B I B L I O T E C A
INSTITUTO DE QUÍMICA
Universidade de São Paulo

204.4

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

**A INFLUÊNCIA DO EFEITO MATRIZ NA
DETERMINAÇÃO DOS PESTICIDAS ORGANOCLORADOS
E ORGANOFOFORADOS EM AMOSTRAS DE MANGA**

ELIANE VIEIRA

Dissertação de Mestrado

Orientador: Prof. Doutor Jaim Lichtig

SÃO PAULO

2003

DEDALUS - Acervo - CQ

30100005408

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Vieira, Eliane
V658i A influência do efeito matriz na determinação dos pesticidas
organoclorados e organofosforados em amostras de manga /
Eliane Vieira. -- São Paulo, 2003.
102p.

Dissertação (mestrado) - Instituto de Química da Universidade
de São Paulo. Departamento de Química Fundamental.
Orientador: Lichtig, Jaim

1. Cromatografia a gás : Química analítica I. T. II.
Lichtig, Jaim, orientador.

543.0896 CDD

“A Influência do Efeito Matriz na Determinação dos Pesticidas Organoclorados e Organofosforados em Amostras de Manga”

ELIANE VIEIRA

Dissertação de Mestrado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Química - Área: Química Analítica.

Aprovada por:

Prof. Dr. JAIME LICHTEG
IQ – USP
(Orientador e Presidente)

Profa. Dra. MARINA FRANCO MAGGI TAVARES
IQ – USP

Profa. Dra. MARIA INÊS ROCHA MIRITELLO SANTORO
FCF – USP

SÃO PAULO
11 DE MARÇO 2003.

AGRADECIMENTOS

- A Deus, meu porto seguro.
- A meu anjo da guarda aqui na terra Odete N. K. Inomata, minha primeira orientadora, minha “mãe” de laboratório, minha amiga, o meu muito obrigada por tudo.
- Ao meu orientador Jaim Lichtig pelo apoio e incentivo.
- A meu grande amigo e também orientador Koichi Mizuta.
- Ao Instituto Adolfo Lutz e a chefe do Laboratório de Aditivos e Pesticidas Residuais Heloisa H. B. de Toledo que me possibilitaram iniciar meu interesse pela pesquisa a sete anos atrás e me tornaram possível a conclusão desta dissertação hoje. O Instituto Adolfo Lutz foi minha grande e melhor faculdade.
- Aos pesquisadores do Instituto Adolfo Lutz: Teresa Atsuko Kussumi, Maria Anita Scorsafava, Vera Regina Rossi Lemos, Sonia Otero B. Rocha, Reinaldo Amauri Ribeiro e Nelson Aranha Dias.
- A minhas colegas de trabalho no Laboratório de Resíduos de Pesticidas: Elaine Cristina Loiola Damasceno e Luciana Maria Sbrana pela ajuda e amizade.
- As todas as pessoas que compraram as mangas para análise: Antônia, Cristiane, Cristina, Edilene, Odete, Sara, Tânia e Thays.
- Aos colegas do Laboratório na USP : Carlos, César, Chico, Cristiane, Gilberto, Luciana, Marcelo, Paulo César e Ulisses.
- Ao professor Jorge Masini
- A professora Lillian e suas alunas Andréia e Larisse que muito me auxiliaram no início desta tese quando precisei utilizar o HPLC.
- Aos funcionários e professores da Química Analítica da USP.
- Aquelas que secaram todas as minhas lágrimas e não me deixaram desistir: Claudia Motta Santos, Isabel Cristina da Silva e Sara Lucia de Freitas Osório, obrigada pela amizade.
- A minhas irmãs pelo apoio e estímulo: Edilene, Cristiane, Thays
- A minha irmãzinha Aline por ter lido toda tese pacientemente e me ajudado nos acertos finais

A meus pais...

Álvaro e Maria Lúcia

**Muito obrigada por todos os anos
de luta, pelo amor e por
acreditarem em mim...**

**A minha avó
Maria José Ribeiro
(em memória)**

**A alma é imortal, a bondade de
Deus a destinou a felicidade.**

Tomás Mozus

B I B L I O T E C A
INSTITUTO DE QUÍMICA
Universidade de São Paulo

**“Um amigo fiel é uma poderosa
proteção, quem o achou, descobriu
um tesouro.”**

Eclo 6, 14

SUMÁRIO

Resumo	i
Abstract	ii
1- INTRODUÇÃO.....	1
2- OBJETIVOS.....	9
3- MANGA (<i>Mangifera Indica</i> L.).....	10
4- LEGISLAÇÃO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NO BRASIL.....	16
4.1 Definição de Agrotóxico.....	16
4.2 Resíduo Estranho.....	17
4.3 Limite máximo de resíduo (LMR).....	17
4.4 IDA (ingestão diária aceitável) ou Dose diária aceitável.....	17
4.5 Intervalo de segurança ou período de carência.....	17
4.6 Boa prática agrícola no uso de agrotóxicos.....	18
4.7 Classificação Toxicológica.....	18
4.8 Registro de Defensivos Agrícolas no Brasil.....	21
5. PESTICIDAS ORGANOCLORADOS, PIRETRÓIDES E OUTROS.....	23
6. PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS.....	29
7. VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA EMPREGADA NA ANÁLISE DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS	33
7.1 Linearidade.....	33
7.2 Especificidade.....	34
7.3 Exatidão.....	34
7.4 Precisão.....	35
7.5 Limite de Detecção.....	35
7.6 Limite de Quantificação.....	36

8. MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO MULTIRESÍDUOS DE PESTICIDAS ORGANOCLORADOS E ORGANOFOSFORADOS EM MANGA.....	37
8.1 Considerações Gerais.....	37
8.2 PARTE EXPERIMENTAL.....	41
8.2.1 Aparelhos/Equipamentos.....	41
8.2.2 Reagentes.....	41
8.2.3 Padrão Analítico.....	41
8.2.4 Vidrarias e outros Materiais.....	42
8.2.5 Preparação das soluções padrão para construção das curvas analíticas.....	43
8.2.6 Parâmetros cromatográficos.....	43
8.2.7 Procedimento Analítico.....	45
8.3 Confirmação dos resultados.....	45
8.4 Limpeza da vidraria.....	45
8.5 Fluxograma: análise multiresíduos de pesticidas em amostras de manga.....	46
9.EFEITO MATRIZ.....	47
10.RESULTADOS.....	52
10.1 Linearidade.....	52
10.2 Especificidade.....	60
10.3 Estudos de Recuperação.....	64
10.4 Repetibilidade.....	75
10.5 Limite de Detecção e Limite de Quantificação.....	88
10.6 Resultados das amostras de manga compradas no varejo de São Paulo.....	90
11.DISSCUSSÃO.....	91
12. CONCLUSÕES.....	93
13. PROPOSTAS FUTURAS.....	94
14. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95

LISTA DE TABELAS.....	102
ÍNDICE DE FIGURAS.....	105
ANEXO.....	107
CURRÍCULO.....	119

RESUMO

Devido à importância da agricultura para a economia do Brasil e para a dieta da população brasileira, um esforço contínuo tem sido feito para preservar a qualidade dos alimentos. Um dos mais importantes critérios de qualidade é a concentração correta dos pesticidas ou a não detecção destes nos alimentos.

O objetivo deste trabalho é estudar o efeito matriz na análise de resíduos de pesticidas por cromatografia à gás em manga, a contaminação de mangas compradas na cidade de São Paulo por pesticidas e a otimização de um método multiresíduo neste tipo de matriz .

O método empregado foi o utilizado pelo Governo Holandês adaptado de Lucke (1975), e constou da extração com acetona e partição em uma mistura diclorometano:hexano 1:1 . O extrato foi concentrado e injetado em cromatógrafo à gás com detector de captura de elétrons e detector fotométrico de chama.

Foram analisados 23 princípios ativos diferentes entre herbicidas, inseticidas, fungicidas e acaricidas; a metodologia empregada permitiu um limite de quantificação que variou de 0,01 mg/Kg a 0,30 mg/Kg. A recuperação de amostras fortificadas variou de 70 a 120%.

Os resultados mostraram que a matriz apresenta uma grande influência na determinação dos princípios ativos Procloraz, Difenconazol, Fosmete, Azoxistrobina e sulfato Endosulfam; o único princípio ativo encontrado nas amostras compradas no varejo foi o fungicida Procloraz com valores permitidos pela Legislação Brasileira.

Palavras Chave: Efeito Matriz , Pesticidas, Frutas

ABSTRACT

Due to the importance of Agriculture for the economy of Brazil and for the diet of Brazilian population, a continuous effort is being made to preserve its high quality characteristics. One of the most important quality criteria is the right concentration or better not detectable pesticide residues.

This work had the objective to study the matrix enhancement effect in gas chromatographic analysis of pesticide residue in mango fruit; the contamination of mango fruit by pesticide bought in Sao Paulo city and the optimization of the multiresidue method in this matrix.

The employed method in the analysis was adapted from Lucke (1975), used by Netherlands Government; extraction with acetone and partition in a dichlorometane:hexane (1:1), and Gas Chromatographic determination with ECD and FPD.

We studied about 23 active substances among herbicides, fungicides, insecticides and acaricides, the developed method allowed a quantification limit ranging from 0,01 mg/Kg to 0,30 mg/Kg. The recoveries of fortified samples ranged from 70 to 120%.

The results showed that the matrix had a effect in the determination of the pesticides: prochloraz, difenoconazol, Fosmete, Azoxistrobina and Endosulfam Sulfate. It was found that the mango fruit were contaminated only by Prochloraz; according to the Brazilian legislation, this pesticide can be present in mango.

Key words: Matrix effect, pesticides, fruits

1- INTRODUÇÃO

Os pesticidas são aplicados ao redor do mundo nas mais variadas culturas e seu uso é inevitável para a produção de grandes safras para a alimentação da população. O cultivo de produtos agrícolas é de extrema importância para a economia brasileira, sendo que o Brasil encontra-se no nono lugar nas exportações destes produtos (Tabela 1) . Entretanto os agroquímicos podem apresentar sérios riscos à saúde da população e controlar a qualidade e segurança dos alimentos consumidos na dieta é vital para o bem estar das pessoas.

As pragas destroem um terço de todo alimento cultivado ao redor do mundo, desde o crescimento até a armazenagem. Em países em desenvolvimento este número pode ser maior. Além disso, cinquenta por cento da população mundial tem como meio de sobrevivência a agricultura e metade das pessoas ao redor do mundo não tem uma dieta adequada. Por todos estes motivos a FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) reconhece que o uso de pesticidas é essencial na agricultura para que toda a população possa se alimentar adequadamente.

Em nosso País, a primeira fase de implantação do uso dos pesticidas, particularmente os inseticidas, é atribuída ao cultivo do algodão que, no Centro Sul, substituiu em parte a lavoura de café, após a crise de 1929 (Azevedo, 2001). O uso de produtos fitossanitários se intensificou em 1975, com a criação do PNDA (Plano Nacional de Defensivos Agrícolas) que financiou a compra de agrotóxicos pelos agricultores e levou a indústria a investir cerca de duzentos e cinquenta milhões de dólares em 43 projetos de síntese de produtos técnicos e em unidades de formulações para cerca de 150 produtos. (Azevedo, 2001 ; Conceição, 2002). Em 2002, segundo dados do Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola, SINDAG, foram comercializados 714 formulações diferentes englobando os herbicidas, acaricidas, inseticidas, fungicidas entre outros. O Brasil é o 8º consumidor mundial de pesticidas (Figura 1), ele consome 3,2 kg de pesticidas por hectare.

O Brasil é um grande produtor de alimentos; aproximadamente 25% do seu PIB é gerado através das exportações de produtos agropecuários. A safra de 2000-2001 de grãos foi estimada em 94,3 milhões de toneladas. O setor de fruticultura é reconhecido como um dos segmentos mais importantes na alavancagem das exportações do país; as exportações de frutas frescas no ano de 1999 totalizaram 170 milhões de dólares. O nível de rentabilidade de determinadas espécies frutíferas chega aos cinquenta e sete mil dólares por hectare e a capacidade de ocupação de mão de obra registra até seis trabalhadores por hectare (Ministério da Agricultura e Abastecimento).

Tabela I – Principais países exportadores de produtos agrícolas

PAÍSES	US\$ bilhões									
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000
1° EUA	44,6	48,2	47,8	52,3	62,3	66,3	62,5	57,4	52,7	56,5
2° FRANÇA	32,8	36,3	33,3	34,9	40,7	40,4	38,5	38,3	36,8	33,1
3° HOLANDA	30,9	33,8	29,4	35,1	36,9	37,3	32,1	30,2	34,4	27,8
4° ALEMANHA	21,9	24,2	21,3	23,5	24,7	26,5	24,6	25,3	23,6	24,1
5° ITALIA	12,0	13,0	11,9	13,3	14,6	16,9	15,7	16,1	15,9	15,6
6° CHINA	11,6	12,0	12,2	14,6	14,4	14,3	13,4	16,9	15,5	17,1
7° R.UNIDO	13,5	15,1	13,1	14,0	14,6	15,4	17,4	16,6	15,7	16,6
8° ESPANHA	8,9	9,5	9,8	11,0	13,2	15,0	15,1	14,9	14,0	14,0
9° BRASIL	8,0	9,1	9,7	12,6	13,4	14,3	16,0	15,2	13,8	12,8

FONTE: FAO - Food and Agriculture Organization. (www.fao.org)

Atualizado em 21/03/2002.

www.agricultura.gov.br

BIBLIOTECA
INSTITUTO DE QUÍMICA
Universidade de São Paulo

Figura 1 – Principais países Consumidores de Defensivos Agrícolas

O Brasil é um dos maiores produtores de frutas tradicionais tropicais: abacaxi, banana, manga, melão, papaia e uva (Amaral et al., 1999). O Brasil aparece como o maior produtor mundial de papaia em 1997, o terceiro maior de banana e o segundo de abacaxi. O Brasil produziu em 1997, 456 mil toneladas de manga e é o nono maior produtor desta fruta. Esta quantidade equivale a aproximadamente 2% da produção mundial. O Brasil exportou 20 milhões de dólares em 1997, ocupando o quarto lugar a nível mundial entre os exportadores. Além de ser um grande exportador de frutas tropicais, o Brasil possui um grande mercado consumidor de frutas e absorve a quase totalidade do que produz (Amaral et al., 1999).

Até 2003 o Brasil pretende comercializar para o mercado internacional um bilhão de dólares em frutas frescas. O Brasil, em 1998 teve um déficit de US\$ 113 milhões de dólares nas exportações de frutas e em 2000 saltou para um superávit de US\$ 55 milhões. A manga lidera o ranking das frutas que mais trazem lucros ao Brasil. Em 2001 esta fruta trouxe ao País US\$ 36 milhões através da venda de 94 mil toneladas. Em segundo lugar no ranking está a maçã, seguida pelo melão, papaia, laranja e uva (www.terrarural.com.br).

A indústria de produtos fitossanitários vem investindo no Brasil, por ano, cerca de 25 milhões de dólares em pesquisa, desenvolvimento de produtos e suas aplicações, fornecendo diferentes formulações, disponibilizando cerca de 200 ingredientes ativos diferentes (Azevedo,1999; Ciscato,2000).

Os pesticidas, quando usados corretamente, podem evitar que 40% das safras de diferentes culturas sejam perdidas (Richardson,1998) porém, o mal uso deles pode gerar sérios riscos para o meio ambiente e para a saúde dos seres vivos em geral. O crescente aumento da população mundial nos leva à necessidade de aumentarmos cada vez mais a quantidade de alimentos produzidos e o uso de produtos fitossanitários é inevitável.

É necessário controlarmos os resíduos que permanecem das aplicações nas mais diversas culturas. Os resíduos remanescentes nas culturas dependem de muitos fatores de variada importância como grau de adsorção nas camadas superficiais, degradação química ou metabolismo, desaparecimento aparente devido à diluição pelo crescimento da planta e volatilidade do depósito (Lemes et al., 1993).

Os pesticidas podem ser classificados de várias formas. Quanto à sua ação eles podem ser divididos em: fungicidas, herbicidas, inseticidas, acaricidas, nematocidas, etc. Quanto à função química eles podem ser divididos em organofosforados, organoclorados, piretróides, carbamatos, ditiocarbamatos, benzimidazóis e outros.

A classificação quanto à função química nos leva ao sistema de detecção utilizado: os pesticidas organofosforados são analisados por cromatografia a gás com detector fotométrico de chama (FPD) que analisa compostos de enxofre e fósforo ou o com o detector de nitrogênio fósforo (NPD) que analisa compostos de nitrogênio e fósforo. Os pesticidas organoclorados são geralmente analisados através da cromatografia a gás com detector de captura de elétrons (ECD); os carbamatos e benzimidazóis são analisados por

cromatografia líquida com detecção UV ou fluorescência; os ditiocarbamatos podem ser analisados por espectrofotometria ou cromatografia gasosa com detector fotométrico de chama no modo enxofre. Além destes sistemas de detecção ainda podemos utilizar o cromatógrafo a gás ou líquido com detecção de massa, com os quais podem ser determinados todos os pesticidas. Estas são as formas mais usuais da determinação dos pesticidas. No entanto, outros métodos analíticos estão sendo utilizados atualmente, como a eletroforese capilar (Wu et al., 2001).

Encontrar um único método com o qual se possa avaliar os pesticidas é uma tarefa praticamente impossível, devido às diferenças físico-químicas encontradas em cada princípio ativo. No entanto, existem classes de pesticidas que podem ser analisados conjuntamente. A extração pode ser igual para diferentes classes, porém a detecção nem sempre é a mesma, sendo necessário mais de uma técnica para determiná-los.

Os métodos podem ser multiresíduos ou métodos individuais; os métodos multiresíduos são os preferidos na hora da escolha de um método, pois eles analisam vários pesticidas em uma única extração, porém nem todos os pesticidas podem ser analisados desta forma levando a necessidade de um método específico (Torres et al., 1996).

A literatura apresenta diversos métodos de determinação de pesticidas: Niessner e colaboradores (1996) estudaram a determinação de 23 princípios ativos diferentes em diversas ervas através do uso de SPE (extração em fase sólida) para purificação da amostra e encontraram melhores resultados de recuperação com o uso de colunas preenchidas com poliestileno divinil benzeno. Soliman (2001), estudando a presença de pesticidas em amostras de batata crua e preparada na região do Cairo (Egito), observou a presença de pp'DDT, lindano, hexaclorobenzeno e malationa. Simplício e colaboradores (1999), analisando pesticidas organofosforados utilizando SPME (micro extração em fase sólida) em amostras de frutas e suco de frutas encontraram valores aceitáveis de recuperação para 6 dos 7 princípios ativos estudados.

Oliveira e colaboradores (2001), estudando a degradação do tiabendazol e imazalil em laranja pêra, constataram que as amostras apresentam-se em condições de consumo. Costa e colaborador (2002), estudando os níveis de procloraz em maçãs observaram que os resíduos permanecem predominantemente na casca, e quando a fruta é analisada totalmente (polpa + casca) os resíduos remanescentes não ultrapassaram o limite máximo de resíduos permitidos.

Os pesticidas organoclorados foram os primeiros pesticidas orgânicos eficazes largamente utilizados ao redor do mundo. Os primeiros pesticidas organoclorados sintetizados, incluindo o DDT, aldrin, hexaclorobenzeno entre outros, hoje estão banidos devido à persistência destes e de seus metabólitos tanto no meio ambiente, como nos seres vivos em geral, incluindo-se aqui o ser humano. Atualmente são considerados contaminantes ambientais e não propriamente pesticidas. No Brasil está proibido o uso, tanto para agricultura, quanto para fins de campanha de saúde pública. Entretanto novos compostos foram criados que não persistem no ambiente como os anteriores e são largamente utilizados.

Os piretróides foram introduzidos no mercado nos últimos 50 anos para controlar seres nocivos em produtos armazenados e como protetores de grãos. O piretro e as piretrinas são extraídos das flores do crisânteno e são usados como inseticidas há centenas de anos. O termo piretro refere-se à planta, à flor ou ao extrato concentrado cru ou refinado e o termo piretroide é reservado ao ingrediente ativo. Os piretros são eficientes para matar uma série de insetos. O único inconveniente dos piretros é serem instáveis sob a ação da luz, sendo que esta propriedade restringiu seu uso na agricultura. Em 1953 o primeiro piretróide sintético foi sintetizado: a aletrina, este ingrediente ativo mostrou-se eficiente contra moscas, porém ainda é fotodegradável. Em 1976 o primeiro piretróide sintético estável à luz foi criado: o fenvalerato. Depois disso a permetrina, cipermetrina, e deltametrina foram comercializados com sucesso. Uma segunda geração de piretróides foi criada a partir de 1980,

porém estes apresentam-se mais tóxicos para os peixes: ciflutrina, flumetralina, fenpropatrina, bifentrina e fluvalinato . Os piretróides são largamente utilizados, pois são muito ativos em pequenas quantidades (10 gramas de ingrediente ativo por hectare). Apresentam excelente eficácia, baixa toxicidade para os aplicadores e baixo impacto ambiental (Chen et al.,1996).

Os inseticidas organofosforados são, provavelmente, a maior classe de substâncias usadas como inseticidas nos dias de hoje, sendo derivados do ácido fosfórico e tiofosfórico. Existem mais ou menos cem componentes usados em todo o mundo. Eles são usados para a agricultura e hoje substituem os organoclorados em campanhas de Saúde Pública (Conceição, 2002). Apresentam algumas desvantagens em relação a outras classes de pesticidas incluindo a alta toxicidade para muitos organismos, porém, não persistem no meio ambiente como os organoclorados e geralmente se decompõem em produtos não tóxicos. A elevada toxicidade pode afetar a vida animal incluindo a do próprio homem (Barceló et al.,1992).

Os carbamatos possuem baixa persistência no ambiente e baixa toxicidade para os mamíferos. A introdução do uso se deu no final da década de 50. São utilizados como inseticidas de contato em culturas agrícolas (Hassal,1993; Nunes, 1999). Os carbamatos são derivados do ácido carbâmico. A síntese e comercialização destes compostos acentuou-se na segunda metade do século com a busca de substituintes dos pesticidas organoclorados. Em 1957 o carbaril, o primeiro carbamato a ser sintetizado , mostrou-se como um produto de grande atividade inseticida de amplo espectro de ação e relativamente estável. Outros compostos foram e estão sendo sintetizados (Nunes, 1999).

Os pesticidas são também classificados quanto à ação contra os seres nocivos. Os acaricidas são utilizados para matar os ácaros. Este tipo de praga pode gerar grandes perdas para a agricultura. Os ácaros são diferentes dos insetos e por isso nem sempre os inseticidas são eficientes para elimina-los. Um grande número de acaricidas não tem efeitos sobre os insetos. Alguns

pesticidas organofosforados e carbamatos têm ação contra os insetos e contra os ácaros. Os organoclorados, por outro lado, quando são utilizados como acaricidas não tem ação contra os insetos e vice-versa. O uso de inseticidas pode causar um grande aumento na infecção por ácaros, pois estas substâncias eliminam muitos predadores naturais destes parasitas. (Matolcsy et al., 1988).

Os fungicidas são substâncias químicas ou biológicas que atacam os fungos sem atacar as culturas. Protegem as plantas contra a evasão de patógenos ou são usados para erradicar infecções já estabelecidas. O início da aplicação de fungicidas em grande escala para o controle de doenças se deu com a descoberta da calda bolonhesa (mistura de sulfato de cobre e cal hidratada) em 1882. Por mais de 50 anos foi um dos fungicidas mais utilizados (Azevedo, 2001). De acordo com a FAO (Food and Agricultural Organization) os fungicidas são insumos importantes para a produção mundial de alimentos. Os fungicidas além de terem função na manutenção do potencial produtivo das culturas, contribuem também para a manutenção da germinação e vigor das sementes, e no prolongamento da vida útil dos frutos na pós-colheita (Azevedo, 2001).

Os herbicidas são utilizados para controlar as ervas daninhas. As ervas daninhas competem com a cultura por nutrientes, água, luz e espaço e por isso são prejudiciais. Os herbicidas são diferentes na maneira de agir, podendo ser seletivos e não seletivos. Os seletivos atacam espécies específicas de plantas enquanto os não seletivos atacam qualquer planta. Os herbicidas são os pesticidas mais utilizados ao redor do mundo, sendo que o primeiro mais utilizado é o glifosato e o segundo é o alacloro (Barceló e Hennion, 1997).

A Comunidade Econômica Européia e os Estados Unidos têm se mostrado cada vez mais exigentes quanto à qualidade de produtos comestíveis importados de outros países. É essencial que o Brasil melhore a qualidade de seus produtos para tornar-se competitivo no mercado externo, além de proteger e melhorar a saúde da sua população.

2- OBJETIVOS

O objetivo fundamental do presente trabalho é otimizar uma metodologia multiresíduo para análise de manga. Como objetivos específicos pretende-se:

- a) otimizar uma metodologia que diminua a quantidade de solventes utilizados durante a análise, para assim diminuir os custos da análise e diminuir a geração de resíduos tóxicos;
- b) verificar a existência do chamado “efeito matriz” na análise multiresíduo;
- c) avaliar a qualidade das mangas consumidas na região da cidade de São Paulo.

3-MANGA (*Mangifera indica* L.)

A manga tem sua origem na Ásia. Foi introduzida pelos portugueses no Brasil, difundiu-se por todo o território, que é hoje um dos principais produtores mundiais. A mangueira adapta-se bem ao clima quente e úmido. Com estação seca marcante, prefere solos profundos e férteis, mas se desenvolve bem em quase todos os solos. É uma fruta que para o cultivo não exige muitos cuidados, adaptando-se melhor em regiões tropicais. A mangueira é uma planta perene, de grande porte e sistema radicular vigoroso, muito sensível a geadas e, de produção alternada. O período ideal para plantio é na estação chuvosa. A propagação é por sementes ou mudas enxertadas (Fonseca, 1998).

Pode-se favorecer a indução artificial da floração pulverizando-se a planta com etefom (pesticida utilizado para estimular o crescimento) ou nitratos (de potássio ou amônio). Um mês após o tratamento ocorre a floração antecipando assim a frutificação (Fonseca, 1998).

Atualmente uma das preocupações do governo Brasileiro é que toda a manga seja produzida através da produção integrada, que é uma proposta de agricultura sustentável sob os pontos de vista ecológico, social e econômico e permite a rastreabilidade do produto. No Nordeste várias empresas exportadoras já aderiram ao programa devido às exigências internacionais.

A demanda mundial de manga tem aumentado significativamente. A manga talvez seja a fruta brasileira com maior potencial de crescimento de suas exportações a curto prazo (www.cati.sp.gov.br). O maior comprador de manga brasileira é a Holanda, para redistribuir pela Europa através do porto de Roterdã (www.coresesaborestropicais.com.br).

O Nordeste é responsável por 44,7% da produção nacional, sendo o maior exportador de manga. No Estado de São Paulo, a manga teve uma expansão na década de 90 de aproximadamente 50% da área cultivada e do número de produtores rurais envolvidos. Em 1989, as mangueiras ocupavam 16.514

hectares, em 2002 já ocupavam 25.617 hectares distribuídos em 7.007 propriedades rurais. A maior parte da produção destina-se ao consumo do próprio Estado de São Paulo (www.cati.sp.gov.br).

A manga e a mangueira estão sujeitas ao ataque das mais variadas pragas e doenças e, devido a isso, o controle químico através de pesticidas ainda é a melhor forma para se evitar danos econômicos. As Tabelas II e III contém informações retiradas do Agrofít (Sistema interativo de informações sobre agrotóxicos, identificação de pragas, doenças e plantas infestantes com ocorrência no Brasil, fornecida pelo Ministério da Agricultura) citando as principais pragas e doenças da planta e dos frutos.

Tabela II: Principais pragas que atacam a mangueira: sintomas e controle

Nome	Sintoma/Dano	Controle Químico	Observação
Besouro amarelo	O adulto alimenta-se do limbo foliar, devorando as folhas de qualquer idade.	Inseticida organofosforado que atua por contato ou ingestão	O inseticida não deve ser aplicado na época de produção, principalmente nos 10 dias anteriores à colheita.
Cochonilha branca	Suga a seiva de todas as partes verdes da planta provocando a queda das folhas e o secamento dos ramos e aparecimento de fumagina (cobertura preta das folhas).	Óleo mineral associado a um inseticida organofosforado	O inseto ataca o fruto e o desqualifica para fins comerciais, é tida como a espécie mais importante na produção de manga.
Mosca das frutas	As larvas penetram nos frutos, deixando-os impréstáveis para o consumo.	Inseticidas organofosforados	
Cabeça-de-prego-rosa	Extraí grande quantidade da seiva, causando depauperização da planta.	Óleos emulsionáveis misturados a inseticidas organofosforados	O inseticida é aplicado nas horas mais quentes do dia.
Mosca-sul-americana	Os adultos fazem a postura nos frutos. As larvas penetram nos frutos e alimentam-se no seu interior.	Isclas adocicadas associadas a inseticidas	
Abelha-arapuá	Atacam flores, folhas novas e algumas vezes a casca dos troncos.	Pulverização com inseticidas organofosforados	A abelha-arapuá afeta o crescimento da planta e prejudica a frutificação.
Besouro-de-limeira	As larvas perfuram o limbo até deixá-los totalmente destruídos; atacam também os frutos verdes que caem ou amadurecem precocemente.		O besouro de limeira causa danos de importância econômica.

Continuação da Tabela II: Principais pragas que atacam a mangueira: sintomas e controle

Nome	Sintoma/Dano	Controle Químico	Observação
Tripés-do-cacaueiro	Picam a face interior das folhas. A picada causa o aparecimento de manchas cloróticas e amarelas. O ataque pode ocorrer também nos frutos no início do desenvolvimento.	Inseticidas organofosforados, carbamatos	
Cochonilha-parda	Ocorre a sucção da seiva. A planta definha podendo chegar a morte.	Óleos emulsionáveis e inseticida organofosforado	Os insetos expelem um líquido açucarado que atrai formigas e provoca o aparecimento da fumagina, um fungo prejudicial à fotossíntese.
Cochonilha-pulverenta	Sugam a seiva da planta, acarretando o definhamento e o aparecimento de brotos fracos.		
Cochonilha	Suga a seiva de todas as partes verdes da planta, provocando a queda das folhas e o secamento dos ramos.	Óleo mineral associado a um inseticida	
Cochonilha-escama-de-farinha	Ocorre a sucção da seiva. A planta definha podendo chegar a morte.	Óleo emulsionável associado a um inseticida organofosforado	O inseticida é aplicado nas horas mais frescas do dia.
Lagarta-de-fogo	Provoca uma grande destruição nas folhagens, provocando o atraso no desenvolvimento normal da planta.	Inseticidas organofosforados e carbamatos	A lagarta de fogo pode causar vasta destruição geográfica.

Continuação da Tabela II: Principais pragas que atacam a mangueira: sintomas e controle

Nome	Sintomas/Danos	Controle Químico	Observação
Percevejo-das-frutas	O ataque ocorre nos ramos ocasionando depauperamento da planta e dos frutos.		É uma praga que merece atenção no caso da manga.
Broca-da-mangueira	Ataca os ramos da planta, agindo como vetor do fungo <i>Ceratocystis fimbriata</i> .	Pulverização dos ramos e troncos afetados, assim como das mudas a serem transplantadas, com inseticida	Ataca unicamente a mangueira.
Cecidomídeos	As larvas bloqueiam o eixo das inflorescências ou dos frutos.		As larvas causam grandes prejuízos para a cultura.
Ácaro-da-má-formação-das-gemas	Nas brotações estes ácaros causam a morte das gemas e ainda o superbotamento, dificultando o desenvolvimento normal, principalmente das plantas novas, e a má formação da copa. Deixam as inflorescências inférteis, maciças e com má formação.	Inseticidas ou acaricidas	O controle deve ser rigoroso em viveiros e pomares em formação.
Besouro-vermelho	Tanto as larvas como os adultos alimentam-se das folhas. As larvas são mais vorazes que os adultos.	Inseticidas organofosforados	O besouro vermelho ataca em geral após o período de produção o que diminui o seu potencial de destruição.
Cigarrinha-do-pendúculo	Estes insetos são encontrados em colônias nos ramos e pedúnculos, sugando grande quantidade da seiva, provocando com isso, o secamento dos ramos e a queda dos frutos.	Pulverizações com inseticidas organofosforados e carbamatos	

Tabela III: Principais doenças que atacam a mangueira: sintomas e controle

Nome	Sintomas/Danos	Controle Químico	Observação
Seca-da-mangueira	Seca progressiva da planta.	Os galhos devem ser cortados e no corte deve-se passar fungicida	O fungo sobrevive nos ramos secos, no solo e em diversas plantas que são hospedeiros naturais.
Verrugose-da-mangueira	Manchas escuras nas folhas.	Pulverização com fungicidas na época da formação de folha novas e dos frutos	
Nematóide	Ectoparasita das raízes, causador do declínio do sistema radicular da mangueira.		
Seca-dos-ramos	Provoca a morte regressiva dos ramos, atinge toda a copa.		
Oídio	O fungo recobre as folhas, inflorescência e frutos.		No Brasil este fungo está presente em todas as áreas produtoras.
Mofo-cinzento	Podridão, queda das flores e frutos jovens.	Fungicida mancozebe	Os fungicidas são aplicados semanalmente durante a época de floração.
Antracnose	Causa danos nos ramos novos, folhas, flores e frutos. Folhas com manchas escuras, flores enegrecidas que caem, frutos com lesões irregulares.	Fungicidas mancozebe, nas plantas. Nos frutos pós colheita, procloraz	

4-LEGISLAÇÃO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NO BRASIL

Através da Lei 7.802 de 11 de julho de 1989 e da Portaria nº 03 de 16 de janeiro de 1992, tem-se as diretrizes para a utilização de pesticidas no Brasil. Os Ministérios da Saúde, Agricultura e o IBAMA, cada um na sua área de atuação ficam como os responsáveis pela autorização ou não da utilização dos pesticidas no Brasil. Compete aos Estados e ao Distrito Federal, legislar bem como fiscalizar sobre o uso, a produção, o consumo, o comércio e o armazenamento dos agrotóxicos, seus componentes e afins.

A Legislação garante que o registro para novo produto agrotóxico será concedido se a sua ação tóxica sobre o ser humano e o meio ambiente for comprovadamente igual ou menor do que a daqueles já registrados para o mesmo fim. O Brasil proibiu o registro de agrotóxicos, que revelem características teratogênicas, carcinogênicas ou mutagênicas. (BRASIL Leis e Decretos Portaria nº 3 de 16 de janeiro de 1992)

Algumas definições retiradas desta Legislação são expostas abaixo.

4.1 Definição de agrotóxico

São considerados agrotóxicos e afins:

- a) Os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também 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;
- b) Substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento;

4.2 Resíduo Estranho

Resíduo de agrotóxico e de seus produtos de transformação presentes nos alimentos mas não provenientes de sua aplicação direta. O resíduo estranho é freqüentemente devido à contaminação ambiental ou da cadeia alimentar.

4.3 Limite máximo de resíduo (LMR)

Quantidade máxima de resíduo de agrotóxico legalmente aceita no alimento, em decorrência da aplicação adequada numa fase específica, desde sua produção até o consumo, expressa em partes (em peso) do agrotóxico ou seus derivados por um milhão de partes de alimento (em peso) (ppm ou mg/kg). Os Limites Máximos de Resíduos referem-se aos valores provenientes dos experimentos de campo, efetuados no Brasil, para cada cultura alimentar.

Até 1985 o Brasil adotava os Limites Máximos de Resíduos recomendados pelo CODEX. O governo brasileiro começou a partir desta data a exigir dados gerados no Brasil.

4.4 IDA (ingestão diária aceitável) ou Dose diária aceitável

A Portaria 3 nos diz que IDA é a quantidade máxima que, ingerida diariamente durante toda a vida, parece não oferecer risco apreciável à saúde, à luz dos conhecimentos atuais. É expressa em mg do agrotóxico por kg de peso corpóreo (mg / kg). No Brasil utilizam-se dados do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) para verificação do consumo dos alimentos e assim estima-se a ingestão alimentar dos resíduos de pesticidas.

4.5 Intervalo de segurança ou período de carência

Intervalo de segurança ou período de carência vem a ser o intervalo de tempo entre a última aplicação do agrotóxico e a colheita ou comercialização. Para os

casos de tratamento de pós-colheita será o intervalo de tempo entre a última aplicação e a comercialização. Para as pastagens, será o intervalo de tempo entre a última aplicação e a reentrada dos animais no pasto.

4.6 Boa prática agrícola no uso de agrotóxicos

Boa prática agrícola no uso de agrotóxicos vem a ser o emprego correto e eficaz de um agrotóxico, considerados os riscos toxicológicos envolvidos em sua aplicação, de modo que os resíduos sejam os menores possíveis e toxicologicamente aceitáveis.

4.7 Classificação Toxicológica

Classe I - Produtos Extremamente Tóxicos;

Classe II - Produtos Altamente Tóxicos;

Classe III - Produtos Medianamente Tóxicos;

Classe IV - Produtos Pouco Tóxicos.

A classificação toxicológica é dada para a formulação e para o princípio ativo. Assim um mesmo princípio ativo pode ter diferentes classificações toxicológicas dependendo da formulação em que esteja, como podemos ver na Tabela IV referente ao herbicida alacloro. A classificação toxicológica do princípio ativo alacloro na ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) mostra que ele se encontra na classe III – medianamente tóxico. Na Tabela V estão apresentados os defensivos agrícolas comercializados no Brasil por classe toxicológica.

Tabela IV: Formulações de Alacloro comercializadas no Brasil com classificação toxicológica e classificação ambiental

Marca Comercial	Ingrediente Ativo	Concentração do i.a.*	Classificação Toxicológica	Classificação Ambiental
Alaclor Nortox®	Alacloro	480g/L	altamente tóxico	muito perigoso
Alanex 480 CE®	Alacloro	480g/L	medianamente tóxico	muito perigoso
Laço CE®	Alacloro	480g/L	extremamente tóxico	perigoso
Agimix®	Alacloro + atrazina	260 + 260 g/L	altamente tóxico	**
Alaclor + Atrazina SC Nortox®	Alacloro + atrazina	240 + 250 g/L	extremamente tóxico	muito perigoso
Alazine 500 SC®	Alacloro + atrazina	250 + 250 g/L	medianamente tóxico	muito perigoso
Boxer®	Alacloro + atrazina	300 + 180 g/L	extremamente tóxico	muito perigoso
Lance®	Alacloro + trifluralina	400 + 300 g/L	extremamente tóxico	**

* i.a = ingrediente ativo

Fonte:Agrofit disponível em URL : www.ministerioagricultura.gov.br pesquisa feita em dezembro de 2001

** Dados não fornecidos no Agrofit

Tabela V: Defensivos agrícolas em linha de comercialização no Brasil por classes toxicológicas

CLASSES	HERBICIDAS				FUNGICIDAS				INSETICIDAS				ACARICIDAS				OUTROS				TOTAL GERAL			
	1997	1999	2000	2002	1997	1999	2000	2002	1997	1999	2000	2002	1997	1999	2000	2002	1997	1999	2000	2002	1997	1999	2000	2002
TOXICOLÓGICAS																								
CLASSE I	28	25	32	38	14	13	17	18	58	51	55	56	4	5	5	5	2	4	4	4	106	98	113	121
CLASSE II	55	56	58	65	30	33	32	37	55	58	65	73	14	13	12	11	5	5	7	10	159	165	174	196
CLASSE III	66	63	67	77	51	50	53	63	19	35	45	57	10	11	10	10	4	4	6	7	150	163	181	214
CLASSE IV	23	35	41	45	30	32	36	47	32	32	47	54	6	4	5	6	25	27	26	31	116	130	155	183
TOTAL:	172	179	198	225	125	128	138	165	164	176	212	240	34	33	32	32	36	40	43	52	531	556	623	714

Fonte: Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola-SINGAG
Pesquisa feita em dezembro de 2002

4.8 Registro de Defensivos Agrícolas no Brasil

Os ensaios destinados a pesquisa de resíduos de pesticidas devem, no mínimo, ser conduzidos em 2 (dois) locais representativos das áreas de cultivo ou em 2 (duas) safras consecutivas, seguindo as boas práticas agrícolas. A formulação aplicada deverá ser a mesma que a comercializada. Pelo menos duas doses deverão ser testadas: máxima a ser recomendada e o dobro. Todas as amostras deverão ser acompanhadas de testemunhas. Entende-se por testemunha a amostra não tratada, coletada no mesmo local e no mesmo intervalo que a amostra tratada. Após o estudo de campo dados laboratoriais são gerados e enviados ao Ministério da Saúde; caso o pesticida seja aprovado para aquela cultura o Ministério da Saúde edita uma Monografia, publicada no Diário Oficial da União, divulgando os limites máximos de resíduos para todas as culturas estudadas.

Os ensaios de campo servem para estimar o LMR (limite máximo de resíduos) para a cultura, já que os dados de campo são utilizados como dados para o estabelecimento dos limites máximos permitidos. A dose dupla aplicada não pode fornecer resultados superiores ao limite máximo permitido, pois neste caso a formulação não será registrada.

A Portaria nº 160 de 31 de dezembro de 1996 Art. 1º, item a, diz que para efeito de obtenção de registro e reavaliação técnica o requerente deverá fornecer o método analítico com a respectiva validação, para determinação de resíduos do ingrediente ativo (i.a.) e seus derivados nas culturas indicadas na solicitação de registro.

A resolução-RDC nº 44, de 10 de maio de 2000 (Anexo 1) item 5.2 Relatório Analítico determina os dados que deverão constar no relatório de estudos de resíduos. No Método de análise deverão constar:

- Identificação,
- Quantificação,
- Curva de Calibração,

- Recuperação em dois níveis de fortificação com pelo menos três repetições cada um, sendo que o intervalo aceito para as recuperações será de 70 a 120%
- Limite de Quantificação
- Resultados
- Bibliografia

5- PESTICIDAS ORGANOCLORADOS, PIRETRÓIDES E OUTROS

Dentre os organoclorados estudados encontramos fungicidas, inseticidas e herbicidas. Com algumas poucas exceções os organoclorados têm baixa toxicidade para os mamíferos e alta toxicidade para os insetos (New Zealand Total Diet Survey Part 1: Pesticide Residues). Eles são componentes estáveis, solúveis em gorduras; os componentes mais novos como o dicofol e o endosulfam são degradáveis no meio ambiente. Os piretróides são inseticidas e a azoxistrobina é um fungicida que são analisados conjuntamente com os organoclorados através do detector de captura de elétrons.

A tabela VI mostra os pesticidas organoclorados, piretróides e azoxistrobina com a classificação toxicológica.

Tabela VI: Pesticidas organoclorados, e classificação toxicológica

Ingrediente Ativo	Classificação toxicológica
Propanil	III
Alacloro	III
Dicofol	II
Aletrina	III
Procimidona	IV
Endosulfam	I
Bifentrina	II
Fenpropatrina	II
Tetradifona	IV
Procloraz	I
Difenoconazol	III
Azoxistrobina	III

Propanil

Herbicida, solúvel na maioria dos solventes orgânicos, é muito utilizado na cultura de arroz (Hassal, 1983). Produto considerado perigoso ao meio ambiente é altamente tóxico para algas.

Alacloro

O alacloro é um herbicida seletivo de ação não sistêmica, recomendado para o controle em pré-emergência das plantas daninhas. Sob o ponto de vista ambiental o alacloro é altamente móvel, apresentando alto potencial de deslocamento no solo e é altamente persistente no meio ambiente, podendo atingir principalmente águas subterrâneas ou o lençol freático. É altamente tóxico para algas (Agrofit, 2002).

Dicofol

O dicofol é um importante acaricida organoclorado de contato e ingestão que age em estágios mais desenvolvidos da vida do ácaro. Possui efeito residual prolongado (Hassal, 1983).

Aletrina

Foi o primeiro piretróide a ser descoberto. Inseticida piretróide, instável à luz. Por esta razão só é utilizado como inseticida doméstico (Chen et al., 1996).

Procimidona

Fungicida sistêmico de amplo espectro de ação. É altamente persistente no meio ambiente, e extremamente tóxico para algas (Agrofit, 2001).

Endosulfam

O endosulfam é um inseticida e acaricida não sistêmico de contato e ingestão constituído pela mistura de 2 isômeros (α e β Endosulfam) e pertence ao grupo dos ciclodienos. Ao contrário dos outros ciclodienos conhecidos (aldrin, clordane, heptacloro, mirex, etc), o endosulfam é considerado pouco persistente no ambiente e apresenta baixa toxicidade para a maioria dos organismos superiores, com exceção de algumas espécies aquáticas, particularmente peixes

(Nishiguchi, 1999). O sulfato de endosulfam é o principal produto de degradação do endosulfam, sendo considerado tão tóxico quanto os isômeros α e β . É considerado tóxico para organismos aquáticos, abelhas.

Bifentrina

Inseticida piretróide de contato e ingestão largamente utilizado no tratamento de grãos armazenados. É um sólido branco, de baixa polaridade, pouco volátil e apresenta baixa solubilidade em água (Hassal, 1983). É altamente persistente no meio ambiente e extremamente tóxico para microcrustáceos (Agrofit, 2002).

Fempropatrina

Inseticida piretróide, é um sólido branco de baixa polaridade, pouco volátil e apresenta baixa solubilidade em água (Hassal, 1983).

Tetradifona

Acaricida, largamente utilizado no Brasil

Procloraz

O procloraz é um fungicida que é utilizado na manga em aplicação pós colheita para evitar a podridão dos frutos (Manley, 1989). O procloraz pertence ao grupo dos imidazóis. Foram primeiramente estudados pela indústria farmacêutica e estes estudos formaram a base da aplicação destes compostos como protetores de plantas (Hassal, 1983).

Difenoconazol

É um fungicida sistêmico que surgiu no início da década de 90. É utilizado em doenças que causam manchas foliares em hortaliças, em doenças no final de ciclo na cultura de soja e em tratamento de sementes (Azevedo, 2001). É altamente persistente no meio ambiente e altamente tóxico para os microcrustáceos (Agrofit, 2002).

Azoxistrobina

Fungicida sistêmico com atividade preventiva, curativa e anti-esporulante que surgiu no final da década de 90. É amplamente empregado no controle de manchas foliares e oídio (fungo largamente distribuído no território brasileiro) das hortaliças. É um dos fungicidas mais vendidos no mundo e no Brasil (Azevedo, 2001) É altamente tóxico para organismos aquáticos.

A fórmula estrutural dos pesticidas analisados pelo detector de captura de elétrons se encontra na tabela VII.

Tabela VII: Pesticidas organoclorados, piretróides e estrobirulina : função, classe e fórmula estrutural

Nome	Função Classe	Formula Estrutural
Propanil	Herbicida
	Organoclorado	
Alacloro	Herbicida
	Organoclorado	
Aletrina	Inseticida
	Piretróide	
Dicofol	Acaricida
	Organoclorado	
Procimidona	Fungicida
	Organoclorado	
Alfa e Beta Endosulfam	Inseticida
	Organoclorado	
Sulfato Endosulfam	Inseticida
	Organoclorado	

Continuação da Tabela VII: Pesticidas organoclorados, piretróides e estrobirulina: função, classe e fórmula estrutural

Nome	Função Classe	Formula Estrutural
Bifentrina	Inseticida	$\text{CF}_3 \quad (Z)\text{-(1R)-cis-}$
	Piretróide	$(Z)\text{-(1S)-cis-}$
Fenpropatrina	Inseticida
	Piretróide	
Tetradifona	Acaricida
	Organoclorado	
Procloraz	Fungicida
	Organoclorado	
Difenoconazol	Fungicida
	Organoclorado	
Azoxistrobina	Fungicida
	Estrobirulina	

6 PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS

A maioria dos pesticidas organofosforados são empregados como inseticidas; entretanto sua aplicação não se estende somente nesta área, pois são também utilizados como acaricidas, nematocidas, rodenticidas entre outros. Recentemente foram sintetizados alguns organofosforados que têm ação fungicida e herbicida. Alguns componentes são usados também como medicamento; por exemplo, o paraoxon é utilizado contra o glaucoma e o endosan é utilizado contra tumores malignos (Eto, 1974). Os pesticidas organofosforados foram analisados através da cromatografia à gás com detector fotométrico de chama. A tabela VIII mostra os pesticidas organofosforados estudados, com a classificação toxicológica.

Tabela VIII: Pesticidas organofosforados, e classificação toxicológica

Ingrediente Ativo	Classificação Toxicológica
diclorvós	II
forato	I
diazinon	II
clorpirifós	II
malationa	III
fentiona	II
fentoato	III
etiona	II
fosmete	II

Diclorvos, DDVP ou Vapona

O diclorvós é um inseticida que foi descoberto em 1955 como uma impureza do inseticida triclorfon (Eto, 1974). O triclorfon é rapidamente convertido a diclorvós. O diclorvós é um líquido amarelo, miscível com muitos solventes orgânicos. A meia vida em água a pH 7,0 é de aproximadamente de 8 horas. O diclorvos é um inseticida de contato com ação fumigante e de baixa atividade residual.

Fentiona

Foi desenvolvido em 1958 como inseticida (Eto,1974). É um líquido solúvel em muitos solventes orgânicos exceto em hidrocarbonetos alifáticos. O fentiona é estável à hidrólise ácida e básica e ao aquecimento, conseqüentemente é um inseticida persistente. Altamente tóxico para organismos aquáticos, abelhas e aves.

Diazinom

Foi descoberto em 1952. É um inseticida que age matando os insetos pelo contato e/ou pela ingestão. É utilizado na fumigação de grãos armazenados (Eto,1974). O diazinom puro é um líquido incolor, é altamente solúvel em solventes orgânicos. Ele demonstra ter uma ação residual longa ,porém sua toxicidade é relativamente baixa.

Malationa

Foi introduzido em 1950 e é conhecido como o primeiro inseticida organofosforado com toxicidade seletiva (Eto,1974). É um inseticida que mata os insetos por contato e ou através da ingestão . O malationa é um líquido amarelo, altamente solúvel em muitos solventes orgânicos exceto os alcanos. O malationa é rapidamente hidrolisado em soluções aquosas, acima de pH 7,0 e abaixo de pH 5,0. Devido à baixa toxicidade e ação inseticida elevada é muito utilizado. É extremamente tóxico para microcrustáceos.

Clorpirifós

Foi descoberto em 1965. É solúvel em muitos solventes orgânicos. É moderadamente persistente e relativamente estável, exceto sob soluções fortemente alcalinas ou ácidas. É solúvel nos solventes orgânicos (Eto,1974).

Forato

É extremamente tóxico para os mamíferos. Tem grande persistência por isso protege as plantas durante um longo período (Eto,1974).

Fentoato

Foi introduzido em 1964, é um inseticida que mata por contato e ou pela ingestão. O produto puro é líquido, solúvel em hidrocarbonetos aromáticos, cetonas, álcoois entre outros. É relativamente instável sob aquecimento. Tem ação inseticida e acaricida. Sua toxicidade depende da pureza. O produto puro apresenta DL_{50} para ratos = 4700 mg/kg enquanto o produto técnico (pureza 78,7%) é 40 vezes mais tóxico.

Etiona

Foi desenvolvido em 1956 como inseticida de contato e ingestão. É um líquido amarelo, praticamente insolúvel em água e altamente solúvel em hidrocarbonetos aromáticos, é levemente oxidado no ar. É um inseticida com baixa toxicidade para os mamíferos.

Fosmete

Foi introduzido em 1966 como inseticida e acaricida de contato e ingestão. É um sólido cristalino branco, solúvel em muitos solventes orgânicos exceto hidrocarbonetos alifáticos. É um inseticida não sistêmico.

A fórmula estrutural dos pesticidas organofosforados estudados se encontra na Tabela VIX.

Tabela XIX: Pesticidas organofosforados: função, classe e fórmula estrutural

Nome	Função Classe	Formula Estrutural
Diclorvós	Inseticida Acaricida	$\text{Cl}_2\text{C}=\text{CHOP}(=\text{O})(\text{OCH}_3)_2$
	Organofosforado	
Forato	Inseticida Acaricida	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{SCH}_2\text{SP}(=\text{S})(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$
	Organofosforado	
Diazinon	Inseticida Acaricida
	Organofosforado	
Clorpirifós	Inseticida Acaricida
	Organofosforado	
Malationa	Inseticida Acaricida	$(\text{CH}_3\text{O})_2\text{P}(=\text{S})\text{CH}(\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$
	Organofosforado	
Fentiona	Inseticida
	Organofosforado	
Fentoato	Inseticida Acaricida
	Organofosforado	
Etiona	Inseticida Acaricida	$(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O})_2\text{P}(=\text{S})\text{CH}_2\text{SP}(=\text{S})(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$
	Organofosforado	
Fosmete	Inseticida Acaricida
	Organofosforado	

7 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA EMPREGADA NA ANÁLISE DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS

A avaliação da metodologia analítica na área de resíduos de pesticidas é realizada para garantir que o método seja exato, específico e reprodutível. A avaliação envolve a interação princípio ativo - matriz dentro de uma marcha analítica que resulta na quantificação por métodos instrumentais. A conformidade da metodologia deve ter alguns parâmetros obrigatórios:

Linearidade

Especificidade

Exatidão

Precisão

Limite de Detecção

Limite de Quantificação

7.1 Linearidade

A linearidade é geralmente o primeiro passo a ser verificado em análise de resíduos de pesticidas. Antes da escolha do método de análise, avalia-se a linearidade da determinação do princípio ativo para o sistema de detecção escolhido. A linearidade é obtida através da Curva Analítica do princípio ativo, geralmente com medidas de um mínimo de cinco níveis de concentração, procurando-se injetar no mínimo 3 vezes cada concentração correspondente a um determinado ponto da curva. A linearidade corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância dentro de uma determinada faixa. Através da linearidade verifica-se a variação da inclinação da linha de regressão que deve apresentar um coeficiente de determinação quadrado maior ou igual a 0,99 para garantir que o princípio ativo seja linear naquelas condições. A curva analítica deve conter o ponto correspondente ao limite de quantificação do método.

Para obter-se a curva analítica são necessárias soluções padrão de concentrações definidas obtidas através de **padrão de referência**. Qualquer método cromatográfico depende fortemente da existência de padrões de

referência para o fornecimento de dados exatos; assim, a pureza dos padrões de referência é um item especialmente importante na avaliação de resíduos de pesticidas. Alguns cuidados devem ser observados quanto ao padrão de referência: devem ser armazenados nos frascos originais, as tampas não devem ser de borracha, pois podem contaminar o padrão. Os padrões devem ser armazenados de acordo com as instruções do produtor para evitar a degradação. Geralmente o armazenamento em temperatura baixa (freezer) e no escuro é satisfatório (Guidelines for Residues Monitoring in the European Union Document SANCO 7826/VI/97)

7.2 Especificidade

O método analítico empregado deve ser capaz de determinar o analito quantitativamente mesmo na presença de outras substâncias. Corresponde ao grau de interferência de espécies, como outro princípio ativo, reagentes, impurezas e produtos de degradação, garantindo que o pico de resposta cromatográfico seja exclusivamente de um componente simples, isto é, que não existam interferentes naquele tempo de retenção.

Para verificar a especificidade de um método deve-se primeiramente verificar se os reagentes empregados na análise e a vidraria não apresentam interferentes que apresentem o mesmo tempo de retenção do analito, ou seja há necessidade de injetar um branco do método. Análise do **branco** é aquela na qual faz-se uma análise completa com todos os passos da marcha analítica sem o uso da amostra. É necessário também analisar uma **amostra testemunha** para verificar a presença de interferentes da própria matriz. **Amostra testemunha** é a amostra que não contém o analito em estudo.

7.3 Exatidão

Segundo o EPA (Environmental Protection Agency, 1996) a exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em relação a um valor aceito como referência. A exatidão assegura o desempenho do método

analítico. É expressa como o percentual de resposta obtida através do ensaio de uma quantidade conhecida do analito adicionado à matriz. A recuperação de pesticidas de amostras fortificadas é usada como medida de eficiência de um método analítico.

A exatidão dentro da avaliação de metodologia é conferida através do estudo de recuperação do princípio ativo; para isto fortifica-se uma amostra testemunha. A fortificação consiste na adição de uma solução do pesticida em concentrações conhecidas na amostra testemunha. Através da análise desta amostra, pode-se verificar se a marcha analítica determina o princípio ativo quantitativamente. Através da fortificação da amostra obtém-se os resultados de recuperação. O intervalo aceito para os valores de recuperação varia de 70 a 120% segundo o EPA (Environmental Protection Agency, 1996) e o desvio padrão relativo deve estar abaixo de 20% segundo o próprio EPA (1996) e o CODEX ALIMENTARIUS (Programa das Nações Unidas sobre Harmonização de Normas Alimentares, gerenciado pela FAO/WHO-Food and Agriculture Organization e World Health Organization, 2000). O EPA aceita valores inferiores a 70% de recuperação para casos especiais, porém o pesticida não pode ser extremamente tóxico.

7.4 Precisão

A precisão expressa o grau de repetibilidade entre os resultados de análises individuais quando o procedimento é aplicado mais de uma vez em uma mesma amostra homogênea, em idênticas condições de análise. Normalmente é expressa através do desvio padrão relativo em um número estatisticamente significativo de amostras.

7.5 Limite de Detecção

O Limite de detecção (LD) representa a mais baixa concentração da substância em exame que pode ser detectada com um certo limite de confiabilidade utilizando um determinado procedimento experimental.

7.6 Limite de Quantificação

O limite de quantificação (LQ) é definido como a mais baixa concentração do analito que pode ser quantificado com uma certa confiabilidade, utilizando uma marcha analítica específica (The American Chemical Society-Committee on Environmental Improvement). O LQ engloba uma relação entre a concentração, precisão e exatidão.

8- MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO MULTIRESÍDUOS DE PESTICIDAS ORGANOCLORADOS E ORGANOFOSFORADOS EM MANGA

8.1 Considerações Gerais

Existem diversas metodologias direcionadas à determinação de multiresíduos publicadas na literatura (Schenck et al., 2000). Encontrar uma que extraia todos os pesticidas e estabeleça limites de quantificação que atendam à legislação é tarefa praticamente impossível.

Em muitos casos a extração é feita com acetona ou acetato de etila. Lucke propôs um dos primeiros métodos para determinação de multiresíduos de pesticidas em alimentos (Lucke, 1975).

O FDA (Food and Drug Administration) utiliza a extração com acetona , partição com diclorometano:éter de petróleo e posterior filtração em cloreto de sódio. Em 1993 o FDA adicionou a purificação da amostra com SPE (extração em fase sólida) ao seu método original, que é conhecido como Método de Luke II . Este fato deve-se a interferentes na matriz e ao maior uso do cromatógrafo gasoso com detetor de massa “íon-trap” .

O PMRA (Canadian Pest Management Regulatory Agency), órgão que controla o uso de Pesticidas no Canadá, indica a extração dos pesticidas com acetonitrila saturada de cloreto de sódio.

O Netherlands General Inspectorate for Health Protection, órgão de fiscalização da Holanda utiliza o método original de Lucke seguido de identificação através do CG-ITMS (cromatografia gasosa com detecção de massa “íon trap”). A tabela X apresenta alguns métodos propostos para a extração multiresíduos. No presente trabalho as determinações foram realizadas empregando-se o método de Lucke seguido pelo governo Holandês, com algumas modificações.

Um método analítico deve ter alguns requisitos mínimos. As recomendações da Agência de Proteção Ambiental Americana são as seguintes:

- 1) A execução do método deve ser relativamente rápida, geralmente não deve durar mais que um dia a não ser para alguns princípios ativos especiais. Para as substâncias extremamente tóxicas a análise não deve demorar mais do que 24 horas entre o início da análise e o resultado final, devido a necessidade da utilização de medidas de proteção.
- 2) O método deve ser específico na identificação e quantificação levando –se em conta que mais de um pesticida pode estar presente na mesma amostra.
- 3) O método deve ser sensível o suficiente para atender a Legislação em vigor.
- 4) Durante todo o procedimento não se devem usar substâncias ou reagentes extremamente tóxicos.
- 5) O EPA não tem uma lista de instrumentos adequados para cada análise, porém métodos empregando a Cromatógrafo a gás ou a Líquido com os vários sistemas de detecção existentes são aceitos. Métodos empregando a cromatografia em papel ou em camada delgada podem ser utilizados para confirmação ou identificação, porém não são precisos o suficiente para quantificação.
- 6) A confirmação dos resultados é necessária. Em geral a confirmação é realizada idealmente com o detector de massa , porém na ausência deste detector o uso de uma coluna de polaridade diferente, ou uma outra forma de detecção ou ainda o uso de uma fase móvel de seletividade diferente podem ser utilizados. Além disto a especificidade do método pode ser obtida através de purificação mais específica ou de derivatização. O EPA não determina que seja feito um estudo para verificar a possibilidade de que outros pesticidas permitidos para a cultura sejam considerados como interferentes. O documento SANCO 825/00 da European Comission diz que

não é necessário um método confirmatório quando o método utiliza o CG/MS com a utilização de ao menos três fragmentos para identificação/quantificação.

Tabela X : Diferentes metodologias empregadas em análise de multiresíduos

Método	Quantidade De amostra (g)	Extração	Partição	Observação	Referência
FDA ^a	100	Acetona 200 mL blender	Diclorometano – Éter de Petróleo	Filtrada em NaCl	Schenck et al 2000
PMRA ^b	60	Acetonitrila 120 mL saturado de NaCl ultraturrax		Filtrada em excesso de sulfato de sódio	Schenck et al 2000
Netherlands General Inspectorate for Health Protection	15	Acetona 30 mL ultraturrax	Diclorometano – Éter de Petróleo	Centrifugada	Netherlands General Inspectorate for Health Protection 1996
Hajslová	15	Acetato de etila 250 mL centrifugado a 10.000 rpm		Suspensão filtrada através de sulfato de sódio e o filtrado concentrado até 50 mL e ressuspensionado em 100 mL com ciclohexano	Hajslová et al 1998

(a) O FDA (Food and Drug Administration) adicionou em 1993 SPE ao método (conhecido com método de Luke II ,

devido a interferentes da matrix e aumento do uso de métodos utilizando o CG-ITMS

(b) Canadian Pest Management Regulatory Agency

8.2 PARTE EXPERIMENTAL

8.2.1. Aparelhos/equipamentos

- a) Ultraturrax Heidolph modelo DIAX 900
- b) Centrífuga Inábras modelo Spin VI
- c) Balança Analítica Mettler Toledo, modelo AB 204
- d) Balança semi-analítica Micronal, modelo B 4000
- e) Evaporador Rotatório Bücher modelo R-114
- f) Banho com aquecimento Bücher modelo B-480
- g) Cromatógrafo em fase gasosa HP 6890, com detector de captura de elétrons, com amostrador automático e microcomputador com Chemstation
- h) Cromatógrafo em fase gasosa HP 5890, com detector de fotométrico de chama, com amostrador automático e integrador

8.2.2 Reagentes

- Acetona grau resíduo
- Diclorometano grau resíduo
- Hexano grau resíduo
- Tolueno grau resíduo
- Isooctano grau resíduo

8.2.3 Padrão analítico

Os padrões analíticos foram obtidos da SUPELCO com pureza igual ou superior a 99,8%

- Diclorvós
- Forato
- Diazinon
- Clorpirifós
- Malationa
- Fentiona
- Fentoato
- Etiona
- Fosmete

- Alacloro
- Tetradifona
- Alfa Endosulfam
- Beta Endosulfam
- Sulfato Endosulfam
- Procimidona
- Propanil
- Dicofol
- Fenpropatrina
- Aletrina
- Bifentrina
- Difenoconazol
- Procloraz
- Azoxistrobina

8.2.4 Vidrarias e outros Materiais

Provetas graduadas de 100 mL

Frasco de teflon de 250 mL

Balões Volumétricos de 10,0 e 100,0 mL

Pipetas volumétricas de várias capacidades

Béqueres de 10 mL

Bastão de vidro

Frascos de vidro de 2,0 mL próprios para uso no injetor automático dos cromatógrafos com tampa e septo descartável de teflon

Espátulas

Frasco de vidro de 100 mL com tampa de teflon

Balões de fundo chato com boca esmerilhada de 125 mL

8.2.5 Preparação das soluções padrão para construção das curvas analíticas

a) Solução mãe

Pesar 10 mg do padrão analítico certificado em balão volumétrico de 100 mL, completar até a marca com isooctano. Transferir para frasco de vidro de 100mL com tampa revestida de teflon.

b) Soluções intermediárias

b.1) Soluções Intermediárias para uso no CG-ECD

As soluções intermediárias foram preparadas de duas formas: em hexano e no extrato da amostra testemunha ressuspendido em hexano.

b.2) Soluções intermediárias para uso no CG-FPD

As soluções intermediárias foram preparadas de duas formas em isooctano-tolueno 9:1 e no extrato da amostra testemunha ressuspendido em isooctano:tolueno 9:1.

b.3) Soluções de fortificação

Todas as soluções de fortificação foram preparadas em hexano

8.2.6 Parâmetros cromatográficos

a) Cromatógrafo a Gás com Detetor de Captura de Eletrons

Cromatógrafo à gás:	HP, modelo 6890 series com microcomputador com Chemstation®
Coluna cromatográfica:	Coluna capilar HP-5 30 metros de comprimento, diâmetro interno de 0,32 mm, 0,25 µm de espessura de filme
Gás de arraste:	Nitrogênio
Injetor:	Modo: Splitless, Temperatura 250° C Vazão Total: 23,2 mL/min. Gás: nitrogênio Pressão: 5,1 psi
Volume de injeção:	2µL

Temperatura do forno: Temperatura Inicial 60°C por 1 min.

Rampa	Temperatura Final	Tempo Final
10°C/min.	220	6 min.
3°C/min.	280	17 min.
Tempo Total 60 min		

Detector: Detector de captura de elétrons (ECD), gás make-up gás: nitrogênio 60 mL, 320° C

b) Cromatógrafo a Gás com Detetor Fotométrico de Chama (FPD)

Cromatógrafo à gás: HP, modelo 5890 series com integrador

Coluna cromatográfica: Coluna capilar HP-5 30 metros de comprimento, diâmetro interno de 0,53 mm, 2,65 µm de espessura de filme

Gás de arraste: Nitrogênio

Fluxo do Gás de Arraste: 18 mL/min.

Fluxo do Hidrogênio: 75 mL/min.

Fluxo do Ar Sintético: 100 mL/min.

Volume de injeção: 2µL

Temperatura do forno: Temperatura Inicial 90°C

Rampa	Temperatura Final	Tempo
30°C/min.	190	5 min.
5°C/minuto	280	5 min.
Tempo Total 32 minutos		

Detector: Detector Fotométrico de Chama (FPD) 300° C

8.2.7. Procedimento analítico

a) Amostragem

Triturar as amostras em blender . Foram utilizadas a casca e a polpa da manga no processo de amostragem. O caroço foi desprezado.

b) Extração

- Homogeneizar a amostra e pesar uma alíquota de 15 g em um frasco de polietileno. Adicionar 30 mL de acetona e agitar em ultraturrax por 30 segundos.
- Adicionar 60 mL de uma mistura diclorometano:hexano (1:1) e agitar por mais 30 segundos em ultraturrax.
- Centrifugar a amostra a 5.000 rpm por 10 minutos.
- Medir o extrato em proveta graduada.
- Transferir 0,40 mL do extrato para frasco próprio do injetor automático, Deixar evaporar todo solvente e ressuspender em 1,0 mL de hexano para injeção no CG-ECD (detetor de captura de elétrons).
- Transferir 25,0 mL para balão de fundo chato de 125 mL com boca esmerilhada. Concentrar até secar em evaporador rotatório e ressuspender em 2,5 mL de uma mistura isooctano:tolueno (9:1). Injetar no CG-FPD (detetor fotométrico de chama).

8.3 Confirmação dos resultados

A confirmação dos resultados foi feita através do uso de uma coluna HP 1701 .

8.4 Limpeza da vidraria

Todo material de vidro foi imerso em uma solução de Extran[®] alcalino a 10% por 12 horas, seguido de lavagem com água com enxágüe final com água Milli Q[®]. A secagem foi feita em estufa e a eliminação de possíveis interferentes efetuada com hexano grau resíduo. Os balões volumétricos e pipetas utilizados para o preparo de padrões foram primeiramente descontaminados com solventes antes da lavagem.

8.5 FLUXOGRAMA: ANÁLISE MULTIRÉSIDUOS DE PESTICIDAS EM AMOSTRAS DE MANGA

9- EFEITO MATRIZ

O efeito matriz é uma característica conhecida em análise de resíduos de pesticidas; caracteriza-se por resultados acima dos esperados nos estudos de recuperação, ou seja, adicionando-se uma quantidade conhecida de pesticida na amostra os resultados de recuperação apresentam-se superiores ao adicionado.

A teoria recentemente proposta é que os sítios ativos do sistema cromatográfico principalmente do *liner* do injetor são bloqueados por componentes da matriz, o que leva a resultados de recuperação superiores aos esperados (Schenck et al., 2000; Hajslová et al., 1998).

No preparo de uma solução padrão, os pesticidas são diluídos em solvente e, durante a injeção estes sofrem uma interação com o bloco de injeção adsorvendo-se nos sítios ativos; já quando injeta-se uma amostra que contenha os pesticidas componentes da matriz, bloqueiam os sítios ativos do sistema fazendo com que o pesticida passe diretamente para coluna e detector, levando a resultados superiores aos esperados.

Johnson e colaboradores estudando 26 pesticidas diferentes encontraram resultados de recuperação elevados em amostras de vegetais, para o demeton, parationa metílico, parationa etílico e cianazina; eles corrigiram este problema através do uso de solução padrão feita no extrato da matriz.

O efeito matriz está relacionado a quatro fatores distintos: natureza do pesticida, natureza da matriz, interação pesticida-matriz e sistema cromatográfico. A literatura (Schenck et al., 2000; Johnson et al., 1997; Cabras et al., 1997) mostra alguns caminhos para minimizar este efeito:

- uso de padrão preparado no extrato da amostra testemunha,
- uso da adição de padrão,
- purificação da amostra,
- uso de padrão radiomarcado,
- injeção on-colon,
- preenchimento dos sítios ativos do sistema,
- compensação do cálculo através de um fator que corrija o efeito matriz.

O uso de solução padrão feita no extrato da amostra testemunha parece ser o método mais comumente aceito (Johnson et al., 1997; Cabras et al., 1997; Rizos et al., 2001; Jimenez et al., 1998).

A purificação da amostra também é um dos procedimentos utilizados (Schenck et al., 2000); porém, Jimenez e colaboradores analisando mel após purificação em coluna de florisil observaram o efeito matriz e relataram que este ocorre mais significativamente em concentrações inferiores. Eles fortificaram amostras em níveis variando de 0,025 a 2,5 mg/kg e chegaram em recuperações perto de 100% no nível mais alto e em alguns casos acima de 1000% no nível de 0,025 mg/kg. Eles tentaram corrigir o problema de duas formas: fazendo a solução padrão no solvente: extrato da amostra 1:1 e no extrato puro da amostra; o fosfalona, parationa, malationa e forato só obtiveram resultados aceitáveis de recuperação quando a solução padrão foi preparada no extrato puro da matriz.

A utilização de métodos de purificação torna a análise mais cara, leva a um consumo maior de solventes, gera uma maior quantidade de resíduos tóxicos e aumenta os passos da análise.

Estudar o efeito matriz é uma tarefa difícil já que muitos fatores estão envolvidos, a análise cromatográfica não é estática já que matrizes diferentes são injetadas no cromatógrafo. O sistema cromatográfico muda conforme componentes da matriz são depositados no *liner* do injetor e na entrada da coluna. A constituição do *liner* pode não ser exatamente a mesma dependendo do fabricante e até do lote; os pesticidas também são diferentes e a cada dia novos compostos são sintetizados.

Schenck e colaboradores (2000) ao estudarem o efeito matriz em compostos organofosforados relataram que os pesticidas com ligação P=O tem uma maior tendência a apresentar o efeito matriz do que aqueles que não possuem. Os compostos com 2 ligações C=O também apresentaram uma certa tendência a apresentarem o efeito matriz.

Em nosso trabalho das 5 compostos que apresentaram o efeito matriz 2 delas: o sulfato endosulfan e azoxistrobina apresentaram o efeito matriz no menor nível de concentração do pesticida e não apresentaram quando a quantidade adicionada foi maior.

Tabela XI : Recuperação do sulfato endosulfam e azoxistrobina em 6 amostras de manga comparando-se com o padrão preparado em hexano

Pesticida	Quantidade Adicionada (mg/kg)	A %Recuperada	B %Recuperada	C %Recuperada	D %Recuperada	E %Recuperada	F %Recuperada
Sulfato endosulfam	0,05	100	140	120	100	120	120
azoxistrobina	0,40	120	143	140	133	140	*

A,B,C,D,E,F: amostras fortificadas com a solução padrão

* amostra não analisada

Tabela XII : Recuperação do sulfato endosulfam e azoxistrobina em 6 amostras de manga comparando-se com o padrão preparado no extrato da amostra testemunha

Pesticida	Quantidade Adicionada (mg/kg)	A %Recuperada	B %Recuperada	C %Recuperada	D %Recuperada	E %Recuperada	F %Recuperada
sulfato endosulfam	0,05	80	100	100	80	100	100
sulfato endosulfam	0,50	90	82	88	82	82	92
axoxistrobina	0,40	93	110	110	103	108	*
azoxoxistrobina	4,00	87	76	88	77	75	89

A,B,C,D,E,F: amostras fortificadas com a solução padrão

* amostra não analisada

Os outros 3 compostos: difenoconazol, procloraz e fosmete apresentaram problemas devido ao efeito matriz nos dois níveis de fortificação.

A tabela XIII mostra os resultados de recuperação quando a solução padrão de Difenoconazol e Procloraz foram preparadas em hexano.

Tabela XIII : Recuperação do difenoconazol , procloraz e fosmete em 6 amostras de manga comparando-se com o padrão preparado em hexano

Pesticida	Quantidade Adicionada (mg/kg)	A %Recuperada	B %Recuperada	C %Recuperada	D %Recuperada	E %Recuperada	F %Recuperada
difenoconazol	0,20	150	146	162	162	138	160
difenoconazol	2,00	140	145	152	140	149	155
procloraz	0,20	131	123	138	146	123	155
procloraz	2,00	150	142	144	140	140	142
fosmete	0,05	149	157	127	149	133	152
fosmete	0,50	122	129	136	106	149	157

A,B,C,D,E,F: amostras fortificadas com a solução padrão

A tabela XIV mostra os resultados de recuperação quando o padrão foi preparado no extrato da amostra testemunha resuspendido em hexano em dois níveis diferentes

Tabela XIV: Recuperação do difenoconazol , procloraz e fosmete em 6 amostras de manga comparando-se com o padrão preparado no extrato da amostra testemunha

Pesticida	Quantidade Adicionada (mg/kg)	A %Recuperada	B %Recuperada	C %Recuperada	D %Recuperada	E %Recuperada	F %Recuperada
difenoconazol	0,20	90	85	95	97	107	92
difenoconazol	2,0	81	94	95	92	95	96
procloraz	0,20	87	84	77	83	92	79
procloraz	2,0	96	103	108	94	99	109
fosmete	0,05	108	91	93	101	92	102
fosmete	0,50	85	90	95	74	77	79

A,B,C,D,E,F: amostras fortificadas com a solução padrão

A figura 2 mostra o padrão de procloraz e difenoconazol preparado em hexano, a figura 3 mostra o padrão de procloraz e difenoconazol preparado no extrato da amostra testemunha e a figura 4 mostra a recuperação do procloraz a 1,0 mg/kg e Difenoconazol 2,0 mg/kg .

Figura 2: Padrão procloraz (Área = 87,24) e difenoconazol (Área = 152,94) 75 pg/uL em hexano

Figura 3: Padrão procloraz (Área = 147,24) e difenoconazol (Área = 221,49) 75 pg/uL pg/uL no extrato da matriz

Figura 4: Recuperação: Amostra fortificada com procloraz 1,0 mg/kg e difenoconazol 2,0 mg/kg que corresponde ao padrão de procloraz e difenoconazol 75 pg/uL

Como vemos nas figuras 2,3 e 4, o procloraz e o difenoconazol apresentam uma área maior quando o padrão é feito no extrato da amostra testemunha; utilizando-se o padrão preparado em hexano encontra-se recuperações acima dos níveis aceitáveis.

10-RESULTADOS

10.1 Linearidade

A linearidade de todos os pesticidas estudados foi obtida através das curvas analíticas onde o coeficiente de correlação quadrado foi igual ou superior a 0,99 estando de acordo com as especificações do EPA (1996).

As curvas analíticas foram preparadas em 6 concentrações com a injetando-se 5 vezes cada ponto. A faixa variou de 0,5 até 10 vezes o menor valor adicionado na fortificação.

Curva Analítica dos Pesticidas Estudados

Figura 5 – Curva Analítica Propanil

Figura 6 – Curva Analítica Alacloro

Figura 7 – Curva Analítica Dicofol

Figura 8 – Curva Analítica Aletrina

Figura 9 – Curva Analítica Procimidona

Figura 10 – Curva Analítica Alfa Endosulfam

Figura 11 – Curva Analítica Beta Endosulfam

Figura 12 – Curva Analítica Sulfato Endosulfam

Figura 13 – Curva Analítica Bifentrina

Figura 14 – Curva Analítica Fempropatrina

Figura 15 – Curva Analítica Tetradifona

Figura 16 – Curva Analítica Procloraz

Figura 17 – Curva Analítica Difenoconazol

Figura 18 – Curva Analítica Azoxistrobina

Figura 19 – Curva Analítica Diclorovós

Figura 20 – Curva Analítica Forato

Figura 21 – Curva Analítica Diazinon

Figura 22 – Curva Analítica Clórpifos

Figura 23 – Curva Analítica Malationa

Figura 24 – Curva Analítica Fentiona

Figura 25 – Curva Analítica Fentoato

Figura 26 – Curva Analítica Etiona

Figura 27 – Curva Analítica Fosmete

10.2 Especificidade

A especificidade do método foi obtida através da análise do branco dos reagentes e da amostra testemunha para verificar se possíveis interferentes não estariam presentes na amostra. As figuras 28, 29 e 30 mostram os cromatogramas do branco dos reagentes, da amostra testemunha e dos padrões analisados no ECD, respectivamente. As figuras 31, 32 e 33 mostram os cromatogramas do branco dos reagentes, da amostra testemunha e dos padrões analisados no FPD, respectivamente.

Figura 28: Cromatograma do branco dos reagentes analisado por cromatografia a gás com detector de captura de elétrons

Figura 29: Cromatograma da amostra testemunha analisada por cromatografia a gás com detector de captura de elétrons

Figura 30: Cromatograma ds pesticidas organoclorados, piretróides e azoxistrobina analisados por cromatografia a gás com detector de captura de elétrons

Condições Cromatográficas:

Injetor: 250°C modo de injeção *splitless* volume de injeção 2 µL

Detector: 320°C

Forno: 60°C por 1 minuto, 10°C por minuto até 220°C (mantém por 6 minutos), 3°C por minuto até 280°C (manteém por 17 minutos).

Coluna: HP 5 30 metros de comprimento,, diâmetro interno de 0,32 mm, 0,25 µm de espessura de filme

Gás de arraste: nitrogênio

Figura 31

Figura 32

Figura 31 : Cromatograma do branco dos reagentes analisado por cromatografia a gás com detector fotométrico de chama.

Figura 32 : Cromatograma da amostra testemunha analisada por cromatografia a gás com detector fotométrico de chama.

Figura 33: Cromatograma dos pesticidas organofosforados analisados por cromatografia a gás com detector fotométrico de chama.

Condições Cromatográficas:

Injetor: 240°C modo de injeção *splitless*, volume de injeção 2 µL

Detector: 300°C

Forno: 90°C , 30°C por minuto até 190°C (mantém por 5 minutos), 5°C por minuto até 300°C (mantém por 10 minutos).

Coluna: HP 5 30 metros de comprimento, diâmetro interno de 0,53 mm, 2,65µm de espessura de filme

Gás de arraste: nitrogênio

Fluxo do gás de arraste: 18 mL/minuto

Fluxo do hidrogênio: 75 mL/minuto

Fluxo do ar sintético: 100 mL/minuto

10.3 Estudos de Recuperação

A exatidão do método foi testada através da fortificação de 6 amostras testemunha em dois níveis diferentes totalizando 10 análises de recuperação para cada princípio ativo. As recuperações variaram de 70-120% e o coeficiente de variação não ultrapassou os 20%, o que satisfaz as exigências do EPA (1996) para análise de resíduos de pesticidas.

Tabela XV: Recuperação Média das fortificações com propanil, desvio padrão e coeficiente de variação.

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,050	0,060	120	118	2	2
0,050	0,059	118			
0,050	0,060	120			
0,050	0,058	116			
0,050	0,058	116			
0,050	0,060	120			
0,10	0,11	110	117	5	4
0,10	0,11	110			
0,10	0,12	120			
0,10	0,12	120			
0,10	0,12	120			
0,10	0,12	120			

Tabela XVI: Recuperação Média das fortificações com Alacloro, desvio padrão e coeficiente de variação

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,010	0,0084	84	104	13	13
0,010	0,010	100			
0,010	0,0097	97			
0,010	0,011	110			
0,010	0,011	110			
0,010	0,012	120			
0,10	0,095	95	95	3	3
0,10	0,095	95			
0,10	0,094	94			
0,10	0,097	97			
0,10	0,090	90			
0,10	0,098	98			

Tabela XVII: Recuperação Média das fortificações com dicofol, desvio padrão e coeficiente de variação.

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,050	0,042	84	82	9	11
0,050	0,039	78			
0,050	0,049	98			
0,050	0,037	74			
0,050	0,040	80			
0,050	0,038	76			
0,10	0,071	71	74	6	8
0,10	0,070	70			
0,10	0,085	85			
0,10	0,072	72			
0,10	0,073	73			
-	-	-			

Tabela XVIII: Recuperação Média das fortificações com aletrina, desvio padrão e coeficiente de variação

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,050	0,050	100	102	9	9
0,050	0,060	120			
0,050	0,046	92			
0,050	0,050	100			
0,050	0,051	102			
0,050	0,050	100			

Tabela XIX: Recuperação Média das fortificações com procimidona, desvio padrão e coeficiente de variação.

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,010	0,0078	78	89	8	9
0,010	0,0086	86			
0,010	0,0086	86			
0,010	0,0097	97			
0,010	0,0087	87			
0,010	0,010	100			
0,10	0,85	85	89	7	8
0,10	0,87	87			
0,10	0,80	80			
0,10	0,88	88			
0,10	0,92	92			
0,10	0,10	100			

Tabela XX: Recuperação Média das fortificações com alfa endosulfam, desvio padrão e coeficiente de variação.

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,010	0,010	100	97	5	5
0,010	0,010	100			
0,010	0,010	100			
0,010	0,0090	90			
0,010	0,010	100			
0,010	0,0090	90			
0,10	0,094	94	96	3	3
0,10	0,094	94			
0,10	0,093	93			
0,10	0,096	96			
0,10	0,10	100			
0,10	0,097	97			

Tabela XXI: Recuperação Média das fortificações com beta endosulfam, desvio padrão e coeficiente de variação

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,010	0,0095	95	103	10	10
0,010	0,0099	99			
0,010	0,0095	95			
0,010	0,011	110			
0,010	0,010	100			
0,010	0,012	120			
0,10	0,12	120	103	16	15
0,10	0,088	88			
0,10	0,12	120			
0,10	0,099	99			
0,10	0,089	89			

Tabela XXII: Recuperação Média das fortificações com sulfato endosulfam, desvio padrão e coeficiente de variação

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,050	0,040	80	96	9	9
0,050	0,050	100			
0,050	0,050	100			
0,050	0,050	100			
0,050	0,050	100			
0,50	0,45	90	86	5	6
0,50	0,41	82			
0,50	0,44	88			
0,50	0,41	82			
0,50	0,41	82			
0,50	0,46	92			

Tabela XXIII: Recuperação Média das fortificações com bifentrina, desvio padrão e coeficiente de variação

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,050	0,059	118	108	8	7
0,050	0,052	104			
0,050	0,051	102			
0,050	0,057	114			
0,050	0,050	100			
-	-				
0,10	0,084	84	86	14	16
0,10	0,082	82			
0,10	0,076	76			
0,10	0,11	110			
0,10	0,077	77			
-	-				

Tabela XXIV: Recuperação Média das fortificações com fempropatrina, desvio padrão e coeficiente de variação

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,10	0,090	90	92	4	4
0,10	0,10	100			
0,10	0,090	90			
0,10	0,090	90			
0,10	0,090	90			
1,00	0,81	81	77	3	4
1,00	0,74	74			
1,00	0,77	77			
1,00	0,75	75			
1,00	0,73	73			
1,00	0,81	81			

Tabela XXV: Recuperação Média das fortificações com tetradifona, desvio padrão e coeficiente de variação.

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,010	0,0074	74	91	13	14
0,010	0,0089	89			
0,010	0,0084	84			
0,010	0,010	100			
0,010	0,0090	90			
0,010	0,011	110	97	2	2
0,10	0,094	94			
0,10	0,096	96			
0,10	0,096	96			
0,10	0,099	99			
0,10	0,10	100			
0,10	0,098	98			

Tabela XXVI: Recuperação Média das fortificações com procloraz, desvio padrão e coeficiente de variação

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,20	0,17	85	83	5	6
0,20	0,17	85			
0,20	0,15	75			
0,20	0,17	85			
0,20	0,18	90			
0,20	0,16	80			
1,00	0,96	96	102	6	6
1,00	1,04	104			
1,00	1,08	108			
1,00	0,93	94			
1,00	0,99	99			
1,00	1,09	109			

Tabela XXVII: Recuperação Média das fortificações com difenoconazol, desvio padrão e coeficiente de variação

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,20	0,18	90	95	8	8
0,20	0,17	85			
0,20	0,19	95			
0,20	0,20	98			
0,20	0,22	108			
0,20	0,19	93			
2,00	1,62	81	92	6	7
2,00	1,88	94			
2,00	1,89	95			
2,00	1,85	93			
2,00	1,89	95			
2,00	1,92	96			

Tabela XXVIII: Recuperação Média das fortificações com azoxistrobina, desvio padrão e coeficiente de variação

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,40	0,37	93	105	7	7
0,40	0,44	110			
0,40	0,44	110			
0,40	0,41	103			
0,40	0,43	108			
4,00	3,47	87	82	7	9
4,00	3,03	76			
4,00	3,53	88			
4,00	3,06	77			
4,00	2,99	75			
4,00	3,56	89			

Tabela XXIX: Recuperação Média das fortificações com diclorvós, desvio padrão e coeficiente de variação

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,052	0,045	87	96	7	7
0,052	0,049	94			
0,052	0,055	106			
0,052	0,050	96			
0,052	0,052	100			
0,052	0,048	92			
0,52	0,39	75	83	5	6
0,52	0,44	85			
0,52	0,45	87			
0,52	0,43	83			
0,52	0,41	79			
0,52	0,45	87			

Tabela XXX: Recuperação Média das fortificações com forato, desvio padrão e coeficiente de variação

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,050	0,042	84	88	6	7
0,050	0,041	82			
0,050	0,042	83			
0,050	0,045	90			
0,050	0,049	98			
0,050	0,044	88			
0,50	0,43	86	89	9	10
0,50	0,47	94			
0,50	0,48	96			
0,50	0,46	92			
0,50	0,36	72			
0,50	0,48	96			

Tabela XXXI: Recuperação Média das fortificações com diazinom, desvio padrão e coeficiente de variação.

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,045	0,047	104	101	7	7
0,045	0,049	109			
0,045	0,046	102			
0,045	0,046	102			
0,045	0,041	91			
0,045	0,045	100			
0,46	0,43	93	94	11	12
0,46	0,45	98			
0,46	0,41	89			
0,46	0,46	100			
0,46	0,35	76			
0,46	0,50	109			

Tabela XXXII: Recuperação Média das fortificações com clorpirifós, desvio padrão e coeficiente de variação.

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,050	0,047	94	90	9	11
0,050	0,049	98			
0,050	0,038	76			
0,050	0,046	92			
0,050	0,049	98			
0,050	0,040	80			
0,50	0,43	86	85	9	11
0,50	0,46	92			
0,50	0,45	90			
0,50	0,46	92			
0,50	0,35	70			
0,50	0,40	80			

Tabela XXXIII: Recuperação Média das fortificações com malationa, desvio padrão e coeficiente de variação.

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,052	0,043	83	80	8	10
0,052	0,037	71			
0,052	0,037	71			
0,052	0,047	90			
0,052	0,043	83			
0,51	0,46	90	93	7	8
0,51	0,50	98			
0,51	0,51	100			
0,51	0,49	96			
0,51	0,42	82			
0,51	0,48	94			

Tabela XXXIV: Recuperação Média das fortificações com fentiona, desvio padrão e coeficiente de variação

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,050	0,043	86	82	7	9
0,050	0,046	92			
0,050	0,040	80			
0,050	0,041	82			
0,050	0,036	72			
0,50	0,44	88	92	5	5
0,50	0,48	96			
0,50	0,49	98			
0,50	0,47	94			
0,50	0,43	86			

Tabela XXXV: Recuperação Média das fortificações com fentoato, desvio padrão e coeficiente de variação

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,050	0,055	110	102	7	7
0,050	0,054	108			
0,050	0,046	92			
0,050	0,051	102			
0,050	0,052	104			
0,050	0,047	94			
0,50	0,45	90	95	5	5
0,50	0,49	98			
0,50	0,51	102			
0,50	0,47	94			
0,50	0,44	88			
0,50	0,48	96			

Tabela XXXVI: Recuperação Média das fortificações com etiona, desvio padrão e coeficiente de variação.

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,050	0,048	96	92	6	7
0,050	0,048	96			
0,050	0,046	92			
0,050	0,040	80			
0,050	0,046	92			
0,050	0,048	96			
0,50	0,45	90	87	9	10
0,50	0,47	94			
0,50	0,47	94			
0,50	0,46	92			
0,50	0,35	70			
0,50	0,41	82			

Tabela XXXVII: Recuperação Média das fortificações com fosmete, desvio padrão e coeficiente de variação.

Nível de Fortificação mg/kg	Valor encontrado mg/kg	Recuperação %	Recuperação Média %	Desvio Padrão	CV
0,050	0,054	108	98	7	7
0,050	0,046	92			
0,050	0,047	94			
0,050	0,051	102			
0,050	0,046	92			
0,050	0,051	102			
0,50	0,43	86	84	9	11
0,50	0,45	90			
0,50	0,48	96			
0,50	0,31	72			
0,50	0,39	78			
0,50	0,40	80			

10.4 Repetibilidade

As variáveis envolvidas na determinação de resíduos de pesticidas são muitas. O nível determinado nas injeções é da ordem de picograma ou nanograma/ μ L. Desta forma a repetibilidade na análise de resíduos de pesticidas nem sempre é igual à técnicas que determinam concentrações mais altas.

Para avaliar a repetibilidade das áreas do picos dos pesticidas uma amostra foi fortificada com propanil 0,05 mg/kg, alacloro 0,01 mg/kg, dicofol 0,05 mg/kg, aletrina 0,05 mg/kg, procimidona 0,01 mg/kg, alfa endosulfam 0,01 mg/kg, beta endosulfam 0,01 mg/kg, , sulfato endosulfam 0,05 mg/kg, bifentrina 0,05 mg/kg, fempropatrina 0,10 mg/kg, tetradifona 0,01 mg/kg, procloraz 0,20 mg/kg, difenoconazol 0,20 mg/kg, azoxistrobina 0,40 mg/kg, diclorvos 0,052 mg/kg, forato 0,05 mg/kg, diazinom 0,045 mg/kg, clorpirifós 0,05 mg/kg, malationa 0,052 mg/kg, fentiona 0,05 mg/kg, fentoato 0,05 mg/kg, etiona 0,05 mg/kg e fosmete 0,05 mg/kg foi injetada 10 vezes nos dia 15, 16 e 18 de fevereiro de 2003 (pesticidas analisados pelo detector de captura de elétrons) e 17, 18 e 19 de fevereiro (pesticidas analisados pelo detector fotométrico de chama).

O documento SANCO 825/00 da European Comission (*Guidance document on residual analytical methods, 2000*) e o CODEX ALIMENTARIUS (2000) diz que a repetibilidade deve ser expressa através do coeficiente de variação que deve ser menor ou igual a 20. Todos os princípios ativos analisados satisfizeram esta condição.

Tabela XXXVIII: Repetibilidade do sinal de propanil em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia 15/02/2003	Recuperação dia 16/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003
1	103	95	94
2	101	96	96
3	97	104	100
4	105	95	103
5	98	108	103
6	92	99	94
7	101	98	105
8	103	98	99
9	103	100	105
10	96	98	101
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 2,9	99 ± 2,9	100 ± 3,0
Coeficiente de variação	4,0	4,1	4,2

Tabela XXXIX: Repetibilidade do sinal de alacloro em amostra de manga fortificada com 0,01 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia 15/02/2003	Recuperação dia 16/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003
1	100	96	95
2	103	97	101
3	99	95	104
4	102	96	108
5	98	105	101
6	97	97	98
7	102	104	96
8	101	104	104
9	104	101	98
10	94	105	96
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 2,2	100 ± 3,0	100 ± 3,0
Coeficiente de variação	3,1	4,2	4,3

Tabela XL: Repetibilidade do sinal de dicofol em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia 15/02/2003	Recuperação dia 16/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003
1	107	88	99
2	108	95	102
3	97	87	104
4	98	86	107
5	96	105	102
6	92	92	91
7	106	99	103
8	96	98	98
9	104	100	99
10	97	96	94
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 4,0	95 ± 4,5	100 ± 3,4
Coeficiente de variação	5,6	6,6	4,8

Tabela XLI : Repetibilidade do sinal de aletrina em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia15/02/2003	Recuperação dia16/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003
1	97	100	95
2	99	97	98
3	98	97	100
4	99	100	103
5	100	103	103
6	98	99	99
7	99	101	99
8	101	102	102
9	103	104	100
10	105	97	101
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 1,8	100 ± 1,8	100 ± 1,8
Coeficiente de variação	2,5	2,6	2,4

Tabela XLII: Repetibilidade do sinal de procimidona em amostra de manga fortificada com 0,01 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia15/02/2003	Recuperação dia16/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003
1	93	87	101
2	96	93	82
3	108	111	95
4	93	93	92
5	109	123	92
6	95	90	95
7	105	102	93
8	98	108	130
9	96	99	114
10	107	93	105
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 4,6	100 ± 8,0	100 ± 9,7
Coeficiente de variação	6,5	11,2	13,6

Tabela XLIII: Repetibilidade do sinal de alfa endosulfam em amostra de manga fortificada com 0,01 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia 15/02/2003	Recuperação dia 16/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003
1	97	104	94
2	99	101	96
3	99	91	100
4	99	97	105
5	100	102	101
6	104	95	99
7	101	99	98
8	103	110	100
9	103	99	107
10	98	104	101
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 0,6	100 ± 3,8	100 ± 2,7
Coeficiente de variação	2,4	5,3	3,8

Tabela XLIV: Repetibilidade do sinal de beta endosulfam em amostra de manga fortificada com 0,01 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia 15/02/2003	Recuperação dia 16/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003
1	93	95	96
2	99	97	94
3	99	95	98
4	96	98	99
5	114	118	99
6	100	92	98
7	107	102	102
8	99	103	107
9	97	107	107
10	97	93	101
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 4,36	100 ± 5,6	100 ± 3,1
Coeficiente de variação	6,1	7,9	4,3

Tabela XLV: Repetibilidade do sinal de sulfato endosulfam em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia 15/02/2003	Recuperação dia 16/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003
1	91	124	92
2	95	88	97
3	106	92	98
4	109	103	97
5	112	127	94
6	97	84	98
7	98	93	118
8	86	90	108
9	112	99	101
10	94	99	96
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 6,6	100 ± 10,5	100 ± 5,5
Coeficiente de variação	9,2	14,7	7,7

Tabela XLVI: Repetibilidade do sinal de bifentrina em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia 15/02/2003	Recuperação dia 16/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003
1	94	99	93
2	99	98	99
3	98	95	100
4	101	95	105
5	100	106	102
6	100	100	100
7	103	105	97
8	104	104	102
9	104	101	101
10	98	97	101
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 2,26	100 ± 2,86	100 ± 2,36
Coeficiente de variação	3,1	4,0	3,2

Tabela XLVII: Repetibilidade do sinal de fempropatrina em amostra de manga fortificada com 0,10 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia 15/02/2003	Recuperação dia 16/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003
1	95	98	100
2	97	93	95
3	99	92	98
4	100	108	100
5	99	102	104
6	101	96	102
7	102	101	100
8	102	101	99
9	105	117	102
10	99	104	100
Intervalo de confiança	100 ± 2,0	101 ± 5,3	100 ± 1,8
Coeficiente de variação	2,8	7,3	2,4

Tabela XLVIII: Repetibilidade do sinal de tetradifona em amostra de manga fortificada com 0,01 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia 15/02/2003	Recuperação 16/02/2003	Recuperação dia 20/02/2003
1	103	85	104
2	105	96	93
3	105	96	94
4	103	113	104
5	106	108	107
6	98	96	113
7	94	111	71
8	91	94	103
9	97	105	98
10	97	96	115
Intervalo de confiança	100 ± 3,7	100 ± 6,3	100 ± 8,6
Coeficiente de variação	5,2	8,8	12,5

Tabela XLIX: Repetibilidade do sinal de procloraz em amostra de manga fortificada com 0,20 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia 15/02/2003	Recuperação dia 16/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003
1	93	97	99
2	100	95	87
3	96	96	94
4	106	96	99
5	97	116	108
6	93	94	102
7	108	103	96
8	108	106	105
9	98	97	105
10	101	100	105
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 4,1	100 ± 4,8	100 ± 4,6
Coeficiente de variação	5,7	6,8	6,4

Tabela L : Repetibilidade do sinal de difenoconazol em amostra de manga fortificada com 0,20 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia 15/02/2003	Recuperação dia 16/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003
1	94	102	103
2	98	102	86
3	94	104	91
4	103	93	94
5	96	115	105
6	93	94	104
7	107	97	95
8	104	95	112
9	107	100	105
10	104	99	108
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 4,0	100 ± 4,6	100 ± 5,9
Coeficiente de variação	5,6	6,4	8,3

Tabela LI : Repetibilidade do sinal de azoxistrobina em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia15/02/2003	Recuperação dia16/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003
1	95	102	103
2	99	101	88
3	97	105	92
4	104	95	96
5	97	113	100
6	95	94	103
7	107	98	95
8	104	93	113
9	107	101	103
10	96	98	106
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 3,5	100 ± 4,2	100 ± 5,2
Coefficiente de variação	4,9	5,9	7,3

Tabela LII: Repetibilidade do sinal de diclorvós em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia17/02/2003	Recuperação dia18/02/2003	Recuperação dia 19/02/2003
1	97	102	98
2	95	109	101
3	101	96	101
4	105	94	109
5	87	106	99
6	101	97	92
7	101	97	100
8	101	105	97
9	103	97	98
10	107	98	105
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 4,1	100 ± 3,6	100 ± 3,3
Coefficiente de variação	5,7	5,0	4,6

Tabela LIII: Repetibilidade do sinal de forato em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia 17/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003	Recuperação dia 19/02/2003
1	100	105	106
2	98	104	105
3	92	103	104
4	98	98	98
5	98	97	88
6	100	96	101
7	103	96	100
8	102	98	98
9	106	100	97
10	102	104	103
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 2,7	100 ± 2,6	100 ± 3,8
Coeficiente de variação	3,8	3,6	5,2

Tabela LIV : Repetibilidade do sinal de diazinom em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia 17/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003	Recuperação dia 19/02/2003
1	98	92	96
2	100	87	97
3	98	95	99
4	98	103	98
5	97	108	104
6	98	105	101
7	102	103	103
8	101	103	102
9	103	103	98
10	106	107	101
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 2,1	101 ± 4,9	100 ± 1,9
Coeficiente de variação	2,9	6,9	2,7

Tabela LV: Repetibilidade do sinal de clorpirifós em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia 17/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003	Recuperação dia 19/02/2003
1	76	91	109
2	98	113	108
3	109	95	103
4	124	91	87
5	96	92	93
6	102	92	95
7	102	103	103
8	99	105	109
9	84	108	86
10	109	109	106
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 9,5	100 ± 6,1	100 ± 6,4
Coeficiente de variação	13,3	8,6	8,9

Tabela LVI: Repetibilidade do sinal de malationa em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia 17/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003	Recuperação dia 19/02/2003
1	107	91	100
2	100	97	103
3	100	98	99
4	96	101	105
5	97	96	94
6	97	102	97
7	97	105	99
8	101	99	98
9	103	104	99
10	102	106	106
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 2,5	100 ± 3,3	100 ± 2,6
Coeficiente de variação	3,4	4,6	3,7

Tabela LVII: Repetibilidade do sinal de fentiona em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia 17/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003	Recuperação dia 19/02/2003
1	101	97	96
2	103	99	102
3	102	95	104
4	97	99	96
5	98	104	104
6	95	104	102
7	99	102	99
8	102	97	98
9	103	104	99
10	100	100	99
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 1,9	100 ± 2,3	100 ± 2,1
Coeficiente de variação	2,7	3,3	3,0

Tabela LVIII: Repetibilidade do sinal de fentoato em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia 17/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003	Recuperação dia 19/02/2003
1	108	87	105
2	102	95	101
3	83	106	99
4	101	103	99
5	92	100	99
6	113	100	97
7	107	98	102
8	76	100	106
9	106	106	95
10	111	105	97
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 8,8	100 ± 4,2	100 ± 2,5
Coeficiente de variação	12,4	5,8	3,5

Tabela LIX: Repetibilidade do sinal de etiona em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia 17/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003	Recuperação dia 19/02/2003
1	102	100	97
2	99	99	98
3	90	98	104
4	98	100	99
5	100	100	102
6	99	97	97
7	101	98	93
8	100	101	103
9	102	104	103
10	110	102	103
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 3,5	100 ± 1,5	100 ± 2,6
Coeficiente de variação	4,9	2,1	3,6

Tabela LX: Repetibilidade do sinal de fosmete em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.

Injeção n°	Recuperação dia 17/02/2003	Recuperação dia 18/02/2003	Recuperação dia 19/02/2003
1	106	103	94
2	99	100	101
3	98	102	100
4	102	107	101
5	102	97	103
6	96	98	106
7	91	105	96
8	88	104	96
9	110	96	101
10	103	96	101
<hr/>			
Intervalo de confiança	100 ± 4,7	101 ± 2,8	100 ± 2,6
Coeficiente de variação	6,7	3,9	3,6

10.5 Limite de Detecção e Limite de Quantificação

Em análise de resíduos de pesticidas o LQ pode ser estimado em função do Limite máximo de resíduos permitidos pela Legislação, por esta razão quando se valida uma metodologia é necessário conhecer estes valores.

O documento SANCO 825/00 da *European Commission* (*Guidance document on residue analytical methods*) diz que o LD e LQ podem ser determinados a partir dos estudos de recuperação do LQ proposto.

Neste trabalho foi utilizado o Limite de detecção e Limite de quantificação calculado a partir dos resultados de recuperação do menor nível adicionado.

Exemplo: Propanil LOQ proposto = 0,05 mg/kg

Recuperações:

Identificação	Adicionado mg/kg	Recuperado mg/kg
Fortificação 1	0,050	0,060
Fortificação 2	0,050	0,059
Fortificação 3	0,050	0,060
Fortificação 4	0,050	0,058
Fortificação 5	0,050	0,058
Fortificação 6	0,050	0,060
média =		0,059
desvio padrão =		0,001
LQ = $10 \times S$ = 0,01		mg/kg
LD = $3 \times S$ = 0,003		mg/kg

Caso o LQ estatístico seja superior ao LOQ proposto novos ensaios de recuperação deverão ser efetuados.

Os valores de LD e LQ encontrados se encontram na tabela LXI.

Tabela LXI: Limite de Detecção e Limite de Quantificação dos Pesticidas

Princípio Ativo	Detecção	Limite de Detecção LD mg/kg	Limite de Quantificação LQ mg/kg
Propanil	ECD	0,003	0,01
Alacloro	ECD	0,003	0,01
Dicofol	ECD	0,01	0,04
Aletrina	ECD	0,01	0,05
Procimidona	ECD	0,002	0,01
Alfa Endosulfam	ECD	0,002	0,005
Beta Endosulfam	ECD	0,003	0,01
Sulfato Endosulfam	ECD	0,01	0,04
Bifentrina	ECD	0,01	0,04
Fempropatrina	ECD	0,01	0,04
Tetradifona	ECD	0,003	0,009
Procloraz	ECD	0,03	0,10
Difenoconazol	ECD	0,05	0,17
Axoxistrobina	ECD	0,09	0,29
Diclorvós	FPD	0,01	0,03
Forato	FPD	0,009	0,03
Diazinon	FPD	0,008	0,03
Clorpirifós	FPD	0,01	0,05
Malationa	FPD	0,01	0,04
Fentiona	FPD	0,01	0,04
Fentoato	FPD	0,01	0,04
Etiona	FPD	0,009	0,03
Fosmete	FPD	0,01	0,03

10.6 RESULTADOS DAS AMOSTRAS DE MANGA COMPRADAS NO VAREJO DE SÃO PAULO

Foram compradas 37 amostras de manga no varejo de São Paulo, em uma destas uma foi encontrado o Procloraz na concentração de 0,20 mg/kg, em outras duas o Procloraz foi detectado, porém em níveis abaixo do Limite de quantificação; nenhum dos outros pesticidas analisados foram encontrados.

A figura 34 mostra o cromatograma da amostra onde foi encontrado o procloraz.

Figura 34: Amostra de manga comprada no varejo de São Paulo que apresentou o procloraz a 0,2 mg/kg.

11 DISCUSSÃO

- Efeito Matriz:

O fosmete foi o único organofosforado que apresentou problemas de efeito matriz, isto está de acordo com a literatura (Schenck et. al, 2000) que atribui o efeito ao fato do fosmete possuir 2 ligações P=O.

O sulfato endosulfam e a azoxistrobina só apresentaram problemas de efeito matriz no menor nível de recuperação (0,05 e 0,40 mg/kg respectivamente) nos níveis maiores os resultados de recuperação apresentaram-se dentro da faixa aceitável. A literatura (Jimenez et. al, 1998 e Hajslová et. al, 1998) mostra que, quanto menor a concentração do pesticida maior a probabilidade de ocorrer o efeito matriz. O procloraz e o difenoconazol apresentaram problemas de efeito matriz nos dois níveis de fortificação. O sulfato endosulfam, azoxistrobina, procloraz e difenoconazol foram analisados pelo detector de captura de elétrons.

A literatura sugere que os *liners* são os responsáveis pelos problemas de efeito matriz, porém o uso de *liners* sinalizados não minimizou nem ao menos na primeira injeção o problema, o que nos leva a pensar que maiores estudos são necessários para elucidação do efeito matriz.

- Validação

O uso de uma determinada metodologia analítica deve ser sempre precedida da verificação de sua aplicabilidade. A utilização de métodos validados, deve ser precedida por uma avaliação da conformidade ou validação desse método.

A validação é um processo contínuo e não deve ser feita apenas no início do trabalho. A performance da metodologia deve ser checada periodicamente dentro do laboratório.

Os estudos de recuperação realizados no presente trabalho , foram feitos a fim de se avaliar a recuperação do método empregado. Os resultados obtidos mostraram recuperação adequada às normas nacionais e internacionais.

O coeficiente de variação da repetibilidade das injeções não ultrapassou os 20%. Em análise de resíduos de pesticidas as quantidades injetadas são da ordem de pg/uL, o que explica o fato do EPA e do CODEX Alimentarius aceitarem um coeficiente de variação neste valor. Quando trabalha-se com quantidades maiores, é mais fácil conseguir uma variação menor.

Os parâmetros de linearidade e especificidade foram checados e apresentaram-se aplicáveis ao estudo.

- Resíduos Permitidos em Manga

Dentre os princípios ativos estudados é permitido o uso do procloraz, difenoconazol e fentiona nos valores de 0,2; 0,2; e 0,05 mg/kg respectivamente, no cultivo da manga pela Legislação Brasileira. O CODEX Alimentarius permite dentre os pesticidas estudados apenas o procloraz na concentração de 2,0 mg/kg.

O procloraz é o resíduo de pesticida mais encontrado pelos países importadores da manga brasileira e por isso merece uma certa atenção.

O monitoramento de resíduos de pesticidas deve ser feito rotineiramente nas mais variadas matrizes. O ideal seria que todo alimento consumido fosse monitorado, porém esta é uma realidade que ainda está longe de ser atingida. O Estado de São Paulo possui apenas 2 laboratórios que fazem este tipo de trabalho o Instituto Biológico e o Instituto Adolfo Lutz que não tem capacidade para atender a todo o Estado.

12 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se estabelecer as seguintes conclusões:

O efeito matriz é uma característica que existe para determinados princípios ativos na matriz manga e precisa ser levado em consideração na análise de resíduos de pesticidas. Este efeito precisa ser melhor estudado para completo esclarecimento de sua existência.

As causas propostas para este fenômeno são os sítios ativos, principalmente do *liner* do injetor que contribuem para recuperações aparentemente mais altas que as esperadas. Durante o nosso trabalho procurou-se utilizar *liners* silanizados e os resultados não se alteraram já que, teoricamente, um *liner* silanizado não apresenta sítios ativos livres, o fenômeno não deveria ocorrer, principalmente nas primeiras injeções.

O efeito matriz foi contornado com o preparo das soluções padrões no extrato da amostra testemunha. Quando se trabalha com uma única amostra como no presente trabalho este fenômeno é facilmente contornado desta forma; já quando se trabalha em um laboratório que analisa as mais diversas matrizes, o uso de amostras testemunhas de cada cultura pode ser um procedimento laborioso e por isso tentar elucidar este problema ainda é um desafio.

A validação da metodologia é essencial na análise de resíduos de pesticidas, pois só a partir dela podemos verificar se os pesticidas apresentam problemas durante a análise.

Buscar novas metodologias que minimizem o uso de solventes ainda é uma tarefa importante, pois estes além de gerarem resíduos tóxicos encarecem a análise. Durante o trabalho o consumo de solvente foi de aproximadamente 100 mL por amostra (sem levar em consideração a lavagem dos materiais), apesar da quantidade ser bem menor do que métodos mais antigos que se utilizam de purificação em colunas de sílica ou florisil e o consumo neste caso pode chegar a 400 mL por amostra, ainda devemos buscar metodologias que

gerem menos resíduos tóxicos e também baratear a análise já que todos os solventes utilizados são de qualidade grau resíduo.

Das amostras de manga comercializadas em São Paulo apenas 1 amostra estava contaminada com o fungicida procloraz, porém em níveis permitidos pela Legislação Brasileira; nenhum dos outros princípios ativos estudados foram detectados, o que nos leva à conclusão que a manga apresenta-se em condições adequadas para o consumo.

É importante o controle de resíduos de pesticidas não só na manga como em qualquer alimento , pois o Brasil é um grande consumidor de pesticidas e algumas culturas apresentam-se mais susceptíveis ao ataque de agentes externos .

13 PROPOSTAS FUTURAS

- Analisar os carbamatos e benzimidazóis através da mesma extração, para assim gerar menos resíduos tóxicos.
- Aumentar o número de pesticidas analisados por cromatografia à gás para assim verificar a existência do efeito matriz para estes princípios ativos
- Validar o método em diferentes matrizes

14- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- AGROFIT disponível em URL: www.ministerioagricultura.gov.br
pesquisa feita em dezembro de 2001
- 2- AMARAL, C.M.; CARMO, H.C.E.; MAURY, P.M., **Estudos sobre o Mercado de Frutas**/coordenado por Eduardo Marcondes Filinto da Silva.São Paulo: FIPE, 1999. 373 p.
- 3- Analytical Methods for Pesticide Residues in Foodstuffs, 6 th Edition,
General Inspectore for Health Protection. Ministry of Public Health,
Welfare and Spot The Netherlands, 1996
- 4- ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária disponível em URL:
www.anvisa.gov.br, pesquisa feita em dezembro de 2001.
- 5- AZEVEDO, L.A.S. **Proteção Integrada de Plantas com Fungicidas: Teoria, Prática e Manejo**. Luís Antonio Siqueira de Azevedo,
São Paulo, 2001.230p.
- 6- BRASIL-Leis Decretos, etc. Lei 7802, de 11/07/1989. **Legislação Federal de Agrotóxicos e afins**, Brasília, Ministério da Agricultura,
Departamento de Defesa e Inspeção Vegetal, 1998.
- 7- BRASIL-Leis Decretos, etc. Portaria 3, de 16/01/1992. **Legislação Federal de Agrotóxicos e afins**, Brasília, Ministério da Agricultura,
Departamento de Defesa e Inspeção Vegetal, 1998.
- 8- BRASIL-Leis Decretos, etc. Portaria 160, de 31/12/1996. **Legislação Federal de Agrotóxicos e afins**, Brasília, Ministério da Agricultura,
Departamento de Defesa e Inspeção Vegetal, 1998.

- 9- BRASIL-Leis Decretos, etc. Resolução 44, de 10/05/2000. **Legislação Federal de Agrotóxicos e afins**, Brasília, Ministério da Agricultura, Departamento de Defesa e Inspeção Vegetal, 2000.
- 10- BARCELÓ D., LAWRENCE J.F., **Emerging Strategies for Pesticide Analysis**. CRC Press, United States of America, 1992. 589 p.
- 11- BARCELÓ D., HENNION M.C., **Trace Determination of Pesticides and their Degradation Products in water**. Elsevier, Amsterdam, 1997. 542 p.
- 12- CATI, disponível em URL: <http://www.cati.sp.gov.br/>, pesquisa feita em dezembro de 2002.
- 13- CABRAS, P.; ANGIONI, A.; MELIS, M.; MINELLI, E.; PIRISI, F.M., Simplified multiresidue method for the determination of organophosphorus insecticides in olive oil. **J. Chromatog A**. v.761, p. 327-331, 1997.
- 14- CHEN Z.M. ; WANG, Y.H., Chromatographic methods for the determination of pyrethrin and pyrethroid pesticide residues in crops, foods and environmental samples. **J. Chromatog A**. v.754 p. 367-395, 1996.
- 15- CODEX ALIMENTARIUS Pesticide Residues in Food – **Methods of analysis and sampling** volume 2 A Part 1, 2 ed., 2000. p.39-47
- 16- CONCEIÇÃO, M.A. ,**Resíduos de pesticidas em tomates: metodologia analítica e avaliação da exposição humana**. Brasília, 2002. Tese de Doutorado, Universidade de Brasília.

- 17-CoreseSabores, disponível em URL:
<http://www.coresesaborestropicais.com.br>, pesquisa feita em janeiro de 2003.
- 18- COSTA M.A. E OLIVEIRA, J.J.V. Níveis de Resíduos de Prochloraz em Maçãs. **Braz. J. Food Technol.** v. 5, p. 61-65, 2001.
- 19- EPA- Environmental Protection Agency. **Residue Chemistry Test Guidelines**. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances OPPTS 860.1340. Residue Analytical Method, Washington:EPA, 1996.12p.
- 20- ETO, M., **Organophosphorus Pesticides: Organic and Biological Chemistry**, CRC PRESS, Ohio, 1974. p.235-291
- 21- European Comission. Directorate General Health and Consumer Protection. **Guidance document on Residue Analytical Methods**:SANCO/825/00 rev.6 s.n.t.2000 16p.
- 22- European Comission. Gidelines for Residues Monitoring in the European Union. **Quality Control Procedures for Pesticide Residue Analysis**: SANCO/3103/2000 2 ed. s.n.t. 1999/2000. 30 p..
- 23- FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Guidelines for The Registration and Control of Pesticides**, Rome, 1985. 45p.
- 24- FONSECA, M. O. ,**Efeito de fungicidas e cera na conservação pós colheita de manga (Mangífera indica L.) “Haden”**. Viçosa, 1998. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa.

- 25- GELSOMINO, A.;PETROVICOVÁ, B.; TIBURTINI, S.; MAGNANI, E.; FELICI, M.. Multiresidue analysis of pesticides in fruits and vegetables by gel permeation chromatography followed by gas chromatography with electron-capture and mass spectrometric detection. **J. Chromatog A.** v. 782, p.105-122, 1997.
- 26- HAJŠLOVÁ,J.;HOLADOVÁ,K.;POUSTKA, J.;GODULA, M.;CUHRA P.,KEMPNY, M., Matrix-induced effects: a critical point in the gas chromatographic analysis of pesticide residues.**J. Chromatog A.** v. 800,p. 283-295, 1998.
- 27- HASSAL, K.A., **The chemistry of pesticides: their metabolism, mode of action and uses in crop protections**, McMillan,Ltd., New York, 1983
- 28- JIMÉNEZ, J.J.; BERNAL, J.L.; NOZAL,D.; TORIBIO,L.; MARTÍN, M.T.. Gas chromatography with electron-capture and nitrogen-phosphorus detection in the analysis of pesticides in honey after elution from florisil column Influence of the honey matrix on the quantitative results. **J. Chromatog A.** v. 823, p. 381-387, 1998.
- 29- JOHNSON, P.D.; RIMMER, D.A.; BROWN, R.H..Adaptation and application of a multi-residue method for the determination of a range of pesticides, including phenoxy acid herbicides en vegetation, ased on high-resolution gel permeation chromatographic clean up and gas chromatographic analysis with mass-selective detection. **J. Chromatog A.** v. 765, p. 3-11, 1997.
- 30- LEMES, V.R.R., INOMATA, O.N.K., BARRETO, H.H.C., Resíduos de Endosulfam em Tubérculos e Frutos. **Rev.Inst.Adolfo Lutz.** v. 53(1/2), p. 49-54, 1993.

- 31- LUCKE, M.^a; FROBERG, J.E.; MASUMOTO, H.T., Extration and Clean up of organochlorine, organophosphate, organoni and hidrocarbon pesticide produce for determination by gas-liquid chromatographic, **J.Assoc.Off. Anal. Chem.** v...,58, p. 1020-1039, 1975
- 32- MANLEY, J.D. **Prochloraz Residues**, Schering Report Residues R62 , Germany, 1989. 52p.
- 33- MATOLCSY,G., NÁDASY M., ANDRISKA V., **Pesticide Chemistry**, Elsevier, Amsterdã,1988. p.117-255
- 34- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, disponível em URL:
<http://www.ministerioagricultura.gov.br/>, pesquisa feita em março de 2001.
- 35- NIESSER G.; BUCHBERGER W.; BONN G.K. Rapid multiresidue screening method for the determination of pesticides in plant materials. **J. Chromatog A.** v. 737, p. 215-222 ,1996.
- 36- NISHIGUCHI, ILKA. **Estudo da degradação de resíduos de endosulfam em palha de café**. Botucatu,SP,1999.Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista.
- 37- NUNES, G.S. **Análise de inseticidas n-metilcarbamatos em amostras vegetais,empregando técnicas cromatográficas , imunoensaio elisa e biosensores amperométricos**. Araraquara, 1999. Tese de Doutorado.Universidade Estadual Paulista .
- 38- OLIVEIRA, J.J.V.; TOLEDO M.C.F.; Yotsuyanagi, K. Estudo da Degradação de Thiabendazole e Imazalil em Laranja Pêra Tratada em Pós Colheita . **Braz. J. Food Technol.** v..4, p. 33-41, 2001.

- 39- **Pesquisa de Orçamentos Familiares 1995-1996:Consumo Alimentar Domiciliar Per Capta** . v.2, IBGE. Rio de Janeiro, 1998.
- 40- RICHARDSON M., Pesticides-Friend or Foe?. **Wat.Sci.Tech.** v. 37 n.8, p.19-25, 1998.
- 41- RIZOS, C.L., AVRAMIDES, E.J., CHERASCO, F.. Low-temperature clean-up method for the determination of organophosphorus insecticides in olive oil. **J. Chromatog A.** v.912, p.135-142, 2001.
- 42- SCHENCK,F.; LEHOTAY, S.J. Does further clean-up reduce the matrix enhancement effect in gas chromatographic analysis of pesticide residues in food? . **J. Chromatog A.** v.868, p. 51-61, 2000.
- 43- SIMPLÍCIO A. L.; BOAS L.V.Validation of a solid microextraction method for the determination of organophosphorus pesticides in fruits and fruit juice.**J. Chromatog A** . v. 833, p. 35-42 ,1999.
- 44- SINDAG Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola disponível em URL: <http://www.sindag.com.br/>, pesquisa feita em janeiro de 2001.
- 45- SOLIMAN, K.M. Changes in concentration of pesticide residues in potatoes during washing and home preparation. **Food and Chemical Toxicology**, v. 39, p. 887-991, 2001.
- 46- The American Chemical Society. **Principles of Environmental Analysis. Committee on Environmental Improvement.** United States, 1983 10 p.

- 47- TORRES, C.M.; PICO Y.; MAÑES J.. Determination of pesticide residues in fruit and vegetables. **J. Chromatog A.** v. 754, p. 301-331,1996.
- 48- TOTAL DIET SURVEY NEW ZEALAND 1997/98, **Ministry of Health New Zealand**, Wellington, 2000.93p.
- 49- TERRA RURAL disponível em URL: [http:// www.terrarural.com.br](http://www.terrarural.com.br), pesquisa feita em 10 de janeiro de 2003.
- 50- WU, Y.S.; LEE, H.K; LI, S.F.Y.High-perfomance chiral separation of fourteen triazole fungicides by sulfated β -cyclodextrin-mediated capillary electrophoresis **J. Chromatog A.** v. 912, p. 171-179,2001.

LISTA DE TABELAS

Tabela I	Principais países exportadores de produtos agrícolas.....	2
Tabela II	Principais pragas que atacam a mangueira: sintomas e controle.....	12
Tabela III	Principais doenças que atacam a mangueira: sintomas e controle.....	15
Tabela IV	Formulações de Alacloro comercializadas no Brasil com classificação toxicológica e classificação ambiental.....	19
Tabela V	Defensivos Agrícolas em linha de comercialização no Brasil por classes toxicológicas.....	20
Tabela VI	Pesticidas Organoclorados, e classificação toxicológica.....	23
Tabela VII	Pesticidas Organoclorados, piretróides e estrobirulina: função, classe e fórmula estrutural.....	27
Tabela VIII	Pesticidas Organofosforados, e classificação toxicológica.....	29
Tabela IX	Pesticidas Organofosforados função, classe e fórmula estrutural.....	32
Tabela X	Diferentes metodologias empregadas em análises de multiresíduos.....	40
Tabela XI	Recuperação do sulfato endosulfam e azoxistrobina em 6 amostras de manga comparando-se com o padrão preparado em hexano.....	49
Tabela XII	Recuperação do sulfato endosulfam e azoxistrobina em 6 amostras de manga comparando-se com o padrão preparado no extrato da amostra testemunha.....	49
Tabela XIII	Recuperação do difenoconazol, procloraz e fosmete em 6 amostras de manga comparando-se com o padrão preparado em hexano.....	50
Tabela XIV	Recuperação do difenoconazol, procloraz e fosmete em 6 amostras de manga comparando-se com o padrão preparado no extrato da amostra testemunha.....	50
Tabela XV	Recuperação Média das fortificações com propanil, desvio padrão e coeficiente de variação.....	64
Tabela XVI	Recuperação Média das fortificações com Alacloro, desvio padrão e coeficiente de variação.....	64
Tabela XVII	Recuperação Média das fortificações com dicofol, desvio padrão e coeficiente de variação.....	65
Tabela XVIII	Recuperação Média das fortificações com aletrina, desvio padrão e coeficiente de variação.....	65
Tabela XIX	Recuperação Média das fortificações com procimidona, desvio padrão e coeficiente de variação.....	66
Tabela XX	Recuperação Média das fortificações com alfa endosulfam, desvio padrão e coeficiente de variação.....	66
Tabela XXI	Recuperação Média das fortificações com beta endosulfam, desvio padrão e coeficiente de variação.....	67

Tabela XXII	Recuperação Média das fortificações com sulfato endosulfam, desvio padrão e coeficiente de variação.....	67
Tabela XXIII	Recuperação Média das fortificações com bifentrina, desvio padrão e coeficiente de variação.....	68
Tabela XXIV	Recuperação Média das fortificações com fenpropatrina, desvio padrão e coeficiente de variação.....	68
Tabela XXV	Recuperação Média das fortificações com tetradifona, desvio padrão e coeficiente de variação.....	69
Tabela XXVI	Recuperação Média das fortificações com procloraz, desvio padrão e coeficiente de variação.....	69
Tabela XXVII	Recuperação Média das fortificações com difenoconazol, desvio padrão e coeficiente de variação.....	70
Tabela XXVIII	Recuperação Média das fortificações com azoxistrobina, desvio padrão e coeficiente de variação.....	70
Tabela XXIX	Recuperação Média das fortificações com diclorvós, desvio padrão e coeficiente de variação.....	71
Tabela XXX	Recuperação Média das fortificações com forato, desvio padrão e coeficiente de variação.....	71
Tabela XXXI	Recuperação Média das fortificações com diazinom, desvio padrão e coeficiente de variação.....	72
Tabela XXXII	Recuperação Média das fortificações com clorpirifós, desvio padrão e coeficiente de variação.....	72
Tabela XXXIII	Recuperação Média das fortificações com malationa, desvio padrão e coeficiente de variação.....	73
Tabela XXXIV	Recuperação Média das fortificações com fentiona, desvio padrão e coeficiente de variação.....	73
Tabela XXXV	Recuperação Média das fortificações com fentoato, desvio padrão e coeficiente de variação.....	74
Tabela XXXVI	Recuperação Média das fortificações com etiona, desvio padrão e coeficiente de variação.....	74
Tabela XXXVII	Recuperação Média das fortificações com fosmete, desvio padrão e coeficiente de variação.....	75
Tabela XXXVIII	Repetibilidade do sinal de propanil em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	76
Tabela XXXIX	Repetibilidade do sinal de alacloro em amostra de manga fortificada com 0,01 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	77
Tabela XL	Repetibilidade do sinal de dicofol em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	77
Tabela XLI	Repetibilidade do sinal de aletrina em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	78

Tabela XLII	Repetibilidade do sinal de procimidona em amostra de manga fortificada com 0,01 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	78
Tabela XLIII	Repetibilidade do sinal de alfa endosulfam em amostra de manga fortificada com 0,01 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	79
Tabela XLIV	Repetibilidade do sinal de beta endosulfam em amostra de manga fortificada com 0,01 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	79
Tabela XLV	Repetibilidade do sinal de sulfato endosulfam em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	80
Tabela XLVI	Repetibilidade do sinal de bifentrina em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	80
Tabela XLVII	Repetibilidade do sinal de fempropatrina em amostra de manga fortificada com 0,10 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	81
Tabela XLVIII	Repetibilidade do sinal de tetradifona em amostra de manga fortificada com 0,01 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	81
Tabela XLIX	Repetibilidade do sinal de procloraz em amostra de manga fortificada com 0,20 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	82
Tabela L	Repetibilidade do sinal de difenoconazol em amostra de manga fortificada com 0,20 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	82
Tabela LI	Repetibilidade do sinal de azoxistrobina em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	83
Tabela LII	Repetibilidade do sinal de diclorvós em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	83
Tabela LIII	Repetibilidade do sinal de forato em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	84
Tabela LIV	Repetibilidade do sinal de dizinon em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	84
Tabela LV	Repetibilidade do sinal de clorpirifós em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	85
Tabela LVI	Repetibilidade do sinal de malationa em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	85
Tabela LVII	Repetibilidade do sinal de fentiona em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	86
Tabela LVIII	Repetibilidade do sinal de fentoato em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	86
Tabela LIX	Repetibilidade do sinal de etiona em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	87
Tabela LX	Repetibilidade do sinal do fosmete em amostra de manga fortificada com 0,05 mg/kg no mesmo dia e em dias diferentes.....	87
Tabela LXI	Limite de Detecção e Limite de Quantificação dos Pesticidas.....	89

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Principais países consumidores de Defensivos Agrícolas.....	3
Figura 2	Padrão procloraz (Área = 87,24) e difenoconazol (Área = 152,94) 75 pg/uL em hexano.....	51
Figura 3	Padrão procloraz (Área = 147,24) e difenoconazol (Área = 221,49) 75 pg/uL no extrato da matriz.....	51
Figura 4	Recuperação: Amostra fortificada com procloraz 1,0 mg/kg e difenoconazol 2,0 mg/kg que corresponde ao padrão de procloraz e difenoconazol 75 pg/uL.....	51
Figura 5	Curva Analítica Propanil.....	52
Figura 6	Curva Analítica Alacloro.....	52
Figura 7	Curva Analítica Dicofol.....	53
Figura 8	Curva Analítica Aletrina.....	53
Figura 9	Curva Analítica Procimidona.....	53
Figura 10	Curva Analítica Alfa Endosulfam.....	54
Figura 11	Curva Analítica Beta Endosulfam.....	54
Figura 12	Curva Analítica Sulfato Endosulfam.....	54
Figura 13	Curva Analítica Bifentrina.....	55
Figura 14	Curva Analítica Fempropatrina.....	55
Figura 15	Curva Analítica Tetradifona.....	55
Figura 16	Curva Analítica Procloraz.....	56
Figura 17	Curva Analítica Difenoconazol.....	56
Figura 18	Curva Analítica Azoxistrobina.....	56
Figura 19	Curva Analítica Diclorvós.....	57
Figura 20	Curva Analítica Forato.....	57
Figura 21	Curva Analítica Diazinom.....	57
Figura 22	Curva Analítica Clorpirifós.....	58
Figura 23	Curva Analítica Malationa.....	58
Figura 24	Curva Analítica Fentiona.....	58
Figura 25	Curva Analítica Fentoato.....	59
Figura 26	Curva Analítica Etiona.....	59

Figura 27	Curva Analítica Fosmete.....	59
Figura 28	Cromatograma do branco dos reagentes analisado por cromatografia a gás com detector de captura de elétrons.....	60
Figura 29	Cromatograma da amostra testemunha analisada por cromatografia a gás com detector de capturas de elétrons.....	60
Figura 30	Cromatograma dos pesticidas organoclorados, piretróides e azoxistrobina analisados por cromatografia a gás com detector de captura de elétrons.....	61
Figura 31	Cromatograma do branco dos reagentes analisados por cromatografia a gás com detector fotométrico de chama.....	62
Figura 32	Cromatograma da amostra testemunha analisada por cromatografia a gás com detector fotométrico de chama.....	62
Figura 33	Cromatogramma dos pesticidas organofosforados analisados por cromatografia a gás com detector fotométrico de chama.....	63

ANEXOS

Anexo 1

Resolução RDC nº 44, de 10 de maio de 2000

Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Áreas de Atuação

A Instituição
ANVISA Divulga
Atendimento ao Usuário
Perguntas Frequentes
Conselho Consultivo
Consulta Pública
Bancos de Dados
Legislação
Ouvidoria
Reblas

Resoluções

Resolução - RDC nº 44, de 10 de maio de 2000 (*)

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição que lhe confere o art. 11, inciso IV, do Regulamento da ANVS aprovado pelo Decreto 3.029, de 16 de abril de 1999, em reunião realizada em 3 de maio de 2000, adota a seguinte Resolução de Diretoria Colegiada e eu, Diretor-Presidente, determino a sua publicação:

considerando a necessidade de aprimorar as ações de controle de registro dos produtos agrotóxicos no que diz respeito a Vigilância Sanitária;

considerando a necessidade de atualizar a apresentação dos relatórios de estudos de resíduos de agrotóxicos de acordo com as normas Codex / FAO,

adota a seguinte Resolução de Diretoria Colegiada e eu, Diretor-Presidente, determino a sua publicação:

Art. 1º Alterar as Diretrizes e Exigências Referentes a Autorização de Registro de Produtos Agrotóxicos e Afins, nº 1, de 09 de dezembro de 1991, ratificada pela Portaria nº 3 de 16 de Janeiro de 1992 (título de acordo com Decreto 991/93), substituindo o texto do item 1.2, sub-item 1.2.2, letra "m" por: "Proposições quanto ao Limite Máximo de Resíduos (LMR) baseadas nas tabelas individuais apresentadas, referentes aos três ensaios de campo ou a dois ensaios pós-colheita, nos casos de Limites de Resíduos Estranhos (LME) estes deverão também ser propostos.

Art. 2º Alterar as Diretrizes e Exigências Referentes a Autorização de Registro de Produtos Agrotóxicos e Afins nº 1 de 09 de dezembro de 1991, ratificada pela Portaria nº 3 de 16 de Janeiro de 1992 (título de acordo com Decreto 991/93), substituindo o texto dos itens 1- Delineamento experimental (sub-item 1.1) e 5- Informações de campo e Laudo Analítico do Anexo IV e constantes desta Portaria pelo texto a seguir: 1.1- Locais: os ensaios destinados a pesquisa de resíduos deverão ser conduzidos, no mínimo, em 3 (três) áreas distintas representativas do cultivo na mesma safra ou em duas safras consecutivas no mesmo local e outro, em local diferente. Para pós-colheita, deverão ser conduzidos, no mínimo, 2 (dois) ensaios de pesquisa de resíduos, em local representativo da operação de tratamento; 5- Dados que deverão constar no relatório de estudo de resíduos e 6- Dados que deverão constar do Relatório de estudo de resíduos - tratamento pós-colheita.

Art. 3º O ANEXO IV DAS DIRETRIZES E EXIGÊNCIAS REFERENTES À AUTORIZAÇÃO DE REGISTROS DE PRODUTOS AGROTÓXICOS E AFINS - Nº 1, DE 09 DE DEZEMBRO DE 1991, aprovadas pela Portaria nº 3, de 16 de janeiro de 1992, do Diretor do Departamento Técnico Normativo, da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, passa a vigorar com a seguinte redação:

5- DADOS QUE DEVERÃO CONSTAR NO RELATÓRIO DE ESTUDO DE RESÍDUOS

CAPA (única contemplando o laudo analítico e o relatório de campo)

Título: Relatório de estudo de resíduo de
em (discriminar a parte do vegetal que foi analisada,
exemplo: polpa, casca, fruto inteiro, etc)

Número do protocolo do estudo

Nome, endereço, telefone, fax, endereço eletrônico da empresa
contratante

Nome, endereço, telefone, fax, endereço eletrônico do laboratório
contratado

Autor(es) do relatório

Data do início do estudo

Data do término do estudo

ASSINATURAS (em página separada)

(data) (Responsável pelo laboratório)

(data) (Responsável pela empresa contratante)

Observação: Numerar e rubricar todas as páginas do relatório

DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE ANALÍTICA (em página separada)

Texto

(data) (Responsável pela análise)

(data) (Responsável pelo laboratório)

5.1. RELATÓRIO DE CAMPO

Capa

Título: Relatório de estudo de
em

Número do protocolo do estudo

Número de Relatório de Campo

Nome do responsável pelo ensaio

Nome, endereço, telefone, fax, endereço eletrônico da empresa executora

Data de início do estudo

Data do término do estudo

Declaração de conformidade de Boas Práticas Agrícolas (em página separada)

(data) (Responsável pela parte de campo)

(data) (Responsável pelo ensaio de campo)

5.1.1. IDENTIFICAÇÃO DO PRODUTO TESTADO

- a) Substância teste (marca comercial / código)
- b) Nome químico do(s) ingrediente(s) ativo(s)
- c) Nome comum do(s) ingrediente(s) ativo(s)
- d) Classe (se sistêmico, informar)
- e) Tipo de Formulação
- f) Concentração do(s) ingrediente(s) ativo(s) (por litro ou kg de formulação)
- g) Certificado de análise para confirmação do teor do(s) ingrediente(s) ativo(s) na formulação

5.1.2. IDENTIFICAÇÃO DO CAMPO EXPERIMENTAL

- a) Local do ensaio (Município / Estado)
- b) Nome e endereço da propriedade
- c) Cultura
- d) Cultivar
- e) Espaçamento
- f) Tamanho de cada parcela
- g) Número de parcelas
- h) Data do plantio ou idade da planta

B I B L I O T E C A
INSTITUTO DE QUÍMICA
 Universidade de São Paulo

i) Data de emergência da planta (quando aplicável)

j) Data da colheita

5.1.3. DOSES TESTADAS E FORMA DE APLICAÇÃO

a) Dose(s) testada(s) do produto formulado

b) Dose(s) do(s) ingrediente(s) ativo(s)

c) Data(s) de aplicação

d) Estágio da cultura em cada aplicação

e) Forma de aplicação

f) Equipamento

g) Volume de calda aplicada em L/ha (quando aplicável)

h) Temperatura no momento da aplicação

i) Outros produtos aplicados no decorrer do ensaio

5.1.4. INFORMAÇÕES EDAFOLÓGICAS

a) Tipo de solo (textura)

b) pH

c) Porcentagem de matéria orgânica

d) Topografia do terreno

5.1.5. TRATOS CULTURAIS REALIZADOS NA PARCELA

Descrever

5.1.6. INFORMAÇÕES METEOROLÓGICAS

a) Última chuva antes da(s) aplicação(ões)

b) Primeira chuva após a(s) aplicação(ões)

c) Precipitação no período do ensaio

d) Temperatura média no período do ensaio

5.1.7. AMOSTRAGEM

a) Data(s) da(s) coleta(s) da(s) amostra(s)

b) Métodos de amostragem dentro da parcela e forma de retirada do material

- c) Parte da cultura amostrada
- d) Estágio da cultura no momento da coleta
- e) Quantidade amostrada
- f) Tipo de embalagem da amostra
- g) Tamanho da área amostrada
- h) Condições de armazenamento até o envio ao laboratório

5.1.8. BENEFICIAMENTO DA AMOSTRA

- a) Tipo de beneficiamento (ex.: secagem)
- b) Data do início e final do processo de beneficiamento
- c) Condições em que a amostra foi mantida durante o beneficiamento

5.1.9. ENVIO DA AMOSTRA PARA O LABORATÓRIO

- a) Data do envio
- b) Forma de transporte
- c) Tipo de embalagem
- d) Condições de armazenamento e conservação durante o transporte
- e) Quantidade de cada amostra enviada
- f) Número de amostras enviadas

5.2. RELATÓRIO ANALÍTICO

5.2.1. OBJETIVO

5.2.2. RESUMO

5.2.3. DADOS DA(S) SUBSTÂNCIA(S) DE REFERÊNCIA

- a) Nome químico
- b) Nome comum
- c) Peso molecular
- d) Fórmula estrutural
- e) Solubilidade (água e solventes orgânicos)
- f) Pressão de vapor
- g) Outros dados relevantes (pureza, origem, validade, etc.)

5.2.4. AMOSTRAS

- a) Descrição da(s) amostra(s) incluindo o número do relatório de campo
- b) Data de recebimento das amostras
- c) Condições de armazenamento no laboratório

5.2.5. RESUMO DO MÉTODO

5.2.6. MÉTODO DE ANÁLISE

Descrição dos procedimentos efetivamente realizados na condução das análises (vide Apêndice)

5.2.7. IDENTIFICAÇÃO

(vide Apêndice)

5.2.8. QUANTIFICAÇÃO

(vide Apêndice)

5.2.9. CURVA DE CALIBRAÇÃO

(vide Apêndice)

5.2.10. RECUPERAÇÃO

Dados finais segundo o exemplo da Tabela I

Tabela I : Recuperação média das fortificações e desvio padrão

Nível de fortificação (mg/kg)	Recuperação (%)	Recuperação Média	Desvio Padrão
F1			
F1			
F1			
F2			
F2			
F2			

F1 = limite mínimo de fortificação = limite de quantificação

F2 = limite máximo de fortificação

Obs: Serão no mínimo dois níveis de fortificação com pelo menos três repetições cada um quando da avaliação do método. A porcentagem de recuperação não deve ser utilizada para correção dos resultados. Apenas valores no intervalo de 70% a 120% de recuperação deverão ser aceitos. Quando da condução das análises (amostras testemunha e tratadas), pelo menos um nível de fortificação deverá ser conduzida, e os demais poderão ser provenientes da verificação do método.

5.2.11. LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO

(vide Apêndice)

5.2.12. RESULTADOS (dados finais do estudo, segundo o exemplo da Tabela II)

Tabela II Resíduos de em

Amostra	Dose (unidade)	DAT *	Analito (mg/Kg)
Testemunha	-	-	1
Cultura	Máxima		y ₁
Cultura	Dobro		y ₂

* Dias após o tratamento

x1 Limite de quantificação

y1 Concentração na dose máxima

y2 Concentração na dose dobro

5.2.13. BIBLIOGRAFIA

6. DADOS QUE DEVERÃO CONSTAR NO RELATÓRIO DE ESTUDO DE RESÍDUOS - TRATAMENTO PÓS-COLHEITA

CAPA (única contemplando o laudo analítico e o relatório de tratamento pós-colheita)

Título: Relatório de estudo de resíduo de
em(discriminar a parte do vegetal analisada, exemplo:
polpa, casca, fruto inteiro, etc)

Número do protocolo do estudo

Nome, endereço, telefone, fax, endereço eletrônico da empresa contratante

Nome, endereço, telefone, fax, endereço eletrônico do laboratório contratado

Autor(es) do relatório

Data do início do estudo

Data do término do estudo

ASSINATURAS (em página separada)

(data) (Responsável pelo laboratório)

(data) (Responsável pela empresa contratante)

Observação: numerar e rubricar todas as páginas do relatório.

DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE ANALÍTICA (em uma página separada)

(data) (Responsável pela análise)

(data) (Responsável pelo laboratório)

6.1.RELATÓRIO DE TRATAMENTO PÓS-COLHEITA

CAPA

Título: Relatório de estudo de em
tratamento pós-colheita

Número do protocolo do estudo

Número do Relatório de Tratamento Pós-colheita

Nome do responsável pelo ensaio

Nome, endereço, telefone, fax, endereço eletrônico da empresa
executora

Data do início da estudo

Data do término do estudo

Declaração de Conformidade de Boas Práticas Agrícolas (em uma página
separada)

(data) (Responsável pela parte de tratamento pós-colheita)

(data) (Responsável pelo ensaio de tratamento pós-colheita)

6.1.1.IDENTIFICAÇÃO DO PRODUTO TESTADO

a) Substância teste (marca comercial / código)

b) Nome químico do(s) ingrediente(s) ativo(s)

c) Nome comum do(s) ingrediente(s) ativo(s)

d) Classe (se sistêmico, informar)

e) Tipo de Formulação

f) Concentração do(s) ingrediente(s) ativo(s) (por litro ou kg de formulação)

g) Certificado de análise para confirmação do teor do(s) ingrediente(s) ativo(s) na formulação

6.1.2.IDENTIFICAÇÃO DA UNIDADE DE TRATAMENTO PÓS-COLHEITA

a) Local do ensaio(Município / Estado)

b) Nome da propriedade

c) Cultura

d) Cultivar

e) Data do tratamento pós-colheita

6.1.3.DOSES TESTADAS E FORMA DE APLICAÇÃO

a) Dose(s) do produto comercial

b) Dose(s) do(s) ingrediente(s) ativo(s)

c) Data de aplicação

d) Forma de aplicação

e) Quantidade tratada

f) Equipamento

g) Temperatura no momento da aplicação

h) Outros produtos aplicados no decorrer do ensaio

6.1.4.AMOSTRAGEM

a) Data(s) da(s) coleta(s) de amostra(s)

b) Método de amostragem

c) Quantidade amostrada

d) Tipo de embalagem das amostras

e) Condições de armazenamento até o envio ao laboratório

6.1.5.ENVIO DA AMOSTRA PARA O LABORATÓRIO

a) Data do envio

b) Forma de transporte

- c) Tipo de embalagem
- d) Condições de armazenamento e conservação durante o transporte
- e) Quantidade de cada amostra enviada
- f) Número de amostras enviadas

6.2.RELATÓRIO ANALÍTICO

Conforme item 5.2 a 5.2.13

APÊNDICE (em página separada do relatório)

I) MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE EM

- a) Equipamentos, reagentes, vidrarias e/ou outros materiais
- b) Preparação de soluções padrão, de calibração e de fortificação
- c) Preparação da amostra
- d) Procedimento analítico (descrição detalhada)
- e) Análise instrumental (condições de operação)
- f) Modificação do método (se houver)

II) IDENTIFICAÇÃO

Identificar os analitos e padrão interno (se houver) por tempo de retenção e massas dos íons de fragmentação (se for o caso) e outros (especificar), anexando:

- a) um cromatograma ou espectros do padrão;
- b) um cromatograma ou espectro do branco;
- c) cromatograma(s) ou espectro(s) da testemunha(s);
- d) cromatogramas das fortificações nos diferentes níveis, realizados em triplicata;
- e) cromatogramas das amostras.

III) QUANTIFICAÇÃO / CÁLCULOS

- a) apresentar a(s) fórmula(s) utilizada(s) para os cálculos;
- b) apresentar o gráfico da curva de calibração obtido com a equação de regressão da curva e o coeficiente de correlação;
- c) anexar um cromatograma de cada ponto do gráfico obtido no item "b".

Art.4º Permanecem válidos os Relatórios que já tiverem sido elaborados

conforme as normas anteriores à data da vigência desta Resolução.

§ 1º Os ensaios de campo instalados com datas anteriores à vigência desta Resolução, bem como as amostras e estudos analíticos deles decorrentes, serão considerados válidos.

§ 2º As empresas notificarão à Agência Nacional de Vigilância Sanitária sobre os estudos que se enquadrem no parágrafo anterior, no prazo de até 30 (trinta) dias, a partir da data de publicação desta Resolução.

§ 3º A elaboração do terceiro ensaio de resíduo, previsto nesta Resolução, terá o prazo de 18 (dezoito) meses para sua apresentação, a partir da data de publicação desta Resolução, sem prejuízo da avaliação dos processos em andamento ou a serem protocolados neste período.

Art.5º Esta Resolução de Diretoria Colegiada entra em vigor na data de sua publicação.

GONZALO VECINA NETO

(*)Republicada por ter saído com incorreção, do original, no DO nº 90-E, de 11/5/2000, Seção 1-E
pág 14