIMENTARIUS, Limites Máximos de Resíduos de pesticidas em arroz, 2007. Disponível em: <<http://www.codexalimentarius.net/mrls/servlet/PesticideServlet>>. Acesso em 27 jan 2007.

COLOSIO, C.; BIRINDELLI, S.; CORSINI, E. *et al.*, **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.207, p.5320-5328, 2005.

CONAB (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO), **Quarto levantamento de avaliação da safra 2006/2007**. 2007. Disponível em <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em 10 jan. 2007.

DIEZ, C.; TRAAG, W. A.; ZOMMER, P. *et al*, **Journal Chromatography A**, *in press*, 2006.

EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA), **Cultivo do arroz irrigado no Brasil**, EMBRAPA Clima Temperado, 2005a. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FONTESHTML/Arroz/ArrozIrrigadoBrasil>>. Acesso em 16 nov. 2006 .

EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA), **Inseticidas registrados para a cultura do arroz e análise dos parâmetros indicadores de seu comportamento no ambiente**, EMBRAPA Arroz e Feijão, 2005b. Disponível em: <http://www.cnpaf.embrapa.br/publicacao/circularartecnica/circ_74.pdf>. Acesso em 16 nov. 2006 .

ERGONEN A. T.; SALACIN, S.; OZDEMIR, M.H.; **Journal of Clinical Forensic Medicine**, v.12, p.205-208, 2005.

EUROPEAN COMMISSION, **Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis**, 3^a Edição, Documento N° SANCO/10476/2003, 5 de Fevereiro 2004, Bruxelas, Bélgica.

FAO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations), 2005a. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat/collections?hasbulk=0&subset=FoodQuality&&language=EN>>. Acesso em 15 jan 2007.

FAO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations), 2005b. Disponível em: http://faostat.fao.org/faostat/pestdes/pest_ref/pest-e.htm#E9E1>. Acesso em 15 jan 2007.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANISATION OF THE UNITED NATIONS), **Economics and the International Year of Rice**. Italy, 2004b. Disponível em: <<http://www.rice2004.org>>. Acesso em 16 nov. 2006.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANISATION OF THE UNITED NATIONS), **Rice is life**. Italy, 2004a. Disponível em: <<http://www.fao.org/rice2004>>. Acesso em 16 nov. 2006.

FERNÁNDEZ-ALBA, A. R.; (ed.), **Chromatographic - Mass Spectrometry Food Analysis for Trace Determination of Pesticide Residues**, vol XLIII, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, Cap. 7, 2005a.

FERNÁNDEZ-ALBA, A. R.; (ed.), **Chromatographic - Mass Spectrometry Food Analysis for Trace Determination of Pesticide Residues**, vol XLIII, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, Cap. 6, 2005b.

FERREIRA, C. M.; WANDER, A. E., **Informações Econômicas**, v.35, n.11, p.36-46, 2005.

FERREIRA, C. M.; Pinheiro, B. S.; Sousa, I. S.; Morais, O. P.; **Qualidade do arroz no Brasil: Evolução e Padronização**, Santo Antônio de Goiás : EMBRAPA Arroz e Feijão, 2005, p. 13.

GARP – ASSOCIAÇÃO GRUPO DE ANALISTAS DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS, **Manual de Resíduos de Pesticidas em Alimentos**, 1999.

GARRIDO-FRENICH, A.; MARTÍNEZ-SALVADOR, I.; MARTINEZ-VIDAL, J. L., *et al.*, **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.383, p.1106, 2005a.

GARRIDO-FRENICH, A.; GONZALEZ-RODRIGUEZ, I.; ARREBOLA, F. J.; *et al.*, **Analytical Chemistry**, v.77, p.4640-4648, 2005b.

HERCEGOVA, A.; DOMOTOROVA, M.; KRUZLICOVA, D., *et al.*, **Journal Separation Science**, v.29 p. 1102-1109, 2006.

HERNANDEZ, F.; POZO, O. J.; SANCHO, J. V.; *et al.*, **Journal Chromatography A**, v. 1109 p.1242, 2006.

HILL, A. R. C., REYNOLDS, S. L., **Analyst**, v.124, p.953-958, 1999.

HOGENBOO, M. A.; ZONEN, P., **Journal Chromatography A**, v.892, p.435-453, 2000 .

HUBER, L., **LC-GC International**, p.96-105, 1998.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA), **Produção Agrícola Municipal - Cereais, Leguminosas e Oleaginosas**, 2005. Disponível em: <http://www.ibge.com.br/home/presidencia/noticias/noticia_impresao.php?id_noticia=635>. Acesso em 16 nov. 2006.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA), **Produção Agrícola Municipal - Cereais, Leguminosas e Oleaginosas**, 2004. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=395&id_pagina=1>. Acesso 06 dez. 2006.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA), Sistema IBGE de Recuperação Automática, 2007. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em 10 jan. 2007.

INMETRO (INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL), **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos**, DOQ-CGCRE-008, 2003.

IRGA (INSTITUTO RIOGRANDENSE DO ARROZ), 2003. Disponível em: <http://www.irga.rs.gov.br/arquivos/INFORMATIVOout2003.doc>. Acesso em 19 jan. 2007.

IRGA (INSTITUTO RIOGRANDENSE DO ARROZ), **Campanha de Incentivo ao Consumo de Arroz**, 2005. Disponível em: <<http://200.96.107.174/coma-arroz/paginas/acampanha.php>>. Acesso 14 dez. 2006.

ISO/IEC FDIS 17025, **General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories**, 1999.

JOHN, R. J. P.; RUBERU, D. K.; HOEK, W., **Respiratory Medicine**, v.99, p.1319-1324, 2005.

LANÇAS, F. M., **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise**, v.6, São Carlos, Editora RiMa, 2004.

- LARINI, L., **Toxicologia dos Praguicidas**, Editora Manole, São Paulo, 1999.
- LEANDRO, C. C.; FUSSELL, R. J.; KEELY B. J., **Journal Chromatography A**, v.1085, p.207-212, 2005.
- LEHOTAY, S., **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v. 85, n.5, p. 1148-1166, 2002.
- LEHOTAY, S.; MASTOVSKA, A. R.; LIGHTFIELD, J., **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v.88, p.615-629, 2005.
- LEHOTAY, S., **Pesticides Analysis in Methods in Biotechnology**, Editora Humana Press, Capítulo 6, *in press*
- LIU, L. B.; HASHI, Y.; Qin, Y. , **Journal of Chromatography B**, *in press*
- LUTHJE, K.; HYOTYLAINEN, T.; RAUTIAINEN-RAMA, M., *et al.*, **Analyst**, v. 52, p.52, 2005.
- MARTINEZ-VIDAL, J. L.; ARREBOLA, F. J.; MATEU-SANCHEZ, M., **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v.16, p.1106-1115, 2002.
- MARTINEZ-VIDAL, J. L.; ARREBOLA-LIÉBANAS, F. J.; GONZALEZ-RODRIGUEZ M. J., *et al.* **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v.20, p.365-375, 2005.
- MASTOVSKA, K.; LEHOTAY, S. J.; **Journal Chromatography A**, v.1040, p.259-272, 2004.
- MELO, L. F. C., Collins, C. H., Jardim, ICSF., **Journal Chromatography A**, v.1073 p. 1075, 2005
- MELOAN, C. E., **Pesticides Laboratory Training Manual**, Editora AOAC International, Gaithersburg, EUA, 1996.
- MERCER, G. E., **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v.88, n.5 p.1452-1462, 2005.
- MORAGAS, S. M.; SCHENEIDER, M. O.; **Caminhos de Geografia**, v.3, n.10, 2003
- PANG, G. F., CAO, Y, ZHONG, ZHANG, J. J., **Journal Chromatography A**, v.1125, p.1-30, 2006a.
- PANG, G. F., FAN, C. L., LIU, Y. M., *et al.*, **Food Additives and Contaminants**, v. 23, n.8, p.777-810, 2006b.
- PEREIRA, J. A.; **A Cultura do Arroz no Brasil: subsídios para sua história**, Teresina : EMBRAPA Meio-Norte, 2002, p. 10.
- PICÓ, Y., BLASCO, C., FONT, G., **Mass Spectrometry Reviews**, v.23, p. 45-85, 2004.

PICÖ, Y., FONT, G., MOLTÓ, J. C., *et al.*, **Journal Chromatography A**, v.885, p. 153-173, 2000.

PIZZUTTI, I. R., Validação de Métodos Multirresíduos de Extração e Desenvolvimento de Método de Purificação por GPC para Análise de Resíduos de Pesticidas em Soja utilizando GC-MS, GC-MS/MS e LC-MS/MS, **Tese de Doutorado em Química**, UFSM, Santa Maria, 2006.

PLOSSL, F., GIERA, M., BRACHER, F., **Journal Chromatography A**, v.1135, p. 19-26, 2006.

PRIMEL, E. G., Aplicação de Extração em Fase Sólida e Técnicas Cromatográficas para a Determinação de Herbicidas em Águas de Superfície e Acompanhamento da Degradação a Campo e no Laboratório, **Tese de Doutorado em Química**, UFSM, Santa Maria, 2003.

RIBANI, M., BOTTOLI, C.B.G., COLLINS, C. H., *et al.*, **Química Nova**, v.27, n.5, p.771-780, 2004.

RODRIGUEZ R., MNES, J., PICÖ, Y., **Analytical Chemistry**, v.75, p. 452, 2003.

ROMERO-GONZALEZ, R., PASTOR-MONTORO, E., MARTÍNEZ-VIDAL J. L., **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v.20, p.2701-2708, 2006.

SAITO, Y, KODAMA, S., MATSUNAGA, A., *et al.*, **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v.87, n.6, 2004.

SANCHES, S. M.; SILVA, C. H. T.P.; CAMPOS, S. X.; *et al.*, **Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, v.13, p.53-58, 2003.

SANNINO, A., BANDINI, M., BOLZONI, LC., **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v.86, n.1, 2003.

SCHENCK, F. J.; CALLERY, P.; GANNET, P. M.; *et al.*; **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v.85, n.5, 2002.

SHUBING, C.; LILI S.; ZHENGJUN S. *et al.*, **Food Chemistry**, v.104, n.3, p.1315-1319, 2007.

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F.; LUCHINI, L. C.; **Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações**, Jaguariúna, EMBRAPA Meio Ambiente, 2004.

STAN, H. J., LINKERHAGNER, M., **Journal Chromatography A**, v.727, p.275-289, 1996.

STEPAN, R., TICHA, J., HAJŠLOVA, J., **Food Additives and Contaminants**, v.22, n.12, 1231-1242, 2005.

TADEO, J. L., SANCHEZ-BRUNETE C., PÉREZ, R. A., *et al.*, **Journal Food**

Protection, v.67, p.2565-2569, 2004.

THOMPSON, M., ELLISON, S. L. R., WOOD, R., **Pure and Applied Chemistry**, v.74, p.835-855, 2002.

TOMAS, C., MASTOVSKA, K., LEHOTAY, S., HAJŠLOVA, A., **Journal Separation Science**, v.28, p.1048-1060, 2005

TOMLIN, C. D. S., **The e-Pesticide Manual**, The British Crop Protection Council, versão eletrônica 3.0, 2004.

TRIHN, A., **The Reporter**, v.19, p.12-13, 2006.

TSUKINO, H., HANAOKA, T., SASAKI, H., *et al.*, **Environmental Research**, v.99, p.118-125, 2005.

UENO, E., OSHIMA, H., SAITO, I., *et al.*, **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v.87, n.4, 2004.

UNIÃO EUROPÉIA, Limites Máximos de Resíduos de Pesticidas em arroz, 2007. Disponível em: <http://europa.eu.int/comm/food/plant/protection/pesticides/index_en.htm>. Acesso em 23 jan 2007.

VERWAAL, W., HIEMSTRA, M., **De Waren Chemicus**, v.27, p.231-246, 1997.

VIEIRA, N. R. A.; SANTOS, A. B.; SANT'ANA, E. P.; **A Cultura do Arroz no Brasil**, Embrapa Arroz e Feijão : Santo Antônio de Goiás, 633 p., 1999.

WANDER, A. E., **Custos e @gronegocio on line**, v.2, p.1-14, 2006.

WANG, J. H., ZHANG, Y. B., WANG, X. L., **Journal Separation Science**, v.29, p.2330-2337, 2006.

ZHANG, W. G., CHU, X. G., CAI H. X., *et al.*, **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v.20, p. 609-617, 2006.

ZROSTLIKOVA, J., HAJŠLOVA, J., GODULA, M., *et al.*, **Journal of Chromatography A**, v.937, p.73-86, 2001.

ANEXOS

Anexo 1. Características dos principais classes de pesticidas orgânicos

ORGANOCLORADOS

Constituem o grupo pioneiro dos pesticidas sintéticos. De largo uso agrícola e domiciliar, os organoclorados desempenharam papel marcante no combate a organismos nocivos ao homem, com repercussões sociais e econômicas importantes. Foram desenvolvidos durante a 2ª Guerra Mundial, para proteção contra malária, tifo exantemático e outras enfermidades transmitidas por insetos, bem como para o controle de enorme quantidade de espécies prejudiciais à lavoura, sendo considerados na época uma panacéia.

Com o advento de legislações restritivas em muitos países, por sua persistência ambiental, tendência a acúmulo no organismo e o aumento da resistência dos insetos, diminuiu-se a sua utilização. No Brasil, o uso dos organoclorados é proibido para o uso agrícola, sendo somente autorizado para órgãos públicos responsáveis pelas Campanhas de Saúde (Portaria n.º 329 de 2/9/85) do Ministério da Agricultura), embora atualmente esteja também em desuso para estes fins.

ESTRUTURA MOLECULAR: Corresponde a dos hidrocarbonetos clorados, ainda que, além do cloro, alguns deles possuam oxigênio. São derivados do clorobenzeno, do ciclohexano ou do ciclodieno.

PERSISTÊNCIA/DEGRADAÇÃO: Atualmente são muito criticados, dada a sua longa persistência no ambiente (até 30 anos no solo) e a acumulação nas cadeias alimentares. Devido à notável resistência ao ataque de microrganismos e à alta estabilidade de grande parte dos organoclorados à ação da luz solar e temperatura ambiente, não são degradados facilmente, o que leva à contaminação do meio, quebrando o equilíbrio biológico.

MODO DE AÇÃO: Atuam por ingestão e contato, bloqueando a transmissão dos impulsos nervosos.

ORGANOFOSFORADOS

Desenvolvidos na década de 40, foram os primeiros a substituírem os representantes do grupo dos organoclorados, aos quais os insetos já apresentavam resistência. Possuem uma ampla gama de produtos agrícolas e sanitários, desde os extremamente tóxicos até aqueles com baixa toxicidade, como o temefós, que tem seu uso permitido em água potável. Na área de saúde pública têm sido bastante utilizados, devido a sua eficiência. No entanto, este grupo é responsável por grande número de intoxicações e mortes no país.

ESTRUTURA MOLECULAR: São ésteres, amidas ou derivados tiol dos ácidos de fósforo (ácido fosfórico, ácido tiosfosfórico, ácido ditiosfosfórico e outros), contendo várias combinações de carbono, hidrogênio, oxigênio, fósforo, enxofre e nitrogênio. Os organofosforados possuem vários grupos segundo sua estrutura, estando entre os mais numerosos os fosfatos (diclorvos), fosforotioatos (fenitrotiona, temefós) e fosforoditioatos (malationa, dimetoato).

PERSISTÊNCIA/DEGRADAÇÃO: São biodegradáveis, sendo, portanto sua persistência curta no solo, 1 a 3 meses. O principal meio de degradação no ambiente parece ser a hidrólise sob condições de alcalinidade. Muitos inseticidas organofosforados são instáveis em pH menor que 2, sendo a maioria mais estável na faixa de pH do ambiente (pH 3-6). É importante que estes compostos sejam estáveis em pH neutro, por causa de suas formulações em óleos concentrados, solventes miscíveis em água, grânulos inertes, para aplicação direta ou após dispersão em água. Em algumas circunstâncias do processo de oxidação de fosforotioatos, por serem mais voláteis e tóxicos, podem transformar-se em fosfatos, resultando em composto potencialmente perigoso. Isto pode ocorrer quando os pesticidas são armazenados sob altas temperaturas. Também, uma isomerização associada com perigo tóxico tem sido observada durante a estocagem de algumas formulações de malationa, particularmente sob condições climáticas quentes e úmidas, tornando-o notavelmente potencializado.

MODO DE AÇÃO: O modo de ação é por contato e ingestão. Agem como inibidores das enzimas colinesterases, causando o aumento dos impulsos nervosos, assim podendo ocasionar a morte.

CARBAMATOS

Os primeiros carbamatos foram postos no mercado por volta de 1950. Apresentam um pequeno espectro de atividade inseticida.

ESTRUTURA MOLECULAR: São pesticidas orgânicos derivados do ácido carbâmico. Três classes de carbamatos são conhecidos: carbamatos inseticidas (e nematocidas), carbamatos herbicidas e carbamatos fungicidas. Os carbamatos usados como inseticidas (e nematocidas) são derivados do éster de ácido carbâmico.

PERSISTÊNCIA/DEGRADAÇÃO: Em geral, são compostos instáveis. Muitos fatores influenciam a degradação dos carbamatos, como a umidade, temperatura, luz, volatilidade. Carbamatos são metabolizados por microrganismos, plantas e animais ou degradados na água e no solo, especialmente em meio alcalino. Ocorre decomposição com a formação de amônia, amina, dióxido de carbono, fenol e álcoois.

MODO DE AÇÃO: Com ação de contato e ingestão, são igualmente inibidores das enzimas colinesterases, embora por mecanismo diferente dos organofosforados.

PIRETRÓIDES

Os piretróides foram descobertos a partir de estudos que procuravam modificar a estrutura química das piretrinas naturais, uma vez que estas apresentavam maior capacidade letal para os insetos, propriedades físicas e químicas muito superiores, maior estabilidade à luz e calor e menor volatilidade, despertaram o interesse dos cientistas.

Foram introduzidos no mercado em 1976 e ainda que sejam mais caros por unidade de peso em relação aos outros pesticidas, os piretróides têm sido bastante empregados na área da Saúde e na Agricultura. Isto ocorre devido à alta eficiência, sendo necessárias menores quantidades de produto ativo, resultando em menor contaminação nas aplicações. Com isso, vêm tomando rapidamente o lugar dos organofosforados. Outra vantagem destes pesticidas é que eles admitem a sinergia, ou seja, a potencialização pela adição de outra substância, dando lugar a um aumento da eficácia. Geralmente seguros para mamíferos, algumas substâncias tem alto “ knockdown” , com boa mortalidade.

ESTRUTURA MOLECULAR: São compostos sintéticos análogos aos componentes obtidos a partir dos piretros, extraídos do crisântemo.

PERSISTÊNCIA/DEGRADAÇÃO: Os piretróides sintéticos têm boa estabilidade sob luz e temperatura ambiente. Degradam-se por hidrólise e oxidação, sendo caracterizados também pela rápida degradação por microrganismos do ambiente, não se registrando acumulação de resíduos ou esta alcança níveis não detectáveis.

MODO DE AÇÃO: São os compostos de mais rápida ação na interferência da transmissão de impulsos nervosos. Podem possuir efeito repelente, espantando os insetos ao invés de eliminá-los.

Anexo 2. Fórmulas estruturais dos pesticidas presentes na Tabela 8

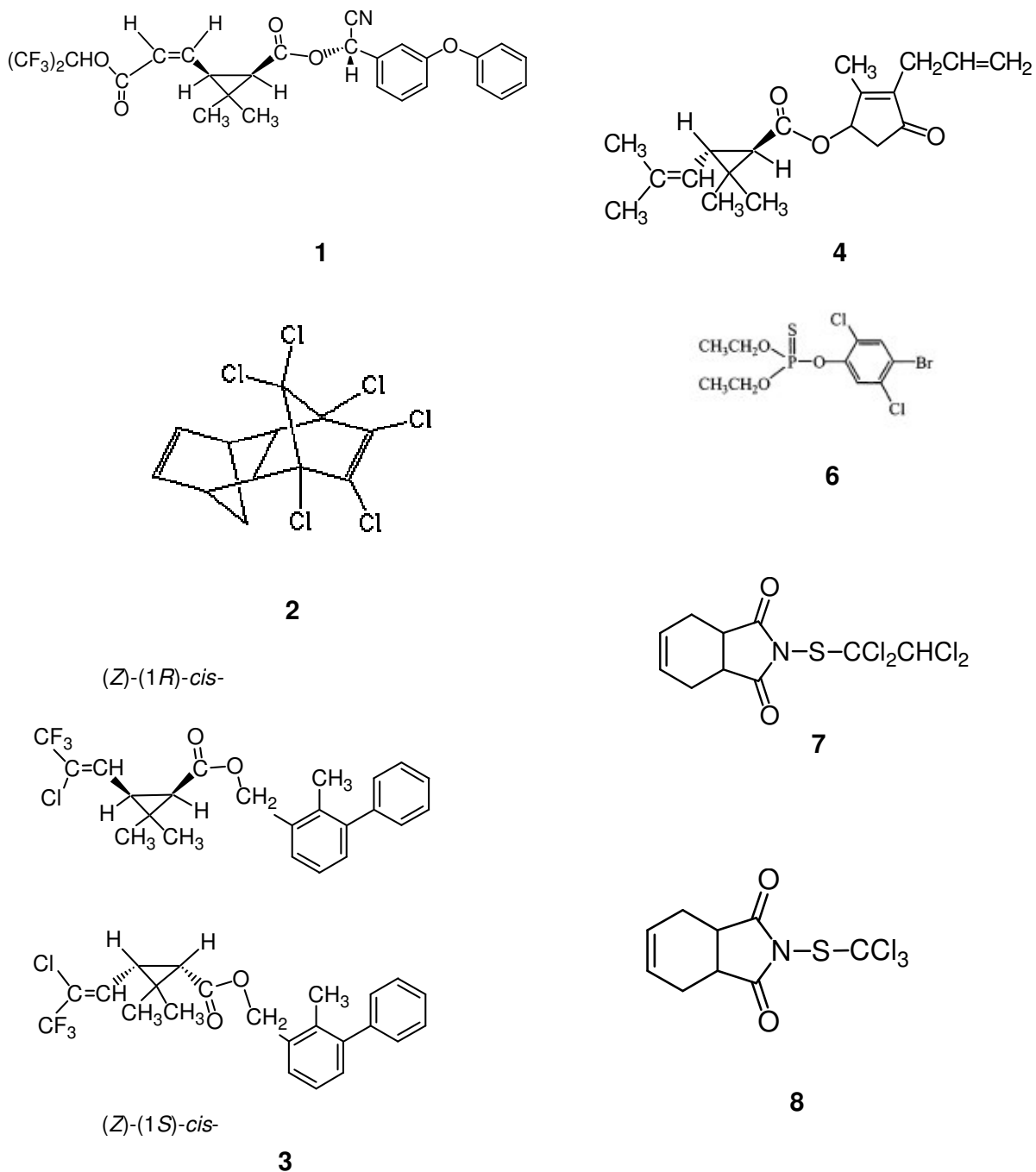
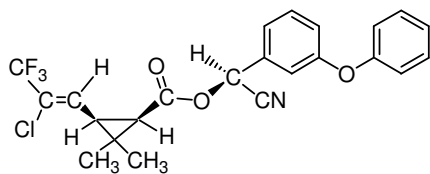
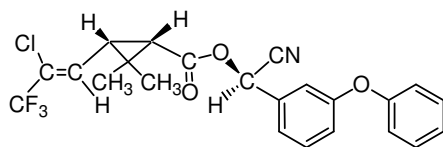


Figura 1. Fórmulas estruturais dos pesticidas 1 - 4 e de 6 - 8, presentes na Tabela 8, onde a numeração das figuras é correspondente ao número do composto na referida Tabela.

(S) (Z)-(1R)-cis-



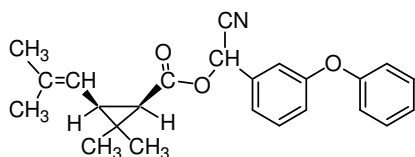
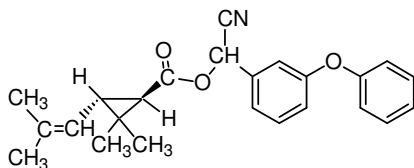
+



(R) (Z)-(1S)-cis-

9

(1R)-trans-



(1R)-cis-

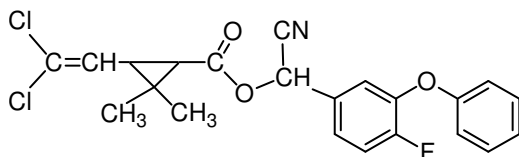
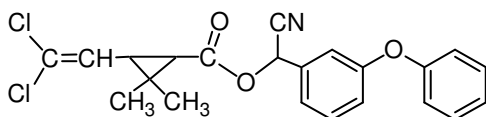
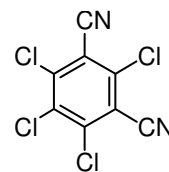
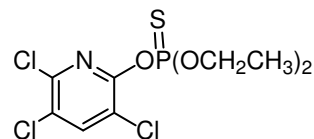
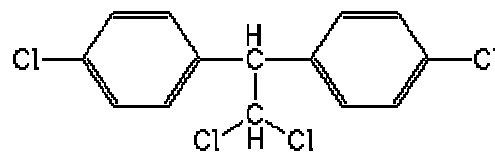
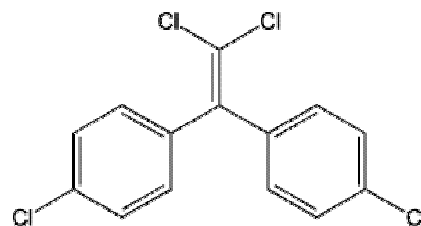
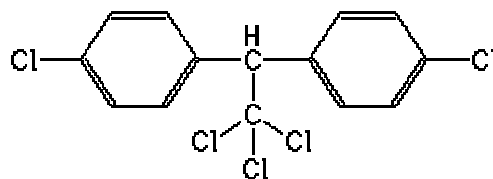
10**11****12****13****14****15****16, 17****18**

Figura 2. Fórmulas estruturais dos pesticidas 9 - 18, presentes na Tabela 8, onde a numeração das figuras é correspondente ao número do composto na referida Tabela.

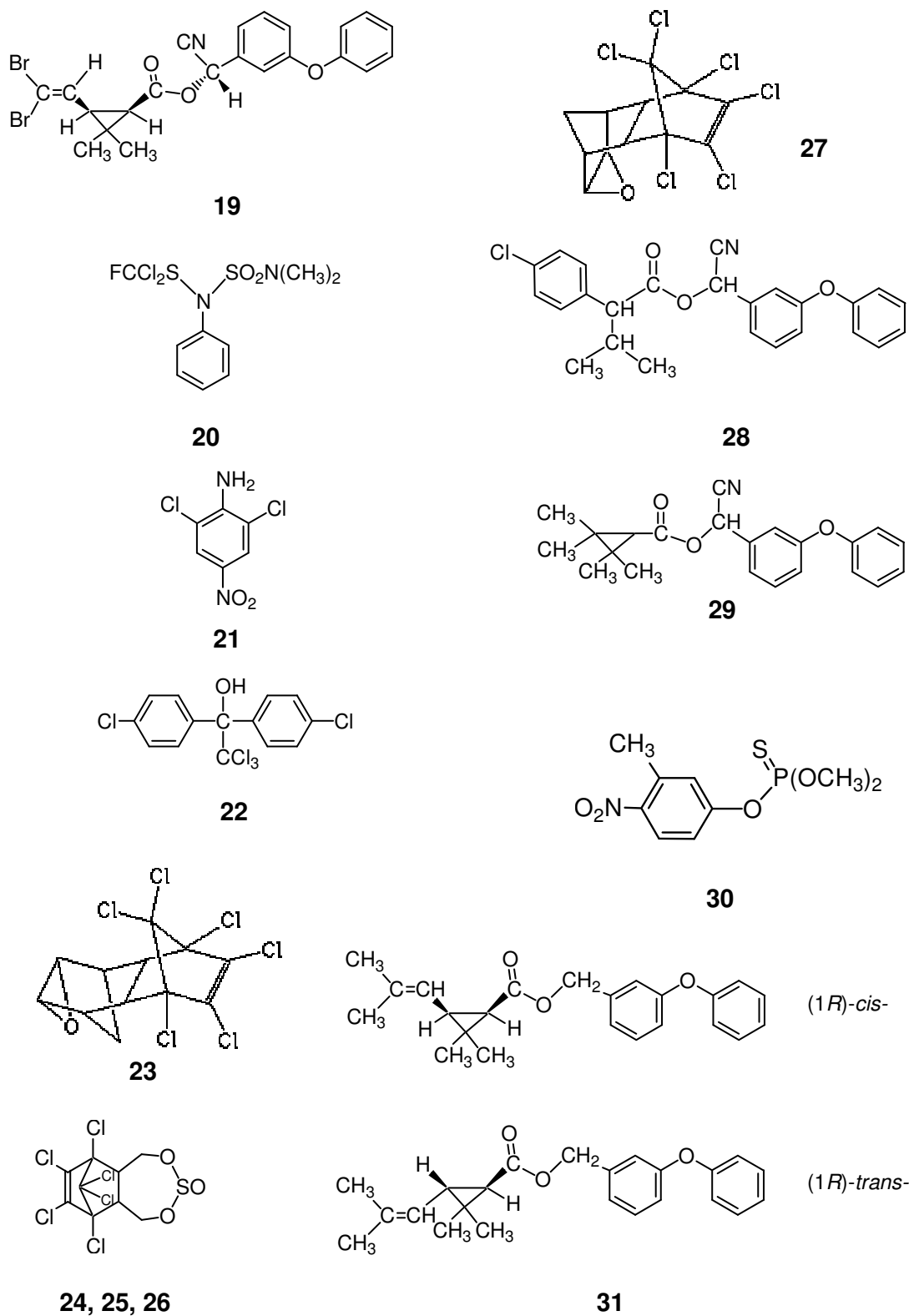


Figura 3. Fórmulas estruturais dos pesticidas 19 - 31 presentes na Tabela 8, onde a numeração das figuras é correspondente ao número do composto na referida Tabela.

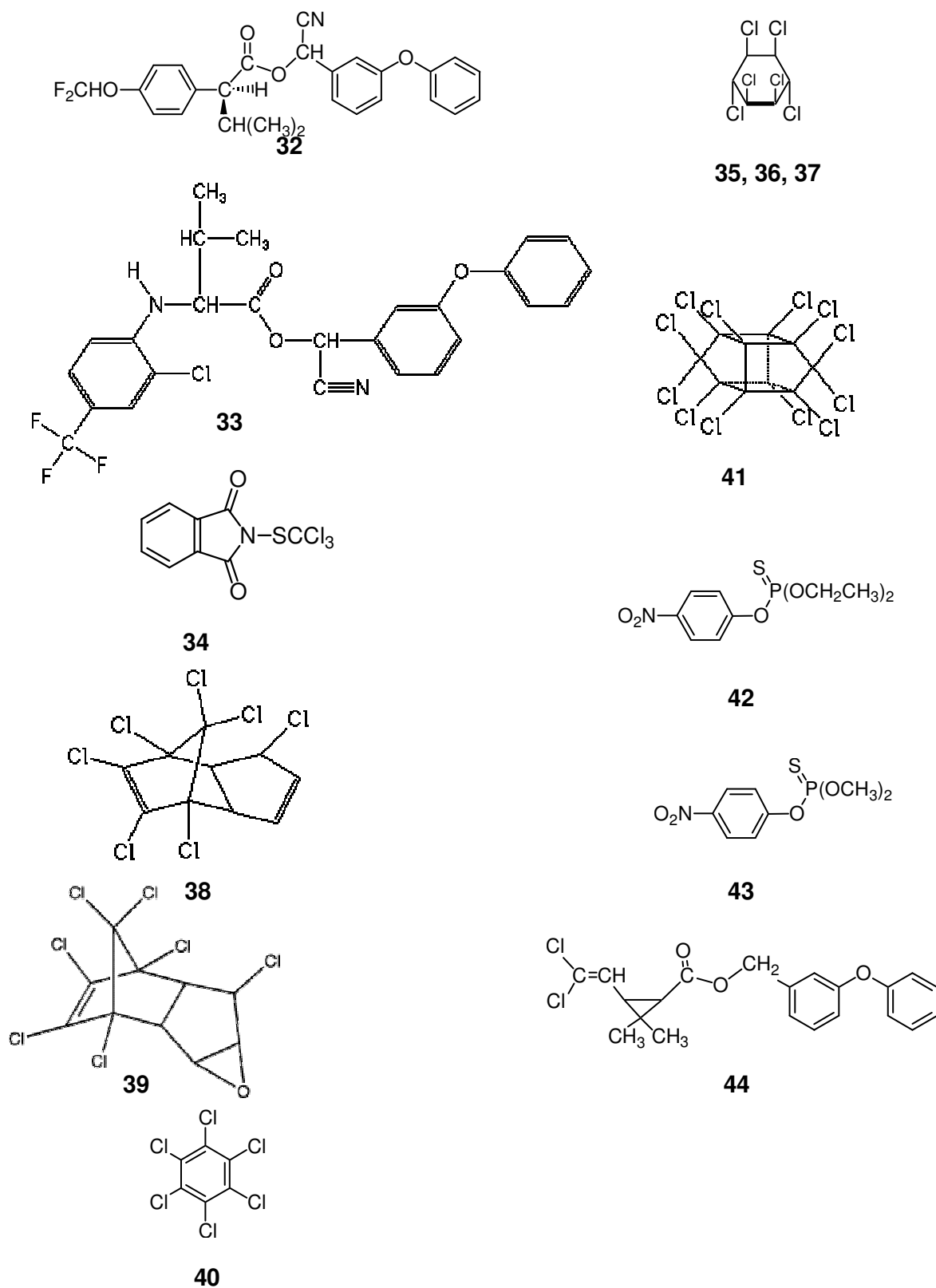


Figura 4. Fórmulas estruturais dos pesticidas 32 - 44, presentes na Tabela 8, onde a numeração das figuras é correspondente ao número do composto na referida Tabela.

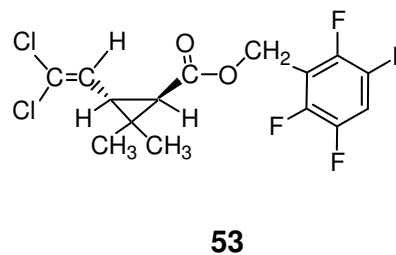
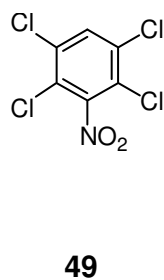
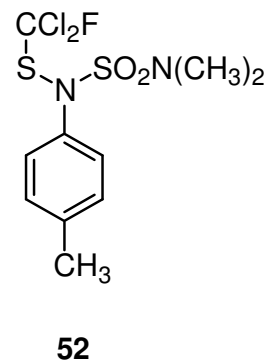
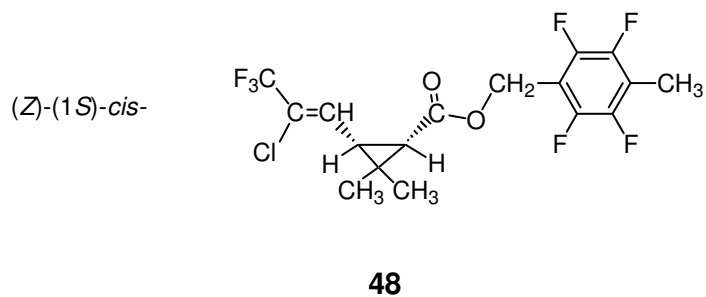
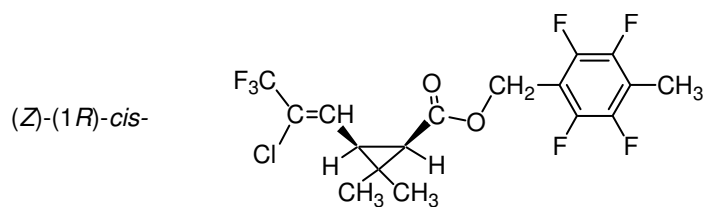
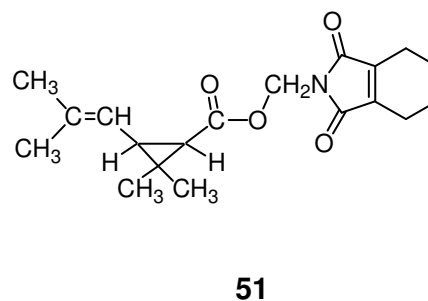
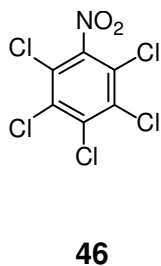
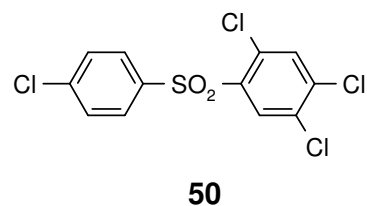
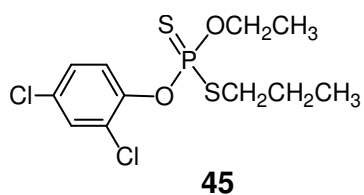


Figura 5. Fórmulas estruturais dos pesticidas 45 - 46 e 48 - 53, presentes na Tabela 8, onde a numeração das figuras é correspondente ao número do composto na referida Tabela.

Apêndice 3. Ensaios de Recuperação

Tabela 1. Ensaios de recuperação GC-MS(/MS).

Método	Nível de fortificação ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Parte da amostra fortificada			Quantidade de arroz (g)	Volume do solvente de extração (mL)	Concentração dos pesticidas após a extração (ng mL^{-1})	Concentração dos pesticidas após clean-up e antes da injeção GC (ng mL^{-1})	Fator *
		Concentração da solução de fortificação (ng mL^{-1})	Volume adicionado da solução (μL)	Massa absoluta fortificada na amostra (ng)					
QuEChERS	50	1000	250	250	2	10	$250/10 = 25$	25	2
	20	1000	100	100	2	10	$100/10 = 10$	10	2
	10	1000	50	50	2	10	$50/10 = 5$	5	2

* Fator = Nível de fortificação / conc. dos pesticidas antes da injeção