UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas

**Avaliação do risco de praguicidas em batata, cenoura e mandioquinha na
área de São José do Rio Pardo utilizando o método de QuEChERS por LC-
MS/MS**

Michelli Pastrello

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Prof^a. Dr^a. Elizabeth de Souza Nascimento

São Paulo
2015

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas

**Avaliação do risco de praguicidas em batata, cenoura e mandioquinha na
área de São José do Rio Pardo utilizando o método de QuEChERS por LC-
MS/MS**

Michelli Pastrello

Versão corrigida da Dissertação/Tese conforme resolução CoPGr 6018.
O original encontra-se disponível no Serviço de Pós Graduação da FCF/USP.

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Prof^ª. Dr^ª. Elizabeth de Souza Nascimento

São Paulo
2015

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

P293a Pastrello, Michelli
Avaliação de risco de praguicidas em batata, cenoura e mandioquinha na área de São José do Rio Pardo utilizando o método de QuEChERS por LC-MS/MS / Michelli Pastrello. -- São Paulo, 2015. 151p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas.
Orientador: Nascimento, Elizabeth de Souza

1. Praguicidas : Toxicologia 2. Espectrometria de massa
3. Avaliação de risco 4. Toxicologia de alimentos I. T. II. Nascimento, Elizabeth de Souza, orientador.

615.951 CDD

MICHELLI PASTRELLO

**Avaliação do risco de praguicidas em batata, cenoura e mandioquinha na área de
São José do Rio Pardo utilizando o método de QuEChERS por LC-MS/MS**

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Professora Dra. Elizabeth de Souza Nascimento
Orientadora/Presidente

1º examinador

2º examinador

São Paulo, ____ de _____ de 2015.

**A mente que se abre a uma nova ideia
jamais voltará ao seu tamanho original.**

Albert Einstein

**À Deus,
Pela oportunidade de alcançar essa conquista.**

**Aos meus pais,
Solange e Carlos
Pelo amor, compreensão, amparo e fé em mim.**

**À minha irmã e minha avó,
Carla e Maria Alice
Pelo carinho, companheirismo, amor e força.**

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me dar pais maravilhosos e muito amor, uma família forte e em busca do crescimento, tanto espiritual como intelectual. Agradeço pelas dificuldades enfrentadas, pelas pedras no caminho e pelas lágrimas desprendidas, que nada fizeram além de me lapidar e me ajudar a evoluir.

Aos meus pais, Carlos e Solange, que são o meu forte, o meu coração, os que estão sempre em meu pensamento nas conquistas, e a quem eu entrego por inteiro esse sonho realizado.

À minha irmã Carla, minha amiga número um, encorajadora de tantos momentos e companheira de tantas horas e à minha avó Alice, que com seu amor e carinho está sempre olhando por mim.

À minha segunda mãe, Quitéria Dário da Silva, sem quem, sem dúvida, eu não teria tido forças nos momentos nos quais eu mais quis desistir, que sempre me motivou a olhar e acreditar em mim mesma e em Deus, e que tudo está onde deve estar.

À Prof^a. Dr^a. Elizabeth de Souza Nascimento, minha querida orientadora, que em todos os momentos acreditou em mim e me estimulou a seguir em frente, a não desistir e confiar em mim mesma. Obrigado pelo conhecimento, pela paciência, pelo carinho e por me aceitar como sua orientada.

Obrigada à Nestlé e meus gerentes e coordenadores, pela oportunidade a mim cedida de cursar um mestrado e todo suporte científico a mim fornecido. Obrigada a todos colegas e amigos de trabalho por todas contribuições que me ajudaram a chegar até aqui.

A todos os professores com quem tive o prazer de aprender e dividir experiências durante o mestrado, assim como a todos funcionários da Universidade de São Paulo que me ajudaram a concluir todas as etapas do programa.

Às minhas queridas amigas de mestrado, Natália Rubio Claret Pereira e Marina Cecília Spatti. Obrigada por toda ajuda, por toda a guia, pela paciência, pelo companheirismo e pelo ombro amigo em todos momentos que precisei.

À minha adorada amiga Monica Cabrini Medeiros, que foi mais do que uma amiga, foi uma professora, uma orientadora, minha fonte de socorro. Obrigada por me dar forças e me ajudar a entregar a dissertação com cada detalhe carinhosamente feito.

Aos meus amigos de hoje e sempre, Ronaldo e Débora, e todos que me apoiaram em todos os momentos da vida, e nunca me deixaram desistir de um sonho.

RESUMO

PASTRELLO, M. **Avaliação de risco de praguicidas em batata, cenoura e mandioquinha na área de São José do Rio Pardo utilizando o método QuEChERS por LC-MS/MS.** 2015. 151f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2015.

Grande parte do desenvolvimento científico nas análises em alimentos está relacionado à identificação e quantificação de resíduos de drogas veterinárias e contaminantes ambientais em matéria-prima. Dentre as substâncias mais amplamente estudadas como resíduos em alimentos estão os praguicidas. Cada vez mais as legislações e normas reguladoras buscam garantir que os alimentos levados aos consumidores estejam apropriados à ingestão, diminuindo o risco negligenciável à saúde, através da exigência de níveis cada vez menores dos limites máximos de resíduo, e muitas vezes, banindo diversas substâncias com altos e médios graus de toxicidade. Para tal, tem sendo intensificado o desenvolvimento de métodos precisos, exatos, robustos e baratos para a identificação e quantificação de praguicidas, de forma que tanto os órgãos públicos como as empresas privadas possam realizar o monitoramento dos alimentos oferecidos pelos produtores e fornecedores, e assim identificar possíveis fontes de exposição à substâncias que levem risco através da ingestão diária. Os indivíduos que apresentam maior suscetibilidade aos efeitos nocivos causados pela presença de praguicidas em níveis tóxicos nos alimentos são crianças e idosos, o que exige cuidados e limites ainda mais rígidos. Para garantir que os alimentos infantis fornecidos no mercado se mantenham dentro das condições adequadas para a ingestão, a sua produção deve ser controlada e monitorada. O presente trabalho visa avaliar a presença de praguicidas em *Solanum tuberosum* (batata), *Daucus carota* (cenoura) e *Arracacia xanthorrhiza* (mandioquinha) destinadas para a produção de baby-food e produtos similares, cultivados na área de São José do Rio Pardo, no estado de São Paulo, e disponíveis no varejo da cidade de São Paulo, através da técnica QuEChERS e identificação e quantificação por LC-MS/MS. Através da otimização dos parâmetros de espectrometria de massas e validação do método de extração QuEChERS para 216 compostos, foram identificados quais praguicidas possuíam a capacidade de serem detectados e quantificados com a performance adequada por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em tandem nas *commodities* estudadas. Amostras de batata, cenoura e mandioquinha de fornecedores da área de São José do Rio Pardo e fontes de varejo da cidade de São Paulo foram analisadas para identificar a presença dos analitos validados. Para as amostras investigadas, somente a *commodity* cenoura apresentou praguicidas quantificados acima do valor da Capacidade de Detecção (CC β), sendo eles o Linurom, o Tebuconazol e o Triciclazol. Realizada a Avaliação de Risco, verificou-se que a exposição aos praguicidas nas *commodities*, mesmo nos casos de maior concentração, não era evidenciada como um risco, tendo em vista que os mesmos obtiveram resultados de 0,25% (Linurom), 0,1% (Tebuconazol) e 0,03% (Triciclazol) dos valores de suas Ingestões Diárias Aceitáveis (IDA).

Palavras-chave: Praguicidas, Baby-food, QuEChERS, Espectrometria de Massas, Avaliação de Risco.

ABSTRACT

PASTRELLO, M. **Pesticides risk assessment on potato, carrot and *mandioquinha* from São José do Rio Pardo's area using QuEChERS method by LC-MS/MS.** 2015. 151f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2015.

Great part of the scientific development on food analysis is related to the identification and quantification of veterinary drugs and environmental contaminants residues in raw materials. Among the most studied residue substances in food are the pesticides compounds. Increasingly, legislations and regulatory standards seek to ensure that the food served to consumers are appropriate to the intake, reducing a negligible health risk, by requiring each time lower maximum residue levels, and often banning various substances with high and medium levels of toxicity. With this purpose, the development of accurate, robust and cheap methods has been intensified for the identification and quantification of pesticides, so that both public bodies and private companies are able to carry out the monitoring of food and feed offered by the producers and suppliers, and by doing so, identify possible sources of exposure to substances that lead to risk by daily intake. The individuals who are more susceptible to adverse effects caused by the presence of pesticides in toxic levels in food are children and the elderly, and because of this fact, the requirement for extensive care and limits even stricter is higher. In the attempt to ensure that children's food and feed market supplies fall within the right conditions for ingestion, its production should be controlled and monitored. The present study aims to evaluate the presence of pesticides in *Solanum tuberosum* (potato), *Daucus carota* (carrot) and *Arracacia xanthorrhiza* (*mandioquinha*) in samples grown in the area of São José do Rio Pardo, in the State of São Paulo, and directed to baby-food and similar products production, and in samples available at the market retail in the city of São Paulo, through the QuEChERS technique, and identification and quantification by LC-MS/MS. The pesticides molecules which had the ability to be detected and quantified with adequated performance by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry in the studied commodities were identified by optimizing the mass spectrometer parameters and validating the QuEChERS extraction method of 216 compounds. Potato, carrot and mandioquinha samples, provided by suppliers in the area of Sao Jose do Rio Pardo and retail sources from São Paulo, were analyzed for the presence of the validated pesticides. Among the investigated samples, only the carrot commodity presented quantified pesticides above the value of Detection Capability ($CC\beta$), namely Linuron, the Tebuconazole and Tricyclazole. Held the chemical risk assessment, it was found that the exposure to pesticides by the commodities, even in cases of higher concentrations, was not shown as a risk, given that they achieved results of 0.25% (Linuron), 0, 1% (Tebuconazole) and 0.03% (Tricyclazole) of the Acceptable Daily Intakes (ADI) values.

Key-words: Pesticides, baby-food, QuEChERS, Mass Spectrometry, Risk Assessment.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
	2.1. O uso de praguicidas em alimentos.....	3
	2.2. Principais classes biológicas aplicadas nos alimentos	7
	2.2.1 <i>Inseticidas</i>	8
	2.2.2 <i>Fungicidas</i>	10
	2.2.3 <i>Herbicidas</i>	15
	2.2.4 <i>Acaricidas</i>	18
	2.2.5 <i>Interferentes endócrinos</i>	19
	2.3. Principais classes químicas de praguicidas	20
	2.3.1 <i>Inseticidas organoclorados</i>	20
	2.3.2 <i>Inseticidas organofosforados</i>	21
	2.3.3 <i>Carbamatos ou organonitrogenados</i>	22
	2.3.4 <i>Piretróides</i>	23
	2.3.5 <i>Outras classes químicas relevantes</i>	25
	2.3.5.1 <i>Avermectinas e Milbemicinas</i>	25
	2.3.5.2 <i>Nicotinóides e neonicotinóides</i>	27
	2.4. Praguicidas em batata, cenoura e mandioquinha no Brasil	28
	2.5. Regulamentação alimentar	35
	2.6. Método de extração QuEChERS	37
	2.7. A Espectrometria de massas	39
	2.7.1 <i>Fontes de ionização</i>	42
	2.7.1.1 <i>ESI – Electrospray ionization</i>	42
	2.7.2 <i>Tipos de Espectrometria de Massas</i>	44
	2.7.2.1 <i>Espectrometria de Massas Quadrupolar</i>	46
	2.8. Avaliação de Risco de praguicidas em alimentos	47
	2.8.1 <i>Identificação do Perigo</i>	49
	2.8.2 <i>Caracterização do Perigo ou Avaliação Dose Resposta</i>	50
	2.8.3 <i>Avaliação da Exposição</i>	53
	2.8.4 <i>Caracterização e Manejo do Risco</i>	54
	2.9. Análise de resíduos de praguicidas em alimentos.....	55
3	OBJETIVOS.....	57

3.1	Geral	57
3.2	Específicos	57
4	MATERIAIS E MÉTODOS	58
4.1	Reagentes, solventes, padrões, equipamentos e instrumentos.....	58
4.2	Método	59
4.2.1	<i>Pesquisa dos Praguicidas Mais Aplicados.....</i>	59
4.2.2	<i>Obtenção de Amostras das Commodities</i>	59
4.2.3	<i>Validação – Otimização da Metodologia Analítica</i>	60
4.2.3.1	Método de Extração e Preparo de Amostras	60
4.2.3.2	Otimização das Condições do LC-MS/MS	62
4.2.4	<i>Método de Avaliação de Risco</i>	67
4.3	Validação do método	68
4.3.1	<i>Cálculo de $CC\alpha$ e $CC\beta$.....</i>	68
4.3.2	<i>Estudo de linearidade.....</i>	69
4.3.3	<i>Precisão.....</i>	70
4.3.4	<i>Exatidão.....</i>	71
4.3.5	<i>Robustez.....</i>	71
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	73
5.1	Pesquisa dos Compostos Utilizados na área de São José do Rio Pardo	73
5.2	Relação de Compostos de Aplicação Liberada nas Culturas	76
5.3	Dados para o Método de Leitura no Espectrômetro de Massas.....	80
5.4	Testes das Colunas Cromatográficas.....	92
5.5	Validação do Método.....	94
5.5.1	<i>Linearidade para as matrizes Batata e Mandioquinha.....</i>	95
5.5.2	<i>Linearidade para a Matriz Cenoura</i>	102
5.5.3	<i>Cálculos de $CC\alpha$ e $CC\beta$ dos praguicidas analisados em matriz.....</i>	107
5.5.4	<i>Precisão e Exatidão para matrizes Batata e Mandioquinha.....</i>	113
5.5.5	<i>Resultados de Exatidão e Precisão para Cenoura.....</i>	118
5.6	Análise da amostras de batata, cenoura e mandioquinha adquiridas dos fornecedores e obtidas em varejo	124
5.6.1	<i>Primeiros grupos amostrais</i>	124
5.6.2	<i>Segundo Grupo Amostral</i>	129
5.7	Avaliação de Risco para os praguicidas Linurom, Tebuconazol e Triciclazol.....	133
6	CONCLUSÕES.....	140
7	REFERÊNCIAS	142

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Primeiros praguicidas organoclorados a serem sintetizados	4
Figura 2 - Inseticidas organofosforados responsáveis pelo grande avanço do uso de praguicidas na agricultura.....	4
Figura 3 - Estrutura básica dos inseticidas Carbamatos (ou organonitrogenados).....	5
Figura 4 - Exemplos da classe dos inseticidas piretróides	5
Figura 5 - Praguicidas orgânicos de origem vegetal	5
Figura 6 - Deltametrina, piretróide do grupo Tipo II, que contém substituinte CN.....	24
Figura 7 - Aletrina, piretróide do grupo Tipo I, que não contém substituinte CN	24
Figura 8 - Estrutura química básica das Avermectinas	27
Figura 9 - Representação das etapas das principais versões do Método QuEChERS a) Original; b) acetato e c) citrato	39
Figura 10 - Ionização por Electrospray, sendo CRM = charged-residue model, que se aplica na ionização de moléculas hidrofílicas, e IDM = íon-residue model, que apresenta maior aplicabilidade em moléculas hidrofóbicas.....	43
Figura 11 - Diagrama de um espectrômetro de massas com ionização por ESI	43
Figura 12 - Técnicas de ionização e analisadores de massa.....	44
Figura 13 - Representação de um Quadrupolo, onde rf é a radiofrequência, e dc significa corrente contínua	46
Figura 14 - Ilustração gráfica do processo de Caracterização do Risco.....	49
Figura 15. Região da cidade de São José do Rio Pardo e suas proximidades.....	73
Figura 16. Mudas de alho poro e salsa, prontas para serem plantadas pelo produtor contratado Nestlé.....	74
Figura 17. Solo após o preparo para o plantio de salsinha, e solo após o plantio.	74
Figura 18. Depósito de Praguicidas seguindo a Portaria 030/92.....	75
Figura 19. TICs do padrão 5 da curva de calibração (25ug/kg) para a coluna Synergi.	93
Figura 20. TICs do padrão 5 da curva de calibração (25ug/kg) para a coluna Aqua.	93
Figura 21. Cromatogramas da amostra três de São José do Rio Pardo para os analitos Zoxamida e Cletodim Z.....	125
Figura 22. Cromatogramas do padrão 5 da curva de calibração (25ug/kg) para os analitos Zoxamida e Cletodim Z.....	126

Figura 23. Cromatogramas do padrão 5 da curva de calibração (25ug/kg) para os analitos Triciclazol e Vamidotiom.	126
Figura 24. Cromatogramas do analito Tiametoxam (à esquerda) e do padrão interno TRIS (à direita) em amostra branca de batata.	127
Figura 25. Cromatogramas do analito Tiametoxam (à esquerda) e do padrão interno TRIS (à direita) em amostra de batata.	128
Figura 26. Cromatogramas do analito Tiametoxam em amostras de branco de solvente.	128
Figura 27. Cromatogramas representativos dos analitos Triciclazol e Tebuconazol detectados na matriz cenoura.	132
Figura 28. Cromatogramas representativos dos analitos Linurom e Tebuconazol detectados na matriz cenoura.	133

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação dos praguicidas segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), de acordo com seus efeitos à saúde e concentrações (em mg/kg).	6
Tabela 2 - Número de amostras analisadas por cultura e resultados observados observados no PARA na edição de 2010	28
Tabela 3 - Descrição dos praguicidas não autorizados ou acima do LMR encontrados na matriz cenoura para as atividades do PARA de 2010.	30
Tabela 4 - Praguicidas utilizados nas culturas de batata e cenoura, seus respectivos grupos químicos, classes, liberação ou não, e LMR (mg/kg). Dados obtidos a partir das Monografias de Compostos Permitidos da ANVISA.	31
Tabela 5 - Fontes de ionização utilizadas em espectrometria de massas	40
Tabela 6 - Diretrizes da EPA para fatores de incerteza utilizados na avaliação de risco para praguicidas.....	52
Tabela 7. Lista dos praguicidas otimizados em LC-MS/MS e suas respectivas transições de maior intensidade.....	63
Tabela 8. Quadro Típico para Plano de Ensaio para o Teste de Youden.	72
Tabela 9. Lista de produtos aplicados nas culturas de batata e cenoura e os praguicidas presentes em suas composições.....	76
Tabela 10. Parâmetros de leitura no API5500 dos praguicidas analisados.	80
Tabela 11. Analitos excluídos por baixa performance para o método atual.....	94
Tabela 12. Dados de linearidade em solvente e em matriz para os praguicidas estudados.....	95
Tabela 13. Dados de linearidade em solvente e em matriz cenoura para os praguicidas estudados.	102
Tabela 14. Valores de $CC\alpha$ e $CC\beta$ para as matrizes batata e cenoura.....	108
Tabela 15. Dados de Exatidão e Precisão para o Limite de Reporte dos praguicidas analisados.	113
Tabela 16. Dados de Exatidão e Preciso para o Limite de Reporte dos praguicidas analisados.	119
Tabela 17. Dados amostrais, praguicidas detectados e seus respectivos valores de concentração em $\mu\text{g/kg}$	129
Tabela 18. Limites Máximos de Resíduo e Ingestão Diária Aceitável para os praguicidas Linurom, Tebuconazol e Triciclazol em cenoura.	134

Tabela 19. Dados obtidos a partir da pesquisa informal realizada com 25 mães com filhos a partir de seis meses de idade.	135
--	-----

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

2-PAM	2-piridina aldoxina metiliodada
ABC	Associação Brasileira de Custos
ABIA	Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANDEF	Associação Nacional de Defesa Vegetal
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOEL	Acceptable Operator Exposure Level
APCi	Atmospheric Pressure Chemical Ionization
APP	Atmospheric Pressure Photoionization
ATSDR	Agência de Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças
BMD	Benchmark Dose
BMR	Benchmark Response Rate
$CC\alpha$	Limite de decisão
$CC\beta$	Capacidade de detecção
CCAB	Comitê do Codex Alimentarius do Brasil
CCPR	Codex Committee on Pesticides Residues
CE	Collision Energy
CN	Ciano
CNA	Confederação Nacional da Agricultura
CNC	Confederação Nacional do Comércio
CNI	Confederação Nacional da Indústria
CRM	Charged-residue Model
CXP	Cell Exit Potencial
Da	Dalton
DAD	Diode Array Detector
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
DMI	Sterol Demethylation Inhibitor
D-SPE	Dispersive Solid Fase Extraction
ED	Effective Dose
EDC	Endocrine Disrupting Compound

EPA	Environmental Protection Agency
ESI	Electrospray Ionization
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Food and Drug Administration
FIA	Flow Injection Analysis
FT	Transformada de Fourier
FRAC	Fungicide Resistance Action Committee
GABA	Gamma-aminobutyric acid
GTPR	Grupo Técnico de Resíduos de Pesticidas
HCH	Hexaclotociclohexano
HRAC	Herbicide Resistance Action Committee
IDA	Ingestão Diária Aceitável
IDM	Ion-residue Model
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia
IPCS	International Programme on Chemical Safety
IPM	Integrated Pest Management
IRAC	Insecticide Resistance Action Committee
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticides Residues
LC	Liquid Chromatography
LD	Limite de Detecção
LMR	Limite Máximo de Resíduos
LOAEL	Lowest- observed-adverse-effect Level
LQ	Limite de Quantificação
m/z	Razão massa/carga
MALDI	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MCT	Ministério de Ciência e Tecnologia
MDIC/SECEX	Ministério do Desenvolvimento da Indústria e Comércio Exterior
MJ/DPC	Ministério da Justiça – Departamento da Polícia Civil
MMA	Ministério do Meio Ambiente
MMC	Matriz Matched Calibration
MoA	Modo de Ação
MOE	Marge of Exposure

MPI	Maximal Permissible Intake
MRE	Ministério das Relações Exteriores
MS	Mass Spectrometry
NAS	National Academy of Sciences
NIOSH	National Institute for Occupational Safety and Health
NOAEL	No-observed-adverse-effect Level
NRC	National Research Council
OMS	Organização Mundial da Saúde
PARA	Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
PEL	Permissível Exposure Level
pH	Potencial hidrogeniônico
PNCRC	Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes
POP	Poluente Orgânico Persistente
PSA	Amina primária e secundária
QoI	Quinone outside Inhibitor
QuEChERS	Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe
RENACIAT	Rede Nacional de Centros de Informações e Assistência Toxicológica
RfD	Reference Dose
RL	Report limit
RPM	Rotações por minute
RSD	Relative Standard Desviation
S/N	Signal/Noise
SNC	Sistema Nervoso Central
TLV	Threshold Limit Value
TOF	Time of Flight
UF	Uncertainty Factor
UHPLC	Ultra High Performance Liquid Chromatography
UV-Vis	Ultravioleta-visível
WHO	World Health Organization

1 INTRODUÇÃO

Grande parte do desenvolvimento científico nas análises em alimentos está relacionada à identificação e quantificação de resíduos de fármacos de uso veterinário e contaminantes ambientais em matéria-prima. Dentre as substâncias mais amplamente estudadas como resíduos em alimentos estão os praguicidas, que se dividem em diversas classes de ação biológica, sendo as mais conhecidas os inseticidas, os fungicidas, os herbicidas e os acaricidas.

Cada vez mais os governos e órgãos regulatórios visam garantir que os alimentos consumidos estejam apropriados à ingestão, buscando com que a presença de contaminantes não seja um risco à saúde, através da exigência de níveis cada vez menores dos limites máximos de resíduo, e muitas vezes, banindo diversas substâncias com altos e médios graus de toxicidade.

A ferramenta utilizada para garantir a saúde dos consumidores, assim como a do meio ambiente e dos animais que nele vivem, é a Avaliação do Risco, empregada internacionalmente, de acordo com as diretrizes de segurança química estabelecida por órgãos governamentais ou agências internacionais, com o propósito de prevenir os danos à saúde e ao ambiente pela exposição às substâncias consideradas tóxicas.

Para tal, vem sendo intensificado o desenvolvimento de métodos precisos, exatos, robustos e baratos para a identificação e quantificação de substâncias como os praguicidas, visando que tanto os órgãos públicos responsáveis pela avaliação e manutenção da segurança alimentar realizem o monitoramento dos alimentos oferecidos pelos produtores e fornecedores, como para as empresas privadas, para que as mesmas possam intensificar seus processos de garantia da qualidade, escolhendo criteriosamente suas matérias-primas para produção.

Uma classe de indivíduos que deve sempre ser levada em conta como parâmetro crítico para aumentar a segurança alimentar, além da população em geral, são os indivíduos mais suscetíveis como os bebês, as grávidas e os idosos, que apresentam peculiaridades bioquímicas, muitas vezes com menor capacidade para metabolizar substâncias que causam efeitos adversos em seus organismos. Dessa forma, é de extrema relevância, a busca para atender aos critérios necessários para assegurar a saúde dessa fração da população, ou seja, pela diminuição da concentração de resíduos nos alimentos disponíveis a ela.

A análise para identificação e quantificação de praguicidas exige métodos com alto desempenho que consigam mensurar valores cada vez menores desses compostos, identificando e quantificando um grande número de moléculas concomitantemente por extração e injeção, visando maior produtividade e baixo custo. O método de extração por QuEChERS se apresenta como uma ferramenta no auxílio a atingir essa performance esperada, sendo uma técnica rápida, fácil, barata, efetiva, robusta e segura, onde é possível extrair centenas de compostos, e posteriormente usar técnicas de análise instrumental avançadas, como a cromatografia líquida ou gasosa acoplada a espectrometria de massas, para quantificar tais moléculas em uma única corrida, com técnicas bem estruturadas de confirmação.

O presente trabalho busca avaliar o risco da presença de praguicidas em *commodities* destinadas à alimentação infantil, desenvolvendo, validando e implementando a técnica QuEChERS para análise de batata, cenoura e mandioquinha, tendo por objetivo o monitoramento que disponibilize dados para a avaliação de risco no fornecimento dos vegetais para produção na área de São José do Rio Pardo, comparando os dados obtidos das mesmas *commodities* citadas, adquiridas em fontes de varejo comuns da cidade de São Paulo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O uso de praguicidas em alimentos

O emprego de compostos químicos no controle de pragas visando a proteção de plantações, teve início há mais de 2.000 anos, quando os romanos utilizavam resíduos de compostos inorgânicos na manutenção de suas estradas (SOLOMON; STEFENSON, 2007). O uso mais antigo de praguicidas que se tem registro, cerca do ano 1200 a.C., envolveu a utilização de sal e de cinzas em campos conquistados por exércitos bíblicos, para tornar as terras improdutivas (JARDIM; ANDRADE, 2009), sendo esse meio, provavelmente, o primeiro emprego de herbicidas não seletivos. O segundo registro, datado por volta do ano 1000 a.C., foi relatado pelo poeta Homero que escreveu sobre a queima de enxofre para fumigar os lares gregos (WARE; WHITACRE, 2004).

Outro uso de praguicida data do ano 900 d.C, quando os chineses usaram arsênio para controlar insetos em jardins. O uso de óleo mineral também foi relatado por Marco Pólo, no ano 1300, cuja finalidade era combater sarnas em camelos (JARDIM *et. al.*, 2009). Por volta dos séculos XV e XVI, o arsênio voltou a ser utilizado, além de outros elementos químicos como o mercúrio, sendo ambos empregados no combate de pragas em plantações. Durante o século XIX vários herbicidas para o controle de plantas daninhas foram desenvolvidos a partir de compostos inorgânicos (SOLOMON; STEFENSON, 2007).

A IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada define estes compostos como substâncias, ou mistura de substâncias, utilizadas na produção, colheita ou armazenamento de alimentos, sendo capazes de prevenir, destruir ou combater espécies indesejáveis que, de alguma maneira, possam interferir na produção, no processamento, armazenamento, transporte e estocagem de alimentos, produtos agrícolas em geral, madeira e produtos derivados de madeira (IUPAC, 2010).

Os praguicidas são divididos em diversas classes funcionais: *Acaricidas* (contra ácaros), *Bactericidas* (contra bactérias), *Fungicidas* (contra fungos), *Herbicidas* (contra ervas daninhas), *Inseticidas* (contra insetos), *Nematicidas* (contra nematoides), *Rodenticidas* (contra roedores), *Moluscicidas* (contra moluscos) *Larvicidas* (contra larvas) e *Pediculicidas* (contra piolhos), além dos *Reguladores de Crescimento de Plantas*, *Repelentes e Atractantes* (feromônios), assim chamados para fins regulatórios (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

Quimicamente, podem ser classificados, entre outras classes, como organoclorados (Figura 1), organofosforados (Figura 2), carbamatos (Figura 3) e piretróides (Figura 4), sendo estas as principais classes, além dos sais inorgânicos (como, por exemplo, os de arsênio, tálio, bário, nitrogênio, fósforo, cádmio, selênio, chumbo e mercúrio), das substâncias naturais (nicotina, piretrina, rotenona – Figura 5) e dos novos praguicidas que não se apresentam divididos entre as citadas classes.

Figura 1 - Primeiros praguicidas organoclorados a serem sintetizados

Figura 2 - Inseticidas organofosforados responsáveis pelo grande avanço do uso de praguicidas na agricultura

Figura 3 - Estrutura básica dos inseticidas Carbamatos (ou organonitrogenados)

Figura 4 - Exemplos da classe dos inseticidas piretróides

Figura 5 - Praguicidas orgânicos de origem vegetal

A avaliação e a classificação do potencial de periculosidade ambiental de um praguicida são baseadas em estudos físico-químicos, toxicológicos e ecotoxicológicos, e dessa forma, um composto pode ser classificado com uma variação de I a IV: produtos altamente perigosos ao meio ambiente (Classe I), produtos muito perigosos ao meio ambiente (Classe II), produtos perigosos ao meio ambiente (Classe III) e produtos pouco perigosos ao meio ambiente (Classe IV) (IBAMA, 1996).

Já a classificação quanto aos riscos à saúde humana, decorrentes de exposição, está relacionada a diferentes ações biológicas apresentadas pelas diversas classes de praguicidas. Segundo a ANVISA, os componentes e afins que comprovarem, através de dados validados por estudos biológicos, serem teratogênicos, carcinogênicos ou mutagênicos, não receberão classificação toxicológica, e já os que provocarem corrosão, ulceração ou opacidade na córnea, irreversível dentro de 07 dias após a aplicação nas conjuntivas dos animais testados, serão submetidos a estudo especial pela ANVISA para concessão ou não de classificação toxicológica. A Tabela 1 descreve a classificação dos praguicidas segundo seus efeitos e concentrações ou doses.

Tabela 1 - Classificação dos praguicidas segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), de acordo com seus efeitos à saúde e concentrações (em mg/kg).

		CLASSE I	CLASSE II	CLASSE III	CLASSE IV
DL₅₀ Oral	Sólido	≤ 5,0	> 5,0 ≤ 20,0	> 50 ≤ 500,0	> 500,0
	Líquido	≤ 20,0	> 20,0 ≤ 200,0	> 200 ≤ 2000,0	> 2000,0
DL₅₀ Dérmica	Sólido	≤ 10,0	> 10,0 ≤ 100,0	> 100 ≤ 1000,0	> 1000,0
	Líquido	≤ 40,0	> 40,0 ≤ 400,0	> 400 ≤ 4000,0	> 4000,0
CL₅₀ Inalatória		≤ 0,2	> 0,2 ≤ 2,0	> 2,0 ≤ 20,0	> 20,0
Irritação Ocular		Opacidade da córnea reversível ou não dentro de 7 dias ou irritação persistente nas mucosas oculares	Sem opacidade de córnea; irritação na mucosa ocular reversível em 7 dias.	Sem opacidade de córnea; irritação na mucosa ocular reversível em 72 horas	Sem opacidade de córnea; irritação na mucosa ocular reversível em 24 horas
Irritação Dérmica		Ulceração ou corrosão na pele	Irritação severa, Draize-Cols ≥ 5	Irritação moderada, Draize-Cols ≥ 3 < 5	Irritação leve, Draize-Cols < 3

Fonte: ANVISA, 2007.

A exposição aos praguicidas pode ocorrer por via oral, dérmica ou inalatória (KLAASSEN; WATKINS III, 2010). Os efeitos causados à saúde humana estão divididos em três tipos de intoxicações: *aguda*, *subcrônica* e *crônica*. Na intoxicação aguda os sintomas aparecem rapidamente, algumas horas após a exposição excessiva por curto período de tempo

a produtos extrema ou altamente tóxicos, podendo acontecer de forma leve, moderada ou grave. A intoxicação *subcrônica* ocorre por exposição moderada ou pequena a produtos altamente tóxicos ou mediantemente tóxicos, e tem aparecimento mais lento. A intoxicação crônica caracteriza-se por surgimento tardio, após meses ou anos, por exposições pequenas ao longo do tempo de produtos ou múltiplos produtos (KLAASSEN; WATKINS III, 2010, podendo acarretar danos irreversíveis, como paralisia e neoplasias.

Altas doses por via oral podem acarretar graves intoxicações e até a morte, nos casos de ingestão intencional de praguicidas visando ao suicídio, ou da ingestão acidental, geralmente devido ao armazenamento desses compostos em embalagens inadequadas (KLAASSEN; WATKINS III, 2010). A maior forma de exposição, e que alcança a maior parte da população, está relacionada com a exposição através dos alimentos. Doses pequenas, crônicas, são consumidas pela população, como resíduos de praguicidas em alimentos e como contaminantes presentes na água (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

2.2. Principais classes biológicas aplicadas nos alimentos

O Brasil é conhecidamente um dos maiores produtores agrícolas do mundo, e tal fonte de rendimentos tem como ponto fraco a possibilidade de perda da margem de lucro devido à exposição a pragas que podem afetar a cultura.

Assim, a utilização em larga escala deu-se a partir da década de 1970, quando os praguicidas foram incluídos, compulsoriamente, junto com adubos e fertilizantes químicos, nos financiamentos agrícolas.

Para atender à crescente demanda de frutas, grãos e hortaliças, os agricultores têm sido estimulados a utilizar uma grande variedade de compostos para aumentar a produtividade e reduzir as perdas das safras. Isto tem levado ao uso indiscriminado de praguicidas, colocando em risco a saúde dos produtores, do meio ambiente e dos consumidores (ARAÚJO *et. al.*, 2007).

A crescente demanda por legumes, frutas e verduras com aparência adequada, com aspecto “fresco” e colorido, faz com que os produtores trabalhem cada vez mais com a aplicação abusiva de praguicidas, sendo as principais classes utilizadas, de acordo com a classificação do *CODEX Alimentarius*, os *acaricidas*, *aficidas*, *fumigantes*, *fungicidas*, *praguicidas genéticos*, *herbicidas*, *reguladores de crescimento de insetos*, *inseticidas*,

nematicidas, reguladores de crescimento de plantas, agentes controladores de escaldadura, preventores de escaldadura por estocagem e sinergistas (FAO; WHO, 2013).

No Brasil, de acordo com a ANDEF, Associação Nacional de Defesa Vegetal, as classes de maior uso nas culturas brasileiras são *inseticidas, os fungicidas, os herbicidas e os acaricidas*, podendo chegar a serem aplicados em quantidades abusivas (ANDEF, 2014).

2.2.1 Inseticidas

Os primeiros inseticidas, tratados como tais, a serem utilizados foram os naturais, como o piretro, a rotenona e a nicotina, que apresentavam maior segurança no uso agrícola e menor impacto ambiental (KLAASSEN; WATKINS III, 2010). Os inseticidas naturais foram gradativamente substituídos pelos sintéticos, pois apresentavam problemas com variações na eficiência, devido às diferenças na concentração do ingrediente ativo entre as plantas e baixo efeito residual, que obrigava a se fazer várias aplicações em períodos curtos (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

O manejo de insetos vistos como pragas tem sido feito nos últimos 70 anos através da aplicação de inseticidas sintéticos, sendo que desde o descobrimento do DDT por Paul Miller em 1939, centenas de compostos inseticidas tem sido desenvolvidos, acompanhados por crescimento relativamente estável no uso de praguicidas (CUTLER, 2013).

A toxicidade de substâncias químicas em insetos não as qualifica necessariamente como inseticidas, podendo ser divididas em *compostos que repelem e compostos que atraem* insetos. Diversas propriedades devem estar associadas à atividade inseticida, tais como eficácia em baixas concentrações, ausência de toxicidade frente a mamíferos e animais superiores, ausência de fitotoxicidade, fácil obtenção, manipulação e aplicação, viabilidade econômica e não ser cumulativa no tecido adiposo de humanos e de animais domésticos.

Visando diminuir o uso de inseticidas, cientistas tem se utilizado da engenharia genética em plantas de milho e algodão para produzir proteínas com ação inseticida codificadas por genes de bactérias comuns (TABASHNIK, *et. al.*, 2013). Assim, o uso de inseticidas diminuiu em algumas culturas, devido ao recente advento de variedades transgênicas que expressam toxinas com características inseticidas, porém, o uso de inseticidas sintéticos permanece ainda elevado na maioria das *commodities* (CUTLER, 2013).

Os inseticidas causam poluição do solo e de águas subterrâneas e efeitos nocivos em uma ampla variedade de organismos não-alvo (insetos benéficos, aves, mamíferos e humanos). Com o tempo, novas gerações resistentes de insetos emergem, necessitando o aumento de doses e a introdução de novos compostos com característica inseticida, levando-se em consideração também que alguns insetos que incomodam, sugam e que comem raízes não são afetados por compostos sintéticos (CHATTOPADHYAY *et. al.*, 2004). Devido aos seus efeitos nocivos, o uso de diversos inseticidas foi banido pela EPA – *Environmental Protection Agency* dos Estados Unidos, e outros estão sendo reavaliados em relação a sua periculosidade.

Segundo o *Insecticide Resistance Action Committee* (IRAC), os inseticidas podem ser divididos em diversos modos de ação (MoA), sendo os principais através da sua atuação no sistema nervoso central e muscular, no sistema digestório, na respiração celular, no crescimento e desenvolvimento (IRAC, 2015).

Os inseticidas de atuação no sistema nervoso e muscular são classificados como:

- *Inibidores da Acetilcolinesterase* (Carbamatos, Organofosforados);
- *Antagonistas de Canais de Cloro mediados pelo GABA* (Ciclodienos, Fenilpirazóis – Fiproles);
- *Moduladores de Canais de Sódio* (Piretróides, Piretrinas);
- *Ativadores Alostéricos de Receptores Nicotínicos de Acetilcolina* (Espinósinas);
- *Agonistas de Receptores Nicotínicos de Acetilcolina* (Neonicotinóides – Acetamiprida, Imidacloprida);
- *Ativadores de Canais de Cloro* (Avermectinas e Milbemicinas);
- *Bloqueadores de Canais dos Receptores Nicotínicos da Acetilcolina* (Cartap);
- *Bloqueadores dos Canais de Sódio dependentes de voltagem* (Indoxacarbe, Metaflumizona);
- *Moduladores de Receptores da Rianodina* (Diamidas, Ciantraniprole);
- *Bloqueadores Seletivos da Alimentação* (Pimetrozina, Flonicamida).

Os inseticidas com ação no Sistema Digestório dos insetos são classificados como *Disruptores Microbianos da Membrana do Mesentério* (*Bacillus thuringiensis* e *Bacillus esfaericus*). Já quando é envolvida a respiração celular, os compostos são classificados como *Desacopladores da Fosforilação Oxidativa via Disrupção do Gradiente de Prótons* (Clofenpir) e *Inibidores do Complexo I da Cadeia de Transporte de Elétrons da Mitocôndria* (Tolfenpirade).

O método de primeira escolha para controle de pragas tem sido o de pulverização de inseticidas, o qual normalmente é utilizado de forma errônea e abusivamente sem se levar em consideração os níveis limiares recomendados para o uso profilático, sendo essa uma das razões pela qual o Brasil se situa como o maior consumidor mundial de praguicidas (BUENO *et. al.*, 2011). Visando manter a sustentabilidade intermediária e de longo prazo no Brasil, vem sendo utilizado, para o controle profilático de pragas, o IPM – *Integrated Pest Management*, ou em português, o Gerenciamento Integrado de Pragas, o qual se esforça para empregar o uso racional de inseticidas assim como a integração harmoniosa de diferentes estratégias de controle (ZALUCKI *et. al.*, 2009). Porém, tal método tende a criar resistência e insegurança nos produtores ao redor do mundo, além de se conjecturar se a técnica é universalmente aplicável a todos os insetos e em pequenas e grandes áreas de cultivo.

Do ponto de vista toxicológico, os inseticidas apresentam alta toxicidade aguda para animais não-alvo quando comparados com outras classes de praguicidas. Alguns deles, mais precisamente os organofosforados, são os responsáveis, a cada ano, por um grande número de intoxicações humanas e mortes (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

2.2.2 Fungicidas

Fungicidas são compostos utilizados para prevenir o surto de doenças persistentes e de grande importância histórica em plantas, como a ferrugem (causada pela *Phytophthora infestans* e responsável pela fome da Batata Irlandesa em 1846) e de novas doenças, como a Ferrugem Asiática da Soja, sendo que ambas as doenças são potencialmente devastadoras se não controladas (LEADBEATER; GISI, 2009). Alguns exemplos de fungicidas utilizados são o boscalida, a azoxistrobina, a piraclostobin, o clorothalonil, o pirimetanil, o ciproimidil, a zoxamida, o fludioxinil, a fenhexamida, a captan, o fenarimol, o hexaconazol, o miclobutanil, o nuarimol, o penconazol, a procimidone, o triadimefom e o vinclozin.

Os produtores de praguicidas estão constantemente desenvolvendo novos fungicidas para encontrar compostos com maior eficácia de tratamento e menor capacidade de resistência dos patógenos, que depende do seu genoma e do modo de ação do fungicida (REILLY *et. al.*, 2012).

Diferentemente de outros praguicidas, os fungicidas são aplicados como protetores profiláticos de culturas somente dez vezes por estação, dependendo das condições e tipo de

cultura, mas em taxas mais baixas do que a maioria dos herbicidas e inseticidas (REILLY *et al.*, 2012).

A venda mundial de fungicidas por cultura totalizou US\$9.91 bilhões em 2010, e tem aumentado em uma taxa de 6,5% anualmente desde 1999. As culturas de maior impacto são frutas de pomares (24%), cereais (23%), soja (12%), vieiras (10%), arroz (8%), milho (4%) e tabaco (4%), sendo que na América Latina o uso de fungicidas triplicou em 2010 devido ao surto de ferrugem da soja no Brasil (HIROOKA; ISHII, 2013).

O FRAC – *Fungicide Resistance Action Committee* definiu grupos de fungicidas de acordo com o sítio alvo dos compostos, sendo classificados nos grupos básicos de fungicidas com alvos específicos e os fungicidas convencionais com vários sítios-alvo. Apesar dessa classificação, os inibidores da desmetilação do grupo esterol (DMI's – *Sterol Demetilation Inhibitors*) e os inibidores de quinona (QoI – *Quinone outside Inhibitors*), são representativos de fungicidas específicos e totalizam aproximadamente metade das vendas desses compostos (HIROOKA; ISHII, 2013).

Segundo a classificação do FRAC para 2015, os modos de ação dos fungicidas estão divididos de acordo com seu sítio alvo nos seguintes grupos:

- A – Síntese do Ácido Nucléico:
 - A1 – RNA Polimerase 1 (*benalaxil, furalaxil, metalaxil, ofurace, oxadixil*);
 - A2 – Adenosina-desaminase (*bupirimato, dimethrimol, etirimol*);
 - A3 – Síntese de DNA/RNA (*isoxazols, isotiazolones*);
 - A4 – DNA topoisomerase Tipo II (girase) (ácido oxolínico)
- B – Mitose e Divisão Celular:
 - B1 – Junção da β -Tubulina na Mitose (*fuberidazol, benomil, tiabendazol, carbendazim, tiofanato, tiofanato metílico*);
 - B2 – Junção da β -Tubulina na Mitose (com resistência cruzada negativa para B1) (*dietofencarbe*);
 - B3 – Junção da β -Tubulina na Mitose, benzamidas e tiazóis carboxaminados (*toluamide, etileno-tiazol carboxamida*);
 - B4 – Divisão Celular (*pencicuirom*);
 - B5 – Deslocalização das proteínas spectrin-like (*fluopicolida*).
- C – Respiração Celular:
 - C1 – Inibição do Complexo I NADH oxido-redutase (*diflumentorin, tolfenpirade*);

- C2 – Inibição do Complexo II succinato-desidrogenase (*fluxapiraxade, penflufen, furametapir, bixafen, sedaxano, fluopiram, tifulzamida, mepronil, flutolanil, benodanil, isofetamid, boscalida, carboxin, oxicarboxim, fenfuram*);
- C3 – Inibição do Completo III Citocromo bc1 (uniquinol oxidase) no site Qo (gene Cyt b) (*azoxistrobina, picoxistrobina, mandestrobina, orysastrobina, dimoxistrobina, metomistrobina, fenaministrobina, piraclostrobina, triclopiricarbe, kresoxim-metil, trifloxistrobina, piribencarbe, famoxadona, denamidona, fluoxastrobina*);
- C4 – Inibição do Complexo III Citocromo bc1 (uniquinol redutase) no site Qi (*ametoctradin*);
- C5 – Desacopladores da Fosforilação Oxidativa (*fluazinam, meptil dinocap, binapacril*);
- C6 – Inibidores da Fosforilação Oxidativa, ATP sintase (*fentin acetato, cloreto de fentin, hidróxido de fentin*);
- C7 – Produção de ATP (*siltiofam*);
- C8 - Inibição do Completo III Citocromo bc1 (uniquinol redutase) no site Qo (subsite da ligação da estigmatelina) (*ametoctradin*).
- **D – Síntese de Aminoácidos e Proteínas:**
 - D1 – Biosíntese da Metionina (gene cgs) (*ciprodinil, mepanipirim, pirimetanil*);
 - D2 – Síntese de Proteína (*blasticidin-S*);
 - D3 – Síntese de Proteína (*casugamicina*);
 - D4 – Síntese de Proteína (*estreptomina*);
 - D5 – Síntese de Proteína (*oxitetraciclina*).
- **E – Transdução do Sinal:**
 - E1 – Transdução do Sinal (mecanismo desconhecido) (*quinoxifem, quinazolinone*);
 - E2 – Transdução do Sinal Osmótico – MAP / histidina-quinase (os-2, HOG1) (*fenpiclonil, fludioxonil*);
 - E3 – Transdução do Sinal Osmótico – MAP / histidina-quinase (os-1, Daf1) (*iprodiona, clozolate, procimidona, vinclozin, dimetacilone*);
- **F – Síntese de Lipídio e Integridade de Membrana**
 - F2 – Biosíntese de Fosfolipídeo – metiltransferase (*pirazofós, iprobenfós, edifenfós, protiolane*);

- F3 – Peroxidação Lipídica (*dicloran, tecnazene, bifenil, quintozena, tolclofós-metil, cloronebe, etridiazol*);
- F4 – Permeabilidade da Membrana Celular, Ácidos Graxos (*propamocarbe, iodocarbe, protiocarbe*);
- F6 – Disruptores Microbiológicos de Membranas Celulares de Patógenos (*Bacillus sp.*);
- F7 – Rompimento da Membrana Celular (*Melaleuca alternifolia*, extrato de chá da árvore).
- G – Biosíntese de Esterol na Membrana
 - G1 – C14-desmetilase na biosíntese de esterol (*erg11/cyp51*) (*etaconazol, azaconazol, ipconazol, tebuconazol, bitertanol, fenbuconazol, metconazol, tetraconazol, fluquinconazol, bromuconazol, flusilazol, penconazol, triadimefom, ciproconazol, flutriafol, triadimenol, propiconazol, hexaconazol, simeconazol, diniconazol, imibidenconazol, triticonazol, protioconazol, epoxiconazol, triforine, pirifenox, pirisoxazol, nuarimol, fenarimol, imazalil, triflumizol, pefurazoate, procloraz, oxpoconazol*);
 - G2 – Δ^{14} -Redutase e $\Delta^8 > \Delta^7$ - isomerase na biosíntese de esterol (*erg2, erg24*) (*aldimorfe, fenproprimorfe, tridemorfe, dodemorfe, fenpropidin, piperalin, espiroxamina*);
 - G3 – 3-Ceto-redutase no C4-desmetilação (*erg27*) (*fenhexamida, fenpirazamine*);
 - G4 – Epoxidase do Esqualeno na Biosíntese do esterol (*erg1*) (*terbinafine, naftifine, piributicarbe*).
- H – Biosíntese da Parede Celular:
 - H3 – Biosíntese de Inositol e trehalase (*validamicina*);
 - H4 – Síntese de Quitina (*polioxina B*);
 - H5 – Síntese de Celulose (*dimetomorfe, flumorfe, pirimorfe, madipropamida, iprovalicarbe, bentiavalicarbe, valifenalate*).
- I – Síntese de Melanina na Parede Celular:
 - I1 – Redutase na Biosíntese de Melanina (*ftalida, piroquilon, triciclazole*);
 - I2 – Desidratase na Biosíntese de Melanina (*diclocimet, carpropamida, fenoxanil*);
 - I3 – Policetídeo Sintase na Biosíntese de Melanina (*tolprocarbe*).
- M – Ação multisites:

- *Enxofre, preparados de cobre, ditianon, clorotalonil, anilazine, captan, captafol, folpet, diclofluanid, tolifluanida, quinometionato, fluoroimida, iminoctadina, guazatina, febram, mancozebe, manebe, metiram, propinebe, ziram, tiram, zinebe.*
- P – Indução de Defesa na Planta Hospedeira
 - P1 - Passagem Salicólica (*Acibenzolar-S-metil*);
 - P2 – benzotiazóis (*probenconazol*);
 - P3 – tiadiazóis carboxamidas (*isotianil, tiadinil*);
 - P4 – polissacarídeos (*laminarin*);
 - P5 – extratos de planta (*Reynoutria sachalinensis*).
- Modos de Ação Desconhecidos:
 - *Cimoxanil, triazolide, foseetil-al, ácido fosforoso, tecloptalam, flusulfamide, diclomezine, ciflufenamid, metasulfocarbe, flutianil, dodine, ferimzone, metrafenone, oxatiapiprolin, piriofenone, tebufloquin, piriofenone, picarbutrazox.*
- NC – Não Classificados:
 - Óleos minerais, óleos orgânicos, bicarbonato de potássio, materiais de origem biológica.

O principal problema do uso de fungicidas é o desenvolvimento de resistência. A resistência aos fungicidas acontece quando populações dos patógenos-alvo surgem e não são mais suficientemente sensíveis ao fungicida para ser controlado adequadamente no campo. A resistência geralmente aparece como uma resposta ao uso repetido de um fungicida ou ao uso repetido de fungicidas quimicamente parecidos, expressando um mecanismo de ação antifúngico comum, sendo que a resistência é mais comumente observada ao longo dos anos, principalmente para compostos com somente um sítio de ação (HIROOKA; ISHII, 2013).

O controle de doenças causadas por fungos é difícil, pois a resistência aos fungicidas apresenta uma tendência de aumento, dificultando a escolha dos compostos, principalmente pela falta de alternativas. Porém, segundo Gisi e Leadbeater (2010), a resistência pode ser melhor combatida usando-se uma combinação de fungicidas com diferentes mecanismos de ação como o mancozebe e o clorotalonil. Os autores também mencionam a importância do IPM – *Integrated Pest Management*, que através dos seus cinco elementos principais e sua correta análise e integração (culturas de plantas, populações das pragas, meio ambiente,

consumidores e economia) podem auxiliar na diminuição da perda nas colheitas e na diminuição da resistência aos compostos fungicidas.

Do ponto de vista toxicológico, embora existam poucas exceções, os fungicidas apresentam baixa toxicidade aguda em mamíferos, sendo que alguns deles foram associados a graves surtos de intoxicação e foram banidos (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

Os compostos de maior relevância são a Captana, o Folpet, Ditiocarbamatos, fungicidas inorgânicos e organometálicos.

2.2.3 Herbicidas

Os herbicidas são agentes químicos capazes de matar ou causar danos graves em plantas, e podem ser classificados de acordo com seus mecanismos de ação e efeitos biológicos nas plantas. Outros métodos que permitem a classificação desses compostos estão associados com a época em que são aplicados e de qual forma são aplicados nas plantas.

Os herbicidas *pré-plantio* são aplicados no solo antes da semeadura, os *pré-emergentes* antes do aparecimento das ervas daninhas, e os *pós-emergentes*, são aplicados no solo ou nas folhagens após a germinação das culturas ou das ervas daninhas (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

A classificação dos herbicidas conforme seu mecanismo de ação tem sofrido diversas mudanças ao longo do tempo, tanto em função de descobertas de novos herbicidas quanto pela elucidação dos sítios de atuação em plantas, de forma que a classificação internacionalmente aceita atualmente é a proposta pelo HRAC – *Herbicide Resistance Action Committee* (HRAC, 2015).

Assim, segundo a HRAC, a classificação segundo o mecanismo de ação se configura da seguinte forma:

- Classificação A: Inibição da acetil CoA carboxilase:
 - Ariloxifenoxipropionatos (FOPs), Ciclohexanodionas (DIMs), Fenilpirazolinás (DENS);
- Classificação B: Inibição da Acetolactato Sintase (ALS) ou (acetohidroxiácido sintase AHAS):
 - Sulfoniluréias, Imidazolinonas, Triazolopirimidinas, Pirimidinil(tio)benzoatos, Sulfonil-aminocarboniltriázolinonas;

- Classificação C1: Inibição da Fotossíntese no Fotossistema II
 - Triazinas, Triazinonas, Triazolinonas, Uracilas, Piridazinonas, Fenil-Carbamatos;
- Classificação C2: Inibição da Fotossíntese no Fotossistema II:
 - Uréias, Amidas;
- Classificação C3: Inibição da Fotossíntese no Fotossistema II:
 - Nitrilas, Benzotiadiazinonas, Fenil-piridazinas;
- Classificação D: Inibição da Fotossíntese no Fotossistema I:
 - Bipyridíliuns;
- Classificação E: Inibição da Protoporfirinogênio Oxidase (PPO):
 - Difeniléteres, Fenilpirazols, N-fenilftalimidas, Tiadiazols, Oxadiazols, Triazolinonas, Oxazolidinedionas, outros;
- Classificação F1: Inibição da Biossíntese de Carotinóides na Fitoeno Desaturase (PDS):
 - Piridazinonas, Piridinecarboxamidas, outros;
- Classificação F2: Inibição da Biossíntese de Carotinóides na 4-hidroxifenil-piruvato-dioxigenase (4-HPPD):
 - Tricetonas, Isoxazols, Pirazols, outros;
- Classificação F3: Inibição da Biossíntese de Carotinóides (alvo desconhecido):
 - Triazols, Isoxazolidinonas, Difeniléteres;
- Classificação G: Inibição da EPSP Sintase:
 - Glicinas;
- Classificação H: Inibição da Glutamina Sintetase:
 - Ácido Fosfínico;
- Classificação I: Inibição da DHP (Dihidropteroato Sintase):
 - Carbamatos;
- Classificação K1: Inibição da Formação de Microtúbulos:
 - Dinitroanilinas, Fosforoamidatos, Piridinas, Benzamidas, Ácido Benzoico;
- Classificação K2: Inibição da Mitose:
 - Carbamatos;
- Classificação K3: Inibição da Divisão Celular:
 - Cloroacetamidas, Acetamidas, Oxiacetamidas, Tetrazolinonas, outros;
- Classificação L: Inibição da Síntese de Parede Celular (celulose):
 - Nitrilas, Benzamidas, Triazolocarboxamidas, Ácido Quinolinocarboxílico;

- Classificação M: Desacopladores (Disruptores de Membrana):
 - Dinitrofenóis;
- Classificação N: Inibição da Síntese de Lipídeos – Diferentes de Inibidores de ACCase:
 - Tiocarbamatos, Fosforoditioatos, Benzofuranas, Ácido Clorocarbeônico;
- Classificação O: Mimetizadores da Auxina:
 - Ácido Fenóxicarboxílico, Ácido Benzoico, Ácido Piridinecarboxílico, outros;
- Classificação P: Inibidores do Transporte de Auxinas:
 - Ftalamatos, Semicarbazonas;
- Classificação Z: Desconhecidos:
 - Ácido Arilaminopropiônico, Pirazóliuns, Organoarsenicais, outros.

Os herbicidas triazínicos foram descobertos em 1954, e desde que o primeiro composto desse grupo, a *Simazina*, foi manufaturado em 1958, as triazinas se tornaram praguicidas mundialmente populares (LIU *et. al.*, 2013), sendo a atrazina a mais utilizada (OLIVEIRA JR. *et.al.*, 2011).

Diversos herbicidas podem causar irritação e dermatite de contato, particularmente em indivíduos predispostos a reações alérgicas. Outros compostos têm gerado muita discussão por suspeita de neurotoxicidade ou carcinogenicidade (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

Os principais herbicidas que estão sendo usados mundialmente como ferramenta básica na agricultura moderna são o Glifosato e o 2,4-D (ácido diclorofenoxiacético), sendo que muitas vezes são utilizados em associação buscando aumentar a eficácia da atividade biológica (TAKANO *et. al.*, 2013). A razão para esse sucesso não é só devido a sua grande atividade como herbicida, mas também devido a um dos melhores perfis toxicológicos disponíveis e um preço muito acessível.

Um dos compostos que apresentam uma das mais altas toxicidades agudas entre os herbicidas é o *Paraquate*, que independentemente da via de exposição, acarreta lesões pulmonares e renais, sendo excretado inalterado pela urina. Apresenta pouca ou nenhuma genotoxicidade, não é carcinogênico para roedores, não induz efeito teratogênico e apresenta fetotoxicidade apenas nas doses em que se observa toxicidade materna (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

2.2.4 Acaricidas

Até meados do século 20, ácaros e outros ectoparasitas da mesma família que se alimentam de plantas eram pragas pouco relevantes em culturas agrícolas, presumivelmente devido à regulação por insetos e ácaros predadores. Avanços na produção agrícola depois da Segunda Guerra Mundial, baseado no uso extensivo de praguicidas sintéticos e fertilizantes, irrigação e outras práticas culturais, induziram o crescimento da população de ácaros muito acima dos níveis aceitáveis economicamente (MARCIC, 2012).

O arsênio foi a primeira substância registrada na América do Sul como acaricida, e demonstrou excelentes propriedades para tal. Em 1939, os organoclorados, predominantemente o DDT e o hexaclorobenzeno, foram introduzidos no mercado brasileiro como a primeira geração de praguicidas com atividade acaricida (SONENSHINE; ROE, 2014). Segundo estes autores, as principais classes de compostos com atividades acaricidas são:

- Amidinas: *Clordimeform*, *Clenpirin*, *Clorometiuron*, *Amitraz*, *Cymiazol*. A formamidina *Amitraz* foi identificada por Knowles (1982) com capacidade de interagir como sinergista de inseticidas organofosforados, organoclorados, Carbamatos e piretróides, sendo que diversos autores vêm demonstrando o sinergismo de piretróides com o *Amitraz* em insetos e carrapatos (PRULLAGE *et. al.*, 2011)
- Lactonas Macroclícas: *Ivermectina*, *Abamectina*, *Doramectina*, *Eprinomectina*, *Selamectina* (Avermectinas) e *Moxidectina* (Milbemicina).
- Espinosinas: Espinosinas são compostos macrolídeos tetracíclicos produzidos da fermentação das bactérias do gênero *Saccharopolyspora*, sendo que o ingrediente ativo deriva da mistura dos *Espinosinas A* e *D*, usado para o controle de carrapatos de gado resistentes à *Amitraz* (SONENSHINE; ROE, 2014).
- Benzoilfeniluréais: *Diflubenzurom*, *Fluazuron*.
- Fenilpirazols: *Fipronil*. O Fipronil é o protótipo da classe de fenilpirazols dos acaricidas, foi descoberto na década de 1980 e desenvolvido inicialmente como um praguicida de proteção de colheitas (SONENSHINE; ROE, 2014).

Acaricidas tais como *clofentezim*, *clorfenapir* e *fenpiroximato* foram desenvolvidos para controlar insetos e ácaros, e apesar das práticas efetivas no controle dessas pragas, discrepâncias em seus usos quanto a dosagem, métodos de aplicação, período de latência e

ampla utilização ao redor do mundo tem inevitavelmente resultado em contaminação direta de produtos alimentícios (ZHANG *et. al.*, 2013).

O controle químico de acaricidas sintéticos permanece um componente crucial dos programas do *Integrated Pest Management* (IPM) ao redor do mundo, e é pouco provável que existam mudanças num futuro próximo (LEEUEWEN *et. al.*, 2014). Novas moléculas com diferentes mecanismos de ação estão constantemente sendo desenvolvidas frente à necessidade apresentada pelo desenvolvimento de resistência de classes químicas já estabelecidas.

2.2.5 Interferentes endócrinos

Um dos assuntos mais amplamente discutidos no mundo atual dos praguicidas é o impacto causado pelos chamados Desreguladores Endócrinos. Grande parte das substâncias químicas identificadas como disruptores endócrinos são praguicidas, sendo que o número de substâncias já caracterizadas com esse efeito em potencial já ultrapassou a casa de 100 compostos. Segundo Mnif *et. al.* (2011), desses praguicidas, 46% são inseticidas, 21% herbicidas e 31% fungicidas, sendo que alguns deles, como o DDT e a Atrazina, já tiveram seus registros cancelados pelos órgãos responsáveis, mas podem ainda ser encontrados no meio ambiente.

Os EDC's (*Endocrine Disrupting Compounds*) atuam principalmente através da interferência com hormônios naturais, em função do seu alto potencial em se ligar aos receptores estrogênicos e androgênicos. Em particular, os EDC's podem se ligar e ativar diversos receptores hormonais, e então mimetizar a ação natural do hormônio como uma ação agonista. Além disso, os EDC's podem também se ligar aos receptores sem ativá-los, atuando como antagonistas, bloqueando os receptores e inibindo sua ação, e interferir na síntese, transporte, metabolismo e eliminação dos hormônios, reduzindo então a concentração normal dessas substâncias no organismo (MNIF *et al.*, 2011).

Diversos estudos tentam demonstrar a correlação entre o aumento das anormalidades na função sexual e reprodutiva em animais e seres humanos devido à atuação dos disruptores endócrinos. Lara, Duarte e Reis (2011) enfatizam em sua revisão que a queda de fecundidade em vários países ao longo dos anos, algumas alterações anatômicas na genitália masculina, a

diminuição de gametas masculinos, a modificação na morfologia dos espermatozoides e a piora na qualidade do sêmen podem estar relacionados à exposição aos agentes disruptores.

Diversos programas de órgãos como a EPA – *Environmental Protection Agency* dos Estados Unidos tem trabalho fortemente em estudos na busca da classificação de substâncias químicas como desreguladores endócrinos. Em 17 de Novembro de 2010, a EPA lançou uma lista esboço com 134 substâncias com potencial para essa classificação, sendo grande parte dessas substâncias praguicidas, como o Cletodim, a Clofentezina, o Coumafós, o Dicrotofós, o Endrin, o Lindano, o Quinclorac, o Vinclozin e o Ziram.

2.3. Principais classes químicas de praguicidas

2.3.1 Inseticidas organoclorados

Os organoclorados são hidrocarbonetos clorados sintéticos que foram amplamente utilizados até meados da década de 1970. Muitos dos compostos organoclorados são conhecidos como *Poluentes Orgânicos Persistentes* (POPs) por apresentarem alta capacidade de bioacumulação, biomagnificação, efeitos tóxicos definidos, resistência à degradação, possibilidade de transporte pelo ar, pela água e pelas espécies migratórias através das fronteiras internacionais e possibilidade de serem depositados em locais distantes de sua liberação original, podendo se acumular em ecossistemas terrestres e aquáticos (OGA *et. al.*, 2008). Apresentam toxicidade aguda moderada, porém a exposição crônica pode estar associada a efeitos adversos, sobretudo hepáticos, e a interferência endócrina, no sistema reprodutor (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

A persistência desses compostos ocorre em função de sua baixa degradação por processos bióticos e abióticos, acarretando em elevada meia-vida no ambiente, que pode chegar a anos ou décadas (JONES; VOOGT, 1999). A agricultura passou a usar os praguicidas organoclorados, principalmente após a Segunda Guerra Mundial. No Brasil, as culturas de café e algodão foram as principais razões da introdução dos inseticidas sintéticos, sendo o DDT (dicloro-difenil-tricloroetano) e o HCH (hexaclorociclohexano) os mais empregados, tanto na agricultura como na saúde pública (LARA; BATISTA, 1992).

2.3.2 Inseticidas organofosforados

Os compostos organofosforados tiveram sua síntese iniciada na Alemanha juntamente com os compostos organoclorados, com a diferença de serem derivados do ácido fosfórico e inicialmente utilizados para fins bélicos durante a Segunda Guerra Mundial, tendo sido desenvolvidos paralelamente aos gases empregados como armas de guerra. Posteriormente, essas substâncias sofreram remodelagem, buscando a diminuição de toxicidade e o possível emprego como praguicidas.

No Brasil, a ocorrência de intoxicações por organofosforados foi e continua sendo alta desde o início do seu emprego, apesar da queda de aplicação em relação à década de 1980. Essas intoxicações têm como causa o fato de que a exposição aos organofosforados ocorre não somente em exposições ocupacionais, mas também no meio rural (MORGAN *et. al.*, 2005). Dentre os principais compostos pode-se citar o clorpirifós e o metamidofós, ambos amplamente utilizados, e com os maiores números de casos registrados de intoxicação (SANTOS *et. al.*, 2004).

Além da presença do fósforo em sua molécula, podem estar presentes também átomos de oxigênio e enxofre, e substituintes de maior ou menor reatividade ligados ao fósforo. São ésteres amido ou tiol-derivados dos ácidos fosfórico, fosfônico, fosforotióico e fosfonotióico. A partir das diferenças químicas, os organofosforados podem ser divididos em diversas subclasses, que incluem os fosfatos, os fosforotioatos, os fosforamidatos, os fosfonatos, entre outros (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

São rapidamente hidrolisados, tanto no meio ambiente como nos meios biológicos, e bastante lipossolúveis, com alto coeficiente de partição óleo/água (OGA *et. al.*, 2008).

Estes compostos são absorvidos pela pele, trato respiratório e trato gastrointestinal: as duas primeiras vias principalmente em casos de exposição ocupacional e a última, em casos de ingestão acidental ou tentativa de suicídio, sendo que a taxa de absorção é modificada, e muitas vezes aumentada, pelos solventes presentes na formulação. A absorção cutânea é maior em temperaturas elevadas ou quando existem lesões na pele (OGA *et. al.*, 2008).

Por serem agentes colinérgicos indiretos, inibem a colinesterase, enzima que causa a inativação da acetilcolina, fazendo com que a mesma atue de modo mais intenso no local das sinapses colinérgicas. Dessa forma, o efeito inibidor pode ocasionar lacrimejamento, salivação, sudorese, diarreia, tremores e distúrbios cardiorrespiratórios. Estes últimos são decorrentes de broncoconstrição, aumento das secreções brônquicas e bradicardia, bem como

de depressão do SNC, sendo as principais causas de morbidade e mortalidade por tais produtos (ECOBICHON; JOY, 1991).

A intoxicação por organofosforados é tratada com a administração concomitante de atropina e oximas, enquanto que o uso de oximas para carbamatos é controversa e contraindicada por algumas autoridades (ROTENBERG *et. al.*, 1995). A oxima 2-PAM I (2-piridina aldoxima metiliodada) foi descoberta como um reativador das colinesterases fosforiladas (LIESKE *et. al.*, 1992), utilizada como antídoto da inibição da acetilcolina. Lieske *et. al.* (1992) evidenciaram em seus estudos que os efeitos adversos das oximas são derivados da formação de uma oxima carbamylada, que possui efeitos de inibição da acetilcolinesterase mais potentes do que os próprios carbamatos.

2.3.3 Carbamatos ou organonitrogenados

Os Carbamatos são ésteres do ácido carbâmico, e, em sua maioria, são *N*-metilcarbamatos (KLAASSEN; WATKINS III, 2010). São muito estáveis em condições neutras e alcalinas à temperatura ambiente e, ao contrário dos organofosforados, foram desenvolvidos a partir de produtos naturais, sendo os mais conhecidos o Carbaril, o Carbofurano, o Dioxacarbe e o Propoxur. Esses compostos possuem baixa pressão de vapor, são moderadamente solúveis em benzeno e tolueno, e altamente solúveis em metanol e acetona (OGA *et. al.*, 2008).

Historicamente são conhecidos desde meados dos anos 1800, quando “julgamentos por ordálio” chegaram à Europa, onde as sementes das favas-de-calabar (uma leguminosa, *Physostigma venenosum*) eram administradas aos suspeitos; aqueles que morriam eram considerados culpados, e os sobreviventes eram inocentes (SOLOMON; STEFENSON, 2007). Os efeitos tóxicos eram causados pela mais tarde comprovada substância fisostigmina, que posteriormente sofreu modificações moleculares, chegando à síntese de compostos que não apresentam efeito como inseticidas de contato, apesar de terem ação como inibidores ativos da acetilcolinesterase em mamíferos.

As vias de absorção dos carbamatos são as mesmas dos praguicidas mencionados anteriormente, cutânea, respiratória e gastrointestinal, sendo que a exposição dérmica se torna crítica quando o organismo se encontra em temperatura ambiente elevada (CALDAS *et. al.*, 2000).

Da mesma forma que os organofosforados, os carbamatos são responsáveis pela inibição da colinesterase, e a síndrome colinérgica que produzem costuma ser reversível e de duração relativamente curta (OGA *et. al.*, 2008).

Os sintomas da intoxicação por carbamatos não são distinguíveis quanto a intoxicação por organofosforados, apesar de serem de menor duração.

2.3.4 Piretróides

Esse grupo de compostos integra tanto produtos naturais como compostos sintéticos (SOLOMON; STEFENSON, 2007). Os piretróides sintéticos são obtidos a partir das piretrinas, nome comercial dado aos extratos purificados extraídos de algumas espécies de plantas da família *Compositae*. O pó ou extratos feitos a partir das folhas das várias espécies de crisântemos ou piretros como, por exemplo, o *Chrysanthemum cinerariaefolium*, têm sido usados há mais de dois séculos como inseticida no controle de pragas (RODRIGUES, 2010).

Entre os principais ingredientes ativos, largamente utilizados como inseticidas domésticos, podem ser citados: aletrina, cipermetrina, deltametrina, resmetrina e bioresmetrina (OGA *et. al.*, 2008).

Os piretróides são, atualmente, os inseticidas mais utilizados, pois apresentam baixa toxicidade em mamíferos, baixo impacto ambiental, são efetivos contra um largo espectro de insetos e são necessárias baixas quantidades para exercerem sua ação (SANTOS; AREAS; REYES, 2007).

Quimicamente, os piretróides sintéticos são ésteres de ácidos específicos (como o ácido crisantêmico) e de alcoóis (como a aletrolona). Para alguns piretróides, o centro assimétrico existe na fração do ácido e/ou álcool, e os produtos comerciais são constituídos, algumas vezes, de uma mistura de ambos isômeros ópticos e geométricos. Todavia, a atividade inseticida desses produtos reside em somente um ou dois isômeros (EHC 97, 1990).

Nos piretróides que possuem o grupo ciclopropano, a isomerização causada pela presença do anel influencia grandemente na toxicidade desses praguicidas. A presença de dois centros quirais no anel resulta em dois pares de diastereômeros. A conformação 1R do ciclopropano é considerada mais tóxica do que a conformação 1S. Para os isômeros *cis* e *trans*, ambos apresentam atividade inseticida, porém diferentes toxicidades em mamíferos, sendo os isômeros *cis* mais potentes. Os piretróides que contém um substituinte ciano (CN)

no grupamento álcool são considerados piretróides do Tipo II (o praguicida cialotrina, por exemplo), e demonstram toxicidade diferenciada baseada na isomerização óptica do carbono alfa. Admite-se que a conformação S do carbono alfa é consideravelmente mais tóxica em relação a insetos quando comparado com a conformação R (ASTDR, 2003).

Os piretróides que não possuem um substituinte ciano (aletrina, d-fenotrina, permetrina, tetrametrina) são considerados compostos do Tipo I. A diferença de ação entre o Tipo I e Tipo II está baseada na ligação com o receptor GABA (EHC 97, 1999), sendo que os praguicidas do Tipo I causam sintomas como tremores que abrangem o corpo inteiro, e os do Tipo II causam a estimulação de salivação e coreoateteose (movimentos involuntários e incontroláveis) (ASTDR, 2003).

Figura 6 - Deltametrina, piretróide do grupo Tipo II, que contém substituinte CN

Figura 7 - Aletrina, piretróide do grupo Tipo I, que não contém substituinte CN

As piretrinas e os piretróides são absorvidos por via oral, através da inalação de pó ou spray, em pequena proporção por via dérmica e são rapidamente e extensivamente absorvidos pelo trato gastrointestinal após a administração oral, sendo a taxa de absorção aumentada pela presença de solventes orgânicos, inclusive nas formulações comerciais. Após a absorção, distribuem-se rapidamente no organismo, de modo que a alta lipossolubilidade e a presença de glicoproteínas transportadoras favorecem a entrada dos piretróides no cérebro (OGA *et. al.*, 2008).

O modo de ação do piretro e de alguns piretróides sintéticos, como a permetrina, ocorre no axônio da célula nervosa, semelhante à ação do DDT, onde se acredita que esses compostos afetem o efluxo de potássio após a passagem do potencial de ação, provocando

hipersensibilidade no nervo responsável pelas convulsões observadas em insetos (SOLOMON; STEFENSON, 2007).

No homem, uma vez absorvidos, os piretróides são rapidamente biotransformados por duas vias principais: pela hidrólise da ligação éster, catalisada por carboxiesterases plasmáticas e hepáticas, e pela oxidação da ligação alcoólica pelas enzimas do citocromo P450, seguido por outras reações de hidrólise e oxidação, além de conjugações com sulfato ou ácido glucurônico (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

Apresentam efeitos tóxicos seletivos sobre os canais de sódio, atuando potentemente em sua abertura e fechamento, prolongando o tempo de entrada dos íons Na^+ para o interior da célula, causando descargas neuronais repetidas e um maior tempo de repolarização. Em concentrações relativamente altas, os piretróides do Tipo II agem sobre o complexo receptor inotrópico do ácido γ -aminobutírico (GABA), ou seja, ligam-se aos receptores do GABA (principal neurotransmissor inibitório do Sistema Nervoso Central) bloqueando os canais de cloro e sua ativação (SANTOS *et. al.*, 2007), sendo que a ausência de inibição sináptica leva a uma hiperexcitabilidade do SNC.

Os sintomas apresentados nos quadros clínicos de intoxicação por piretróides são comumente, para via dérmica, eritema, vesículas, parestesias e sensação de queimação, prurido nas áreas atingidas, principalmente a pele do rosto, do pescoço, do antebraço e das mãos (OGA *et. al.*, 2008). Esses efeitos são revertidos em 24 horas após a exposição, sendo de grande utilidade a aplicação tópica de vitamina E (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

Por via digestiva, ocorrem dor epigástrica, náuseas e vômitos, que se iniciam em um período de 10 a 60 minutos após a ingestão. Os sintomas sistêmicos mais importantes são sonolência, cefaleia, anorexia, fadiga e fraqueza (OGA *et. al.*, 2008).

2.3.5 Outras classes químicas relevantes

2.3.5.1 Avermectinas e Milbemicinas

As Avermectinas são lactonas macrocíclicas isoladas da fermentação e pertencem a um grupo de praguicidas produzidos pelo actinomiceto *Streptomyces avermitilis*, que é

retirado do solo. Duas Avermectinas, Abamectina e benzoato de Emamectina, são muito utilizadas como inseticida (SOLOMON; STEFENSON, 2007).

As Milbemicinas, representadas principalmente pelo composto Moxidectina, possui atividade antiparasitária assim como as Avermectinas, sendo que se tornaram de grande interesse da agropecuária pelo seu expressivo potencial de atividade biológica que ambas demonstram contra pragas aracnoides e nematoides, com baixa toxicidade em mamíferos, características ambientais geralmente benignas e modo de ação único (PRICHARD; MÉNEZ; LESPINE, 2012).

O fungo *Streptomyces avermitilis* sintetiza oito Avermectinas que apresentam atividade antiparasitária. Os derivados semissintéticos da Avermectina B_{1a}, benzoato de Emamectina e Ivermectina, são usados, respectivamente, como inseticidas e no controle de parasitas na medicina humana e veterinária (KLAASSEN; WATKINS III, 2010). As Milbemicinas são fermentadas pelo microrganismo *Streptomyces cyaneogriseus*, e apresentam algumas diferentes químicas estruturais quanto às Avermectinas.

O mecanismo de ação das Avermectinas nos organismos alvo ainda não está completamente elucidado, apesar do grande número de ensaios envolvendo essas moléculas. O mecanismo atualmente proposto é a ativação dos canais de cloreto dos neurotransmissores inibitórios do ácido gama-aminobutírico e glutamato, provocando a paralisia dos parasitas (SOUZA *et. al.*, 2008). Segundo Stevens e Brekenridge (2001), as Avermectinas são agonistas do GABA, principalmente nos receptores na junção neuromuscular, provocando paralisia e morte lenta nos insetos e parasitas. De acordo com Prichard, Ménez e Lespine (2012), as Milbemicinas e as Avermectinas possuem um grupo estrutural em comum, o C-16 do anel da lactona macrocíclica fundido com ambos os grupamentos benzofurano e Espiroacetal num arranjo tridimensional, o qual é reconhecido pela interação com receptores de canais de cloro específicos. A alta afinidade de ligação das lactonas macrocíclicas com esses receptores é responsável pelo modo de ação dessa classe de compostos.

A Figura 8 ilustra a estrutura geral das Avermectinas.

Figura 8 - Estrutura química básica das Avermectinas

As Avermectinas apresentam baixa lipossolubilidade, não são biomagnificadas e nem persistentes (SOLOMON; STEFENSON, 2007). Apesar de sua baixa toxicidade, os efeitos adversos em mamíferos apresentados são hiperexcitação, tremores e incoordenação, seguidos de ataxia e sedação do tipo comatosa (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

2.3.5.2 Nicotinóides e neonicotinóides

A nicotina é um alcaloide extraído das folhas do tabaco (*Nicotiana tabacum* e *Nicotiana rustica*), considerada um inseticida menos relevante, e os sintomas de intoxicação incluem náusea, vômito, fraqueza muscular, efeitos respiratórios, cefaleia, letargia e taquicardia (KLAASSEN; WATKINS III, 2010). O mecanismo de ação envolve a ligação do receptor da acetilcolina na junção pós-sináptica do nervo, e por apresentar tamanho molecular e carga semelhantes à da acetilcolina, se liga ao receptor nicotínico desta no sistema nervoso (SOLOMON; STEFENSON, 2007).

Os neonicotinóides (também conhecidos como inseticidas clononictinil) tiveram origem da molécula de nicotina, tendo como principais representantes o Imidacloprida, a acetomiprida e a clorfanidina. Esses compostos atuam como agonistas dos receptores nicotínicos dos insetos, e a aparente segurança desses compostos deve-se, em grande parte, à sua grande seletividade para atuar nos receptores nicotínicos dos insetos, sendo inativos nos receptores dos vertebrados, apresentando menores efeitos secundários do que outras classes de praguicidas (DURO, 2013).

2.4. Praguicidas em batata, cenoura e mandioquinha no Brasil

A maioria dos praguicidas é utilizada na agricultura, sendo este uso um dos grandes dilemas desde o século XX. Os alimentos que chegam à mesa dos consumidores podem apresentar o risco da presença de diversas substâncias potencialmente tóxicas, substâncias essas que incluem os praguicidas, que são aplicados nas plantações com liberação pelos órgãos reguladores, ou sem a devida aprovação.

Uma das tentativas de controle do governo brasileiro sobre o uso indevido desses compostos é o PARA, *Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos*, dirigido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), iniciado como projeto em 2001 e instituído como programa em 2003, e que fornece subsídio para a tomada de decisão de restrição e banimento dos praguicidas perigosos para a população.

A ANVISA se responsabiliza pela análise toxicológica desta classe de compostos que pleiteiam registro ou alterações pós-registro, sua reavaliação à luz de novos conhecimentos e alertas, o monitoramento pós-registro através do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) e da Rede Nacional de Centros de Informação e Assistência Toxicológica (RENACIAT), a fiscalização da conformidade de sua fabricação, assim como ações de informação da sociedade e capacitação em Toxicologia (ANVISA, 2010).

Nas atividades de 2010, o PARA colheu amostras nos estados do Acre, Alagoas, Amapá, Amazonas, Bahia, Ceará, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraíba, Paraná, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Rondônia, Roraima, Santa Catarina, Sergipe e Tocantins. O estado de São Paulo tem seu próprio Programa de Análise Fiscal de Alimentos, o “Programa Paulista” (ANVISA, 2011).

Dentro da amostragem realizada e analisada, para as atividades do ano de 2010, verificou-se que 28% das amostras se encontravam insatisfatórias, 35% eram satisfatórias apresentando resíduos superiores aos Limites Maximos de Residuos (LMR) e 37% satisfatórias. A Tabela 2 apresenta o número de amostras analisadas por cultura e seus resultados insatisfatórios para 2010.

Tabela 2 - Número de amostras analisadas por cultura e resultados observados observados no PARA na edição de 2010

Produto	Nº de amostras analisadas	NA		>LMR		>LMR e NA	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
Abacaxi	122	20	16,4%	10	8,2%	10	8,2%
Alface	131	68	51,9%	0	0,0%	3	2,3%
Arroz	148	11	4,7%	0	0,0%	0	0,0%
Batata	145	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
Beterraba	144	44	30,6%	2	1,4%	1	0,7%
Cebola	131	4	3,1%	0	0,0%	0	0,0%
Cenoura	141	69	48,9%	0	0,0%	1	0,7%
Couve	144	35	24,3%	4	2,8%	7	4,9%
Feijão	153	8	5,2%	2	1,3%	0	0,0%
Laranja	148	15	10,1%	3	2,0%	0	0,0%
Maçã	146	8	5,5%	5	3,4%	0	0,0%
Mamão	148	32	21,6%	10	6,8%	3	2,0%
Manga	125	5	4,0%	0	0,0%	0	0,0%
Morango	112	58	51,8%	3	2,7%	10	8,9%
Pepino	136	76	55,9%	2	1,5%	0	0,0%
Pimentão	146	124	84,9%	0	0,0%	10	6,8%
Repolho	127	8	6,3%	0	0,0%	0	0,0%
Tomate	141	20	14,2%	1	0,7%	2	1,4%
Total	2488	605	24,3%	42	1,7%	47	1,9%

(1) amostras que apresentaram somente IA não autorizados (NA)

(2) amostras somente com IA autorizados, mas acima dos limites máximos autorizados (>LMR)

(3) amostras com as duas irregularidades (NA e >LMR)

(1+2+3) soma de todos os tipos de irregularidades

Fonte: (ANVISA, 2010)

Pode-se verificar que a batata e a cenoura, que se encontram presentes entre as amostras analisadas no programa, e são matrizes majoritárias na produção de baby-food e produtos similares, apresentam resultados opostos, onde na batata não foram identificados praguicidas não autorizados e nem acima dos Limites Máximos de Resíduo, e na cenoura aproximadamente metade das amostras analisadas apresentou compostos não autorizados e um composto acima do LMR.

Para o ano de 2011 e o último relatório liberado em Outubro de 2013 pela ANVISA, 1.628 amostras foram analisadas, sendo que 589 apresentaram resultados não satisfatórios (36%). Trinta e oito amostras apresentaram resultados acima do LMR, 520 amostras

continham praguicidas não autorizados, e 31 amostras apresentavam as duas situações, compostos acima do Limite Máximo de Resíduo e não autorizados.

A *commoditie* batata não foi analisada na amostragem para 2011 e 2012, e para a cenoura, das 142 amostras analisadas, 102 apresentaram praguicidas não autorizados e nenhuma apresentou compostos acima do LMR, obtendo uma porcentagem de dados insatisfatórios de 67% (ANVISA, 2013).

Já para a mandioquinha, não há dados a partir das amostragens, porém, como o controle químico de doenças nessa matriz está limitado devido ao fato de não existir nenhum composto registrado oficialmente para a cultura no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, é provável que alguns produtores estejam usando herbicidas, inseticidas e bactericidas, registrados para a cenoura e o aipo, que são hortaliças da mesma família botânica da mandioquinha (HENZ, 2002).

Para o estado de São Paulo, somente as matrizes laranja, morango, tomate, batata e maçã foram analisadas, e não foram obtidos resultados de resíduos acima dos limites máximos estabelecidos pela legislação.

A Tabela 3 identifica o grupo químico e o ingrediente ativo não autorizado e acima do LMR permitido para os compostos encontrados na matriz cenoura para o PARA de 2010.

Tabela 3 - Descrição dos praguicidas não autorizados ou acima do LMR encontrados na matriz cenoura para as atividades do PARA de 2010.

GRUPO QUÍMICO	INGREDIENTE ATIVO	QUANTIDADE
Dicarboximida (fungicida)	<i>Captan</i>	1
Carbamato	<i>Aldicarbe</i>	1
Carbamato	<i>Metomil</i>	1
Organofosforado	<i>Acefato</i>	15
Organofosforado	<i>Clorpirifós</i>	48
Organofosforado	<i>Diclorvos</i>	2
Organofosforado	<i>Fenitroton</i>	8
Organofosforado	<i>Metamidofós</i>	19
Piretróide	<i>Deltametrin</i>	1
TOTAL		97

Fonte: (ANVISA, 2010)

A ANVISA, através de monografias, descreve os praguicidas liberados para uso nas diversas culturas brasileiras e os limites máximos de resíduo, em mg/kg, para esses compostos e seus possíveis metabólitos. A Tabela 4 descreve ingredientes ativos, seus grupos químicos e classes e os LMR para as culturas de cenoura e batata.

Tabela 4 - Praguicidas utilizados nas culturas de batata e cenoura, seus respectivos grupos químicos, classes, liberação ou não, e LMR (mg/kg). Dados obtidos a partir das Monografias de Compostos Permitidos da ANVISA.

Composto	Grupo Químico	Classe	Batata	Cenoura
Abamectina	Avermectinas	Acaricida, Inseticida e Nematicida	0,005	Não Lib.
Acefato	Fosforado	inseticida/acaricida	0,2	Não Lib.
Aldicarbe	Metilcarbamato de Oxima	Inseticida, acaricida e nematicida	Não Lib.	Não Lib.
Ác.giberélico	Giberelina	reg.crescimento	Sem LMR	Não Lib.
Anilazina	triazinilanilina	Fungicida	1,0	Não Lib.
Azoxistrobina	estrobilurina	Fungicida	0,1	0,2
Acetamiprida	neonicotinóide	Inseticida	0,5	Não Lib.
Acibenzolar-S-metílico	benzotiadiazol	ativador de planta	0,1	Não Lib.
Acetato de (Z)-11-hexadecenila	acetato insaturado	feromônio sintético	Sem LMR	Não Lib.
Acetato de (Z)-9-tetradecenila	acetato insaturado	feromônio sintético	Sem LMR	Não Lib.
Acetato de (E,Z,Z)-4,7,10-tridecatrienila	acetato insaturado	feromônio sintético	Sem LMR	Não Lib.
Acetato de (E4,Z7)-tridecadienila	acetato insaturado	feromônio sintético	Sem LMR	Não Lib.
Bifentrina	piretróide	formicida/acaricida	0,03	Não Lib.
Bromiconazol	triazol	Fungicida	0,1	0,2
Benfuracarbe	metilcarbamato de benzofuranila	Inseticida	0,05	Não Lib.
Benalaxil	acilalaninato	Fungicida	0,1	Não Lib.
Boscalida	anilida	Fungicida	0,05	0,05
Bentiavalicarbe isopropílico	valinamida Carbamato	Fungicida	0,01	Não Lib.
Captana	dicarboximida	Fungicida	1,0	Não Lib.
Carbaril	metilcarbamato de naftila	Inseticida	0,1	Não Lib.
Carboxina	carboxanilida	Fungicida	0,2	Não Lib.
Carbofurano	metilcarbamato de benzofuralina	inseticida/cupinicida/acaricida/nematicida	0,5	0,5
Casugamicina	antibiótico	fungicida/bactericida	0,1	0,1

Composto	Grupo Químico	Classe	Batata	Cenoura
Cimoxanil	acetamida	Fungicida	0,1	Não Lib.
Cipermetrina - soma de isômeros	piretróide	inseticida/formicida	0,05	Não Lib.
Clorotalonil	isofaltonitrila	Fungicida	0,1	0,2
Clorpirifós - clorpirifós etil	fosforado	inseticida/formicida/acarici da	1,0	Não Lib.
Cartape	bis(tiocarbamato)	inseticida/fungicida	0,01	Não Lib.
Carbosulfam	Metilcarbamato de benzofuralina	inseticida/acaricida/nemati cida	0,05	Não Lib.
Cletodim	Oxima ciclohexanodiona	Herbicida	0,5	0,5
Clomazone	Isoxazolidinona	Herbicida	0,05	Não Lib.
Ciromazine	triazinamina	Inseticida	0,1	Não Lib.
Clorfenapir	análogo de pirazol	inseticida/acaricida	0,05	Não Lib.
Ciprodinil	anilino pirimidina	Fungicida	0,05	Não Lib.
Carfentrazone-etílica	triazolona	Herbicida	0,02	Não Lib.
Compostos a base de Cobre	Inorgânico	Fungicida e Bactericida	1,0	1,0
Cloretos de benzalcônio	amônio quaternário	fungicida/bactericida	1,0	2,0
Cadusafos	fosforado	inseticida/nematicida	0,02	Não Lib.
Compostos a base de cobre	inorgânico	fungicida/bactericida	Legisl. Específ.	Legisl. Específ.
Kresoxim-metil	estrobilurina	Fungicida	0,1	Não Lib.
Alfa-Cipermetrina	piretróide	Inseticida	0,01	Não Lib.
Beta- Cipermetrina	piretróide	Inseticida	0,02	Não Lib.
Zeta- Cipermetrina	piretróide	Inseticida	0,02	Não Lib.
Beta-Cifluthrin	piretróide	Inseticida	0,1	Não Lib.
Lambda-Cialotrina	piretróide	Inseticida	0,05	Não Lib.
Gama-Cialotrina	piretróide	Inseticida	0,01	Não Lib.
Ciazofamida	imidazol	Fungicida	0,05	Não Lib.
Clorantraniliprol	antranilamida	Inseticida	0,01	Não Lib.
Deltametrin	piretróides	inseticida/formicina	0,01	Não Lib.
Diquate	bipridílio	Herbicida	0,2	Não Lib.
Difeconazol	Triazol	Fungicida	0,1	0,2
Dimetomorph	morfolina	Fungicida	0,03	Não Lib.
Dimetenamide-P	cloroacetamida	Herbicida	0,01	Não Lib.
1,4-Dimetoxibenzene	éter aromático	feromônio sintético	Sem LMR	Sem LMR

Composto	Grupo Químico	Classe	Batata	Cenoura
Enxofre	inorgânico	acaricida/fungicida	Sem LMR	Não Lib.
Etefom	etileno (precursor de)	Regulador de crescimento	0,1	Não Lib.
Ethoprofós	fosforado	nematicida/inseticida	0,05	Não Lib.
Esfenvalerate	piretróide	inseticida biológico	0,01	Não Lib.
Espinosade	Espinosinas	Inseticida	0,01	Não Lib.
Fenamifós	fosforado	Nematicida	0,1	
Forato	fosforado	acaricida/nematicida/inseti cida	0,05	Não Lib.
Fluasifope-P	Ácido ariloxifenoxipropiôni co	Herbicida	0,02	0,2
Fenoxaprope-P	ácido ariloxifenoxipropiôni co	Herbicida	0,05	0,05
Fluthriafol	triazol	Fungicida	0,1	Não Lib.
Formethanate	metilcarbamato de fenila	inseticida/acaricida	0,05	Não Lib.
Fipronil	Pirazol	Inseticida, formicida e cupinicida	0,05	Não Lib.
Flumioxazine	Ciclohexenodicarboxi mida	Herbicida	0,05	Não Lib.
Fluazinam	Fenilpiridinilamina	Fungicida e acaricida	0,1	Não Lib.
Fluoxidonil	Fenilpirrol	Fungicida	0,02	Não Lib.
FosTiazate	fosforado	Inseticida e nematicida	0,5	0,1
Famoxadona	Oxazolidinadiona	Fungicida	1	0,02
Fenomidone	Imidazolinona	Fungicida	0,02	Não Lib.
Fentin	Organoestânico	Fungicida	0,1	0,2
Fluopicolide	Benzamida piridina	Fungicidas	0,07	Não Lib.
Glufonizate	Homoalanina substituída	Herbicida e regulador de crescimento	0,05	Não Lib.
Hydrazida	Piridazinadiona	Reg.crescimento	50,0	Não Lib.
Maleique				
Iprodione	Dicarboximida	Fungicidas	0,02	1
Imidacloprida	Neonicotinóide	Inseticida	0,5	Não Lib.
Isoxaflutol	Isoxazol	Herbicida	0,01	Não Lib.
Indoxacarbe	Oxadiazina	Inseticida, cupinicida e formicida	0,05	Não Lib.
Iprovalicarbe	Carbamato	Fungicidas	0,05	Não Lib.
Iminoctadine	Guanidina	Fungicida	0,1	Não Lib.
Linurom	Uréia	Herbicida	1,0	1,0

Composto	Grupo Químico	Classe	Batata	Cenoura
Lufenurom	Benzoiluréia	Inseticida e acaricida	0,02	Não Lib.
Mancozebe	Alquilenobis(ditiocar bamato)	fungicida/acaricida	1,0	0,3
Metamidofós	fosforado	inseticida/acaricida	0,1	Não Lib.
Metiram	Alquilenobis(ditiocar bamato)	Fungicida	1,0	Não Lib.
Methomil	Metilcarbamato de oxima	inseticida/acaricida	0,1	Não Lib.
Metribuzim	Triazinona	Herbicida	0,1	Não Lib.
Miclobutanil	triazol	Fungicida	0,5	
Metam- LMR como CS2	Isotiocianato de metila (precursor de)	Inseticida, formicida, fungicida, nematocida e herbicida	1,0	0,3
Methalaxil-M	Acilalaninato	Fungicida	0,05	Não Lib.
Metconazol	triazol	Fungicida	0,05	0,05
Milbemectina	Milbemicinas	inseticida/acaricida	0,01	Não Lib.
Mandipropa-mide	Éter Mandelamida	fungicida sistêmico	0,01	Não Lib.
Novalurom	Benzoiluréia	Inseticida	0,02	Não Lib.
Paraquate	Bipiridílio	Herbicida	0,2	Não Lib.
Paration-metil	Fosforado	Inseticida e acaricida	0,1	Não Lib.
Pendimetalin	Dinitroanilina	Herbicida	0,1	Não Lib.
Pirimicarbe	Dimetilcarbamato	Inseticida	0,05	Não Lib.
Profenofós	Fosforado	Inseticida e acaricida	0,05	Não Lib.
Propamocarbe	Carbamato	Fungicida	0,5	Não Lib.
Piridafention	fosforado	Inseticida e acaricida	0,1	Não Lib.
Procimidone	Dicarboximida	Fungicida	0,5	1,0
Pencycurom	Feniluréia	Fungicida	0,1	0,1
Protiofós	fosforado	Inseticida e acaricida	0,01	Não Lib.
Pirimethanil	Anilino pirimidina	Fungicida	0,5	1,0
Piraclostrobina	Estrobilurina	Fungicida	0,01	0,2
Proexadione	Ciclohexadiona	Regulador de crescimento	0,05	Não Lib.
Quintozen	cloroaromático	Fungicida	0,2	Não Lib.
Tiabendazol	benzimidazol	Fungicida	5	Não Lib.
Tiofanato metílico	Benzimidazol (precursor de)	Fungicida	0,1	Não Lib.
Tiram	Dimetilditocarbamato	Fungicida	1,0	Não Lib.
Triazofós	fosforado	acaricida e nematocida	0,05	Não Lib.
Tebuconazol	triazol	Fungicida	0,1	0,6
Teflubenzurom	Benzoiluréia	Inseticida	0,1	Não Lib.
Triflumurom	Benzoiluréia	Inseticida	0,1	Não Lib.

Composto	Grupo Químico	Classe	Batata	Cenoura
Tetraconazol	triazol	Fungicida	0,01	0,01
Tiametoxam	neonicotinóide	Inseticida	0,02	Não Lib.
Tiaclopride	neonicotinóide	Inseticida	0,1	Não Lib.
Tifluzamide	Carboxanilida	Fungicida	0,1	Não Lib.
Trifloxistrobina	Estrobilurina	Fungicida	0,02	0,05
Tebupirinfós	fosforado	Inseticida	0,05	Não Lib.
Zoxamida	benzamida	Fungicida	0,1	Não Lib.

2.5. Regulamentação alimentar

Um dos órgãos de maior relevância relacionado à regulamentação alimentar é o *Codex Alimentarius*, que foi criado em 1963, tendo como foco formar uma comissão intergovernamental para implementar um programa de padronização e normalização de alimentos no mundo, em conjunto com a FAO (*Food and Agriculture Organization*) e a OMS (Organização Mundial da Saúde).

Cerca de 198 países são membros do Codex Alimentarius, e a União Europeia consta como uma organização membro. O Codex funciona como um fórum internacional, cuja função é desenvolver normas alimentares para proteger a saúde em geral e assegurar que todas as práticas, leis e normas sejam seguidas de forma igual e ampla, tanto nacional como internacionalmente (BRASIL, 2012).

No *Codex Alimentarius* existem 30 Comitês, divididos entre Comitês de Assuntos Gerais, Comitês de Produtos, Grupos Intergovernamentais Especiais e Comitês Regionais de Coordenação. Constando como um dos Comitês de Assuntos Gerais, está o Comitê Codex sobre Resíduos de Praguicidas (CCPR).

O *Codex Committee on Pesticides Residues* é responsável por estabelecer limites máximos de resíduos destes compostos em alimentos específicos ou em grupos de alimentos; estabelecer limites máximos de resíduos em rações para animais em negociações internacionais, quando justificado, visando à proteção à saúde humana; preparar listas de prioridades dos praguicidas para avaliação pelo JMPR (*Joint FAO/WHO Meeting on Pesticides Residues*); considerar métodos de amostragem e análise para a determinação de resíduos destes compostos em alimentos e rações; considerar outras questões em relação à segurança alimentar e estabelecer limites máximos de resíduos ambientais e industriais que se

assemelhem aos praguicidas em alimentos ou grupos de alimentos (Codex Alimentarius, 2012).

O Brasil tornou-se membro do *Codex Alimentarius* na década de 1970, e em 1980 foi criado o Comitê do *Codex Alimentarius* do Brasil (CCAB), com as finalidades de participação, em representação do País, nos Comitês do *Codex Alimentarius*, na defesa dos interesses nacionais, bem como na utilização das Normas Codex como referência para a elaboração e atualização da legislação e regulamentação nacional de alimentos (BRASIL, 2012).

Há 13 membros do *Codex Alimentarius* do Brasil, que representam todas as áreas de alimentos e áreas envolvidas no país, sendo elas o MAPA (Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), que controla o Grupo Técnico de Resíduos de Pesticidas (GTPR), Inmetro (Instituto Nacional de Metrologia) que exerce a Coordenação e Secretaria Executiva, MRE (Ministério das Relações Exteriores), ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), MCT (Ministério da Ciência e Tecnologia), MJ/DPC (Ministério da Justiça – Departamento da Polícia Civil), MDIC/SECEX (Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior), ABIA (Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação), ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas), CNI (Confederação Nacional da Indústria), CNA (Confederação Nacional da Agricultura), CNC (Confederação Nacional do Comércio) e ABC (Associação Brasileira de Custos).

Os alimentos direcionados ao consumo humano e animal podem apresentar um limite máximo de resíduos (LMR) de diversas substâncias em sua composição, como por exemplo, drogas veterinárias que abrangem desde antibióticos (tetraciclina, sulfanilamida, cloranfenicol) a drogas beta-bloqueadoras com função de aumentar a carne magra em suínos (Ractopamina), resíduos de micotoxinas (toxinas provenientes de fungos, normalmente por armazenamento incorreto de alimentos – Aflatoxinas B e G, Deoxinilvalenol), contaminantes inorgânicos (metais pesados) e também dos diversos praguicidas mundialmente em uso, de forma a proteger e garantir a permanência da saúde da população.

Com essa função, o MAPA coordena o programa federal do PNCRC, *Plano Nacional de controle de Resíduos e Contaminantes*, que inspeciona e fiscaliza alimentos, baseando-se em análise de risco, verificando a presença de resíduos de substâncias químicas potencialmente nocivas à saúde do consumidor. Da mesma forma, como mencionado anteriormente, a ANVISA está à frente do PARA, Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos, com foco no controle do uso de praguicidas nas culturas brasileiras.

Os resultados obtidos no PNCRC Vegetal, ano-safra 2012/2013, liberado através da Portaria SDA Nº18, de 25 de Junho de 2013 no Diário Oficial, não contemplaram a análise de nenhuma das matrizes estudadas (batata, cenoura e mandioquinha), enquanto que para o ano-safra de 2011/2012, os resultados analisados em batata inglesa demonstraram que o índice de conformidade para a *commoditie* batata foi 100% (25 das 25 amostras analisadas estavam conformes) (MAPA, 2013).

2.6. Método de extração QuEChERS

O método de extração e o tipo de solvente utilizado na extração dependem das propriedades físico-químicas do praguicida, do tipo de substrato e do método de análise final. Para a análise de resíduos, três etapas são necessárias para o desenvolvimento de um método de análise: (A) a separação de analitos do substrato, que envolve a extração dos analitos do substrato e a limpeza do extrato e purificação do analito, (B) a identificação do analito que inclua procedimentos iniciais e confirmatórios, e (C) a quantificação ou mensuração da concentração dos analitos no substrato original, que também envolve procedimentos iniciais e confirmatórios (SOLOMON; STEFENSON, 2007).

O método de QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe* – Rápido, Fácil, Barato, Efetivo, Robusto e Seguro), foi descrito pela primeira vez em 2003, por Anastassiades *et. al.*, com o objetivo de superar limitações práticas dos métodos multirresíduos de extração disponíveis na época, através do desenvolvimento de um novo procedimento de preparo de amostras para a extração de resíduos de praguicidas.

O método tem como vantagens ser rápido, fácil, econômico, efetivo, robusto e seguro, explorando possibilidades de identificação e confirmação de compostos com uma técnica de alta sensibilidade e especificidade que é a Espectrometria de Massas. Durante seu desenvolvimento, grande ênfase foi dada para a obtenção de um procedimento dinâmico, que pudesse ser aplicado em qualquer laboratório, devido à simplificação das etapas de extração (PRESTES *et. al.*, 2011).

Diferentemente de muitos métodos prévios desenvolvidos para detectores clássicos de cromatografia (UV-Vis, DAD, fluorescência), a técnica de QuEChERS apresenta vantagens por conseguir trabalhar com um amplo escopo analítico e um alto grau de seletividade e

sensibilidade providos pelas cromatografias gasosa e líquida acopladas a espectrômetros de massas para detecção (LEHOTAY, 2010).

O método de QuEChERS cobre eficazmente um grande escopo de analitos, incluindo praguicidas com alta polaridade, assim como os muito ácidos e os praguicidas básicos. Outras vantagens do método incluem o alto rendimento, pouco uso de solventes e vidrarias e uso de espaço requerido. O método foi primeiramente desenhado para *commodities* com baixo teor de gordura, porém, *commodities* com quantidades médias ou altas de gordura podem também ser analisadas quando alguns parâmetros forem levados em consideração (PAYÁ, 2007).

Na análise de praguicidas, as interferências são problemas frequentes que devem ser considerados, devido às baixas concentrações dos analitos e a alta complexidade das matrizes. Os principais objetivos do preparo de amostra são, portanto, promover a extração e o enriquecimento dos analitos de interesse, e a remoção, tanto quanto possível, dos interferentes. Perdas de analito nesta etapa podem comprometer o resultado das análises, e, desta maneira, o preparo da amostra é crucial dentro de todo o processo analítico (PRESTES, 2009).

O uso da acetonitrila como solvente no método QuEChERS tem muitas vantagens, incluindo a habilidade de se separar a água através da adição de sal sem a necessidade de utilizar um solvente apolar, boa compatibilidade com extração em fase sólida, e a boa adequação às corridas em cromatografia líquida e gasosa (PAYÁ, 2007).

Durante o desenvolvimento do método QuEChERS, Anastassiades et. al. (2003) revisaram as condições comumente utilizadas na análise multirresíduo de praguicidas e propuseram este novo método de preparo de amostras, baseado nas seguintes etapas: extração com acetonitrila, seguida da partição, promovida pela adição de sais (sulfato de magnésio, $MgSO_4$, e cloreto de sódio, $NaCl$). Um novo método de limpeza denominado Extração em Fase Sólida Dispersiva (*Dispersive Solid Fase Extraction*, D-SPE) foi proposto juntamente com o método de QuEChERS (PRESTES, 2011). Na figura abaixo estão representados os principais passos do método.

Figura 9 - Representação das etapas das principais versões do Método QuEChERS a) Original; b) acetato e c) citrato

Fonte: PRESTES *et. al.*, 2011

A etapa de *clean-up* utilizando PSA (amina primária e secundária) ajuda na remoção de componentes ácidos, alguns pigmentos e açúcares existentes nas matrizes. Porém, após o contato com o PSA, o pH do extrato se torna mais elevado ($\text{pH} > 8$), o que compromete a estabilidade dos praguicidas básicos mais sensíveis. Para isso, a acidificação do meio para pH próximo de 5 faz com que a degradação seja eficientemente reduzida, permitindo o armazenamento do extrato em temperatura ambiente sem a perda significativa da maioria dos compostos (PAYÁ, 2007).

Posteriormente ao *clean-up*, os extratos podem tanto seguir para um tratamento visando à injeção em cromatógrafos gasosos acoplados à espectrometria de massas, através da concentração dos mesmos para retirada da acetonitrila e ressuspensão em solventes apolares (diclorometano, acetato de etila), ou diretamente para injeção em cromatógrafos líquidos acoplados à espectrometria de massas.

2.7. A Espectrometria de massas

Os desafios da detecção e quantificação de substâncias em matrizes complexas são gradativamente minimizados pela plataforma da espectrometria de massas, que é capaz de analisar simultaneamente grupos de analitos em poucos minutos e em poucos microlitros de amostra, a qual vem rapidamente avançando em sensibilidade, rapidez e versatilidade (SKOOG *et. al.*, 2009).

A espectrometria de massas é uma técnica capaz de converter moléculas neutras em íons na forma gasosa e separá-las eletromagneticamente, de acordo com sua razão massa/carga e, ao mesmo tempo identificá-las, através de características como o tempo de retenção, e quantificá-las utilizando a calibração com padrões de concentrações conhecidas.

A razão massa/carga é a razão, sem unidades, do número de massa de um íon atômico ou molecular em relação ao seu número de carga fundamental (m/z , onde m é a carga do íon e z é a carga do elétron), sendo que a maioria desses íons apresenta dentro da espectrometria de massas uma carga unitária (SKOOG *et. al.*, 2009).

As análises desenvolvidas por essa técnica se baseiam em algumas etapas básicas: *dessolvatação, ionização, fragmentação das moléculas em análise, separação desses fragmentos segundo as suas razões massa/carga e a medida do sinal produzido.*

A primeira etapa é a *dessolvatação*, onde o solvente é evaporado produzindo um aerossol molecular de partículas sólidas finamente divididas, seguida da *volatilização*, onde o aerossol se transforma em moléculas gasosas, as quais se dissociam e formam um gás atômico. Os átomos formados podem então se ionizar, formando cátions e ânions.

A *ionização* ocorre em dois tipos de fontes diferentes: *as fontes de fase gasosa*, onde a amostra é primeiramente vaporizada para então sofrer o processo de ionização; e *as fontes de dessorção*, onde a amostra no estado sólido ou líquido é transformada diretamente em íons gasosos. A tabela 5 identifica as principais fontes de ionização.

Tabela 5 - Fontes de ionização utilizadas em espectrometria de massas

Fonte	Tipo de Fonte	Agente Ionizante
Impacto de Elétrons (EI)	Fase Gasosa	Elétrons Energéticos
Ionização Química (CE)	Fase Gasosa	Eletrodo com alto potencial
Ionização por Campo (FI)	Fase Gasosa	Íons gasosos Reativos
Dessorção por Campo (FD)	Dessorção	Eletrodo com alto potencial
Ionização por	Dessorção	Campo elétrico alto

Fonte	Tipo de Fonte	Agente Ionizante
Eletronebulização (ESI)		
Dessorção-ionização Assistida por Matriz (MALDI)	Dessorção	Feixe de laser
Dessorção por Plasma (PD)	Dessorção	Fragmentos de fissão de ^{252}Cf
Bombardeamento com Átomos Rápidos (FAB)	Dessorção	Feixe atômico energético
Espectrometria de Massas de Íons Secundários (SIMS)	Dessorção	Feixe energético de íons
Ionização por Termonebulização (TS)	Dessorção	Temperatura alta
Surface-enhanced Laser Desorption/ Ionization (SELDI)	Dessorção	Feixe de laser

Fonte: Adaptado de SKOOG *et. al.*, 2009.

A necessidade de converter biomoléculas em íons em fase gasosa, mas sem alterar sua estrutura, limitou o uso da metodologia em diversas ciências biológicas até o momento do desenvolvimento de novas técnicas de interface, como, por exemplo, a eletronebulização (*Electrospray Ionization* [ESI]), e do desenvolvimento da espectrometria sequencial de duplo estágio: MS/MS (*Tandem Mass Spectrometry*), lembrando-se também do fato de que o espectro de massas obtido para determinada substância depende intimamente do método usado para a formação de íons.

Devido aos problemas que ocorrem no interfaceamento dos sistemas de cromatografia líquida de alta eficiência com os espectrômetros de massas, esses novos métodos de interface foram criados visando possibilitar a formação de íons a partir de moléculas pouco voláteis ou sensíveis a temperatura. Dentre essas fontes de ionização, as que encontram uma gama maior de aplicação, são a anteriormente mencionada *ESI* (ionização por eletrospray), a *APCi* (*atmospheric pressure chemical ionization* – ionização química à pressão atmosférica) e *APP* (*atmospheric pressure photoionization* – fotoionização à pressão atmosférica) (CHIARADIA *et. al.*, 2008).

2.7.1 Fontes de ionização

2.7.1.1 ESI – *Electrospray ionization*

No processo de ionização por eletrospray, quando acoplado à cromatografia líquida de alta eficiência, os analitos se encontram dissolvidos na fase móvel, e essa passa, à pressão atmosférica, através de um capilar sob alta voltagem, formando pequenas gotas altamente carregadas na saída do capilar (SKOOG *et. al.*, 2009).

Essas gotas são dessolvatadas com auxílio normalmente de fluxo contínuo de gás nitrogênio (ou outro gás seco), migrando no sentido oposto a um eletrodo estrategicamente localizado.

O tamanho das gotas vai diminuindo ao se seguir a dessolvatação, até o momento em que as forças de repulsão entre as cargas análogas se tornem maiores do que as forças de coesão da tensão superficial (fase móvel). Quando essa inversão de forças ocorre, dá-se seguimento às Explosões Coulômbicas, gerando gotículas com 1/10 do tamanho das gotas iniciais, e assim sucessivamente, até que as microgotas formadas gerem íons do analitos em questão, que são transferidos para o interior do espectrômetro de massas por ação do vácuo e dos dispositivos de focalização (SKOOG *et. al.*, 2009). As figuras 10 e 11 demonstram o mecanismo de ionização.

A ionização ocorre diretamente na solução, facilitando com que as moléculas sensíveis à temperatura passem pelo processo sem sofrer degradação.

Durante a ionização por eletrospray são gerados três tipos de íons: *o íon molecular* (reações de redução/oxidação), *moléculas protonadas/desprotonadas* (íons quase-moleculares, reações ácido/base) e *moléculas cationizadas ou anionizadas* (coordenação com cátions – principalmente família 1A, e ânions – principalmente cloretos) (CROTTI, 2006).

Dessa forma, a técnica pode ser aplicada a substâncias com massas molares bem amplas, pois o instrumento mede a razão massa/carga dos compostos, e em um analito com m/z 1000 e com 20 cargas, representa um composto com massa molar de 20.000 Da² (CHIARADIA *et al.*, 2008).

Figura 10 - Ionização por Electrospray, sendo CRM = charged-residue model, que se aplica na ionização de moléculas hidrofílicas, e IDM = íon-residue model, que apresenta maior aplicabilidade em moléculas hidrofóbicas

Fonte: SOUZA, 2008.

Figura 11 - Diagrama de um espectrômetro de massas com ionização por ESI

Fonte: COLNAGO et al., 2002.

A figura 12 ilustra técnicas de ionização e analisadores de massa. Em A, verifica-se a Ionização por Electrospray (ESI), mostrando a agulha de pulverização, os filtros iniciais que impedem a progressão de partículas não ionizadas e o início de um sistema quadrupolos. Em B, verificam-se quadrupolos em um sistema de triplo-quadrupolo, esquematizando partículas ao detector à esquerda. Em C, tem-se a dessorção a laser MALDI (*Matrix-assisted Laser assisted Desorption/Ionization*), ilustrando um pulso de laser incidindo sobre a amostra aplicada na placa retangular e gerando partículas para o analisador TOF (*Time of Flight*). Em D, E e F observa-se o analisador tipo TOF no modo refletor, apresentando todo o tubo de vácuo com os íons no início da trajetória (D), a mudança da trajetória no refletor (E) e a chegada ao detector após o refletor, no tubo estreito (F) (CUNHA *et. al.*, 2006).

Figura 12 - Técnicas de ionização e analisadores de massa

Fonte: CUNHA *et. al.*, 2006.

2.7.2 Tipos de Espectrometria de Massas

Existem diversos tipos de espectrometria de massas, sendo que os mesmos são basicamente métodos hifenados, onde duas técnicas instrumentais são acopladas:

- ICP-MS (Plasma Indutivamente Acoplado);
- DCP-MS (Plasma de Corrente Contínua);
- MIP-MS (Plasma Induzido por Micro-ondas);
- SSMS (Fonte de Centelha);
- TIMS (Ionização Térmica);
- GDMS (Descarga Luminosa);
- LMMS (Microsonda de Laser);
- SIMS (Íon Secundário).

Da mesma forma, existem diferentes tipos de analisadores de massas:

- “Sector” Magnético, com abrangência de 1-15.000 m/z , com alta resolução, porém baixa sensibilidade. Um analisador de massas de setor utiliza um campo elétrico estático, ou um setor magnético (ou ainda a combinação dos dois) para afetar a trajetória e a velocidade dos íons até sua chegada ao detector (SOUZA, 2008);
- Quadrupolar, com abrangência de 1-5.000 m/z , possui alta sensibilidade e resolução média. Os analisadores quadrupolares utilizam campos elétricos oscilantes, gerados por quatro barras metálicas (eletrodos), para estabilizar ou desestabilizar seletivamente os íons, de

acordo com seus valores de m/z , durante sua passagem pelo centro do quadrupolo (SOUZA, 2008), indo até o detector;

➤ *Ion-trap*, com abrangência de 1-5.000 m/z , possui alta sensibilidade e resolução média. Nesse método, os íons não descrevem uma trajetória através do ambiente quadrupolar, mas são aprisionados nele. Outra diferença trata-se da arquitetura dos eletrodos, que agora são três, sendo que o eletrodo central tem um formato circular, e os dois das extremidades tem geometria hiperbólica, para criar um campo elétrico quadrupolar em 3-D. Este campo elétrico mantém os íons em uma órbita estável em seu interior, contudo os íons são ejetados para fora do analisador pela aplicação de uma rampa crescente de radiofrequência, que consequentemente desestabiliza os íons ejetando-os em direção ao detector, de forma crescente de acordo com seus valores de m/z (SOUZA, 2008);

➤ *Tempo de voo (TOF)*, com abrangência de razão m/z ilimitada, possui alta sensibilidade e ótima resolução. O método baseia-se no princípio de que os íons com mesma carga têm energias cinéticas iguais, e sua velocidade será inversamente proporcional à raiz quadrada da sua massa, de forma que, quando dois íons com mesma carga, mas com massas diferentes, são acelerados através de um campo elétrico com potencial constante, suas velocidades serão dependentes de suas massas, e eles atingirão o detector com “tempos de voo” diferentes (SOUZA, 2008);

➤ *Transformada de Fourier*, com abrangência de aproximadamente 70 kDa, possui alta sensibilidade e ótima resolução, porém para a sua aplicação são necessários grandes conhecimentos técnicos. O método é similar ao do *íon-trap*, podendo receber o nome de *penning trap*, operando por fortes campos magnéticos e elétricos estáticos, a fim de aprisionar os íons. Os íons ali aprisionados são excitados por pulsos de radiofrequência, descrevendo órbitas coerentes. Os detectores medem os sinais elétricos dos íons que passam próximos a eles ao longo de um período, produzindo um sinal periódico. Como a frequência de um íon em sua órbita é determinada pelo seu m/z , os sinais detectados são posteriormente transformados em intensidade pela aplicação da FT (Transformada de Fourier), de forma semelhante de como ocorre na espectroscopia de ressonância magnética nuclear (SOUZA, 2008).

Os analisadores de massa atualmente mais utilizados são o *quadrupolar (tandem)*, o *tempo de voo (TOF)* e o *íon-trap*, sendo o analisador em *tandem* no espaço o aplicado no instrumento utilizado na quantificação dos praguicidas neste projeto.

2.7.2.1 Espectrometria de Massas Quadrupolar

Como citado anteriormente, a base do instrumento quadrupolar são as quatro barras cilíndricas e paralelas que funcionam como eletrodos (Figura 13). As barras opostas são conectadas eletricamente, sendo um par ligado ao lado positivo de uma fonte variável DC e outro par ligado ao terminal negativo (SKOOG *et. al.*, 2009).

Para se obter um espectro de massas, os íons são acelerados para o espaço entre as barras por uma diferença de potencial de 5 a 10 V, enquanto as voltagens das barras aumentam simultaneamente, mantendo sua razão constante.

Quando um determinado valor de m/z é selecionado, dependendo da razão do analito de interesse, todos os íons, exceto o que possui a razão massa/carga desejada, atingem as barras e são convertidos em moléculas neutras, fazendo com que somente o íon da substância chegue ao transdutor.

Figura 13 - Representação de um Quadrupolo, onde rf é a radiofrequência, e dc significa corrente contínua

Fonte: CHIARADIA *et al.*, 2008

Quando se acoplam dois espectrômetros de massas, ao invés de empregar apenas um analisador de massas para separar os íons de mesma razão m/z gerados na fonte de ionização, são utilizados dois estágios de espectrometria de massas, MS1 e MS2 (CHIARADIA *et al.*, 2008), onde um deles é usado para isolar o íon de interesse e o outro é usado para estabelecer uma relação entre este íon de interesse isolado e outros íons que foram gerados a partir da sua decomposição induzida.

A análise em MS-MS é amplamente empregada para a detecção de compostos com baixas concentrações em matrizes complexas, normalmente acoplada à cromatografia.

Há também o instrumento que é constituído por três quadrupolos em série, no qual o segundo quadrupolo é utilizado como uma câmara de colisão, onde ocorre a fragmentação dos íons seleccionados no primeiro quadrupolo, geralmente por colisão com um gás inerte (Ar, He ou N₂), além de conduzir os íons produzidos ao terceiro quadrupolo.

O íon precursor proveniente do primeiro quadrupolo é acelerado por um potencial elétrico para uma região de alto vácuo no interior do segundo quadrupolo, onde sofre repetidas colisões, promovendo um aumento na energia potencial deste íon até ocasionar sua fragmentação, conduzindo à formação dos íons produto (CHIARADIA *et. al.*, 2008), os quais serão característicos de cada substância ao se manter os parâmetros da análise constantes.

2.8. Avaliação de Risco de praguicidas em alimentos

A Avaliação do Risco Químico é um processo que visa evidenciar o uso seguro de substâncias químicas, tanto em exposições ambientais quanto laborais.

Em 1983, a NRC – *National Research Council* dos Estados Unidos, juntamente com a NAS – *National Academy of Sciences*, determinaram os princípios básicos para a condução de uma Avaliação do Risco por agentes químicos, em quatro etapas: *Identificação do Perigo*, *Avaliação de Dose-Resposta*, *Avaliação da Exposição* e *Caracterização do Risco*.

A EPA, *United States Environmental Protection Agency* (USEPA), define a Avaliação do Risco como o processo de caracterização da natureza e magnitude dos riscos à saúde humana (residentes, trabalhadores, visitantes de recreação) e receptores ecológicos (pássaros, peixes, animais silvestres) advindos de contaminantes químicos e outros agentes nocivos que podem estar presentes no ambiente. As informações obtidas são então utilizadas para ajudar na decisão de como prevenir os riscos para humanos e ao ambiente.

Dentro do órgão americano, a Avaliação do Risco é dividida em duas áreas: a *Avaliação do Risco à Saúde Humana*, e a *Avaliação do Risco Ecológico*. A Avaliação de risco à Saúde Humana é o processo que obtém a estimativa da natureza e da probabilidade de efeitos adversos à saúde em indivíduos que podem estar expostos devido ao ambiente contaminado (EPA, 2012).

Já a Avaliação do Risco Ecológico é o processo de avaliar a probabilidade do meio ambiente ser impactado como um resultado da exposição a um ou mais estressores ambientais

como compostos químicos, mudança de solo, doenças, espécies invasivas e mudanças climáticas (EPA, 2012).

A Avaliação do Risco à Saúde Humana é dividida em cinco fases: *Planejamento e Processamento de Escopo, Etapa 1 – Identificação do Perigo, Etapa 2- Avaliação de Dose – Resposta, Etapa 3 – Avaliação da Exposição e Etapa 4 – Caracterização do Risco*. Já a Avaliação do Risco Ecológico é realizada em quatro etapas: *Planejamento e Processamento de Escopo, Fase 1 – Formulação do Problema, Fase 2 – Análise e Fase 3 – Caracterização do Risco* (EPA, 2012).

Dentro da Avaliação do Risco à Saúde Humana, a etapa de Planejamento e Processamento de Escopo envolve planejamento e pesquisa sobre os compostos que serão estudados quanto a seus riscos; a etapa de Identificação do Perigo examina o potencial da substância em causar danos à saúde humana ou a ecossistemas e sob quais circunstâncias; a etapa de Avaliação da Dose-Resposta examina as relações numéricas entre a exposição e os efeitos adversos; a etapa de Avaliação de Exposição determina o que é conhecido sobre a frequência, tempo e níveis de contato com a substância; a etapa de Caracterização de Risco examina quão bem os dados sustentam as conclusões sobre a natureza a extensão do risco de exposição aos estressores ambientais.

Já na Avaliação do Risco Ecológico, a etapa de Planejamento e Processamento de Escopo envolve planejamento e pesquisa sobre os compostos que serão estudados quanto a seus riscos; a etapa de Formulação do Problema reúne as informações que ajudam a determinar o que, em termos de animais e plantas, está em risco e o que precisa ser protegido; a fase de Análise é aquela na qual são determinados quais plantas e animais estão expostos e se o grau de exposição tende a causar ou não efeitos ecológicos nocivos, e a fase de Caracterização do Risco, que é dividida em dois segmentos: *Estimativa do Risco*, que combina os perfis de exposição e os efeitos de exposição, e a *Descrição do Risco*, que fornece informações importantes para interpretar os resultados do risco e identificar os níveis dos efeitos nocivos às plantas e animais de interesse.

Resumidamente, de acordo com o WHO (*World Health Organization*) e a FAO, em concordância com a FDA – *Food and Drug Administration* e o *Codex Alimentarius*, para o desenvolvimento da Avaliação do Risco de uma determinada substância química com potencial toxicológico o estudo completo deve abranger: a *Coleta de Dados*, a *Avaliação do Risco em si* (*Formulação do Problema, Identificação do Perigo, Caracterização do Efeito, Caracterização da Exposição e Caracterização do Risco*), e o *Manejo do Risco*, que envolve

as ações tomadas pelos órgãos regulatórios. (SOLOMON; STEFENSON, 2007). A figura 14 ilustra resumidamente as etapas da Avaliação de Risco.

Figura 14 - Ilustração gráfica do processo de Caracterização do Risco

Fonte: Modificado de SOLOMON; STEPHENSON, 2007.

2.8.1 Identificação do Perigo

A investigação das características do agente químico é realizada na fase de Identificação do Perigo, onde se verifica capacidade do composto em causar um efeito adverso e a natureza dos efeitos presentes numa população ou num ecossistema (OGA *et. al.*, 2008).

Nessa etapa são utilizados os dados provenientes dos estudos em animais de experimentação, estudos clínicos ou estudos epidemiológicos em populações expostas. Alguns dos principais testes realizados na Avaliação do Risco de praguicidas na saúde humana são o *Teste de Toxicidade Oral Aguda*, *Testes de Toxicidade Aguda Via Dérmica* e

Ocular, Testes de Toxicidade Aguda Via Inalatória, Testes de Mutagenicidade, Toxicidade Subcrônica Via Oral e Toxicidade Crônica Via Oral (SOLOMON; STEFENSON, 2007).

Outros ensaios também são realizados, como por exemplo, testes para verificar se certos efeitos adversos são específicos de linhagens, testes para entender melhor mecanismos de ação, ou ainda novos testes relacionados com os praguicidas que interferem no sistema endócrino.

Os ensaios realizados visam então determinar o limiar de toxicidade, o *Threshold* do composto considerado, estabelecendo-se o nível de dose onde não são observados efeitos adversos, a NOAEL (*No-observed-adverse-Effect Level*) e da menor dose na qual são observados efeitos adversos, a LOAEL (*Lowest-Observed-Adverse-Effect Level*).

2.8.2 Caracterização do Perigo ou Avaliação Dose Resposta

A base fundamental da relação quantitativa entre a exposição a um agente e a incidência de uma resposta adversa é chamada de *Caracterização do Perigo* ou *Avaliação Dose-Resposta*. Seu objetivo é quantificar o perigo, e embasar a escolha dos *endpoints* de relevância e dos níveis de dose, os NOAEL's que, por sua vez, deverão ser utilizados no processo de caracterização do risco à saúde humana da população alvo (OGA et al., 2008).

Para caracterizar o perigo, os dados de exposição humana a um agente tóxico não são suficientes, sendo necessário a extrapolação dos dados obtidos através de ensaios com animais para estabelecer a dose-resposta, sendo dois tipos de extrapolação necessários: a extrapolação *quantitativa*, que emprega as altas doses utilizadas nos experimentos para substâncias presentes na exposição ambiental, que são geralmente, na verdade, baixas concentrações, e a extrapolação *qualitativa*, que envolve o emprego dos resultados em animais extrapolados para o homem (EPA, 2012).

Através da determinação dos valores de NOAEL e LOAEL, pode-se então traçar o perfil de segurança do contato humano e animal com determinada substância, a partir do estabelecimento de parâmetros como a *Ingestão Diária Aceitável* - IDA, e do *Limite Máximo de Resíduo* - LMR aceitável de ser encontrado em um determinado alimento.

Uma alternativa à abordagem citada acima é a chamada *Benchmark Dose* (BMD), que envolve a aplicação de um modelo matemático nos dados de dose-resposta para um determinado *endpoint*, permitindo ao modelo estimar um limiar de dose correspondente à

Benchmark (BMR), e posteriormente estabelecer uma dose efetiva (ED – *Effective Dose*). Essa abordagem tende a ser mais abrangente pois leva em consideração a inclinação da reta dos resultados de toxicidade, e não apenas o valor do NOAEL, pois este deve, por definição, ser uma das doses experimentais testadas, e uma vez identificada, o resto da curva dose-resposta é ignorado (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

O uso de *Benchmark Dose* (BMD) tem sido aplicado de acordo com a US-EPA visando resolver os problemas de extrapolação para efeitos adversos em baixos níveis de risco e também tratar o fato de que o NOAEL é suscetível ao número de animais testados e a limitação de doses testadas, além de não considerar o restante da curva de dose-resposta para análise dos dados. A BMD é o menor limite de confiança determinado estatisticamente para uma dose que produz uma mudança predeterminada na taxa de resposta (BMR – *Benchmark Response Rate*) de um efeito adverso comparado aos níveis basais (SOLOMON; STEFENSON, 2007).

As caracterizações das relações dose-resposta limítrofes incluem a identificação do NOAEL e do LOAEL, onde o NOAEL para determinado composto é dividido por fatores de incerteza ou segurança apropriados, dependendo da natureza e da severidade do efeito (SOLOMON; STEFENSON, 2007). O NOAEL não deve ser interpretado como ausência de risco (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

As abordagens para caracterizar relações dose-resposta incluem a identificação dos níveis de efeito como a DL₅₀, a CL₅₀, a DE₁₀ (dose que induz 10% da resposta), bem como os NOAEL's (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

Os valores de NOAEL são utilizados para calcular valores de Dose de Referência (RfDs), que correspondem a estimativas de uma exposição diária a um agente que é considerado como não indutor de efeitos adversos à saúde na população humana (KLAASSEN; WATKINS III, 2010), ou de Ingestão Diária Aceitável (IDA, ou do inglês ADI – *Acceptable Daily Intake*).

Ambos os valores de IDA e RfDs são calculados através da divisão do NOAEL por fatores de incerteza (UF), que podem variar de 10 a 1000, conforme Equação (1).

$$IDA \text{ ou } RfD = \frac{NOAEL}{UF} \quad \text{Equação (1)}$$

Os fatores de incerteza são usados para compensar várias incertezas não quantificadas na extrapolação das diferenças entre os animais de experimentação e o homem, diferenças individuais entre seres humanos e diferenças entre crianças, pacientes, pessoas idosas,

mulheres grávidas, entre outros (SOLOMON; STEFENSON, 2007). Os fatores modificadores podem ser usados para ajustar o fator de incerteza se os dados de mecanismos, de farmacocinética ou de relevância da resposta animal para o risco humano justificarem tal modificação (KLAASSEN; WATKINS III, 2010). A tabela abaixo traz as diretrizes dos fatores de incerteza especificados pela EPA para utilização nos cálculos de IDA e RfD para praguicidas.

Tabela 6 - Diretrizes da EPA para fatores de incerteza utilizados na avaliação de risco para praguicidas

Extrapolação De	Para	Fator de Incerteza Utilizado
Média da População	População Mais Sensível	10
Animal	Homem	10
Resultado de LOAEL	Resultado de NOAEL	10
Resultado Subcrônico	Resultado Crônico	10
Banco de Dados Inadequado	-	10
Fatores Modificadores	-	0

Fonte: Modificado de SOLOMON & STEFENSON, 2007.

Além dos valores de IDA e RfD, outros níveis permissíveis de exposição são estabelecidos de maneira semelhante, tais como o valor de *Ingestões Diárias Toleráveis* (TDI – *Tolerable Daily Intake*), que pode ser usado para descrever as ingestões de um composto que não são aceitáveis, mas sim toleráveis, pois estão abaixo dos níveis conhecidos por causar efeitos adversos à saúde, e é calculado de forma similar à Ingestão Diária Aceitável (KLAASSEN; WATKINS III, 2010); o MRL (*Minimal Risk Level*) que de acordo com a ATSDR – Agência de Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças, indica a estimativa de uma exposição humana diária a uma substância perigosa que não cause efeitos adversos não carcinogênicos durante um determinado período de exposição, sendo derivados de exposições agudas (1-14 dias), intermediárias (15-364 dias) e crônicas (acima de 365 dias) (ATSDR, 2013); o *Limite Máximo de Resíduo* (LMR, ou do inglês MRL – *Maximum Residue Limit*), que é definido pela IPCS – *International Programme on Chemical Safety* - como a concentração máxima de resíduo resultante do uso de drogas veterinárias e contaminantes (expresso em mg/kg) que é aceitável em alimentos; os valores limites TLV's (*Threshold Limit Values*); limites permissíveis de exposição (PEL's – *Permissible Exposure Levels*), utilizados

pelo Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional dos Estados Unidos (NIOSH), para representar a dose que não produzirá efeitos adversos à saúde do trabalhador; a margem de exposição (MOE – *Margin of Exposure*) e o nível de exposição aceitável do trabalhador (AOEL – *Acceptable Operator Exposure Levels*) (KLAASSEN & WATKINS III, 2010).

A avaliação do perigo de praguicidas em alimentos é feita através dos resultados dos estudos toxicológicos que fornecem os valores de LOAEL e NOAEL para posterior cálculo da Ingestão Diária Aceitável (IDA) através do uso dos fatores de incerteza e modificadores apropriados, para posterior determinação dos níveis de resíduos permitidos nos alimentos. Primeiramente determina-se o valor da ingestão máxima permitida por dia MPI (*Maximal Permissible Intake per day*), baseada na IDA, e que leva em consideração o peso corpóreo humano, que por convenção foi definido em 60kg (SOLOMON; STEFENSON, 2007), conforme Equação (2).

$$MPI = IDA(mg / kg / dia) \times 60kg \quad \text{Equação (2)}$$

Após a determinação do MPI, valores de Fator Alimentar, que representam a quantidade de determinado alimento consumido por um ser humano e diferem dependendo da idade da população, das preferências alimentares e étnicas, são utilizados para calcular o nível máximo admissível (tolerância) nos gêneros alimentícios (MPL – *Maximal Permissible Level in Foodstuff*) (SOLOMON; STEFENSON, 2007).

$$MPL = \frac{MPI(mg / kg - ppm)}{\text{Fator Alimentar}} \quad \text{Equação (3)}$$

A partir dos valores encontrados, as agências regulatórias tomam a responsabilidade através da aplicação dos Limites Máximos de Resíduos de garantir que a exposição aos praguicidas em alimentos não ultrapassem os valores de IDA.

2.8.3 Avaliação da Exposição

Os objetivos da avaliação de exposição são determinar a fonte e o tipo de contato com o agente químico e mensurar a intensidade, a frequência e a duração da exposição humana ao toxicante. De uma forma mais complexa, a avaliação da exposição descreve a magnitude, a

duração e a via de exposição, o tamanho, a natureza e a classe da população exposta, e as incertezas deste processo (KLAASSEN & WATKINS III, 2010).

O perigo inexistente na ausência de exposição, sendo que os dados de exposição são, com frequência, a principal área de incerteza da determinação do risco. O conceito de exposição é estudado em dois aspectos: o contato com a substância através da pele, trato digestivo e respiratório, e a estimativa qualitativa e quantitativa do contato. Um passo importante na avaliação da exposição é determinar quais vias de exposição são relevantes para a investigação e quais proporções da substância química atravessam as barreiras de exposição para identificar a dose interna da mesma.

A Avaliação da Exposição é dividida em três fases: (A) Caracterização da fonte de exposição; (B) Identificação dos meios de exposição (alimentos, ar) e das vias de exposição (dérmica, inalatória ou oral), e (C) Quantificação da exposição. Algumas variáveis devem ser levadas em conta para a avaliação, tais como: populações expostas, tipos de substâncias, substâncias únicas ou misturas, duração da exposição, meios e vias de exposição (OGA et al., 2008).

Para estimar a exposição humana às substâncias químicas presentes nos alimentos são necessários três dados essenciais: a concentração da substância nos alimentos (mg/kg), o consumo do alimento (kg) e o peso corpóreo (kg), sendo a exposição definida pela Equação (4) abaixo (EPA, 2012):

$$Exposição = \frac{\text{Concentração da substância} \times \text{Consumo do Alimento}}{\text{Peso Corpóreo}} \quad \text{Equação (4)}$$

A forma de obtenção dos dados inseridos no cálculo de exposição depende primeiramente dos propósitos da avaliação do risco, se a exposição é crônica e aguda e de quão detalhada e precisa a estimativa deve ser, além de verificar qual tipo de população a avaliação quer abranger, e as características da substância envolvida, como presença em diversos tipos de alimentos ou somatória com moléculas da mesma classe que causam mesmo efeito biológico.

2.8.4 Caracterização e Manejo do Risco

A caracterização do risco é a etapa final da avaliação e envolve a predição da frequência e da severidade dos efeitos adversos numa população exposta, integra os dados obtidos com a identificação do perigo, caracterização do perigo e da exposição e gera evidências sobre o risco da exposição a um agente químico para minimizá-lo (EPA, 2012).

As metodologias utilizadas para caracterizar o risco variam de acordo com as características toxicológicas da substância, isto é, se a substância necessita de um limiar de dose no organismo para exercer a ação tóxica (substâncias não genotóxicas) ou não (substâncias carcinogênicas e genotóxicas) (KLAASSEN & WATKINS III, 2010).

Um desafio crucial para a avaliação de risco é interpretar e relacionar as observações de ensaios *in vitro* baseados no genoma, altamente sensíveis, com todo o processo de toxicidade. Biomarcadores de efeito precoces, como patologia clínica, surgem em função da exposição, da resposta e do tempo (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

Os dados científicos obtidos dos estudos de toxicidade são sempre entrelaçados com as decisões políticas e governamentais, surgindo muitas vezes dilemas sobre as ações a serem tomadas quanto à regulamentação, ao gerenciamento e à comunicação do risco. Dependendo da severidade dos efeitos tóxicos observados, verifica-se que o risco pode ser negligenciável, tolerável ou intolerável, questão que está muitas vezes vinculada à percepção pessoal.

Os indivíduos respondem de maneira muito diferente às informações sobre as situações e produtos perigosos, assim como o fazem comunidades e a sociedade como um todo, sendo que o entendimento das respostas comportamentais é crucial para a comunicação de risco e a avaliação das opções de gerenciamento de risco (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

2.9. Análise de resíduos de praguicidas em alimentos

O uso intenso de substâncias caracterizadas como praguicidas na tentativa de melhorar e preservar plantações, culturas e armazenamento de alimentos, sem o devido conhecimento e cuidados sobre os seus reais efeitos da exposição humana e animal com esses compostos, acarreta perigos à saúde a curto e longo prazo, sendo de grande necessidade o monitoramento e inspeção de suas aplicações.

A maior parte da população suscetível aos efeitos nocivos causados pela presença de substâncias em níveis tóxicos nos alimentos é formada pelas crianças e idosos, que por fatores biológicos, entre outros, como a diferença em relação à biotransformação, quando

comparados a adultos, exige cuidados e limites ainda mais rígidos, assegurando que alimentos contaminados não cheguem à mesa desses indivíduos.

Visando garantir que os alimentos infantis fornecidos no mercado se mantenham dentro da qualidade e excelência necessária, a sua produção deve ser controlada e monitorada, assim como a aquisição da matéria-prima deve ser feita a partir de produtores confiáveis e conhecedores da aplicação segura e muitas vezes ausente dos praguicidas.

Segundo a ANDEF, Associação Nacional de Defesa Vegetal, mesmo o Brasil sendo um país centrado na agricultura, o consumo de agroquímicos é muito menor que o observado em outros países. Entre os países agrícolas mais relevantes, o Brasil apresenta um dos menores investimentos por tonelada produzida e por área plantada. Em 2007, o aumento no Brasil foi de apenas 1,0%, muito inferior ao de países como Argentina, 49%; China, 25%; e França, 28. De qualquer forma, o fato de os agricultores brasileiros se colocarem entre aqueles que confiam nesta tecnologia como fator vital de produtividade indica que o país começa a se preparar tecnologicamente para liderar a agricultura mundial dentro de duas décadas, conforme prevê a FAO (ANDEF, 2014).

Hoje, porém, segundo a visão do Ministério do Meio Ambiente, o Brasil é o maior consumidor de praguicidas do mundo. Muitos destes compostos, principalmente da classe dos organoclorados e organofosforados, tem tido seu uso banido devido à grande possibilidade de causar problemas à saúde humana e apresentar persistência no meio ambiente.

Assim sendo, para a adequação e estabelecimento de um processo criterioso de investigação e monitoramento do uso de praguicidas em alimentos, principalmente os de uso proibido tanto no Brasil como em mercados externos, torna-se de suma importância o desenvolvimento de técnicas precisas e exatas de quantificação de resíduos e a análise da presença de risco à saúde humana de um número cada vez maior de moléculas em diferentes matrizes alimentícias.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

- ✓ Avaliar a presença do risco de resíduos de praguicidas à populações suscetíveis em *Solanum tuberosum* (batata), *Daucus carota* (cenoura) e *Arracacia xanthorrhiza* (mandioquinha) destinadas para a produção de *baby-food* e produtos similares, cultivados na área de São José do Rio Pardo, em São Paulo, através da técnica QuEChERS e LC-MS/MS.

3.2 Específicos

- ✓ Realizar pesquisa identificando os praguicidas de maior aplicação na região de São José do Rio Pardo e relacionar com a lista de compostos utilizados pelos produtores e controlados pela Nestlé LTDA., empresa responsável pela produção de *baby-food* local, em paralelo com a lista de compostos permitidos pelas legislações vigentes;
- ✓ Identificar e quantificar os praguicidas selecionados para a pesquisa em cenoura, batata e mandioquinha através do método de QuEChERS por LC-MS/MS;
- ✓ Validar e implementar o método em rotina laboratorial;
- ✓ Monitorar as matrizes citadas para a realização da Avaliação de Risco, comparação com as legislações vigentes, valores de Limite Máximo de Resíduo (LMR) e Ingestão Diária Aceitável (IDA), tendo em vista o direcionamento das *commodities* para alimentos infantis.
- ✓ Comparar os resultados obtidos entre amostras direcionadas para produção industrial de alimentos infantis e amostras para consumo caseiro.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Reagentes, solventes, padrões, equipamentos e instrumentos

Os seguintes reagentes, solventes, padrões, equipamentos e instrumentos são requisitados para o desenvolvimento da pesquisa:

- ✓ Água, grau LC-MS;
- ✓ Acetonitrila, grau LC-MS;
- ✓ Metanol, grau LC-MS;
- ✓ Formeato de Amônio;
- ✓ Sulfato de Magnésio Anidro;
- ✓ Cloreto de Sódio;
- ✓ Hidrogenocitrato de disódio sesquianidro;
- ✓ Citrato de sódio diidratado;
- ✓ Ácido Fórmico;
- ✓ Hidróxido de Sódio;
- ✓ Amino-adsorvente primário secundário (por exemplo, Bondesil-PSA[®] 40uM da Varian);
- ✓ Padrões do fornecedor SPEX em solução na concentração de 100µg/mL, disponíveis em 23 ampolas, com aproximadamente 20 compostos cada.
- ✓ Água fria;
- ✓ Pipetas automáticas;
- ✓ Tubos de centrífuga de 50mL;
- ✓ Tubos de centrífuga de 10mL;
- ✓ Centrífugas com capacidade para tubos de 10 e 50mL;
- ✓ Vials de injeção;
- ✓ Agitadores tipo Vortex;
- ✓ Mesas agitadoras;
- ✓ Cromatógrafo líquido tipo UHPLC (*Ultra High Performance Liquid Chromatography*) da Agilent Technologies modelo 1290 INFINITY, acoplado a espectrômetro de massas tipo Q-Trap (Triplo Quadrupolo com terceiro quadrupolo reversível a Trap – Armadilha de íons) da AB SCIEX, modelo API 5500, com fontes de ionização tipo

ESI (*Eletrospray Ionization*) modelo TurboIon Spray e APCI (*Atmospheric Pressure Chemical Ionization*).

- ✓ Colunas cromatográficas de fase reversa, do tipo C18, conforme citadas na EN 15662:2008:
 - Fenomenex Synergi, de 2.5um e 50x2.0mm;
 - Fenomenex Aqua, 50 x 2mm, 125A C18, com partículas de 3,0um.

4.2 Método

4.2.1 Pesquisa dos Praguicidas Mais Aplicados

A cidade de São José de Rio Pardo foi selecionada como fonte das amostras por conter uma quantidade razoável de produtores das *commodities* avaliadas e que são direcionadas para a produção de *baby-food* pela empresa que apoiou o projeto, a Nestlé LTDA.

A pesquisa para identificação dos praguicidas mais utilizados nas áreas de cultivo de São José do Rio Pardo (Estado de São Paulo, Latitude -21° 35' 44", Longitude -46° 53' 19") foi realizada através do questionamento aos agrônomos responsáveis pela coordenação e instrução dos produtores, visando assim identificar possíveis compostos que sejam aplicados nas culturas juntamente com compostos que não sejam liberados para uso na produção de batata e cenoura e os compostos com o maior potencial de aplicação na matriz mandioquinha. A compilação dessas informações auxiliou a pesquisa dos compostos alvo nas matrizes em avaliação.

4.2.2 Obtenção de Amostras das Commodities

As amostras utilizadas para a validação das matrizes *Solanum tuberosum* (batata inglesa), *Daucus carota* (cenoura) e *Arracacia xanthorrhiza* (mandioquinha) foram adquiridas através da fábrica responsável pela fabricação de *baby-food* da Nestlé LTDA., visando adquirir amostras brancas em relação aos analitos estudados.

As amostras para monitoramento das *commodities* estudadas para posterior Avaliação de Risco foram obtidas das seguintes fontes:

- Envio pela fábrica responsável pela fabricação de *baby-food* em São José do Rio Pardo, sendo amostras de cinco fornecedores diferentes de cada matriz em três coletas diferentes. Deve ser levado em consideração que as amostras de mandioquinha não são de origem de produtores administrados pela Nestlé, mas sim obtidas por compra para a produção;
- Amostras adquiridas em feira livre na Avenida Sapopemba, na Zona Leste de São Paulo (três da cada matriz, adquiridas no mesmo dia, uma de cada vendedor diferente);
- Amostras orgânicas de batata de dois grupos de supermercados diferentes (Mercado 1 e Mercado 2), disponíveis nos hipermercados dos grupos mencionados, sendo três amostras de cada matriz;
- Amostras não-orgânicas, da mesma forma que as orgânicas, sendo três amostras adquiridas a granel de cada matriz para cada hipermercado, e também três amostras para cada matriz em embalagens de vegetais lavados e selecionados.

4.2.3 Validação – Otimização da Metodologia Analítica

4.2.3.1 Método de Extração e Preparo de Amostras

A extração das amostras é baseada na proposta QuEChERS, que possui duas normativas principais, a europeia EN-15662:2008, e a AOAC Official Method 2007.1. A proposta inicial do método foi baseada na normativa europeia EN-15662:2008 – *Foods of plant origin – Determination of pesticides residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE – QuEChERS-method*, seguindo-se então com uma abordagem de interação entre ambas normativas.

Na literatura estão disponíveis diversas modificações do método QuEChERS para extração das diferentes matrizes que podem ser analisadas, assim como os métodos normativos, que possuem, basicamente, diferenças na constituição ou nas quantidades a serem adicionadas dos sais de extração em fase sólida e *clean-up*.

Inicialmente, o projeto se desenvolveria seguindo os passos da normativa europeia, porém, por necessidade em se tentar abranger um número maior de matrizes e compostos em

uma mesma sequência de extração de amostras, a proposta foi alterada para que o método desenvolvido abrangesse tanto as etapas da normativa europeia EN-15662:2008 como do método AOAC Official Method.

O desenvolvimento do método teve como foco avaliar um total de 216 praguicidas e validá-los, possibilitando a detecção e quantificação por LC-MS/MS.

As amostras particionadas e homogeneizadas foram pesadas (aproximadamente 10,0 g, dependendo do grau de umidade da matriz) e seguiram então os seguintes passos:

- Adição do padrão interno TRIS (1,3-dicloroisopropilfosfato) no nível de 100ng/g de amostra;
- Adição do padrão para possíveis ensaios de exatidão e precisão, sendo utilizadas soluções contendo todos analitos analisados nas concentrações de 1,0ug/mL e 10ug/mL;
- As amostras com baixa umidade (menor que 80%) foram adicionadas de água antes da extração inicial para conseguir um peso total de 10g de água;
- Adição de 10mL de acetonitrila;
- Adição de barra de cerâmica para agitação;
- Extração com agitação vertical a 1.500 RPM por três minutos;
- Adição da primeira mistura de sais contendo 4g sulfato de magnésio (MgSO_4), 1g de cloreto de sódio (NaCl) e sais de tampão citrato, sendo 0,5g de citrato de sódio dibásico sesquihidratado ($\text{C}_6\text{H}_6 \text{ Na}_2\text{O}_7 \cdot 1,5\text{H}_2$) e 1,0g de citrato de sódio tribásico dihidratado ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$);
- Agitação a 1.500 RPM por 1 minuto e centrifugação a 5.000 RPM por 10 minutos para a separação de fases;
- Transferência de uma alíquota de 6mL da fase orgânica para um tubo de ensaio de 15mL para o processo de *clean-up* por extração em fase sólida dispersiva empregando 900mg de sulfato de magnésio (MgSO_4), 150mg de PSA e 15mg de Envicarbe® (este último no caso das amostras com alta pigmentação, como a cenoura), para a remoção da água residual e uso de amino-adsorventes para a retirada de interferentes, como os pigmentos intrínsecos à matriz;
- Agitação a 1.500 RPM e centrifugação a 5.000 RPM por 10 minutos para a precipitação dos sais;
- Separação de uma alíquota de 4mL da fase superior em um tubo de ensaio de 15mL;
- Acidificação com 40μL de uma solução de ácido fórmico em acetonitrila a 5% para aumentar a estabilidade de alguns praguicidas sensíveis a meio básico;
- Injeção no cromatógrafo líquido acoplado ao espectrômetro de massas tandem;

- Quantificação dos compostos através da avaliação dos íons de quantificação e confirmação dos praguicidas.

4.2.3.2 Otimização das Condições do LC-MS/MS

Para cada um dos praguicidas selecionados para a realização do projeto foram identificados as possíveis transições de razão massa-carga (m/z) de maior intensidade de sinal para que os compostos pudessem ser otimizados para identificação e quantificação no LC-MS/MS.

Para tal, foi utilizada a fonte de ionização do tipo *Electrospray* (ESI) e o instrumento foi utilizado como tandem no espaço, tendo o Q1 (Quadrupolo 1) como separador dos íons precursores (*precursor ions*), Q2 (Quadrupolo 2) como câmara de colisão para geração dos fragmentos e Q3 (Quadrupolo 3, que no caso do instrumento utilizado, o API5500 da ABSciex, é reversível a *TRAP* – armadilha de íons).

A primeira etapa realizada foi a otimização de cada um dos fragmentos dos praguicidas utilizando soluções de concentrações de 20 a 50ng/mL em metanol:água (50:50) com 10mMol de formiato de amônio, concentração esta que dependia da intensidade do sinal do analito, que devia estar entre 10^5 e 10^6 . Os analitos foram otimizados em grupos de três compostos (seis fragmentos), e os valores de *Collision Energy* (CE, energia de colisão) e *Cell Exit Potencial* (CXP, potencial de saída da câmara de colisão para o terceiro quadrupolo) foram obtidos nesse momento.

Posteriormente, a etapa de FIA – *Flow Injection Analysis* foi realizada, onde uma solução de concentração de 50ng/mL de todos analitos, em metanol:água (50:50) com 10mMol de formiato de amônio, foi injetada sem a presença da coluna cromatográfica, visando obter os parâmetros da fonte de ionização ESI. A *Desclustering Potencial* (DP, potencial que conduz os íons para o pré-filtro de íons), *Cone Voltage* (CV, voltagem dos cones), o fluxo dos gases de dessolvatação e *curtain gas* (fluxo esse estrategicamente localizado para evitar a entrada de sujeira em excesso) e a temperatura de ionização foram obtidos.

A tabela 7 apresenta os compostos testados e seus respectivos fragmentos, sendo o primeiro para quantificação, e o segundo para confirmação, presentes na solução de praguicidas, solução esta adquirida comercialmente em concentrações de 100 µg/mL e posteriormente diluídas para execução do método.

Tabela 7. Lista dos praguicidas otimizados em LC-MS/MS e suas respectivas transições de maior intensidade.

Compostos	Transições	Composto	Transições
3-Hidroxicarbofurano	238,2 > 163,3 238,2 > 181,3	Imidacloprida	256 > 209 256 > 175
Abamectina (Avermectina B1a)	890,5 > 305,2 890,5 > 567,3	Indoxacarbe	528 > 203 528 > 56
Acefato	183,91 > 142,9 183,91 > 125	Ipconazol	334,1 > 70,2 334,1 > 125,0
Acetamiprida	223,2 > 126,0 223,2 > 90,1	Iprovalicarbe	321 > 119 321 > 203
Acibenzolar-S-metil	211,0 > 136,0 211,0 > 140,0	Isocarbofós	307 > 231,1 307 > 121,1
Alanicarbe	400,1 > 238,2 400,1 > 91,1	Isoprocabe	194,2 > 95,1 194,2 > 137,2
Aldicarbe	208 > 89 208 > 116	Isoproturom	207 > 72 207 > 165
Aldicarbe sulfona (Aldoxicarbe)	240,2 > 86,3 240,2 > 148,3	Isoxaflutol	360,1 > 251,1 360,1 > 220,1
Aldicarbe sulfoxido	207,1 > 131,9 207,1 > 88,9	Ivermectina	892,50 > 569,3 892,50 > 307,3
Ametrin	228,1 > 186,2 228,1 > 96,1	Kresoxim-metil	314,1 > 115,9 314,1 > 206,1
Aminocarbe	209 > 137 209 > 152	Linurom	249 > 160 249 > 182
Amitraz	294,2 > 163,1 294,2 > 122,1	Lufenurom	511,1 > 158,1 511,1 > 141,2
Azoxistrobina	404,2 > 372,1 404,2 > 344,1	Mandipropamida	412,0 > 328,0 412,0 > 356,0
Benalaxil	326,3 > 148,1 326,3 > 208,0	Mefenacet	299,0 > 148,1 299,0 > 120,1
Bendiocarbe	224,2 > 167,2 224,2 > 109,2	Mepanipirim	224,2 > 106,0 224,2 > 77,0
Benfuracarbe	411 > 195 411 > 252	Mepronil	270,1 > 119,1 270,1 > 228,0
Benzoximato	364 > 199 364 > 105	Mesotriona	357,1 > 227,8 357,1 > 104,1
Bitertanol	338 > 70 338 > 269	Metconazol	320,1 > 70,1 320,1 > 125,1
Bifenazato	301,1 > 198,1 301,1 > 170,1	Metaflumizona	507,1 > 178,1 507,1 > 287,1
Boscalida	343,1 > 307,1 343,1 > 140,1	Metalaxil	280,2 > 192,2 280,2 > 160,3
Bromuconazol cis	378,0 > 159,101 378,0 > 70,101	Metabenzthiazurom	222 > 165 222 > 150
Bromuconazol trans	378,0 > 159,1 378,0 > 70,1	Metamidofós	141,76 > 124,90 141,76 > 94,10
Bupirimato	317,1 > 166,1 317,1 > 108,1	Metiocarbe	226,11 > 169,10 226,11 > 121,20
Buprofezina	306,1 > 201,1 306,1 > 116,1	Metomil	163,2 > 87,9 163,2 > 106,1
Butafenacil	492,2 > 180,0 492,2 > 131,0	Metoprotrim	272,2 > 240,2 272,2 > 198,0
Butocarboxim	208,2 > 75,1 208,2 > 151,0	Metoxifenozida	369 > 149 369 > 133
Butoxicarboxim	223,2 > 166,1 223,2 > 106,1	Metobromurom	259,1 > 170,1 259,1 > 148,2
Carbaril	202,0 > 145,1 202,0 > 127,1	Metribuzim	215,1 > 187,2 215,1 > 84,1

Compostos	Transições	Composto	Transições
Carbendazim	192,1 > 160,2 192,1 > 132,1	Mevinfós E	225,01 > 127 225,01 > 193,1
Carbetamide	237,09 > 191,09 237,09 > 117,90	Mevinfós Z	225,0 > 127 225,0 > 193,1
Carbofurano	222,2 > 123 222,2 > 165,3	Mexacarbato	223,1 > 166,1 223,1 > 151,0
Carboxin	236 > 143 236 > 87	Monocrotofós	224 > 127 224 > 193,1
Carfentrazona-etílica	412,3 > 366,0 412,3 > 384,0	Monolinurom	215 > 126 215 > 148
Clorantraniliprol	484,3 > 285,0 484,3 > 453,0	Moxidactina	640,3 > 528,20 640,3 > 498,20
Clorfluazurom	539,9 > 158,0 539,9 > 383,0	Miclobutanil	289,1 > 70,2 289,1 > 125,0
Clorotolurom	213 > 72 213 > 139,9	Neburom	275 > 88 275 > 114
Cloroxurom	291,2 > 72,1 291,2 > 218,1	Nitenpiram	271,2 > 126,1 271,2 > 237,2
Cletodim E	360,13 > 163,80 360,13 > 268,10	Novaluron	493 > 158,1 493 > 141,1
Cletodim Z	360,1 > 164,10 360,1 > 268,10	Noviflumurom	527,0 > 193,0 527,0 > 344,0
Clofentezim	303,3 > 138,2 303,3 > 102,2	Nuarimol	315,0 > 252,0 315,0 > 81,0
Clotianidim	250,1 > 132,1 250,1 > 169,1	Ometoato	213,97 > 182,8 213,97 > 125
Ciazofamida	325,0 > 108,0 325,0 > 261,0	Oxadixil	279 > 219 279 > 133
Ciclurom	199,1 > 72,2 199,1 > 139,9	Oxamil	237 > 72 237 > 90
Cimoxanil	199 > 128,1 199 > 111,2	Paclobutrazol	294 > 70 294 > 125
Ciproconazol	292,201 > 70,2 292,201 > 125,1	Penconazol	284,1 > 70,1 284,1 > 159,0
Ciproconazol Isômero	292,2 > 70,2 292,2 > 125,1	Pencycuron	329 > 125 329 > 99
Ciprodinil	226 > 93 226 > 77	Fenmedifam	301,2 > 136,0 301,2 > 168,1
Ciromazina	167,1 > 125,0 167,1 > 108,1	Picoxistrobina	368 > 145 368 > 205
Desmedifam	318,1 > 182,2 318,1 > 136,0	Piperonil butoxida	356,2 > 177,2 356,2 > 119,0
Diclobutrazol	328,1 > 70,1 328,1 > 159,0	Pirimicarbe	239,3 > 72,1 239,3 > 182,2
Dicrotofós	238,1 > 112,1 238,1 > 127,1	Procloraz	376,0 > 307,9 376,0 > 266,2
Dietofencarbe	268 > 226 268 > 180	Promecarbe	208,10 > 109,0 208,10 > 151,0
Difenoconazol	406,2 > 251,1 406,2 > 337,0	Prometom	226,1 > 142,0 226,1 > 184,3
Difenoconazol Isômero	406,1 > 251,1 406,1 > 337,0	Prometrim	242,1 > 186 242,1 > 68
Diflubenzurom	311 > 158,2 311 > 141,2	Propamocarbe	189 > 102 189 > 144
Dimetoato	230 > 199,1 230 > 125,0	Propargite	368 > 231 368 > 175
Dimetomorfe	388,2 > 301,2 388,2 > 165,3	Profam	180,1 > 138,1 180,1 > 77,1
Dimoxistrobina	327,1 > 116,0 327,1 > 205,0	Propiconazol	342,1 > 69,1 342,1 > 159,0

Compostos	Transições	Composto	Transições
Diniconazol	326,2 > 69,9 326,2 > 159,2	Propoxur	210,1 > 111,1 210,1 > 168,2
Dinotefurano	203,2 > 114,0 203,2 > 129,0	Protioconazol	344 > 125,0 344 > 189,1
Dioxacarbe	224 > 123 224 > 167	Pimetrozine	218,1 > 105,0 218,1 > 78,9
Diurum	233,0 > 72,0	Piracarbolidée	218,1 > 125 218,1 > 97
Doramectina	916,4 > 331,4 916,4 > 593,5	Piraclostrobina	388 > 194 388 > 163
Emamectinaa B1a	886,4 > 158,1 886,4 > 302,2	Piridaben	365,1 > 147,2 365,1 > 309,1
Emamectinaa B1b	872,4 > 158,2 872,4 > 302,3	Pirimethanil	200,1 > 82,0 200,1 > 107,0
Epoxiconazol	330,2 > 121,1 330,2 > 101,0	Piriproxifen	322,2 > 96,1 322,2 > 185,2
Eprinomectina	914,45 > 186,1 914,45 > 330,1	Quinoxifem	308,1 > 197,2 308,1 > 162,3
Etaconazol	328,2 > 159,0 328,2 > 123,0	Rotenona	395 > 213 395 > 192
Etiofencarbe	226,1 > 106,9 226,1 > 164,1	Secbumetom	226,2 > 170,1 226,2 > 100,0
Etiprol	397,1 > 255 397,1 > 351	Siduron	233,32 > 94,0 233,32 > 137,2
Etirimol	210,2 > 98,1 210,2 > 140,0	Simetrim	214,1 > 124,2 214,1 > 144,0
Etofumerato	304,1 > 125,1 304,1 > 69,9	Espinetoram A	748,5 > 142,2 748,5 > 98,1
Etoxazol	360,1 > 141,0 360,1 > 113,0	Espinetoram B	760,50 > 142,2 760,50 > 98,1
Famoxadona	392,3 > 331,0 392,3 > 238,1	Espinosade A	732,5 > 142,1 732,5 > 98,3
Fenamidona	312,1 > 92,1 312,1 > 65,0	Espinosade D	746,5 > 142,1 746,5 > 98,1
Fenarimol	331,0 > 268,1 331,0 > 81,2	Espirodiclofen	411,0 > 313,2 411,0 > 213,1
Fenazaquim	307,3 > 161,2 307,3 > 147,1	Espiromesifem	371,3 > 255,3 371,3 > 273,3
Fenbuconazol	337,2 > 125,1 337,2 > 69,9	Espirotetramate	374,2 > 330,2 374,2 > 302,2
Fenhexamida	302 > 55 302 > 97	Espiroxamina	298,40 > 144,10 298,40 > 100,00
Fenobucarbe	208,2 > 95,3 208,2 > 152,1	Espiroxamina Isômero	298,30 > 144,10 298,30 > 100,00
Fenoxicarbe	302,1 > 88,1 302,1 > 116,2	Sulfentrazona	387,0 > 307,1 387,0 > 146,0
Fenpropimorfe	304,3 > 147,1 304,3 > 116,9	Tebufenozida	353,1 > 133,1 353,1 > 297,1
Fenpiroximato	422,2 > 366,1 422,2 > 135,2	Tebuconazol	308,3 > 70,1 308,3 > 125,2
Fenurom	165 > 72 165 > 120	Tebufenpirade	334,3 > 117,0 334,3 > 145,1
Fipronil	453,9 > 368,1 453,9 > 255,1	Tebutiurum	229 > 172 229 > 116
Flonicamida	230,1 > 174,1 230,1 > 203,1	Teflubenzurom	381,1 > 141,2 381,1 > 158,2
Fluazinam	463 > 416 463 > 398	Temefós	467 > 405 467 > 419
Flubendimida	683,1 > 408,0 683,1 > 274,1	Terbumetom	226 > 170 226 > 114

Compostos	Transições	Composto	Transições
Fludioxonil	266,1 > 158,1 266,1 > 185,0	Terbutrim	242 > 186 242 > 68
Flufenacete	364,1 > 152,1 364,1 > 194,2	Tetraconazol	372 > 159 372 > 70
Flufenoxurom	489,2 > 158,1 489,2 > 141,1	Tiabendazol	202,1 > 175,1 202,1 > 131,2
Fluometurom	233,1 > 46,3 233,1 > 72,1	Tiacloprid	253,2 > 126,0 253,2 > 186,1
Fluoxastrobina	459,2 > 188,0 459,2 > 427,1	Tiametoxam	292,1 > 211,2 292,1 > 181,1
Fluquinconazol	376 > 307 376 > 349	Tidiazuron	221,2 > 102,1 221,2 > 127,9
Flusilazol	316,2 > 247,2 316,2 > 165,3	Tiobencarbe	258,08 > 125,3 258,08 > 100,1
Flutolanil	324,2 > 262,1 324,2 > 242,1	Tiofanox	219,09 > 144,0 219,09 > 57,10
Flutriafol	302,1 > 122,9 302,1 > 109,0	Tiofanato metílico	343,1 > 151,1 343,1 > 268
Forclorfenurom	248 > 93,1 248 > 165,1	Triadimefom	294,3 > 197,2 294,3 > 225,2
Formetanato HCL	222,2 > 165,1 222,2 > 120,0	Triadimenol	296,2 > 70,0 296,2 > 99,1
Fuberidazol	185 > 157 185 > 65	Triclorfon	274,0 > 108,9 274,0 > 221,0
Furalaxil	302,2 > 242,0 302,2 > 95,20	Triciclazol	190 > 163 190 > 136
Furatiocarbe	383,0 > 252,0 383,0 > 195,0	Trifloxistrobina	409,2 > 186,3 409,2 > 206,2
Halofenozida	348,1 > 105,0 348,1 > 275,2	Triflumizol	346,0 > 278,0 346,0 > 72,9
Hexaconazol	314,2 > 70,2 314,2 > 159,1	Triflumurom	359,1 > 139 359,1 > 156
Hexaflumurom	461,1 > 158,2 461,1 > 141,1	Triticonazol	318,1 > 70,0 318,1 > 125,0
Hexitiazox	353,2 > 228,0 353,2 > 168,2	TRIS (Padrão Interno)	431 > 99 431 > 209
Hidrametilnom	495,3 > 150,9 495,3 > 323,0	Vamidotion	288,2 > 146,1 288,2 > 118,1
Imazalil	297,1 > 159,1 297,1 > 201,0	Zoxamida	336,2 > 159,0 336,2 > 187,0

Após a finalização da otimização dos parâmetros de leitura do espectrômetro de massas, foram realizados testes para avaliar a coluna cromatográfica a ser utilizada, sendo considerada a Phenomenex Acqua, 50 x 2mm, 125A C18, com partículas de 3,0um. As fases móveis implementadas foram água ultrapura com 10mMol de formiato de amônio para a aquosa e metanol grau LC-MS com 10mMol de formiato de amônio para a orgânica.

Após ensaios para obtenção do melhor fluxo e gradientes de fase móvel, foi determinado um fluxo inicial de 400µL/min com 100% de Fase A (aquosa) de 0 a 3.0 minutos de injeção, invertendo linearmente o gradiente para 100% da Fase B até 10.50 minutos, com

posterior aumento de fluxo para 500 μ L/min até 13.50 minutos com inversão linear de gradiente até 100% de Fase A e redução de fluxo para 400 μ L/min até 14 minutos.

Os tempos de retenção de cada praguicida foram determinados após testes com grupos de 50 em 50 compostos, sendo que o experimento utilizado foi o *Schedule MRM (Multiple Reaction Monitoring* programado), onde o instrumento “avalia” cada fragmento a cada 3mseg, e procura os fragmentos numa janela de 60 segundos dentro da média do tempo de retenção obtido para cada analito. O método cromatográfico permaneceu então definido com 14 minutos de injeção.

Visando obter um método com maior produtividade em bancada, foi definida a alternativa de adição de padrão nas amostras para quantificação através da programação automática do auto-amostrador do UHPLC.

Para tal alternativa, três vials foram utilizados, sendo um com a amostra extraída pelo método QuEChERS, um vial com a solução dos compostos a concentrações de 0,060 μ g/mL e 0,625 μ g/mL e um vial com acetonitrila, para que o volume final de injeção fosse idêntico para cada adição.

O injetor automático foi então programado para trabalhar coltando volumes adequados para injetar a amostra sem adição de praguicidas, a amostra com adição de 10ng/mL e com 25ng/mL. Através da colta de microlitos do padrão e microlitros de acetonitrila adequados, dependendo da concentração esperada, o volume total injetado é completado para 3,0 μ L, misturado dentro do loop e injetado. Três injeções consecutivas foram então realizadas para traçar a curva de calibração e realizar a quantificação.

4.2.4 Método de Avaliação de Risco

A avaliação do risco da presença de praguicidas nas matérias-primas para a produção de baby-food, primeiramente para batata e posteriormente para cenoura e mandioquinha, foi realizada através da verificação e quantificação dos compostos encontrados em cada *commoditie*, dentro do conjunto de padrões de praguicidas disponíveis, juntamente com os dados de ingestão média de baby-foods por crianças. A partir desses dados, e relacionando com a Ingestão Diária Aceitável (IDA) desses compostos, obtida a partir da pesquisa de dados de estudos de experimentação animal, a avaliação do risco foi realizada levando em conta os valores encontrados para as matrizes advindas de produção paulista.

4.3 Validação do método

A validação do método foi baseada no protocolo da SANCO nº SANCO/12495/2011 (*Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed*), sendo analisados os parâmetros descritos abaixo. As matrizes batata e mandioquinha foram consideradas similares quanto ao efeito matriz, sendo a batata a escolhida para validação, visto a sua formação de uma ligeira pigmentação por oxidação em contato com o oxigênio do ar atmosférico após o processo de descascamento.

A escolha foi realizada após terem sido realizados ensaios com amostras brancas das *commodities*, onde foi verificado que a similaridade entre matrizes era verídica, permanecendo a escolha de validar uma matriz com baixa pigmentação, e uma com alta, sendo no caso da última, adicionado carbono (carvão ativado Envicarbe®), para a retirada das interferências por alta pigmentação.

4.3.1 Cálculo de $CC\alpha$ e $CC\beta$

Os cálculos de $CC\alpha$ (Limite de Decisão) e $CC\beta$ (Capacidade de Detecção) têm sido utilizados recentemente para estimar de uma forma mais concreta em métodos de confirmação os limites de detecção e quantificação para substâncias banidas e contaminantes.

O *Commission Decision* 2002/657/EC define duas metodologias para a determinação dessas concentrações críticas ($CC\alpha$ e $CC\beta$) durante a validação do método. O primeiro método é baseado na determinação das relações sinal-ruído (S/N – *Signal to Noise*) nas amostras branco e na matriz fortificada no nível $CC\alpha$. O segundo método se refere ao padrão internacional ISO 11843-2, o qual determina o $CC\alpha$ e o $CC\beta$ baseado no modelo de regressão linear analisando materiais fortificados em diferentes níveis de concentração (LOCO *et. al.*, 2006).

O $CC\beta$ foi definido na 2002/657/EC como o menor conteúdo da substância que pode ser detectada, identificada e/ou quantificada em uma amostra com uma probabilidade de erro de β . No caso de substâncias onde não foram estabelecidos limites mínimos, a Capacidade de Detecção é a menor concentração na qual o método é capaz de detectar com confiança amostras contaminadas com uma certeza estatística de $1 - \beta$.

O $CC\alpha$ é a concentração a partir da qual uma amostra pode ser declarada não conforme com uma probabilidade de erro igual a α (erro de 1% para substâncias não permitidas e 5% para substâncias com LMR). No caso de substâncias com LMR, o $CC\alpha$ é a concentração a partir da qual, com uma certeza de 95% ($1 - \alpha$), a substância está presente em concentração superior ao seu LMR. A esta concentração, está também associado um erro β , que é sempre de 50%, estando relacionado com a dispersão de resultados e à probabilidade de ocorrência de falsos negativos.

4.3.2 Estudo de linearidade

A linearidade corresponde à capacidade de um método de fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância em análise (SEBBEN, *et. al.*, 2010), e é avaliada por meio de análise de regressão linear. O ensaio foi realizado através da adição de diferentes concentrações dos analitos, em três replicatas e juntamente com o branco, às matrizes e/ou ao solvente, abrangendo diversos pontos do intervalo de faixa dinâmica.

Segundo a SANCO (2011), a calibração por interpolação é aceita entre dois níveis, desde que a diferença entre os dois níveis não seja maior do que um fator de 4, e onde a média do fator de resposta, derivados de determinações em replicata para cada nível, indiquem linearidade aceitável de resposta com o nível mais alto não ultrapassando 120% do menor valor de resposta (110% nos casos onde o LMR – Limite Máximo de Resíduo, seja próximo ou excedido. Onde três ou mais níveis são utilizados, uma função apropriada de calibração pode ser calculada e utilizada entre o menor e o maior nível de calibração. A curva de calibração (que pode ou não ser linear) deve, em geral, não ser forçada a passar pela origem. Se os resíduos individuais desviarem para mais de $\pm 20\%$, ($\pm 10\%$ para casos onde o LMR está próximo ou foi excedido), para a curva de calibração na região relevante, uma função de calibração alternativa pode ser utilizada, sendo normalmente indicado utilizar uma regressão linear com peso ($1/x$).

Para os analitos que apresentam variação no sinal de acordo com o tempo, calibração em um nível pode fornecer resultados mais exatos do que a calibração multi-nível. Para casos onde o valor obtido está acima do LMR, a resposta do analito na amostra não deve ultrapassar $\pm 20\%$ do sinal do padrão de calibração, e para os analitos que não estão acima do LMR, o valor aceitável é de $\pm 50\%$.

A técnica de adição de padrão pode ser usada para a quantificação como uma abordagem alternativa à curva na matriz, sendo normalmente indicado para a quantificação de confirmação de analitos que ultrapassem o valor de LMR, ou quando não há matriz branca similar à da amostra disponível.

Para o ensaio do método utilizado na validação das matrizes batata, cenoura e mandioquinha, a adição de padrão foi realizada por programação no *auto-sampler* e as concentrações testadas foram 2,5ng/g; 5,0ng/g; 10,0ng/g; 25,0ng/g; 50ng/g e 70ng/g.

4.3.3 Precisão

A precisão do método fornece a dispersão dos valores medidos em torno de um valor médio e é basicamente calculada através do desvio padrão e do coeficiente de variação (CV%) de três concentrações diferentes (SEBBEN, *et. al.*, 2010).

Os requerimentos da SANCO (2011) são de no mínimo cinco determinações no Limite de Reporte (LR, ou do inglês RL – Report Limit), para testar a sensibilidade do método, e em pelo menos um segundo nível mais alto, como por exemplo, no LMR. Como o método foi validado para um número de compostos acima de 200, e não separadamente, foram determinados três níveis diferentes para a validação, que incluem o *Report Limit* determinado a 10ug/kg da matriz, 5ug/kg (0,5 RL), e 25ug/kg (2,5 vezes acima do RL).

Para o ensaio de Repetibilidade, os três níveis foram testados em cinco replicatas cada, para a Repetibilidade Intermediária, os três níveis foram testados em replicatas em dois dias diferentes. Pode-se também ensaiar a reprodutibilidade do método, que é o grau de concordância entre os resultados das medições de uma mesma amostra, efetuadas sob condições variadas (mudança de operador, local, equipamentos, etc.) (INMETRO, 2000), assim sendo, o mesmo procedimento foi realizado por dois analistas e em dois dias diferentes.

Segundo a SANCO (2011), os valores serão aceitos se obedecerem os critérios de 70 a 120% de recuperação, e $\pm 20\%$ de variação entre os resultados.

4.3.4 Exatidão

A exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro (RIBANI *et. al.*, 2004), sendo sempre verificada dentro de certos limites ou faixas de aceitação, determinados pelas concentrações estudadas, podendo ser valores estreitos em níveis de concentração elevados e mais amplos em níveis de traços. A exatidão pode ser calculada a partir da análise de amostras de referência, de comparação entre métodos e de estudos de recuperação. Para o presente estudo, foram realizados estudos de recuperação, em cinco replicatas e em três níveis de concentrações diferentes.

A exatidão foi estudada a partir dos mesmos dados obtidos para o ensaio de precisão, sendo os valores de aceitação entre 70 e 120% de recuperação, com DPR (Desvio-padrão Relativo, ou RSD – Relative Standard Deviation). Segundo a SANCO (2011), resultados acima de 120% podem ser aceitos, se os mesmos apresentarem boa precisão (dentro do limite de $\pm 20\%$).

4.3.5 Robustez

Segundo o INMETRO (2003), a robustez de um método mede a sensibilidade que este apresenta frente a pequenas variações. Diz-se que um método é robusto quando ele não é afetado por uma modificação pequena e deliberada em seus parâmetros (RIBANI *et. al.*, 2004).

A Robustez foi determinada através do Teste de Youden, que permite não somente avaliar a robustez do método, mas também demonstrar a influência de cada parâmetro analítico nos resultados finais (CEZAR & PIANETTI, 2009). A ideia básica de Youden é não estudar uma interação por vez, mas introduzir diversas mudanças de uma só vez, em uma maneira que os efeitos de mudanças individuais possam ser verificados (YOUTEN & STEINER, 1975; INMETRO, 2003).

Para o procedimento, três parâmetros foram selecionados para o teste, realizados em quatro ensaios, independentes entre si e susceptíveis de influenciarem os resultados finais das determinações: o tempo de agitação após a adição de acetonitrila, a velocidade de

centrifugação após a adição da primeira mistura de sais para separação das fases, e o uso dos sais cloreto de sódio (NaCl), sulfato de magnésio (MgSO_4), hidrogenocitrato de dissódio sesquihidratado ($\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) e amina primária secundária (PSA) pesados separadamente, do fornecedor Sigma-Aldrich, enquanto que o uso das misturas dos sais de clean-up são obtidos já industrialmente pesados, do fornecedor Agilent. A fixação dos valores nominais e alternativos para quantificação dos desvios dos fatores em relação aos valores prescritos. Representa-se normalmente o valor nominal por “1” e o valor alternativo por “-1” (RELACRE, 2000). A tabela 8 demonstra um plano de ensaio típico para o Teste de Youden.

Tabela 8. Quadro Típico para Plano de Ensaio para o Teste de Youden.

	A	B	C	REi
1º Ensaio	1	1	1	RE 1
2º Ensaio	1	-1	-1	RE 2
3º Ensaio	-1	1	-1	RE 3
4º Ensaio	-1	-1	1	RE 4
	RA	RB	RC	

Onde:

- *REi* = resultado obtido pela combinação do ensaio i;
- *A, B, C* = fatores em análise (valor nominal / valor alternativo);
- *Ri (A, B, C)* = efeitos de cada fator.
- *A* = Tempo de Agitação, onde (1) são 15 minutos e (-1) são 10 minutos;
- *B* = Velocidade de Centrifugação, onde (1) são 5000 RPM e (-1) são 4000 RPM;
- *C* = Sal em mistura industrializada ou pesados separadamente, onde (1) é a mistura industrializada, e (-1) é a mistura pesada separadamente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Pesquisa dos Compostos Utilizados na área de São José do Rio Pardo

Em abril de 2013 foi realizada visita à fábrica da Nestlé de São José do Rio Pardo, onde foram verificadas e explicadas pelo agrônomo responsável as principais etapas de aquisição e processamento das matérias-primas. Neste período foram plantadas salsinha (com 60 dias de cultivo) e alho-poró (60 dias de cultivo), e as colheitas para produção foram as cenoura e salsinha. Os produtores de batata e cenoura não foram visitados nesse dia, porém foram acompanhadas as etapas de chegada das culturas, lavagem e processamento. A figura 15 ilustra a região da cidade de São José do Rio Pardo e suas proximidades.

Figura 15. Região da cidade de São José do Rio Pardo e suas proximidades.

Os processos descritos abaixo foram acompanhados e descritos pelo agrônomo responsável:

- Entrega das mudas das matérias-primas a serem cultivadas pelos produtores contratados pela Nestlé. As sementes ou mudas são compradas pelo setor de agronomia da empresa, que possui um processo de acompanhamento e auditoria da aquisição desses itens, para o cultivo (Figura 16);

Figura 16. Mudas de alho poro e salsa, prontas para serem plantadas pelo produtor contratado Nestlé.

- Os terrenos a serem plantados são tratados de acordo com o cultivo a ser recebido. Para cenoura, por exemplo, é necessário enriquecimento com nitrogênio, então normalmente ocorre o plantio anterior de milho, para aumentar a fixação de nitrogênio no solo (figura 17).

Figura 17. Solo após o preparo para o plantio de salsinha, e solo após o plantio.

- A empresa fornece os produtos a serem aplicados nas lavouras (praguicidas liberados para cada uma das *commodities*, de acordo com as monografias da ANVISA e legislações externas no caso de exportação). Esses produtos são armazenados em depósitos, que são construídos de acordo com a Portaria 030/92, que diz que o depósito deve ter as seguintes características (Figura 18):
 - Área compatível com o volume dos produtos a serem estocados;
 - Piso de material impermeável;
 - Paredes de alvenaria, com pintura a óleo ou tinta lavável;
 - Estrados e/ou prateleiras para acondicionamento dos produtos;
 - Anúncio na porta do depósito, com os dizeres: "produtos tóxicos";

- Boa iluminação que permita fácil leitura dos rótulos dos produtos armazenados;
- Boa ventilação;
- Equipamentos de proteção para os empregados;
- Local reservado para depósito das embalagens recicláveis;

Figura 18. Depósito de Praguicidas seguindo a Portaria 030/92.

- A colheita é realizada, após o período de crescimento e carência dos praguicidas, a matéria-prima é pesada e direcionada para a fábrica de São José do Rio Pardo.
- A matéria-prima chega à fábrica, é registrada e identificada por lotes e passa por um processo analítico de separação do que é utilizável ou não na produção, como por exemplo, a retirada de cenouras-pau, que são mais fibrosas do que as encaminhadas para o processamento. Objetos estranhos, como pedras, facas e vidros são também retirados nessa etapa.
- Uma amostragem do lote é direcionada para as análises laboratoriais, como monitoramento de praguicidas, dentro do programa de controle dos contaminantes orgânicos, e contaminantes inorgânicos (chumbo, arsênio).
- Os legumes e vegetais passam por um processo de lavagem e clareamento com água clorada para posterior direcionamento para a produção de caldos, temperos e sopas ou *baby-food*. No primeiro caso, passam por secagem, desidratação e trituração; no segundo, passam por uma sequência de cortes em cubos ou fatias e cozimento.

As informações de como as *commodities* são plantadas, cultivadas, colhidas e tratadas as *commodities* se tornam de grande valia para que possa ser realizada uma investigação e avaliação crítica sobre as etapas do processo, uma vez que algum praguicida de uso banido ou acima do Limite Máximo de Resíduo tenha sido detectado nas matérias-primas. Além disso, a rastreabilidade bem executada do processo permite que possa ser identificado o produtor que esteja utilizando algum produto não indicado, avalia-lo com maior criticidade e guiar as empresas responsáveis na realização de treinamentos e formação dos produtores de acordo com as maneiras e aplicações adequadas dos praguicidas.

5.2 Relação de Compostos de Aplicação Liberada nas Culturas

Os produtos químicos aplicados nas culturas de cenoura e batata e os praguicidas presentes em suas composições estão discriminados na tabela 09.

A lista para mandioquinha não foi disponibilizada, uma vez que a matéria-prima é adquirida de produtores que não são contratados da empresa. Nesses casos, uma pesquisa intensa com os fornecedores deve ser realizada para a identificação do tratamento dado às plantações, visto também que a ANVISA não controla este tipo de cultura.

Tabela 9. Lista de produtos aplicados nas culturas de batata e cenoura e os praguicidas presentes em suas composições.

Produto Comercializado	Ingrediente Ativo	Finalidade
CENOURA		
Afalon SC	Linurom	Herbicida
Fusilade 250 EW	Fluazifope-p-butílico	Herbicida
Linurex Agricur 500 WP	Linurom	Herbicida
Podium EW	Fenoxaprope-p-etílico	Herbicida
Amistar wg	Azoxistrobina	Fungicida
Bravonil Ultrex	Clorotalonil	Fungicida
Cabrio Top	Metiram	Fungicida
Cantus	Boscalida	Fungicida
Caramba 90	Metalaxil	Fungicida
Certus	Pyrimetanil	Fungicida
COMET	Piraclostrobina	Fungicida
Contact	Hidróxido de Cobre	Fungicida/ Regulador Crescim.

Produto Comercializado	Ingrediente Ativo	Finalidade
Dacobre WP	Clorotalonil e Oxidocloreto de Cobre	Fungicida/ Regulador Crescim.
Daconil 500	Clorotalonil	Fungicida
Dithane NT	Mancozebe	Fungicida
Domark 100 EC	Tetraconazol	Fungicida
Fegatex	Cloreto de Benzalcônio e Cloreto de Etilbenzalcônio	Fungicida
Folicur PM	Tebuconazol	Fungicida
Garant	Hidroxido de Cobre	Fungicida/ Regulador Crescim.
Isatalonil	Clorotalonil	Fungicida
Kasumin	Casugamicina	Fungicida
Manzate 800	Mancozebe	Fungicida
Midas BR	Mancozebe e Famoxadona	Fungicida
Mythos	Pyrimetanil	Fungicida
Nativo	Trifloxistrobina e Tebuconazol	Fungicida
Polyram DF	Metiram	Fungicida
Score	Difenoconazol	Fungicida
Sialex 500	Promicidona	Fungicida
Sumilex 500 WP	Procimidona	Fungicida
BATATA		
Afalon SC	Linurom	Herbicida
Afalon 450 SC	Linurom	Herbicida
Fusilade 250 EW	Fluazifope-p-butílico	Herbicida
Gramoxone 200	Paraquat	Herbicida
Helmoxone	Dicloreto de Paraquat	Herbicida
Sencor 480	Metribuzim	Herbicida
Abamectina Nortox	Abamectina	Inseticida
Abamectina DVA 18 EC	Abamectina	Inseticida
Actara 250 WG	Tiametoxam	Inseticida
Akito	Beta-Cipermetrina	Inseticida
Astro	Clorpirifós	Inseticida
Cefanol	Acefato	Inseticida
Cipermetrina Nortox 250 EC	Cipermetrina	Inseticida
Clorpirifós Fersol 480 EC	Clorpirifós	Inseticida
Connect	Imidacloprida e Beta-Ciflutrina	Inseticida
Eforia	Tiametoxam e Lambda-Cialotrina	Inseticida
Engeo Pleno	Tiametoxam e Lambda-Cialotrina	Inseticida
Evolution	Acefato	Inseticida
Fastac 100 SC	Alfa-Cipermetrina	Inseticida
Imidacloprida 350 SC	Imidacloprida	Inseticida
Kraft 36 EC	Abamectina	Inseticida

Produto Comercializado	Ingrediente Ativo	Finalidade
Lannate BR	Metomil	Inseticida
Lorsban 480 BR	Clorpirifós	Inseticida
Match Ec	Lufenurom	Fungicida
Methomex 215 SL	Metomil	Inseticida
Mospilan	Acetamipridao	Inseticida
Nufos 480 EC	Clorpirifós	Inseticida
Orthene 750 BR	Acefato	Inseticida
Pirate	Clorfenapir	Inseticida
Pirinex 480 EC	Clorpirifós	Inseticida
Polytrin	Profenofós e Cipermetrina	Inseticida
Regent DUO	Fiprinol e Alfa-Cipermetrina	Inseticida
Sabre	Clorpirifós	Inseticida
Thuricide	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Inseticida
Trigard 750 WP	Ciromazina	Inseticida
Tiobel 500	Cloridrato de Cartape	Inseticida / Fungicida
Vertimec 18 EC	Abamectina	Inseticida
Warrant	Imidaclopridao	Inseticida
Tracer	Espinosade	Inseticida
Trinca	Lambda-Cialotrina	Inseticida
Rumo WG	Indoxacabee	Inseticida
Premio	Clorantraniliprol	Inseticida
Ampligo	Lambda-Cialotrina e Clorantraniliprol	Inseticida
Decis 25 EC	Deltametrina	Inseticida
Karate Zeon 50 CS	Lambda-Cialotrina	Inseticida
Acrobat MZ	Dimetomorfe e Mancozebe	Fungicida
Amistar Top	Azoxistrobina e Difeconazol	Fungicida
Amistar Wg	Azoxistrobina	Fungicida
Bion 500 WG	Acibenzolar-s-metílico	Fungicida
Bravonil Ultrex	Clorotalonil	Fungicida
Cabrio Top	Metiram e Piraclostrobina	Fungicida
Cantus	Boscalida	Fungicida
Captan 500 WP	Captana	Fungicida
Captan SC	Captana	Fungicida
Cartap BR 500	Cloridrato de Cartape	Fungicida
Cimox WP Helm	Cimoxanil e Mancozebe	Fungicida
Cobox	Oxicloreto de Cobre	Fungicida/ Regulador Crescim.
Cobox DF	Oxicloreto de Cobre e Cobre metálico	Fungicida/ Regulador Crescim.
Cobre Fersol	Fosfina e Fosfeto de Alumínio	Fumigante
Comet	Piraclostrobina	Fungicida

Produto Comercializado	Ingrediente Ativo	Finalidade
Completo	Bentiavalicarbe-Isopropílico e Fluazinam	Fungicida
Consento	Cloridrato de Propamocarbe e Fluopicolide	Fungicida
Cuprozeb	Mancozebe e Oxidocloreto de Cobre	Fungicida/ Regulador Crescim.
Curzate BR	Cimozanil e Mancozebe	Fungicida/ Regulador Crescim.
Daconil 500	Clorotalonil	Fungicida
Daconil WG	Clorotalonil	Fungicida
Dithane NT	Mancozebe	Fungicida
Echo Wg	Clorotalonil	Fungicida
Fegatex	Cloreto de Benzalcônio e Cloreto de Etilbenzalcônio	Fungicida
Folio Gold	Clorotalonil e Metalaxil-M	Fungicida
Forum	Dimetomorfe	Fungicida
Forum Plus	Clorotalonil e Dimetomorfe	Fungicida
Frowncide 500 SC	Fluazinam	Fungicida
Galben-M	Benalaxil e Mancozebe	Fungicida
Garant	Hidróxido de Cobre	Fungicida/ Regulador Crescim.
Impact 125 SC	Flutriafol	Fungicida
Infinito	Cloridrato de Propamocarbe e Fluopicolide	Fungicida
Isatalonil	Clorotalonil	Fungicida
Kocide WDG Bioactive	Hidróxido de Cobre	Fungicida/ Regulador Crescim.
Legacy	Fluazinam	Fungicida
Mancozeb Sipcam	Mancozebe	Fungicida
Manzate	Mancozebe	Fungicida
Maxim	Fludioxonil	Fungicida
Micene	Cimoxanil e Mancozebe	Fungicida
Monceren 250 SC	Pencicuirom	Fungicida
Orthocide 500	Captana	Fungicida
Polyram DF	Metiram	Fungicida
Previcur N	Hidrocloreto de propil-3-(dimetilamino-propil)-Carbamato	Fungicida
Prisma	Difeconazol	Fungicida
Proplant	Cloridrato de Propamocarbe	Fungicida
Reconil	Oxicloreto de Cobre	Fungicida/ Regulador Crescim.
Recop	Oxicloreto de Cobre	Fungicida/ Regulador Crescim.
Revus	Mandipropamidaa	Fungicida
Ridomil Gold Bravo	Metalaxil-M e Clorotalonil	Fungicida
Score	Difeconazol	Fungicida
Sialex 500	Procimidona	Fungicida

Produto Comercializado	Ingrediente Ativo	Finalidade
Sumilex 500 WP	Procimidona	Fungicida
Zetanil	Cimoxanil e Clorotalonil	Fungicida
Zignal	Fluazinam	Fungicida

Uma vez detectado um praguicida nas amostras das *commodities*, é possível relacionar com os produtos comercializados aplicados nas culturas, e identificar se o mesmo foi aplicado ou não de acordo com o programa estabelecido para tratamento da cultura. O monitoramento das plantações se mostra aqui de suma importância para o cumprimento adequado das normas e legislações vigentes, evitando assim eventuais riscos à saúde dos consumidores, dos aplicadores, da fauna e da flora local.

5.3 Dados para o Método de Leitura no Espectrômetro de Massas

Os dados da tabela 10 trazem a razão massa-carga das transições utilizadas de cada composto para quantificação (nome do composto_Q) e para confirmação (nome do composto_C), a *Declustering Potencial* (DP, potencial que conduz os íons para o pré-filtro de íons), *Cone Voltage* (CV, voltagem dos cones), *Collision Energy* (CE, energia de colisão), CXP (potencial de saída da câmara de colisão para o terceiro quadrupolo) e o tempo de retenção médio desses compostos utilizados para o experimento *Scheduled MRM*.

Esses dados foram obtidos a partir das infusões das soluções de cada praguicida e dos ensaios de FIA – *Flow Injection Analysis*. Após a determinação desses parâmetros, o método de leitura instrumental foi montado e deu-se início aos testes cromatográficos.

Tabela 10. Parâmetros de leitura no API5500 dos praguicidas analisados.

Composto	Q1	Q3	Tempo de Retenção	DP	CE	CXP
3-Hidroxycarbofurano_C	238,2	163,3	6,6	21	13	8
3-Hidroxycarbofurano_Q	238,2	181,3	6,6	31	29	8
Abamectina_C	890,5	567,3	10,8	91	19	26
Abamectina_Q	890,5	305,2	10,8	71	47	14
Acefato_C	183,91	125	3,4	51	23	16
Acefato_Q	183,91	142,9	3,4	56	23	22

Composto	Q1	Q3	Tempo de Retenção	DP	CE	CXP
Acetamiprida_C	223,2	90,1	6,6	26	47	10
Acetamiprida_Q	223,2	126	6,6	26	35	20
Acibenzolar-S-metil_C	211	140	8,8	116	33	12
Acibenzolar-S-metil_Q	211	136	8,8	121	39	14
Aldicarbe Sulfoxido_C	207,1	88,9	4,5	91	17	16
Aldicarbe Sulfoxido_Q	207,1	131,9	4,5	81	9	20
Aldicarbe_C	208	89	7,3	61	9	20
Aldicarbe_Q	208	116	7,2	61	31	14
Aldoxicarbe_C	240,2	148,3	5	46	19	8
Aldoxicarbe_Q	240,2	86,3	5	46	23	14
Ametrin_C	228,1	96,1	8,9	1	33	14
Ametrin_Q	228,1	186,2	8,9	1	35	10
Aminocarbe_C	209	137	7,8	51	19	10
Aminocarbe_Q	209	152	7,8	66	39	20
Amitraz_C	294,2	122,1	10,6	1	41	8
Amitraz_Q	294,2	163,1	10,6	6	29	12
Alanicarbe_C	400,1	91,1	9,6	81	39	14
Alanicarbe_Q	400,1	238,2	9,6	86	25	12
Azoxistrobina_C	404,2	344,1	8,8	1	19	16
Azoxistrobina_Q	404,2	372,1	8,8	1	19	16
Benalaxil_C	326,3	208	9,6	1	19	14
Benalaxil_Q	326,3	148,1	9,6	6	27	10
Bendiocarbe_C	224,2	167,2	7,8	61	23	8
Bendiocarbe_Q	224,2	109,2	7,8	61	11	8
Benfuracarbe_C	411	252	10,1	21	17	12
Benfuracarbe_Q	411	195	10,1	16	29	16
Benzoximato_C	364	105	9,8	36	33	18
Benzoximato_Q	364	199	9,8	56	11	12
Bifenazato_C	301,1	170,1	9,2	41	27	10
Bifenazato_Q	301,1	198,1	9,2	41	11	8
Bitertanol_C	338	269	9,7	1	13	14
Bitertanol_Q	338	70	9,7	1	13	12
Boscalida_C	343,1	140,1	8,9	121	27	16
Boscalida_Q	343,1	307,1	8,9	121	27	16
Bromuconazol Cis_C	378	70,1	9,2	21	23	12
Bromuconazol Cis_Q	378	159,1	9,2	21	33	8
Bromuconazol trans_C	378,1	70,1	9,5	1	23	12
Bromuconazol trans_Q	378,1	159,1	9,5	1	49	8

Composto	Q1	Q3	Tempo de Retenção	DP	CE	CXP
Bupirinato_C	317,1	108,1	9,5	11	31	14
Bupirinato_Q	317,1	166,1	9,5	6	35	12
Buprofezina_C	306,1	201,1	10,2	16	21	18
Buprofezina_Q	306,1	116,1	10,2	31	27	16
Butafenacil_C	492,2	331	9,2	26	33	16
Butafenacil_Q	492,2	180	9,2	21	55	10
Butocarboxim_C	213,1	156,1	7,1	71	15	12
Butocarboxim_Q	213,1	75,1	7,1	66	17	14
Butoxicarboxim_C	223,2	106,1	8	86	13	16
Butoxicarboxim_Q	223,2	166,1	8	91	11	10
Carbaril_C	202	127,1	8	101	35	8
Carbaril_Q	202	145,1	8	101	13	6
Carbendazim_C	192,1	132,1	6,9	61	41	8
Carbendazim_Q	192,1	160,2	6,9	66	35	8
Carbetamide_C	237,09	118,1	7,5	56	11	10
Carbetamide_Q	237,09	192	7,5	51	17	8
Carbofurano_C	222,2	165,3	7,8	41	15	10
Carbofurano_Q	222,2	123	7,8	46	39	20
Carboxim_C	236	87	7,9	46	29	14
Carboxim_Q	236	143	7,9	51	19	12
Carfentrazona-etílica_C	412,1	384	9,6	141	19	18
Carfentrazona-etílica_Q	412,1	366	9,6	141	35	16
Clorantraniliprol_C	484,3	453	8,6	36	23	20
Clorantraniliprol_Q	484,3	286	8,6	31	37	14
Clorfluazurom_C	539,9	383	10,5	56	27	18
Clorfluazurom_Q	539,9	158	10,5	121	23	10
Clorotolurom_C	213	139,9	8,2	66	31	20
Clorotolurom_Q	213	72	8,2	76	53	12
Cloroxurom_C	291,2	218,1	9,2	56	33	14
Cloroxurom_Q	291,2	72,1	9,2	56	23	12
Cletodim E_C	360,13	268,1	9	41	15	14
Cletodim E_Q	360,13	163,8	9	66	25	10
Cletodim Z_C	360,1	268,1	8,3	36	15	14
Cletodim Z_Q	360,1	164,1	8,3	51	35	12
Clofentezim_C	303,3	102,2	9,7	1	49	16
Clofentezim_Q	303,3	138,2	9,7	1	19	8
Clotianidim_C	250,1	169,1	6,3	1	17	10
Clotianidim_Q	250,1	132,1	6,3	1	19	8

Composto	Q1	Q3	Tempo de Retenção	DP	CE	CXP
Ciazofamida_C	325	261	9,3	36	13	12
Ciazofamida_Q	325	108	9,3	31	17	10
Ciclurom_C	199,1	89,1	8,5	56	19	16
Ciclurom_Q	199,1	72,2	8,5	51	27	12
Cimoxanil_C	199	111,2	6,8	91	23	8
Cimoxanil_Q	199	128,1	6,8	91	11	8
Ciproconazol Isomero_C	292,1	125,1	9,2	61	35	8
Ciproconazol Isomero_Q	292,1	70,2	9,2	61	21	12
Ciproconazol_C	292,201	70,2	9,1	16	21	8
Ciproconazol_Q	292,201	125,1	9,1	6	33	8
Ciprodinil_C	226	77	9,6	111	63	12
Ciprodinil_Q	226	93	9,6	36	41	14
Ciromazina_C	167,1	108,1	4	51	27	16
Ciromazina_Q	167,1	125	4	36	23	16
Desmedifam_C	318,1	136	8,7	56	33	22
Desmedifam_Q	318,1	182,2	8,7	51	29	10
Diclobrutazol_C	328,1	159	9,5	1	81	8
Diclobutrazol_Q	328,1	70,1	9,5	1	81	8
Dicrotofós_C	238,1	127,1	9,1	66	21	8
Dicrotofós_Q	238,1	112,1	9,1	61	15	8
Dietofencarbe_C	268	180	8,8	1	23	14
Dietofencarbe_Q	268	226	8,8	26	13	12
Difeconazol Isomero_C	406,1	337	9,9	11	23	16
Difeconazol Isomero_Q	406,1	251,1	9,9	1	43	12
Difeconazol_C	406,2	251,1	9,9	1	23	14
Difeconazol_Q	406,2	337	9,9	1	33	12
Diffubenzurom_C	311	141,2	9,4	26	43	8
Diffubenzurom_Q	311	158,2	9,4	41	17	8
Dimetoato_C	230	199,1	6,5	46	27	18
Dimetoato_Q	230	125	6,5	46	25	10
Dimetomorfe_C	388,2	165,3	9	31	41	10
Dimetomorfe_Q	388,2	301,2	9	36	39	14
Dimoxistrobina_C	327,1	205	9,5	36	13	16
Dimoxistrobina_Q	327,1	116	9,5	46	27	18
Diniconazol_C	326,2	159,2	9,8	11	35	6
Diniconazol_Q	326,2	69,9	9,8	1	27	10
Dinotefurano_C	203,2	129	5,1	71	15	18
Dinotefurano_Q	203,2	114	5,1	71	29	18

Composto	Q1	Q3	Tempo de Retenção	DP	CE	CXP
Dioxacarbe_C	224	167	6,5	46	11	14
Dioxacarbe_Q	224	123	6,5	61	21	20
Diurom_C	233	160,001	8,1	71	35	10
Diurom_Q	233	72	8,1	86	21	12
Doramectina_C	916,4	593,5	11	116	19	14
Doramectina_Q	916,4	331,4	11	136	33	14
Emamectinaa B1a_C	886,4	302,2	10,4	1	41	20
Emamectinaa B1a_Q	886,4	158,1	10,4	1	41	10
Emamectinaa B1b_C	872,4	302,3	10,3	1	41	8
Emamectinaa B1b_Q	872,4	158,2	10,3	1	43	10
Epiconazol_C	330,2	121,1	9,4	1	63	14
Epiconazol_Q	330,2	101	9,4	1	37	8
Eprinomectina_C	914,45	330,1	10,6	71	19	14
Eprinomectina_Q	914,45	186,1	10,6	16	25	30
Etaconazol_C	328,2	123	9,3	1	71	16
Etaconazol_Q	328,2	159	9,3	1	33	10
Etiofencarbe_C	226,1	164,1	8,6	91	11	10
Etiofencarbe_Q	226,1	106,9	8,6	96	19	16
Etiprol_C	397,1	351	8,9	1	27	10
Etiprol_Q	397,1	255	8,9	1	47	14
Etirimol_C	210,2	140	8,5	126	29	22
Etirimol_Q	210,2	98,1	8,5	126	35	14
Etofumerato_C	304,1	161,2	8,8	1	33	8
Etofumerato_Q	304,1	121,1	8,8	6	27	8
Etoxazol_C	360,1	113	10,4	31	77	16
Etoxazol_Q	360,1	141	10,4	6	35	10
Famoxadona_C	392,3	238,1	9,6	31	21	12
Famoxadona_Q	392,3	331	9,6	26	13	16
Fenamidona_C	312,1	65	9,3	46	65	10
Fenamidona_Q	312,1	92,1	9,3	26	35	14
Fenarimol_C	331	81	9,3	1	31	14
Fenarimol_Q	331	268	9,3	1	31	14
Fenazaquim_C	307,3	147,1	10,7	6	25	8
Fenazaquim_Q	307,3	161,2	10,7	1	21	10
Fenbuconazol_C	337,2	69,9	9,4	1	23	10
Fenbuconazol_Q	337,2	125,1	9,4	1	33	6
Fenhexamida_C	302	55	9,2	1	31	16
Fenhexamida_Q	302	97	9,2	1	57	8

Composto	Q1	Q3	Tempo de Retenção	DP	CE	CXP
Fenobucarbe_C	208,2	152,1	8,8	36	11	8
Fenobucarbe_Q	208,2	95,3	8,8	31	19	6
Fenoxicarbe_C	302,1	116,2	9,4	56	15	8
Fenoxicarbe_Q	302,1	88,1	9,4	71	49	14
Fenpropimorfe_C	304,3	116,9	10,9	1	71	20
Fenpropimorfe_Q	304,3	147,1	10,9	36	37	22
Fenpiroximato_C	422,2	135,2	10,5	1	41	6
Fenpiroximato_Q	422,2	366,1	10,5	1	21	18
Fenurom_C	165	120	6,3	71	23	18
Fenurom_Q	165	72	6,3	86	19	14
Fipronil_C	453,9	255,1	9,4	26	45	22
Fipronil_Q	453,9	368,1	9,4	31	31	16
Flonicamida_C	230,1	174,1	5,4	121	23	10
Flonicamida_Q	230,1	203,1	5,4	121	23	10
Flubendimida_C	683,1	274,1	9,5	146	47	14
Flubendimida_Q	683,1	408	9,5	151	27	16
Flufenacete_C	364,1	194,2	9,3	51	15	10
Flufenacete_Q	364,1	152,1	9,3	51	25	10
Flufenoxurom_C	489,2	141,1	10,4	136	25	10
Flufenoxurom_Q	489,2	158,1	10,4	1	39	10
Fluodioxonil_C	266,1	185	8,9	46	33	12
Fluodioxonil_Q	266,1	158,1	8,9	41	43	8
Fluometurom_C	233,1	72,1	8,1	81	21	10
Fluometurom_Q	233,1	46,3	8,1	71	37	8
Fluoxastrobina_C	459,2	427,1	9,2	1	23	18
Fluoxastrobina_Q	459,2	188	9,2	1	43	14
Fluquinconazol_C	376	349	9,3	61	27	18
Fluquinconazol_Q	376	307	9,3	41	35	14
Flusilazol_C	316,2	165,3	9,4	16	33	8
Flusilazol_Q	316,2	247,2	9,4	16	23	12
Flutolanil_C	324,2	242,1	9	1	33	12
Flutolanil_Q	324,2	262,1	9	1	35	16
Flutriafol_C	302,1	109	8,3	1	35	16
Flutriafol_Q	302,1	122,9	8,3	1	33	20
Forclorfenurom_C	248	93,1	8,5	56	21	12
Forclorfenurom_Q	248	129	8,5	46	45	14
Formetanato HCl_C	222,2	120	5,9	51	35	8
Formetanato HCl_Q	222,2	165,1	5,9	56	19	10

Composto	Q1	Q3	Tempo de Retenção	DP	CE	CXP
Fuberidazol_C	185	65	7,6	116	57	8
Fuberidazol_Q	185	157	7,6	116	37	12
Furalaxil_C	302,2	242	8,8	36	33	6
Furalaxil_Q	302,2	95,2	8,8	51	21	16
Furatiocarbe_C	383	252	10,1	11	23	12
Furatiocarbe_Q	383	195	10,1	51	29	20
Halofenozida_C	348,1	275,2	8,8	36	13	12
Halofenozida_Q	348,1	105	8,8	36	27	12
Hexaconazol_C	314,2	159,1	9,7	46	23	12
Hexaconazol_Q	314,2	70,2	9,7	36	23	12
Hexaflumurom_C	461,1	141,1	10	91	57	12
Hexaflumurom_Q	461,1	158,2	10	91	37	26
Hexitiazox_C	353,2	168,2	10,3	51	33	14
Hexitiazox_Q	353,2	228	10,3	41	19	10
Hidrametilnom_C	495,3	323	9,9	1	41	20
Hidrametilnom_Q	495,3	150,9	9,9	1	113	22
Imazalil_C	297,1	201	9,6	1	23	12
Imazalil_Q	297,1	159,1	9,6	1	29	8
Imidacloprida_C	256	175	6,3	1	23	12
Imidacloprida_Q	256	209	6,3	1	37	20
Indoxacarbe_C	528	56	9,9	91	85	10
Indoxacarbe_Q	528	203	9,9	16	45	14
Iprovalicarbe_C	321	203	9,2	41	11	12
Iprovalicarbe_Q	321	119	9,2	41	21	20
Isocarbofós_C	307	121,1	8,4	36	45	18
Isocarbofós_Q	307	231,1	8,4	36	19	10
Isoprocarbe_C	194,2	137,2	8,3	61	11	10
Isoprocarbe_Q	194,2	95,1	8,3	61	19	14
Isoproturom_C	207	165	8,4	76	19	12
Isoproturom_Q	207	72	8,4	76	57	12
Ivermectina_C	892,5	307,3	11	16	31	14
Ivermectina_Q	892,5	569,3	11	16	21	26
Kresoxim-metil_C	314,1	206,1	9,5	66	9	10
Kresoxim-metil_Q	314,1	115,9	9,5	51	17	18
Linurom_C	249	160	8,8	41	19	12
Linurom_Q	249	182	8,8	36	23	10
Lufenurom_C	511,1	141,2	10,2	166	63	8
Lufenurom_Q	511,1	158,1	10,2	156	25	8

Composto	Q1	Q3	Tempo de Retenção	DP	CE	CXP
Mandipropamida_C	412	356	9	1	13	44
Mandipropamida_Q	412	328	9	1	19	6
Mefenacet_C	299	120,1	9,2	1	35	8
Mefenacet_Q	299	148,1	9,2	6	19	10
Mepanipirim_C	224,2	77	9,2	1	49	12
Mepanipirim_Q	224,2	106	9,2	1	31	18
Mepronil_C	270,1	228	9,1	41	19	16
Mepronil_Q	270,1	119,1	9,1	41	31	8
Mesotriona_C	340,1	228	11,6	96	23	12
Mesotriona_Q	340,1	185,9	11,6	91	33	32
Metaflumizona_C	507,1	287,1	10,1	1	33	14
Metaflumizona_Q	507,1	178,1	10,1	1	31	10
Metalaxil_C	280,2	192,2	8,5	26	31	10
Metalaxil_Q	280,2	160,3	8,5	31	33	14
Metconazol_C	320,1	125,1	9,7	1	45	6
Metconazol_Q	320,1	70,1	9,7	1	25	12
Metabenzthiazurom_C	222	150	8,3	31	43	16
Metabenzthiazurom_Q	222	165	8,3	31	21	16
Metamidofós_C	141,76	94,1	1,8	61	17	6
Metamidofós_Q	141,76	124,9	1,8	46	27	8
Metiocarbe_C	226,11	121,2	8,9	66	23	8
Metiocarbe_Q	226,11	169,1	8,9	61	23	10
Metomil_C	163,2	106,1	5,4	61	13	18
Metomil_Q	163,2	87,9	5,4	71	11	14
Metoprotrim_C	272,2	198	8,8	66	29	16
Metoprotrim_Q	272,2	240,2	8,8	66	25	12
Metoxifenoazida_C	369	133	9,1	26	31	20
Metoxifenoazida_Q	369	149	9,1	31	21	26
Metobromurom_C	259,1	148,2	8,3	36	21	10
Metobromurom_Q	259,1	170,1	8,3	36	25	10
Metribuzim_C	215,1	84,1	7,7	1	27	14
Metribuzim_Q	215,1	187,2	7,7	1	23	10
Mevinfós E_C	225,01	193,1	7,1	56	9	10
Mevinfós E_Q	225,01	127	7,1	56	19	20
Mevinfós Z_C	225	193,1	6,6	41	9	10
Mevinfós Z_Q	225	127	6,6	46	19	8
Mexacarbato_C	223,1	151	9,1	51	31	24
Mexacarbato_Q	223,1	166,1	9,1	51	19	12

Composto	Q1	Q3	Tempo de Retenção	DP	CE	CXP
Monocrotofós_C	224	98	5,9	51	15	14
Monocrotofós_Q	224	127	5,9	56	31	18
Monolinurom_C	215	148	8,1	26	19	10
Monolinurom_Q	215	126	8,1	41	21	22
Moxidactina_C	640,3	498,2	10,9	26	15	22
Moxidactina_Q	640,3	528,2	10,9	31	13	12
Miclobutanil_C	289,1	125	9,1	51	35	12
Miclobutanil_Q	289,1	70,2	9,1	31	21	8
Neburom_C	275	114	9,5	41	19	14
Neburom_Q	275	88	9,5	1	21	14
Nitempiram_C	271,2	237,2	5,2	26	25	14
Nitenpiram_Q	271,2	126,1	5,2	36	33	8
Novaluron_C	493	141,1	10	81	57	6
Novaluron_Q	493	158,1	10	16	21	12
Nuarimol_C	315	81,1	8,8	1	31	12
Nuarimol_Q	315	252,1	8,8	1	29	12
Ometoato_C	213,97	125	4,8	56	29	20
Ometoato_Q	213,97	182,8	4,8	56	15	14
Oxadixil_C	279	133	7,5	36	27	20
Oxadixil_Q	279	219	7,5	36	13	16
Oxamil_C	237	90	5,1	56	11	14
Oxamil_Q	237	72	5,1	56	13	12
Paclobutrazol_C	294	125	9	1	43	20
Paclobutrazol_Q	294	70	9	1	75	10
Penconazol_C	284,1	159	9,5	46	35	14
Penconazol_Q	284,1	70,1	9,5	26	19	12
Pencycuron_C	329	99	9,8	66	73	46
Pencycuron_Q	329	125	9,8	101	31	32
Fenmedifam_C	301,2	168,1	8,6	96	27	22
Fenmedifam_Q	301,2	136	8,6	81	11	10
Picoxistrobina_C	368	205	9,4	1	13	14
Picoxistrobina_Q	368	145	9,4	11	43	16
Piperonil Butoxida_C	356,2	119	10,3	16	45	20
Piperonil Butoxida_Q	356,2	177,2	10,3	21	15	8
Pirimicarbe_C	239,3	182,2	8,3	16	19	10
Pirimicarbe_Q	239,3	72,1	8,3	16	21	14
Procloraz_C	376	266,2	9,8	31	23	10
Procloraz_Q	376	307,9	9,8	26	29	14

Composto	Q1	Q3	Tempo de Retenção	DP	CE	CXP
Promecarbe_C	208,1	151	9	51	11	10
Promecarbe_Q	208,1	109	9	51	21	18
Prometom_C	226,1	184,3	8,8	66	23	10
Prometom_Q	226,1	142	8,8	66	29	20
Prometrim_C	242,1	200,2	9,3	1	23	12
Prometrim_Q	242,1	158,1	9,3	1	29	10
Propamocarbe_C	189	144	5,7	56	17	24
Propamocarbe_Q	189	102	5,7	71	31	18
Propargite_C	368	175	10,4	31	21	14
Propargite_Q	368	231	10,4	36	13	14
Profam_C	180,1	77,1	8,3	1	37	12
Profam_Q	180,1	138,1	8,3	11	11	10
Propiconazol_C	342,1	69,1	9,6	31	33	10
Propiconazol_Q	342,1	159	9,6	1	23	12
Propoxur_C	210,1	111,1	7,7	56	11	10
Propoxur_Q	210,1	168,2	7,7	56	29	8
Protioconazol_C	344	189,1	9,7	81	27	10
Protioconazol_Q	344	125	9,7	81	59	10
Pimetrozine_C	218,1	78,9	5,8	61	57	14
Pimetrozine_Q	218,1	105	5,8	61	41	16
Piracarbolidée_C	218,1	97	7,8	51	35	16
Piracarbolidée_Q	218,1	125	7,8	51	23	20
Piraclostrobina_C	388	163	9,7	26	37	18
Piraclostrobina_Q	388	194	9,7	21	29	16
Piridaben_C	365,1	309,1	10,7	41	17	12
Piridaben_Q	365,1	147,2	10,7	41	31	12
Pirimethanil_C	200,1	82	8,9	91	31	16
Pirimethanil_Q	200,1	107	8,9	101	31	14
Piriproxifen_C	322,2	185,2	10,3	21	29	12
Piriproxifen_Q	322,2	96,1	10,3	21	19	12
Quinoxifem_C	308,1	197,2	10,3	116	59	6
Quinoxifem_Q	308,1	162,3	10,3	106	51	10
Rotenona_C	395	192	9,5	16	31	10
Rotenona_Q	395	213	9,5	11	31	16
Sebumetom_C	226,2	100	8,7	1	35	16
Sebumetom_Q	226,2	170,1	8,7	1	23	14
Siduron_C	233,32	137,2	8,9	6	23	8
Siduron_Q	233,32	94	8,9	6	25	14

Composto	Q1	Q3	Tempo de Retenção	DP	CE	CXP
Simetrim_C	214,1	144	8,4	1	27	12
Simetrim_Q	214,1	124,2	8,4	41	27	8
Espinosade A_C	732,5	98,3	10,9	1	107	4
Espinosade A_Q	732,5	142,1	10,9	1	79	24
Espinosade D_C	746,5	98,1	10,9	6	97	16
Espinosade D_Q	746,5	142,2	10,9	1	33	12
Espinoteram A_C	748,5	98,1	10,9	1	99	16
Espinoteram A_Q	748,5	142,2	10,9	6	83	6
Espinoteram B_C	760,5	98,1	11	1	105	16
Espinoteram B_Q	760,5	142,2	11	1	33	10
Espirodiclofen_C	411	213,1	10,5	96	47	12
Espirodiclofen_Q	411	313,2	10,5	81	15	16
Espiromesifem_C	371,3	273,3	10,4	121	15	12
Espiromesifem_Q	371,3	255,3	10,4	121	29	12
Espirotetramate_C	374,2	302,2	9,3	1	21	14
Espirotetramate_Q	374,2	330,2	9,3	1	19	16
Espiroxamina I_C	298,4	100	9,7	1	37	16
Espiroxamina I_Q	298,4	144,1	9,7	1	35	10
Espiroxamina II_C	298,3	100	9,7	1	37	16
Espiroxamina II_Q	298,3	144,1	9,7	1	27	10
Sulfentrazona_C	387	146	7,9	161	55	12
Sulfentrazona_Q	387	307,1	7,9	146	29	14
Tebuconazol_C	308,3	125,2	9,6	51	39	8
Tebuconazol_Q	308,3	70,1	9,6	61	25	12
Tebufenozida_C	353,1	297,1	9,5	31	11	14
Tebufenozida_Q	353,1	133,1	9,5	36	23	10
Tebufenpirade_C	334,3	145,1	10,1	21	35	22
Tebufenpirade_Q	334,3	117	10,1	21	49	18
Tebutiuirom_C	229	116	7,9	51	35	14
Tebutiuirom_Q	229	172	7,9	51	33	14
Teflubenzurom_C	381,1	158,2	10,2	1	19	10
Teflubenzurom_Q	381,1	141,2	10,2	21	55	14
Temefós_C	467	419	10,2	156	25	18
Temefós_Q	467	405	10,2	151	19	18
Terbumetom_C	226	114	8,9	1	31	18
Terbumetom_Q	226	170	8,9	1	23	14
Terbutrim_C	242	68	9,3	6	51	12
Terbutrim_Q	242	186	9,3	1	23	12

Composto	Q1	Q3	Tempo de Retenção	DP	CE	CXP
Tetraconazol_C	372	70	9,3	81	25	14
Tetraconazol_Q	372	159	9,3	71	35	12
Tiabendazol_C	202,1	131,2	7,4	86	43	10
Tiabendazol_Q	202,1	175,1	7,4	116	33	10
Tiacloprid_C	253,2	186,1	7	1	19	12
Tiacloprid_Q	253,2	126	7	1	27	20
Tiametoxam_C	292,1	181,1	5,7	1	29	12
Tiametoxam_Q	292,1	211,2	5,7	21	15	12
Tidiazuron_C	221,2	127,9	7,8	66	21	22
Tidiazuron_Q	221,2	102,1	7,8	66	21	16
Tiobencarbe_C	258,08	100,1	9,8	36	17	16
Tiobencarbe_Q	258,08	125,3	9,8	36	35	8
Tiofanox_C	219,09	60,9	6,8	56	9	10
Tiofanox_Q	219,09	57,1	6,8	66	31	10
Tiofanato metílico_C	343,1	268	7,7	46	13	14
Tiofanato metílico_Q	343,1	151,1	7,7	56	25	10
Triadimefom_C	294,3	225,2	9,1	41	17	10
Triadimefom_Q	294,3	197,2	9,1	31	19	8
Triadimenol_C	296,2	99,1	9,2	16	19	16
Triadimenol_Q	296,2	70,1	9,2	21	23	10
Triclorfon_C	274	221	6,4	46	19	12
Triclorfon_Q	274	108,9	6,4	41	27	16
Triciclazol_C	190	136	7,2	91	37	20
Triciclazol_Q	190	163	7,2	81	29	10
Trifloxistrobina_C	409,2	206,2	9,9	11	19	8
Trifloxistrobina_Q	409,2	186,3	9,9	1	21	10
Triflumizol_C	346	72,9	10	26	21	12
Triflumizol_Q	346	278	10	16	13	18
Triflumurom_C	359,1	156	9,7	6	21	12
Triflumurom_Q	359,1	139	9,7	6	41	8
TRIS_IS_C	430,9	208,8	9,6	81	17	14
TRIS_IS_Q	430,9	98,9	9,6	106	79	16
Triticonazol_C	318,1	125	9,3	1	31	8
Triticonazol_Q	318,1	70	9,3	16	19	10
Vamidotion_C	288,2	118,1	6,6	41	29	8
Vamidotion_Q	288,2	146,1	6,6	51	17	8
Zoxamida_C	336,2	159	9,6	51	27	12
Zoxamida_Q	336,2	187	9,6	51	53	10

5.4 Testes das Colunas Cromatográficas

O instrumento utilizado para a separação cromatográfica é de *ultra-performance*, possui bombas de alta eficiência que trabalham com pressões de até 12.000 psi, mínimo de volume morto e caminhos a serem percorridos entre os módulos. Dessa forma, a coluna cromatográfica deve se adequar ao sistema para que sejam obtidas resoluções ideais com formatos de picos finos e corridas rápidas.

A primeira coluna a ser testada foi a Fenomenex Synergi, de 2.5 μ m e 50x2.0mm. Esta coluna apresenta alta resolução e os 216 picos cromatográficos saíram em menos de 20 minutos de corrida; porém, após poucos dias de teste e aproximadamente 200 injeções de amostra da *commoditie* batata, a coluna perdeu resolução e sua pressão chegou a dobrar de valor. As injeções seguintes apresentaram picos alargados e com caudas na base direita, inviabilizando a quantificação ideal dos compostos. Duas colunas do mesmo tipo foram testadas nesse processo, e as duas tiveram queda na eficiência.

Na tentativa de sanar esse problema, uma nova coluna foi selecionada, a Fenomenex Acqua, de 50x2.0mm e partículas de 5 μ m, coluna esta citada na normativa européia. Apesar de apresentar tamanho de partícula maior, o que causaria uma diminuição na resolução dos picos, essa diminuição não foi observada. Os picos permaneceram próximos aos seus tempos de retenção, com variação de no máximo 10% entre as duas colunas, e formatos de pico relativamente idênticos aos da coluna Synergi.

A figura 19 ilustra os TICs (*Total Ion Chromatogram*) da injeção do padrão 5 da curva de calibração (25 μ g/kg) para a coluna Synergi, e a figura 20 para a coluna Aqua, mostrando a total semelhança entre a característica cromatográfica do sinal entre as colunas Synergi e Aqua, apesar da diferença de tamanho de partícula e porosidade.

Figura 19. TICs do padrão 5 da curva de calibração (25ug/kg) para a coluna Synergi.

Figura 20. TICs do padrão 5 da curva de calibração (25ug/kg) para a coluna Aqua.

Após comparação entre as colunas e injeções consecutivas na coluna Aqua, esta foi escolhida por apresentar maior robustez para o método. O acoplamento de pré-colunas para a diminuição da entrada de sujidades na coluna cromatográfica foi uma ferramenta também utilizada para aumentar a vida útil da coluna.

5.5 Validação do Método

Dentre os 216 analitos, 22 foram excluídos da validação devido a falhas como baixa sensibilidade, ausência de sinal, variação de resposta não tolerável ao longo das injeções ou baixa resolução da transição de confirmação, foram rejeitados nos ensaios com injeção de solução para identificação de resolução e tempo de retenção dos picos. No futuro, uma investigação seria indicada para identificar os possíveis motivos para a baixa performance desses compostos, como, por exemplo, modificação das transições utilizadas, mudança de polaridade e novas realizações de procedimento de otimização.

Os compostos desconsiderados, e suas respectivas causas de exclusão estão apresentados na tabela 11.

Tabela 11. Analitos excluídos por baixa performance para o método atual.

Praguicida	Motivo da Exclusão
Abamectina	Variação de sinal acima do aceitável
Acefato	Formato de pico não aceitável (alargado)
Analicarbe	Ausência de sinal
Benfuracarbe	Ausência de sinal
Bifenezate	Sinal muito baixo
Cyromazina	Ausência de sinal
Dicrotofós	Ausência de sinal
Doramectina	Variação de sinal acima do aceitável
Emamectina B1a	Variação de sinal acima do aceitável
Emamectina B1b	Variação de sinal acima do aceitável
Eprinomectina	Variação de sinal acima do aceitável
Espiromesifem	Variação de sinal acima do aceitável
Flubendemida	Sinal muito baixo
Halofenozida	Ausência de sinal
Isocarbofós	Ausência de sinal
Ivermectina	Variação de sinal acima do aceitável
Mesotriona	Ausência de sinal
Metoxifenoazida	Variação de sinal acima do aceitável
Moxidactina	Variação de sinal acima do aceitável
Piridaben	Ausência de sinal

Propamocarbe	Ausência de sinal
Tiofanox	Ausência de sinal

5.5.1 Seletividade e linearidade para as matrizes batata e mandioquinha

A seletividade foi estudada através da injeção de amostras brancas e comparação com os picos cromatográficos de cada analito, e através da avaliação das relações sinal/ruído foi possível identificar a ausência de interferentes.

A linearidade foi estudada em solvente e através de adição em matriz. Devido à alta interferência da matriz causada no sinal analítico na análise por Espectrometria de Massas durante o processo de Ionização por *Eletrospray*, decidiu-se realizar a curva de calibração em matriz.

A adição na matriz foi feita através de programação no *auto-sampler*, assim como definido no método de leitura instrumental. A tabela 12 apresenta os dados de coeficiente de determinação, desvio padrão dos resíduos e a equação linear obtida para cada um dos praguicidas estudados, com exceção dos analitos já previamente excluídos da validação.

Tabela 12. Dados de linearidade em solvente e em matriz para os praguicidas estudados

Analito	Solvente			Matriz		
	R ²	DP Resíduos	Equação Linear	R ²	DP Resíduos	Equação Linear
3-Hidroxicarbofurano	0,9933	0,0254	$y=0.0002+0.0118*x$	0,9981	0,0137	$y=0,0005*x+0,0124$
Acetamiprida	0,997	0,192	$Y=0.043+0.137*x$	0,9968	0,2425	$y=-0,0196*x+0,1690$
Acibenzolar-S-metil	0,9906	0,0951	$Y=-0.0295+0.0372*x$	0,9808	0,0796	$y=0,0723*x+0,0224$
Aldicarbe	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,98	0,0116	$y=0,0068*x+0,0032$
Aldicarbe sulfona (Aldoxicarbe)	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9959	0,0402	$y=-0,0126*x+0,0248$
Aldicarbe sulfoxido	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9983	0,0259	$y=-0,0116*x+0,0245$
Ametrin	0,997	0,169	$Y=0.004+0.122*x$	0,9952	0,2779	$y=-0,0583*x+0,1577$
Aminocarbe	0,999	0,202	$Y=0.133+0.229*x$	0,9963	0,6141	$y=-0,1482*x+0,4000$
Amitraz	0,9950	0,345	$Y=0.014+0.023*x$	0,9899	0,4099	$y=0,0157*x+0,1534$
Azoxistrobina	0,9930	0,231	$Y=-0.057+0.078*x$	0,9905	1,5692	$y=-0,3834*x+0,6298$
Benalaxil	0,995	0,45	$Y=-0.044+0.233*x$	0,9908	0,8120	$y=0,0453*x+0,3326$
Bendiocarbe	0,9951	0,653	$Y=-0.0197+0.0264*x$	0,9982	0,1917	$y=0,0138*x+0,1778$

Analito	Solvente			Matriz		
	R ²	DP Resíduos	Equação Linear	R ²	DP Resíduos	Equação Linear
Benfuracarbe	0,957	0,127	$Y=0.014+0.023*x$	Sinal baixo	Sinal baixo	Sinal baixo
Benzoximato	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9887	0,1334	$y=0,0354*x+0,0492$
Bitertanol	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9857	0,0409	$y=0,0065*x+0,0134$
Boscalida	0,989	0,214	$Y=-0.057+0.078*x$	0,9799	0,3094	$y=-0,0319*x+0,0829$
Bromuconazol cis	0,99	0,697	$Y=-0.0197+0.0264*x$	0,9899	0,0674	$y=0,0026*x+0,0251$
Bromuconazol trans	0,9874	0,0472	$Y=-0.0004+0.0159*x$	0,9939	0,0295	$y=0,0057*x+0,0148$
Bupirimato	0,9955	0,0387	$Y=-0.0125+0.022*x$	0,9877	0,0665	$y=-0,0058*x+0,0235$
Buprofezina	0,9894	0,0605	$Y=-0.0037+0.0223*x$	0,9897	0,1048	$y=-0,0311*x+0,0405$
Butafenacil	0,9936	0,342	$Y=-0.0045+0.0188*x$	0,9835	0,3379	$y=-0,1077*x+0,1025$
Butocarboxim	0,9969	0,912	$Y=-0.0045+0.0188*x$	0,9962	0,0182	$y=0,0037*x+0,0116$
Butoxicarboxim	0,9894	0,745	$Y=0.030+0.040*x$	0,9956	0,0410	$y=-0,0120*x+0,0244$
Carbaril	0,9951	0,823	$Y=0.009+0.164*x$	0,9957	0,1376	$y=-0,0291*x+0,0826$
Carbendazim	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9903	1,0177	$y=-1,2799*x+0,4056$
Carbetamide	0,989	0,112	$Y=0.030+0.040*x$	0,9955	0,1596	$y=-0,0023*x+0,0931$
Carbofurano	0,997	0,253	$Y=0.009+0.164*x$	0,9956	0,4232	$y=-0,0395*x+0,2523$
Carboxin	0,9940	0,354	$Y=-0.0014+0.00382*x$	0,9956	0,6980	$y=-0,0517*x+0,4160$
Carfentrazona-etílica	0,9965	0,0132	$Y=-0.0074+0.0084*x$	0,982	0,0095	$y=0,0008*x+0,0028$
Clorantniliprol	0,9916	0,112	$Y=-0.019+0.092*x$	0,9902	0,0317	$y=-0,0039*x+0,0126$
Clorfluazurom	0,9945	0,0074	$Y=-0.0014+0.00382*x$	0,9914	0,0157	$y=0,0002*x+0,0066$
Clorotolurom	0,996	0,156	$Y=-0.019+0.092*x$	0,995	0,1957	$y=-0,0143*x+0,1091$
Cloroxurom	0,995	0,356	$Y=-0.005+0.190*x$	0,9965	0,3033	$y=-0,1833*x+0,2014$
Cletodim E	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9888	0,0599	$y=-0,0199*x+0,0222$
Cletodim Z	0,9936	0,18	$Y=0.011+0.053*x$	0,9937	0,0092	$y=-0,0017*x+0,0045$
Clofentezim	0,985	0,168	$Y=0.011+0.053*x$	0,9744	0,1585	$y=-0,0150*x+0,0384$
Clotianidim	0,9954	0,025	$Y=-0.0059+0.0140*x$	0,9961	0,0284	$y=-0,0276*x+0,0179$
Ciazofamida	0,997	0,195	$Y=0.035+0.142*x$	0,9947	0,2726	$y=-0,1343*x+0,1473$
Ciclurom	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9931	0,3757	$y=-0,0141*x+0,1772$
Cimoxanil	0,991	0,0331	$Y=0.0124+0.0133*x$	0,9972	0,0473	$y=-0,0092*x+0,0349$
Ciproconazol	0,995	0,18	$Y=-0.043+0.095*x$	0,972	0,1557	$y=-0,0029*x+0,0359$

Analito	Solvente			Matriz		
	R ²	DP Resíduos	Equação Linear	R ²	DP Resíduos	Equação Linear
Ciproconazol Isômero	0,996	0,059	$Y=0.0129+0.0355*x$	0,9941	0,1947	$y=-0.0285*x+0.0998$
Ciprodinil	0,992	0,18	$Y=0.025+0.078*x$	0,9964	0,1447	$y=-0.0493*x+0.0950$
Desmedifam	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9878	0,1546	$y=-0.0189*x+0.0547$
Diclobutrazol	0,986	0,169	$Y=0.003+0.054*x$	0,9947	0,0861	$y=0.0005*x+0.0467$
Dietofencarbe	0,9909	0,18	$Y=0.0124+0.0133*x$	0,9971	0,2407	$y=-0.0530*x+0.1753$
Difenoconazol	0,995	0,168	$Y=-0.039+0.086*x$	0,9911	0,2430	$y=-0.0047*x+0.1012$
Difenoconazol Isômero	0,988	0,225	$Y=-0.045+0.077*x$	0,9876	0,2256	$y=0.0258*x+0.0793$
Diflubenzurom	0,986	0,169	$Y=-0.012+0.054*x$	0,9934	0,1435	$y=-0.0552*x+0.0696$
Dimetoato	0,9956	0,00907	$Y=-0.00153+0.00518*x$	0,996	0,0116	$y=-0.0056*x+0.0072$
Dimetomorfe	0,987	0,106	$Y=-0.037+0.035*x$	0,9923	0,1482	$y=-0.0800*x+0.0664$
Dimoxistrobina	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9938	0,5539	$y=0.0104*x+0.0309$
Diniconazol	0,9909	0,525	$Y=0.0028+0.0209*x$	0,9925	0,0505	$y=0.0085*x+0.0229$
Dinotefurano	0,992	0,0117	$Y=0.0030+0.0050*x$	0,9662	0,1475	$y=0.0104*x+0.0309$
Dioxacarbe	0,9910	0,525	$Y=0.0129+0.0355*x$	0,9961	0,2029	$y=0.0594*x+0.1282$
Diurrom	0,998	0,285	$Y=0.119+0.224*x$	0,9978	0,3501	$y=-0.0862*x+0.2911$
Epiconazol	0,991	0,252	$Y=0.001+0.099*x$	0,9863	0,2675	$y=0.4910*x+0.0893$
Etaconazol	0,991	0,199	$Y=0.002+0.079*x$	0,9885	0,1929	$y=0.0706*x+0.0704$
Etiofencarbe	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,994	0,1799	$y=0.0674*x+0.0916$
Etiprol	0,9981	0,05	$Y=0.0143+0.0442*x$	0,9721	0,1406	$y=0.0203*x+0.0325$
Etirimol	0,995	0,235	$Y=-0.112+0.130*x$	0,9968	0,1862	$y=-0.0593*x+0.1287$
Etofumerato	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9746	0,1381	$y=-0.0168*x+0.0336$
Etoxazol	0,992	0,754	$Y=0.661+0.323*x$	0,9893	1,4260	$y=-0.4262*x+0.5383$
Famoxadona	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9383	0,1094	$y=-0.0127*x+0.0166$
Fenamidona	0,993	0,168	$Y=-0.048+0.078*x$	0,9929	0,2049	$y=-0.0215*x+0.0953$
Fenarimol	0,992	0,0356	$Y=-0.0007+0.0151*x$	0,9901	0,0541	$y=0.0021*x+0.0213$
Fenazaquim	0,994	0,325	$Y=0.081*0.163*x$	0,9906	0,5814	$y=-0.1675*x+0.2347$
Fenbuconazol	0,9961	0,525	$Y=-0.00153+0.00518*x$	0,9895	0,1463	$y=-0.0015*x+0.0559$
Fenhexamida	0,9905	0,0608	$Y=-0.0047+0.0236*x$	0,9692	0,0819	$y=0.0268*x+0.0180$
Fenobucarbe	0,995	0,279	$Y=0.016+0.155*x$	0,993	0,4549	$y=0.1505*x+0.2141$
Fenoxicarbe	0,9938	0,097	$Y=0.0098+0.0468*x$	0,9679	0,3342	$y=-0.0343*x+0.2141$
Fenpropimorfe	0,997	0,477	$Y=-0.086+0.315*x$	0,996	0,5671	$y=-0.1541*x+0.2062$
Fenpiroximato	0,986	0,47	$Y=0.180+0.150*x$	0,9935	0,4234	$y=0.1505*x+0.2141$

Analito	Solvente			Matriz		
	R ²	DP Resíduos	Equação Linear	R ²	DP Resíduos	Equação Linear
Fenurom	0,996	0,256	$Y=0.022+0.154*x$	0,995	0,3538	$y=-0.0212*x+0.1967$
Fipronil	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9523	0,0265	$y=-0.0034*x+0.0046$
Flonicamida	0,9958	0,0192	$Y=-0.0058+0.0113*x$	0,9959	0,0141	$y=-0.0015*x+0.0087$
Fluazinam	0,9956	0,0538	$Y=-0.0008+0.0310*x$	0,9979	0,6235	$y=-0.6235*x+0.2485$
Fludioxonil	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9644	0,0262	$y=0.0057*x+0.0053$
Flufenacete	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9961	0,4480	$y=-0.2237*x+0.2829$
Flufenoxurom	0,9949	0,0241	$Y=-0.0017+0.0128*x$	0,9959	0,0345	$y=0.0078*x+0.0211$
Fluometurom	0,992	0,141	$Y=-0.007+0.056*x$	0,9922	0,1412	$y=-0.0112*x+0.0629$
Fluoxastrobina	0,9946	0,0812	$Y=-0.0176+0.0418*x$	0,9847	0,1303	$y=-0.0377*x+0.0412$
Fluquinconazol	0,9924	0,095	$Y=-0.0357+0.0412*x$	0,9923	0,1000	$y=-0.0431*x+0.0448$
Flusilazol	0,9987	0,477	$Y=0.001+0.099*x$	0,9888	0,3903	$y=-0.1192*x+0.1445$
Flutolanil	0,989	0,21	$Y=0.013+0.074*x$	0,9894	0,1809	$y=-0.0613*x+0.0690$
Flutriafol	0,9939	0,155	$Y=0.002+0.079*x$	0,9935	0,0662	$y=0.0089*x+0.0332$
Forclorfenurom	0,996	0,0726	$Y=-0.0094+0.0434*x$	0,9918	0,0933	$y=0.0179*x+0.0405$
Formetanato HCL	0,994	0,386	$Y=0.022+0.196*x$	0,9971	0,2816	$y=-0.1934*x+0.2026$
Fuberidazol	0,996	0,334	$Y=0.087+0.193*x$	0,993	0,5736	$y=-0.0974*x+0.2699$
Furalaxil	0,995	0,591	$Y=0.412+0.324*x$	0,9929	1,7554	$y=0.2161*x+0.8179$
Furatiocarbe	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9827	0,0464	$y=0.0035*x+0.0137$
Hexaconazol	0,993	0,123	$Y=-0.032+0.054*x$	0,9994	0,0336	$y=0.040*x+0.0534$
Hexitiazox	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9919	0,1737	$y=-0.0454*x+0.0760$
Hidrametilnom	0,9880	0,246	$Y=0.661+0.323*x$	0,9861	0,0819	$y=0.0011*x+0.0271$
Imazalil	0,995	0,155	$Y=-0.028+0.083*x$	0,982	0,3577	$y=-0.0437*x+0.1037$
Imidacloprida	0,9965	0,023	$Y=-0.0055+0.0148*x$	0,9951	0,0244	$y=-0.0059*x+0.0138$
Indoxacarbe	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9912	0,0265	$y=0.0012*x+0.0111$
Iponazol	0,9930	0,631	$Y=-0.0007+0.0151*x$	0,9899	0,1960	$y=-0.0483*x+0.0765$
Iprovalicarbe	0,986	0,266	$Y=0.038+0.086*x$	0,9929	0,8263	$y=-0.3780*x+0.3843$
Isoprocarbe	0,995	0,308	$Y=0.016+0.165*x$	0,9961	0,3415	$y=-0.0490*x+0.2161$
Isoproturom	0,991	0,247	$Y=-0.055+0.096*x$	0,997	0,1726	$y=-0.0398*x+0.1243$
Kresoxim-metil	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9766	0,0476	$y=-0.0163*x+0.0121$
Linurom	0,9950	0,246	$Y=0.016+0.155*x$	0,9949	0,1572	$y=-0.0017*x+0.0865$
Lufenurom	0,9895	0,0155	$Y=-$	0,9912	0,0114	$y=-$

Analito	Solvente			Matriz		
	R ²	DP Resíduos	Equação Linear	R ²	DP Resíduos	Equação Linear
			0.0006+0.0057*x			0,0034*x+0,0048
Mandipropamida	0,986	0,246	Y=0.020+0.080*x	0,9904	0,4095	y=- 0,1505*x+0,1640
Mefenacet	0,992	0,734	Y=0.284+0.313*x	0,9929	0,9713	y=- 0,2487*x+0,0834
Mepanipirim	0,991	0,194	Y=-0.003+0.080*x	0,9978	0,9713	y=- 0,0752*x+0,2141
Mepronil	0,995	0,631	Y=0.309+0.331*x	0,9875	1,1690	y=- 0,3082*x+0,4087
Metaflumizona	0,9896	0,0272	Y=- 0.0092+0.0101*x	0,9843	0,0465	y=0,0143*x+0,0145
Metalaxil	0,995	0,102	Y=-0.028+0.0548*x	0,9912	0,1620	y=- 0,0077*x+0,0676
Metconazol	0,99	0,196	Y=0.014+0.074*x	0,9894	0,1994	y=- 0,0327*x+0,0760
Metabenzotiazurom	0,996	0,516	Y=0.071+0.295*x	0,9972	0,4661	y=- 0,0339*x+0,3483
Metamidofós	0,9971	0,00985	Y=- 0.00284+0.00691*x	0,9955	0,0179	y=0,0153*x+0,0105
Metiocarbe	0,9885	0,727	Y=0.0098+0.0468*x	0,9931	0,1010	y=- 0,0148*x+0,0477
Metomil	0,9931	0,206	Y=-0.086+0.315*x	0,996	0,0549	y=- 0,0155*x+0,0343
Metoprotrim	0,999	0,25	Y=0.021+0.249*x	0,9934	0,7122	y=- 0,0685*x+0,3444
Metobromurom	0,995	0,12	Y=-0.028+0.064*x	0,9901	0,1692	y=- 0,0106*x+0,0668
Metribuzim	0,9912	0,0914	Y=0.0055+0.0370*x	0,997	0,0581	y=- 0,0032*x+0,0416
Mevinfós E	0,993	0,111	Y=0.003+0.051*x	0,9933	0,1570	y=- 0,0279*x+0,0754
Mevinfós Z	0,994	0,112	Y=0.014+0.054*x	0,9949	0,0285	y=0,0016*x+0,0156
Mexacarbato	0,996	0,727	Y=0.643+0.416*x	0,9962	0,9078	y=-0,0498x+0,5772
Monocrotofós	0,9977	0,0746	Y=- 0.0011+0.0598*x	0,9974	0,0885	y=-0,0369x+0,0683
Monolinurom	0,995	0,206	Y=-0.046+0.113*x	0,9969	0,1883	y=- 0,0489*x+0,1337
Miclobutanil	0,994	0,123	Y=0.013+0.061*x	0,9931	0,1705	y=- 0,0217*x+0,0806
Neburom	0,992	0,235	Y=0.008+0.097*x	0,995	0,1836	y=- 0,0218*x+0,1019
Nitenpiram	0,9961	0,03	Y=- 0.0087+0.0182*x	0,9974	0,0110	y=- 0,0022*x+0,0085
Novaluron	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9707	0,0759	y=0,0151*x+0,0171
Nuarimol	0,9950	0,685	Y=- 0.0058+0.0113*x	0,9932	0,0601	y=0,0112*x+0,0286
Ometoato	0,9915	0,235	Y=- 0.0008+0.0310*x	0,998	0,1663	y=- 0,0649*x+0,0928
Oxadixil	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,993	0,3774	y=- 0,0543*x+0,1773
Oxamil	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9921	0,0616	y=- 0,0266*x+0,0273
Paclobutrazol	0,994	0,18	Y=-0.025+0.087*x	0,9924	0,1975	y=- 0,0874*x+0,0889
Penconazol	0,997	0,153	Y=0.025+0.114*x	0,9984	0,1261	y=- 0,0384*x+0,1243

Analito	Solvente			Matriz		
	R ²	DP Resíduos	Equação Linear	R ²	DP Resíduos	Equação Linear
Pencycuron	0,993	0,685	$Y=0.188+0.315*x$	0,99	0,8723	$y=-0,0751*x+0,3414$
Fenmedifam	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9931	0,0692	$y=-0,0129*x+0,0326$
Picoxistrobina	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9906	0,3517	$y=-0,0940*x+0,1422$
Piperonil butoxida	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9943	0,7873	$y=0,0167*x+0,4108$
Pirimicarbe	0,995	0,517	$Y=0.128+0.283*x$	0,9985	0,4331	$y=-0,0689*x+0,4349$
Procloraz	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9843	0,0712	$y=-0,0145*x+0,0222$
Promecarbe	0,9940	0,235	$Y=0.022+0.196*x$	0,9943	0,8014	$y=-0,1525*x+0,2498$
Prometom	0,995	0,753	$Y=0.228+0.389*x$	0,9977	0,7290	$y=0,00*x+0,0$
Prometrim	0,997	0,596	$Y=0.258+0.389*x$	0,9895	1,4941	$y=-0,1606*x+0,5721$
Propargite	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9936	0,2352	$y=0,0590*x+0,1156$
Profam	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9891	0,0705	$y=0,0161*x+0,0264$
Propiconazol	0,991	0,0614	$Y=0.0083+0.0246*x$	0,9863	0,0842	$y=0,0133*x+0,0281$
Propoxur	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9947	0,1510	$y=0,0033*x+0,0818$
Protioconazol	0,9896	0,0066	$Y=-0.00013+0.00246*x$	0,937	0,0361	$y=0,0249*x+0,0054$
Pimetrozine	0,998	0,123	$Y=-0.011+0.098*x$	0,9807	0,2362	$y=-0,0407*x+0,0662$
Piracarbolidée	0,995	0,703	$Y=0.501+0.389*x$	0,9948	1,0081	$y=-0,0449*x+0,5503$
Piraclostrobina	0,9936	0,023	$Y=0.0078+0.0109*x$	0,9925	0,0503	$y=-0,0123*x+0,0228$
Pirimethanil	0,9974	0,0689	$Y=-0.0304+0.0515*x$	0,9793	0,2263	$y=-0,0726*x+0,0612$
Piriproxifen	0,994	0,549	$Y=0.027+0.266*x$	0,9907	1,1423	$y=-0,4355*x+0,4639$
Quinoxifem	0,989	0,138	$Y=-0.026+0.050*x$	0,9877	0,1399	$y=-0,0488*x+0,0493$
Rotenona	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9895	0,1106	$y=0,0307*x+0,0423$
Secbumetom	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9928	1,9694	$y=0,2506*x+0,9100$
Siduron	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9931	0,3173	$y=-0,0561*x+0,1503$
Simetrim	0,994	0,451	$Y=-0.035+0.226*x$	0,996	0,5064	$y=-0,1242*x+0,3143$
Espinetoram A	0,9910	0,91	$Y=-0.0055+0.0148*x$	0,9943	0,0684	$y=-0,0193*x+0,0404$
Espinetoram B	0,9930	0,549	$Y=0.038+0.086*x$	0,9970	0,1311	$y=-0,0090*x+0,0260$
Espinosade A	0,9940	0,235	$Y=-0.0040+0.052*x$	0,9942	0,0684	$y=-0,0071*x+0,0352$
Espinosade D	0,9904	0,0623	$Y=-0.0039+0.0241*x$	0,9935	0,1311	$y=-0,0268*x+0,0638$
Espirodiclofen	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9723	0,0376	$y=0,0229*x+0,0087$
Espirotetramate	0,997	0,123	$Y=-0.009+0.087*x$	0,9925	0,1682	$y=-0,0328*x+0,0761$

Analito	Solvente			Matriz		
	R ²	DP Resíduos	Equação Linear	R ²	DP Resíduos	Equação Linear
Espiroxamina	0,9970	0,167	Y=- 0.0006+0.0057*x	0,9942	1,0094	y=- 0,3818*x+0,5230
Espiroxamina Isômero	0,994	0,91	Y=0.168+0.461*x	0,9956	1,4542	y=- 0,5680*x+0,8692
Sulfentrazona	0,9926	0,0221	Y=- 0.0088+0.0097*x	0,9891	0,0120	y=-0,0044*x+0,045
Tebuconazol	0,9961	1,405	Y=0.020+0.080*x	0,986	0,2512	y=0,1608*x+0,0829
Tebufenozida	Sem linearidade	0,279	Sem linearidade	0,9782	0,4938	y=- 0,1686*x+0,1300
Tebufenpirade	0,9958	0,0836	Y=0.0127+0.0492*x	0,9906	0,1461	y=0,0283*x+0,0592
Tebutiurum	0,998	0,167	Y=-0.019+0.150*x	0,997	0,2936	y=- 0,0657*x+0,2106
Teflubenzurum	0,9924	0,0291	Y=- 0.0073+0.0127*x	0,4708	0,0576	y=0,0784*x+0,0017
Temefós	0,9927	0,0615	Y=- 0.0136+0.0272*x	0,9892	0,1105	y=- 0,0184*x+0,0415
Terbumetom	0,987	1,405	Y=1.101+0.475*x	0,9922	1,9223	y=- 0,1054*x+0,8526
Terbutrim	0,9880	0,167	Y=-0.003+0.080*x	0,989	2,2569	y=- 0,3445*x+0,8444
Tetraconazol	0,996	0,116	Y=-0.024+0.069*x	0,9924	0,1787	y=- 0,0924*x+0,0802
Tiabendazol	0,995	0,45	Y=-0.065+0.239*x	0,9961	0,4828	y=- 0,1796*x+0,3047
Tiacloprid	0,998	0,279	Y=0.070+0.216*x	0,9961	0,4334	y=- 0,0469*x+0,2745
Tiametoxam	0,9957	0,0478	Y=0.0059+0.0277*x	0,9956	0,0423	y=0,0622*x+0,0251
Tidiazuron	0,9961	0,0489	Y=- 0.0269+0.0298*x	0,9956	0,0604	y=0,0008*x+0,0360
Tiobencarbe	0,995	0,208	Y=-0.011+0.111*x	0,9457	0,6476	y=0,0323*x+0,1052
Tiofanato metílico	0,991	0,624	Y=-0.504+0.244*x	0,9953	0,4517	y=- 0,1315*x+0,2593
Triadimefom	0,9906	0,209	Y=0.309+0.331*x	0,9952	0,0911	y=- 0,0188*x+0,0519
Triadimenol	0,9977	0,0461	Y=0.0008+0.0363*x	0,9921	0,0749	y=0,0060*x+0,0331
Triclorfon	0,9938	0,043	Y=0.0032+0.0208*x	0,9893	0,0233	y=0,0124*x+0,0088
Triciclazol	0,996	0,396	Y=0.090+0.225*x	0,9941	0,6011	y=- 0,1252*x+0,3072
Trifloxistrobina	0,987	0,313	Y=0.019+0.106*x	0,9955	0,3670	y=- 0,2835*x+0,2159
Triflumizol	Sem linearidade	Sem linearidade	Sem linearidade	0,9974	0,2780	y=- 0,0574*x+0,2157
Triflumurom	0,9944	0,0905	Y=0.006+0.034*x	0,9889	0,0980	y=- 0,0152*x+0,0362
Triticonazol	0,989	0,183	Y=0.013+0.065*x	0,9859	0,2760	y=0,0279*x+0,0907
Vamidotion	0,991	0,411	Y=0.096+0.165*x	0,9979	0,4307	y=- 0,1164*x+0,3726
Zoxamida	0,993	0,166	Y=-0.015+0.074*x	0,9908	0,1938	y=- 0,0877*x+0,0790

Dessa forma, os compostos não aprovados entre os 196 validados para os critérios de linearidade (coeficiente de determinação $\geq 0,99$, desvio padrão relativo dos resíduos $\leq 20\%$)

para calibração em matriz foram: Acibenzolar-S-metil, Aldicarbe, Benzoximato, Bitertanol, Boscalida, Butafenacil, Carfentrazona-etílica, Clofentezim, Dinotefurano, Etiprol, Etofumerato, Famoxadona, Fenhexamida, Fenoxicarbe, Fipronil, Fludioxonil, Fluoxastrobina, Furatiocarbe, Imazalil, Kresoxim-metil, Metaflumizona, Novaluron, Pirimethanil, Espirodiclofen, Tebufenozida, Teflubenzurom e Tiobencarbe (total de 26 analitos).

Autores como Carneiro *et. al.* (2013) e Anagnostopoulos *et. al.* (2012) em seus trabalhos com praguicidas de classes variadas em matrizes alimentícias obtiveram os mesmos resultados do presente trabalho para calibração linear em matriz (MMC – *Matrix Matched Calibration*), porém em menores quantidades, 128 e 119, respectivamente. O método QuEChERS foi capaz, mesmo em uma maior quantidade de praguicidas (216 compostos, 432 transições), de trabalhar com alta complexidade de matrizes mantendo os parâmetros de coeficiente de determinação, resíduos e homocedasticidade.

5.5.2 Seletividade e linearidade para a matriz cenoura

A seletividade foi estudada através da injeção de amostras brancas e comparação com os picos cromatográficos de cada analito, e a avaliação das relações sinal/ruído foi possível utilizadas para avaliar a ausência de interferentes. Como a presença de alta pigmentação da cenoura (carotenoides – α -carotenóide, β -carotenóide e γ -carotenóide) já é conhecida por sua capacidade de causar interferências, foi adicionado carvão ativado à etapa de clean-up, e com esse *approach* foi possível retirar os interferentes e aprovar a seletividade.

Da mesma forma que as matrizes batata e mandioquinha, a matriz cenoura foi testada quanto à sua linearidade, visto que o comportamento da matriz é diferente das duas primeiras, pela presença de alta pigmentação e uso de carvão ativo durante o processo de extração. A tabela 13 apresenta os dados de linearidade obtidos para os compostos estudados na matriz batata.

Tabela 13. Dados de linearidade em solvente e em matriz cenoura para os praguicidas estudados.

Analito	Coeficiente Angular (Slope)	Coeficiente Linear (Intercept)	Coeficiente de Determinação (R2)
3-Hidroxicarbofurano_Q	0,01786	-0,01935	0,99
Acefato_Q	0,00036	0,00196	0,91
Acetamiprida_Q	0,17127	-0,11791	0,99

Acibenzolar-S-metil_Q	0,01511	-0,02604	0,99
Aldicarbe Sulfoxido_Q	0,01086	-0,02362	0,98
Aldicarbe_Q	0,00639	-0,00610	0,99
Aldoxicarbe_Q	0,06166	-0,07470	0,99
Ametrin_Q	0,17635	-0,21834	0,99
Aminocarbe_Q	0,22293	-0,18055	1,00
Amitraz_Q	0,22197	-0,26365	0,99
Azoxistrobina_Q	0,63315	2,44594	1,00
Benalaxil_Q	0,60970	-0,23073	1,00
Bendiocarbe_Q	0,16433	-0,18416	0,99
Benzoximato_Q	0,04672	-0,00054	1,00
Bitertanol_Q	0,01533	-0,00685	0,99
Boscalida_Q	0,14543	-0,06972	0,99
Bromuconazol Cis_Q	0,03624	-0,03338	0,99
Bromuconazol trans_Q	0,02051	0,00727	1,00
Bupirimato_Q	0,27042	-0,18772	1,00
Buprofezina_Q	0,03390	0,00488	1,00
Butafenacil_Q	0,15115	-0,01534	1,00
Butocarboxim_Q	0,04489	-0,04764	0,99
Butoxicarboxim_Q	0,02894	-0,00808	0,99
Carbaril_Q	0,06397	-0,04128	1,00
Carbendazim_Q	0,53132	-0,23904	1,00
Carbetamide_Q	0,07394	-0,06060	1,00
Carbofurano_Q	0,26652	-0,17987	0,99
Carboxim_Q	0,35799	-0,32426	0,99
Carfentrazona-etílica_Q	0,00680	-0,00030	0,99
Clorantraniliprol_Q	0,02262	-0,02730	0,99
Clorfluazurom_Q	0,01682	-0,01919	1,00
Clorotolurom_Q	0,08878	-0,06912	1,00
Cloroxurom_Q	0,21264	-0,06751	0,99
Cletodim E_Q	0,03526	-0,03384	1,00
Cletodim Z_Q	0,03961	-0,10781	0,99
Clofentezim_Q	0,08696	-0,04367	1,00
Clotianidim_Q	0,00001	0,01098	0,08
Ciazofamida_Q	0,17821	0,27255	1,00
Ciclurom_Q	0,15707	-0,17909	0,99
Cimoxanil_Q	0,01855	-0,01467	1,00
Ciproconazol Isomero_Q	0,09465	0,08033	1,00
Ciproconazol_Q	0,04607	0,00387	1,00
Ciprodinil_Q	0,08983	-0,02049	1,00
Desmedifam_Q	0,04204	-0,07606	0,99
Diclobutrazol_Q	0,05655	0,00722	1,00
Dietofencarbe_Q	0,14810	-0,10102	0,99
Difeconazol Isomero_Q	0,14257	0,22595	0,99
Difeconazol_Q	0,20146	0,46046	0,99
Diflubenzurom_Q	0,07060	-0,00625	1,00
Dimetoato_Q	0,00609	-0,00878	0,99

Dimetomorfe_Q	0,04700	-0,05495	0,99
Dimoxistrobina_Q	0,39541	-0,24697	1,00
Diniconazol_Q	0,03222	-0,00265	1,00
Dinotefurano_Q	0,01018	-0,01247	0,99
Dioxacarbe_Q	0,10156	-0,11471	0,99
Diurom_Q	0,38261	-0,08021	1,00
Epiconazol_Q	0,12797	0,08792	1,00
Etaconazol_Q	0,11143	-0,03465	1,00
Etiofencarbe_Q	0,11775	-0,23360	0,99
Etiprol_Q	0,05721	0,00818	1,00
Etirimol_Q	0,10315	-0,17443	0,99
Etofumerato_Q	0,06531	-0,02367	1,00
Etoxazol_Q	0,82665	-0,00500	1,00
Famoxadona_Q	0,03835	0,00169	1,00
Fenamidona_Q	0,12251	-0,07182	0,99
Fenarimol_Q	0,02529	-0,03308	0,99
Fenazaquim_Q	0,32979	4,92982	0,99
Fenbuconazol_Q	0,07953	-0,14186	0,96
Fenhexamida_Q	0,02705	-0,00754	0,98
Fenobucarbe_Q	0,19395	0,03310	1,00
Fenoxicarbe_Q	0,07786	-0,06423	1,00
Fenpropimorfe_Q	0,66501	0,13875	1,00
Fenpiroximato_Q	0,41532	-0,27799	1,00
Fenurom_Q	0,15763	-0,12248	1,00
Fipronil_Q	0,00572	0,00243	1,00
Flonicamida_Q	0,01171	-0,00962	0,99
Fluazinam_Q	0,02529	-0,19762	0,99
Flufenacete_Q	0,26197	0,10259	1,00
Flufenoxurom_Q	0,04953	-0,05708	1,00
Fluodioxonil_Q	0,01104	-0,00744	1,00
Fluometurom_Q	0,11942	-0,16015	0,99
Fluoxastrobina_Q	0,05651	-0,04869	1,00
Fluquinconazol_Q	0,04201	-0,04174	0,99
Flusilazol_Q	0,16711	-0,19762	0,98
Flutolanil_Q	0,08162	0,08199	1,00
Flutriafol_Q	0,03993	-0,05428	0,97
Forclorfenurom_Q	0,06090	-0,06679	0,99
Formetanato HCl_Q	1,03670	-0,19075	1,00
Fuberidazol_Q	0,14900	-0,18926	1,00
Furalaxil_Q	0,44344	-0,31817	0,99
Furatiocarbe_Q	0,00709	-0,00457	1,00
Hexaconazol_Q	0,08459	-0,11434	1,00
Hexaflumurom_Q	0,00373	-0,00231	0,98
Hexitiazox_Q	0,11474	-0,10341	0,99
Hidrametilnom_Q	0,05901	-0,05462	1,00
Imazalil_Q	0,14391	-0,02296	1,00
Imidacloprida_Q	0,02510	-0,02694	0,99

Indoxacarbe_Q	0,02744	-0,02348	1,00
Ipconazol_Q	0,08551	-0,10344	0,98
Iprovalicarbe_Q	0,26951	-0,46093	0,98
Isoprocarbe_Q	0,15521	-0,13840	0,99
Isoproturom_Q	0,08825	-0,09207	0,99
Kresoxim-metil_Q	0,04013	-0,05415	0,99
Linurom_Q	0,08078	0,12536	1,00
Lufenurom_Q	0,00864	-0,00487	1,00
Mandipropamida_Q	0,13075	-0,01652	0,99
Mefenacet_Q	0,45373	-0,16334	1,00
Mepanipirim_Q	0,09462	-0,05225	0,99
Mepronil_Q	0,44835	-0,07330	1,00
Metaflumizona_Q	0,02868	-0,03483	0,99
Metalaxil_Q	0,06369	-0,01169	1,00
Metconazol_Q	0,08198	-0,12119	0,99
Metabenzthiazurom_Q	0,27038	-0,26431	0,99
Metamidofós_Q	0,00317	-0,00261	0,99
Metiocarbe_Q	0,04924	-0,01187	1,00
Metomil_Q	0,04353	-0,04838	0,99
Metoprotrim_Q	0,47730	-0,16984	1,00
Metobromurom_Q	0,07976	-0,14175	0,98
Metribuzim_Q	0,02698	-0,03274	0,99
Mevinfós E_Q	0,09191	-0,10103	0,99
Mevinfós Z_Q	0,02861	-0,02791	0,99
Mexacarbato_Q	0,53512	-0,42141	1,00
Monocrotofós_Q	0,08318	-0,07971	0,99
Monolinurom_Q	0,09745	-0,12553	0,99
Miclobutanil_Q	0,07951	-0,04295	1,00
Neburom_Q	0,11259	-0,05445	0,99
Nitenpiram_Q	0,04098	-0,04111	1,00
Novaluron_Q	0,02682	0,00873	1,00
Nuarimol_Q	0,03671	-0,03229	1,00
Ometoato_Q	0,08653	-0,11874	0,99
Oxadixil_Q	0,09627	-0,09396	0,99
Oxamil_Q	0,04941	-0,05805	0,99
Paclobutrazol_Q	0,06383	-0,00218	1,00
Penconazol_Q	0,13092	0,00259	1,00
Pencycuron_Q	0,34394	0,02151	1,00
Fenmedifam_Q	0,07674	-0,10452	0,99
Picoxistrobina_Q	0,27323	-0,04231	1,00
Piperonil Butoxida_Q	0,77034	-0,16512	1,00
Pirimicarbe_Q	0,48165	-0,51502	0,98
Procloraz_Q	0,02523	-0,01859	0,99
Promecarbe_Q	0,19769	-0,20091	0,99
Prometom_Q	0,63942	0,14119	1,00
Prometrim_Q	0,53212	0,54220	1,00
Propargite_Q	0,13806	-0,07687	1,00

Profam_Q	0,01382	-0,01451	1,00
Propiconazol_Q	0,04681	-0,01715	1,00
Propoxur_Q	0,06612	-0,07211	1,00
Protioconazol_Q	0,00349	-0,00467	0,99
Pimetrozine_Q	0,29233	-0,27642	1,00
Piracarbolidée_Q	0,44833	-0,08741	1,00
Piraclostrobina_Q	0,02739	-0,04108	0,99
Piridaben_Q	0,33200	-0,33450	0,99
Pirimethanil_Q	0,03812	0,00647	1,00
Piriproxifen_Q	0,59840	-0,30965	1,00
Quinoxifem_Q	0,07478	-0,11700	0,99
Rotenona_Q	0,05066	-0,07137	0,99
Secbumetom_Q	1,11324	0,12260	0,99
Siduron_Q	0,20417	-0,33712	0,98
Simetrim_Q	0,31350	-0,28366	0,99
Espinosade A_Q	0,12790	-0,12010	0,99
Espinosade D_Q	0,12307	-0,12791	0,99
Espinoteram A_Q	0,10235	0,00626	0,99
Espinoteram B_Q	0,23528	-0,29615	0,99
Espirodiclofen_Q	0,04936	-0,03438	1,00
Espiromesifem_Q	0,00319	0,00618	0,99
Espirotetramate_Q	0,10818	-0,15217	0,96
Espiroxamina I_Q	0,92730	-0,25911	1,00
Espiroxamina II_Q	1,24472	-0,12977	1,00
Sulfentrazona_Q	0,01687	-0,02360	0,98
Tebuconazol_Q	0,15280	-0,09048	1,00
Tebufenozida_Q	0,32576	-0,40795	0,99
Tebufenpirade_Q	0,09491	-0,10277	0,99
Tebutiurum_Q	0,11761	-0,10543	0,99
Teflubenzurum_Q	0,00480	0,05343	0,99
Temefós_Q	0,09445	-0,05831	1,00
Terbumetom_Q	0,71010	0,08841	0,98
Terbutrim_Q	0,62186	0,29533	0,99
Tetraconazol_Q	0,07748	0,02022	1,00
Tiabendazol_Q	0,26374	-0,21337	0,99
Tiacloprid_Q	0,29864	-0,12018	1,00
Tiametoxam_Q	0,09377	-0,08914	0,99
Tidiazuron_Q	0,05776	-0,06616	0,99
Tiobencarbe_Q	0,29543	-0,15661	0,99
Tiofanato metílico_Q	0,26884	-0,26541	1,00
Triadimefom_Q	0,07517	-0,02226	1,00
Triadimenol_Q	0,04508	-0,02312	0,99
Triclorfon_Q	0,01732	-0,01452	1,00
Triciclazol_Q	0,21913	-0,10839	1,00
Trifloxistrobina_Q	0,44591	-0,09790	0,99
Triflumizol_Q	0,26522	-0,29619	1,00
Triflumurom_Q	0,05784	-0,01413	0,99

Triticonazol_Q	0,08129	0,02792	1,00
Vamidotion_Q	0,30105	-0,22035	1,00
Zoxamida_Q	0,19526	-0,26637	0,99

Os praguicidas que não apresentaram linearidade na matriz, não atingindo os critérios de aceitação para tal e para o método utilizado, são o Acefato, o Aldicarbe Sulfoxido, o Clotianidim, o Etirimol, o Fenbuconazol, a Fenhexamida, o Flusilazol, o Flutriafol, o Hexaflumurom, o Ipconazol, o Iprovalicarbe, o Metobromurom, o Pirimicarbe, o Siduron, a Espirotetramate e o Terbumetom (16 analitos do total de 196).

Fan *et. al.* (2013) e Zheng *et. al.* (2013) buscaram diminuir o efeito de interferência causado por matrizes com alta pigmentação através do uso de componentes com carbono, e Zheng demonstrou cromatograficamente a melhoria do sinal da linha de base com essa aplicação, indo de encontro com o mesmo resultado encontrado no presente trabalho, ao adicionar carvão ativado para a análise de cenoura. Fan *et. al.* (2013), trabalhando com a mesma faixa de trabalho linear que o proposto para o método QuEChERS abrangido no trabalho atual, obteve coeficientes de determinação acima do esperado, de 0,99, para a maioria dos praguicidas estudados.

Os analitos mencionados não foram contabilizados como validados, pois poderiam acarretar a obtenção de algum resultado questionável.

5.5.3 Cálculos de $CC\alpha$ e $CC\beta$ dos praguicidas analisados em matriz

Os ensaios de $CC\alpha$ e $CC\beta$ foram realizados buscando trabalhar com uma abordagem mais adequada com a realidade do estudo de contaminantes e de drogas banidas no mundo científico atual, tendo vista que os cálculos de $CC\alpha$ e $CC\beta$ vem substituindo os conhecidos Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ) nas etapas de validação das análises de contaminantes orgânicos e inorgânicos.

O ensaio para determinação do Limite de Decisão ($CC\alpha$) e da Capacidade de Detecção ($CC\beta$) foi realizado nos níveis de 5,0µg/kg, 10,0µg/kg e 25,0µg/kg. Os cálculos dos valores de $CC\alpha$ e $CC\beta$ podem ser tanto realizados para substâncias que não possuem um valor permitido, um Limite Máximo de Resíduo, como também para substâncias banidas. No caso do estudo atual, a equação foi realizada considerando-se as substâncias que apresentam Limites Máximos de Resíduo definidos, e devido à grande quantidade de compostos, foi

estipulado o valor de 10ug/kg como objetivo do método, sendo este também considerado como *Report Limit* para objetivos de monitoramento e emissão de laudos analíticos.

As fórmulas utilizadas foram as descritas abaixo, sendo considerado b como o coeficiente angular da regressão linear, S_y o erro da estimativa da regressão, I o número de níveis de concentração utilizados, J o número de replicatas realizadas, $\bar{x}$ o valor médio da concentração, t o valor de t de Student associado e δ o parâmetro de não-centralidade.

$$CC\alpha = t_{df, 1-\alpha} \frac{S_y}{b} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{J \sum_{i=1}^I (x_i - \bar{x})^2}}$$

$$CC\beta = \delta_{\alpha, \beta} \frac{S_y}{b} \sqrt{1 + \frac{1}{IJ} + \frac{\bar{x}^2}{J \sum_{i=1}^I (x_i - \bar{x})^2}}$$

A tabela 14 apresenta os valores obtidos para o Limite de Decisão e para a Capacidade de Detecção de cada um dos praguicidas nas matrizes batata e cenoura.

Tabela 14. Valores de $CC\alpha$ e $CC\beta$ para as matrizes batata e cenoura.

Analito	$CC\beta$ Cenoura ($\mu\text{g/kg}$)	$CC\alpha$ Cenoura ($\mu\text{g/kg}$)	$CC\beta$ Batata ($\mu\text{g/kg}$)	$CC\alpha$ Batata ($\mu\text{g/kg}$)
3- Hidroxycarbofurano	9,02	6,35	24,27	17,08
Acetamiprida	1,89	1,33	10,81	7,61
Acibenzolar-S- metil	2,69	1,89	20,78	14,63
Aldicarbe	1,13	0,80	2,50	1,76
Sulfoxido				
Aldicarbe	8,42	5,93	30,19	21,25
Aldoxicarbe	3,08	2,16	15,01	10,56
Ametrin	4,74	3,34	10,60	7,46
Aminocarbe	4,25	2,99	22,01	15,49
Amitraz	4,68	3,29	9,10	6,41
Azoxistrobina	9,90	6,97	30,03	21,14
Benalaxil	19,19	13,51	18,23	12,83
Bendiocarbe	3,47	2,44	54,56	38,40
Benfuracarbe	24,02	16,91	12,17	8,56
Benzoximato	2,36	1,66	7,54	5,31
Bifenazato	15,82	11,13	2,33	1,64
Bitertanol	19,00	13,37	8,12	5,72
Boscalida	28,54	20,09	3,09	2,18

Bromuconazol Cis	47,80	33,64	21,28	14,98
Bromuconazol trans	14,05	9,89	12,59	8,86
Bupirinato	3,44	2,42	2,53	1,78
Buprofezina	20,92	14,72	18,81	13,24
Butafenacil	3,21	2,26	9,77	6,87
Butocarboxim	5,61	3,95	15,91	11,20
Butoxicarboxim	9,45	6,65	4,63	3,26
Carbaril	16,69	11,75	46,90	33,01
Carbendazim	6,07	4,27	20,69	14,57
Carbetamide	3,18	2,23	0,45	0,32
Carbofurano	5,17	3,64	13,38	9,42
Carboxim	4,90	3,45	38,65	27,21
Carfentrazona- etilica	33,39	23,50	13,21	9,30
Clorantraniliprol	2,45	1,72	9,62	6,77
Clorfluazurom	7,43	5,23	10,44	7,35
Clorotolurom	19,70	13,87	8,54	6,01
Cloroxurom	24,66	17,36	13,56	9,54
Cletodim E	13,15	9,26	7,48	5,26
Cletodim Z	2,09	1,47	15,68	11,04
Clofentezim	7,06	4,97	2,76	1,95
Clotianidim	12,05	8,48	12,89	9,08
Ciazofamida	31,78	22,37	11,60	8,16
Ciclurom	12,01	8,45	26,80	18,86
Cimoxanil	1,07	0,75	16,78	11,81
Ciproconazol II	12,17	8,57	0,25	0,18
Ciproconazol I	2,17	1,53	16,63	11,71
Ciprodinil	3,88	2,73	20,95	14,74
Ciromazina	21,45	15,10	14,08	9,91
Desmedifam	6,63	4,67	19,05	13,41
Diclobutrazol	10,76	7,57	9,51	6,69
Dietofencarbe	8,92	6,28	11,96	8,42
Difeconazol	4,58	3,22	38,92	27,39
Isomero				
Difeconazol	8,95	6,30	6,99	4,92
Diflubenzurom	16,49	11,60	23,71	16,69
Dimetoato	21,75	15,31	12,39	8,72
Dimetomorfe	9,45	6,65	21,95	15,45
Dimoxistrobina	10,80	7,60	24,52	17,26
Diniconazol	5,05	3,55	12,11	8,52
Dinotefurano	1,82	1,28	19,79	13,93
Dioxacarbe	7,80	5,49	3,55	2,50
Diurom	4,42	3,11	6,22	4,38
Epiconazol	4,22	2,97	17,49	12,31
Etaconazol	20,32	14,30	7,97	5,61
Etiofencarbe	0,91	0,64	56,60	39,84
Etiprol	32,98	23,21	0,39	0,27

Etirimol	22,68	15,97	33,05	23,26
Etofumerato	7,82	5,51	17,30	12,17
Etoxazol	10,72	7,55	52,39	36,87
Famoxadona	4,28	3,02	0,93	0,65
Fenamidona	7,09	4,99	20,56	14,47
Fenarimol	15,79	11,11	2,84	2,00
Fenazaquim	6,78	4,77	0,51	0,36
Fenbuconazol	11,55	8,13	3,44	2,42
Fenhexamida	8,36	5,89	15,15	10,66
Fenobucarbe	24,13	16,99	27,74	19,52
Fenoxicarbe	3,03	2,13	4,84	3,41
Fenpropimorfe	2,77	1,95	0,06	0,04
Fenpiroximato	1,96	1,38	12,93	9,10
Fenurom	3,04	2,14	2,23	1,57
Fipronil	24,22	17,04	13,11	9,23
Flonicamida	1,06	0,75	2,09	1,02
Flubendimida	3,85	2,71	10,68	7,52
Flufenacete	13,57	9,55	6,95	4,90
Flufenoxurom	15,32	10,78	9,77	6,87
Fluodioxonil	26,86	18,90	3,83	2,70
Fluometurom	6,35	4,47	14,53	10,23
Fluoxastrobina	11,48	8,08	15,48	10,90
Fluquinconazol	6,39	4,50	3,89	2,73
Flusilazol	18,99	13,37	21,77	15,32
Flutolanil	13,35	9,39	9,57	6,74
Flutriafol	3,51	2,47	16,41	11,55
Forclorfenurom	7,24	5,09	15,33	10,79
Formetanato HCl	7,22	5,09	17,11	12,04
Fuberidazol	11,78	8,29	7,51	5,29
Furalaxil	7,70	5,42	41,63	29,30
Furatiocarbe	15,20	10,70	6,43	4,52
Hexaconazol	1,79	1,26	4,84	3,41
Hexaflumurom	20,49	14,42	30,32	21,34
Hexitiazox	6,44	4,53	6,97	4,90
Hidrametilnom	2,26	1,59	29,74	20,93
Imazalil	10,70	7,53	8,51	5,99
Imidacloprida	4,05	2,85	1,87	1,32
Indoxacarbe	5,24	3,69	3,79	2,67
Ipconazol	7,28	5,12	6,11	4,30
Iprovalicarbe	5,28	3,72	10,41	7,32
Isocarbofós	31,15	21,93	18,83	13,25
Isoprocarbe	18,47	13,00	0,78	0,55
Isoproturom	8,87	6,24	10,26	7,22
Ivermectina	16,05	11,30	1,24	0,87
Kresoxim-metil	31,01	21,83	8,41	5,92
Linurom	0,48	0,34	8,87	6,24
Lufenurom	6,69	4,71	4,61	3,25

Mandipropamida	29,69	20,90	8,46	5,95
Mefenacet	26,06	18,34	22,39	15,76
Mepanipirim	23,36	16,44	7,26	5,11
Mepronil	0,49	0,34	18,17	12,79
Metaflumizona	7,31	5,14	3,94	2,78
Metalaxil	9,10	6,41	7,37	5,19
Metconazol	3,28	2,31	1,31	0,92
Metabenzthiazurom	3,49	2,46	22,36	15,74
Metamidofós	16,41	11,55	3,47	2,44
Metiocarbe	5,66	3,98	19,69	13,86
Metomil	4,24	2,98	8,65	6,09
Metoprotrim	9,29	6,54	9,96	7,01
Metoxifenoazida	0,47	0,33	0,82	0,58
Metobromurom	2,92	2,05	22,34	15,73
Metribuzim	0,04	0,03	4,70	3,31
Mevinfós E	0,91	0,64	14,49	10,20
Mevinfós Z	0,21	0,15	0,43	0,30
Mexacarbato	33,68	23,70	1,77	1,25
Monocrotofós	1,77	1,24	5,44	3,83
Monolinurom	9,23	6,50	6,77	4,76
Miclobutanil	32,94	23,19	10,62	7,48
Neburom	7,00	4,93	9,63	6,77
Nitenpiram	4,24	2,98	13,11	9,23
Novaluron	15,20	10,70	0,45	0,32
Nuarimol	4,27	3,00	19,04	13,40
Ometoato	18,82	13,25	18,14	12,77
Oxadixil	0,25	0,18	5,80	4,08
Oxamil	2,96	2,08	15,79	11,11
Paclobutrazol	0,16	0,11	9,99	7,03
Penconazol	9,39	6,61	2,48	1,74
Pencycuron	3,87	2,72	21,50	15,13
Fenmedifam	12,75	8,98	47,89	33,71
Picoxistrobina	25,56	17,99	16,26	11,45
Piperonil Butoxida	2,44	1,71	7,70	5,42
Pirimicarbe	3,07	2,16	21,50	15,13
Procloraz	10,51	7,40	5,75	4,05
Promecarbe	34,87	24,54	3,84	2,70
Prometom	28,41	20,00	5,63	3,96
Prometrim	28,78	20,26	26,05	18,34
Propargite	6,60	4,64	26,09	18,36
Profam	0,05	0,03	17,14	12,07
Propiconazol	26,13	18,39	51,21	36,04
Propoxur	3,35	2,36	2,41	1,69
Protioconazol	28,95	20,37	50,83	35,78
Pimetrozine	14,72	10,36	10,14	7,13
Piracarbolidée	0,84	0,59	5,91	4,16
Piraclostrobina	27,66	19,47	0,28	0,20

Piridaben	0,82	0,58	14,05	9,89
Pirimethanil	3,46	2,43	14,26	10,04
Piriproxifen	5,91	4,16	5,27	3,71
Quinoxifem	8,03	5,65	27,31	19,22
Rotenona	7,16	5,04	5,06	3,56
Secbumetom	16,95	11,93	6,88	4,84
Siduron	12,90	9,08	4,95	3,48
Simetrim	5,01	3,52	13,20	9,29
Espinosade A	11,13	7,84	3,81	2,68
Espinosade D	11,13	7,84	0,77	0,54
Espinoteram A	0,86	0,61	1,50	1,06
Espinoteram B	4,56	3,21	6,30	4,43
Espirodiclofen	5,87	4,13	15,57	10,96
Espiromesifem	8,83	6,21	44,41	31,26
Espirotetramate	25,34	17,84	16,37	11,52
Espiroxamina I	1,25	0,88	0,96	0,67
Espiroxamina II	3,72	2,62	12,18	8,57
Sulfentrazone	1,22	0,86	0,16	0,12
Tebuconazol	2,53	1,78	25,50	17,95
Tebufenozida	19,45	13,69	14,10	9,92
Tebufenpirade	4,31	3,04	40,70	28,65
Tebutiurum	7,06	4,97	9,26	6,52
Teflubenzurum	11,78	8,29	11,63	8,89
Temefós	0,97	0,68	45,09	31,74
Terbumetom	24,08	16,95	6,02	4,24
Terbutrim	14,81	10,42	2,54	1,79
Tetraconazol	4,63	3,26	11,17	7,87
Tiabendazol	7,48	5,26	6,48	4,56
Tiacloprid	5,17	3,64	13,09	9,22
Tiametoxam	1,87	1,32	6,91	4,87
Tidiazuron	14,01	9,86	3,20	2,25
Tiobencarbe	6,65	4,68	3,47	2,44
Tiofanato metílico	0,20	0,14	5,41	3,80
Triadimefom	44,06	31,02	7,11	5,01
Triadimenol	19,43	13,67	18,27	12,86
Triclorfon	3,12	2,19	52,10	36,67
Triciclazol	0,17	0,12	17,98	12,65
Trifloxistrobina	12,68	8,92	6,79	4,78
Triflumizol	13,61	9,58	17,01	11,97
Triflumurum	7,50	5,28	17,67	12,44
Triticonazol	4,18	2,94	17,47	12,30
Vamidotion	2,26	1,59	22,86	16,09
Zoxamida	13,60	9,57	7,83	5,51

Para a matriz cenoura, 39,8% dos compostos apresentaram a Capacidade de Detecção (CC β) acima de 10,0 μ g/kg, sendo que destes, 43,75% se apresentaram acima do dobro do

valor esperado. Para a matriz batata, 52,23% dos compostos obtiveram Capacidades de Detecção acima do valor estipulado, e dentro desses, 40,19% ficaram acima do dobro do valor, ou seja, acima de 20,0µg/kg.

A literatura consultada apresenta poucos trabalhos utilizando o método de obtenção dos valores de limites de detecção e quantificação por CC α e CC β com o método QuEChERS em matrizes alimentícias. Aguilera-Ruiz *et. al.* (2012) abrange de forma bastante completa a tendência para a avaliação dos limites mínimos através do cálculo da Capacidade de Detecção e do Limite de Decisão das análises de contaminantes orgânicos, sendo que em sua validação do método QuEChERS para análise de drogas veterinárias em *baby-food*, demonstrou a mesma performance de variação dos valores dependendo das características físico-químicas dos analitos.

Mesmo ficando fora do limite esperado, de 10,0µg/kg, o uso do método para esses compostos ainda se mantém aplicável, uma vez que os Limites Máximos de Resíduo ainda se encontrem acima do valor obtido de CC β . Obtendo-se um valor quantificável do praguicida, é possível avaliar o risco da presença destes compostos nas *comodities* estudadas.

5.5.4 Precisão e Exatidão para matrizes Batata e Mandioquinha

A precisão e a exatidão do método foram avaliadas em três níveis diferentes: 5,0 µg/kg, 10 µg/kg e 20 µg/kg, em cinco replicatas, para repetibilidade (mesmo analista, no mesmo dia), repetibilidade intermediária (mesmo analista, dias diferentes) e reprodutibilidade (analistas e dias diferentes). Avaliando o número de compostos analisados em uma mesma corrida, os valores de aceitação para a precisão e a exatidão foram de 70% a 130% de recuperação, 20% de desvio padrão relativo para os resultados obtidos de repetibilidade e 30% para repetibilidade intermediária e reprodutibilidade. A tabela 15 apresenta os resultados obtidos para os testes no nível de 10ng/mL, nível este determinado como o limite de reporte.

Tabela 15. Dados de Exatidão e Precisão para o Limite de Reporte dos praguicidas analisados.

Analito	Concentração Média (µg/kg)	Exatidão (%)	Repetibilidade CV (%)	Repetibilidade Intermediária CV (%)	Reprodutibilidade CV (%)
3-Hidroxycarbofurano	8,51	85,10	6,97%	18,04%	17,13%

Acetamiprida	9,30	92,98	15,09%	12,15%	14,17%
Acibenzolar-S-metil	9,39	94,00	14,82%	16,72%	15,39%
Aldicarbe	11,30	111,30	40,09%	53,33%	63,25%
Aldicarbe sulfona (Aldoxicarbe)	9,16	91,60	13,75%	10,58%	12,87%
Aldicarbe sulfoxido	7,51	75,10	38,52%	41,26%	30,89%
Ametrin	8,90	89,00	14,08%	13,73%	11,96%
Aminocarbe	8,99	89,90	13,12%	12,35%	12,68%
Amitraz	10,76	107,60	11,79%	16,90%	15,58%
Azoxistrobina	8,60	86,00	12,65%	16,14%	17,80%
Benalaxil	9,66	96,60	9,23%	15,30%	8,57%
Bendiocarbe	9,40	94,00	16,41%	49,74%	30,92%
Benzoximato	10,70	107,00	17,61%	21,99%	13,55%
Bitertanol	12,30	123,00	10,25%	19,06%	19,19%
Boscalida	9,57	95,70	19,93%	23,78%	17,48%
Bromuconazol cis	10,42	104,20	13,99%	21,78%	16,21%
Bromuconazol trans	8,20	82,00	18,51%	18,08%	23,63%
Bupirimato	8,52	85,20	12,54%	20,90%	13,17%
Buprofezina	8,81	88,10	16,05%	13,10%	13,99%
Butafenacil	10,99	109,90	16,49%	19,72%	17,52%
Butocarboxim	8,46	84,60	15,24%	16,53%	13,37%
Butoxicarboxim	9,03	9,03	10,30%	14,58%	16,27%
Carbaril	10,07	100,70	19,03%	16,06%	18,44%
Carbendazim	8,94	89,40	10,04%	22,93%	11,05%
Carbetamide	9,44	94,40	18,13%	14,53%	14,77%
Carbofurano	9,15	91,50	14,02%	16,17%	11,28%
Carboxin	9,53	95,30	15,15%	13,83%	16,37%
Carfentrazona-etílica	10,51	105,10	25,26%	39,59%	20,98%
Clorantraniliprol	10,20	102,00	22,25%	28,99%	23,50%
Clorfluazurom	9,14	91,40	21,10%	19,90%	21,18%
Clorotolurom	9,89	98,90	16,95%	17,00%	15,25%
Cloroxurom	9,33	93,30	18,00%	19,15%	16,20%
Cletodim E	9,27	92,70	26,96%	27,94%	23,48%
Cletodim Z	9,67	96,70	15,04%	18,05%	17,60%
Clofentezim	8,86	88,60	14,83%	14,99%	11,30%
Clotianidim	9,42	94,20	18,92%	15,94%	16,88%
Ciazofamida	9,68	96,80	8,36%	18,17%	11,63%
Ciclurom	9,40	94,00	13,11%	14,23%	14,68%
Cimoxanil	9,70	97,00	10,93%	14,60%	12,44%
Ciproconazol	8,81	88,10	13,37%	16,29%	15,09%
Ciproconazol Isômero	8,92	89,20	16,50%	22,35%	16,22%
Ciprodinil	9,20	92,00	10,69%	11,09%	16,02%
Desmedifam	8,51	85,10	9,45%	12,08%	18,20%
Diclobutrazol	7,85	78,50	16,21%	22,44%	14,83%
Dietofencarbe	9,85	98,50	11,85%	23,34%	13,18%
Difenoconazol	11,29	112,90	14,92%	15,03%	14,86%

Difenoconazol	9,18	91,80	18,74%	25,50%	16,99%
Isômero					
Diflubenzurom	9,57	95,70	10,84%	20,42%	11,08%
Dimetoato	9,44	94,40	16,64%	15,52%	14,20%
Dimetomorfe	8,64	86,40	12,54%	25,24%	25,24%
Dimoxistrobina	9,08	90,80	15,17%	23,36%	12,27%
Diniconazol	10,18	101,80	18,96%	18,85%	19,37%
Dinotefurano	9,58	95,80	29,35%	22,51%	41,03%
Dioxacarbe	9,62	96,20	14,28%	21,44%	12,55%
Diurom	9,33	93,30	15,29%	24,42%	11,76%
Epiconazol	8,28	82,80	15,18%	24,60%	18,48%
Etaconazol	10,91	109,10	18,15%	23,32%	17,14%
Etiofencarbe	9,22	92,20	7,58%	19,49%	11,81%
Etiprol	9,21	92,10	13,49%	11,51%	14,72%
Etimol	8,04	80,40	12,91%	20,62%	16,33%
Etofumerato	7,37	73,70	19,92%	38,49%	20,10%
Etoxazol	9,31	93,10	12,69%	11,74%	13,20%
Famoxadona	7,85	78,50	25,68%	29,83%	31,62%
Fenamidona	8,65	86,50	19,95%	23,62%	17,43%
Fenarimol	7,20	72,00	38,24%	36,03%	14,28%
Fenazaquim	8,55	85,50	16,29%	13,78%	15,29%
Fenbuconazol	9,34	93,40	18,84%	27,20%	14,73%
Fenhexamida	7,54	75,40	12,13%	43,21%	12,13%
Fenobucarbe	8,84	88,40	10,20%	17,25%	17,83%
Fenoxicarbe	9,70	97,00	22,94%	24,09%	17,89%
Fenpropimorfe	9,17	91,70	11,96%	25,54%	9,75%
Fenpiroximato	9,14	91,40	17,86%	19,20%	17,48%
Fenurom	12,46	124,60	8,16%	17,47%	19,59%
Fipronil	8,12	81,20	62,36%	49,13%	49,82%
Flonicamida	9,12	91,20	16,64%	18,05%	15,11%
Fluazinam	9,81	98,10	6,77%	14,67%	5,70%
Fludioxonil	8,53	85,30	47,55%	36,93%	36,15%
Flufenacete	9,42	94,20	16,34%	20,98%	12,27%
Flufenoxurom	9,02	90,02	11,46%	21,98%	9,82%
Fluometurom	9,48	94,80	12,68%	16,51%	13,99%
Fluoxastrobina	11,58	115,80	16,25%	14,76%	20,31%
Fluquinconazol	10,29	102,90	18,18%	20,06%	19,02%
Flusilazol	9,57	95,70	17,33%	18,26%	14,57%
Flutolanil	9,45	94,50	17,83%	17,06%	13,63%
Flutriafol	9,25	92,50	10,21%	17,30%	14,32%
Forclorfenurom	9,50	95,00	19,94%	18,88%	16,18%
Formetanato HCL	9,32	93,20	11,35%	16,93%	12,17%
Fuberidazol	9,42	94,20	9,82%	17,07%	12,75%
Furalaxil	9,91	99,10	18,05%	18,02%	15,55%
Furatiocarbe	9,34	93,40	13,82%	22,21%	9,60%
Hexaconazol	11,38	113,80	8,32%	17,56%	20,70%
Hexitiazox	11,67	116,70	5,58%	19,41%	18,14%
Hidrametilnom	8,94	89,40	16,80%	20,15%	16,70%

Imazalil	8,34	83,40	9,76%	21,29%	14,94%
Imidacloprida	9,07	90,70	13,92%	20,03%	12,68%
Indoxacarbe	7,94	79,40	17,27%	27,70%	21,84%
Ipconazol	9,37	93,70	13,63%	18,03%	11,36%
Iprovalicarbe	10,48	104,80	18,25%	17,23%	15,53%
Isoprocarbe	9,71	97,10	12,80%	10,85%	15,74%
Isoproturom	9,61	96,10	17,04%	18,64%	14,15%
Kresoxim-metil	10,18	101,80	62,42%	68,29%	45,88%
Linurom	9,92	99,20	14,79%	19,66%	14,80%
Lufenurom	9,63	96,30	10,50%	12,42%	13,79%
Mandipropamida	11,20	112,00	6,19%	17,65%	16,56%
Mefenacet	10,12	101,20	13,12%	14,26%	13,58%
Mepanipirim	9,48	94,80	23,73%	29,09%	18,82%
Mepronil	8,93	89,30	15,89%	27,60%	14,42%
Metaflumizona	10,34	103,40	19,46%	21,32%	16,67%
Metalaxil	9,73	97,30	18,58%	16,63%	15,66%
Metconazol	12,46	124,60	10,50%	19,52%	19,61%
Metabenzthiazurom	8,98	89,80	16,36%	16,76%	12,63%
Metamidofós	11,42	114,20	11,56%	18,20%	17,96%
Metiocarbe	9,44	94,40	18,83%	24,05%	15,38%
Metomil	9,48	94,80	13,36%	16,38%	12,52%
Metoprotrim	11,90	119,00	19,48%	21,68%	19,12%
Metobromurom	9,67	96,70	9,16%	16,74%	11,14%
Metribuzim	9,45	94,50	16,75%	18,29%	15,85%
Mevinfós E	11,44	114,40	12,34%	16,96%	18,70%
Mevinfós Z	9,53	95,30	11,80%	18,26%	12,46%
Mexacarbato	9,91	99,10	19,76%	18,67%	15,61%
Monocrotofós	12,10	121,00	6,59%	15,78%	18,92%
Monolinurom	9,89	98,90	13,88%	13,47%	12,05%
Miclobutanil	11,32	113,20	7,84%	17,79%	13,23%
Neburom	11,14	111,40	9,80%	12,64%	17,00%
Nitenpiram	9,65	96,50	11,35%	15,26%	11,49%
Novaluron	8,74	87,40	11,20%	14,14%	11,11%
Nuarimol	8,43	84,30	15,08%	16,58%	16,87%
Ometoato	12,12	121,20	4,18%	17,46%	19,86%
Oxadixil	9,81	98,10	17,65%	21,23%	17,33%
Oxamil	12,24	122,40	12,80%	17,70%	21,96%
Paclobutrazol	9,30	93,00	19,07%	19,07%	14,07%
Penconazol	9,74	97,40	18,61%	16,94%	13,49%
Pencycuron	9,59	95,90	12,67%	16,54%	12,42%
Fenmedifam	9,59	95,90	12,67%	16,54%	11,65%
Picoxistrobina	10,72	107,20	23,05%	17,40%	19,55%
Piperonil butoxida	12,05	120,50	10,80%	19,24%	18,72%
Pirimicarbe	9,53	95,30	14,81%	18,69%	11,85%
Procloraz	10,88	108,80	6,28%	18,82%	12,97%
Promecarbe	9,19	91,90	13,84%	20,54%	12,83%
Prometom	13,30	133,00	13,22%	19,67%	19,81%

Prometrim	9,47	94,70	13,85%	15,43%	14,52%
Propargite	12,51	125,10	17,40%	18,39%	21,26%
Profam	9,83	98,30	13,74%	16,26%	12,10%
Propiconazol	9,14	91,40	15,05%	21,88%	16,63%
Propoxur	9,36	93,60	17,10%	19,99%	15,23%
Protioconazol	11,26	112,60	71,91%	59,70%	65,70%
Pimetrozine	8,83	88,30	16,24%	30,64%	16,89%
Piracarbolidée	9,52	95,20	11,94%	18,01%	12,90%
Piraclostrobina	10,07	100,70	18,25%	16,08%	14,12%
Pirimethanil	9,91	99,10	21,79%	19,73%	22,22%
Piriproxifen	9,21	92,10	14,97%	14,98%	13,41%
Quinoxifem	8,79	87,90	12,82%	15,30%	12,94%
Rotenona	9,32	93,20	13,96%	20,33%	15,83%
Secbumetom	9,75	97,50	16,69%	17,40%	14,90%
Siduron	10,26	102,60	12,04%	16,03%	15,14%
Simetrim	9,11	91,10	11,71%	19,50%	10,31%
Espinetoram A	8,94	89,40	13,95%	18,98%	13,61%
Espinetoram B	8,69	86,90	11,75%	16,26%	12,49%
Espinosade A	9,08	90,80	11,33%	17,10%	17,64%
Espinosade D	9,08	90,80	14,29%	12,15%	13,91%
Espirodiclofen	10,07	100,70	8,71%	9,35%	9,59%
Espirotetramate	9,78	97,80	14,25%	18,33%	14,75%
Espiroxamina	8,73	87,30	9,72%	15,62%	11,68%
Espiroxamina	9,49	94,90	13,28%	16,65%	14,11%
Isômero					
Sulfentrazona	11,98	119,80	16,45%	19,87%	19,81%
Tebuconazol	10,17	101,70	5,56%	16,86%	10,99%
Tebufenozida	10,04	100,40	23,01%	24,51%	30,02%
Tebufenpirade	9,83	98,30	17,65%	14,13%	17,44%
Tebutiurum	9,44	94,40	18,93%	18,45%	15,78%
Teflubenzurum	7,20	72,00	59,24%	73,42%	47,03%
Temefós	8,95	89,50	17,02%	20,28%	13,76%
Terbumetom	9,80	98,00	18,04%	16,92%	15,99%
Terbutrim	9,82	98,20	7,22%	14,39%	10,20%
Tetraconazol	8,93	89,30	13,82%	18,20%	11,84%
Tiabendazol	9,48	94,80	15,68%	18,06%	14,28%
Tiacloprid	9,46	94,60	14,88%	20,04%	14,15%
Tiametoxam	10,13	101,30	17,81%	17,32%	16,37%
Tidiazuron	8,60	86,00	13,76%	18,67%	13,70%
Tiobencarbe	9,94	99,40	17,99%	15,96%	18,32%
Tiofanato metílico	9,22	92,20	13,88%	17,93%	12,82%
Triadimefom	9,68	96,80	11,42%	14,43%	11,55%
Triadimenol	8,31	83,10	29,06%	63,46%	20,48%
Triclorfon	9,17	91,70	9,31%	13,95%	13,36%
Triciclazol	9,31	93,10	14,86%	18,82%	12,99%
Trifloxistrobina	9,29	92,90	8,35%	14,80%	11,70%
Triflumizol	10,51	105,10	8,55%	14,47%	13,59%
Triflumurum	9,78	97,80	16,54%	12,76%	15,59%

Triticonazol	10,31	103,10	16,69%	16,69%	17,55%
Vamidotion	9,34	93,40	12,24%	16,17%	10,79%
Zoxamida	10,00	100,00	11,95%	12,77%	18,84%

Para a adição no nível de 5ug/kg, os analitos apresentaram maior variação entre os dados, abrangendo de 20 a 30% de desvio padrão relativo, enquanto que a recuperação se manteve dentro dos 70 a 120%. Para a recuperação em 25ug/kg, o padrão de desvio entre os dados e os valores de exatidão se mantiveram similares aos valores de 10ug/kg.

Estudos como o de Lopes *et. al.* (2012), Carneiro *et. al.* (2013) e Anagnostopoulos *et. al.* (2012) realizaram abordagens similares em seus ensaios de precisão e exatidão, e apresentaram resultados muito próximos aos encontrados para a matriz batata e extrapolados para a matriz mandioquinha, mesmo que em matrizes não exatamente iguais, mas bastante parecidas em suas complexidades.

Através da avaliação dos dados, foi possível identificar os praguicidas que não foram aprovados na atual validação, sendo eles: Aldicarbe, Aldicarbe sulfoxido, Bendiocarbe, Carfentrazona-etílica, Clorantniliprol, Cletodim E, Dimetomorfe, Dinotefurano, Etofumerato, Famoxadona, Fenarimol, Fenhexamida, Fenoxicarbe, Fipronil, Kresoxim-metil, Mepanipirim, Protiocanazol, Pimetrozine, Tebufenozida, Teflubenzurom e Triadimenol.

5.5.5 Resultados de Exatidão e Precisão para Cenoura

Assim como para a batata e a mandioquinha, a precisão e a exatidão do método foram avaliadas em três níveis diferentes: 5,0 µg/kg, 10 µg/kg e 20 µg/kg, em cinco replicatas, para repetibilidade (mesmo analista, no mesmo dia), repetibilidade intermediária (mesmo analista, dias diferentes) e reprodutibilidade (analistas e dias diferentes), de acordo com os critérios exigidos pela validação de praguicidas pela SANCO/12495/2011 (*Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed*). Da mesma forma que para a batata e a mandioquinha, os valores de aceitação para a precisão e a exatidão foram de 70% a 130% de recuperação, 20% de desvio padrão relativo para os resultados obtidos de repetibilidade e 30% para repetibilidade intermediária e reprodutibilidade. A tabela 16 apresenta os resultados obtidos para os testes no nível de 10ng/mL, nível este determinado como o *Report Limit*.

Tabela 16. Dados de Exatidão e Preciso para o Limite de Reporte dos praguicidas analisados.

Analito	Concentração Média (ug/kg)	Exatidão (%)	Repetibilidade CV (%)	Repetibilidade Intermediária CV (%)	Reprodu- tibilidade CV (%)
3- Hidroxycarbofurano_Q	9,52	95,17	20,69	20,52	27,23
Acetamiprida_Q	8,79	87,91	11,54	24,02	26,49
Acibenzolar-S- metil_Q	8,39	83,94	15,15	13,66	20,95
Aldicarbe	6,18	61,80	42,91	41,17	29,18
Sulfoxido_Q					
Aldoxicarbe_Q	8,03	80,35	43,82	20,52	34,51
Ametrin_Q	9,93	99,29	19,22	26,72	22,54
Aminocarbe_Q	9,26	92,62	18,27	28,83	30,18
Amitraz_Q	5,90	59,03	27,38	29,18	17,19
Azoxistrobina_Q	11,66	116,63	19,20	17,58	20,93
Benalaxil_Q	7,06	70,60	25,15	30,61	30,59
Bendiocarbe_Q	8,77	87,67	24,42	27,77	27,85
Benfuracarbe_Q	6,04	60,39	26,10	56,01	25,40
Benzoximato_Q	4,52	45,19	94,73	61,47	32,84
Bifenazato_Q	3,34	33,44	34,56	46,61	22,62
Bitertanol_Q	7,79	77,89	20,24	36,39	28,84
Boscalida_Q	8,79	87,89	18,10	22,26	25,12
Bromuconazol Cis_Q	11,22	112,15	20,53	20,82	26,52
Bromuconazol trans_Q	10,75	107,47	17,27	20,04	24,36
Bupirimato_Q	9,68	96,77	15,02	21,22	25,58
Buprofezina_Q	9,28	92,85	23,53	26,38	32,85
Butafenacil_Q	9,26	92,55	27,14	23,56	29,28
Butocarboxim_Q	8,60	85,99	22,37	21,58	29,46
Butoxicarboxim_Q	8,30	82,99	21,49	32,66	32,82
Carbaril_Q	6,77	67,74	21,82	44,36	20,95
Carbendazim_Q	10,16	101,58	18,76	27,51	28,14
Carbetamide_Q	8,80	88,05	42,14	27,80	30,55
Carbofurano_Q	9,90	98,97	15,36	22,94	23,39
Carboxim_Q	8,41	84,09	25,02	33,51	33,62
Carfentrazona- etilica_Q	17,43	174,32	50,69	18,88	24,98
Clorantraniliprol_Q	11,25	112,54	19,16	26,25	28,81
Clorfluazurom_Q	8,19	81,90	23,62	31,36	26,69
Clorotolurom_Q	9,99	99,86	25,88	25,97	29,95
Cloroxurom_Q	10,38	103,78	17,15	26,18	23,34
Cletodim E_Q	9,00	90,03	10,41	26,58	18,01
Cletodim Z_Q	8,08	80,78	15,93	28,24	23,27
Clofentezim_Q	10,00	100,03	18,38	25,92	29,20
Ciazofamida_Q	10,44	104,38	19,90	26,82	33,47
Ciclurom_Q	10,11	101,09	19,79	25,53	27,50
Cimoxanil_Q	7,23	72,33	17,85	32,67	35,21

Ciproconazol	11,96	119,64	21,60	37,49	27,50
Isomero_Q					
Ciproconazol_Q	10,61	106,14	18,84	28,14	28,72
Ciprodinil_Q	10,16	101,60	20,84	31,91	22,75
Ciromazina_Q	5,10	51,04	66,29	31,65	30,59
Desmedifam_Q	7,72	77,20	16,06	31,93	29,85
Diclobutrazol_Q	10,11	101,15	29,54	32,36	28,49
Dietofencarbe_Q	8,38	83,82	22,66	29,69	25,23
Difeconazol	11,17	111,73	18,68	21,30	24,28
Isomero_Q					
Difeconazol_Q	12,71	127,14	18,76	26,78	32,42
Diflubenzurom_Q	9,20	92,00	19,59	31,79	31,95
Dimetoato_Q	9,06	90,56	6,51	22,73	25,83
Dimetomorfe_Q	15,05	150,45	87,27	32,81	24,54
Dimoxistrobina_Q	9,23	92,30	21,22	35,54	34,63
Diniconazol_Q	8,83	88,30	24,86	28,55	32,60
Dinotefurano_Q	5,54	55,36	29,02	12,77	31,99
Dioxacarbe_Q	8,06	80,61	22,57	26,11	31,25
Diurom_Q	9,65	96,52	16,79	29,48	27,92
Epiconazol_Q	10,41	104,15	19,45	26,34	29,78
Etaconazol_Q	9,64	96,42	17,08	21,50	25,62
Etiofencarbe_Q	4,88	48,81	29,60	32,57	27,99
Etiprol_Q	9,73	97,26	18,73	31,81	26,06
Etirimol_Q	7,01	70,07	17,04	30,33	31,20
Etofumerato_Q	9,89	98,87	24,18	32,83	30,81
Etoxazol_Q	9,28	92,77	18,29	27,03	27,18
Famoxadona_Q	9,98	99,79	17,56	64,85	32,24
Fenamidona_Q	10,40	104,00	20,63	23,15	18,93
Fenarimol_Q	10,81	108,13	26,12	32,23	30,02
Fenazaquim_Q	28,34	283,36	45,78	25,22	25,27
Fenbuconazol_Q	9,96	99,59	20,98	24,67	27,79
Fenhexamida_Q	26,01	260,07	52,08	49,67	23,05
Fenobucarbe_Q	8,88	88,84	18,81	30,46	32,84
Fenoxicarbe_Q	10,49	104,86	28,72	32,36	30,45
Fenpropimorfe_Q	9,05	90,54	22,93	20,07	32,40
Fenpiroximato_Q	10,01	100,14	20,28	24,05	29,59
Fenurom_Q	8,51	85,12	18,60	29,36	30,62
Fipronil_Q	10,00	100,04	17,88	19,85	20,62
Flonicamida_Q	8,57	85,71	19,23	30,00	30,72
Flufenacete_Q	8,71	87,06	16,87	22,29	28,16
Flufenoxurom_Q	9,68	96,80	19,69	32,84	28,69
Fluodioxonil_Q	9,83	98,34	20,35	27,97	30,95
Fluometurom_Q	9,12	91,22	19,74	24,33	26,26
Fluoxastrobina_Q	11,42	114,23	27,40	26,82	25,54
Fluquinconazol_Q	8,91	89,06	24,39	27,24	26,56
Flusilazol_Q	9,50	95,04	21,16	28,60	29,61
Flutolanil_Q	10,97	109,74	24,33	31,73	27,73
Flutriafol_Q	11,27	112,73	20,20	25,72	18,56

Forclorfenuruom_Q	7,08	70,82	22,25	30,15	32,10
Formetanato HCl_Q	10,20	102,00	22,70	19,75	26,82
Fuberidazol_Q	8,80	87,96	24,78	24,97	28,59
Furalaxil_Q	10,19	101,90	16,97	20,17	26,85
Furatiocarbe_Q	11,27	112,69	20,84	27,86	28,85
Hexaconazol_Q	9,24	92,40	17,83	27,04	28,72
Hexaflumurom_Q	10,46	104,56	19,38	26,58	24,58
Hexitiazox_Q	9,95	99,50	25,71	25,10	30,84
Hidrametilnom_Q	10,79	107,90	23,61	79,57	29,61
Imazalil_Q	10,31	103,09	17,06	29,19	23,51
Imidacloprida_Q	9,27	92,73	19,15	31,21	31,73
Indoxacarbe_Q	10,04	100,41	19,84	24,14	20,88
Iponazol_Q	9,97	99,66	10,95	26,84	26,91
Iprovalicarbe_Q	10,80	107,96	15,32	21,96	27,61
Isoprocabe_Q	9,14	91,44	20,40	40,73	31,03
Isoproturom_Q	8,53	85,31	13,63	40,36	27,15
Kresoxim-metil_Q	6,50	64,99	123,39	141,06	31,09
Linurom_Q	12,01	120,10	27,72	27,28	23,02
Lufenurom_Q	7,73	77,28	18,05	31,51	29,01
Mandipropamida_Q	10,14	101,40	25,74	33,54	23,12
Mefenacet_Q	8,70	87,00	16,78	32,45	26,56
Mepanipirim_Q	33,63	336,26	190,71	39,81	24,19
Mepronil_Q	9,45	94,53	23,31	41,95	29,46
Metaflumizona_Q	7,74	77,45	14,83	30,58	28,14
Metalaxil_Q	10,52	105,17	18,91	38,52	25,08
Metconazol_Q	10,44	104,40	22,10	34,10	32,95
Metabenzthiazurom_Q	8,15	81,46	17,03	42,41	32,39
Metamidofós_Q	5,96	59,60	52,03	41,29	27,55
Metiocarbe_Q	10,12	101,23	8,77	34,26	23,75
Metomil_Q	6,64	66,43	20,30	41,73	32,47
Metoprotrim_Q	8,49	84,91	22,70	35,23	31,18
Metobromurom_Q	9,36	93,64	16,79	37,61	26,50
Metribuzim_Q	8,89	88,90	10,82	41,17	28,33
Mevinfós E_Q	11,49	114,85	14,37	28,41	21,95
Mevinfós Z_Q	7,78	77,84	18,15	39,39	32,37
Mexacarbato_Q	8,20	82,02	24,84	30,86	22,84
Monocrotofós_Q	9,37	93,72	24,52	45,16	26,75
Monolinurom_Q	8,88	88,78	8,79	40,48	27,56
Miclobutanil_Q	9,02	90,23	14,90	38,41	24,72
Neburom_Q	9,65	96,53	22,95	33,68	27,55
Nitenpiram_Q	7,20	71,99	6,99	38,93	28,69
Novaluron_Q	12,80	128,03	19,29	41,90	28,94
Nuarimol_Q	10,18	101,81	23,21	38,57	24,64
Ometoato_Q	5,90	59,00	18,55	34,72	28,99
Oxadixil_Q	7,15	71,46	20,27	36,17	27,71
Oxamil_Q	5,47	54,68	30,63	63,07	34,21
Paclobutrazol_Q	8,66	86,61	23,18	38,79	33,51

Penconazol_Q	7,74	77,44	12,63	40,93	26,60
Pencycuron_Q	8,40	84,05	11,69	40,35	30,15
Fenmedifam_Q	35,84	358,41	79,86	26,30	22,30
Picoxistrobina_Q	9,23	92,32	50,64	36,19	27,65
Piperonil Butoxida_Q	9,24	92,40	18,55	36,67	32,36
Pirimicarbe_Q	10,53	105,34	19,73	26,71	25,00
Procloraz_Q	10,56	105,58	24,84	38,66	25,99
Promecarbe_Q	9,00	89,96	16,88	39,36	31,32
Prometom_Q	8,99	89,92	17,63	39,69	25,59
Prometrim_Q	9,15	91,54	20,27	32,20	24,45
Propargite_Q	9,49	94,93	17,66	101,06	34,24
Profam_Q	8,32	83,24	38,64	68,71	36,67
Propiconazol_Q	10,03	100,27	18,37	34,57	20,45
Propoxur_Q	7,11	71,06	12,77	40,94	30,76
Protioconazol_Q	14,61	146,09	60,57	30,24	39,49
Pimetrozine_Q	4,25	42,53	41,32	36,44	21,35
Piracarbolidée_Q	8,91	89,14	18,20	40,05	29,52
Piraclostrobina_Q	9,76	97,65	21,26	36,54	26,09
Piridaben_Q	9,89	98,89	29,62	43,21	36,01
Pirimethanil_Q	11,38	113,84	18,80	36,30	28,35
Piriproxifen_Q	10,16	101,58	23,14	37,02	27,97
Quinoxifem_Q	8,35	83,48	17,73	34,38	28,71
Rotenona_Q	12,05	120,47	17,73	32,63	27,99
Secbumetom_Q	10,33	103,26	22,04	41,46	23,36
Siduron_Q	8,86	88,61	16,46	37,81	29,13
Simetrim_Q	8,94	89,38	18,19	29,05	24,80
Espinosade A_Q	5,60	56,00	17,49	33,22	23,27
Espinosade D_Q	6,20	62,00	21,00	27,00	29,80
Espinoteram A_Q	6,95	69,47	8,99	37,13	31,59
Espinoteram B_Q	7,61	76,08	17,93	34,40	33,11
Espirodiclofen_Q	9,56	95,63	24,76	44,68	30,42
Espirotetramate_Q	9,03	90,26	24,52	42,55	32,77
Espiroxamina I_Q	8,44	84,43	19,83	35,23	34,53
Espiroxamina II_Q	8,77	87,74	17,63	38,52	34,85
Sulfentrazona_Q	16,86	168,59	24,15	37,19	26,24
Tebuconazol_Q	11,52	115,24	23,05	33,58	24,41
Tebufenozida_Q	38,07	380,71	125,29	32,40	22,06
Tebufenpirade_Q	10,08	100,80	19,65	29,31	25,97
Tebutiurum_Q	8,55	85,48	15,16	43,86	30,43
Teflubenzurum_Q	9,84	98,40	25,88	15,03	27,78
Temefós_Q	7,69	76,95	8,37	32,35	29,57
Terbumetom_Q	10,36	103,56	17,39	32,61	23,20
Terbutrim_Q	9,16	91,59	21,50	36,37	29,42
Tetraconazol_Q	9,40	93,97	20,21	33,01	28,07
Tiabendazol_Q	8,49	84,87	17,62	37,83	28,22
Tiacloprid_Q	8,44	84,40	10,63	43,32	29,49
Tiametoxam_Q	9,44	94,43	24,56	41,45	31,79

Tidiazuron_Q	8,06	80,61	18,13	33,18	24,64
Tiobencarbe_Q	8,83	88,29	18,65	43,73	31,83
Tiofanato metílico_Q	6,04	60,35	19,70	36,77	28,48
Triadimefom_Q	8,54	85,35	15,77	32,19	24,47
Triadimenol_Q	11,03	110,33	17,50	31,33	25,22
Triclorfon_Q	18,74	187,40	33,30	26,80	25,32
Triciclazol_Q	10,03	100,27	16,48	34,02	26,82
Trifloxistrobina_Q	8,31	83,12	18,74	39,50	33,06
Triflumizol_Q	6,21	62,07	20,63	30,85	27,60
Triflumurom_Q	9,53	95,28	21,59	31,09	18,67
Triticonazol_Q	10,66	106,55	17,93	33,72	26,70
Vamidotion_Q	8,38	83,76	17,92	29,57	29,49
Zoxamida_Q	9,04	90,39	18,42	32,91	30,58

Para o ensaio de exatidão, as analitos que não apresentaram resultados dentro do esperado (70 a 130%) totalizaram 37 compostos, sendo que os praguicidas que apresentaram os valores de 50 a 150% de recuperação são passíveis de interpretação para identificação de presença ou ausência do analito, ou também da correção pela incerteza do método, uma vez que essa tenha sido calculada. Dessa forma, os analitos que totalizaram recuperações abaixo de 50% ou acima de 150%, foram considerados não aprovados, sendo os mesmos o *Fenazaquim*, a *Fenhexamida*, o *Mepanipirim*, o *Fenmedifam*, o *Tebufenozida* e o *Triclorfon*.

Os analitos *Aldicarbe Sulfoxido*, *Amitraz*, *Benfuracarbe*, *Benzoximato*, *Bifenazato*, *Carbaril*, *Carfentrazona-etílica*, *Ciromazina*, *Dimetomorfe*, *Dinotefurano*, *Etiofencarbe*, *Kresoxim-metil*, *Metamidofós*, *Metomil*, *Ometoato*, *Oxamil*, *Protioconazol*, *Pimetrozine*, *Espinosade A*, *Espinosade D*, *Espinoteram A*, *Sulfentrazona* e *Tiofanato metílico* e *Triflumizol* apresentaram recuperações entre 50 e 150%, sendo não aprovados nos critérios iniciais para exatidão.

No ensaio de precisão, analisando-se em conjunto os dados de repetibilidade, repetibilidade intermediária e reprodutibilidade, os valores de desvio padrão relativo entre os resultados se apresentaram constantemente entre 15 e 40%, valores esses que na aplicação do método devem ser utilizados para obtenção da incerteza do mesmo.

Mencionando-se novamente os estudos de Lopes *et. al.* (2012), Carneiro *et. al.* (2013) e Anagnostopoulos *et. al.* (2012), os quais realizaram abordagens similares para precisão e exatidão para pesquisa em alimentos, e comparando os valores obtidos para a matriz batata, a diferença entre os valores encontrados (desvios-padrões relativos entre 5,0 e 20,0%) se baseia provavelmente no maior tempo de corrida cromatográfica e menor quantidade de praguicidas analisados (para os estudos mencionados), e a presença de maior quantidade de interferentes

derivados de pigmentação orgânica, acarretando modificações na etapa de *clean-up*, no caso da comparação com a matriz batata.

Considerando-se as características do método e a quantidade de compostos e transições adquiridas em uma mesma corrida de 14 minutos, os analitos que não foram aprovados nos critérios de precisão foram: Aldicarbe Sulfoxido, Aldoxicarbe, Benfuracarbe, Benzoximato, Bifenazato, Carbaril, Carbetamide, Carfentrazona-etílica, Cimoxanil, Ciromazina, Dimetomorfe, Famoxadona, Fenazaquim, Fenhexamida, Hidrametilnom, Isoprocabe, Isoproturom, Kresoxim-metil, Mepanipirim, Mepronil, Metabenzthiazurom, Metamidofós, Metomil, Metribuzim, Monocrotofós, Monolinurom, Novaluron, Oxamil, Penconazol, Pencycuron, Fenmedifam, Picoxistrobina, Propargite, Profam, Propoxur, Protiocanazol, Pimetrozine, Piracarbolid, Piridaben, Secbumetom, Espirodiclofen, Espirotetramate, Tebufenozida, Tebutiurum, Tiacloprid, Tiametoxam, Tiobencabe e Triclorfon. Dessa forma, foram validados 148 analitos.

5.6 Análise das amostras de batata, cenoura e mandioquinha adquiridas dos fornecedores e obtidas em varejo

Todos os ensaios de análise das amostras foram realizados utilizando uma amostra branca fortificada no nível 10ug/kg para garantir a performance de exatidão da rotina analítica e garantir que o resultado possivelmente encontrado fosse registrado com eficácia.

5.6.1 Primeiros grupos amostrais

Um primeiro grupo amostral de batata foi analisado posterior à validação da matriz, sendo que as amostras analisadas foram obtidas da área São José do Rio Pardo por compra a granel, sem identificação de área de cultivo ou produtor, juntamente com uma amostra de batata orgânica e uma amostra de batata comum obtida em São Paulo, para comparação de dados.

Para a batata orgânica, foi verificada a presença dos compostos Clotianidim e Tiametoxam, ambos abaixo do *Report Limit* (RL), e para a batata não-orgânica, o composto

Diflubenzurom foi identificado, porém também abaixo do RL. Para as amostras de São José do Rio Pardo adquiridas em mercado, não foi verificado nenhum composto que apresentasse picos cromatográficos representativos e com confirmação pela segunda transição por MRM.

As figuras abaixo ilustram a diferença de sinal cromatográfico na presença e ausência de quatro dos praguicidas analisados.

Figura 21. Cromatogramas da amostra três de São José do Rio Pardo para os analitos Zoxamida e Cletodim Z.

A figura 21 ilustra um exemplo dos cromatogramas sem a presença de picos cromatográficos dos praguicidas Zoxamida e Cletodim Z, e suas respectivas confirmações (cromatogramas da esquerda) e as transições de quantificação e confirmação do padrão interno TRIS (cromatogramas à direita).

Figura 22. Cromatogramas do padrão 5 da curva de calibração (25ug/kg) para os analitos Zoxamida e Cletodim Z.

A figura 22 ilustra os cromatogramas dos mesmos analitos (Zoxamida e Cletodim Z) para o padrão 5 da curva de calibração, correspondente à concentração de 25ng/mL (ou 25 ug/kg), a figura 23 para os analitos Triciclazol e Vamidotiom.

Figura 23. Cromatogramas do padrão 5 da curva de calibração (25ug/kg) para os analitos Triciclazol e Vamidotiom.

Um segundo conjunto de amostras analisadas foram fornecidas pelo agricultor responsável pelas plantações em São José do Rio Pardo, que são destinadas à produção de baby-food salgada. Foram analisadas amostras de cinco produtores diferentes, em triplicata, e uma amostra de batata orgânica, também em triplicata, adquirida em supermercado.

Nenhum pico cromatográfico correspondente aos analitos validados foi identificado nas injeções das amostras acima do RL, ou mesmo no nível do CC α . Os analitos que apresentaram sinal suficiente para formar um pico cromatográfico quantificável não obtiveram confirmação através da análise da segunda transição de MRM (*Multiple Reaction Monitoring*) mais abundante.

O analito Tiametoxam se mostrou presente em todas as amostras (Figura 24 e 25), inclusive na amostra branca, e no branco de solventes, indicando uma possível contaminação instrumental. Foi realizada a quantificação do praguicida, e o mesmo se apresentou abaixo do limite de detecção em todas as injeções.

Figura 24. Cromatogramas do analito Tiametoxam (à esquerda) e do padrão interno TRIS (à direita) em amostra branca de batata.

Figura 25. Cromatogramas do analito Tiametoxam (à esquerda) e do padrão interno TRIS (à direita) em amostra de batata.

Após a observação constante de contaminação do composto identificado como Thiamethoxam, uma nova solução de limpeza do UHPLC foi desenvolvida, buscando a sua eliminação (Figura 26).

Figura 26. Cromatogramas do analito Tiametoxam em amostras de branco de solvente.

Com a mistura de uma solução aquosa com 1,5% de ácido fórmico, metanol, acetonitrila e isopropanol foi possível retirar a contaminação, fato esse visualizado nos cromatogramas de solvente e brancos.

5.6.2 Segundo Grupo Amostral

Um segundo grupo de amostras de cada matriz, cenoura, batata e mandioquinha, foi analisado, e as mesmas se encontram descritas na tabela 17. Dentre os praguicidas detectados, foi avaliada a resolução cromatográfica, confirmação por segunda transição e aprovação ou não na validação. Os analitos foram verificados quanto aos seus CC α e CC β para as matrizes validadas.

Tabela 17. Dados amostrais, praguicidas detectados e seus respectivos valores de concentração em $\mu\text{g/kg}$.

Número da Amostra	Amostras (três unidades de cada)	Praguicidas Detectados	Concentração Média do Praguicida na Matriz ($\mu\text{g/kg}$)
1	Batata da Feira Pública	N/D	<CC α
2	Mandioquinha da Feira Pública	N/D	<CC α
3	Cenoura da Feira Pública	Triciclazol	<CC β
		Vamidotion	<CC β
		Acetamiprida	<CC β
4	Batata a granel Mercado 1	Tiabendazol	<CC β
		Triciclazol	<CC β
		Vamidotion	<CC β
		Imidacloprida	<CC β
		Tiaclopride	<CC β
5	Mandioquinha a granel Mercado 1	Tiabendazol	<CC β
		Triciclazol	<CC β
		Vamidotion	<CC β
		Imidacloprida	<CC β
		Butafenacil	<CC β
		Benalaxil	<CC β

6	Cenoura a granel Mercado 1	Formetanato HCl	<CCβ
		Triciclazol	<CCβ
		Vamidotion	<CCβ
		Imidacloprida	<CCβ
		Tebuconazol	3,59
		Dimoxistrobina	<CCβ
		Linurom	5,97
		Etirimol	<CCβ
7	Batata orgânica Mercado 1	Aldoxicarbe	<CCβ
		Triciclazol	<CCβ
		Vamidotion	<CCβ
		Butefancil	<CCβ
		Tiabendazol	<CCβ
		Acetamiprida	<CCβ
		Fenarimol	<CCβ
8	Mandioquinha orgânica Mercado 1	Tiabendazol	<CCβ
		Triciclazol	<CCβ
		Vamidotion	<CCβ
		Flufenacete	<CCβ
		Butafenacil	<CCβ
		Triadimefom	<CCβ
7	Cenoura orgânica Mercado 1	Triciclazol	0,55
		Vamidotion	<CCβ
		Tebuconazol	<CCβ
		Dimoxistrobina	<CCβ
		Linurom	8,88
		Piidaben	<CCβ
10	Batata orgânica Mercado 2	Isoproturom	<CCβ
		Cloroxurom	<CCβ
11	Mandioquinha orgânica Mercado 2	Triciclazol	<CCβ
		Vamidotion	<CCβ
		Miclobutanil	<CCβ
12	Cenoura orgânica Mercado 2	Azoxistrobina	<CCβ
		Linurom	3,43
13	Batata embalada Mercado 1	Tiabendazol	<CCβ
		Triciclazol	<CCβ
		Imidacloprida	<CCβ
		Tiacloprid	<CCβ

14	Mandioquinha Mercado 1	embalada	Triciclazol Vamidotion Acetamiprida Miclobutanil Tiacloprid Isoproturom Triadimefom Cloroxurom Dimoxistrobina Trifloxistrobina	<CCβ <CCβ <CCβ <CCβ <CCβ <CCβ <CCβ <CCβ <CCβ <CCβ
15	Cenoura embalada Mercado 1		Triciclazol Vamidotion Tebuconazol Dimoxistrobina Linurom Piridaben Dimoxistrobina	<CCβ <CCβ <CCβ <CCβ 2,97 <CCβ <CCβ
16	Batata embalada Mercado 2		Tiabendazol Triciclazol Vamidotion Imidacloprida Tiacloprid Fluazinam Tiametoxam	<CCβ <CCβ <CCβ <CCβ <CCβ <CCβ <CCβ
17	Mandioquinha Mercado 2	embalada	Triciclazol Vamidotion Acetamiprida Isoproturom Triadimefom Cloroxurom Dimoxistrobina Trifloxistrobina Miclobutanil	<CCβ <CCβ <CCβ <CCβ <CCβ <CCβ <CCβ <CCβ <CCβ
18	Cenoura embalada Mercado 2		Linurom	2,16
19	Mini Cenoura Turma da Mônica		Epiconazol Etirimol Fenazaquim Fluazinam	<CCβ <CCβ <CCβ <CCβ
20	Grimmy Farms Baby Carrots		N/D	<CCα
21	Cenoura Produtor A		N/D	<CCα
22	Cenoura Produtor B		N/D	<CCα
23	Cenoura Produtor C		N/D	<CCα
24	Cenoura Produtor D		N/D	<CCα
25	Cenoura Produtor E		N/D	<CCα
26	Batata Produtor A		N/D	<CCα
27	Batata Produtor B		N/D	<CCα
28	Batata Produtor C		N/D	<CCα

29	Batata Produtor D	N/D	<CC α
30	Batata Produtor E	N/D	<CC α

*N/D = Não detectado; CC α = Limite de Decisão; CC β = Capacidade de Detecção.

Os praguicidas que apresentaram resposta acima do CC β foram o *Linurom*, o *Tebuconazol* e o *Triciclazol*, sendo estes quantificados somente para a matriz cenoura. As figuras 27 e 28 apresentam exemplos dos detalhes dos cromatogramas para os praguicidas detectados, e suas respectivas transições.

Frenich *et al.* (2012), em sua pesquisa de praguicidas em batata e cenoura com uma abordagem relativamente parecida com a do presente estudo, obteve resultados similares quanto ao composto *linurom*, que foi o praguicida mais frequentemente encontrado nas amostras investigadas em ambos os casos.

Figura 27. Cromatogramas representativos dos analitos Triciclazol e Tebuconazol detectados na matriz cenoura.

Figura 28. Cromatogramas representativos dos analitos Linurom e Tebuconazol detectados na matriz cenoura.

Estes dados permitem avaliar o risco da presença desses praguicidas na matriz cenoura, tendo como exposição por via oral a ingestão de *baby-food* e papinhas caseiras.

5.7 Avaliação do Risco para os praguicidas Linurom, Tebuconazol e Triciclazol

O *Linurom* é um herbicida de grupo químico uréia e classificado toxicologicamente como Classe III (medianamente tóxico) e possui aplicação liberada pela ANVISA em pré e pós-emergência das plantas infestantes para a cultura de cenoura.

O *Tebuconazol* é um fungicida de grupo químico triazol, classificado toxicologicamente como Classe IV (pouco tóxico) e liberado pela ANVISA para aplicações foliares na cultura de cenoura.

O *Triciclazol* é um fungicida do grupo químico benzotiazol, classificado toxicologicamente como Classe II (altamente tóxico) e não liberado pela ANVISA para aplicações na cultura de cenoura, sendo somente aplicável nas plantações de arroz.

A tabela 18 apresenta as Capacidades de Detecção obtidas a partir da validação, os Limites Máximos de Resíduo, em mg/kg do produto, estipulados pela ANVISA, pelo JFCFR – *The Japan Food Chemical Research Foundation* do Japão, pelo JECFA – *The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*, pelo *Codex Alimentarius* e pelo HSE – *Health and Safety Executive* do Reino Unido, juntamente com os dados de IDA – Ingestão Diária Aceitável, em mg/kg/pc, determinados pela JECFA e JMPR – *The Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues*, pela EFSA – *European Food Safety Authority*, da Comunidade Européia e pela ANVISA.

Tabela 18. Limites Máximos de Resíduo e Ingestão Diária Aceitável para os praguicidas Linurom, Tebuconazol e Triciclazol em cenoura.

Praguicida	CCβ (µg/kg)	LMR ANVISA	LMR JFCRF Japão	LMR JECFA	LMR CODEX	LMR HSE	IDA- JECFA / JMPR	IDA - EFSA	IDA ANVISA
Linurom	0,48	1,0 mg/kg	1,0 mg/kg	1,0 mg/kg	ND	0,4 mg/kg	0,01 mg/kg pc	0,03 mg/kg pc	0,003 mg/kg pc
Tebuconazol	2,53	0,6 mg/kg	0,6 mg/kg	0,05 mg/kg	0,4 mg/kg	0,2 mg/kg	0,03 mg/kg pc	0,03 mg/kg/ pc	0,03 mg/kg/ pc
Triciclazol	0,17	0,3 mg/kg (arroz)	0,02 mg/kg (cenoura)	ND	ND	0,05 mg/kg	Não definido	0,015 mg/kg pc	0,03 mg/kg/ pc

No caso do praguicida Triciclazol, somente foi encontrado o LMR estipulado para a *commoditie* cenoura no órgão japonês JFCFR, sendo que para todos os outros órgãos os limites máximos de resíduo foram definidos somente para a *commoditie* arroz. Tal fato acarreta que, não havendo limite máximo de resíduo, o composto Tebuconazol não pode ser aplicado nas outras culturas em cujos países não está definida a aplicação.

Visando realizar a caracterização da exposição, foi realizada uma pesquisa dos dados da ingestão diária de *baby-food* e papinhas em bancos de dados oficiais, porém, não foi obtida informação específica sobre essa classe de produtos. O último registro brasileiro sobre o consumo de legumes está disponível no relatório do POF – Pesquisa de Orçamentos Familiares, do IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, onde é indicado, nos anos de 2008 e 2009, que o consumo médio (entre homens e mulheres) para cenoura é de 0,9g por dia, para batata inglesa é de 14,7g por dia, e para outros tubérculos, onde é possível encaixar a mandioquinha, de 1,2g por dia. Tais informações não tornam possível a avaliação

do consumo de de *baby-food* e papinhas para que sejam feitas as caracterizações de exposição e risco.

Internacionalmente, diversos estudos demonstram basear o tratamento de seus dados a partir de informações do consumo ideal de alimentos pastosos para as crianças a partir de seis meses de idade, informações estas fornecidas por órgãos como a OMS – Organização Mundial da Saúde e o *American Academy of Pediatrics*. Dessa forma, uma pesquisa não oficial foi realizada com 25 mães cujos bebês já ultrapassaram a idade de 6 meses e que já iniciaram a administração de alimentos pastosos.

A tabela 19 descreve os dados questionados na pesquisa e os detalhes das papinhas consumidas, sendo de suma importância as informações sobre quantidade administrada aos bebês e os constituintes da receita.

Tabela 19. Dados obtidos a partir da pesquisa informal realizada com 25 mães com filhos a partir de seis meses de idade.

Controle	Nome da mãe	Fonte da papinha	Quantidade de papinha ingerida por dia	Legumes utilizados na produção caseira	Quantidade de Cenoura Adicionada	Local de Moradia
1	STP	Caseira	2	Batata, cenoura, mandioquinha, chuchu, feijão	20%	São Paulo - SP
2	CNN	Caseira	2	Batata, cenoura, mandioquinha, chuchu, feijão, abóbora	30%	Jundiaí
3	MSB	Caseira	2	Batata, cenoura, mandioquinha, chuchu, feijão, mandioca, inhame	50%	Barbacena - MG
4	AS	Caseira e industrializada	2	Batata, cenoura, mandioquinha, chuchu	20%	Guarulhos
5	BCS	Caseira	2	Batata, cenoura, mandioquinha, chuchu, mandioca, brócolis	30%	São Paulo - SP
6	OS	Caseira	2	Batata, cenoura, mandioquinha, chuchu, feijão, abóbora	50%	Jundiaí

7	HCB	Caseira	2	Batata, cenoura, mandioquinha, chuchu, feijão, batata doce, beterraba	30%	Barbacena - MG
8	MM	Caseira	2	Batata, cenoura, mandioquinha, chuchu, brocolis	20%	Jundiaí
9	CH	Caseira	2	Batata, cenoura, mandioquinha, chuchu	50%	Campinas
10	CG	Caseira	1	Batata, cenoura, mandioquinha, chuchu, feijão	50%	São Paulo - SP
11	AL	Caseira e industrializada	2	Batata, cenoura, mandioquinha, chuchu, feijão, mandioca, inhame	20%	São Caetano do Sul - SP
12	MCF	Caseira e industrializada	2	Batata, cenoura, mandioquinha, chuchu, feijão, abóbora	20%	São Paulo - SP
13	RR	Caseira e industrializada	2	Abobrinha, cenoura, mandioquinha, abóbora, batata, caldo de feijão	30%	São Paulo - SP
14	MBJO	Caseira	2	Batata, cenoura, mandioquinha, chuchu, abóbora	20%	São Paulo - SP
15	MS	Caseira	2	Batata, cenoura, mandioquinha, chuchu, feijão, beterraba	20%	São Paulo - SP
16	DM	Industrializada	2	De acordo com a receita	De acordo com a receita	Aracajú-SE
17	GL	Caseira e industrializada	2	Batata, chuchu, abóbora, mandioquinha, brócolis, inhame, abobrinha, maxixe, beterraba, abóbora, cará	30%	Guarulhos

18	FCO	Caseira e industrializada	2	Cenoura, mandioquinha, batata, inhame, cará, beterraba, brócolis	50%	São Paulo - SP
19	VBA	Caseira	2	Mandioquinha, cenoura, batata, brócolis, beterraba, cará, abobrinha, abóbora	30%	São Paulo - SP
20	BAVG	Caseira	2	Batata, cenoura, mandioquinha, chuchu, brocolis	30%	São Paulo - SP
21	MHC	Caseira e industrializada	2	Mandioquinha, batata, cenoura, beterraba	30%	São Paulo - SP
22	VNN	Caseira	2	Batata, cenoura, mandioquinha, chuchu, brocolis	Mais que 50%	Louveira - SP
23	DM	Caseira	2	Batata, batata doce, mandioca, mandioquinha, brócolis, abobrinha, vagem, nabo, beterraba, couve-flor, cenoura, inhame, cará	Menos que 20%	Jundiaí - SP
24	AM	Caseira	2	Cenoura, chuchu, mandioquinha, beterraba, abobrinha, batata	30%	Louveira - SP
25	MIS	Caseira	1	Cenoura, chuchu, abobrinha, mandioquinha, batata	Menos que 20%	Louveira - SP

A partir dos dados obtidos na pesquisa, pode-se considerar que 92% das mães administram *baby-foods* ou papinhas salgadas aos bebês duas vezes ao dia, e que da receita produzida, em média 30% é constituída de cenoura. De acordo com a *American Academy of Pediatrics*, o ideal para a alimentação de um bebê de 8 a 12 meses de idade seria por volta de 112g do alimento por refeição, totalizando 224g por dia.

As *baby-foods* encontradas comercialmente em embalagens de 115g, 170g e 250g, indicadas para cada idade da criança, conforme sua evolução, sendo que as receitas, de acordo com a informação fornecida pelo gerente da produção de papinhas da Nestlé LTDA., possuem de 15 a 19% de cenoura.

Com essas informações, unidas às indicações da *American Academy of Pediatrics*, a ingestão diária de papinha ou *baby-food* considerada para a Avaliação de Risco da presença de Linurom, Tebuconazol e Triciclazol foi de 224g por dia, considerando-se 30% da receita como cenoura na papinha caseira, ou seja, 67,2g.

Caso algum praguicida tivesse sido detectado nas *commodities* destinadas à produção de *baby-food* e advindas das áreas de cultivo de São José do Rio Pardo, a Avaliação de Risco teria sido realizada baseando-se no valor de 19% de cenoura, na receita para *baby-food* industrializada, o que equivale a 42,6g de cenoura por dia.

Os valores quantificados nas amostras foram:

- Cenoura a granel Mercado 1: 3,59 µg/kg de Tebuconazol e 5,97 µg/kg de Linurom;
- Cenoura orgânica Mercado 1: 0,55 µg/kg de Triciclazol e 8,88 µg/kg de Linurom;
- Cenoura orgânica Mercado 2: 3,43 µg/kg de Linurom;
- Cenoura embalada Mercado 1: 2,97 µg/kg de Linurom;
- Cenoura embalada Mercado 2: 2,16 µg/kg de Linurom.

Relacionando as concentrações encontradas e os Limites Máximos Permitidos definidos conforme a tabela 19, os compostos Linurom e Tebuconazol se encontram abaixo do permitido pela legislação, não apresentando um risco potencial aos indivíduos expostos.

Para o pior caso do Linurom (8,88 µg/kg), a exposição seria por volta de 2,5% da IDA estipulada pela ANVISA para um bebê de oito meses de idade, que pesa por volta de 8,0 kg e consome 224g de *baby-food* salgada por dia.

Para o valor detectado de Tebuconazol, de 3,59 µg/kg de cenoura nas mesmas condições, considerando a ingestão para um bebê de oito meses de idade com 8,0 kg de peso corpóreo e consome 224g de *baby-food* salgada por dia, com um total de 67,2g de cenoura, a exposição seria 0,1% da IDA estabelecida pela ANVISA, de 30 µg por kg de peso corpóreo, o que equivaleria a uma ingestão aceitável de 240 µg de Tebuconazol por dia.

No caso do praguicida Triciclazol, não havendo LMR permitido, a cenoura orgânica do Mercado 1 não estaria de acordo com o exigido pela legislação. No caso de um bebê de oito meses de idade, que pesa por volta de 8,0 kg e consome 224g de *baby-food* salgada por

dia, com um total de 67,2g de cenoura, o mesmo estaria exposto à 36,9ng de Triciclazol por dia, que quando comparado com a Ingestão Diária Aceitável determinada pela ANVISA – *European Food Safety Authority*, de 15 µg/kg de peso corpóreo, a exposição seria de 0,015% do valor necessário para apresentar um risco de exposição ao praguicida.

Pode-se considerar, então, que mesmo as matrizes nas quais foram detectados praguicidas, estão seguras para fornecer uma fonte de alimentação que não apresente um risco à saúde dos consumidores, mesmo os que se encontram dentro do grupo de maior suscetibilidade.

6 CONCLUSÕES

- O método estruturado mostrou-se aplicável à extração, detecção e quantificação de 148 dos 216 compostos propostos e disponíveis para a pesquisa de praguicidas em *Solanum tuberosum* (batata) e *Arracacia xanthorrhiza* (mandioquinha), consideradas similares em efeito matriz, e para a *Daucus carota* (cenoura). O desenvolvimento dos parâmetros instrumentais dos ensaios, se mostrou bastante eficaz, levando-se em consideração a quantidade de praguicidas investigados e a resolução e performance cromatográfica e espectral.
- A validação do método permitiu verificar quais praguicidas eram capazes de serem analisados por QuEChERS e LC-MS/MS, selecionando os compostos com a performance adequada para estabelecer um possível programa de monitoramento das matrizes propostas, garantindo a segurança da produção de alimentos infantis do tipo *baby-food* em relação à exposição de praguicidas.
- A ausência de praguicidas nas amostras das *commodities* produzidas na área de São José do Rio Pardo e destinadas à produção industrial foi um resultado de grande valia, pois além de comprovar a eficácia do sistema de instrução da empresa para com seus produtores, permitiu sanar uma dúvida constante das mães consumidoras de qualquer marca de *baby-food* industrial: o alimento que dou para meu filho é realmente saudável? Tendo em vista a gama de praguicidas analisados no trabalho desenvolvido, pode-se afirmar que sim.
- Além disso, os resultados obtidos se mostraram em concordância com os últimos resultados dos programas de análise de praguicidas e contaminantes brasileiros, o PARA e PNCR, para a *commodity* batata. Não foram observados resultados positivos, ou seja, não foram detectados compostos não permitidos ou acima do Limite Máximo de Resíduo (LMR), para aqueles onde o método se mostrou adequado.
- A análise de amostras orgânicas e não orgânicas permitiu a comparação da presença de praguicidas entre os dois alimentos disponíveis em mercado, evidenciando que em ambos casos não foi encontrado nenhum composto que apresentasse risco à saúde humana ou animal.
- Para a cenoura, o presente trabalho apresentou resultados diferentes aos do último resultado liberado pelo programa público de monitoramento PARA, onde aproximadamente 50% dos compostos analisados não eram permitidos ou estavam ou

acima do Limite Máximo de Resíduo (LMR). Neste trabalho somente três compostos foram detectados, o Linurom, o Tebuconazol e o Triciclazol, e todos eles estavam em faixas seguras de exposição ao se comparar as Ingestões Diária Aceitáveis – IDA – para cada um dos praguicidas.

- A Avaliação do Risco para os compostos Linurom, Tebuconazol e Triciclazol, realizada para a exposição via oral por alimentação, demonstrou que as matérias-primas destinadas à produção de *baby-food* e papinhas, tanto caseira como industrial, se apresentam seguras quanto a um possível risco químico, mesmo quando os consumidores são indivíduos que se encontram dentro de um grupo considerado mais suscetível a efeitos tóxicos desenvolvidos pelo contato com tais contaminantes químicos orgânicos.

7 REFERÊNCIAS

AGUILERA-LUIZ, M.M.; VIDAL, J.L.M.; ROMERO-GONZÁLEZ, R.; FRENICH, A.G. Multiclass method for fast determination of veterinary drug residues in baby food by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**. v.132, n.4, p.2171-2180, 2012.

ANAGNOSTOPOULOS, C.J *et. al.* Validation of two variations of the QuEChERS method for the determination of multiclass pesticide residues in cereal-based infant food by LC-MS/MS. **Food Analytical Methods**. n.6, p.664-683, 2012.

ANASTASSIADES, M. *et. al.* Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive solid-phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce. **Journal of AOAC International**. v.86, n.2, p.412-31, 2003.

ARAÚJO, A.J. *et. al.* Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: estudo transversal em amostras de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ. *Ciência e Saúde Coletiva*. v.12, n.1, p.115-130. 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Defesa Vegetal. Defensivos Agrícolas. Disponível em: <http://www.andef.com.br/defensivos/>. Acesso em 01 de Maio. 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA): Relatório de Atividades 2010. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br>. Acesso em 15 de Out. 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). CRITÉRIOS PARA A CLASSIFICAÇÃO TOXICOLÓGICA. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br>. Acesso em 15 de Julho. 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). Relatório de Atividades de 2011 e 2012. BRASIL. Ministério da Agricultura. Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Vegetal – PNCR/Vegetal. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/vegetal/agrotoxicos/JMPR.pdf. Acesso em 01 de Maio. 2014.

BRASIL. Associação Nacional de Defesa Vegetal (ANDEF). A Indústria de Defensivos Agrícolas. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Oleaginosas_e_biodiesel/9_reuniao/ANDEF.pdf. Acesso em 15 de Nov. 2014.

BRASIL. Centro de Vigilância Sanitária (CVS). Programa Paulista de Análise Fiscal de Alimentos, 2009. Disponível em: <http://www.cvs.saude.sp.gov.br/pdf/pp2009.pdf>. Acesso em 15 de Out. de 2012.

BRASIL. Gerência Geral de Toxicologia da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Toxicologia: Inseticidas Piretróides. Disponível em: <http://lct.nutes.ufrj.br/toxicologia/mXII.piret.htm>. Acesso em 02 de Out. 2012.

BRASIL. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). Avaliação ambiental e a atuação do IBAMA no registro de agrotóxicos. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_tematicas/Insumos_agropecuarios/52RO/App_Ibama.pdf. Acesso em 02 de Out. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura. GTPR – Grupo Técnico de Resíduos de Pesticidas. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/agrotoxicos/gtpr>. Acesso em 25 de Set. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Analysis of Residues and Contaminants in Food / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária, 2011. 32p. Disponível em: www.agricultura.gov.br. Acesso em: 02 de Out. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Manual de Procedimentos do Codex Alimentarius. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/vegetal/agrotoxicos/JMPR/. Acesso em 25 de Set. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Vegetal – PNCR/Vegetal. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/vegetal/agrotoxicos/JMPR. Acesso em 25 de Set. 2012.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. Agrotóxicos. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/agrotoxicos>. Acesso em 01 de Maio de 2014.

BUENO, A.F. *et. al.* Effects of Integrated Pest Management, Biological Control and Prophylactic Use of Insecticides on the Management and Sustainability of Soybean. **Crop Protection**. v.30, p.937-945, 2011.

CABONI, P. *et. al.* Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometric Ion Switching Determination of Chlorantraniliprole and Flubendiamide in Fruits and Vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.56, p.7696–7699, 2008.

CALDAS, L.Q.A. (Org.). Intoxicações Exógenas Agudas por Carbamatos, Organofosforados, Compostos Bipiridílicos e Piretróides. Rio de Janeiro: **Centro de Controle de Intoxicações**, p. 43, 2000.

CARNEIRO, R.P. *et. al.* Development and method validation for determination of 128 pesticides in bananas by modified QuEChERS and UHPLC-MS/MS analysis. **Food Control**. v. 33, n.2, p.413-423, 2013.

CASSIANO, N.M. *et. al.* Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas. **Química Nova**, v. 32, p. 1031-1030, 2009.

CÉSAR, I.C.; PIANETTI, G.A. Robustness Evaluation of the chromatographic method for the quantitation of lumefantrine using Youden's test. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.45, n.2, 2009.

CISCATO, C. H. P. *et. al.* Pesticides residues evaluation in Brazilian basic diet: rice and beans. Pesticidas: **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v.22, p. 1-6, 2012.

CHATTOPADHYAY, A.; BHATNAGAR, N.B.; BHATNAGAR,R. Bacterial Insecticidal Toxines. **Critical Reviews in Microbiology**.v.30, n.1, p, 33-54, 2004.

CHIARADIA, M.C.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química Nova**. v.31, n.3, p.623-636, 2008.

COLNAGO, L.C.; ALMEIDA, F.C.L.; VALENTE, A.P. Espectrometria de massa e RMN multidimensional e multinuclear: Revolução no estudo de macromoléculas biológicas. **Química Nova na Escola**, v.16, p.9-14, 2002.

CORREA, J.C.R; SALGADO, H.R.N. Atividade Inseticida das Plantas e Aplicações: Revisão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. ,v.13, n.4, p.500-506, 2011.

COLNAGO, L.C.; ALMEIDA, F.C.L.; VALENTE, A.P. Espectrometria de massa e RMN multidimensional e multinuclear: Revolução no estudo de macromoléculas biológicas. **Química Nova na Escola**, v.16, p.9-14, 2002.

CROTTI, A.E.M. *et. al.* Espectrometria de massas com ionização por "electrospray": processos químicos envolvidos na formação de íons de substâncias orgânicas de baixo peso molecular. **Química Nova**. v.29, n.2, 2006.

CUNHA, R.B.; CASTRO, M.S.; FONTES, W. Espectrometria de massa de proteínas. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.36, p.40-46, 2006.

CUTLER, G. C. Insects, Insecticides and Hormesis: Evidence and Considerations for Study. Dose-Response.v.11, p,154-177, 2013.

DIAS, E.B.S.; VILELA, E.C.; LANÇAS, F.M. Análise de Pesticidas Organoclorados em Óleos Vegetais por Cromatografia Gasosa de Alta Resolução. **Eclética Química**.v.35 n.3 p.189 – 193, 2010.

DURO, P.N. Desenvolvimento de métodos eletroquímicos para quantificação de pesticidas neonicotinóides em amostras de água contaminadas. **Tese de Mestrado**. Universidade de Évora. 2013.

ECOBICHON, D.J.; JOY, R.M. Pesticides and neurological diseases. In: CASARETT, L.J.; DOULL, J. **Toxicology the basic science of poisons**. Boca Raton: CRC Press, 1991. p. 565-622.

ESTADOS UNIDOS. Agency for toxic substances and disease registry (ATSDR). Minimal Risk Levels. Disponível em: <http://www.atsdr.cdc.gov/mrls/index.asp>. Acesso em 01 de Maio de 2014.

ESTADOS UNIDOS. Agency for toxic substances and disease registry (ATSDR). Toxic Substances Portal. Pyrethrins and Pyrethroids. Disponível em: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=787&tid=153>. Acesso em 01 de Maio. 2014.

ESTADOS UNIDOS. American Academy of Pediatrics. Infant Food and Feeding. Disponível em: <https://www.aap.org/en-us/advocacy-and-policy/aap-health-initiatives/HALF-Implementation-Guide/Age-Specific-Content/Pages/Infant-Food-and-Feeding.aspx>. Acesso em: 21 de Março de 2015.

ESTADOS UNIDOS. Environmental Protection Agency. Human Health Risk Assessment. Disponível em: http://www.epa.gov/risk_assessment/health-risk.htm. Acesso em 01 de Maio. 2014

ESTADOS UNIDOS. United States Department of Agriculture (USDA), Food Safety and Inspection Service. CODEX ALIMENTARIUS: Committies and Task Forces. Disponível em: http://www.fsis.usda.gov/codex/Codex_Committee_Pesticide_Residues/index.asp. Acesso em: 25 de Set. 2012.

ESTADOS UNIDOS. NRC – National Research Council: Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process. Washington: National Academy Press, 1983. Disponível em: www.nap.edu/catalog.366.html. Acesso em: 01 de Maio de 2014.

FAN, S. *et. al.* Simultaneous determination of 36 pesticides residues in spinach and cauliflower by LC-MS/MS using multiwalled carbon nanotubes-based dispersive solid-phase clean-up. **Food Additives & Contaminantes: Part A**. v.31, n.1, 2014.

FERNÁNDEZ, M.; PICÓ, Y.; MAÑES, J. Determination of carbamate residues in fruits and vegetables by matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**. v.871 p. 43-56, 2000.

FLORES, A.V. *et. al.* Organoclorados: Um Problema de Saúde Pública. **Ambiente & Sociedade**, v.7 n.2, 2004.

FRENICH, A.G. *et. al.* Multiresidue pesticides analysis of tuber and root commodities by QuEChERS extraction and ultra-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Journal of AOAC International**. v.95, n.5, p.1319-1330, 2012.

FUNGICIDES RESISTENCE ACTION COMMITTEE (FRAC). **FRAC Mode of Action Expert Poster**. Disponível em: <http://www.frac.info/publications/downloads>. Acesso em: 15 de Março de 2015.

GALLI, A. *et. al.* Utilização de Técnicas Eletroanalíticas na Determinação de Pesticidas em Alimentos. **Química Nova**, v.29, n.1, p.105-112, 2006.

GIORDANO, A.; FERNÁNDEZ-FRANZÓN, M.; RUIZ, M.J. Pesticide Residue Determination in surface water by stir bar sorptive extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Anal of Bioanalytical Chemistry**. v.393 p.1733-1743, 2009.

GUEDES, R.N.C. Toxicologia dos inseticidas. Viçosa, MG: Editora da Universidade Federal de Viçosa, 1999.

HENZ, G.P. Doenças da mandioquinha-salsa e sua situação atual no Brasil. **Hortic. Bras.**v.20, n.2, 2002.

HIROOKA, T.; ISHII, H. Chemical Control of Plant Diseases. **Journal of Gen. And Plant Pathology**. v.79, p.390-401, 2013.

HERBICIDE RESISTENCE ACTION COMMITTEE (HRAC). **Classification of Herbicides According to Site of Action**. 2005. Disponível em: <http://www.hracglobal.com/pages/classificationofherbicidesiteofaction.aspx>. Acesso em: 14 de Março de 2015.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO); Vocabulário Internacional de Termos Fundamentais e Gerais de Metrologia, 2ª ed., 2000.

INSETICIDES RESISTENCE ACTION COMMITTEE (IRAC). **The IRAC Mode of Action Classification**. Disponível em: <http://www.irac-online.org/modes-of-action/>. Acesso em: 14 de Março de 2015.

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

JARDIM, I.C.S.F.; CALDAS, E.D. Exposição Humana à substâncias químicas potencialmente tóxicas na dieta e os riscos para saúde. **Química Nova**. v.32, n.7, p.1898-1909, 2009.

JONES, K. C.; de VOOGT, P. Persistent organic pollutants (POPS); state of the science. **Environmental Pollution**. v.100, p.209-221, 1999.

KLAASSEN, C.D.; WATKINS III, J.B. Fundamentos em Toxicologia de Casarret e Doull. AMGH Editora, 2ª Edição, Porto Alegre, 2012.

LARA, W.H.; BATISTA, G.C. Pesticidas. **Química Nova**, v.15, p.161-166, 1992.

LEADBEATER, A.; GISI, U. The challenges of chemical Controle of plant diseases. **Plant Pathology in the 21st Century**, p. 3–17, 2009.

LEANDRO, C.C. *et. al.* Ultra-performance Liquid-Chromatography for the determination of pesticide residues in food by tandem quadrupole mass spectrometry with polarity switching. **Journal of Chromatography A**, v.1144, p.161-169, 2007.

LEEUVEN, T. V. *et. al.* The economic importance of acaricides in the Controle of phytophagous mites and na update on recente acaricide mode of action research. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 2014. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com>. Acesso em: 28 de fevereiro de 2015.

LEHOTAY, S. J. *et. al.* Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticides residues in fruits and vegetables. **Journal of Chromatography A**. v.1217, p.2548-2560, 2010.

LIESKE, C. N, *et. al.* Studies of the amplification of Carbaril toxicity by various oximes. **Toxicology Letters**. v.62, p.127-137, 1992.

LOCO, J. V. *et. al.* Calculation of the decision limit ($CC\alpha$) and the detection capability ($CC\beta$) for banned substances: The imperfect marriage between the quantitative and the qualitative criteria. **Analytica Chimica Acta**. v.586, p.8-12, 2007.

LOPES, R.P. *et. al.* Development and validation of a method for the determination of sulfonamides in animal feed by modified QuEChERS and LC-MS/MS analysis. **Food Control**. v.28, n.1, p.192-198, 2012.

LIU, T., *et. al.* Determination of triazine herbicides in milk by cloud point extraction and high-performance liquid chromatography. **Food Chemistry**. v.142, p.358-364, 2014.

MARCIC, F. Acaricides in Modern Management of Plant-Feeding Mites. **Journal of Pesticides Science**. v.85, p.395-408, 2012.

MENEZES, E.L.A. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica, Rio de Janeiro: **Embrapa Agrobiologia**, 2005. 58p.

MINIF, W. *et. al.* Effect of endocrine disruptor pesticides: a review. **Environmental Research and Public Health**. n.8, p.2265-2303.

MORAES, N.V. *et. al.* Exposição ambiental a desreguladores endócrinos: alterações na homeostase dos hormônios esteroidais e tireoideanos. **Revista Brasileira de Toxicologia**. v.21, n.1, p.1-8, 2008.

MORGAN, M.K. *et. al.* Exposures of preschool children to clorpirifos and its degradation product 3,5,6-tricloro-2-piridinol in their everyday environments. **Journal of Expo Anal Environmental Epidemiology**. v.15,p.297–309, 2005.

OGA, S.; CAMARGO, M.M.A.; BATISTUZZO,J.A.O. Fundamentos de Toxicologia. 3ª Edição, São Paulo, Atheneu Editora, 2008.

OLIVEIRA JR, R.S. *et. al.* Biologia e Manejo de Plantas Daninhas. 2011.

PARADA, R.N. Toxicologia Clínica Veterinária: Inseticidas Piretroides. Ropana. 3ª Edição. Disponível em: <http://www.ropana.cl/Toxivet/Inseticidas%20piretroides.htm>. Acesso em: 29 de Set. 2012.

PAYÁ, P. *et. al.* Analysis of pesticides residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometry detection. **Anal of Bioanalytical Chemistry**. v.389, p.1697-1714, 2007.

PIZZUTTI I. R. *et. al.* Method Validation for the Analysis of 169 Pesticides in Soya Grain, Without Clean-up, by Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry Using Positive and Negative Electrospray Ionization. **Journal of Chromatography A**. v.1142 p.123–136, 2007.

PRESTES, O. D. *et. al.* QuEChERS: um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química Nova**, v.32, n.6, 2009.

PRESTES, O.D.; ADAIME, M.B.; ZANELLA, R. QuEChERS: possibilidades e tendências no preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos. **Scientia Chromatographica**. v.3, n.1, p.51-64, 2011.

PRICHARD, R.; MÉNEZ, C.; LESPINE, A. Moxidectin and the avermectins: consanguinity but not identity. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**. n.2, p.134-153, 2012.

PRULLAGE, J. B. *et. al.* Synergy between fipronil and amitraz in a Rhipicephalus sanguineus tick residual contact test. **Experimental and Applied Acarology**. v.54, n.2, p.173-176, 2011.

REILLY, T.J *et. al.* Occurrence of boscalid and other selected fungicides in surface water and groundwater in three targeted use areas in the United States. **Chemosphere**. n.89, p.228-234, 2012.

RIBANI, M. *et. al.* Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. **Química Nova**. v.27, n.5, p.771-780, 2004.

RIBAS, P. P; MATSUMURA, A. T.S. A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente. **Revista Liberato**.v.10, n. 14, p. 149-158, 2009.

RISSATO, S. R. *et. al.* Determinação de Pesticidas Organoclorados em Água de Manancial, Água Potável e Solo na Região de Bauru (SP). **Química Nova**. v. 27, n.5, p.739-743, 2004.

RODRIGUES, Fabiana Aparecida Caldart. **Ecogenotoxicologia dos Agrotóxicos: Avaliação comparativa entre ecossistema agrícola e área de proteção ambiental**. 2006. 58 f. Tese (Doutorado) - Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

ROTENBERG, M. *et. al.* Differentiation between organofósphate and Carbamate poisoning. **Clinica Chimica Acta**. v.234, p.11-21, 1995.

SANTOS, M.A.T.; AREAS, M.A.; REYES, F.G.R. Piretróides, Uma Visão Geral. **Alimentos e Nutrição Araraquara**. v.18, n.3, p. 339-349, 2007.

SANTOS, V.M.R. *et. al.* Compostos Organofosforados Pentavalentes: Histórico, Métodos Sintéticos de Preparação e Aplicações como Inseticidas e Agentes Antitumorais. **Química Nova**, v. 30, n.1, p.159-170, 2007.

SANTOS, P.C.G. *et. al.* Intoxicação por Organofosforados. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. v.5, n.6, p.216-218, 2004.

SASSINE, A. Determinação de Pesticidas Piretróides em Leite Bovino por meio da Cromatografia a Gás Acoplada à Espectrometria de Massas de Armadilha Iônica – GC-ITMS (“Ion Trap”). 2002. 134 f. **Tese De Mestrado**. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – Universidade de São Paulo, 2002.

SEBBEN, V.C. *et. al.* Validação de Metodologia Analítica e Estudo de Estabilidade para Quantificação Sérica de Paracetamol. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.46, n.2, 2010.

SONENSHINE, D.E.; ROE, R.M. Acaracide Research and Development, Resistance, and Resistance Monitoring. **Biology of Ticks**. Oxford University Press, 2ªEd., 2014.

SOUZA, L.M. Aplicações da espectrometria de massas e da cromatografia líquida na caracterização estrutural de biomoléculas de baixa massa molecular. Tese de Doutorado. Universidade Estadual do Paraná. 2008.

SOUZA, S.V.C. *et. al.* Validação intralaboratorial de método quantitativo para determinação múltipla de resíduos de Avermectinas em leite bovino por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção de fluorescência. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.27, n4, p, 823-836, 2007.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J, CROUCH, S.R. Princípios de Análise Instrumental. 6ª Edição, Bookman, 2009.

SOLOMON, K.R; STEFENSON, G. R. Praguicidas e o Meio Ambiente. Editora ILSI Brasil, 1ª Edição. São Paulo, 2007.

SOUZA, L.M. Aplicações da espectrometria de massas e da cromatografia líquida na caracterização estrutural de biomoléculas de baixa massa molecular. **Tese de Doutorado**. Universidade Estadual do Paraná. 2008.

STEVENS., J., BRECKENRIDGE, C.B. The Avermectinas: Insecticidal and Antiparasitic Agents. **The Handbook of Pesticides Toxicology**. Krieger RI. v. 2, p.1157-1168, 2001.

TABASHNIK, B.E.; BRÉVAULT,T.; CARRIÈRE, Y. Insect Resistance to Bt Crops: lessons from the first billion acres. **Nature Biotechnology**. v.31, n6, p,510-521, 2013.

TAKANO, H. K., *et. al.* Efeito da adição do 2,4-D ao glyphosate para o controle de espécies de plantas daninhas de difícil controle. **Revista Brasileira de Herbicidas**. v.12, n.1, p.1-13, jan./abr. 2013.

VANNUCHI, M.T.O.; ANTUNES L. A. F.; PINOTTI, M. H. P. Resíduos de Pesticidas Organoclorados em Leite Materno no Município de Londrina, PR. **Semina Ciências Biológicas e da Saúde**. v.13, n.2, p.52-57, 1992.

WARE G.W.; WHITRACRE, D.M.; The Pesticide Book - History of Pesticides, 6th ed.; Meister Publication, p.335. 2004.

WINTER, C.K. Eletronic information resources for food toxicology. *Toxicology*. v.173, p.89-96, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. International Programme on Chemical Safety. Numerical List of EHCs. Disponível em: http://www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehc_numerical/en/. Acesso em 01 de Maio. 2014

VANNUCHI, M.T.O.; ANTUNES L. A. F.; PINOTTI, M. H. P. Resíduos de Pesticidas Organoclorados em Leite Materno no Município de Londrina, PR. **Semina Ciências Biológicas e da Saúde**. v.13, n.2, p.52-57, 1992.

VEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com Atividade Inseticida: Uma Alternativa para o Controle Químico de Insetos. **Química Nova**, v. 26, n., p.390-400, 2003.

ZALUCKI, M.P.; ADAMSON, D.; FURLONG, M.J. The future of IPM: Whither or wither? **Australian Journal of Entomology**. v.48, p.85-96, 2009.

ZHANG, J. *et. al.* Application of ionic-liquid-supported magnetic dispersive solid-phase microextraction for the determination of acaricides in fruit juice samples. **Journal of Separation Science**. v.36, p.3249-3255, 2013.

ZHENG, H. *et. al.* Quick, easy, cheap, effective, rugged and safe method with magnetic graphitized carbon black and primary secondary amine as adsorbent and its application in pesticide residue analysis. **Journal of Chromatography A**. v.1300, p.127-133, 2013.

ZWIENER, R. J. & GINSBURG C. M. Organophosphate and Carbamate Poisoning in Infants and Children. **Official Journal of the American Academy of Pediatrics**. v.81, p.121, 1988.