



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA E FÍSICO - QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA

RUDSON BRENDON CORDEIRO DA SILVA

AVALIAÇÃO DE PESTICIDAS EM MAÇÃS (*Malus Domestica*)
COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE FORTALEZA.

FORTALEZA

2017

RUDSON BRENDON CORDEIRO DA SILVA

AVALIAÇÃO DE PESTICIDAS EM MAÇÃS (*Malus Domestica*) COMERCIALIZADAS
NA CIDADE DE FORTALEZA.

Monografia apresentada ao Curso de Química do Departamento de Química Analítica e Físico-Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dra. Ruth Maria Bonfim Vidal.

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Silva, Rudson Brendon Cordeiro da.

Avaliação de pesticidas em maçãs (*Malus Domestica*) comercializadas na cidade de Fortaleza / Rudson Brendon Cordeiro da Silva. – 2017.

52 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Química, Fortaleza, 2017.

Orientação: Profa. Dra. Ruth Maria Bonfim Vidal.

1. Cromatografia a gás. 2. Pesticidas. 3. Maçã. I. Título.

CDD 540

RUDSON BRENDON CORDEIRO DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE PESTICIDAS EM MAÇÃS (*Malus Domestica*)
COMERCIALIZADAS NA CIDADE E FORTALEZA.**

Monografia apresentada ao Curso de Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ruth Maria Bonfim Vidal (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Prof. Dr. Elisane Longhinotti
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Me. Vitor Paulo de Andrade da Silva
Fundação Núcleo de Tecnologia Industrial do Ceará (NUTEC)

A Deus.

A minha avó Maria Iracilda.

AGRADECIMENTOS

A Deus por cada novo dia e pelas conquistas da graduação.

A minha Avô Iracilda, minha mãe Solange assim como toda a minha família aos quais devo tudo.

A minha Orientadora Profa. Dra. Ruth Vidal pela disponibilidade, amizade e pelo exemplo de professora a ser seguido. A minha Orientadora Profissional Me. Crisiana Andrade pela confiança, a oportunidade de fazer parte de sua equipe, seus conselhos sobre a análise instrumental e sobre a vida. A Profa. Dra. Elisane Longhinotti pelas contribuições, correções e pela disponibilidade para participar da banca. Ao Me. Vitor Paulo pelas correções e pelos ensinamentos neste meu início na Química Analítica.

A minha amiga Janmille Aragão pela parceria nas aulas do Curso Pré-Vestibular Paulo Freire e por me apresentar o Laboratório de Química Instrumental do NUTEC.

A Fundação Núcleo de Tecnologia Industrial do Ceará (NUTEC) por permitir a realização das atividades deste trabalho. Aos amigos do Laboratório de Química Instrumental (LQI) Cleidiane Lima, Renata Oliveira. Ao Rubens Carius por ensinar-me a operar o cromatógrafo, pela ajuda e principalmente pela paciência.

Aos colegas do Laboratório de polímeros (Labpol) da Universidade Federal do Ceará que impactaram profunda e positivamente na minha formação: Maria José, Clara Myrla, Laís Monteiro, Everton Lucas, Nádia Aline, Leônia, Rayane Rodrigues, Marcos Vinícius, Venicius Sombra, Maslândia Nogueira, Rodrigo Costa, Carlos Pinheiro, Fernanda Matoso, Ana Rosa, Vanessa Abreu. Em especial a Natalia Pires a quem sempre recorri em momentos de dúvidas.

A Mayrla Lima a qual tenho muita estima pela companhia e amizade e que foi a melhor parceria que a UFC me concedeu.

Ao Prof. Dr. Haroldo de Paula e a Professora Dr. Regina de Paula pela oportunidade, confiança, por apresentar-me a pesquisa e pela orientação durante toda graduação.

Aos amigos: Clara Monalisa, Lucas Bezerra e Edvânia Castro por serem o melhor presente que a Universidade me deu.

Aos Amigos: Vanderlúcia, Àdila, Alice e o Arthur por tornar a rotina da graduação mais agradável.

Ao José Alves e a Aline Teixeira pessoas que contam com minha profunda admiração, exemplos na esfera pessoal e profissional.

Aos amigos Bruna Késia e Cléber Rodrigues por lembrarem que a vida não se resume a Universidade. A Carla Duarte Psicopedagoga da PRAE pela imensa ajuda e reorientação.

“A diferença entre o remédio e o veneno é a dose.” (Paracelso)

RESUMO

Elencou-se 6 pesticidas: Cresoxim-metil, Fenarimol, Deltametrina, Simazina, Tebuconazol Trifluralina para ser avaliado a presença em maçãs. Através de um levantamento bibliográfico determinou-se condições para avaliação destes pesticidas por Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Apesar da coeluição não ser necessariamente um problema quando se utiliza como sistema detector um espectrômetro de massas, o cromatograma de uma mistura dos pesticidas evidencia que as condições cromatográficas aplicadas promoveram a separação destes. Utilizando o método de extração QuEChERS citrato avaliou-se um extrato de maçãs orgânicas que se mostrou apto ao uso para simular a matriz e através da sobreposição de matriz construiu-se curvas de calibração. Avaliou-se a linearidade sendo obtido coeficientes de determinação na faixa de 0,9652 a 0,9971. Quanto a exatidão um ensaio de recuperação apontou valores percentuais na faixa de 56 a 131(%). Avaliou-se o uso do heptacloro como padrão interno, ocorrendo melhora nos coeficientes de determinação obtidos. Uma amostra comercial foi analisada e não apresentou evidências da presença pesticidas selecionados, porém somente após a validação do método seria seguro fazer tal afirmação.

Palavras-chave: Pesticidas, QuEChERS, maçãs.

ABSTRACT

Six pesticides were labeled: Kresoxim-methyl, Fenarimol, Deltamethrin, Simazine, Tebuconazole Trifluralin to be evaluated for presence in apples. A literature review determined conditions for the evaluation of these pesticides by gas chromatography coupled to mass spectrometry. Although coelution is not necessarily a problem when a mass spectrometer is used as detector system, the chromatogram of a mixture of pesticides shows that the chromatographic conditions applied promoted their separation. Using the QuEChERS citrate extraction method, an extract of organic apples was evaluated, which proved to be suitable for use to simulate the matrix and through the matrix overlap, calibration curves were constructed. The linearity was evaluated and determination coefficients were obtained in the range of 0.9652 to 0.9971. Regarding the accuracy, a recovery trial showed percentage values in the range of 56 to 131 (%). The use of heptachlor as internal standard was evaluated, with improvement in the determination coefficients obtained. A commercial sample was analyzed and there was no evidence of the presence of selected pesticides, but only after validation of the method would it be safe to make such a statement.

Keywords: Pesticides, QuEChERS, Apples.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma da sequência do método QuEChERS original.....	24
Figura 2 – Estrutura dos pesticidas selecionados.....	28
Figura 3 – Ilustração da estrutura 1,2,3-triazol e do 1,2,4-triazol.....	29
Figura 4 – Esquema do procedimento de extração.....	34
Figura 5 – Preparo das soluções A, B, C e D para a curva.....	34
Figura 6 – Preparo das soluções E e F para a curva analítica.....	35
Figura 7 – Cromatógrafo a gás Trace GC ultra acoplado ao detector ITQ 1100.....	36
Figura 8 – Programa de temperatura utilizado.....	36
Figura 9 – Tubo após a primeira centrifugação e posterior ao clean-up.....	38
Figura 10 – Cromatograma do extrato das maçãs orgânicas.....	40
Figura 11 – Cromatograma de íons totais de uma solução com um mix dos pesticidas selecionados.....	42
Figura 12 – Comparação dos espectros de massa obtidos no modo scan e no modo sim para o cresoxim-metílico.....	43
Figura 13 – Comparação dos espectros de massa obtidos no modo scan e no modo sim para a simazina.....	44
Figura 14 – Curvas de calibração obtidas.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação dos pesticidas segundo a finalidade	15
Tabela 2 – Classificação segundo a toxicidade.....	16
Tabela 3 – Métodos de extração mais utilizados.....	20
Tabela 4 – Propriedades dos pesticidas selecionados.....	29
Tabela 5 – Concentrações da solução da curva.....	35
Tabela 6 – Tempos de retenção e íons monitorados.....	41
Tabela 7 – Equações da reta.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
CEASA	Central de Abastecimento do Ceará S/A
CEATOX	Centros de Assistência Toxicológica
CEN	European Committee for Standardization
DCE	Detector de captura de elétrons
DCT	Detector de condutividade térmica
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
d-SPE	Dispersive Solid Phase Extraction
ECD	Electron capture detector
EI	Electron ionization (ionização por elétrons)
EPA	Environmental Protection Agency
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FDA	Food and Drug Administration
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GCB	Grafitized Carbon Black
GPC	Cromatografia de permeação em gel
IDA	Ingestão diária aceitável
LD	Limite de detecção
LMR	Limites máximos de resíduos
LQ	Limite de quantificação
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
NAS	National Academy of Sciences
NIST	National Institute of Standards and Technology
PSA	PSA - Primary Secondary Amin
SIM	Selected Ion Monitoring
SINDITOX	Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas
SNC	Sistema nervoso central
TCD	Thermal conductivity detector
T _R	Tempo de retenção
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Pesticidas, histórico do uso, definições e classificações.....	14
1.2	Custo social: Agravos ao meio ambiente e a saúde do homem.....	16
1.3	Pesticidas em frutas e a cultura da maçã.....	18
1.4	Seleção de método e técnicas de extração.....	19
1.5	A cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.....	22
1.6	O método QuEChERS.....	23
1.7	A avaliação e a validação de método.....	25
1.8	Pesticidas selecionados.....	27
2	OBJETIVOS.....	31
2.1	Objetivos gerais.....	31
2.2	Objetivos específicos.....	31
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
3.1	Lavagem das vidrarias e vials.....	32
3.2	Obtenção do extrato de maçãs orgânicas.....	32
3.3	Preparo das soluções da curva analítica.....	33
3.4	A análise cromatográfica.....	35
3.5	Avaliação do método e análise de uma amostra real.....	37
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
4.1	O extrato das maçãs orgânicas.....	38
4.2	Avaliação do método e análise de amostras reais.....	41
5	CONCLUSÃO.....	49
	REFERÊNCIAS.....	50

1 INTRODUÇÃO

1.1 Pesticidas, histórico do uso, definições e classificações

A busca por melhores condições à vida levou o homem a procurar modos de aumentar a produção de alimentos. O desenvolvimento da atividade agrícola, em torno de 10.000 anos atrás, impulsionou o crescimento da densidade populacional. Iniciando o homem a estocar alimentos como grãos e vegetais (BARBOSA, 2004; PAVANI, 2016).

As pragas afetam a humanidade desde muitos anos, a necessidade de combatê-las levou ao desenvolvimento de compostos conhecidos como agrotóxicos, sendo nomeados ainda como pesticidas, praguicidas ou defensivos agrícolas. A soma de observações usando a tentativa e erro trouxe a identificação de compostos químicos eficazes no combate a insetos ou fungos mesmo numa época onde não eram claras as fórmulas ou a composição dos compostos utilizados. Os chineses no século XIV usaram arsênio para controlar insetos. Ao fim do séc. XIX compostos foram sintetizados com o objetivo de controlar diversas pragas além do uso de misturas, exemplificadas pelo enxofre mais cal, usadas no controle de sarna da maçã (PAVANI, 2016).

A revolução verde trouxe mudanças às práticas agrícolas com surgimento de novas tecnologias e amplo uso de agentes químicos, ofereceu um aumento da produtividade associado ao controle de doenças e pragas (MOREIRA et. al., 2002; PRESTES et. al., 2009).

Considerado um marco na história do uso de agrotóxicos o DDT ou 1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)etano pertencente a classe dos organoclorados é lembrados tanto pelos efeitos benéficos como os maléficos. Antes do DDT existiam principalmente os inseticidas derivados do arsênio, bastante tóxicos aos humanos, e os extraídos de plantas que sua eficiência durava pouco tempo. Os programas de redução da malária, nos quais ocorria a aplicação do DDT salvaram mais de 5 milhões de pessoas. Entretanto o DDT foi utilizado em excesso, em especial na agricultura, com o acréscimo de sua concentração no ambiente percebeu-se que ele oferecia grandes riscos a biodiversidade. Em 1972 a Environmental Protection Agency (EPA) proibiu o uso do DDT, permitindo-o ainda em ações indispensáveis a saúde pública (JARDIM et. al., 2009).

Em 1993 a National Academy of Sciences (NAS) dos Estados Unidos destacou que a regulamentação dos agrotóxicos não tinha dado atenção a segurança para a saúde humana ate então (JARDIM et. al., 2009).

A Legislação brasileira, através do decreto n 4.074 Lei nº 7802/1989 define agrotóxico como:

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

Conforme Barbosa (2005) o codex alimentarius da Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) e World Health Organization (WHO) denomina pesticida como qualquer substância aplicada com a finalidade de prevenir, destruir, atrair, repelir ou controlar qualquer peste como espécie indesejada de planta, inseto ou animal, utilizada durante a produção, armazenamento, transporte, distribuição e processamento do alimento ou ração animal.

Os limites máximos de resíduos (LMR) fixam a concentração (em mg/kg) máxima legal que pode ser encontrada de resíduos de pesticidas em alimentos. Os dados são baseados em estudos de campo e nas boas práticas agrícolas. Como países distintos possuem praticas agrícolas diferentes isso é refletido nos limites máximos legais. Muitos países seguem a comissão do Codex Alimentarius da FAO/OMS. Os Estados unidos da América seguem os valores estabelecidos pela EPA. No Brasil a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece valores de para cada ingrediente ativo usado em determinada cultura, mas deve-se lembrar que: ainda que os resíduos de agrotóxicos não excedam os limites máximos permitidos para consumo, os dados sobre exposição em longo prazo não são exatamente conhecidos (JARDIM et. al., 2009; PASTRELLO, 2012).

Os diferentes pesticidas existentes possuem características plurais e distintas, podemos classificá-los de diversas formas como grupo químico, toxicidade ou aplicação.

A EPA os classifica pelo seu tempo de meia vida no ambiente. Podendo ser: não persistente (menos de 30 dias), Moderadamente persistentes (duram de 30-100 dias) e persistentes (superior a 100 dias) (GUEDES, 2014).

Com relação à finalidade do uso a tabela 01 apresenta algumas definições:

Tabela 01 – Classificação dos pesticidas segundo a finalidade.

Grupo	Peste controlada
Acaricidas	Acaro
Avecidas	Aves

Bactericidas	Bactérias
Carrapaticida	Carrapato
Columbicida	Pombo
Cupinicida	Cupin
Formicida	Formiga
Fungida	Fungos
Inseticida	Inseto
Larvicida	Larvas
Herbicida	Ervas daninhas
Raticidas	Roedores
Nematicidas	Vermes

Fonte: PAVANI (2016).

Com relação à toxicidade os agrotóxicos são divididos em cinco classes, com base na DL₅₀ que é a dose necessária pra causar a morte de 50% de uma população definida. A ANVISA classifica os agrotóxicos e os correlaciona com a classe definida através da cor da embalagem segundo a tabela 02 (MENEZES FILHO, 2010; GUEDES, 2014; PAVANI, 2016). Tabela 02 – Classificação segundo a toxicidade.

Classificação	Classe	DL 50 (mg/Kg para ratos)	Cor do rótulo
Extremamente tóxico	I	≤ 5,0	Vermelha
Altamente tóxico	II	5,0 – 50,0	Amarela
Medianamente tóxico	III	50,0 – 500,0	Azul
Pouco tóxico	IV	500,0 – 5000,0	Verde
Relativamente tóxico	V	>5000,0	Verde

Fonte: PAVANI (2016)

Os pesticidas podem ser agregados conforme as características gerais de algumas classes podemos citar, por exemplo, que os carbamatos são derivados do ácido N-metilcarbâmico, os piretroídes são inseticidas sintéticos derivados das piretrinas (inseticidas naturais que são extraídos das flores do crisântemo *Tanacetum cinerariaefolium* e os inseticidas neucotinóides foram sintetizados a partir da nicotina natural (ALONZO E CORRÊA, 2013).

1.2 Custo social: Agravos ao meio ambiente e a saúde do homem

O uso intenso ou incorreto dos pesticidas traz grandes problemas ao meio ambiente, exemplificados pela contaminação do solo, águas e atmosfera. Provoca o

desequilíbrio biológico que direta ou indiretamente atingirá o ser humano. Nestas circunstâncias a degradação de recursos naturais pode ocorrer de forma irremediável. (JARDIM et. al., 2009; MENEZES FILHO, 2010).

A contaminação do solo, águas, trabalhadores agrícolas e dos consumidores além de mortes e das doenças não registradas oficialmente em levantamentos estatísticos mostram que o uso dos agrotóxicos tem elevado custo social. A ausência de um mecanismo de degradação eficiente para alguns agrotóxicos associada com a hidrofobicidade de alguns compostos, levam ao acúmulo destes em organismos vivos. (JARDIM et. al., 2009)

Pesticidas organoclorados são semi-voláteis e podem ser transportados pelo ar por longas distâncias. Acumulam-se em matrizes que não tiveram aplicação direta sendo inseridos em níveis tróficos pela cadeia alimentar. Devido ao potencial mutagênico, carcinogênico e teratogênico foram proibidos segundo a convenção de Estocolmo (PAZ, et. al., 2009).

Diversos agravos a saúde estão relacionados com a ingestão crônica de agrotóxicos desde malformações congênitas, distúrbios endócrinos e neurológicos até alguns tipos de câncer. Apesar das evidências, uma grande parcela dos estudos ocorre in vitro e avalia a exposição a apenas um único ingrediente ativo, metodologia que não reflete a exposição no cotidiano (MEIRA, 2015).

As principais vias de exposição dos praguicidas pertencentes aos grupos dos organofosforados e carbamatos são a respiratória e a cutânea que pode ser favorecida pelos solventes da formulação. Contudo, eles também podem ser absorvidos pelo trato gastrointestinal. São rapidamente distribuídos pelo organismo sendo biotransformados principalmente pelo fígado. A ação predominante dos organofosforados e dos carbamatos é a inibição enzimática sendo o principal alvo a acetilcolinesterase que é a enzima responsável pela hidrólise da acetilcolina. Dentre os sinais de intoxicação e sintomas tem-se a síndrome colinérgica constituída de efeitos muscarínicos (oriundos da hiperatividade parassimpática como visão borrada, vômitos e sudorese) e nicotínicos (gerados pela hiperatividade simpática e disfunção neuromuscular como a taquicardia e a fraqueza muscular) (ALONZO E CORRÊA, 2013; SECRETARIA DE SAÚDE DO PARANÁ).

As piretrinas e os piretróides são absorvidos em pequenas quantidades pela via dérmica sendo prontamente absorvidas pela via oral. No organismo as piretrinas sofrem majoritariamente reações de oxidação já os piretróides sofrem reações de hidrólise. Afetam o canal de sódio prolongando o tempo médio de abertura do canal. Outro mecanismo proposto de interação com o organismo é o antagonismo ao ácido gama-aminobutírico (GABA).

Quadros de intoxicação aguda são de leves a moderados com sintomas variando com via e a dose apresentando desde eritema, congestão nasal, respiração ofegante e sonolência até o tórax e o coma em casos mais graves. Embora sejam necessários mais estudos em longo prazo atribui-se ainda o risco aumentado para câncer de próstata e potenciais efeitos neurotóxicos (ALONZO E CORRÊA, 2013).

Os neucotinóides competem com a nicotina pelos receptores nicotínicos. Os sintomas apresentam-se desde tremores, desorientação e convulsões até o colapso do sistema nervoso central e morte (ALONZO E CORRÊA, 2013).

Os organoclorados podem ser absorvidos pela pele, trato digestivo e respiratório, são altamente lipossolúveis sendo distribuídos e acumulados no tecido adiposo. São estimulantes do sistema nervoso central (SNC) e muitos deles são desreguladores endócrinos. O quadro clínico pode apresentar convulsões, cefaléia e temores difusos. As manifestações neurológicas podem evoluir para o óbito. Doenças e alterações decorrentes da desregulação endócrina podem ser apresentadas após exposição por longo prazo (ALONZO E CORRÊA, 2013).

No ano de 2013 o SINDITOX apontou 498 casos de intoxicação por agrotóxicos em uso agrícola ou doméstico na região Nordeste sendo que esse número não inclui os dados dos Centros de Assistência Toxicológica (CEATOX) de Natal, Fortaleza, Campina grande e Salvador. (FIOCRUZ - SINDITOX).

1.3 Pesticidas em frutas e a cultura da maçã

As frutas e os vegetais fornecem vitaminas, minerais, fibras e antioxidantes. Entretanto, apesar do seu valor nutricional elas formam a principal fonte de resíduos de pesticidas na alimentação. Atenção especial deve ser dada as frutas que são consumidas “in natura” ou minimamente processadas. (SZPYRKA, 2015, SOUSA, 2013)

Muito apreciada desde 1969, quando surgem os primeiros pomares comerciais devido a leis de incentivos fiscais e cultivada em todos os continentes com uma maior concentração na Ásia. A maçã é típica de regiões temperadas, no Brasil as melhores condições de cultivo encontram-se nos estados do Sul. É um fruto completo em termos de valor nutricional. As maçãs possuem antioxidantes, vitaminas, niacina, sais minerais, compostos fenólicos etc. Sendo recomendada para pessoas com problemas no intestino, obesidade, reumatismo e diabetes. Ela é bastante consumida “in natura”, entretanto pode-se ainda

consumi-la na forma de sucos, geléias, sidras, vinagres e alimentos para bebês (JARDIM et. al. 2009; CETNARSKI FILHO et. al. 2008).

1.4 Seleção do método e técnicas de extração

A escolha de um método para a análise de um alimento deve levar em consideração sua matriz complexa com teor variável de lipídeos, carboidratos, proteínas, pigmentos e umidade podendo requerer uma extensiva etapa de preparo de amostra inclusive sendo necessária uma etapa de limpeza ou clean-up para a redução ou remoção de interferentes. A etapa de clean-up também diminui a necessidade de manutenção do sistema cromatográfico. A correta aquisição da amostra e homogeneização é imprescindível para sucesso da análise. É necessário ainda otimizar a etapa de preparo para diminuir o tempo de análise e reduzir as potenciais fontes de erro (MEIRA, 2015; GUEDES, 2014; RIDGWAY, 2007).

A etapa de preparo da amostra ideal tem características como: Fácil manipulação, baixo custo, poucas etapas com o menor tempo possível, permitir uma recuperação quantitativa e evitar a perda dos analitos. A solução final deve ser adequada para a técnica utilizada (GUEDES, 2014).

Existem diversas técnicas de extração adequadas para diferentes tipos de analito e diferentes matrizes (RIDGWAY, 2007). As técnicas de extração se baseiam nas diferenças de propriedades físico-químicas como peso molecular, solubilidade e polaridade. A derivatização é utilizada para ampliar a volatilidade de um composto ou para inserir grupos funcionais que de alguma forma aprimorem os resultados da análise. A transesterificação de lipídios é um exemplo de derivatização (PAVANI, 2016).

Os pesticidas encontram-se distribuídos em muitas e diferentes classes com propriedades ácido-base bastante variáveis o que afeta a distribuição destes em diferentes solventes (partição). É notável a presença de átomos de nitrogênio que podem sofrer protonação ou grupos carboxila na estrutura de alguns pesticidas o que torna o pH um fator importante. Pode ocorrer ainda a degradação de alguns pesticidas em valores altos ou baixos de pH. Espécies que contem o grupo N-trihalometil (como captana ou folpet) devem ser extraídos em pH menor do que 4, porém pesticidas como o carbosulfan são sensíveis ao meio ácido (BRUZZONITI, 2014).

Muitas técnicas multirresíduo foram desenvolvidas para a extração de pesticidas como o método proposto por Mills et. al. na década de 60 que foi desenvolvido nos

laboratórios da Food and Drug Administration (FDA), consistia numa extração em acetonitrila seguida pela adição de água e posteriormente a adição de solventes apolares, o método foi utilizado para determinar compostos organoclorados apolares em amostras não gordurosas. A aplicação de pesticidas mais polares requereu o desenvolvimento de outros métodos como o de Luke proposto em 1975 onde era promovida a extração em acetona seguida de uma partição com solventes apolares (éter de petróleo e diclorometano) adicionando cloreto de sódio na fase aquosa. Para refinar os resultados do método de Luke foi proposto promover a extração com acetato de etila com a adição posterior de sulfato de sódio, apesar ser desnecessário o uso de outros solventes já que o acetato de etila é imiscível com a água, a quantidade de co-extrativos apolares tornava necessária uma etapa de clean-up através de cromatografia de permeação em gel (GPC) tornando o preparo mais caro e longo (PRESTES, 2009).

A tabela 03 apresenta os métodos de extração mais utilizados no preparo de amostra para a determinação de resíduos e contaminantes em alimento.

Tabela 3 – Métodos de extração mais utilizados.

Método	Características
Dispersão de matriz em fase sólida (Matrix solid phase dispersion – MSPD)	Mistura-se a amostra com uma matriz como o C-18 ligado a sílica, então promove-se a eluição com um pequeno volume de solvente. Utiliza-se menos solvente do que a extração líquido-líquido e elimina-se múltiplas etapas de extração. Comparável a SPE pode-se misturar a matriz com um sorvente e empacota-se uma mini coluna os analitos eluídos.
Extração Soxhlet	Exaustiva e não seletiva pode degradar compostos termicamente lábeis. Requer etapa de limpeza posterior.
Extração por líquido pressurizado (Pressurised liquid extraction – PLE ou ainda accelerated solvent extraction – ASE)	Aquecem-se amostra e solvente em uma cela fechada visando diminuir a viscosidade do solvente e aumentar a solubilidade dos analitos. Técnica de extração rápida mas deve ser otimizada (parâmetros como temperatura, polaridade do solvente). Uma desvantagem apontada é a dificuldade em empregá-la em métodos multiressíduos.
Super-heated water extraction (SHWE)	Utiliza água entre 100°C e o ponto crítico. Possui outras denominações como PHWE (pressurised hot water extraction). Não utiliza solventes orgânicos sendo uma forma de extração limpa.

<p>Extração em fluído supercrítico (SFE - Super critical fluid extraction)</p>	<p>Requer CO₂ de alta pureza. O CO₂ é não inflamável e facilmente removido através da redução da pressão.</p> <p>A robustez do método é seu principal problema já que as condições da extração devem ser consistentes para serem reprodutíveis.</p>
<p>Extração assistida por microondas (Microwave-assisted extraction - MAE)</p>	<p>A amostra é imersa em frasco contendo o solvente é irradiada com microondas.</p> <p>Extração eficiente de amostras sólidas.</p> <p>Devem ser usados solventes polares e os compostos que se deseja extrair devem ser termicamente estáveis.</p> <p>Utiliza menos solvente e tempo menor de extração.</p> <p>Uma limitação é o fato de o solvente ter que absorver energia de microondas.</p>
<p>Extração ultrassônica (Ultrasonic extraction – USE)</p>	<p>Similar a MAE, porém utiliza um banho de ultrassom.</p> <p>Muitas extrações podem ser realizadas simultaneamente.</p> <p>Não é adequada para analitos voláteis.</p> <p>A presença de água diminui a eficiência da extração.</p>
<p>Extração líquido-líquido</p>	<p>O método mais comum de extração.</p> <p>Baseia-se na solubilidade relativa de um analito em dois solventes imiscíveis.</p> <p>Em alguns casos pode ser necessário uso de sais ou centrifugação.</p>
<p>Extração em fase sólida (Solid phase extraction – SPE)</p>	<p>Fundamenta-se na Partição líquido-sólido, muitos materiais sorventes podem ser utilizados como C8 ou C18 ligados a sílica, florasil entre outros.</p> <p>Extensivamente utilizada para remover traços de compostos orgânicos da amostras líquidas ou soluções.</p> <p>Encontram-se comercialmente cartuchos prontos.</p> <p>Pode ocorrer competição entre os analitos e a matriz na retenção afetando a eficiência da extração e pode-se encontrar dificuldade com a reprodutibilidade.</p>
<p>Micro extração em fase sólida (Solid phase microextraction – SPME)</p>	<p>Primeiro ocorre a partição entre os analitos na matriz da amostra, um líquido ou um camada de vapor acima do líquido (headspace), e a fase sólida. Em seguida ocorre a dessorção térmica ou por eluição dos adsorbatos no interior do instrumento analítico.</p>

1.5 A cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas

A baixa especificidade entre outros fatores, de técnicas espectrofotométricas e imunológicas na análise de resíduos de pesticidas tornam as técnicas cromatográficas preferidas para a detecção de resíduos de pesticidas em alimentos (MEIRA, 2015)

O uso da espectrometria de massa na análise de compostos orgânicos iniciou durante a segunda guerra mundial quando foi largamente usada pela indústria de petróleo na análise de produtos refinados. Em torno do início da década de 60 torna-se evidente a importância da espectrometria de massa – aliada a espectroscopia de ressonância magnética nuclear e espectroscopia na região do infravermelho – como instrumento de trabalho na elucidação de estruturas desconhecidas e identificação de compostos sintetizados. Costuma-se atribuir a invenção da cromatografia gasosa a A. T. James e A. J. P. Martin em 1952 quando foi demonstrada a partição de analitos entre a fase móvel gás e uma fase estacionária líquida. Vale ressaltar que o pioneirismo na cromatografia dita gás-sólido é atribuído a Erika Cremer da Universidade de Innsbruck na Áustria. Apesar de ambas as técnicas exigirem que os componentes da amostra sejam volatilizados a cromatografia gasosa trabalha com um fluxo de gás de arraste enquanto a espectrometria de massa opera em alto vácuo ($<10^{-5}$ Torr) evidenciando uma incompatibilidade das técnicas. Diversas abordagens baseadas na divisão do fluxo de saída do GC foram empregadas para “contornar a situação”. Na década de 60 procurou-se maximizar a quantidade de analito direcionada ao espectrômetro de massa e minimizar a quantidade de gás de arraste, aliada a operação de espectrômetros de massa em uma maior escala. Nos anos 70 ocorreu a introdução dos espectrômetros de massa de quadrupolo que além de mais baratos para produzir comparados aos de setor magnético, eram capazes de varrer uma faixa de massa de 10-1000 unidades de massa atômica em poucos segundos (HITES, 2016; JARDIM et. al. 2009).

Essencialmente um cromatógrafo a gás é composto por:

- a) Suprimento de gás (ou gases) de arraste

A escolha do gás ou da mistura de gases utilizada geralmente está relacionada ao sistema de detecção em uso. Além de quimicamente inertes devem possuir alta pureza. Deve existir um mecanismo de controle da pressão ou da vazão do gás que nos equipamentos modernos são medidores eletrônicos.

- b) Sistema de injeção da amostra

Uma injeção lenta da amostra provocaria espalhamento da banda implicando numa

menor resolução. Em geral, utilizam-se microsseringas para injetar a amostra em um vaporizador através de um septo auto-selante de borracha ou silicone.

c) Coluna e fornos para coluna

Na coluna cromatográfica ocorrem os fenômenos de partição e separação dos analitos. Numa classificação genérica dividem-se as colunas utilizadas na CG em: empacotada e capilar (tubular aberta). Encontrando-as em diversos comprimentos e fases estacionárias adequadas a diferentes propósitos. Habitualmente a coluna encontra-se dentro de um forno termostaticado, pois a temperatura da coluna é uma variável importante influenciando na resolução e no tempo da corrida.

d) Sistema de detecção

Diversos sistemas de detecção podem estar acoplados a um cromatógrafo a gás, cada sistema possui indicações de uso características como o detector de condutividade térmica (DCT) ou thermal conductivity detector (TCD) que é universal porém tem sensibilidade baixa ou o detector de captura de elétrons (DCE) ou electron capture detector (ECD) que possui alta sensibilidade, porém é adequado apenas a compostos que possuam grupos funcionais eletronegativos na estrutura como os halogênios. (SKOOG, 2006);

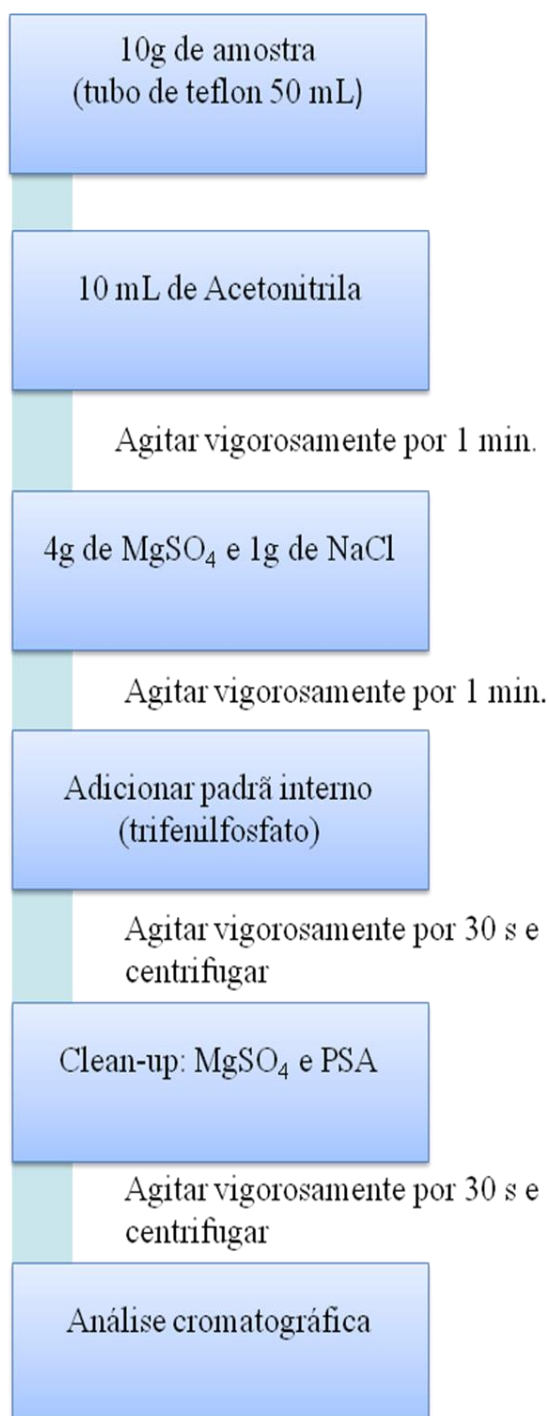
Um espectrômetro de massa consiste fundamentalmente em: Sistema de introdução, fonte de íons, analisador de massas, detector, processador de sinal e dispositivo de saída. Neste trabalho o analisador de massa utilizado foi do tipo armadilha de íon e utilizou-se a ionização por impacto de elétrons. Um sistema de aprisionamento de íons pode ser composto por um eletrodo central de formato anelar e um par de eletrodos circulares convexos. Aplica-se uma tensão de radiofrequência variável no eletrodo anelar. Íons com uma razão massa/carga adequada circulam em órbitas estáveis, aumentando a radiofrequência desestabiliza-se íons mais leves provocando a colisão destes com o eletrodo anelar (SKOOG et al. 2009).

1.6 O método QuEChERS

Proposto por Anastassiades et al. (2003) seu foco era superar as limitações práticas dos métodos multirresíduo de extração utilizados na época, seu título é oriundo da união dos termos Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe que são os objetivos estimados do método: ser rápido, fácil, econômico, efetivo, robusto e seguro (PRESTES et al., 2011).

A figura 01 ilustra o procedimento de extração no método QuEChERS original.

Figura 01 - Fluxograma da sequência do método QuEChERS original.



Fonte: PRESTES (2009)

Os solventes mais utilizados em extrações multiressíduos de pesticidas são acetato de etila, acetona e acetonitrila (MeCN), o emprego da MeCN permite uma menor retirada de co-extrativos como lipídeos e pigmentos, extrai pesticidas com diferentes polaridades e exibe boas recuperações porém ela é mais adequada a cromatografia líquida do que a gasosa devido ao grande volume de expansão durante a vaporização no cromatógrafo. Utiliza-se 10 mL de

MeCN para 10g de amostra ou seja 1g de amostra por mL, apesar desta razão ser considerada baixa ela não envolve a adição de etapas como a evaporação e espera-se que ela esteja adequada a instrumentação analítica moderna. A agitação em vórtex é realizada em frasco fechado e não apresenta a necessidade da lavagem do homogeneizador. Utilizam-se sais para promover o efeito salting-out, diminuindo a solubilidade dos pesticidas polares na fase aquosa aumentando a recuperação destes, exemplificado pelo uso cloreto de sódio. O sulfato de magnésio possui boa capacidade de remover água aliada ao fato de sua hidratação ser exotérmica, aquecendo a amostra e favorecendo a extração. O clean-up no QuEChERS é feito por por d-SPE (Dispersive Solid Phase Extraction) e opta-se pelo uso PSA (Primary Secondary Amin), GCB (Grafitized Carbon Black) , C18 (octadecilsiloxano) e MgSO₄ ou misturas destes entre outros. O PSA apresenta elevado efeito quelante removendo principalmente co-extrativos polares, já o MgSO₄ atua na remoção de água reduzindo assim a polaridade do extrato final e facilitando a precipitação de co-extrativos polares já o GCB promove a remoção de clorofila, esteróis entre outros compostos porém ele apresenta forte atração por pesticidas com estruturas planares como o terbufós (MEIRA, 2015; PRESTES et al., 2009).

Para aperfeiçoar os percentuais de recuperação propôs-se o tamponamento utilizando acetato de sódio (QuEChERS acetato) Método adotado em 2007 pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC) como método oficial. No método QuEChERS citrato o tamponamento é promovido por uma mistura de citrato de sódio tribásico di-hidratado e hidrogenocitrato de sódio sesquihidratado, método oficializado pelo European Committee for Standardization (CEN) como método de referência na união européia (PRESTES et al., 2011).

1.7 A avaliação e a validação de método

Diversas definições são encontradas para a validação que em termos genéricos: é um meio de garantir experimentalmente que o método proposto atende a requisitos estipulados e que seus resultados são confiáveis, ela é uma importante garantia da qualidade analítica. Os parâmetros de validação também conhecidos como parâmetros de desempenho ou ainda figuras de mérito têm sido estabelecidos por diferentes organizações nacionais e internacionais. Nota-se que algumas definições são diferentes entre as organizações (MAPA, 2011; RIBANI et. al., 2004).

Tratando-se de análise cromatográfica os parâmetros mais utilizados são: seletividade, linearidade e faixa de aplicação; precisão, exatidão; limite de detecção e de quantificação;

robustez (RIBANI et. al., 2004).

A seletividade dita o quanto o procedimento analítico determina o(s) analito(s) sem a interferência de outros componentes análogos. Técnicas como a Espectrometria de massas acoplada à cromatografia conseguem ser bastante seletivas (MAPA, 2011).

A linearidade mostra o quão o método produz resultados diretamente proporcionais com a concentração do analito dentro de uma faixa aplicável. Relaciona-se diretamente o sinal e a concentração do analito através de uma equação de reta no formato $y = ax + b$ onde se utilizam no mínimo cinco pontos para a criação da curva de calibração e subsequentemente a obtenção desta equação por regressão linear. Geram-se ainda os coeficientes: o angular a e o linear b além do coeficiente de correlação r que assume uma estimativa da qualidade da equação obtida. Quanto mais próximo r esta do valor 1 menor é dispersão apresentada pelos pontos medidos. Outros testes podem ser utilizados para verificar se a equação obtida é estatisticamente significativa. Para a extensão da faixa aplicável, diversas recomendações são encontradas, como a da IUPAC que aconselha a faixa de 0 – 150 % ou 50 – 150% do valor esperado além de especificar que os pontos da curva devem estar igualmente espaçados (RIBANI et. al., 2004). As curvas de calibração podem ser elaboradas utilizando padrões de calibração do analito em um solvente quando atestado a ausência de efeito matriz, utilizando uma matriz branca fortificada com os padrões de calibração do analito ou ainda usando o extrato da matriz branca fortificado com os padrões de calibração do analito (MAPA, 2011).

A precisão trata da dispersão dos resultados dos ensaios realizados de forma independentes. É indicada através da: repetitividade que é o quão concordam os resultados de medições sucessivas sob as mesmas condições; pela precisão intermediária também chamada de reprodutibilidade interlaboratorial onde utiliza-se o mesmo método, no mesmo laboratório, avalia-se a mesma amostra ou amostra idênticas ou ainda padrões variando condições como analista, equipamento ou condições ambientais; e pela reprodutibilidade avaliada por ensaio interlaboratorial colaborativo (MAPA, 2011).

O limite de detecção (LD) mostra a menor concentração do analito que pode se detectada. Sua estimativa pode ser feita através de parâmetros da curva analítica sendo obtido pela equação 01.

$$LD = 3,3 \times \frac{s}{S}$$

(1)

Onde s é estimativa do desvio padrão da resposta (desvio padrão do branco, equação da linha

de regressão ou do coeficiente linear da equação) e S é a inclinação ou coeficiente angular da curva analítica. Uma alternativa a este procedimento é medir o sinal adquirido para amostras em baixas concentrações (porém concentrações conhecidas) do analito na matriz ou em um branco. A relação sinal ruído 3:1 é em geral aceita como estimativa do LD (RIBANI et. al., 2004).

O limite de quantificação (LQ) estima a menor concentração do analito que pode ser medida pelo procedimento podem-se utilizar os critérios adotados para a estimativa do LD utilizando a equação 02.

$$LQ = 10 \times \frac{s}{S}$$

(2)

Ressalta-se que com o decréscimo dos níveis de concentração as estimativas de LQ tornam-se menos precisas (RIBANI et. al., 2004).

Um método robusto não deve ser afetado pequenas variações de parâmetros como pH, força iônica da fase móvel, natureza do gás de arraste ou agitação. Alterações que reproduzem a aplicação do método em outros laboratórios, analistas ou equipamentos. (RIBANI et. al., 2004). Não sendo uma grandeza não se atribui um valor numérico para a robustez (MAPA, 2011).

A exatidão citada pelo MAPA (2011) como veracidade é a concordância entre a média dos resultados de um grande quantitativo de ensaios e o valor de referência aceito como verdadeiro. A veracidade pode ser determinada por ensaios de recuperação. Utilizam-se materiais de referencia certificados ou quando em sua falta utiliza-se a matriz fortificada (MAPA, 2011; RIBANI et. al., 2004).

1.8 Pesticidas selecionados

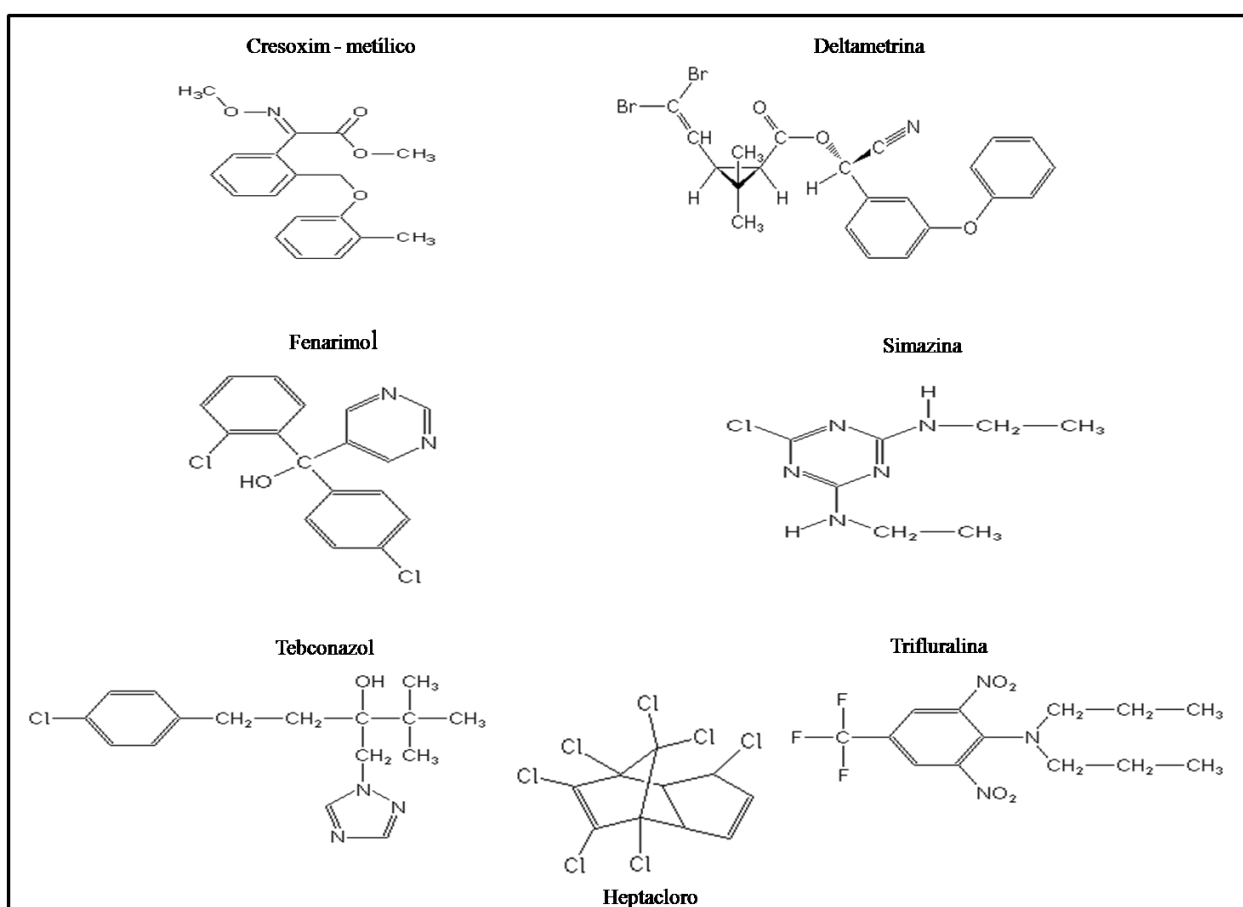
Os pesticidas escolhidos para o presente estudo foram: cresoxim-metílico, deltametrina, fenarimol, simazina, tebuconazol e trifluralina. Utilizou-se o heptacloro como padrão interno. A figura 02 apresenta a estrutura dos compostos selecionados.

O cresoxim-metílico pertence a classe das estrobilurinas que são compostos que apresentam o modo de ação associado a inibição da respiração mitocondrial dos fungos sendo uma classe de pesticida seletiva. O composto estrobilurina A produzido pelo fungo *Strobilurus tenacellus* é a base desta classe de pesticidas (MENEZES FILHO, 2010). É um

fungicida com uso permitido em aplicação foliar para diversas culturas como a acerola, algodão ou o café (ANVISA).

A deltametrina é um piretróide em geral essa classe apresenta boa sensibilidade à luz e a temperatura ambiente além de alta eficiência, degradam-se por hidrólise ou oxidação ou ainda pela ação de microorganismos presentes no ambiente (MENEZES FILHO, 2010). É um inseticida de aplicação foliar em diversas culturas exemplificadas pelo cacau, tomate e o milho (ANVISA).

Figura 02 – Estrutura dos pesticidas selecionados.



Fonte: Pesticide Target Interaction Database

O fenarimol é da classe dos pesticidas pirimidínicos (UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE) é um fungicida de aplicação foliar em culturas como a uva, abóbora e o melão (ANVISA).

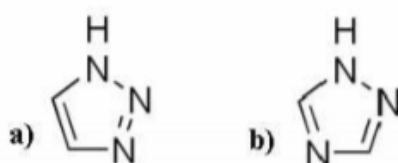
O heptacloro é um membro da classe dos organoclorados que em geral apresentam baixa solubilidade em água, porém elevada em solventes orgânicos além de lenta

biodegradação (PAVANI, 2016). O heptacloro não possui autorização de uso no Brasil (ANVISA).

A simazina pertence a classe das triazinas que são amplamente utilizadas no combate a ervas daninhas no Brasil, são bastante tóxicas e persistentes no ambiente. (PAVANI, 2016) É um herbicida com aplicação pré e pós-emergência aplicado em diversas culturas como a banana, seringueira e o milho (ANVISA).

O tebuconazol que é um triazol, compostos com um anel heterocíclico de cinco membros que possui dois átomos de carbono e três de nitrogênio como ilustrado na imagem 03(MENEZES FILHO, 2010) é um fungicida de aplicação foliar em diversas culturas e como preservante da madeira (ANVISA).

Figura 03 – Ilustração da estrutura 1,2,3-triazol e do 1,2,4-triazol.



Fonte: (MENEZES FILHO, 2010)

A trifluralina pertence ao grupo dos derivados da dinitroanilina que é uma das quatro divisões da classe do nitropesticidas, as outras são: derivados do nitrofenol, derivados de dinitroanilinas, derivados de nitro-organofosforados e derivados de nitro-organoclorados. (BARBOSA, 2013) É um herbicida de aplicação pré-emergência em diversas culturas como o algodão, o alho e a berinjela (ANVISA). A tabela 04 resume algumas características dos pesticidas escolhidos.

Tabela 04 – Propriedades dos pesticidas selecionados.

Composto	MM	Log P _{ow}	Solubilidade em água	pKa	LMR	IDA
Cresoxim metílico	– 313,35	3,40	2,0	-	0,2	0,4
Deltametrina	505,2	4,60	0,0002	-	0,02	0,01
Fenarimol	331,2	3,69	13,7	-	0,05	0,01
Simazina	201,66	2,30	5,0	1,62	0,02	?

Tebuconazol	307,82	3,70	36	5,0	0,1	0,03
Trifluralina	335,28	5,27	0,221	-	0,05**	0,024

Log de P_{ow} = indica – log da partição octanol-água.

- = não aplicável

Dados de ingestão diária aceitável (IDA) e limite máximo de resíduos (LMR) foram consultadas nas monografias produzidas pela ANVISA para cada cultura.

** A trifluralina não é indicada para a cultura da maçã o valor apresentado é aplicável a outras culturas como o algodão, o arroz e o pimentão. ? = Não encontrado.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a presença dos pesticidas: cresoxim-metílico, deltametrina, fenarimol, simazina, tebuconazol e trifluralina em maçãs comercializadas na cidade de Fortaleza por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas e método de extração QuEChERS citrato.

2.2 Objetivos específicos

- Selecionar condições para a operação do cromatógrafo a gás e do espectrômetro de massas através um levantamento bibliográfico avaliando métodos já estudados.
- Injetar uma solução contendo os pesticidas para apreciar a viabilidade das condições selecionadas.
- Preparar o extrato de maçãs orgânicas, adquirir o cromatograma do extrato e avaliar seu uso para simular a matriz.
- Preparar soluções padrões dos pesticidas citados e construir curvas de calibração por sobreposição da matriz.
- Analisar a recuperação e a linearidade do método utilizado.
- Avaliar o uso do heptacloro como padrão interno.
- Aplicação do método em amostras reais.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos executados para a elaboração deste trabalho foram realizados no Laboratório de Química Instrumental (LQI) da Fundação Núcleo de Tecnologia Industrial do Ceará.

3.1 Lavagem das vidrarias e vials.

As vidrarias foram lavadas com água e detergente neutro por duas vezes, enxaguadas três vezes com água e em seguida duas vezes com água destilada e então dois enxágües com água deionizada (Milli-Q). As vidrarias volumétricas permaneceram sob secagem lenta e as vidrarias não volumétricas foram secas em estufas a 150°C por 30 min.

Os vials foram lavados com água e detergente neutro, enxaguados três vezes com água e então duas vezes com água destilada. Transferiu-se os vials para um béquer de 500 mL adicionou-se água deionizada (Milli-Q) na quantidade suficiente para submergir-los. Aqueceu-se em chapa aquecedora o béquer ate a fervura, mantendo-se por 10 min e repetindo esse procedimento de aquecimento, com a troca da água, mais duas vezes. Os vials foram secos em estufa a 150°C por 30 min.

Após secagem utilizou-se acetona grau cromatográfico em pequenas porções por duas vezes.

3.2 Obtenção do extrato de maçãs orgânicas

Adquiriu-se aproximadamente 1,300 g de maçãs da variedade Fuji em um comércio de alimentos orgânicos. Para promover a homogeneização cortou-se as maçãs adquiridas manualmente em pequenos pedaços. Transferiu-se 500g para um processador de alimentos modelo MEGA MASTER PRO WALITA e processou-se em 10 ciclos de 30s. Retirou-se uma alíquota de 50g para proceder com a extração pelo método QuEChERS citrato e armazenou-se o restante sob refrigeração em recipiente fechado.

Da alíquota de 50g anteriormente separada, transferiu-se 10g para um tubo de 50 mL de polipropileno com fundo cônico (tubo tipo falcon). Adicionou-se 10 mL de Acetonitrila (MeCN) 99,9 % grau UV/HPLC/Espectroscópico (Vetec) medidos em um proveta de 50 mL. Após fechado agitou-se o tubo em um agitador de tubos tipo vórtex modelo Marconi MA-162 por 1 minuto. Posteriormente, Adicionou-se 4g de sulfato de magnésio anidro 98 % P.A. (Vetec), 1g de Cloreto de sódio 99 % P.A. (Vetec), 1g de citrato de sódio tribásico dihidratado 99 % P.A. (Vetec) e 0,5 g de Hidrogenocitrato de sódio sesquihidratado 99 % P.A. (Sigma-Aldrich) todos os reagentes adicionados nesta etapa foram previamente pesados. Em seguida agitou-se o tubo fechado no vórtex por 1 minuto. Centrifugou-se em uma centrífuga

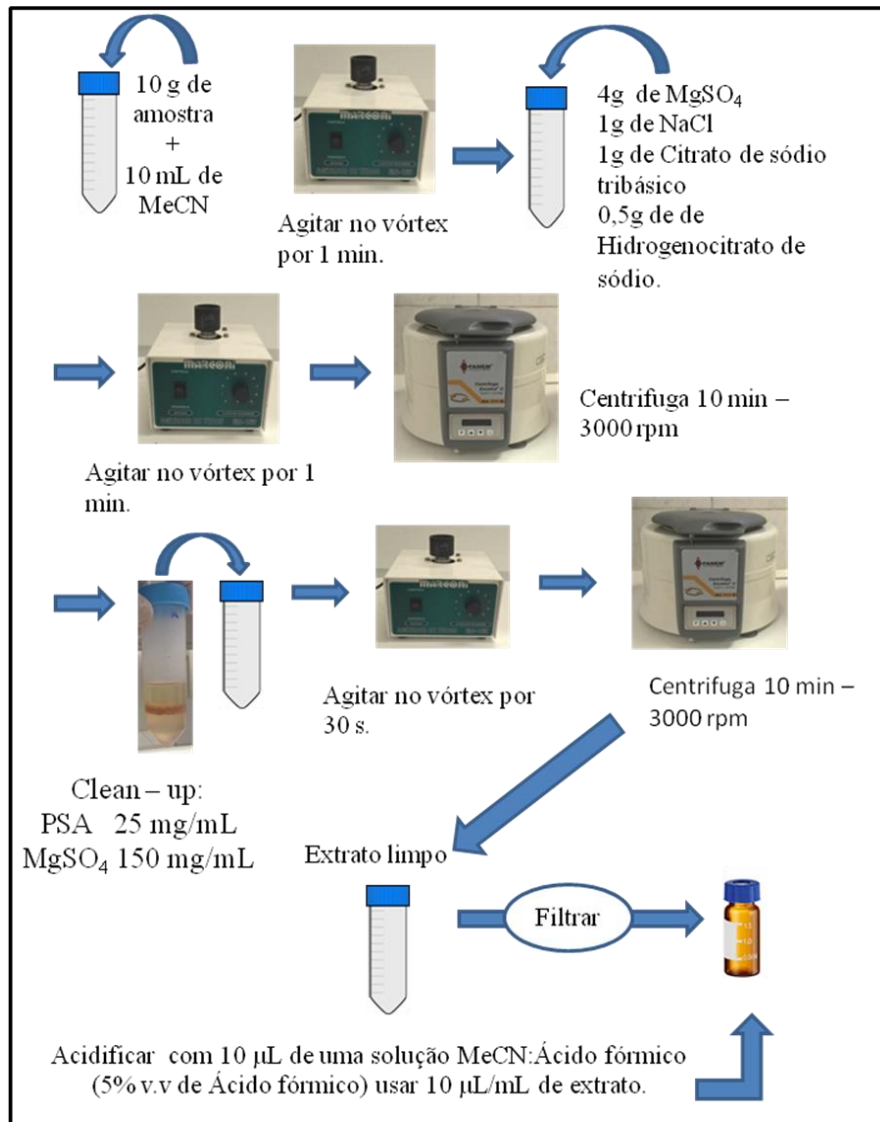
FANEM® EXCELSA® modelo II 206BL os tubos por 10 minutos a 3000 rpm. Da fase superior transferiu-se 8 mL para outro tubo tipo falcon de 50 mL que continha 0,200g de PSA com tamanho de partículas de 40 μm (Supelco clean Bonded Silica Supelco) e 1,2 g de Sulfato de magnésio para promover o clean-up do extrato. Agitou-se o tubo no vórtex por 30 segundos, o tubo foi novamente centrifugado por 10 minutos a 3000 rpm. Transferiu-se o conteúdo líquido para um sistema de filtração (seringa de vidro conectada a uma unidade filtrante de acetato de celulose 0,45 μm). Colheu-se o filtrado em um vial de 40 mL que foi posteriormente selado e armazenado sob refrigeração. A figura 04 descreve a obtenção do extrato. A etapa de filtração não está presente no método original, percebeu-se que os tubos falcon de 15 mL utilizados na etapa de clean-up sofriam quebra no topo pois o rotor não era adequado ao seu uso (os tubos necessitavam de um suporte mais profundo) então utilizou-se tubos falcon de 50 mL porém o material sólido não compactava adequadamente neste tubo e a altura da fase líquida era pequena então durante a retirada da fase líquida (extrato limpo) ocorria a inevitável ressuspensão do precipitado o que poderia danificar ou aumentar a necessidade de manutenção do injetor logo optou-se pela filtração. A figura 04 mostra um esquema do procedimento de extração.

3.3 Preparo das soluções da curva analítica

Para o preparo das soluções mix dos pesticidas transferiu-se alíquotas de 100, 75, 50 e 25 μL da solução estoque (1000 mg/L) de cada pesticida para os respectivos balões de 5 mL que foram aferidos com tolueno grau cromatográfico conforme esquema na figura 05.

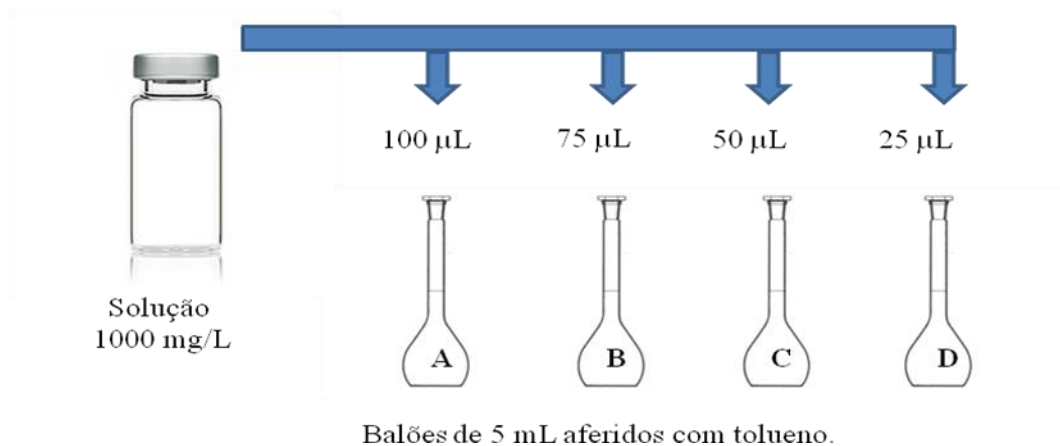
Preparou-se ainda as soluções E e F para os pontos de menor concentração da curva analítica para os quais não é instrumentalmente possível com os pipetadores utilizados a diluição transferindo-se diretamente uma alíquota da solução estoque 1000 mg/L. Para o preparo da solução E transferiu-se 1 mL da solução D (5 mg/L) para um balão de 5 mL. No preparo da solução F transferiu-se 100 μL da solução C (10 mg/L) para um balão de 5 mL. Aferiram-se ambos os balões com tolueno grau cromatográfico. A figura 06 ilustra o preparo das soluções E e F.

Figura 04 – Esquema do procedimento de extração.



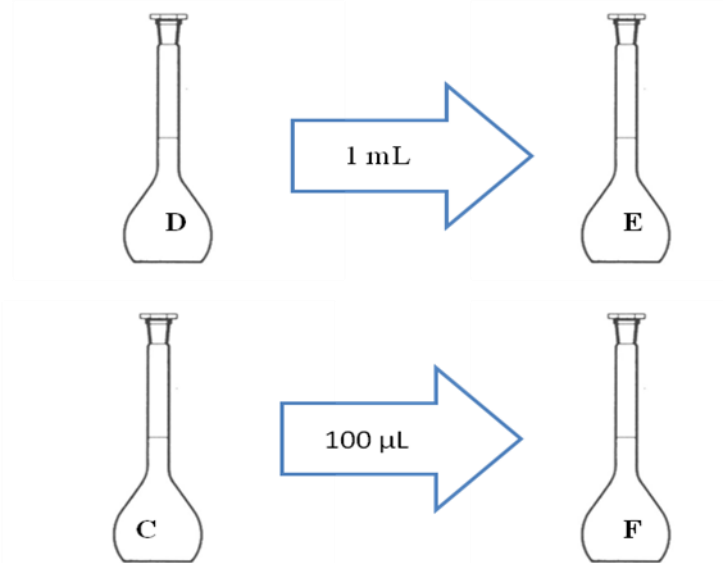
Fonte: O autor.

Figura 05 – Preparo das soluções A, B, C e D para a curva.



Fonte: O autor.

Figura 06 – Preparo das soluções E e F para a curva analítica.



Fonte: O autor.

Em seis vials (~2 mL) previamente limpos adicionaram-se com pipetadores automáticos de capacidade variável 450 µL do extrato das maçãs, 25 µL de uma solução heptacloro 10 mg/L em metanol previamente preparada. Em seguida, Adicionou-se 25 µL das soluções de pesticidas preparadas (soluções de A-F: uma solução em cada vial). Agitou-se manualmente. Cada ponto da curva equivale a diluição em 20 vezes de cada solução (de A-F) preparada. A tabela 05 mostra as concentrações.

Tabela 05 – Concentrações da solução da curva.

Solução	Concentração no balão (mg/L)	Concentração no vial (– mg/L)
A	20	1,00
B	15	0,750
C	10	0,500
D	5	0,250
E	1	0,050
F	0,200	0,010

Fonte: O autor.

3.4 A análise cromatográfica

Utilizou-se cromatógrafo a gás Thermo Fisher-Scientific GC-MS acoplado a detector espectrômetro de massas Thermo Fisher-Scientific armadilha de íons modelo ITQ 1100 apresentado na figura 7. As injeções foram executadas injetando-se 1,0 µL da amostra, com

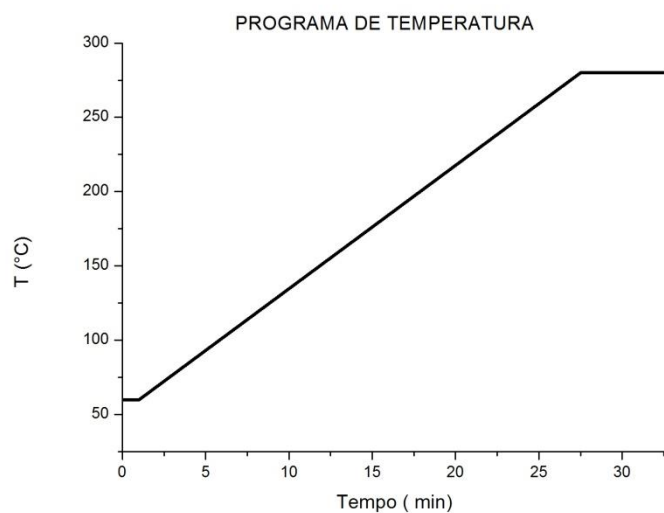
temperatura do injetor de 250°C, fonte de íons 200°C. Operando no modo splitless (sem divisão de fluxo), sendo utilizado gás hélio 99,999 % (White Martins, Brasil) como gás de arraste (fase móvel) com vazão de 1,5 mL min⁻¹, coluna cromatográfica capilar OV-5 Bonded, 5 % fenil 95 % polidimetilsiloxano, com as dimensões de 30 m x 0,25 mm d.i. (diâmetro interno) e 0,25 µm de espessura de filme da fase estacionária. As corridas cromatográficas foram executadas no modo de temperatura programada com a seguinte programação: temperatura inicial de 60°C permanecendo por 1,0 min, seguindo de aquecimento de 8 °C min⁻¹ até 250°C, permanecendo nesta temperatura por 1 min.

Figura 07 – Cromatógrafo a gás Trace GC ultra acoplado ao detector ITQ 1100



Fonte: O autor.

Figura 08 – Programa de temperatura utilizado.



Fonte: O autor.

Para a aquisição do cromatograma do extrato obtido na etapa 3.2 transferiu-se 500 μL do extrato para um vial limpo e então adicionaram-se 5 μL da solução acidificadora previamente preparada que é constituída de ácido fórmico em acetonitrila na concentração de 5% v.v. Injetou-se 1 μL em duplicata com o espectrômetro de massas programado no método full scan.

Após a avaliação dos espectros de massas obtidos, injetou-se 1 μL em duplicata das soluções preparadas para a construção das curvas analíticas. O espectrômetro de massas foi programado para executar o monitoramento dos fragmentos dos agrotóxicos no modo SIM (Selected Ion Monitoring). Utilizou-se o método de ionização por impacto de elétrons (EI).

3.5 Avaliação do método e análise de uma amostra real.

Apreciou-se a exatidão através de ensaio de recuperação em dois níveis 100 e 800 ng/mL. Em dois tubos de 50 mL de polipropileno com fundo cônico (tubo tipo falcon) denominados tubo A e tubo B adicionaram-se 10g das maçãs orgânicas previamente processadas em cada tubo. Para o tubo A transferiu-se uma alíquota de 400 μL e para o tubo B transferiu-se uma alíquota de 50 μL da solução do balão A do item 3.3 deste trabalho (uma solução dos pesticidas escolhidos na concentração de 20 ppm utilizando tolueno grau cromatográfico como solvente). Adicionaram-se ainda 5 μL em cada tubo de uma solução de heptacloro 1.000 ppm. Agitaram-se os tubos utilizando o vórtex por 1 minuto cada e em seguida os tubos fechados permaneceram em repouso por 30 minutos a temperatura ambiente. Procedeu-se a extração conforme o item 3.2. Transferiu-se 1,5 mL de cada extrato para um vial e adicionaram-se 15 μL da solução acidificadora em cada tubo. Agitaram-se os vial manualmente e injetou-se 1 μL da mistura de cada vial em duplicata.

Avaliou-se a linearidade construindo as curvas de calibração e analisando os coeficientes de correlação obtidos.

Adquiriu-se aproximadamente 800 g de maçãs na Central de abastecimento do Ceará S/A (CEASA-CE), local escolhido por abastecer diversos comerciantes e feirantes da cidade de Fortaleza. As maçãs foram colhidas a temperatura ambiente e então armazenada sob refrigeração. Em um processador de alimentos modelo MEGA MASTER PRO WALITA homogeneizou-se 500 g das maçãs então procedeu-se a extração conforme item 3.2 e seguiu-se as condições cromatográficas citadas em 3.4.

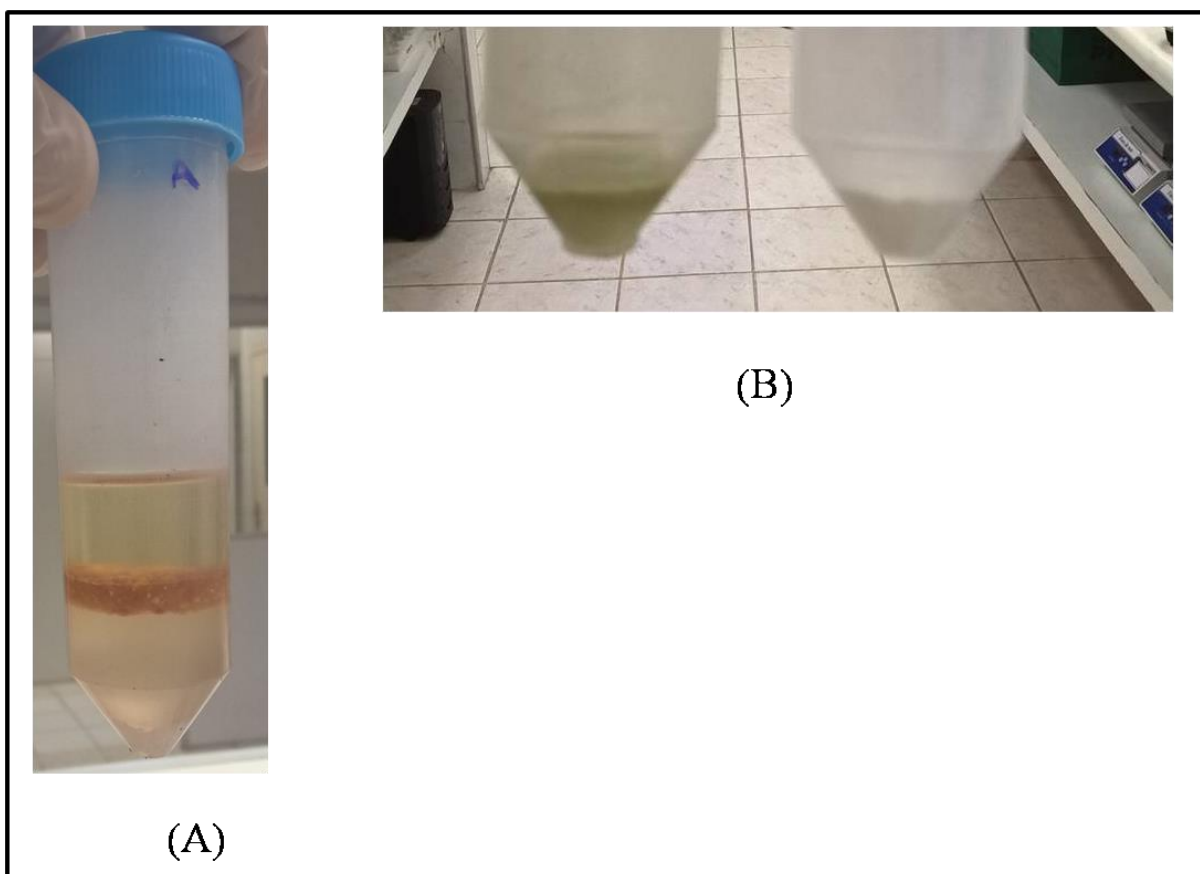
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 O extrato das maçãs orgânicas

Após a primeira centrifugação é observado no tubo a formação de 4 fases como ilustrado pela figura 09 (a) . No topo a fase menos densa é formada majoritariamente pela acetonitrila, em seguida o material oriundo do fruto da maçã e então logo abaixo a fase formada majoritariamente pela água presente na fruta, por último os sais decantados no fundo do tubo.

Após a etapa de clean-up é notável a perda da coloração pela solução e a aquisição da coloração pela fase sólida compactada no fundo que inicialmente é branca conforme apresentada pela figura 09 (b)

Figura 09 – Tubo após a primeira centrifugação e posterior ao clean-up.



Em um cromatógrafo, compostos não voláteis da matriz podem ficar retidos no sistema de injeção e até mesmo na coluna alterando a resposta do equipamento e aumentando a necessidade de manutenção. Pesticidas polares e componentes polares da matriz possuem

forte afinidade pelos sítios de adsorção por ligações de hidrogênio existentes no sistema injetor (liner que é feito de vidro) ou na coluna. Na ausência da matriz os analitos podem ficar retidos causando a perda da sensibilidade, o que pode ser evitado pelo uso de analitos protetores, que são adicionados antes da injeção. Eles são capazes de formar fortes ligações de hidrogênios ocupando os sítios disponíveis para adsorção, devem também agir como antioxidantes evitando a degradação (por oxidação) dos analitos. (BRUZZONITI, 2014)

A avaliação do cromatograma adquirido permite avaliar se o extrato pode ser utilizado para simular a matriz para os pesticidas estudados e fornece informações sobre a eficiência do preparo de amostra principalmente sobre a etapa de clean-up.

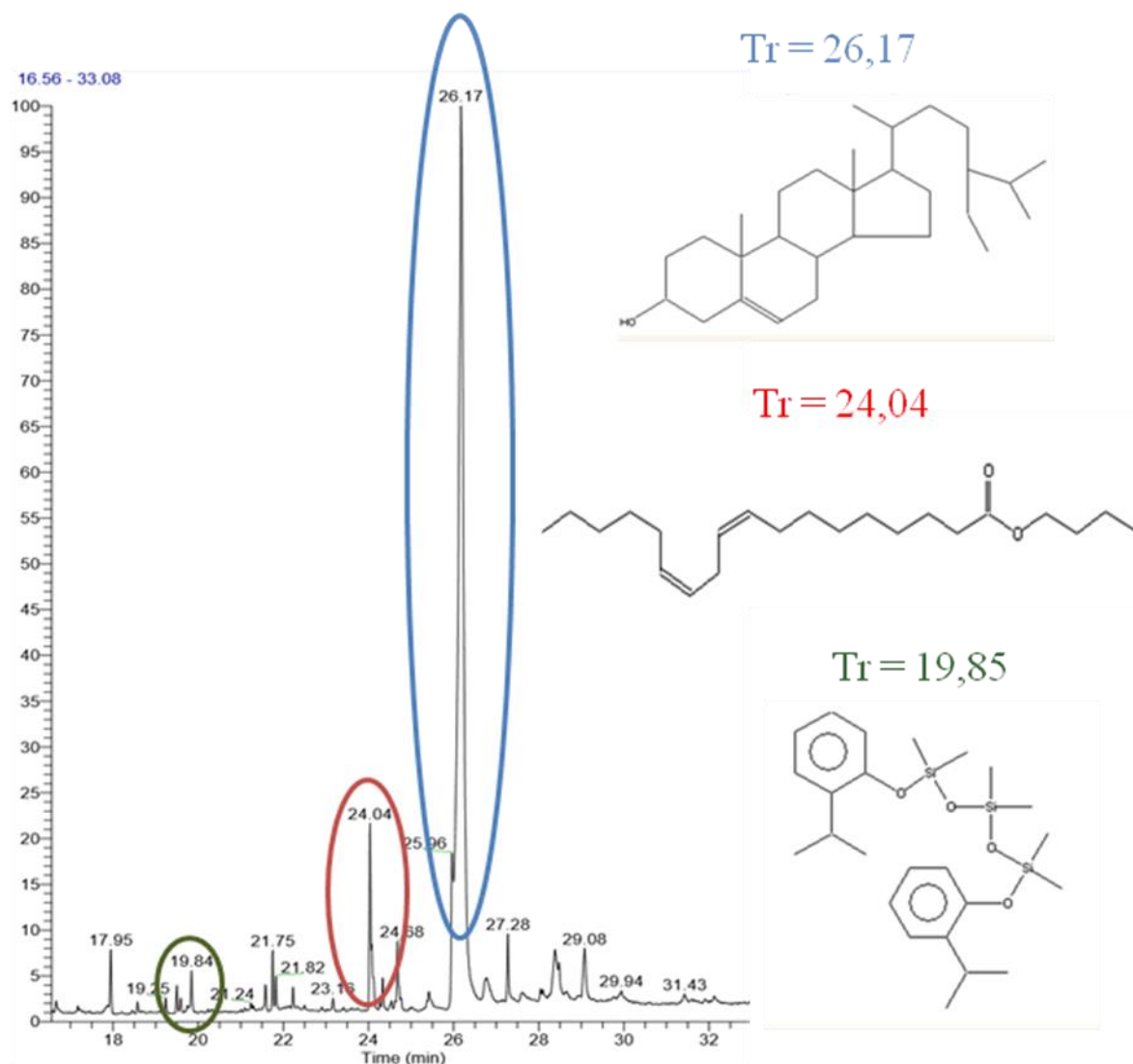
Tratando-se de alimentos os principais interferentes em cromatografia gasosa são lipídios, pigmentos e outras moléculas com alto peso molecular. A formação de caudas evidencia um sistema detector sujo. As maçãs possuem diversos componentes como açúcares, proteínas, lipídios, polifenóis, compostos triterpênicos, parafinas e alcoóis. Estes compostos podem contribuir com efeito matriz. (GIANCINTI, 2016)

Para compensar o efeito matriz pode-se recorrer ao método a adição de padrão, uso de padrão interno marcado isotopicamente, sobreposição de matriz e uso de analitos protetores. A sobreposição de matriz é método mais usados por muitos laboratórios entretanto a dificuldade em se obter uma matriz livre de pesticida principalmente para matrizes não muito comuns podem dificultar o uso desse método (KIRSCHNER, 2008).

A figura 10 apresenta o cromatograma de íons totais do extrato das maçãs orgânicas. Para os picos apresentados nos tempos de retenção em minutos (T_R): 26,17; 24,04 e 19,85 a consulta ao software X-calibur® que utiliza a biblioteca de espectros de massa do National Institute Of Standards and Technology (NIST) sugeriu com maior probabilidade os compostos: sitosterol (infere-se que se trata gama-sitosterol pela consulta ao número do CAS 83-47-6), octadec-9,12-dienoato de butila e por último um composto pertencente a classe dos siloxanos como indica a figura 10. Deve ser ressaltado que os picos encontram-se com intensidades relativas (normaliza-se o pico de maior área como 100 %).

Deve se observar ainda que a indicação do software fornece apenas uma evidência, para a confirmação que de fato trata-se dos compostos indicados, são necessários ensaios como a injeção de padrões dos compostos citados nas mesmas condições acompanhada da observação dos mesmos T_R apresentados e a dopagem do extrato com padrões dos compostos para verificar o comportamento da intensidade dos picos.

Figura 10 – Cromatograma do extrato das maçãs orgânicas.



Fonte: O autor.

Sendo o PSA efetivo na remoção de ácidos orgânicos e compostos polares porém pouco eficiente na remoção de pigmentos e esteróis é provável que mesmo após a etapa de clean-up ainda ocorra a presença de co-extrativos no extrato. Um alternativa seria o uso do GCB que não foi utilizado pelo fato da maçã ser considerada uma matriz com pouca clorofila além da possibilidade do seu uso afetar a recuperação de algum dos pesticida estudados.

O gama-sitosterol ou clionasterol é um fitoesteroide (NIST). Wang e Faust (1992) avaliaram a composição da porção lipídica de amostras de maçãs utilizando cromatografia em camada e CG-FID, entre diversos outros compostos foi relatada a presença do sitosterol (embora não se tenha mencionado qual isômeros se trata).

O octadec-9,12-dienoato de butila é um ester Janzanntti. al. (2000) utilizando CG-MS avaliaram os compostos voláteis de amostras de maçãs através de enriquecimento dos vapores do headspace. Diversos ésteres foram detectados exemplificados pelo butanoato de metila e pelo ocatanoato de de isoamila. O trabalho não cita a presença do octadec-9,12-dienoato de butila, provavelmente a avaliação do headspace seja inadequada já que este éster apresenta massa molar elevada em relação aos exemplificados.

A fase estacionária da coluna pode ser a fonte do pico em T_R 19,58 min. evidenciando um possível sangramento da coluna. Como não observou-se evidência da presença dos pesticidas selecionados para estudo no extrato o mesmo foi considerado apto para uso.

4.2 Avaliação do método e análise de amostras reais.

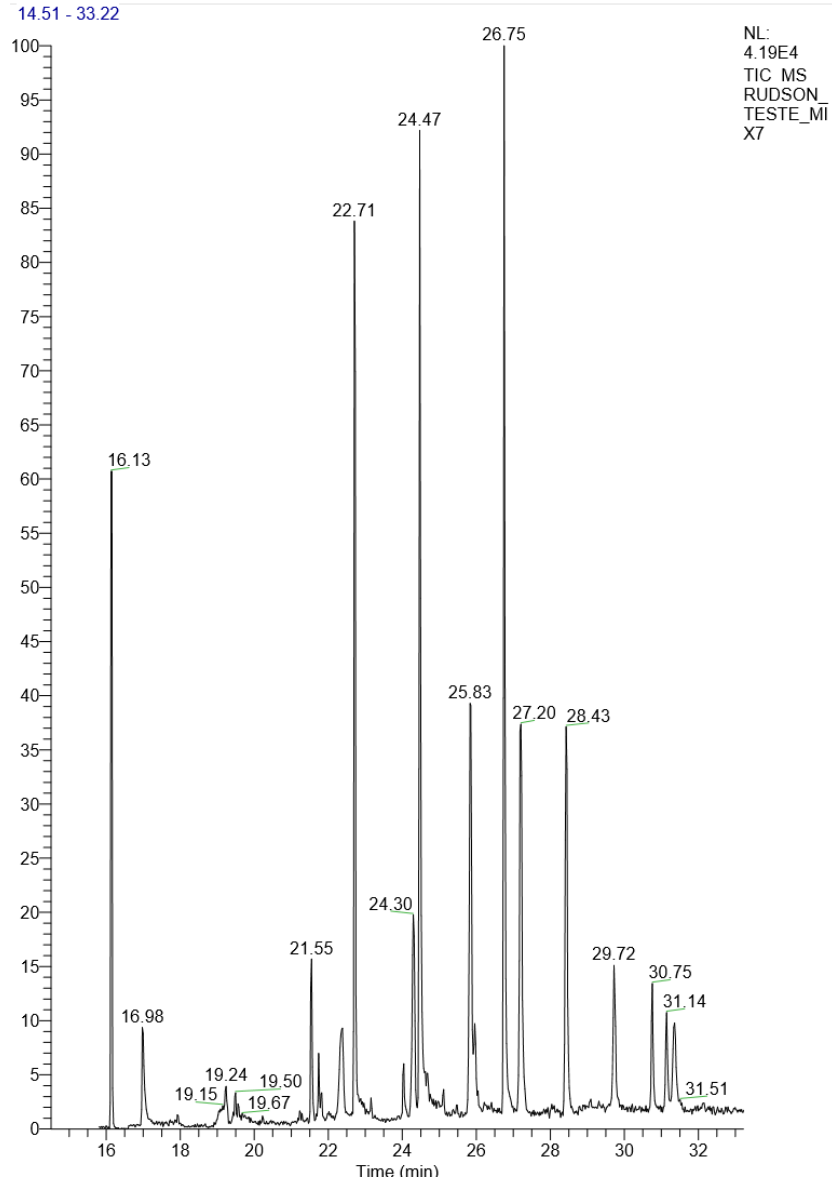
Injetou-se um mix com os pesticidas selecionados para estudo. A figura 11 apresenta o cromatograma. Após a aquisição do cromatograma de íons totais confrontou-se os espectros de massa de cada pico com a biblioteca eletrônica do software X-calibur® para atribuir a cada pesticida o T_R no caso da deltametrina atribuiu-se dois parâmetros T_R . Avaliou-se então os íons com razão m/z de maior sinal para cada pesticida estudado e decidiu-se pelo monitoramento dos íons citados na tabela 06 para quantificação e confirmação.

Tabela 06 – Tempos de retenção e íons monitorados.

Pesticida	Tempo de retenção	Íon de quantificação	Íon de confirmação
Cresoxim-metil	22,73	116	131, 132
Deltametrina	30,75/31,15	181	253,152, 172
Fenarimol	26,75	139	107, 141
Simazina	17,00	201	168, 173
Tebuconazol	24,47	249	163
Trifluralina	16,15	264	290,
Heptacloro	19,07	237	272, 270

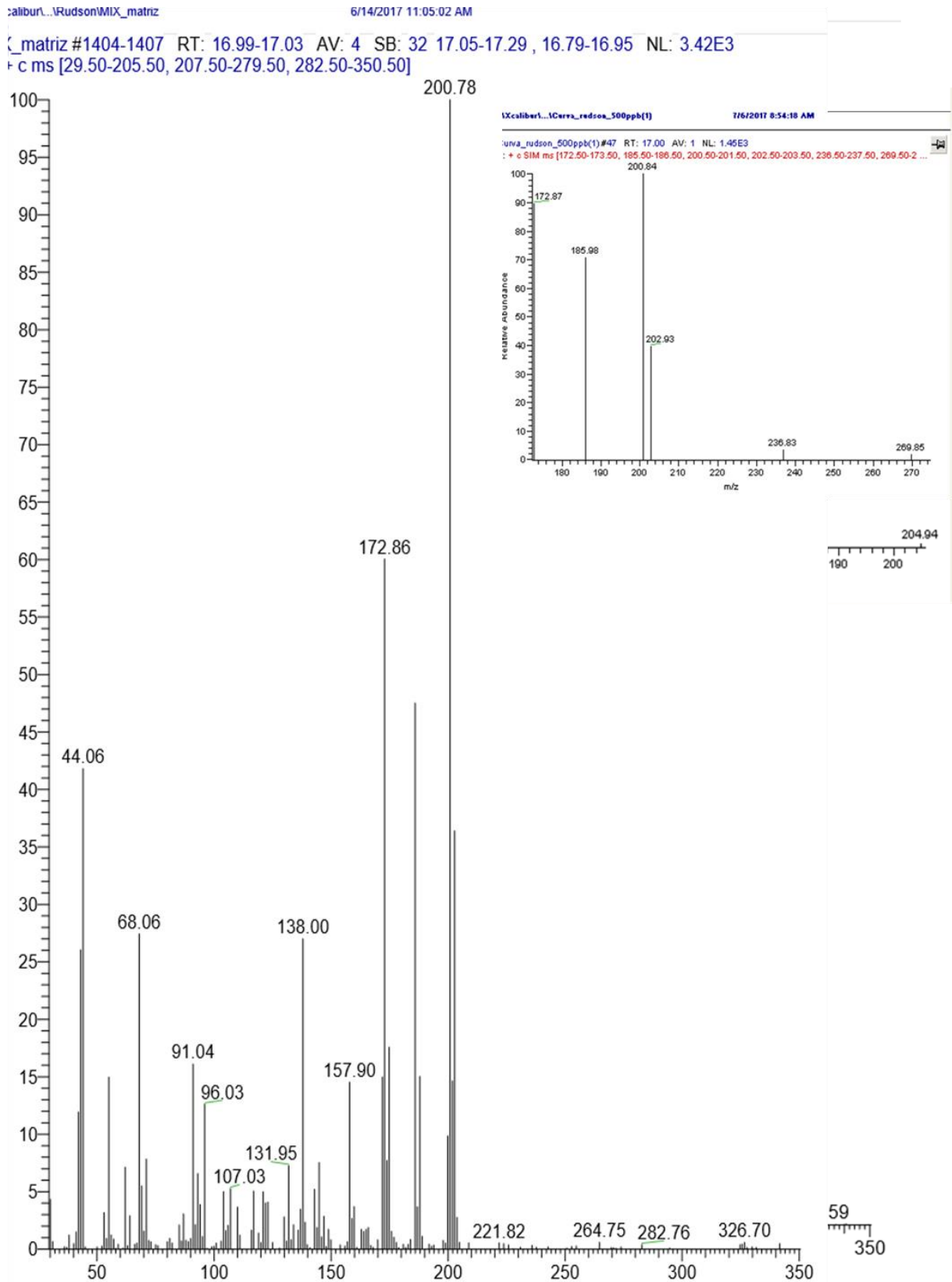
Fonte: O autor.

Figura 11 – Cromatograma de íons totais de uma solução com um mix dos pesticidas selecionados.



A figura 12 ilustra a diferença entre os espectros de massa resultantes do monitoramento nos modos SCAN ou SIM para o cresoxim-metílico.

Figura 12 – Comparação dos espectros de massas obtidos no modo SCAN e no modo SIM para o cresoxim-metílico.

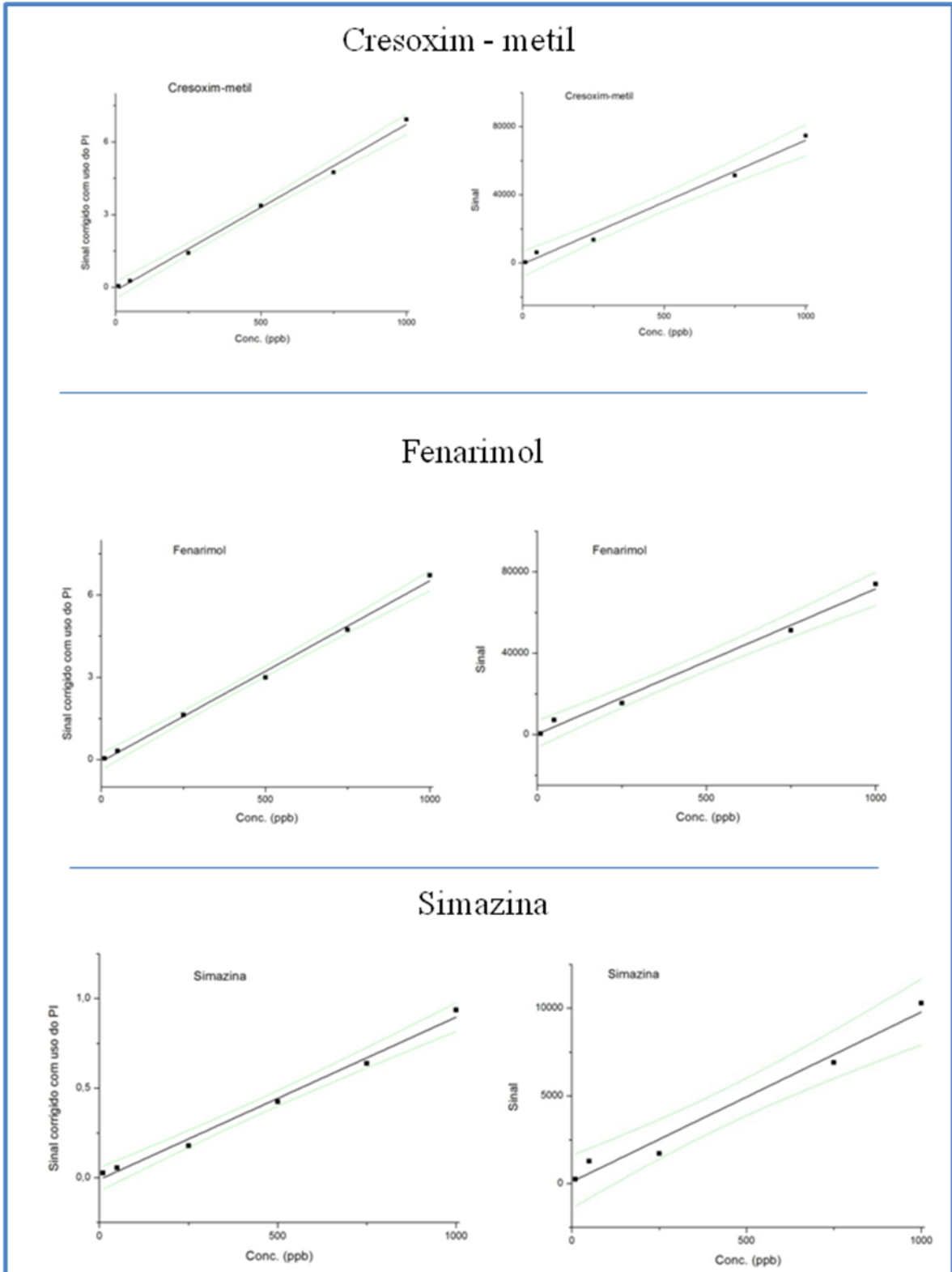


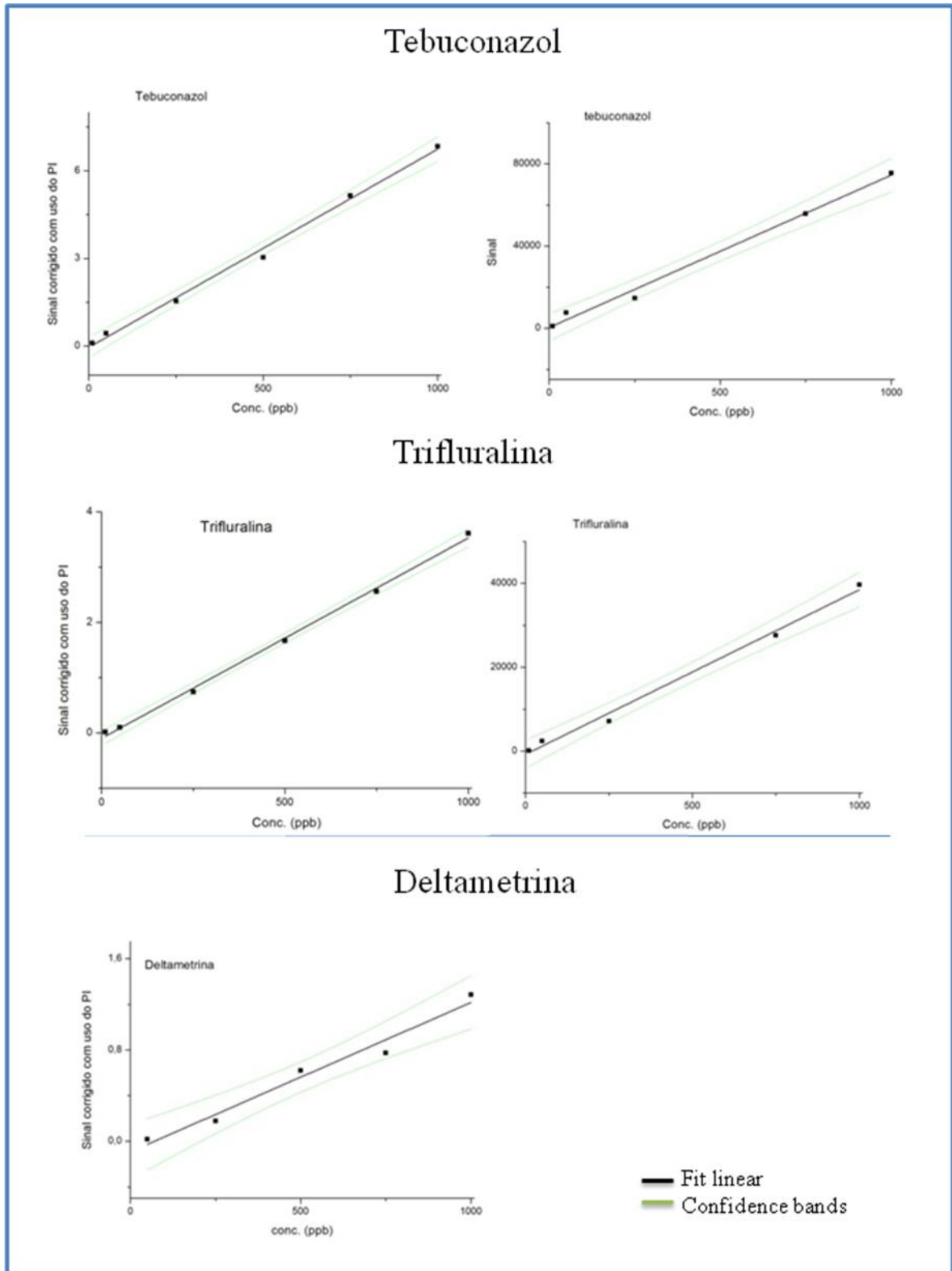
Fonte: O autor

4.3 Avaliação do método e análise de uma amostra real.

Com os dados das injeções das soluções preparadas no item 3.3 obtiveram-se as curvas analíticas ilustradas na figura 13 com as equações e os respectivos valores do coeficiente de determinação mostrados na tabela 07.

Figura 14 – Curvas de calibração obtidas.





Foi observado que uso do heptacloro como padrão interno promoveu melhoras na linearidade.

Tabela 07 – Equações da reta.

Pesticida	Uso do Padrão interno	Equação	Coefficiente de correlação
Cresoxim-metil	S	$- 0,12406 + 0,00685X$	0,9947
	N	$- 634,06527 + 72,67175X$	0,9875
Deltametrina	S	$- 0,09183 + 0,00131X$	0,9652
Fenarimol	S	$- 0,07106 + 0,00658X$	0,9957
	N	$294,84594 + 71,32755X$	0,9897
Simazina	S	$- 0,0099 + 9,058 \times 10^{-4} X$	0,9823
	N	$105,61216 + 9,67194 X$	0,9711
Tebuconazol	S	$- 0,04078 + 0,00678 X$	0,9946
	N	$385,35587 + 74,12999 X$	0,9904
Trifluralina	S	$- 0,09363 + 0,00362 X$	0,9971
	N	$- 746,29854 + 39,22546 X$	0,9913

Fonte: O autor.

S = sim e N= não.

A ANVISA que recomenda valores de R maiores que 0,99 e o INMETRO valores maiores do que 0,90 (MANSUR, 2013). Obteve-se equações com coeficiente de determinação variando entre 0,9652 e 0,9971. O uso do padrão interno heptacloro aperfeiçoou os coeficientes de determinação obtidos. Com exceção da curva obtida para a deltametrina todas as curvas contemplam o LMR indo de 10 ppb a 1000 ppb. Para a deltametrina a curva vai de 50 ppb e vai até 1000 ppb.

Kirschner et. al. (2008) avaliaram através de fast CG o uso de analitos protetores na análise de resíduos de pesticidas em maçãs. Foi avaliado o uso do heptacloro e do trifenilfosfato (TPP) como padrão interno. Selecionaram 16 pesticidas entre eles deltametrina e tebuconazol. Comparou-se os coeficientes de determinação obtidos para curvas construídas em diferentes situações: usando apenas o solvente acetonitrila ou o extrato da matriz ambos com e sem o uso dos analitos protetores e ainda normalizados ou não pelo uso do padrão

interno. O uso do padrão interno melhorou o coeficiente de determinação em todos os casos. O uso do TPP apresentou melhores resultados comparado ao uso do heptacloro.

Lorentz et. at. (2014) Em um trabalho de otimização utilizando GC-ECD. Avaliou a presença de 7 pesticidas em maçãs, tomates e morangos. Obtiveram coeficientes de determinação de 0,995 e 0,997 para a simazina e trifluralina respectivamente. Apresentou-se também os limites de detecção de 1,51 ($\mu\text{g kg}^{-1}$) para a simazina e 0,39 ($\mu\text{g kg}^{-1}$) para trifluralina.

Sousa et. al. (2013) avaliaram a presença de resíduos de 35 pesticidas em melões, utilizou-se o método QuEChERS citrato e GC-SQ/MS, dentre os pesticidas selecionados encontram-se: cresoxim-metílico, deltametrina, fenarimol e trifluralina. O método foi validado e para estes pesticidas obteve-se respectivamente os seguintes LQ: 0,015; 0,150; 0,030 e 0,030. Os valores de coeficientes de determinação obtidos foram 0,9905; 0,9904; 0,9934 e 0,9946 respectivamente.

Barbosa (2013) utilizando GC-MS e método de extração QuEChERS obteve r (coeficiente de correlação) de 0,9966 para a deltametrina e 0,9966 para o fenarimol 0,9976 para a simazina e 0,9980 para a trifluralina na matriz abacaxi utilizando uma etapa de rotoevaporação com a posterior re-suspensão dos analitos em uma mistura acetato de etila hexano.

Conforme citado no item 3.5 realizou-se ensaios de recuperação em dois níveis. O percentual de recuperação variou de 56,34% a 131,28 %. A tabela 08 reporta os resultados obtidos.

Tabela 08 – Valores percentuais de recuperação.

Pesticidas	Nível 1 (%)	Nível 2 (%)
	100 ng/mL	800 ng/mL
Cresoxim-metílico	131,28	116,82
Fenarimol	122,50	112,50
Simazina	56,34	101,80
Tebuconazol	130,33	114,60
Trifluralina	85,22	94,33

Fonte: O autor.

A exatidão de um método é fortemente dependente do nível de concentração dos analitos em geral níveis de concentração mais baixos implicam numa maior variabilidade. (BARBOSA, 2005)

Na recuperação avalia-se o desempenho do método como um todo, estimando as perdas durante a extração e o efeito matriz. (MILLIS, 2014). A ocorrência do efeito matriz pode gerar uma superestimação da concentração dos analitos. (MENEZES FILHO, 2010)

Sousa et. al. (2013) promoveram ensaios de recuperação em três níveis (0,05; 0,10 e 0,2 mg.Kg⁻¹) avaliando cresoxim-metílico, deltametrina, fenarimol, trifluralina e outros 31 pesticidas em melão. Adquiriram as seguintes faixas de valores percentuais respectivamente: 109,6 - 116,5; 105,1 - 112,5; 101,6 - 112,8 e 102,4 a 112,4.

Sobre a análise das amostras reais não foi detectada a presença dos compostos estudados.

Szpyrka et. al. (2014) avaliaram a presença de resíduos de pesticidas em diversas matrizes dentre elas a maçã. Utilizaram cromatógrafo a gás acoplado a detectores de captura de elétrons e de nitrogênio e fósforo. Entre os anos de 201-2012 analisou-se 268 amostras de maçã onde 166 apresentaram a presença de pesticidas em níveis acima do limite de detecção e 4 amostras apresentaram valores de resíduos acima do LMR. Dentre os pesticidas avaliados estão: Cresoxim-metílico, Deltametrina, fenarimol, tebuconazol e trifluralina e destes apenas cresoxim-metílico e fenarimol foram detectados em amostras de maçãs.

Bakırcı et. al. (2014) avaliaram 93 amostras de maçãs, entre outras frutas, coletadas entre os anos de 2010 a 2012 eles determinaram a concentração de resíduos de 186 pesticidas, entre os selecionados estavam cresoxim-metílico (UPLC-MS/MS), deltametrina (GC-ECD), fenarimol (GC-ECD e UPLC-MS/MS), simazina (UPLC-MS/MS) e tebuconazol (UPLC-MS/MS). Utilizaram o método QuEChERS citrato porém diluíram o extrato final em uma mistura de metanol com água. Em 64 amostras existia pelo menos um pesticida com resíduos detectáveis e em duas amostras os valores estavam acima do MRL sendo uma amostra com hexatiazoxi e a outra com Fosadona. Dos pesticidas estudados apenas a deltametrina foi detectada em uma amostra.

5 CONCLUSÃO

O extrato das maçãs orgânicas adquiridas estava apto para simular a matriz. Os dados obtidos mostram que o uso do heptacloro como padrão interno melhorou o coeficiente de determinação para todos os pesticidas estudados. Embora seja interessante um levantamento de um número maior de amostras colhidas em pontos comerciais de Fortaleza, é necessário ainda averiguar os limites de detecção e quantificação. Com exceção do pesticida simazina no menor nível de fortificação os ensaios de recuperação apresentaram-se aproximadamente dentro da faixa de 70-130%. O ensaio com as amostras reais não evidenciaram a presença dos pesticidas porém a não estimativa do limite de detecção torna esta afirmação não conclusiva.

REFERÊNCIAS

ALONZO, Herling Gregório Aguilar e CORRÊA, Cristiana Leslie - Praguicidas, 2013 - disponível em: <http://www.saude.rs.gov.br/upload/1417454923_Cap%20Praguicidas%20Fundamentos%20Toxicologia%202014%20.pdf> – acesso em 23 de novembro 2015

ANASTASSIADES, M. et al. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticides residue in produce. **Journal of AOAC International.**, v.86, n.2, p.412-431, 2003

BARBOSA, L.C.A. **Os pesticidas, o homem e o meio ambiente.** Minas Gerais: Ed. UFV, 2004.

BARBOSA, Pablo Gordiano Alexandre. Desenvolvimento de método analítico para determinação multirresíduo de agrotóxicos em abacaxi utilizando as técnicas QuEChERS E CG/EM. 2013. Dissertação (Mestrado em Química) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

BRUZZONITI, Maria Concetta et al.. QuEChERS sample preparation for the determination of pesticides and other organic residues in environmental matrices: a critical review. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 406, n. 17, p. 4089-4116, 2014.

CETNARSKI FILHO, Ricardo; DE CARVALHO, Ruy Inacio Neiva; MARTIN, Vinícius Caetano. Caracterização da maçã brasileira comercializada em Curitiba e região metropolitana. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 6, n. 1, p.21-27, jan./mar. 2017.

FIOCRUZ - SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES TÓXICO-FARMACOLÓGICAS. Disponível

em:<http://sinitox.icict.fiocruz.br/sites/sinitox.icict.fiocruz.br/files//NO%20tabela1_2013.pdf>. Acesso em: 03 julho 2017.

GIACINTI, Géraldine et al. Evaluation and prevention of the negative matrix effect of terpenoids on pesticides in apples quantification by gas chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1483, p. 8-19, 2017.

GUEDES, Jhonyson Arruda Carvalho. Validação de método analítico empregando QuEChERS e CG-EM para determinação multirresíduo de agrotóxico em goiaba. 2014. Dissertação (Mestrado em Química) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

HITES, Ronald A. Development of gas chromatographic mass spectrometry. **Analytical chemistry**, v. 88, n. 14, p. 6955-6961, 2016.

JARDIM, Isabel Cristina Sales Fontes et al. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global - Um enfoque às maçãs. **Química Nova**, v.32, n.4, p996-1012, 2009.

JANZANTTI, N. S.; FRANCO, Maria Regina B.; LANÇAS, Fernando M. Identificação de compostos voláteis de maçãs (*Malus Domestica*) cultivar Fuji, por cromatografia gasosa-espectrometria de massas. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 20, n. 2, p. 164-171, 2000.

KIRCHNER, Michal et al. Fast gas chromatography for pesticide residues analysis using analyte protectants. **Journal of chromatography A**, v. 1186, n. 1, p. 271-280, 2008.

LORENZ, Juliana G. et al. Multivariate optimization of the QuEChERS-GC-ECD method and pesticide investigation residues in apples, strawberries, and tomatoes produced in Brazilian south. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 9, p. 1583-1591, 2014.

MANSUR, Bethânia Leite et al. Estudo comparativo de métodos de extração multirresíduo de agrotóxicos em maçã e tomate. 2013.

MEIRA, Ana Paula Gasques. Técnicas de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos de origem vegetal: uma revisão. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 22, n. 2, p. 766-777, 2015.

MENEZES FILHO, Adalberto. Desenvolvimento, validação e aplicação de metodologias para determinação de resíduos de agrotóxicos em manga por SPME-GC-MS e SPME-HPLC-UV-Vis. 2016. Tese de Doutorado (Doutorado em Química) – Universidade Federal do Bahia, Salvador, 2010.

MILLIS, Gabrielli Charão. Utilização do método Quechers para a determinação simultânea de agrotóxicos em hortifrutigranjeiros. 2014.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Manual de Garantia da qualidade analítica resíduos e contaminantes**. Brasília, DF, 2011. Disponível em: <https://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwinzP2I49zVAhVGFZAKHdASDFEQFggmMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.agricultura.gov.br%2Fassuntos%2Flaboratorios%2Farquivos-publicacoes-laboratorio%2Fmanual-de-garantia-analitica-ilovepdf-compressed-ilovepdf-compressed.pdf%2F%40%40download%2Ffile%2FManual-de-Garantia-Analitica-ilovepdf-compressed-ilovepdf-compressed.pdf&usg=AFQjCNHb_NDJQtO1YO_dU7V0iT0LGI527Q> Acesso em: 03 julho 2017.

Moreira, J. C.; Jacob, S. C.; Peres, F.; Lima, J. C.; Meyer, A.; Oliveira-Silva, J. J.; Sarcinelli, P. N.; Batista, D. F.; Egler, M.; Faria, M. V. C.; Araújo, A. J.; Kubota, A. H.; Soares, M. O. Alves, S. R.; Moura, C. M.; Curi, R. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade de Nova Friburgo, RJ. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 7, n. 2, p. 299 – 311, 2002

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. Livro de Química na Web. Disponível em: <<http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C83476&Mask=200>>. Acesso em: 02 agosto 2017.

PAVANI, Nilton Dias. Pesticidas: uma revisão dos aspectos que envolvem esses compostos. 2016. Monografia (graduação em Química)- Faculdade de Ciências, Universidade Estadual Paulista, Bauru, 2016.

PASTRELLO, Bruna. Otimização de um método cromatográfico de análise de pesticidas organoclorados em amostras de peixes. 2013. Monografia (graduação em Química)- Faculdade de Ciências, Universidade Estadual Paulista, Bauru, 2012

PAZ, Mário et al. Validation of QuEChERS method for organochlorine pesticides analysis in tamarind (*Tamarindus indica*) products: Peel, fruit and commercial pulp. **Food Control**, v. 54, p. 374-382, 2015.

PTID - *Pesticide Target Interaction Database*- Disponível em:
<<http://lilab.ecust.edu.cn/ptid/index.html>>. Acessado em 03/07/18.

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, p.1620-1634, n.6, 2009

RIDGWAY, Kathy; LALLJIE, Sam PD; SMITH, Roger M. Sample preparation techniques for the determination of trace residues and contaminants in foods. **Journal of Chromatography A**, v. 1153, n. 1, p. 36-53, 2007.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova*. v.27, p.771-780, n.5, 2004.

SECRETARIA DE SAÚDE DO ESTADO DO PARANÁ. Disponível em:
<http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/zoonoses_intoxicacoes/Intoxicacao_por_Agrotoxicos.pdf>. Acesso em 03 julho 2017.

SOUSA, Jonas da Silva et al. Evaluation of an analytical methodology using QuEChERS and GC-SQ/MS for the investigation of the level of pesticide residues in Brazilian melons. **Food chemistry**, v. 141, n. 3, p. 2675-2681, 2013.

HOLLER, F. James; SKOOG, Douglas A.; CROUCH, Stanley R. **Princípios de análise instrumental**. Bookman, 2009.

SZPYRKA, Ewa et al. Evaluation of pesticide residues in fruits and vegetables from the region of south-eastern Poland. **Food Control**, v. 48, p. 137-142, 2015

UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE. Pesticide Properties DataBase. Disponível em:
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm>. Acesso em: 03 julho 2017

WANG, Shiow Y.; FAUST, Miklos. Variation in lipid composition of apples in relation to watercore. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 117, n. 5, p. 829-833, 1992.