

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE PESTICIDAS EM
CENOURAS UTILIZANDO EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO
PRESSURIZADO E CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À
ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

FERNANDA CONTIERI ABAD

Porto Alegre, dezembro de 2006.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

FERNANDA CONTIERI ABAD

**DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE PESTICIDAS EM
CENOURAS UTILIZANDO EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO
PRESSURIZADO E CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À
ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

Dissertação apresentada como requisito parcial
para a obtenção do grau de Mestre em Química

Profa. Dra. Cláudia Alcaraz Zini
Orientadora

Profa. Dra. Elina Bastos Caramão
Co-orientadora

Porto Alegre, dezembro de 2006.

DECLARAÇÃO DE AUTORIA

Este trabalho foi realizado pela autora, orientado pela Profa. Dra. Cláudia Alcaraz Zini e pela co-orientadora Profa. Dra. Eline Bastos Caramão. Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Química Analítica Ambiental e Oleoquímica (LAAO) e na Central Analítica, do Instituto de Química da UFRGS.

Esta Dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Química e aprovada em sua forma final, pela orientadora, co-orientadora e pela banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Claudia Alcaraz Zini

Co-orientadora: Profa. Dra. Elina Bastos Caramão

BANCA EXAMINADORA:

Prof Dr. Renato Zanella (DQ-UFSM/Santa Maria)

Profa. Dra. Maria do Carmo Ruaro Peralba (IQ-UFRGS/Porto Alegre)

Profa. Dra. Márcia Messias da Silva (IQ-UFRGS/Porto Alegre)

Prof. Dr. Adriano Lisboa Monteiro
Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Química

DEDICATÓRIA

À minha família

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

A minha família por todo o apoio, incentivo e pela paciência.

Às minhas orientadoras Elina e Cláudia que me incentivaram e acreditaram em mim desde o começo da graduação, e tornaram possível a realização deste trabalho.

Às pessoas que me iniciaram na pesquisa: Maria Inês, Eniz e Valéria.

Aos colegas do LAAO: Lisiane, Carin, Luciano, Laiza, Cecília, Rosângela, Regina, Rogério, Luiza, Andréia, Márcia, Tainá, Bruna, Pedro, Candice, Flaviana, Silvana, Michele, e mais tantos outros.

À Priscila e ao Emmanuel que ajudaram muito na realização deste trabalho.

Ao professor Edílson Benvenuti pela orientação nos assuntos de síntese inorgânica.

À FEPAM na pessoa de Ewelín Canizzares pelas discussões produtivas e auxílios de emergência.

À professora Maria do Carmo Ruaro Peralba pelo empréstimo do equipamento.

Às amigas Helena, Cláudia, Carolina e Aline pelo incentivo, alegria e momentos de descontração.

A todos que colaboraram na elaboração deste trabalho, meu reconhecimento.

SUMÁRIO

| | Pag. |
|---|------|
| SUMÁRIO | vi |
| LISTA DE FIGURAS | viii |
| LISTA DE TABELAS | ix |
| LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS | xi |
| RESUMO | xiv |
| ABSTRACT | xv |
| 1 INTRODUÇÃO | 1 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 4 |
| 2.1 PESTICIDAS | 5 |
| 2.2 PESTICIDAS ESTUDADOS | 8 |
| 2.3 MÉTODOS MULTIRRESÍDUO DE EXTRAÇÃO DE PESTICIDAS EM ALIMENTOS | 10 |
| 2.4 DISPERSÃO DA MATRIZ EM FASE SÓLIDA (<i>Matrix Solid Phase Dispersion – MSPD</i>) | 12 |
| 2.5 NOVAS FASES SÓLIDAS UTILIZADAS PARA EXTRAÇÃO DE PESTICIDAS | 14 |
| 2.6 EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO (<i>Pressurized Liquid Extraction - PLE</i>) | 16 |
| 3 PARTE EXPERIMENTAL | 22 |
| 3.1 MATERIAIS EMPREGADOS | 23 |
| 3.2 EQUIPAMENTOS | 24 |
| 3.3 LIOFILIZAÇÃO E DETERMINAÇÃO DA UMIDADE RESIDUAL | 24 |
| 3.4 PREPARAÇÃO DA VIDRARIA | 24 |
| 3.5 PREPARO DE SOLUÇÕES PADRÃO | 25 |
| 3.6 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DA FASE SÓLIDA <i>p</i> -NITRO-N-PROPILANILINA/SÍLICA (<i>p</i> NNPA) | 25 |
| 3.6.1 Análise elementar | 26 |
| 3.6.2 Isotermas de nitrogênio | 26 |
| 3.7 DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE ANÁLISE NO GC/MS | 27 |
| 3.8 FIGURAS DE MÉRITO | 27 |
| 3.8.1 Curva analítica e linearidade | 27 |
| 3.8.2 Limite de detecção e limite de quantificação | 28 |
| 3.8.3 Exatidão | 28 |
| 3.8.4 Precisão | 28 |

| | | |
|--------|--|----|
| 3.9 | EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO | 29 |
| 3.10 | DISPERSÃO DA MATRIZ EM FASE SÓLIDA (MSPD) | 29 |
| 3.11 | DISPERSÃO DA MATRIZ EM FASE SÓLIDA (MSPD) E EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE) | 30 |
| 3.11.1 | Dispersão da matriz em fase sólida (MSPD) e extração com líquido pressurizado (PLE) de cenouras in natura | 30 |
| 3.11.2 | Dispersão da matriz em fase sólida (MSPD) e extração com líquido pressurizado (PLE) de cenouras liofilizadas | 31 |
| 3.12 | DETERMINAÇÃO DOS ANALITOS EM AMOSTRAS COMERCIAIS | 32 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÕES | 33 |
| 4.1 | DETERMINAÇÃO DA UMIDADE | 34 |
| 4.2 | SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DA FASE SÓLIDA p-NITRO-N-PROPILANILINA/SÍLICA (pNNPA) | 34 |
| 4.3 | OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS | 37 |
| 4.4 | FIGURAS DE MÉRITO | 40 |
| 4.5 | EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO | 44 |
| 4.6 | DISPERSÃO DA MATRIZ EM FASE SÓLIDA (MSPD) | 45 |
| 4.7 | DISPERSÃO DA MATRIZ EM FASE SÓLIDA (MSPD) / EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE) | 51 |
| 4.8 | APLICAÇÃO DOS MÉTODOS A AMOSTRAS COMERCIAIS | 59 |
| 4.8.1 | Aplicação do método 1 | 59 |
| 4.8.2 | Aplicação do método 2 | 61 |
| 4.8.3 | Aplicação do método 3 | 62 |
| 5 | RESUMO DOS RESULTADOS | 65 |
| 6 | CONCLUSÕES | 71 |
| 7 | REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS | 74 |
| 8 | PRODUÇÃO CIENTÍFICA GERADA | 83 |
| 8.1 | TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS | 84 |
| 8.2 | TRABALHO ENVIADO PARA PUBLICAÇÃO | 85 |
| 8.3 | DEMAIS PUBLICAÇÕES DA AUTORA | 85 |
| 9 | TRABALHOS FUTUROS | 86 |
| | ANEXO 1: CÓPIA DO ARTIGO ENVIADO PARA PUBLICAÇÃO | 88 |

LISTA DE FIGURAS

| | Pag. |
|-----------|---|
| Figura 1 | Esquema da dispersão da matriz em fase sólida 13 |
| Figura 2 | Foto do Equipamento ASE-300TM 17 |
| Figura 3 | Etapas de extração com líquido pressurizado no sistema ASE300 – 18 Dionex |
| Figura 4 | Esquema da reação de enxerto no processo de síntese da <i>p</i> - 35 nitropropilanilina/sílica |
| Figura 5 | Curvas para as distribuições de poros para a sílica pura e após reação 36 com a <i>p</i> -nitropropilanilina |
| Figura 6 | Curvas de adsorção isotérmica de nitrogênio para as sílicas pura e 37 funcionalizada (<i>p</i> NNPA). |
| Figura 7 | Cromatograma de corrente total obtido no modo de monitoramento 39 seletivo de íons, para solução padrão 1 mg kg ⁻¹ da mistura de pesticidas e padrão interno (tribromobenzeno). Condições cromatográficas otimizadas mostradas no item 4.3. |
| Figura 8 | Cromatograma do extrato obtido a partir de uma amostra de cenouras 56 livre de pesticidas usando-se acetato de etila e XAD-7. B – Cromatograma dos 14 pesticidas extraídos com acetato de etila e sulfato de sódio de uma amostra de cenouras liofilizadas fortificadas. C – Cromatograma dos 14 pesticidas extraídos de cenouras liofilizadas fortificadas usando-se acetato de etila e XAD-7. As condições cromatográficas estão no item 4.3. |
| Figura 9 | Perfil cromatográfico do extrato obtido com <i>p</i> NNPA por MSPD da amostra 60 comercial SP3. Condições cromatográficas descritas no ítem DD |
| Figura 10 | Perfil cromatográfico do extrato obtido com XAD-7 e acetato de etila por 62 MSPD associada à PLE da amostra RS2. Condições cromatográficas descritas no ítem DD |
| Figura 11 | Perfil cromatográfico do extrato obtido da amostra comercial de cenouras 64 liofilizadas RS2 por PLE com sulfato de sódio anidro e acetato de etila. Condições cromatográficas descritas no ítem DD. |

LISTA DE TABELAS

| | | Pag. |
|-------------|---|------|
| Tabela I | Classificação dos pesticidas de acordo com os efeitos à saúde humana | 6 |
| Tabela II | Características dos analitos e limite máximo de resíduos (LMR) para a cultura de cenoura | 9 |
| Tabela III | Exemplos de métodos multirresíduo de pesticidas para análise de alimentos | 11 |
| Tabela IV | Exemplos de aplicações da dispersão da matriz em fase sólida na determinação de pesticidas em alimentos | 15 |
| Tabela V | Programação dos parâmetros de análise do detector seletivo de massas, no modo de monitoramento seletivo de íons, mostrando os íons característicos de cada analito e padrão interno e as respectivas janelas de aquisição | 38 |
| Tabela VI | Parâmetros das curvas analíticas, coeficientes de determinação (r^2), limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) para 14 pesticidas analisados por GC/MS. (n=5) | 40 |
| Tabela VII | Avaliação da repetibilidade de injeção dos pesticidas através de uma mistura padrão na concentração de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ com adição de padrão interno (tribromobenzeno $1 \mu\text{g mL}^{-1}$). (n=8) | 42 |
| Tabela VIII | Avaliação da precisão intermediária de injeção dos pesticidas através de uma mistura padrão na concentração de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ com adição de padrão interno (tribromobenzeno $1 \mu\text{g mL}^{-1}$). (n=8) | 43 |
| Tabela IX | Percentuais de recuperação (desvio padrão) para os 14 pesticidas investigados, obtidos quando o método multiresíduo modificado do INCQS foi empregado (n=9) | 44 |
| Tabela X | Percentual de recuperação (desvio padrão) dos analitos extraídos por MSPD com diferentes agentes dispersantes, utilizando-se cenouras liofilizadas (n=9) | 46 |
| Tabela XI | Percentual de recuperação (desvio padrão) dos analitos extraídos por MSPD com diferentes agentes dispersantes, utilizando-se cenoura <i>in natura</i> (n=9) | 47 |
| Tabela XII | Percentuais de recuperação (desvio padrão) dos analitos extraídos por MSPD com misturas de fases sólidas e amostras <i>in natura</i> e liofilizadas. (n=6) | 50 |
| Tabela XIII | Percentuais de recuperação (desvio padrão) obtidos para 14 pesticidas | 55 |

utilizando várias fases sólidas ou agentes secantes e solventes extratores no sistema MSPD/PLE com amostras de cenouras liofilizadas. (n=9)

Tabela XIV Percentuais de recuperação (desvio padrão) obtidos para a 58 determinação de pesticidas em cenouras *in natura* por dispersão da matriz em fase sólida/extração com líquido pressurizado, com diversos solventes e agentes dispersantes. (n=9)

Tabela XV Quantidade de resíduos de pesticidas encontrados em amostras 60 comerciais de cenouras utilizando-se o método proposto em cenouras *in natura* e pNNPA em comparação com os LMR de diversas instituições. (n=15)

Tabela XVI Quantidade de resíduos de pesticidas encontrados em amostras 61 comerciais de cenouras liofilizadas, utilizando-se o método proposto com XAD-7 e acetato de etila por MSPD associada à PLE, em comparação com os LMR de diversas instituições. (n=15)

Tabela XVII Quantidade de resíduos de pesticidas encontrados em amostras 63 comerciais de cenouras liofilizadas, utilizando-se o método que emprega PLE com sulfato de sódio anidro e acetato de etila em comparação com os LMR de diversas instituições. (n=15)

SIGLAS E ABREVIATURAS

| | |
|---------|--|
| 2,4 D | Ácido 2,4 – diclorofenoxiacético |
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| ASE | Extração acelerada com solvente (<i>Accelerated Solvent Extraction</i>) |
| BET | Método de Brunauer, Emmett e Teller |
| BJH | Método de Barret, Joyner e Halenda |
| BPA | Boas práticas agrícolas |
| C18 | Fase sólida à base de sílica modificada com grupos octadecil |
| C8 | Fase sólida à base de sílica modificada com grupos octil |
| DAD | Detector de arranjo de diodos (<i>Diode Array Detector</i>) |
| DDD | Diclorodifenildicloroetano |
| DDE | Diclorodifenildicloroetileno |
| DDT | Diclorodifeniltricloroetano |
| DEA | Dietilaminapropil |
| DL | Dose letal |
| DL50 | Dose letal para 50% da população |
| DVB | Divinil benzeno |
| ECD | Detector de captura de elétrons (<i>Electron Capture Detector</i>) |
| ELISA | Teste de imunossorção enzimática (<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>) |
| ESI | Ionização por electrospray (<i>Electrospray Ionization</i>) |
| EU | União Européia (<i>European Union</i>) |
| EUA | Estados Unidos da América |
| FBE | Extração em leito fluidizado (<i>Fluidized – Bed Extraction</i>) |
| FIOCRUZ | Fundação Oswaldo Cruz |
| FPD | Detector fotométrico de chama (<i>Flame Photometric Detector</i>) |
| FTD | Detector termiônico de chama (<i>Flame Thermionic Detector</i>) |
| GC | Cromatografia gasosa (<i>Gas Chromatography</i>) |
| GPC | Cromatografia de permeação em gel (<i>Gel Permeation Chromatography</i>) |
| HPA | Hidrocarboneto poliaromático |
| HPLC | Cromatografia líquida de alta eficiência (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>) |
| IBAMA | Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais |
| ICH | Conferência Internacional em Harmonização (<i>International Conference on Harmonization</i>) |
| INCQS | Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde |

| | |
|----------------|---|
| IT | Aprisionamento de íons (<i>Ion trap</i>) |
| LC | Cromatografia líquida (<i>Liquid Chromatography</i>) |
| LLE | Extração líquido - líquido (<i>Liquid- Liquid Extraction</i>) |
| LMR | Limite Máximo de Resíduos |
| LOD | Limite de detecção (<i>Limit of Detection</i>) |
| LOQ | Limite de quantificação (<i>Limit of Quantification</i>) |
| LP | Baixa pressão (<i>Low pressure</i>) |
| MAE | Extração assistida por microondas (<i>Microwave Assisted Extraction</i>) |
| MAPA | Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento |
| MS | Espectrometria de massas (<i>Mass Spectrometry</i>) |
| MS/MS | Espectrometria de massas bidimensional (<i>Tandem Mass Spectrometry</i>) |
| MSPD | Dispersão da matriz em fase sólida (<i>Matrix Solid Phase Dispersion</i>) |
| n | Número de replicatas |
| n.p. | Não permitido |
| NPD | Detector de nitrogênio e fósforo (<i>Nitrogen Phosphorous Detector</i>) |
| PA | Poliacrilato |
| PCB | Bifenila policlorada (<i>Polichlorinated biphenyl</i>) |
| PCI/EI | Ionização química positiva/ ionização eletrônica (<i>Positive Chemical Ionization/ Electron Ionization</i>) |
| PDMS | Polidimetilsiloxano |
| pKa | Potencial de dissociação de ácido |
| PLE | Extração com líquido pressurizado (<i>Pressurized Liquid Extraction</i>) |
| pNNPA | p-nitro-N-propilanilina/silica |
| r ² | Coeficiente de determinação |
| RP | Fase reversa (<i>Reverse Phase</i>) |
| S | Inclinação da curva (<i>Slope</i>) |
| s | Estimativa do desvio padrão absoluto |
| SBSE | Extração com barra agitadora (<i>Stir Bar Sorptive Extraction</i>) |
| SFE | Extração com fluido supercrítico (<i>Supercritical Fluid Extraction</i>) |
| SIA | Sistema de Informação sobre Agrotóxicos |
| RSD | Desvio padrão relativo (<i>Relative Standard Deviation</i>) |
| SIM | Monitoramento Seletivo de Íons (<i>Single Ion Monitoring</i>) |
| SPE | Extração em fase sólida (<i>Solid Phase Extraction</i>) |
| SPME | Microextração em fase sólida (<i>Solid Phase Microextraction</i>) |
| TBB | Tribromobenzeno |
| TD | Dessorção térmica (<i>Thermal Desorption</i>) |

| | |
|-------|--|
| URI | Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões |
| US | Ultra-som |
| USEPA | Agência Americana de Proteção Ambiental (<i>United States Environmental Protection Agency</i>) |
| UV | Ultravioleta |

RESUMO

Neste trabalho foram desenvolvidos três métodos de extração e análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas para doze pesticidas (captana, clorotalonil, deltametrina, diclorana, folpete, linuron, malation, prometrina, procloraz, procimidona, triclorfon e trifluralina) em amostras de cenouras, os quais foram aplicados com sucesso em quatro amostras adquiridas no comércio local. Durante o desenvolvimento dos métodos, foram testadas várias condições experimentais, tais como diferentes fases sólidas e solventes. O primeiro método consistiu no uso de dispersão de matriz em fase sólida (MSPD) e emprega uma fase nova (*p*-nitro-*N*-propilalanilina/sílica - *p*NNPA) e uma solução de diclorometano:acetato de etila (1:1) para determinação de dez pesticidas em amostras de cenouras frescas: triclorfon, diclorana, captana, clorotalonil, procimidona, deltametrina, trifluralina, prometrina, linuron, procloraz. Os valores de recuperação obtidos ficaram na faixa de 48 a 106% e a precisão alcançada na recuperação foi de 6 a 20%. A *p*NNPA foi sintetizada e caracterizada através de análise elementar, determinação da área superficial e do diâmetro dos poros. O segundo método utiliza MSPD associada à extração com líquido pressurizado (PLE) com a fase sólida XAD-7 e acetato de etila em cenouras liofilizadas. Este foi desenvolvido para determinação de resíduos de sete pesticidas em cenouras (triclorfon, clorotalonil, malation, folpete, procimidona, procloraz, deltametrina), para os quais se alcançou recuperações de 70 a 130% e precisões de 6 a 21%. O terceiro método emprega PLE com sulfato de sódio anidro e acetato de etila para determinação de sete pesticidas (triclorfon, diclorana, linuron, captana, procimidona, procloraz, deltametrina) em cenouras liofilizadas. Neste, foram alcançadas recuperações de 74 a 102% e precisões na faixa de 10 a 32%. Os coeficientes de determinação das curvas analíticas situaram-se na faixa de 0,9821 a 0,9997, os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) para os vários compostos investigados ficaram entre 0,0024 mg kg⁻¹ e 0,1968 mg kg⁻¹, e entre 0,0072 mg kg⁻¹ e 0,5963 mg kg⁻¹, respectivamente. A repetibilidade foi inferior a 11% e a precisão intermediária foi um pouco superior a 15% somente para o folpete.

Constatou-se que a eficiência dos métodos em questão é superior à do método convencional de extração sólido-líquido, sendo semelhante ou superior ao que se obtém com a fase sólida C₁₈, que é a fase mais comumente empregada para MSPD.

Todos os três métodos alcançaram LOD e LOQ aceitáveis pelas agências reguladoras. Estes métodos foram aplicados com sucesso em quatro amostras de cenouras comerciais, constatando-se nas mesmas, a presença de vários pesticidas, alguns deles acima dos limites máximos de resíduos de agências reguladoras, tais como USEPA, União Européia e ANVISA.

ABSTRACT

Three analytical methods were developed for the extraction and analysis using gas chromatography/mass spectrometry of twelve pesticides (captan, chlorothalonil, deltametrin, dichloran, folpet, linuron, malathion, prometryn, prochloraz, procymidone, trichlorphon, and trifluralin) in carrots. During method development, several experimental conditions were tested for extraction, such as different solid phases and solvents. These methods were successfully applied to four samples of carrots purchased in local markets. Matrix solid phase dispersion (MSPD) was the first method developed with a new solid phase (*p*-nitro-N-propylaniline/silica – *p*NNPA) and dichloromethane: ethyl acetate (1:1) solution for the determination of ten pesticides (trichlorphon, chlorothalonil, dichloran, captan, procymidone, deltametrin, trifluralin, prometryn, linuron, prochloraz) in fresh carrots samples. Recoveries ranged from 48 to 106% and precisions were good (6 to 20%). The new solid phase *p*NNPA was synthesized and characterized by elemental analysis, determination of surface area and diameter of the pores. MSPD associated with pressurized liquid extraction (PLE) was employed in the development of a second method for the determination of trichlorphon, chlorothalonil, malathion, folpet, procymidone, prochloraz, deltametrin in lyophilized carrots, using XAD-7 as solid phase and ethyl acetate as solvent. Recoveries were in the range of 70 to 130% and precisions varied from 6 to 21%. In the third method, PLE was performed using sodium sulphate and ethyl acetate for the determination of seven pesticides (trichlorphon, dichloran, linuron, captan, procymidone, prochloraz, deltametrin) in lyophilized carrots. Recoveries were in the range of 74 to 102% and precisions varied from 10 to 32%. Determination coefficients of the analytical curves presented values between 0.9821 and 0.9997, limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) for the various components varied from 0.0024 and 0.1968 mg kg⁻¹, and 0.0072 to 0.5963 mg kg⁻¹, respectively. Repeatability was less than 11% and intermediate precision was a little higher than 15% only for folpet.

The efficiency of the three developed methods was higher than the one obtained with the conventional solid-liquid method. Likewise, the new methods presented similar or superior performance in comparison with results obtained with C₁₈, the most commonly used solid phase for MSPD.

All the three methods reached acceptable LOD and LOQ by some regulatory agencies, such as USEPA, European Union and ANVISA. The application of these methods to four commercial carrot samples showed that residues of various pesticides were found in these samples, and some of them were above the maximum residue limit.

1 INTRODUÇÃO



1 INTRODUÇÃO

A cenoura (*Daucus carota*) é uma hortaliça da família *Apiaceae*, do grupo das raízes tuberosas, de elevado valor nutritivo, sendo provavelmente uma das melhores fontes de vitamina A. É originária da Europa e da Ásia, cultivada, principalmente, na forma das variedades Brasília, Kuronan e Alvorada nas regiões Sudeste, Nordeste e Sul do Brasil. Elas apresentam textura macia e paladar agradável. Além do consumo *in natura*, é utilizada como matéria prima para indústrias processadoras de alimentos, que a comercializam na forma minimamente processada (minicenouras, cubos, ralada, em rodela) ou processada na forma de seleta de legumes, alimentos infantis e sopas instantâneas¹.

O Brasil produz anualmente cerca de 750 mil toneladas de raízes de cenoura, em uma área de aproximadamente 28 mil hectares². O coeficiente técnico para o cultivo de 1 hectare de cenoura, na região dos cerrados, é de um total de 7 a 10 kg de agrotóxicos, divididos entre herbicidas, fungicidas e inseticidas³.

O tipo de plantio, que este vegetal necessita, ou seja, contato direto e imersão no solo, como também, sua anatomia (fina película permeável no corpo do fruto, que o separa do meio de cultivo) faz com que ele esteja, facilmente, em contato com os pesticidas usados naquele período de plantio, bem como com os resíduos deixados de outras colheitas¹.

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), aos produtores de cenouras é permitida a aplicação de 36 princípios ativos. O fato de tantos princípios ativos estarem disponíveis deve-se à grande diversidade de pesticidas sintéticos no mercado. A produção destes compostos começou por volta de 1940, gerando, a partir daí, grandes benefícios no aumento da produção agrícola. Contudo, a maioria dos pesticidas não consegue se degradar completamente na

natureza. Desta forma, o monitoramento de resíduos de pesticidas em alimentos é um objeto prioritário de pesquisa, de forma a propiciar a avaliação da qualidade dos alimentos, evitando assim possíveis riscos à saúde humana devido à exposição indireta aos pesticidas⁴.

A ANVISA, em seu Projeto de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos, objetiva avaliar a qualidade e a segurança dos alimentos consumidos pela população, caracterizar as fontes de contaminação, proporcionar uma avaliação quanto ao uso inadequado e não autorizado de agrotóxicos, estimular a adoção de Boas Práticas Agrícolas (BPA), além de fornecer subsídios para a reavaliação dos estudos de resíduos apresentados à ANVISA para fins de registro de pesticidas. Para tanto, diversas culturas são monitoradas no País. Entre elas estão as cenouras produzidas em alguns estados, incluindo o Rio Grande do Sul.

O consumo de cenoura é muito importante para a saúde humana, uma vez que é fonte fundamental de carotenóides que são transformados em vitamina A pelo organismo⁵. Além disso, testes promovidos por Brandt e colaboradores⁶ indicaram atividade anticâncer (diminuição em 40%) em ratos devido ao consumo de cenoura. O composto falcarinol é apontado como responsável por esta ação, embora seu mecanismo de proteção não seja conhecido. É oportuno ressaltar também que a cenoura é alimento presente em diversos produtos alimentícios infantis⁷. Estudo publicado em 2003 comprova que crianças de até um ano de idade que consomem alimentos convencionais (geralmente produzidos com o uso de pesticidas) têm mais chances de desenvolver problemas respiratórios (4 vezes mais chance de desenvolver asma)⁸. Este e outros problemas que os resíduos de pesticidas podem causar à saúde humana e no meio ambiente são a motivação deste trabalho. Desta forma, este estudo busca desenvolver um método analítico que seja rápido, econômico e ambientalmente correto, para determinação de captana, clorotalonil, deltametrina, diclorana, fention, folpete, iprodiona, linuron, malation, prometrina, procloraz, procimidona, triclorfon e trifluralina em cultura de cenouras. As técnicas de extração empregadas foram: dispersão da matriz em fase sólida, extração com líquido pressurizado, e subsequente análise por cromatografia gasosa com detector seletivo de massas (GC/MS).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA



2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PESTICIDAS

Agrotóxicos, defensivos agrícolas, pesticidas, praguicidas, remédios de plantas, venenos são algumas das inúmeras denominações relacionadas a um grupo de substâncias químicas utilizadas no controle de pragas e doenças de plantas⁹. A discussão sobre a nomenclatura correta dessa gama de produtos varia de acordo com os interesses dos grupos envolvidos para dar diferentes conotações ao termo.

Na literatura internacional em língua inglesa, esse grupo de substâncias é denominado pesticida. Neste trabalho, utilizaremos esse termo, que é largamente utilizado para muitos produtos químicos, sintéticos ou naturais, que servem para controlar insetos, fungos, bactérias, ervas daninhas, roedores, nematóides e outras pestes¹⁰.

Qualquer organismo que interfere de alguma maneira com o bem estar humano ou suas atividades é chamado peste. Alguns insetos, roedores, bactérias, fungos e outros organismos competem com os seres humanos por alimento; outros causam ou disseminam doenças. Procura-se controlar estas pestes pela redução de sua população, utilizando, usualmente, pesticidas, principalmente na agricultura¹¹.

Pesticidas têm salvado milhões de vidas matando insetos que carregam doenças e aumentando a quantidade de alimento que produzimos. A agricultura moderna depende de pesticidas para fornecer frutas e vegetais a um custo razoável para os agricultores (em consequência, para os consumidores)¹¹.

Contudo, existem alguns problemas associados ao uso de pesticidas como, por exemplo, o desenvolvimento de resistência genética por parte da planta, que é uma característica herdada que diminui o efeito do pesticida sobre a peste¹²; criação de desequilíbrios no ecossistema; criação de novas pestes; persistência e magnificação biológica¹³, mobilidade no ambiente e riscos à saúde humana¹⁴.

De acordo com parâmetros como mobilidade e persistência em solos brasileiros, toxicidade aguda e crônica realizados com diferentes organismos não alvos (abelhas, algas, peixes, entre outros), os pesticidas são classificados quanto à periculosidade ambiental em classes que variam de I a IV: de produtos impeditivos de obtenção de registro, produtos altamente perigosos ao meio ambiente (Classe I) a produtos pouco perigosos ao meio ambiente (Classe IV)¹⁵. Observando-se a exposição humana a esses agentes, a avaliação dos pesticidas em função dos efeitos à saúde, resulta em diferentes classes toxicológicas, de acordo com a Tabela I. Esta classificação obedece ao resultado de testes ou estudos realizados em laboratório, que tentam estabelecer a dosagem letal (DL) do pesticida em 50% dos animais utilizados naquela concentração¹⁵.

Tabela I: Classificação dos pesticidas de acordo com os efeitos à saúde humana

| Classe toxicológica | Toxicidade | DL50 | Faixa colorida |
|---------------------|---------------------|----------------------------------|----------------|
| I | Extremamente tóxico | $\leq 5 \text{ mg kg}^{-1}$ | Vermelha |
| II | Altamente tóxico | 5 a 50 mg kg^{-1} | Amarela |
| III | Mediamente tóxico | 50 a 500 mg kg^{-1} | Azul |
| IV | Pouco tóxico | 500 a 5.000 mg kg^{-1} | Verde |
| - | Muito pouco tóxico | $\geq 5.000 \text{ mg kg}^{-1}$ | - |

A Organização Mundial da Saúde¹⁶ estima que ocorram no mundo cerca de três milhões de intoxicações agudas por agrotóxicos com 220 mil mortes por ano. Destas, cerca de 70% ocorrem em países do chamado Terceiro Mundo. Além da intoxicação de trabalhadores que têm contato direto ou indireto com esses produtos, a contaminação de alimentos tem levado a um grande número de intoxicações, tanto

decorrentes de exposição aguda como de crônica. A exposição a alimentos contaminados configura uma exposição crônica. Esta pode aparecer semanas, meses, anos ou até mesmo gerações após o período de uso/contato com tais produtos, sendo, portanto, mais difícil de identificação. Em muitos casos pode até ser confundida com outros distúrbios, ou simplesmente não estar aparentemente relacionada ao agente causador¹⁷.

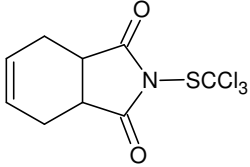
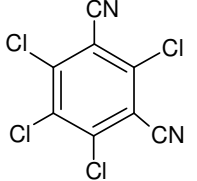
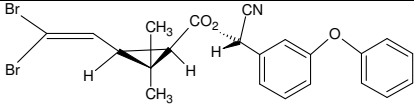
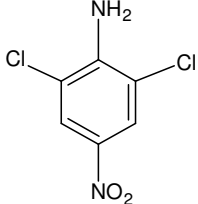
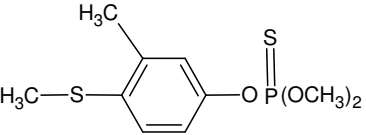
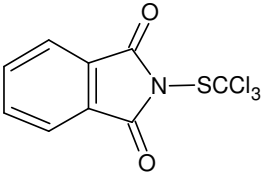
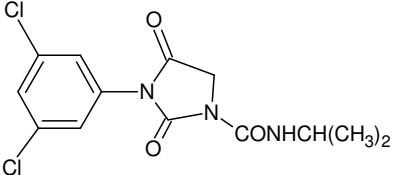
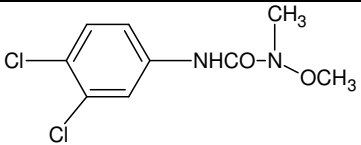
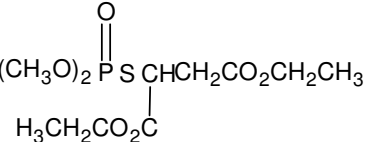
Em relação ao papel da dieta na exposição humana a pesticidas, supõe-se que a ingestão de alimentos, mesmo contendo baixas doses de resíduos de pesticidas, possa causar danos aos tecidos, freqüentemente associada ao câncer¹⁷. Muitos legumes e verduras fazem parte da alimentação infantil, tornando a avaliação da toxicidade química em crianças de importância incomparável, visto que os danos causados ao sistema fisiológico antes de seu desenvolvimento completo podem alterar permanentemente o sistema.

Os principais cânceres relacionados com crianças e sua exposição a pesticidas são a leucemia, neuroblastoma, sarcoma de tecidos moles, osteosarcoma, sarcoma de Ewing, linfoma não-Hodgkins, cânceres de cérebro, coloretal, testículos e tumor de Wilm (este último muito relacionado também à exposição materna na gestação)¹⁸. Os pesticidas da classe dos organofosforados, bem como os carbamatos atuam no organismo humano inibindo um grupo de enzimas denominadas colinesterases. Essas enzimas atuam na degradação da acetilcolina, um neurotransmissor responsável pela transmissão dos impulsos no sistema nervoso (central e periférico). Uma vez inibida, essa enzima não consegue degradar a acetilcolina, ocasionando um distúrbio chamado de crise colinérgica, principal responsável pelos sintomas observados nos eventos de intoxicação por estes produtos, tais como: contrações musculares involuntárias, convulsões e outras neuropatias, além de alterações cromossômicas e dermatites de contato¹⁷. Um tipo de linfoma (câncer do sistema linfático) tem sido associado com a exposição crônica ao herbicida ácido 2,4-diclorofenoacético (2,4D). Outros pesticidas têm sido associados a uma variedade de tipos de câncer, incluindo leucemia e câncer de cérebro, pulmões e testículos¹¹. Organofosforados, como a fention, estudada neste trabalho, linuron e a procimidona apresentam interações com receptores endócrinos¹⁹.

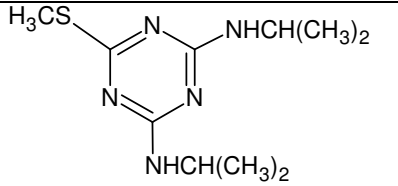
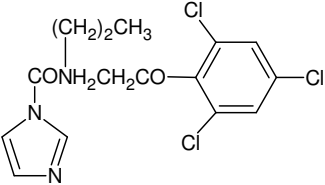
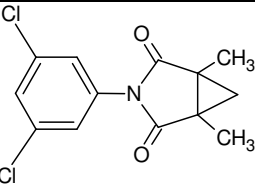
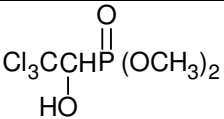
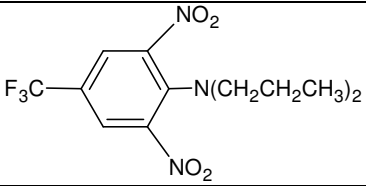
2.2 PESTICIDAS ESTUDADOS

Os pesticidas alvo deste trabalho foram definidos, por cultura a ser estudada (cenoura), a partir da consulta ao Sistema de Informações sobre Agrotóxicos (SIA) organizado pela ANVISA²⁰ e que foi instituído pelo decreto nº 4.074, de janeiro de 2002 com obrigação legal assumida também pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais (IBAMA) e pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A Tabela II apresenta a lista de pesticidas empregados para a cultura de cenouras, que são objetos deste estudo, com os respectivos limites máximos de resíduos (LMR) para a ANVISA, a Agência Americana de Proteção Ambiental (*United States Environmental Protection Agency* – USEPA) e a União Européia (*European Union* - EU), e outras informações pertinentes.

Tabela II: Características dos analitos e limite máximo de resíduos (LMR) para a cultura de cenoura.

| Analito | Estrutura | Grupo químico | Classe | LMR (mg kg ⁻¹) | | |
|--------------|---|-----------------|--|----------------------------|---------------------|------------------|
| | | | | ANVISA ²¹ | USEPA ²² | EU ²³ |
| Captana |  | dicarboximida | fungicida | - | 2,0 | 0,1 |
| Clorotalonil |  | isofaltonitrila | fungicida | 0,5 | 1,0 | 1,0 |
| Deltametrina |  | piretróide | inseticida formicida | - | - | 0,05 |
| Diclorana |  | cloroaromático | fungicida | - | 10 | - |
| Fention |  | organofosforado | inseticida formicida acaricida cupinicida | - | - | - |
| Folpete |  | dicarboximida | fungicida | - | - | 0,1 |
| Iprodiona |  | dicarboximida | fungicida | 1,0 | 5,0 | 0,3 |
| Linuron |  | uréia | herbicida | 1,0 | 1,0 | - |
| Malation |  | organofosforado | inseticida acaricida | - | 8,0 | 0,5 |

continuação da Tabela II:

| | | | | | | |
|--------------|--|-----------------------|------------|------|-----|------|
| Prometrina |  | triazina | herbicida | 0,02 | 0,1 | - |
| Procloraz |  | imidazolilcarboxamida | fungicida | 0,5 | - | 0,05 |
| Procimidona |  | dicarboximida | fungicida | 1,0 | - | 0,02 |
| Triclorfon |  | organofosforado | inseticida | 0,05 | - | 0,5 |
| Trifluralina |  | dinitroanilina | herbicida | 0,05 | 1,0 | - |

2.3 MÉTODOS MULTIRRESÍDUO DE EXTRAÇÃO DE PESTICIDAS EM ALIMENTOS

Os métodos analíticos usados para determinação de resíduos de pesticidas em alimentos estão divididos em dois grupos: os métodos singulares e os métodos multirresíduo. Os primeiros são aplicados para análise de um único pesticida ou de seu metabólito mais importante em uma ou várias matrizes, e os métodos multirresíduos, como o próprio nome indica, são aplicados para análise de vários pesticidas de um mesmo grupo químico ou de diferentes funções químicas em uma ou várias matrizes. O interesse sobre resíduos de pesticidas em frutas e verduras conduziu ao desenvolvimento de vários métodos multirresíduo como maneira mais econômica para realizar estas análises. Devido aos baixos níveis de detecção exigidos pelas agências reguladoras e à natureza complexa das matrizes em que os analitos estão presentes, uma eficiente preparação de amostra, detecção em nível

de traços e identificação, são aspectos importantes para a elaboração de um método analítico. O desenvolvimento de um método multirresíduo é difícil, pois compostos de diferentes polaridades, solubilidades, volatilidades e valores de potencial de dissociação de ácido (pKa) devem ser extraídos e analisados simultaneamente.

A Tabela III apresenta alguns exemplos de métodos multirresíduo de pesticidas. A maioria destes métodos envolve a agitação da amostra com solvente, sempre em grandes quantidades.

Tabela III: Exemplos de métodos multirresíduo de pesticidas para análise de alimentos.

| Pesticidas estudados | Método de extração | Técnica | Ref. |
|---|--|------------------------------|------|
| Organofosforados entre outros | SPE com RP-18-polar plus e GPC com S-X3 | GC-NPD e GC-ECD | 24 |
| 31 pesticidas multiclasse | agitação com diclorometano e filtração | GC-MS/MS | 25 |
| Malationa, clorpirifós, 4,4'DDE, 4,4'DDT, carbofurano e atrazina | SFE e ASE <i>com clean up</i> com SPE com C ₁₈ e alumina básica | GC/MS e ELISA | 26 |
| 81 pesticidas multiclasse | agitação com diclorometano e filtração | GC-MS/MS | 27 |
| Fungicidas e dicarboximidas | agitação com acetona com <i>clean up</i> com Florisil | LC-UV, LC-DAD, GC-ECD; GC/MS | 28 |
| Cipermetrina, metomil, pirimifós etílico, endossulfan, monocrotofós, terbufós, clorotalonil, metalaxil, parationa etílica, captana, clorpirifós metílico e etiona | agitação com acetona e LLE com n-hexano | GC/MS, GC-FTD e GC-ECD | 29 |
| Organoclorados, nitrogenados e fosforados | agitação com acetoneitrila e SPE com ENVI-18 e ENVI-Carb | GC-FTD e GC/MS | 30 |
| 55 organofosforados, organoclorados e piretróides | agitação com acetato de etila | GC-PCI/EI-MS/MS | 4 |
| Triazinas | SBSE com PDMS | SBSE-TD-GC/MS | 31 |
| Monolinuron, linuron e clorbromuron | LLE com diclorometano-éter de petróleo (1:1) e SPE com C ₁₈ | GC-NPD | 32 |
| 72 pesticidas | agitação com diclorometano | LP-GC-MS/MS | 33 |
| 31 pesticidas multiclasse | agitação com acetato de etila | LC/MS | 34 |
| 90 pesticidas multiclasse | vortex com acetona e SPE com PS-DVB. <i>Clean up</i> com DEA/sílica | GC/MS | 35 |
| 25 organoclorados e piretróides | agitação com n-hexano e SPE com C ₁₈ | GC-ECD | 36 |
| 108 pesticidas e/ou metabólitos | metanol-água e LLE com diclorometano | LC-MS/MS | 37 |
| Pesticidas multiclasse | agitação com diclorometano | LP-GC-MS/MS | 38 |
| 72 pesticidas multiclasse | - | LP-GC-MS/MS | 39 |
| 54 pesticidas multiclasse | agitação com diclorometano | GC-MS/MS | 40 |

Obs.: Ver lista de abreviaturas para saber o significado

2.4 DISPERSÃO DA MATRIZ EM FASE SÓLIDA (*Matrix Solid Phase Dispersion* –MSPD)

Em 1989, Barker e colaboradores⁴¹ desenvolveram esta técnica de extração como uma modificação da extração em fase sólida (*solid phase extraction* - SPE) com o objetivo de extrair analitos de amostras sólidas e semi-sólidas. A SPE é usualmente empregada com o propósito de isolar um ou mais analitos presentes em uma matriz líquida ou extrato de uma matriz sólida⁴².

A MSPD é uma alternativa aos métodos clássicos de preparação de amostra (extração sólido-líquido, por exemplo), porque permite redução significativa da quantidade de amostra e do consumo de solvente necessários para uma análise multiresíduo⁴³, além de reduzir o risco de formação de emulsões⁴⁴.

A dispersão da matriz em fase sólida consiste na homogeneização de uma pequena quantidade de amostra (0,1 a 5 g) com um material adsorvente. Esta mistura é transferida para uma coluna ou cartucho. Os analitos são extraídos com solventes orgânicos que são percolados pela coluna. O mecanismo de MSPD inclui a homogeneização da amostra, rompimento celular, extração, fracionamento e purificação em um simples processo^{44:45}. Um esquema da MSPD pode ser visto na Figura 1.

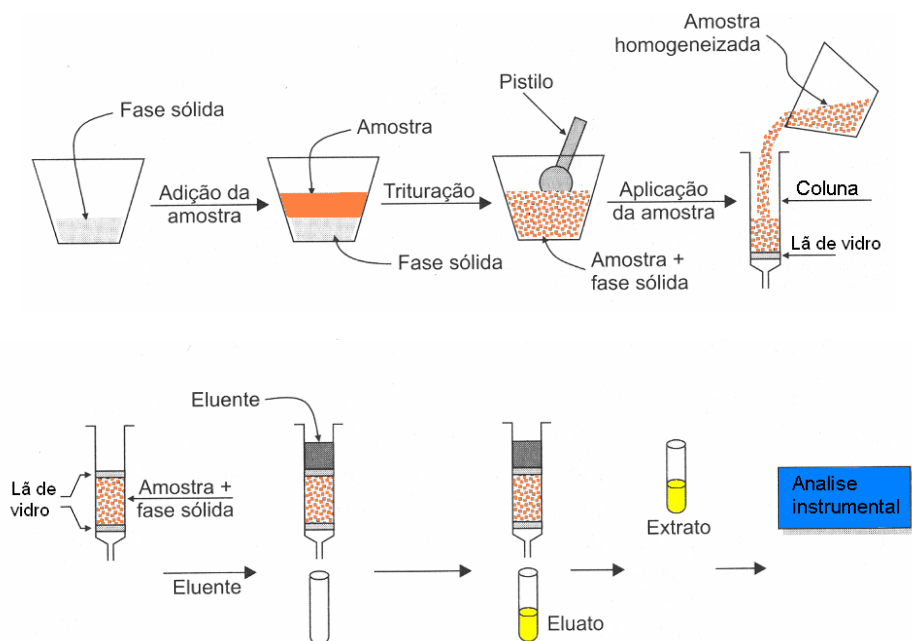


Figura 1: Esquema da dispersão da matriz em fase sólida

Esta técnica envolve a dispersão da amostra sobre um suporte sólido, seguida de eluição⁴⁶. O objetivo da MSPD é dividir a amostra em partículas menores, de forma a se obter a exposição de maior área superficial da mesma durante o processo de extração⁴⁷. Os suportes sólidos podem ser constituídos de um só material (Florisil, sílica ou alumina, etc.) ou podem ser suportes recobertos por uma fase orgânica (C₈, C₁₈, amino, ciano, entre outras). Neste último caso, é adicionada uma nova dimensão ao processo: a fase orgânica ligada age como um solvente ou detergente que dissolve e dispersa os componentes da amostra na fase ligada, além de promover a dispersão na superfície do suporte sólido. Espera-se que os componentes da amostra se distribuam pela superfície e na fase ligada, de acordo com suas polaridades relativas⁴⁸.

Os fatores que afetam a dispersão da matriz em fase sólida são: a natureza do suporte sólido (tamanho de poro, com ou sem *end-capping*, base de sílica ou polimérica), a natureza da fase ligada ao suporte (fase reversa, fase normal, e com ou sem pré condicionamento da fase), a natureza da amostra (conteúdo de água, açúcar), modificações na matriz (ajustes de pH), e a natureza e a ordem dos solventes de eluição⁴⁷.

Diversos trabalhos foram realizados utilizando esta técnica para determinação de pesticidas em alimentos (alguns exemplos são mostrados na Tabela IV), mas nenhum deles investigou a aplicação de MSPD para determinação de captana, clorotalonil, deltametrina, diclorana, fention, folpete, iprodiona, linuron, malation, prometrina, procloraz, procimidona, triclorfon e trifluralina, simultaneamente, em cenouras, tema que é objeto deste trabalho.

2.5 NOVAS FASES SÓLIDAS UTILIZADAS PARA EXTRAÇÃO DE PESTICIDAS

Diversas tentativas têm sido feitas para melhorar a eficiência de técnicas de extração, tais como a dispersão da matriz em fase sólida (MSPD)⁴⁹, extração em fase sólida (SPE)⁵⁰ e microextração em fase sólida (SPME)^{51;52} pela modificação de fases sólidas existentes ou pelo uso de novas fases sólidas para aplicação em diversas matrizes, como alimentos⁵³ e água⁵⁴.

Melo e colaboradores sintetizaram dois novos sorventes (aminopropil (NH₂) e octadecil (C₁₈)) para SPE obtidos à base de sílica pela deposição de siloxanos seguido de imobilização térmica. Foram testados para a extração do fungicida benomil e dos herbicidas tebutiurom, diuron, simazina, atrazina e ametrina em uvas e analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography* – HPLC)⁵⁵.

Tabela IV: Exemplos de aplicações da dispersão da matriz em fase sólida na determinação de pesticidas em alimentos.

| Pesticidas estudados | Método de extração | Técnica | Ref. |
|---|--|-----------------|------|
| 106 multiclasse pesticidas (organoclorados, organofosfarados, carbamatos, piretróides, e triazinas) | terra de diatomácea | GC/MS | 56 |
| ometoato, dimetoato, carbendazim, propoxur, tiabendazol, carbaril, pirimicarbe, azinfós metílico, metidationa e iprodiona | terra de diatomácea | LC/MS | 57 |
| Acrinatrina, carbosulfano, ciproconazol, λ -cialotrina, cresoxim- metílico, pirifenox, piriproxim, propanil e tebufenpirade | C ₁₈ e agitação com acetato de etila | LC-ESI-MS/MS | 58 |
| Isômeros de endossulfam e sulfato de endossulfam | ultra-som com Florisil e alumina | GC/MS e GC-ECD | 59 |
| Captana, carboxina, fludioxonil, flutolanil, folpete, primetamil, quitozeno e tebuconazol | C ₁₈ | GC-NPD e GC-ECD | 60 |
| Diazinona e etiona | C ₁₈ , ciano, fenil e amino | GC-NPD | 61 |
| Monocrotófos, paration, cipermetrina e deltametrina | sílica gel e <i>clean up</i> com alumina | GC/MS | 62 |
| Diclorana, flutriafol, o-fenilfenol, procloraz e tolclofós metílico | C ₈ | LC-UV | 63 |
| Dieldrin, endrin, heptacloro, hexaclorobenzeno, endossulfam, p,p'-DDD, o,p'-DDE, o,p'-DDT, p,p'-DDT, dicofol, metoxicloro, mirex, clorotalonil, parationa metílica, fenitrotiona, folpete, malationa, diazinona, cis e trans-permetrina | C ₁₈ e <i>clean up</i> com SPE com sílica | GC-ECD | 64 |
| Diazinona, paration metílico, fenitrotion, malation, clorpirifós, fentoato, metidationa, profenofós e etiona | Florisil com eluição por US | GC-NPD | 65 |
| Bromopropilato, clorpirifós metílico, cipermetrina, deltametrina, fenarimol, fenvalerato, imazanil, lindano, permetrina, fentoato, procimidona, propiconazol e vinclozolina | C ₁₈ e carbono grafitizado | GC-ECD e MS | 45 |
| Clorfenvinfós, clorpirifós, fenarimol, iprodiona, procimidona, propiconazol, tetradifon, triadimefon e vinclozolin | alumina, sílica e Florisil | GC/MS | 66 |
| 266 pesticidas, entre eles: deltametrina, diclorana, fention, folpete, iprodiona, malation, trifluralina, procimidona e captana | terra de diatomácea | GC/MS | 10 |
| Bitertanol, carbendazina, fentiona, imidacloprid, metiocarbe, piriproxim e triclorfon | C ₈ e SBSE/US | GC/MS e LC/MS | 46 |
| Malationa, parationa metílica e β -endossulfan | alumina | GC-NPD | 67 |
| Diazinona, parationa metílica, fenitrotiom, malationa, fentiona, clorpirifós etílico, bromofós metílico, metidatiom, azinfós metílico e permetrina | C ₈ , C ₁₈ e sílica | GC/MS | 68 |

Obs.: Para o significado das abreviaturas, ver lista de abreviaturas.

Três novos tipos de fibras polares para SPME, recobertas com éteres coroa vinílicos, foram preparados pelo processo sol-gel e utilizados para extração de diclorvós, forato, diazinona, metil paration, fenitrotion, malation, paration e etion por

SPME em sucos de maçã e tomate. A utilização das novas coberturas apresentou eficiência e sensibilidade superiores às coberturas disponíveis comercialmente poliacrilato (PA) e polidimetilsiloxano-divinilbenzeno (PDMS-DVB)⁶⁹.

As fases sólidas, bifenilaminopropilsilica e a bifenilaminopropilsilicatitania foram sintetizadas pelo método de sol-gel e empregadas como sorventes para SPE na determinação de compostos carcinogênicos como isoquinolina, quinolina, fenantridina, acridina e 7,8-benzoquinolina. A adsorção destes compostos foi influenciada pela presença de titânia na fase sólida, alcançando-se neste caso melhores recuperações dos analitos⁷⁰.

As sílicas organofuncionalizadas apresentam-se úteis para serem utilizadas em processos de extração porque associam um material inorgânico com a imobilização de grupos orgânicos que produzem o suporte mecânico e as características morfológicas, e uma grande variedade de combinações das propriedades físico-químicas do sorvente sintetizado.

Para a MSPD, a literatura registra apenas exemplos de modificação transitória em fases sólidas comerciais como, por exemplo, sílica modificada com ácido clorídrico ou sulfúrico⁷¹.

2.6 EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO (*Pressurized Liquid Extraction* - PLE)

Extração com líquido pressurizado (PLE) ou extração acelerada com solvente (ASE) é um processo automatizado de extração de compostos orgânicos que pode ser aplicado a uma variedade de amostras sólidas e semi-sólidas^{72;73}. A PLE difere de um processo tradicional de extração porque utiliza solvente em elevada temperatura e pressão, as quais são aplicadas à célula de extração contendo uma quantidade de amostra conhecida, que é mantida aquecida durante todo o tempo de extração. Após a extração, o extrato é liberado através da passagem de gás inerte (N₂ ultra puro), e a amostra é lavada com uma quantidade definida do mesmo solvente usado na extração (*flushing*). O extrato e o líquido de lavagem são

coletados em um frasco apropriado. A Figura 2 apresenta uma foto do equipamento ASE®300 fabricado pela Dionex (Sunnyvale, EUA).



Figura 2: Foto do Equipamento ASE-300® - Dionex

O processo de extração é realizado a temperaturas que excedem o ponto de ebulição do solvente, o que implica na manutenção de alta pressão na célula de extração para conservar o solvente no estado líquido. A elevação da temperatura aumenta a solubilidade, razão de difusão e transferência de massa, uma vez que a viscosidade e a tensão superficial dos solventes são menores do que à temperatura ambiente. Também desfavorece as fortes interações entre o soluto e a matriz, causadas por forças de van der Waals, pontes de hidrogênio e interações de dipolo entre as moléculas do soluto e os sítios ativos da matriz. A alta pressão melhora a penetração do solvente na matriz, o que favorece a extração. A técnica ainda apresenta tempo de extração reduzido e diminuição do volume de solvente^{72;74}.

O processo de extração com líquido pressurizado (PLE) usando o equipamento ASE300® consiste em seis etapas principais: 1) Colocação da célula no forno; 2) Preenchimento da célula com solvente; 3) Extração estática; 4) Lavagem com solvente novo (*flushing*); 5) Purga do solvente do sistema com liberação da pressão residual e 6) colocação da célula no carrossel. Um esquema mostrando este processo de extração pode ser visualizado na Figura 3.



Figura 3: Etapas de extração com líquido pressurizado no sistema ASE300® – Dionex

O uso da extração com líquido pressurizado apresenta algumas vantagens tais como: redução no tempo de extração, facilidade de operação, simplificação do preparo da amostra antes da extração, extração de compostos termicamente degradáveis devido ao uso de alta pressão, possibilidade de uso de somente um solvente ou uma mistura de solventes, redução significativa na quantidade de solvente utilizada e alta reprodutibilidade dos parâmetros de extração (temperatura, pressão, tempo estático e volume de lavagem) devido ao uso um sistema totalmente automatizado. O alto custo do equipamento pode ser considerado uma desvantagem desta técnica.

A técnica de extração com líquido pressurizado foi introduzida na prática analítica apenas em 1995. Desde então, a maioria das aplicações referem-se a amostras ambientais. A técnica também já foi aplicada em amostras como alimentos e rações para determinação de bifenilas policloradas (PCB)⁷⁵ e quinolonas⁷⁶,

gordura animal para esteróides e anabolizantes⁷⁷, solos para determinação de hidrocarbonetos poliaromáticos (HPA)^{78,79} dibenzofuranos policlorados e dibenzo-p-dioxinas policloradas⁸⁰, herbicidas⁸¹, PCB^{72,82} hidrocarbonetos, fosfatos e ácido fosfórico⁸³, hidrocarbonetos⁸⁴, compostos de arsênio⁸³, fenóis⁸⁵, pesticidas⁸⁶⁻⁸⁸ e aromáticos⁸⁹. Sedimentos para a determinação de PCB⁹⁰, dibenzo-p-dioxinas policloradas⁹¹, HPA^{92,93} e trialkilaminas⁹⁴. Também foram analisados vários produtos alimentícios⁹⁵⁻⁹⁷ como peixes^{98,99} laranjas, bananas e alimentos processados¹⁰⁰, peixes, cereais, frutas e vegetais¹⁰¹, cereais, salsichas, chocolate e leite em pó¹⁰², uvas¹⁰³, maçãs¹⁰⁴ e produtos cárneos¹⁰⁵, além de carvão¹⁰⁶⁻¹⁰⁸ e plantas medicinais^{109;110-114}.

A PLE foi comparada com Soxhlet, extração assistida por microondas (*Microwave Assisted Extraction* – MAE) e extração em leito fluidizado (*Fluidized Bed Extraction* - FBE), para a determinação de pesticidas organoclorados em ração animal certificada. Os resultados obtidos com PLE foram superiores em termos de eficiência, apresentando menor consumo de solvente, curto tempo de extração e automação, utilizando-se 100 °C e 9 minutos de extração em 2 ciclos, n-hexano:acetona (3:2), 1700 psi, lavagem de 60% (lavagem realizada com solvente novo preenchendo 60% do volume vago da célula) e purga de 1 minuto com nitrogênio¹¹⁵. Estes parâmetros foram otimizados empregando-se metodologia de superfície de resposta¹¹⁶.

Os pesticidas clorpirifós e malation (organofosforados), 4,4-DDE, 4,4-DDD e 4,4-DDT (organoclorados) foram determinados em alimentos para bebês, comparando-se extração com fluido supercrítico (*Supercritical Fluid Extraction* - SFE) e PLE, utilizando-se GC/MS e ensaios enzimáticos (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* - ELISA) para separação e detecção. O conteúdo de gordura da amostra comprometeu a quantificação de malation e clorpirifós pela técnica de PLE¹¹⁷.

Obana e colaboradores⁹⁷ desenvolveram um método para análise de resíduos de 19 pesticidas organofosforados em brócolis, toranja, suco de laranja e farinha. Após a PLE, empregaram cromatografia de permeação em gel (*Gel Permeation Chromatography* - GPC) seguida de determinação dos analitos por cromatografia gasosa com detector fotométrico de chama (*Gas Chromatography* – Flame

Photometric Detector - GC-FPD). A melhor recuperação dos analitos foi obtida com a mistura ciclohexano:acetona (1:1) como solvente de extração.

Blasco e colaboradores¹¹⁸ estudaram a variação dos parâmetros de operação de PLE para determinação de bitertanol, carbendazim, hexitiazox, imazalil, imidacloprido, metidationa, metiocarbe, piriproxifem, tiabendazol e triclorfon em laranjas e pêssegos, com posterior análise por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas com íon trap (*high performance liquid chromatography-ion trap mass spectrometry* - LC-IT-MS). O procedimento otimizado dispersa a amostra em alumina acidificada a qual é extraída com acetato de etila (lavagem de 100%) a 75 °C, 1500 psi durante 7 minutos por dois ciclos. Foram obtidas recuperações entre 40 e 108% com desvio - padrão entre 5% e 12%. Os limites de quantificação dos compostos variaram entre 0,025 e 0,25 mg kg⁻¹.

A extração com líquido pressurizado foi utilizada também para determinação de atrazina (herbicida do grupo das triazinas) em rins bovinos realizando-se *clean up in situ* (MSPD) com XAD-7. Foi utilizada água em estado subcrítico modificada com etanol. A análise foi realizada através de micro extração em fase sólida (SPME) e dessorção em GC/MS¹¹⁹.

A GC/MS é uma das ferramentas analíticas mais empregadas para determinação de resíduos de pesticidas como já foi apontado nas Tabelas II e III, embora, alguns resíduos sejam analisados por outras técnicas como, por exemplo, os N-metilcarbamatos^{96;120}.

Tendo em vista todas as vantagens descritas para as técnicas de MSPD, PLE e GC/MS, e que este trabalho trata do desenvolvimento de um método analítico multiclasse multirresíduo para a determinação de captana, clorotalonil, deltametrina, diclorana, fention, folpete, iprodiona, linuron, malation, prometrina, procloraz, procimidona, triclofon e trifluralina em cultura de cenouras, os objetivos específicos são:

- Desenvolver e/ou adaptar métodos analíticos utilizando as técnicas de dispersão da matriz em fase sólida e cromatografia gasosa com detector de espectrometria de massas capazes de determinar os analitos triclofon, trifluralina, diclorana, clorotalonil, linuron, captana, fention, malation, prometrina, folpete, procimidona, procloraz, iprodiona, deltametrina em amostras de cenouras.
- Sintetizar e caracterizar a fase sólida *p*-nitro-N-propilanilina/sílica, e aplicá-la em método desenvolvido com dispersão da matriz em fase sólida e para a determinação dos analitos.
- Aplicar os métodos desenvolvidos em amostras comerciais de cenouras para a quantificação dos analitos.

3 PARTE EXPERIMENTAL



3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 MATERIAIS EMPREGADOS

Os solventes utilizados, acetona, acetato de etila e diclorometano (grau para análise, Merck), foram destilados e conservados em frascos de vidro.

Os compostos padrão captana, clorotalonil, deltametrina, diclorana, fention, folpete, iprodiona, linuron, malation, prometrina, procloraz, procimidona, triclorfon e trifluralina apresentavam pureza acima de 95% e foram adquiridos da Sigma - Aldrich (Seelze, Alemanha).

Foram empregadas resinas Amberlite XAD-4 (Prolabo, França) e XAD-7 (Fluka, França), Florisil (J. T. Baker, EUA) com diâmetro de partícula entre 140 e 250 µm, sílica gel com 17 a 18% de sua superfície modificada com C₁₈ (Fluka, Suíça) com diâmetro de partícula entre 0,040-0,063 mm, e Celite 545 (Nuclear, Rio de Janeiro).

As amostras de cenouras, produzidas sem adição de agrotóxicos, foram adquiridas na Cooperativa Central dos Assentados no Rio Grande do Sul no Mercado Público de Porto Alegre em 19 de setembro de 2005. Estas foram armazenadas, sem a folhagem, em frasco de vidro no freezer, até a sua utilização. Nos casos em que o material foi liofilizado, procedeu-se de acordo com o item 3.5.

As amostras de cenouras utilizadas para aplicação dos métodos de extração desenvolvidos foram adquiridas no comércio de Porto Alegre/RS. Foram selecionadas 4 amostras que foram nomeadas RS1, RS2, SP3 e SP4. As duas primeiras provenientes de plantações na região metropolitana de Porto Alegre e as duas últimas de plantações em São Paulo.

Os extratos foram tratados com sulfato de sódio anidro e cloreto de sódio. Lã de quartzo foi empregada no processo de MSPD. O sulfato de sódio foi ativado em forno por 12 horas à temperatura de 250 °C.

3.2. EQUIPAMENTOS

- Extração com líquido pressurizado: Dionex modelo ASE-300®
- Balança analítica: Shimadzu modelo AY220
- Liofilizador: Modular 5260, modelo 4KEDWARD
- Balança de infravermelho: Martin ID200 CE96
- Liquidificador com copo de metal marca Skymesen, 800 W de potência.
- Agitador magnético Quimis Aparelhos Científicos modelo 261.1, 50/60 Hz.
- Bomba de vácuo turbo molecular, Edward modelo E2M1.5
- Manômetro capilar de mercúrio
- Cromatografia em Fase Gasosa com Detector Seletivo de Espectroscopia de Massas (GC/MS): Shimadzu modelo QP5050A e Agilent modelo 6890, MS - 5973 e injetor automático 7683

3.3 LIOFILIZAÇÃO E DETERMINAÇÃO DA UMIDADE RESIDUAL

As amostras de cenouras trituradas foram liofilizadas em Liofilizador Modular 5260, modelo 4KEDWARD. A determinação de umidade foi realizada em duplicata, utilizando-se balança de infravermelho Martin ID200 CE96. Estes procedimentos foram realizados no campus de Erechim da URI (Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões).

3.4 PREPARAÇÃO DA VIDRARIA

Todos os materiais empregados para o desenvolvimento do trabalho (vidraria, espátulas, cerâmicas, células de extração, etc.) foram limpos com água e detergente

neutro, enxaguados primeiramente com água da torneira, depois com água destilada, acetona e heptano. A seguir foram colocados no forno a 300 °C por 3 horas, exceto o material volumétrico que foi seco ao ar.

Para a silanização da vidraria, esta foi lavada com Extran[®] alcalino (Merck, Rio de Janeiro) 2%, enxaguada com água da torneira, água destilada, metanol, acetona e n-hexano. A secagem foi feita em estufa a 105 °C (com exceção da vidraria volumétrica que foi seca ao ar). Os frascos foram preenchidos com a solução silanizante (10% (v/v) de diclorodimetilsilano em tolueno (Acros Organics, Bélgica) e colocados dentro de um saco plástico na capela devido à formação de ácido clorídrico. Ao término da reação, os frascos foram enxaguados com tolueno e metanol e a sua secagem foi realizada como descrito anteriormente¹²¹.

3.5 PREPARO DE SOLUÇÕES PADRÃO

As soluções padrão estoque foram preparadas pesando-se os pesticidas em frascos individuais em balança analítica de precisão (Shimadzu, AY220) e dissolvendo-os em acetona em balões de 5 mL. Estas soluções foram vedadas com Parafilm “M” e guardadas no freezer. As diluições e preparações de misturas dos padrões foram realizadas adicionando-se volumes conhecidos, com auxílio de micropipeta em balões volumétricos, completando-se o volume com acetona. A quantificação foi realizada pelo método de padronização interna utilizando-se tribromobenzeno (TBB) como padrão interno.

3.6 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DA FASE SÓLIDA *p*-NITRO-*N*-PROPILANILINA (*p*NNPA)

A síntese foi realizada em duas etapas: Inicialmente foram ativadas 20 g de sílica gel (Carlo Erba), com diâmetro de partículas entre 0,2 e 0,5 mm, a 120 °C sob vácuo durante 9 horas. Sobre essa sílica foi adicionado o 3-cloropropiltrimetoxisilano (26 mmol). A mistura foi aquecida à temperatura de 85 °C durante 14 horas, sob

fluxo de argônio e agitação mecânica, usando-se tolueno como solvente. A sílica resultante, funcionalizada com o grupo cloropropil, foi filtrada e lavada com pequenas porções de tolueno. Em uma segunda etapa, 20 mmol de *p*-nitroanilina foram dissolvidas a quente em tolueno e adicionada à sílica funcionalizada com 3-cloropropiltrimetoxisilano. A reação ocorreu sob fluxo de argônio e refluxo a 85 °C. Após 40 horas, a sílica modificada foi lavada com etanol e éter etílico até que o filtrado apresentasse ausência de coloração e então foi seca em estufa a 60 °C.

3.6.1 ANÁLISE ELEMENTAR

O material obtido da reação de enxerto foi caracterizado por análise elementar, utilizando-se um equipamento CHN Perkin Elmer modelo 2400. A análise foi realizada em duplicata, após aquecimento do material a 100 °C, sob vácuo, durante 1 h.

3.6.2 ISOTERMAS DE NITROGÊNIO

As isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio de sólidos, previamente degaseificados a 150 °C, foram determinadas na temperatura de ebulição do nitrogênio líquido, em um aparelho volumétrico desenvolvido no Laboratório de Química do Estado Sólido e Superfícies da UFRGS, acoplado em um sistema de alto vácuo (Bomba Edward turbomolecular). As medidas de pressão foram feitas usando-se um manômetro capilar de mercúrio. A área superficial do sorvente *p*-nitro-N-propilanilina/sílica foi determinada utilizando-se o método de Brunauer, Emmett e Teller (BET)¹²² e a distribuição do tamanho de poros foi obtida usando-se o método de Barret, Joyner e Halenda (BJH)¹²³.

3.7 DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE ANÁLISE NO GC/MS

Para determinação do tempo de retenção e íons representativos de cada analito, foi injetada no cromatógrafo a gás, uma solução individual de cada pesticida e também do padrão interno na concentração de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$. A otimização das condições cromatográficas, dos parâmetros de análise do detector de espectrometria de massas e o cálculo dos fatores de resposta relativos foram obtidos pela injeção de uma solução de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de todos os analitos, além do padrão interno.

As análises foram realizadas no modo de monitoramento seletivo de íons (SIM – *Single Ion Monitoring*) do detector de espectrometria de massas.

3.8 FIGURAS DE MÉRITO

3.8.1 CURVA ANALÍTICA E LINEARIDADE

A linearidade foi estudada através da construção das curvas analíticas obtidas utilizando soluções padrão da mistura de pesticidas preparadas em solvente na faixa de concentração de 0,025 a 2,500 mg L^{-1} contendo 1 mg L^{-1} de padrão interno (tribromobenzeno). Foram analisadas cinco soluções com diferentes concentrações, das quais foram obtidos dados que resultaram em uma equação do tipo $y = ax + b$, onde: y é a variável dependente (área do analito/área do padrão interno), x é variável independente (concentração do analito/concentração do padrão interno), a é o coeficiente angular e b o coeficiente linear. A linearidade foi mensurada pela análise do coeficiente de determinação (r^2).

3.8.2 LIMITE DE DETECÇÃO E LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO

O limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ) foram determinados de acordo com as diretrizes da Conferência Internacional em Harmonização (ICH – *International Conference on Harmonization*). O Guia ICH Q2B¹²⁴ sugere o cálculo baseado no desvio-padrão s , da resposta (intersecção da curva) e na inclinação, S , da curva analítica. Para o limite de detecção:

$$\text{LOD} = 3,3 (s/S)$$

E para o limite de quantificação:

$$\text{LOQ} = 10 (s/S)$$

3.8.3 EXATIDÃO

A exatidão foi determinada através de ensaios de recuperação. Estes foram realizados pela adição de uma quantidade conhecida dos padrões de pesticidas a amostras de cenoura livres de resíduos dos analitos. Após a extração dos analitos e injeção no cromatógrafo a gás, as respostas obtidas foram comparadas com aquelas dadas pela análise da solução padrão de concentração conhecida dos compostos em estudo¹²⁵. Todos os resultados foram registrados em base úmida.

3.8.4 PRECISÃO

A precisão intermediária é definida como a expressão das variações dentro de um laboratório, como: dias, analistas, métodos ou equipamentos diferentes sobre uma mesma amostra ou padrão. Deve-se variar uma ou mais das condições citadas¹²⁵. A repetibilidade do método analítico (desvio padrão da recuperação) foi determinada para cada condição estudada, pela extração realizada em triplicata e análise cromatográfica em quintuplicata ($n=15$). Também foi determinada a

repetibilidade e precisão intermediária obtidas nas injeções cromatográficas através de 8 injeções de solução padrão na concentração de 1 mg L^{-1} .

3.9 EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO

A fim de avaliar os métodos de extração desenvolvidos, foi realizada a extração de cenouras cultivadas sem adição de pesticidas e fortificadas com os mesmos, pelo método multirresíduo validado do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) integrante da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)¹²⁶, inspirado em um método holandês¹²⁷. Neste método, cada amostra é homogeneizada e dividida em 2 alíquotas: a primeira de 15-30 g, para a realização de análises pelo método multirresíduo, e a segunda (de 100 a 200 g) para determinação de ditiocarbamatos. Neste trabalho, apenas a extração com o método multirresíduo do INCQS foi empregada, para o qual foram feitas modificações. O método utilizado é descrito conforme segue: as extrações foram realizadas com 10 g de cenoura sob agitação magnética primeiramente com 30 mL de acetona, sendo o extrato separado para posterior redução de volume e análise. Em seguida, a mesma amostra foi extraída com igual volume de diclorometano e, na seqüência, com 30 mL de éter de petróleo. Os extratos tiveram seus volumes reduzidos e foram analisados por GC/MS. A determinação dos analitos foi feita através de extrações e injeções em triplicata (n=9).

3.10 DISPERSÃO DA MATRIZ EM FASE SÓLIDA (MSPD)

Foram utilizadas 20 g de cenouras liofilizadas, fortificadas com 1,55 mL de solução padrão (50 mg L^{-1}) de pesticidas diluída em 5 mL de diclorometano. Esta diluição é feita para obter-se um volume maior da solução de fortificação para melhor homogeneização da mistura. A concentração final dos analitos em base úmida foi de $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$. A amostra foi homogeneizada por 5 minutos em gral de aço inox e o solvente residual evaporado na capela.

Para os procedimentos de MSPD utilizaram-se também 3 g de cenouras *in natura* fortificadas e 3 g de cada fase sólida (Celite, XAD-4, XAD-7, Florisil, pNNPA) ou misturas de fases sólidas (C₁₈ + XAD-4, C₁₈ + XAD-7 e C₁₈ + Florisil). Para o desenvolvimento do método, também foi testada a extração de 1 g de cenouras liofilizadas e fortificadas e 2 g de cada fase sólida (C₁₈, XAD-4, XAD-7, Florisil, pNNPA) ou misturas de fases sólidas (C₁₈ + XAD-4, C₁₈ + XAD-7 e C₁₈ + Florisil). A amostra foi dispersa em cada uma das fases sólidas, em cápsula de porcelana, durante aproximadamente 3 minutos. O material resultante deste processo foi adicionado a uma coluna de vidro silanizada já contendo lã de quartzo em sua base. Foram percolados pela coluna 50 mL de uma mistura 1:1 de diclorometano e acetato de etila, os quais foram coletados em béquer silanizado. Os extratos assim obtidos foram evaporados, concentrados a 0,5 mL e a eles foi adicionada concentração conhecida de padrão interno para fins de análise, utilizando-se GC/MS. Estes experimentos foram realizados em triplicata. Para cada condição de extração testada foi realizado o mesmo procedimento, utilizando-se cenouras sem fortificação, de onde foi obtida a solução branco do método de extração.

3.11 DISPERSÃO DA MATRIZ EM FASE SÓLIDA (MSPD) E EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE)

A dispersão da matriz em fase sólida seguida de extração com líquido pressurizado foi testada em cenouras *in natura* e liofilizadas, tendo-se determinado a recuperação dos analitos em ambas as matrizes.

3.11.1 DISPERSÃO DA MATRIZ EM FASE SÓLIDA (MSPD) E EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE) DE CENOURAS *in natura*

Cenouras cultivadas sem agrotóxicos foram trituradas em liquidificador com copo de metal (800 W de potência). Uma porção de 6 g de cenoura triturada, à qual foi adicionado sulfato de sódio anidro suficiente para sua secagem, foi separada para obter-se a solução branco. Em gral metálico, as cenouras *in natura* trituradas

foram fortificadas com a mistura de pesticidas, obtendo-se uma concentração final de $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$ da mesma maneira já descrita no item 3.9. A amostra fortificada foi dividida em porções de 6 g e a cada porção foram adicionados 3 g de diferentes fases extratoras (XAD-4, XAD-7, C₁₈, Florisil) ou dos agentes secantes (Celite e sulfato de sódio anidro). A estas misturas foi adicionado sulfato de sódio anidro suficiente para sua secagem.

Diclorometano, acetato de etila e acetona foram testados como solventes de extração para MSPD/PLE.

O extrator com líquido pressurizado foi operado a 1500 psi, 75 °C, 5 minutos de extração, lavagem de 100%, purga de 90 segundos e 2 ciclos de extração. Este número de ciclos foi selecionado, pois na determinação de pesticidas em alimentos e em outras aplicações, não há aumento significativo da recuperação dos analitos com o aumento do número de ciclos de 2 para 3.¹²⁸

3.11.2 DISPERSÃO DA MATRIZ EM FASE SÓLIDA (MSPD) E EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE) DE CENOURAS LIOFILIZADAS

As condições de extração estudadas foram as mesmas, com a utilização dos mesmos sorventes, exceto pelas quantidades de amostra (1 g) e de sorvente (2 g). Considerando-se que a cenoura liofilizada apresenta menor volume e umidade, a célula de extração teve seu volume vago preenchido com pérolas de vidro lavadas com água, água deionizada, acetona e heptano, em aparelho de ultra-som, e posteriormente secas no forno a 300 °C. O cálculo da concentração dos analitos foi realizado em base úmida como preconiza a resolução da diretoria colegiada da ANVISA sobre requisitos mínimos para estudos de resíduos¹²⁹.

Quando a extração com líquido pressurizado é realizada com acetona, a utilização de sulfato sódio como secante da amostra não é recomendada, uma vez que este solvente, nas condições de extração, pode dissolver o sulfato de sódio, ficando este depositado nos tubos do equipamento. Desta forma, nas extrações com acetona, foi utilizado Celite 545 (terra de diatomáceas) como agente secante.

Os extratos assim obtidos foram evaporados, concentrados a 0,5 mL e a eles foi adicionada concentração conhecida de padrão interno para fins de análise, utilizando-se GC/MS. Estes experimentos foram realizados em triplicata.

3.12 DETERMINAÇÃO DOS ANALITOS EM AMOSTRAS COMERCIAIS

Três métodos foram selecionados para aplicação em amostras reais comercializadas em Porto Alegre/RS em extrações e injeções realizadas em triplicata:

1. Dispersão da matriz em fase sólida de cenouras trituradas *in natura*, utilizando-se o sorvente pNNPA.
2. Dispersão da matriz em fase sólida seguida de extração com líquido pressurizado de amostras de cenouras liofilizadas utilizando a resina XAD-7 como dispersante.
3. Extração com líquido pressurizado de cenouras liofilizadas com sulfato de sódio anidro como agente secante.

Para os cálculos das concentrações dos analitos nas amostras comerciais, foram considerados os percentuais de recuperação de cada método.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO



4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

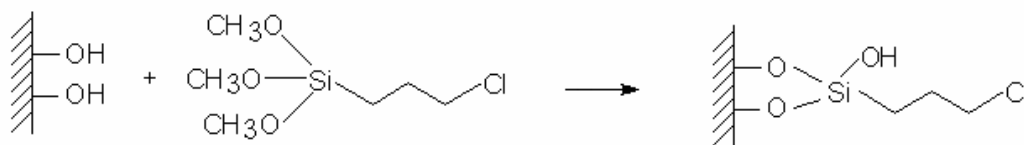
4.1 DETERMINAÇÃO DA UMIDADE

As amostras de cenouras consideradas *in natura* apresentaram umidade média de 90,1%, e as cenouras liofilizadas apresentaram umidade residual média igual a 3,0%.

4.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DA FASE SÓLIDA *p*-NITRO-*N*-PROPILANILINA/SÍLICA (*p*NNPA)

A síntese da sílica organofuncionalizada foi realizada em duas etapas. Primeiro, um reagente intermediário, o 3-cloropropiltrimetóxisilano foi enxertado na superfície da sílica gel como representado na Figura 4A. Em um segundo passo, a *p*-nitroanilina reagiu com a sílica previamente modificada. A imobilização da *p*-nitroanilina ocorre provavelmente por um mecanismo SN_2 entre a amina e o carbono α^{130} , como proposto na Figura 4B.

4A



4B

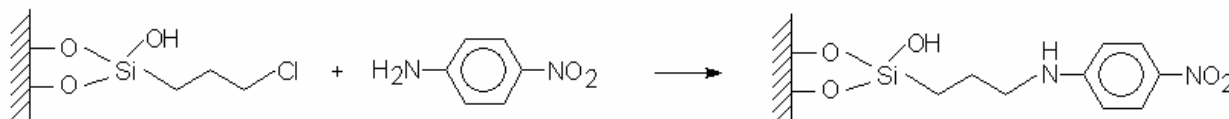


Figura 4: Esquema da reação de enxerto no processo de síntese da *p*-nitro-*N*-propilanilina/sílica

O resultado da análise elementar (CHN) mostrou que a sílica funcionalizada obtida apresentou 0,34 mmol do grupo *p*-nitro-*N*-propilanilina por grama de sílica.

As áreas obtidas pelo método BET foram de $290 \pm 10 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ para a sílica pura e $295 \pm 10 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ para a sílica funcionalizada com *p*-nitroanilina. O fato da área se manter constante é esperado em reações de enxerto, nas quais se obtém uma monocamada com o material altamente disperso, sem a formação de aglomerados ou fechamento de poros.

As curvas de distribuição de tamanho de poros da sílica pura e funcionalizada obtidas pela isoterma de adsorção e dessorção de nitrogênio, utilizando o método BJH, são mostradas na Figura 5. A curva obtida para a sílica pura (linha cheia) apresenta uma região, na qual, os valores máximos de tamanho de poros situam-se entre 5,5 e 7,2 nm, enquanto que na sílica modificada (linha tracejada), os valores máximos encontram-se entre 5,0 e 6,7 nm. Observa-se um deslocamento do máximo da distribuição do tamanho dos poros de cerca de 1 nm, devido ao recobrimento uniforme (formação de monocamada) pelos grupos funcionais, sem formação de aglomerados de partículas.

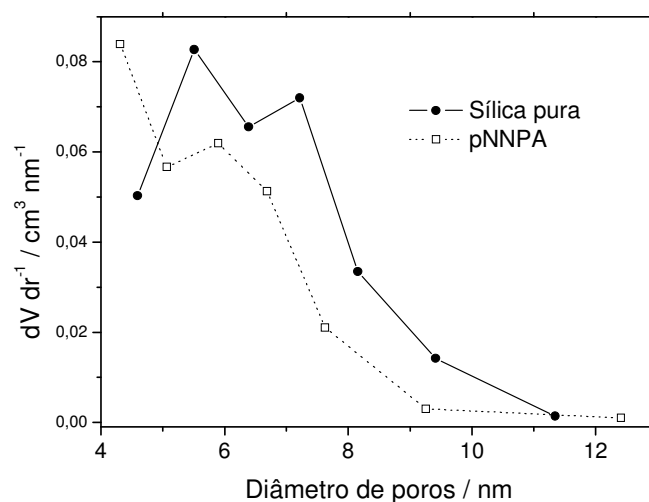


Figura 5: Curvas para as distribuições de poros para a sílica pura e após reação com a *p*-nitropropilanolina

A Figura 6 mostra as curvas de adsorção de nitrogênio para as sílicas pura e funcionalizada. As isotermas obtidas são Isotermas do tipo IV, típicas de materiais mesoporosos¹³¹, que apresentam diâmetro de poro entre 2 e 50 nm¹³².

A partir dos dados obtidos através das curvas de adsorção isotérmica de nitrogênio e da análise elementar pode-se verificar que a reação ocorreu produzindo um material mesoporoso com grupos orgânicos de *p*-nitro-*N*-propilanolina na superfície da sílica.

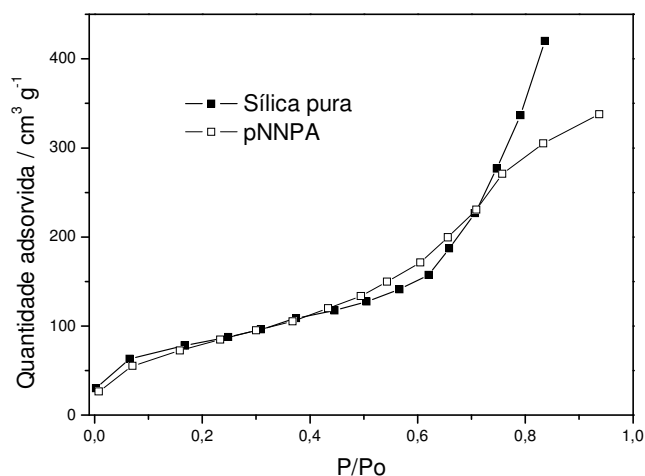


Figura 6: Curvas de adsorção isotérmica de nitrogênio para as sílicas pura e funcionalizada (pNNPA).

4.3 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

Todo o monitoramento dos procedimentos analíticos foi realizado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. O modo SCAN foi usado para a comprovação da identidade de cada composto. O modo SIM, com seleção de íons, mostrou-se mais adequado devido à maior sensibilidade e seletividade obtida. Os íons selecionados para análise de cada composto e suas janelas de tempo de aquisição são mostrados na Tabela V. O cromatograma da mistura de padrões e padrão interno nas condições estabelecidas é mostrado na Figura 7.

Tabela V. Programação dos parâmetros de análise do detector seletivo de massas, no modo de monitoramento seletivo de íons, mostrando os íons característicos de cada analito e padrão interno e as respectivas janelas de aquisição.

| Analito | Tempo de retenção (min) | Tempo inicial (min) | Tempo final (min) | Íons característicos (m/z) | Janela de aquisição | |
|----------------------|-------------------------|---------------------|-------------------|----------------------------|--------------------------|-------------------------------|
| | | | | | Intervalo de tempo (min) | Íons monitorados (m/z) |
| Triclorfon | 9,56 | 9,39 | 9,92 | 109, 79 | 5-12 | 109 e 79 |
| Tribromobenzeno (PI) | 14,06 | 13,86 | 14,35 | 316 | 12-17 | 316 |
| Trifluralina | 20,06 | 19,91 | 20,18 | 264 e 306 | 17-25 | 124, 176, 206, 264, 266 e 306 |
| Diclorana | 20,83 | 20,72 | 20,96 | 124, 176, 206 | | |
| Clorotalonil | 23,45 | 23,33 | 23,58 | 264 e 266 | | |
| Prometrina | 26,98 | 26,70 | 27,22 | 184 e 241 | 25-30 | 61, 93, 125, 184, 241 e 278 |
| Linuron | 28,00 | 27,74 | 28,17 | 61 | | |
| Malation | 28,72 | 28,60 | 28,84 | 93 e 125 | | |
| Fention | 29,09 | 28,97 | 29,20 | 93, 125 e 278 | | |
| Captana | 31,70 | 31,42 | 31,87 | 79 | 30-35 | 76, 79, 96 e 104 |
| Folpete | 32,22 | 32,05 | 32,37 | 76 e 104 | | |
| Procimidona | 32,96 | 32,76 | 33,16 | 96 | | |
| Iprodiona | 39,39 | 39,15 | 39,77 | 187 e 244 | 35-42 | 187 e 244 |
| Procloraz | 49,06 | 48,92 | 49,28 | 180 | 42-51 | 180 |
| Deltametrina | 53,84 | 53,68 | 54,07 | 181 | 51-61 | 181 |

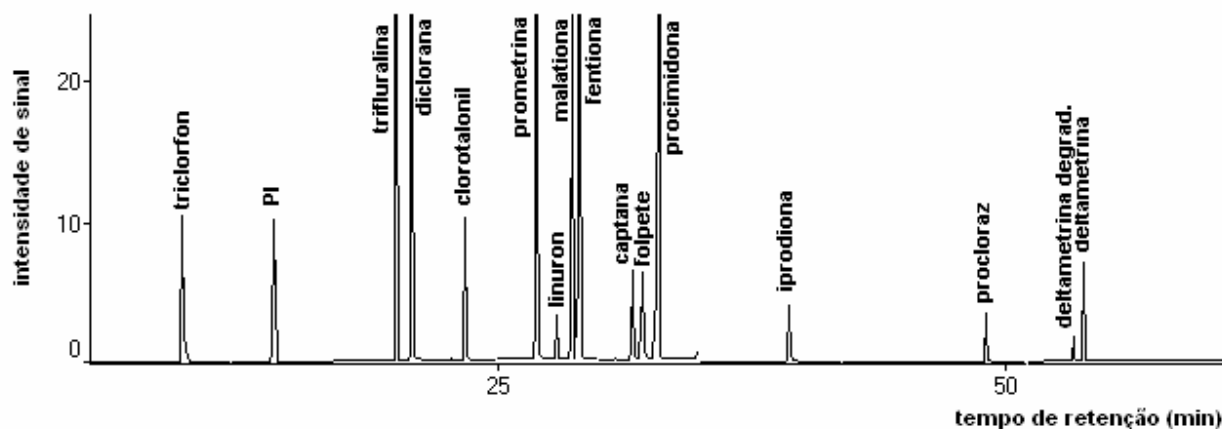


Figura 7: Cromatograma de corrente total obtido no modo de monitoramento seletivo de íons, para solução padrão 1 mg kg^{-1} da mistura de pesticidas e padrão interno (tribromobenzeno). Condições cromatográficas otimizadas descritas no item 4.3

Após várias etapas de desenvolvimento do procedimento cromatográfico, as condições otimizadas para o cromatógrafo a gás foram: $90 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (5 min) – $5 \text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ – $102 \text{ }^{\circ}\text{C}$ – $7 \text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ – $160 \text{ }^{\circ}\text{C}$ – $2 \text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ – $205 \text{ }^{\circ}\text{C}$ – $7 \text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ – $250 \text{ }^{\circ}\text{C}$ – $5 \text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ – $280 \text{ }^{\circ}\text{C}$. A temperatura do injetor foi mantida em $250 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e a da interface em $280 \text{ }^{\circ}\text{C}$. A vazão de hélio foi de $1,6 \text{ mL min}^{-1}$ e a injeção de $1 \mu\text{L}$ de solução foi realizada no modo *splitless*. A coluna utilizada foi uma OV-5 (metil silicone com 5% de substituintes fenila) com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de espessura de filme de fase estacionária.

4.4 FIGURAS DE MÉRITO

Os limites de detecção e quantificação, os parâmetros da curva analítica e a linearidade são apresentadas na Tabela VI.

Tabela VI: Parâmetros das curvas analíticas, coeficientes de determinação (r^2), limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) para 14 pesticidas analisados por GC/MS. (n=5).

| Analito | Curva analítica | | | LOD (mg kg ⁻¹) | LOQ (mg kg ⁻¹) |
|--------------|-----------------|-------------|--------|----------------------------|----------------------------|
| | Inclinação | intersecção | r^2 | | |
| Triclofon | 0,0267 | 0,0042 | 0.9963 | 0,0310 | 0,0940 |
| Trifluralina | 0,2650 | -0,0135 | 0.9957 | 0,0240 | 0,0729 |
| Diclorana | 0,1172 | -0,0030 | 0.9994 | 0,0304 | 0,0920 |
| Clorotalonil | 0,4354 | 0,0040 | 0.9997 | 0,0292 | 0,0886 |
| Prometrina | 0,3513 | 0,0151 | 0.9991 | 0,0024 | 0,0072 |
| Linuron | 0,0768 | -0,0090 | 0.9877 | 0,0540 | 0,1637 |
| Malation | 0,1647 | -0,0035 | 0.9977 | 0,0607 | 0,1840 |
| Fention | 0,4479 | -0,0003 | 0.9994 | 0,0152 | 0,0461 |
| Captana | 0,0102 | -0,0010 | 0.9877 | 0,1968 | 0,5963 |
| Folpete | 0,0041 | -0,0005 | 0.9863 | 0,1584 | 0,4800 |
| Procimidona | 0,3655 | 0,0251 | 0.9980 | 0,0072 | 0,0219 |
| Iprodiona | 0,1011 | -0,0056 | 0.9965 | 0,0236 | 0,0716 |
| Procloraz | 0,0822 | -0,0102 | 0.9834 | 0,0266 | 0,0806 |
| Deltametrina | 0,0864 | -0,0118 | 0.9821 | 0,0154 | 0,0467 |

A curva analítica construída para os pesticidas estudados mostrou coeficientes de determinação (r^2) na faixa de 0,9997 a 0,9821. Os resultados dos limites de detecção e quantificação para todos os pesticidas foram inferiores aos níveis de tolerância para estes em alimentos, de acordo com as agências reguladoras USEPA, EU e ANVISA. (ver Tabela II).

A repetibilidade de injeção foi determinada através de oito injeções da solução padrão na concentração de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, em um único dia, mantendo-se todas as condições operacionais constantes. Os desvios padrão relativos foram obtidos a partir da média dos tempos de retenção e das áreas relativas de cada composto na mistura padrão. A Tabela VII apresenta resultados obtidos para as médias das oito injeções da mistura padrão. Para os tempos de retenção, a repetibilidade situou-se entre 0,003 e <0,001%. No que diz respeito às áreas, os desvios padrão oscilaram entre 0,35 e 10,98%. Ambos os resultados podem ser considerados apropriados para as análises em questão.

A precisão intermediária de injeção foi determinada através de oito injeções da solução padrão na concentração de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, em três dias diferentes, com troca da coluna cromatográfica. A precisão intermediária refere-se às variações ocorridas dentro de um mesmo laboratório quando um ou mais fatores importantes são mudados¹²⁵. Os desvios padrão relativos foram obtidos a partir da média dos tempos de retenção e das áreas relativas de cada composto na mistura padrão. A Tabela VIII apresenta os resultados obtidos para as médias das oito injeções da mistura padrão. Os desvios padrão encontrados para os tempos de retenção situaram-se entre 0,032 e 0,142%, enquanto para os desvios padrão relacionados às áreas apenas aquele relativo ao folpete apresentou-se um pouco acima de 15% os demais variaram entre 2,14 e 13,44%.

Tabela VII: Avaliação da repetibilidade de injeção dos pesticidas através de uma mistura padrão na concentração de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ com adição de padrão interno (tribromobenzeno $1 \mu\text{g mL}^{-1}$). (n=8).

| Analitos | Tempo de retenção médio (min) | RSD*(%) | Área relativa média | RSD*(%) |
|--------------|-------------------------------|-------------|---------------------|--------------|
| Triclofon | 10,23 | 0,01 | 0,0807 | 3,09 |
| Trifluralina | 20,24 | 0,01 | 0,9286 | 0,96 |
| Diclorana | 21,07 | 0,00 | 0,7576 | 2,76 |
| Clorotalonil | 23,88 | 0,00 | 1,9154 | 1,28 |
| Prometrina | 27,10 | 0,00 | 1,4269 | 0,56 |
| Linuron | 28,06 | 0,00 | 0,1324 | 2,08 |
| Malation | 28,97 | 0,00 | 0,6313 | 0,64 |
| Fention | 29,31 | 0,00 | 1,2919 | 2,15 |
| Captana | 31,94 | 0,00 | 0,0219 | 9,71 |
| Folpete | 32,42 | 0,00 | 0,0205 | 10,98 |
| Procimidona | 32,98 | 0,00 | 0,8894 | 0,35 |
| Iprodiona | 39,36 | 0,01 | 0,3374 | 4,70 |
| Procloraz | 48,48 | 0,00 | 0,1129 | 1,43 |
| Deltametrina | 52,99 | 0,00 | 0,1299 | 2,29 |

*RSD: Desvio padrão relativo (*Relative Standard Deviation*)

Tabela VIII: Avaliação da precisão intermediária de injeção dos pesticidas através de uma mistura padrão na concentração de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ com adição de padrão interno (tribromobenzeno $1 \mu\text{g mL}^{-1}$). (n=8).

| Analitos | Tempo de retenção médio (min) | RSD*(%) | Área relativa média | RSD*(%) |
|--------------|-------------------------------|-------------|---------------------|--------------|
| Triclofon | 10,24 | 0,07 | 0,0779 | 5,42 |
| Trifluralina | 20,27 | 0,13 | 0,8408 | 4,31 |
| Diclorana | 21,10 | 0,12 | 0,6864 | 5,14 |
| Clorotalonil | 23,88 | 0,03 | 0,7596 | 2,59 |
| Prometrina | 27,14 | 0,14 | 0,9856 | 2,14 |
| Linuron | 28,10 | 0,13 | 0,0785 | 8,04 |
| Malation | 29,02 | 0,14 | 0,5039 | 4,65 |
| Fention | 29,36 | 0,14 | 0,8235 | 5,61 |
| Captana | 31,99 | 0,13 | 0,0220 | 13,44 |
| Folpete | 32,47 | 0,12 | 0,0254 | 15,64 |
| Procimidona | 33,03 | 0,13 | 0,8555 | 6,29 |
| Iprodiona | 39,41 | 0,12 | 0,2633 | 13,06 |
| Procloraz | 48,50 | 0,04 | 0,0767 | 9,11 |
| Deltametrina | 53,01 | 0,04 | 0,1045 | 3,43 |

*RSD: Desvio padrão relativo

A exatidão dos métodos desenvolvidos foi determinada em função do percentual de recuperação de uma quantidade conhecida dos analitos adicionada a uma amostra de cenoura. Estes valores de exatidão são apresentados a seguir para as várias técnicas empregadas.

4.5 EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO

O método multirresíduo utilizado pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), com pequenas modificações, foi aplicado em amostra de cenoura *in natura* para fins de comparação com os métodos desenvolvidos. Podemos observar nos resultados de recuperação, mostrados na Tabela IX, que quando as extrações foram realizadas com acetona, houve provavelmente, problema de interferência da matriz, visto que os valores de recuperação situaram-se acima de 130%.

Tabela IX: Percentuais de recuperação (desvio padrão) para os 14 pesticidas investigados, obtidos quando o método multirresíduo modificado do INCQS foi empregado (n=9).

| Analito | Recuperação média % (desvio padrão %) | | | |
|--------------|---------------------------------------|---------------|------------------|------------|
| | acetona | diclorometano | éter de petróleo | somatório |
| Triclorfon | 72 (27) | 34 (13) | 3 (6) | 109 |
| Trifluralina | 523 (185) | 45 (21) | <LOD | 577 |
| Diclorana | 241 (83) | 49 (14) | 1 (3) | 291 |
| Clorotalonil | 361 (147) | 45 (12) | <LOD | 406 |
| Prometrina | 328 (114) | 51 (20) | 37 (11) | 416 |
| Linuron | 313 (157) | 48 (22) | <LOD | 361 |
| Malation | 732 (323) | 26 (32) | 72 (51) | 830 |
| Fention | 469 (185) | 56 (1) | 31 (49) | 556 |
| Captana | 48 (19) | 14 (8) | <LOD | 62 |
| Folpete | 242 (106) | 37 (21) | <LOD | 278 |
| Procimidona | 57 (14) | 14 (4) | 16 (4) | 87 |
| Iprodiona | 16 (49) | 109 (64) | 42 (46) | 167 |
| Procloraz | 296 (101) | 23 (11) | 10 (29) | 329 |
| Deltametrina | 417 (124) | 46 (22) | 2 (7) | 465 |

Sabe-se que, para matrizes sólidas, os valores de recuperação devem se encontrar entre 70 e 130% para que o método analítico seja considerado adequado⁴⁴.

Considerando-se o somatório das concentrações obtidas com os três solventes, o triclorfon e a procimidona apresentaram boas recuperações. De modo geral, a extração sólido-líquido se mostrou muito suscetível a interferentes, considerando-se que os valores de recuperação obtidos ficaram muito acima de 130% para 11 pesticidas.

4.6 DISPERSÃO DA MATRIZ EM FASE SÓLIDA (MSPD)

A dispersão da matriz em fase sólida foi testada para extração dos pesticidas estudados, utilizando-se como agente dispersante C₁₈, Florisil, XAD-4, XAD-7 e pNNPA com cenouras liofilizadas (Tabela X), e Florisil, XAD-4, XAD-7, Celite e pNNPA com cenouras *in natura* (Tabela XI). Misturas de fases sólidas também foram testadas: C₁₈+Florisil, C₁₈+XAD-4 e C₁₈+XAD-7, e as recuperações obtidas são apresentadas na Tabela IX.

A procimidona, triclorfon, diclorana apresentaram recuperações aceitáveis quando foram utilizadas as fases sólidas Florisil, XAD-4 e XAD-7. Além destes compostos, em XAD-4, a trifluralina e o malation alcançaram recuperações de 79 e 118%, respectivamente. Com C₁₈ foram obtidos bons resultados para clorotalonil, prometrina, fention e malation. Valores de recuperação aceitáveis para os dois primeiros compostos foram obtidos apenas com o uso da fase sólida apolar C₁₈. Observou-se também uma recuperação de 82% para a trifluralina, quando o agente dispersante foi Florisil.

Tabela X: Percentual de recuperação (desvio padrão) dos analitos extraídos por MSPD com diferentes agentes dispersantes, utilizando-se cenouras liofilizadas (n=9).

| Analito | Recuperação média % (desvio padrão %) | | | | |
|--------------|---------------------------------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|
| | C ₁₈ | Florisil | XAD-4 | XAD-7 | pNNPA |
| Triclorfon | 47 (5) | 89 (9) | 78 (8) | 71 (11) | 15 (3) |
| Trifluralina | 30 (3) | 82 (7) | 79 (18) | 54 (21) | 33 (27) |
| Diclorana | 49 (5) | 93 (8) | 91 (16) | 72 (21) | 21 (13) |
| Clorotalonil | 83 (8) | 13 (3) | 40 (21) | 35 (21) | 16 (5) |
| Prometrina | 102 (11) | 300 (88) | 220 (44) | 141 (40) | 141 (85) |
| Linuron | 34 (8) | 31 (12) | 43 (7) | 40 (6) | 16 (6) |
| Malation | 75 (7) | 55 (9) | 118 (17) | 49 (34) | 141(69) |
| Fention | 125 (82) | 24 (10) | 81 (3) | 57 (14) | 10 (1) |
| Captana | 14 (3) | 7 (3) | 11 (4) | 40 (73) | 11 (4) |
| Folpete | 36 (6) | 33 (6) | 49 (18) | 66 (81) | 375 (52) |
| Procimidona | 53 (5) | 110 (2) | 99 (17) | 81 (29) | 54 (39) |
| Iprodiona | 23 (3) | 42 (6) | 45 (7) | 32 (7) | 229 (23) |
| Procloraz | 36 (5) | 16 (2) | 38 (5) | 33 (31) | 56 (23) |
| Deltametrina | 29 (7) | 35 (2) | 43 (4) | 25 (7) | 72 (52) |

Recuperações elevadas, como as apresentadas pela prometrina com Florisil, XAD-4 e XAD-7, podem ser devidas à co-eluição do analito com componente(s) da matriz. Não foi possível apontar uma relação entre os resultados obtidos para as recuperações e características dos compostos em estudo (presença de anel aromático, polaridade, solubilidade em água, solubilidade nos solventes, etc.) em relação às características dos suportes sólidos estudados.

Tabela XI: Percentual de recuperação (desvio padrão) dos analitos extraídos por MSPD com diferentes agentes dispersantes, utilizando-se cenoura *in natura* (n=9).

| Analitos | Recuperação média % (desvio padrão %) | | | | |
|--------------|---------------------------------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|
| | Florisil | XAD-4 | XAD-7 | Celite | pNNPA |
| Triclorfon | 14 (12) | 44 (26) | 6 (3) | 34 (11) | 74 (8) |
| Trifluralina | 1 (2) | 11 (13) | 2 (2) | 3 (3) | 48 (6) |
| Diclorana | 14 (11) | 40 (5) | 14 (12) | 16 (12) | 84 (10) |
| Clorotalonil | 25 (15) | 33 (8) | 20 (15) | 24 (22) | 91 (15) |
| Prometrina | 92 (20) | 227 (28) | 141 (36) | 71 (3) | 54 (11) |
| Linuron | 53 (13) | 55 (8) | 55 (22) | 40 (2) | 57 (12) |
| Malation | 39 (12) | 119 (7) | 63 (36) | 40 (1) | 220 (33) |
| Fention | 1 (1) | 5 (4) | 19 (20) | <LOD | 13 (21) |
| Captana | 75 (15) | 24 (9) | 163 (22) | 5 (4) | 70 (17) |
| Folpete | 60 (19) | 74 (3) | 48 (10) | 86 (20) | 177 (16) |
| Procimidona | 72 (17) | 104 (7) | 81 (20) | 75 (21) | 72 (10) |
| Iprodiona | 159 (58) | 153 (41) | 215 (38) | 161 (29) | 193 (34) |
| Procloraz | 34 (12) | 20 (14) | 46 (24) | 21 (16) | 58 (10) |
| Deltametrina | 51 (63) | 85 (20) | 46 (8) | 67 (3) | 106 (20) |

<LOD: não detectado

Analisando a Tabela XI, notamos que a MSPD com cenouras frescas não apresentou boa eficiência de modo geral. Contudo, observou-se boa recuperação para o composto procimidona para todas as fases sólidas experimentadas. As extrações realizadas com XAD-4 mostraram bons resultados para quatro analitos: duas dicarboximidas, um organofosforado e um piretróide.

Quando pNNPA foi utilizado para MSPD, triclorfon, diclorana, clorotalonil, captana, procimidona e deltametrina apresentaram bons valores de recuperação. Levando-se em conta que estas extrações foram realizadas com uma fase sólida nova (pNNPA), os valores obtidos para procloraz, linuron, prometrina e trifluralina também foram satisfatórios²³. Comparando-se estes resultados com aqueles obtidos com cenouras liofilizadas, verifica-se que apenas três pesticidas (deltametrina, procloraz, e procimidona) resultaram em boas recuperações com a fase nova em presença da matriz liofilizada. Estes resultados mostram que o conteúdo de água

presente nas amostras frescas ($90 \pm 3\%$) é um aspecto relevante na obtenção de recuperações satisfatórias a partir da aplicação de p NNPA para MSPD, levando-se em consideração que nas amostras liofilizadas o conteúdo de água é $3 \pm 2\%$. Uma hipótese plausível para estes resultados poderia ser a desativação dos grupos silanóis, possivelmente causada pelas moléculas de água. A presença de um maior número de grupos silanóis disponíveis na fase sólida, no caso das amostras de cenouras liofilizadas, pode favorecer interações mais intensas analitos-agente dispersante, dificultando a extração dos mesmos pelo solvente. Tal fenômeno poderia explicar as diferenças nas recuperações obtidas para ambas as matrizes (*in natura* e liofilizadas).

A repetibilidade do processo de extração de cenouras frescas situou-se na faixa de 6 a 20%, valores considerados bons para matrizes sólidas. Para as extrações de cenouras liofilizadas, estes valores oscilaram entre 23 e 52%⁵⁰. Tendo em vista que o emprego da fase sólida p NNPA em cenouras frescas resultou em eficiências de recuperação aceitáveis para 10 pesticidas investigados neste trabalho, estas condições experimentais foram escolhidas para extração e análise destes pesticidas em amostras de cenouras comerciais *in natura*. Este método foi denominado **Método 1** e foi aplicado a amostras comerciais de cenoura (4.8.1). Cabe ressaltar que o método desenvolvido apresenta maior simplicidade do que o convencional, visto que este último inclui um maior número de etapas (agitação, centrifugação, etc.), ao passo que o outro inclui apenas as etapas de homogeneização e eluição. Esta simplicidade também se reflete no menor tempo de extração, na menor quantidade de amostra utilizada e conseqüente economia de amostra e solventes, o que torna este método ambientalmente mais adequado do que o convencional.

Comparando-se as recuperações alcançadas com Florisil, XAD-4 e XAD-7 nas Tabelas X e XI, percebe-se resultados um pouco melhores quando as cenouras liofilizadas foram empregadas, especialmente para os pesticidas triclorfon, trifluralina e diclorana. Entretanto, pode-se observar na Tabela X, que os compostos clorotalonil e prometrina alcançaram recuperações aceitáveis apenas quando a fase apolar C_{18} foi empregada. Semelhantemente, a extração do pesticida procimidona foi bem sucedida apenas quando fases mais polares foram empregadas. Em trabalho de Koester e colaboradores¹³³, foi sugerida a possibilidade de mistura de fases

sólidas nos casos em que os analitos a serem extraídos por SPE apresentam diversidade em termos de estrutura química e de polaridade. No caso deste trabalho, verifica-se uma ampla variedade de estruturas químicas nos analitos investigados, o que dificulta a obtenção de eficiências de extração razoáveis para todos os pesticidas estudados, empregando-se uma única fase sólida. Com o objetivo de combinar as características da fase sólida apolar (C₁₈) com as das outras fases sólidas mais polares, realizou-se a MSPD com misturas destas fases com C₁₈. Os resultados obtidos estão na Tabela XII.

Para cenouras liofilizadas, todas as misturas de fases sólidas experimentadas mantiveram a boa recuperação obtida anteriormente para a prometrina, quando apenas C₁₈ foi utilizada como fase sólida. Para o pesticida malation, o uso das misturas C₁₈ + Florisil e C₁₈ + XAD-7 manteve as recuperações obtidas anteriormente com C₁₈. Entretanto, o emprego da mistura C₁₈ + XAD-4 levou a uma recuperação insatisfatória para este composto. O desempenho da extração relativamente à procimidona manteve-se bom apenas para as misturas C₁₈ com Florisil e XAD-4.

Para as cenouras *in natura*, foram obtidos resultados aceitáveis para a deltametrina com todas as fases extratoras, sendo que nas misturas que continham Florisil e XAD-7, os valores de recuperação foram bem maiores do que os obtidos quando uma única fase foi empregada. O emprego da mistura de fases XAD-4 e XAD-7 com C₁₈ levou a um aumento nas recuperações obtidas para o procloraz, quando comparado aos experimentos realizados com apenas uma fase sólida. O mesmo ocorreu para diclorana e clorotalonil para as misturas de fases contendo XAD-4 e XAD-7, respectivamente.

Tabela XII: Percentuais de recuperação (desvio padrão) dos analitos extraídos por MSPD com misturas de fases sólidas e amostras *in natura* e liofilizadas. (n=6).

| Analitos | Recuperação média % (desvio padrão %) | | | | | |
|--------------|---------------------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | Cenouras <i>in natura</i> | | | Cenouras liofilizadas | | |
| | C ₁₈ + Florisil | C ₁₈ + XAD-4 | C ₁₈ + XAD-7 | C ₁₈ + Florisil | C ₁₈ + XAD-4 | C ₁₈ + XAD-7 |
| Triclorfon | 66 (9) | 365 (6) | 221 (32) | 16 (10) | 46 (14) | 24 (1) |
| Trifluralina | 8 (2) | 36 (14) | 24 (15) | 31 (15) | 37 (18) | 36 (1) |
| Diclorana | 21 (6) | 126 (19) | 97 (4) | 18 (13) | 34 (18) | 25 (1) |
| Clortalonil | 21 (5) | 76 (13) | 45 (7) | 23 (18) | 15 (8) | 29 (1) |
| Prometrina | 58 (3) | 318 (9) | 316 (17) | 118 (19) | 110 (18) | 91 (5) |
| Linuron | 20 (13) | 41 (8) | 43 (13) | 25 (1) | 15 (9) | 14 (1) |
| Malation | 62 (4) | 156 (31) | 141 (5) | 104 (8) | 155 (8) | 124 (7) |
| Fention | 4 (1) | 2 (4) | 19 (20) | 2 (1) | 7 (8) | 21 (1) |
| Captana | 19 (9) | 41 (8) | 18 (5) | 20 (6) | 14 (12) | 10 (1) |
| Folpete | 8513 (26) | 3006 (32) | 140 (15) | 82 (15) | 55 (19) | 40 (4) |
| Procimidona | 44 (5) | 184 (57) | 159 (5) | 80 (14) | 94 (17) | 48 (2) |
| Iprodiona | 51 (16) | 163 (9) | 142 (5) | 214 (4) | 134 (17) | 161 (13) |
| Procloraz | 22 (9) | 103 (7) | 79 (35) | 51 (3) | 49 (20) | 55 (7) |
| Deltametrina | 113 (18) | 121 (5) | 89 (17) | 107 (18) | 35 (15) | 52 (5) |

Diferentemente do que era esperado, a combinação das fases sólidas não resultou em uma tendência generalizada de acréscimo nos valores das recuperações dos pesticidas, exceto em alguns casos pontuais. Tais resultados confirmam a complexidade envolvida nos processos de interação entre analitos, fases sólidas, matrizes, solventes, entre outros parâmetros, cuja elucidação encontra-se fora do escopo deste trabalho.

4.7 DISPERSÃO DA MATRIZ EM FASE SÓLIDA (MSPD) / EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE)

Com o intuito de melhorar os valores de recuperação dos analitos, as extrações foram realizadas utilizando um extrator com líquido pressurizado (PLE), empregando condições de temperatura e pressão que favorecessem a eficiência do processo de extração. As condições empregadas na MSPD/PLE foram escolhidas de acordo com as características dos analitos. A temperatura de extração selecionada foi a mais alta possível, sem que houvesse comprometimento da integridade dos mesmos (degradação dos compostos). Desta forma, as variáveis estudadas foram o solvente extrator (diclorometano, acetato de etila e acetona), as fases sólidas (XAD-4, XAD-7, Florisil, C₁₈), os agentes secantes (sulfato de sódio e Celite) e o tipo de matriz (*in natura* e liofilizada).

As recuperações obtidas nas extrações de amostras de cenouras liofilizadas são mostradas na Tabela XIII. Onze analitos apresentaram recuperações na faixa de 70 a 133%. Contudo, recuperações inferiores foram obtidas para trifluralina e iprodiona, e superiores para o fention. Para este último componente, observou-se co-eluição de interferentes e distorção do pico cromatográfico. Dentre os solventes empregados, a acetona foi o que proporcionou a menor eficiência de extração, pois as recuperações obtidas com este solvente foram menores para a maior parte dos analitos. Entretanto, observa-se que foram obtidos resultados satisfatórios para cinco pesticidas com a fase C₁₈ e para seis pesticidas com o emprego de Celite.

O uso de diclorometano e acetato de etila como solventes extratores propiciou recuperações na faixa de 70 a 135% para 5 a 7 analitos, quando foram empregados C₁₈, XAD-4 e XAD-7 como fases sólidas. Contudo, o uso da fase sólida Florisil resultou em baixas recuperações para a grande maioria dos pesticidas estudados, fato que pode estar sugerindo fortes interações entre esta fase sólida polar e os analitos. Observou-se também que, de forma geral, a eficiência da extração, quando apenas o agente secante sulfato de sódio foi empregado foi semelhante àquela obtida com os agentes dispersantes. Este resultado indica que, para vários analitos, o uso de um agente dispersante não melhora a eficiência do processo de extração

de forma significativa. Exemplo disto pode ser visto no pesticida triclorfon. Contudo, os cromatogramas obtidos depois do emprego das fases sólidas apresentaram menor intensidade dos picos cromatográficos dos interferentes, quando comparados aos cromatogramas resultantes após a PLE com sulfato de sódio.

Alguns comentários podem ser feitos sobre resultados obtidos para compostos específicos. Verificou-se que o desempenho da extração para deltametrina, diclorana, procloraz e triclorfon usando-se C₁₈, XAD-4 e XAD-7 foi superior quando o solvente empregado foi o diclorometano embora o procloraz tenha apresentado uma recuperação inferior na extração com XAD-7. No caso da deltametrina, este resultado pode estar relacionado à maior solubilidade deste composto em diclorometano.

No caso do folpete, observa-se a influência negativa dos interferentes na recuperação obtida com sulfato de sódio anidro. Esta mesma influência pode ser observada nas recuperações obtidas para as extrações feitas com acetato de etila, com exceção da fase XAD-7, que apresentou recuperação de 73%. Quando a acetona foi empregada como solvente, tanto para folpete, como para procimidona, foram obtidas eficiências de extração razoáveis apenas quando a fase C₁₈ foi usada. Estes valores foram semelhantes aos obtidos com sulfato de sódio, o que indica que a fase C₁₈ não favoreceu uma maior disponibilidade do analito.

Para os outros resíduos, foram identificados comportamentos diversos durante o processo de extração, os quais são brevemente comentados a seguir.

A isoftalonitrila clorotalonil apresentou recuperações razoáveis quando XAD-7 foi empregada juntamente com diclorometano e acetato de etila como solventes. Observou-se que a extração feita apenas com sulfato de sódio resultou em co-eluição do analito com interferentes, sendo que o emprego das fases citadas proporcionou um cromatograma mais limpo. O emprego de C₁₈ com acetona também resultou em uma eficiente recuperação do pesticida.

No caso da prometrina verificou-se a influência de interferentes na maior parte das extrações realizadas. Bons resultados foram verificados quando a fase sólida empregada foi Florisil em conjunto com os solventes diclorometano e acetona. As

recuperações obtidas foram da mesma ordem de grandeza daquelas obtidas com sulfato de sódio nestes casos.

O herbicida linuron apresentou recuperações satisfatórias quando foi empregada a fase sólida Florisil (85%) e o solvente diclorometano. Neste caso a recuperação obtida apenas com o agente secante foi bastante inferior (15%), o que mostra que a fase sólida favoreceu uma melhor recuperação. Também foram obtidas recuperações razoáveis com o emprego de C₁₈ e XAD-4 e acetato de etila como solvente. Estas recuperações se assemelharam ao que foi obtido com o sulfato de sódio. Quando C₁₈ foi empregada com acetona, a recuperação foi de 74% contra 38% obtida com Celite, mostrando a melhora obtida na extração pelo emprego da fase sólida.

Para o organofosforado malation foram obtidos resultados razoáveis (71-129%) com todas as fases sólidas, quando o solvente extrator foi a acetona. A recuperação obtida com sulfato de sódio foi da mesma ordem de grandeza.

Para o fungicida captana, foram obtidas recuperações satisfatórias apenas quando as fases sólidas C₁₈ e XAD-4 foram empregadas com acetato de etila.

A partir das considerações tecidas sobre as eficiências dos diferentes processos de recuperação testados (Tabela XIII), pode-se considerar que o uso de sulfato de sódio anidro ou XAD-7 resultou nos melhores valores de recuperação para sete resíduos de pesticidas, quando acetato de etila foi utilizado como solvente. Os desvios padrão então na faixa de 3 a 32% quando os valores de recuperação foram satisfatórios. Estes resultados indicam valores aceitáveis de repetibilidade para amostras sólidas⁵⁰. Contudo, pode-se também observar que os desvios padrão não são aceitáveis, quando o processo de extração apresentou dificuldades, provavelmente devido à influência de interações entre o analito e a matriz.

Tendo em vista os resultados obtidos, o uso de XAD-7 e sulfato de sódio anidro, juntamente com o solvente acetato de etila foram as condições escolhidas para extração e análise de sete pesticidas em amostras de cenouras comerciais. Quando a fase sólida empregada foi XAD-7, o procedimento foi denominado **Método 2** (4.8.2) e quando o sulfato de sódio foi utilizado, **Método 3** (4.8.3).

Estes métodos, assim como referido no item 4.5 para o Método 1, também apresentaram maior rapidez em termos de sua execução, quando comparados ao método sólido-líquido tradicional. Além disso, a PLE propicia a automação de todo processo extrativo e o uso de menor quantidade de solventes, resultando em menor exposição do analista a solventes e também geração de menor volume de resíduos tóxicos. Da mesma forma, a automação reduz o número de etapas, nas quais é necessária a intervenção do analista, diminuindo também o risco de contaminação da amostra pela manipulação da mesma. Este conjunto de características confere um caráter ambientalmente correto à técnica de PLE.

A Figura 8A apresenta um cromatograma obtido a partir da extração de uma amostra de cenouras livre de pesticidas (amostra testemunha). A Figura 8B mostra o cromatograma obtido para PLE para uma amostra de cenouras liofilizadas fortificadas utilizando-se sulfato de sódio anidro. Na Figura 8C, o cromatograma obtido com XAD-7 e acetato de etila como solvente de extração é apresentado.

Comparando-se os picos da procimidona nas Figuras 8B e 8C, pode-se visualizar com clareza um exemplo de interferência que ocorre, quando da ausência de fase sólida durante a extração. O cromatograma da Figura 8B apresenta um pico cromatográfico distorcido para a procimidona e na Figura 8C, este mesmo pico apresenta-se como uma curva gaussiana normal.

Tabela XIII: Percentuais de recuperação (desvio padrão) obtidos para 14 pesticidas utilizando várias fases sólidas ou agentes secantes e solventes extratores no sistema MSPD/PLE com amostras de cenouras liofilizadas. (n=9).

| Análito | Recuperação média % (desvio padrão %) | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------|---------------------------------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|---------------|---------------|-----------------|-----------------|
| | Diclorometano | | | | | Acetato de etila | | | | | Acetona | | | | |
| | C ₁₈ | XAD-4 | XAD-7 | Florisil | Sulfato* | C ₁₈ | XAD-4 | XAD-7 | Florisil | Sulfato | C ₁₈ | XAD-4 | XAD-7 | Florisil | Celite |
| Triclorfon | 84 (29) | 86 (4) | 90 (22) | 18(3) | 73 (17) | 70 (20) | 99 (10) | 80 (6) | 43(3) | 92 (13) | 57(1) | 34(1) | 34(5) | 29(4) | 48(13) |
| Trifluralina | 47 (12) | 45 (3) | 51 (10) | 26 (5) | 22 (5) | 17 (2) | 37 (12) | 43 (3) | 26 (2) | 41 (17) | 28 (7) | 26 (1) | 17 (4) | 29 (6) | 34 (8) |
| Diclorana | 88 (30) | 81 (10) | 81 (18) | 50(9) | 52(13) | 45(11) | 93 (20) | 67(41) | 58(10) | 87 (19) | 60(6) | 39(1) | 35(1) | 44(7) | 57(15) |
| Clorotalonil | 200(64) | 176(42) | 123 (1) | 155(4) | 152(20) | 484(66) | 369(16) | 77 (11) | 215(21) | 484(131) | 118 (17) | 46(4) | 8(1) | 10(1) | 74 (31) |
| Prometrina | 155(10) | 234(11) | 158(40) | 104 (4) | 90 (6) | 93 (41) | 291(27) | 137(2) | 177(46) | 175(59) | 167(30) | 63(22) | 59(7) | 119 (11) | 104 (20) |
| Linuron | 50(18) | 66(13) | 52(37) | 85 (37) | 15(1) | 89 (5) | 113 (22) | 51(36) | 51(9) | 88 (10) | 74 (20) | 50(11) | 21(2) | 41(11) | 38(11) |
| Malation | 189(28) | 160(7) | 183(46) | 76 (21) | 106 (28) | 179(29) | 274(72) | 130 (12) | 146(31) | 170(69) | 129 (3) | 85 (7) | 71 (2) | 80 (5) | 123 (28) |
| Fention | 337 (19) | 343 (46) | 472 (19) | 49 (11) | 243 (25) | 273 (30) | 674 (38) | 415 (23) | 25 (9) | 325 (13) | 318 (6) | 271 (16) | 196 (16) | 29 (6) | 352 (14) |
| Captana | 59(81) | 45(13) | 50(12) | 26(6) | 32(15) | 118 (2) | 113 (3) | 18(4) | 20(15) | 74 (16) | 12(1) | 11(1) | 9(1) | 7(1) | 31(19) |
| Folpete | 133 (14) | 111 (14) | 92 (15) | 86 (5) | 152(63) | 207(22) | 277(80) | 73 (12) | 173(44) | 256(28) | 91 (14) | 61(2) | 48(6) | 44(1) | 125 (22) |
| Procimidona | 102 (8) | 97 (16) | 79 (18) | 56(8) | 107 (24) | 126 (3) | 127 (24) | 70 (3) | 82 (14) | 121 (23) | 85 (6) | 47(2) | 45(4) | 55(9) | 80 (23) |
| Iprodiona | 27 (12) | 23 (2) | 18 (2) | 21 (5) | 31 (14) | 22 (3) | 30 (2) | 19 (3) | 20 (1) | 34 (13) | 23 (3) | 9 (1) | 12 (2) | 14 (2) | 24 (9) |
| Procloraz | 118 (27) | 92 (22) | 64(11) | 41(6) | 85 (25) | 52(12) | 102 (22) | 87 (21) | 31(17) | 74 (32) | 52(9) | 29(5) | 34(6) | 31(7) | 69(36) |
| Deltametrina | 73 (25) | 77 (15) | 78 (15) | 31(7) | 75 (26) | 50(18) | 14(5) | 83 (8) | 50(9) | 81 (27) | 63(5) | 32(1) | 46(1) | 46(4) | 84 (22) |

*sulfato de sódio anidro

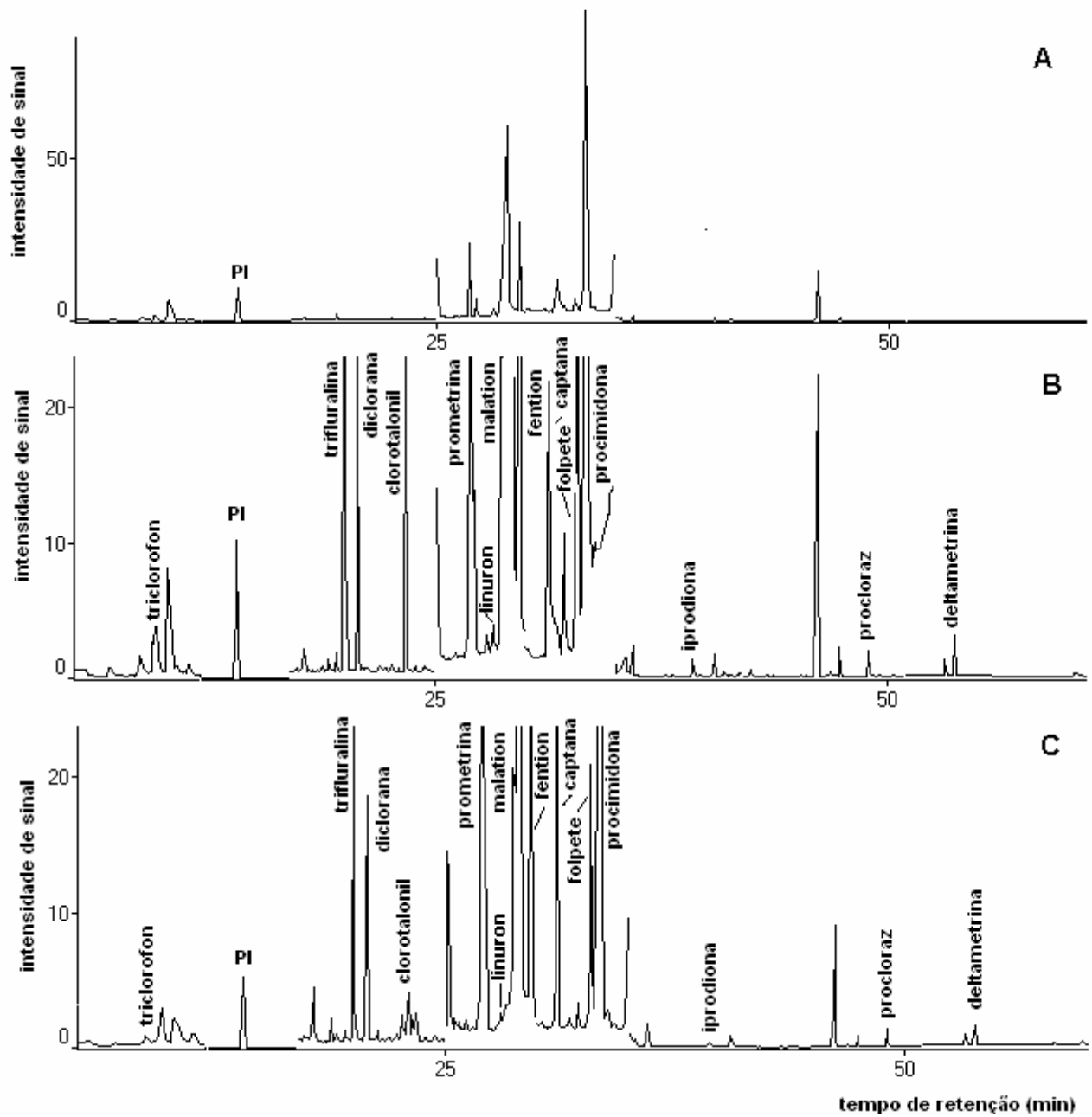


Figura 8: A – Cromatograma do extrato obtido a partir de uma amostra de cenouras livre de pesticidas usando-se acetato de etila e XAD-7. B – Cromatograma dos 14 pesticidas extraídos com acetato de etila e sulfato de sódio de uma amostra de cenouras liofilizadas fortificadas. C – Cromatograma dos 14 pesticidas extraídos de cenouras liofilizadas fortificadas usando-se acetato de etila e XAD-7. As condições cromatográficas estão no item 4.3.

Os resultados obtidos para extração de cenouras *in natura* são mostrados na Tabela XIV. Estes resultados não foram satisfatórios, uma vez que foi possível a recuperação eficiente de, no máximo, cinco analitos, quando a extração foi realizada com XAD-4 e acetona. O uso da mesma fase sólida com acetato de etila também resultou em resultados satisfatórios apenas para três pesticidas.

Esta diferença na qualidade das extrações, comparando-se cenouras *in natura* e liofilizadas, foi constante tanto para a MSPD como para MSPD realizada simultaneamente com PLE para a maioria das condições estudadas. Contudo, as extrações realizadas com *p*NNPA mostraram comportamento inverso: melhor desempenho quando realizadas com amostras de cenouras frescas. Como já foi mencionado anteriormente, a explicação para estes resultados encontra-se fora do escopo deste trabalho, entretanto, esta explicação envolve, provavelmente, as complexas interações que ocorrem entre fases sólidas, moléculas de água, analitos, interferentes da matriz e solventes.

Tabela XIV: Percentuais de recuperação (desvio padrão) obtidos para a determinação de pesticidas em cenouras *in natura* por dispersão da matriz em fase sólida/extração com líquido pressurizado, com diversos solventes e agentes dispersantes. (n=9).

| Analito | Recuperação média % (desvio padrão %) | | | | | | | | | | | | | |
|--------------|---------------------------------------|--------|--------|----------|------------------|-----------------|----------------|----------|-----------------|-----------------|----------------|----------|----------|--|
| | Diclorometano | | | | Acetato de etila | | | | Acetona | | | | | |
| | C ₁₈ | XAD-4 | XAD-7 | Sulfato* | C ₁₈ | XAD-4 | XAD-7 | Sulfato | C ₁₈ | XAD-4 | XAD-7 | Florisil | Celite | |
| Triclorfon | 25 (1) | 30 (6) | 34 (3) | 1 (1) | 5 (4) | 27 (8) | 15 (1) | 32 (10) | 22 (1) | 55 (10) | 12 (3) | <LOD | 15 (3) | |
| Trifluralina | 16 (1) | 13 (2) | 12 (1) | 2 (1) | 89 (11) | 40 (9) | 14 (2) | 14 (8) | 24 (4) | 41 (9) | 12 (3) | 13 (2) | 16 (3) | |
| Diclorana | 22 (3) | 9 (2) | 20 (3) | 4 (1) | 80 (10) | 25 (12) | 13 (1) | 24 (4) | 58 (4) | 66 (12) | 23 (2) | 22 (3) | 24 (5) | |
| Clorotalonil | 24 (8) | 14 (2) | 18 (4) | 4 (1) | 72 (8) | 15 (6) | 3 (1) | 10 (3) | 190 (2) | 34 (2) | <LOD | 4 (1) | 14 (6) | |
| Prometrina | 35 (17) | 22 (2) | 27 (1) | 4 (1) | 274 (33) | 97 (13) | 27 (6) | <LOD | 97 (25) | 113 (17) | 82 (15) | 20 (3) | 58 (12) | |
| Linuron | 29 (10) | 31 (2) | 40 (7) | 4 (1) | 262 (31) | <LOD | 47 (12) | 148 (24) | 3 (2) | <LOD | 74 (10) | <LOD | 9 (1) | |
| Malation | 47 (5) | 48 (4) | 69 (5) | 2 (2) | 187 (22) | 150 (15) | 72 (10) | 191 (25) | 75 (5) | 89 (11) | 40 (14) | 52 (5) | 50 (6) | |
| Fention | 25 (12) | 7 (1) | 9 (6) | 1 (1) | 171 (20) | 112 (18) | 46 (5) | 143 (16) | 270 (8) | 315 (24) | 11 (2) | 25 (2) | 218 (10) | |
| Captana | 9 (4) | 13 (6) | 3 (2) | 5 (1) | 14 (9) | 17 (4) | 6 (1) | 68 (14) | 6 (8) | 27 (9) | <LOD | 26 (3) | 15 (11) | |
| Folpete | 7 (11) | 8 (1) | 8 (1) | 3 (1) | 108 (13) | 29 (6) | 12 (3) | 51 (9) | 48 (1) | 76 (16) | 37 (3) | 23 (3) | 32 (9) | |
| Procimidona | 81 (5) | 20 (2) | 25 (2) | 5 (1) | 66 (8) | 37 (13) | 11 (1) | 92 (12) | 82 (2) | 87 (13) | 45 (2) | 43 (5) | 44 (12) | |
| Iprodiona | 192 (4) | 38 (4) | 46 (5) | 8 (1) | 141 (15) | 7 (1) | 13 (3) | 24 (8) | 30 (11) | 33 (7) | 28 (3) | 20 (3) | 19 (6) | |
| Procloraz | 68 (14) | 4 (1) | 5 (1) | 2 (1) | <LOD | 9 (2) | 1 (1) | 3 (1) | 22 (1) | 58 (4) | 13 (2) | 26 (3) | 28 (19) | |
| Deltametrina | 139 (25) | 45 (1) | 35 (1) | 34 (2) | 30 (6) | 91 (20) | 3 (1) | 17 (6) | 84 (6) | 83 (25) | 54 (4) | 51 (8) | 52 (21) | |

<LOD: menor que o limite de detecção; *sulfato de sódio anidro

4.8 APLICAÇÃO DOS MÉTODOS A AMOSTRAS COMERCIAIS

4.8.1 APLICAÇÃO DO MÉTODO 1:

O método desenvolvido utilizando-se MSPD com a fase sólida sintetizada e caracterizada neste trabalho (p NNPA) foi aplicado a duas (RS1, SP3) amostras comerciais de cenouras para a quantificação dos pesticidas triclorfon, trifluralina, diclorana, clorotalonil, prometrina, linuron, captana, procimidona, procloraz e deltametrina. Os resultados obtidos são mostrados na Tabela XV em comparação com os limites máximos de resíduos (LMR) da União Européia (European Union - EU)²³, da Agência Americana de Proteção Ambiental (United States Environmental Agency - USEPA)²² e da ANVISA²¹. Para os cálculos das concentrações dos analitos nas amostras comerciais, foram considerados os percentuais de recuperação obtidos através deste método. Na amostra RS1, 8 resíduos de pesticidas foram detectados e na amostra SP3, 9. Todos os resíduos foram detectados em concentrações abaixo dos padrões da ANVISA e USEPA. A amostra SP3 apresentou resíduos de captana, procimidona, procloraz e deltametrina acima dos limites estabelecidos pela EU. A Figura 9 mostra o cromatograma da injeção do extrato obtido com p NNPA por MSPD para amostra SP3 comercial de cenouras.

Tabela XV: Quantidade de resíduos de pesticidas encontrados em amostras comerciais de cenouras utilizando-se o método proposto em cenouras *in natura* e *p*NNPA em comparação com os LMR de diversas instituições. (n=15).

| Analitos | Resíduos ($\mu\text{g kg}^{-1}$) | | LMR* ($\mu\text{g kg}^{-1}$) | | |
|--------------|------------------------------------|---------------|--------------------------------|-------|--------|
| | RS1 | SP3 | EU | USEPA | ANVISA |
| Triclorfon | <LOQ | <LOQ | 500 | n.p. | 50 |
| Trifluralina | <LOD | <LOQ | n.p. | 1000 | 50 |
| Diclorana | <LOQ | <LOQ | n.p. | 10000 | n.p. |
| Clorotalonil | <LOD | <LOD | 1000 | 1000 | 500 |
| Prometrina | <LOQ | <LOQ | n.p. | 100 | 20 |
| Linuron | 430,7 | 623,1 | n.p. | 1000 | 1000 |
| Captana | <LOQ | 1531,7 | 100 | 20000 | n.p. |
| Procimidona | <LOQ | 25,4 | 20 | n.p. | 1000 |
| Procloraz | 39,6 | 52,3 | 50 | n.p. | 500 |
| Deltametrina | <LOQ | 102,0 | 50 | n.p. | n.p. |

*LMR – limite máximo de resíduo; <LOD: menor que o limite de detecção
n.p.: não permitido para cenouras

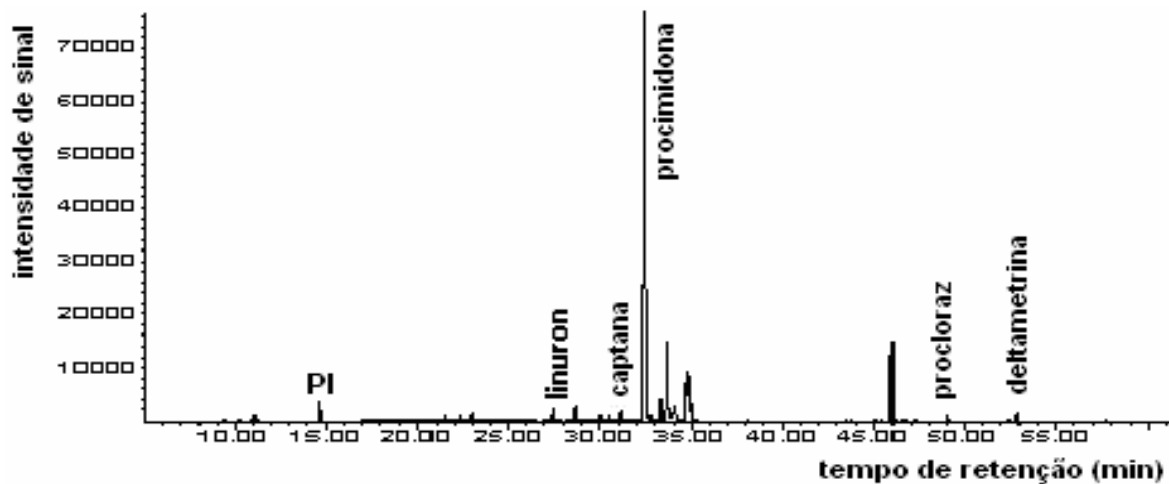


Figura 9: Perfil cromatográfico do extrato obtido com *p*NNPA por MSPD da amostra comercial SP3. Condições cromatográficas descritas no item 4.3.

4.8.2 APLICAÇÃO DO MÉTODO 2

O método que associa a MSPD com a PLE foi aplicado com XAD-7 para a determinação de triclofon, clorotalonil, malation, folpete, procimidona, procloraz e deltametrina em duas amostras (SP4 e RS2) de cenouras liofilizadas, empregando acetato de etila como solvente. Os resultados obtidos destas análises estão na Tabela XVI.

Tabela XVI: Quantidade de resíduos de pesticidas encontrados em amostras comerciais de cenouras liofilizadas, utilizando-se o método proposto com XAD-7 e acetato de etila por MSPD associada à PLE, em comparação com os LMR de diversas instituições. (n=15).

| Analitos | Resíduos ($\mu\text{g kg}^{-1}$) | | LMR* ($\mu\text{g kg}^{-1}$) | | |
|--------------|------------------------------------|---------------|--------------------------------|-------|--------|
| | SP4 | RS2 | EU | USEPA | ANVISA |
| Triclofon | 547,2 | 1541,1 | 500 | n.p. | 50 |
| Clorotalonil | <LOD | <LOD | 1000 | 1000 | 500 |
| Malation | <LOQ | 379,2 | 500 | 8000 | n.p. |
| Folpete | <LOQ | 7613,5 | 100 | n.p. | n.p. |
| Procimidona | 81,1 | 179,7 | 20 | n.p. | 1000 |
| Procloraz | 135,6 | 138,9 | 50 | n.p. | 500 |
| Deltametrina | 192,8 | 270,4 | 50 | n.p. | n.p. |

*LMR – limite máximo de resíduo; n.p.: não permitido para cenouras
 LOD – limite de detecção, LOQ – limite de quantificação

Em ambas as amostras analisadas, foram detectados seis resíduos de pesticidas. A procimidona e o procloraz apresentaram resíduos abaixo do LMR da ANVISA, mas superior ao estabelecido para a Comunidade Européia. O triclorfon foi detectado acima do LMR para a EU e ANVISA. O clorotalonil e o malation foram encontrados em quantidades inferiores aos LMR de todas as agências. A deltametrina e o folpete se apresentaram em quantidades superiores ao LMR da EU. Estes últimos não são recomendados para a cultura de cenoura pela ANVISA.

A Figura 10 mostra o cromatograma da injeção do extrato obtido com XAD-7 por MSPD associada à PLE para amostra comercial de cenouras liofilizadas RS2.

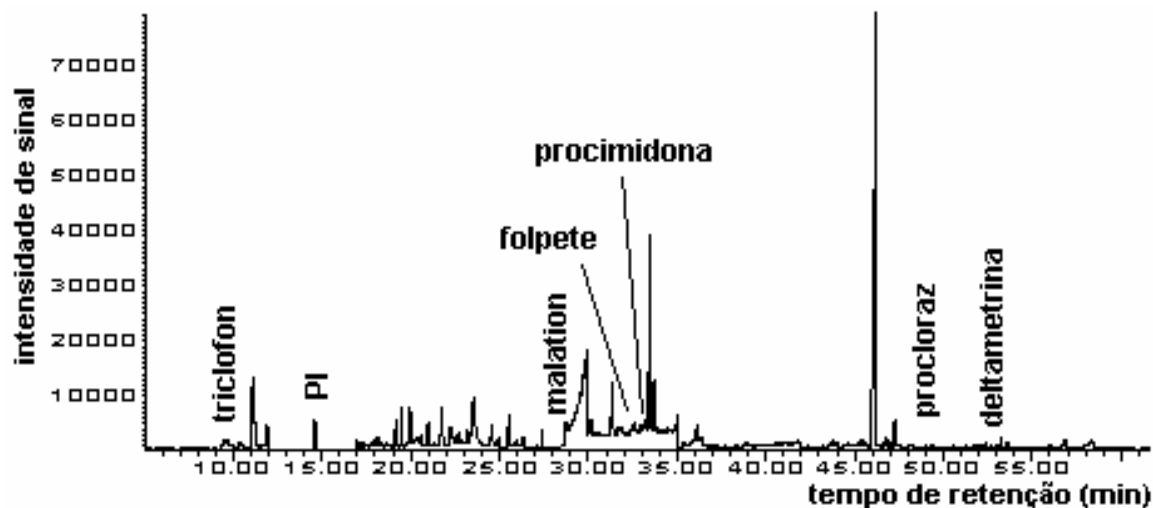


Figura 10: Perfil cromatográfico do extrato obtido com XAD-7 e acetato de etila por MSPD associada à PLE da amostra RS2. Condições cromatográficas descritas no item 4.3.

4.8.3 APLICAÇÃO DO MÉTODO 3

Para determinação dos pesticidas triclorfon, diclorana, linuron, captana, procimidona, procloraz e deltametrina em cenouras liofilizadas, foi empregada a PLE usando-se sulfato de sódio anidro como agente secante e acetato de etila como solvente extrator. Os resultados obtidos para as duas amostras comerciais testadas estão expressos na Tabela XVII.

Tabela XVII: Quantidade de resíduos de pesticidas encontrados em amostras comerciais de cenouras liofilizadas, utilizando-se o método que emprega PLE com sulfato de sódio anidro e acetato de etila em comparação com os LMR de diversas instituições. (n=15).

| Analitos | Resíduos ($\mu\text{g kg}^{-1}$) | | LMR* ($\mu\text{g kg}^{-1}$) | | |
|--------------|------------------------------------|---------------|--------------------------------|-------|--------|
| | SP4 | RS2 | EU | USEPA | ANVISA |
| Triclorfon | 573,7 | 1324,9 | 500 | n.p. | 50 |
| Diclorana | 213,3 | 215,8 | 1000 | 1000 | 500 |
| Linuron | <LOQ | <LOQ | 500 | 8000 | n.p. |
| Captana | 2965,5 | 1652,0 | 100 | n.p. | n.p. |
| Procimidona | 60,0 | 241,1 | 20 | n.p. | 1000 |
| Procloraz | 136,7 | 146,7 | 50 | n.p. | 500 |
| Deltametrina | 205,8 | 224,4 | 50 | n.p. | n.p. |

*LMR – limite máximo de resíduo; n.p.: não permitido para cenouras
LOQ: limite de quantificação

Este método, aplicado às duas amostras comerciais SP4 e RS2, possibilitou a detecção de sete resíduos de pesticidas em cada uma delas. Diclorana e linuron apresentaram concentrações inferiores aos LMR de todas as agências. A captana e deltametrina, pesticidas não prescritos pela ANVISA e USEPA para a cultura de cenouras, foram encontrados em quantidades superiores à preconizada como segura pela Comunidade Européia. Procimidona e procloraz apresentaram-se em quantidades inferiores àquelas recomendadas pela ANVISA e superiores às estabelecidas pela EU, enquanto que o triclorfon apresentou concentração superior a ambas as agências de controle. Os dados obtidos mostrados nas Tabelas XVI e XVII indicam que as quantidades obtidas para os pesticidas procloraz, procimidona, deltametrina e triclorfon para as amostras SP4 RS2 foram, de forma geral, semelhantes estatisticamente.

A Figura 11 apresenta o cromatograma da injeção do extrato obtido por PLE para amostra comercial de cenouras liofilizadas RS2.

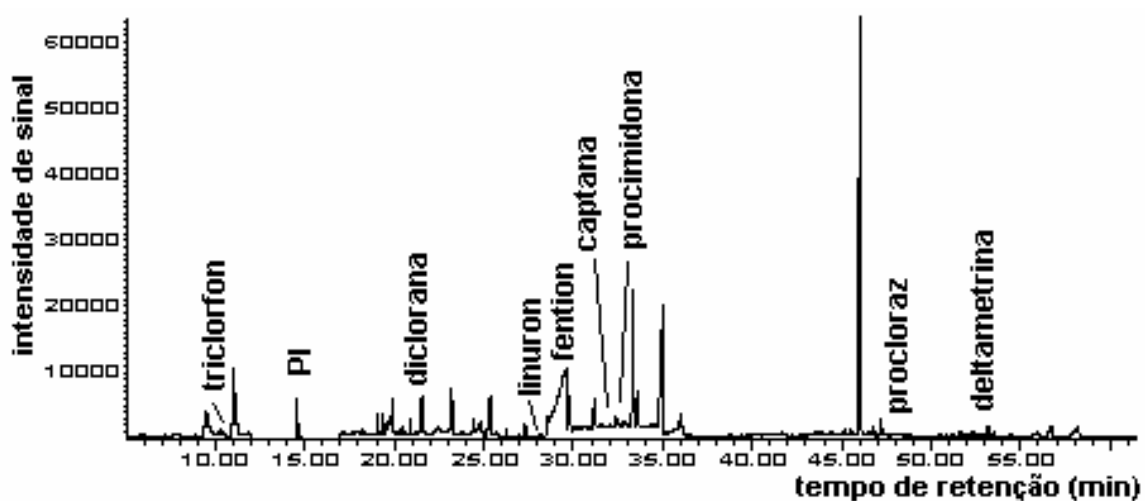


Figura 11: Perfil cromatográfico do extrato obtido da amostra comercial de cenouras liofilizadas RS2 por PLE com sulfato de sódio anidro e acetato de etila. Condições cromatográficas descritas no 4.3.

5 RESUMOS DOS RESULTADOS



5 RESUMO DOS RESULTADOS

a) Foram desenvolvidos três métodos de extração e determinação de doze pesticidas (captana, clorotalonil, deltametrina, diclorana, folpete, linuron, malation, prometrina, procloraz, procimidona, triclorfon e trifluralina) em amostras de cenouras, os quais foram aplicados com sucesso em quatro amostras adquiridas no comércio local: o Método 1 consiste em MSPD que emprega uma nova fase sólida (*p*NNPA) e uma mistura de diclorometano:acetato de etila (1:1) em amostras de cenouras frescas; o Método 2 utiliza MSPD associada à PLE com a fase sólida XAD-7 e acetato de etila em cenouras liofilizadas e o Método 3 usa PLE com acetato de sódio e acetato de etila em cenouras liofilizadas.

b) Os coeficientes de determinação (r^2) das curvas analíticas situaram-se na faixa de 0,9997 a 0,9821; os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) para os vários compostos investigados ficaram entre 0,0024 e 0,1968 mg kg⁻¹, e 0,0072 a 0,5963 mg kg⁻¹, respectivamente. No que diz respeito aos desvios padrão determinados para os tempos de retenção e às áreas, os mesmos apresentaram-se entre <0,001 e 0,003%, e 0,352 a 10,981%, respectivamente. Em termos de precisão intermediária, os desvios padrão relacionados aos tempos de retenção dos picos cromatográficos ficaram na faixa de 0,032 e 0,142%; para as áreas, foi obtido um desvio padrão um pouco acima de 15% apenas para o pesticida folpete, os demais variaram entre 2,14 e 13,44%. Estes resultados podem ser considerados apropriados para as análises em questão.

c) A fase sólida *p*NNPA obtida apresentou 0,34 mmol do grupo *p*-nitro-*N*-propilanilina por grama de sílica com área superficial de 295 ± 10 m² g⁻¹ e distribuição de tamanho de poros entre 5,0 e 6,7 nm. A reação produziu um material mesoporoso com grupos orgânicos de *p*-nitro-*N*-propilanilina, formando uma

monocamada na superfície da sílica sem a ocorrência de aglomerados ou fechamento de poros.

d) O Método 1 foi desenvolvido e aplicado com sucesso a duas amostras de cenouras comerciais (RS1 e SP3), resultando na determinação de dez pesticidas (triclorfon, diclorana, captana, procimidona, deltametrina com recuperações de 70 a 106% e trifluralina, prometrina, linuron, procloraz com recuperações entre 48 e 58%). A precisão alcançada na recuperação destes analitos situou-se na faixa de 6 a 20%, valores considerados bons para matrizes sólidas. Oito pesticidas foram detectados na amostra RS1 e nove na SP3. Os residuais de captana, procimidona, procloraz e deltametrina nestas amostras encontravam-se acima dos valores recomendados pela União Européia, mas abaixo dos limites estabelecidos pela USEPA e pela ANVISA.

e) O Método 2 foi desenvolvido e aplicado com sucesso a duas amostras de cenouras comerciais (SP4 e RS2), resultando na determinação de sete pesticidas (triclorfon, clorotalonil, malation, folpete, procimidona, procloraz, deltametrina com recuperações de 70 a 130%). A precisão alcançada na recuperação destes analitos situou-se na faixa de 6 a 21%. Todos os compostos anteriormente citados foram detectados em ambas, com exceção do clorotalonil, que não foi detectado. A procimidona, o procloraz e a deltametrina estavam presentes em quantidades superiores às recomendadas pela EU e abaixo dos LMR da ANVISA. O triclorfon apresentou-se acima dos valores preconizados tanto pela ANVISA como pela EU. Na amostra RS2, o folpete apresentou-se em quantidades superiores ao LMR da ANVISA.

f) O Método 3 foi desenvolvido e aplicado com sucesso às mesmas duas amostras que foram testadas pelo Método 2 (SP4 e RS2), resultando na determinação de sete pesticidas (triclorfon, diclorana, linuron, captana, procimidona, procloraz, deltametrina com recuperações de 74 a 121%). Os resultados obtidos pelos dois métodos foram semelhantes estatisticamente. A precisão alcançada na recuperação destes analitos situou-se na faixa de 10 a 32%. Todos os sete analitos foram detectados em ambas as amostras. A captana e deltametrina foram encontrados em quantidades superiores à preconizada pela Comunidade Européia. Procimidona e procloraz apresentaram-se em quantidades inferiores àquelas

recomendadas pela ANVISA e superiores às estabelecidas pela EU, enquanto que o triclorfon apresentou concentração superior às recomendadas por ambas as agências de controle.

g) A eficiência dos Métodos 2 e 3 foi semelhante ou até superior àquela obtida quando do emprego da fase sólida C₁₈, que é a mais largamente empregada para MSPD.

h) A quantidade de água presente nas amostras é parâmetro importante na eficiência de extração dos pesticidas investigados. As tendências observadas nos resultados de eficiência dos processos extrativos (MSPD e MSPD + PLE) não são facilmente elucidadas através de modelos baseados em interações entre analitos, solventes, interferentes, fases sólidas, matriz e moléculas de água. Sendo assim, a influência da água na matriz deve ser considerada caso a caso, isto é, para cada analito e fase estacionária.

i) Os resultados obtidos através da aplicação da técnica de extração sólido-líquido mostraram-se inferiores aos alcançados com os demais métodos testados neste trabalho, tanto no que diz respeito à recuperação como ao desvio padrão da mesma.

j) Quando à aplicação do método sólido-líquido (método multirresíduo do INCQS modificado):

- considerando-se o somatório das recuperações com os solventes utilizados, foi possível obter uma recuperação aceitável para o triclorfon e a procimidona. Os demais analitos apresentaram recuperações acima de 130%, com exceção da captana, cuja recuperação situou-se abaixo de 70%.

- os desvios padrão, para grande parte dos valores de recuperação obtidos através deste método, foram elevados.

k) Quando MSPD foi aplicada a cenouras liofilizadas:

- Recuperações razoáveis (recuperação entre 70 e 130%) foram obtidas para: procimidona, triclorfon, diclorana com as fases sólidas Florisil, XAD-4 e XAD-7, trifluralina, malation e fention com XAD-4, trifluralina com Florisil e clorotalonil, prometrina, malation e fention com C₁₈.

l) Quando MSPD foi aplicada a cenouras *in natura*:

- Recuperações aceitáveis foram alcançadas para procimidona com todas as fases extratoras, deltametrina e malation com XAD-4, prometrina e folpete com Celite.

m) Quando a MSPD foi aplicada a cenouras liofilizadas e *in natura*, utilizando-se misturas C₁₈ + Florisil, C₁₈ + XAD-4 e C₁₈ + XAD-7:

- Para cenouras liofilizadas, a boa recuperação manteve-se para a prometrina com todas as misturas. Para o malation, as recuperações se mantiveram em valores aceitáveis, exceto com a mistura C₁₈ + XAD-4, que resultou em uma recuperação insatisfatória para o malation. A recuperação da procimidona manteve-se satisfatória com Florisil e XAD-4.

- Para as cenouras *in natura*, foram obtidos resultados melhores com Florisil e XAD-7. O uso de XAD-4 e XAD-7 aumentou a recuperação do procloraz. O mesmo ocorreu para diclorana e clorotalonil com XAD-4 e XAD-7, respectivamente.

n) Quando a MSPD foi usada associada à PLE:

- O solvente acetona foi o que proporcionou menores recuperações, dentre os solventes testados, embora C₁₈ e Celite tenham resultado em recuperações aceitáveis para 5 e 6 componentes, respectivamente.

- O uso de diclorometano e acetato de etila como solventes extratores propiciou recuperações na faixa de 70 a 135% para 5 a 7 analitos, quando foram empregados C₁₈, XAD-4 e XAD-7 como fases sólidas.

- O uso da fase sólida Florisil redundou em baixas recuperações para a grande maioria dos pesticidas estudados.

- Para vários analitos, o uso do agente secante sulfato de sódio conduziu a eficiências de extração semelhantes às aquelas obtidas quando do emprego de fases sólidas, o que demonstra que, nestes casos, o uso de fases sólidas não melhora a eficiência do processo de extração.

- Em muitos casos, os cromatogramas obtidos depois do emprego das fases sólidas apresentaram menor intensidade dos picos cromatográficos dos

interferentes, quando comparados aos cromatogramas obtidos de PLE com sulfato de sódio.

6 CONCLUSÕES



6 CONCLUSÕES

O emprego de dispersão de matriz em fase sólida (MSPD) em separado ou associado à extração com líquido pressurizado (PLE), resultou no desenvolvimento de três novos métodos multirresíduo e multiclasse (organofosforados, isoftalonitrilas, piretróides, dicarboximidas, uréias, triazinas, dinitroanilinas) para extração e quantificação de doze pesticidas (captana, clorotalonil, deltametrina, diclorana, folpete, linuron, malation, prometrina, procloraz, procimidona, triclofon e trifluralina) em matrizes complexas (cenouras frescas e liofilizadas) em nível de traços. O Método 1 empregou uma nova fase (*p*-nitro-*N*-propil-anilina/sílica - *p*NNPA) e os Métodos 2 e 3 utilizaram MSPD e PLE com XAD-7 e sulfato de sódio com acetato de etila. A eficiência destes métodos foi demonstrada pelos valores de recuperação obtidos (48 a 106% para o Método 1, 70 a 130% para o Método 2 e 74 a 121% para o Método 3), sendo que os LOD e LOQ alcançados ficaram satisfatoriamente abaixo dos limites máximos de resíduos recomendados por várias agências reguladoras. O desempenho da nova fase *p*NNPA, quando aplicada a cenouras frescas, foi promissor, pois se mostrou semelhante ou superior àquele obtido com C_{18} para dez pesticidas, considerando-se que a C_{18} é uma das fases sólidas mais empregadas com MSPD. Uma comparação deste método com o método de extração sólido-líquido conduz a outros aspectos importantes como o menor número de etapas, tempo reduzido para sua execução, menor quantidade de amostra, aspectos que resultam em economia de amostra e de solventes, tornando este método, além de eficiente, ambientalmente adequado, simples e rápido. Os Métodos 2 e 3 também apresentam vantagens relativamente ao método convencional e foram empregados para a determinação de sete pesticidas em cenouras liofilizadas. A PLE propicia rapidez na extração e a automação de todo o processo extrativo, melhorando a sua reprodutibilidade e reduzindo o tempo em que o analista fica exposto à manipulação

de solventes tóxicos, além de reduzir a quantidade de resíduos de solventes gerados. Este conjunto de características classifica estes dois métodos como ambientalmente corretos. Além disso, a aplicação destes três novos métodos a cenouras comerciais frescas ou liofilizadas, adquiridas em mercados locais, foi bem sucedida, visto que evidenciou quantidades de resíduos superiores aos limites máximos permitidos para alguns dos pesticidas da cultura de cenouras. Além disso, foram também identificados e quantificados alguns pesticidas, cuja utilização não é permitida para esta cultura. Isto demonstra uma importante demanda por um maior controle sobre a qualidade destes alimentos por parte dos órgãos fiscalizadores. Além disso, enfatiza a importância do desenvolvimento de métodos multirresíduo multiclasse, que, embora sejam reconhecidamente considerados como de difícil desenvolvimento, desempenham um papel importante no controle mais abrangente e econômico de resíduos de pesticidas em alimentos, os quais representam risco ao meio ambiente e à saúde da população.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Souza, A. F., Lopes, C. A., França, F. H., Pereira, W., Marouelli, F. A., Charchar, J. M., Fontes, R. R. Embrapa Hortaliças - Cultivo da cenoura. Vieira, J. V. and Makishima, N.
http://www.cnph.embrapa.br/paginas/sistemas_producao/cultivo_da_cenoura.htm . 2005. 25/7/2006.
2. Lana, M. M.; Vieira, J. V.; Silva, J. B. C; Lima, D. B.; *Horticultura Brasileira* **2001**, *19*, 376.
3. EMATER DF. Empreendimentos de Assistência Técnica e Extensão Rural do Distrito Federal. Plantio de Cenoura. www.emater.df.gov.br. Acessado em 2002.
4. Agüera, A.; Contreras, M.; Crespo, J.; Fernández-Alba, A. R.; *Analyst* **2002**, *127*, 347.
5. Ferreira, J. Veja os 15 alimentos indispensáveis para uma dieta saudável. <http://www.portalmedico.org.br/index.asp?opcao=mostranoticia&id=877&portal=PE>. Acessado em 01/06/2006.
6. Brandt, K.; Christensen, L. P.; Hansen-Møller, J.; Hansen, S. L.; Haraldsdottir, J.; Jespersen, L.; Purup, S.; Kharazmie, A.; Barkhoff, V.; Frokiaer, H.; Kobæk-Larsen, M.; *Trends in Food Sci. & Technol.* **2004**, *15*, 384.
7. <http://www.nestle.com.br/alimentosinfantis>. 2005. Acessado em 10/1/2006.
8. Empreendimentos de Assistência Técnica e Extensão Rural do Distrito Federal. Plantio de Cenoura. <http://www.emater.df.gov.br>. Acessado em 25/7/2006.
9. Fundacentro *Prevenção de acidentes no trabalho com agrotóxicos: segurança e saúde no trabalho*, n.3, São Paulo, 1998.
10. Chu, X. G.; Hu, X. Z.; Yao, H. Y.; *J. Chromatogr. A.* **2005**, *1063*, 201.
11. Raven, P. H.; Berg, L. R.; Johnson, G. B. *Environment*, International Edition ed.; Saunders College Publishing: Orlando, 1995.
12. Zakrzewski, S. F. *Principles of environmental toxicology*, 2 ed.; American chemical society: Washington, 1994.

13. Macêdo, J. A. B. *Introdução à Química Ambiental - química, meio ambiente e sociedade*, 1^a ed.; CRQ-MG: Juiz de fora/ MG, 2002.
14. Crosby, D. G. *Environmental toxicology and chemistry*, Oxford University Press: New York, 1998.
15. OPS (Organização Pan-americana da Saúde) *Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos*. Organização Pan-americana da Saúde/OMS: Brasília, 1996.
16. OMS (Organização Mundial da Saúde) *Impacto na saúde pública dos pesticidas usados na agricultura*, Organização Mundial da Saúde: Genebra, 1990.
17. Peres, F.; Moreira, J. C.; Dubois, G. S. *É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente*, Peres, F., Ed.; Editora FIOCRUZ: Rio de Janeiro, 2003; capítulo 1.
18. Zahm, S. H.; Ward, M. H.; *Environmental Health Perspectives* **1998**, *106*, 893.
19. Tamura, H.; Yoshikawa, H.; Gaido, K. W.; Ross, S. M.; DeLisle, R. K.; Welsh, W. J.; Richard, A. M.; *Environmental Health Perspectives* **2003**, *111*, 545.
20. Sistema de informações sobre agrotóxicos - ANVISA. <http://www4.anvisa.gov.br/agrosia> . Acessado em 10/10/2004.
21. Brazilian Sanitary Surveillance Agency (ANVISA). <http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/sia.htm> 2006. Acessado em 10/3/2006.
22. US Environmental Protection Agency (EPA). <http://www.epa.gov/pesticides/food/viewtols.htm>. 2006. Acessado em 10/3/2006.
23. The European Commission. http://ec.europa.eu/food/plant/protection/pesticides/index_en.htm. 2006. Acessado em 10/4/2006.
24. Nordmeyer, K.; Thier, H-P. *Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A: Food Research and Technology* **1999**, *208*, 259.
25. Martínez Vidal, J. L.; Arrebola, F. J.; Mateu-Sánchez, M. *J. Chromatogr. A* **2002**, *959*, 203.
26. Chuang, J. C.; Hart, K.; Chang, J. S.; Boman, L. E.; Van Emon, J. M.; Reed, A. W. *Anal. Chim. Acta* **2001**, *444*, 87.
27. Arrebola, F. J.; Martínez Vidal, J. L.; Mateu-Sánchez, M.; Álvarez-Castellón, F. *J. Anal. Chim. Acta* **2003**, *484*, 167.
28. Nagami, H.; *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **1997**, *58*, 53.
29. Fytianos, K.; Konstantinou, J.; Kaidatzis, J.; Albanis, T. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **1998**, *51*, 684.

30. Danis, T.; Sakkas, V.; Stratis, I.; Albanis, T. A.; *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **2002**, *69*, 674.
31. Sandra, P.; Tienpont, B.; David, F.; *J. Chromatogr. A.* **2003**, *1000*, 299.
32. Escuderos-Morenas, M. L.; Santos-Delgado, M. J.; Rubio-Barroso, S.; Polo-Díez, L. M.; *J. Chromatogr. A.* **2003**, *1011*, 143.
33. Arrebola, F. J.; Martínez Vidal, J. L.; González-Rofríguez, M. J.; Garrido-Frenich, A.; Sánchez Morito, N.; *J. Chromatogr. A.* **2003**, *1005*, 131.
34. Garrido Frenich, A.; Martínez Vidal, J. L.; López-López, T.; Cortés Aguado, S.; Martínez Salvador, I.; *J. Chromatogr. A.* **2004**, *1048*, 199.
35. Stajnbaher, D.; Zupancic-Kralj, L.; *J. Chromatogr. A.* **2003**, *1015*, 185.
36. Columé, A.; Cárdenas, S.; Gallego, M.; Valcárcel, M.; *Anal. Chim. Acta* **2001**, *436*, 153.
37. Klein, J.; Alder, L.; *J. AOAC Int.* **2003**, *86*, 1015.
38. Vidal, J. L. M.; Gonzalez-Rodriguez, J.; Arrebola, F. J.; Frenich, A. G.; Lopez, F. J. S.; Diez, N. M.; *J. AOAC Int.* **2003**, *86*, 856.
39. Gonzalez-Rodriguez, M. J.; Garrido-Frenich, A.; Arrebola, F. J.; Martinez-Vidal, J. L.; *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2002**, *16*, 1216.
40. Vidal, J. L. M.; Arrebola, F. J.; Mateu-Sanchez, M.; *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2002**, *16*, 1106.
41. Barker, S. A.; Long, A. R.; Short, C. R.; *J. Chromatogr. A.* **1989**, *475*, 353.
42. Lanças, F. M. *Extração em fase sólida*, RiMa: São Carlos, 2004.
43. Dórea, H. S.; Lanças, F. M.; *J. Microcolumn Sep.* **1999**, *11*, 367.
44. Tekel, J.; Hatrík, S.; *J. Chromatogr. A.* **1996**, *754*, 397.
45. Torres, CM; Pico, Y; Manes, J; *J. Chromatogr. A.* **1997**, *778*, 127.
46. Blasco, C; Font, G; Pico, Y.; *J. Chromatogr. A.* **2002**, *970*, 201.
47. Barker, S. A.; *J. Chromatogr. A.* **2002**, *885*, 127.
48. Barker, S. A.; *J. Chromatogr. A.* **2000**, *880*, 63.
49. Ramos, J. J.; González, M. J.; Ramos, L.; *J. Sep. Sci.* **2004**, *27*, 595.
50. Vigna, C. R. M.; Morais, L. S. R.; Collins, C. H.; Jardim.I.C.S.F.; *J. Chromatogr. A.* **2006**, *1114*, 211.
51. Basheer, C.; Jegadesan, S.; Valiyaveettil, S.; Lee.H.K.; *J. Chromatogr. A.* **2005**, *1087*, 252.

52. Geller, A. M.; Stedile, F. C.; Peralba, M. C. R.; Pizzolato, T. M.; dos Santos, J. H. Z.; *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, *288*, 45.
53. Buszewski, B. J.; Michel, M. J. *Chromatogr. B.* **2004**, *800*, 309.
54. Moral, A.; Sicilia, M. D.; Rubio, S.; Pérez-Bendito, D.; *Anal. Chim. Acta* **2006**, *569*, 132.
55. Melo, L. F. C.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; *J. Chromatogr. A.* **2004**, *1032*, 51.
56. Hu, X. Z.; Yu, J. X.; Yan, Z. G.; Ni, L. S.; Lin, Y. F.; Wang, P.; Li, J.; Huang, X.; Chu, X. G.; Zhang, Y. B.; *J. AOAC Int.* **2004**, *87*, 972.
57. Perret, D.; Gentili, A.; Marchese, S.; Sergi, M.; D'Ascenzo G.; *J. AOAC Int.* **2002**, *85*, 724.
58. Soler, C.; Mañes, J.; Picó, Y.; *J. Chromatogr. A.* **2004**, *1048*, 41.
59. Albero, B.; Sánchez-Brunete, C.; Tadeo, J. L.; *J. Chromatogr. A.* **2003**, *1007*, 137.
60. Navarro, M.; Picó, Y.; Marín, R.; Mañes, J.; *J. Chromatogr. A.* **2002**, *968*, 201.
61. Husain, S. W.; Kiarostami, V.; Morrovati, M.; Tagebakhsh, M. R.; *Acta Chromatographica* **2003**, *13*, 208.
62. Dórea, H. S.; Lopes, W. G.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 892.
63. Blasco, C.; Pico, Y.; Manes, J.; Font, G.; *J. Chromatogr. A.* **2002**, *947*, 227.
64. Cardoso, M. H. W. M.; Bastos, L. H. P.; Neves, T. S.; Abrantes, S.; *Ciência e Tecnologia de Alimentos* **2004**, *24*, 298.
65. Albero, B.; Sanchez-Brunete, C.; Tadeo, J.L.; *J. Agric. Food. Chem.* **2003**, *51*, 6915.
66. Viana, E.; Moltó, J. C.; Font, G.; *J. Chromatogr. A.* **1996**, *754*, 437.
67. Dórea, H. S.; Sobrinho, L. L.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2004**, *15*, 690.
68. Kristenson, E. M.; Haverkate, E. G. J.; Slooten, C. J.; Ramos, L.; Vreuls, R. J. J.; Brinkman, U. A. Th.; *J. Chromatogr. A.* **2001**, *917*, 277.
69. Cai, L.; Gong, S.; Chen, M.; Wu, C.; *Anal. Chim. Acta* **2006**, *559*, 89.
70. de Moraes, S. V. M.; Passos, J. B.; Schossler, P.; Caramão, E. B.; Moro, C. C.; Costa, T. M. H.; Benvenuti, E. V.; *Talanta* **2003**, *59*, 1039.
71. Kristenson, E. M.; Ramos, L.; Brinkman, U. A. Th.; *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2006**, *25*, 96.

72. Björklund, E.; Nilsson, T.; Bøwardt, S.; *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2000**, *19*, 434.
73. Abrha, Y.; Raghavan, D.; *J. Hazard. Mater.* **2000**, *B80*, 147.
74. Mozajska, H. G.; da Browski, L.; Namiésnik, J.; *J. Critical Reviews in Analytical Chemistry* **2001**, *31*, 149.
75. Björklund, E.; von Holst, C.; Anklam, E.; *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2002**, *21*, 40.
76. Pecorelli, I.; Galarini, R.; Bibi, R.; Floridi, Al.; Casciarri, E.; Floridi, A.; *Anal. Chim. Acta* **2003**, *483*, 81.
77. Hooijerink, H.; van Bennekom, E. O.; Nielen, M. W. F.; *Anal. Chim. Acta* **2003**, *483*, 51.
78. Saim N.; Dean, JR.; Abdullah, MP.; Zakaria Z.; *J. Chromatogr. A.* **1997**, *791*, 361.
79. Hawthorne, S. B.; Grabanski, C. B.; Martin, E.; Miller, D. J.; *J. Chromatogr. A.* **2000**, *892*, 421.
80. Richter, B. E.; Ezzell, J. L.; Knowles, D. E.; Hoefler, F. *Chemosphere* **1997**, *34*, 975.
81. Conte, E.; Milani, R.; Morali, G.; Abballe, F.; *J. Chromatogr. A.* **1997**, *765*, 121.
82. Zuloaga, O.; Etxebarria, N.; Fernández, L. A.; Madariaga, J. M.; *TrAC, Trends Anal. Chem.* **1998**, *17*, 642.
83. Chaudot, X.; Tambuté, A.; Caude, M.; *J. Chromatogr. A.* **2000**, *888*, 327.
84. Richter, B. E.; *J. Chromatogr. A.* **2000**, *874*, 217.
85. Dean, J. R.; Santamaria- Rekondo, A.; Ludkin, E.; *Anal. Commun.* **1996**, *33*, 413.
86. Fisher, J. A.; Scarlett, M. J.; Stott, A. D.; *Environ. Sci. Technol.* **1997**, *31*, 1120.
87. Popp, P.; Keil, P.; Moeder, M.; Pascke, A.; Thuss, U.; *J. Chromatogr. A.* **1997**, *774*, 203.
88. Gan, J.; Papiernik, S. K.; Koskinen, W. C.; Yates, S. R.; *Environ. Sci. Technol.* **1999**, *33*, 3249.
89. Schwesig, D.; Gottlein, A.; Haumaier, L.; Blasek, R.; Elgen, G.; *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **1999**, *73*, 253.
90. Björklund, E.; Nilsson, T.; Bøwardt, S.; Mathiasson, L.; *J. Chromatogr. A.* **1999**, *836*, 285.

91. Chen, G. S.; Schramm, K. W.; Henkelmann, B.; Xu, Y.; Zhang, Y. Y.; Wotten, T.; Kettrup, A.; *Organohalogen Compd.* **1997**, *31*, 114.
92. Jensen, D.; Hoefler, F.; Ezzell, J.; Richter, B.; *Polycyclic Aromat. Compd.* **1996**, *9*, 233.
93. McCant, D. D.; Inouye, L. S.; McFarland, V. A.; *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **1999**, *63*, 282.
94. Alzaga, R.; Maldonado, C.; Bayona, J. M.; *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **1998**, *72*, 99.
95. Ahmed, F. E.; *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2003**, *22*, 170.
96. Okihashi, M.; Obana, H.; *Analyst* **1998**, *123*, 711.
97. Obana, H.; Kikuchi, K.; Okihashi, M.; Hori, S.; *Analyst* **1997**, *122*, 217.
98. McKiernan, J. W.; Creed, J. T.; Brockhoff, C. A.; Caruso, J. A.; Lorenzana, R. M.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1999**, *14*, 607.
99. Draisci, R.; Marchiafava, C.; Ferretti, E.; Palleschi, L.; Catellani, G.; Anastásio, A.; *J. Chromatogr. A.* **1998**, *814*, 187.
100. Kakimoto, S.; Obana, H.; Okihashi, M.; Hori, S.; *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* **1997**, *38*, 358.
101. Schroeter, F.; Anastassiades, M.; Scherbaum, E. *CLB Chem.Labor Biotechnology* **1999**, *50*, 4.
102. Hauffe, D.; Hofler, F.; Knowles, D. E.; Clark, J.; Ezzel, J. L.; Richter, B.; *Proceedings of the European Conference on Food Chemistry* **1995**, *8*, 766.
103. Palma, M.; Piñeiro, Z.; Barroso, C. G. J.; *Chromatogr. A.* **2001**, *921*, 169.
104. Alonso-Salces, R. M.; Korta, E.; Barranco, A.; Berrueta, L. A.; Gallo, B.; Vicente, F.; *J. Chromatogr. A.* **2001**, *933*, 37.
105. Eckoldt, J.; Bushmann, R.; Wauschkuhn, C.; *Lebensmittelchimie* **1999**, *53*, 120.
106. Abrha, Y.; Raghavan, D. *J. Hazard. Mater.* **2000**, *80*, 147.
107. Butala, S. J. M.; Medina, J. C.; Hulse, R. J.; Bartholomew, C. H.; Lee, M. L.; *Fuel* **2000**, *79*, 1657.
108. Li, Y.; Michels, R.; Mansuy, L.; Fleck, S.; Faure, P.; *Fuel* **2002**, *81*, 747.
109. Benthin B.; Danz H.; Hamburger M.; *J. Chromatogr. A.* **1999**, *837*, 211.
110. Da Costa, C. T.; Margolis, S. A; Benner, B. A. Jr.; Horton, D.; *J. Chromatogr. A.* **1999**, *831*, 167.

111. Choi, M. P. K.; Chan, K. K. C.; Leung, H. W.; Huie, C. W.; *J. Chromatogr. A.* **2003**, *983*, 153.
112. Ong, E. S.; Len, S. M.; *Anal. Chim. Acta* **2003**, *482*, 81.
113. Suomi, J.; Sirén, H.; Hartonen, K.; Riekkola, M. L.; *J. Chromatogr. A.* **2000**, *868*, 73.
114. Papagiannopoulos, M; Zimmermann, B.; Mellenthin, A.; Krappe, M.; Maio, G.; Galensa, R.; *J. Chromatogr. A.* **2002**, *958*, 9.
115. Gfrerer, M.; Chen, S.; Lankmayr, E.P.; Quan, X.; Yang, F.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, *378*, 1861.
116. Chen, S.; Gfrerer, M.; Lankmayr, E.P.; Quan, X.; Yang, F. *Chromatographia* **2003**, *58*, 631.
117. Chuang; J.C.; Hart, K.; Chang, J.S.; Boman, L.E.; Van Emon, J.M.; Reed, A.W.; *Anal. Chim. Acta* **2001**, *444*, 87.
118. Blasco, C.; Font, G.; Picó, Y.; *J. Chromatogr. A.* **2005**, *1098*, 37.
119. Curren, M.S.S.; King, J.W.; *J. Agric. Food. Chem.* **2001**, *49*, 2175.
120. Abad, A.; Moreno, M.J.; Pelegrí, R.; Martínez, M.J.; Saez, A.; Gamon, M.; Montoya, A.; *J. Chromatogr. A.* **1999**, *833*, 3.
121. Doong, R.; Chang, S.; Sun, Y.; *J. Chromatogr. A.* **2000**, *879*, 177.
122. Brunauer, S.; Emmett, P. H.; Teller, E.; *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, *60*, 309.
123. Barret, E. P.; Joyner, L. G.; Halenda, P. P.; *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 373.
124. *International Conference on Harmonisation.* www.ich.org/cache/compo/276-254-1.html. 1995, Acessado em 07/09/2005.
125. Lanças, F. M. *Validação de métodos cromatográficos de análise*, RiMa: São Carlos, 2004.
126. Gemal, A. L. and Nóbrega, A. W. Controle da Qualidade em Saúde. <http://www.incqs.fiocruz.br/raa/> 1 - Resíduos de agrotóxicos em alimentos. 2005. 8.
127. Van Zoonen, P. *Analytical Methods for Pesticide Residues in Foodstuffs - Part 1 - Multiresidue Methods*, General Inspectorate for Health Protection, Bilthoven: 1996.
128. Kawata K.; Asada T.; Oikawa K.; *J. Chromatogr. A.* **2005**, *1090*, 10.
129. ANVISA. Consulta Pública. 72. 28-9-2005.
130. Suchan, P; Pulkrabova, J; Hajslova, J; Kocourek, V.; *Anal. Chim. Acta* **2004**, *520*, 193.

131. Gregg, S. J.; Sing, K. S. W. *Adsorption, Surface Area and Porosity*, Academic: London, 1982; Capítulos 3 e 4.
132. Sing, K. S. W.; Everett, D. H.; Haul, R. A. W.; Moscou, L.; Pierotti, R. A.; Rouquérol, J.; Siemieniowska, T.; *Pure Appl. Chem.* **1985**, 57, 603.
133. Koester, C. J.; Simonich, S. L.; Esser, B. K. *Anal. Chem.* **2003**, 75, 2813.

8 PRODUÇÃO CIENTÍFICA GERADA



8 PRODUÇÃO CIENTÍFICA GERADA

8.1 TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

- Abad, F.C.; Dutra, E.D.; Araújo, M.B.; Freitas, L.S.; Caramão, E.B.; Zini, C.A. Determination of multiclass/multiresidue pesticides in water using XAD-4 and Florisil. 28th International Symposium on Capillary Chromatography and Electrophoresis, 2005. Las Vegas, EUA.
- Dutra, E.D.; Abad, F.C.; Zini, C.A.; Caramão, E.B. Determinação multirresíduo de pesticidas em água utilizando XAD-4 e Florisil. XVII Salão de Iniciação Científica da UFRGS, 2005. Porto Alegre, Brasil.
- Abad, F.C.; Winck, P.R.; Caramão, E.B.; Zini, C.A. Multiresidue determination of pesticides in carrots using pressurized liquid extraction and gas chromatography with mass spectrometry detector. The 29th International Symposium on Capillary Chromatography, 2006. Riva del Garda, Itália.
- Abad, F.C.; Winck, P.R.; Benvenuti, E.V.; Peralba, M.C.R.; Caramão, E.B.; Zini, C.A. *p*-nitro-N-propylaniline modified silica: synthesis, characterization and its application in matrix solid phase dispersion for multiresidue analysis of pesticides in carrots. Simpósio Brasileiro de Cromatografia e Técnicas Afins, 2006. São Pedro, Brasil.
- Winck, P.R.; Abad, F.C.; Caramão, E.B.; Zini, C.A. Determinação multirresíduo de pesticidas em cenouras. Salão de Iniciação Científica da UFRGS, 2006. Porto Alegre, Brasil.

8.2 TRABALHO ENVIADO PARA PUBLICAÇÃO

- Abad, F.C.; Winck, P.R.; Benvenuti, E.V.; Peralba, M.C.R.; Caramão, E.B.; Zini, C.A. p-nitro-N-propylaniline modified silica: synthesis, characterization and its application in matrix solid phase dispersion for multiresidue analysis of pesticides in carrots. *Talanta*. Submetido em 18/11/2006. Anexo 1.

8.3 OUTRAS PUBLICAÇÕES DA AUTORA

- Rosa, R.M.; Melecchi, M.I.S.; Halmenschlager, R.C.; Abad, F.C.; Simoni, C.R.; Caramão, E.B.; Henriques, J.A.P.; Saffi, J.; Ramos, A.L.L.P. Antioxidant and Antimutagenic Properties of Hibiscus Tiliaceus L. Methanolic Extract. *J. Agric. Food. Chem.*, Estados Unidos, v. 54, p. 7324-7330, 2006.

- Péres, V.F.; Saffi, J.; Melecchi, M.I.S.; Abad, F.C.; Jacques, R.A.; Martinez, M.M.; Oliveira, E.C.; Caramão, E.B. Comparison of soxhlet, ultrasound-assisted and pressurized liquid extraction of terpenes, fatty acids and Vitamin E from Piper gaudichaudianum Kunth. *Journal of Chromatography - A*, v. 1105, p.115-118, 2006.

- Péres, V.F.; Melecchi, M.I.S.; Abad, F.C.; Caramão, E.B.; Jacques, R.A.; Oliveira, E.C. Martinez, M.M; Saffi, J. Optimization of pressurized liquid extraction of Piper gaudichaudianum Kunth leaves. *Journal of Chromatography - A*, v. 1105, p. 148-153, 2006.

- Melecchi, M.I.S.; Péres, V.F.; Dariva, C.; Zini, C.A.; Abad, F.C.; Martinez, M.M.; Caramão, E.B.. Optimization of the sonication extraction method of Hibiscus tiliaceus L. flowers. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 13, p. 242-250, 2006.

- Melecchi, M.I.S.; Abad, F.C.; Nascimento, I.; Caramão, E.B.; Zini, P.P.; Martinez, M.M. Chemical Composition of Hibiscus tiliaceus L. Flowers: A Study of Extraction Methods. *J. Microcolumn Sep.s*, Alemanha, v. 25, p. 86-90, 2002.

9 TRABALHOS FUTUROS



9 TRABALHOS FUTUROS

- Colaboradora no projeto de mestrado: Estudo da atividade genotóxica dos resíduos de agrotóxicos presentes na cenoura, avaliados pelo bioindicador *Tradescantia pallida* (MCN), sendo estes resíduos identificados e quantificados pelas técnicas de cromatografia gasosa e espectrometria de massas. Mestranda: Fernanda da Costa Praia. Orientadora: Profa. Dra. Claudia Ramos Rhoden do Laboratório de Estresse Oxidativo e Poluição Atmosférica da Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre (FFFCMPA). Este projeto tem por objetivo: estudar a genotoxicidade de oito resíduos de pesticidas (clorotalonil, iprodiona, linuron, prometrina, procloraz, procimidona, triclorfon e trifluralina) no seu limite máximo de resíduos (LMR) preconizado pela ANVISA, através da inoculação destes em amostras de cenoura orgânica, utilizando o modelo da Trad-MCN (*Tradescantia* Micronúcleos). Além disso, objetiva o estudo da genotoxicidade de resíduos de agrotóxicos contidos em amostras de cenouras não orgânicas, utilizando o modelo de Trad-MCN, bem como a identificação e quantificação dos pesticidas supracitados.

**ANEXO 1: CÓPIA DO ARTIGO ENVIADO PARA
PUBLICAÇÃO**



***p*-nitro-*N*-propylaniline modified silica: synthesis, characterization and its application in matrix solid phase dispersion for multiresidue analysis of pesticides in carrots**

Fernanda Contieri Abad^a, Priscila Romero Winck^a, Edilson Valmir Benvenuti^b, Maria do Carmo Ruaro Peralba, Elina Bastos Caramão^a, Cláudia Alcaraz Zini^{a*}

^aLaboratório de Química Analítica Ambiental e Oleoquímica, Instituto de Química, UFRGS, CP 15003, 91501-970 Porto Alegre, RS, Brazil

^bLaboratório de Sólidos e Superfícies, Instituto de Química, UFRGS, CP 15003, 91501-970 Porto Alegre, RS, Brazil

*e-mail: cazini@iq.ufrgs.br

Abstract

A new material for matrix solid phase dispersion (MSPD) was synthesized - *p*-nitro-*N*-propylaniline/silica by grafting reactions, characterized by elemental analysis and N₂-adsorption-desorption isotherms, and tested for multiclass multiresidue analysis of pesticides in wet and lyophilized carrots. Results obtained applying this new solid phase sorbent to MSPD extraction of ten pesticides (trichlorphon, trifluralin, dicloran, chlorothalonil, prometryn, linuron, captan, procymidone, prochloraz, and deltamethrin) in wet carrots showed better results than the ones obtained for lyophilized samples. Recoveries were in the range of 48 to 106% and precisions varied from 6 to 20% when wet samples were employed. Comparison between *p*NNPASi sorbent and C₁₈ showed better performance of *p*NNPASi for 8 out of 10 pesticides tested.

The limits of quantification (LOQ) show that the developed method can be used to detect the pesticides investigated in carrots at concentrations below the maximum residue levels (MRL) established by EU, USEPA, and National Sanitary Surveillance Agency (ANVISA). Linuron, captan, prochloraz, and deltamethrin were found in at least one of the two commercial samples studied in concentrations above the LOQ of this method. Concentrations of the last three pesticides were above the European MRL in one of the commercial samples.

Keywords: multiresidue method, pesticides, multiclass pesticide analysis, pressurized liquid extraction (PLE), matrix solid phase dispersion (MSPD), carrots.

1. Introduction

In the last few decades, pesticides have been used on an increasingly wider scale throughout the world. Analytical procedures for the determination of pesticides in fresh vegetables are regarded as extremely important for laboratory routines involving public health, environmental monitoring, and foreign trade aspects, as environmental awareness of general public and environmental laws become more demanding^[1]. Among vegetables, carrots (*Daucus carota*) are very important to human health, as they are a fundamental source of carotenoids (vitamin A precursors) and present high nutritional value^[2]. Besides carrots *in natura*, several processed foodstuffs are also made of carrots and some of them are especially lead to infants, which are more sensitive to trace pollutants.

Brazil produces around 750 thousand tons of carrot roots per year in approximately 28 thousand hectares^[3]. The use of 36 commercial pesticides is allowed for carrots cultivation and application of 7 to 10 kg of pesticides per ha is permitted^[4]. The direct contact of carrots with soil, along with their thin fruit skin, provides easier contact with pesticides or residues from former cultivations^[5].

On account of the large number of active ingredients used in agricultural production, complex analytical procedures are required for the detection of the greatest number of compounds possible, with the fewest number of extraction and clean-up steps. These compounds are characterized by their diversity, their different physical and chemical properties (polarity, solubility, pKa, etc) and their low concentrations in real samples^[6]. Some of the analytical methods aim to determine a single component (SRM) and others, more sophisticated, are capable of simultaneously determining more than one residue in a single analysis. These last ones are called pesticide multiresidue methods (MRM), and pose a higher degree of analytical difficulty. Multiresidue methodology by definition requires determinative steps for separating analytes from one another so each one can be detected and measured individually^[7].

Research on new materials for purification and separation analytical processes has also been stimulated by the growing environmental concern^[8]. During the last twenty years, several research works have been reported on the development of new porous materials, which may be synthesized through the

grafting or sol-gel method. Grafting synthesis has been largely employed to obtain organofunctionalized mesoporous silicas^[9;10]. This method involves the reaction of an organosilane with silanol groups of the silica surface. Therefore, the immobilized organic groups are covalently bonded to silica matrix and the resulting materials are thermally stable and resistant to solvent leaching^[11]. Additionally, the organic compounds immobilized by grafting reactions are dispersed in a monolayer, without cluster formation that could end up in blocked silica pores. This results in high stability and reproducible behavior of the organic phase regarding its physical properties for several extraction and chromatographic processes^[12], such as matrix solid phase dispersion (MSPD)^[13], solid phase extraction (SPE)^[14] and solid phase micro extraction (SPME).^[15;16] New materials for extraction may result from modification of pre-existing solid phases or by the synthesis of new ones and have been used for several applications in water^[17] and foodstuffs^[18]. Regarding MSPD, the literature shows only examples of the application of modified commercial phases by the addition of chloridric or sulfuric acid^[19]. Organofunctionalized silicas present useful characteristics for MSPD, as the association of the inorganic material with the immobilized organic groups provides the proper mechanical support and morphological characteristics, and a wide range of combinations of final sorbent physico chemical properties. This extraction technique combines both sample homogenization and a possible preliminary clean-up of the compounds of interest^[20]. An advantage of this procedure is that no emulsion is formed,^[21] once the material is blended with a dispersion agent. This technique also enhances the availability of the analytes as it promotes the disruption of the gross architecture of the sample^[22].

The aim of this study resides in evaluating the performance of *p*-nitro-*N*-propylaniline/silica sorbent phase for the extraction of 10 pesticides in fresh and lyophilized carrots. Synthesis and characterization of this new sorbent phase is also presented.

2. Experimental

2.1. Reagents and materials

The silica for preparing the MSPD material was from Carlo Erba. The 3-chloropropyltrimethoxysilane was purchased from Acros (Geel, Belgium) with purity

of 98 %. Toluene, dichloromethane and ethyl acetate were from Merck (Darmstadt, Germany) and *p*-nitroaniline from Merck (Hohenbrunn, Germany)

The pesticide standards trichlorphon, trifluralin, dicloran, chlorothalonil, prometryn, linuron, captan, procymidone, prochloraz and deltamethrin, all with purity above 95 %, and internal standard tribromobenzene (98 %) were purchased from Sigma - Aldrich (Seelze, Alemanha).

2.2. Sampling and Sample Preparation

Carrot samples, free of pesticides, were purchased from a local farmer's market ("Cooperativa Central dos Assentados no Rio Grande do Sul") in Porto Alegre in September 2005. Samples were stored without foliage inside a glass vessel at -18 °C until analytical procedures were performed.

Frozen carrots were ground in a metal liquidizer (power of 800 W) and lyophilized in a Modular Lyophilizator 5260, model 4KEDWARD. Replicates of humidity determination were made using an infrared balance model Martin ID200 CE96.

2.3. Synthesis of *p*-nitro-*N*-propylaniline/silica phase (pNNPASI)

The synthesis was performed in two steps. First, 20 g of silica gel, having particles diameter between 0.2 and 0.5 mm, were activated at 140°C under vacuum for 9 h. Twenty six mmol of 3-chloropropyltrimethoxysilane in toluene were added to this silica and the mixture was heated up to 85 °C during 14 hours, under argon atmosphere and mechanical stirring. In a second step, *p*-nitroaniline was dissolved in toluene under heating and this solution was added to the silica previously functionalized with 3-chloropropyltrimethoxysilane. Reaction underwent under argon atmosphere at 85 °C. After 40 hours, all soluble residues were removed washing the modified silica with ethanol and ethyl ether. Finally, the *p*-nitro-*N*-propylaniline/silica was heated up to 60 °C for 5 h.

2.4. Solid phase characterization

2.4.1. Elemental analysis

The organic phase content was analyzed using a CHN Perkin/Elmer M CHNS/O Analyzer, Tmodel 2400. The analyses were performed in replicate, after heating the materials at 100 °C, under vacuum, for 1 h.

2.5.2. N₂-isotherms

The nitrogen adsorption/desorption isotherms of previous degassed solids, at 150 °C, were determined at liquid nitrogen boiling point in a homemade volumetric apparatus, with a vacuum line system employing a turbo molecular Edward vacuum pump. The pressure measurements were made using capillary Hg barometer. The specific surface areas of *p*-nitro-N-propylaniline/silica sorbent was determined from the Brunauer, Emmett and Teller (BET)^[23] multipoint method and the pore size distribution was obtained using Barret, Joyner, and Halenda (BJH) method^[24].

2.6. Matrix solid-phase dispersion (MSPD)

Twenty grams of lyophilized carrots were fortified with 1.55 mL of standard solution of pesticides (50 mg L⁻¹) and 5 mL of solvent were also added to sample. Final concentration of the analytes in the sample were 0,5 µg g⁻¹ (wet basis). Sample was homogenized for 5 min and residual solvent was evaporated under the hood.

A 100 µL of standard solution of pesticides (50 mg L⁻¹) was diluted in 5 mL of dichloromethane and added to ten grams of ground fresh carrots.

For recovery determination, 1 g of lyophilized or fresh and fortified carrot sample was ground and dispersed in 1 gram of *p*-nitro-N-propylaniline modified silica in a porcelain mortar for approximately 3 min. The resulting material was added to a silanized glass column (15 x 1 cm i.d.) containing quartz wool on the bottom. Fifty mL of a solution of dichloromethane and ethyl acetate (1:1) were percolated through the column and collected in a silanized glass beaker. Extracts were concentrated to 0.5 mL for further GC/MS (gas chromatograph/mass spectrometer detector) analyses. All experiments and analyses were run in triplicate.

2.7. Chromatographic instrumentation and conditions

Analyses were carried out in an Agilent 6890 gas chromatograph with a 5973 mass selective detector equipped with a 7683 automatic injector. Table 1 shows ion settings for GC/MS in the selective ion monitoring (SIM) mode operation. GC temperature program was 90 °C (5 min) – 5 °C/min – 102 °C – 7 °C/min – 160 °C – 2 °C/min – 205 °C – 7 °C/min – 250 °C – 5 °C/min – 280 °C. Injector and interface temperature were kept at 280 °C, helium flow was 1,0 mL min⁻¹, and injection was performed in split less mode. An OV – 5 column of 30 m with 0,25 mm of internal diameter and 0,25 µm film thickness was employed.

2.8. Method Validation

The validation procedure investigated the following parameters: analytical curve and linearity, detection limit and quantification limit, recovery, and precision (repeatability). The linearity was studied during the construction of the analytical curves obtained using standard analytical solutions of the pesticides mixture prepared in pure solvent in the concentration range from 0.025 to 1.00 mg L⁻¹.

Investigation of pesticides recovery was performed in carrots samples without pesticides residues, fortified with an analytical solution containing the pesticides under study. Each extraction condition was extracted three times and analyzed five times. Repeatability of chromatographic analyses was evaluated from recovery data.

Limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) were determined according to the ICH^[25] (International Conference on Harmonization) guideline which suggests calculation based as 3.3 or 10 times the ratio between the standard deviation of the intercept of the curve, *s*, and the slope of the curve, *S*.

3. Results and Discussion

3.1. Synthesis

The organofunctionalized silica synthesis was carried out in two steps. Firstly, an intermediate reagent, the 3-chloropropyltrimethoxysilane was grafted onto the silica gel surface, as represented in figure 1A. In a second step, the *p*-nitroaniline reacted with the previously modified silica. The immobilization of *p*-nitroaniline occurs by a presumable *sn*₂ reaction between the amine and the α -carbon^[9], as proposed in figure 1B.

3.2. Characterization of *p*-nitro-N-propylaniline/silica (*p*NNPASi)

The elemental CHN analysis results showed that the functionalized silica (*p*NNPASi) presents 0.34 mmol of *p*-nitro-N-propylaniline per gram of material. The surface area obtained for *p*NNPASi, using BET method, was the same obtained for pure silica matrix: 295 and 290 ± 10 m² g⁻¹, respectively.

Figure 2 shows the pore size distribution curves and the inset shows the N₂ adsorption isotherms which are typical type IV curves, characteristic of mesopore materials^[26]. The pore size distribution curves are very similar with mesopores in the

same region. These results confirmed that the grafting reaction occurred and that immobilized organic compounds are highly dispersed on a monolayer form.

3.3. Method validation

Recovery was tested using both wet and lyophilized carrots. Considering the acceptability criteria for recovery in the range of 70 and 130%^[27], trichlorfon, dicloran, chlorothalonil, captan, procymidone and deltamethrin presented reasonable to excellent recoveries for fresh carrots. Taking into account that MSPD extractions with wet carrots were performed with a novel solid extraction phase, values obtained for prochloraz, linuron, prometryn, and trifluralin were also satisfactory^[28]. Regarding lyophilized carrots, only three pesticides (deltamethrin, prochloraz, and procymidone) resulted in reasonable recoveries. These results show that the water content present ($90 \pm 3\%$) in wet carrots plays a significant role in the application of *p*NNPASi in MSPD in comparison with lyophilized samples ($3 \pm 2\%$), rendering better recoveries for wet carrots. This may be due to the deactivation of silanol groups possibly caused by the water molecules, which may provide a weaker interaction between the analytes and the remaining silanol groups of the silica surface. Such a phenomenon may facilitate the extraction of the analytes molecules and explain the different recoveries obtained with both matrices (wet and lyophilized).

In comparison with preliminary data obtained with the conventional solid liquid extraction (Luke's method^[29], results not shown), MSPD using *p*NNPASi showed to be less time consuming, providing also less matrix interferences, allowing direct injection into the chromatographic system without further clean-up process. Comparison of *p*NNPASi (wet carrots) with the commercially available C₁₈ (Table 2) also showed *p*NNPASi as a better extracting phase for eight of the nine pesticides under investigation. Only prometryn showed better recovery when C₁₈ was used as solid phase for MSPD. Recovery of chlorothalonil presented comparable recovery values for both solid phases.

Figures of merit for the developed method are presented in Table 2. The analytical curves constructed for detection of the pesticides showed coefficients of determination in the range of 0.9997 to 0.9821. The results of LOD and LOQ for all pesticides are below the tolerance levels for these pesticides in foodstuffs, according to three regulation agencies (see also Table 3). The results for repeatability showed

good precision for the wet carrots samples, with RSD values between 6 to 20 % to nine of the investigated pesticides^[30].

3.4 Monitoring pesticide residues in marketed carrots

The application of the developed method using *p*NNPASi was carried out by analyzing commercial samples proceeding from two different Brazilian states. The results obtained are shown in Table 3 in comparison with the maximum residue limits (MRL) from European Union (EU)^[31], United States Environmental Agency (USEPA)^[32] and Brazilian Sanitary Surveillance Agency (ANVISA)^[33]. Figure 3 shows the chromatograms of standard solution of the 10 pesticides and tribromobenzene (IS) (A), and of commercial sample 2 (B). In sample (1), 8 pesticides residues were detected and in sample (2), 9 of them. They were all below the maximum residue levels according to the National Sanitary Surveillance Agency (ANVISA) and USEPA standards. The sample (2) presented residues of captan, procymidone, prochloraz e deltamethrin above the limits established by the European Union.

4. Conclusions

Synthesis, characterization and application of a new material for matrix solid phase dispersion (*p*-nitro-N-propylaniline/silica) were performed. Results have shown that the developed method can be successfully applied for multiclass multiresidue analysis of trichlorphon, trifluralin, dicloran, chlorothalonil, prometryn, linuron, captan, procymidone, prochloraz, and deltamethrin in wet carrots. Better recoveries (48 to 106 %) and precisions (6 to 17 %) were obtained for wet carrots samples when compared to lyophilized carrots, showing that water plays an important role during this extraction process. Less interferences were observed in the chromatograms obtained from MSPD when compared to solid liquid extraction, and MSPD procedure was also less time consuming. Performance of the *p*NNPASi was also better than the one observed for C₁₈, except for prometryn and chlorothalonil. The application of the developed method to two real samples resulted in the quantification of 10 of the pesticides under study. All concentrations found in real samples were below ANVISA MRL, although captan, prochloraz and deltamethrin levels were above European MRL in one of the commercial samples. These results show the potential, fastness, and simplicity of MSPD developed method for multiclass multiresidue analysis of pesticides in complex samples.

5. Acknowledgments

The authors acknowledge financial support and fellowships from conselho nacional desenvolvimento científico e tecnológico (CNPq), coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES) and fundação de amparo à pesquisa do estado do rio grande do sul (FAPERGS).

6. References

- [1.] L. F. C. Melo, C. H. Collins, I.C.S.F. Jardim, *J. Chromatogr., A* **1032** (2004), 51-58.
- [2.] Ferreira, J. Veja os 15 alimentos indispensáveis para uma dieta saudável. <http://www.portalmedico.org.br>. 2006. Accessed July 2006.
- [3.] M. M. Lana, J. V. Vieira, J. B. C. Silva, D. B. Lima, *Horticultura Brasileira* **19** (2001).
- [4.] EMATER DF. Empreendimentos de Assistência Técnica e Extensão Rural do Distrito Federal. Plantio de Cenoura. www.emater.df.gov.br. 2002. Accessed October 2006.
- [5.] Souza, A. F., Lopes, C. A., França, F. H., Pereira, W., Marouelli, F. A., Charchar, J. M., and Fontes, R. R. Embrapa Hortaliças - Cultivo da cenoura. Vieira, J. V. and Makishima, N. <http://www.cnph.embrapa.br>. 2005. Accessed July 2006.
- [6.] D. Stajnbaher, L. Zupancic-Kralj, *J. Chromatogr. A* **1015** (2003) , 185-198.
- [7.] K. Pittertschatscher, N. Inreiter, A. Schatzl, H. Jr. Malissa, *Fresenius J. Anal. Chem.* **365** (1999), 338-350.
- [8.] A. M. Geller, F. C. Stedile, M. C. R. Peralba, T. M. Pizzolato, J. H. Z. dos Santos, *J. Colloid Interface Sci.* **299** (2006), 163-171.
- [9.] U. Deschler, P. Kleinschmit, P. Panster, *Angew.Chem.Int.Ed.Engl.* **25** (1986), 236.
- [10.] P. K. Jal, S. Patel, B. K. Mishra, *Talanta* **62** (2004), 1005.
- [11.] L. Foschiera, T. M. Pizzolato, E. V. Benvenutti, *J. Braz. Chem. Soc.* **12** (2001), 129.
- [12.] L. T. Arenas, N. M. Simon, Y. Gushikem, T. M. H. Costa, E. C. Lima, E. V. Benvenutti, *Eclética Química* **31** (2006), 53-58.
- [13.] J. J. Ramos, M. J. González, L. Ramos, *J. Sep. Sci.* **27** (2004), 595.
- [14.] C. R. M. Vigna, L. S. R. Morais, C. H. Collins, Jardim.I.C.S.F., *J. Chromatogr., A* **1114** (2006), 211-215.
- [15.] C. Basheer, S. Jegadesan, S. Valiyaveetil, Lee.H.K., *J. Chromatogr., A* **1087** (2005), 252-258.
- [16.] A. M. Geller, F. C. Stedile, M. C. R. Peralba, T. M. Pizzolato, J. H. Z. dos Santos, *J. Colloid Interface Sci.* **288** (2005), 45-54.

- [17.] A. Moral, M. D. Sicília, S. Rubio, D. Pérez-Bendito, *Anal. Chim. Acta* **569** (2006), 132-138.
- [18.] B. J. Buszewski, M. Michel, *J. Chromatogr., B* **800** (2004).
- [19.] E. M. Kristenson, M. L. Ramos, U. A. Th. Brinkman, *TrAC, Trends Anal. Chem.* **25** (2006).
- [20.] R. M. Garcinuño, L. Ramos, P. Fernández-Hernando, C. Cámara, *J. Chromatogr., A* **1041** (2004), 35-41.
- [21.] J. Tekel, S. Hatrík, *J. Chromatogr., A* **754** (1996), 397-410.
- [22.] H. S. Dórea, L. L. Sobrinho, *J. Braz. Chem. Soc.* **15** (2004), 690-694.
- [23.] S. Brunauer, P. H. Emmett, E. Teller, *J. Am. Chem. Soc.* **60** (1938), 309.
- [24.] E. P. Barret, L. G. Joyner, P. P. Halenda, *J. Am. Chem. Soc.* **73** (1951), 373.
- [25.] International Conference on Harmonization (ICH), Validation of Analytical Procedures: Methodology, Q2B (CPMP/ICH/281/95) (1995).
- [26.] S. J. Gregg, K. S. W. Sing, *Adsorption, Surface Area and Porosity*, Academic Press, London **1982**.
- [27.] J. Tekel, S. Hatrík, *J. Chromatogr., A* **754** (1996), 397-410.
- [28.] S. V. M. Moraes, J. B. Passos, P. Schossler, E. B. Caramão, C. C. Moro, T. M. H. Costa, E. V. Benvenuti, *Talanta* **59** (2003), 1039-1044.
- [29.] M. A. Luke, J. E. Froberg, H. T. Masumoto, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **58** (1975), 1020-1026.
- [30.] C. R. M. Vigna, L. S. R. Morais, C. H. Collins, I.C.S.F. Jardim, *J. Chromatogr., A* **1114** (2006), 211-215.
- [31.] The European Commission, http://europa.eu.int/comm/food/fs/phaps/pest/_index_en.htm, Accessed October 2006.
- [32.] US Environmental Protection Agency (EPA), <http://www.epa.gov/pesticides/food/viewtols.htm>, Accessed October 2003.
- [33.] Brazilian Sanitary Surveillance Agency (ANVISA), <http://www.anvisa.gov.br> (<http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/mono/index.htm>), Accessed October 2006.

Figure captions

Figure 1. Grafting synthesis process of *p*-nitro-N-propylaniline/silica

Figure 2. Pore size distribution curves of pure silica and *p*NNPASi sorbent. Inset Figure: N₂ adsorption isotherms.

Figure 3. Chromatographic profiles of (A) standard solution of 10 pesticides and tribromobenzene (IS), and (B) commercial carrots sample (2). Chromatographic conditions are described in item 2.7.

Tables

Table 1. Mass spectrometer detector parameters used in the selective ion monitoring mode for 14 pesticides and the internal standard (IS)

Table 2. Recoveries, precision (repeatability, n=5), limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) obtained for MSPD of 10 pesticides in carrots (fortification level= 0,5 mg kg⁻¹) using *p*-nitro-N-aniline modified silica. Recoveries and precision (repeatability, n=5) using C₁₈.

Table 3. Pesticide contents found in samples using the MSPD procedure proposed using wet carrots with *p*NNPASi in comparison with MRL from several agencies.

Figure 1A

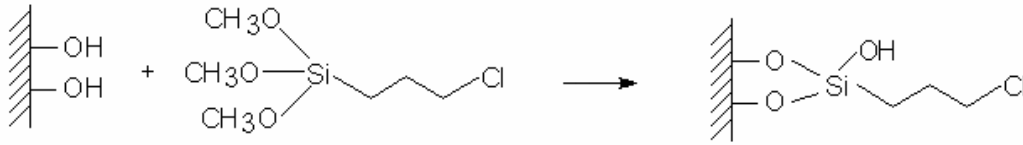


Figure 1B

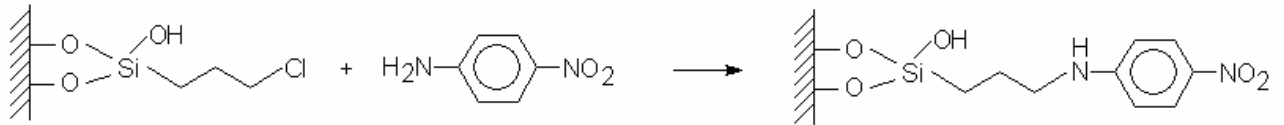


Figure 2.

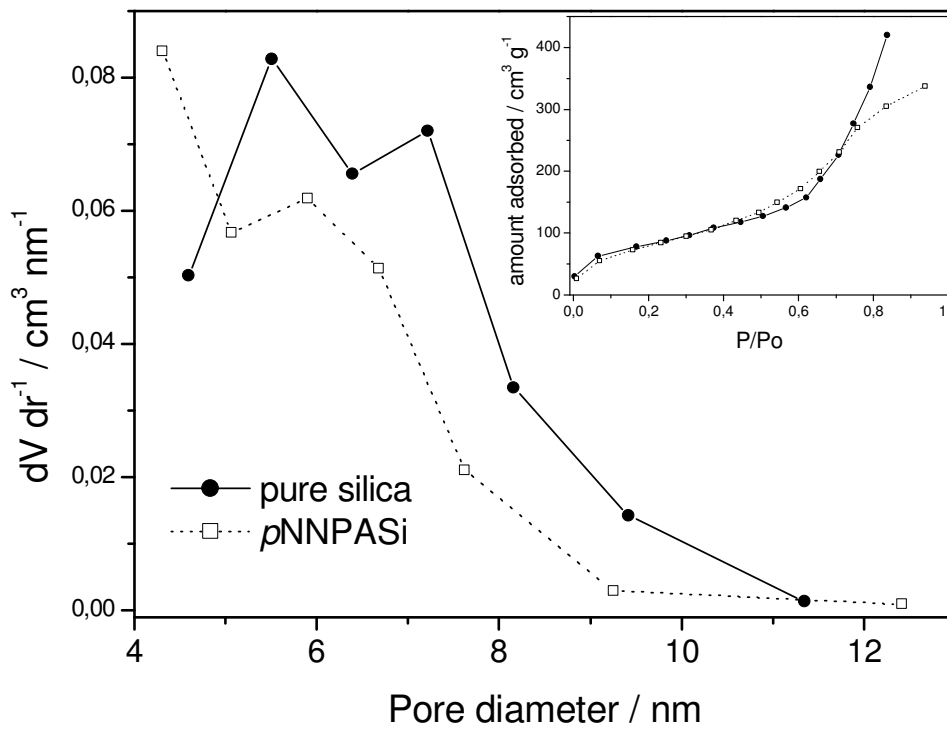


Figure 3

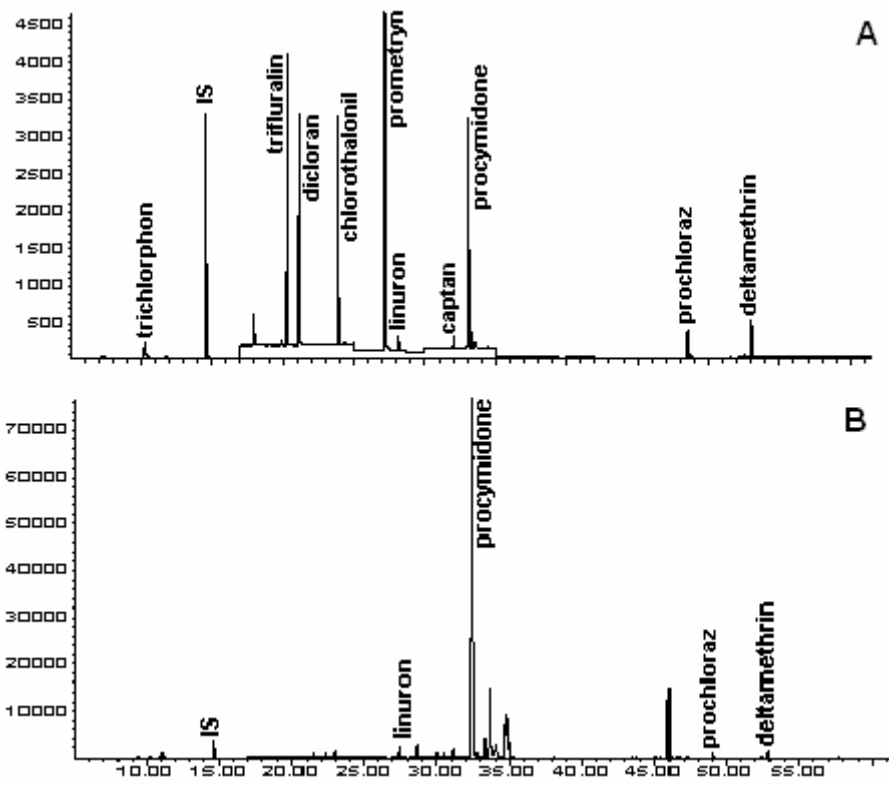


Table 1.

| Analyte | Characteristic ions (m/z) | Acquisition window | |
|----------------------|---------------------------|------------------------|------------------------------|
| | | Acquisition time (min) | Monitoring ions (m/z) |
| Trichlorphon | 109 | 5-12 | 109 |
| Tribromobenzene (IS) | 316 | 12-17 | 316 |
| Trifluralin | 264, 306 | 17-25 | 124, 176, 206, 264, 266, 306 |
| Dicloran | 124, 176, 206 | | |
| Chlorothalonil | 264, 266 | | |
| Prometryn | 184, 241 | 25-30 | 61, 184, 241 |
| Linuron | 61 | | |
| Captan | 79 | 30-35 | 79, 96 |
| Procymidone | 96 | | |
| Prochloraz | 180 | 42-51 | 180 |
| Deltamethrin | 181 | 51-61 | 181 |

Table 2.

| Analyte | average recovery % \pm RSD ^a % | | | Analytical curve | | | LOD (mg kg ⁻¹) | LOQ (mg kg ⁻¹) |
|----------------|---|--------------|-----------------|------------------|-----------|----------------|----------------------------|----------------------------|
| | In natura | lyophilized | C ₁₈ | slope | intercept | R ² | | |
| Trichlorphon | 74 \pm 8 | 15 \pm 3 | 47 \pm 5 | 0,0267 | 0,0042 | 0.9963 | 0,0310 | 0,0940 |
| Trifluralin | 48 \pm 6 | 33 \pm 27 | 30 \pm 3 | 0,2650 | -0,0135 | 0.9957 | 0,0240 | 0,0729 |
| Dicloran | 84 \pm 10 | 21 \pm 13 | 49 \pm 5 | 0,1172 | -0,0030 | 0.9994 | 0,0304 | 0,0920 |
| Chlorothalonil | 91 \pm 15 | 16 \pm 5 | 83 \pm 8 | 0,4354 | 0,0040 | 0.9997 | 0,0292 | 0,0886 |
| Prometryn | 54 \pm 11 | 141 \pm 32 | 102 \pm 11 | 0,3513 | 0,0151 | 0.9991 | 0,0024 | 0,0072 |
| Linuron | 57 \pm 12 | 16 \pm 6 | 34 \pm 8 | 0,0768 | -0,0090 | 0.9877 | 0,0540 | 0,1637 |
| Captan | 70 \pm 17 | 11 \pm 4 | 14 \pm 3 | 0,0102 | -0,0010 | 0.9877 | 0,1968 | 0,5963 |
| Procymidone | 72 \pm 10 | 54 \pm 39 | 53 \pm 5 | 0,3655 | 0,0251 | 0.9980 | 0,0072 | 0,0219 |
| Prochloraz | 58 \pm 10 | 56 \pm 23 | 36 \pm 5 | 0,0822 | -0,0102 | 0.9834 | 0,0266 | 0,0806 |
| Deltamethrin | 106 \pm 20 | 117 \pm 5 | 29 \pm 7 | 0,0864 | -0,0118 | 0.9821 | 0,0154 | 0,0467 |

^a Relative standard deviation (n = 5).

Table 3:

| Analyte | Residues ($\mu\text{g kg}^{-1}$) | | MRL* ($\mu\text{g kg}^{-1}$) | | |
|----------------|------------------------------------|----------|--------------------------------|--------------------|---------------------|
| | Sample 1 | Sample 2 | EU ^a | USEPA ^b | ANVISA ^c |
| Trichlorphon | <LOQ | <LOQ | 500 | n.p. | 50 |
| Trifluralin | n.d. | <LOQ | n.p. | 1000 | 50 |
| Dicloran | <LOQ | <LOQ | n.p. | 10000 | n.p. |
| Chlorothalonil | n.d. | n.d. | 1000 | 1000 | 500 |
| Prometryn | <LOQ | <LOQ | n.p. | 100 | 20 |
| Linuron | 431 | 623 | n.p. | 1000 | 1000 |
| Captan | <LOQ | 1532 | 100 | 20000 | n.p. |
| Procymidone | <LOQ | 25 | 20 | n.p. | 1000 |
| Prochloraz | 40 | 52 | 50 | n.p. | 500 |
| Deltamethrin | <LOQ | 102 | 50 | n.p. | n.p. |

*MRL – maximum residue limit

n.d.: not detected

^aEuropean Union

^bUnited States Environmental Protection Agency

^cBrazilian Sanitary Surveillance Agency

n.p.: not prescribed for carrots