



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
MESTRADO EM QUÍMICA**

VIVIANE BELO DOS SANTOS

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO MULTI-RESÍDUOS DE
PESTICIDAS EM TOMATE (*Lycopersicon esculentum Mill*) IN NATURA POR
CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE).**

Boa Vista

2013

VIVIANE BELO DOS SANTOS

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO MULTI-RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM TOMATE (*Lycopersicon esculentum Mill*) IN NATURA POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE).

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Química do Programa de Pós-Graduação em Química – PPGQ da Universidade Federal de Roraima como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Química Ambiental, com área de concentração Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Henrique Eduardo Bezerra da Silva.

Boa Vista

2013

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal de Roraima

S237d Santos, Viviane Belo dos.
Desenvolvimento e validação de método multi-resíduos de pesticidas em tomate (*Lycopersicon esculentum Mill*) in natura por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) / Viviane Belo dos Santos. – Boa Vista, 2013.
142 f. : il

Orientador: Prof^o. Dr^o Henrique Eduardo Bezerra da Silva.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Roraima, Programa de Pós-Graduação em Química.

1 – Cromatografia líquida. 2 - Pesticida. 3 - Carbamatos. 4 – Roraima. – Título. II – Silva, Henrique Eduardo Bezerra da.

CDU –
543.544.5.068.7(811.4)

VIVIANE BELO DOS SANTOS

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO MULTI-RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM TOMATE (*Lycopersicon esculentum Mill*) IN NATURA POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE).

Dissertação apresentada como pré-requisito para a conclusão do curso de Mestrado em Química da Universidade Federal de Roraima, defendida em 28 de março de 2013 e avaliada pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Henrique Eduardo Bezerra da Silva
Orientador

Prof^a Dra Teresa Maria Fernandes de Freitas Mendes
UFRR

Prof^a Dra Maria de Fátima Vitória de Moura
UFRN

*Dedico aos pilares da minha existência,
que transformaram meu mundo em magia, por
fazerem com que tudo na minha vida valesse a
pena, sem os quais não haveria sentido viver:
Beatriz Belo (verdade), Luiz (beleza) e Carlos
Alberto (bondade).*

AGRADECIMENTOS

A Deus, digno de toda honra e glória: por minha vida e por minha família, pela perseverança, pela capacitação, por mais uma etapa cumprida, pela minha profissão, sobretudo por sua presença em minha vida.

Às minhas raízes, que me concederam amor incondicional: mainha (Solange Rosineide dos Santos) e painho (em memória: Manoel Belo dos Santos), os frutos: José Luiz da Costa Filho, Hebert Belo dos Santos, Vivilene Belo de Matos e aos galhos, em especial: Antônio Kleber da Rocha, Carla Conceição Nujo Fornazieiro, Domingos da Silva, Jefferson Duarte de Mattos, Raimunda Matos da Silva e Roberta dos Santos Reis, que acreditaram em mim e na minha capacidade.

Ao Prof. Dr. Henrique Eduardo Bezerra da Silva (*Homem de gênio*), pesquisador e educador, do qual tive o privilégio de ser discípula, por acreditar na minha capacidade e não medir esforços para que este trabalho fosse realizado com qualidade, pela convivência alegre, pela amizade, pelo incentivo, pela compreensão, por amenizar momentos de tensão e por orientar-me para a vida, pois embora, não podendo mais usufruir de sua companhia e de sua ciência, seus ensinamentos jamais se apagarão em minha memória.

À Prof^a Dra. Teresa Maria Fernandes de Freitas Mendes por sua excepcional fibra! Sem a qual, eu não teria chegado até aqui, pois as pessoas que nos acrescentam, moralmente, salvam nosso espírito nos enchendo de amor; obrigada.

Ao meu irmão e amigo: Hendrix Belo dos Santos, pois sem a sua dedicação e abnegação em me ensinar eu não teria rompido as malhas da ignorância, minha eterna gratidão.

À minha irmã do coração: Maria da Consolação Pires de Deus, pelo apoio, pela companhia diária, pelas conversas e pelos momentos de descontração. Sua presença em minha vida foi um presente de Deus.

O sorriso fraterno, a gentileza, a solicitude e o gesto amigo, cabem prodigiosamente em qualquer parte: Rubem Alves Camelo.

Os melhores momentos da vida são compartilhados com irmãos de ideais. Meus agradecimentos a: Candice Nóbrega Carneiro, Carlos Alberto Júnior, Francisco Panero dos Santos, Hosana Carolina dos Santos Barreto, João Panero dos Santos, Leandro dos Santos Sanches, Leovergildo Farias Rodrigues, Magda Márcia Becker, Marcos Denny Faria, Mirla Janaína Augusto Cidade, Nayara de

Aquino Benitez e Ramão Luciano Nogueira Hayd, pela atenção especial durante o curso, pelo agradável convívio, pelos momentos de descontração e pelo bate-papo no nosso cafezinho de todos os dias.

“Não há prova de fidelidade maior do que a amizade”. Aos meus alunos do coração: Arthur Philipe Barbosa Almeida, Beatriz Belo da Costa, Isabel Nair de Lima Guerra Azevedo, Joene da Silva Paixão, Matheus Araújo Moreira e Natália Araújo Carim de Farias.

“Na vida, não existem amigos ou inimigos, apenas instrutores (autor desconhecido)”. A aqueles que contribuíram para o meu sucesso: Daniel Oliveira Lira, Elândia Gomes Araújo, Elceni Diogo da Silva, Francisco de Assis Nobrega de Brito, Jacquicilea Soares de Souza e a Prof^a Dra. Maria de Fátima Vitória de Moura, muito obrigada.

Aos colegas do Mestrado em Química, pela caminhada;

Ao bibliotecário e amigo: Francisco Laurenilson Sousa Silva, para quem ao trabalho demonstra vocação e sua gentileza fornece a medida exata da sua competência, muito obrigada por sua ajuda.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química pela oportunidade de crescimento;

Ao Programa de Capacitação e Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela bolsa concedida;

À FINEP (Financiadora de Estudos e Projetos) pelo laboratório concedido (LABGRÃOS) para a realização de grande parte desse trabalho;

Ao PRONAT (Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais), pela infraestrutura necessária e pela permissão para realizar os treinamentos e as determinações por CLAE;

À Francisca Alencar de Lima por ter estado ao meu lado, incondicionalmente, com infinita paciência; pela amizade e por ter cuidado dos meus filhos para eu poder estar no laboratório;

Aos senhores do Alto Alegre: Aldeene dos Santos Silva e Francisco Gonçalves Pereira Filho, que estiveram comigo nas fazendas, pelas informações sobre a cultura, pela atenção e amostras cedidas para realização deste trabalho;

A todos os professores do PPGQ: obrigada pelas instruções recebidas, pois a única coisa que ninguém pode nos roubar é o conhecimento que adquirimos.

À Tupã,

Prece de Cáritas

Deus, nosso Pai, que sois todo poder e bondade, dai a força àquele que passa pela provação, dai a luz àquele que procura a verdade; ponha no coração do homem a compaixão e a caridade.

Deus! Dai ao viajante a estrela-guia, ao aflito a consolação, ao doente o repouso.

Pai! Dai ao culpado, o arrependimento, ao espírito, a verdade, à criança, o guia, ao órfão, o pai.

Senhor! Que a Vossa bondade se estenda, sobretudo aos que criastes. Piedade Senhor, para aqueles que não vos conhecem, esperança para aqueles que sofrem. Que Vossa bondade permita aos espíritos consoladores derramarem por toda parte à paz, a esperança e a fé.

Deus! Um raio, uma faísca do Vosso amor pode abrasar a Terra; deixai-nos beber nas fontes dessa bondade, fecunda e infinita, e todas as lágrimas secarão, todas as dores se acalmarão. E um só coração, um só pensamento subirá até Vós, como um grito de reconhecimento e de amor. Como Moisés sobre a montanha, nós Vos esperamos com os braços abertos, Oh Poder! Oh Bondade! Oh Beleza! Oh Perfeição! E queremos de alguma sorte, merecer a Vossa Divina Misericórdia.

Deus! Dai-nos a força de ajudar o progresso, a fim de subirmos até Vós; dai-nos a caridade pura; dai-nos a fé e a razão; dai-nos a simplicidade que fará de nossas almas o espelho, em que deve refletir a Vossa Divina e Santa Imagem.

Assim seja.

Mme. W. Krill.

Ditado pelo Espírito Cáritas.

25 de dezembro de 1873.

RESUMO

Nos últimos anos, o consumo mundial de legumes e frutas aumentou, assim como o aumento no uso de defensivos agrícolas para garantir essa produção. Em decorrência disso, desenvolveu-se uma crescente preocupação dos cidadãos e da comunidade científica relacionada com a presença e o controle de resíduos de pesticidas nesses produtos. Para avaliar os riscos potenciais à saúde da população são estabelecidas medidas preventivas para que os efeitos indesejáveis sejam mantidos em níveis compatíveis com a vida, além de visar a proteção da região cultivada. Devido a essa preocupação, faz-se necessária a criação de programas de monitoramento de amostragem aleatória e a análise de alimentos crus e processados no mercado, com vistas à investigação e o desenvolvimento de métodos para a determinação desses compostos em diversas matrizes. O objetivo deste trabalho foi investigar a ocorrência de carbamatos nas amostras de tomates adquiridas na feira do Produtor, no Estado de Roraima, utilizando a técnica da extração em fase sólida e da cromatografia líquida identificação/quantificação das amostras estudadas. Os resultados indicaram que o procedimento utilizado por CLAE/UV-Vis resultaram em curvas de calibração com faixas lineares adequadas, com exatidão, precisão e sensibilidade para a análise dos resíduos de pesticidas nos tomates. Os limites de detecção variaram entre $1,15 \times 10^{-6}$ a $9,71 \times 10^{-6}$ mg L⁻¹ e quantificação de $1,15 \times 10^{-6}$ a $6,23 \times 10^{-5}$ mg L⁻¹ para todos os pesticidas em estudo. As taxas de recuperação obtidas para cada pesticida variou de 70 a 100 %, com exceção da amostra do pesticida carbofuran (60 %) em que foi obtida um coeficiente de variação inferior a 20 %. As curvas de calibração apresentaram coeficientes de variação próximos a 0,999 para a maioria dos pesticidas estudados. Constatou-se que, nas amostras de tomates, havia diversos tipos de resíduos de carbamatos e que a maioria se mostrou acima dos limites estabelecidos pela legislação brasileira.

Palavras-chaves: Cromatografia Líquida. Pesticidas. Carbamatos. Roraima.

ABSTRACT

In the last years, the consumption of vegetables and fruits in the world increased, as well as the increase in the use of defensive agricultural to guarantee that production. As a result a growing concern of the citizens and of the scientific community related with the presence and control of residues of pesticides in those products to evaluate the potential risks to the health of the population has occurred. To measure the potential health risk of the population preventive measures are being established so that the undesirable effects are maintained in compatible levels with the life, and also the protection of the cultivated areas. Due to that concern, programs of monitoring of random sampling and the analysis of raw foods and processed at the market are willing to investigate and develop methods which determine this compound in different formers. The objective of this work was to investigate the carbamate occurrence in the acquired samples of tomatoes at the Feira do Produtor, in the State of Roraima, using the technique of the extraction in solid phase for cleaning of the samples and the liquid chromatography of the studied samples. The results indicate that the HPLC/UV-vile procedure resulted in adequate lineal strip, with accuracy, precision and sensibility is adapted for the analysis of residues of pesticides in the tomatoes. The detected limits vary from $1,15 \times 10^{-6}$ to $9,71 \times 10^{-6}$ mg L⁻¹ and quantification from $1,15 \times 10^{-6}$ to $6,23 \times 10^{-5}$ mg L⁻¹ for all the pesticides studied. The recovery rates obtained for each pesticide ranged from 70 to 100 %, except for the third sample of the pesticide carbofuran (60 %) in which the coefficient of varied less than 20 %. Calibration curves were obtained $r^2 = 0.999$ for nearly all pesticides. The method found that the samples of tomatoes, there were various types of carbamates residues, but most were above the limits established by Brazilian legislation.

Keywords: Liquid Chromatography. Pesticides. Carbamates. Roraima.

LISTA DE TABELAS

01	Limites Máximos de Resíduos dos compostos estudados	90
02	Classificações da dose letal de agrotóxicos no Brasil	91
03	Valores de LD ₅₀ dosagem para ratos em carbamatos	93
04	Datas das coletas das amostras	114
05	Analitos estudados	118
06	Repetibilidade em 4 dias diferentes de estudo	130
07	Limites de Detecção e Limites de Quantificação	133
08	Recuperação dos compostos estudados	135
09	Resíduos de carbamatos encontrados nas amostras de tomates.	136
01	Quadro de Sinais e Sintomas dos carbamatos no SNC	96

LISTA DE ABREVIACOES

AChE (acetilcolinesterase)

ANVISA (Agncia Nacional de Vigilância Sanitária)

CAC (*Codex Alimentarius Commission*)

CLAE (Cromatografia em fase líquida de alta eficincia)

DAD (*Diode Array Detector*)

EPA (*Environmental Protection Agency*)

FAO/WHO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization*)

FDA (*Food and Drug Administration*)

GFC (*Gel Filtration Chromatography*)

GPC (*Gel Permeation Chromatography*)

HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)

IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis)

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística)

IDA (Ingestão Diária dos Alimentos)

IUPAC (*International Union of Pure Applied Chemistry*)

JMPR (*Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues*): grupo de peritos em resíduos de pesticidas da OMS

LD (limite de deteco)

LDE (limite de deteco do equipamento)

LDM (limite de deteco do método)

LQ (limite de quantificao)

LMR (Limite Máximo de Resíduo)

NFT (*Nutrient FilmTechnic*)

NRR5 (Norma Reguladora Rural)

NTE (Neurotoxicoesterase)

OMS (Organizao Mundial da Saúde)

SNC (Sistema Nervoso Central)

SPE (*Solid Phase Extraction*)

THF (tetraidrofurano)

UV/vis (Detector Espectrofotométrico Ultravioleta/visível)

LISTA DE FIGURAS

<i>FIGURA 01 -</i>	Espécie conhecida como caqui.....	21
<i>FIGURA 02</i>	Frutos do tomateiro com três, quatro e cinco lóculos.....	22
<i>FIGURA 03 -</i>	Tutoramento do tomate no Alto Alegre.....	23
<i>FIGURA 04 -</i>	Flores amarelas do tomateiro.....	23
<i>FIGURA 05 -</i>	Tomates rasteiros ainda verdes no pé.....	25
<i>FIGURA 06 -</i>	Tomate Cereja.....	25
<i>FIGURA 07 -</i>	Sistema CLAE.....	42
<i>FIGURA 08</i>	<i>Load e Inject</i>	45
<i>FIGURA 09</i>	Parte interna (clara) do detector de ultravioleta.....	61
<i>FIGURA 10</i>	Esquema de um detector com arranjo de fotodiodo.....	63
<i>FIGURA 11</i>	Esquema de um detector de fluorímetro.....	64
<i>FIGURA 12</i>	SPE.....	65
<i>FIGURA 13 -</i>	(B1-e* 36) Reação de hidrólise do pesticida carbaryl.....	94
<i>FIGURA 14</i>	(B2-e* 37) Hidroxilação do grupamento N-metil do propoxur.....	94
<i>FIGURA 15</i>	(B3-e* 38) Zectran transformando-se em 4-dimetilamino-3,5-xilenol.....	95
<i>FIGURA 16</i>	Ácido N-metilcarbâmico.....	98
<i>FIGURA 17</i>	Aldicarb Sulfóxido e Aldicarb Sulfona.....	99
<i>FIGURA 18</i>	Aldicarb.....	100
<i>FIGURA 19 -</i>	Methomyl.....	100
<i>FIGURA 20 -</i>	Oxamyl.....	101
<i>FIGURA 21 -</i>	Bunfuracarb.....	102
<i>FIGURA 22 -</i>	Bendiocarbe.....	102
<i>FIGURA 23 -</i>	Bufencarb.....	103
<i>FIGURA 24 -</i>	Carbaryl.....	104
<i>FIGURA 25</i>	Carbofuran.....	104
<i>FIGURA 26</i>	Carbosulfan.....	105
<i>FIGURA 27</i>	Dimetan.....	106
<i>FIGURA 28 -</i>	Etiofencarb.....	106
<i>FIGURA 29</i>	Fenoxicarb.....	107
<i>FIGURA 30</i>	Isolan.....	107
<i>FIGURA 31 -</i>	Methiocarb.....	108
<i>FIGURA 32 -</i>	Mexacarbate.....	108
<i>FIGURA 33 -</i>	Moban.....	109
<i>FIGURA 34 -</i>	Pirimicarb.....	109
<i>FIGURA 35 -</i>	Promecarb.....	110
<i>FIGURA 36 -</i>	Propoxur.....	110
<i>FIGURA 37</i>	Pyrolan.....	111
<i>FIGURA 38 -</i>	Thiodicarb.....	111
<i>FIGURA 39</i>	Fluxograma de extração.....	115
<i>FIGURA 40</i>	Cromatograma do padrão, concentração 0,2 mgL ⁻¹	119
<i>FIGURA 41</i>	Cromatograma do padrão, concentração 0,4 mgL ⁻¹	119
<i>FIGURA 42</i>	Cromatograma do padrão, concentração 0,6 mgL ⁻¹	120
<i>FIGURA 43</i>	Cromatograma do padrão, concentração 0,8 mgL ⁻¹	120
<i>FIGURA 44</i>	O cromatograma do branco.....	121
<i>FIGURA 45</i>	Cromatograma da primeira extração amostra1(m1).....	122
<i>FIGURA 46</i>	Cromatograma da segunda extração amostra 1(m2).....	122

	<i>FIGURA</i> 47	Cromatograma da terceira extração amostra 1(m3).....	123
	<i>FIGURA</i> 48	Determinação da Sensibilidade.....	124
<i>FIGURA</i> 49 -		Curva analítica do padrão Methomyl.....	125
<i>FIGURA</i> 50 -		Curva analítica do padrão Aldicarb Sulfone.....	125
<i>FIGURA</i> 51 -		Curva analítica do padrão Aldicarb Sulfoxide.....	126
<i>FIGURA</i> 52 -		Curva analítica do padrão Aldicarb.....	126
<i>FIGURA</i> 53 -		Curva analítica do padrão 3 – Hydroxycarbofuran.....	127
<i>FIGURA</i> 54 -		Curva analítica do padrão Carbofuran.....	127
	<i>FIGURA</i> 55	Curva analítica do padrão Carbaryl.....	128
<i>FIGURA</i> 56 -		Curva analítica do padrão Oxamyl.....	128
	<i>FIGURA</i> 57	Curva analítica do padrão 1 – Naphthol.....	129
	<i>FIGURA</i> 58	Curva analítica do padrão Methiocarb.....	129
	<i>FIGURA</i> 59	Cromatogramas da adição e recuperação dos carbamatos.....	134
	e* equação		

LISTA DE SÍMBOLOS

B	Methiocarb		
C	Carbaryl		
D	Carbofuran		
E	3-Hydroxycarbofuran		
F	Aldicarb Sulfoxide		
G	Aldicarb Sulfone		
H	Methomyl		
I	1-Naphthol		
J	Oxamyl		
ACN	Acetonitrila		
ND	Não detectado		
ha	Hectares		
t	Toneladas		
a	Área		
ha⁻¹	Toneladas por hectares		
UI	Unidades internacionais		
FM	Fase móvel		
FE	Fase estacionária		
H₁	Altura do prato		
	Velocidade linear da fase		
??	móvel		
A₁	Dispersão de fluxo		
B₁	Difusão longitudinal		
	Transferência de massa		
C??			
H_{s2}	Resistência à transferência de massa na fase estacionária		
q₂	Fator de configuração		
	Constante depende da		
r₂	migração do soluto e da fase móvel		
	Espessura da fase		
d_{p2}	estacionária ou profundidade dos poros		
v₂	Vazão da fase móvel		
D_{s2}	Coefficiente de difusão do soluto na fase estacionária		
H_{d3}	Contribuição da difusão		
	molecular na altura do prato		
∂	Fator de difusão		
v₃	Velocidade de fluxo da fase móvel		
D_{m3}	Coefficiente de difusão do soluto na fase móvel		
H_{p4}	Contribuição do processo de caminhos múltiplos		
Λ₄	Absorbância		
d_{p4}	Diâmetro da partícula		
v_r	Volume necessário		
t_r	Tempo de retenção		
t_r'	Tempo de retenção ajustado		
t₀	Tempo de eluição de um soluto não retido		
t_m	Tempo de eluição da fase móvel		
K₅	Fator de retenção		
K₇'	Fator capacidade		
N_m	Número de moléculas na fase móvel		
N_e	Número de moléculas na fase estacionária		
u_x	Velocidade da amostra		
u_o	Velocidade da fase móvel		
R	Razão da migração quantitativa		
C	Concentração do soluto (2)		
σ	Desvio-padrão da distribuição		
F_v	Velocidade do fluxo		
α	Fator de separação		
K_a	Constante de distribuição da espécie A		
K_b	Constante de distribuição da espécie B		
Kgf	Kilograma força		
w_{0,5}	Meia altura		
w_b	Largura de um pico na linha de base		
psi	Libras por polegadas quadradas		

w_1, w_2	Largura dos picos na linha de base
V	Velocidade linear média
L	Comprimento
N	Número de pratos teóricos
H	Altura
	Desvio padrão
σ	
A_x	Área do pico do soluto x
K_1	Fator de calibração
X	Concentração do soluto
C_{ext}	Concentração do padrão externo
\hat{A}_p	Área do pico
A_{ext}	Áp. do padrão externo
A_x	Áp. correspondente ao componente x
A_{is}	Áp. correspondente ao componente is
W_{is}	Peso do componente is
W_s	Peso do componente s
is	Padrão interno
s	Amostra
f_r	Fator de resposta de referência

W_r	Concentração de referência
W_x	Concentração do soluto
A_r	Área de referência
A_{x1}	Área do soluto
T'_{r1}	Tempo corrigido
T'_{r2}	
K_1, K_2	Coefficientes de distribuição dos componentes 1 e 2
y	Resposta medida
x	Concentração
a	Inclinação da curva de calibração
b	Coefficiente linear
S	Sensibilidade
d_x	Varição da resposta
d_c	Varição da concentração
A_{30}	Absorvância
ϵ_{30}	Absortividade molar
b_{30}	Comprimento do percurso da célula
c_{30}	Concentração molar do componente
LD_{50}	Dose letal mediana
C	Concentração do composto
S_m	Média dos sinais obtidos
R_m	Média dos ruídos
R_s	Resolução

SUMÁRIO

	AGRADECIMENTOS	04
	RESUMO	07
	ABSTRACT	08
	LISTA DE TABELAS	09
	LISTA DE ABREVIÇÕES	10
	LISTA DE FIGURAS	11
	LISTA DE SÍMBOLOS	13
1.	INTRODUÇÃO	18
2.	OBJETIVOS	20
2.1	OBJETIVOS GERAIS	20
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
3.	JUSTIFICATIVA	20
4.	REVISÃO DA LITERATURA	21
4.1	CULTIVARES	24
4.2	PRAGAS	25
4.2.1	Doenças	28
4.2.2	Distúrbios Fisiológicos	38
4.2.3	Benefícios do Tomate	39
5.	TÉCNICAS ANALÍTICAS EMPREGADAS	40
5.1	CROMATOGRAFIA	40
5.1.1	Vantagens	42
5.1.2	Limitações	42
5.2	INSTRUMENTAÇÃO	43
5.2.1	Bombas	43
5.2.2	Solventes	44
5.2.3	Injetores	45
5.2.4	Detectores	46
5.2.5	Colunas	47
5.3	O PROCESSO CROMATOGRÁFICO	47
5.3.1	Considerações Teóricas	50
5.3.2	Cromatograma	53
5.3.3	Fator de Separação	55
5.3.4	Resolução	56
5.3.5	Eficiência da Coluna Empacotada	58
5.3.6	Interpretação de Dados	59
5.3.6.1	Padronização Externa	59
5.3.6.2	Padronização Interna	60
5.3.7	Detectores Utilizados	61
5.4	SPE	65
5.5	FIGURAS DE MÉRITO	66
5.5.1	Exatidão	66
5.5.2	Precisão	67
5.5.3	Linearidade	67
5.5.4	Limite de Detecção e Quantificação	67
5.5.5	Seletividade	68
5.5.6	Sensibilidade	69
5.5.7	Robustez	69
5.6	REVISÕES BIBLIOGRÁFICAS	69
6.	PESTICIDAS	82

6.1	HISTÓRICO.....	85
6.2	TOXICIDADE.....	89
6.3	BIOTRANSFORMAÇÃO.....	93
6.3.1	Sinais e Sintomas	95
6.4	CARBAMATOS.....	97
7.	MATERIAIS E MÉTODOS	112
7.1	METODOLOGIA.....	112
7.2	MATERIAIS E EQUIPAMENTOS.....	113
7.3	MATERIAIS, EQUIPAMENTOS E REAGENTES UTILIZADOS.....	113
7.4	AMOSTRAGEM.....	114
7.5	PRÉ-TRATAMENTO (EXTRAÇÃO I).....	115
7.6	EXTRAÇÃO II.....	116
7.7	MÉTODOS.....	116
7.8	CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS.....	117
8.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	118
9.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	139
10.	SUGESTÕES PARA ATIVIDADES FUTURAS	141
	REFERÊNCIAS	142
	ANEXO I	

1. INTRODUÇÃO

A origem do tomate (*Lycopersicum esculentum Mill*) remonta as regiões andinas de Peru, Bolívia e Equador. O fruto era chamado de *tomati* ou *jitomate*. Cultivado na América Central e no México e levado para a Europa no século XVI, seu consumo difundiu-se em meados do século XIX (EMBRAPA, 1993).

Segundo Fontes, P. C. R. (2002) quase em todo o mundo é plantado o tomateiro, destacando-se China com uma produção de 16.387 ha⁻¹ na produção de tomates: industrial e de mesa e nos Estados Unidos com 10.762 ha⁻¹, que juntos estes países produzem cerca de 30 % do cultivado no planeta. Os 70 % restantes da produção estão distribuídos em outros países, entre eles: Turquia (6.600 ha⁻¹), Egito (5.980 ha⁻¹), Itália (5.369 ha⁻¹), Brasil (2.692 ha⁻¹) com destaque em Holanda e Bélgica que produzem este vegetal em estufas.

No Brasil, os Estados produtores que se destacam são: São Paulo (com uma área de 10.160 ha e uma produção de 651.256 t), Rio de Janeiro, com uma área de 2.683 ha e uma produção de 203.361 t, Rio Grande do Sul (com uma área de 2.397 ha e uma produção de 106.849 t), e a região Centro-Oeste (com uma área de 14.634 ha e uma produção de 1.135.243 t). Estas produções correspondem a 80 % do volume de tomates comercializados no país (IBGE, 2011). Nos demais Estados, o tomate é cultivado apresentando uma produtividade média nacional é de 50.000 ha⁻¹. Estes dados fazem do Brasil o oitavo produtor de tomate do mundo com 3,5 milhões de toneladas do total de 63 mil ha, sendo 70 % da sua produção *in natura* (LUZ, F. J. de; SABOYA, R. C. C.; PEREIRA, P. R. V. da S., 2002).

O tomate é uma das hortaliças de consumo universal e uma das mais cultivadas no Brasil. Segundo o IBGE (2000), a produção média brasileira de 52,975 ha⁻¹, resultando em uma renda que ultrapassa um bilhão de reais (LUZ, F. J. de; SABOYA, R. C. C.; PEREIRA, P. R. V. da S., 2002). A produção média do tomate é de 3,6 milhões de toneladas destinadas ao mercado, cultivados em 60 mil hectares (AGRIANUAL, 2004). A tomaticultura, por demandar mão de obra, contribui para gerar empregos e também auxilia na fixação do homem no campo (HALFELD-VIEIRA, B. de A.; NECHET, K. de L.; MATTIONI, J. A. M., 2006).

Em Roraima até 1998, a produção não atendia a demanda do Estado, devido ao baixo nível tecnológico na cultura e por apresentar doenças, pragas, tratos, adubações inadequadas e uso de variedades não adaptadas ao cultivo na região. Dentre os municípios produtores deste vegetal, destacam-se: Amajari, Bonfim, Cantá, Mucajá, Normandia, Pacaraima e Rorainópolis. Além disso, os solos no Estado são pobres e ácidos, exigindo aplicação de fertilizantes químicos, adubos orgânicos e corretivos no solo para que o cultivo do tomate ocorra com sucesso e sem tantas perdas e prejuízos (LUZ, F. J. de; SABOYA, R. C. C.; PEREIRA, P. R. V. da S., 2002). A partir de 1999, Roraima deixou de importar o produto passando a produzi-lo para sua autossuficiência (HALFELD-VIEIRA, B. de A.; NECHET, K. de L.; MATTIONI, J. A. M., 2006).

Os tomates (*Lycopersicum esculentum* Mill) são produzidos no município do Alto Alegre e são vendidos na feira do Produtor em Boa Vista - RR. Segundo dados do IBGE, no ano de 2011, a área plantada e colhida neste município foi de 449 hectares, com a produção de 5.388 t e um rendimento de 12.000 ha⁻¹ (janeiro, fevereiro e março). Nos períodos de safra a área plantada é de 65.847 ha⁻¹ com a produção de 4.120.563 t e um rendimento de 62.641 ha⁻¹ (outubro, novembro e dezembro). Na entre safra (entre abril e setembro), o tomate é importado dos Estados: São Paulo, Minas Gerais e Bahia.

Neste trabalho foi estudado o limite máximo de resíduos (LMR) de pesticidas carbamatos em tomates *in natura* por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), por apresentar boa seletividade e sensibilidade para os compostos de carbamato após extração e separação em Fase Sólida (SPE), por sua rapidez, baixo custo e de fácil utilização.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Desenvolver e validar métodos para detectar resíduos de carbamatos por CLAE em tomates *in natura* produzidos em Alto Alegre-RR.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Utilizar o carvão ativado para extrair o betacaroteno das amostras e empregar a técnica SPE como pré-tratamento e *clean up* das amostras de tomates;
- Avaliar a eficiência do método por figuras de mérito;
- Desenvolver e validar um método analítico para determinação de carbamatos em amostras de tomates;
- Aplicar o método desenvolvido em amostras comerciais, provenientes de locais de vendas direto do consumidor;
- Avaliar se os LMRs excedem aos autorizados pela legislação em vigor.

3. JUSTIFICATIVA

O monitoramento de pesticidas presentes em culturas agrícolas permite avaliar a qualidade dos produtos, proporcionando a verificação das tendências relacionadas ao aumento destes.

O uso de carbamatos é comum nas culturas de tomate. Por isso, faz-se necessário dispor de um método analítico para determinar resíduos nesta cultura, garantindo assim o consumo saudável desta fruta.

4. REVISÃO DA LITERATURA

O tomateiro é uma planta perene de porte arbustivo cultivada como anual e extensivo, é uma das culturas que mais consomem adubos químicos, prefere solo com pH entre 6 e 6,5 e um clima tropical de altitude, ou subtropical fresco e seco, com uma boa luminosidade (FONTES, P. C. R., 2002).

Segundo Pereira, I. E. *et al apud* Filho, W. P. C., 1994, o tomateiro é uma planta dicotiledônea e com extraordinário número de variedades comerciais de tomates (FIGURA 01) existentes, sendo os mais plantados no Brasil classificados em três grupos: santa-cruz (frutos arredondados com peso médio de 70 a 110 g); salada ou caqui (achatados, com peso médio de 200 a 250 g) e cereja, “frutos em miniatura” (25 g).

Este vegetal é herbáceo com desenvolvimento de floema intraxilemático no caule, de folhas alternas, inteiras ou partidas, sem estípulas. Pequenas flores de coloração roxa, hermafroditas, diclamídeas, pentâmeras, de simetria radial (proporção semelhante) ou fracamente zigomorfa (*Petunia*), androceu (órgão masculino da flor) formado por cinco estames, alternos com os lobos da corola (conjunto de pétalas), às vezes abrindo por poros (*Solanum*) (JOLY, A. B., 1998).

FIGURA 01 – Espécie conhecida como caqui.



A classificação taxonômica do tomate (GIORDANO, L. B.; RIBEIRO, C. S. C., 2000):

Reino: *Plantae*

Filo: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordem: Tubiflorae

Família: Solanaceae

Gênero: *Solanum*

Espécie: *Solanum lycopersicum*.

Dentre as espécies da mesma família utilizadas na alimentação, podemos destacar: batata inglesa (*Solanum tuberosum*); berinjela (*Solanum melongena*); jurubeba (*Solanum paniculatum*) e outras (JOLY, A. B., 1998).

Dentro do gênero *Lycopersicon* há diversas espécies, entre elas: *L. esculentum*; *L. esculentum* var. *cerasiforme*; *L. pimpinellifolium*; *L. cheesmanii*; *L. parviflorum*; *L. chimielewskii*; *L. hirsutum*; *L. pennellii*; *L. peruvianum* e *L. chilense*, tais espécies cruzam entre si (WARNOCK, 1988).

O cultivo do tomate pode ser feito no campo, sem proteção ou em estufa (produzido em solo ou em hidroponia usando “NFT” – *Nutrient FilmTechnic*) (FONTES, P. C. R., 2002).

O tomate é uma fruta simples, denominado baga, com dois, três, quatro ou doze lóculos (FIGURA 02), sendo bilocular a plurilocular. O pericarpo é a parede do ovário que possui três camadas: exocarpo, mesocarpo e endocarpo (FONTES, P. C. R., 2002).

FIGURA 02 - Frutos do tomate com três, quatro e cinco lóculos.



A planta apresenta caule flexível e oco, não suportando o peso dos frutos na vertical. O fruto *in natura* é cultivado com tutoramento (FIGURA 03), enquanto o industrial é rasteiro (FILHO, W. P. C. *et al* 1994).

FIGURA 03 - Tutoramento do tomate no município de Alto Alegre.



Raiz napiforme, pelos viscosos, folhas lineares e recortadas. As flores do tomateiro são autopolonizadas necessitando de sofrer vibração por inseto ou vento para ocorrer à polinização (VEGETTI, A. C.; PILATTI, R. A., 1998). As flores são pequenas e amarelas (FIGURA 04) e agrupam-se em cachos terminais (FONTES, P. C. R., 2002).

A variedade dos frutos se dá de acordo com a forma; a cor (podendo-se apresentar amarelo, roxo, rosado e vermelho); e o tamanho, com sementes numerosas, por meio das quais a multiplicação se efetua (JOLY, A. B., 1998).

FIGURA 04 – Flores amarelas do tomateiro.



4.1 CULTIVARES

O processo de crescimento do tomate é dividido em determinado e indeterminado. O determinado são as variedades que são mais usadas para o cultivo industrial (em larga escala). Já o indeterminado são as variedades que precisam ser podadas continuamente.

Os cultivares são classificados segundo formato do fruto:

- Santa Cruz – (*Lycopersicum lycopersicum*) frutos alongados, ovalados ou arredondados, com dois a quatro lóbulos, com peso variando de 70 a 200 g (EMBRAPA, 1993), resistentes ao transporte; podendo variar o crescimento: indeterminado - plantas altas; determinado - plantas baixas (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1997). Exemplos: Atlas, Santa Cruz Kada, Ângela Gigante, C-38D, Dina, Santa Clara I e Jumbo (LUZ, F. J. de; SABOYA, R. C. C.; PEREIRA, P. R. V. da S., 2002).
- Salada – (*Lycopersicon esculentum*) frutos grandes, pluriloculares, arredondados ou achatados, com peso variando de 200 a 400 g (EMBRAPA, 1993) podendo variar o crescimento indeterminado ou determinado (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1990); com resistência ao transporte; conhecido como caqui (maçã), apreciado em salada. Exemplos: Floradel, Caraíba, Carmem, Tropic, Seculus e Heat Master (LUZ, F. J. de; SABOYA, R. C. C.; PEREIRA, P. R. V. da S., 2002).

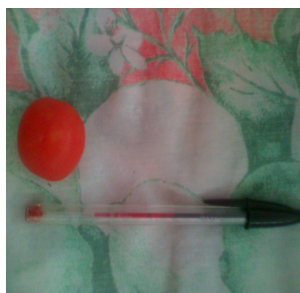
- Industrial ou Rasteiro – (*Lycopersicon esculentum* Mill), de pequeno porte, com dois a três cm de diâmetro (EMBRAPA, 1993), adaptado para produção em massa, FIGURA 05, crescimento determinado, frutos firmes pequenos a médios, bi ou triloculares, oblongos ou ovalados utilizados *in natura*. (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1990). Exemplos: IPA-6, Roma, Topmech e tomate regional do Alto Alegre, vulgarmente chamado como bicudinho (LUZ, F. J. de; SABOYA, R. C. C.; PEREIRA, P. R. V. da S., 2002).

FIGURA 05 – Tomates rasteiros ainda verdes no pé.



- Cereja – (*Solanumly copersicum* variedade *cerasiforme*) conhecido como minie ou coquetel, frutos pequenos (FIGURA 06), consumido *in natura* e que apresentou bom comportamento em plantio na época da seca em Roraima (LUZ, F. J. de; SABOYA, R. C. C.; PEREIRA, P. R. V. da S., 2002).

FIGURA 06 - Tomate Cereja.



4.2 PRAGAS

Nas áreas produtoras de tomate, as pragas comprometem o desenvolvimento desta cultura, são elas:

- Lagarta-Rosca (*Agrotis spp*), Lagarta-Militar (*Spodoptera frugiperda* e *S. littoralis*), Broca-Pequena (*Neoleucinodes elegantalis*) e Broca-Grande-dos-Frutos ou Broca-Grande (*Heliothis* ou *Helicoverpa zea*): lagartas de 4 a 5 centímetros de comprimento, com listras de cor verde e marrom. O adulto é uma mariposa. Perfuram os frutos, alimentando-se da polpa, inviabilizando a comercialização (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1997). Branqueiam os frutos e seccionam a planta (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002). As lagartas (Rosca, Militar, Broca-Pequena e Grande) devem ser combatidas com a eliminação das ervas daninhas ou com pulverizações de carbaryl (evitando sua reprodução) localizadas nos nichos (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).
- Ácaro do Bronzeamento ou micro ácaro (*Aculopsly copersici*): ácaro alongado e muito pequeno. Disseminado pelo vento. Devido sua infestação causa o bronzeamento e a posterior secagem das folhas e hastes (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002). As plantas infestadas possuem aspecto branco-acinzentado com uma proliferação anormal de pelos (erinese) e seus frutos ficam com pele áspera, não se desenvolvendo (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1990).
- Ácaro Rajado e Vermelho (*Tetranychus desertorum*): a coloração vermelha intensa observa-se nas fêmeas. Os ácaros alimentam-se da seiva e das folhas plenamente desenvolvidas e causam o branqueamento os frutos (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002). Recomenda-se a destruição dos restos da cultura após colheita e a eliminação da vegetação natural próxima à área plantada (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1990). No combate aos ácaros recomendam-se pulverizações de Vertimec que tem

grande eficácia no controle desta praga (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).

- Pulgões (*Myzus persicae* e *Macrosiphum euphorbiae*): insetos pequenos de coloração amarelada ou verde-escura possuem grande capacidade de reprodução e alojam-se na parte inferior das folhas e nos ramos, sugando a seiva. Ao alimentarem-se da seiva inoculam substâncias tóxicas através da saliva causando encarquilhamento das folhas (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1997) e transmitem viroses (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002). Por possuírem características de dispersão e migração, toda a área infestada deve ser pulverizada com pirimicarb (Pi-Rimor 500 PM) (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).
- Minador das Folhas (*Liriomyza* sp.) ou Larva Minadora (*L. trifolii*, *L. sativae*): as larvas tem coloração amarelo-esverdeada e alimentam-se dos tecidos foliares, abrindo galerias esbranquiçadas nas folhas que podem secar e cair. Quando adultos, tornam-se moscas de 2 milímetros (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1990) que minam as folhas reduzindo a capacidade fotossintética da planta (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002). Essas larvas devem ser combatidas com o uso de inseticidas adequados como piretróides (Deltametrina, Permetrina, produtos de Cyromazine etc.), Abamectin e fosforados, eficientes no controle das pragas (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).
- Mosca Branca (*Bemisia argentifolii* e *B. tabaci*): insetos sugadores de seiva e que colocam ovos que permanecem na face inferior da folha, onde se alimentam (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1990). O inseto, ao se alimentar, injeta uma toxina na planta, provocando o amadurecimento irregular e afetando a qualidade dos frutos esbranquiçados, com aspecto esponjoso ou “isoporizados” (HAJI, F. N. P. et al., 1996). A mosca branca é um hemíptero, mesma ordem dos pulgões e percevejos, e não díptero que é a ordem das moscas comuns. Afetam toda a planta, principalmente folhas e

botões e transmitem viroses (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002). Para combatê-la, devem-se adotar as seguintes medidas preventivas como usar sementes de boa qualidade, produzir mudas longe de áreas contaminadas, proteger a sementeira com plástico, tela ou tecido, selecionar mudas saudáveis, aplicar inseticidas antes do plantio, não transplantar antes dos 21 dias e podem-se aplicar óleos (0,5 a 0,8 %), sabões e detergentes neutros (0,5 %) em alta pressão; pois reduzem a oviposição de mosca branca e as ninfas não se alimentam, morrendo desidratadas. Utilizam-se diversos inseticidas como: ditiocarbamato (Carptan, Thiobel), fosforado (Tiomet 400 CE, Orthene 750 BR), fosforado mais piretróide (Deltaphos, Sumidan 25 CE etc.), piretróide (Bulldock 125 SC, Meothrin 300 etc.), neonicotinóide (Sauros PS), piridazinonas (Sanmite), piridil éter (Cordial 100, Iger 100 etc.) e tiodiazina (Applaud) (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).

- Traça-do-Tomateiro (*Tuta absoluta*): as lagartas são esverdeadas com 7 mm, alimentam-se de folhas, formam galerias nos frutos, colocam ovos e o indivíduo adulto é uma mariposa (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1990). Minam as folhas, branqueiam os frutos, secam os folíolos e podem causar a morte da planta (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002). Contra as traças do tomateiro deve-se adotar como medida preventiva a irrigação por aspersão que derrubam os ovos, larvas e pupas, diminuindo o potencial de multiplicação do inseto (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).
- Tripes (*Frankliniella spp.* e *Thrips tabaci*): esses insetos causam lesões nos ramos, folhas, flores e frutos, causam manchas e cicatrizes nos frutos e quedas em frutos recém-formados (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1990). Alguns tripes transmitem viroses (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002) e são controlados com eficácia por carbamatos sistêmicos (Sevin 480 SC, Larvin 800 WG, Lannate BR, Furazin 310 FS, Furadan 350 SC, Marshal 250 CE), por pulverizações no solo ou por produtos com ação de

contato (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).

4.2.1 Doenças

A rotação de culturas previne doenças e o tratamento mais eficiente é a prevenção. As doenças são causadas por bactérias, vírus, fungos ou nematoides; plantas afetadas têm uma difícil recuperação e diminuem a qualidade do produto comercializado (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1990). As doenças mais comuns são:

- Antracnose (*Colletotrichum phomoides*): tem como característica manchas castanho-cinzentas ou cor de salmão (esporos) e provoca podridão nos frutos. Penetra os frutos verdes ou maduros através de ferimentos e escoriações (GAYET, J. P. et al.,1995). Seu aparecimento é favorecido por altas temperaturas, pela presença de chuvas ou por irrigação por aspersão (KUROZAWA, C.; PAVAN, M., 1997). Ataca as raízes na forma de lesões cobertas com pequenos escleródios pretos (COSTA, M. H. D. et al., 2006).
- Bolor cinzento do fruto (*Botrytis cinera*): nos frutos verdes há formação de minúsculas pontuações verde claro ou com círculos prateados. Nos frutos maduros, aparece mofo de cor cinza, rachaduras e grande proliferação de fungos (GAYET, J. P. et al.,1995).
- Pinta Preta (*Alternaria solani*): é popularmente conhecida como mancha alternaria. Os cultivares do grupo Santa Cruz são os mais suscetíveis a essa infecção (GAYET, J. P. et al.,1995). A pinta preta causa lesões (em tons pardo-escuros) com anéis concêntricos e evidentes nas folhas mais velhas que espalham-se pelo caule e pelos frutos (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1990). Observa-se que os frutos são afetados em qualquer estágio de desenvolvimento, apodrecem e tornam-se escuros, firmes apenas na região do pedúnculo (GAYET, J. P. et al.,1995); já as suas folhas ficam cobertas com um mofo preto na superfície (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002). Essa doença é transmitida por sementes e para o controle deve-se pulverizar

com fungicidas registrados como: Azoxytrobin (Amistar), Calda bordalesa (Bordamil, Mildex), Captan (Captan), Ciprodinil (Unix), Clorotalonil (Bravonil, Daconil, Dacostar, Vanox etc.), Cúpricos (Agrinose, Coprantol, Copridol, Cupravit etc.), Difenconazole (Score), Iprodion (Rovral), Kresoxim-methyl (Stroby), Mancozeb (Dithane, Frumizeb, Mancozan, Manzate etc.), Maneb (Maneb), Prochloraz (Jade, Sportak), Pyremethanil (Mythos), Tebuconazole (Folicur, Elite) e Tetraconazole (Domark); incorporar restos culturais após a última colheita e fazer rotação de cultura com gramíneas (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).

- Septoriose (*Septoria copersici*): não existem cultivares resistentes à essa doença (LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C., 2005). Constatada somente no município de Pacaraima, (HALFELD-VIEIRA, B. de A.; NECHET, K. de L.; MATTIONI, J. A. M., 2006) é caracterizada por lesões no caule e nas folhas, manchas arredondadas e marrons escuras com o centro cinza-claro e pintas negras; as folhas secam, embora os frutos permaneçam sadios (LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C., 2005). Ocorre em períodos chuvosos e de noites quentes. Para seu combate recomenda-se pulverizar previamente com pesticidas registrados como: Azoxytrobin (Amistar), Benomil (Benlate), Calda bordalesa (Bordamil, Mildex), Captan (Captan), Carbendazin (Derosal), Clorotalonil (Bravonil, Daconil, Dacostar, Vanox etc.), Cúpricos (Agrinose, Coprantol, Copridol, Cupravit etc.), Difenconazole (Score), Kresoxim-methyl (Stroby), Mancozeb (Dithane, Frumizeb, Mancozan, Manzate etc.), Maneb (Maneb), Prochloraz (Jade, Sportak), Tebuconazole (Folicur, Elite), Tetraconazole (Domark), Tiofanato metílico (Cercobin, Fungiscar, Metiltiofan); rotação de culturas com gramíneas e incorporar restos de lavouras após a última colheita (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).
- Mancha-de-estenfilio (*Stemphylium solani* e *Stemphylium copersici*): manchas foliares (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002). Essa doença não afeta os frutos, porém queima as folhas formando lesões irregulares e pequenas, com tons de cor marrom à cinza (LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C.,

2005). Pode ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento da planta, desde a sementeira até as mudas recém-transplantadas (JONES, J. P., 1991; KUROZAWA, C.; PAVAN, M., 1997). Os fatores que favorecem o ataque desses fungos a cultura do tomate, bem como sua transmissão para as sementes deste, são as altas umidades e temperaturas e a deficiência nutricional. Recomendam-se, portanto, medidas de controle como o uso de cultivares resistentes e a destruição dos restos de lavouras, não deixando ocorrer desequilíbrios nutricionais nas plantas. As pulverizações preventivas de oxiclreto de cobre, chorotalonil ou tebuconazole também ajudam no combate a essa doença (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).

- Murcha-de-verticílio (*Verticillium dahliae*): é uma doença causada por fungos, caracterizada pela redução do crescimento da planta e atrofiamento dos sistemas radicular e vascular. Quando portadora dessa doença, os frutos do tomateiro tornam-se pequenos e deformados e suas folhas tornam-se amareladas ou necrosam, passando a apresentar formato de “V” invertido nas bordas. Se a infecção, causada por esses fungos, se alastrar por toda a planta pode chegar a matá-la (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002). Como medida de controle recomenda-se a mesma medida adotada para a doença da murcha de fusário (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).
- Murcha-de-fusário (*Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*): é uma infecção causada pelos esporos de fungos que caem nas folhas e caracterizada pela necrose do sistema vascular, atrofiamento das raízes e pela presença de manchas nas folhas, que ficam murchas e amarelas. Também é letal para a planta (JONES, J. P. et al., 1991; KUROZAWA, C.; PAVAN, M., 1997; LOPES, C. A. et al., 2005). As altas temperaturas e o baixo pH nos solos favorecem a infecção. Como medidas de controle recomendam-se o uso de cultivares resistentes e a rotação de culturas com gramíneas (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).

- Oídio (*Oidiopsisissicula* e *Erysiphesp.*): doença popularmente chamada de “cinza” é comum em folhas do tomateiro afetadas por duas espécies de oídio. *Oidiumneoly copersici* (oídio adaxial): clorose e necrose foliar e *Oidiopsis haplophylli* (oídio abaxial): manchas amarelas nas folhas (CAFÉ FILHO, A. C.; COELHO, M. V. S.; SOUZA, V. L., 2001). Encontram-se no interior das plantas, lesões cloróticas nas folhas e podem ser cobertas por um pó branco (KUROZAWA, C.; PAVAN, M., 1997). As plantas afetadas necrosam, ficam secas e quebradiças (LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C., 2005).
- Podridão-de-esclerotínia (*Sclerotinia sclerotiorum*): na base do caule fica esbranquiçado; no seu interior encontram-se fungos pretos; o caule murcha, podendo afetar os frutos e depois morte da planta (LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C., 2005). A mesma medida de prevenção da podridão-de-esclerócio é recomendada devendo-se também fazer a aplicação de fungicidas registrados para a doença logo ao perceber os primeiros sintomas (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).
- Podridão de phoma (*Phoma destructiva Plowrigh*): doença que ataca na maturação dos frutos e nas zonas concêntricas, ocasionando lesões circulares com fendas profundas e centro com tons de pardo escuro. Na última fase de desenvolvimento do fungo, as lesões ficam negras com pontuações salientes, que são as frutificações de fungos (GAYET, J. P. et al.,1995).
- Rizoctoniose ou Mela-de-Rizoctonia (*Rhizoctonia solani*): conhecida como podridão de rhizoctonia (GAYET, J. P. et al.,1995). Cancros amarronzados em plantas jovens, tombamento dos frutos, apodrecimento interno do fruto de cor marrom, recoberto de partículas de solo e encontra-se micélio esbranquiçado do fungo (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002; LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C., 2005). Ocorre devido ao excesso de irrigação e de chuvas durante a fase de maturação dos frutos. No controle da doença recomenda-se não plantar em solos compactados, evitar locais favoráveis à incidência da doença, utilizar espaçamento adequado, planejar o plantio para evitar a

ocorrência de chuvas e controlar o excesso de água na floração e frutificação dos frutos (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).

- Mosaico-Dourado (*Geminivirus*): a planta fica subdesenvolvida e as folhas deformadas com uma cor amarelada (LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C., 2005).
- Cancro-Bacteriano (*Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*): pode aparecer em qualquer estágio de desenvolvimento da planta (GAYET, J. P. et al.,1995). A medula torna-se descolorida e esfarelada. Provoca infecção vascular, queda dos frutos, lesões marrom-claras nos pedúnculos dos frutos e secagem das folhas (LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C., 2005), conhecido como olho-de-perdiz ou olho de passarinho (LOPES, C. A., 2000). Provoca murcha total ou parcial da planta e escurecimento vascular (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002). A bactéria penetra nas raízes ou por ferimentos superficiais e se desloca para todas as partes da planta e é transmitida por sementes, por temperaturas menores que 25 °C e alta umidade do ar (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).
- Mancha-Bacteriana (*Xanthomonas campestris pv. vesicatoria*): manchas foliares com halo amarelo, de formato irregular (HALFELD-VIEIRA, B. de A.; NECHET, K. de L. ; MATTIONI, J. A. M., 2006). Provoca queima da folhagem de baixo para cima; manchas necróticas no caule, pecíolo e pedúnculo (LOPES, C. A., 2000). Encontra-se nos frutos, lesões esbranquiçadas na fase inicial, evoluindo para marrom com um halo verde em torno das lesões (LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C., 2005). Quando a doença está evoluída causa a queima foliar intensa (HALFELD-VIEIRA, B. de A.; NECHET, K. de L.; MATTIONI, J. A. M., 2006). Essa doença é de fácil disseminação nas folhas e frutos, transmitida pelas sementes, favorecida pela alta umidade e temperaturas elevadas (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002; FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).

- Pinta-Bacteriana (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*): são lesões necróticas parecidas com as da mancha-bacteriana nas folhas, porém, com um círculo amarelo brilhante e escuro nos frutos (LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C., 2005). Provocam manchas foliares, frutos com pontuações negras, ocorrem queda de flores na floração e é transmitida pelas sementes (LOPES, C. A., 2000; FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002). Essa doença ocorre em baixas temperaturas e alta umidade do ar (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).
- Talo-ôco ou Podridão-Mole (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*): encontrada principalmente no período chuvoso ou sob irrigação exagerada (HALFELD-VIEIRA, B. de A.; NECHET, K. de L.; MATTIONI, J. A. M., 2006), a bactéria penetra no caule causando escurecimento, destrói, murcha e mata a planta (LOPES, C. A., 2000). Causa danos à medula (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002) e a infecção se estabelece por um ferimento na planta. Frutos danificados por traça e broca ficam: escuros, moles, podres, com cheiro desagradável e aderidos à planta. Por isso é importante combater as traças e brocas para que não machuquem os frutos e/ou permitam o contato com essa bactéria (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997; LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C., 2005).

Cabe salientar que para o combate das doenças bacterianas (Pinta-bacteriana, Mancha-bacteriana, Cancro-bacteriano, Murcha-bacteriana e Talo-ocô) devem-se adotar medidas preventivas de manejo integrado como: eliminar plantas doentes, rotação de culturas, adubação equilibrada, sementes de boa qualidade, irrigação controlada, evitar ferimentos nas plantas, pulverizar com fungicidas cúpricos ou antibióticos, integrando sempre que possível a utilização de cultivares resistentes à essas doenças (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).

- Requeima ou Mela (*Phytophthora infestans*): conhecida como míldio ou fitoftora (GAYET, J. P. et al.,1995). São manchas irregulares de cor verde-escuras ou castanhas com tamanhos variáveis, encontradas nas folhas,

caule, ramos ou frutos. No início da doença o caule escurece e torna-se quebradiço (LOPES, C. A., 2000). Depois de instalada, os frutos apresentam consistência firme, porém estão apodrecidos (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1997). Como medida de controle deve-se evitar o excesso de irrigação e o plantio em locais frios e úmidos. Pulveriza-se previamente com pesticidas registrados como: Calda bordalesa (Bordamil, Mildex), Captan (Captan), Clorotalonil (Bravonil, Daconil, Dacostar, Vanox etc.), Cúpricos (Agrinose, Coprantol, Copridol, Cupravit etc.), Cymoxanil (Curzate M, Zinco, Equation), Dimethomorph (Forum), Mancozeb (Dithane, Frumizeb, Mancozan, Manzate etc.), Maneb (Maneb), Metalaxil (Ridomil, Ridomil-Mancozeb, Ridomil-Gold, Folio) e Propamocarb (Previcur, Tatro C). (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).

- Tombamento: é a queda da planta para o lado depois de vários ataques de fungos, o melhor tratamento é o substrato utilizado na semeadura (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1997). Causado por *Pythium*, caracterizado por excesso de umidade do solo. A doença causa redução no caule, apodrecimento e morte da planta (HALFELD-VIEIRA, B. de A.; NECHET, K. de L.; MATTIONI, J. A. M., 2006).
- Mancha-alvo (*Corynespora cassiicola*): doença disseminada pelo vento causa manchas circulares com anéis concêntricos. Com o progresso da doença, as manchas evoluem para queima foliar intensa (HALFELD-VIEIRA, B. de A.; NECHET, K. de L.; MATTIONI, J. A. M., 2006).
- Mancha fuliginosa de cercospora (*Pseudocercospora fuligena*): constatada no Estado em setembro de 2005. A folha adquire coloração: cinza-escuro na face inferior e uma mancha amarela na face superior (HALFELD-VIEIRA, B. de A.; NECHET, K. de L.; MATTIONI, J. A. M., 2006).
- Murcha-Bacteriana (*Pseudomonas solanacearum* *Ralstonia solanacearum*): caracterizada pelo escurecimento dos vasos (HALFELD-VIEIRA, B. de A.; NECHET, K. de L.; MATTIONI, J. A. M., 2006). Na parte

inferior do caule, a planta torna-se amarronzada e ocorre a exsudação de pus bacteriano, podendo ser constatada com o teste do copo (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002). A planta murcha ainda em pé, logo depois morre (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1990). A perda da turgescência dos tecidos foliares é sua principal característica (LOPES, C. A., 2000) e, associada a um grupo de espécies de plantas hospedeiras, pode permanecer no solo por anos. Pode ser transmitida pela água, por implementos e por máquinas contaminadas (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).

- Murcha-de-esclerócio ou Podridão-de-esclerócio (*Sclerotium rolfsii*): afeta outras culturas além do tomate, como alface, amendoim, cenoura, quiabo etc. Caracterizada pelo crescimento semelhante a algodão na base do caule e notam-se estruturas esféricas em forma de anéis denominadas escleródios (HALFELD-VIEIRA, B. de A.; NECHET, K. de L.; MATTIONI, J. A. M., 2006). As plantas afetadas apresentam podridão mole e aquosa nas folhas, hastes e frutos (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002). O fungo sobrevive por anos no solo e recomenda-se o uso de pesticidas cúpricos e de cultivares resistentes, evitar o excesso de água no solo e planejar o plantio para evitar as chuvas na fase de maturação e frutificação dos frutos (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).

- Galhas ou Nematóide ou Nematóides das Galhas (*Meloidogyne incógnita*, *M. hapla*, *M. javanica* e *M. arenaria*): são vermes invisíveis (fitonematóides) que atacam as raízes formando tumores no sistema radicular (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1990). Característica: redução do porte das plantas, amarelamento de folhas (HALFELD-VIEIRA, B. de A.; NECHET, K. de L.; MATTIONI, J. A. M., 2006), as folhas murcham, nota-se engrossamento excessivo das raízes (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1997; LOPES, C. A., 2000) e o desenvolvimento de cloroses, podendo levar a morte da planta (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002). Medidas preventivas recomendadas: rotação de culturas, fazer aração profunda para

expor o solo ao sol antes da gradagem, aplicação de esterco de gado ou galinha, utilização do bagaço de cana e o controle químico deve ser utilizado como prevenção – pesticidas como: brometo de metila, dazomet (Basamid), metam sódio (Bunema), carbofuran (Furadan) e aldicarb (Temik) (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).

- Vírus: organismo patogênico que se desenvolve por insetos portadores. As principais viroses transmitidas por insetos vetores (tripes, pulgões e cigarrinhas), por vegetais, pessoas ou instrumentos contaminados (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1990).

- Mosaico do Tabaco, Mosaico-do-fumo e Mosaico-do-Tomateiro (*Tobacco mosaic virus/Tomato mosaic virus*, TMV/ToMV); (*Tobaccoetch virus*, TEV): não se conhece o vetor natural desta virose, porém o vírus é transmitido pelas sementes. As folhas apresentam rugosidade e amarelamento. Características da doença: nanismo, descoloração dos frutos, necrose interna vascular e/ou bronzeamento na superfície do fruto (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002; LOPES, C. A., 2000).

- Viroses transmitidas por pulgões: Mosaico Amarelo das Cucurbitáceas (*Cucumber mosaic virus*, CMV); Vírus Y da batateira (*Potato virus Y*, PVY); *Pepper veinal mottle virus*, PVMV; *Chili veinal mottle virus*, CVMV ou ChiVMV. Como características, apresentam folhas reduzidas e frutos deformados, causam manchas de mosaico e necrose de folhas e dos caules (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002).

- Topo-Amarelo e Amarelo-Baixeiro (*Potato leaf roll virus*, PLRV): caracterizada por folíolos pequenos amarelos, enrolados para cima e folhas amarelas e cloróticas (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002).

- Vírus do bronzeamento do tomateiro (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV): possuem como características o crescimento reduzido da planta, as

folhas tornam-se amarelas e os frutos adquirem anéis característicos de cor verde, amarelo e vermelho com forma de “olho de boi” (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002).

- Vírus do frisado amarelo do tomateiro (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV): têm como consequência o nanismo, as plantas infectadas têm forma ereta, folhas amarelas e encrespadas para baixo ou para cima (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002).

A principal característica das viroses é o retardamento do desenvolvimento do fruto e deformação de caules e folhas (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1990); clorose (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002). As viroses devem ser controladas por todos os produtores da região fazendo um tratamento preventivo das sementes em solução 10 % de fosfato trisódico (Na_3PO_4) por 15 minutos ou com uma solução de 0,6 Normal de ácido clorídrico (HCL) por 3 horas em locais afetados (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).

4.2.2 Distúrbios Fisiológicos

Ocorre devido a desequilíbrios hídricos ou nutricionais, algumas vezes confundidos como doenças, os mais comuns são:

- Podridão Apical: causada pela deficiência de cálcio e por falta ou excesso de água (HALFELD-VIEIRA, B. de A.; NECHET, K. de L.; MATTIONI, J. A. M., 2006). Caracterizada como uma mancha marrom escura torna o fruto imprestável para a comercialização. Observa-se apodrecimento na parte inferior do fruto, que fica de coloração marrom (HALFELD-VIEIRA, B. de A.; NECHET, K. de L.; MATTIONI, J. A. M., 2006). Conhecida como fundo preta, logo diagnosticada na fase inicial, pode-se usar uma solução de cloreto de cálcio (CaCl_2) a 0,4 % (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1990).
- Rachaduras: os frutos racham como se estivessem aumentando de volume, inviáveis para a comercialização facilitam a entrada de pragas e doenças

(HALFELD-VIEIRA, B. de A.; NECHET, K. de L.; MATTIONI, J. A. M., 2006). Ocorrem devido a várias precipitações pluviométricas fora da época, variações bruscas de temperaturas diurna/noturna ou por irrigações irregulares (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1990).

- Lóculo Aberto: provocado pela deficiência de boro, ocorre rachaduras e podridões nos frutos (FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da, 2002), deformações e cicatrizes no fruto do grupo Salada (LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de, 1990). Recomenda-se como medidas de controle nos distúrbios fisiológicos: fertilização química balanceada com macro e micronutrientes, calagem com calcário dolomítico 3 meses antes do plantio, aplicações de cloreto de cálcio via foliar a 0,6 % e cultivares resistentes aos distúrbios (FRANÇA, F. H. et al; 1992; LOURENÇÃO, A. L., et al; 1994; VILLAS BÔAS, G. L. et al, 1997).

4.2.3 Benefícios do Tomate

Vitaminas são micronutrientes essenciais à dieta humana, sendo substâncias orgânicas complexas que ocorrem naturalmente em tecidos vegetais e animais, exercendo papel fundamental no controle de vários processos metabólicos. Solubilizam-se em gorduras ou em água (MACONDES, E., 1985). Atuam como cofatores nas atividades enzimáticas desempenhando papel vital no metabolismo celular (TEIXEIRA NETO, F., 2003).

Vitamina é uma palavra que se originou do termo “*Vital Amine*”, criado por Casimir Funk em 1911 (para expressar o “fator beribéri”). O nome evoluiu para “*vitamin*”, em inglês, e passou a designar, a seguir, toda uma classe de substâncias complexas e essenciais à vida (TEIXEIRA NETO, F., 2003).

As vitaminas são necessárias, em pequenas quantidades, para o funcionamento normal do metabolismo e são armazenadas para todas as células. A ausência delas na dieta causam *déficits* metabólicos específicos (GUYTON, A. C.; HALL, J. E., 2002).

As 13 vitaminas são obtidas através dos alimentos e essenciais em nutrição (ZANINI, A. C.; OGA, S., 1985). Divididas em dois grupos, conforme suas

características químicas: as lipossolúveis (solúveis nos lipídios e solventes) e insolúveis em água (E, A, D, e K) e as hidrossolúveis devem ser ingeridas a curtos intervalos, pois são facilmente absorvidas (C, B₁, e vitaminas do Complexo B), tiamina, riboflavina, piridoxina, ácido fólico e pantotênico (vitamina B₅), biotina (SACKHEIM, I. G.; LEHMAN, D. D., 2001). Possuem funções catalíticas, atuando como coenzimas de reações enzimáticas (ZANINI, A. C.; OGA, S., 1985).

Segundo Fontes, P. C. R. (2002) o tomate é rico por possuir altos teores de potássio (280 mg/100 g) e vitamina C (22 mg/100 g), licopeno (10 mg/100 g), beta-caroteno, compostos fenólicos, *lignans* (precursores de fito-hormônio), folatos (inibidores no sangue de acúmulo de homocisteína). Apresentam vitaminas A, E (750 UI/100 g) e sais minerais, importante dentro de uma dieta saudável (HALFELD-VIEIRA, B. de A.; NECHET, K. de L.; MATTIONI, J. A. M., 2006). A ingestão regular de tomate decresce o risco de câncer nas vias respiratórias, no esôfago, na próstata, nos ovários, no estômago e no pulmão (FONTES, P. C. R., 2002), doenças degenerativas e cardiovasculares, afirmam os estudos clínicos e epidemiológicos (MEDEIROS, M. A. de et al., 2009; CARVALHO, J. L. de; PAGLIUCA, L. G, 2007).

5. TÉCNICAS ANALÍTICAS EMPREGADAS

5.1 CROMATOGRAFIA

Segundo a União Internacional da Química Pura e Aplicada (IUPAC), a cromatografia é uma técnica usada para separação dos componentes de uma amostra com duas fases, que estão em contato íntimo: uma das fases permanece estacionária, enquanto a outra se move através dela (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000). A multiplicidade das combinações entre as duas fases torna essa técnica extremamente versátil e com uma vasta aplicação (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G.; 2009). Esta técnica físico-química ocupa um lugar de destaque devido na análise química e devido à facilidade com que efetua separação, identificação e quantificação das espécies químicas (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

A Cromatografia pode ser classificada como: *planar* ou em *coluna*. *Planar* com a fase móvel (líquido) e fase estacionária diferente, em camada fina (delgada) e em

papel, apresenta caráter de colunas abertas, análises rápidas e de baixo custo (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000). Em *coluna* com três fases móveis diferentes: gás, fluido supercrítico e líquido. Onde, comumente, seu empacotamento é realizado com sílica gel (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000).

A CLAE (FIGURA 07) é um tipo de cromatografia líquida que emprega colunas recheadas com materiais especialmente preparados e uma fase móvel, eluída sobre altas pressões, utilizando instrumentos como acessórios que podem ser totalmente automatizados (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

O avanço da técnica só ocorreu depois da década de 70, essencialmente subdesenvolvida no início do século, denominando de cromatografia líquida clássica (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006). Este avanço foi gradual e atingindo o atual nível de sofisticação. A partir de 1968 foi possível recheiar colunas com partículas de pequenas dimensões, necessárias para alta resolução e, também, produzir e comercializar equipamentos que funcionam em altas pressões, necessárias em uma boa velocidade de eluição (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003).

Com o desenvolvimento de vários detectores espectrofotométricos que operam em comprimentos de onda variável houve um aumento na utilização dos detectores por fluorescência, eletroquímicos e por fluorescência induzida por laser, com acoplamento no espectrômetro de massas. Devido estes detectores, tornou-se possível a análise de traços em amostras complexas, como: sangue, urina, solo, alimentos, petróleo etc (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

Com o desenvolvimento da *Cromatografia Líquida de Alta Pressão (High Pressure Liquid Chromatography)* foi constatado que o diferencial de comportamento dessa técnica em relação às demais cromatografias, não era a maior pressão, mas o melhor desempenho cromatográfico.

As principais aplicações da CLAE em: pesticidas, herbicidas, lipídeos, aminoácidos, carboidratos, análises qualitativas e quantitativas de ácidos nucleicos, polímeros etc (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000).

FIGURA 07: Sistema CLAE.



5.1.1 Vantagens

Separações de misturas complexas; rapidez com que os resultados são obtidos; realiza análises quantitativas e possibilidade de análises não destrutiva de quantidades reduzidas de amostra; boa detectabilidade (medidas ao nível de 10^{-9} g nanogramas e 10^{-12} g picogramas); versatilidade (menos para amostras gasosas) e mecanização (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000). Essa mecanização (sistemas que injetam a amostra automaticamente) é aplicada ao emprego de microcomputadores acoplados ao sistema cromatográfico (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

5.1.2 Limitações

Alto custo de operação (reposições do sistema cromatográfico, despesas contínuas e necessárias), alto custo da instrumentação, inexistência de um bom detector universal e de operadores experientes (COLLINS, Carol H.; BRAGA, Gilberto L.; BONATO, Pierina S., 2006).

5.2 INSTRUMENTAÇÃO

5.2.1 Bombas

A função das bombas é manter uma alta pressão para que o fluxo possa sobrepor à resistência das micropartículas da fase estacionária (FE) empacotadas na coluna (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003). A bomba deve ter a capacidade de impulsionar a fase móvel (FM), podendo ter ou não dispositivos de mistura proporcional (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003).

As características básicas das bombas são trabalhar a baixas e altas pressões, livre de pulsação, resistentes a FM agressivas, reprodutibilidade de fluxo, pequeno volume interno e fluxo constante a curtos e longos prazos (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003).

Os vários tipos de bombas são: as **pneumáticas** (com amplificadores, são empregadas no enchimento de colunas), de baixo custo, simples, livres de pulsação, não podem ser adaptadas para eluição por gradiente, com capacidade de pressão e saída limitadas e vazões dependentes da viscosidade do solvente, não são utilizadas em CLAE. As de **seringas** são pouco usadas devido ao alto custo, acionada por rosca com pequena capacidade (~250 mL) utilizadas em micro CLAE, bomba Tandem (dois pistões de tamanhos diferentes com velocidades diferentes) e bomba diafragma, também chamada recíproca (substitui o pistão por um diafragma) com um, dois, três pistões, representam 85 % das utilizadas em CLAE (AQUINO NETO, F. R., 2003; CASS, Q. B., 2009; SKOOG, D. A. et al., 2006).

As bombas **recíprocas** escoam volumes constantes de forma não contínua, isto é, pulsante (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006). Possui uma câmara principal cilíndrica que é preenchida e esvaziada pela movimentação do pistão (de ida e vinda), com volume interno pequeno, altas pressões de saída (até 10.000 psi – libras por polegadas quadradas), adaptam-se a eluição por gradiente e vazões constantes (SKOOG, D. A. et al., 2006) .

As bombas atuais operam em pressões de no máximo 500 bar (7.000 psi) com fluxos de 0,01-10 mL min⁻¹ (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009).

A pressão de trabalho gira em torno de 80 a 350 atm. O cabeçote da bomba é o responsável pela alta pressão. Encontra-se nele as válvulas de retenção (*check-valves* – entrada/saída: feitas de aço ou de material biocompatível na parte externa, possuem uma ou duas esferas de rubi para garantir a vedação), o pistão de safira, quartzo ou titânio (possui dureza 9 e alta fragilidade) e os selos do pistão - material inerte: grafite ou teflon, facilita o deslocamento do pistão e evita perda da FM (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003).

O sistema de bombeamento pode ser:

- isocrático – FM permanece constante durante toda a análise, podendo ter um único solvente ou uma mistura de solventes (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003; HARRIS, D. C., 2001).
- gradiente – FM varia durante a análise. Empregado para análises complexas. O sistema gradiente de baixa pressão utiliza-se de 2 a 4 solventes (canais), regulando-se o ciclo de abertura de cada válvula solenóide individual enquanto no sistema gradiente de alta pressão, o solvente bombeado é misturado à alta pressão, ou seja, pressão da bomba, em câmara de baixo volume (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003; HARRIS, D. C., 2001).

5.2.2 Solventes

Antes do uso, os solventes são purgados para retirar o ar dissolvido (bolhas) que criam dificuldades com as bombas, colunas e detectores (HARRIS, D. C., 2001). A escolha do solvente é importante. Nos detectores espectrofotométricos é usual escolher um que seja transparente no comprimento de onda de trabalho, os solventes perfeitos são metanol com comprimento de onda de 205 nm e acetonitrila com comprimento de onda de 190 nm (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003).

Na fase normal: utilizam-se solventes apolares como: éteres (etílico, propílico e isopropílico), hidrocarbonetos halogenados e alifáticos (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003).

Na fase reversa, a água é o solvente mais usado e deve ser ultra purificada; o dioxano pela alta viscosidade é usado apenas como aditivo e em pequenas porções; tetraidrofurano (THF), comercializado como antioxidantes tendem a formar peróxidos; methanol é o modificador mais utilizado, misturado com água e tampões; a acetonitrila é a primeira alternativa depois do methanol e deve ser armazenado ao abrigo da luz (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003).

Os aditivos na fase reversa são constituídos por misturas de solventes polares, adicionando-se ou não aditivos, as FM podem ser empregadas com solventes tanto na fase normal quanto na fase reversa (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003).

5.2.3 Injetores

A introdução da amostra era feita, inicialmente, por microseringas, atualmente são utilizados injetores de válvula, com alça de amostragem (*loop*) externa com tubulações de volume preciso com duas posições de válvulas *load* e *inject* apresentada na FIGURA 08, (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009).

FIGURA 08 – *Load e Inject*.

Fonte: MCMASTER, 1994.

Alças de amostragem de tamanhos diferentes contêm volumes numa faixa de 2 a 1000 μL (HARRIS, D. C., 2001).

Alças intercambiáveis estão disponíveis para a escolha do volume da amostra de 5 a 500 μL (SKOOG, D. A. et al., 2006). É recomendável a lavagem da alça antes da injeção da amostra para assegurar a remoção de resíduos (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009).

Existem dois tipos de injetores:

- os manuais: ocorrem com uma seringa, de forma a se encher um loop de volume fixo (20 μ L), situado em uma válvula rotativa (Rheodyne ou Valco), que transfere imediatamente a amostra para a coluna (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003).
- os automáticos (auto Sampler): eficientes, maior reprodutibilidade e de baixo custo. Aplicado para um número alto de amostras a serem analisadas por dia (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003), sem a presença do analista (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009).

Os injetores automáticos foram utilizados neste trabalho devido à quantidade de análises realizadas por dia (no mínimo sete). Antes de qualquer análise, a purificação das bombas e dos injetores (40 minutos) era necessária para eliminação de substâncias estranhas.

5.2.4 Detectores

São os mais caros componentes do sistema. Olho do sistema cromatográfico, o detector monitora a FM à medida que elui na coluna (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003). Medem as mudanças de concentração ou a massa dos compostos da amostra que está deixando a coluna (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

Alguns critérios para a escolha do detector: estabilidade nas mudanças de composição da FM e na temperatura, repetibilidade (reprodutibilidade durante as análises), sensibilidade (é a razão entre a resposta do detector e a quantidade da amostra), linearidade (todo detector torna-se não linear quando a quantidade de amostra é aumentada) e seletividade (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009; AQUINO NETO, F. R., 2003).

O detector recebe e fornece o sinal que representa a quantidade do componente de interesse no eluente da coluna. Tipos de detectores: UV ou UV/Visível, índice de refração, condutividade elétrica, fluorescência, eletroquímico e amperométrico (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003).

Os detectores são divididos em duas classes de (VOGEL, J. M., 2002):

- Propriedades macroscópicas – na FM medem as alterações físicas do soluto;
- Propriedades do soluto – são seletivos, independentes da FM, respondem a uma dada propriedade física ou química do soluto.

5.2.5 Colunas

São de aço inoxidável com tamanho variável de 10-30 cm de comprimento e de diâmetro interno com ≤ 1 mm capilares; 2, 3, 4, 5 e 6 mm analíticas e 10 mm preparativas (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

A coluna analítica responsável pela separação dos componentes presentes na amostra é protegida por uma pequena pré-coluna (chamada de proteção ou de guarda). Instalada entre o injetor e a coluna de trabalho tem a finalidade de não contaminar a coluna, evitando que impurezas presentes na amostra degradem-na (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006). Pode ser trocada periodicamente, aumentando a vida útil da coluna principal (HARRIS, D. C., 2001; SKOOG, D. A. et al., 2006).

O recheio mais comum para as colunas de CLAE são partículas de sílica e outros materiais: alumina, polímeros porosos e resinas de troca iônica (SKOOG, D. A. et al., 2006).

5.3 O PROCESSO CROMATOGRÁFICO

O processo cromatográfico consiste na partição dos componentes de uma mistura entre a fase móvel (FM) e a fase estacionária (FE). No caso da cromatografia gasosa, o fluido é um gás e na cromatografia líquida o fluido é um solvente. Na cromatografia líquida, a fase estacionária é constituída de partículas sólidas empacotadas em uma coluna, a qual é atravessada pela fase móvel. São as

forças físicas e químicas que atuam entre os solutos e as duas fases são responsáveis pela retenção dos solutos sobre a coluna cromatográfica. A diferença na magnitude dessas forças determina a resolução e, portanto, a separação dos solutos individuais (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

As forças elementares que agem sobre as moléculas são de seis tipos: forças de dispersão de London ou forças de Van der Waals; interações de dipolo induzido; ligações de hidrogênio; interações dielétricas; interações eletrostáticas e coulombianas (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

De acordo com estas interações e com a troca da fase estacionária e da fase móvel pode-se haver oito tipos de mecanismo de separação em CLAE, utilizando o mesmo equipamento. As separações podem ser divididas em (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006):

- Cromatografia Líquida — Sólido (adsorção): as moléculas da FM competem pelos sítios de adsorção polar com as do soluto (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003). O equilíbrio entre as duas fases justifica a separação dos diferentes solutos (HARRIS, D. C., 2001). Empregada na análise de: ácidos graxos, alcoóis, alcaloides, aminas, antioxidantes, barbitúricos, corantes, esteroides, fenóis, lipídeos, vitaminas etc (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).
- Cromatografia Líquida — Líquida (partição): o mecanismo utilizado nessa separação baseia-se nas diferentes solubilidades que apresentam os componentes da amostra, estando o soluto em equilíbrio entre as duas fases (HARRIS, D. C., 2001). Os solutos apolares preferem a FM e são eluídos primeiros, enquanto os solutos polares preferem FE e serão eluídos posteriormente (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003). Empregadas na análise de compostos polares com massas molares inferiores a 2.000 (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).
- Cromatografia Líquida de Troca Iônica: a fase estacionária é um tipo de fase ligada com grupos iônicos [ânions como: $-\text{SO}^{-3}$ ou cátions $-\text{N}(\text{CH}_3)^{3+}$] que tem contra - íons (carga oposta) que deslocam os íons dissolvidos na FM (líquido) de cargas similares (HARRIS, D. C., 2001). Empregadas na análise

de compostos separados por ácidos carboxílicos, bases orgânicas, peptídeos, aminoácidos e ácidos nucleicos (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

- **Exclusão Molecular:** ocorre segundo ordem decrescente de tamanho molecular, diferente das outras técnicas, não há interações atrativas entre a FE e o soluto (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003; HARRIS, D. C., 2001). Dependendo do solvente que compõe a FM, ela pode ser: (CFG, *Gel Filtration Chromatography*, GFC) cromatografia por filtração em gel, onde separa-se proteínas, peptídeos, ácidos nucleicos e oligossacarídeos; usa-se a FM aquosa e (CPG, *Gel Permeation Chromatography*, GPC), cromatografia por permeação em gel, empregada na determinação da massa molecular de polímeros naturais ou sintéticos e para separação de células e partículas (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003); usa-se FM orgânica (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).
- **Cromatografia por Afinidade:** conhecida como CB (cromatografia por bioafinidade) e HIC (cromatografia de interação hidrofóbica) ocorre separações devido às interações bioquímicas altamente específicas. Aplicada para analisar, purificar e separar: proteínas, lipídeos etc (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003). Inclui também purificação específica e enriquecimento de biomoléculas ou seus substratos (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).
- **Cromatografia com fase ligada (CLAE-FL):** essa técnica baseia-se na partição, apresenta influência de grupos ativos (polares) na própria fase estacionária ou na superfície do suporte mecanismo de adsorção (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006). A FE apresenta diversos tipos de seletividade de acordo com os grupos funcionais, podendo ser de natureza polar ou Fase Normal: FE polar e FM apolar; e apolar ou Fase Reversa: FE apolar e FM polar (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003).

- A CLAE-PI (cromatografia líquida por pares de íons) é uma forma especial dessa técnica empregada na determinação de compostos ácidos, básicos e neutros. Usam-se colunas de fase reversa por ter vida longa e reprodutibilidade (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).
- Cromatografia Líquida Quiral (CLQ): empregada na separação de enantiômeros (isômeros cujas imagens especulares não são sobreponíveis). Os compostos quirais separados pela CLAE é feita por dois métodos: direto (fases estacionárias quirais) e indireto (fases estacionárias não-quirais), envolvendo a formação de derivados diastereoisoméricos (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

5.3.1 Considerações Teóricas

Na CLAE existem três mecanismos que devem ser controlados e considerados que ocorrem na interface. São processos físicos responsáveis pelo alargamento de bandas: efeitos de transferência de massa, difusão longitudinal ou molecular e dispersão de fluxo (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009; VOGEL, J. M., 2002). Esses 3 fatores respondem diferentemente à variação da velocidade da FM. A eficiência da coluna, está diretamente relacionada com a velocidade da FM, mas o efeito global pode ser descrito pela expressão 01 de van Deemter (HOLLER et al., 2002):

$$1 H = A + Bv + Cv$$

Onde H_1 é a altura do prato, uma medida de eficiência, v_1 a velocidade linear

1

da FM através da coluna, A_1 , B_1 , C_1 são coeficientes relacionados com os fenômenos de transportes em que, A corresponde a dispersão de fluxo, B a difusão longitudinal

e C a transferência de massa (VOGEL, J. M., 2002).

☐☐

1. Efeitos de transferência de massa – uma coluna cromatográfica opera sob condições de não-equilíbrio: as moléculas do analito são arrastadas para frente antes de terem entrado em equilíbrio com a FE (retida), como consequência: algumas moléculas são deixadas para trás devido ao rápido movimento da FM. Com isso, surgem vários alargamentos de bandas (HOLLER et al., 2002). Quanto maior for a velocidade da FM, maior será o alargamento das bandas (VOGEL, J. M., 2002). Existem diferenças de fluxo em um mesmo caminho seguido pela FM (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009).

Na resistência e na transferência de massa, os parâmetros que contribuem para a dispersão dos picos podem ser descritos segundo a expressão 02 (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000):

$$2 H_s = q \cdot r \cdot dp \cdot vDs$$

Em que: H_{s2} é a resistência à transferência de massa na FE, q_2 é o fator de configuração (depende FE), r_2 a constante depende da migração do soluto e da FM, d_{p2} é a espessura da FE ou profundidade dos poros, v_2 a vazão da FM e D_{s2} , o coeficiente de difusão do soluto na FE.

As diferenças nas transferências de massa correspondem a:

- Transferência de massa na FM Estagnada – algumas moléculas se difundem enquanto outras ficam estagnadas, resultando os alargamentos de bandas (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009).
- Transferência de massa na FE – diferenças de difusão das moléculas nos poros (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009).

2. Difusão longitudinal ou molecular – é um processo de alargamento de banda no qual o soluto se espalha na direção paralela e oposta ao fluxo da FM (HOLLER et al., 2002). Ocorre quando o tempo de permanência do soluto na coluna é maior, com isso diminui a sua eficiência (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000; VOGEL, J. M., 2002). As moléculas do soluto tendem a difundir-se em todas as direções. Quando um soluto é introduzido numa FM líquida, as moléculas por difusão se deslocarão em todas as direções. Na FE essa difusão pode ser ignorada, mas na FM ocorre o efeito do deslocamento das bandas, sendo a difusão molecular estimada pela expressão 03 (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000; CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009):

$$3 H_d = 2 \cdot \partial \cdot D_{mv}$$

Em que: H_{d3} é contribuição da difusão molecular na altura do prato, ∂_3 o fator de difusão, D_{m3} é o coeficiente de difusão do soluto na FM e v_3 a velocidade de fluxo da FM (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000).

3. Dispersão de fluxo – também chamado Difusão de *Eddy* ou caminhos múltiplos, descreve os vários caminhos que as moléculas do soluto percorrem ao passar pela coluna (VOGEL, J. M., 2002).

A vazão da FM depende do enchimento da coluna. Algumas moléculas eluem mais rápido do que outras, a diferença nas velocidades irá causar a difusão dos picos e ocorrerá o alargamento das bandas, devido aos diferentes caminhos seguidos pela FM, de acordo com a expressão 04 (CASS, Q. B.; 2009; CIENFUEGOS, F., 2000):

$$4 H_p = 2 \cdot \lambda \cdot d_p$$

Em que: H_{p4} é a contribuição do processo de caminhos múltiplos na altura do prato, λ_4 é a constante que depende da uniformidade e tamanho do recheio da coluna e qualidade do seu empacotamento e d_{p4} é o diâmetro da partícula.

Uma molécula pode encontrar na FE vários caminhos, surgindo assim um alargamento da zona (HOLLER et al., 2002).

Em velocidades baixas da FM, as moléculas não são dispersadas pela multiplicidade de caminhos devido à FE, mas em velocidades altas, não há tempo suficiente para ocorrer a difusão e como consequência surgem os alargamentos das bandas (HOLLER et al., 2002).

5.3.2 Cromatograma

Cromatograma é um gráfico que o registrador envia como sinais, mostra a resposta de um detector em função do tempo de eluição. Útil tanto para análise qualitativa ou quantitativa (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000; HARRIS, D. C., 2001).

Tempo de retenção, t_{r5} , em cada componente é o tempo necessário após a injeção da mistura na coluna até aquele componente alcançar o detector e o t_{05} é o tempo de eluição de um soluto não retido. O número relativo, volume retenção, v_r , é o volume necessário de FM para eluir o soluto dissolvido da coluna (HARRIS, D. C., 2001). O fator de retenção (k_5) é descrito pela equação 05:

$$5 K = \frac{t_r - t_0}{t_0}$$

No tempo mínimo possível, t_{m6} , a FM não retirada percorre a coluna. Tempo de retenção ajustado (t'_{r6}) para um soluto é o tempo adicional necessário para a substância percorrer o comprimento da coluna, além do tempo utilizado pelo solvente não retido, tem a equação 06 (HARRIS, D. C., 2001):

$$6 t'_r = t_r - t_m$$

O fator capacidade, k'_7 , também chamado de fator retenção, razão de retenção ou razão de partição, para cada pico no cromatograma, é correlacionado com seu tempo de retenção (t_{r7}) e o tempo de eluição da fase móvel (t_{m7}), descrito pela equação 07 (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009; HARRIS, D. C., 2001):

$$7 K' = t_r - t_{m0}$$

K é a razão entre o número de moléculas do soluto na FE e na FM, medida adimensional, descrito pela equação 08 (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009):

$$8 K = N_e / N_m$$

Em que: N_e é o número de moléculas na fase estacionária e N_m é o número de moléculas na fase móvel.

A medida de migração quantitativa é a razão entre a velocidade da FM e da amostra, sendo descrito pela equação 09 (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009):

$$9 R = u_x / u_0$$

Em que: u_x é a velocidade da amostra, u_0 é a velocidade da fase móvel.

Se $R = 0$ não haverá migração, porém se $R = 1$, as moléculas do soluto se movem na mesma velocidade da FM, sendo t_0 é a medida entre a injeção e o máximo do pico e t_r é o tempo de eluição de um soluto não retido, conforme a equação 10 (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009):

$$10 R = \frac{t_r}{t_0} = \frac{t_r}{t_0}$$

Ainda pode estar relacionado com o número de moléculas na FM em qualquer tempo, então pode ser descrito pela equação 11 (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009):

$$11 R = \frac{f_m}{N_m} = \frac{N_m}{N_m + N_e}$$

Em que: R é a retenção que é uma medida quantitativa da migração, f_m é a fase móvel, N_m é o número de moléculas na fase móvel e N_e é o número de moléculas na fase estacionária.

Quando um componente fica retido muito tempo pela coluna, maior será o fator capacidade. Para analisar o desempenho de uma determinada coluna deve-se medir periodicamente o fator capacidade de um padrão, o número de pratos e a assimetria de pico, já que mudanças observadas nesses parâmetros refletem degradação da coluna (HARRIS, D. C., 2001).

Os componentes que são mais fortemente retidos na FE movem-se muito lentamente pela FM. Ao contrário, os componentes que se ligam mais fracamente à FE, movem-se mais rapidamente. Como consequência dessas diferenças na mobilidade, os componentes da amostra se separam em bandas ou zonas discretas que podem ser analisadas, tanto de forma qualitativa e/ou quantitativa (HARRIS, D. C., 2001).

A concentração do soluto (C_{12}) deve ser calculada utilizando a equação 12 (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009):

$$C_{12} = \frac{M_{12}}{F_{v12} \cdot \sigma \cdot \pi \cdot e^{-\frac{(t_r - t_0)^2}{2\sigma^2}}}$$

Em que: F_{v12} é a velocidade do fluxo, σ é o desvio-padrão da distribuição,

M_{12} a massa injetada e t_r o tempo de retenção.

5.3.3 Fator de Separação

O fator de separação pode ser alterado por variações na FM ou FE devido à temperatura, pH e a força iônica, pode ser descrito pela equação 13 e diz respeito à distribuição de uma substância em dois meios imiscíveis que estão em contato (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009).

O fator de separação α é sempre menor que um para duas espécies, em uma coluna:

$$\alpha = \frac{K_b}{K_a}$$

Em que: K_a é a constante de distribuição da espécie A e K_b é a constante de distribuição da espécie B (HOLLER et al., 2002).

5.3.4 Resolução

A resolução é a habilidade em separar dois analitos, ela pode ser melhorada aumentando o número de pratos (HOLLER et al., 2002).

Para medir a qualidade da separação pode-se estimar de três formas diferentes conforme mostrado a seguir (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009):

Para picos resolvidos sendo $R_s > 1,0$, utiliza-se a equação 14:

$$14 \quad R_s = \frac{t_2 - t_1}{W_1 + W_2}$$

Em que: R_s é a resolução, t_2 e t_1 são tempos de retenções, w_1 e w_2 são larguras de picos na linha de base.

Para comparação com curvas de resolução padrão, para $0,4 < R_s < 1,3$ utiliza-se a equação 15:

$$15 \quad R_s = 1,18 \frac{t_2 - t_1}{W_{0,51} + W_{0,52}}$$

Em que: $w_{0,51}$ e $w_{0,52}$ são larguras de picos na linha de base.

Para cálculos baseados no vale entre duas bandas, para $0,8 < R_s < 1,5$, em que a resolução para cada par de pico é calculada pela equação 16:

$$16 \quad R_s = \frac{t_2 - t_1}{W_2 + W_1} = 2 \Delta t / (W_2 + W_1)$$

Em que t_{r2} e t_{r1} são os tempos de retenção (tempo que o analito demora para atingir o detector) dos componentes 2 e 1, respectivamente considerando a injeção da amostra, w_1 e w_2 são as larguras dos picos na linha de base, respectivamente para os analitos 1 e 2 (HOLLER et al., 2002). A resolução depende da largura e da distância entre os máximos dos picos, t_m ou t_o é o tempo morto (entre os pontos de injeção e o de detecção) ou volume morto (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000).

Quando w_1 e w_2 se igualam (os picos bem definidos), a resolução pode ser expressa como na equação 17:

$$17 R = 2\Delta t w_1 \text{ OU } R = \Delta t w_2$$

Em que Δt é a variação de tempo de retenção, w_1 e w_2 são larguras de picos na linha de base.

A separação dos picos depende da natureza das fases FM e FE. Quanto mais estreitos e agudos forem os picos, gerados em um cromatograma, mais eficiente será a separação obtida por uma coluna (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000).

A velocidade linear média (V) de migração do soluto é a mesma que a velocidade de migração de espécies não-retidas e o deslocamento das moléculas da FM é representada pela equação 18 (HOLLER et al., 2002):

$$18 V = L t_r$$

Sendo L_{18} é o comprimento da FE. A velocidade do movimento das moléculas na FM é (u), definida pela equação 19 (HOLLER et al., 2002):

$$19 \ u=Ltm$$

O tempo morto (t_{m1}) é necessário para que as moléculas sejam arrastadas pela FM (HOLLER et al., 2002).

5.3.5 Eficiência da Coluna Empacotada

A eficiência da separação aumenta à medida que o número de pratos torna-se maior e a altura do prato diminui. Em cada prato ocorre o equilíbrio do soluto entre a FM e a FE definida pela equação 20 (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009):

$$20 \ N=LH$$

Em que L_{20} é o comprimento da coluna, N o número de pratos teóricos, H a altura (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009; HOLLER et al., 2002).

A equação 21 define a relação entre a altura do pico e o comprimento da coluna e o desvio padrão obtido a partir das bandas no cromatogramas, sendo estimada por:

$$21 H = \sigma^2 L$$

Em que: σ é o desvio padrão, H é a altura e L é o comprimento (HOLLER et al., 2002).

A largura de uma banda está relacionada ao tempo de residência das moléculas na coluna e relacionada com a velocidade na FM (HOLLER et al., 2002).

A determinação deste parâmetro avalia a performance da coluna, admitindo-se uma escolha adequada das condições, sendo estimado pela equação 22 (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009) :

$$22 N = \frac{t_r}{\sigma^2} \text{ e } \sigma = W_{0,5} \cdot 2,345 = W_b \cdot 4$$

Em que: $w_{0,5}$ meia altura e w_b é a largura de um pico na linha de base. Logo a equação 23 (CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G., 2009):

$$23 N = \frac{16 t_r^2}{W_b^2} \text{ e } N = \frac{5,54 t_r^2}{W_{0,5}^2}$$

5.3.6 Interpretação dos Dados

As frações separadas dos componentes da amostra são registrados através do sinal do detector que é um gráfico chamado de cromatograma (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000).

5.3.6.1 Padronização Externa:

É o método mais utilizado. Técnica para análise de compostos simples ou misturas, feitos através de uma curva analítica. A concentração do soluto é dada pela equação 24:

$$24 \quad X = \frac{A_x}{K_{24}} \cdot 100$$

Em que: A_{x24} é a área do pico do soluto x, K_{24} o fator de calibração e X a concentração do soluto (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000). Assim a equação 25 é:

$$25 \quad K = \frac{C_{ext} \cdot A_{ext}}{A_x}$$

Sendo: C_{ext} é a concentração do padrão externo e A_{ext} a área do pico do padrão externo (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000).

5.3.6.2 Padronização Interna:

Para esta interpretação adicionam-se quantidades medidas de um padrão, podendo assim eliminar erros de procedimentos ou equipamentos. Adicionando antes do processo de separação, pode compensar erros na preparação da amostra (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000). O cálculo da concentração percentual de um soluto X em uma amostra pode ser feito pela equação 26:

$$26 \quad \% X = \frac{A_x A_{is} \cdot f_x}{f_{is} \cdot W_{is} W_s} \cdot 100$$

Em que: A_x é a área do pico correspondente ao componente x, A_{is} é a área do pico correspondente ao componente is, W_{is} o peso do componente is, W_s o peso do componente s, is é o padrão interno e s a amostra. Utiliza-se curva de calibração (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000).

O fator de resposta é utilizado para calibrar o método, definido por 27:

$$27 \quad f = \frac{A_r A_x \cdot W_x}{W_r \cdot A_{x1}}$$

Em que: A_r é a área de referência (da substância-padrão), A_{x1} é a área do soluto, W_x a concentração do soluto, W_r a concentração da referência (da

substância-padrão), f_r é o fator de resposta da referência da substância-padrão (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000).

A seletividade da coluna é medida pela separação dos picos, em que pode ser estimada pela equação 28 (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000)

$$28 \alpha = \frac{t_{r2} - t_0}{t_{r1} - t_0} = \frac{t'_{r2}}{t'_{r1}} = K_b K_a$$

Sendo: t_{r1} e t_{r2} são tempos de retenção dos componentes 1 e 2, t_0 é o tempo morto, t'_{r1} e t'_{r2} são tempos corrigidos ou relativos, K_a e K_b são coeficientes de distribuição dos componentes 1 e 2, α é o fator de separação, K é o fator de capacidade que recebe nomes especiais dependendo do tipo de cromatografia e é expresso pela equação 29:

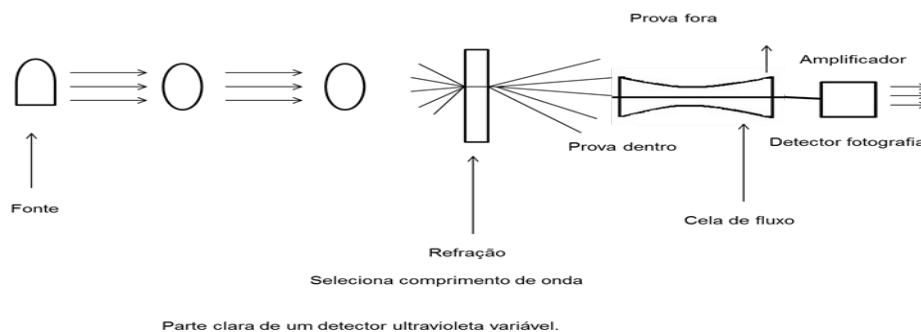
$$29 K = \frac{n^\circ \text{ de moles de soluto na FE}}{n^\circ \text{ de moles de soluto na FM}}$$

5.3.7 Detectores Utilizados

Os cromatógrafos apresentam detectores empregados na região do ultravioleta (FIGURA 09) menos influenciados pela troca de solventes, que apresentam limite de detecção na ordem de $1 \times 10^{-9} \text{ g mL}^{-1}$ (VOGEL, J. M., 2002), destes detectores podem ser de comprimento de onda fixo (fotométricos) ou variável (espectrofotométricos). São sensíveis e precisos e utilizam frente comprimento de

onda de 254 nm (nanômetro) e 280 nm, quando utilizam uma lâmpada de mercúrio. A luz da lâmpada atravessa uma lente de quartzo e após atravessarem as células de detecção e referência voltam a passar pela lente de quartzo, onde é filtrada no comprimento de onda escolhido e então é medido na célula fotocondutiva (HARRIS, D. C., 2001; CIENFUEGOS, F., 2000).

FIGURA 09 – Parte interna (clara) do detector ultravioleta.



Fonte: McMASTER, 1994.

Fonte: McMaster, 1994.

Os fotométricos possuem um ou dois comprimentos de onda fixo, são sensíveis, econômicos e obtêm bons resultados no comprimento da onda onde opera, porém insensíveis às variações de vazão e de temperatura (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

Os mais versáteis usam lâmpadas de deutério (UV), xenônio ou tungstênio (vis), que utiliza monocromadores no lugar de filtros (HARRIS, D. C., 2001; CIENFUEGOS, F., 2000; SKOOG, D. A. et al., 2006). Cobrem a faixa de 190 a 800 nm. Aplicação variada, porém são os mais caros.

Segundo a Lei de Beer, expresso pela equação 30:

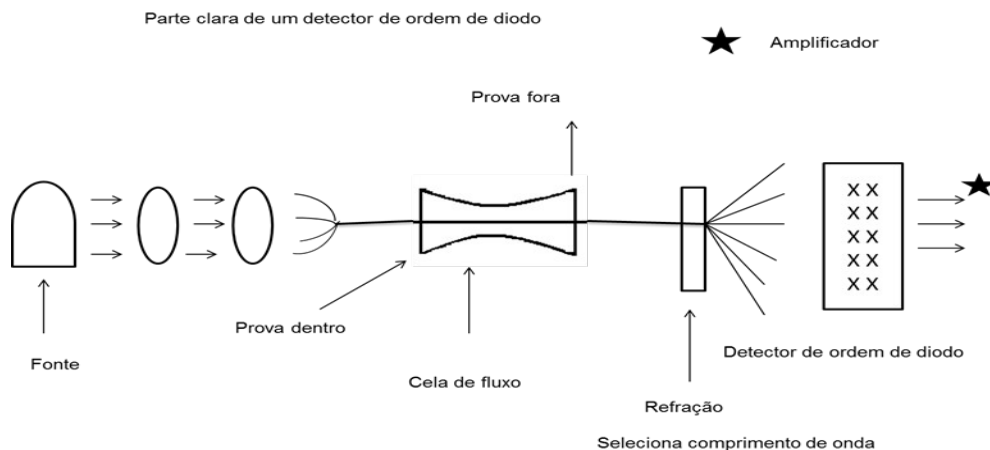
$$30 A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Em que: A_{30} é a absorvância, ϵ a absorvidade molar da substância, b_{30} o comprimento do percurso da célula e c_{30} é a concentração molar do componente. A concentração da amostra está relacionada com a fração de luz transmitida (CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D.; 2000). O detector opera na ordem de décimos (10^{-10} g) de nanograma (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

As vantagens dos detectores espectrofotométricos apresentam maior detectabilidade e seletividade, eficiência na eluição por gradiente e obtêm-se o espectro de absorvância de cada componente esperado (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

Os mais poderosos detectores espectrofotométricos são equipados com arranjo de diodos (FIGURA 10), chamado de detectores de malha de fotodiodos ou DAD (*Diode Array Detector*), que utiliza um sistema óptico invertido com um conjunto de fotocélulas ou fotodiodos montados sobre um *chip* de silício (CIENFUEGOS, F., 2000; SKOOG, D. A. et al., 2006). Estes detectam vários comprimentos de onda simultaneamente, cobrindo uma faixa de 256 até 1.024 nm (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

FIGURA 10: Esquema de um detector com arranjo de fotodiodo.



Fonte: McMASTER, 1994.

Fonte: McMaster, 1994.

No arranjo de diodos a cela é uma cubeta de fluxo contínuo de microdimensões por onde passa o efluente da coluna. Encontram-se dois tipos de celas: as de configuração em Z que minimizam regiões de fluxo estagnado e reduzem a cauda dos picos e as de configuração cônica que reduzem reflexões internas e efeitos de reflexão da luz (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

As vantagens da utilização desse tipo de detector é a obtenção dos espectros tridimensionais, melhor detectabilidade, permite a subtração dos cromatogramas que diminui o ruído durante a eluição por gradiente, pureza do pico cromatográfico (se a razão da absorvância é constante sobre a largura de um pico, ele é puro, porém, se a razão não é constante, significa que o pico é impuro), e é possível obter e armazenar o espectro da substância relativa a cada pico durante a corrida (em análises qualitativas, a identificação pode ser feita por comparação com um padrão ou uma biblioteca *on-line*) (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

O princípio da fluorescência é que o feixe de luz emitido pela fonte promove a excitação do analito e este ao retornar ao estado fundamental emite luz de comprimento de onda diferente. Isto ocorre porque no retorno ao estado, o analito passa por pelo menos um nível intermediário com energia diferente e é a energia

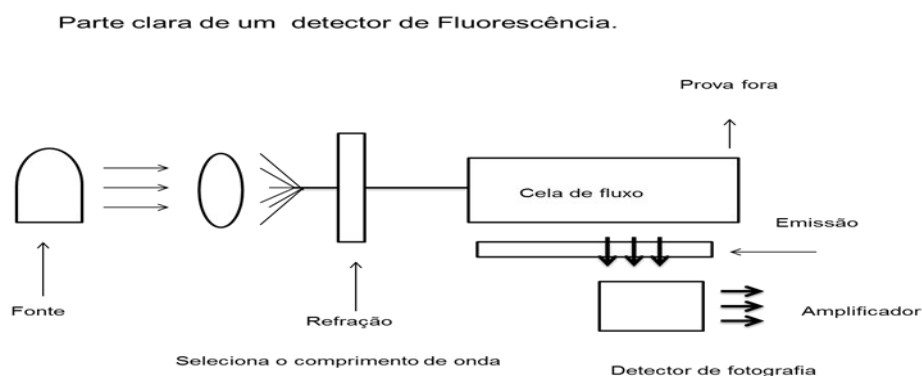
emitida pela amostra que alcança o detector (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

O detector de fluorescência é muito sensível, mas de aplicação limitada. Este detector é empregado para análise de substâncias que apresentam fluorescência "natural", ou por derivatização pré ou pós-coluna através de um reativo fluorogênico (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

O detector fotoelétrico posiciona-se perpendicularmente ao feixe de excitação para permitir que somente o feixe emitido pelo analito seja medido (HARRISD. C., 2001; CIENFUEGOS, F., 2000; HOLLER et al., 2002).

Detectores que utilizam filtros são denominados fluorimétricos (FIGURA 11) e os que empregam monocromadores são chamados espectrofluorimétricos. Detecta quantidades na ordem de picograma (10^{-12} g) ou menos. Sua aplicação é direcionada aos destilados de petróleo, análises de alimentos e produtos farmacêuticos (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

FIGURA 11 – Esquema de um detector fluorimétrico.



Fonte: McMASTER, 1994.

Fonte: McMaster, 1994.

A fase móvel deve ser selecionada com cuidado porque a intensidade de emissão depende do meio em que a amostra se encontra. Isto dificulta algumas aplicações, pois a presença de oxigênio nessa fase anula o sinal de fluorescência (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006).

Os detectores simples utilizam um ou mais filtros para isolar uma banda de emissão, empregando mercúrio como fonte de excitação. Os sofisticados utilizam

monocromadores de rede para isolar o feixe de emissão e o xenônio como fonte de excitação (HOLLER, J. F; SKOOG, D. A.; NIEMAN, T. A., 2002).

5.4 SPE

A extração em fase sólida (EFS, *Solid Phase Extraction*, SPE) é realizada como uma cromatografia em coluna, caracterizada pelo uso de colunas de vidro com diâmetros de 0,5 a 3,0 cm; surgiu em meados da década de 70. A SPE é mostrada na FIGURA 12, que também é conhecida como cromatografia líquida clássica ou cromatografia convencional é uma das técnicas mais comuns presentes em laboratórios modernos para separação líquido-sólido de baixa pressão e emprega cartucho de extração (LANÇAS, F. M.; 2004). Sua importância para o tratamento de amostras é que se apresenta versátil, de fácil automação (pode-se acelerar o processo de eluição empregando vácuo, pressão ou centrifugação), rapidez, extração eficiente dos analitos, concentração e pré-purificação (AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S., 2003; VOGEL, J. M., 2002).

A SPE é empregada com o propósito de isolar os analitos de interesse na matriz para análise posterior, se encontra disponível em instrumentos para uso *on-line*: UV, HPLC, CG etc (LANÇAS, F. M.; 2004).

FIGURA 12: SPE.



As principais etapas da aplicação da SPE estão listadas a seguir (LANÇAS, F. M.; 2004):

- *condicionamento* — que tem a função de ativar o material existente no cartucho. O solvente dependerá do material a ser ativado. Para permitir excelente eficiência, não se deve deixar que o cartucho resseque, ou seja,

não se deve deixar que o solvente seja totalmente eliminado. Caso ocorra, deve-se repetir o processo para não permitir que a separação fique comprometida.

- *percolação da amostra* — é a lavagem com solvente (*solvent wash*) para eliminar os interferentes indesejáveis.
- *isolamento do analito* — na limpeza da amostra (*clean-up*) o objetivo é isolar o analito de interesse dos interferentes indesejáveis na matriz.
- *eluição* — eluir os analitos de interesse em um pequeno volume de eluente, de forma que a solução coletada seja apropriada para a análise; ou seja, permite a concentração dos analitos até que se atinja a faixa desejada.

5.5 FIGURAS DE MÉRITO

Validação do Método analítico é uma avaliação dos resultados obtidos que permite garantir que sua utilização seja confiável e interpretável em um tipo de amostra assegurando sua eficiência (INMETRO, 2003; RIBANI, M. et al., 2004; SKOOG, D. A. et al., 2006).

5.5.1 Exatidão

É o grau de concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como verdadeiro (INMETRO, 2003; LEITE, F., 2002). Quando aplicada a uma série de resultados de ensaio, implica estabelecer uma tendência de componentes em erros aleatórios e sistemáticos. Para avaliar a exatidão de um método é necessário o uso de materiais de referência, comparações interlaboratoriais e ensaios de recuperação (INMETRO, 2003; SKOOG, D. A. et al., 2006).

5.5.2 Precisão

Avalia a dispersão de resultados entre os vários valores obtidos (INMETRO, 2003; SKOOG, D. A. et al., 2006). As formas comuns de expressá-la são por meio da repetibilidade (a mesma amostra é analisada de forma repetitiva) e a reprodutibilidade (dois resultados diferentes obtidos para amostras do mesmo ponto da coleta), sendo representada pelo desvio padrão em relação à concentração do analito (LEITE, F., 2002; SKOOG, D. A. et al., 2006).

5.5.3 Linearidade

É a capacidade que um método analítico tem de produzir resultados proporcionais à concentração dos analitos na amostra em uma faixa de concentração que expresse como função uma reta (RIBANI, M. et al., 2004). A expressão matemática obtida é usada para calcular a concentração do analito na amostra real sendo dada pela equação 31 (INMETRO, 2003; SKOOG, D. A. et al., 2006):

$$31 \ y = ax + b$$

Em que: y_{31} é a resposta medida em absorbância, altura ou área do pico; x_{31} é a concentração; a_{31} inclinação da curva de calibração ou sensibilidade; b_{31} é o coeficiente linear ou interseção com o eixo y, quando x é igual a zero (SKOOG, D. A. et al., 2006).

Determina a região da curva na qual a relação direta sinal/concentração em que há uma sucessão de pontos (crescente ou decrescente) que viabiliza a análise do resultado (LEITE, F., 2002).

5.5.4 Limite de Detecção e Quantificação

Os limites de detecção e quantificação são afetados pelo tipo de detector empregado para avaliar as amostras. Quando realizadas análise de traços, faz-se necessário conhecer o menor valor de concentração do analito ou da propriedade que pode ser detectado pelo método (INMETRO, 2003; SKOOG, D. A. et al., 2006).

O limite de detecção (LD) é a menor concentração do analito detectada na amostra, porém não quantificada, sob as condições experimentais estabelecidas. Recomenda-se que o LD seja de 2 a 3 vezes superior ao ruído da linha de base (INMETRO, 2003).

O limite de quantificação (LQ) é a menor concentração do analito detectável com nível de precisão e veracidade, utilizando um procedimento experimental (INMETRO, 2003; RIBANI, M. et al., 2004).

O limite de detecção do equipamento (LDE) tem que estar dentro da faixa de sensibilidade do equipamento. Definido como um sinal de concentração do analito que produz um sinal de três a cinco vezes a razão ruído/sinal do equipamento. Serve como guia para determinar o limite de detecção do método (LEITE, F., 2002; RIBANI, M. et al., 2004).

O limite de detecção do método (LDM) é definido como a menor concentração de uma substância a ser analisada e declarada com 95 % ou com 99 % de confiança, sendo a concentração do analito maior que zero. Determinado através de um ensaio de uma dada matriz contendo o analito e a aplicado a uma grande variedade de tipos de amostras (LEITE, F., 2002; SKOOG, D. A. et al., 2006).

5.5.5 Seletividade

A seletividade avalia de forma correta os componentes que podem interferir na determinação de uma amostra, garantindo que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse (SKOOG, D. A. et al., 2006). Um método com uma única resposta para um analito é específico, quando possui várias respostas com uma característica em comum a vários analitos, não distingue a resposta de um analito para outro e não é seletivo. Ao contrário um detector seletivo

é capaz de distinguir um determinado analito diante de outras espécies químicas sem interferência (LEITE, F., 2002; RIBANI, M. et al., 2004).

5.5.6 Sensibilidade

Depende da natureza da amostra e da técnica de detecção escolhida. Diferencia dois valores de concentração próximos. Demonstra a variação da resposta em função da concentração do analito, expresso pela equação 32:

$$32 S = dx/dc$$

Em que: S é a sensibilidade; d_x é a variação da resposta; d_c é a variação da concentração (INMETRO, 2003; SKOOG, D. A. et al., 2006).

5.5.7 Robustez

A robustez mede a sensibilidade a pequenas variações em um determinado método. Insensível a variações quando o método está sendo executado (LEITE, F., 2002; RIBANI, M. et al., 2004). Se o método permanece robusto é porque seus parâmetros não foram afetados nas pequenas variações por propriedades como: pH, temperatura, composição da FM etc (INMETRO, 2003; SKOOG, D. A. et al., 2006).

5.6 REVISÕES BIBLIOGRÁFICAS

O método 531.1 proposto pela Environmental Protection Agency (EPA) determina carbamatos e carbamoiloxímicos em águas por injeção direta. Utiliza-se

SPE (C_{18}) *on-line* com HPLC equipado com fase reversa com coluna C_{18} . Após eluição da coluna, os analitos são hidrolisados numa reação pós-coluna com 0,075 N de hidróxido de sódio (NaOH) de 80 até 100°C para formar metilamina ao reagir com metil-o-ftalaldeído (OPA) e 2-mercaptoetanol (ou N, N-dimetil-2-mercaptoetilamina) para formar um composto altamente fluorescente, que é detectado por um detector de fluorescência.

Garrido, J. et al. (1997) coletaram 200 amostras (maçãs e peras para detecção do composto imazalil em GC/NPD e uvas e morangos para a detecção do composto carbendazim em HPLC-UV em 10 diferentes supermercados, no período de janeiro a junho de 1997 para monitoramento de resíduos no Programa de Higiene Alimentar na Espanha. A metodologia analítica proposta empregou HPLC-UV para o composto carbendazim e GC/NPD para o composto imazalil. A linearidade da resposta para o carbendazim variou 0,2 a 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 0,1 a 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ imazalil. Os limites de detecção foram de 0,01 mg kg^{-1} para o carbendazim e de 0,005 mg kg^{-1} para o imazalil. A recuperação foi 77 a 92 % para os compostos avaliados. A reprodutibilidade, repetibilidade e recuperações dos resultados foram considerados adequados para a validação do método. Nenhuma das amostras avaliadas violou a legislação espanhola.

Tharsis, N. et al. (1997) desenvolveram um método analítico para a determinação de fungicidas benzimidazóis [carbendazim (MBC) e tiabendazol (TBZ)] em laranjas e uvas, empregando a técnica de HPLC/UV. O procedimento de limpeza utilizado foi SPE com cartuchos de diol, sílica ligada (500 mg). Os estudos de validação mostraram que o método cromatográfico apresentou boa repetibilidade, reprodutibilidade e limite de detecção de 0,06 mg kg^{-1} . As faixas de linearidade foram de 0,4 a 200 ng L^{-1} para MBC e de 2 a 1000 ng L^{-1} para TBZ. Os limites de detecção instrumentais para carbendazim foi de 0,45 ng L^{-1} e para tiabendazol foi de 0,53 ng L^{-1} . As recuperações médias foram maiores que 75 % para MBC e 80 % para TBZ. Os RSDs variaram de 2,6 a 11,6 % para MBC e para TBZ foi de 2,0 a 9,9 % respectivamente.

Nunes, G. S. et al. (1998) compararam diferentes processos de limpeza que incluíram a utilização de colunas de vidro de cromatografia (sílica gel, alumina, florisil, carvão-celite silanizada), cartuchos *Sep-Pak* e soluções-padrão para a determinação dos compostos aldicarbe, carbaryl, carbofuran, o methomyl e propoxur em batatas e cenouras, utilizando a técnica de *HPLC/UV*. Foram testadas diferentes temperaturas durante o passo de concentração no evaporador rotativo, e verificou-se uma forte influência deste parâmetro sobre a estabilidade de alguns compostos, tais como carbofuran e carbaryl. A técnica *HPLC/UV* apresentou reprodutibilidade, linearidade e sensibilidade. O intervalo dinâmico linear do detector para os N-metilcarbamatos, em 195 nm, foi de 0,5 a 50 ng para todos os compostos selecionados. A recuperação dos compostos estudados foi maior que 89 % para cartuchos de alumina, alguns cartuchos NH > 84 % e CN > 92 % em fase normal; C₈ com fase móvel de acetonitrila exigiu um tempo maior de corrida com recuperação superior à 79 % em fase reversa; com coeficientes de variação de 2,3 a 8 %.

Lebre, D. T. (2000) analisou carbamatos, triazinas e nitroanilina em amostras de águas superficiais, na região que abrangeu as bacias dos rios Mogi-Guaçu e Pardo, em treze municípios do estado de São Paulo. Para a pré-concentração e extração dos pesticidas utilizou-se a técnica *SPE off-line* com coluna preenchidas com C₁₈. Foram analisadas as amostras de águas de abastecimento por *GC/MS* (na qual a vantagem é a identificação dos compostos, mas não especificamente para carbamatos devido à alta temperatura do injetor, pois as amostras eram degradadas) e por *HPLC* em fase reversa (em detector *UV/vis* com 220 nm). O método apresentou alta sensibilidade, precisão e linearidade para os compostos analisados como também eficientes resultados com recuperações dos compostos acima de 80 %.

Abad, A. et al. (2001) comparou os métodos de *HPLC* com o teste *ELISA* com o intuito de aumentar a aceitação de métodos imunológicos entre analistas químicos envolvidos na análise de resíduos de pesticidas em alimentos. O objetivo do trabalho foi avaliar a adequação do imunoensaio para a análise de carbaryl em vegetais e frutas em amostras diversas (pimentas, pepinos, morangos, tomates, batatas, laranjas e maçãs) e compará-lo com a técnica de *HPLC*. Seis réplicas de cada

matriz foram misturados a diclorometano em soluções padrões de 10, 50 e 200 ppb. A técnica *SPE* foi empregada para limpeza das amostras. Dependendo da cultura e do nível de fortificação, recuperações no intervalo 59,0 a 120,0 % foram obtidos para amostras purificadas e no intervalo 70,0 a 137,7 % para as amostras de extratos brutos. A correlação entre os métodos foi excelente $r_2 = 0,992$, sendo o *HPLC* mais preciso do que *ELISA* (CV de 5,2 e 12,0 %). A exatidão e a precisão foram comparáveis aos obtidos com o método de referência. A precisão do método foi determinada com base em três determinações para cada amostra realizada em diferentes dias, foi de 12 % para o *ELISA* e de 5,2 % para *HPLC*. O LOQ do método para frutas e vegetais estabelecida em 3,4 ppb. LMR para carbaryl nessas culturas, que se apresentaram no intervalo 1,0 a 5,0 ppm, com exceção das batatas, para as quais o limite foi estabelecido em 0,1 ppm.

Lacassie, E. et al. (2001) analisaram matrizes biológicas humanas, de 61 praguicidas de importância toxicológica em humanos pelos métodos *GC-MS* usado para amostras de voláteis (organofosforado, organoclorado, ftalimida, uracil) e *LC-MS* para termolábeis (carbamatos, benzimidazóis). A extração foi realizada em *SPE* com polímero (HLB e MCX) e cartuchos de OASIS. As recuperações foram satisfatórias para todos praguicidas. Os limites de detecção foram de 2,5 a 20 ng mL⁻¹ e de quantificação de 5 a 50 ng mL⁻¹. Excelente linearidade foi observada em LOQs até 1000 ng mL para todos os praguicidas estudados. Os RSDs foram menores que 19 % para ambas as técnicas analíticas. Os métodos propostos renderam bons resultados de reprodutibilidade e precisão.

Štajnbaher, D. et al. (2003) Ljubljana desenvolveram um método multirresíduos para análise de 90 pesticidas com diferentes propriedades físico-químicas em frutas e vegetais. Empregou *SPE* com coluna de poliestireno divinilbenzeno para a limpeza e pré-concentração dos pesticidas a partir dos extratos de água-acetona diluído. Os resíduos de pesticidas foram determinados por *GC-MS*. Recuperações de pesticidas foram maiores que 80 % no intervalo de concentração de 0,01 a 0,50 mg kg⁻¹, exceto para metamidofós, acefato, ometoato que não puderam ser determinados por este método. O limite de quantificação para

a maior parte dos pesticidas foram estabelecidos em $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$ com desvios padrão relativos (RSDs) abaixo de 10 %.

Melo, L. F. C. et al. (2004) desenvolveram e validaram um método por *HPLC* para determinação de multirresíduo de seis pesticidas usados na produção de tomate. O enchimento da coluna baseada em sílica C_{18} (octadecil) e NH_2 sorventes (aminopropil), feitas no laboratório, foram utilizados para a preparação da amostra. A técnica *SPE* foi usada principalmente, para remover as interferências, para a pré-concentração e para o armazenamento e transporte da amostra. Os materiais de *SPE* foram obtidos por imobilização térmica de polissiloxanos adequados para superfícies de sílica na espessura de 40 milímetros e foram utilizadas na preparação de amostras para análise dos pesticidas tebuthiuron, diuron, simazina, atrazina, ametrina e benomil. Os resultados foram comparados com materiais similares comerciais. Validação do método foi realizado em três níveis de fortificação (100, 200, $1000 \mu\text{g L}^{-1}$). Limites de detecção e quantificação inferiores a $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ mostram que os métodos desenvolvidos podem ser usados para detectar os agrotóxicos em concentrações abaixo dos LMRs estabelecidos pelo Codex Alimentarius, EUA, União Europeia e legislações brasileiras. Os resultados mostraram que os materiais feitos em laboratório deram resultados semelhantes ou melhores do que os comerciais. Os resultados apresentaram-se satisfatórios.

Ortelli, D. et al. (2004) monitoraram 13 matrizes representativas de limão, uva, morango, maçã, nectarina, tomate, cenoura, salada de alface, pepino, berinjela, espinafre, batata e pimenta, do mercado suíço, durante o período de um ano (2002-2003) em Genebra. Utilizando a técnica *LC-MS/MS* para 74 praguicidas em matrizes de frutas e legumes. Boa sensibilidade, linearidade, reprodutibilidade e seletividade do método com limites de quantificação de $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$ em quase todos os casos. Nas 2571 amostras foram identificadas que 47,9 % continham um ou mais pesticidas e 6,6 % estavam acima do LMR. Um grande problema que diagnosticaram foi que em frutas cítricas não existia tratamento de pós-colheita para as quais os pesticidas thiabendazole e imazalil. Mais que 30 % de amostras contiveram resíduos múltiplos, no pior caso achou até 12 praguicidas diferentes em amostras de uva, mas todas as concentrações achadas estavam abaixo de MRLs. As recuperações ficaram entre 63

a 133 %, a exceção foi para o limão, que teve um resultado diferente devido à acidez do fruto o que causa instabilidade.

Kussumi, T. A. (2007) desenvolveu um método de multirresíduo para análises de benzimidazóis, carbamatos e triazinas em milho por *HPLC/MS em Tandem*. As amostras foram coletadas nos mercados da zona sul da cidade de São Paulo. Foram extraídas em acetona sob agitação, diluídos em água e injetados. As recuperações foram feitas em cinco níveis de fortificações obtendo de 80 a 110 % da recuperação dos compostos. A quantificação e a confirmação apresentaram níveis aceitáveis na avaliação do método, exceto para aldicarbe e aldicarbe sulfona. Apesar de os resíduos dos pesticidas estarem dentro dos LMRs estabelecidos pela legislação do país e não apresentarem risco à saúde do consumidor foi detectado alta incidência de resíduos múltiplos.

Bidari, A. et al. (2010) comparam métodos como cromatografia gasosa (*GC*), detecção por captura de elétrons (*ECD*), detector de fósforo-nitrogênio (*NPD*), detecção fotométrica de chama (*FPD*), espectrofotometria de massa (*MS*) e cromatografia líquida acoplada à espectrofotometria de massa (*LC/MS*) para detecção de pesticidas organofosforados buscando um método simples, eficaz, seguro, preciso, econômico e que tivesse boa linearidade, já que o tomate é um alimento largamente consumido e muito suscetível ao ataque de pragas e doenças. Extraíram as amostras em acetona e carregou-os com a ajuda de ultrassom. A pré-concentração dos compostos foi feita utilizando o método de microextração. O clorobenzeno foi utilizado quando a amostra foi extraída e o trifenilfosfato foi utilizado como padrão interno. Concluíram que a detecção fotométrica de chama em comparação com os demais métodos foi a melhor técnica, obtendo os melhores resultados, tendo em sua repetibilidade índices de derivatização menores que 10 % para todos os casos. Não foi necessária nenhuma limpeza ou evaporação de solvente.

Chung, S. W. C. et al. (2010) empregaram na pesquisa cromatografia acoplada à espectrometria de massas (*LC-MS/MS*) para identificar e quantificar 73 pesticidas em 98 amostras de alimentos, dentre elas chocolate, óleos vegetais,

carne, ovo, queijo, café, arroz, frutas cítricas e vegetais. O *clean up* foi proposto pelo método *QuEChERS* para todas as amostras. As curvas de calibração foram estabelecidas de 1 a 20 mg L⁻¹ para todas as combinações estudadas. As recuperações foram de 70 a 120 %, medido a 10 mg kg L⁻¹ com padrão relativo abaixo de 20 %, o LOQ foi de 10 mg kg L⁻¹ e os resultados de precisão de 200 µg kg L⁻¹, para todos os analitos. Excelente sucesso no monitoramento de 700 amostras diferentes nas análises de carbamatos e organofosforatos. Nenhum efeito de matriz significativo foi observado. Foram obtidos dois íons de fragmento principais para cada praguicida para alcançar a identificação de acordo com o método.

Hem, L. et al. (2010) analisaram o fungicida Fenhexamid em frutos de pimenta cultivadas em estufas da *Chonnam National University* (Gwangju), na Coreia do Sul. As amostras de frutos foram coletadas aleatoriamente em duas horas após a aplicação, 1, 2, 4, 6, 8, 11 e 14 dias pós-aplicação (com intervalo de segurança de um dia). As amostras foram analisadas por *HPLC* e os resíduos foram confirmados através de Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas (*LC-MS/MS*) com ionização por electrospray em modo positivo. Os níveis de resíduos encontrados estavam abaixo do LMR (5mg kg⁻¹) e a homogeneização, extração e análise após a *clean up* rendeu limites de detecção satisfatórios. O composto foi bem separado e a matriz não apresentou interferentes. A quantificação foi realizada com padrão externo nas concentrações de 0,2 a 5 µg mL⁻¹. A precisão dos dados foi fornecida nos experimentos de recuperação, os valores estavam na faixa de 94,6 a 98,6 % com RSD < 4, valores que demonstram a precisão do método.

Santalad, A. et al. (2010) utilizaram a técnica *CZE* com a detecção amperométrica usando um 20 mM de borato de pH 10,2 tampão, contendo 20 mM de sulfato de dodecil de sódio (SDS) capaz de separar, de forma satisfatória, misturas complexas como os seis modelos de carbamato em amostras de água e do solo, devido à excelente eficiência de separação, alta velocidade de análise, amostra reduzida e o pequeno consumo de solvente. O método *SPE* aplicado às amostras produziram resultados com excelente reprodutibilidade, recuperação e seletividade. A solubilidade dos compostos foi de 0,32 g L⁻¹, 0,07 g L⁻¹ e 0,11 g L⁻¹ em pH neutro e

temperatura de 30 °C, de acordo com a literatura. Os limites máximos de resíduos estavam dentro do esperado 0,2 a 1,0 mg L⁻¹ para todos os compostos.

Botero-Coy, A. M. et al. (2011) utilizaram um método após extração com acetonitrila, o extrato de amostra foi injetado no LCMS/MS sem qualquer passo de *clean-up*. Foram corrigidas interferências de matriz usando calibração de padrões matriz-emparelhada para analisarem cerca de 30 pesticidas em sete frutas tropicais. O método foi validado por experimentos de recuperação em amostras contaminadas em dois níveis (0,05 e 0,5 mg kg⁻¹) e as recuperações variaram entre 70 e 110 % com RSD abaixo de 15 %.

Carmem, F. et al. (2011) analisaram 110 amostras de maçã, berinjela, brócolis, couve-flor, pepino, alho, feijão verde, alho-poró, limão, alface, tangerina, cebola, laranja, pera, pimenta, cebolinha, tomate e abobrinha em supermercados ao sul da Espanha, Almería, para avaliar 53 pesticidas. Utilizaram para análise desses alimentos a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa com ionização por electrospray (*LC-ESIMS/MS*), obtendo alta sensibilidade e bons resultados de robustez, precisão e seletividade. As amostras foram extraídas com o método *QuEChERS*, com um fator de diluição 15, que demonstrou ser suficiente para eliminar a maioria dos efeitos da matriz. Nas 110 amostras foram encontrados 21 pesticidas com 124 ocorrências: 41 delas, ou seja, 37 % foram encontrados em níveis inferiores a 1 µg kg⁻¹, entre os quais o ometoato (organofosforado), que não está incluído na legislação do país e, portanto, não deveria ser utilizado na União Europeia; 21 delas, ou seja, 17 % apresentaram valores mais elevados de contaminação, acima de 40 %, que corresponderam a apenas seis pesticidas; e apenas 7 % das amostras não apresentaram contaminação.

Farias, L. R. (2011) investigou traços de pesticidas na montante, jusante e no canal do efluente do rio Branco na rizicultura do Estado de Roraima, utilizou *SPE off-line* em coluna de C₁₈, para extração dos pesticidas organoclorados e organofosforados. Separados e detectados por *GC/MS*, não encontraram organoclorados e o único organofosforado encontrado foi o paration metílico acima

do nível estabelecido pela legislação vigente. As recuperações foram aceitáveis entre 75,2 a 82,8 %.

Filho, A. M. et al. (2011) analisaram amostras que foram adquiridas em oito diferentes mercados da capital de Aracaju (SE). Uma porção de 500 gramas foi cortada em pedaços pequenos e sem pré-tratamento, misturados em um processador de alimentos, colocadas em frascos de vidro âmbar e armazenado a 18 °C, até que as análises fossem realizadas. Desenvolveram o método de micro extração utilizada na pré-concentração das amostras de manga para serem analisadas em *HPLC/UV-Vis*. Este método permitiu a análise simultânea e sem derivatização de carbamatos, imidazóis, organofosfatos, piretróides, tetrazina e estrobilurina. Para confirmação dos resultados dos dez pesticidas encontrados foi empregado *LC/MS*. A exceção foi o composto abamectina que foi derivatizado e analisado separadamente. Os resultados indicaram que o modo de extração direto (*DI-SPME*) e *HPLC/UV-Vis* resultaram em boa faixa linear, exatidão, precisão e sensibilidade e é adequada para a análise de resíduos de pesticidas nos frutos de manga. Os limites de detecção foram de 0,6 a 3,3 mg kg⁻¹ e de quantificação de 2,0 a 10,0 mg kg⁻¹ e foram obtidos com valores inferiores aos LMRs estabelecidos pela legislação brasileira para todos os pesticidas em estudo. Entretanto, concentrações elevadas de permetrina foram encontradas na maior parte das amostras, mesmo sendo este composto proibido para o cultivo de manga. As taxas de recuperações obtidas para cada pesticida variou de 71,6 a 104,3 % em três níveis de fortificações, com o desvio padrão relativo de 4,3 a 18,6 %.

Yang, X. et al. (2011) adquiriram amostras de framboesa, mirtilo, morango e uva em supermercados da China para monitorarem 88 resíduos de pesticidas em frutos silvestres utilizando em *SPE* cartucho Envi Carb acoplado com LC-NH₂ para limpeza de resíduos na matriz dos frutos. O método multirresíduo de análise foi proposto e validado para identificação e determinação dos pesticidas por *GC-MS*. O coeficiente de correlação foi r^2 de 0,99, com três níveis de fortificações de 0,05 a 0,5 mg kg⁻¹, as recuperações ficaram na faixa de 63 a 137 %. O desvio padrão relativo foi entre 1 e 19 % para todos os 88 pesticidas. Os limites de detecção foram de

0,006 a 0,05 mg kg⁻¹ e de quantificação de 0,02 a 0,15 mg kg⁻¹ foram conseguidos com este método para todos os pesticidas testados.

Abd-Alrahman, S. H. et al. (2012) utilizaram a técnica *QuEChERS* antes da quantificação por *HPLC-DAD*. Alcançou repetibilidade abaixo de 7 % para todos os três níveis analisados. Precisão satisfatória, excelente sensibilidade e linearidade com forte correlação entre concentrações (0 a 100 ng mL⁻¹) e r² de 0,996. Os limites de detecção de 0,5 a 1,2 Lg kg⁻¹ e de quantificação de 2,3 a 4,5 Lg kg⁻¹. Os níveis de resíduos de propamocarb-cloridrato foram encontrados abaixo do MRLs de 1,0 mg kg⁻¹ no tomate, de 0,5 mg kg⁻¹ na batata e de 1,0 mg kg⁻¹ no pepino. As recuperações variaram de 84,8 a 87,2 % nos tomates, de 85,5 a 90,1 % nas batatas e de 85,2 a 88,8 % nos pepinos.

Chowdhury, A. Z. et al. (2012) descreveram um método eficiente para análise de resíduos de pesticidas em 11 amostras das várzeas de arrozais e 5 amostras de lagos em Bangladesh. As amostras foram passadas através de seringa com filtros de celulose de nylon 0,45 mL e injetadas manualmente (20 µL) uma de cada vez; antes das análises por *HPLC/UV-DAD*. A coluna analítica C₁₈ em fase reversa operando na temperatura de 30 °C no forno da coluna. A fase móvel era constituída de 70 % ACN e 30 % H₂O. A taxa de fluxo foi de 1,0 mL min⁻¹. Nas amostras de várzeas de arroz foram encontrados clorpirifós na faixa de 0 a 1,189 µg L⁻¹, carbofuran na faixa de 0 a 3,395 µg L⁻¹ e carbaryl na faixa de 0 a 0,163 µg L⁻¹ e as águas dos lagos continham clorpirifós na faixa de 0,544 a 0,895 µg L⁻¹, carbofuran na faixa de 0,949 a 1,671 µg L⁻¹ e carbaryl na faixa de 0 a 0,195 µg L⁻¹. As curvas de calibração para os compostos foram preparados nas concentrações de 5, 10 e 20 µg L⁻¹. Recuperações satisfatórias de clorpirifós foi de 86,25 %, de carbofuran foi de 90,13 % e carbaryl foi de 92,65 %.

López-Fernández, O. et al. (2012) determinaram as concentrações de fungicidas ditiocarbamatos (*DTC*) por *HPLC-DAD*, em 150 amostras colhidos de setembro a novembro de 2010. Para melhorar o rendimento de derivatização nos compostos estudados, os ensaios foram realizados em triplicata, com água destilada, numa solução tampão com pH 7,8 de fosfato monossódico e numa

solução de tampão com pH 10,6 (carbonato de sódio anidro + polifosfato de sódio). A técnica *SPE* foi utilizada para extração e purificação das amostras. Foram coletadas 32 maçãs, 12 uvas, 32 alfaces, 32 pimentas, 32 tomates e 10 morangos; obtidos em diferentes mercados da Galiza (Espanha). Resíduos de (DTC) foram encontrados em todos os produtos analisados como pimentas (96,9 %), tomates (87,5 %), alface (71,9 %), uvas (33,3 %) e maçãs (15,6 %), com exceção dos morangos. 6 % das amostras analisadas excederam os LMRs, especificamente alfaces e pimentas. Limites de detecção (0,01 a 0,3 mg kg⁻¹) e quantificação (0,02 a 0,5 mg kg⁻¹). Recuperações superiores a 78 % foram obtidos para todos os compostos estudados. Os RSDs obtidos foram de 10 % para repetibilidade e de 17 % para reprodutibilidade.

Mor, F. et al. (2012) analisaram 157 amostras de carne de gado, retiradas de mercados de três províncias diferentes na Turquia (Burdur, Isparta e Antalya). As amostras (500 g de músculo) foram congeladas a -20 °C em sacos plásticos separados até a análise. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de quantificação de SAs (são os contaminantes mais comuns de antimicrobianos na alimentação animal) na carne, pelo teste de Charme II, combinada com a confirmação por *HPLC-FLD*. De 157 amostras de carne, nove amostras (5,73 %) apresentaram resultados positivos pelo método de Charme II. Todas as amostras positivas estavam acima dos valores estabelecidos LMR. Os resultados da análise com as amostras de carne contaminadas mostraram que o ensaio Charme II podem dar falsos resultados positivos. O limite de detecção de 8 a 15 µg kg⁻¹ e o de quantificação de 13 a 25 µg kg⁻¹. Recuperações médias de sulfonamidas variaram de 44,6 a 81 % com RSD inferior a 6 %.

Paramasivam, M. et al. (2012) estudaram resíduos nos produtos em uma fazenda Kalyani, na Índia, após a segunda pulverização, ao longo de um período de 10 dias. Foram coletados 2,5 kg dos frutos de tomates que trituradas com um moedor. As amostras de solo foram coletadas 10 dias após a última aplicação de solo, a 1 kg, cerca de 30 cm de profundidade e 3 a 5 cm de diâmetro. Um método para a análise de resíduos de flubendiamida e seu metabólito (desiodo flubendiamida) foi desenvolvido utilizando *HPLC*. As soluções padrão dos compostos

foram adicionados ao fruto de tomate cru em três níveis de fortificações: 0,01; 0,05 e 0,10 $\mu\text{g g}^{-1}$. As recuperações dos pesticidas no tomate variaram de 97,33 a 98,33 % e 97,47 a 98,16 % no metabólito, com desvio padrão de 1,16 a 1,86 %. As recuperações das amostras de solo foram de 86,77 a 92,87 % e de 89,02 a 94,01 % para o metabólito. Boa linearidade foi alcançada, com limite de detecção de 0,003 $\mu\text{g g}^{-1}$ e limite de quantificação de 0,01 $\mu\text{g g}^{-1}$, considerada, a relação sinal/ruído foi de 3:1 e 10:1, respectivamente. Os resultados mostraram que flubendiamida desaparece rapidamente após a aplicação.

Yan, C. T. et al. (2012) propuseram um método para coletar fenol gasoso de uma planta de madeira compensada localizado no centro-oeste de Taiwan. Neste estudo, uma fibra e um novo suporte de fase líquida de amostragem técnica (HFLPS) foram desenvolvidos para amostragem de gases enriquecidos para espécies tóxicas, antes da análise química de monitorização do ar do local de trabalho. Gás fenol foi selecionado como modelo para as espécies tóxicas. A polietersulfona era coletada em módulo de diálise de fibra cheio com etileno glicol em que do lado concha foi aplicada o solvente de absorção para se recolher fenol. Depois da amostragem, 20 mL do produto de extração foi analisada por *HPLC-UV*. Para a amostragem utilizou-se um fluxo de 37,3 mL min^{-1} por 30 min para poder cumprir a exigência do monitoramento do ar no local de trabalho. O fenol no ar variou entre 0,7 e 10 $\text{cm}^3 \text{m}^{-3}$ com mostra excelente linearidade e recuperações entre 98,1 e 104,1 %. Foi necessária a construção de um aparelho para a geração de gás padrão, para simular um ambiente de trabalho com contaminantes gasosos ocupacionais. A partir dos resultados do teste de aplicabilidade, provou-se que o método proposto proporcionou um procedimento simples, conveniente, rápido, de baixo custo, sensível e com a vantagem de se utilizar menos solvente tóxico.

Arienzo, M. et al. (2013) desenvolveram um método de multirresíduo empregando no pré-tratamento das amostras a técnica *QuEChERS* e LC-MS/MS foi adotado para a análise de 14 pesticidas em 145 amostras de vegetais na região sudoeste da Campania, Itália. Em 51,7 % das amostras não foram encontrados resíduos de pesticidas, em 41,4 % continham abaixo LMR e 6,9 % delas continham resíduos múltiplos (etofenprox, dimetomorfe, propamocarb, ciprodinilo e boscalid)

acima do LMR devido às práticas agrícolas incorretas, produtos não autorizados. O método analítico, proposto neste trabalho mostrou-se eficiente, sensível e versátil.

Cheng, Y. et al (2013) desenvolveram e validaram um método de HPLC com detecção de UV a 220 nm, em fase normal para a determinação estereosseletiva de enantiômeros propiconazol na água, no solo e uva. Os desempenhos de cinco fases estacionárias quirais diferentes foram avaliadas para a separação de enantiômeros propiconazol. Método eficiente devido à excelentes resultados nos parâmetros de linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção (LOD inferiores a $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$) e limites de quantificação (LOQ não excedeu a $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$). As recuperações foram satisfatórias entre 89,6 a 99,8 %, com RSDs de 1,6 a 9,5 % em três níveis de fortificação. O método proposto também foi aplicado com sucesso para a análise de amostras reais enantiosseletiva confirmando uma ótima alternativa para análise deste pesticida na água, no solo e uva.

Sharma, B. N. et al (2013) desenvolveram um método para avaliar a persistência e a dissipação dos pesticidas combinados (thiaclopride e flubendiamida) em tomates e solo por HPLC/UV. Foi realizado um estudo sobre a persistência dos inseticidas flubendiamida, seu metabólito e thiaclopride. Foram feitas três pulverizações com intervalos de 10 dias e 15 dias após a última pulverização, as amostras de tomates e de solo foram coletas. O método demonstrou ser eficiente com limite de determinação de $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$ e de quantificação de $0,01$ a $0,1 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ para os pesticidas em estudo. As recuperações médias encontradas foram de 84,43 a 96,40 % nos frutos de tomate e no solo foram de 86,00 a 94,70 %. Os depósitos de flubendiamida e thiaclopride em 48 g ha^{-1} foi de $0,295$ e $0,270 \text{ mg kg}^{-1}$ (thiaclopride), sendo o valor LMR é $0,5 \text{ ppm}$ (thiaclopride), enquanto que flubendiamida o valor LMR é de $0,2 \text{ ppm}$. Concluiu-se que os produtos podem ser consumidos porque os inseticidas não persistem ao solo, gerando frutos saudáveis.

Yanbing, W. et al. (2013) desenvolveram um método de determinação simultânea de thiodicarb e seus metabólicos (methomyl e methomyl-oxima) por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massa em

tandem, em folhas e sementes de algodão. O espectrômetro de massas foi operado no modo de monitoramento de reação múltipla com ionização *electrospray* positivo. As amostras foram extraídas por acetonitrila, o extrato foi limpo por Pesti-Carb/NH₂ em SPE, em seguida, separados por HPLC-UV e determinada por UPLC-MS/MS. As recuperações variaram de 67,5 a 109,2 % em níveis de 0,01 a 0,1 mg kg⁻¹, enquanto que o RSD variou de 2,8 para 9,1 %. Os limites de: detecção foram de 0,2 a 1,3 g kg⁻¹ e quantificação foram de 0,9 a 4,0 g kg⁻¹.

Zhang, Y. et al. (2013) desenvolveram um método multirresíduo para determinação de quatro inseticidas neonicotinóides (thiacloprid, tiametoxam, clotianidina e dinotefuran) em cereais, legumes e frutas, utilizando os métodos *QuEChERS* e UPLC-MS/MS. As amostras foram extraídas por acetonitrila e *clean-up* foi utilizando amina secundária primário (PSA) e negro de carbono grafitado (GCB) antes da análise UPLC-MS/MS. A determinação dos compostos pretendidos foi conseguida em menos de 2,5 minutos utilizando uma fonte de ionização por *electrospray* em modo positivo. O método mostrou boa linearidade na faixa de concentração de 0,01 a 1 mg L⁻¹ com coeficientes de correlação de 0,999. As recuperações das amostras foi realizada em três níveis de fortificação de 0,01, 0,05, e 0,5 mg kg⁻¹ no arroz branco, trigo, tomate, pepino, repolho, maçã e pêsego. As recuperações médias variaram de 82,7 a 103,4 % com RSDs que variaram entre 1,3 a 11,6 %, respectivamente. Os LODs eram inferiores 0,68 mg kg⁻¹, enquanto que os LOQs foram 0,71 a 2,26 mg kg⁻¹. O método analítico desenvolvido fornece uma base para o monitoramento de resíduos de inseticidas neonicotinóides em cereais, legumes e frutas.

6. PESTICIDAS

Pesticida é um termo inadequado com sentido de destruir a peste (doença epidêmica grave), esse termo tem o sentido mais de doença do que de praga (LARINI, L., 1999). Segundo BAIRD, são substâncias que podem matar organismos indesejáveis ou controlá-los afetando a sua reprodutividade.

Defensivo é outro termo utilizado para defender ou resistir ao ataque de um inimigo qualquer (LARINI, L., 1999).

Agrotóxicos também é outro termo empregado por uma variedade de compostos químicos utilizados na agricultura (LARINI, L., 1999). Segundo a Organização para a Alimentação e Agricultura das Nações Unidas (FAO) o termo agrotóxico (*pesticide*) definido como uma substância ou mistura de várias, capazes de controlar, destruir ou evitar qualquer praga (FAO, 2003). Atuam nos processos vitais destas, mas agindo também na constituição física e na saúde do homem (EPA, 1985).

Na Constituição de 1988, a Norma Reguladora Rural 5 (NRR5) que trata da utilização de produtos químicos no trabalho rural foi alterada pela Constituição e passou a usar o termo agrotóxico segundo a Lei Federal nº 7.802, de 11 de julho de 1989, regulamentada pelo Decreto 4.074, de 04 de janeiro de 2002. Publicada um ano depois, fazia parte da Portaria 3.214, de 08 de junho de 1978 que aprovou as normas regulamentadoras relativas à Segurança e Medicina do Trabalho (MMA, 2000). Esta lei impõe ao consumidor a obrigação do receituário para uso de agrotóxicos, exige registro dos produtos no Ministério da Agricultura e no IBAMA e regulamenta a pesquisa e fabricação dos mesmos, desde fiscalização, até a comercialização, aplicação, controle e destino da embalagem (ROCHA, J. C., 2004).

Segundo a Lei 9.974, a reutilização, o descarte ou a destinação inadequada das embalagens de agrotóxicos são proibidos. Vazias, devem ser devolvidas para as empresas produtoras e ou recolhidas para não haver problemas de contaminação ambiental (PERES, F.; MOREIRA, J. C., 2003).

O Decreto Federal Nº 4.074, de 04/01/2002, inciso IV designa agrotóxicos e afins:

“produtos e agentes de processos físicos, químicos e biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento” (D4074, 2002).

Os pesticidas são necessários para diminuir as perdas nas lavouras e assegurar o desenvolvimento de culturas em grande escala, porque o aumento da população exige acréscimo na oferta de alimentos. Por serem substâncias tóxicas e

em alguns casos persistentes, contaminam o ar, a água e o solo, causando desequilíbrios ambientais e risco a saúde da população (PERES, F.; MOREIRA, J. C., 2003). Persistentes também colocam em risco a biota (PIMENTEL, D., 1996) e encontram-se até em regiões inusitadas como o Ártico (LARSSON, P.; OKLA, L.; WOIN, P., 1990; DEWAILLY, E., 1999).

Impacto nos corpos d' água causado por agrotóxicos ameaçam todo o ecossistema e principalmente as espécies aquáticas. Conseqüentemente o homem será afetado, pois os animais que habitam as águas contaminadas (peixes, crustáceos, mexilhões e outros animais) representam uma importante fonte de alimentação para os homens (WRI, 1999).

A dispersão de agrotóxicos no meio ambiente através do vento ou das águas é estimada em pelo menos 30 % do produto aplicado, mas alguns casos ultrapassam 70 %, ou seja, não existe uso de agrotóxicos sem a contaminação do meio que o circunda (PERES, F.; MOREIRA, J. C., 2003).

Os principais causadores dos problemas ambientais e de saúde pública são condições inadequadas de manuseio, desrespeito aos padrões de segurança, falta de fiscalização e conhecimentos insuficientes dos trabalhadores sobre os perigos do uso de agrotóxicos (PIMENTEL, D., 1996).

Em todo o mundo, estão disponíveis cerca de 1500 substâncias ou princípios ativos diferentes; só no nosso país 300 princípios ativos e 2000 formulações comerciais diferentes são utilizados em agricultura, Saúde Pública, tratamento de madeira, na construção civil, armazenamento de grãos e sementes, produção de flores, combate ao piolho, pecuária etc. Somos os maiores consumidores de agrotóxicos do mundo (ALMEIDA, P. J. de, 2002).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que, a cada ano, cerca de 3 a 5 milhões de pessoas são contaminadas por agrotóxicos no mundo (JEYARATNAM, J., 1990; ILO, 1997), ocorrendo 70 % em países do Terceiro Mundo (13,7 milhões de pessoas), não ocorre apenas nos trabalhadores rurais; estendendo-se aos alimentos, efluentes líquidos, solo e atmosfera (OMS, 1990).

No Brasil, a contaminação varia entre 3 a 23 % da população, totalizando 540.000 pessoas contaminadas com cerca de 4.000 mortes por ano (ALMEIDA, W. F.; GARCIA, E. G., 1991; FARIA, N. M. X. et al., 2000; GONZAGA, M. C. et al., 1992).

6.1 HISTÓRICO

O primeiro registro sobre o uso de pesticidas é datado em 1.000 a.C. e se estende até o final da Segunda Guerra Mundial. Compostos de arsênico e enxofre (fumigação) eram empregados contra insetos nos lares gregos, romanos e chineses (no século XVI). Outro composto químico com a mesma finalidade foi o gás cianeto de hidrogênio. Fluoreto de sódio (NaF) foi utilizado para controlar formigas e associado ao ácido bórico para combater edifícios infestados de baratas. Óleos de petróleo, de peixes e baleias foram utilizados como aerossóis paralisantes para matar ovos de insetos (BAIRD, C., 2011).

Em 1867, Verde Paris (acetoarsenito de cobre) foi utilizado popularmente como inseticida nos Estados Unidos para combater uma variedade de pragas (BAIRD, C. 2011). Vinte sete anos depois, o arseniato de chumbo ($PbHAsO_4$) foi utilizado como inseticida. No Brasil o emprego desses compostos inorgânicos ocorreu 69 anos depois (1936): arsênico branco, arseniato de cálcio e de chumbo, calda bordalesa e Verde Paris (LARINI, L., 1999; ALMEIDA, P. J. de, 2002). Nesse mesmo ano, o pentaclorofenol (PCF) foi muito empregado como: herbicida/desfolhante, inseticida/cupim, fungicida/tratamento de sementes e exterminador de moluscos (BAIRD, C., 2011). Nas quatro décadas que se seguiram foram utilizados como inseticidas: dinitro-o-cresol, ziram e sulfato de tálio (LARINI, L., 1999).

Em 1877, foram empregados para evitar danos às peças de museus e alguns anos mais tarde para controlar insetos em árvores frutíferas. No século XIX, substâncias orgânicas como a nicotina e o piretro extraídos de plantas eram utilizadas na Europa e nos Estados Unidos (PERES, F.; MOREIRA, J. C., 2003). No século XX, o composto do isômero 1, 4 do diclorobenzeno foi usado como inseticida para fumigação, em forma de bolinha era transportado pelo ar e letal para os seres humanos (BAIRD, C. 2011).

Antes da descoberta de Paul Müller (1939) eram usados, na agricultura, no combate às pragas, compostos inorgânicos e extratos vegetais (LARINI, L., 1999).

Othmar Zeidler sintetizou as primeiras moléculas do DDT, no laboratório do Professor Adolf von Baeyer, na Universidade de Estrasburgo (cidade na época pertencia à Alemanha, atualmente pertence à França), como requisito para obtenção

de seu doutorado. Ficou esquecido pela comunidade científica e terminou sua vida como farmacêutico em Viena (LARINI, L., 1999).

Na Suíça, nos laboratórios da Geigy, Paul Müller trabalhava com corantes industriais e ao executar, por diversas vezes, o processo descrito por Zeidler, redescobre a ação do DDT contra artrópodes. Patentou DDT em sete de março de 1940. Sua descoberta concedeu-lhe o Prêmio Nobel em 1948 (LARINI, L.,1999).

Trevo doce alterado (*Melilotus alba*) foi sintetizado como um anticoagulante e hemorrágico usado como raticida e comercializado com o nome técnico de dicumarol, em 1941 por H. A. Campell e P. K. Link. Nove anos depois, devido aos estudos realizados por Wayland J. Hayes Jr. e T. B. Gaines foi efetivamente descartado como raticida (LARINI, L.,1999).

Devido aos estudos de W. H. Tisdale e A. L. Flener em 1942, da ação derivada dos ácidos ditiocarbâmicos com atividade fungicida, surgiu no mercado o Dithane um sal dissódico do ácido etilenobisditiocarbâmico (LARINI, L.,1999).

Introduzidos em 1944 no mercado os herbicidas 2,4-D eliminava erva daninha de folhas largas em gramados, 2,4,5-T eliminava mato perto de fio de alta tensão e MCPA (diclorprop, silvex e mecoprop), além dos inseticidas organofosforados (LARINI, L.,1999; BAIRD, C., 2011). Foram misturados os compostos 2,4-D e 2,4,5-T durante a guerra do Vietnã e utilizados como Agente Laranja (BAIRD, C., 2011). Em 1945, descobriram-se propriedades inseticidas no hexaclorocicloexano e em metoxicloro, um ano depois no TDE e toxafeno (utilizado nos anos sessenta nas colheitas de algodão e soja) e em 1948 Aldrin e Dieldrin de uso restrito na América do Norte e em quase toda a Europa Ocidental (LARINI, L.,1999).

Em 1948 surgiu o warfarin, comercializado como raticida devido a síntese e estudo de diversos compostos com estrutura química similar à 4-hidroxycumarina por P. K. Link e colaboradores (LARINI, L.,1999).

Sarin (o-isopropil-metilfluorfosfato) e Tabun (o-etil-N,N-dimetil-cianofosfato), extremamente tóxicos, foram sintetizados com emprego bélico. Em 1943, surge o TEPP (tetraetilpirofosfato) e o paration etílico no mercado (LARINI, L.,1999).

Malation estabelece um novo conceito no combate às pragas em 1950. Dois anos mais tarde surge: paration metílico, dipterex, gusation e tiometon com indicações de emprego domissanitário. Em 1953 foi sintetizado um inseticida menos tóxico para os mamíferos, os organofosforados. Cinco anos mais tarde

comercializado com os nomes de Carbaryl e Sevin (LARINI, L.,1999). Em 1958 a atrazina foi introduzida no mercado como herbicida para combater as ervas daninhas das lavouras de soja e de milho (BAIRD, C., 2011). L. K. Payne e M. H. J. Weiden sintetizaram em 1959 Propoxur e Aldicarb, introduzido comercialmente com o nome de Temik (LARINI, L.,1999).

Compostos piretróides (cipermetrina, deltametrina, fenpropanato e fenvalerato) caracterizados por sua menor toxicidade foram lançados no mercado na década de 1970 (LARINI, L.,1999).

No Brasil, em 1937, eram utilizados produtos de origem vegetal: nicotina, piretro (obtidos de flores da espécie de crisântemos) e rotenona (LARINI, L.,1999; ALMEIDA, P. J. de, 2002; BAIRD, C., 2011).

Para-diclorodifeniltricloroetano ou **DDT**, em 1939, foi descoberto como inseticida por Paul Müller e considerado milagroso por Sir Winston Churchill durante a Segunda Guerra Mundial pelo combate efetivo à febre amarela, piolhos, transmissores de tifo e pulgas (BAIRD, C., 2011). Foi o primeiro composto orgânico utilizado na agricultura brasileira, em 1943, denominado Gesarol. Divulgado amplamente devido ao seu poder residual, utilizado como inseticida e carrapaticida em bois. Devido a sua eficácia e ação prolongada, seu uso foi proibido em diversos países (LARINI, L.,1999).

O termo praguicida significa um produto com capacidade de aniquilar pragas que são capazes de reduzir a quantidade ou prejudicar a qualidade dos alimentos (LARINI, L., 1999). Classificados correlacionando o organismo vivo envolvido no seu emprego com a estrutura química. São eles:

- **inseticidas** — é um termo empregado para indicar todos os compostos químicos que têm a capacidade de destruir os insetos (por ação direta) com cerca de 750.000 espécies. Esses compostos estão divididos em 2 grupos distintos, conforme sua estrutura química: produtos organossintéticos (benzoiluréticos, piretróides, organoclorados, organofosforados, carbamatos, carbamoiloxímicos, metilenodioxifenílicos e compostos diversos) e de origem vegetal: nicotina, rotenona e deguelina, estricnina, piretrinas e rianóides (LARINI, L., 1999; ALMEIDA, P. J. de, 2002);

- **acaricidas** — ação de combate aos ácaros: amitraz, binapacril, bromopropilato, clordimeform, clorfenetol, cyhexatin, cymiazol, dinobuton, dinocap, fenpyroximate, dimetan, fluazuron, flubenzimina, hexythiatox, propargite, fenbutatin, tetradifon (LARINI, L., 1999; ALMEIDA, P. J. de, 2002);
- **herbicidas** — substâncias de combate às ervas daninhas e utilizado também como desfolhantes: acetanilídicos, benzonitrílicos, bipyridílicos, imidazolinônicos, uréicos, dinitrobenzenamínicos, dinitrofenólicos, éteres difenílicos, fenoxiácidos, fenoxipropanóicos, aminopiridínicos, sulfoniluréicos, tiocarbamatos, triazínicos, carbanílicos, ciclohexenônicos, glifosato e sulfosato e compostos diversos (LARINI, L., 1999; ALMEIDA, P. J. de, 2002);
- **fungicidas** — ação de combate a fungos, como os causadores da *ferrugem* do café, o *amarelinho* dos laranjais, entre outras: ditiocarbamatos, organomercuriais, organofosforados, organoestânicos, ftalimídicos, imidazólicos, morfólinicos, pirimidínicos, succinimídicos, acilalanínicos, triazólicos, avermectinas e ivermectinas e compostos diversos (LARINI, L., 1999; ALMEIDA, P. J. de, 2002);
- **moluscicidas** — combate a moluscos; trifenmorf, trimetacarb, metaldeído, niclosamida, niclosamida-etanolamina (LARINI, L., 1999; ALMEIDA, P. J. de, 2002);
- **Raticidas ou rodenticidas** — substâncias utilizadas no combate a roedores, na lavoura e no armazenamento de produtos agrícolas. Causam hemorragias internas nos roedores; cumarínicos, indandiônicos, compostos de flúor, uréicos, norbormide, compostos inorgânicos: sulfato de tálio e carbonato de bário. Varfarina é o mais encontrado no comércio (LARINI, L., 1999; ALMEIDA, P. J. de, 2002);
- **pentaclorofenol** (PCF) e outros — ultimamente vem sendo usado como herbicida, como cupinicida e conservante de madeiras (LARINI, L., 1999; ALMEIDA, P. J. de, 2002).

6.2 TOXICIDADE

A toxidez dos compostos praguicidas é avaliada de acordo com alguns parâmetros, dentre os quais: toxicidade aguda ou crônica; neurotoxicidade; efeitos carcinogênicos, mutagênicos, teratogênicos; irritação e corrosão, ocular e cutânea (LARINI, L., 1999).

A intoxicação aguda surge rapidamente em algumas horas após a exposição excessiva a produtos tóxicos e demanda atenção imediata e medidas terapêuticas urgentes (ALMEIDA, P. J. de, 2002).

Devido à exposição pequena ou moderada a produtos tóxicos ou a múltiplos produtos, em meses ou anos, caracteriza-se pelo surgimento tardio de paralisias, neoplasias e até o aparecimento de câncer, acarretando danos irreversíveis (ALMEIDA, P. J. de, 2002).

A capacidade de um composto químico em provocar efeitos adversos no Sistema Nervoso Central (SNC) é a sua neurotoxicidade, que pode ocorrer provocando os efeitos reversíveis (mudanças funcionais temporárias) e irreversíveis (degeneração das estruturas do SNC) nos órgãos do sentido (LARINI, L., 1999).

As intoxicações provocadas pelos inseticidas organofosforados provocam anormalidades na transmissão neuromuscular são motivadas pela inibição da acetilcolinesterase nas sinapses colinérgicas (LARINI, L., 1999).

Qualquer composto com atividade praguicida dependendo da dosagem pode ser tóxico ao homem e aos organismos vivos, sendo estabelecidas medidas preventivas para que os efeitos indesejáveis sejam mantidos em níveis compatíveis com a vida. Diversas instituições são responsáveis (ANVISA, CAC, EPA, FDA e JMPR) por estabelecerem os limites máximos de resíduos com o objetivo de preservar a saúde da população da ação toxicológica desses compostos (LARINI, L., 1999).

A avaliação toxicológica de um composto praguicida compreende o estudo do risco, da dose, do efeito e da eficácia analisados e interpretados para que o grau de segurança do composto esteja disponível no mercado consumidor, sem danos indesejáveis ao homem e ao meio ambiente. De acordo com essa avaliação os

LMRs estabelecidos pelos órgãos responsáveis estão descritos segundo a Tabela 01 (LARINI, L., 1999).

Tabela 01 – Limites Máximos de Resíduos dos compostos estudados.

LMR (mg.Kg⁻¹)	ANVISA	IDS (dias)	CA	UE	EPA
Aldicarb	NA	70	0,003	0,02	0,9
Bendiocarbe	NA	ND	NA	NA	NA
Carbaryl	0,1	ND	5,0	0,01	1,0
Carbofuran ³	0,1	60	0,001	0,01*0,0 2	1,0
Carbosulfano	0,05	ND	0,01	0,01	0,01-0,05
Etiofencarbe ¹	NA	ND	NA	NA	NA
Fenoxicarbe ²	NA	ND	NA	0,05	0,05
Furatiocarbe	NA	ND	NA	NA	NA
Methiocarbe	1,0	7	NA	0,2	0,005
Methomyl	1,0	3	0,02	0,02	0,03
Oxamyl	NA	1	2,0	0,02	0,001
Pirimicarbe ⁴	1,0	ND	1,0	1,0	1,0
Propoxur	NA	ND	NA	0,05	0,005
Thiodicarbe	NA	ND	NA	0,02	0,01

Legenda: *autorizado em sementes, NA = não autorizado para a cultura e ND = não determinado. ¹Em negrito: ingrediente ativo cuja monografia foi excluída. ²Produtos sem monografias publicadas (não registrado no País). ³Os LMRs referem-se à soma de carbofurano e 3-hydroxycarbofuran, expressos como carbofurano. ⁴Os LMRs referem-se à soma de pirimicarbe, desmetil pirimicarbe e N-formil (metilamina) análogo (desmetilformamido pirimicarbe).

A classificação toxicológica, no Brasil, está sob responsabilidade do Ministério da Saúde, levando em conta a dose letal 50 (Tabela 02) comparada com a quantidade suficiente para óbito de uma pessoa. Por determinação legal, em todos os rótulos devem se apresentar uma faixa colorida indicando sua toxicidade (ALMEIDA, P. J. de, 2002).

Tabela 02 – Classificações da dose letal de agrotóxicos no Brasil.

Grupos Tóxicos	Cor	Classe	DL ₅₀	Dose capaz de matar uma pessoa
Extremamente	vermelha	I	5	1 pitada; algumas gotas
Altamente	amarela	II	5-50	algumas gotas – 1 c. de chá
Medianamente	azul	III	50-500	1 c. de chá – 2 c. de sopa
Pouco	verde	IV	500-5.000	2 c. de sopa – 1 copo
Muito pouco	verde	V	> 5.000	1 copo – 1 litro

Observação: c. = colher.

Fonte: ALMEIDA, P. J. de, 2002.

O objetivo de estabelecer a dose letal mediana, DL₅₀ (sigla em inglês: lethal dose) é avaliar o grau de toxicidade humana nos agrotóxicos (ALMEIDA, P. J. de, 2002; BAIRD, C., 2011). A toxidez de um praguicida é expressa pela quantidade necessária em miligramas por quilo de peso corpóreo (LARINI, L., 1999). Que é determinada administrando-se várias doses, por via oral ou intraperitoneal, em ratos e camundongos para estudos experimentais para avaliar a geração e gradação dos efeitos tóxicos de qualquer agente químico (ALMEIDA, P. J. de, 2002).

A classificação toxicológica dos praguicidas é obtida pela dose resposta (LD₅₀ - oral e dérmica) do ingrediente ativo conforme equação 33 (LARINI, L., 1999):

$$33 \text{ LD}_{50} \text{ do produto ativo} \times 100 \text{ Porcentagem do produto ativo na}$$

formulação

As expressões abaixo demonstram a transformação de mg L⁻¹ ou mg m³ para ppm, conforme as equações 34 e 35:

$$34 \text{ ppm} = \text{mgL} \times 24,451000 \text{ PM}$$

$$35 \text{ ppm} = \text{mgm}^3 \times 24,45 \text{ PM}$$

Sendo PM o peso molecular do composto e o volume molar em 24,45 litros ocupado por um mol nas condições normais de pressão e temperatura (LARINI, L., 1999).

Os carbamatos são inibidores reversíveis da acetilcolinesterase (AChE), muito semelhantes aos organofosforados, porém não provocam o aparecimento de sinais e sintomas que caracterizam uma ação neurotóxica tardia (LARINI, L., 1999).

Estudos epidemiológicos em roedores não forneceram evidências da ação cancerígena, teratogênica e mutagênica (LARINI, L., 1999).

Valores de LD₅₀ oral e dérmica evidenciaram a toxicidade dos compostos carbamatos de acordo com a Tabela 03 (LARINI, L., 1999).

Tabela 03 – Valores de LD₅₀ para dosagem em ratos de carbamatos.

INSETICIDAS	LD ₅₀ (mg kg ⁻¹)	
	Via Oral	Via Dérmica
Carbaryl	500 - 850	5.000
Carbofuran	5 - 13	1.000
Carbosulfan	90 - 250	2.000
Methiocarb	60 - 70	-
Moban	115 - 150	2.000
Pirimicarb	70 - 220	-
Promecarb	55 - 65	-
Propoxur	80 - 190	2.000
Thiodicarb	40 - 135	2.000
Zectran	25 - 37	-

Fonte: LARINI, L., 1999.

6.3 BIOTRANSFORMAÇÃO

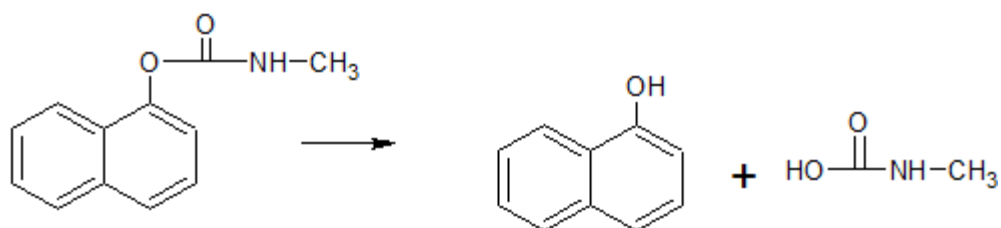
As intoxicações provocadas por inseticidas da classe dos carbamatos ocorrem devido a negligência ao uso dos equipamentos de proteção individual (EPI). Esses compostos são pouco absorvidos pelo organismo humano e podem ser encontrados na forma de pó ou pó molhável (LARINI, L., 1999).

Os carbamatos são compostos lipossolúveis e dessa forma podem ser absorvidos pela pele ou mucosa, sendo as principais formas a absorção por contato direto na pele, por ingestão ou inalação (LARINI, L., 1999).

As reações de biotransformação são: hidrólise com formação do ácido N-metilcarbâmico e fenol (FIGURA 13 - B1- equação 36); hidroxilação do N-metil com formação de compostos de menor toxicidade, hidroxilação no anel aromático formando compostos tóxicos (FIGURA 14 - B2 - equação 37) e N-desalquilação de pouca importância, demonstradas a seguir (LARINI, L., 1999):

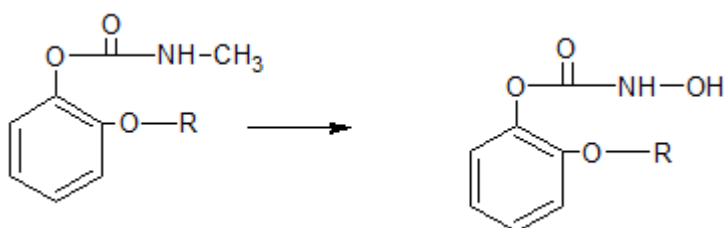
Equação 36

FIGURA 13 (B1) Reação de hidrólise do pesticida carbaryl.



Equação 37

FIGURA 14 (B2) Hidroxilação do grupamento N-metil do propoxur com formação do composto 2-isopropoxifenil-N-hidroximetil-carbamato.



R * CH (CH₃)₂

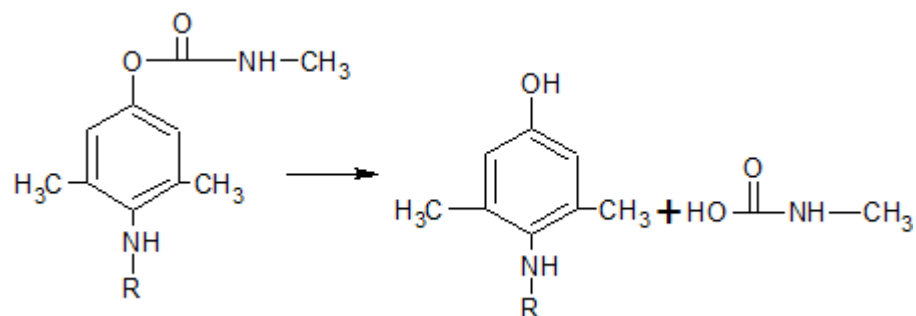
A excreção dos carbamatos é bastante rápida. Seus compostos são biotransformados com rapidez e formam vários metabólitos. Quando administrados em ratos, 72 % do composto são excretados em menos de 24 horas pela urina e nas fezes (LARINI, L., 1999).

Thiodicarb é biotransformado com produção de methomyl, convertido com acetonitrila, dióxido de carbono e acetamida. Carbofuran é biotransformado com a oxidação no anel aromático e por clivagem hidrolítica na ligação éster produzindo diversos produtos (LARINI, L., 1999).

Na biotransformação do zectran (FIGURA 15 - B3 - equação 38) ocorre reação de hidrólise e reações de N-desalquilação (LARINI, L., 1999).

Equação 38

FIGURA 15 (B3) Biotransformação do zectran em 4-dimetilamino-3,5-xilenol.



Por clivagem na ligação N—S, o carbosulfan é convertido em carbofuran e dibutilamina (LARINI, L., 1999).

O moban é hidrolisado, o pirimicarb quando biotransformado sofre processos oxidativos e hidrolíticos com formação de vários compostos e o propoxur ao ser biotransformado é convertido em compostos de menor importância toxicológica (LARINI, L., 1999).

6.3.1 Sinais e Sintomas

O acúmulo da acetilcolina nas junções colinérgicas resulta no comprometimento do Sistema Nervoso Central (SNC). O quadro 01 apresenta em efeitos muscarínicos (Sistema Nervoso Autônomo - SNA) e nicotínicos (Sistema Somático - SS) sobre o Sistema Nervoso Central e Periférico. No quadro 01 são listados muitos desses efeitos que decorrem sobre a atividade metabólica do fígado, da síntese cerebral de fosfolípides, na atividade da tireóide, alterações da serotonina sanguínea, déficit de atenção, hiperatividade (TDAH), um distúrbio do desenvolvimento em fetos e crianças (LARINI, L., 1999; PERES, F.; MOREIRA, J. C., 2003).

Quadro 01 – Sinais e Sintomas dos carbamatos no SNC.

Local:	Sinais Sintomas
1-sistema nervoso central	1.1 Distúrbios no sono, dificuldade de concentração, comprometimento da memória, ansiedade, agitação, convulsões, tremores, disartria, depressão respiratória, torpor e coma.
2-sistema nervoso autônomo	2.1 Aparelhos: digestivo (perda de apetite, náuseas, vômitos, dores abdominais, diarreia, defecação involuntária); respiratório (rinorréia, secreção bronquiolar, dispneia, opressão torácica, edema pulmonar); urinário (diurese frequente e involuntária); sistemas: circulatório (bradicardia, bloqueio aurículo-ventricular), ocular (visão enfraquecida, miose, pupilas puntiformes sem reação) e glândulas exócrinas (transpiração excessiva).
3-sistema somático	3.1 Contrações involuntárias dos músculos, câimbras, fasciculações e enfraquecimento muscular generalizado.

Fonte: LARINI, L., 1999.

O afastamento integral do trabalhador de suas atividades, devido à ação dos compostos carbamatos durante o período mínimo de 24 horas, determina sempre que a amostra de sangue deve ser coletada durante a exposição do trabalhador. As concentrações de 4 mg L⁻¹ podem ser consideradas como representativas de exposição efetiva ao inseticida. A exposição prolongada no uso destes pesticidas também pode ser detectada pela presença de resíduos na concentração urinária (LARINI, L., 1999).

Devem-se fazer exames laboratoriais de rotina e testes laboratoriais específicos para medir a atividade anticolinesterásica (avaliar diagnóstico terapêutico). Quanto mais baixo for o nível de atividade enzimática maior será o grau de intoxicação. Mas, a detecção da atividade de Neurotoxicoesterase NTE (feita em linfócitos do sangue periférico) não está disponível no nosso país (LARINI, L., 1999).

Em relação às intoxicações, medidas gerais precisam ser tomadas para que vidas possam ser salvas. Essas medidas têm ação preventiva e estão relacionadas à reposição hídrica e ao suporte respiratório (intubação traqueal) e cardiovascular do

paciente. A recomendação médica é sulfato de atropina e compostos piridínicos, como a pralidoxima, a trimedoxima e a obidoxima, que agem como reativadores. O mesilato de pralidoxima (Contrathion) é contra indicado na intoxicação por carbamatos. Durante o quadro agudo da intoxicação é recomendado a injeção de 0,5 ou 1,0 mg de sulfato de atropina, por via intramuscular ou endovenosa e repetir as injeções de 0,5 mg a cada 15-30 minutos para manter a atropinização (LARINI, L., 1999).

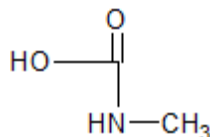
Se usuários de agrotóxicos usassem o equipamento de proteção individual (EPI), seguissem as normas e instruções de manuseio dessas substâncias muitas intoxicações agudas seriam evitadas (LARINI, L., 1999).

6.4 CARBAMATOS

Os carbamatos tiveram seu desenvolvimento associado ao uso da planta o *Physostigma venenosum*, vulgarmente conhecido como feijão-de-calabar é uma planta da família das *Fabaceae*, que cresce selvagem na África Ocidental, especialmente na Guiné, ao longo do rio Calabar. É uma planta trepadeira que atinge de 15 a 20 metros; semelhante a um feijão grande, tem folhas trifoliadas e flores tipo papilionácea de cor rosa ou roxo; pingentes, dispostas em racemos. Isolado na metade do século XIX, esse composto foi responsável pelos efeitos medicinais e tóxicos dessa planta, que apresentava o grupo carbamato (BRANCO, S. M., 2003; KENDALL, R. J. *apud* CASARRET, L. J.; DOULL, J., 1996).

Carbamatos chamados de uretanos são um grupo de compostos orgânicos que compartilham de um mesmo grupo funcional cuja estrutura é $-\text{NH}(\text{CO})\text{O}^-$ (BAIRD, C., 2011). Derivam do ácido carbâmico e apresentam em comum à estrutura fundamental do ácido N-metilcarbâmico (FIGURA 16), existem poucas informações para os diversos compostos (LARINI, L., 1999).

FIGURA 16: Ácido N-metilcarbâmico.



Fonte: LARINI, L.; 1999.

São ésteres do ácido carbâmico, NH_2COOH , um composto instável. O ácido carbâmico pode conter um nitrogênio ligado a um grupo carboxila ou uma amida. Por essa razão, os ésteres de carbamato podem ter os grupos alquila ou arila substituídos no nitrogênio ou na função amida. Na década de 30 foram sintetizados e comercializados os primeiros ésteres alifáticos de ácido carbâmico, utilizados como fungicidas (KENDALL, R. J. *apud* CASARRET, L. J.; DOULL, J., 1996). Passaram a ser utilizados como inseticidas em 1951. Têm vida curta no ambiente porque reagem com água, decompondo-se em produtos não tóxicos, com toxicidade dérmica baixa (BAIRD, C., 2011).

Compostos carbamatos mostram certo nível de seletividade para alguns insetos, mas também são tóxicos às abelhas. São mais seguros de se trabalhar, pois quando surgem os primeiros sintomas de intoxicação nas pessoas, a dose absorvida está longe da dose letal. Os inseticidas carbamatos agem nos insetos por ação de contato e ingestão (BAIRD, C., 2011).

Principais compostos: pyrolan, promecarb, isolan, fenoxicarb, dimetan, tiodicarb, propoxur, pirimicarb, moban, mexacarbate, metiocarb, carbofuran, carbaril, bufencarb, etiofencarb, bendiocarb, benfuracarb. Exemplos de nomes comerciais de inseticidas carbamatos não sistêmicos: Sevin 480, Semevin, Larvin e sistêmicos: Lanate BR, Marshal 250 CE, Furadan 350 SC, Temik 150, Furazin (LARINI, L., 1999).

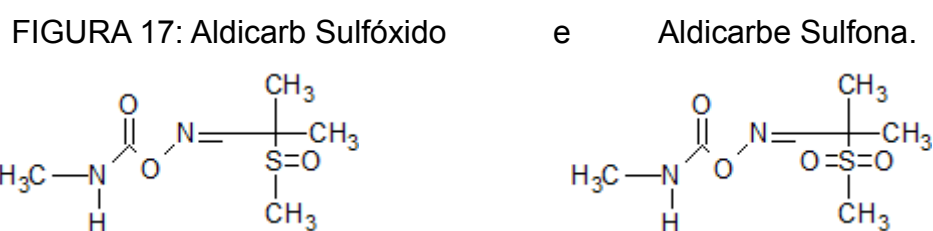
Os carbamoiloxímicos são compostos semelhantes aos carbamatos no tratamento para intoxicações, sinais e sintomas e toxicidade. Principais representantes: aldicarb (temik), methomyl (lanax, lannate), oxamyl (thiomyl, vydate, vydatel), tiofanox (70 compostos químicos) e tirpate (LARINI, L., 1999).

Aldicarb tem odor sulfuroso, sólido cristalino incolor, insolúvel em heptano, pouco solúvel em água e solúvel em solventes orgânicos como tolueno (10 %), benzeno (15 %), etanol (25 %), diclorometano (30 %), acetona (35 %) e clorofórmio (35 %). Moderadamente persistente em ambientes terrestres. Nome químico 2-metil-

2-(metiltio)-propionaldeído-O-(metilcarbamoil)-oxima (LARINI, L., 1999; EPA, 2007; WHO/FAO, 2012).

A fórmula empírica desse composto é $C_7H_{14}N_2O_2S$; seu peso molecular: 190,264 g mol⁻¹. Utilizado como: inseticida, acaricida e nematicida sistêmico (ANDREI, 1987).

Passagli, M. (2007) afirmou que aldicarb cujo nome comercial é TEMIK®, destinado ao uso agrícola tem sido comercializado em centros urbanos, principalmente em feiras livres, como raticida, conhecido como chumbinho. Sua DL₅₀ para ratos é de 0,93 mg Kg⁻¹. Esse composto apresenta uma persistência curta no ambiente degradando-se em seus metabólitos (FIGURA 17); sulfóxido (peso molecular: 206,264 g mol⁻¹) e sulfona (peso molecular: 222,263 g mol⁻¹), determinados como sulfato de aldicarb e expressos como aldicarb e produtos não tóxicos. Não é autorizado emprego domissanitário (ANDREI, 1987).

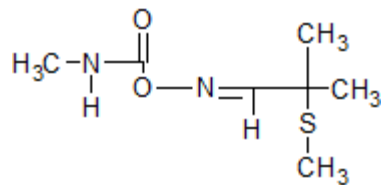


Fonte: EPA, 2007.

Este composto foi sintetizado em 1965 por L. K. Payne e M. H. J. Weiden e introduzido no mercado em 1970 (LARINI, L., 1999).

Aldicarb (FIGURA 18) é altamente tóxico a pássaros, mamíferos, abelhas melíferas e minhocas. Restrito nas áreas onde existem águas de superfície. Utilizado como inseticida sistêmico, acaricida e nematicida, aplicado no solo nas culturas de algodão, alfafa, batata, beterraba, sorgo, amendoim, soja, banana, café, feijão, cana-de-açúcar, tomate, fumo, milho, couve, brócolis, repolho, citros e em plantas ornamentais (LARINI, L., 1999; EPA, 2007; WHO/FAO, 2012).

FIGURA 18: Aldicarb.

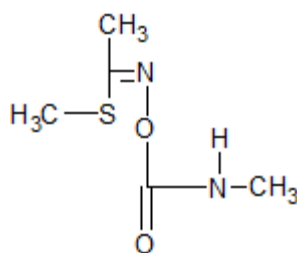


Fonte: EPA, 2007.

Limitado o uso deste composto para os estados seguintes: Geórgia, Carolina do Norte, Carolina do Sul, Califórnia, Colorado, Idaho, Montana, Nebraska, Oregon, Washington e Wyoming (EPA, 2007; WHO/FAO, 2012).

Methomyl (FIGURA 19) é um sólido cristalino incolor com odor sulfuroso, pouco solúvel em água e bastante solúvel em metanol (100 %), etanol (42 %), clorofórmio, acetona (72 %), isopropanol (22 %), tolueno (3 %) e outros solventes orgânicos. Peso molecular de 162,211 g mol⁻¹. Ponto de fusão entre 78 a 79 °C. Methomyl é um degradante de thiodicarb. Nome químico, S-methyl N-(methylcarbamoyloxy) thioacetimidate; grupo químico, Metilcarbamato de oxima; Classe I: Inseticida e acaricida. Fórmula empírica C₅H₁₀N₂O₂S; nome comum, Lannate (LARINI, L., 1999; EPA, 1998; WHO/FAO, 2012). DL₅₀ para ratos, 17-24 mg Kg⁻¹. Persistência curta no ambiente. Não autorizado emprego domissanitário (ANDREI, 1987).

FIGURA 19: Methomyl.

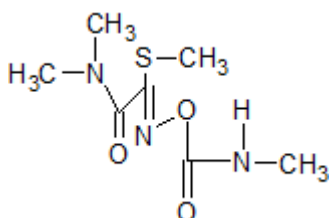


Fonte: EPA, 1998.

Oxamyl (FIGURA 20) é um sólido cristalino branco com um leve odor sulfuroso, solúvel em água (28 %), metanol (130 %), acetona (67 %), etanol (33 %), e tolueno (1 %). Nome comum: thioxamyl; químico: N,N-dimetil-2-metilcarbamoiloximino-2-(metiltio)acetamida. Fórmula empírica C₇H₁₃N₃O₃S (ANDREI, 1987). Peso molecular: 219,3 g mol⁻¹. Estável em forma sólida; utilizado

como: inseticida, nematicida e acaricida. Empregado nas culturas de: maçã, banana, cenoura, aipo, cítrico, pepino, cebolas, berinjela, alho, gengibre, hortelã, amendoim, pera, morango, tabaco, pimenta, abacaxi, abóbora, feijão-soja, batata-doce, tomate, cereja, pêsego, melancia, e inhame. Toxicidade aguda para pássaros, mamíferos, abelhas melíferas e em invertebrados de água doce, com DL_{50} para ratos: $5,4 \text{ mg Kg}^{-1}$ (LARINI, L., 1999; EPA, 2000; WHO/FAO, 2012). Emprego agropecuário: autorizado para cultura de fumo. Não autorizado emprego domissanitário (ANDREI, 1987).

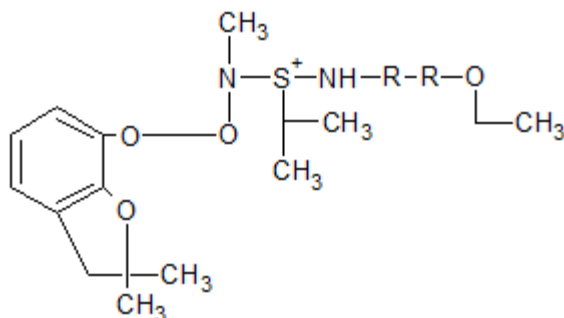
FIGURA 20: Oxamyl.



Fonte: EPA, 2000.

Benfuracarb: fórmula empírica $C_{20}H_{30}N_2O_5S$. Com peso molecular $410,53 \text{ g mol}^{-1}$, esse composto é um sólido de coloração âmbar, pouco solúvel em água e bastante solúvel nos solventes orgânicos como acetonitrila e benzeno. As propriedades desse composto são: densidade $1,17 \text{ g cm}^{-3}$; puro é um líquido de coloração avermelhada, insolúvel em água e solúvel em quase todos os solventes orgânicos. Oncol e benfuracarb são (FIGURA 21) nomes comuns para esse composto, e o LMR de resíduos nos alimentos é de $0,05 \text{ ppm}$. A dose oral do composto em ratos LD_{50} é de 138 mg kg^{-1} e em camundongos LD_{50} é de 175 mg kg^{-1} . Decompõe-se no meio ambiente com a ruptura na ligação N—S com formação de carbofuran convertido em 3-hydroxycarbofuran (LARINI, L., 1999).

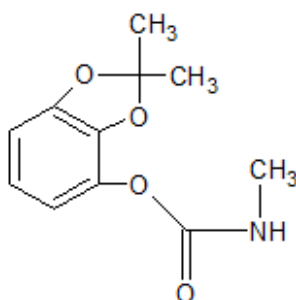
FIGURA 21: Benfuracarb; * $R_1 (CH_2)_5$ e o $R_2 [C(O)]$.



Fontes: ANVISA, B 35 e LARINI, L.; 1999.

Bendiocarb: fórmula empírica $C_{11}H_{13}NO_4$. Existem vários nomes comuns conhecidos: bencarbate, bendiocarbe (FIGURA 22), dycarb, ficam, garvox etc. Com peso molecular $223,23 \text{ g mol}^{-1}$ é solúvel em solventes orgânicos. Esse composto é um sólido cristalino de coloração branca. Seu uso só é permitido em campanhas de saúde pública e por entidades especializadas (LARINI, L., 1999).

FIGURA 22: Bendiocarbe.



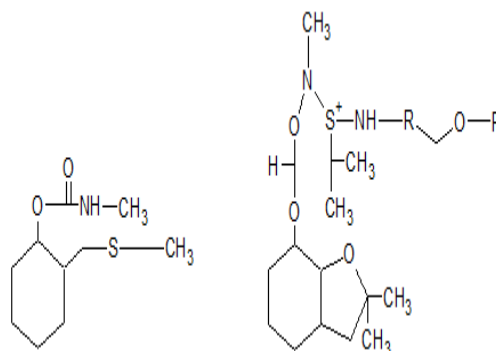
Fonte: LARINI, L.; 1999.

Segundo a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), seu nome químico é 2,3-isopropylidenedioxyphenyl methylcarbamate. Classe I e grupo químico é metilcarbamato de benzodioxol. Restrições de uso: só por entidades especializadas, não podendo ser associada a outras substâncias inseticidas, raticidas ou sinergistas (ANVISA, Ministério da Saúde). Não autorizado o emprego domissanitário (ANDREI, 1987).

Bufencarb: (FIGURA 23), seu peso molecular: $221,30 \text{ g mol}^{-1}$ com ponto de fusão entre $26-39 \text{ }^\circ\text{C}$. Esse composto é um sólido de coloração âmbar, pouco solúvel em água e bastante solúvel nos solventes orgânicos. As propriedades desse

composto são: densidade $1,17\text{g cm}^{-3}$, puro é um líquido de coloração avermelhada, insolúvel em água e solúvel em quase todos os solventes orgânicos (LARINI, L., 1999). Altamente tóxico, tendo uma dose aguda oral do composto em ratos machos LD_{50} de 97mg kg^{-1} em ratos fêmeas LD_{50} de 61 mg kg^{-1} (LARINI, L., 1999).

FIGURA 23: Benfucarb; $\text{R}_1(\text{CH}_2)_5$ e $\text{R}_2\text{C}_2\text{H}_5$.



Fonte: LARINI, L.; 1999.

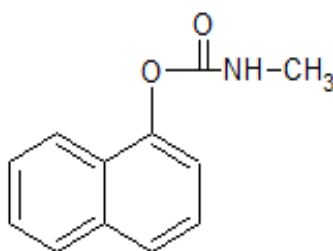
Utilizado no tratamento do solo nas culturas de arroz, batata e tomate, seu emprego domissanitário não é permitido (LARINI, L., 1999).

Carbaryl: fórmula empírica $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{NO}_2$, seu peso molecular é $201,221\text{ g mol}^{-1}$. Possui vários nomes comuns: sevin, dicarban, menkatol, carvin, arilan, sevinox, sevidol etc. Ponto de fusão $142\text{ }^\circ\text{C}$, pouco solúvel em água e levemente solúvel em benzeno, hexano e methanol; moderadamente solúvel nos demais solventes orgânicos. Estável em condições normais de armazenamento se decompõe em meio alcalino produzindo 1-naphthol (LARINI, L., 1999; EPA, 2007; WHO/FAO, 2012). O composto apresenta uma persistência curta no ambiente, sendo biodegradado por uma grande variedade de microrganismos do solo (ANDREI, 1987).

Utilizado na agricultura no combate à pragas e insetos domésticos. Segundo a IUPAC, o nome químico do composto é 1-naphthyl methylcarbamate; seu grupo químico, metilcarbamato de naffila. Classe II, Inseticida. O IDA é de $0,003\text{ mg kg}^{-1}$ peso corpóreo (ANVISA, Ministério da Saúde; LARINI, L., 1999).

Uso agrícola autorizado, conforme indicado e aplicação foliar nas culturas de abacaxi, abóbora, algodão, alho, banana, batata, cebola, couve-flor, feijão, maçã, pastagem, pepino, repolho e tomate. A fórmula estrutural do carbaryl é apresentada na FIGURA 24.

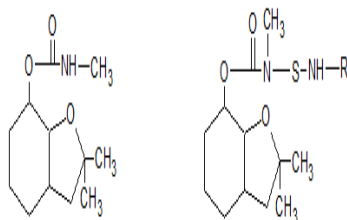
FIGURA 24: Carbaryl.



Fonte: EPA, 2007.

Carbofuran: com fórmula empírica $C_{12}H_{15}NO_3$, seu peso molecular é 221,30 g mol⁻¹. Furadan é o nome comum, sua fórmula está representada na FIGURA 25, possui o nome químico 2,3-dihidro-2,2-dimetil-7-benzofuranil-N-metilcarbamato, facilmente degradado no meio ambiente. Estável debaixo de condições neutras e ácidas, mas decompõe debaixo de condições alcalinas. É um sólido cristalino branco incolor com ponto de fusão 153-4 °C. Pouco solúvel em água e solúvel no xileno (1 %), no éter de petróleo (1 %), benzeno (4 %), etanol (9 %) e acetona (15 %). Possui grande potencial de contaminação em lençóis freáticos e tem alta mobilidade e lixiviação no solo (LARINI, L., 1999; EPA, 2006; WHO/FAO, 2012).

FIGURA 25: Carbofuran.

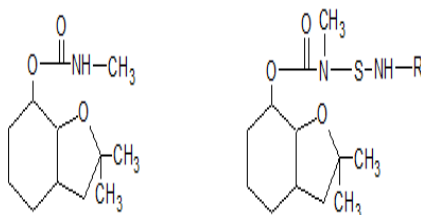


Fonte: EPA, 2006.

Utilizado como nematicida nas culturas de algodão, alcachofra, alfafa, girassol, arroz, batata, uva, aveia, pimenta, espinafre, milho, banana, pepino, melão, abóbora, amendoim, trigo, café, cana-de-açúcar. Empregado como inseticida de longa ação residual (LARINI, L., 1999). Possui uma persistência curta no ambiente. Não autorizado emprego domissanitário. Os resíduos, princípio ativo e seu metabólito 3-hydroxycarbofuran (ANDREI, 1987).

Carbosulfan: fórmula empírica $C_{20}H_{32}N_2O_3S$. Alguns nomes comuns deste composto são marzinic, carbosulfan, marshall etc. Com fórmula estrutural representada na FIGURA 26, seu peso molecular é $380,5 \text{ g mol}^{-1}$; decompõe-se com uma temperatura acima de $80 \text{ }^\circ\text{C}$ permanece estável em condições de armazenamento. Esse composto é um líquido marrom, pouco solúvel em água e solúvel nos demais solventes orgânicos (LARINI, L., 1999).

FIGURA 26: Carbosulfan; R $(C_4H_9)_2$.



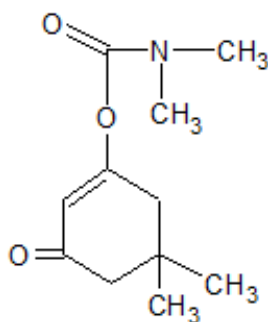
Fontes: ANVISA, C 26 e LARINI, L.; 1999.

Empregado nas culturas de algodão, citros e feijão; no tratamento de sementes de algodão, arroz, feijão, milho e trigo, antes do plantio; e no solo nas culturas de fumo, arroz irrigado, batata, citros e tomate, com limites máximos de resíduos $0,05 \text{ ppm}$ para cada cultura (LARINI, L., 1999).

O composto de nome químico é 2,3-dihidro-2,2-dimetilbenzofuran-7-yl (dibutilaminothio) methylcarbamate, pertence ao grupo químico do metilcarbamato de benzofuranila. Classe II: Inseticida, acaricida e nematicida. Uso agrícola autorizado conforme indicado e aplicação foliar nas culturas de coco, mamão, manga, tomate e uva. Aplicação em sementes de algodão, arroz, feijão, milho, soja e trigo. Aplicação no solo nas culturas de arroz, batata, cana-de-açúcar, citros, fumo e tomate. O composto possui uma persistência curta no ambiente sendo convertido em carbofuran e dibutilamina. IDA = $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$ peso corpóreo. Não autorizado emprego domissanitário (ANVISA, Ministério da Saúde; ANDREI, 1987).

Dimetan: existem poucas informações sobre esse composto. Dimetan é o nome comum (FIGURA 27), seu peso molecular é $211,26 \text{ g mol}^{-1}$. É um sólido cristalino branco, com ponto de fusão na faixa de $45\text{-}46 \text{ }^\circ\text{C}$; solúvel em água e moderadamente solúvel em solventes orgânicos (LARINI, L., 1999).

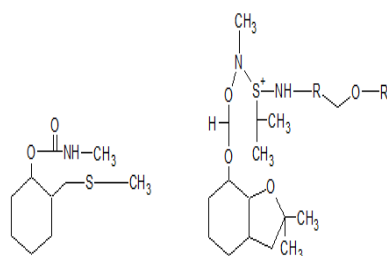
FIGURA 27: Dimetan.



Fonte: LARINI, L.; 1999.

Etiofencarb: Sua fórmula empírica $C_{11}H_{15}NO_2S$; seu nome químico é 2 [(etiotio) metil] fenilmetilcarbamato. O peso molecular desse composto é $225,31 \text{ g mol}^{-1}$, conforme estrutura representada na FIGURA 28. É um inseticida sistêmico conhecido como croneton, altamente solúvel em cloreto de metileno e tolueno. Esse composto é um sólido cristalino incolor, com ponto de fusão $33,5 \text{ }^\circ\text{C}$ (LARINI, L., 1999).

FIGURA 28: Etiofencarb.



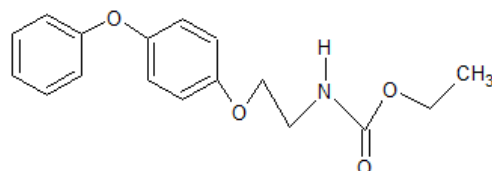
Fonte: LARINI, L.; 1999.

A monografia deste composto foi excluída do Brasil, seu emprego agropecuário e domissanitário não são autorizados no nosso país (ANDREI, 1987).

Fenoxicarb: pouco se sabe sobre esse composto. Sua fórmula empírica $C_{17}H_{19}NO_4$; nomes comuns: award, insegar, torus, fenoxicarb (FIGURA 29) etc. Seu peso molecular: $301,34 \text{ g mol}^{-1}$; é um sólido cristalino, a cor vai do incolor ao branco, com ponto de fusão entre $53-54 \text{ }^\circ\text{C}$; solúvel em água $5,66 \text{ mg L}^{-1}$ a 25°C ; prontamente solúvel em solventes orgânicos: etanol 51, acetona 77, tolueno 63, n-

octano 13, n-hexano 0,53 g por 100 mL. Usado como um regulador de crescimento de inseto. Possui baixa toxicidade para mamíferos (LARINI, L., 1999; WILEY, 2003).

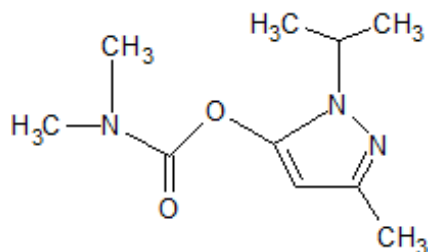
FIGURA 29: Fenoxicarb.



Fonte: LARINI, L.; 1999.

Isolan: há poucas informações a respeito desse composto, sabe-se, porém, que é extremamente tóxico e facilmente absorvido pelo trato gastrointestinal e via dérmica. Isolan (FIGURA 30); é o nome comum. Com peso molecular de: 211,26 g mol⁻¹, é um líquido de densidade 1,070 g cm⁻³; com ponto de fusão 87 °C; insolúvel em água e solúvel em quase todos os solventes orgânicos (LARINI, L., 1999).

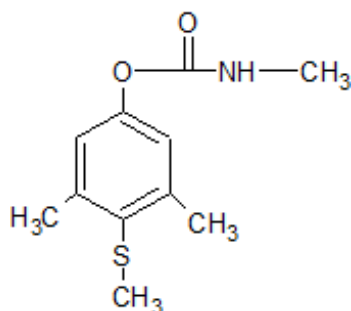
FIGURA 30: Isolan.



Fonte: LARINI, L.; 1999.

Methiocarb: fórmula empírica C₁₁H₁₅NO₂S. Possui alguns nomes comuns: mesuroal, methiocarb (FIGURA 31) etc. Seu peso molecular: 225,31 g mol⁻¹; é um pó cristalino branco. Pouco solúvel em água e solúvel em acetona e etanol, instável em meio alcalino (LARINI, L., 1999).

FIGURA 31: Methiocarb.

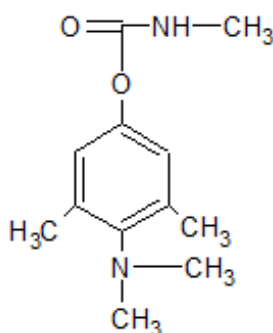


Fonte: LARINI, L.; 1999.

Composto utilizado como: inseticida, acaricida e moluscicida, e repelente de pássaros; aplicado em plantas ornamentais e nas culturas de: berinjela, pimentão e tomate (LARINI, L., 1999; EPA, 1994; WHO/FAO, 2012).

Mexacarbate: zectran, mexacarbate (FIGURA 32) são nomes comuns deste composto, com peso molecular $222,30 \text{ g mol}^{-1}$; é um sólido de coloração que oscila do marrom-claro ao marrom. Pouco solúvel em água e solúvel em acetona, benzeno e xileno. Composto utilizado como: inseticida, acaricida e moluscicida (LARINI, L., 1999).

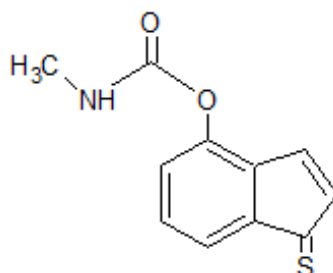
FIGURA 32: Mexacarbate.



Fonte: LARINI, L.; 1999.

Moban: existem poucas informações sobre esse composto. Moban é o nome comum, logo a seguir, na FIGURA 33, encontra-se sua estrutura. Seu peso molecular: $205,25 \text{ g mol}^{-1}$; é um sólido cristalino branco. Insolúvel em água e solúvel em acetona e methanol (LARINI, L., 1999).

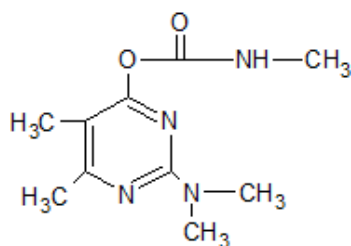
FIGURA 33: Moban.



Fonte: LARINI, L.; 1999.

Pirimicarb: seu nome químico é 4-dimetil-carbomato de 2-dimetilamino-5,6-dimetil pirimidina. Com fórmula empírica $C_{11}H_{18}N_4O_2$, esse composto possui vários nomes comuns: feros, pirimior, pirimicarb (FIGURA 34), rapid etc. Seu peso molecular é $238,33 \text{ g mol}^{-1}$; apresenta persistência de inseticida curta no ambiente. É um sólido cristalino branco, pouco solúvel em água e bastante solúvel em acetona, etanol, methanol e clorofórmio; estável em condições de armazenamento. Empregado no combate de pulgões de vegetais e frutas (LARINI, L., 1999).

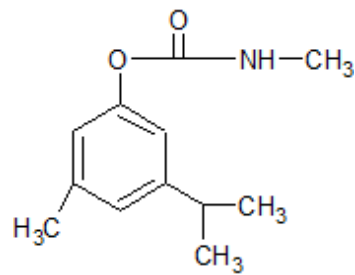
FIGURA 34: Pirimicarb.



Fontes: ANVISA, P 10 e LARINI, L.; 1999.

Promecarb: existem poucos dados sobre esse composto. Minacid e promecarb (FIGURA 35) são nomes comuns. Seu peso molecular é de: $207,28 \text{ g mol}^{-1}$. É um sólido cristalino, com ponto de fusão de $87 \text{ }^\circ\text{C}$; insolúvel em água e solúvel nos demais solventes orgânicos (LARINI, L., 1999).

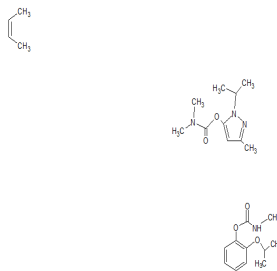
FIGURA 35: Promecarb.



Fonte: LARINI, L.; 1999.

Propoxur: fórmula empírica $C_{11}H_{15}NO_3$, possui vários nomes comuns: baygon, sendra, sendran, propoxur (FIGURA 36) etc. Possui peso molecular $209,242 \text{ g mol}^{-1}$; é um pó cristalino branco. Ponto de fusão de $91,5 \text{ }^\circ\text{C}$, pouco solúvel em água e solúvel nos demais solventes orgânicos. Instável em meio alcalino, apresenta alta tendência de lixiviação no solo (LARINI, L., 1999; EPA, 1997; WHO/FAO, 2012).

FIGURA 36: Propoxur.



Fonte: EPA, 1997.

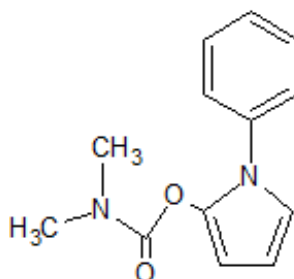
Inseticida não sistêmico utilizado no combate a insetos domésticos e controle do vetor da malária. Aplicado nas partes aéreas das culturas de alho e cebola (bulbos) e nos frutos como ameixa, citros, maçã, cacau e pêsego; nas hortaliças folhosas e não-folhosas como berinjela, pimentão e pimenta; nas sementes de oleaginosas como amendoim, algodão, e soja (LARINI, L., 1999).

Nome químico: 2-isopropoxyphenyl methylcarbamate. Grupo químico: metilcarbamato de fenila, Classe II: Inseticida. O IDA é de $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$ peso corpóreo (ANVISA, Ministério da Saúde).

Pyrolan: dados insuficientes sobre o composto, porém sabe-se que é altamente tóxico. Pyrolan (FIGURA 37) é o nome comum. Seu peso molecular:

245,28 g mol⁻¹; é um sólido cristalino, com ponto de fusão de 160-162 °C (LARINI, L., 1999).

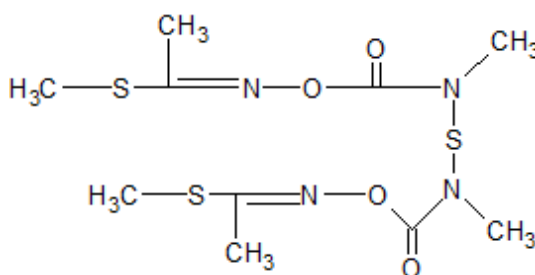
FIGURA 37: Pyrolan.



Fonte: LARINI, L.; 1999.

Thiodicarb: fórmula empírica C₁₀H₁₈N₄O₄S₃, nomes comuns: larvin, nival, thiodicarb (FIGURA 38). Seu peso molecular é de 345,5 g mol⁻¹; estável em condições de armazenamento e degradado em temperaturas superiores a 60 °C. É um sólido de coloração que oscila do branco ao pardacento, possui odor sulfuroso; com ponto de fusão na faixa de 168 a 172 °C. Moderadamente solúvel em diclorometano (15 %) e pouco solúvel em xileno (0,3 %), (3,5 %) água, methanol (0,8 %) e acetona (0,8 %) (LARINI, L., 1999).

FIGURA 38: Thiodicarb.



Fonte: LARINI, L.; 1999.

Inseticida empregado no combate de coleópteros, hemípteros e lepidópteros (LARINI, L., 1999).

Nome químico: 3,7,9,13-tetramethyl-5,11-dioxa-2,8,14-trithia-4,7,9,12-tetraazapentadeca-3,12-diene-6,10-dione; grupo químico: metilcarbamato de oxima;

Classe II: Inseticida. Uso agrícola, conforme indicado e aplicação foliar nas culturas de algodão, milho e soja. Aplicação em sementes de algodão, amendoim, arroz, aveia, cevada, feijão, girassol, mamona, milho, soja, sorgo e trigo (LARINI, L., 1999).

O intervalo de segurança não foi determinado devido à modalidade de emprego. Observação: os LMRs referem-se à soma de thiodicarbe, methomyl e hidroxítioacetimidato de metila (“metomiloxima”) expressos como thiodicarbe. O IDA é de 0,03 mg kg⁻¹ peso corpóreo (ANVISA, Ministério da Saúde; EPA, 1998; WHO/FAO, 2012).

7. MATERIAIS E MÉTODOS

7.1 METODOLOGIA

O desempenho do método foi avaliado através da análise de parâmetros de qualidade, tais como valores de recuperação, repetibilidade, reprodutibilidade, linearidade e limites de detecção e quantificação.

Seletividade: como nenhum método analítico está totalmente livre de interferências dos constituintes de uma matriz, alguma ação é feita para minimizar os efeitos, geralmente realiza-se o *clean-up* nas matrizes.

O método é robusto quando: apresenta reprodutibilidade e suas medições são constantes havendo poucas alterações nos parâmetros experimentais.

A exatidão do método refere-se se as medidas encontradas estão próximas do valor “verdadeiro” e pode ser avaliada pela determinação da adição e recuperação dos analitos estudados.

Examina-se a mesma amostra de forma repetível e se os valores forem muito próximos uns dos outros, sua medida é precisa.

7.2 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

O trabalho experimental foi desenvolvido no Laboratório de Águas/Grãos e as análises por CLAE foram realizadas no Laboratório de Espectrofotometria do PRONAT, ambas localizados dentro da Universidade Federal de Roraima.

As amostras utilizadas neste trabalho são da espécie *Lycopersicum esculentum Mill* oriundo do município de Alto Alegre-RR.

Os reagentes utilizados foram de grau HPLC.

A água utilizada foi ultrapurificada (resistividade de 0,1 μS , MS 1000 versão 3.0) para limpeza dos materiais e água ultrapura (resistividade de 18,3 μS , Sistema Milli-Q) para CLAE.

Os equipamentos utilizados nas extrações foram: rotaevaporador, agitador mecânico e SPE.

As vidrarias volumétricas utilizadas neste trabalho foram calibradas e todas as demais foram deixadas em banho com solução de Extran a 2 % por aproximadamente 12 horas sendo em seguida enxaguados com água corrente, em água deionizada, em acetona e água deionizada e colocado em estufa a 250 °C por 2h. Após, a secagem dos materiais estes acondicionados em um recipiente de plástico (caixa de 30 L) com tampa, previamente limpo e seco.

7.3 MATERIAIS, EQUIPAMENTOS E REAGENTES UTILIZADOS

Os equipamentos, materiais e reagentes utilizados são listados a seguir com suas respectivas especificações.

- cromatógrafo a líquido marca SHIMADZU, com bombas modelo LC – 20 AT, injetor (SIL – 10 ADvp); coluna Hypersil ODS (0,46 mm ID x 25 cm); autosampler SIL- 20 A; forno CTO – 20 A; sistema CBM -20 A; PDA: SPD-M 20A; faixa de 350 a 450 nm;
- SPE (extração em fase sólida);
- ACN (acetonitrila) grau HPLC (SIGMA-ALDRICH e CROMOLINE);
- Água ultrapura (resistividade de 18,3 μS), Sistema Milli-Q;
- Methanol grau HPLC (SIGMA-ALDRICH);

- Hexano grau HPLC (SIGMA-ALDRICH);
- Acetona grau HPLC (VETEC);
- Diclorometano grau HPLC (SIGMA-ALDRICH e CROMOLINE);
- Extran neutro (MERCK);
- Padrões de Carbamate Pesticides Mixture (TEDIA BRAZIL);
- Soluções padrões de carbaryl, carbofurano e thiodicarb a 100 ppm.

7.4 AMOSTRAGEM

Todas as amostras de tomates foram adquiridas pela manhã, nas datas segundo a tabela 04, no verão de 2010, na feira do Produtor localizada no município de Boa Vista-RR.

Cada coleta foi de 2 kg de tomates *in natura*, levadas ao Laboratório de Águas/Grãos onde as amostras foram lavadas em água corrente com a finalidade de remover partículas de solo. Em seguida foram cortadas em cubos para começar o processo de extração (Tabela 04).

Tabela 04 – Datas das coletas das amostras.

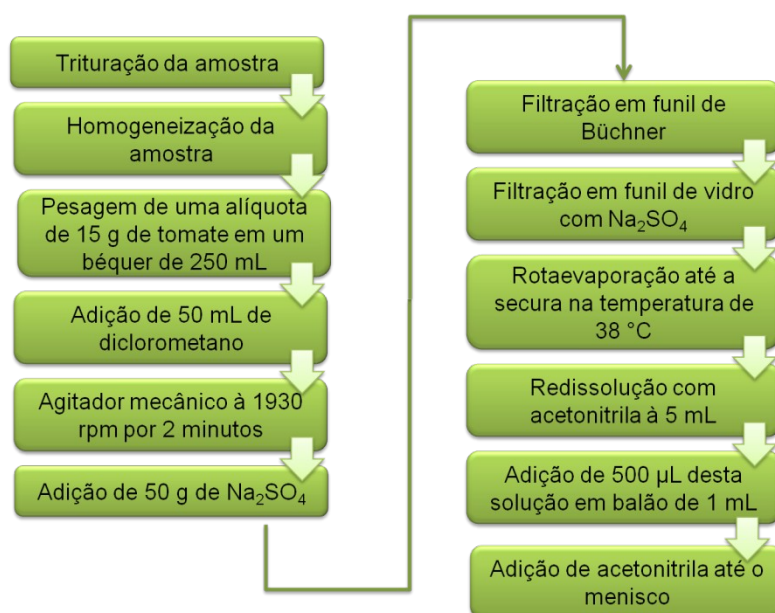
Extração	Datas	Massas (grama)
s		
1	22/02/10	15,1044
2	09/03/10	15,1379
3	16/03/10	15,1772
4	22/03/10	15,3537
5	30/03/10	15,5804
6	13/04/10	15,0342
7	20/04/10	15,2014

7.5 PRÉ-TRATAMENTO (EXTRAÇÃO I):

O procedimento de pré-tratamento das amostras de tomates foi adaptado do método de Arrebola, F. J. et al. (2003), mas como a técnica utilizada foi CLAE então criou-se um novo método.

Os tomates foram cortados em partes pequenas com faca e triturados em um liquidificador. Foi tomada em um béquer de 200 mL com 15 g da polpa de tomate em triplicata. Adicionado 50 mL de diclorometano e agitado à 1930 rotações por minutos (rpm) por 2 minutos. A esta mistura foi adicionado 50 g de sulfato de sódio anidro e deixado em repouso por 2 minutos. Em seguida, a mistura foi filtrada à vácuo. A solução resultante foi filtrada novamente em papel de filtro quantitativo contendo sulfato de sódio anidro e transferida para um balão de fundo redondo, sendo evaporado o solvente até securo em rotaevaporador a temperatura de 38°C. O resíduo foi diluído em 5 mL de acetonitrila. Foram tomadas 500 µL desta mistura e transferido para um balão volumétrico de 1 mL e ajustou-se o menisco com acetonitrila. A FIGURA 39 representa um fluxograma simplificado das etapas até a obtenção dos extratos.

FIGURA 39: Fluxograma da extração.



7.6 EXTRAÇÃO II:

Colocou-se a amostra em um balão de destilação, acrescentou-se carvão ativado, agitou-se e deixa decantando por no mínimo 12 horas recolheu-se o extrato. O próximo passo foi o SPE (técnica de fácil automação acelera-se o processo de eluição empregando vácuo). A amostra foi inserida em uma seringa de vidro de 3 mL contendo lã de vidro socado para absorver o carvão ativado e acoplado a um filtro sintético (25 milímetro x 0,2 µm) para fazer a limpeza da amostra. Logo depois o extrato foi para o rotaevaporador até a secura, o extrato resuspenso em 1,5 mL de acetonitrila.

7.7 MÉTODOS

Características analíticas podem ser expressas em termos numéricos com o intuito de analisar se o método instrumental responde a um determinado problema analítico; as figuras de mérito são adotadas com essa função. Estes dados numéricos garantem a confiabilidade e a exatidão dos resultados pela metodologia. Os carbamatos são amplamente utilizados na lavoura e por serem proibidos ou restritos em algumas lavouras é necessário o desenvolvimento de metodologias para análises no caso de uso ilegal.

O LD: é a concentração ou massa mínima de analito que pode ser detectado em um nível conhecido confiável em condições experimentais.

O LQ: é a concentração ou massa mínima de analito que pode ser quantificada em um nível conhecido confiável em condições experimentais.

Os limites de detecção e quantificação foram calculados segundo as expressões (39) e (40) abaixo:

$$39) LD = C \times 3SmRm$$

E

$$40) LQ = C \times 10S_mR_m$$

EM que a C é a concentração do composto ($0,0051 \text{ mg L}^{-1}$ ou $50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$), S_m é a média dos sinais obtidos (μAbs), R_m é a média dos ruídos (μAbs), 3 é a razão S/R mínima para um pico a ser detectado com segurança e 10 é a razão S/R mínima para um pico a ser quantificado com segurança (LEBRE, 2000 *apud* SNYDER, 1997).

Os limites de detecção e quantificação foram calculados em função do sinal/ruído (S/R), expressos em unidades de mg L^{-1} de cada composto.

O cálculo da recuperação foi feito segundo a equação 41:

$$41 \text{ Recuperação } \% = \frac{\text{concentração da amostra fortificada}}{\text{concentração da amostra esperada}} \times 100$$

Para níveis de recuperação, a *EPA* considera valores de 70 a 110 %.

7.8 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS:

As análises foram empregadas em um cromatógrafo marca SHIMADZU, com bombas modelo LC – 20 AT, injetor (SIL – 10 ADvp); coluna cromatográfica Shim-pack FC – ODS (4,6 mm ID x 75 mmL).

As condições de análise dos pesticidas no CLAE *UV/vis*: alguns testes foram realizados para avaliar o melhor volume de injeção nas amostras (10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100 μL), e o tempo de corrida (5, 10, 20 e 30 minutos) ideal para todos os compostos avaliados, objetivando uma separação adequada. A otimização do

cromatógrafo líquido foi feita no sistema para a fase móvel com água 60 % H₂O e com 40 % ACN, fluxo constante de 1,0 mL min⁻¹, chegou-se a uma corrida de 30 minutos com volume de injeção de 50 µL. Pressão: 43 Kgf cm⁻², temperatura do forno (CTO – 10 ADvp) de 40 °C e o fluxo de injeção da fase móvel: 1,0 mL min⁻¹. Detecção no ultravioleta (SPDA-20): 254 nm.

8. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Antes de realizarem-se as determinações de resíduos de pesticidas no extrato das amostras de tomates foram realizados testes para determinar as melhores condições instrumentais para o CLAE *UV/vis*.

Para análise dos cromatogramas das amostras procedeu-se à comparação com os respectivos analitos corridos previamente para os quais elaborou-se a identificação dos padrões. A Tabela 05 apresenta os tempos de retenção relativos às corridas dos padrões.

Tabela 05 – Analitos estudados.

Tempo de Retenção	Analitos estudados
1,789 (H)	Methomyl
2,487 (G)	Aldicarb Sulfone
2,799 (F)	Aldicarb Sulfoxide
3,152 (K)	Aldicarb
4,907 (E)	3-Hydroxycarbofuran
6,155 (D)	Carbofuran
8,136 (C)	Carbaryl
9,535 (J)	Oxamyl
16,659 (I)	1-Naphthol
23,475 (B)	Methiocarb

As soluções padrões foram diluídas em balões volumétricos de 1mL em acetonitrila, para a construção das curvas analíticas de trabalho, com concentrações variando de: 0,2 a 0,8 mg L⁻¹, (FIGURAS: 40, 41, 42 e 43). Posteriormente todas as soluções foram estocadas no refrigerador.

FIGURA 40: Cromatograma do padrão, concentração 0,2 mg L⁻¹, fase móvel: ACN: H₂O (40:60), volume de injeção: 50 µL, temperatura do forno: 40°C, tempo de corrida: 30 min, velocidade de fluxo: 1,0 mL min⁻¹.



FIGURA 41: Cromatograma do padrão, concentração 0,4 mg L⁻¹, fase móvel: ACN: H₂O (40:60), volume de injeção: 50 µL, temperatura do forno: 40°C, tempo de corrida: 30 min, velocidade de fluxo: 1,0 mL min⁻¹.



FIGURA 42: Cromatograma do padrão, concentração 0,6 mg L⁻¹, fase móvel: ACN: H₂O (40:60), volume de injeção: 50 µL, temperatura do forno: 40°C, tempo de corrida: 30 min, velocidade de fluxo: 1,0 mL min⁻¹.



FIGURA 43: Cromatograma do padrão, concentração 0,8 mg L⁻¹, fase móvel: ACN: H₂O (40:60), volume de injeção: 50 µL, temperatura do forno: 40°C, tempo de corrida: 30 min, velocidade de fluxo: 1,0 mL min⁻¹.



As FIGURAS 40, 41, 42 e 43 mostram os cromatogramas para as soluções de cada padrão dos analitos estudados, obtidas em um cromatógrafo com detecção por arranjo de diodos, que permite a identificação dos compostos pela obtenção dos

espectros no ultravioleta visível para seleção do comprimento de onda selecionado de 254 nm.

A FIGURA 44 apresenta o cromatograma do branco, pode ser observada a ausência de interferentes na região de eluição dos analitos.

FIGURA 44 - Cromatograma do branco, fase móvel: ACN: H₂O (40:60), volume de injeção: 50 µL, temperatura do forno: 40°C, tempo de corrida: 30 min, velocidade de fluxo: 1,0 mL min⁻¹.



As FIGURAS 45, 46 e 47 apresentam cromatogramas para a amostra 1 da primeira, segunda e terceira extração, respectivamente.

FIGURA 45 - Cromatograma da primeira extração amostra1, fase móvel: ACN: H₂O (40:60), volume de injeção: 50 µL, temperatura do forno: 40°C, tempo de corrida: 30 min, velocidade de fluxo: 1,0 mL min⁻¹.



FIGURA 46 - Cromatograma da segunda extração amostra 2, fase móvel: ACN: H₂O (40:60), volume de injeção: 50 µL, temperatura do forno: 40°C, tempo de corrida: 30 min, velocidade de fluxo: 1,0 mL min⁻¹.



FIGURA 47 - Cromatograma da terceira extração amostra 3, fase móvel: ACN: H₂O (40:60), volume de injeção: 50 µL, temperatura do forno: 40°C, tempo de corrida: 30 min, velocidade de fluxo: 1,0 mL min⁻¹.



A calibração do método é feita a partir da curva analítica, cujos principais parâmetros são a linearidade (calculado como a veracidade da concentração do analito na amostra real) e a sensibilidade (quanto maior a inclinação da curva de trabalho, mais sensível será o método). Outra forma de verificar a linearidade do método é construir um gráfico (FIGURA 48) de sensibilidade (área do pico/concentração do analito).

FIGURA 48: Determinação da Sensibilidade.



As curvas de calibração mostram a resposta de um método para demonstrar quantidades conhecidas de um ou vários constituintes. As curvas foram construídas por método de calibração externa, onde as áreas dos picos são obtidas como proporcionais às concentrações do analito considerado.

Os coeficientes de correlação das curvas foram de 0,999 para os compostos: carbaryl (C), apresentado na FIGURA 55; methiocarb (B), apresentado na FIGURA 58; 3-hydrycarbofuran (E), apresentado na FIGURA 53; aldicarb sulfone (G), apresentado na FIGURA 50 e 1-naphthol (I), apresentado na FIGURA 57; indicaram serem compostos mais sensíveis e os demais compostos foram muito próximos com r de 0,998 para o composto carbofuran (D), apresentado na FIGURA 54; r de 0,985 para o composto aldicarb sulfoxide (F), apresentado na FIGURA 51; r de 0,974 para o composto methomyl (H), apresentado na FIGURA 49; r de 0,984 para o composto oxamyl (J), apresentado na FIGURA 56 e r de 0,969 para o composto aldicarb (K), apresentado na FIGURA 52.

As mesmas condições foram adotadas para todos os compostos nas curvas de calibrações com fase móvel ACN: H₂O (40:60):

- volume de injeção: 50 µL,
- temperatura do forno: 40 °C,
- tempo de corrida: 30 minutos,
- velocidade de fluxo: 1,0.

A norma do INMETRO (2003) e segundo Ribani, M. et al. (2004) recomenda-se coeficientes de correlação de 0,999. Na literatura foram encontrados por Lebre, D. T., (2000) encontrou um coeficiente de relação de 0,999; Paramasivam, M. et al. (2012) de 0,95; Abd-Alrahman, S. H. et al. (2012) de 0.996 e Zhang, Y. et al. (2013) de 0,999.

FIGURA 49: Curva analítica do padrão Methomyl.



FIGURA 50: Curva analítica do padrão Aldicarb Sulfone.



FIGURA 51: Curva analítica do padrão Aldicarb Sulfoxide.



FIGURA 52: Curva analítica do padrão Aldicarb.



FIGURA 53: Curva analítica do padrão 3-Hydrycarbofuran.



FIGURA 54: Curva analítica do padrão Carbofuran.



FIGURA 55: Curva analítica do padrão Carbaryl.



FIGURA 56: Curva analítica do padrão Oxamyl.



FIGURA 57: Curva analítica do padrão 1-Naphthol.



FIGURA 58: Curva analítica do padrão Methiocarb.



A precisão pode ser avaliada por meio da repetibilidade durante um curto período de tempo, através de análises consecutivas, repetindo as injeções das amostras em quatro dias diferentes, calculando a média da área dos picos, determinando o coeficiente de variação para todas as medidas. Os resultados desse estudo são apresentados na Tabela 06.

Tabela 06 – Dados relativos às medidas para as amostras das extrações realizadas em quatro dias consecutivos.

	Amostra1	1ºDia	2ºDia	3ºDia	4ºDia	Média	CV (%)
M eht	1	1023833	1023833	1013461	1013461	1018647	0,58
	2	705850	705850	701213	701213	703531,5	0,38
	3	1082404	1082404	1054251	1054251	1068327,5	1,52
	4	954534	954534	918846	918846	936690	2,19
	5	662070	662070	664264	664264	663167	0,19
	6	820401	820401	819059	819059	819730	0,09
	7	594399	594399	597621	597621	596010	0,31
ioc arb	Amostra 2	1ºDia	2ºDia	3ºDia	4ºDia	Média	CV (%)
	4	992158	992158	973877	973877	983017,5	1,07
	5	837751	837751	845156	845156	841453,5	0,50
C arb	Amostra 3	1ºDia	2ºDia	3ºDia	4ºDia	Média	CV (%)
	2	473246	473246	345116	345116	409181	18,07
	3	1137832	1137832	915191	915191	1026511,5	12,52
ofu ran	Amostra 1	1ºDia	2ºDia	3ºDia	4ºDia	Média	CV (%)
	2	177659	177659	199356	199356	188507,5	0,06
	4	1478331	1478331	1545392	1545392	1511861,5	2,56
	5	118344	118344	131051	131051	124697,5	5,88
	6	152928	152928	160149	160149	156538,5	2,66
	7	141918	141918	154337	154337	148127,5	4,84
	Amostra 2	1ºDia	2ºDia	3ºDia	4ºDia	Média	CV (%)
4	1043875	1043875	1099580	1099580	1071727,5	3,00	

	7	264663	264663	192866	192866	228764,5	18,11
	Amostra 3	1ºDia	2ºDia	3ºDia	4ºDia	Média	CV (%)
	6	141918	141918	154337	154337	148127,5	4,84
*	Amostra 2	1ºDia	2ºDia	3ºDia	4ºDia	Média	CV (%)
	6	54771	54771	47264	47264	51107,5	8,48
	Amostra 2	1ºDia	2ºDia	3ºDia	4ºDia	Média	CV (%)
**	4	13219	13219	19417	19417	16318	21,92
	6	121903	121903	86460	86460	104181,5	19,64

*Aldicarb Sulfoxide

**Aldicarb Sulfone

No composto carbofuran (D), as amostras 1, foram aceitáveis com coeficiente de variação (CV) entre 0,06 a 5,88 %; a exceção é a primeira extração ficou com um coeficiente de variação de 32,62 %, acima do aceitável pelos órgãos internacionais. Nas amostras 2 do mesmo composto, as extrações 4 e 7 apresentaram CVs aceitáveis, porém todas as demais amostras não tiveram seus picos detectados. Nas amostras 3 do mesmo composto as extrações 1, 2 e 3 ficaram com CVs acima dos limites aceitáveis; com 90,60 %, 27,18 % e 39,96 %, respectivamente; a exceção foi a 6 com coeficiente de variação de 4,84 % aceitável. As demais extrações 4, 5, e 7 não tiveram seus picos detectados (ND).

No composto methiocarb (B), todas as amostras 1 demonstraram CVs abaixo de 20 %, entre 0,09 a 2,19 %. Nas amostras 2, do mesmo composto, nas extrações 1, 2 e 3 não houve nenhuma detecção; as demais apresentaram CVs abaixo de 20 %, a exceção foi a 6 com CV de 114,89 %, muito acima do permitido. Nas amostras 3, as extrações: 2 com CV de 18,07 % e 3 com CV de 12,52 % ficaram abaixo dos limites aceitáveis pelos padrões internacionais e não houve detecção em 4, 5, 6 e 7. A exceção foi a 1 com coeficiente de variação de 102,90 % acima do permitido.

No composto aldicarb (K), nas amostras 1 e 3 em todas as extrações não houve nenhuma detecção. A exceção foi a extração 3 com um CV de 51,96 % que ficou acima do permitido. Nas amostras 2 do mesmo composto, nas extrações: 1, 2, 3 e 5 não foram detectados os picos; na 4 com CV de 21,92 % e 7 com CV de 27,22 % ficaram acima dos limites estabelecidos pelos padrões internacionais; a exceção foi a 6 com CV de 19,64 % (aceitável).

No composto aldicarb sulfoxide (F), na amostra 2 só foi detectado na 6 extração um pico com CV de 8,48 % (aceitável). O mesmo ocorreu com o composto aldicarb sulfone (G), que na amostra 2 só foi detectado na 6 extração um pico com CV de 24,65 %, acima do aceitável.

Nas amostras de tomates não foram encontrados os compostos: carbaryl (C); 1 – naphthol (metabólito do carbaryl), I; 3 – hydroxycarbofuran (metabólito do carbofuran), E; methomyl (H) e oxamyl (J).

Garrido, J. et al. (1997) desenvolveram a metodologia analítica HPLC-UV para analisar se havia o composto carbendazim e GC/NPD para o composto imazalil em uvas e morangos. Os resultados de reprodutibilidade, repetibilidade e recuperações foram considerados adequados para a validação do método.

Tharsis, N. et al. (1997) desenvolveram um método analítico para a determinação de fungicidas benzimidazóis em laranjas e uvas empregando a técnica de HPLC/UV. Os estudos de validação mostraram que o método cromatográfico apresentou boa repetibilidade e reprodutibilidade.

Nunes, G. S. et al. (1998) estudaram os compostos: aldicarbe, carbaryl, carbofuran, o methomyl e propoxur em batatas e cenouras, utilizando a técnica de HPLC/UV com boa reprodutibilidade, linearidade e sensibilidade.

Lebre, D. T. (2000) analisou carbamatos, triazinas e nitroanilina em amostras de águas superficiais na região que abrange as bacias dos rios Mogi-Guaçu e Pardo em GC/MS e por HPLC UV/vis. Seus dados apresentaram alta sensibilidade, precisão, linearidade e boa repetibilidade para os compostos.

Abd-Alrahman, S. H. et al. (2012) pesquisaram níveis de resíduos de propamocarb-cloridrato em tomates, batatas e pepinos. Para isto utilizando a técnica QuEChERS antes da quantificação por HPLC-DAD; obtiveram repetibilidade abaixo de 7 % para todos os três níveis analisados dos compostos.

Arienzo, M. et al. (2013) desenvolveram um método de multirresíduo empregando LC-MS/MS foi adotado para a análise de 14 pesticidas em 145 amostras de vegetais O método analítico, proposto neste trabalho mostrou-se eficiente, sensível e versátil.

Cheng, Y. et al (2013) desenvolveram e validaram um método de HPLC-UV com detecção a 220 nm, em fase normal para a determinação estereosseletiva de enantiômeros propiconazol na água, no solo e uva. Método eficiente devido à excelentes resultados nos parâmetros de linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção.

Sharma, B. N. et al (2013) desenvolveram um método para avaliar a persistência e a dissipação dos pesticidas thiaclopride e flubendiamida e seu metabólito em tomates e solo por HPLC/UV. O método demonstrou ser eficiente.

Yanbing, W. et al. (2013) desenvolveram um método de determinação simultânea de thiodicarb e seus metabólicos (methomyl e methomyl-oxima) por UPLC-MS/MS em folhas e sementes de algodão. O método proposto demonstrou ser eficiente; sensível e versátil.

Zhang, Y. et al. (2013) desenvolveram um método multirresíduo para determinação de quatro inseticidas (thiacloprid, tiametoxam, clotianidina e dinotefuran) em cereais, legumes e frutas, utilizando o método UPLC-MS/MS. O método mostrou boa linearidade, sensibilidade, precisão, linearidade e boa repetibilidade.

Entre as injeções repetidas e dias diferentes de análises, as medidas de todas as amostras encontraram coeficientes de variação abaixo de 20 %. O que apresentou-se viável comparado com os encontrados nas literaturas (BARCELÓ, D., 1993; LEBRE, D. T., 2000; ABAD-ALRAHMAN, S. H. et al., 2012; CHOWDHURY, A. Z. et al., 2012; LÓPEZ-FERNÁNDEZ, O. et al., 2012; PARAMASIVAM, M. et al., 2012) e pela agência internacional EPA, que considera aceitável níveis com um valor abaixo de 30 %, por indicar baixas variações.

Para o estudo da recuperação foi preparada uma mistura padrão em concentrações de 0,0051 g mL para os compostos de thiodicarb e carbofuran e 2,5 g mL de carbaryl em 50 mL de acetonitrila. Foram fortificadas, com 40 mL de cada composto padrão, amostras de tomates e mantidas em temperatura ambiente para depois serem extraídas em triplicatas.

Para níveis de recuperação, segundo Barceló, D. (1993) e a EPA considera valores de 70 a 110 %, pelos dados da Tabela 07, todos os analitos apresentaram-se como satisfatórios; isto significa que o método empregado é eficiente, exceto para o pesticida carbofuran na terceira amostra que ficou com uma recuperação abaixo do recomendado.

Tabela 07 – Recuperação dos compostos estudados.

Massa	R1	Resultado	R2	Resultado	R3	Resultados
-------	----	-----------	----	-----------	----	------------

S		S		S		
M1	0,0159	100	0,0008	80	0,0023	76,66
M2	0,0164	85,41	0,0007	70	0,0022	91,66
M3	0,0161	83,85	0,0006*	60	0,0022	91,66

Foi observado na FIGURA 59, apresenta o cromatograma das três recuperações obtidas; as amostras apresentam os mesmos compostos e picos, por isso, eles ficaram sobrepostos.

FIGURA 59: Cromatogramas da adição e recuperação dos carbamatos. Fase móvel: ACN: H₂O (40:60); volume de injeção, 50 µL; temperatura do forno, 40 °C; tempo de corrida, 30 min; velocidade de fluxo, 1,0 mL min⁻¹.



A Tabela 08 apresenta os valores calculados de LD e LQ da técnica para os compostos analisados e que podem ser observados através das curvas analíticas.

Tabela 08 – Limites de Detecção e Limites de Quantificação.

Composto	S/R	LD (mg L⁻¹)	LQ (mg L⁻¹)
Methiocarb	2048,19	9,71 x 10 ⁻⁶	3,23 x 10 ⁻⁵
Carbaryl	323,70	4,72 x 10 ⁻⁵	1,57 x 10 ⁻⁴
Carbofuran	2883,24	5,3 x 10 ⁻⁶	1,76 x 10 ⁻⁵
3-Hydroxycarbofuran	3783,34	5,30 x 10 ⁻⁶	1,76 x 10 ⁻⁵
Aldicarb Sulfoxide	15849,13	1,15 x 10 ⁻⁶	3,86 x 10 ⁻⁶
Aldicarb Sulfone	13358,74	1,75 x 10 ⁻⁶	5,86 x 10 ⁻⁶
Methomyl	304,19	5,02 x 10 ⁻⁵	1,67 x 10 ⁻⁴
1-Naphthol	232,62	4,01 x 10 ⁻⁵	1,33 x 10 ⁻⁴
Oxamyl	267,64	3,47 x 10 ⁻⁵	1,15 x 10 ⁻⁴
Aldicarb	472,32	1,87 x 10 ⁻⁵	6,23 x 10 ⁻⁵

Os valores de LD e LQ indicam a seletividade e a sensibilidade do método de separação e do detector utilizado; nas pesquisas Lebre, D. T., 2000 encontrou um LD de 0,64 em carbaryl e 4,6 em carbofuran, no LQ de 2,1 carbaryl e 15 em carbofuran, no composto 32,60 de carbofuran e 235,7 de carbaryl. Em Garrido, J. et al. (1997) encontrou-se um LD de 0,01 mg kg⁻¹ de carbendazim e 0,005 mg kg⁻¹ de imazalil. Em Tharsis, N. et al. (1997) encontrou um LD de 0,06 mg kg⁻¹ em carbendazim e tiabendazol. MELO, L. F. C. et al. (2004) encontrou LD e LQ inferiores a 100 µg kg⁻¹ em tebutiuron, diuron, simazina, atrazina, ametrina e benomil. Nos estudos de Filho, A. M. et al. (2011) encontrou-se um LD de 0,6 a 3,3 mg kg⁻¹ e um LQ de 2,0 a 10,0 mg kg⁻¹ de carbamatos, imidazóis, organofosfatos, piretróides, tetrazina e estrobilurina. Em Abd-Alrahman, S. H. et al. (2012) encontraram um LD de 0,5 a 1,2 Lg kg⁻¹ e um LQ de 2,3 a 4,5 Lg kg⁻¹ de propamocarb-cloridrato. Em López-Fernández, O. et al. (2012) encontrou um LD de 0,01 a 0,3 mg kg⁻¹ e LQ de 0,02 a 0,5 mg kg⁻¹ de ditiocarbamatos. Nos estudos de Paramasivam, M. et al. (2012) encontrou um LD de 0,003 µg g⁻¹ e LQ de 0,01 µg g⁻¹ de flubendiamida e seu metabólito. Em Cheng, Y. et al (2013) encontrou um LD inferior a 0,02 mg kg⁻¹ e LQ não excedeu a 0,05 mg kg⁻¹ de propiconazol na água, no solo e uva. Em Sharma, B. N. et al (2013) encontrou um LD 0,01 mg kg⁻¹ e de LQ 0,01 a 0,1 µg g⁻¹ de thiaclopride e flubendiamida. Nos estudos de Yanbing, W. et al. (2013) encontrou um LD 0,2 a 1,3 g kg⁻¹ e LQ 0,9 a 4,0 g kg⁻¹ de thiodicarb e seus metabólicos. Em Zhang, Y. et al. (2013) encontrou LDs inferiores 0,68 mg kg⁻¹ enquanto que os LQs foram 0,71 a 2,26 mg kg⁻¹ de inseticidas neonicotinóides.

Os números que estão em negrito na Tabela 09 representam as amostras que apresentam valores abaixo do limite de resíduo, exigido tanto para os padrões internacionais quanto para a legislação brasileira.

Tabela 09 – Resíduos de carbamatos encontrados nas amostras de tomates em mg kg⁻¹.

A1	B	C	D	F	G	H	K
1	0,0592	ND	0,0355	ND	ND	0,0240	0,0123
2	ND	0,0016	0,0402	ND	ND	ND	0,1001
3	0,0401	0,0019	0,0129	ND	ND	0,0213	0,0164
4	0,0516	0,0026	0,0211	0,0109	ND	ND	0,0082
5	0,0390	ND	0,0619	ND	ND	0,0523	ND
6	0,0453	ND	0,0545	ND	0,0041	0,0128	ND
7	0,0476	ND	0,1227	ND	ND	0,0718	ND
A2	B	C	D	F	G	H	K
1	0,0594	ND	0,0383	ND	ND	0,0240	0,0124
2	0,0575	0,0015	0,0410	ND	ND	0,0484	ND
3	0,0408	0,0022	ND	ND	ND	0,0221	0,0167
4	0,0520	0,0030	ND	0,0129	ND	0,0282	0,0089
5	0,0391	ND	ND	ND	ND	0,0527	ND
6	0,0454	ND	ND	ND	0,0044	ND	ND
7	0,0478	ND	0,1230	ND	ND	ND	ND
A3	B	C	D	F	G	H	K
1	0,0598	ND	0,0339	ND	ND	ND	0,0125
2	0,0581	ND	0,0427	ND	ND	0,0494	0,1082
3	ND	ND	0,0159	ND	ND	0,0253	ND
4	0,0548	ND	0,0276	ND	ND	0,0282	ND
5	0,0398	ND	0,0661	ND	ND	0,0589	ND
6	0,0457	ND	0,0595	ND	0,0041	0,0183	ND
7	0,0479	ND	0,1227	ND	ND	0,0781	ND

O uso de methiocarbe (B) não é autorizado pela Codex Alimentarius. As amostras nas quais foram detectados, estes se apresentaram abaixo do LMRs estabelecidos pela ANVISA. Porém, excedeu os limites máximos permitidos pela União Europeia (0,2 mg kg⁻¹) e pela EPA (0,005 mg kg⁻¹). Os CV variaram de 0,31 a 3,30 % nas amostras de tomates.

O carbaryl (C) decompõe em meio alcalino produzindo 1-naphthol. Nas (2 com CV de 4,56 %; 3 com CV de 7,31 % e 4 com CV de 10,10 %) amostras que apresentaram resíduos deste composto, estavam dentro dos LMRs estabelecidos pela ANVISA e pelos órgãos internacionais, nas demais não foram detectados resíduos deste composto.

O carbofuran (D) possui grande potencial de degradação em lençóis freáticos. Todas as amostras apresentaram valores abaixo dos LMRs estabelecidos pela ANVISA e pela EPA, a exceção foi na sétima extração para a 7 amostra com 0,1126 mg kg⁻¹. Contudo, excederam os LMRs permitidos pela Codex Alimentarius (0,001 mg kg⁻¹) e pela União Europeia (0,01-0,02 mg kg⁻¹, só utilizado em sementes). Os CV variaram de 0,25 a 18,87 % nas amostras de tomates.

O pesticida 3 - hydroxycarbofuran (E) é metabólito do princípio ativo de carbofuran, e, portanto não possui limite; o mesmo ocorre com (I) 1 - naphthol metabólito do princípio ativo de carbaryl. Os órgãos internacionais (Codex Alimentarius, EPA e União Europeia) consideram seu LMR igual ao do princípio ativo de origem. Não foram detectados resíduos dos pesticidas: 3 - hydroxycarbofuran, 1 - naphthol e oxamyl (J).

O aldicarb (K) é altamente tóxico a pássaros, mamíferos, abelhas melíferas e minhocas, proibido nas áreas onde existem águas de superfície. Esse composto apresenta uma curta duração no ambiente, degradando-se em seus metabólitos: (F) aldicarb sulfóxido e (G) aldicarb sulfona. Todas as amostras apresentaram esse composto, que apesar de ser proibido pela legislação brasileira para a cultura do tomate, possui uso restrito nos órgãos internacionais. Os resultados encontrados apresentaram LMRs abaixo daqueles estabelecidos pela EPA, porém excederam os valores estabelecidos pela Codex Alimentarius e pela União Europeia, com os resultados de 0,1001 mg kg⁻¹ e 0,1082 mg kg⁻¹. Os CVs do composto aldicarb variaram de 0,80 a 5,78 % nas amostras. Foi detectado na amostra 4 o composto aldicarb sulfóxido com CV de 12,63 % e na amostra 6 o composto aldicarb sulfona com CV de 4,12 %, nas demais amostras não foram detectados resíduos destes compostos.

Todas as amostras de methomyl (H) estão abaixo dos LMRs estabelecidos pela ANVISA, porém não é autorizado para a cultura do tomate em nosso país, sendo assim, todas as amostras estão contaminadas segundo a legislação vigente. Considerando-se os órgãos internacionais todas as amostras apresentaram resultados acima dos LMRs estabelecidos por estes, as exceções são: (0,0128 mg kg⁻¹) e (0,0183 mg kg⁻¹). Os CVs variaram de 1,44 a 9,24 %, a exceção foi a amostra 6 com CV de 25,01 % .

Chowdhury, A. Z. et al. (2012) encontraram resíduos nas amostras de várzeas de arroz: clorpirifós (0 a 1,189 $\mu\text{g L}^{-1}$), carbofuran (0 a 3,395 $\mu\text{g L}^{-1}$) e carbaryl (0 a 0,163 $\mu\text{g L}^{-1}$), nas amostras de águas dos lagos continham clorpirifós (0,544 a 0,895 $\mu\text{g L}^{-1}$), carbofuran (0,949 a 1,671 $\mu\text{g L}^{-1}$) e carbaryl (0 a 0,195 $\mu\text{g L}^{-1}$). Em Abd-Alrahman, S. H. et al. (2012) encontraram níveis de resíduos de propamocarb-cloridrato foram encontrados abaixo do MRLs (1,0 mg kg^{-1} no tomate), (0,5 mg kg^{-1} na batata) e (1,0 mg kg^{-1} no pepino).

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O detector espectrofotométrico acoplado ao CLAE UV/vis, programado com o comprimento de onda fixo de 254 nm, e com parâmetros de otimização instrumentais utilizados mostrou resultados satisfatórios e as figuras de mérito avaliadas demonstrou que o método desenvolvido é eficiente, é exato, preciso para as amostras de tomate.

As curvas de calibração obtiveram coeficientes de correlação de 0,999 para quase todos os pesticidas.

Nos analitos estudados, o método apresentou alta sensibilidade de detecção (com limite na faixa de $1,15 \times 10^{-6}$ a $9,71 \times 10^{-6}$ mg L⁻¹) e quantificação ($1,15 \times 10^{-6}$ a $6,23 \times 10^{-5}$ mg L⁻¹).

O método desenvolvido não apresentou variações em seus parâmetros e pode-se concluir que é robusto por apresentar reprodutibilidade.

As concentrações dos pesticidas para os analitos estudados nas amostras de tomates foram de 29,76 % dentro do LMR estabelecido e significa um pequeno risco para a saúde do consumidor e 30,95 % das amostras não apresentaram picos que identificassem os analitos. Por outro lado, foi detectada uma alta incidência de resíduos múltiplos de carbamatos distintos permitidos pela legislação brasileira, com uma porcentagem de 39,28 % das amostras.

Os resultados das triplicatas para adição e recuperação apresentaram resultados que variaram entre 70 e 100 % para todos os compostos estudados. A exceção foi para o pesticida carbofuran na repetição com apenas 60 % de recuperação.

As amostras de tomates apresentaram uma alta incidência de carbamatos. As amostras de tomate que apresentaram resíduos de carbaryl estes estavam dentro dos LMRs estabelecidos pela ANVISA e pelos órgãos internacionais. As amostras que apresentaram resíduos de carbofuran, todas se apresentaram abaixo dos LMRs estabelecidos pela ANVISA e pela EPA. Contudo, excederam os LMRs permitidos pela Codex Alimentarius e pela União Europeia. Não foram detectados os pesticidas de: 3 - hydroxycarbofuran, 1 - naphthol e oxamyl nas amostras analisadas.

A presença de methiocarbe, methomyl e aldicarb se apresentaram abaixo dos LMRs permitidos pela ANVISA, porém é ilícito para a cultura do tomate em nosso

país, sendo assim, todas as amostras estão contaminadas segundo a legislação vigente. Para os órgãos internacionais, todas as amostras estão acima dos LMRs. O resultado demonstra falta de conscientização generalizada; conhecimentos insuficientes sobre os perigos do uso indiscriminado de agrotóxicos, pelo produtor; o que acarreta desrespeito aos padrões de segurança, o que decorre de falta de fiscalização.

Faz-se necessário um programa de monitoramento para averiguar a qualidade dos tomates e preservar a saúde da população da ação tóxica desses compostos, permitindo que os frutos cheguem ao mercado sem oferecer risco à saúde da população. Alimentos contaminados trazem danos à saúde, tornando o homem um alvo sensível aos impactos do uso de pesticidas. Isto se repercute como um problema de saúde pública tanto para os trabalhadores quanto para os consumidores, repercutindo numa maior demanda na procura por assistência à saúde curativa e finalmente na economia da região.

O método torna viável a aplicação de um programa de monitoramento para os resíduos de pesticidas em alimentos, garantindo assim a melhor qualidade destes e beneficiando diretamente a população consumidora. De um modo geral, os objetivos foram atingidos, mostrando uma metodologia na qual os resultados apontam novas informações que poderão ser úteis na formulação de bancos de dados para comparação dos níveis de qualidade e contaminação dos alimentos analisados.

10. SUGESTÕES PARA ATIVIDADES FUTURAS

Adaptar, aplicar e estudar o método desenvolvido para analisar outros compostos de pesticidas em amostras de alimentos, sedimentos e solos.

Criar um programa específico de análise de risco para a avaliação da qualidade dos alimentos no Estado de Roraima, avaliando o impacto ambiental, bem como o da saúde humana causado pelos pesticidas.

Comparar as técnicas de detecção *UV/vis*, fluorescência e espectrometria de massas acoplada a *CLAE*.

REFERÊNCIAS

ABAD, A.; MORENO, M-J.; PELEGRÍ, R.; MARTÍNEZ, M-I.; SÁEZ, A.; GAMÓN, M.; MONTOYA, A. Monoclonal Enzyme Immunoassay for the Analysis of Carbaryl in Fruits and Vegetables without Sample *Clean-up*. **J. Agric. Food Chem.**; 49, p.1707-1712, 2001.

ABD-ALRAHMAN, S. H.; ALMAZ, M. M. Degradation of Propamocarb hydrochloride in Tomatoes, Potatoes and Cucumber Using HPLC-DAD and *QuEChERS* Methodology. **Bull Environ Contam Toxicol**, 89, p.302-305, 2012.

ALMEIDA, P. J. de **Intoxicações por agrotóxicos: informações selecionadas para abordagem clínica e tratamento**. São Paulo: ANDREI, 2002.

ALMEIDA, W. F.; GARCIA, E. G. Exposição dos trabalhadores rurais aos agrotóxicos no Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, 72, p.7-11, 1991.

ANDREI. "**Substâncias Tóxicas em agricultura, Pecuária e Produtos Domissanitários**". ANDREI, p.232, 1987.

AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S. **Cromatografia: princípios básicos e técnicas afins**. Rio de Janeiro. INTERCIÊNCIA, 2003.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos**. Teoria e Prática. Viçosa. Editora UFV, 2004.

ARIENZO, M.; CATALDO, D.; FERRARA, L. [Pesticide residues in fresh-cut vegetables from integrated pest management by ultra performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry](#). **Food Control**, v.31, p.108-115, 2013.

ARREBOLA, F. J.; VIDAL MARTÍNEZ, J. L.; MATEU-SÁNCHEZ, M.; ÁLVAREZ-CASTELLÓN, F. J. Determination of 81 multiclass pesticides in fresh foodstuffs by a

single injection analysis using gas chromatography–chemical ionization and electron ionization tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, 484, p.167-180, 2003.

BAIRD, C.; CANN, M. **Química Ambiental**, 4^a ed. – Porto Alegre: BOOKMAN, p.844, 2011.

BARCELÓ, D. Environmental Protection Agency and other methods for the determination of priority pesticides and their transformation products in water. **Journal of Chromatography**, 643, p.117-143, 1993.

BIDARI, A.; GANJALI, M. R.; NOROUZI, P.; HOSSEINI, M. R. M.; ASSADI, Y. Sample preparation method for the analysis of some organophosphorus pesticides residues in tomato by ultrasound-assisted solvent extraction followed by dispersive liquid–liquid microextraction. **Food Chemistry**, 126, p.1840-1844, 2011.

BRANCO, S. M. **Natureza e agroquímicos**. 2^a ed. São Paulo: MODERNA, 2003. Brasil. Ministério do Meio Ambiente. Os ecossistemas brasileiros e os princípios macrovetores de desenvolvimento. Brasília, IBAMA, 1996.

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

CAFÉ FILHO, A. C.; COELHO, M. V. S.; SOUZA, V. L. **Oídios de hortaliças**. Jaguariúna, EMBRAPA Meio Ambiente, p.285-302, 2001.

CARMEM, F.; LOZANO, A.; AGÜERA, A.; GIRÓN, A. J.; FERNÁNDEZ-ALBA, A.R. Overcoming matrix effects using the dilution approach in multiresidue methods for fruits and vegetables. **Journal of Chromatography A**, 1218, p.7634-7639, 2011.

CARVALHO, J. L. de; PAGLIUCA, L. G. Tomate: um mercado que não para de crescer globalmente. **Revista Hortifruti Brasil**, n. 58, p.6-14, 2007.

CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G. **Desenvolvimento de métodos por HPLC: fundamentos, estratégias e validação**. São Carlos, p. 77, 2009.

CIENFUEGOS, F; VAITSMAN, D. **Análise Instrumental**. Rio de Janeiro: INTERCIÊNCIA, 2000.

CIOLA, R. **Fundamentos da Cromatografia a Líquido de Alto Desempenho – HPLC**. São Paulo: EDGARD BLÜCHER, 2003.

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

COSTA, M. H. D.; PFENNING, L. H.; POZZA, E. A. *Colletotrichum coccodes*, patógeno de solanáceas no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 31, n. 3, p. 315, 2006.

CHENG, Y.; DONG, F.; LIU, X.; XU, J.; LI, J.; CHEN, X.; LI, Y.; WU, X.; ZHENG, Y. Stereoselective separation and determination of the triazole fungicide propiconazole in water, soil and grape by normal phase HPLC. **Anal. Methods**, v.5, p.755-761, 2013.

CHOWDHURY, A. Z. JAHAN, S.A.; ISLAM, M. N.; MONIRUZZAMAN, M.; ALAM, M. K.; ZAMAN, M. A.; KARIM, N.; GAN, S. H. Occurrence of Organophosphorus and Carbamate Pesticide Residues in Surface Water Samples from the Rangpur District of Bangladesh. **Bull Environ Contam Toxicol**, 89, p.202-207, 2012.

CHUNG, S. W. C.; CHAN, B. T. P. Validation and use of a fast sample preparation method and liquid chromatography–tandem mass spectrometry in analysis of ultratrace levels of 98 organophosphorus pesticide and carbamate residues in a total

diet study involving diversified food types. **Journal of Chromatography A.**, 1217, p.4815-4824, 2010.

DEWAILLY, E.; MULVAD, G.; PEDERSEN, H.; AYOTTE, P.; DEMERS, A.; WEBER, J.; HANSEN, J. Concentration of organochlorines in human brains, liver, and adipose tissue autopsy samples from Greenland. **Environ Health Perspec**, 107, p.823-828, 1999.

DOLL, H.; McPHERSON, K.; DAVIES, J.; FLOOD, A.; SMITH, J.; WILLIAMS, G.; GINZLER, M.; PETTICREW, M.; BLACK, N. Reliability of questionnaire responses as compared with interview in the elderly: views of the outcome of transurethral resection of the prostate. **Soc Sci Med**, 33, p.1303-1308, 1991.

EMBRAPA. – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **A cultura do tomateiro (para mesa)**. Brasília, p.92, 1993.

(EPA) **Environmental Protection Agency**. Pesticide safety for farmworkers. Office of Pesticide Programs, 1985.

(EPA) **Environmental Protection Agency**. Office of Prevention, Pesticide and Toxic Substances. Methiocarbe 1992, 1996, propoxur 1997, methomyl e thiodicarb 1998, oxamyl 2000, carbofuran 2006, aldicarb 2007.

(FAO) **Food and Agriculture Organization**. Agricultural database, 2003. Disponível: <<http://www.fao.org>>. Acesso em novembro de 2010.

(FAO/WHO) **Food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization**. Definiciones para los fines Del Codex Alimentarius. Disponível: <<http://www.fao.org/docrep/w5975s08.htm>>. Acesso: em julho de 2009.

FARIA, N. M. X.; ALAVANJA, M. C.; SANDLER, D. P.; McDONNELL, C. J.; LYNCH, C. F.; PENNYBACKER, M.; ZAHM, S. H. Processo de produção rural e saúde na

serra gaúcha: um estudo descritivo. **Cadernos de Saúde Pública**, 16, p.115-128, 2000.

FARIAS, L. R. **Investigações de traços de pesticidas em águas superficiais do Rio Branco e no efluente de uma rizicultura irrigada no Estado de Roraima**. Boa Vista, 2011, 62f., Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Roraima.

FILHO, A. M.; SANTOS, F. N. dos; PEREIRA, P. A. Multi-residue analysis of pesticide residues in mangoes using solid-phase microextraction coupled to liquid chromatography and UV–Vis detection. **Journal of Chromatography A.**, 2011.

FILHO, W. P. C.; CAMARGO, F. P. de **Evolução da produção de tomate no Brasil**. São Paulo, v.41, n.1, p.41-49, 1994.

FONTES, P. C. R. Produtividade do tomateiro kg ha⁻¹ ou kg ha⁻¹ dia? **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.15, n.2, p.83-85, 1997.

FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. da **Produção do tomate de mesa**, Viçosa, Minas Gerais, p. 196, 2002.

FRANÇA, F. H.; CASTELO BRANCO, M. Ocorrência da traça-do-tomateiro (*Scrobipalpuloides absoluta*) em solanáceas silvestres no Brasil Central, Brasília, **Horticultura Brasileira**, v.10, p.3-10, 1992.

GARRIDO, J.; ALBA, M. de; JIMENEZ, I.; CASADO, E.; FOLGUEIRAS, M. L. Chromatographic analysis of imazalil and carbendazim in fruits Method validation and residue monitoring program 1995. **Journal of Chromatography A.**, 765, p.91-97, 1997.

GAYET, J. P.; BLEINROTH, E. W.; MATALLO, M.; GARCIA, E. E. C. **Tomate para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita**. EMBRAPA, Brasília, p.34, 1995.

GIORDANO, L. B.; RIBEIRO, C. S. C. **Tomate para processamento industrial.** Origem, Botânica e Composição Química do Fruto. Brasília, p.168, 2000.

GONZAGA, M. C.; SANTOS, S. O. dos Avaliação das condições de trabalho inerentes ao uso de agrotóxicos nos municípios de Fátima do Sul, Glória de Dourados e Vicentina (MS) **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, 20, p. 42-46, 1992.

GUYTON, A. C. **Fisiologia Humana.** Rio de Janeiro: GUANABARA KOOGAN, 6ª ed., 2008.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**, Rio de Janeiro: GUANABARA KOOGAN, 10ª ed., 2002.

HAJI, F. N. P.; ALENCAR, J. A. de; LIMA, M. F.; MATTOS, M. A. de A.; HONDA, O. T.; HAJI, A. T. **Avaliação de produtos para o controle da mosca-branca (*Bemisia spp.*) na cultura do tomate (*L. esculentum Mill*)** EMBRAPA, p.6, 1997.

HAJI, F. N. P.; ALENCAR, J. A. de; LIMA, M. F. **Mosca branca: danos, importância econômica e medidas de controle.** EMBRAPA, p.9, 1996 a.

HALFELD-VIEIRA, B. de A.; NECHET, K. de L.; MATTIONI, J. A. M. **Doenças do Tomateiro no Estado de Roraima.** Boa Vista, EMBRAPA, p.31, 2006.

HARPER, Harold A. **Manual de Química Fisiológica.** São Paulo, ATHENEU, 3ª ed., 1973.

HARRIS, Daniel C.; **Análise Química Quantitativa**, Rio de Janeiro, LTC, 5ª ed., 2001.

HEM, L.; CHOI, J-H.; PARK, J-H.; MAMUNB, Md. I. R.; CHO, S-K.; EL-ATY, A. M. A.; SHIM, J-H. Residual pattern of fenhexamid on pepper fruits grown under greenhouse

conditions using HPLC and confirmation via tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, 126, p.1533-1538, 2011.

HOLLER, F. J., SKOOG, D. A.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**, Porto Alegre: BOOKMAN, 5ª ed., 2002.

ILO - (International Labour Organization) Warning to agricultural workers: mortality rates remain high, and pesticides pose an increasing health risk. **World of Work**, 22, 1997. Disponível em: <http://www.ilo.org/global/about-the-ilo/newsroom/news/WCMS_008027/lang--en/index.htm>. Acesso em janeiro de 2010.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**. Rio de Janeiro. DOQ-CGCRE-008. Revisão: 01/03/2003.

JEYARATNAM, J. Acute pesticide poisoning: a major global health problem. **World Health Status Quaterly**, 43, p.139-144, 1990.

JOLY, A. B. Botânica: **Introdução à Taxonomia Vegetal**. 12ª ed., p.498, 1998.

JONES, J. B.; JONES, J. P.; STALL, R. E.; ZITTER, T. A. **Compendium of tomato diseases**. Minnesota, p. 490-496, 2007.

JONES, J. P. Gray leaf spot. *Apud*: JONES, J. B.; JONES, J. P.; STALL, R. E.; ZITTER, T. A. **Compendium of Tomato Diseases**. Saint Paul, p. 15-16, 1991.

KENDALL, R. J. et al. Aquatic and terrestrial ecotoxicology. In: CASARETT, L. J.; DOULL, J. Toxicology: the basic science of poisons. 5ª ed. Nova Iorque: **Mc Graw-Hill**, 1996.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. Doenças do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Apud*: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de fitopatologia**. São Paulo, v. 2, p. 690-719, 1997.

KUSSUMI, T. A. **Desenvolvimento de método multirresíduo para determinação de pesticidas benzimidazóis, carbamatos e triazinas em milho por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem e sua certificação**. Dissertação de Mestrado. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN). São Paulo, 2007.

LACASSIE, E.; MARQUET, P.; GAULIER, J-M.; DREYFUSS, M-F. LACHÂTRE, G. Sensitive and specific multiresidue methods for the determination of pesticides of various classes in clinical and forensic toxicology. **Forensic Science International**, 121, p.116-125, 2001.

LANÇAS, F. M. **Extração em Fase Sólida (SPE)**. São Carlos: RIMA, p. 96, 2004.

LARINI, L. **Toxicologia dos Praguicidas**. MANOLE, São Paulo, 1999.

LARSSON, P.; OKLA, L.; WOIN, P. Atmospheric transport of persistent pollutants governs uptake by Holartic Terrestrial biota. **Environ Sci Technol**, 24, p.1599-1601, 1990.

LEBRE, D. T. **Desenvolvimento de metodologia para a determinação de herbicidas e inseticidas em águas superficiais utilizando extração líquido-sólido e cromatografia líquida de alta eficiência**. Dissertação de Mestrado. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN). São Paulo, 2000.

LEITE, F. **Validação em Análise Química**. 4ª ed. Campinas, Editora Átomo, 2002. 278 p.

LOPES, C. A. ÁVILA, A. C. **Doenças do tomateiro**. Brasília, EMBRAPA, p.151, 2ª ed., 2005.

LOPES, C. A. **Guia de identificação das doenças do tomateiro**. Brasília, EMBRAPA, p. 30, 2000.

LOPES, C. A.; REIS, A.; BOITEUX, L. S. **Doenças fúngicas**. *Apud*: LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C. Doenças do tomateiro. Brasília, EMBRAPA, p. 17-51, 2005.

LÓPEZ-FERNÁNDEZ, O.; RIAL-OTERO, R.; GONZÁLEZ-BARREIRO, C.; SIMAL-GÁNDARA, J. Surveillance of fungicidal dithiocarbamate residues in fruits and vegetables. **Food Chemistry**. 134, p.366-374, 2012.

LOURENÇÃO, A. L.; NAGAI, H. **Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no Estado de São Paulo**, Campinas, v.53, n.1, p.53-59, 1994.

LUZ; F. J. de; OLIVEIRA, J. M. F. de; SOUZA, V. A. B. de. **A avaliação e Seleção de Genótipos de Tomateiro para o cultivo no Cerrado de Roraima** – período seco. Boa Vista, EMBRAPA, p.5, 1990.

LUZ; F. J. de; SABOYA, R. C. C.; PEREIRA, P. R. V. da S.; SOUZA, V. A. B. de. **O cultivo do tomate em Roraima**. Boa Vista, EMBRAPA, p.14, 2002.

MAGNONI, D.; CUKIER, C. **Perguntas e respostas em nutrição clínica**. São Paulo: ROCA, 2001.

MARCONDES, E. **Pediatria Básica**. 7^a ed., v.1-2, p.394, São Paulo: SAVIER, 1985.

MARVIN, C. **McMASTER HPLC A Practical User's Guide**. Wiley-VCH New York, 1994.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica Básica**. Rio de Janeiro: KOOGAN, 3^a ed., 2007.

MEDEIROS, M. A. de; RESENDE, F. V.; TOGNI, P. H. B.; SUJII, E. R. **Efeito do Consórcio Cultural no Manejo Ecológico de Insetos em Tomateiro**. EMBRAPA, Brasília, 2009.

MELO, L. F.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. High-performance liquid chromatographic determination of pesticides in tomatoes using laboratory-made NH₂ and C₁₈ solid-phase extraction materials. Campinas, **Journal of Chromatography A**. 1073, p.75-81, 2005.

MILLER, O. **Diagnóstico e Terapêutica em Medicina Interna**, São Paulo e Rio de Janeiro, ATHENEU, Farmacologia Clínica, v.1-2-3, 14^a ed., p.390, 1987.

MOR, F.; KOCASARI F. S.; OZDEMIR, G.; OZ, B. Determination of sulphonamide residues in cattle meats by the Charm-II system and validation with high performance liquid chromatography with fluorescence detection. **Food Chemistry**., 134, p.1645-1649, 2012.

NUNES, G. S.; RIBEIRO, M. L.; POLESE, L.; BARCELÓ, D. Comparison of different clean-up procedures for the determination of N-methylcarbamate insecticides in vegetable matrices by high performance liquid chromatography with UV detection. **Journal of Chromatography A**., 795, p.43-51, 1998.

OMS (Organização Mundial de Saúde). Public Health Impact of Pesticides Used in Agriculture. Genebra,1990.

ORTELLI, D.; EDDER, P.; CORVI, C. Multiresidue analysis of 74 pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography–electrospray–tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**., 520, p.33-45, 2004.

PARAMASIVAM, M.; BANERJEE, H. Persistence and Dissipation of the Insecticide Flubendiamide and its Metabolite Desiodo Flubendiamide Residues in Tomato Fruit and Soil, **Bull Environ Contam Toxicol**., 88, p.344-348, 2012.

PASSAGLI, M. **Toxicologia Forense: teoria e prática**. Campinas: Millennium, Tratado de Práticas Criminalísticas, 2007.

PERES, F.; MOREIRA, J. C. **É veneno ou remédio?** Agrotóxicos, saúde e ambiente. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, p. 384, 2003.

PEREIRA, I. E. et al. **Características físico-químicas do tomateiro em pó durante o armazenamento**. Revista de Biologia e Ciência da Terra, v.6, n.1, p.83-90, 2006.

PIMENTEL, D. Green revolution agriculture and chemical hazards. **The Science of the Total Environment**, 188, S86 – S98, 1996.

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; CARDOSO, A. A. **Introdução à Química Ambiental**. Porto Alegre: BOOKMAN, 2004.

SACKHEIM, I. G., LEHMAN, D. D. **Química e Bioquímica para Ciências Biomédicas**, 8ª ed., MANOLE, 2001.

SANTALAD, A. SRIJARANAI, S.; BURAKHAM, R.; GLENNON, J.D.; DEMING, R.L. Cloud-point extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography for the determination of carbamate insecticide residues in fruits. **Anal Bioanal Chem.**, 394, p.1307-1317, 2010.

SHARMA, B. N.; PARIHAR, N. S. Dissipation and Persistence of Flubendiamide and Thiacloprid in/on Tomato and Soil. **Bull Environ Contam Toxicol**, 90, p.252–255, 2013.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**; Porto Alegre: BOOKMAN, 5ª ed., 2002.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. São Paulo: Thomson Learning, 2006.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. L. Practical HPLC Method Development. Nova York, **Wiley-Interscience**, 2^a ed., p. 441-47, 1997.

ŠTAJNBAHER, D.; ZUPANČIČ-KRALJ, L. Multiresidue method for determination of 90 pesticides in fresh fruits and vegetables using solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A.**, 1015, p.185-198, 2003.

TEIXEIRA NETO, F. **Nutrição Clínica**. Rio de Janeiro: KOOGAN, 1^a ed., 2003.

THARSIS, N.; PORTILLO, J. L.; BROTO-PUIG, F.; COMELLAS, L. Simplified reversed-phase conditions for the determination of benzimidazole fungicides in fruits by high-performance liquid chromatography with UV detection. **Journal of Chromatography A.**, 78, p.95-101, 1997.

VALENTÍ, P. F.; ROZMAN, C. **Medicina Interna II**. Rio de Janeiro: KOOGAN, 9^a ed., v.1-2, p.2123,1979.

VEGETTI, A. C.; PILATTI, R. A. Structural patterns of tomato plants grown in greenhouse. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.45, p.145-159, 1997.

VILLAS BÔAS, G. L.; FRANÇA, F. H.; ÁVILA, A. C. de; BEZERRA, I. C. **Manejo integrado da mosca-branca *Bemisia argentifolii***. Brasília, EMBRAPA, p.11, 1997.

VOGEL, J. MENDHAM; R. C. DENNEY; J. D. BARNES; M. THOMAS; **Análise Química Quantitativa**, Rio de Janeiro: LTC, 2002.

WHO/UNEP (World Health Organization/United Nations Environmental Programme) Publish health impact of pesticides used in agriculture. Genebra, 1990.

WRI (World Resources Institute). Intensification of agriculture: chemical inputs, 1999. Disponível em: <<http://www.igc.org/wri/wr-98-99/agrichem.htm>> Acesso em março de 2010.

YAN, C. T.; CHIEN, H. Y. Development of one step hollow fiber supported liquid phase sampling technique for occupational workplace air analysis using high performance liquid chromatography with ultraviolet detector. **Journal of Chromatography A.**, 1246, p. 145-149. 2012.

YANBING, W.; XINGANG, L.; FENGSHOU, D.; JUN, X.; ZHENMIN, Y.; XIAOHU, W.; YONGQUAN, Z. Determinação simultânea de thiodicarb e seus principais resíduos metabólicos no algodão por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massa. **Analytical Methods**, v.5, p.1052-1057, 2013.

YANG, X.; ZHANG, H.; LIU, Y.; WANG, J.; ZHANG, Y. C.; DONG, A. J.; ZHAO, H. T.; SUN, C. H.; CUI, J. Multiresidue method for determination of 88 pesticides in berry fruits using solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry: Determination of 88 pesticides in berries using SPE and GC–MS. **Food Chemistry.**, 127, p.855-865, 2011.

ZANINI, A. C.; OGA, S. **Farmacologia Aplicada**, São Paulo: ATHENEU, 3^a ed., 1985.

ZHANG, Y.; XU, J.; DONG, F.; LIU, X.; LI, X.; LI, Y.; WU, X.; LINNG, X.; ZHENG, Y. Simultaneous determination of four neonicotinoid insecticides residues in cereals, vegetables and fruits using ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Anal. Methods**, 5, p.1449-1455, 2013.

ANEXO I

LISTA DE EQUAÇÕES

EQUAÇÃO 01.....	50
EQUAÇÃO 02.....	51
EQUAÇÃO 03.....	52
EQUAÇÃO 04.....	52
EQUAÇÃO 05.....	53
EQUAÇÃO 06.....	53
EQUAÇÃO 07.....	53
EQUAÇÃO 08.....	54
EQUAÇÃO 09.....	54
EQUAÇÃO 10.....	54
EQUAÇÃO 11.....	54
EQUAÇÃO 12.....	55
EQUAÇÃO 13.....	56
EQUAÇÃO 14.....	56
EQUAÇÃO 15.....	56
EQUAÇÃO 16.....	56
EQUAÇÃO 17.....	57
EQUAÇÃO 18.....	57
EQUAÇÃO 19.....	57
EQUAÇÃO 20.....	58
EQUAÇÃO 21.....	58
EQUAÇÃO 22.....	58
EQUAÇÃO 23.....	59
EQUAÇÃO 24.....	59
EQUAÇÃO 25.....	59
EQUAÇÃO 26.....	60
EQUAÇÃO 27.....	60
EQUAÇÃO 28.....	60
EQUAÇÃO 29.....	61
EQUAÇÃO 30.....	62
EQUAÇÃO 31.....	67
EQUAÇÃO 32.....	69
EQUAÇÃO 33.....	91
EQUAÇÃO 34.....	92
EQUAÇÃO 35.....	92
EQUAÇÃO 36.....	94
EQUAÇÃO 37.....	94
EQUAÇÃO 38.....	95
EQUAÇÃO 39.....	117
EQUAÇÃO 40.....	116
EQUAÇÃO 41.....	117