



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

**VALIDAÇÃO E APLICAÇÃO DE MÉTODO EMPREGANDO
QuEChERS MODIFICADO E GC-ECD PARA DETERMINAÇÃO
DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM GRÃO E CASCA DE ARROZ**

TESE DE DOUTORADO

Sandra Cadore Peixoto

Santa Maria - RS, Brasil

2010

**VALIDAÇÃO E APLICAÇÃO DE MÉTODO EMPREGANDO
QuEChERS MODIFICADO E GC-ECD PARA DETERMINAÇÃO
DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM GRÃO E CASCA DE ARROZ**

por

Sandra Cadore Peixoto

Tese 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
DOUTOR EM QUÍMICA

Orientador: Prof. Dr. Renato Zanella

Santa Maria - RS, Brasil

2010

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

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Tese de Doutorado

**VALIDAÇÃO E APLICAÇÃO DE MÉTODO EMPREGANDO
QuEChERS MODIFICADO E GC-ECD PARA DETERMINAÇÃO
DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM GRÃO E CASCA DE ARROZ**

elaborada por
Sandra Cadore Peixoto

como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor em Química**

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Renato Zanella (Orientador, UFSM)

Prof^a. Dr^a. Marta Palma Alves (UNIFRA)

Prof. Dr. Fábio Ferreira Gonçalves (FURG)

Prof. Dr. Ubiratan Flores da Silva (UFSM)

Prof. Dr. Roger Wagner (UFSM)

Prof^a. Dr^a. Martha Bohrer Adaime (co-orientadora, UFSM)

Santa Maria, 12 de agosto de 2010

Dedico este trabalho e todo meu
esforço aos meus Pais: José e Lucélia,
que me deram as duas coisas mais
importante no mundo: a Vida e a
Educação.

Obrigado!

Amo vocês de coração!

Ao meu amor, meu companheiro, meu
tudo, Marcelo, por ser tão especial
para mim e por participar de todas as
minhas conquistas.

Obrigado. Te amo!

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Renato Zanella pela orientação no desenvolvimento deste trabalho, pelo aprendizado proporcionado por ele, e acima de tudo, pela oportunidade e por acreditar que eu poderia realmente fazer parte a equipe do LARP. Muito obrigado.

A Prof. Dra. Martha Bohrer Adaime pelas sugestões a credibilidade depositada em mim durante minha estadia no LARP.

Ao Prof. Dr. Sérgio Mortari que contribuiu no exame de Qualificação. Prof. Sérgio, suas sugestões foram muito válidas.

Ao Prof. Dr. Ubiratan Flores da Silva por ter participado do exame de Qualificação e da banca de Defesa sugerindo novas idéias e questionamento que foram muito válidos para o desenvolvimento deste trabalho.

A Prof. Dra. Marta Palma Alves por ter aceitado participar da banca de Defesa, contribuindo com sugestões importantes que fogem do quadro da Química.

Ao Prof. Dr. Róger Wagner por ter participado do exame de Qualificação e da Banca de Defesa com toda disponibilidade possível, contribuindo para melhorias deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Fábio Ferreira Gonçalves por todo ensinamento proporcionado a mim, e por se disponibilizar em retornar ao LARP para participar da banca de Defesa, ajudando muito com sua experiência na área.

Ao Prof. Dr. Enio Marchesan, pelo desenvolvimento do estudo a campo.

As minhas amigas Juliana e Michele, por toda paciência e companherismo durante a convivência no LARP.

Aos colegas do LARP, Mateus, Felipe e Janice, pela ajuda prestada para desenvolver este e outros trabalhos no LARP.

Aos demais colegas do LARP pela convivência durante todos estes anos.

Ao meu amigo Gustavo que foi super disposto em ajudar nas amostras, que geraram inúmeros transtornos, mas ele sempre resolvia de alguma forma.

Aos meus irmãos Jerry e Diego, pelo apoio e pelas dicas, dizendo sempre: Mana, tenha paciência e calma, tu vai conseguir.

A toda minha família por me considerarem super importante.

As minhas queridíssimas primas e primos, pelas lindas palavras ditas a mim durante toda minha vida.

A todos da Família Cadore, que sempre me apoiaram e me parabenizavam em cada conquista realizada.

A UFSM pela oportunidade de ensino gratuito e de qualidade.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química da UFSM pela contribuição na minha formação acadêmica.

Aos funcionários do PPGQ, Ademir e Valéria, pela gentileza, disposição e atenção para com os alunos.

A Deus pela Vida e por permitir com que eu chegasse até aqui.

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Química
Universidade Federal de Santa Maria

VALIDAÇÃO E APLICAÇÃO DE MÉTODO EMPREGANDO QuEChERS MODIFICADO E GC-ECD PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM GRÃO E CASCA DE ARROZ

AUTORA: SANDRA CADORE PEIXOTO

ORIENTADOR: PROF. DR. RENATO ZANELLA

Data e Local de Defesa: Santa Maria, 12 de agosto de 2010

A agricultura atual é caracterizada pelo uso de novas tecnologias e equipamentos, pela elevação do número de pesquisas agrônômicas e pelo uso de uma diversidade de insumos, como agrotóxicos e fertilizantes. Isto tudo está diretamente relacionado aos riscos à saúde humana e à contaminação do meio ambiente, causados pela utilização intensiva de pesticidas. Entre os principais alimentos consumidos pelos seres humanos, o arroz é o componente de destaque. Considerando isto, é evidente a necessidade de pesquisas cada vez mais rigorosas sobre as conveniências e as consequências da utilização dos pesticidas nas culturas. Neste trabalho desenvolveu-se e validou-se um método empregando extração pelo método QuEChERS modificado e quantificação por cromatografia gasosa com detecção por captura de elétrons (GC-ECD) para a determinação de resíduos dos pesticidas azoxistrobina, bifentrina, cialotrina-lambda, cipermetrina, difenoconazole, epoxiconazole, paration-metílico, permetrina, tiametoxan e trifloxistrobina em grãos de arroz, polido e integral, ambos nas formas de cozido e cru, em grão parboilizado polido cru, bem como em casca do arroz. O método QuEChERS modificado consistiu em uma etapa de extração inicial utilizando 10 g da mistura arroz:água 1:1 (m/m) e casca:água 1:3 (m/m) na qual foram adicionados 10 mL de acetonitrila contendo 1% (v/v) de ácido acético, seguida por uma etapa de partição após a adição de 3,0 g de sulfato de magnésio anidro e 1,7 g de acetato de sódio. A etapa de clean-up foi realizada com a adição de 500 mg de C₁₈ e 600 mg de sulfato de magnésio. Os extratos foram analisados por GC-ECD. Na validação do método determinou-se os limites de detecção e limites de quantificação (LOD e LOQ), linearidade, precisão e exatidão. As curvas analíticas apresentaram linearidade adequada com valores de coeficiente de determinação superior a 0,993. O método apresentou bons valores de recuperação, entre 80 e 120%, e foi considerado adequado para a análise de resíduos dos pesticidas em estudo nas amostras de grão e casca de arroz. Após a validação, o método foi aplicado em amostras de um estudo a campo realizado no campus da UFSM na safra 2008-2009. Não foram encontrados resíduos dos pesticidas estudados nas amostras analisadas.

Palavras-chave: arroz, pesticidas, cromatografia, preparo de amostra

ABSTRACT

Doctoral Thesis
Programa de Pós-Graduação em Química
Universidade Federal de Santa Maria

VALIDATION AND APPLICATION OF A MODIFIED QuEChERS METHOD AND GC-ECD FOR THE DETERMINATION OF PESTICIDE RESIDUES IN RICE GRAIN AND HUSK

AUTHOR: SANDRA CADORE PEIXOTO
ADVISOR: PROF. DR. RENATO ZANELLA
Date and Place: August 12th, 2010, Santa Maria

The current agriculture is characterized by the use of new technologies and equipment, the increased number of agronomic research and the use of a variety of inputs such as pesticides and fertilizers. All this is directly related to human health risks and environmental contamination caused by the intensive use of pesticides. Among the main food consumed by humans, rice is a prominent component. Considering this, it is clear that future research should be increasingly strict about convenience and consequences of pesticide use on crops. In this work a method using extraction by the modified QuEChERS method and quantification by gas chromatography with electron capture detection (GC-ECD) was developed and validated for the determination of residues of the pesticides azoxystrobin, bifenthrin, lambda-cyhalothrin, cypermethrin, difenoconazole, epoxiconazole, parathion-methyl, permethrin, tiamethoxan and trifloxystrobin in rice grain, polished and brown, both in the cooked and raw form, in parboiled raw polished grain and in the rice husk. The method consisted of a modified QuEChERS extraction step using 10 g of rice: water 1:1 (w/w) mixture and husk:water 1:3 (w/w) in which 10 mL of acetonitrile containing 1% (v/v) acetic acid was added, followed by a partition step after adding 3.0 g of anhydrous magnesium sulphate and 1.7 g of sodium acetate. The clean-up step was performed by adding 500 mg of C18 and 600 mg magnesium sulfate. The extracts were analyzed by GC-ECD. To validate the method, detection and quantification limits (LOD and LOQ), linearity, precision and accuracy were determined. The analytical curves showed linearity with coefficients of determination greater than 0.993. The method presented good recovery values between 80 and 120%. The method was considered adequate for analysis of pesticide residues in grain and rice husk. After validation, the method was applied to samples from an experimental field of the UFSM Campus in the harvest 2008-2009. No pesticides residues were found in the studies samples.

Keywords: rice, pesticides, chromatography, sample preparation

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	xiv
LISTA DE TABELAS.....	xvi
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	xvii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 Os pesticidas.....	4
2.1.1 Definição dos pesticidas.....	4
2.1.2 Tipos de pesticidas.....	4
2.1.3 História dos pesticidas.....	8
2.1.4 Legislação dos pesticidas.....	9
2.1.5 Toxicidade dos pesticidas.....	9
2.2 O arroz.....	11
2.2.1 O beneficiamento do arroz	11
2.2.2 O cultivo do arroz no Brasil.....	12
2.2.3 A utilização de água no arroz irrigado.....	13
2.2.4 Principais pragas do arroz irrigado.....	14
2.2.5 Combate das pragas do arroz irrigado.....	17
2.3 O grão de arroz.....	22
2.3.1 Processamento do grão de arroz.....	24
2.4 Pesticidas seleccionados neste estudo.....	27
2.4.1 Azoxistrobina.....	28
2.4.2 Bifentrina.....	29
2.4.3 Lindano.....	30
2.4.4 Cialotrina lambda.....	31
2.4.5 Cipermetrina.....	32

2.4.6 Difenoconazole.....	33
2.4.7 Epoxiconazole.....	34
2.4.8 Paration metílico.....	35
2.4.9 Permetrina.....	36
2.4.10 Tiametoxam.....	37
2.4.11 Trifloxistrobina.....	38
2.5 Preparo da amostra e métodos cromatográficos para a determinação dos pesticidas em estudo.....	39
2.6 Validação do método cromatográfico.....	43
2.6.1 Seletividade.....	43
2.6.2 Curva analítica e linearidade.....	44
2.6.3 Sensibilidade.....	44
2.6.4 Limite de Detecção e Limite de Quantificação.....	45
2.6.5 Exatidão	45
2.6.5.1 Recuperação.....	46
2.6.6 Precisão.....	46
2.6.6.1 Repetitividade.....	47
2.6.6.2 Precisão intermediária.....	47
2.6.6.3 Reprodutibilidade.....	47
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	49
3.1 Instrumentação.....	49
3.2 Gases, materiais, reagentes e solventes utilizados.....	49
3.3 Padrões analíticos dos pesticidas.....	50
3.4 Preparo dos padrões analíticos.....	51
3.5 Escolha das amostras livres de contaminantes para a etapa de validação.....	52
3.6 Otimização do sistema cromatográfico GC-ECD.....	53
3.6.1 Vazão do gás de arraste.....	53
3.6.2 Temperatura do injetor.....	53
3.6.3 Tipo de coluna.....	53
3.6.4 Programação do forno da coluna.....	54
3.6.5 Temperatura do detector.....	54
3.6.6 Volume de injeção.....	54

3.7 Otimização da extração dos pesticidas utilizando o método QuEChERS modificado.....	55
3.8 Validação do método para grãos e casca de arroz.....	56
3.8.1 Curva analítica e linearidade.....	56
3.8.2 Limite de detecção e limite de quantificação.....	57
3.8.3 Exatidão (recuperação).....	58
3.8.4 Precisão (repetitividade e precisão intermediária).....	60
3.9 Aplicação do método.....	61
3.9.1 Características dos produtos comerciais aplicados no experimento a campo.....	63
3.9.2 Dados do experimento a campo.....	66
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	68
4.1 Resultados da otimização das condições cromatográficas.....	68
4.2 Método QuEChERS utilizado para a extração dos pesticidas selecionados neste estudo.....	73
4.3 Seleção do padrão interno.....	75
4.4 Validação do método analítico.....	75
4.4.1 Curva analítica e linearidade.....	77
4.4.2 Determinação dos valores de LOD e LOQ do instrumento e do método.....	78
4.4.3 Exatidão e precisão (repetitividade e precisão intermediária) do método.....	79
4.5 Aplicação do método otimizado.....	84
4.5.1 Grãos de arroz polido crú.....	84
4.5.2 Grãos de arroz polido cozido.....	86
4.5.3 Grãos de arroz integral crú.....	87
4.5.4 Grãos de arroz integral cozido.....	88
4.5.5 Grãos de arroz parboilizado polido crú.....	89
4.5.6 Casca do grão de arroz.....	90
5 CONCLUSÃO.....	92
DESTINO DOS RESÍDUOS GERADOS.....	94
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	95

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 96

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Grão de arroz (adaptado de STORCK, 2004).....	23
Figura 2.	Representação gráfica do estabelecimento dos valores de LOD e LOQ (adaptado de MISTURA, 2003).....	57
Figura 3.	Representação esquemática do método de análise de resíduos de pesticidas em grãos e casca de arroz.....	59
Figura 4.	Cromatogramas com rampa de temperatura no injetor (A) e com temperatura isotérmica em 250 °C (B) nas condições cromatográficas descritas neste item.....	69
Figura 5.	Cromatogramas de uma mistura dos pesticidas na concentração 0,25 mg L ⁻¹ utilizando as temperaturas 300 °C (A) e 330 °C (B) no detector nas condições cromatográficas descritas neste item	70
Figura 6.	Cromatograma da injeção de 1 µL (A) e 2 µL (B) da mistura 0,25 mg L ⁻¹ dos pesticidas nas condições cromatográficas descritas neste item.....	71
Figura 7.	Cromatograma obtido para uma solução analítica de concentração 0,25 mg L ⁻¹ em acetonitrila nas condições cromatográficas descritas neste item.....	72
Figura 8.	Representação esquemática do método de análise de resíduos de pesticidas em grãos e casca de arroz, utilizando o método QuEChERS com acetonitrila.....	74
Figura 9.	Cromatogramas da mistura dos pesticidas de interesse na concentração (A) 0,25 mg L ⁻¹ , e das matrizes (B) casca, (C) grão integral, (D) grão parboilizado e (E) grão polido, livres dos contaminantes, nas condições cromatográficas descritas neste item.....	76
Figura 10.	Cromatogramas (A) de uma amostra de arroz polido crú para a determinação de cipermetrina e tiametoxam, conforme	85

- tratamento T14 e (B) mistura dos pesticidas em estudo na concentração $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ obtidos nas condições cromatográficas descritas no item 4.1.....
- Figura 11. Cromatogramas (A) de uma amostra arroz polido cozido para a determinação de lambda-cialotrina, conforme tratamento T15 e (B) mistura dos pesticidas em estudo na concentração $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ obtidos nas condições cromatográficas descritas no item 4.1..... 86
- Figura 12. Cromatogramas (A) de uma amostra arroz integral crú para a determinação de permetrina, conforme tratamento T26 e (B) mistura dos pesticidas em estudo na concentração $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ obtidos nas condições cromatográficas descritas no item 4.1. 87
- Figura 13. Cromatogramas (A) de uma amostra arroz integral cozido para a determinação de cipermetrina, conforme tratamento T20 e (B) mistura dos pesticidas em estudo na concentração $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ obtidos nas condições cromatográficas descritas no item 4.1..... 88
- Figura 14. Cromatogramas (A) de uma amostra arroz parboilizado crú para a determinação de azoxistrobina e difenoconazole, conforme tratamento T11 e (B) mistura dos pesticidas em estudo na concentração $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ obtidos nas condições cromatográficas descritas no item 4.1..... 89
- Figura 15. Cromatogramas (A) de uma amostra arroz parboilizado crú para a determinação de permetrina, conforme tratamento T16 e (B) mistura dos pesticidas em estudo na concentração $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ obtidos nas condições cromatográficas descritas no item 4.1. 90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Classes toxicológicas dos agrotóxicos com base na DL ₅₀	10
Tabela 2.	Composição centesimal média (% de matéria seca) de arroz integral, branco polido e parboilizado polido.....	12
Tabela 3.	Principais insetos prejudiciais para a cultura de arroz irrigado.....	16
Tabela 4.	Pesticidas permitidos na cultura do arroz irrigado no Brasil.....	18
Tabela 5.	Informações dos padrões sólidos dos pesticidas estudados e LMR em grão de arroz.....	51
Tabela 6.	Pesticidas aplicados na lavoura experimental de arroz irrigado, realizado na Safra 2008-2009.....	62
Tabela 7.	Fungicidas aplicados no experimento a campo.....	64
Tabela 8.	Inseticidas aplicados no experimento a campo.....	65
Tabela 9.	Pesticidas analisados com seus respectivos t _R e fórmulas moleculares.....	73
Tabela 10.	Parâmetros relativos às curvas analíticas obtidos para os pesticidas no solvente acetonitrila e analisadas por GC-ECD.....	77
Tabela 11.	Valores de LOD e LOQ do instrumento e do método.....	78
Tabela 12.	Ensaio de fortificação utilizando o método QuEChERS modificado.....	80
Tabela 13.	Valores dos percentuais de recuperação e RSD para a repetitividade do método.....	81
Tabela 14.	Valores dos percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária do método.....	83

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- AGROFIT - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- CAS - Serviço de resumo de química, do inglês *Chemical Abstract Service*
- C₁₈ – Octadecilsilano
- CCPR - Comitê do Codex Alimentarius sobre resíduos de pesticidas, do inglês *Codex Alimentarius Committee on Pesticide Residues*
- CL₅₀ - Dose média letal via respiratória
- CONAB - Conselho Nacional de Abastecimento
- CV - Coeficiente de variação
- DL₅₀ - Dose média letal via oral
- d-SPE - Extração em fase sólida dispersiva, do inglês *Solid Phase Extraction Dispersive*
- ECD - Detecção por Captura de Elétrons, do inglês *Electron Capture Detection*
- ET – evapotranspiração
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
- FAO - Organização do Alimento e Agricultura, do inglês *Food and Agriculture Organization*
- GAP - Boas práticas na agricultura, do inglês *Good Agricultural Practice*
- GC - Cromatografia Gasosa, do inglês *Gas Chromatography*
- GC-ECD - Cromatografia Gasosa com Detecção por Captura de Elétrons, do inglês, *Gas Chromatography with Electron Capture Detection*
- GC-MS - Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas, do inglês *Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry*
- IDA - Ingestão Diária Aceitável
- INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia

- IRGA - Instituto Riograndense do Arroz
- K_{ow} - Coeficiente de partição octanol-água, do inglês *octanol-water partition coefficient*
- LC - Cromatografia Líquida, do inglês *Liquid Chromatography*
- LC-MS/MS - Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas, do inglês *Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry*
- LOD - Limite de Detecção, do inglês *Limit of Detection*
- LOQ - Limite de Quantificação, do inglês *Limit of Quantification*
- OC - Pesticidas organoclorados
- OP - Pesticidas organofosforados
- MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
- LMR - Limite máximo de resíduo, do inglês *Maximum Residue Limit*
- MIP - Manejo Integrado de Pragas
- MS - Espectrometria de Massas, do inglês *Mass Spectrometry*
- MSPD - Dispersão da Matriz em Fase Sólida, do inglês *Matrix Solid Phase Dispersion*
- P.I. - Padrão Interno
- PSA - Amina primária secundária, do inglês *Primary Secondary Amine*
- PTFE - Politetrafluoretileno - 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*
- R - Recuperação
- r^2 - Coeficiente de Determinação
- RSD - Desvio padrão relativo, do inglês *Relative Standard Deviation*
- SPE - Extração em Fase Sólida, do inglês *Solid Phase Extraction*
- SPME - Microextração em Fase Sólida, do inglês *Solid Phase Micro-Extraction*
- S/R - Relação Sinal Ruído
- t_R - Tempo de Retenção

1 INTRODUÇÃO

O crescimento da demanda por alimentos acompanhada com a explosão demográfica resultou, em um primeiro momento, na intensificação da cultura em terras mais férteis e, em um segundo momento, na expansão dessas fronteiras agrícolas para áreas menos produtivas (VEIGA, 2007). Com isso, a agricultura atual é caracterizada pelo uso de novas tecnologias e equipamentos, pela elevação do número de pesquisas agronômicas e pelo uso de uma diversidade de insumos, como agrotóxicos e fertilizantes. Isto tudo está diretamente relacionado à saúde pública, seja na função dos riscos à saúde humana, seja na contaminação do meio ambiente, causada pela utilização intensiva de agrotóxicos, também denominados de pesticidas ou praguicidas, e que são atualmente responsáveis pelo comércio de bilhões de dólares em todo o mundo (MOREIRA *et al.*, 2002).

Entre os principais alimentos consumidos pelos seres humanos, o arroz é o componente de destaque na dieta básica da população mundial. No Brasil é consumido principalmente na forma de grãos inteiros, podendo passar por algumas transformações na agroindústria, sendo que o consumo deste cereal se dá por meio de três formas principais: arroz integral, arroz polido e arroz parboilizado. O arroz integral é o menos consumido pela população brasileira, devido seu alto preço relativo, pequena vida de prateleira e sabor diferenciado, apesar de ser mais rico em nutrientes. O processo de obtenção deste produto é o mais simples e consiste apenas na retirada da casca do grão. O arroz polido é o mais consumido no Brasil e é obtido pelo polimento do grão integral por meio de máquinas que provocam o atrito dos grãos. A parboilização do grão consiste no aquecimento do arroz ainda em casca, provocando a gelatinização total ou parcial do amido. Essa prática é bastante antiga e proporciona um fácil descascamento. Sabe-se que esse processo melhora a qualidade nutricional do arroz em relação ao grão polido. No processo hidrotérmico no qual o arroz é submetido, grande parte das vitaminas e minerais dos grãos migram da camada mais externa para o seu interior, havendo uma redução das perdas nutricionais decorrentes do polimento dos grãos (CASTRO, 1999).

Muitas vezes a produtividade de grãos pode ser reduzida devido à presença de alguns invasores na lavoura. Além de aumentar o custo da produção, as plantas daninhas são responsáveis pelo aumento da umidade dos grãos na colheita e pela

redução no rendimento classificatório destes, agindo também como hospedeiras de doenças e pragas. Entre estas pragas que reduzem a economicidade da cultura do arroz irrigado destacam-se espécies de insetos, moluscos, pássaros e fungos que causam na região subtropical do Brasil perdas de produtividade de 10 a 35%. Associados à ocorrência destas pragas ainda existem os riscos de impacto ambiental, decorrentes do crescente uso irracional de pesticidas aplicados para controle (EMBRAPA, 2010).

A utilização destes compostos químicos, que por um lado gera benefícios, por outro, é responsável pela contaminação do solo, água e alimentos. Assim, a determinação de resíduos de pesticidas em alimentos e em amostras ambientais é importante devido ao risco que estes compostos oferecem à saúde humana, além da sua persistência no meio ambiente e tendência de bioacumulação (PRESTES, 2009).

LEHOTAY *et al.* (2004) avaliaram a modificação do método QuEChERS (Rápido, fácil, econômico, robusto e seguro, do inglês *Quick, Easy, Cheap, Rugged and Safe*) para a extração de 32 pesticidas utilizando uma mistura de C₁₈ e PSA na etapa de *clean up* de amostras contendo alto teor de gordura. O método QuEChERS consiste na extração e partição líquido-líquido pela adição de acetonitrila seguida da adição de sulfato de magnésio e acetato de sódio. Para o *clean-up* das amostras utiliza-se a extração em fase sólida dispersiva (d-SPE) com os adsorventes C₁₈ e PSA, este extrato final pode ser injetado no sistema cromatográfico.

Considerando a importância da determinação de resíduos de pesticidas em alimentos, PRESTES *et al.* (2009) publicaram uma revisão do método QuEChERS, enfatizando este método moderno de preparo de amostra para a determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à Espectrometria de Massas. Os autores destacaram que este método possui muitas vantagens sobre os métodos tradicionais de preparo de amostra para a determinação de resíduos de pesticidas, dentre as quais: altos percentuais de recuperação dos analitos, método exato e preciso e utilização de pequenos volumes de solventes.

Atualmente é evidente a necessidade de pesquisas cada vez mais rigorosas sobre as conveniências e os riscos da utilização dos pesticidas em diversos tipos de culturas. Dessa forma, métodos analíticos rápidos, sensíveis e eficientes têm de ser desenvolvidos para verificar se os níveis de concentração dos pesticidas estão de

acordo com os estabelecidos pela legislação, a fim de resguardar a saúde do consumidor.

Este estudo teve como finalidade otimizar, validar e aplicar um método de extração para determinar resíduos dos pesticidas: azoxistrobina, bifentrina, cialotrina-lambda, cipermetrina, difenoconazole, epoxiconazole, paration-metílico, permetrina, tiametoxan e trifloxistrobina em amostras de grãos de arroz polido e integral, na forma de cozido e cru, e grão parboilizado polido cru, bem como a casca do arroz, aplicando o método QuEChERS modificado e quantificação por GC-ECD (Cromatografia Gasosa com detecção por Captura de Elétrons). As amostras utilizadas neste trabalho são provenientes de um experimento a campo, realizado na área experimental do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, em que os pesticidas estudados foram aplicados em parcelas individuais a fim de evitar contaminação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Os pesticidas

2.1.1 Definição dos pesticidas

O termo agrotóxico, conforme a Lei Federal nº 7.802 de 11/07/89, regulamentada através do Decreto 98.816, no seu Artigo 2º, Inciso I, pode ser definido da seguinte forma: "Os produtos e os componentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou implantadas e de outros ecossistemas e também em ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora e da fauna, a fim de preservá-la da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores do crescimento". Essa definição exclui os fertilizantes e químicos administrados a animais para estimular crescimento ou modificar o comportamento reprodutivo (MS, 2009).

No Brasil, o termo "agrotóxico", ao invés de "defensivo agrícola", passou a ser utilizado para denominar os venenos agrícolas, após grande mobilização da sociedade civil organizada. Mais do que uma simples mudança da terminologia, esse termo coloca em evidência a toxicidade desses produtos ao meio ambiente e à saúde humana. São ainda genericamente denominados praguicidas ou pesticidas (MS, 2009).

2.1.2 Tipos de pesticidas

A classificação dos pesticidas constitui tema de controvérsia, pois várias denominações têm sido empregadas para designar sua ação: defensivos agrícolas, biocidas, pesticidas, praguicidas e agrotóxicos. Conforme a Legislação Brasileira, tais compostos são denominados de "agrotóxicos" e classificados como inseticidas, fungicidas e herbicidas. A denominação pesticida é dada à substância ou à mistura

de substâncias destinadas a prevenir a ação ou destruir direta e indiretamente insetos, ácaros, roedores, ervas daninhas, bactérias e outras formas de vida animal ou vegetal prejudiciais à lavoura (SANCHES, 2003).

Considerando isto, os pesticidas podem ser classificados quanto à finalidade (aficida, ovicida, larvicida, raticida, formicida, acaricida, inseticida, entre outros) e quanto ao modo de ação (ingestão, contato, microbiano e fumegante) sendo possível o enquadramento em mais de uma classe. Quanto à origem, a divisão envolve os compostos inorgânicos (compostos de mercúrio, bário, enxofre e cobre), os pesticidas de origem vegetal, bacteriana e fúngica (piretrinos, antibióticos e fitocidas) e os pesticidas orgânicos. Os pesticidas orgânicos constituem o maior grupo de produtos com alta atividade fisiológica. As principais classes desses compostos são os organoclorados (OC) e os organofosforados (OF).

Os organoclorados apresentam em sua estrutura átomos de carbono e cloro e surgiram comercialmente na década de 40. Eram muito utilizados na agricultura e no combate a alguns vetores como, por exemplo, o mosquito da malária. Durante a Segunda Guerra Mundial era fato comum, os soldados espalharem DDT pelo corpo para prevenir epidemias de tifo, transmitido por piolhos. Os pesticidas organoclorados causam danos ao meio ambiente e às pessoas devido à toxicidade e grande estabilidade física e química, persistindo no meio ambiente por longo tempo. São lipossolúveis, ou seja, podem se acumular na parte gordurosa de organismos vivos. Esses compostos são resistentes à hidrólise, entretanto sofrem reações fotoquímicas formando derivados com estabilidade e toxicidade similares ou até maiores do que as dos compostos de origem. Muitos organoclorados são proibidos, mas têm sido aplicados como inseticidas em várias culturas (SANCHES, 2003).

Os pesticidas organofosforados constituem uma classe importante de inseticida usado atualmente no combate a diversos tipos de pragas na agricultura. São compostos orgânicos derivados do ácido fosfórico, do ácido tiosfosfórico ou do ácido ditiosfosfórico que agem com a finalidade do extermínio de pragas.

Assim, considerando a grande diversidade de produtos, existem cerca de 300 princípios ativos em duas mil formulações comerciais diferentes no Brasil, sabendo-se disso é importante conhecer a classificação dos agrotóxicos quanto à sua ação e ao grupo químico a que pertencem (MS, 2009):

a) Inseticidas: possuem ação de combate a insetos, larvas e formigas. Os inseticidas pertencem a quatro grupos químicos distintos:

Organofosforados: são compostos orgânicos derivados do ácido fosfórico, do ácido tiofosfórico ou do ácido ditiofosfórico. Ex.: Folidol®, Azodrin, Malation, Diazinon, Nuvacron®, Tamaron®, Rhodiatox®.

Carbamatos: são derivados do ácido carbâmico. Ex.: Carbaril, Temik®, Zectram®, Furadan®.

Organoclorados: são compostos à base de carbono, com grupamentos de cloro. São derivados do clorobenzeno, do ciclo-hexano ou do ciclodieno. Foram muito utilizados na agricultura, como inseticidas, porém seu emprego tem sido progressivamente restringido ou mesmo proibido. Ex.: Aldrin, Endrin, BHC, DDT, Endossulfan, Heptacloro, Lindane, Mirex®.

Piretróides: são compostos sintéticos que apresentam estruturas semelhantes à piretrina, substância existente nas flores do *Chrysanthemum (Pyrethrum)* *Cinerialfolium*. Alguns desses compostos são: aletrina, resmetrina, decametrina, cipermetrina e fenpropanato. Ex.: Decis®, Protector®, K-Otrine®, SBP®.

b) Fungicidas: ação de combate a fungos. Os principais grupos químicos são:

Etileno-bis-ditiocarbamatos: Maneb, Mancozeb, Dithane, Zineb, Tiram.

Trifenil estânico: Duter® e Brestan®.

Captan: Ortocide® e Merpan®.

Hexaclorobenzeno: HCB.

c) Herbicidas: combatem ervas daninhas. Nas últimas duas décadas, esse grupo tem tido uma utilização crescente na agricultura. Seus principais representantes são:

Paraquat: comercializado com o nome de Gramoxone®.

Glifosato: Round-up®.

Pentaclorofenol: PCF.

Derivados do ácido fenoxiacético: 2,4 diclorofenoxiacético (2,4 D) e 2,4,5 triclorofenoxiacético (2,4,5 T). A mistura de 2,4 D com 2,4,5 T representa o principal componente do agente laranja, utilizado como desfolhante na Guerra do Vietnã. O nome comercial dessa mistura é Tordon®.

Dinitrofenóis: Dinoseb®, DNOC.

Outros grupos importantes compreendem:

d) Raticidas (Dicumarínicos): utilizados no combate a roedores.

e) Acaricidas: ação de combate a ácaros diversos. Podem ser classificados como: organoestânico, dinitrofenol, organoclorados, carboxamida, piretróides, cetoenol, carbamato, organofosforado, entre outros.

f) Nematicidas: é um tipo de pesticida químico usado para matar nematóides parasitas, tendo ação de combate a nematóides.

g) Molusquicidas: são usados no controle de moluscos, como as lesmas e caracóis. Essas substâncias geralmente incluem metaldeído, metiocarbe e sulfato de alumínio, e devem ser usadas com cautela para não causar danos a outros seres que não são alvo de sua aplicação. A maioria dos molusquicidas não são usados na jardinagem e agricultura orgânica pois são proibidos, mas há exceções, como o fosfato férrico. Tem a ação de combate a moluscos, basicamente contra o caramujo da esquistossomose.

h) Fumigantes: ação de combate a insetos e bactérias, como por exemplo: fosfatos metálicos (fosfina) e brometo de metila. Este combate é realizado pelo tratamento químico com compostos ou formulações de pesticidas voláteis em sistema hermético, visando a desinfecção de materiais, objetos e instalações que não possam ser submetidas à outras formas de tratamento.

2.1.3 História dos pesticidas

O uso mais antigo de pesticidas que se tem registro foi cerca do ano 1200 a.C. (antes de Cristo) e envolveu a utilização de sal e de cinzas em campos conquistados por exércitos bíblicos, para tornar as terras produtivas. Esse provavelmente foi o primeiro emprego de herbicidas não seletivos. O segundo registro, datado por volta do ano 1000 a.C., foi relatado pelo poeta Homero que escreveu sobre a queima de enxofre para fumigar os lares gregos. Esta substância atua como inseticida e penetra nos insetos por inalação. O uso de SO₂ procedente da combustão do enxofre sólido, mediante a incorporação do elemento em velas,

continuou pelo menos até o século XIX. O próprio enxofre, na forma de pó ou em aerossol, foi também utilizado como inseticida e fungicida sendo ainda usado, nos dias de hoje, por sua ação importante contra o *míldio pulverulento* (oídios) das plantas (LARINI, 1999).

Na era d.C. (depois de Cristo), um dos primeiros e mais importantes registros do uso de pesticidas foi datado no ano 900, quando os chineses usaram arsênio para controlar insetos em jardins. O uso de óleo mineral também foi relatado por Marco Polo, no ano 1300, cuja finalidade era combater sarnas em camelos. Por volta dos séculos XV e XVI, o arsênio voltou a ser utilizado, além de outros elementos químicos como o mercúrio, sendo ambos empregados no combate de pragas em plantações. Na metade do século XVII, a rotenona, que é uma substância natural extraída das raízes de algumas plantas leguminosas tropicais, provocou a paralisia de peixes na América do Sul. Em 1669, ocorreu o primeiro relato do uso de arsênio como inseticida pela sociedade ocidental, em que o mel contaminado com esse composto era utilizado como isca para formigas. Em 1690, a nicotina na forma de extrato de tabaco foi o primeiro inseticida natural a ser utilizado. Porém, nas recomendações destes produtos havia necessidade de um embasamento científico, iniciando somente no século XIX os primeiros estudos sobre o emprego de produtos químicos no controle de pragas na agricultura. O tabaco voltou a ser utilizado em 1773, quando o sulfato de nicotina, extraído por aquecimento, era fumigado em plantas infestadas por insetos. O uso de arsênio e de seus derivados no controle de insetos em jardins teve início na época dos romanos, sendo empregado pelos chineses até a Segunda Guerra Mundial (JARDIM, 2009).

Dentre os agrotóxicos organoclorados conhecidos, o composto denominado 1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil) etano, ou DDT, de fórmula molecular $C_{14}H_9Cl_5$, foi um dos compostos mais importantes produzidos na história da humanidade, tanto por seus efeitos benéficos quanto pelos maléficos (JARDIM, 2009).

2.1.4 Legislação dos pesticidas

Conforme a Lei Federal nº 7.802, de 11 de julho de 1989, tem-se registrado as atividades realizadas com agrotóxicos no território nacional, desde a sua produção ou importação até o destino final de seus resíduos e embalagens. As

disposições dessa lei foram regulamentadas pelo Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Outros aspectos do uso de agrotóxicos dispostos nas leis incluem: classificação, certificação de prestadores de serviços, transporte, aplicação, segurança para os trabalhadores e destino final dos resíduos e embalagens vazias.

Em 2005, o Ministério do Trabalho criou a Norma Regulamentadora (NR) de Segurança e Saúde no Trabalho, na Agricultura, Pecuária, Silvicultura, Exploração Florestal e Aqüicultura, a NR nº 31, a qual estabelece os preceitos a serem observados na organização e no ambiente de trabalho, em qualquer atividade da agricultura, incluindo as atividades industriais desenvolvidas no ambiente agrário. A NR nº 31 deixa claro os procedimentos e exigências a serem atendidas com relação ao uso de agrotóxicos na agricultura tanto por parte do empregador como dos empregados (EMBRAPA, 2009).

2.1.5 Toxicidade dos pesticidas

Os pesticidas estão divididos em quatro classes toxicológicas (I = rótulo vermelho, II = rótulo amarelo, III = rótulo azul e IV = rótulo verde). A classe I abrange os compostos considerados altamente tóxicos para os seres humanos; a classe II, os mediamente tóxicos, a III, os pouco tóxicos e a IV, os compostos considerados praticamente não-tóxicos para os seres humanos (LARINI, 1999; SANCHES, 2003).

A toxicidade da maioria dos pesticidas é expressa em valores referentes à Dose Média Letal (DL_{50}), por via oral, representada por miligramas do ingrediente ativo do produto por quilograma de peso vivo, necessários para matar 50% da população de ratos ou de outro animal teste. A DL_{50} é usada para estabelecer as medidas de segurança a serem seguidas para reduzir os riscos que o produto pode apresentar à saúde humana (REIMCHE *et al.*, 2008).

Considerando as classes toxicológicas dos pesticidas, têm-se os agrupamentos representados na Tabela 1.

Tabela 1. Classes toxicológicas dos agrotóxicos com base na DL₅₀

Classe	Classificação	Cor da faixa no rótulo da embalagem
I	Extremamente tóxico (DL ₅₀ menor que 50 mg kg ⁻¹ de peso vivo)	Vermelho vivo
II	Altamente tóxico (DL ₅₀ de 50 mg a 500 mg kg ⁻¹ de peso vivo)	Amarelo intenso
III	Medianamente tóxico (DL ₅₀ de 500 mg a 5.000 mg kg ⁻¹ de peso vivo)	Azul intenso
IV	Pouco tóxico (DL ₅₀ maior que 5.000 mg kg ⁻¹ de peso vivo)	Verde intenso

Fonte: CIT, 2007; LARINI, 1999

Vale salientar que os pesticidas podem acarretar no homem e animais diferentes tipos de problemas quando utilizados de maneira incorreta, como por exemplo, intoxicações agudas (fígado, rins e baço), carcinogênese e problemas mais comuns no tecido hematopoiético (sangue, leucemias) (LACERDA, 2006).

2.2 O arroz

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 e Oceania, 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 ao dobro desta população (EMBRAPA, 2010).

Este grão é originário da Ásia, mais precisamente do sul da China, onde é cultivado há pelo menos 7 mil anos. No século VII foi levado à Europa pelas mãos dos árabes, de lá chegou ao Brasil, trazido pelos portugueses. Hoje, é um dos alimentos mais consumidos no mundo, sendo ingrediente principal de vários pratos típicos de diferentes culturas.

2.2.1 O beneficiamento do arroz

O arroz no Brasil é consumido principalmente na forma de grãos inteiros, podendo passar por algumas transformações na agroindústria. O consumo deste cereal se dá por meio de três formas principais: arroz integral, arroz polido e arroz parboilizado. O arroz integral é o menos consumido pela população brasileira, devido seu alto preço relativo, pequena vida de prateleira e sabor diferenciado, apesar de ser mais rico em nutrientes. O processo de obtenção deste produto é o mais simples e consiste apenas na retirada da casca. O arroz polido é o mais consumido no Brasil e é obtido pelo polimento do grão integral por meio de máquinas que provocam o atrito dos grãos. Esse processo ainda resulta na obtenção de subprodutos como a quirera, usada na fabricação da cerveja e na alimentação animal. A parboilização consiste no aquecimento do arroz ainda em casca, provocando a gelatinização total ou parcial do amido. Essa prática é bastante antiga e proporciona um fácil descascamento. Sabe-se que esse processo melhora a qualidade nutricional do arroz em relação ao grão polido. No processo hidrotérmico no qual o arroz é submetido, grande parte das vitaminas e minerais dos grãos migram da camada mais externa para o seu interior, havendo uma redução das perdas nutricionais decorrentes do polimento dos grãos (CASTRO, 1999).

A Tabela 2 ilustra a composição centesimal média de arroz integral, branco polido e parboilizado polido.

Tabela 2. Composição centesimal média (% de matéria seca) de arroz integral, branco polido e parboilizado polido

Constituinte	Arroz integral	Arroz branco polido	Arroz parboilizado polido
Amido total	74,12	87,58	85,08
Proteínas	10,46	8,94	9,44
Lipídios	2,52	0,36	0,69
Cinzas	1,15	0,3	0,67
Fibra total	11,76	2,87	4,15
Fibra insolúvel	8,93	1,05	1,63
Fibra solúvel	2,82	1,82	2,52

Fonte: adaptado de STORCK (2004)

2.2.2 O cultivo do arroz no Brasil

A produção brasileira chega a 11,5 milhões de toneladas de arroz por ano. Esses grãos são plantados em dois ecossistemas diferentes: várzeas e terras altas (IRGA, 2010).

Os ecossistemas de várzeas, também chamado de cultivo irrigado, são mais comuns na Região Sul, representando cerca de 40% da área destinada à orizicultura no Brasil. No arroz irrigado a terra é mantida submersa na maior parte da estação de crescimento do arroz, retirando-se a água somente alguns dias antes da colheita (EMBRAPA, 2009).

2.2.3 A utilização de água no arroz irrigado

O cultivo do arroz irrigado necessita em torno de 2000 L de água para produzir 1 kg de grãos com casca, estando entre as culturas mais exigentes em termos de recursos hídricos. Esta manutenção de uma lâmina de água sobre a superfície do solo traz uma série de vantagens para as plantas de arroz. A maior eficiência do controle da água, nas lavouras de arroz irrigado, está associada à forma de adequação da superfície do solo. No Sul do Brasil, o arroz irrigado vem

sendo cultivado em condições de terreno sistematizado e aplainado (EMBRAPA, 2010).

É importante salientar que o volume de água requerido pelo arroz irrigado representa o somatório de água necessária para atender às demandas decorrentes da saturação do solo, formação da lâmina de água, evapotranspiração (ET) e repor as perdas por infiltração lateral e por percolação. No RS, tradicionalmente, a necessidade máxima estimada pelos orizicultores, corresponde a $2 \text{ L s}^{-1} \text{ ha}^{-1}$ ($17,3 \text{ mm dia}^{-1}$). Todavia, informações mais recentes indicam que esta necessidade pode ser inferior, variando em torno de $1 \text{ L s}^{-1} \text{ ha}^{-1}$ no sistema convencional, a $0,72 \text{ L s}^{-1} \text{ ha}^{-1}$ no sistema pré-germinado (EMBRAPA, 2010).

O início da submersão do solo pode ocorrer até 30 dias após a emergência das plântulas. Este adiamento no início da inundação do solo deve estar associado a um controle eficiente das plantas daninhas, o que normalmente se verifica, por períodos mais longos, quando são utilizados, na lavoura, herbicidas com ação residual mais prolongada (EMBRAPA, 2010).

A supressão do fornecimento de água pode ser realizada a partir de uma semana até 10 dias após a floração (50%) e a drenagem uma semana mais tarde (duas semanas após a floração). Este procedimento pode concorrer para reduzir problemas relacionados à retirada da produção da lavoura e à degradação do solo (IRGA, 2010).

No sistema pré-germinado a submersão do solo inicia-se antes da semeadura, em uma área previamente sistematizada e preparada, o que pode ser feito na presença de água ou em condições de solo seco. No renivelamento e alisamento final alaga-se o quadro utilizando-se a água como referência para as operações. Posteriormente, a lâmina de água é elevada até atingir, no máximo, 10 cm de altura, realizando-se, após 20 a 30 dias a semeadura com as sementes pré-germinadas (WALTER, 2009).

Após a semeadura, a lâmina de água deverá ser retirada em 1 a 3 dias, deixando-se o solo em estado de saturação permanente (solo encharcado) durante 3 a 6 dias. A drenagem mais intensa do solo favorece a germinação e o desenvolvimento de plantas daninhas e, ao mesmo tempo, ocasiona perdas de nitrogênio por desnitrificação. A reposição da água ocorre em função do desenvolvimento das plantas de arroz. A altura da lâmina de água deve variar entre 7,5 e 10 cm. Lâminas da água mais altas ($> 10 \text{ cm}$) aumentam o consumo de água,

reduzem o número de perfilhos, com isso as plantas de arroz se tornam mais altas, o que facilita o acamamento, aumentam as perdas de água por percolação e infiltração lateral e é necessário um maior consumo de água ($> 10 \text{ mil m}^3 \text{ ha}^{-1}$, para um período de 90 dias de irrigação) (IRGA, 2010).

Na fase reprodutiva das plantas de arroz, independentemente de sistema de cultivo, a altura da lâmina de água pode ser elevada até 15 cm, por um período de 15 a 20 dias, em regiões onde possam ocorrer temperaturas abaixo de $15 \text{ }^\circ\text{C}$, agindo a água como um termorregulador (EMBRAPA, 2010).

2.2.4 Principais pragas do arroz irrigado

Entre as pragas que reduzem a economicidade da cultura do arroz irrigado na região subtropical do Brasil destacam-se espécies de insetos, moluscos e pássaros, que causam perdas de produtividade de 10 a 35%. Associados à ocorrência de pragas ainda existem os riscos de impacto ambiental, decorrentes do crescente uso irracional de inseticidas químicos aplicados para o controle. O sistema de implantação da cultura é um dos fatores que mais influenciam nos níveis dos danos. As principais diferenças são detectadas entre lavouras implantadas em solo seco com posterior inundação (plantio direto e convencional) e lavouras de arroz pré-germinado, havendo tendência dessas últimas serem as mais prejudicadas (EMBRAPA, 2009).

O rendimento da lavoura de arroz irrigado pode ser reduzido pela presença de plantas daninhas. Além de aumentar o custo da produção, as plantas daninhas são responsáveis pelo aumento da umidade dos grãos na colheita e pela redução no rendimento classificatório destes, agindo também como hospedeiras de doenças e pragas (EMBRAPA, 2009).

Na hora de iniciar o plantio, é necessário um controle das plantas daninhas, pois elas competirão com o arroz por fertilizante, luz e gás carbônico, prejudicando o desenvolvimento da lavoura. É importante lembrar que a maior ou menor infestação está diretamente ligada ao sistema de plantio e ao controle realizado nas plantações anteriores (EMBRAPA, 2009).

Existem diferentes plantas daninhas que podem estar presentes na lavoura de arroz, variando conforme a região de plantio e manejo utilizado. Algumas espécies

são predominantes, como o capim arroz e o arroz vermelho. Há também, espécies que não são limitantes de produtividade, o que não exclui a necessidade de controle, para que não seja motivo de preocupação na formação de pastagens de má qualidade ou até mesmo na lavoura, quando do retorno à área em questão (CONCENÇO *et al.*, 2006)

Outro tipo de invasor que prejudica muito a cultura de arroz irrigado são as plantas daninhas. A invasão indesejada destas pode ser controlada através do uso de sementes certificadas, da rotação de culturas e de sistemas de plantio adequados. A utilização de herbicidas também é uma alternativa em muitos casos. A aplicação é realizada em duas etapas. A primeira é realizada no período de pré-emergência, onde o herbicida é aplicado logo após a semeadura do arroz até o início da emergência das plântulas. A segunda etapa é realizada no período de pós-emergência, após o surgimento das plantas daninhas (CONCENÇO *et al.*, 2006).

A eficiência da aplicação dos herbicidas pode ser afetada por diversos fatores, como por exemplo, modo de aplicação, temperatura no momento da aplicação, umidade relativa do ar, umidade do solo, tipos de solo, velocidade do vento e estágio de desenvolvimento das plântulas (CONCENÇO *et al.*, 2006).

A Tabela 3 apresenta as principais espécies de insetos e doenças que prejudicam o cultivo do arroz irrigado.

Tabela 3. Principais insetos prejudiciais para a cultura de arroz irrigado

Classificação	Nome Científico	Nome(s) Alternativo(s)
Insetos	<i>Agrotis ipsilon</i>	Lagarta-rosca
Insetos	<i>Chaetocnema sp.</i>	Pulga-do-arroz
Insetos	<i>Elasmopalpus lignosellus</i>	Broca-do-colo; Lagarta-elasmo
Insetos	<i>Helodytes foveolatus</i>	Gorgulho-aquático
Insetos	<i>Mocis latipes</i>	Curuquerê-dos-capinzais; Mocis
Insetos	<i>Ochetina sp.</i>	Gorgulho-aquático; Ochetina
Insetos	<i>Oryzophagus oryzae</i>	Bicheira-da-raiz-do-arroz; Gorgulho-aquático-do-arroz
Insetos	<i>Rhopalosiphum rufiabdominale</i>	Pulgão-da-raiz
Insetos	<i>Spodoptera eridania</i>	Lagarta-das-folhas; Lagarta-das-vagens
Insetos	<i>Spodoptera frugiperda</i>	Lagarta-do-cartucho; Lagarta-militar
Insetos	<i>Tibraca limbativentris</i>	Percevejo

Fonte: AGROFIT (2010)

Entre as espécies de insetos as mais prejudiciais ao arroz irrigado são: *Spodoptera frugiperda* (lagarta-da-folha), *Oryzophagus oryzae* (gorgulho-aquático), *Tibraca limbativentris* (percevejo-do-colmo) e *Oebalus poecilus* (percevejo-do-grão). *Pomacea canaliculata* e *Argelaius ruficapilus* são, respectivamente, as espécies de moluscos e pássaros mais daninhos à cultura de arroz. O conhecimento sobre as bases técnicas do Manejo Integrado de Pragas (MIP) é essencial para o controle eficaz das espécies citadas, na busca de redução de custos de produção e de riscos de impacto ambiental negativo. Destaca-se o conhecimento sobre níveis populacionais de controle econômico necessário à adoção de medidas de combate a essas espécies (EMBRAPA, 2009).

2.2.5 Combate das pragas do arroz irrigado

O controle das pragas do arroz irrigado tem sido feito com base na aplicação de inseticidas. No arroz de várzea os inseticidas são aplicados de forma curativa na água de irrigação e pulverização. No arroz de terras altas os inseticidas são aplicados principalmente de forma preventiva, através do tratamento das sementes e em menor escala em pulverização. Há várias outras medidas culturais, biológicas e físicas que também podem ser utilizadas. Atualmente estão sendo desenvolvidas pesquisas em controle biológico e de resistência de arroz para algumas das pragas do arroz de terras altas e de várzea (MAPA, 2010).

A Tabela 4 destaca os pesticidas permitidos no Brasil para a cultura do arroz irrigado.

Tabela 4. Pesticidas permitidos na cultura do arroz irrigado no Brasil

Nome comum	Grupo Químico	Classe(s)
acetato de fentina	organoestânico	fungicidas
azimsulfurom	sulfoniluréia	herbicidas
azoxistrobina	estrobilurina	fungicidas
bacillus thuringiensis	biológico	inseticida microbiológico
benfuracarbe	metilcarbamato de benzofuranila	inseticidas
bentazona	benzotiadiazinona	herbicidas
beta-ciflutrina	piretróide	inseticidas
beta-cipermetrina	piretróide	inseticidas
bifentrina	piretróide	acaricidas/formicidas/inseticidas
bispiribaque-sódico	ácido pirimidiniloxibenzóico	herbicidas
carbofurano	metilcarbamato de benzofuranila	acaricidas/cupinidas/inseticidas/nematicidas
carbosulfano	metilcarbamato de benzofuranila	acaricidas/inseticidas/nematicidas
carboxina	carboxanilida	fungicidas
carfentrazone-etílica	triazolona	herbicidas
carpropamida	amida	fungicidas
casugamicina	antibiótico	bactericidas/fungicidas
cialofope-butílico	ácido ariloxifenoxipropiônico	herbicidas
ciclossulfamurom	sulfoniluréia	herbicidas
ciflutrina	piretróide	inseticidas
cipermetrina	piretróide	formicidas/inseticidas

Nome comum	Grupo Químico	Classe(s)
clomazona	isoxazolidinona	herbicidas
clorotalonil	isoflortalonitrila	fungicidas
deltametrina	piretróide	formicidas/inseticidas
dibrometo de diquate	bipiridílio	herbicidas
paraquate	bipiridílio	herbicidas
difenoconazol	triazol	fungicidas
diflubenzurom	benzoiluréia	acaricidas/inseticidas
edifenfós	fosforotioato de arila	fungicidas
esfenvalerato	piretróide	inseticidas
etiprole	fenilpirazol	inseticidas
etoxissulfurom	sulfoniluréia	herbicidas
fenoxapropé-etílico	ácido ariloxifenoxipropiônico	herbicidas
fenoxapropé-P-etílico	ácido ariloxifenoxipropiônico	herbicidas
fipronil	pirazol	cupinidas/formicidas/inseticidas
fosfeto de alumínio	inorgânico precursor de fosfina	cupinidas/formicidas/inseticida fumigante
fosfeto de magnésio	inorgânico precursor de fosfina	cupinidas/formicidas/inseticida fumigante
ftalida	ftalida	fungicidas
furatiocarbe	metilcarbamato de benzofuranila	inseticidas
glifosato	glicina substituída	herbicidas
glifosato-sal de isopropilamina	glicina substituída	herbicidas
hidróxido de fentina	organoestânico	fungicidas

Nome comum	Grupo Químico	Classe(s)
imazapique	imidazolinona	herbicidas
imazetapir	imidazolinona	herbicidas
imidacloprido	neonicotinóide	inseticidas
iodosulfurom-metílico	sulfoniluréia	herbicidas
lambda-cialotrina	piretróide	inseticidas
malationa	organofosforado	acaricidas/inseticidas
mancozebe	alquilenobis(ditiocarbamato)	acaricidas/fungicidas
metsulfurom-metílico	sulfoniluréia	herbicidas
molinato	tiocarbamato	herbicidas
oxadiazona	oxadiazolona	herbicidas
oxifluorfem	éter difenílico	herbicidas
parationa-metílica	organofosforado	acaricidas/inseticidas
pendimetalina	dinitroanilina	herbicidas
penoxsulam	sulfonanilida triazolopirimidina	herbicidas
permetrina	piretróide	formicidas/inseticidas
picloram	ácido piridinocarboxílico	herbicidas
pirazossulfurom-etílico	sulfoniluréia	herbicidas
pirimifós-metílico	organofosforado	acaricidas/inseticidas
piroquilona	quinolinona	fungicidas
profoxidim	oxima ciclohexanodiona	herbicidas
propanil	anilida	herbicidas

Nome comum	Grupo Químico	Classe(s)
propiconazol	triazol	fungicidas
quincloraque	ácido quinolinocarboxílico	herbicidas
sulfosato	glicina substituída	herbicidas
tebuconazol	triazol	fungicidas
tetraconazol	triazol	fungicidas
tiabendazol	benzimidazol	fungicidas
tiametoxam	neonicotinóide	inseticidas
tiobencarbe	tiocarbamato	herbicidas
tiodicarbe	metilcarbamato de oxima	inseticidas
tiofanato-metílico	benzimidazol (precursor de)	fungicidas
tiram	dimetilditiocarbamato	fungicidas
triciclazol	benzotiazol	fungicidas
triclopir-butotílico	ácido piridiniloxialcanóico	herbicidas
triclorfom	organofosforado	acaricidas/inseticidas
trifloxistrobina	estrobilurina	fungicidas
trifluralina	dinitroanilina	herbicidas
zeta-cipermetrina	piretróide	inseticidas
2,4-D	ácido ariloxialcanóico	herbicidas

Fonte: AGROFIT (2010)

O controle das plantas daninhas invasoras do arroz irrigado, também pode ser realizado das seguintes maneiras:

- **Controle Cultural:** através do uso de sementes certificadas, rotação de culturas, sucessão e integração com pecuária, sistema de plantio e cultivo mínimo de verão;
- **Controle Manual:** no caso de baixa infestação;
- **Controle Químico:** O uso de herbicidas na cultura de arroz irrigado no Brasil teve seu início na década de 40 com o descobrimento dos herbicidas organo-sintéticos do grupo do 2,4 D vindo após os inibidores de fotossíntese.

Os métodos de aplicação podem ser:

PRÉ - EMERGÊNCIA: Aplicado logo após a semeadura do arroz até o início da emergência das plântulas. É fundamental o solo estar úmido no momento da aplicação ou após com o início da irrigação ou ocorrência de chuva.

PÓS - EMERGÊNCIA: Aplicado após o surgimento das plantas daninhas. Pode-se classificar como pós emergência inicial, quando as plantas apresentarem de 2 a 4 folhas e, pós emergências tardia, quando as mesmas estiverem com 4 a 8 folhas, no geral com o surgimento de perfilhos, necessitando doses de herbicidas maiores.

2.3 O grão de arroz

Para entender as características nutricionais do arroz, precisamos saber que este cereal pode ser dividido em diferentes partes: grão, casca e farelo. Para avaliarmos o processamento do arroz e suas implicações, é comum considerar as divisões gerais do grão, conforme a Figura 1 abaixo relacionada.

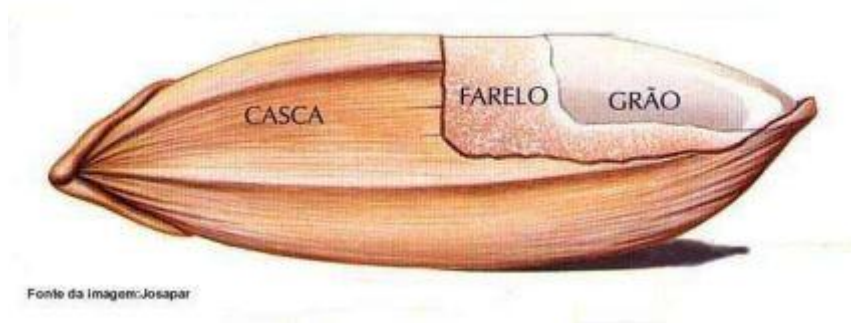


Figura 1. Grão de arroz (adaptado de STORCK, 2004)

A casca representa o maior volume entre os subprodutos obtidos durante o beneficiamento do arroz, chegando, em média, a 22%. Vale lembrar que o arroz com casca é a melhor maneira de armazenar o produto (WALTER, 2009). Sua utilização é bastante variada, destacando-se na produção de energia. Como propicia temperaturas de até 1000 °C é usada na alimentação de fornalhas de secadores e autoclaves da própria indústria arroseira (EMBRAPA, 2010). Como sua densidade é baixa, seu transporte torna-se problemático e por isso, ela é transformada em "briquetes", que são aglomerados de casca, que reduzem consideravelmente seu volume. Durante a sua queima, a casca produz muita cinza, mas sua fumaça é pouco poluente, pois não possui enxofre. A casca de arroz, normalmente, tem a seguinte composição: de 2 a 2,8% de proteínas; 0,3 a 0,8% de gordura; 34,5 a 45,9% de fibras; 13,2 a 21% de cinzas e 22 a 34% de carboidratos (WALTER, 2009).

O farelo representa cerca de 8% do beneficiamento do arroz, sendo uma das partes mais nutritivas do grão. O farelo, da forma como é conhecido comercialmente, é formado pelo farelo propriamente dito, pelo germe e pela camada de aleurona, o que explica o seu alto valor nutritivo. A composição do farelo é constituída por: 11,3 a 14,9% de proteínas, 15 a 19,7% de gorduras, 7 a 11,4% de fibras, 6,6 a 9,9% de cinzas e 34 a 62% de carboidratos. O grão propriamente dito, também chamado de miolo, é formado basicamente pelo endosperma amiláceo, que é a parte mais consumida do cereal, representando cerca de 70% deste. Por isso, quando se fala em beneficiamento do arroz, o que se tem em mente é a transformação do produto que vem da lavoura até o grão usado para o consumo (STORCK, 2004).

2.3.1 Processamento do grão de arroz

As três formas mais conhecidas de processamento do grão de arroz são para a produção de:

- Arroz integral;
- Arroz parboilizado;
- Arroz polido ou branco;

Normalmente o arroz é recebido a granel nos engenhos, sendo descarregado em uma espécie de filtro que transportam o arroz para os silos. Destes silos, o arroz com casca vai para uma etapa chamada pré-limpeza, onde o arroz passa por um conjunto de peneiras (ou outro maquinário específico) para separar as impurezas do arroz, tais como: palha, pedaços da planta do arroz, partículas metálicas e pedaços de madeira. Nesta etapa é muito importante verificar a umidade do arroz, que deve estar entre 12 e 13%, e a quantidade de grãos quebrados, que deprecia muito o valor do produto. Caso o produto não tenha sido seco na lavoura, deverá passar por um secador antes de ser armazenado (DEXTER, 1998).

Após o recebimento, realiza-se a secagem, que é opcional nos engenhos, pois a maioria dos arrozeiros secam o arroz em sua propriedade, antes de levá-lo às indústrias. A secagem só é realizada no moinho, quando o arroz apresenta uma umidade superior a 13% durante o recebimento. Os secadores mais empregados utilizam ar para secar os grãos, realizando alguma forma de movimentação interna. Normalmente, o combustível mais usado neste tipo de maquinário é a própria casca do arroz. Alguns estudos têm demonstrado que a utilização de sistemas de maior taxa de troca térmica, tais como secadores de leito fluidizado, jorro, ou arraste produzem melhores resultados (NITZKE, 2004).

Após a secagem começa o beneficiamento do arroz, que se inicia com a separação da casca do resto do grão, ou seja, o descascamento. Esta operação não deve ser realizada logo após a colheita e secagem do cereal, pois várias pesquisas têm demonstrado que o comportamento do arroz, tanto no processamento quanto no cozimento, melhora com a armazenagem. Algumas das vantagens apontadas são uma maior absorção de água, uma menor tendência a aglomerar-se após o cozimento e uma menor perda de sólidos durante o cozimento (DEXTER, 1998).

Já para o processamento do arroz parboilizado esta etapa é realizada após todas as operações pertinentes à parboilização (aguação, gelatinização e secagem) (ABIAP, 2003).

O rendimento de um engenho é medido principalmente em função da quantidade de grãos inteiros obtidos ao final do processamento, por isto o maior cuidado a ser tomado durante a operação de descascamento é evitar a quebra dos grãos, razão pela qual o controle da umidade é fundamental. A parboilização do arroz também é realizada com a finalidade de diminuir o percentual de grãos quebrados (STORCK, 2004).

Os equipamentos mais utilizados para o descascamento são os que utilizam rolos de pedra, borracha ou mistos. Estes giram a diferentes rotações. O arroz deve passar através de um pequeno espaçamento existente entre eles, sofrendo um movimento de torção que faz com que a casca separe-se do grão (DEXTER, 1998).

Depois do descasque, os grãos inteiros seguem para o brunidor que retira uma parte da camada escura chamada de farelo, a qual é aspirada por um exaustor e, posteriormente ensacado, podendo ser vendido para empresas de ração animal ou para extração de óleos (KENNEDY *et al.*, 2002; NITZKE, 2004).

Em seguida, os grãos passam por uma nova brunição, onde é retirado o restante da camada de farelo, tornando os grãos mais brancos e levemente opacos (pois sofrem algumas ranhuras no processo de brunição) (KENNEDY *et al.*, 2002; NITZKE, 2004).

Dos brunidores, os grãos são enviados para o polidor, um equipamento destinado a promover o acabamento do grão de arroz, aspecto vítreo sem riscos e pó (DEXTER, 1998).

Nos equipamentos mais modernos, os grãos de arroz passam por uma série de cilindros onde são pressionados por anéis de borracha contra um cilindro de pedra provocando a separação do germe e das camadas exteriores de farelo por abrasão (brunidor) (KENNEDY *et al.*, 2002; NITZKE, 2004).

Em equipamentos mais antigos, o farelo era separado do endosperma por meio de lâminas, em um cilindro horizontal, que podia estar acoplado diretamente a um equipamento que retirava a casca (polidor/descascador). Já os polidores são equipamentos que têm um núcleo cilíndrico que provoca, através de uma força centrífuga, uma pressão entre os grãos e a tela em meio a uma névoa de umidade

controlada, promovendo a remoção do farelo e obtendo-se o aspecto de arroz polido. Depois de descascado, o arroz passa para uma câmara de aspiração, onde se remove a palha, o farelo grosso e o pó produzido durante o descasque. Polido e livre do farelo, ainda é necessária a realização de uma separação/limpeza mais refinada, que pode ser realizada em uma peneira de classificação que separa o arroz “bom” da quirera fina e, além disso, o arroz vermelho, que apresenta-se maior e mais redondo (KENNEDY *et al.*, 2002; NITZKE, 2004).

Também deve ser separado os grãos descascados daqueles que não foram descascados. Para isso utiliza-se um equipamento chamado separador de marinho. Essa separação se dá pela diferença entre os coeficientes de atrito do grão em casca e do descascado, além das diferenças de densidade e comprimento entre eles (STORCK, 2004).

Então, para uma melhor seleção, o produto é levado para um equipamento chamado “*trieur*” que classifica o grão de arroz conforme seu tamanho (inteiro, $\frac{3}{4}$, $\frac{1}{2}$) e tem eficiência de 99% (superior a das peneiras). O *trieur* consiste em um tubo cilíndrico rotativo de chapa, cuja superfície interna é formada por pequenas cavidades que são chamadas de alvéolos. Durante o processo, os grãos quebrados entram nos alvéolos, ficam presos ao seu interior e sobem através de uma força centrífuga até uma determinada altura. Quando o peso dos grãos quebrados vence a força centrífuga, eles caem dentro de um depósito localizado no centro do cilindro que retira esses grãos (KENNEDY *et al.*, 2002; NITZKE, 2004).

Neste momento o arroz já está pronto para ser embalado. Porém, se é desejado realizar uma seleção mais requintada ainda, pode-se realizar uma seleção eletrônica. Neste processo seleciona-se os melhores grãos, os grãos são conduzidos em linha, passando por um sensor fotoelétrico que identifica os grãos com defeitos. Esses grãos são expulsos do equipamento por bicos injetores que soltam um jato de ar (KENNEDY *et al.*, 2002; NITZKE, 2004).

Depois de descascado, polido e selecionado o arroz está pronto para ser armazenado. O arroz beneficiado é embalado mecanicamente em embalagens de diferentes pesos, de acordo com a necessidade da empresa beneficiadora, e então é armazenado em fardos, até o momento de serem levados ao mercado (WALTER, 2009).

O processamento do arroz integral e do polido é praticamente o mesmo, sendo que a principal diferença está na etapa de brunição, que no caso do arroz

integral é muito mais branda, servindo apenas para retirar algumas camadas mais externas, sem separar o germe nem o farelo, o que explica seu maior valor nutritivo, sua menor vida de prateleira e seu sabor e textura diferenciados (WALTER, 2009).

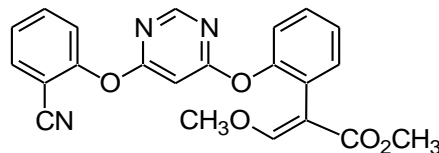
2.4 Pesticidas selecionados neste estudo

Considerando os principais pesticidas utilizados na orizicultura brasileira, optou-se por desenvolver um método para a determinação dos pesticidas azoxistrobina, bifentrina, cialotrina-lambda, cipermetrina, difenoconazole, epoxiconazole, paration-metílico, permetrina, tiametoxam e trifloxistrobina. O pesticida lindano foi selecionado como padrão-interno.

As principais propriedades físico-químicas e toxicológicas destes pesticidas estão descritas a seguir (TOMLIN, 2003; ANVISA, 2006; FOOTPRINT, 2007):

2.4.1 Azoxistrobina

- ◆ Fórmula estrutural:

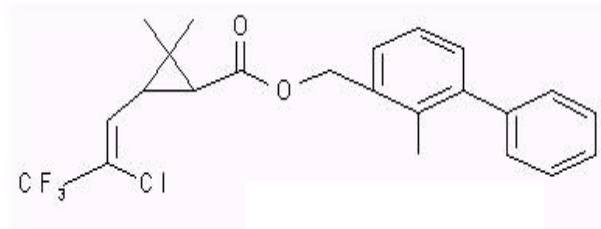


- ◆ Grupo químico: estrobilurina
- ◆ Classe: fungicida
- ◆ Classificação toxicológica: classe III
- ◆ Nome químico: metil(*E*)-2-{2-[6-(2-cianofenoxy)pirimidina-4-yloxy]fenil}-3-metilacrilato
- ◆ Número no *Chemical Abstracts Service* (CAS): 131860-33-8
- ◆ Ingestão Diária Aceitável (IDA) = 0,2 mg kg⁻¹ de peso corporal
- ◆ Fórmula molecular: C₂₂H₁₇N₃O₅
- ◆ Forma: sólido branco
- ◆ Massa molar: 403,4 g mol⁻¹

- ◆ Ponto de fusão: 114 - 116 °C
- ◆ Ponto de ebulição: 360 °C
- ◆ Pressão de vapor: $1,1 \times 10^{-7}$ mPa (20 °C)
- ◆ Coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}): $\log P = 2,5$ (20 °C)
- ◆ Modo de ação: fungicida com ação curativa e propriedades sistêmicas
- ◆ Solubilidade em água: 6 mg L⁻¹ (20 °C)
- ◆ Dose letal (DL₅₀): DL₅₀ = 4000 mg kg⁻¹ (dérmica/ratos); fungicida com propriedades preventivas, curativas, erradicativas, translaminares e sistêmicas. Inibe a germinação e o crescimento micelial dos esporos, e também mostra atividade antiesporulante

2.4.2 Bifentrina

- ◆ Fórmula estrutural:



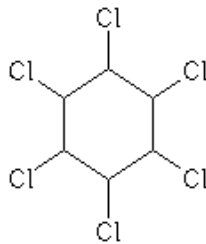
- ◆ Grupo químico: piretróide
- ◆ Classe: inseticida e acaricida
- ◆ Classificação toxicológica: classe II
- ◆ Nome químico: 2-metilbifenil-3-ilmetil(Z)-(1RS,3RS)-3-(2-cloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enil)-2,2-dimetilciclopropano carboxilato
- ◆ Número no *Chemical Abstracts Service* (CAS): 82657-04-3
- ◆ Ingestão Diária Aceitável (IDA) = 0,015 mg kg⁻¹ de peso corporal
- ◆ Fórmula molecular: C₂₃H₂₂ClF₃O₂
- ◆ Massa molar: 422,9 g mol⁻¹
- ◆ Forma: líquido viscoso, cristalino ou sólido ceroso
- ◆ Ponto de fusão: 68 - 70,6 °C

- ◆ Pressão de vapor: 0,024 mPa (25 °C)
- ◆ K_{ow} : $\log P > 6$
- ◆ Modo de ação: inseticida de contato e com ação no estômago
- ◆ Solubilidade em água: $< 1 \mu\text{g L}^{-1}$
- ◆ Dose letal: $DL_{50} = 54,5 \text{ mg kg}^{-1}$ (oral/ratos); não teratogênico em ratos $\leq 2 \text{ mg kg}^{-1}$ diariamente

2.4.3 Lindano

É importante ressaltar que o pesticida lindano não é permitido para a utilização na agricultura e foi escolhido neste estudo como padrão interno.

- ◆ Fórmula estrutural:

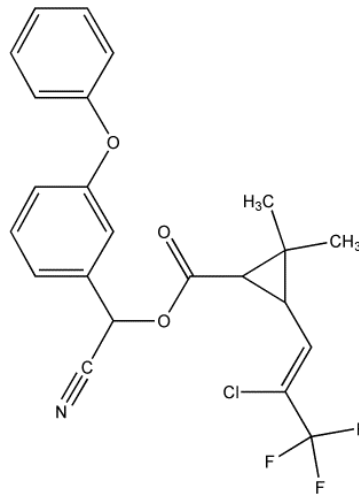


- ◆ Grupo químico: organoclorado
- ◆ Classe: inseticida
- ◆ Classificação toxicológica: classe II
- ◆ Nome químico: 1,2,3,4,5,6-hexachlorocyclohexane (mistura de isômeros)
- ◆ Número no *Chemical Abstracts Service* (CAS): 608-73-1
- ◆ Ingestão Diária Aceitável (IDA) = $0,003 \text{ mg kg}^{-1}$
- ◆ Fórmula molecular: $\text{C}_6\text{H}_6\text{Cl}_6$
- ◆ Massa molar: $290,8 \text{ g mol}^{-1}$
- ◆ Ponto de fusão: $112,86 \text{ }^\circ\text{C}$
- ◆ Ponto de ebulição: $323,4 \text{ }^\circ\text{C}$
- ◆ Pressão de vapor: 4,4 mPa (24 °C)
- ◆ K_{ow} : $\log P = 3,5$

- ◆ Modo de ação: inseticida de contato
- ◆ Solubilidade em água: 8,52 (25 °C); 8,35 (pH 5, 25 °C) ambos em mg L⁻¹
- ◆ Dose letal: DL₅₀ = 500 a 1000 mg kg⁻¹ (oral/ratos)

2.4.4 Cialotrina lambda

- ◆ Fórmula estrutural:

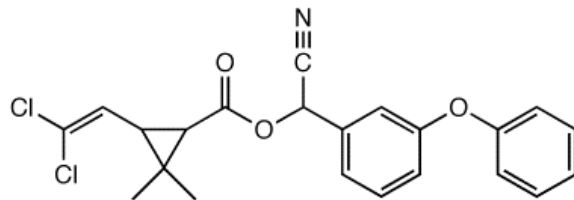


- ◆ Grupo químico: piretróide
- ◆ Classe: inseticida
- ◆ Classificação toxicológica: classe III
- ◆ Nome químico: (S)-α-ciano-3-fenoxibenzil(Z)-(1R,3R)-3-(2-cloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato e (R)-α-ciano-3-fenoxibenzil (Z)-(1S,3S)-3-(2-cloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato
- ◆ Número no *Chemical Abstracts Service* (CAS): 91465-08-6
- ◆ Ingestão Diária Aceitável (IDA) = 0,05 mg kg⁻¹ de peso corporal
- ◆ Fórmula molecular: C₂₃H₁₉ClF₃NO₃
- ◆ Massa molar: 449,9 g mol⁻¹
- ◆ Forma: sólido incolor
- ◆ Ponto de fusão: 49,2 °C
- ◆ Pressão de vapor: 2,0 x 10⁻⁴ mPa (20 °C), 2,0 x 10⁻¹ mPa (60 °C)
- ◆ K_{ow}: log P = 7 (20 °C)

- ◆ Modo de ação: inseticida não sistêmico, de contato e com ação no estômago. Possui propriedades repelentes
- ◆ Solubilidade em água: $0,02 \text{ mg L}^{-1}$ ($20 \text{ }^\circ\text{C}$)
- ◆ Dose letal: $DL_{50} = 79 \text{ mg kg}^{-1}$ para ratos machos e $DL_{50} = 56 \text{ mg kg}^{-1}$ para ratos fêmeos (oral); $DL_{50} = 632 - 696 \text{ mg kg}^{-1}$ (pele e olhos/ratos); CL_{50} (4 h de inalação) em ratos = $0,06 \text{ mg L}^{-1}$

2.4.5 Cipermetrina

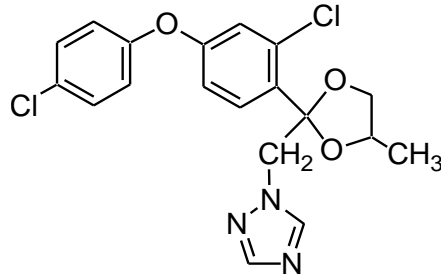
- ◆ Fórmula estrutural:



- ◆ Grupo químico: piretróide
- ◆ Classe: inseticida
- ◆ Classificação toxicológica: classe II
- ◆ Nome químico: *(RS)*- α -ciano-3-fenilbenzil-*(1RS, 3RS; 1RS, 3RS)*-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato
- ◆ Número no *Chemical Abstracts Service* (CAS): 52315-07-8
- ◆ Ingestão Diária Aceitável (IDA) = $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$
- ◆ Fórmula molecular: $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{Cl}_2\text{NO}_3$
- ◆ Massa molar: $416,3 \text{ g mol}^{-1}$
- ◆ Forma: cristais inodoros
- ◆ Ponto de fusão: $41,2 \text{ }^\circ\text{C}$
- ◆ Pressão de vapor: $2,0 \times 10^{-4} \text{ mPa}$ ($20 \text{ }^\circ\text{C}$)
- ◆ K_{ow} : $\log P = 6,6$
- ◆ Modo de ação: age por contato e ingestão
- ◆ Solubilidade em água: $0,004 \text{ mg L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7$)
- ◆ Dose letal: $DL_{50} = 4420 \text{ mg kg}^{-1}$ (oral/ratos); $DL_{50} > 4800 \text{ mg kg}^{-1}$ (dérmica/ratos)

2.4.6 Difenoconazole

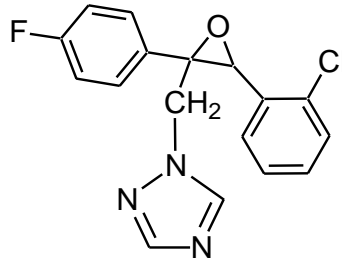
- ◆ Fórmula estrutural:



- ◆ Grupo químico: triazole
- ◆ Classe: fungicida
- ◆ Classificação toxicológica: classe III
- ◆ Nome químico: *cis, trans*-3-cloro-4-[4-metil-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1,3-dioxolan-2-il] fenil-4-clorofenil éter
- ◆ Número no *Chemical Abstracts Service* (CAS): 119446-68-3
- ◆ Ingestão Diária Aceitável (IDA) = 0,01 mg kg⁻¹
- ◆ Fórmula molecular: C₁₉H₁₇Cl₂N₃O₃
- ◆ Massa molar: 406,3 g mol⁻¹
- ◆ Forma: cristais de cor branca a bege
- ◆ Ponto de fusão: 82 - 83 °C
- ◆ Ponto de ebulição: 220 °C
- ◆ Pressão de vapor: 3,3 x 10⁻⁵ mPa (25 °C)
- ◆ K_{ow}: log P = 4,4 (25 °C)
- ◆ Modo de ação: fungicida sistêmico de ação curativa e preventiva
- ◆ Solubilidade em água: 15 mg L⁻¹ (25 °C)
- ◆ Dose letal: DL₅₀ = 2000 a 3000 mg kg⁻¹ (oral/ratos)

2.4.7 Epoxiconazole

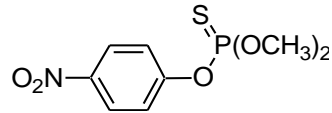
- ◆ Fórmula estrutural:



- ◆ Grupo químico: triazole
- ◆ Classe: fungicida
- ◆ Classificação toxicológica: classe I
- ◆ Nome químico: (2*RS*, 3*SR*)-1-[3-(2-clorofenil)-2,3-epoxi-2-(4-fluorfenil) propil]-1*H*-1,2,4-triazol
- ◆ Número no *Chemical Abstracts Service* (CAS): 106325-08-0
- ◆ Ingestão Diária Aceitável (IDA) = 0,008 mg kg⁻¹
- ◆ Fórmula molecular: C₁₇H₁₃ClFN₃O
- ◆ Massa molar: 329,8 g mol⁻¹
- ◆ Forma: cristais incolores
- ◆ Ponto de fusão: 136,7 °C
- ◆ Pressão de vapor: < 0,01 mPa (20 °C)
- ◆ K_{ow}: log P = 3,44 (pH = 7)
- ◆ Modo de ação: mesostêmico
- ◆ Solubilidade em água: 6,63 x 10⁻⁴ g 100 mL⁻¹ (20 °C)
- ◆ Dose letal: DL₅₀ = 2000 mg kg⁻¹ (oral/ratos); DL₅₀ = 4000 mg kg⁻¹ (dérmica/ratos)

2.4.8 Paration metílico

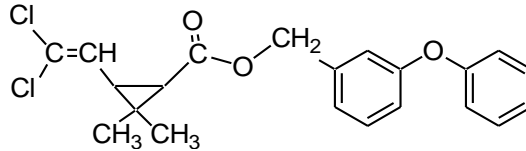
- ◆ Fórmula estrutural:



- ◆ Grupo químico: organofosforado
- ◆ Classe: inseticida
- ◆ Classificação toxicológica: classe I
- ◆ Nome químico: O, O-dimetil O-4-nitrofenil fosforotiato
- ◆ Número no *Chemical Abstracts Service* (CAS): 298-00-0
- ◆ Ingestão Diária Aceitável (IDA) = 0,003 mg kg⁻¹
- ◆ Fórmula molecular: C₈H₁₀NO₅PS
- ◆ Massa molar: 263,2 g mol⁻¹
- ◆ Forma: cristais incolores e inodoros
- ◆ Ponto de fusão: 35 - 36 °C
- ◆ Pressão de vapor: 0,2 mPa (20 °C); 0,41 mPa (25 °C)
- ◆ K_{ow}: log P = 3,0
- ◆ Modo de ação: de contato e inseticida de estômago, inibindo a atividade da colinesterase
- ◆ Solubilidade em água: 55 mg L⁻¹ (20 °C)
- ◆ Dose letal: DL₅₀ = 3 mg kg⁻¹ (de peso corporal)

2.4.9 Permetrina

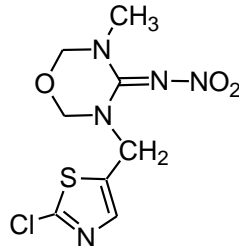
- ◆ Fórmula estrutural:



- ◆ Grupo químico: piretróide
- ◆ Classe: inseticida
- ◆ Classificação toxicológica: classe II
- ◆ Nome químico: 3-fenóxibenzil (1*RS*, 3*RS*; 1*RS*, 3*RS*)-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetil ciclopropanocarboxilato
- ◆ Número no *Chemical Abstracts Service* (CAS): 52645-53-1
- ◆ Ingestão Diária Aceitável (IDA) = 0,05 mg kg⁻¹
- ◆ Fórmula molecular: C₂₁H₂₀Cl₂O₃
- ◆ Massa molar: 391,3 g mol⁻¹
- ◆ Forma: líquido amarelo marrom
- ◆ Ponto de fusão: 34 -35 °C; isômero *cis* = 63 - 65 °C; isômero *trans* = 44 - 47 °C
- ◆ Pressão de vapor: *cis* = 0,0025 mPa; *trans* = 0,0015 mPa (ambos a 20 °C)
- ◆ K_{ow}: log P = 6,1 (20 °C)
- ◆ Modo de ação: age por contato e ingestão
- ◆ Solubilidade em água: 6 x 10⁻³ mg L⁻¹ (pH = 7, a 20 °C)
- ◆ Dose letal: DL₅₀ = 1820 ± 288 mg kg⁻¹ (oral/ratos); DL₅₀ > 3000 mg kg⁻¹ (dérmica/ratos)

2.4.10 Tiametoxam

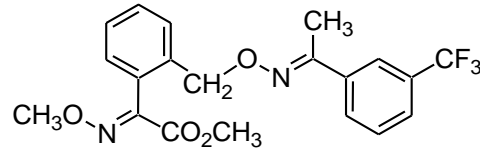
- ◆ Fórmula estrutural:



- ◆ Grupo químico: neocotinóide
- ◆ Classe: inseticida
- ◆ Classificação toxicológica: classe III
- ◆ Nome químico: 3-(2-cloro-1,3-triazol-5-ilmetil)-5-meti-1,3,5-oxadiazina-4-ilidano (nitro) amina
- ◆ Número no *Chemical Abstracts Service* (CAS): 153719-23-4
- ◆ Ingestão Diária Aceitável (IDA) = 0,026 mg kg⁻¹
- ◆ Fórmula molecular: C₈H₁₀ClN₅O₃S
- ◆ Massa molar: 291,7 g mol⁻¹
- ◆ Forma: pó cristalino
- ◆ Ponto de fusão: 139,1 °C
- ◆ Pressão de vapor: 6,6 x 10⁻⁶ mPa (25 °C)
- ◆ K_{ow}: log P = -0,13 (25 °C)
- ◆ Modo de ação: ação fitotônica (a fim de estimular o crescimento da planta)
- ◆ Solubilidade em água: 4,1 g L⁻¹ (25 °C)
- ◆ Dose letal: DL₅₀ = 0,05 mg kg⁻¹ (oral/ratos)

2.4.11 Trifloxistrobina

- ◆ Fórmula estrutural:



- ◆ Grupo químico: estrobilurina
- ◆ Classe: fungicida
- ◆ Classificação toxicológica: classe III
- ◆ Nome químico: éter metílico do ácido (*E, E*)-metoxiimino- {2-{1-(3-trifluorometil-fenil)-etilideno-amino-oximetil}-fenil}-acético
- ◆ Número no *Chemical Abstracts Service* (CAS): 141517-21-7
- ◆ Ingestão Diária Aceitável (IDA) = 0,1 mg kg⁻¹ de peso corporal
- ◆ Fórmula molecular: C₂₀H₁₉F₃N₂O₄
- ◆ Massa molar: 408,4 g mol⁻¹
- ◆ Forma: branco sólido e inodoro
- ◆ Ponto de fusão: 72,9 °C
- ◆ Pressão de vapor: 3,4 x 10⁻³ mPa (25 °C)
- ◆ K_{ow}: log P = 4,5 (25 °C)
- ◆ Modo de ação: fungicida de largo espectro, afinidade com a superfície foliar, possui atividade preventiva e curativa; redistribuído por circulação de vapor superficial e também possui atividade translaminar
- ◆ Solubilidade em água: 610 µg L⁻¹ (25 °C)
- ◆ Dose letal: DL₅₀ > 5000 mg kg⁻¹ (oral/ratos); DL₅₀ > 2000 mg kg⁻¹ (pele e olhos/ratos); CL₅₀ > 4646 mg m⁻³ em ratos (inalação)

2.5 Preparo da amostra e métodos cromatográficos para a determinação dos pesticidas em estudo

Uma das operações preliminares de uma análise química consiste em submeter uma alíquota representativa da amostra a um tratamento adequado visando sua preparação para os passos subseqüentes. Esses procedimentos dependem da matriz da amostra, da quantidade de amostra, dos analitos a serem determinados e sua concentração, do método de análise e da precisão e exatidão desejadas (COELHO, 2004).

A cromatografia gasosa pode ser empregada na determinação de substâncias voláteis e estáveis termicamente; caso contrário, há a necessidade de se formar um derivado com essas características, o que nem sempre é viável. Análise cromatográfica, isoladamente, é rápida, podendo ser realizada em minutos. No entanto, na maioria das vezes há necessidade de etapas de preparo da amostra, antes que ela possa ser analisada, para que não haja interferências durante a análise e contaminação da coluna cromatográfica (COLLINS, 2006).

JIMENÉZ *et al.* (2001) estudaram um método para a determinação de resíduos de pesticidas em vinho por GC-ECD. O método combinou a extração em fase sólida com cartuchos poliméricos eluídos com acetato de etila com a análise por GC-ECD e NPD (detector de nitrogênio e fósforo). A etapa de *clean up* foi realizada com o adsorvente florisil. Os valores de recuperação utilizando a extração por SPE ficaram entre 83 e 112%, sendo que as amostras analisadas continham resíduos dos pesticidas em estudo.

TOMKINS *et al.* (2002) estudaram um método para a determinação de atrazina e quatro pesticidas organoclorados, incluindo parationa metílica, em águas de superfície aplicando SPME e GC-MS. O método proposto foi adequado para a determinação dos pesticidas em estudo em águas de superfície.

ANASTASSIADES *et al.* (2003) introduziram um novo método para análise e monitoramento de resíduos de pesticidas em frutas e vegetais, aplicando o método QuEChERS. Este método procurou adequar às necessidades que o mercado de análise de resíduos de pesticidas exige. Desenvolveram um método para a extração de resíduos de pesticidas denominado QuEChERS (do inglês, *quick, easy, cheap, effective, rugged and safe*). Este método utiliza acetonitrila para a extração das amostras, seguida da adição de sulfato de magnésio e cloreto de sódio, para realizar a partição líquido-líquido dos pesticidas. O *clean up* foi realizado pela adição do adsorvente PSA (amina primária e secundária) e sulfato de magnésio anidro. Os extratos foram injetados no GC-MS para análise dos resíduos de pesticidas.

Constatou-se também neste estudo que pode ocorrer degradação de alguns compostos pelo fato da partição ser realizada em meio básico.

RISSATO *et al.* (2004) desenvolveram e validaram um método para a determinação de resíduos de pesticidas organoclorados em água de manacial, água potável e solo. A concentração e purificação das amostras de água foram realizadas por SPE. As amostras de solo foram extraídas com solvente metanol e os extratos foram analisados por GC-ECD.

LIBIN *et al.* (2006) desenvolveram um método para a determinação de 97 pesticidas em batata, cenoura, maçã, laranja, pepino, arroz e couve, aplicando o método QuEChERS modificado (extração e partição com solvente acidificado com ácido acético) e GC-MS (Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas). Os valores de recuperação e RSD foram satisfatórios, ou seja, entre 70 e 120% ($\pm 10\%$).

ALVES *et al.* (2006) estudaram a validação e a incerteza global do método de cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos (LC-DAD) para os pesticidas azoxistrobina, cresoxin metílico, trifloxistrobina, famaxadone, piraclostrobina e fanamidone em uvas e vinhos.

PENGYAN *et al.* (2006) analisaram multirresíduos de pesticidas em arroz por GC-MS. A extração dos pesticidas foi realizada com o solvente diclorometano e o *clean up* da amostra foi efetuado por SPE com adsorvente apolar.

LESUEUR *et al.* (2008) determinaram 150 pesticidas em alimentos de agricultura convencional (tomate, limão, uva e cebola) depois da extração com o método QuEChERS modificado, conforme descrito por LIBIN *et al.* (2006). Dentre os pesticidas em estudo, 105 foram analisados por GC-MS (Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas) e 45 por LC-MS (Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas). O método foi adequado para a extração e análise dos pesticidas em estudo.

CARVALHO *et al.* (2008) pesquisaram o desenvolvimento de método para a determinação de resíduos de pesticidas (fosadona, pirimicarbe, tetradifona, clorprofam e bifentrina) em plantas medicinais por dispersão da matriz em fase sólida (MSPD) e (GC-MS).

LEE *et al.* (2008) trabalharam em um método multirresíduo para a determinação de 203 pesticidas em arrozais usando GC-MS. Dentre os pesticidas

em estudo, parationa metílica, permetrina, cipermetrina e bifentrina foram validados aplicando extração pelo método QuEChERS modificado.

CANELA *et al.* (2009) fizeram uma comparação entre métodos de quantificação por GC. Apresentaram uma proposta de experimento empregando a cromatografia gasosa aplicando a calibração externa e interna, evidenciando as principais fontes que influenciam em uma análise quantitativa na cromatografia gasosa e as diferenças entre as calibrações, os erros que podem ocorrer, e os procedimentos necessários para minimizá-los através do uso de padrão interno.

PRESTES *et al.* (2009) escreveram uma revisão do método QuEChERS, enfatizando o método moderno de preparo de amostra para a determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. Outros autores destacaram que este método possui vantagens sobre os métodos tradicionais de preparo de amostra para a determinação de resíduos de pesticidas, dentre as quais: altos percentuais de recuperação dos analitos, método exato e preciso e utilização de pequenos volumes de solventes.

PEREIRA *et al.* (2009) pesquisaram o desenvolvimento, validação e aplicação da metodologia baseada na microextração em fase sólida (SPME) e análise por GC-MS para a determinação de resíduos de pesticidas em manga. Dentre os pesticidas em estudo, os pesticidas permetrina, bifentrina, azoxistrobina, parationa metílica e difenoconazole foram otimizados para a análise, indicando que este método pode ser aplicado para a determinação dos pesticidas estudados.

NEVES *et al.* (2009) pesquisaram o efeito matriz na quantificação de pesticidas por cromatografia gasosa. Concluíram que o efeito matriz é mais pronunciado em amostras complexas, como por exemplo: frutas, vegetais, cereais, solo, grãos, etc, e que este pode ser minimizado utilizando as curvas analíticas na matriz. Desta forma, a matriz simula uma situação equivalente a que ocorre na análise das amostras. Os autores afirmaram que os compostos que não são afetados pelo efeito matriz são considerados termicamente estáveis, apresentam um limitado potencial de adsorção no injetor em temperaturas elevadas e a matriz é incapaz de providenciar um efeito protetor significativo.

JARDIM *et al.* (2009) descreveu o uso de pesticidas na agricultura arroseira. Esta pesquisa mostra um histórico dos agrotóxicos, sua definição e classificação, o consumo de agrotóxicos no Brasil, sua toxicologia e legislação ambiental e a

importância da determinação de resíduos de agrotóxicos em grãos. Os autores concluíram que é de suma importância a realização de pesquisas que esclareçam à sociedade a pertinência do desenvolvimento de programas que monitorem resíduos de agrotóxicos em alimentos, visto que pesquisas revelam que quantidades significativas de resíduos de agrotóxicos têm sido encontradas em diversos tipos de culturas consumidas, na maioria das vezes, na forma *in natura*. Ressaltaram também que as maçãs apresentaram quantidades expressivas de agrotóxicos.

RIBEIRO *et al.* (2009) escreveram uma revisão sobre os riscos dos pesticidas no meio ambiente. Destacaram que as políticas públicas nas áreas ambientais e de saúde exigem informações científicas seguras e confiáveis na avaliação de riscos associados ao uso de pesticidas para fundamentar e justificar as decisões governamentais. Também afirmam que há um consenso na comunidade científica sobre a importância da avaliação de risco dos pesticidas no meio ambiente.

LEHOTAY *et al.* (2010) pesquisaram uma comparação de diferentes versões do preparo das amostras pelo método QuEChERS para a análise de resíduos de pesticidas em frutas e vegetais. Avaliaram uma modificação do método QuEChERS para a extração de 32 pesticidas utilizando uma mistura de C₁₈ e PSA (amina primária e secundária) na etapa de *clean up* de amostras contendo um alto teor de gordura, sendo que entre os pesticidas em estudo, apenas a azoxistrobina e a permetrina apresentaram valores adequados de recuperação.

2.6 Validação do método cromatográfico

RIBANI *et al.* (2004) estudaram a validação de métodos cromatográficos, com o objetivo de comentar os principais aspectos de validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos, mostrando as diferenças e similaridades entre as diretrizes estabelecidas pelas diferentes agências reguladoras internacionais e do Brasil. Os parâmetros analíticos necessários para a validação de métodos são: seletividade; linearidade e faixa de aplicação; precisão; exatidão; limite de detecção; limite de quantificação e robustez (BRASIL, 2003; SANCO 2007).

Existe vasta literatura na área de medições químicas e recomendações publicadas por organizações nacionais e internacionais. No Brasil, a ANVISA e o INMETRO são órgãos credenciados para avaliar a competência destes ensaios. Os parâmetros preconizados pelo ICH (*International Conference on Harmonization*) e o

INMETRO são: especificidade e seletividade, faixa de trabalho e faixa linear de trabalho, linearidade, sensibilidade, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão, precisão, robustez e incerteza de medição (ANVISA, 2010; INMETRO, 2010).

2.6.1 Seletividade

A seletividade em um método instrumental de separação é a capacidade de avaliar, de forma inequívoca, as substâncias em exame na presença de componentes que podem interferir na sua determinação em uma amostra complexa. A seletividade avalia o grau de interferência de espécies, como por exemplo: outro ingrediente ativo, excipientes, impurezas e produtos de degradação, bem como outros compostos de propriedades similares que possam estar, porventura, presentes. A seletividade garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse. Se a seletividade não for assegurada, a linearidade, a exatidão e a precisão estarão seriamente comprometidas (RIBANI *et al.*, 2004).

Segundo SHABIR (2003) e RIBANI *et al.* (2004), a seletividade em matrizes complexas por ser avaliada por alguns testes como:

- a) Comparar a matriz isenta de substância de interesse e esta adicionada de padrão. O analito deve se apresentar isolado de qualquer possível interferente;
- b) Caso a matriz isenta de substância não seja possível, pode-se confrontar uma curva analítica do padrão e outra do padrão adicionado à amostra. Curvas paralelas indicam que a matriz não interfere na determinação de substância de interesse;
- c) Analisar se as respostas (picos) do analito na amostra e de uma substância de referência pura são equivalentes.
- d) Avaliar a semelhança do resultado do método com relação à outra técnica mais específica como espectrometria de massas.

2.6.2 Curva analítica e linearidade

A linearidade corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância em exame, dentro de uma determinada faixa de aplicação (RIBANI *et al.*, 2004). Esse parâmetro pode ser demonstrado pelo coeficiente de correlação da curva analítica (BRITO, 2003; SANCO, 2007).

2.6.3 Sensibilidade

A sensibilidade é a capacidade do método em distinguir, com determinado nível de confiança, duas concentrações próximas. Em métodos sensíveis, uma pequena diferença na concentração do analito causa grande variação no valor do sinal analítico medido. Esse critério expressa a capacidade do procedimento analítico gerar variação no valor da propriedade monitorada ou medida, causada por pequeno incremento na concentração ou quantidade do analito. Entretanto, tornou-se comum o uso errôneo desse termo para designar método com baixo limite de detecção (LOD) (AMARANTE, 2001).

2.6.4 Limite de Detecção e Limite de Quantificação

O limite de detecção (LOD) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental. O LOD pode ser calculado de três maneiras diferentes: método visual, método relação sinal-ruído, método baseado em parâmetros da curva analítica (RIBANI *et al.*, 2004).

O LOQ representa a menor concentração da substância em exame que pode ser medida com precisão e exatidão adequadas, utilizando um determinado procedimento experimental (RIBANI *et al.*, 2004, BRASIL, 2003).

2.6.5 Exatidão

A exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro. É importante observar que um valor exato ou verdadeiro é o valor obtido

por uma medição perfeita e este valor é indeterminado por natureza. A exatidão é sempre considerada dentro de certos limites, a um dado nível de confiança (ou seja, aparece sempre associada a valores de precisão). Estes limites podem ser estreitos em níveis de concentração elevados e mais amplos em níveis de traços (RIBANI *et al.*, 2004).

O ensaio de recuperação constitui o método mais utilizado para a validação de processos analíticos. A recuperação está relacionada com a exatidão, pois reflete a quantidade de determinado analito, recuperado no processo, em relação à quantidade real presente na amostra. A exatidão é expressa como erro sistemático percentual, inerente ao processo. O erro sistemático ocorre pela perda da substância devido à baixa recuperação da extração, medidas volumétricas imprecisas ou substâncias interferentes na amostra, entre outros (THOMSON *et al.*, 2002).

2.6.5.1 Recuperação

O estudo da recuperação consiste na "fortificação" da amostra, ou seja, na adição de soluções com diferentes concentrações do analito de interesse seguida pela determinação da concentração do analito adicionado. Calcule-se a quantidade de analito recuperada pela fórmula descrita na Equação 1:

$$R(\%) = \frac{\text{valor real}}{\text{valor obtido}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Deve-se ressaltar que o processo de fortificação tenta simular condições reais, não interferindo significativamente nas interações que ocorrem na própria amostra. Isso nem sempre é possível, visto que a solução de fortificação é preparada com solventes orgânicos, geralmente não-presentes na matriz.

2.6.6 Precisão

Representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições definidas. A precisão é avaliada pelo desvio padrão absoluto (s), que utiliza um número significativo de medições, normalmente maior que 20 (HUBER, 2001; RIBANI *et al.*, 2004).

Outra expressão da precisão é através da estimativa do desvio padrão relativo (RSD), também conhecido como coeficiente de variação (CV) (RIBANI *et al.*, 2004), conforme a Equação 2:

$$\text{RSD (\%)} \text{ ou } \text{CV (\%)} = \frac{s}{x} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

2.6.6.1 Repetitividade

A repetitividade representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo método, efetuadas sob as mesmas condições de medição, chamadas condições de repetitividade: mesmo procedimento; mesmo analista; mesmo instrumento usado sob as mesmas condições; mesmo local; repetições em um curto intervalo de tempo. O termo repetitividade é adotado pelo Vocabulário Internacional de Metrologia, sendo utilizado pelo INMETRO. Por outro lado, a ANVISA utiliza o mesmo conceito para o termo repetibilidade. A repetitividade envolve várias medições da mesma amostra, em diferentes preparações e é, algumas vezes, denominada precisão intra-ensaio ou intra-corrída e pode ser expressa através da estimativa do desvio padrão relativo (RSD) (RIBANI *et al.*, 2004).

2.6.6.2 Precisão intermediária

A precisão intermediária indica o efeito das variações dentro do laboratório devido a eventos como diferentes dias ou diferentes analistas ou diferentes

equipamentos ou ainda uma combinação destes fatores. A precisão intermediária é reconhecida como a mais representativa da variabilidade dos resultados em um único laboratório e, como tal, mais aconselhável de ser adotada. O objetivo da validação da precisão intermediária é verificar que no mesmo laboratório o método fornecerá os mesmos resultados (RIBANI *et al.*, 2004).

2.6.6.3 Reprodutibilidade

É o grau de concordância entre os resultados das medições de uma mesma amostra, efetuadas sob condições variadas (mudança de operador, local, equipamentos). A reprodutibilidade refere-se aos resultados dos estudos de colaboração entre laboratórios e deve ser considerada em situações como a padronização de procedimentos analíticos a serem incluídos, por exemplo, em farmacopéias, procedimentos do CODEX. É muito comum encontrar desacordo entre métodos analíticos. Isto aparece quando vários laboratórios analisam uma amostra em comum, em estudos colaborativos. Frequentemente, altas variações são observadas entre os resultados. Assim, os dados provenientes de apenas um laboratório não são suficientes para avaliar a reprodutibilidade do método. Estudos colaborativos não são somente indispensáveis para avaliação da reprodutibilidade, eles também podem ser de grande ajuda para testar a exatidão do método (RIBANI *et al.*, 2004).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Instrumentação

A instrumentação utilizada no desenvolvimento deste trabalho está descrita a seguir:

- Sistema GC-ECD: Cromatógrafo a gás CP 3800 (Varian, EUA) equipado com:
 - Amostrador automático CP 8410 (Varian, EUA);
 - Injetor modelo 1079 com Controle Pneumático Eletrônico;
 - Coluna capilar DB-5 (5% fenil e 95% metilpolisiloxano) de sílica fundida, 30 m de comprimento; 0,25 mm de d.i. e 0,25 μ m de espessura de filme (J & W Scientific, Reino Unido);
 - Detector por Captura de Elétrons, isótopo ^{63}Ni (Varian, EUA);
 - Sistema de aquisição de dados através do *software Star Workstation 6.0* (Varian, EUA);
- Sistema de purificação de água Milli-Q - resistividade 18,2 M Ω cm (Millipore, França);
- Balança analítica HR-120 (*A & D Company*, Japão);
- Agitador Vortex – Biomixer Modelo QL 901 (Microtécnica, Brasil);
- Micropipetadores automáticos com capacidade variável (Brand, Alemanha);
- Centrífuga de Bancada Microprocessada NT 810 (Nova Técnica, Brasil);
- Centrífuga 12 x 15 mL (Centribio, Brasil);

- Processador de alimentos (*Braun*, Alemanha).

3.2 Gases, materiais, reagentes e solventes utilizados

Os gases utilizados no GC-ECD foram: gás de arraste: Hélio 99,999% de pureza (White Martins e Air Products, Brasil) e gás *make up* do detector ECD: Nitrogênio 99,999% de pureza (Air Products, Brasil).

Na etapa de preparo da amostra foram utilizados materiais como: tubos de polipropileno, com tampas rosqueadas, capacidade de 15 e 50 mL (BD Labware, França); vidraria comum de laboratório e detergente neutro e alcalino (Extran, Merck, Brasil).

Os solventes e reagentes utilizados estão citados a seguir:

- Tolueno, grau pesticida (Mallinckrodt, EUA);
- Acetonitrila, grau HPLC (J.T. *Baker*, EUA);
- Ácido acético p.a. (Merck, Alemanha);
- Acetato de sódio anidro p.a. (CAQ, Brasil);
- Sulfato de magnésio anidro (J.T. *Baker*, Japão);
- Sorvente C₁₈ 40 µm (Varian, EUA);
- Padrões sólidos dos pesticidas (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Alemanha), conforme Tabela 5.

3.3 Padrões analíticos dos pesticidas

A Tabela 5 apresenta as informações dos padrões sólidos utilizados no desenvolvimento deste trabalho, bem como os limites máximos de resíduos (LMR) em grão de arroz segundo a legislação brasileira.

Tabela 5. Informações dos padrões sólidos dos pesticidas estudados e LMR em grão de arroz

Pesticida	Grau de pureza (%)	Tipo	LMR (mg kg⁻¹)*
Azoxistrobina	99	Fungicida	0,1
Bifentrina	99,5	Inseticida	0,7
Cialotrina-lambda	98,5	Inseticida	1,0
Cipermetrina	92	Inseticida	0,05
Difenoconazole	99	Fungicida	1,0
Epoxiconazole	99	Fungicida	- **
Lindano (P.I.)	98	Inseticida	- ***
Paration-metílico	98,5	Inseticida	0,2
Permetrina	98,5	Inseticida	0,1
Tiametoxan	98	Inseticida	0,02
Trifloxistrobina	99	Fungicida	0,2

P.I. - Padrão Interno

*: LMR: limite máximo de resíduo

** : Não permitido para cultura de arroz irrigado

***: Uso proibido conforme IBAMA (2010)

FORTE: AGROFIT, 2010

3.4 Preparo dos padrões analíticos

Para a otimização da separação dos pesticidas e das condições cromatográficas utilizadas neste estudo, foram preparadas soluções analíticas

contendo uma mistura dos pesticidas em estudo observando o tempo de retenção e o perfil de separação destes pesticidas.

Primeiramente preparou-se, individualmente, 10 mL da solução estoque na concentração 1000 mg L^{-1} de cada pesticida no solvente tolueno, partindo da dissolução do padrão sólido de referência, efetuando-se o cálculo para determinar a quantidade de cada padrão sólido a ser pesado, considerando a pureza, sendo estas soluções armazenadas em frascos âmbar e estocadas em freezer com temperatura controlada de $-18 \text{ }^\circ\text{C}$.

Após, foram preparadas soluções analíticas individuais em tolueno na concentração de 100 mg L^{-1} de cada pesticida em estudo. Em seguida, preparou-se 10 mL de uma mistura de concentração 100 mg L^{-1} , contendo todos os pesticidas estudados. Para isso, transferiu-se $1000 \text{ } \mu\text{L}$ de cada solução estoque para balão volumétrico de 10 mL. Esta solução também foi armazenada em frasco âmbar a temperatura de $-18 \text{ }^\circ\text{C}$.

A partir desta solução foram preparadas soluções analíticas de concentrações 1,0 e 10 mg L^{-1} em acetonitrila, utilizadas para a concepção das curvas analíticas de cada composto. Para o estudo de linearidade foram feitas diluições destas soluções nas concentrações 0,001; 0,0025; 0,005; 0,0075; 0,01; 0,025; 0,05; 0,075; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 e 1 mg L^{-1} , no solvente acetonitrila e no extrato da matriz de grãos e de casca de arroz livres de contaminantes. Adicionou-se o padrão interno no momento de preparo das diluições. Estas soluções também foram utilizadas para os ensaios de fortificação. Todas as soluções foram armazenadas em frascos âmbar e estocadas a $-18 \text{ }^\circ\text{C}$.

3.5 Escolha das amostras livres de contaminantes para a etapa de validação

As amostras utilizadas para a etapa de validação foram obtidas de um experimento conduzido pelo grupo de pesquisa do Departamento de Fitotecnia, na várzea do Campus da Universidade Federal de Santa Maria (Safrá 2008/2009), onde foram coletados os grãos e as cascas de arroz que não foram submetidas a nenhum tipo de tratamento com pesticidas e estavam em área isolada dos outros grãos de arroz submetidos aos tratamentos com os pesticidas em estudo. Estas amostras foram chamadas de “amostras branco”.

Segundo COGO (2008), as amostras “branco” não devem apresentar nenhum resíduo de qualquer pesticida em estudo ou outro interferente que elua no mesmo tempo de retenção destes pesticidas, para assim serem utilizadas no preparo das curvas analíticas no extrato da matriz e para as fortificações, na qual avalia-se o percentual de recuperação apresentado pelo método de extração e condições cromatográficas utilizadas.

Os grãos e as cascas de arroz foram triturados com a ajuda de um processador de alimentos até tornarem-se finamente maceradas. Após, deste material foram extraídos os pesticidas conforme o método QuEChERS modificado e injetados no GC-ECD para a confirmação da ausência dos pesticidas em estudo.

3.6 Otimização do sistema cromatográfico GC-ECD

3.6.1 Vazão do gás de arraste

Para obter uma separação adequada dos compostos em estudo, testou-se as vazões do gás de arraste de 1,0 e 1,3 mL min⁻¹.

3.6.2 Temperatura do injetor

Para melhorar a resposta cromatográfica testou-se a programação isotérmica da temperatura em 250 °C e uma rampa de programação de temperatura inicial de 80 °C (0,1 min), com incremento de temperatura de 200 °C min⁻¹ até 250 °C (7 min), após diminuição da temperatura até 80 °C de 100 °C min⁻¹, permanecendo até o final da corrida cromatográfica;

3.6.3 Tipo de coluna

A separação de pesticidas por GC é, geralmente, efetuada em coluna apolar. Assim, testou-se a separação com coluna capilar apolar DB-5 (5% fenil e 95%

metilpolisiloxano) de 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno (d.i.) e 0,25 µm de espessura de filme, conforme descrito por COGO (2008).

3.6.4 Programação do forno da coluna

Durante a análise cromatográfica a temperatura da coluna é aumentada com o objetivo de diminuir a retenção de substâncias de maior ponto de ebulição, sendo que a programação da temperatura faz que haja uma maior simetria dos picos e uma melhor detectabilidade para aqueles picos com tempo de retenção excessivamente longo sob condições isotérmicas (COLLINS, 2006).

A programação da temperatura no forno da coluna é fator essencial no processo de separação cromatográfica. Testou-se a separação com a seguinte programação da temperatura do forno da coluna: temperatura inicial de 80 °C (0,1 min), com incremento de temperatura de 25 °C min⁻¹ até 215 °C (6 min) e de 5 °C min⁻¹ até 250 °C (26 min) totalizando 40 min de corrida cromatográfica.

3.6.5 Temperatura do detector

Para a otimização da temperatura do detector, foram testadas duas temperaturas diferentes: 300 e 330 °C conforme sugerido pelo manual do equipamento.

3.6.6 Volume de injeção

Em GC, normalmente utiliza-se volumes de injeção de 0,5 a 3 µL. Neste trabalho testaram-se os volumes de 1 e 2 µL de injeção efetuada com amostrador automático.

3.7 Otimização da extração dos pesticidas utilizando o método QuEChERS modificado

Para a otimização do método de extração dos pesticidas de interesse, utilizou-se como referência as modificações sugeridas por PRESTES (2007), que apresentaram uma revisão das informações sobre o método de preparo de amostra denominado QuEChERS, proposto por ANASTASSIADES *et al.* (2003), bem como as modificações do procedimento original descritas na literatura e as aplicações deste método na área de alimentos empregando métodos cromatográficos. Considerando isto, neste estudo trabalhou-se com as condições otimizadas de extração e de análise dos pesticidas em estudo nas matrizes analisadas e de acordo com a matriz e os pesticidas selecionados neste estudo, inicialmente, para o processo de extração pelo método QuEChERS modificado, pesou-se 10 g dos grãos homogêneos em processador e 10 g de água purificada, conforme descrito por Prestes (2007). No caso das cascas, pesou-se 10 g de cascas moídas e 30 g de água purificada.

A seguir misturou-se os grãos, ou as cascas, com a água e homogeneizou-se em *Ultra Turrax* a 3000 rpm por min. Pesou-se 10 g da mistura diretamente em tubos de polipropileno com tampa rosqueada (capacidade de 50 mL). Para os ensaios de precisão e exatidão do método, efetuou-se a fortificação em 3 níveis nas concentrações conforme descrito na Tabela 12 (níveis de fortificações de 1, 2 e 10 vezes o LOQ). Os volumes adicionados a cada nível de fortificação estão demonstrados na Tabela 12.

Adicionou-se, através de pipeta volumétrica, 10 mL de acetonitrila contendo 1% (v/v) de ácido acético em cada tubo, e após fechá-lo efetuou-se a agitação manual e vigorosa por 1 min cronometrado. Em seguida, acrescentou-se 3,0 g de sulfato de magnésio anidro e efetuou-se a agitação por mais 20 s cronometrados. Logo após, adicionou-se 1,7 g de acetato de sódio anidro e agitou-se manualmente por 1 min, assegurando-se a completa interação entre o extrato líquido e os reagentes sólidos.

Em seguida, os tubos foram centrifugados a 3500 rotações por minuto (rpm), durante 10 min. Posteriormente, para a etapa de *clean-up* dispersivo transferiu-se diretamente 4 mL do extrato líquido sobrenadante para outro tubo de extração de polipropileno (capacidade de 15 mL). Adicionou-se 600 mg de sulfato de magnésio anidro e agitou-se por 20 s. Após adicionou-se 500 mg de C₁₈, sendo novamente

agitados vigorosamente manualmente por 1 min, e centrifugados por 15 min a 3500 rpm.

Após, em *vial* de capacidade de 2 mL, foram adicionados 1425 μL do extrato centrifugado e 75 μL do padrão interno lindano na concentração de 1 mg L^{-1} , obtendo-se a concentração de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ do padrão interno. Estas soluções contidas nos *vials* foram analisadas por GC-ECD.

3.8 Validação do método para grãos e casca de arroz

Definidas as melhores condições de extração e separação dos compostos em estudo, a etapa seguinte foi validar o método para análise dos pesticidas em estudo em grãos de arroz.

Considerando a etapa de validação do método analítico, os parâmetros utilizados neste trabalho estão descritos a seguir:

3.8.1 Curva analítica e linearidade

Para a obtenção das curvas analíticas utilizaram-se as soluções analíticas preparadas conforme item 3.4. As diluições foram preparadas no solvente acetonitrila e na matriz de cada tipo de amostras, nas concentrações 0,001; 0,0025; 0,005; 0,0075; 0,01; 0,025; 0,05; 0,075; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 e 1 mg L^{-1} . Cada uma destas diluições foi injetada 6 vezes no cromatógrafo, e entre o conjunto de injeções das soluções foi injetado acetonitrila. Para a validação do método utilizou-se a curva analítica preparada nas respectivas matrizes em estudo.

As curvas analíticas foram obtidas colocando-se os valores das concentrações das soluções analíticas no eixo das abcissas (x) e os valores das áreas no eixo das ordenadas (y), com o auxílio do programa *Microsoft Office® Excel* 2003, o qual forneceu o coeficiente de determinação (r^2), o coeficiente angular (a) e o coeficiente linear (b) da equação da reta.

3.8.2 Limite de detecção e limite de quantificação

Nesse estudo, os valores de LOD e o LOQ foram estabelecidos com base na Figura 2, onde o LOD corresponde a 3 vezes o ruído da linha de base ($\text{LOD} = 3 \text{ S/R}$) e o LOQ corresponde à concentração que produz uma relação sinal-ruído igual a 10 ($\text{LOQ} = 10 \text{ S/R}$). Para a medida do sinal foi utilizada a altura do pico cromatográfico, sendo medida a partir da média da oscilação do ruído.

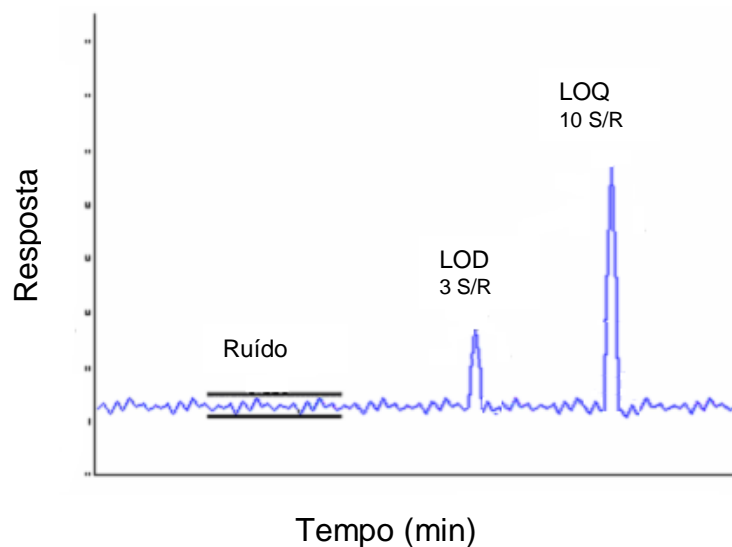


Figura 2. Representação gráfica do estabelecimento dos valores de LOD e LOQ (adaptado de MISTURA, 2003)

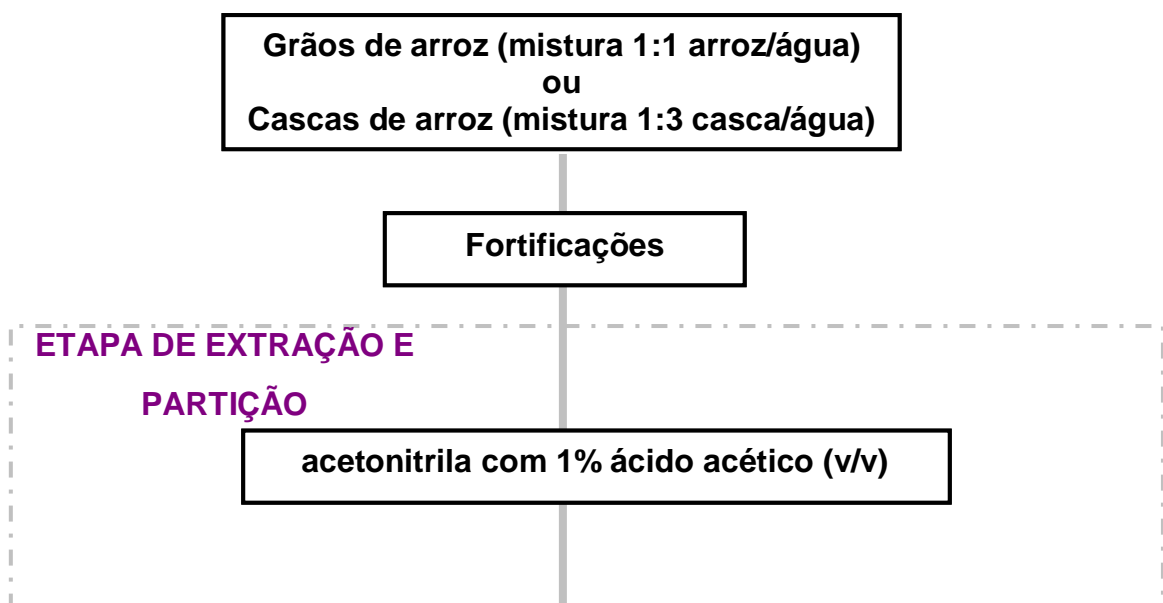
3.8.3 Exatidão (recuperação)

Para avaliar a exatidão do método empregaram-se ensaios de fortificação das amostras livres de contaminantes, avaliando-se assim os valores de recuperação dos pesticidas em estudo.

Os ensaios de fortificação das amostras “branco” foram realizados em triplicata, para cada um dos níveis de fortificação (1, 2 e 10 vezes o LOQ do

método), sendo que cada nível foi extraído 3 vezes e injetado 2 vezes cada um (3 extrações x 2 injeções).

A Figura 3 ilustra esquema do método empregado no presente estudo para os ensaios de fortificação dos grãos e cascas de arroz.



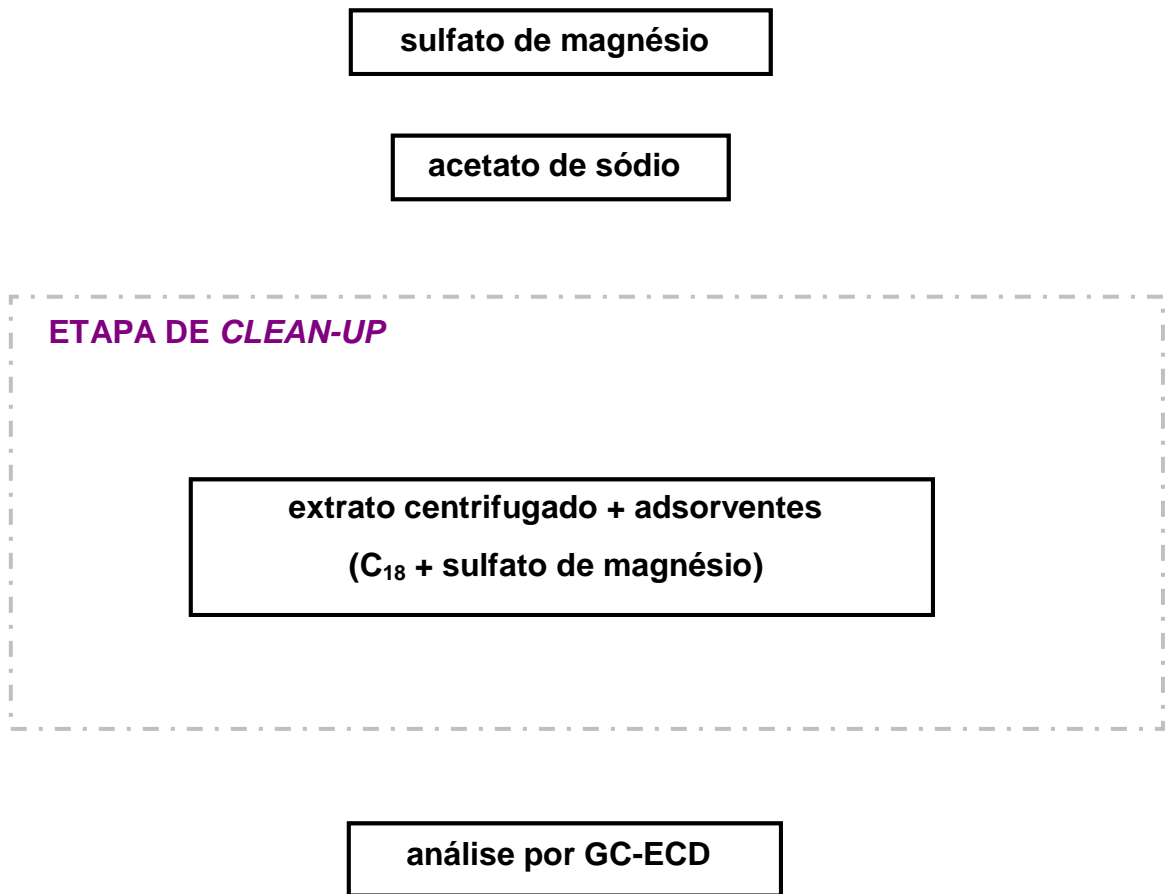


Figura 3. Representação esquemática do método de análise de resíduos de pesticidas em grãos e casca de arroz

Neste trabalho, para o estudo da exatidão do método, foram utilizados os ensaios de fortificação, avaliando-se assim, os valores de recuperação dos compostos em estudo. A exatidão foi calculada através da Equação 3 e está expressa em percentagem (INMETRO, 2009):

$$R (\%) = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

3

C₃

onde:

C₁ = concentração determinada na amostra fortificada

C_2 = concentração determinada na amostra não fortificada

C_3 = concentração teórica na amostra fortificada

3.8.4 Precisão (repetitividade e precisão intermediária)

A expressão da precisão, em métodos de análise de traços ou impurezas, é dada através da estimativa do desvio padrão relativo (RSD), sendo aceitos RSD de até 20%, dependendo da complexidade das amostras (RIBANI *et al.*, 2004).

A precisão do instrumento foi avaliada através do RSD obtido nas 6 (seis) injeções da curva analítica no sistema GC-ECD. A precisão do método foi avaliada em termos de repetitividade, procedendo as extrações e análises das amostras fortificadas. Cada nível de fortificação foi extraído em triplicata e cada extrato injetado 2 vezes.

A precisão intermediária do método foi avaliada em diferentes dias de extração e análise das amostras fortificadas.

Efetuuou-se a fortificação, extração e análise das amostras fortificadas em 3 níveis diferentes de concentração, resultando em $n = 6$ (3 extrações e 2 injeções de cada extrato) para cada nível de fortificação.

3.9 Aplicação do método

O método validado foi aplicado para a determinação dos resíduos de pesticidas selecionados neste estudo, em amostras de grão de arroz polido e integral na forma de grão cru e cozido, e grão parboilizado cru, bem como nas suas respectivas cascas. O experimento de campo foi conduzido na Safra 2008-2009, na área de várzea do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (Santa Maria - RS).

A Tabela 6 descreve os pesticidas utilizados neste estudo bem como a regulamentação de cada produto na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), descrevendo a modalidade de aplicação dos produtos e os intervalos de segurança.

O experimento foi conduzido com a aplicação de 4 (quatro) fungicidas e 6 (seis) inseticidas, os quais são mais frequentemente utilizados na cultura de arroz irrigado, conforme Tabelas 7 e 8. Os nomes dos tratamentos foram definidos conforme uma melhor identificação dos experimentos a campo, sendo que todos os tratamentos são denominados de “T” seguido de um número que indica a referência do canteiro em estudo. Vale ressaltar que existem canteiros em que foram aplicados os mesmos pesticidas em diferentes tratamentos para uma melhor reprodutibilidade dos resultados a campo.

Tabela 6. Pesticidas aplicados na lavoura experimental de arroz irrigado, realizado na Safra 2008-2009

Produto aplicado*	Ingrediente ativo	Modalidade de aplicação	Intervalo de segurança (dias)
Stratego 250EC	Trifloxistrobina + Propiconazole	Foliar	45
Nativo	Trifloxistrobina + Tebuconazole	Foliar	35
Priori Extra	Azoxistrobina + Ciproconazole	Foliar	30
Priori + Score	Azoxistrobina + Difenconazole	Foliar	30
Engeo Pleno	Cipermetrina + Tiametoxam	Foliar	78
Karate Zeon50CS	Lambda-Cialotrina	Foliar	30
Talcord 250EC	Permetrina	Foliar	20
Talstar	Bifentrina	Foliar	30

Folisuper 600BR	Parationa-Metílica	Foliar	**
Nor-Trin 250CE	Cipermetrina	Foliar	10

*Os agrotóxicos empregados neste trabalho foram aplicados na parte aérea das plantas.

** Não determinado

FONTE: AGROFIT, 2010

Vale ressaltar que o método proposto neste estudo foi validado para todos os pesticidas citados na Tabela 5, porém o pesticida epoxiconazole não foi aplicado no experimento a campo na Safra 2008 - 2009.

Os fungicidas e inseticidas foram aplicados no estágio R0 (início da diferenciação da panícula) de desenvolvimento da cultura segundo escala de COUNCE *et al.* (2000), sendo que os fungicidas foram aplicados nos estágios R2 (final do emborrachamento) + R4 (florescimento pleno) e os inseticidas foram aplicados no estágio R3 (emergência da panícula).

A aplicação dos produtos foi efetuada com um pulverizador costal pressurizado a CO₂ com pontas leque 11002, aplicado à vazão recomendada para cada produto; segundo as recomendações do Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAPA, 2008). Em cada parcela isolada foi realizada a aplicação de apenas um produto comercial dos pesticidas na dose recomendada, a fim de facilitar a determinação da concentração residual dos pesticidas em estudo, sem qualquer tipo de interação entre eles.

3.9.1 Características dos produtos comerciais aplicados no experimento a campo

Os fungicidas e inseticidas aplicados e determinados estão descritos nas Tabelas 7 e 8, bem como as respectivas composições e doses aplicadas nos diferentes tipos de experimento a campo (tratamentos) de cada pesticida estudado neste trabalho (AGROFIT, 2010).

Tabela 7. Fungicidas aplicados no experimento a campo

Tratamento*	Fungicidas	Ingrediente ativo	Grupo químico	Dose total aplicada (mL ha ⁻¹)
T1	Stratego 250EC	Trifloxistrobina (12,5%) + Propiconazole (12,5%)	Estrobilurina + Triazol	750
T2	Nativo	Trifloxistrobina (10%) + Tebuconazole (20%)	Triazol + Estrobirulina	750
T3	Priori Extra	Azoxistrobina (20%) + Ciproconazole (8%)	Estrobirulina + Triazol	400
T5	Priori + Score	Azoxistrobina (25%) + Difenconazole (25%)	Estrubirulina + Triazol	400 + 300
T7	Stratego 250EC	Trifloxistrobina (12,5%) + Propiconazole (12,5%)	Estrobilurina + Triazol	1200
T8	Nativo	Trifloxistrobina (10%) + Tebuconazole (20%)	Triazol + Estrobirulina	1200
T9	Priori Extra	Azoxistrobina (20%) + Ciproconazole (8%)	Estrobirulina + Triazol	800
T11	Priori + Score	Azoxistrobina (25%) + Difenconazole (25%)	Estrubirulina + Triazol	800 + 600

*A denominação dos tratamentos foi realizada visando melhor identificação dos experimentos conduzidos a campo

Tabela 8. Inseticidas aplicados no experimento a campo

Tratamento*	Inseticidas	Ingrediente ativo	Grupo químico	Dose total aplicada (mL ha ⁻¹)
T14	Engeo Pleno	Cialotrina (10,6%) + Tiametoxam (14,1%)	Piretróide + Neonicotinóide	200
T15	Karate Zeon 50CS	Lambda-Cialotrina (25%)	Piretróide	200
T16	Talcord 250E	Permetrina (25%)	Piretróide	80
T17	Talstar	Bifentrina (10%)	Piretróide	150
T19	Folisuper 600BR	Parationa-Metílica (60%)	Organofosforado	1000
T20	Nor-Trin 250CE	Cipermetrina (25%)	Piretroide	100
T23	Talcord 250EC	Permetrina (25%)	Piretróide	80
T24	Talcord 250EC	Permetrina (25%)	Piretróide	80
T25	Talcord 250EC	Permetrina (25%)	Piretróide	80
T26	Talcord 250EC	Permetrina (25%)	Piretróide	80
T28	Talcord 250EC	Permetrina (25%)	Piretróide	80
T29	Engeo Pleno	Cialotrina (10,6%) + Tiametoxam (14,1%)	Piretróide + Neonicotinóide	200
T30	Nor-Trin 250CE	Cipermetrina (25%)	Piretroide	100
T31	Talstar	Bifentrina (10%)	Piretróide	150
T32	Folisuper 600BR	Parationa-Metílica (60%)	Organofosforado	1000
T33	Talcord 250EC	Permetrina (25%)	Piretróide	80
T34	Talstar	Bifentrina (10%)	Piretróide	150

*A denominação dos tratamentos foi realizada visando melhor identificação dos experimentos conduzidos a campo

3.9.2 Dados do experimento a campo

A área experimental em estudo foi dividida em parcelas, sendo que a semeadura do arroz foi realizada no dia 23 de novembro de 2008, em parcelas individuais, isoladas com taipas de entrada e saída de água de irrigação independente, para não acontecer contaminação dos produtos a serem analisados.

A cultivar utilizada foi IRGA 417, na densidade de 100 kg ha^{-1} . Cada parcela possuía 11 linhas espaçadas em 0,17 m, com 7 m de comprimento. A adubação de base foi efetuada conforme indicado pela análise de solo e recomendado pela Sociedade Sul Brasileira de Arroz Irrigado (SOSBAI, 2007). O nitrogênio aplicado foi na forma de uréia e dividido em três épocas, a primeira (15 kg ha^{-1}) por ocasião da semeadura, a segunda aplicação (70 kg ha^{-1}) no início do perfilhamento e a terceira (30 kg ha^{-1}) na diferenciação do primórdio floral. O controle das plantas daninhas foi realizado com a aplicação do herbicida bispiribaque-sódico na dose 125 mL de ingrediente ativo por ha^{-1} do produto comercial Nominee®, quando as plantas daninhas apresentaram 2 a 3 folhas.

A irrigação definitiva foi efetuada um dia após a aplicação do herbicida para o controle da plantas daninhas, permanecendo com lâmina d'água de aproximadamente 5 cm de altura. Conforme o desenvolvimento da cultura, a mesma foi aumentada e estabilizada quando alcançou 10 cm de altura, permanecendo constante durante todo o ciclo da cultura.

Os fungicidas em estudo foram aplicados no dia 28 de fevereiro e no dia 14 de março de 2009. Os inseticidas foram aplicados dia 5 de março de 2009. Nas últimas safras a incidência de pragas próximo a colheita do grão vem aumentando, em conseqüência disto os produtores precisam aplicar inseticidas em momentos mais próximos a colheita. Considerando este fato alguns tratamentos dos pesticidas em estudo foram repetidos na mesma dose para confirmação dos resultados obtidos. A colheita dos grãos foi realizada aproximadamente 40 dias após a aplicação dos pesticidas.

Para cada parcela individual foi realizada a análise dos resíduos dos pesticidas em amostras de grão do arroz coletadas em cada parcela no dia da colheita. Os grãos de arroz foram acondicionados separadamente em frascos de polipropileno e

armazenados a temperatura de $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ no Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP) do Departamento de Química da UFSM, para posterior realização das análises.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Resultados da otimização das condições cromatográficas

As condições cromatográficas utilizadas neste estudo foram estabelecidas de acordo com estudos desenvolvidos por PRESTES (2007) para a determinação de resíduos de pesticidas em grão de arroz.

Para a otimização das condições cromatográficas utilizadas na separação dos pesticidas selecionados, foram preparadas soluções analíticas contendo uma mistura dos princípios ativos dos pesticidas em estudo, observando-se o tempo de retenção e o perfil de separação destes compostos. As condições cromatográficas otimizadas foram:

- 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 250 °C (7 min), após diminuição da temperatura até 80 °C de 100 °C min⁻¹, permanecendo até o final da corrida cromatográfica;
- Injeção *splitless* com programação da válvula do injetor PTV: inicialmente válvula do *split* aberta na razão 1/20, após 0,01 min válvula do *split* fechada, e após 2,0 min válvula do *split* aberta na razão 1/20;
- Volume de injeção: 2 µL;
- Programação da temperatura do forno da coluna: temperatura inicial de 80 °C (0,1 min), com incremento de temperatura de 25 °C min⁻¹ até 215 °C (6 min) e de 5 °C min⁻¹ até 250 °C (26 min) totalizando 40 min de corrida cromatográfica.
- Gás de arraste: Hélio na vazão não constante de 1,3 mL min⁻¹;
- Programação da pressão do gás de arraste: pressão inicial de 16,4 psi mantida por 1,0 min, após incremento de pressão de 0,20 psi min⁻¹ até 21 psi;
- Gás *make-up*: Nitrogênio ultra-puro na vazão de 30 mL min⁻¹;
- Coluna capilar: apolar DB-5 (5% fenil e 95% metilpolisiloxano) de 30 m de comprimento, 0,25 mm de d.i. e 0,25 µm de espessura de filme;
- Temperatura do detector: 330 °C.

A programação da temperatura do injetor, onde a injeção é efetuada em uma temperatura baixa e ocorre uma elevação rápida permitindo que os compostos sejam

evaporados sem ser expostos a altas temperaturas, minimizando a possibilidade de ocorrência de perdas no momento da injeção. A Figura 4 apresenta cromatogramas da injeção da mistura dos pesticidas em estudo na concentração $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ com a programação de temperatura no injetor descrita neste item e de maneira isotérmica em $250 \text{ }^\circ\text{C}$.

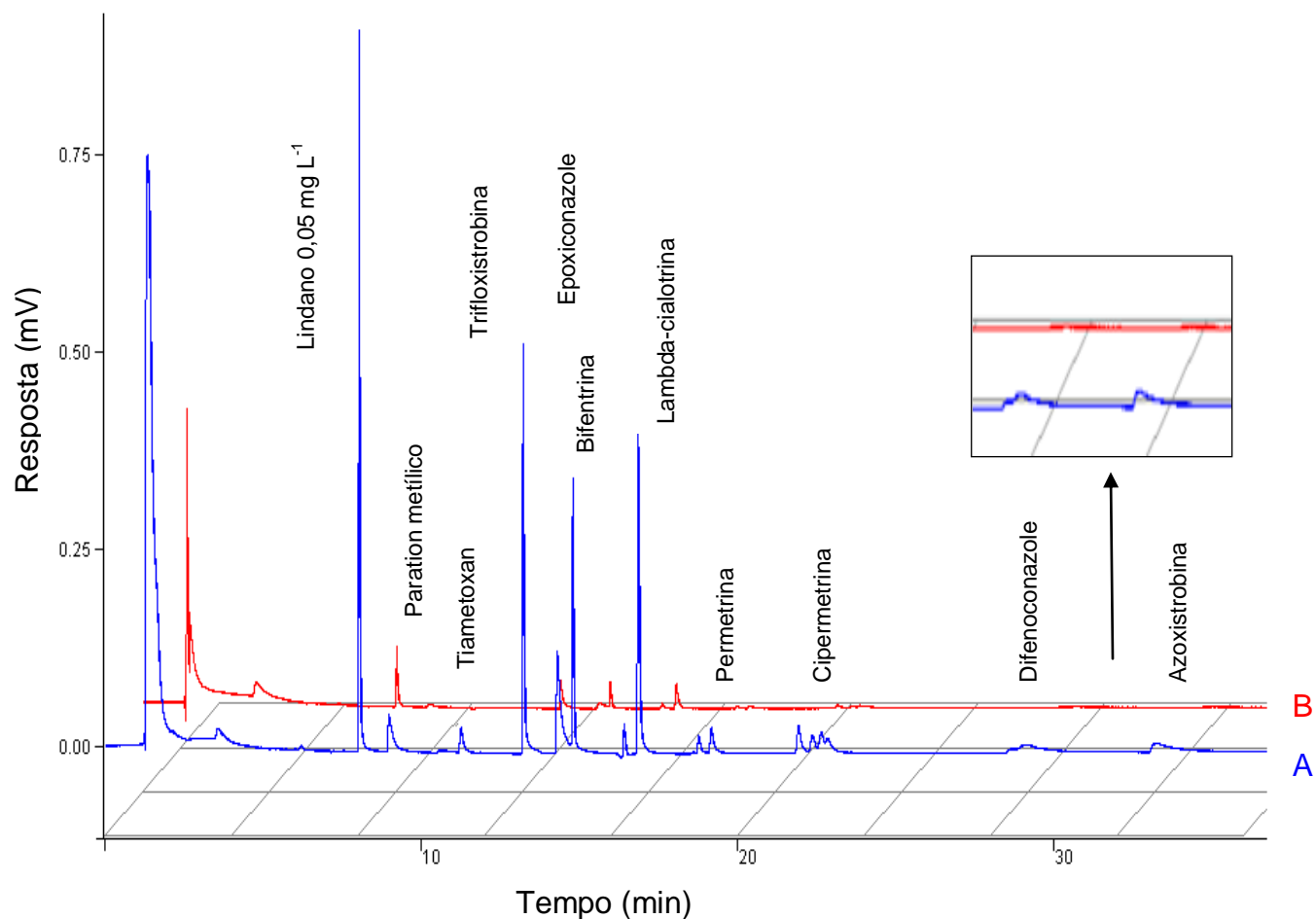


Figura 4. Cromatogramas com rampa de temperatura no injetor (A) e com temperatura isotérmica em $250 \text{ }^\circ\text{C}$ (B) nas condições cromatográficas descritas neste item

Pode-se observar que a programação de temperatura no injetor aumenta consideravelmente a intensidade dos sinais cromatográficos. Neste estudo considerou-se que os sinais dos pesticidas permetrina, cipermetrina e difenoconazole correspondem à soma das áreas de seus respectivos picos cromatográficos.

Vale ressaltar também que o sistema de injeção deve ser aquecido em uma temperatura suficiente para que ocorra a vaporização total da amostra, porém evitando a decomposição dos compostos analisados.

A temperatura do detector também auxilia na detectabilidade dos compostos. A Figura 5 abaixo destaca a resposta nas temperaturas de 300 e 330 °C do detector.

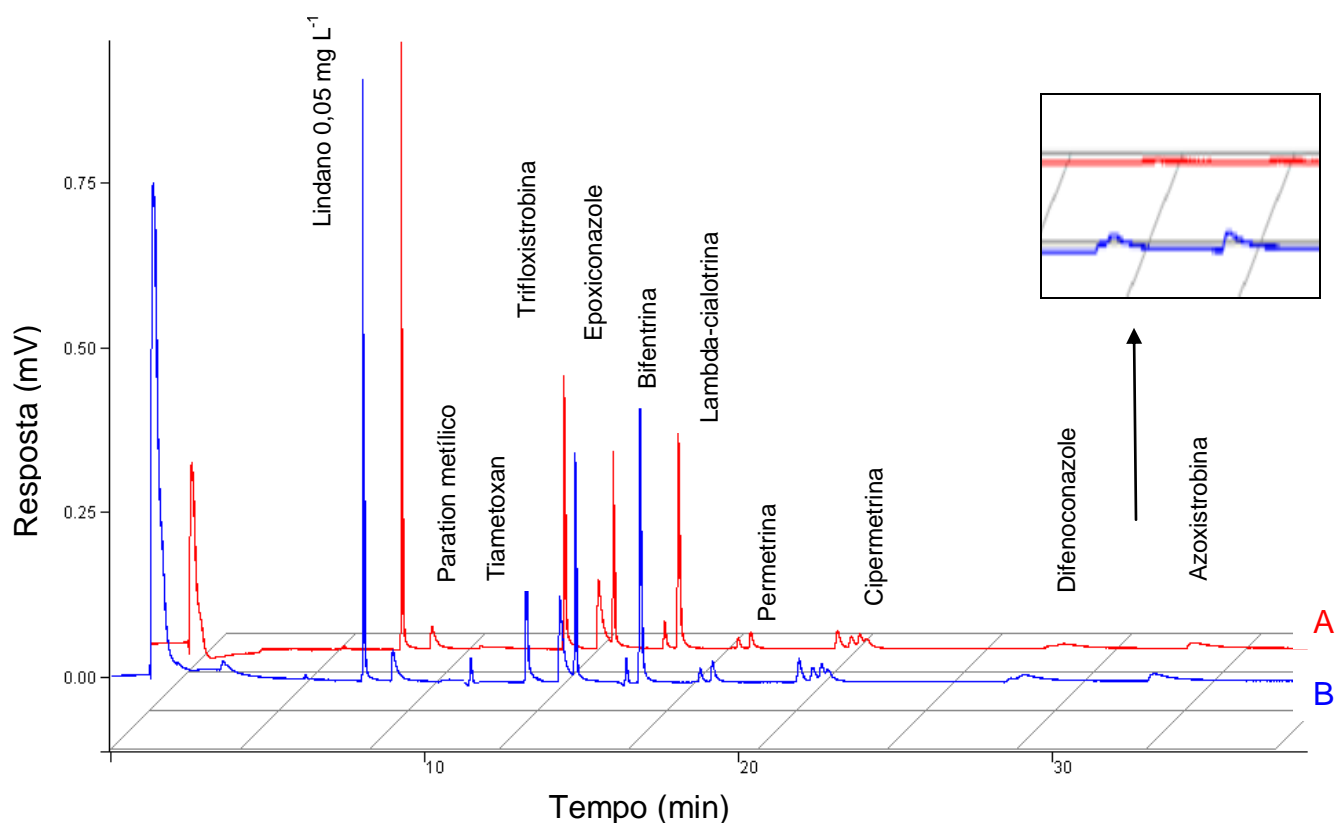


Figura 5. Cromatogramas de uma mistura dos pesticidas na concentração 0,25 mg L⁻¹ utilizando as temperaturas 300 °C (A) e 330 °C (B) no detector nas condições cromatográficas descritas neste item

Utilizou-se neste trabalho a temperatura do detector de 330 °C, porque esta permitiu melhor resposta do detector frente aos analitos em estudo, embora na temperatura de 300 °C, a resposta do detector seja adequada.

A injeção da amostra deve ser feita de maneira rápida e constante de forma que se obtenha um único pico e estreito, já que falhas na técnica de injeção podem causar assimetria dos picos. A quantidade de amostra injetada não deve ultrapassar a capacidade da coluna, relacionada com a quantidade de fase estacionária. A eficiência de uma coluna é influenciada pela quantidade de amostra injetada: uma diminuição no volume injetado provoca um aumento da eficiência da coluna (COLLINS *et al.*, 2006).

A Figura 6 ilustra cromatogramas da injeção de 1 (A) e 2 (B) μL da mistura 0,25 mg L^{-1} dos pesticidas em estudo.

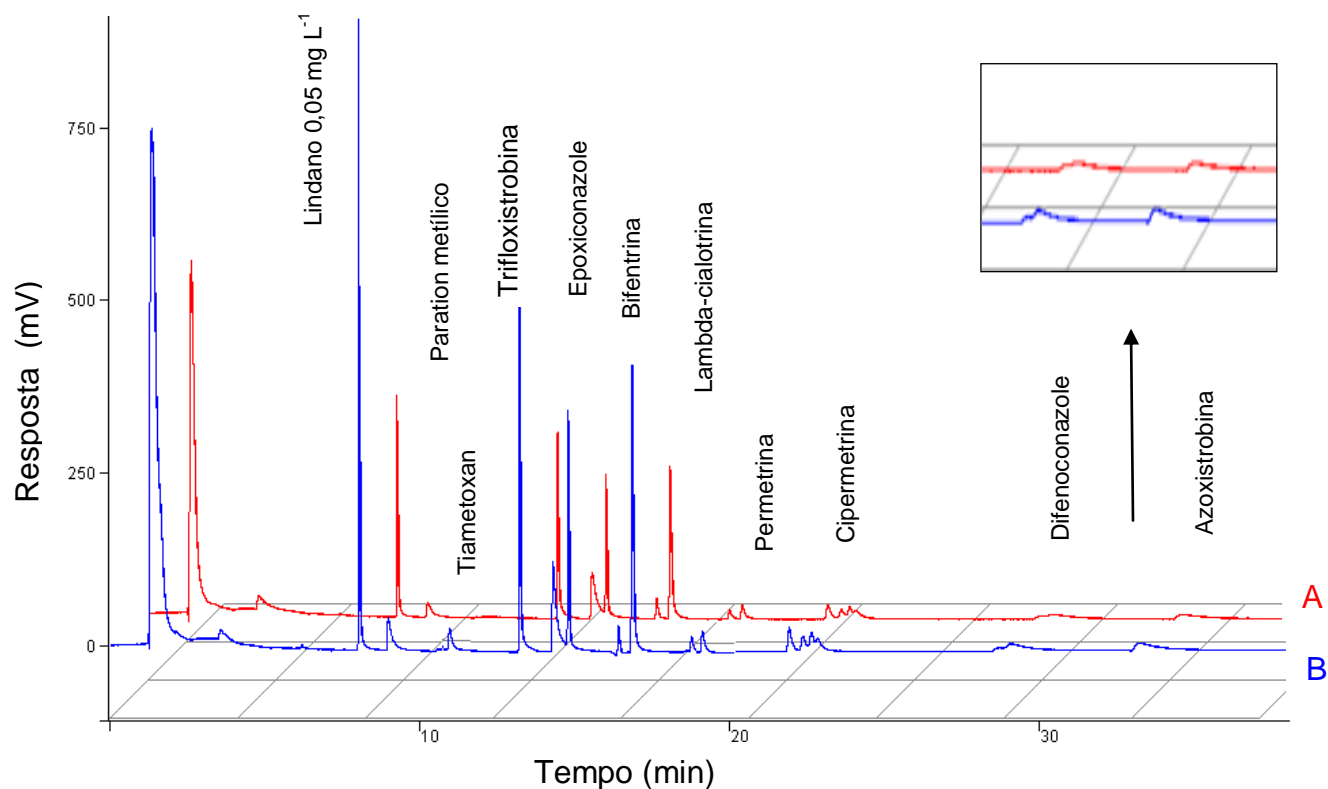


Figura 6. Cromatograma da injeção de 1 μL (A) e 2 μL (B) da mistura 0,25 mg L^{-1} dos pesticidas nas condições cromatográficas descritas neste item

A injeção de 2 μL da mistura dos pesticidas em estudo proporcionou um aumento da resposta e sinais melhor definidos, principalmente para os compostos difenoconazole, tiametoxam e azoxistrobina, o que possibilita a quantificação dos analitos.

A Figura 7 apresenta o cromatograma obtido de uma solução analítica preparada em acetonitrila contendo os pesticidas em estudo empregando as condições cromatográficas otimizadas neste trabalho.

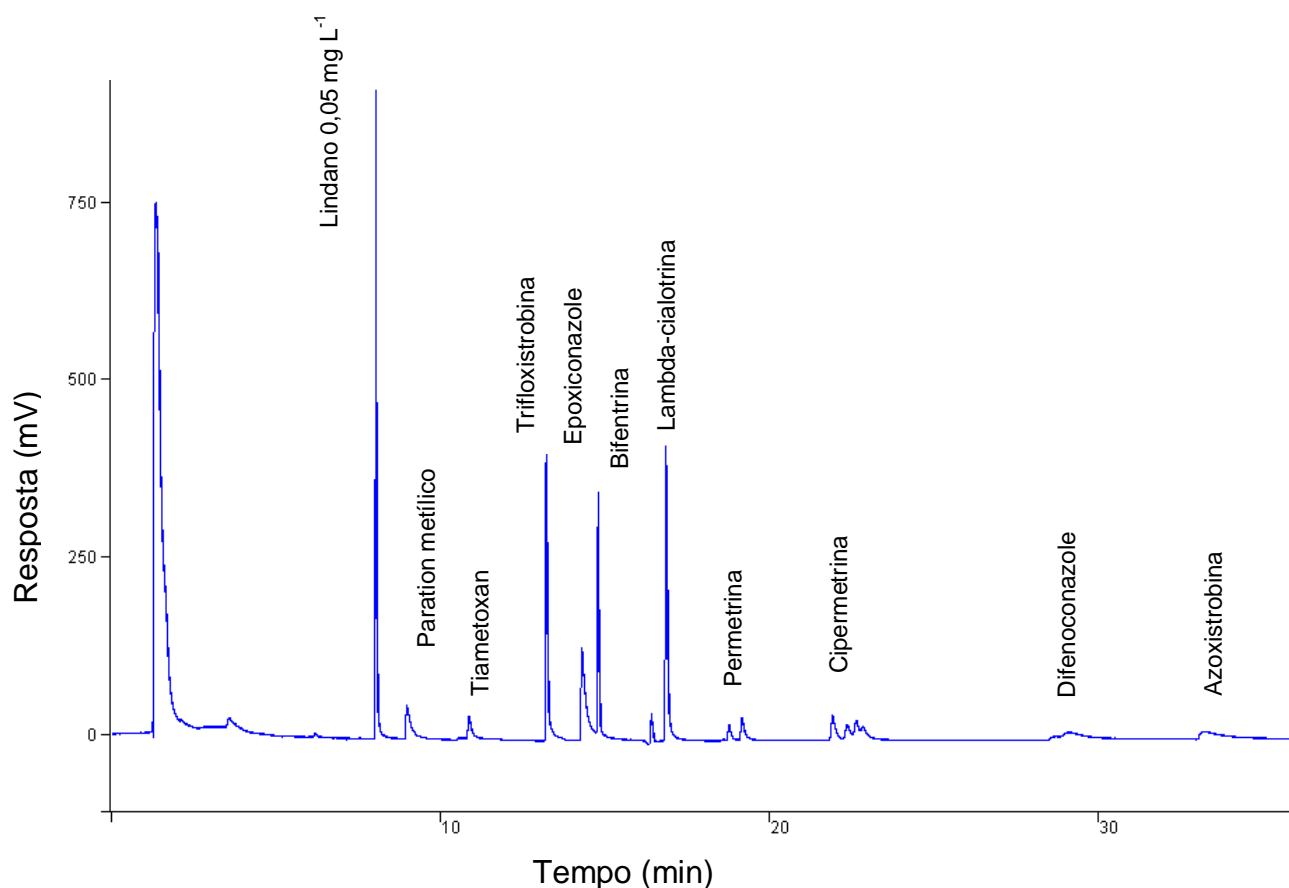


Figura 7. Cromatograma obtido para uma solução analítica de concentração 0,25 mg L⁻¹ em acetonitrila nas condições cromatográficas descritas neste item

A Tabela 9 destaca os pesticidas analisados, bem como o respectivo tempo de retenção (t_R) e fórmula molecular.

Tabela 9. Pesticidas analisados com seus respectivos t_R e fórmulas moleculares

Pesticidas	Fórmulas moleculares	t_R (minutos)
Lindano	$C_6H_6Cl_6$	8,0
Paration-metílico	$C_8H_{10}NO_5PS$	8,9
Tiametoxan	$C_8H_{10}ClN_5O_3S$	10,7
Trifloxistrobina	$C_{20}H_{19}F_3N_2O_4$	13,2
Epoxiconazole	$C_{17}H_{13}ClFN_3O$	13,9
Bifentrina	$C_{23}H_{22}ClF_3O_2$	14,7
Cialotrina-lambda	$C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$	16,8
Permetrina	$C_{21}H_{20}Cl_2O_3$	19,1
Cipermetrina	$C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$	21,9
Difenoconazole	$C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$	29,6
Azoxistrobina	$C_{22}H_{17}N_3O_5$	33,2

4.2 Método QuEChERS utilizado para a extração dos pesticidas selecionados neste estudo

A Figura 8 representa um esquema do método QuEChERS otimizado aplicado para a extração, *clean-up* e quantificação dos pesticidas de interesse em amostras de grão e casca de arroz.

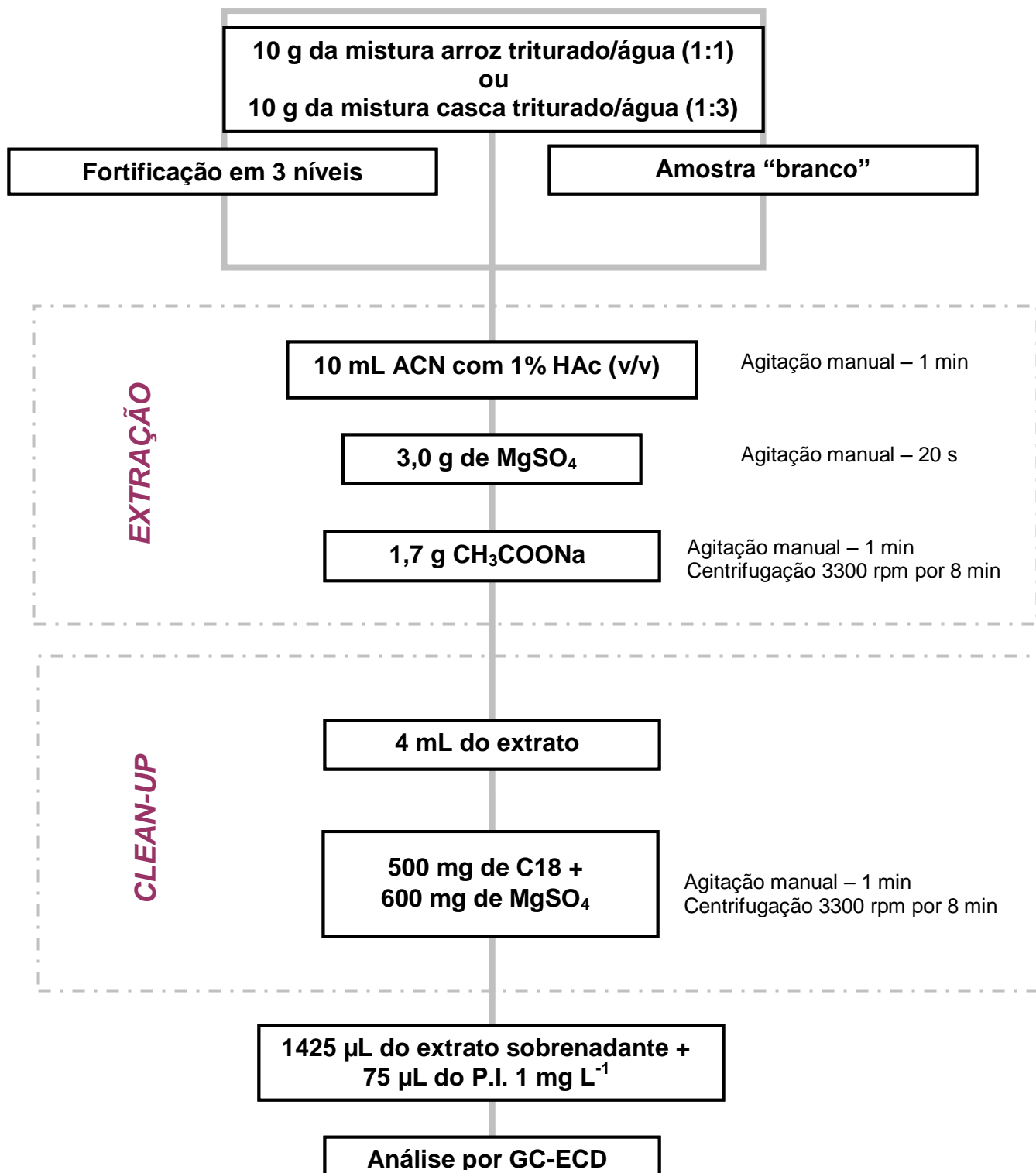


Figura 8. Representação esquemática do método de análise de resíduos de pesticidas em grãos e casca de arroz, utilizando o método QuEChERS com acetonitrila

4.3 Seleção do padrão interno

O padrão interno selecionado foi o lindano, que não coelue com os compostos em estudos e não é permitido para o uso agrícola. A Figura 7 e a Tabela 9, ilustrados no item 4.1, demonstram que o padrão interno escolhido (lindano) tem tempo de retenção diferente dos demais pesticidas em estudo, visto que é um pesticida não utilizado nas culturas arrozeiras. Escolheu-se a concentração de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ para obter-se respostas com sinal adequado.

4.4 Validação do método analítico

Considerando que a validação é a ferramenta pré-análise que se configura como o alvo de um sistema de análise química com a confiabilidade desejada pelos padrões internacionais atuais, é importante ressaltar que a validação de métodos analíticos deve ser planejada antes de seu desenvolvimento e execução, e que a estratégia de validação é especificada e influenciada pelo procedimento analítico utilizado, pela natureza e concentração do composto de interesse e pela matriz (RIBANI *et al.* 2004).

A Figura 9 ilustra cromatogramas de amostras livre de contaminantes extraídas e analisadas conforme as condições otimizadas, descritas anteriormente.

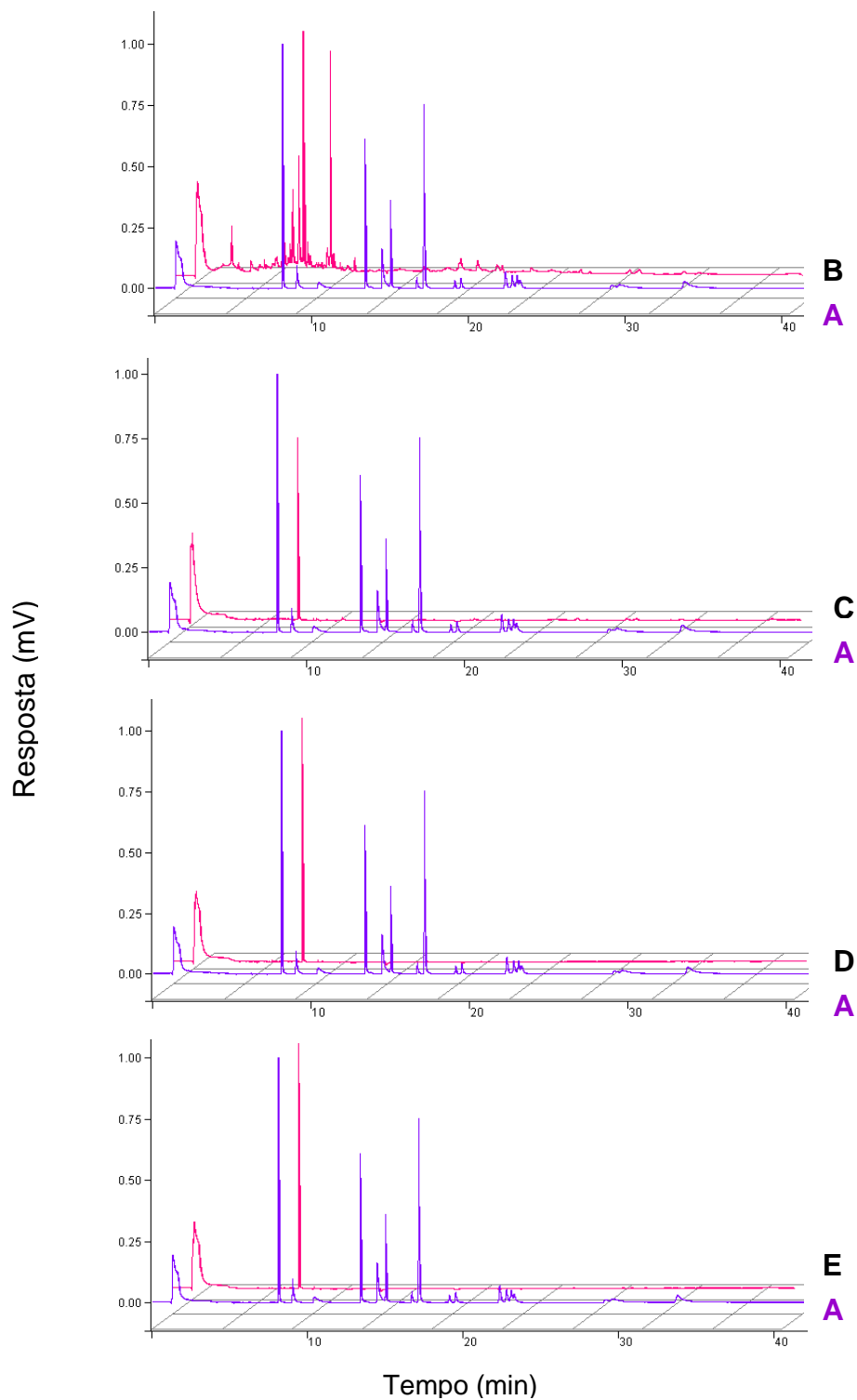


Figura 9. Cromatogramas da mistura dos pesticidas de interesse na concentração (A) $0,25 \text{ mg L}^{-1}$, e das matrizes (B) casca, (C) grão integral, (D) grão parboilizado e (E) grão polido, livres dos contaminantes, nas condições cromatográficas descritas neste item

4.4.1 Curva analítica e linearidade

A Tabela 10 apresenta os parâmetros relativos às curvas analíticas preparadas no extrato das respectivas matrizes, bem como o intervalo linear de trabalho para cada composto em estudo.

Tabela 10. Parâmetros relativos às curvas analíticas obtidos para os pesticidas no solvente acetonitrila e analisadas por GC-ECD

Pesticida	Equação da reta ($y = ax + b$)	r^2	Intervalo linear (mg L^{-1})
Azoxistrobina	$y = 1,9828x - 0,0011$	0,9997	0,025 a 1,0
Bifentrina	$y = 2,5083x + 0,0103$	0,9991	0,0025 a 0,25
Cialotrina-lambda	$y = 6,0522x - 0,0223$	0,9952	0,0025 a 0,25
Cipermetrina	$y = 3,8896x - 0,0125$	0,9979	0,0125 a 1,0
Difenoconazole	$y = 1,8308x - 0,0174$	0,9994	0,025 a 1,0
Epoxiconazole	$y = 3,5301x - 0,0397$	0,9939	0,0125 a 0,5
Paration-metílico	$y = 1,5865x - 0,0293$	0,9922	0,0125 a 0,5
Permetrina	$y = 0,8823x + 0,0059$	0,9993	0,0125 a 1,0
Tiametoxan	$y = 1,4927x - 0,026$	0,9921	0,0125 a 1,0
Trifloxistrobina	$y = 3,3936x - 0,0042$	0,9991	0,0025 a 0,25

Conforme os resultados, apresentados na Tabela 10, obtidos para as equações das curvas analíticas, pode-se concluir que o modelo de regressão linear é bastante adequado já que o valor de r^2 foi maior que 0,992 para todos os compostos em estudo, o que é satisfatório segundo a literatura (INMETRO, 2010).

4.4.2 Determinação dos valores de LOD e LOQ do instrumento e do método

A Tabela 11 define os valores de LOD e LOQ do instrumento e do método. Vale ressaltar que os valores apresentados para este fim foram obtidos a partir de soluções analíticas preparadas no solvente acetonitrila e confirmados nos respectivos extratos das matrizes.

Tabela 11. Valores de LOD e LOQ do instrumento e do método

Pesticida	Limites do instrumento mg L ⁻¹		Limites do método mg kg ⁻¹ (arroz)		Limites do método mg kg ⁻¹ (casca)	
	LODi	LOQi	LODm	LOQm	LODm	LOQm
Azoxistrobina	0,01	0,025	0,02	0,05	0,04	0,1
Bifentrina	0,001	0,0025	0,002	0,005	0,004	0,01
Cialotrina-lambda	0,001	0,0025	0,002	0,005	0,004	0,01
Cipermetrina	0,005	0,0125	0,01	0,025	0,02	0,05
Difenoconazole	0,01	0,025	0,02	0,05	0,04	0,1
Epoxiconazole	0,005	0,0125	0,01	0,025	0,02	0,05
Paration-metílico	0,005	0,0125	0,01	0,025	0,02	0,05
Permetrina	0,005	0,0125	0,01	0,025	0,02	0,05
Tiametoxan	0,005	0,0125	0,01	0,025	0,02	0,05
Trifloxistrobina	0,001	0,0025	0,002	0,005	0,004	0,01

Os valores de LOD e LOQ dos pesticidas em estudo comprovaram que o equipamento GC-ECD utilizado é sensível para a determinação destes compostos. Os pesticidas azoxistrobina, difenoconazole apresentaram valores de LOD mais altos. A explicação para isso está relacionada à estrutura química dos pesticidas e ao detector ECD em uso, pois este é especialmente sensível a moléculas que contém halogênios,

carbonilas conjugadas e nitrocompostos (COLLINS *et al.*, 2006). Os pesticidas bifentrina, cialotrina-lambda e trifloxistrobina foram os compostos que apresentaram menores valores de LOD, pelo fato destes apresentarem halogênio em sua estrutura química. Vale ressaltar que as matrizes analisadas são consideradas complexas, o que reforça a necessidade de se obter boas respostas para os compostos de interesse.

4.4.3 Exatidão e Precisão (repetitividade e precisão intermediária) do método

A Tabela 13 apresenta os valores de exatidão, representados pelos percentuais de recuperação, e de repetitividade do método em estudo, considerando os níveis de concentração utilizados na etapa de fortificação. Para os ensaios de fortificação baseou-se nos dados da Tabela 12 que descreve os dados dos ensaios de fortificação utilizando o método QuEChERS modificado utilizado neste estudo.

Tabela 12. Ensaios de fortificação utilizando o método QuEChERS modificado

Pesticida	Nível de fortificação (mg kg ⁻¹)*	Concentração da solução fortificada (mg L ⁻¹)	Volume adicionado da solução (µL)	Quantidade de amostra (g)*	Volume de solvente (mL)	Fator de diluição**
Bifentrina	0,005	0,1	250			
Lambda-cialotrina	0,01	0,1	500			
Trifloxistrobina	0,05	10	250			
Cipermetrina						
Epoxiconazole	0,025	0,5	250			
Paration-metílico	0,05	0,5	500	10	10	2 (grão)
Permetrina	0,25	5	250			3 (casca)
Tiametoxan						
Azoxistrobina	0,05	1	250			
Difenoconazole	0,1	1	500			
	0,5	10	250			

*correspondente a mistura de 5 g de amostra de grão com 5 g de água e 5 g de amostra de casca com 15 g de água

**Fator = volume do solvente / quantidade de amostra

Tabela 13. Valores dos percentuais de recuperação e RSD para a repetitividade do método

Pesticida	Nível de fortificação (mg kg ⁻¹)	Recuperações / RSD (%)*					
		Grão Polido		Grão integral		Casca	Grão Parboilizado Polido
		Crú	Cozido	Crú	Cozido		Crú
Azoxistrobina	0,05	107,3 / 8,4	120,0 / 11,7	97,2 / 12,1	94,9 / 13,3	120,4 / 1,2	115,1 / 4,3
	0,1	97,0 / 7,3	113,3 / 17,1	91,3 / 2,9	120,0 / 1,3	114,7 / 6,2	96,1 / 9,2
	0,5	83,1 / 0,4	101,6 / 14,1	114,1 / 13,3	109,3 / 11,9	80,3 / 3,2	109,4 / 11,1
Bifentrina	0,005	95,7 / 18,0	92,6 / 0,1	108,3 / 10,8	109,0 / 3,7	84,9 / 4,7	92,6 / 0,2
	0,01	128,3 / 11,4	119,9 / 7,0	105,5 / 17,8	111,9 / 2,1	106,5 / 10,6	107,1 / 12,3
	0,05	120,0 / 2,0	87,9 / 7,3	74,1 / 8,6	81,3 / 10,8	80,3 / 2,3	92,2 / 16,4
Cipermetrina	0,025	120 / 2,8	112,8 / 13,9	109,7 / 15,8	105,5 / 16,3	89,2 / 18,7	100,4 / 20
	0,05	112,9 / 0,8	109,9 / 6,3	111,5 / 13,5	113,4 / 2,0	109,1 / 14,2	115,6 / 18,4
	0,25	82,7 / 8,0	86,9 / 13,8	115,3 / 2,8	80,0 / 1,0	80,1 / 3,4	119,2 / 6,5
Difenoconazole	0,05	102,2 / 12,9	89,6 / 2,8	116 / 2,6	104,3 / 5,2	111,8 / 8,1	92,5 / 7,1
	0,1	85,9 / 3,5	107,4 / 9,8	81,2 / 0,8	109,6 / 7,9	95,4 / 8,3	102,3 / 19,6
	0,5	82,7 / 2,9	107,4 / 10,9	116,8 / 16,1	116,9 / 6,2	95,8 / 4,3	84,2 / 12,9
Epoxiconazole	0,025	83,9 / 15,5	113,7 / 19	121,4 / 3,9	94,6 / 11,6	100,2 / 14,9	81,7 / 9,9
	0,05	100,8 / 1,1	114,4 / 18,6	115 / 9,2	119,9 / 7,0	119,0 / 8,7	85,4 / 17,9
	0,25	83,5 / 4,4	87,9 / 7,3	101,7 / 13,2	92,2 / 16,4	102,1 / 12,5	114,3 / 2,1
Lambda-cialotrina	0,005	115,1 / 5	80,6 / 1,3	108,3 / 10,8	108,3 / 2,7	84,9 / 4,7	92,6 / 0,2
	0,01	87,8 / 6,6	83,6 / 1,3	105,5 / 17,8	111,9 / 2,1	106,5 / 10,6	107,1 / 12,3
	0,05	117,7 / 3,7	82,8 / 6,5	84,1 / 8,6	81,3 / 10,8	80,3 / 2,3	92,2 / 16,4
Paration-metilico	0,025	105,1 / 1,4	92,8 / 1,3	118,0 / 2,7	89,3 / 9,3	81,1 / 6,4	96,4 / 9,5
	0,05	80,3 / 11,1	117,1 / 12,5	120,0 / 13,4	103,2 / 0,1	119,0 / 6,6	81,4 / 15,8
	0,25	87,6 / 8,3	81,3 / 10,8	80,0 / 9,9	81,8 / 12,9	90,1 / 17,1	81,0 / 5,1
Permetrina	0,025	119,7 / 1,2	104,4 / 14,6	117,3 / 7	90,6 / 10,8	96,6 / 10,5	104,5 / 14,9
	0,05	111,9 / 2,1	118,2 / 18,3	106,4 / 13,6	90,9 / 8,5	111,4 / 15,8	81,9 / 6,7
	0,25	107,3 / 15,7	115,3 / 3,1	119,7 / 11,8	111,3 / 4,0	83,6 / 16,8	107,1 / 12,9
Tiametoxan	0,025	113,9 / 4,6	83,1 / 6,7	104,0 / 18,4	120 / 1,4	120 / 4,6	104,7 / 17,7
	0,05	111,9 / 18,0	80,7 / 15,0	109,4 / 11,2	90,6 / 14,3	93,2 / 16,9	95,2 / 18,9
	0,25	80,4 / 19,1	81,5 / 18,9	86,4 / 15,9	86,8 / 18,1	114,6 / 0,1	99,8 / 8,8
Trifloxistrobina	0,005	106,8 / 2,5	80,7 / 9,0	92,6 / 0,3	115,3 / 9,0	120,0 / 0,6	91,7 / 15,2
	0,01	118,6 / 19,4	118,9 / 3,7	85,3 / 3,2	102,1 / 12,4	108,7 / 0,9	106,1 / 10,7
	0,05	96,1 / 17,7	83,6 / 16,4	97,4 / 0,1	85,6 / 7,6	107,1 / 0,1	82,1 / 5,2

* 3 extrações x 2 injeções de cada extrato

Os valores de recuperação dos pesticidas para a repetitividade do método ficaram entre 80,4 e 120%, com valores de RSD entre 0,1% e 19,6%, que caracterizam resultados satisfatórios para a validação de um método analítico (COLLINS, 2006).

Para o estudo da precisão intermediária, o ensaio foi realizado empregando-se dias diferentes daqueles utilizados para o estudo da repetitividade.

A Tabela 14 esboça os valores dos percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária do método em estudo. Os valores de recuperação dos pesticidas em estudo ficaram entre 80,2 e 120%, com valores de RSD entre 0,1 e 20%, comprovando que o método validado pode ser aplicado em amostras reais.

Para o desenvolvimento deste estudo, seguiu-se a recomendação de validação de métodos cromatográficos, na qual os valores de recuperação devem estar entre 70 e 120% e, para a faixa de trabalho avaliada, a precisão deve apresentar $RSD \leq 20\%$ (RIBANI *et al.*, 2004).

Considerando estes fatores, o método proposto neste trabalho está em conformidade com os parâmetros cromatográficos sugeridos, fornecendo a evidência objetiva de que o sistema e o método são adequados ao uso pretendido.

Tabela 14. Valores dos percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária do método

Pesticida	Nível de fortificação (mg kg ⁻¹)	Recuperações / RSD (%)*					
		Grão Polido		Grão integral		Casca	Grão Parboilizado Polido
		Crú	Cozido	Crú	Cozido		Crú
Azoxistrobina	0,05	118,3 / 3,4	109,0 / 10,2	101,2 / 15,8	108,8 / 15,6	116,2 / 19,4	116,4 / 1,76
	0,1	89,0 / 4,3	96,3 / 13,5	87,7 / 19,0	115,7 / 0,1	85,5 / 17,0	105,0 / 2,9
	0,5	82,8 / 10,6	120,0 / 3,7	95,5 / 15,4	111,3 / 13,3	81,4 / 3,1	105,1 / 17,8
Bifentrina	0,005	108,3 / 14,2	120,6 / 1,8	96,7 / 3,2	90,3 / 2,7	81,6 / 1,9	89,8 / 6,1
	0,01	114,9 / 18,2	97,0 / 20,0	89,7 / 11,5	99,2 / 17,5	96,3 / 20,0	99,0 / 15,3
	0,05	97,5 / 3,8	81,3 / 6,5	99,2 / 9,7	106,2 / 20,0	80,2 / 1,4	87,9 / 12,3
Cipermetrina	0,025	120,0 / 0,3	102,0 / 8,4	110,8 / 14,3	86,1 / 7,3	116,9 / 19,6	103,9 / 12,9
	0,05	100,9 / 8,3	97,8 / 16,3	109,2 / 9,3	97,0 / 20,0	80,4 / 7,2	115,3 / 18,5
	0,25	103,3 / 3,2	92,5 / 19,9	87,1 / 4,8	93,0 / 13,9	90,0 / 19,7	118,3 / 10,9
Difenoconazole	0,05	90,3 / 18,3	82,9 / 15,2	109,1 / 10,5	108,4 / 11,5	101,1 / 10,9	111,4 / 6,9
	0,1	114,3 / 5,9	110,9 / 11,0	119,2 / 12,6	111,4 / 6,5	113,1 / 11,8	96,8 / 5,3
	0,5	87,7 / 12,6	109,6 / 18,9	89,0 / 18,3	97,3 / 14,0	83,3 / 16,3	82,3 / 13,7
Epoxiconazole	0,025	85,3 / 4,6	95,8 / 10,4	84,5 / 4,2	98,5 / 19,1	97,0 / 5,3	102,0 / 19,1
	0,05	100,3 / 3,8	95,7 / 18,7	119,5 / 12,6	103,1 / 4,9	108,1 / 15,6	81,5 / 16,2
	0,25	88,0 / 11,2	94,1 / 17,4	100,6 / 18,9	90,2 / 10,5	117,0 / 1,1	108,0 / 5,3
Lambda-cialotrina	0,005	119,3 / 15,6	120,0 / 0,1	109,0 / 1,4	92,0 / 8,9	105,4 / 1,1	105,6 / 5,4
	0,01	106,7 / 19,1	91,7 / 19,8	112,8 / 13,8	112,1 / 8,3	98,4 / 15,0	87,3 / 19,4
	0,05	86,7 / 9,8	81,1 / 14,6	88,2 / 6,8	87,3 / 11,8	80,3 / 13,8	80,7 / 7,5
Paration-metilico	0,025	98,1 / 13,1	113,1 / 14,8	115,0 / 19,5	96,7 / 15,1	106,3 / 18,8	111,9 / 1,5
	0,05	118,3 / 7,7	99,4 / 17,1	81,3 / 7,0	91,2 / 6,0	104,6 / 17,5	121,0 / 8,2
	0,25	86,8 / 18,9	98,0 / 18,5	82,3 / 17,8	104,1 / 21,7	84,8 / 4,0	94,5 / 3,7
Permetrina	0,025	102,3 / 8,9	114,3 / 4,4	100,4 / 20,0	120,0 / 7,4	103,3 / 17,5	101,2 / 16,2
	0,05	99,1 / 15,4	87,8 / 10,3	86,8 / 20,0	118,8 / 11,4	110,9 / 18,5	103,0 / 14,9
	0,25	94,7 / 10,8	105,0 / 16,8	93,9 / 8,5	83,9 / 13,7	82,0 / 10,2	115,7 / 13,9
Tiametoxan	0,025	111,3 / 6,4	81,3 / 12,7	81,6 / 5,8	114,2 / 6,2	84,4 / 10,0	117,2 / 16,3
	0,05	115,5 / 11,3	113,8 / 17,4	92,5 / 19,7	109,6 / 13,4	106,7 / 19,5	96,1 / 15,4
	0,25	96,2 / 17,5	95,0 / 10,7	90,6 / 6,7	106,3 / 16,5	81,1 / 5,9	89,5 / 2,1
Trifloxistrobina	0,005	104,8 / 20,0	81,2 / 5,9	90,5 / 18,6	115,0 / 9,6	80,2 / 20,0	105,7 / 14,5
	0,01	109,0 / 4,3	114,9 / 3,3	99,8 / 2,7	116,4 / 20	91,4 / 9,0	120,0 / 17,6
	0,05	108,2 / 8,3	83,3 / 12,0	116,6 / 5,2	120,0 / 16,3	120,0 / 0,1	81,4 / 6,9

* 3 extrações x 2 injeções de cada extrato

4.5 Aplicação do método otimizado

O método otimizado e validado foi aplicado para a determinação de resíduos de pesticidas em grãos de arroz polido cru e cozido e grãos de arroz integral cru e cozido, bem como em cascas do grão de arroz. Estas amostras foram coletadas no experimento de campo onde foram aplicados os pesticidas em estudo. Vale salientar que em cada experimento foi aplicado apenas um dos fungicidas e inseticidas selecionados neste estudo de cada vez e que foram analisados todos os tratamentos em que foram aplicados os pesticidas em estudo. Todos os grãos foram coletados na época de colheita do arroz, no dia 30 de março de 2009.

Para o cozimento dos grãos de arroz, independente do tipo, baseou-se no estudo realizado por WALTER (2009), no qual os grãos de arroz devem ser cozidos na temperatura de 90 °C, utilizando a proporção água purificada/arroz (1:1), sem a adição de sal e gorduras.

Analisou-se todas as amostras de grãos de arroz colhidas em canteiros onde foram aplicados os pesticidas individualmente, conforme condições cromatográficas descritas no item 4.1, porém escolheu-se apenas um exemplo de cada tipo de matriz para exemplificação da aplicação do método, conforme mencionado nos itens a seguir. É importante ressaltar que foram analisadas amostras de grãos polido e integral na forma cru e cozido e grão parboilizado polido cru, bem como nas cascas dos grãos, em todos os tratamentos citados nas Tabelas 7 e 8, em que os pesticidas foram aplicados individualmente conforme produtos comerciais mencionados, totalizando 48 amostras em que foram analisadas fungicidas e 136 amostras em que analisou-se os inseticidas em estudo.

4.5.1 Grãos de arroz polido cru

Nas amostras de grão de arroz polido cru analisadas, não detectou-se resíduos dos pesticidas em estudo. Portanto, foram analisados, no total oito amostras de grão de

arroz polido previamente crú, dos pesticidas azoxistrobina e difenoconazole; e tiametoxam e cipermetrina, que compõem uma mesma formulação comercial.

A Figura 10 ilustra um exemplo de cromatograma de uma amostra em que foram determinados os pesticidas tiametoxam e cipermetrina, conforme o tratamento denominado T14, comparado com uma mistura dos pesticidas em estudo na concentração $0,25 \text{ mg L}^{-1}$, onde pode-se observar que a amostra analisada apresenta valores em concentração abaixo do LOQ do método.

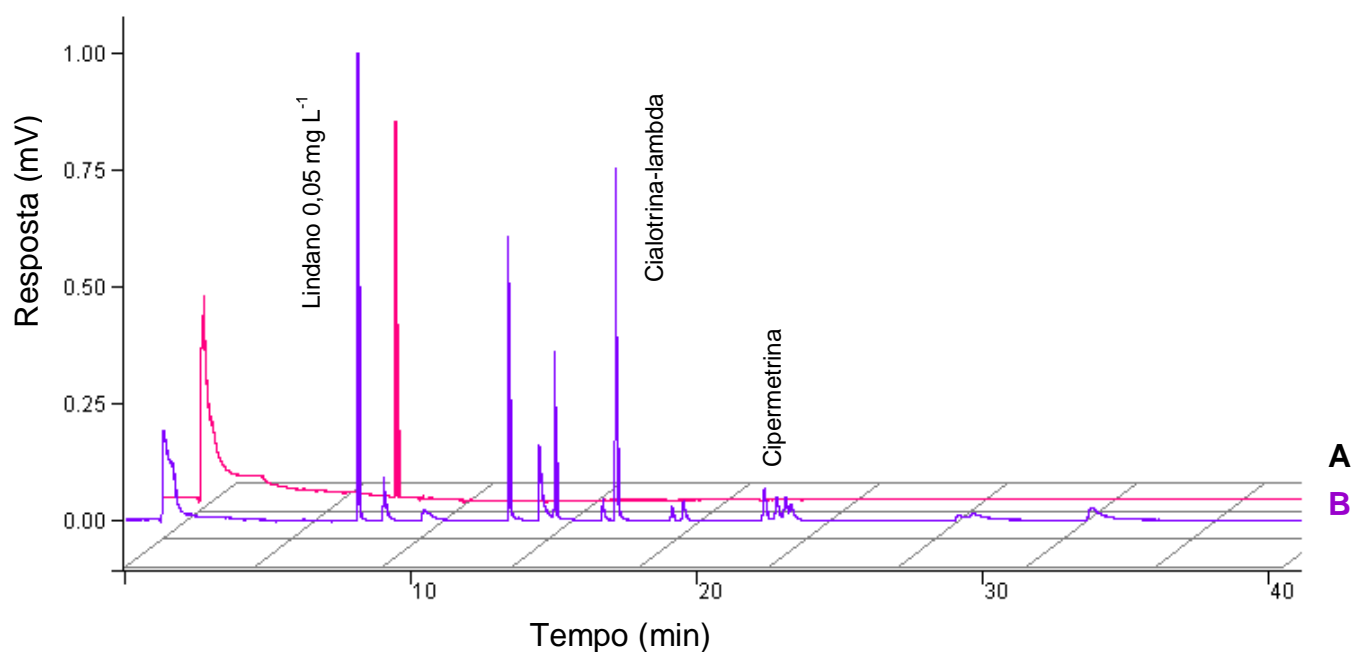


Figura 10. Cromatogramas (A) de uma amostra de arroz polido crú para a determinação de cialotrina-lambda e tiametoxam, conforme tratamento T14 e (B) mistura dos pesticidas em estudo na concentração $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ no solvente acetonitrila obtidos nas condições cromatográficas descritas no item 4.1

Nas demais amostras em que foram analisados os outros pesticidas em estudo, não foram encontrados resíduos dos pesticidas aplicados no experimento.

4.5.2 Grãos de arroz polido cozido

A Figura 11 ilustra um cromatograma de uma amostra de grão de arroz polido cozido em que foi analisado o pesticida lambda-cialotrina, comparado com um cromatograma de uma mistura dos pesticidas na concentração $0,25 \text{ mg L}^{-1}$.

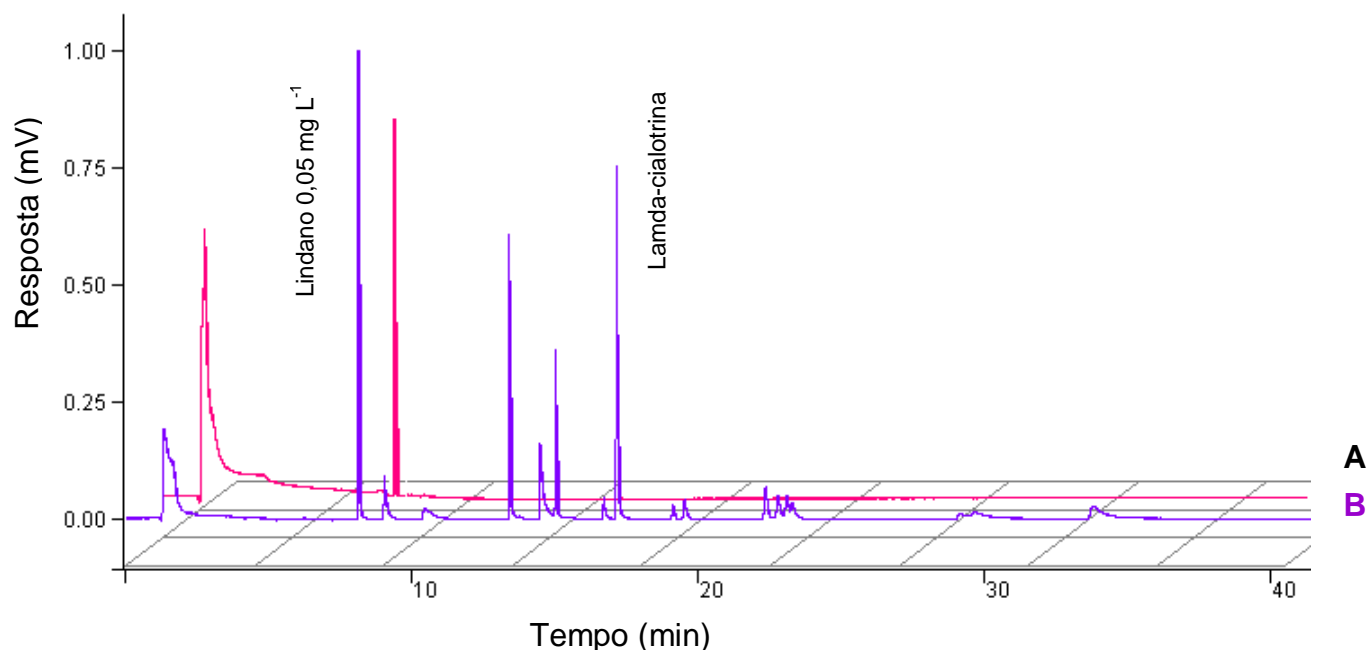


Figura 11. Cromatogramas (A) de uma amostra de arroz polido cozido para a determinação de lambda-cialotrina, conforme tratamento T15 e (B) mistura dos pesticidas em estudo na concentração $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ no solvente acetonitrila obtidos nas condições cromatográficas descritas no item 4.1

Pode-se observar que na amostra analisada não há resíduos de lambda-cialotrina, e nas demais amostras analisadas também não foram detectados resíduos dos outros pesticidas estudados.

4.5.3 Grãos de arroz integral crú

A Figura 12 ilustra um cromatograma de uma amostra de arroz integral crú que foi submetida a aplicação do pesticida permetrina, conforme tratamento denominado T26, e um cromatograma de uma mistura dos pesticidas em estudo na concentração $0,25 \text{ mg L}^{-1}$.

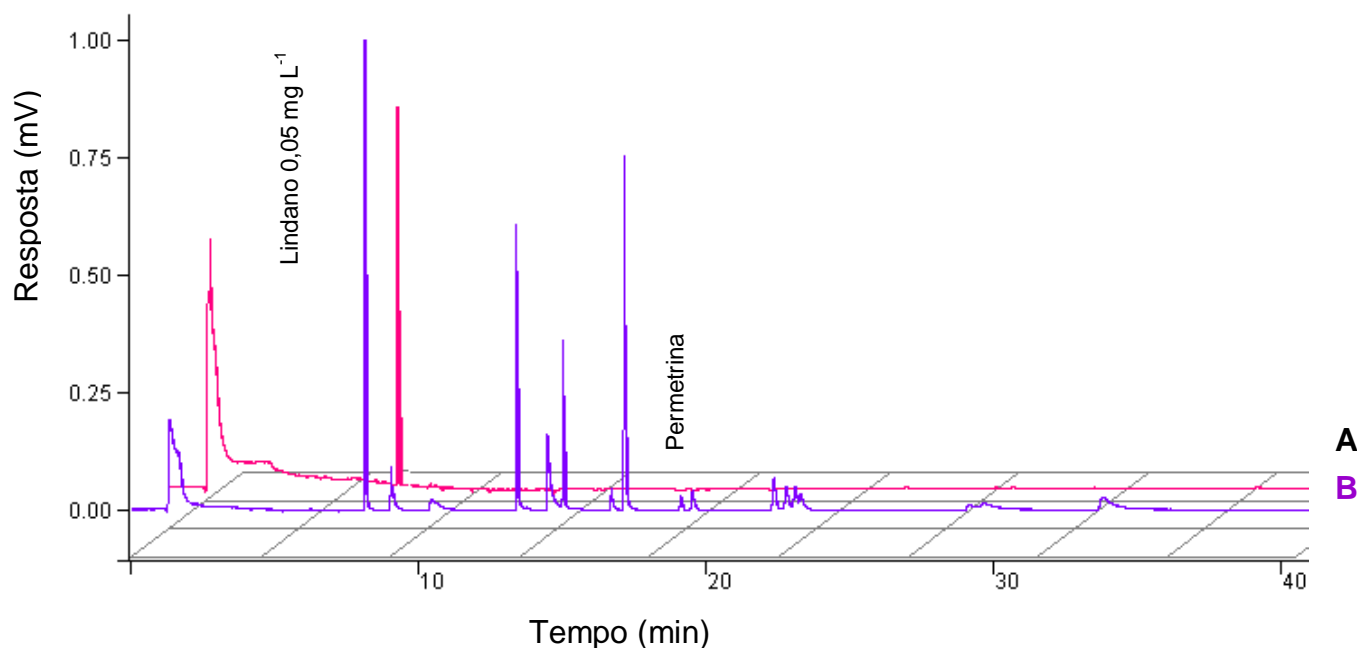


Figura 12. Cromatogramas (A) de uma amostra de arroz integral crú para a determinação de permetrina, conforme tratamento T26 e (B) mistura dos pesticidas em estudo na concentração $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ no solvente acetonitrila obtidos nas condições cromatográficas descritas no item 4.1

Pode-se observar que não foi detectado o pesticida permetrina. Nas demais amostras de grão de arroz integral crú analisadas, também não foram encontrados resíduos dos outros pesticidas em estudo.

4.5.4 Grãos de arroz integral cozido

A Figura 13 demonstra um cromatograma de uma amostra arroz integral cozido para a determinação de cipermetrina, conforme tratamento T20, e um cromatograma da mistura dos pesticidas em estudo na concentração $0,25 \text{ mg L}^{-1}$.

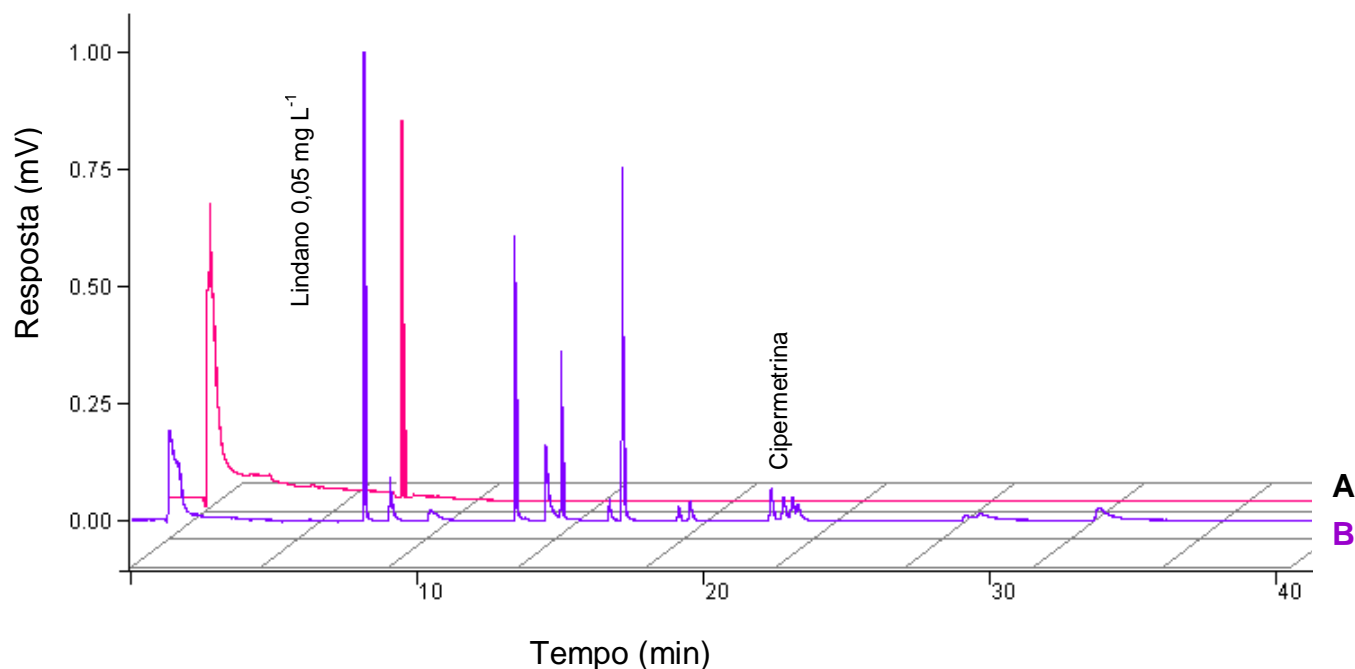


Figura 13. Cromatogramas (A) de uma amostra de arroz integral cozido para a determinação de cipermetrina, conforme tratamento T20 e (B) mistura dos pesticidas em estudo na concentração $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ no solvente acetonitrila obtidos nas condições cromatográficas descritas no item 4.1

Pode-se observar que não foi detectado resíduos do pesticida cipermetrina na amostra analisada. Aplicou-se o método validado para a determinação de resíduos dos pesticidas em estudo nas demais amostras de grão de arroz integral crú, e não foram encontrados os pesticidas em estudo nas amostras analisadas.

4.5.5 Grãos de arroz parboilizado polido crú

A Figura 14 mostra um cromatograma de uma amostra de arroz parboilizado crú para a determinação de azoxistrobina e difenoconazole, conforme tratamento T11, e um cromatograma da mistura dos pesticidas em estudo na concentração $0,25 \text{ mg L}^{-1}$.

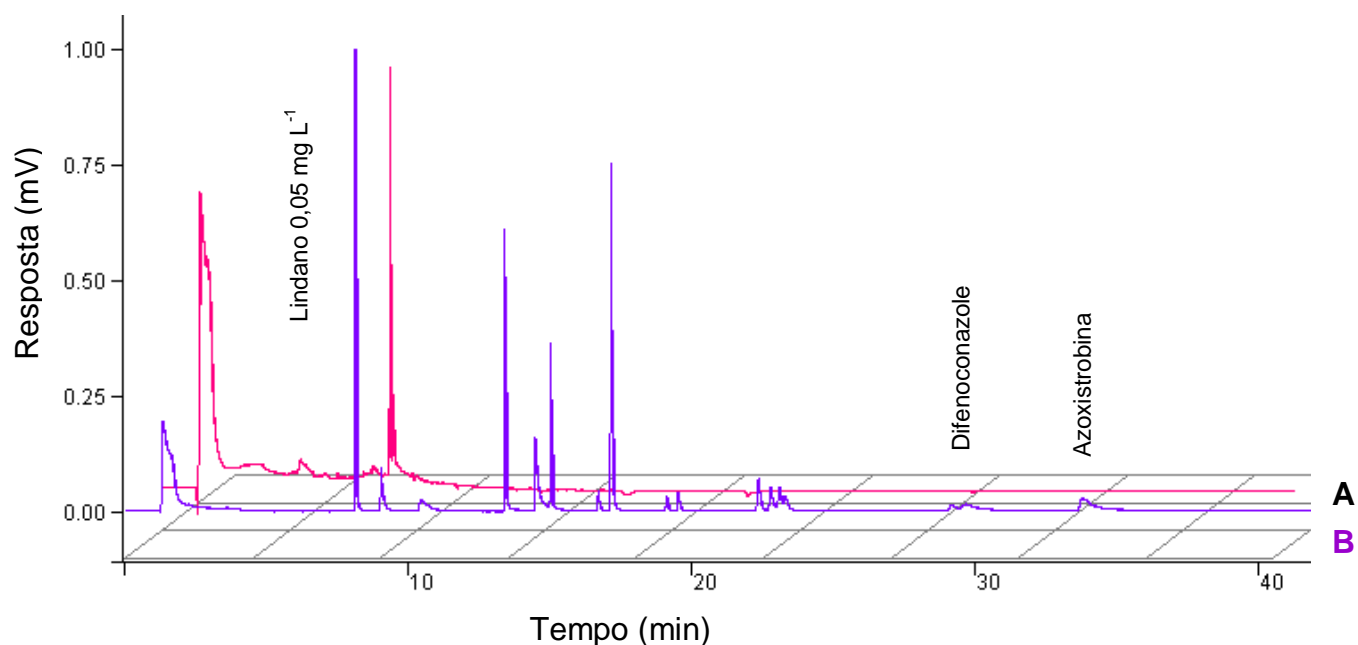


Figura 14. Cromatogramas (A) de uma amostra de arroz parboilizado crú para a determinação de azoxistrobina e difenoconazole, conforme tratamento T11 e (B) mistura dos pesticidas em estudo na concentração $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ no solvente acetonitrila obtidas nas condições cromatográficas descritas no item 4.1

Pode-se observar que na amostra analisada não foram encontrados os pesticidas azoxistrobina e difenoconazole, os quais foram aplicados no experimento a campo. Nas demais amostras, não foram detectados resíduos dos pesticidas aplicados nos tratamentos estudados.

4.5.6 Casca do grão de arroz

Nas amostras de casca do grão de arroz analisadas, não foram encontrados resíduos dos pesticidas selecionados neste estudo. A Figura 15 demonstra um cromatograma de uma amostra de casca de grão de arroz analisado.

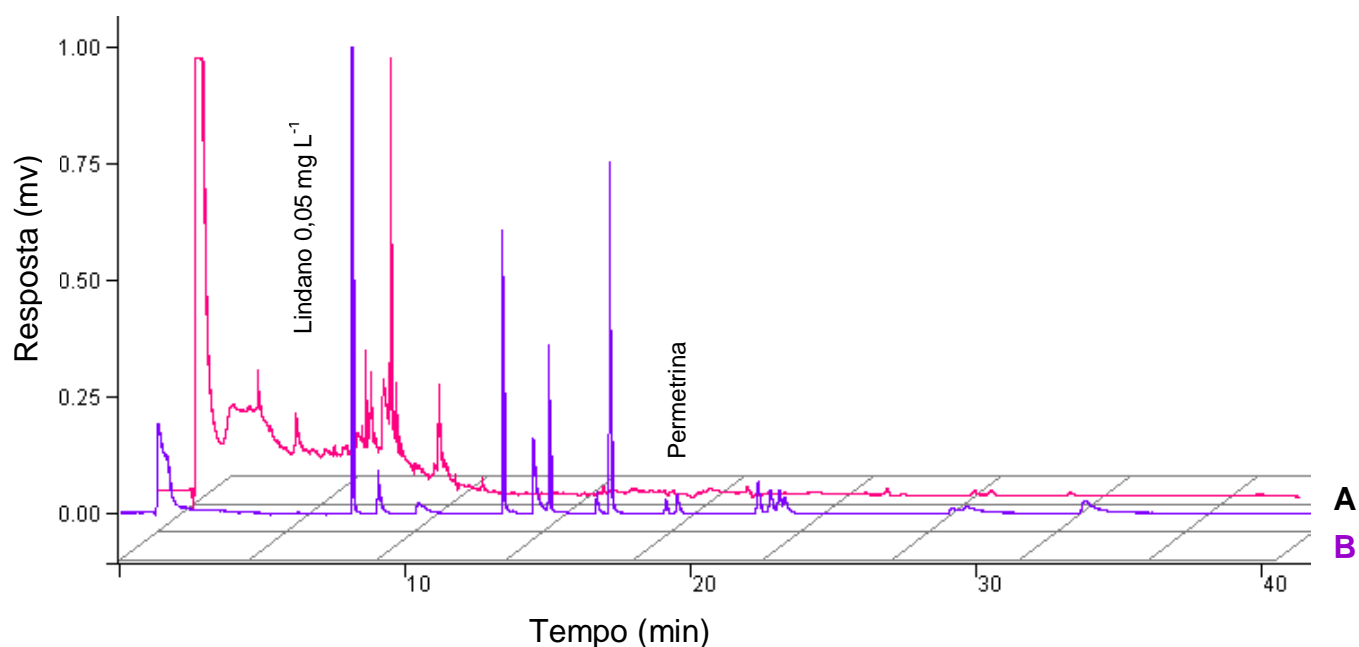


Figura 15. Cromatogramas (A) de uma amostra de casca de arroz para a determinação de permetrina, conforme tratamento T16 e (B) mistura dos pesticidas em estudo na concentração $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ no solvente acetonitrila obtidas nas condições cromatográficas descritas no item 4.1

Vale ressaltar que foram mencionados alguns exemplos de cromatogramas da aplicação do método, sendo que o mesmo depois de validado foi aplicado para determinação de todos os pesticidas em todas as matrizes selecionadas neste estudo. Dentro dos limites de quantificação do método, não foram encontrados resíduos dos pesticidas estudados nas amostras analisadas, fato este que pode ser justificado pelo excesso de chuva no decorrer do desenvolvimento da cultura do arroz, e também pelo

intervalo de aplicação dos pesticidas até a colheita dos grãos, o que ultrapassa o intervalo de segurança do produto comercial.

5 CONCLUSÃO

O arroz é uma das culturas mais importantes no mundo, sendo a principal fonte nutricional para todas as pessoas. A agricultura brasileira têm se destacado na produção, e este aumento da produtividade leva à utilização de maiores quantidades de pesticidas, visando uma maior produtividade e melhor qualidade dos grãos.

Considerando isto faz-se necessário realizar o monitoramento de resíduos dos pesticidas aplicados na cultura arrozeira. Neste trabalho desenvolveu-se um método de extração e análise de alguns pesticidas utilizados nesta cultura.

O método de extração QuEChERS modificado, otimizado neste trabalho, tem como vantagens a utilização de pouca quantidade de solvente, baixo custo, não necessita equipamentos ou vidrarias especializadas; além da simplificação de etapas lentas e trabalhosas, geralmente empregadas em outros métodos de extração. Para a extração dos pesticidas por partição líquido-líquido utilizou-se acetonitrila com 1% de ácido acético (v:v), seguida da adição de 3 g de sulfato de magnésio e 1,7 g de acetato de sódio. Na etapa de *clean-up* por extração em fase sólida dispersiva, a ação do C18 e do sulfato de magnésio como adsorventes, nas quantidades de 500 e 600 mg, respectivamente, em 4 mL de extrato; mostrou-se adequada e eficiente, conseguindo remover grande quantidade dos interferentes orgânicos presente neste tipo de matriz.

O método de extração QuEChERS modificado utilizado para a extração dos pesticidas, demonstrou ser um método eficiente apresentando resultados de recuperação entre 80,3 e 120% em todos os tipos de matrizes utilizadas, comprovando a confiabilidade do método desenvolvido. Os valores de precisão obtidos ficaram entre 0,1 e 20%, encontrando-se dentro dos limites considerados aceitáveis ($RSD \leq 20\%$).

Os valores de limite de quantificação do método foram: $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$ para os pesticidas azoxistrobina e difenoconazole, $0,025 \text{ mg kg}^{-1}$ para cipermetrina, epoxiconazole, paration-metílico, permetrina e tiametoxan e $0,005 \text{ mg kg}^{-1}$ para os pesticidas bifentrina, cialotrina-lambda e trifloxistrobina, os quais apresentaram maior sensibilidade quando analisados por GC-ECD. Estes valores permitem que seja determinados resíduos de pesticidas em grãos e casca de arroz com confiabilidade.

A faixa linear de trabalho foi de 0,025 a 1,0 mg L⁻¹ para os pesticidas azoxistrobina e difenoconazole, de 0,0125 a 1,0 mg L⁻¹ para cipermetrina, epoxiconazole, paration-metílico, permetrina e tiametoxan e 0,0025 a 0,25 mg L⁻¹ para os pesticidas bifentrina, cialotrina-lambda e trifloxistrobina, com valores de coeficiente de determinação maiores que 0,992, também apresentando valores adequados conforme literatura.

O método proposto é sensível, preciso, exato e possibilita a identificação e quantificação dos fungicidas e inseticidas estudados em extratos de grãos e casca de arroz, podendo ser usado na rotina de laboratórios de análises de resíduos de pesticidas, visto que todos os parâmetros de validação encontraram-se dentro dos limites exigidos para validação de métodos cromatográficos.

Nas amostras analisadas neste estudo, não foi detectado a presença dos pesticidas selecionados neste trabalho.

DESTINO DOS RESÍDUOS GERADOS

Os reagentes e solventes utilizados no desenvolvimento deste estudo foram recolhidos, colocados em recipientes separados, rotulados como halogenados e não-halogenados e logo após, encaminhados para o Almoxarifado, responsável pelo tratamento final dos resíduos gerados, no Departamento de Química da UFSM.

Já os resíduos sólidos foram colocados em sacos plásticos, devidamente rotulados e logo em seguida, também encaminhados ao Almoxarifado do Departamento de Química da UFSM.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Determinar resíduos de pesticidas de diversas classes em arroz comercial, na forma de cru e cozido;
- Monitorar a qualidade, considerando a presença de resíduos de pesticidas dos grãos de arroz produzidos no Rio Grande do Sul;
- Verificar a qualidade da água utilizada na irrigação da lavoura de arroz, monitorando a contaminação da água liberada no meio ambiente durante o ciclo da cultura unindo os produtos atuais;
- Determinar resíduos de pesticidas em plantas e grãos coletados no dia da colheita do grão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIAP. Associação Brasileira das Indústrias de Arroz Parboilizado. Disponível em: <http://www.abiap.com>. Acesso em 26 de julho de 2010.

AGROFIT (Sistema de Agrotóxico Fitossanitário). Consulta em Ingrediente Ativo. Disponível em http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em 2 de janeiro de 2010.

ALVES, A.; ABREU, M. S.; CABONI, P.; CABRAS, P.; GARAU, V. L. Validation and global uncertainty of a liquid chromatographic with diode array detection methods for the screening of azoxystrobin, kresoxim-methyl, trifloxystrobin, famaxadone, pyraclostrobin and fenamidone in grapes and wine. **Analytica Chimica Acta**, v. 473, p. 291 – 297, 2006.

AMARANTE Jr., O. P. de; CALDAS, E. P. A.; BRITO, N. M.; SANTOS, T. C. R.; VALE, M. L. B. F. Validação de métodos analíticos: uma breve revisão. **Cadernos de Pesquisa**, v. 12, p. 116-131, 2001.

AMATO, G. W. Casca: Agregando valor ao arroz. **World Association Industrial and Technological Research Organization**, 2002.

AMATO, G. W.; ELIAS, M. C. **A Parboilização de arroz**. Porto Alegre: Ricardo Lenz, 2005, 160p.

AMATO, G. W. Planeta arroz. Porto Alegre: Ricardo Lenz, 2010.

ANASTASSIADES, M., QuEChERS - A Mini-Multiresidue Method for the Analysis of Pesticides Residues in Low-Fat Products. Disponível em: <http://www.quechers.com/>. Acesso em 30 de janeiro de 2008.

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 15 de dezembro de 2009.

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&CodIng=161. Acesso em 23 de janeiro de 2010.

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA), Resolução – RE n^o 899 de 29 de maio, 2003b. Disponível em:

http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm>. Acesso em 22 de janeiro de 2010.

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 de janeiro de 2009.

BARR, D.; NEEDHAM, L., Analytical methods for biological monitoring of exposure to pesticides: a review. **Journal of Chromatography B**, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, Amsterdam, v. 778, p. 5, 2002.

BRASIL. Resolução RE n. 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do Guia para Validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 02 de jun. 2003.

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 de novembro de 2009.

BRITO, N. M.; AMARANTE, O. P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista Ecotoxicológica e Meio Ambiente**. Curitiba, v. 13, p. 129 – 146, 2003.

BRUCE, A. T., RALPH, H. Ilgner Determination of atrazine and four organophosphorus pesticides in ground water using solid phase microextraction (SPME) followed by gas chromatography with selected-ion monitoring. **Journal of Chromatography A**, 972, 2002, 183 - 194.

CANELA, M. C. FILHO, M. B.; PARRILHA, G. L.; REIS, L. A.; LIGIEIRO, C. B. P.; Comparação entre métodos de quantificação em cromatografia gasosa: um experimento para cursos de química. **Química Nova**, vol. 32, n. 5, p. 1338 - 1341, 2009.

CARERI, M.; BIANCHI, F.; CORRADINI, C.; Recent advances in the application of mass spectrometry in food-related analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 970, p. 3 - 64, 2002.

CARVALHO, F. R.; PINHEIRO. A.; Classificação dos pesticidas usados na Bacia Hidrográfica do Itajaí (SC) quanto ao risco de degradação dos recursos hídricos. **Pesticidas: Revista Ecotoxicológica e Meio Ambiente**. Curitiba, v. 18, p. 45 – 58, 2008.

CASTRO, E. da H. de; VIEIRA, N.R. de A.; RABELO, R. R.; SILVA, S.A. da.; **Qualidade de grãos em arroz**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, p. 30, 1999.

CIT (CENTRO DE INFORMAÇÃO TOXICOLÓGICA DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL), 2007. Disponível em: <<http://www.cit.rs.gov.br>>. Acesso em 21 de julho de 2010.

CIT (CENTRO DE INFORMAÇÃO TOXICOLÓGICA DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL), 2004. Disponível em: <<http://www.cit.rs.gov.br>>. Acesso em 13 de setembro de 2009.

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/Pesticide>>. Acesso em 17 de janeiro de 2009.

COELHO, Y. S.; FARIAS, J.; PASSOS FILHO, O. S.; MASCARENHAS, J. M. Comercialização dos Citros no Estado da Bahia. Centro Nacional de Pesquisa de Embrapa, Mandioca e Fruticultura Tropical. Documentos 108. 2004.

COGO, J. P. Determinação de resíduos de pesticidas em plantas de arroz empregando QuEChERS modificado e GC-ECD. **Dissertação de Mestrado em Química**, UFSM, Santa Maria, 2008.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S.; **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas: Editora Unicamp, p. 453, 2006.

CONCENÇO, G.; LOPES, N. F.; ANDRES, A.; MORAES, D. M.; SANTOS, M. Q.; RIEFFEL FILHO, J. A.; VILELLA, J. V.; Controle de plantas daninhas em arroz irrigado em função de doses de herbicidas pré-emergentes em início da irrigação. **Planta Daninha**. Viçosa – MG, v. 24, n. 2., p. 303-309, 2006.

COUNCE, P. A.; KEISLING, T. C.; MITCHELL, A. J., A uniform, objective and adaptive system for expressing rice development. **Crop Science**, v. 40, n. 2, p. 436 – 443. 2000.

DEXTER, P. B. Rice fortification for developing countries. Departament of food science. University of Arkansas. Fayetteville. August, 1998. Disponível em <http://www.mostproject.org>. Acesso em 20 de março de 2009.

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/circular tecnica>. Acesso 25 de setembro de 2009.

EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA). **Pragas do Arroz Irrigado**. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrrigadoBrasil/cap13.htm>. Acesso em: 12 de março de 2010.

EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA). **Pragas do Arroz Irrigado**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrrigadoBrasil/cap10.htm>>. Acesso em: 15 de junho de 2010.

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 de novembro de 2009.

FOOTPRINT. Pesticides Properties Database. Disponível em <<http://www.herts.ac.uk/aeru/footprint/en.>> Acesso em 21 de julho de 2010.

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

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

HURBER, L. Validation of analytical methods: review and strategy. Oberkirch, 2001. Disponível em: www.labcompliance.com/documentos/meth_val.pdf. Acesso em 12 de junho de 2010.

IBAMA (INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE). Disponível em: www.ibama.gov.br/licenciamento. Acesso em 27 de julho de 2010.

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

INMETRO (INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL) 2009.

INMETRO (INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL) 2010.

IRGA (INSTITUTO RIOGRANDENSE DO ARROZ). Lavoura arrozeira, v. 56, 2008. Disponível no site: <<http://www.irga.rs.gov.br>> Acesso em 14 abril de 2010.

JARDIM, I. C. S. F.; ANDRADE, J. de A.; QUEIROZ, S. C. N.; Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global - um enfoque às maçãs. **Química Nova**, vol. 32, n. 4, p. 996 - 1012, 2009.

JIMÉNEZ. J. J.; BERNAL, J. L.; NOZAL, J. del.; TORIBIO, L.; ARIAS, E.; Analysis of pesticides residues in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with electron capture and nitrogen – phosphorus detection. **Journal of Chromatography**, v. 919, p. 147 - 156, 2001.

KENNEDY, G.; BURLINGAME, B, NGUYEN, V. N. **Nutritional Contribution of rice:** impact of biotechnology and biodiversity in rice-consuming countries. Bangkok: The International Rice Commission – Twentieth Session, 2002.

LACERDA, J. R. M.; LACERDA, M. R. M. SOUZA, M. M. A. S.; Percepção do agricultor sobre a utilização do agrotóxico em São Miguel, Mauriti – CE. **Cadernos de cultura e ciência**, vol. 1, número 1, Novembro 2006.

LANÇAS, F. M.; **Validação de métodos cromatográficos de análise**, São Carlos: RiMa, p. 62, 2004.

LARINI, L., Toxicologia dos Praguicidas, **Editora Manole Ltda, São Paulo, 1999.**

LEE, G. H; LEE, D. M.; YUN, M. Y.; KIM, S. R.; SEO, M. S.; HAN, E. M.; NGUYEN, D. T., A multi-residue method for the determination of 203 pesticides in rice paddies using gas chromatography-mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 619, p. 67 – 74, 2008.

LEHOTAY, S.; **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v. 85, n. 5, p. 1148-1166, 2002.

LEHOTAY, S.; SON, K. E.; KWON, H.; KOESUKWIWAT, U.; FU, W.; MASTOVSKA, K.; HOH, E.; LEEPIPATPIBOON, N.; Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticides residues in fruits and vegetables. **Journal of Chromatography A**, v.; p.; 2010.

LESUEUR, C.; KNITTL, P.; GARTNER, M.; MENTLER, A.; FUERHACKER, M.; Analysis of 140 pesticides from conventional farming foodstuff samples after extraction with modified QuEChERS method. **Food Control**, v. 19, p. 906 – 914, 2008.

LIBIN, L; YUKI, H; QIN, Y.; ZHOU, H.; LIN, J. Rapid analysis of multiresidues pesticides in agriculture products by gas chromatography-mass spectrometry. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**. v. 34, p. 783 – 786, 2006.

MAPA (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO).

Disponível em:

<http://www.cnpaf.embrapa.br/arroz/pragasedoencas/controle.htm>. Acesso 3 de dezembro de 2008.

MAPA (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO).

Disponível em:

<http://www.cnpaf.embrapa.br/arroz/pragasedoencas/controle.htm>. Acesso 13 de maio de 2010.

MASTOVSKA, K.; LEHOTAY, S. J.; **Journal of Chromatography A**, v. 1040, p. 259-272, 2004.

MELO, L. F. C., Collins, C. H., Jardim, ICSF., **Journal of Chromatography A**, v. 1073 p. 1075, 2005

MS. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria n 518, de 25 de março de 2004**. Disponível em:

<http://dtr2001.saude.gov.br/svs/pub/GVE/GVE0515F.htm> acesso em 27 de novembro de 2009.

MISTURA. C. M. Validação de metodologia para determinação de resíduos de pesticidas organoclorados em sedimento do lago da barragem Capingui, RS, empregando GC-ECD e GC-MS, 2003, 208f. **Dissertação de Mestrado em Química – UFSM – Santa Maria, RS.**

MOREIRA J. C.; SILVANA, J. C.; PERES, F.; LIMA, S. L.; MEYER, A.; EGLER, M.; ARAÚJO, A. J.; MOURA, C. Avaliação integrada ao impacto do uso de agrotóxico sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v. 7, n. 2, p. 299 – 311, 2002.

NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.; SILVÉRIO, F. O.; PINHO, G. P.; Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 987 - 995, 2009.

NITZKE, J. A. Terra do Arroz. Instituto de Ciência e tecnologia de Alimentos, UFGRS. Disponível em: <http://www.ufgrs.br/icta/agronom/arroz/esqarroz.htm>. Acesso em 2 de junho de 2010.

PENGYAN, L.; QINGXUE, L.; YUSONG, M.; JINWEI, L.; XUAN, J. Analysis of pesticides multiresidues in rice by gas chromatography-mass spectrometry coupled with solid phase extraction. **Chinese Journal of Chromatography**, v. 24, p. 228 – 234, 2006.

PEREIRA, L. E.; MATOS, B. L. S.; AMORIM, M.; IRACEMA, M.; ARAÚJO, S.; HELENA, L.; NEVES, T. N.; RODRIGUES, M. E.; Exposição de pesticidas e repercussão na saúde de agentes sanitários no Estado do Ceará, Brasil, **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v. 14, n. 6, p. 2221 – 2230, 2009.

PITOMBEIRA, J. B. **Cultura do arroz**. (Notas de aula) Fortaleza, 2000. 65p.

PRESTES, O. D. 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). 2007 108f. **Dissertação de Mestrado em Química** – UFSM, Santa Maria, 2007.

PRESTES, O. D.; FRIGGI, C. A.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. QuEChERS - Um método moderno de preparo de amostra para a determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1620 - 1634, 2009.

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.

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

REIMCHE, G.; MACHADO, S. L. O.; GOLOMBIESKI, J. I.; BALMART, J. S.; BRAUN, N. MARCHESAN, E.; ZANELLA, R.; Persistência na água e influência de herbicidas utilizados na lavoura arrozeira sobre a comunidade zooplânctônica de Cladocera, Copepoda e Rotifera. **Ciência Rural**, v. 38, n. 1, p. 7-13, 2008.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F., Validação em métodos cromatográficos eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771 - 780, 2004.

RIBEIRO, M. L. Pesticidas: Usos e riscos para o meio ambiente. **HOLOS Environment**, v. 8, n. 1. P. 53, 2009.

RISSATO, S. R.; LIBANIO, M.; GIAFFERIS, G. P.; GERENUTTI, M.; Determinação de pesticidas organoclorados em água de manancial, água potável e solo na região de Bauru (SP). **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 739 – 743, 2004.

SANCO, COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES (2003). Document n. **SANCO/2007/3131**. Method validation and quality control procedures for pesticides residues analysis in food and feed. 3. ed., Bruxelas, Bélgica, 31/10/2007.

SCHENCK, F. J., CALLERY, P. GANNET, P., M.; Comparison of magnesium sulfate and sodium sulfate for removal of water from pesticides extracts of foods comparison of magnesium sulfate and sodium sulfate for removal of water from pesticides extracts of foods. **Journal of the Association of Official Analytical Chemistry International**, v. 85, n. 5, p. 1177- 1180, 2002.

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

SOSBAI (SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO; **Arroz irrigado: Recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil**. Pelotas: Grafica e Editora Palotti, 2007, 161 p.

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

SHABIR, G. A. Validation of high-performance liquid-chromatography methods for pharmaceutical analysis: Understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopoeia and the International Conference on Harmonization. **Journal of Chromatography A**, v. 987, p.57-66, 2003.

STORCK, C. R.; Variação na composição química em grãos de arroz submetidos a diferentes beneficiamentos. 2004. 108f. **Dissertação de Mestrado** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria.

TOMLIN, C. D. S. **The e-Pesticide Manual**, Thirteen Edition Edition, Version 3.0 Londres, 2003. CD-ROM.

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

THOMPSON, M. E.; ELISSON, S. L. R.; WOOD, R.; Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC technical report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, p. 835-855, 2002.

VEIGA, M. M. Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do Sudeste do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 11, p. 2391 – 2399, 2007.

WALTER, M. Composição química e propriedades antioxidantes de grãos de arroz com pericarpo marrom claro vermelho e preto. 2009. 119f. **Tese de doutorado** (Doutorado em Produção Vegetal) - Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria.