

Universidade Federal do Rio Grande

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE
AGROTÓXICOS EM CASCA E POLPA DE TOMATE TIPO ITALIANO**

Luiza Monteiro

Santo Antônio da Patrulha

2018



DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM CASCA E POLPA DE TOMATE TIPO ITALIANO

Luiza Monteiro

Projeto de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal do Rio Grande, como parte
dos requisitos necessários à Graduação em
Engenharia Agroindustrial Indústrias
Alimentícias.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Ferreira Gonçalves

Co-orientador: Prof. Dr. Manoel Leonardo Martins

Santo Antônio da Patrulha

Janeiro 2018

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu pai Hernando e a minha mãe Vera por me apoiarem durante esse período da graduação e sempre me dar forças para nunca desistir. Também agradeço ao meu irmão Luan por se mostrar preocupado em como ia o andamento da faculdade e por me enviar fotos desnecessárias na praia tomando cerveja enquanto eu estava aqui estudando.

Sou muito grata ao meu namorado Diego, que aguentou todas minhas crises durante os estudos para as provas, aguentou meus choros pelas notas baixas, mas sempre esteve presente nos finais de semana ao meu lado enquanto eu virava a madrugada estudando e principalmente por sempre me levantar o astral me apoiando e garantindo que no fim tudo ia dar certo.

Agradeço aos meus pilares dentro da faculdade, Fábio Gonçalves, Márcia Kurz e Manoel Martins, por me transmitir tanto conhecimento durante esse período. Ao Fábio e a Márcia, que fora do ambiente da universidade me permitiram sentir como parte da família.

Aos meus amigos, tanto os que fiz na faculdade quanto os antigos amigos. Aos antigos, agradeço pelas mensagens de carinho e apoio. Aos novos, agradeço pelas noites não dormidas estudando, pelas festas, pelos choros e risos, por estarmos sempre juntos um apoiando o outro.

Aos professores do curso, sou grata por poder ter sido contemplada em receber todo o conhecimento que me foi passado durante este período por vocês, e podem ter certeza que parte do que sou profissionalmente foi construída com os seus ensinamentos.

RESUMO

A determinação de resíduos de agrotóxicos em matrizes alimentícias, como o tomate, é importante devido ao dano que estes compostos podem causar à saúde humana, além da sua persistência no meio ambiente. Por causa da complexidade das matrizes e das baixas concentrações destas substâncias há uma grande necessidade de desenvolvimento de métodos analíticos eficientes e confiáveis para a identificação e quantificação dos resíduos. Neste estudo, foi realizado o desenvolvimento e validação de um método para determinação multirresíduo de 8 agrotóxicos em diferentes partes do tomate, sendo elas casca e polpa, onde foram avaliados a linearidade das curvas analíticas, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), efeito matriz, bem como precisão e exatidão, em termos de percentual de recuperação para agrotóxicos, os quais foram analisados pelo método QuEChERS original com Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas. Para isso, as matrizes foram fortificadas com soluções contendo os compostos, em diferentes níveis de concentração. Os resultados obtidos para ambas amostras foram de LOD e LOQ de 50 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ e boa linearidade com $r > 0,98$ para todos os compostos. A precisão e exatidão apresentaram resultados aceitáveis, com recuperações entre 70 e 120% e RSD < 20% para a maioria dos compostos. Os resultados do levantamento de dados sobre a produção orgânica de tomate na cidade de Santo Antônio da Patrulha demonstraram que todos os produtores estão com as propriedades adequadas para este tipo de manejo, apresentando controles satisfatórios e corretos para garantir esta condição.

Palavras-chave: Contaminantes, QuEChERS, GC-MS, *Lycopersicon esculentum* Mill.

ABSTRACT

The determination of residues of pesticides in food matrices, such as tomatoes, is important because of the damage that these compounds can cause to human health, besides its persistence in the environment. Because of the complexity of matrices and low concentrations, of these compounds there is a need to develop efficient and reliable analytical methods for identification and quantification of residues. In this study, a method for determination of multi-residue of pesticide develop and validated of including the parameters of linearity of the analytical curves, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), matrix effect, as well as precision and accuracy in terms of recovery percentage for agrochemicals, which will be analyzed by the QuEChERS method and Gas Chromatography coupled with Mass Spectrometry. For this, the matrices were fortified with solutions containing the compounds at different levels of concentration. The results obtained for the samples were LOD and LOQ of $50 \mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ and good linearity with $r > 0.98$ for all compounds. Accuracy and precision showed good results, with recoveries between 70 and 120% and $\text{RSD} < 20\%$ for most of the results. The results of the research on organic tomato production in the city of Santo Antônio da Patrulha showed that all producers have the appropriate properties for this type of management, presenting satisfactory and correct controls to guarantee this condition.

Keywords: Contaminants, QuEChERS, GC-MS, *Lycopersicum esculentum* Mill.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	8
2	OBJETIVOS.....	9
2.1	Objetivo Geral.....	9
2.2	Objetivos Específicos	9
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
3.1	Tomate	10
3.2	Contaminantes	11
3.2.1	Agrotóxicos	12
3.2.2	Resíduos e Contaminantes.....	13
3.2.3	Analitos em estudo	13
3.4	Métodos de preparo de amostra para análise de agrotóxicos.....	14
3.4.1	Método QuEChERS	15
3.5	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC-MS).....	17
3.6	Validação	18
3.6.1	Seletividade	18
3.6.2	Linearidade e curva analítica.....	19
3.6.3	Limite de Detecção (LOD) e de Quantificação (LOQ).....	19
3.6.4	Exatidão e Recuperação.....	20
3.6.5	Precisão.....	20
3.6.6	Efeito Matriz.....	21
3.7	Certificação orgânica	22
4	METODOLOGIA	23
4.1	Instrumentação	23
4.2	Materiais utilizados	24
4.3	Preparo de soluções padrão.....	24
4.4	Amostragem.....	24
4.5	Condições do GC-MS	25
4.6	Método de extração.....	25
4.7	Validação	26
4.8	Certificação orgânica	27

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1	Determinação por GC-MS	28
5.2	Validação do método QuEChERS	29
5.2.1	Seletividade	29
5.2.2	Efeito Matriz.....	30
5.2.3	Curva analítica e Linearidade	31
5.2.4	Limite de Detecção e Limite de Quantificação	33
5.2.5	Exatidão e Recuperação.....	33
5.2.6	Precisão intermediária	35
5.3	Certificação orgânica	35
6	CONCLUSÃO.....	38
5	REFERÊNCIAS	39
	APÊNDICE A	43

1 INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos, desde seu desenvolvimento, desempenharam um importante papel no crescimento da agricultura moderna. A utilização destes compostos químicos, que por um lado gera benefícios, por outro, é responsável pela contaminação do solo, água e alimentos. Assim, a determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos e em amostras ambientais é importante devido ao risco que estes compostos oferecem à saúde humana, além da sua persistência no meio ambiente e tendência de bioacumulação (PRESTES *et al.*, 2009).

Produtos agrícolas como frutas, vegetais e cereais são as matrizes mais analisadas em laboratórios de rotina, apresentando frequentemente resíduos de agrotóxicos de diversas classes. Assim, é de fundamental importância o desenvolvimento de métodos multirresíduo de agrotóxicos para a determinação nestes tipos de alimentos. Um método multirresíduo de preparo de amostra para análise de agrotóxicos deve apresentar as seguintes propriedades: incluir o maior número de pesticidas possíveis, recuperações próximas a 100%, remover os possíveis compostos interferentes da amostra, boa precisão e robustez, baixo custo, rapidez, facilidade e segurança (utilizar pequenos volumes de solventes de baixa toxicidade) (PRESTES *et al.*, 2009).

Os tomates estão classificados dentro do grupo de alto risco em relação à exposição aos agrotóxicos, por serem necessárias grande número de práticas agronômicas para a sua produção. Desta forma, são os frutos que mais recebem pulverizações de agrotóxicos, gerando problemas de saúde pública, contaminação do meio ambiente principalmente do solo e da água, além de altas taxas residuais dessas substâncias nos frutos (CARDOSO, 2010).

Nas últimas décadas, laboratórios públicos e privados vêm desenvolvendo métodos para a determinação de resíduos de agrotóxicos, principalmente em alimentos. Contudo, a maioria dos métodos oficiais de análise está longe do considerado ideal, ou seja, métodos de ampla aplicação, rápidos, sensíveis e com resultados confiáveis (PRESTES *et al.*, 2009).

Nesse contexto, o desenvolvimento de sistemática analítica específica para a análise de multirresíduo de agrotóxicos, visando a prevenção de problemas de saúde pública e ambientais, é de grande relevância. Sendo assim, o trabalho irá desenvolver um método empregando QuEChERS (do inglês *Quick, Easy, Cheap, Rugged and Safe*, que se traduz por “rápido, fácil, barato, confiável e seguro”), para a determinação de multirresíduo de agrotóxicos em tomate empregando Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC-MS).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver e validar um método para extração, identificação e quantificação de contaminantes em diferentes partes do tomate para avaliar a presença de multirresíduos de agrotóxicos, de forma a auxiliar na certificação da produção orgânica em Santo Antônio da Patrulha/RS.

2.2 Objetivos Específicos

- Estudar a eficiência do método de preparo de amostras, sendo neste caso o método QuEChERS original para a extração de multirresíduos de contaminantes em casca e polpa do tomate;
- Estabelecer os melhores parâmetros para a quantificação de multirresíduos de agrotóxicos empregando GC-MS;
- Prover método confiável através da validação, para determinação de agrotóxicos presentes nas amostras em questão;
- Realizar levantamento de dados com produtores de tomate orgânico da cidade de Santo Antônio da Patrulha/RS.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Tomate

O tomate é uma planta da família das solanáceas, cuja espécie básica é denominada cientificamente *Lycopersicon esculentum* Mill. O centro primário de origem do tomate e das espécies silvestres aparentadas é o Geocentro Sul-Americano, que abrange as regiões situadas ao longo da Cordilheira dos Andes (BORGUINI, 2015).

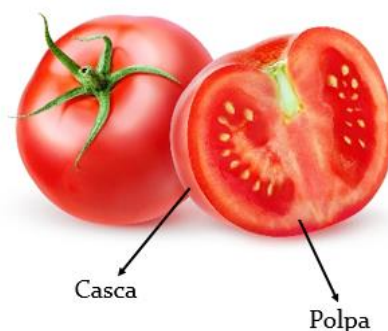
O fruto do tomate é a parte comestível, podendo ser consumido cru ou cozido, apresentando excelente palatabilidade. O seu baixo valor energético torna-o recomendável àqueles indivíduos que desejam se submeter a dietas hipocalóricas ou que necessitam consumir um alimento de fácil digestão. A identificação de sua notável riqueza, especialmente quanto a presença de vitaminas, aliado ao seu agradável sabor e cor, contribuiu para a rápida popularização de seu consumo (BORGUINI, 2015).

O tomate é consumido “in natura” ou como o ingrediente preferido das saladas; sob a forma de suco; desidratado, como integrante de sopas; em conservas; em extrato; coado e condimentado (ketchup); ou com vinagre (picles). Os frutos verdes em alguns países são utilizados inclusive para o preparo de doces (BORGUINI, 2015).

Por ser o tomate uma hortaliça muito consumida “in natura”, surge a preocupação com a saúde dos consumidores devido à possibilidade de resíduos de agrotóxicos. O tomate é a segunda hortaliça mais importante do Brasil, perdendo apenas para a batata (LUZ, 2007). Estatísticas publicadas pela *Food and Agriculture Organization* (FAO) têm registrado que o tomate ocupa o terceiro lugar entre as hortaliças quanto ao volume de produção mundial, cujo índice só é superado pelos correspondentes à batata e à batata-doce (BORGUINI, 2015). Contudo sua produção é difícil, por ser muito susceptível a pragas e doenças e exigir vários tratamentos culturais, causando assim um risco econômico elevado e o uso de produtos químicos torna-se massivo (LUZ, 2007).

A necessidade de se determinar os resíduos de agrotóxicos no tomate surgiu principalmente por essa grande exposição do fruto à essas substâncias. Este trabalho irá verificar as diferenças em duas partes do tomate, casca e polpa, segundo a Figura 1.

Figura 1. Separação das diferentes partes do tomate utilizadas neste estudo.



Fonte: Próprio autor.

Em geral, a cultura do tomate, nas regiões tropicais e subtropicais, é afetada por expressivas quebras de rendimento e depreciação da qualidade de matéria-prima, em razão de ocorrência de doenças, pragas e estresses abióticos. O controle das doenças e pragas em referência, com utilização exclusiva de agrotóxicos tem contribuído para a degradação dos ecossistemas, pondo em risco a saúde humana em vista do acúmulo de resíduos tóxicos (MELO, 2005).

3.2 Contaminantes

Contaminantes são substâncias que não são adicionadas intencionalmente aos alimentos. Eles podem ocorrer naturalmente ou se formar durante a fabricação, manuseio, armazenamento, processamento ou distribuição dos alimentos. Os contaminantes também podem ser trazidos para os alimentos por meio da água, do ar ou do solo. A presença de tais substâncias nos alimentos deve ser cuidadosamente monitorada para evitar a contaminação que afete a qualidade dos alimentos ou a insegurança dos alimentos (CODEX, 1995).

Segundo a norma NBR ISO 22000 o termo “segurança de alimentos” descreve aspectos relacionados somente à inocuidade, ou seja, que os alimentos não se constituam em vias de exposição a perigos que possam causar danos à saúde, sejam eles agentes biológicos, físicos, químicos ou condição do alimento (SPISSO; NÓBREGA; MARQUES, 2009).

Já o Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional, CONSEA, na sua II Conferência, incluiu a disponibilidade em termos de quantidade e a preocupação quanto ao desenvolvimento sustentável na definição de segurança alimentar e nutricional (SPISSO; NÓBREGA; MARQUES, 2009).

3.2.1 Agrotóxicos

Conforme definição apresentada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no Decreto nº 4.074 de 2002, agrotóxicos e afins são:

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

A contaminação ambiental causada pelo uso crescente e, algumas vezes, indiscriminado de agrotóxicos tem gerado preocupações quanto ao lançamento inadequado desses compostos no ambiente. Sendo os agrotóxicos nocivos aos organismos vivos, deve-se tomar precauções quanto à sua aplicação, formação de resíduos provenientes das mais diversas fontes e descarte final adequado, de forma que não haja comprometimento do meio ambiente como um todo. Além disso, em alguns casos, os produtos de degradação desses compostos podem ser até mais tóxicos que os produtos originais (RODRIGUES, 2006).

Outro dado preocupante que diz respeito à contaminação alimentar por agrotóxicos, é em razão das escassas informações disponíveis sobre a exposição a estas substâncias e da liderança mundial do Brasil nesse consumo. Além disso, há dificuldade em controlar os efeitos provocados pelo uso desses produtos, devido ao fato de ser uma contaminação “invisível” (ALMEIDA; PENA, 2011).

O comportamento dos agrotóxicos no ambiente pode ser influenciado por diversos fatores como: volatilidade, método de aplicação, tipo de formulação e solubilidade do composto em água; características do solo e plantas; adsorção das moléculas às partículas de solo; persistência e mobilidade dos compostos e condições climáticas do ambiente. Mas, uma vez no ambiente, seus resíduos podem se tornar um risco para todo o agroecossistema (ANDRÉA, 2008).

Diante disso, o consumidor é impossibilitado de reconhecer os alimentos que receberam a pulverização de produtos não permitidos ou além do limite autorizado. De forma geral, a

aplicação está presente na maior parte das culturas, mas as que mais trazem preocupação são aquelas consumidas em grande quantidade pela população na forma “in natura”, a exemplo dos alimentos frescos, vendidos em feiras (ALMEIDA; PENA, 2011).

3.2.2 Resíduos e Contaminantes

O crescente uso de agrotóxicos na produção agrícola e a consequente presença de resíduos acima dos níveis autorizados nos alimentos têm sido alvo de preocupação no âmbito da saúde pública, exigindo, das diversas esferas de governo, investimento e organização para implementar ações de controle do uso de agrotóxicos (PARA, 2014).

No Brasil, o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) foi criado em 2001 como um projeto com o objetivo de estruturar um serviço para avaliar e promover a qualidade dos alimentos em relação ao uso de agrotóxicos e afins. Em 2003, o projeto transformou-se em Programa, através da Resolução da Diretoria Colegiada - RDC 119/03, e passou a ser desenvolvido anualmente no âmbito do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS) (PARA, 2014).

Nesse contexto, os resultados do PARA permitem: verificar se os alimentos comercializados no varejo apresentam níveis de resíduos de agrotóxicos dentro dos Limites Máximos de Resíduos (LMR) estabelecidos pela Anvisa e publicados em monografia específica para cada agrotóxico, sendo que este valor de LMR é a quantidade máxima de resíduo de um agrotóxico que pode estar legalmente presente nos nossos alimentos ou rações animais sem causar danos à saúde do consumidor e expresso em mg Kg^{-1} ; conferir se os agrotóxicos utilizados estão devidamente registrados no país e se foram aplicados somente nas culturas para as quais estão autorizados; estimar a exposição da população a resíduos de agrotóxicos em alimentos de origem vegetal e, conseqüentemente, avaliar o risco à saúde dessa exposição (PARA, 2014; RODRIGUES, 2006).

3.2.3 Analitos em estudo

De acordo com o organismo alvo que se pretende atingir, os agrotóxicos costumam ser classificados em: inseticidas, herbicidas, fungicidas e acaricidas. Os herbicidas combatem plantas infestantes conhecidas como ervas daninhas, elas bloqueiam a germinação das sementes ou o estabelecimento das mudas. Os fungicidas são compostos químicos empregados no controle de doenças de plantas causadas por fungos, e normalmente são aplicados por contato. Os acaricidas destinam-se ao combate dos ácaros.

Os agrotóxicos utilizados na cultura do tomate avaliados neste trabalho, foram selecionados com base no PARA (2015) de acordo com os compostos mais utilizados na cultura do tomate e se apresentam na Tabela 1 com seus devidos Limites Máximos de Resíduos (LMR).

Tabela 1. Classes e LMR's conforme legislação brasileira dos compostos em estudo.

Composto	Classe	LMR (mg Kg⁻¹)
Trifluralina	Herbicida	0,05
Fluzifope-p-butil	Herbicida	0,2
Permetrina	Inseticida e formicida	0,3
Procloraz	Fungicida	0,5
Esfenvalerato	Inseticida biológico	0,05
Difenoconazole	Fungicida	0,1
Deltametrina	Inseticida e formicida	0,03
Azoxistrobina	Fungicida	0,5

Fonte: PARA (2015).

3.4 Métodos de preparo de amostra para análise de agrotóxicos

A qualidade de um método analítico é determinada pela qualidade de suas etapas, com seus erros experimentais. Por um lado, esta qualidade depende da técnica de amostragem, com a qual seleciona-se uma fração presumivelmente representativa da amostra primária. Nesta fração devem-se identificar e quantificar analitos, que são os componentes químicos que, também presumivelmente, a definem. É comum não se analisar quimicamente matrizes na forma bruta, pois elas costumam ter e gerar interferências e incompatibilidades com equipamentos analíticos (VALENTE; AUGUSTO, 2000).

Para contornar tais problemas são empregados procedimentos de preparo da amostra, com os quais procura-se isolar e concentrar os analitos a níveis adequados e obter um nível de limpeza da amostra que não comprometa a sua análise química. Portanto, o preparo da amostra também inclui a sua compatibilização com a técnica que fornecerá os dados químicos (VALENTE; AUGUSTO, 2000).

Diversas técnicas foram sendo criadas a fim de se ter uma melhor resposta de acordo com cada matriz. Entre elas, tem-se a Microextração em Fase Sólida (SPME, *Solid Phase Micro-Extraction*) (VALENTE; AUGUSTO, 2000), a Microextração em Fase Líquida (LPME, *Liquid Phase Micro-Extraction*) (OLIVEIRA et al., 2008), o QuEChERS (ANASTASSIADES

et al., 2003), a Dispersão da Matriz em Fase Sólida (MSPD, *Matrix Solid Phase Dispersion*) (BARKER *et al.*, 1989), a Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME, *Dispersive Liquid-Liquid Microextraction*) (REZAEI *et al.*, 2006), entre outras.

3.4.1 Método QuEChERS

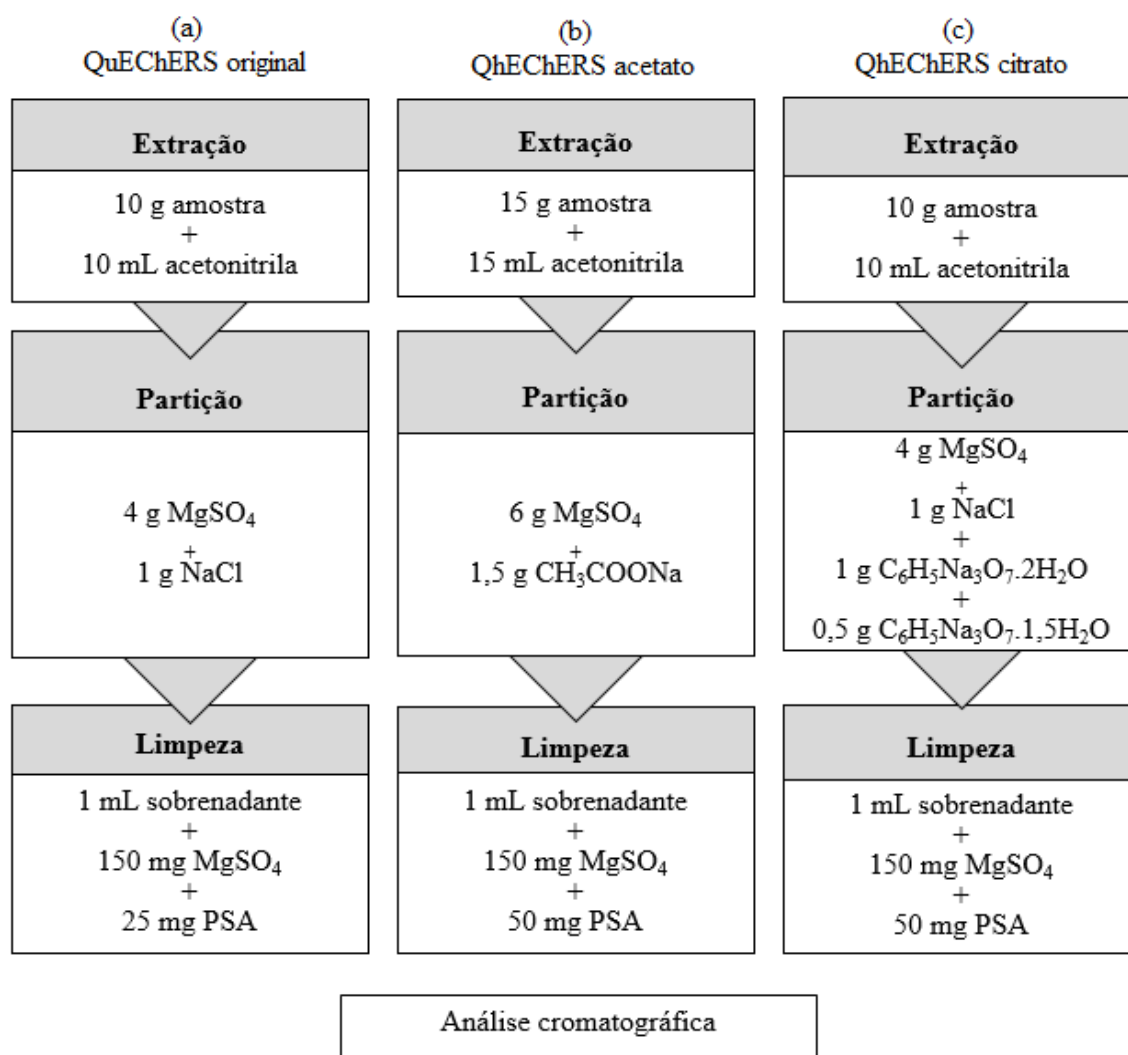
Com a intenção de superar as limitações dos métodos multirresíduos, Anastassiades *et al.* (2003) introduziram o método QuEChERS (do inglês *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*), para a extração de resíduos de agrotóxicos em matrizes de frutas e legumes. O método baseia-se na extração com acetonitrila seguida de uma etapa de partição obtida com a adição de sulfato de magnésio anidro. Para a limpeza do extrato os autores utilizaram a extração em fase sólida dispersiva (DSPE, do inglês *dispersive solid phase extraction*) (BANDEIRA *et al.*, 2014).

O método QuEChERS, que tem como vantagens ser rápido, fácil, econômico, efetivo, robusto e seguro, explora as possibilidades oferecidas pela instrumentação analítica moderna. Durante o seu desenvolvimento, grande ênfase foi dada para a obtenção de um procedimento dinâmico, que pudesse ser aplicado em qualquer laboratório, devido à simplificação das etapas como representado no fluxograma da Figura 2 (PRESTES *et al.*, 2012).

A utilização de acetonitrila como solvente possibilita a extração de uma menor quantidade de interferentes provenientes da amostra, por exemplo, ceras, gorduras e pigmentos. A acetonitrila proporciona a extração de uma ampla faixa de analitos com diferentes polaridades e, quando acidificada, permite recuperações satisfatórias de analitos que geralmente apresentam problemas de estabilidade. Outra grande vantagem é que a acetonitrila é mais adequada para LC-MS/MS do que acetona e acetato de etila e pode ser utilizado sem problemas na análise por GC-MS/MS (BORGES *et al.*, 2015).

A maioria dos métodos multirresíduos anteriormente usados empregava dispersores de amostras, como o Ultraturrax durante o procedimento de extração. O procedimento de agitação manual ou com auxílio de agitadores do tipo vórtex possui várias vantagens em relação à agitação mecânica, tais como: possibilidade de realizar extração a campo; a extração ocorre em um único frasco fechado não expondo o analista; rapidez, uma vez que não há necessidade de lavagem do dispersor no intervalo entre as extrações e reduz o risco de contaminação entre amostras processadas (BORGES *et al.*, 2015).

Figura 2. Representação das etapas das principais versões métodos QuEChERS (a) original; (b) acetato; (c) citrato, proposto por Anastassiades de et al. (2003).



Fonte: adaptado de PRESTES *et al.*, 2009.

A etapa de partição, com a adição de sais para promover o efeito “*salting out*” tem sido utilizada em vários métodos multirresíduo. Dependendo da natureza do solvente utilizado na etapa de partição obtém-se melhores percentuais de recuperação para analitos polares, uma vez que a adição de sais diminui a solubilidade destes compostos na fase aquosa, bem como a quantidade de água na fase orgânica e vice-versa. Na extração com acetonitrila, a adição de sais é muito conveniente uma vez que é rápida, fácil, apresenta baixo custo, tem a grande vantagem de não diluir o extrato da amostra e proporciona a separação das fases orgânica e aquosa (PRESTES *et al.*, 2012).

Os sais secantes são utilizados para melhorar a recuperação de pesticidas polares. No desenvolvimento do método QuEChERS foi empregando uma mistura de 1 g de NaCl e 4 g de

sulfato de magnésio (MgSO_4). A escolha do MgSO_4 foi devido a maior capacidade de remover água quando comparado a outros sais. Além de reduzir o volume de fase aquosa, sua hidratação é uma reação exotérmica, tendo como resultado o aquecimento entre 40 e 45 °C da amostra durante as etapas de extração/partição, favorecendo a extração, especialmente dos compostos apolares (PRESTES *et al.*, 2009).

A etapa de *clean-up* é essencial para promover robustez e confiabilidade aos resultados obtidos pelo sistema cromatográfico, uma vez que componentes não-voláteis da matriz podem ficar aderidos no conjunto injetor-insensor e também na coluna cromatográfica, alterando a resposta do sistema e aumentando a frequência de manutenções necessárias. Se baseia na extração em fase sólida dispersiva (*Dispersive Solid Phase Extraction*, D-SPE) que foi proposto juntamente com o método QuEChERS, onde 1 mL do extrato é colocado em contato com uma mistura contendo 25 mg do sorvente amina primária-secundária (*primary secondary amine*, PSA) e 150 mg de MgSO_4 (BORGES *et al.*, 2015).

A SPE permite que o *clean-up* e a redução de água residual sejam efetuados de uma forma rápida e simultânea. Esta etapa de remoção de água proporciona um extrato final de menor polaridade, facilitando assim a precipitação de coextrativos polares. O sorvente retém as interferências da matriz, sendo que depois da agitação e centrifugação o extrato está pronto para ser injetado no sistema cromatográfico (BORGES *et al.*, 2015).

A utilização do método QuEChERS original foi escolhida inicialmente para este trabalho, por ser o método aparentemente mais simples entre os apresentados, o qual será testado a fim de se observar se resultados são adequados aos objetivos propostos.

3.5 Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC-MS)

A cromatografia pode ser combinada a diferentes sistemas de detecção, tratando-se de uma das técnicas analíticas mais utilizadas e de melhor desempenho. O acoplamento de um cromatógrafo com o espectrômetro de massas combina as vantagens da cromatografia (alta seletividade e eficiência de separação) com as vantagens da espectrometria de massas (obtenção de informação estrutural, massa molar e aumento adicional da seletividade) (CHIARADIA *et al.*, 2008).

A combinação da cromatografia gasosa com a espectrometria de massas é relativamente simples, uma vez que as características de funcionamento do cromatógrafo a gás são suficientemente compatíveis com a necessidade de alto vácuo do espectrômetro de massas. A GC-MS é aplicável a compostos voláteis e termicamente estáveis nas temperaturas

relativamente elevadas empregadas durante o processo de separação cromatográfica (CHIARADIA *et al.*, 2008).

Atualmente, a técnica GC-MS é utilizada com frequência para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos. A facilidade do acoplamento GC-MS, além da disponibilidade de um banco de espectros de massas padrão obtidos no modo de ionização por impacto de elétrons (*Electron Ionization*, EI) ajudaram na disseminação da técnica GC-MS. Ela é uma das principais ferramentas aplicadas em análise de resíduos de pesticidas por permitir que a confirmação e a determinação de um grande número de compostos sejam feitas simultaneamente (PRESTES *et al.*, 2009).

Na seletividade, porém, interferências provenientes da matriz podem influenciar o resultado, e a identificação dos analitos pode ficar comprometida. Recentes avanços em MS propõem um aumento da especificidade, a partir da exclusão dos íons dos interferentes da amostra (PRESTES *et al.*, 2009).

3.6 Validação

O desenvolvimento de um novo método analítico ou a adaptação ou aplicação de um método conhecido envolve um processo de avaliação que ateste a sua eficiência em usos em rotina, denominado validação. O Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) define validação como a comprovação, através do fornecimento de evidência objetiva, de que os requisitos para uma aplicação ou uso específico foram atendidos (NBR ISO 9000). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) considera que “a validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados” (ARAGÃO *et al.*, 2009).

Os parâmetros avaliados para a validação do método analítico foram: seletividade, linearidade e curva analítica, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão (recuperação), precisão (repetitividade e precisão intermediária) e efeito matriz (ANVISA, 2005).

3.6.1 Seletividade

A seletividade de um método instrumental de separação é a capacidade de avaliar, de forma inequívoca, as substâncias em exame na presença de componentes que podem interferir com a sua determinação em uma amostra complexa. A seletividade avalia o grau de interferência de espécies como outro ingrediente ativo, excipientes, impurezas e produtos de

degradação, bem como outros compostos de propriedades similares que possam estar, porventura, presentes. A seletividade garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse. Se a seletividade não for assegurada, a linearidade, a exatidão e a precisão estarão seriamente comprometidas (RIBANI *et al.*, 2004).

A seletividade de um método se refere à extensão, até a qual ele pode determinar um analito(s) específico(s) numa mistura complexa sem interferência dos outros componentes da mistura. Para isso, é feita a comparação da injeção de extratos da matriz "branco" e matriz fortificada com os analitos em estudo no sistema GC-MS (RIBANI *et al.*, 2004).

3.6.2 Linearidade e curva analítica

A linearidade corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância em exame, dentro de uma determinada faixa de aplicação (RIBANI *et al.*, 2004).

A linearidade é determinada pelas curvas analíticas, que são gráficos de calibração, os quais relacionam a resposta do equipamento em função das diferentes concentrações do analito (LANÇAS, 2004). As curvas serão obtidas com o auxílio dos dados da regressão linear com Microsoft Excel®.

Por meio da curva pode-se calcular o coeficiente de correlação (r), que estima a qualidade da curva analítica, pois demonstra uma menor oscilação dos dados obtidos quanto mais próximo de 1 for seu valor (RIBANI *et al.*, 2004). Valores de coeficiente de correlação iguais ou superiores a 0,90 e 0,99, são recomendados, respectivamente, pelo INMETRO (2010) e pela ANVISA. Para o coeficiente de determinação (r^2) valores a partir de 0,98 são satisfatórios (ANVISA, 2012).

3.6.3 Limite de Detecção (LOD) e de Quantificação (LOQ)

O limite de detecção para um procedimento analítico pode variar em função do tipo de amostra. O limite de detecção (LD) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental. O limite de detecção pode ser expresso como: $LD = 3,3 s/S$, onde s é a estimativa do desvio padrão da resposta, que pode ser a estimativa do desvio padrão do branco, da equação da linha de regressão ou do coeficiente linear da equação e S é a inclinação ou coeficiente angular da curva analítica (RIBANI *et al.*, 2004).

O limite de quantificação (LQ) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser medida, utilizando um determinado procedimento experimental e é expresso como: $LQ = 10 s/S$ (RIBANI *et al.*, 2004).

3.6.4 Exatidão e Recuperação

A exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro. A exatidão é avaliada pela recuperação, que é definida como a proporção da quantidade da substância de interesse, adicionada na porção analítica do material teste, que é extraída e passível de ser quantificada (RIBANI *et al.*, 2004).

A exatidão percebe a existência de erros sistemáticos, sendo um dos parâmetros mais relevantes para a análise do desempenho de um método analítico. Caso não haja um material de referência certificado, esta pode ser medida por ensaios de fortificação e recuperação, sendo calculada pela Equação 1 (FAO, 2001):

$$R\% = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde C_1 representa a concentração determinada na amostra fortificada, C_2 é a concentração determinada na amostra não fortificada e C_3 representa a concentração usada para fortificação.

Os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos geralmente estão entre 70 e 120%, com precisão de até $\pm 20\%$. Porém, dependendo da complexidade analítica e da amostra, este valor pode ser de 50 a 120%, com precisão de até $\pm 15\%$ (RIBANI *et al.*, 2004).

3.6.5 Precisão

Representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições definidas. A precisão em validação de métodos é considerada em níveis diferentes de repetitividade e de precisão intermediária (RIBANI *et al.*, 2004).

A repetitividade representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo método, efetuadas sob as mesmas condições de medição: mesmo procedimento; mesmo analista; mesmo instrumento usado sob as mesmas condições; mesmo local; repetições em um curto intervalo de tempo (RIBANI *et al.*, 2004).

A precisão intermediária, de acordo com VIM (2012), refere-se à precisão avaliada sob condições que compreendem o mesmo procedimento de medição, o mesmo local e medições

repetidas no mesmo objeto ou em objetos similares, ao longo de um período extenso de tempo. Nesse estudo, deve-se definir exatamente quais condições serão variadas, tais como: diferentes analistas; diferentes equipamentos ou diferentes tempos. Esta medida de precisão resulta na variabilidade dos resultados em um laboratório.

A precisão é avaliada pelo desvio padrão absoluto, que utiliza um número significativo de medições, normalmente maior que 20. Na prática, em validação de métodos, o número de determinações é geralmente pequeno e o que se calcula é a estimativa do desvio padrão absoluto (s) (RIBANI *et al.*, 2004), de acordo com a Equação 2.

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad \text{Equação 2}$$

Onde \bar{x} é a média aritmética de um pequeno número de medições (média das determinações), x_i é o valor individual de uma medição e n é o número de medições. Numericamente, a precisão é calculada em termos de estimativa do desvio padrão relativo (RSD), conforme a Equação 3.

$$RSD\% = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

Normalmente, em métodos de análise de traços ou impurezas, são aceitos RSD de até 20%, dependendo da complexidade da amostra. Uma maneira simples de melhorar a precisão é aumentar o número de replicatas (RIBANI *et al.*, 2004).

3.6.6 Efeito Matriz

O efeito matriz pode causar interferências na análise cromatográfica, tais como: o mascaramento do pico do analito, gerando um resultado falso negativo, equívocos na identificação do analito e ampliação do sinal no detector, levando à superestimação do resultado (PINHO *et al.*, 2009).

Uma das formas de se avaliar o efeito matriz é através de uma curva analítica preparada pela fortificação dos padrões na matriz e outra no solvente (PIZZUTI *et al.*, 2009). Outra maneira é pela comparação das inclinações das curvas analíticas em solvente e na matriz, o efeito matriz é então avaliado na comparação das áreas obtidas das soluções analíticas no solvente e na matriz preparadas em uma determinada concentração, segundo a Equação 4.

$$\text{Efeito Matriz (\%)} = \frac{X_1 - X_2}{X_2} \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

Nesta equação, x_1 representa a média das áreas da solução analítica de cada composto avaliado na matriz, em uma dada concentração, enquanto que x_2 é igual a média das áreas da solução analítica de cada composto avaliado, preparado em solvente, em uma concentração especificada (PINHO *et al.*, 2009).

3.7 Certificação orgânica

Nos países europeus, na América do Norte, na Austrália e também no Brasil, por exemplo, visando disciplinar o importante segmento econômico que envolve os alimentos orgânicos em plena expansão, associações de agricultura orgânica estabeleceram normas técnicas para a produção, a industrialização e o comércio de alimentos orgânicos e de insumos naturais (BORGUINI, 2015).

Os países da Comunidade Européia e o Japão, por exemplo, exigem que os produtos orgânicos importados sejam certificados por entidades reconhecidas pelos órgãos dos países de origem e também pela *Internacional Federation of Organic Agriculture Movements* (IFOAM). Essa entidade tem por atribuição avaliar, normatizar e divulgar os padrões de comercialização em âmbito internacional de produtos orgânicos, congregando também a maioria das instituições de agricultura orgânica e entidades certificadoras do mundo (BORGUINI, 2015).

Para a produção orgânica vegetal ou animal, há uma série de normas técnicas exigidas para a obtenção do selo verde ou selo orgânico. A certificação é um processo que atesta a condição de um determinado alimento, ou seja, se é realmente orgânico. O processo possibilita o reconhecimento do alimento como tendo sido obtido por meio de atividades que atenderam às normas estabelecidas para a produção orgânica. Para o mercado interno, as embalagens ou produtos deverão incluir o selo orgânico, enquanto que para o mercado externo deve ser emitido um certificado para cada tipo de modalidade de exportação adotada pelos agentes (BORGUINI, 2015).

4 METODOLOGIA

No plano experimental foram realizados o estudo e a validação de método para análise de multiresíduo dos agrotóxicos: Trifluralina, Fluzifope-p-butil, Permetrina, Procloraz, Esfenvalerato, Difenconazole, Deltametrina e Azoxistrobina, em amostras de tomate. Para extração, foi utilizada a técnica de QuEChERS e para a quantificação a técnica de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas – GC/MS. Os experimentos foram executados no Laboratório de Análise de Resíduos e Contaminantes (LARCO) da Escola de Química e Alimentos (EQA), na Universidade Federal do Rio Grande – FURG, no Campus Santo Antônio da Patrulha.

Através de entrevistas com produtores de tomate da cidade de Santo Antônio da Patrulha, foi realizada também uma pesquisa a fim de esclarecer informações sobre os principais agrotóxicos usados, problemas com a cultura, descarte de embalagens, segurança nas aplicações dos defensivos e certificação orgânica.

4.1 Instrumentação

Para o desenvolvimento experimental alguns equipamentos foram utilizados e estão descritos abaixo:

- Balança analítica de precisão AUY- 220 (Shimadzu, Japão);
- Freezer vertical (Electrolux, Brasil).
- Centrifuga refrigerada NT 825 (Novatécnica, Brasil);
- Centrifuga digital microprocessada refrigerada CT-5000 R (Cientec, Brasil);
- Mixer 400 Watt (Philips Walita®, Brasil);
- Agitador vórtex – Biomixer modelo QL-901 (Microtécnica, Brasil);
- Micropipetadores automáticos com capacidade variável (BRAND, Alemanha; Labmate, Polônia e PZ HTL S.A., Polônia);
- Sistema GC/MS equipado com: cromatógrafo a gás Perkin Elmer modelo Clarus 680; com amostrador automático, Turbo Mass versão 5.4.2, com coluna VF 5 ms (30,0 m x 0,25 mm, 0,25 μ m) Agilent, detector de massas quadrupolo 600 T, operando no modo SIR (Perkin Elmer, Brasil), sistema de aquisição de dados através do software Turbo Mass versão 5.4.2.1617;

4.2 Materiais utilizados

Os materiais, solventes e reagentes que foram utilizados estão descritos abaixo:

- Acetonitrila grau HPLC (J.T. Baker, EUA);
- Sorvente Amina Primária e Secundária (PSA) com tamanho de partículas de 40 μm (Agilent, EUA);
- Sulfato de magnésio anidro P.A. (J.T. Baker, Japão);
- Cloreto de sódio P.A. (J.T. Baker, EUA);
- Gás de arraste: Hélio 99,9997% de pureza (White Martins, Brasil);
- Detergente Extran® neutro (Merck, Brasil);
- Vials de vidro com capacidade de 1,5 mL (Perkin Elmer, EUA);
- Frascos de vidro âmbar com tampa contendo batoque e com capacidade de 10 mL;
- Tubos de polipropileno, com tampas rosqueadas, capacidade de 50 e 15 mL (Tecno Plastic, Suíça);
- Vidraria comum de laboratório (balão volumétrico, béquer, bastão de vidro, espátula);
- Padrões sólidos dos analitos estudados: Trifluralina (99,29%), Fluzifope-p-butil (96,1%), Permetrina (98,3%), Procloraz (98,6), Esfenvalerato (97%), Difenoconazole (97,2), Deltametrina (98,0%) e Azoxistrobina (99,4%).

4.3 Preparo de soluções padrão

As soluções padrão estoque de cada um dos analitos foram preparadas individualmente, em concentração de 1000 mg L⁻¹ de cada composto em questão, com dissolução do padrão analítico de alta pureza em solvente acetonitrila. Essas soluções foram estocadas em frascos de vidro âmbar e acondicionadas em freezer a -18 °C. Após, foram diluídas para o preparo das soluções de trabalho, tanto em solvente orgânico quanto no extrato da matriz. Uma solução de trabalho contendo a mistura dos agrotóxicos deste estudo, com uma concentração conhecida, foi utilizada para verificar a resposta do equipamento perante o método desenvolvido, na otimização do procedimento, para a construção da curva analítica e nos ensaios de recuperação.

4.4 Amostragem

O tipo escolhido das amostras foi o tomate italiano, principalmente devido ao baixo custo e a facilidade de compra. Elas foram obtidas junto aos produtores e comércio do município ou região. Os tomates foram submetidos ao descascamento manual com auxílio de faca e posteriormente processadas utilizando mixer das diferentes partes do tomate, a casca e a

polpa, obtendo ao final uma massa homogênea que foram armazenadas e acondicionadas em freezer (abaixo de $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) para serem utilizadas nas extração e análises.

4.5 Condições do GC-MS

Os parâmetros do GC-MS definidos para a detecção e quantificação dos compostos deste estudo estão: o uso de uma coluna analítica VF 5 ms (30,0 m x 0,25 mm x 0,25 μm), o gás de arraste He 6,0 com vazão de $1,0\text{ mL min}^{-1}$ e volume de injeção de $1\mu\text{L}$. O modo de injeção é *splitless*, com temperatura inicial de $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 1 minuto, aquecimento de $200\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até $280\text{ }^{\circ}\text{C}$ mantidos até 20 minutos. Com relação ao forno do GC, a temperatura inicial de $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 1 min, seguido de aquecimento de $8,3\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até $280\text{ }^{\circ}\text{C}$ mantidos até completar 20 min. A fonte de ionização usada opera no modo impacto de elétrons e o detector foi um Espectrômetro de Massas do tipo Quadrupolo, operando no modo SIR (monitoramento seletivo de íons) com 2 ou 3 íons por analito.

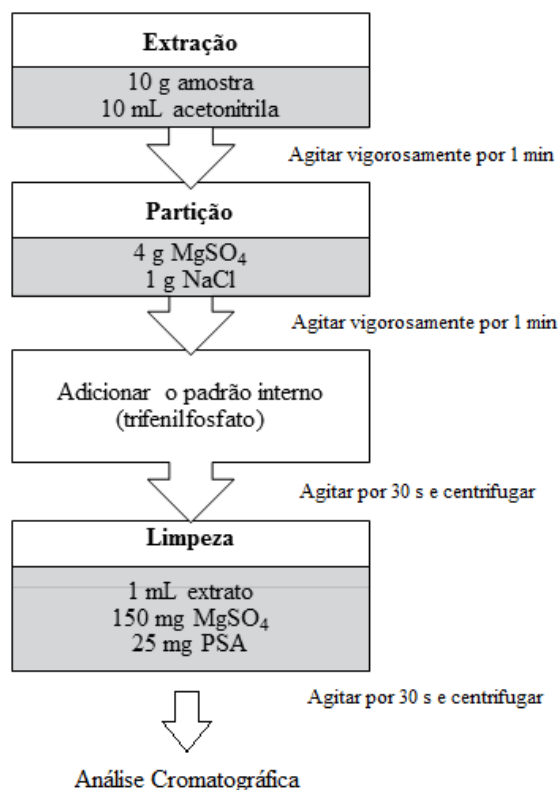
Para o Espectrômetro de Massas, a temperatura do *transfer line* utilizada foi de $300\text{ }^{\circ}\text{C}$, com temperatura da fonte de ionização de $250\text{ }^{\circ}\text{C}$. Utilizou-se o modo de aquisição SIR, com 70 eV de energia para o impacto dos elétrons, de 0 à 6 minutos de Solvente Delay e eletromultiplicadora de 418 V.

Com os parâmetros acima já estabelecidos, o íon de maior intensidade foi utilizado na quantificação, sendo que todos os íons selecionados foram confirmados através de consulta na literatura e biblioteca do equipamento Nist MS search 2.0, ou confirmados pela injeção de solução analítica padrão de cada analito.

4.6 Método de extração

O procedimento de preparo de amostra para extração de resíduos de agrotóxicos foi o método QuEChERS. No método QuEChERS original (Figura 3) utilizaram-se 10 g de amostra (casca ou polpa com semente) extraída com 10 mL de acetonitrila em tubo de 50 mL e agitação por 1 minuto em vórtex, após adicionou-se 4 g de sulfato de magnésio anidro (MgSO_4) e 1 g de cloreto de sódio nesse tubo, aplicando agitação por 1 minuto em vórtex e centrifugação por 5 min a 5000 rpm. A subsequente etapa de limpeza foi realizada com 25 mg de Amina Primária Secundária (PSA) e 150 mg de MgSO_4 por mL de extrato, seguido de agitação por 30 s e centrifugação a 5000 rpm por 15 min. O extrato final foi analisado no sistema GC-MS.

Figura 3. Esquema do método QuEChERS original utilizado neste trabalho.



Fonte: Autor.

4.7 Validação

Neste trabalho os parâmetros utilizados para a validação do método analítico foram: seletividade, curva analítica, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão (recuperação) e precisão (repetitividade e precisão intermediária) (ANVISA, 2005).

Para a determinação da seletividade foi feita a comparação da injeção de extratos da matriz "branco" e matriz fortificada no sistema GC-MS. As curvas analíticas foram obtidas pela fortificação das amostras em diferentes níveis de concentração em solvente acetonitrila, pela fortificação das amostras em diferentes níveis de concentração nos extratos da casca e nos extratos da polpa de tomate obtidos no método proposto. Cada solução foi injetada em replicata no sistema no GC-MS. As curvas foram obtidas com o auxílio dos dados da regressão linear com Microsoft Excel®. Com os valores obtidos nas curvas, foram calculadas a média das áreas, o RSD (%), o coeficiente de determinação (R^2) e linearidade do método.

Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) referem-se à menor concentração de um analito contido na amostra que pode ser detectado e quantificado em condições aceitáveis de exatidão e precisão. Serão verificados através da análise de amostras branco fortificadas em baixas concentrações. As concentrações que produziram 3 e 10 vezes o

sinal ruído do equipamento correspondem ao LOD e LOQ, respectivamente (RIBANI et al., 2004).

A exatidão foi avaliada pela recuperação, adicionando uma quantidade conhecida da substância de interesse como fortificação nas amostras antes e após o processo de extração e feita a quantificação, a fim de se fazer a proporção desses valores resultando no quanto se obteve de recuperação com o método utilizado (RIBANI *et al.*, 2004). A precisão foi expressa como desvio padrão, variância ou coeficiente de variação de diversas medidas (VALENTINI *et al.*, 2007).

A repetitividade expressa a exatidão nas mesmas condições de operação em um curto período de tempo. Foi realizada em triplicata, repetindo mais uma triplicata em outro dia, contemplando o intervalo linear do método, para uma única concentração-teste. A precisão intermediária revela o efeito das variações no mesmo laboratório (BRITO, *et al.*, 2003).

4.8 Certificação orgânica

A partir do formulário no Apêndice 1, foi realizada uma entrevista com os produtores de tomate orgânico de Santo Antônio da Patrulha sobre, na prática, quais agrotóxicos são utilizados na cultura, aplicação, descarte de embalagens, controle das aplicações, entre outros parâmetros. A pesquisa foi feita diretamente com 5 produtores e os dados obtidos foram confrontados com a literatura vigente sobre a certificação orgânica.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

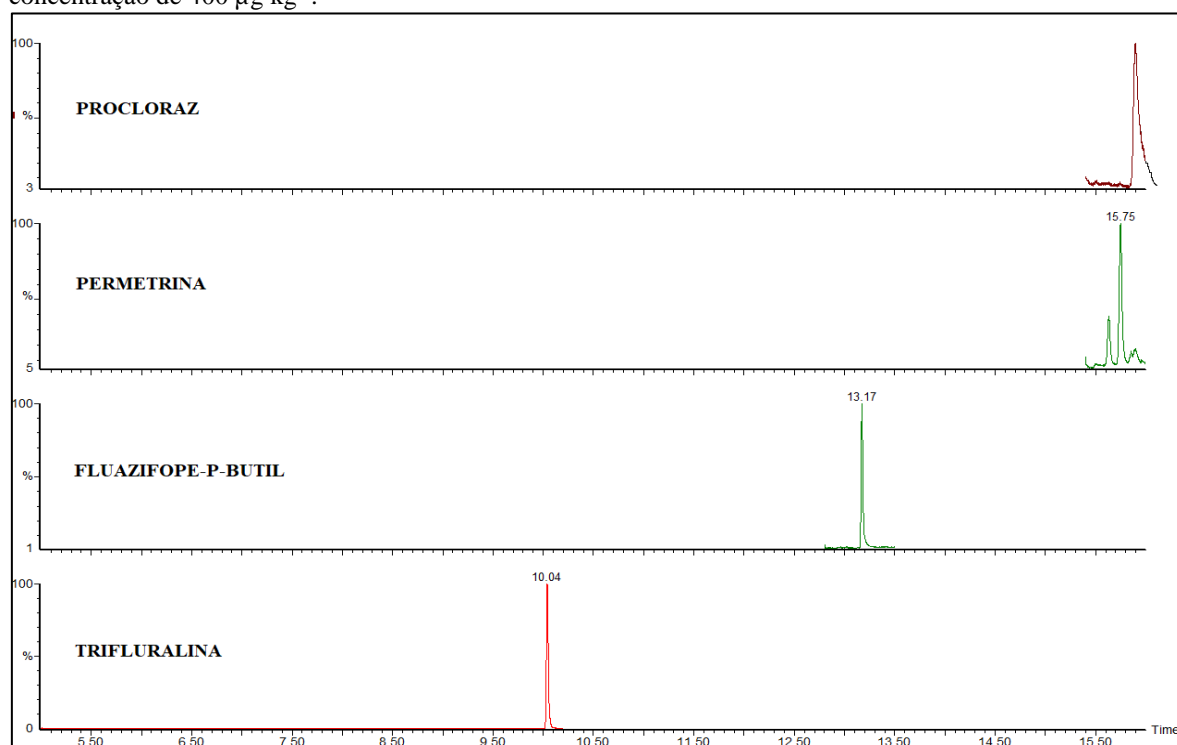
5.1 Determinação por GC-MS

Os dados para cada agrotóxico selecionado para a análise por GC-MS estão listados na Tabela 2, com seus íons monitorados e tempos de retenção. A partir dos cromatogramas (Figuras 4 e 5), pode-se obter os tempos de retenção para cada composto analisando individualmente.

Tabela 2. Compostos analisados no GC/MS, íons monitorados e tempos de retenção.

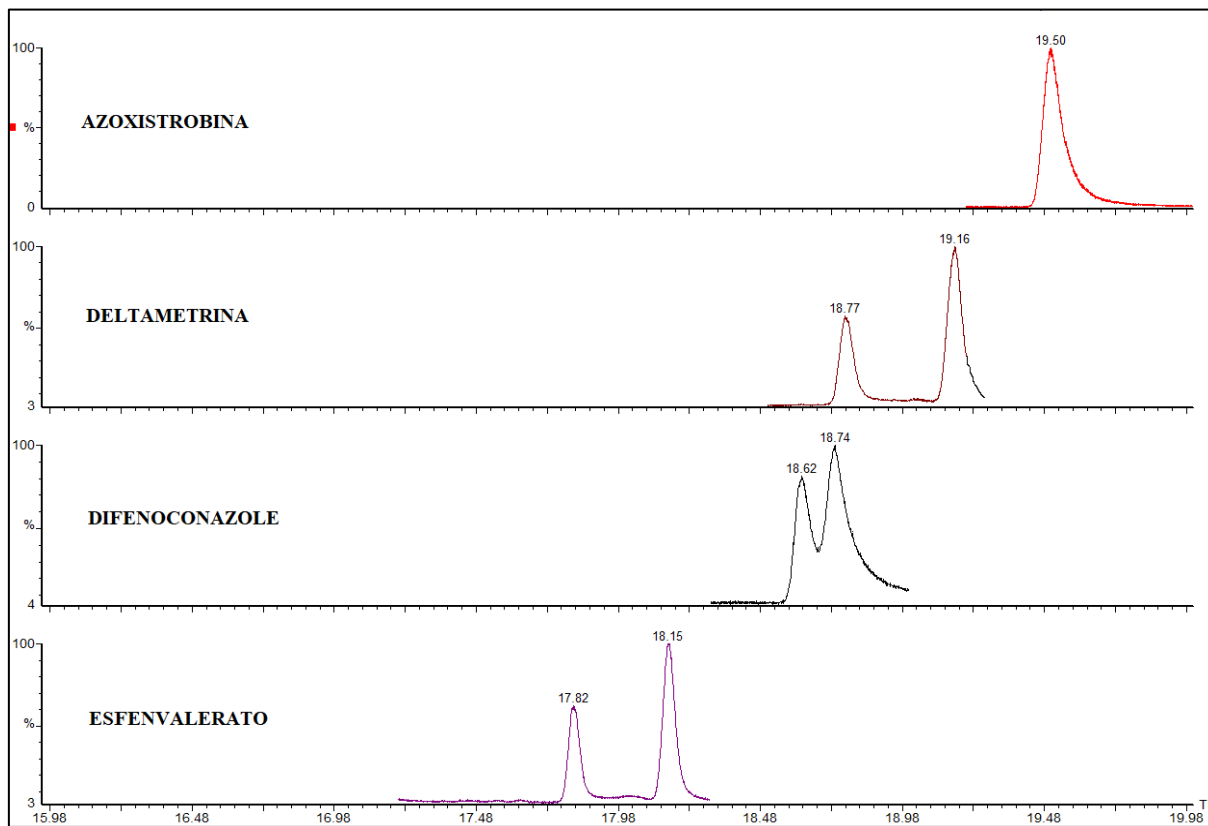
Composto	Íons Monitorados	Tempo de retenção (min)
Trifluralina	264, 290, 306	10,04
Fluazifope-p-butil	254, 282, 383	13,17
Permetrina	163, 183, 184	15,75
Procloraz	70, 180, 310	16,80
Esfenvalerato	167, 225	17,82 e 18,15
Difenoconazole	265, 323, 326	18,62 e 18,74
Deltametrina	181, 251, 253	18,77 e 19,16
Azoxistrobina	344, 388	19,50

Figura 4 – Cromatogramas no modo SIR dos compostos trifluralina, fluazifope-p-butil, permetrina e procloraz em concentração de 400 $\mu\text{g kg}^{-1}$.



Fonte: Autor.

Figura 5 – Cromatogramas no modo SIR dos compostos esfenvalerato, difenoconazole, deltametrina e azoxistrobina em concentração de $400 \mu\text{g kg}^{-1}$.



Fonte: Autor.

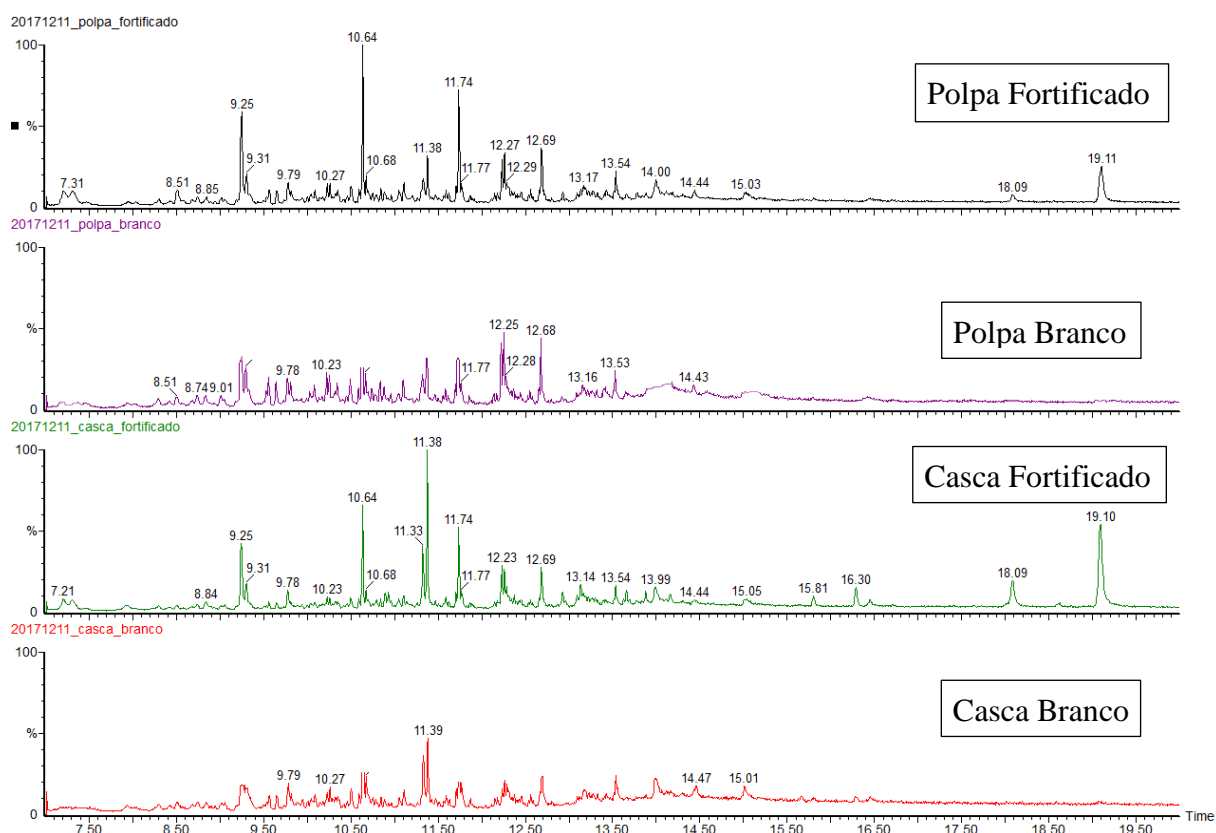
5.2 Validação do método QuEChERS

A validação do método QuEChERS foi realizado para determinação dos agrotóxicos descritos no item 4.7, de acordo com a metodologia proposta e avaliando os parâmetros de seletividade, efeito matriz, linearidade, LOD e LOQ, exatidão e precisão, precisão intermediária.

5.2.1 Seletividade

A seletividade foi avaliada com a comparação dos sinais dos picos nos cromatogramas das amostras de casca e polpa fortificadas em extrato da matriz e as amostras branco, mostrados na Figura 6, onde os dois primeiros cromatogramas são da polpa fortificado e branco, respectivamente, e os dois últimos apresentam da casca fortificado e branco, respectivamente. Nos cromatogramas obtidos observa-se que não há coeluição de picos dos analitos em estudo, desta forma, pode-se garantir a seletividade do método.

Figura 6 – Comparação dos cromatogramas obtidos nas amostras de casca e polpa para o extrato fortificado na concentração de $200 \mu\text{g kg}^{-1}$ e amostras branco.



5.2.2 Efeito Matriz

O efeito matriz foi calculado através da Equação 4 (item 3.6.6), com os valores determinados pelas curvas analíticas em solvente e extrato da matriz. O efeito matriz calculado compõe a Tabela 3 para procedimento aplicado na casca e polpa do tomate.

De acordo com os resultados obtidos, observou-se que em todos os compostos há um grande efeito de aumento de sinal causado pela matriz. O efeito da matriz é considerado como uma supressão de sinal ou aumento do analito devido à co-eluição de componentes da matriz. O aprimoramento aparece porque os componentes da matriz bloqueiam os locais ativos presentes na coluna ou entrada. A supressão ou o aprimoramento podem variar consideravelmente de matriz para matriz e diferem substancialmente em solvente puro e matriz (HE *et al.*, 2015).

Tabela 3. Efeito matriz dos compostos na concentração de 30 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ na casca e polpa do tomate.

Composto	Efeito matriz (%)	
	Casca	Polpa
Trifluralina	497	587
Fluzifope-p-butil	972	659
Permetrina	1225	1320
Procloraz	877	941
Esfenvalerato	7968	7291
Difenoconazole	2952	3082
Deltrametrina	5286	2897
Azoxistrobina	12344	18966

Os efeitos da matriz também dependem fortemente da propriedade química do analito e do procedimento de preparação da amostra. Portanto, é essencial levar em conta seus efeitos matriciais (HE *et al.*, 2015). Logo, as curvas analíticas serão obtidas no extrato da matriz, compensando assim seu efeito nos resultados e aumentando a sensibilidade do método.

5.2.3 Curva analítica e Linearidade

As curvas analíticas foram feitas em triplicata ($n=3$) com cinco níveis de concentrações diferentes para as amostras de casca e polpa de tomate. Após a construção das curvas, foi possível obter as equações das retas, os coeficientes de determinação (r^2) e de correlação (r) e a faixa linear, mostrados nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4 - Equação da reta e coeficientes de determinação (r^2) e correlação (r) para cada composto em estudo usando o método QuEChERS em casca de tomate, na faixa de concentração de 50 a 400 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Composto	Equação da reta	r^2	r
Trifuralina	$y = 39,159x - 663,43$	0,9997	0,9998
Fluazifope-p-butil	$y = 51,037x - 722,69$	0,9976	0,9988
Permetrina	$y = 54,055x - 869,16$	0,9992	0,9995
Procloraz	$y = 10,862x - 443,14$	0,9891	0,9945
Esfenvalerato	$y = 16,394x - 712,79$	0,9886	0,9942
Difenoconazole	$y = 9,5873x + 781,42$	0,9784	0,9891
Deltametrina	$y = 14,606x - 574,62$	0,9842	0,9920
Azoxistrobina	$y = 27,343x - 955,7$	0,9998	0,9999

Na Tabela 4, para a matriz da casca, pode-se observar que as equações da reta resultaram em um coeficiente de determinação (r^2) dentro do aceitável, sendo que valores maiores de 0,98 são satisfatórios, podendo-se observar que apenas um composto (difenoconazole) apresentou o valor abaixo do estipulado pela legislação (ANVISA, 2012).

Para os valores de coeficiente de correlação (r), segundo o INMETRO (2010), são recomendados valores iguais ou superiores a 0,90. É possível observar que os valores obtidos foram satisfatórios na faixa de trabalho avaliada para os oito agrotóxicos alvos do estudo.

Tabela 5 - Equação da reta e coeficientes de determinação (r^2) e correlação (r) para cada composto em estudo usando o método QuEChERS em polpa de tomate, na faixa de concentração de 50 a 400 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Composto	Equação da reta	r^2	r
Trifuralina	$y = 41,554x - 342,59$	0,9995	0,9997
Fluazifope-p-butil	$y = 49,999x + 282,18$	0,9999	0,9999
Permetrina	$y = 54,445x - 230,66$	0,9974	0,9987
Procloraz	$y = 11,141x - 284,78$	0,9953	0,9976
Esfenvalerato	$y = 15,046x - 238,01$	0,9996	0,9998
Difenoconazole	$y = 18,298x - 503,26$	0,9806	0,9902
Deltametrina	$y = 14,017x - 451,3$	0,9904	0,9951
Azoxistrobina	$y = 27,688x - 1155,4$	0,9943	0,9971

Pode-se observar, na Tabela 5, para a matriz polpa de tomate, que os valores do coeficiente de determinação estão dentro do aceitável estipulado pela legislação (ANVISA, 2012), para todos os compostos em estudo, ficando numa faixa de 0,9806 (Difenoconazole) a 0,9999 (Fluazifope-p-butil), bem como os coeficientes de correlação (r) os quais são valores superiores a 0,90 (INMETRO, 2010).

5.2.4 Limite de Detecção e Limite de Quantificação

A concentração de todos os compostos para o LOD, após os experimentos, foi de 16,7 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$. Segundo a RDC nº 166, de 24 de julho de 2017 da ANVISA, o Limite de Detecção deve ser demonstrado pela obtenção da menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém, não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas. A determinação do limite de detecção pode ser realizada por meio de método visual, da razão sinal-ruído, baseado na determinação do branco ou em parâmetros da curva de calibração, considerando-se as particularidades do método analítico utilizado. Para métodos visuais, o limite de detecção é determinado pela menor concentração para a qual é possível constatar o efeito visual esperado.

Para o LOQ, a concentração obtida experimentalmente foi de 50 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$. De acordo com a RDC nº 166, de 24 de julho de 2017 da ANVISA, o Limite de Quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas.

5.2.5 Exatidão e Recuperação

A recuperação dos analitos foi determinada pela análise de amostras fortificadas com quantidades conhecidas do mesmo. Os testes de recuperação são expressos em termos de porcentagem da quantidade medida da substância em relação à quantidade adicionada na matriz. As amostras foram fortificadas com o analito em três diferentes concentrações (50 $\mu\text{g kg}^{-1}$, 200 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e 400 $\mu\text{g kg}^{-1}$) da faixa de uso do método. A recuperação (Rec) foi calculada de acordo com a Equação 1 e o desvio padrão relativo (RSD) de acordo com a Equação 3.

Tabela 6 - Média dos percentuais de recuperação e RSD para os níveis de fortificação de 50, 200 e 400 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de cada analito.

Composto	Casca					
	50 $\mu\text{g kg}^{-1}$		200 $\mu\text{g kg}^{-1}$		400 $\mu\text{g kg}^{-1}$	
	Rec	RSD	Rec	RSD	Rec	RSD
	(%)		(%)		(%)	
Trifluralina	86	18,7	92	9,8	85	6,9
Fluzifope-p-butil	76	22,3	78	13,1	71	7,2
Permetrina	77	20,0	70	10,5	70	4,8
Procloraz	72	25,1	71	38	82	14,2
Esfenvalerato	73	20,0	81	19,7	98	18,0
Difenoconazole	91	27,2	70	19,4	70	20,0
Deltametrina	74	20,0	70	20,0	95	9,1
Azoxistrobina	70	19,9	80	20,0	78	2,0

Composto	Polpa					
	50 $\mu\text{g kg}^{-1}$		200 $\mu\text{g kg}^{-1}$		400 $\mu\text{g kg}^{-1}$	
	Rec	RSD	Rec	RSD	Rec	RSD
	(%)		(%)		(%)	
Trifluralina	105	11,3	81	1,0	89	3,4
Fluzifope-p-butil	120	5,1	111	6,4	69	3,3
Permetrina	91	6,5	71	16,8	84	8,6
Procloraz	82	15,0	107	20,0	92	12,3
Esfenvalerato	117	8,2	120	18,8	114	14,3
Difenoconazole	133	11,6	84	10,7	99	3,5
Deltametrina	89	9,6	104	20,0	95	13,0
Azoxistrobina	99	7,2	115	19,9	97	8,3

Na Tabela 6, são apresentados as taxas de recuperação e os coeficientes de variação para os níveis de concentrações estudados. Para todos os agrotóxicos estudados, as taxas de

recuperações se apresentam na faixa aceitável de 70 a 120% com os respectivos RSD (%) inferiores a 20% (ANVISA, 2012).

5.2.6 Precisão intermediária

A precisão foi realizada em termos de repetitividade (Tabela 6) precisão intermediária (Tabela 7) e os resultados estão expressos pela recuperação e pelo desvio padrão relativo (RSD) aplicados no método em concentração de 50, 200 e 400 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de cada analito nas amostras de casca e polpa do tomate, de acordo com a Tabela 6 e na concentração de 200 $\mu\text{g kg}^{-1}$, de acordo com a Tabela 7.

Tabela 7 – Valores de recuperação e RSD na concentração de 200 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de cada analito para casca e polpa do tomate.

Composto	Casca	Polpa
	Recuperação(%) \pm RSD(%)	Recuperação(%) \pm RSD(%)
Trifluralina	70 \pm 19,8	70 \pm 19,9
Fluzifope-p-butyl	73 \pm 20,0	80 \pm 20,0
Permetrina	74 \pm 18,2	81 \pm 18,7
Procloraz	71 \pm 15,9	70 \pm 16,4
Esfenvalerato	79 \pm 17,6	84 \pm 19,2
Difenoconazole	73 \pm 20,0	79 \pm 19,4
Deltametrina	80 \pm 13,6	82 \pm 14,5
Azoxistrobina	73 \pm 19,6	85 \pm 15,1

Pode-se observar, segundo os resultados das Tabela 6 e 7, que os valores obtidos estão de acordo com o aceitável e com RSD (%) inferiores a 20% (ANVISA, 2012), sendo que todos se apresentaram o RSD abaixo de 20 % e as recuperações ficaram na faixa entre 70 e 85%.

5.3 Certificação orgânica

O levantamento de dados foi realizado com 5 pequenos produtores de tomate orgânico da cidade de Santo Antônio da Patrulha. Esta pesquisa foi feita a partir de um formulário de questões sobre os manejos da cultura orgânica para esclarecer dúvidas e confrontar com a literatura vigente sobre esses manejos. As respostas foram resumidas e estão dispostas no Quadro 1.

Quadro 1 – Respostas dos produtores ao questionário aplicado sobre a certificação orgânica.

Questões	Principais itens gerados nas respostas
Quais culturas certificadas são produzidas nas propriedades?	Alface, aipim, batata doce, beterraba, cebola, cenoura, chuchu, moranga, pimentão, radiche, repolho, rúcula, pepino, alho, batata, cebolinha, couve, couve flor, espinafre, melancia, melão, salsa, tomate e feijão.
Quais são os requisitos básicos para ser considerada produção orgânica?	Nada de uso de produtos químicos; A propriedade deve conter barreiras; Tempo entre a plantação convencional para recuperação do solo é de no mínimo 1 ano.
No início, qual foi a maior dificuldade para se adaptar à produção orgânica?	Tratamento do solo; Tempo de adequação ao menor volume de produção.
É feito algum monitoramento e controle dos órgãos certificadores?	Certificação participativa: um grupo de produtores fiscaliza o outro; A validade da certificação é de 1 ano.
Se sim, quais são esses monitoramentos e controles? De quanto em quanto tempo eles são feitos?	O controle é feito com a conferência de notas fiscais dos insumos orgânicos; Avaliação pelo grupo em assembleias; Frequência das visitas é anual.
Como é feito o controle de pragas da cultura do tomate na produção orgânica?	Não há grandes problemas com pragas; O solo é tratado com adubos para diminuir a incidência de pragas.
Há alguma produção convencional próxima à sua plantação orgânica?	Sim, para evitar contaminações é exigido barreiras naturais (ex: plantação de árvores) que fiquem mais altas que a área da plantação orgânica.
Os equipamentos utilizados na plantação orgânica também são utilizados na convencional?	Não, basicamente os equipamentos utilizados são pulverizadores comuns.
Como/onde são obtidos as sementes e mudas utilizadas na sua plantação?	Ainda há o uso de mudas e sementes convencionais, pois no mercado não se encontram mudas orgânicas; A recomendação é produzir a própria muda.

Segundo a Instrução Normativa nº 7 de 1999 do MAPA das normas de produção orgânica, considera-se unidade de produção, a propriedade rural que esteja sob sistema orgânico de produção. Quando a propriedade inteira não for convertida para a produção orgânica, a certificadora deverá assegurar-se de que a produção convencional está devidamente separada e passível de inspeção. Logo, pode-se observar com os resultados que estão de acordo com o descrito pela legislação, pois todos os produtores em questão têm somente a plantação orgânica em suas propriedades e fazem o uso de barreiras naturais como plantação de árvores para haver a separação entre a produção orgânica e a convencional.

Em relação às máquinas e os equipamentos usados na unidade de produção, estes não podem conter resíduos contaminantes, dando-se prioridade ao uso exclusivo à produção

orgânica. Também é vedado o uso de agrotóxico sintético, seja para combate ou prevenção, inclusive na armazenagem e a utilização de medida não orgânica para garantir a produção ou a armazenagem, desqualifica o produto para efeito de certificação (BRASIL, 1999). Observou-se no Quadro 1 que o uso desses equipamentos é exclusivamente para o manejo orgânico, estando de acordo com a legislação vigente.

As sementes e as mudas deverão ser oriundas de sistemas orgânicos, porém não existindo no mercado sementes oriundas de sistemas orgânicos adequadas a determinada situação ecológica específica, o produtor poderá lançar mão de produtos existentes no mercado, desde que avaliadas pela instituição certificadora, excluindo-se todos os organismos geneticamente modificados (OGM/Transgênicos) (BRASIL, 1999). Assim, de acordo com os resultados obtidos no estudo verificou-se a dificuldade dos produtores em adquirir mudas e sementes orgânicas, sendo utilizadas as convencionais ou, quando possível, produzir as próprias mudas em sua propriedade.

6 CONCLUSÃO

O método para determinação de multirresíduos de agrotóxicos em casca e polpa de tomate do tipo italiano foi desenvolvido e validado ao longo deste estudo, de forma que foi capaz a identificação e quantificação desses resíduos nas matrizes fortificadas.

A validação do método QuEChERS original desenvolvido foi realizado para 8 analitos, sendo eles a trifluralina, fluazifope-p-butil, permetrina, procloraz, esfenvalerato, difenoconazole, deltametrina e azoxistrobina. Todos os analitos resultaram em valores de recuperação, efeito matriz, linearidade, LOD e LOQ, exatidão considerados aceitáveis em relação à literatura, notando-se que não houveram grandes diferenças nos resultados em relação às partes da casca e polpa do tomate propostas para esse estudo, portanto se mostrando um método eficiente para o problema em questão.

Os resultados do levantamento de dados sobre a produção orgânica de tomate na cidade de Santo Antônio da Patrulha/RS demonstraram que todos os produtores estão com as propriedades adequadas para este tipo de manejo, apresentando controles satisfatórios e corretos para garantir esta condição de acordo com o previsto pela legislação.

Em geral, os objetivos traçados neste estudo foram alcançados, mostrando-se adequado e contribuindo com o monitoramento de resíduos em matrizes vegetais, considerando-se a importância que esses alimentos têm na sociedade e monitorar a presença desses resíduos é uma alternativa na busca de uma melhoria na saúde pública.

Assim, como sugestão para trabalhos futuros, sugere-se aplicar método em matrizes reais de tomate e também testar a viabilidade e eficiência do método proposto na aplicação com outras amostras, ampliando o escopo de matrizes vegetais monitoradas.

5 REFERÊNCIAS

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, de 25 de julho de 2017.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 27, de 17 de maio de 2012. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 22 de maio de 2012.

ANVISA. Guia para Qualidade em Química Analítica, Brasília. 76p, 2005.

ALMEIDA, M. D.; PENA, P. G. L. Feira livre e risco de contaminação alimentar: Estudo de abordagem etnográfica em Santo Amaro, Bahia. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 35, n. 1, p. 110–127, 2011. Disponível em: <http://goo.gl/TFzZW%5Cnhttp://inseer.ibict.br/rbsp/index.php/rbsp/article/view/1021/pdf_318>. Acessado em: junho de 2017.

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

ANDRÉA, M.M. **Bioindicadores ecotoxicológicos de agrotóxicos** - Instituto Biológico. 2008. Disponível em: <www.biológico.sp.gov.br>. Acessado em: junho de 2017.

ARAGÃO, N. M.; VELOSO, M. C. D. C.; DE ANDRADE, J. B. Validação de métodos cromatográficos de análise- Um experimento de fácil aplicação utilizando cromatografia líquida DE alta eficiência (CLAE) e os princípios da “química verde” na determinação de metilxantinas em bebidas. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2476–2481, 2009.

BANDEIRA, D. B.; MUNARETTO, J. S.; RIZZETTI, G. F.; PRESTES, O. D.; MARTINS, M. L.; ZANELLA, R.; ADAIME, M. B. Determinação de resíduos de agrotóxicos em leite bovino empregando método QuEChERS modificado e GC-MS/MS. **Química Nova**, vol.37, no.5, 2014.

BARKER, S.; LONG, A.; SHORT, C. I solation of drug residues from tissues by solid phase dispersion. **Journal of Chromatigraphy**, v. 475, p. 353- 361, jan. 1989

BORGES, K. B.; FIGUEIREDO, E. C.; QUEIROZ, M. E. C. **Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos**. 1 ed. – Rio de Janeiro: LTC, 2015.

BORGUINI, R. G. **Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) orgânico : o conteúdo nutricional e a opinião do consumidor**. 2015. Tese (Dissertação de mestrado) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

BRASIL. Instrução Normativa nº 7 de 17/05/1999. Disponível em: http://ibd.com.br/Media/arquivo_digital/c40fe6c4-51f3-414a-9936-49ea814fd64c.pdf. Acesso em: novembro de 2017.

BRASIL. Decreto n.º 4074, de 04 de janeiro de 2002. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 04 de janeiro de 2002.

BRITO, N. M. *et al.* Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 129-146, jan. 2003.

CODEX ALIMENTARIUS. General standard for contaminants and toxins in food and feed. **International Foods Standards**. 1995.

CARDOSO, M. H. W. M. *et al.* Preparação de um material de referência certificado para controle de agrotóxicos em hortifrutigranjeiros: estudo da homogeneidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 429–438, 2010.

CHIARADIA, M.C. *et al.* O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p.623-647, fev. 2008.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). **Codex Alimentarius Commission - Procedural Manual**. Roma, 2001.

HE, Z. *et al.* Multiresidue analysis of 213 pesticides in leek and garlic using QuEChERS-based method and gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. **Anal Bioanal Chem**, p. 2637–2643, 2015.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA (INMETRO). **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos**: DOQ-CGCRE-008. Brasília, 2010.

LANÇAS, F.M., **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise**, Sexta ed. São Carlos: Editora RiMa, 2004. 46p.

LUZ, J. M. Q.; SHINZATO, A. V.; SILVA, M. A. D. DA. Comparação dos sistemas de produção de tomate convencional e orgânico em cultivo protegido. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 2, p. 7–15, 2007. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/6842>>. Acessado em: junho de 2017.

MELO, P. C. T. DE; VILELA, N. J. Desafios e perspectivas para a cadeia brasileira do tomate para processamento industrial. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 154–157, 2005.

OLIVEIRA, A. R. M. et al. Microextração em fase líquida (LPME): Fundamentos da técnica e aplicações na análise de fármacos em fluidos biológicos. **Química Nova**, 2008.

PINHO, G. P. *et al.* Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 987-998, abr. 2009.

PIZZUTI, I. R. *et al.* Method validation and comparison of acetonitrile and acetone extraction for the analysis of 169 pesticides in soy grain by LC-MS. **Journal of Chromatography A**, v.1216, n. 21, p. 4539-4552, jan. 2009.

PRESTES, O.D. et al. QuEChERS - Um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p.1620-1634, jul. 2009.

Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) – Relatório de atividades de 2015. Brasília, 2015. Disponível em:

<<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Programa+de+Analise+de+Residuos+de+Agrotoxicos+em+Alimentos>>. Acessado em: junho de 2017.

Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) – Relatório de atividades de 2012 complementar. Brasília, 2014. Disponível em:

<http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117818/Relat%25C3%25B3rio%2BPARA%2B2012%2B2%25C2%25AA%2BEtapa%2B-%2B17_10_14-Final.pdf/3bc220f9-8475-44ad-9d96-cbbc988e28fa>. Acessado em: novembro de 2017.

REZAEI, M. *et al.* Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1116, n. 1-2, p. 1-9, maio 2006.

RIBANI, M. *et al.* Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-789, jun. 2004.

RODRIGUES, N. R. Agrotóxicos : Análises de Resíduos e Monitoramento. **MultiCiência**, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2006.

SPISSO, B. F.; NÓBREGA, A. W. DE; MARQUES, M. A. S. Resíduos e contaminantes químicos em alimentos de origem animal no Brasil: histórico, legislação e atuação da vigilância sanitária e demais sistemas regulatórios. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 14, n. 6, p. 2091-2106, 2009.

VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F. Microextração por fase sólida. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 523-530, 2000.

VALENTINI, S. R. *et al.* Validação de métodos analíticos. **Arquivos do Mudi**, v. 11, n. 2, p. 26-31, 2007.

VIM - Vocabulário Internacional de Metrologia: conceitos fundamentais e gerais e termos associados, 1ª Edição Luso Brasileira, Duque de Caxias, INMETRO, 2012.

APÊNDICE A

Universidade Federal do Rio Grande
 Curso de Engenharia Agroindustrial Indústrias Alimentícias
 Aluna: Luiza Monteiro
 Disciplina: Trabalho de Conclusão II



FORMULÁRIO SOBRE PRODUÇÃO DE TOMATE ORGÂNICO

Produtor	
Contato	

1. Você possui a certificação desde qual ano?	
2. Quais são os requisitos básicos para ser considerada produção orgânica?	
3. No início, qual foi a maior dificuldade para se adaptar à produção orgânica?	
4. É feito algum monitoramento e controle dos órgãos certificadores?	
5. Se sim, quais são esses monitoramentos e controles? De quanto em quanto tempo eles são feitos?	
6. Como é feito o controle de pragas da cultura do tomate na produção orgânica?	

7. Há alguma produção convencional próximo à sua plantação orgânica?	
8. Os equipamentos utilizados na plantação orgânica também são utilizados na convencional?	
9. Como/onde são obtidos as sementes e mudas utilizadas na sua plantação?	