

Evento: XXVII Seminário de Iniciação Científica - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA
DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM CENOURA E FEIJÃO-VAGEM POR
GC-MS/MS¹**

**DEVELOPMENT OF ANALYTICAL METHODOLOGY FOR THE
DETERMINATION OF PESTICIDES IN CARROT AND POD-BEANS BY GC-
MS/MS**

**Larissa Meincke Eickhoff², Liege Goergen Romero³, Arthur Mateus
Schreiber⁴, Alessandro Hermann⁵, Anagilda Bacarin Gobo⁶**

¹ Estudo vinculado à pesquisa Institucional Agroindustrialização de hortaliças orgânicas produzidas no noroeste do RS do Grupo de pesquisa Alimentos e Nutrição da UNIJUI

² Aluna do curso de Engenharia Química da UNIJUI, bolsista PIBIC/UNIJUI, larissa_eickhoff@hotmail.com

³ Aluna do curso de Engenharia Química da UNIJUI, bolsista PIBITI/UNIJUI, liege.goergen@hotmail.com@hotmail.com

⁴ Aluno do curso de Engenharia Química da UNIJUI, bolsista PIBIC/UNIJUI, arthur.schreiber@hotmail.com

⁵ Professor Mestre do departamento de Ciências da Vida, Orientador, alessandro.h@unijui.edu.br

⁶ Professora Mestre do departamento de Ciências da Vida, agobo@unijui.edu.br

1. Introdução

A agricultura brasileira alcançou forte crescimento nas últimas três décadas. A Revolução Verde permitiu aumento de produtividade a partir da implantação em larga escala de sistemas de monoculturas, com emprego intensivo de fertilizantes e agrotóxicos, além de ter proporcionado a abertura de um imenso mercado de máquinas, sementes e insumos agrícolas (FAO, 2018).

Os benefícios da Revolução Verde são evidentes, porém para garantir a produção de alimentos os produtores tornam-se dependentes do uso de fertilizantes, agrotóxicos e combustíveis fósseis. Com isso as consequências estão vinculadas diretamente ao impacto ambiental (DJUR FELDT, 2019). O uso indiscriminado e sem orientação adequada dos agrotóxicos é propulsor de inúmeros problemas, desde exposição ocupacional, contaminação de alimentos, contaminação dos recursos hídricos e sérios problemas a saúde (BARBOSA, 2004). Diante do cenário apresentado, este trabalho objetiva desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de resíduos de agrotóxicos em culturas de cenoura e feijão-vagem, buscando através de estudo e planejamento experimental encontrar as melhores condições de extração e *clean-up*.

2. Materiais e métodos

2.1 - Preparo das soluções

Preparou-se individualmente 10 mL de solução estoque aproximadamente 1000 mg L⁻¹ de cada

Evento: XXVII Seminário de Iniciação Científica - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI

agrotóxico. Após, foram preparadas soluções analíticas individuais dos compostos em estudo na concentração de 100 mg L⁻¹. A partir destas soluções preparou-se uma mistura (mix) na concentração 10 mg L⁻¹ contendo todos os compostos e por diluição uma mistura na concentração 1,0 mg L⁻¹. Todas as soluções foram preparadas em Acetonitrila (MeCN) grau HPLC.

As amostras utilizadas no estudo foram feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris L.*) e cenoura (*Daucus carota L.*), providos pela UNICOOPER - Cooperativa Central da Agricultura Familiar Ltda. O preparo de hortaliças com cascas consiste em triturá-las e em sequência congelamento da amostra em temperatura de - 40°C em ultra-congelador (modelo UCE - 20, marca Eco).

2.3 - Desenvolvimento do método QuEChERS

Foram realizados primeiramente três experimentos de extração baseados nos métodos já descritos na literatura, consistindo: QuEChERS (original, citrato e acetato), a fim de avaliar qual método forneceria a extração com maior recuperação dos compostos. Para isso, foram realizadas fortificações nas amostras em triplicata na concentração de 50 µg kg⁻¹. O cálculo da recuperação dos analitos após a extração foi realizado por comparação das áreas dos cromatograma obtidos, com injeções em triplicata de padrões no extrato da matriz na mesma concentração da fortificação. Após a escolha do melhor método de extração para cada matriz avaliada, desenvolveu-se planejamento experimental fatorial 2⁴, buscando encontrar as melhores condições para a limpeza do extrato obtido (etapa de *clean-up*) com o uso de diferentes sorventes e em diferentes combinações e proporções. Dessa maneira foram gerados 27 ensaios, conforme a Tabela 1, para obtenção da superfície de resposta e escolha das condições ideais para extração e limpeza. Os resultados foram avaliados com auxílio do software *Statistica*® 12.0.

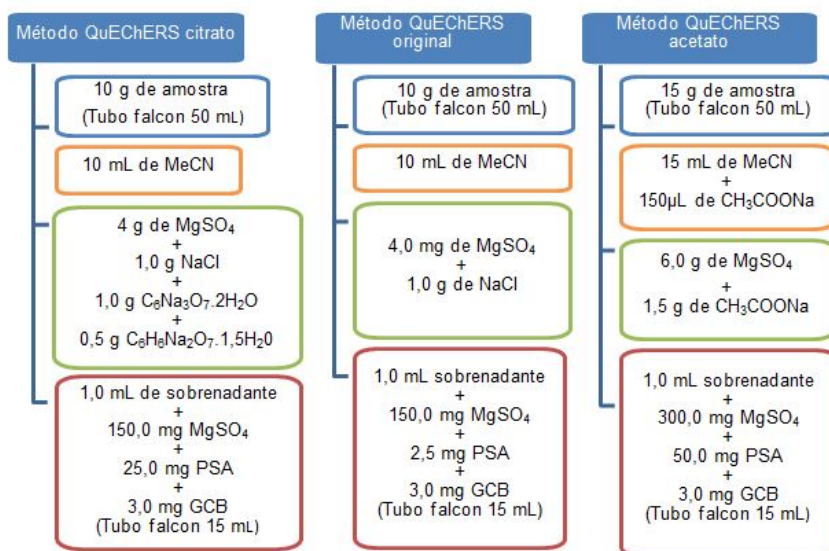
Tabela 1 - Ensaios para planejamento fatorial 2⁴ para cenoura e feijão-vagem

Ensaio	NaCl (g)	PSA (mg)	Terra Diatomácea (mg)	C18 (mg)	Ensaio	NaCl (g)	PSA (mg)	Terra Diatomácea (mg)	C18 (mg)
1	1,00	10,00	5,00	10,00					
2	1,00	10,00	5,00	30,00	15	2,00	30,00	15,00	10,00
3	1,00	10,00	15,00	10,00	16	2,00	30,00	15,00	30,00
4	1,00	10,00	15,00	30,00	17	0,50	20,00	10,00	20,00
5	1,00	30,00	5,00	10,00	18	2,50	20,00	10,00	20,00
6	1,00	30,00	5,00	30,00	19	1,50	0,00	10,00	20,00
7	1,00	30,00	15,00	10,00	20	1,50	40,00	10,00	20,00
8	1,00	30,00	15,00	30,00	21	1,50	20,00	0,00	20,00
9	2,00	10,00	5,00	10,00	22	1,50	20,00	20,00	20,00
10	2,00	10,00	5,00	30,00	23	1,50	20,00	10,00	0,00
11	2,00	10,00	15,00	10,00	24	1,50	20,00	10,00	40,00
12	2,00	10,00	15,00	30,00	25 (C)	1,50	20,00	10,00	20,00
13	2,00	30,00	5,00	10,00	26 (C)	1,50	20,00	10,00	20,00
14	2,00	30,00	5,00	30,00	27 (C)	1,50	20,00	10,00	20,00

Na Figura 1, estão descritos os três métodos utilizados nos ensaios, os blocos em cor laranja identificam a etapa da extração, logo na sequência a cor verde caracteriza a partição, enquanto a cor vermelha representa a fase de *clean up*.

Evento: XXVII Seminário de Iniciação Científica - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI

Figura 1 - Método QuEChERS citrato, original e acetato, respectivamente.



A partir da obtenção das melhores condições para a limpeza do extrato, foi avaliada a eficiência real das condições indicadas estatisticamente, através da superfície de resposta gerada com os resultados dos 27 ensaios desenvolvidos. A eficácia do *clean-up* também foi avaliada a partir do ensaio gravimétrico, por meio da verificação dos co-extratos da matriz não volátil. Para isso, utilizou-se 3 mL do extrato final das matrizes com e sem *clean-up*. As alíquotas foram colocadas em vias de 15 mL, devidamente secos em estufa a 100°C, e as amostras evaporadas sob gás nitrogênio. Os co-extratos não voláteis foram determinados gravimetricamente utilizando balança analítica de precisão modelo AR2140 da marca *Ohaus Corporation*.

2.4 - Condições cromatográficas e do espectrômetro de massas

O estudo desenvolveu-se por cromatografia em fase gasosa acoplada ao espectrômetro de massas em série com analisador tipo triploquadropolo (GC-(TQ)-MS/MS) *Agilent Technologies 7890B/7000C*, com amostrador automático modelo 7693. O estudo das condições de operação do espectrômetro de massas para a obtenção dos espectros característicos de cada analito, foi obtido a partir da injeção de 1 µL de uma solução 10 mg L⁻¹ de cada composto individual, no modo *full scan* (íons totais), possibilitando a identificação e avaliação do espectro de massas para cada composto a fim de permitir a escolha dos íons a serem utilizados. O tempo de corrida cromatográfica foi de 28,95 minutos.

3. Resultados e discussões

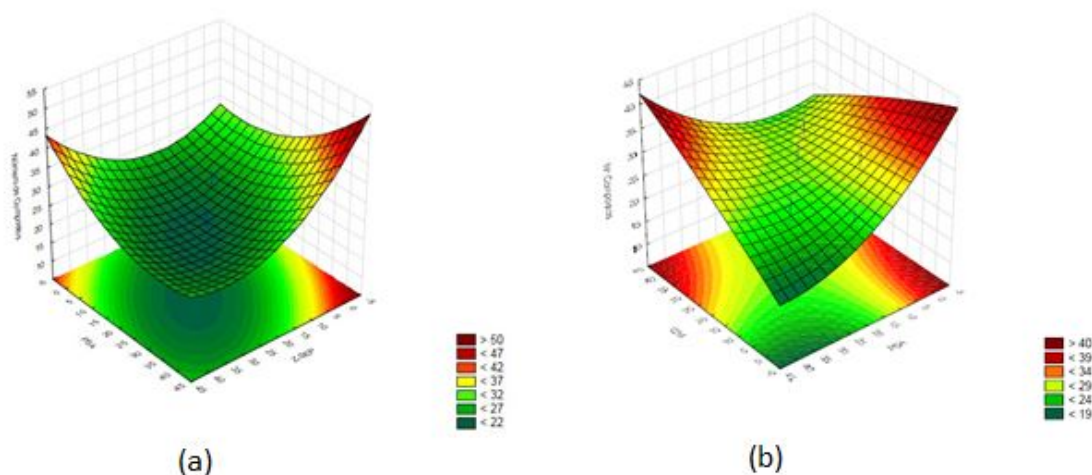
Para a separação cromatográfica foi avaliado as melhores condições de temperatura do injetor, a partir das temperaturas de ebulição de cada composto, bem como a otimização das condições para

Evento: XXVII Seminário de Iniciação Científica - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI

a rampa de aquecimento do forno da coluna visando separar o maior número de analitos. Para a operação do espectrômetro no modo de Monitoramento de Reações Múltiplas (MRM), foi necessária a seleção/avaliação de íons precursores obtidos no modo *full scan*, para cada composto em estudo neste trabalho. A escolha dos íons a serem utilizados deu-se a partir de suas intensidades de sinal, bem como a ausência do padrão de fragmentação do íon para qualquer composto no mesmo segmento de análise.

Para a cenoura, com a utilização do método QuEChERS original foi alcançada recuperação entre 70% e 120% para 40 compostos, com o QuEChERS citrato, 29 compostos e com o QuEChERS acetato apenas 4 compostos, de um total de 48. Para o feijão-vagem o método QuEChERS citrato apresentou recuperação de 41 compostos, para o Quechers original 35 compostos e para o QuEChERS acetato 28 compostos, na faixa de 70% a 120%. Desta forma, adotou-se o método QuEChERS Original para extração dos compostos na cenoura, enquanto que para o feijão-vagem utilizou-se do método QuEChERS citrato, pois foram os que apresentaram um maior número de recuperação dos compostos. Na Figura 2 estão representadas as superfícies de respostas para a cenoura (a) com a interação com os sorventes PSA e Z-SEP e para o feijão-vagem (b), com a interação dos sorventes C18 e PSA. Conforme os resultados obtidos por meio da análise da superfície de resposta para o feijão-vagem, a melhor proporção dos sorventes testados, sendo estes: 0,4210 g para NaCl, 22,46 mg para PSA, 15,79 mg para Terra Diatomácea e 0,0 mg de C18.

Figura 2-Superfícies de resposta geradas pelo planejamento 2^4 para otimização do método de extração de agrotóxicos (a) cenoura (b) feijão-vagem.



As superfícies de resposta dos ensaios realizados com a cenoura, também foram avaliadas, indicando as melhores condições experimentais na execução da etapa de *clean-up*: 26,0 mg para o Z-sep, 15,7 mg para o C18 (octadecilsilano), 3,4 mg para o GCB (do inglês, *grafitized Carbon Black*) e 18,0 mg para o PSA (amina primária secundária). A verificação da recuperação dos

Evento: XXVII Seminário de Iniciação Científica - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI

compostos, bem como a eficiência do *clean-up* a partir das condições indicadas, resultou em uma recuperação entre 70 e 120% apenas para 9 compostos dentre um total de 48 agrotóxicos. Os co-extratos da matriz não volátil avaliados através do ensaio gravimétrico evidenciou que houve uma remoção de 92,37% dos co-extrativos presentes na amostra.

4. Conclusão

Os ensaios buscando o melhor método de extração para o conjunto de agrotóxicos avaliados, demonstrou melhor eficiência do método QuEChERS original para a cenoura e QuEChERS citrato para o feijão-vagem. A partir do planejamento experimental e da análise das superfícies de respostas geradas, foi possível a identificação das melhores proporções dos sorventes avaliados, levando-se em consideração a recuperação do maior número de agrotóxicos em cada condição de *clean-up*. A baixa recuperação apresentada na verificação do ponto ótimo de limpeza para a cenoura pode estar vinculada a adsorção dos agrotóxicos aos sorventes de extração, necessitando reavaliar os sorventes utilizados, visando a recuperação de um maior número de agrotóxicos durante a etapa de extração e *clean-up*. Da mesma forma, será testado as condições ótimas apresentadas pelo planejamento experimental para o Feijão Vagem, permitindo assim a avaliação real dos compostos recuperados após a etapa de *clean-up*. Atendidas as condições de extração e limpeza os métodos para ambas as matrizes passarão pela etapa de validação analítica segundo os critérios do INMETRO e testes em hortaliças disponíveis em supermercados.

Keywords: *Pesticides; Mass spectrometry; Preparation of samples; Experimental design.*

Referências

1. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos (PARA):** relatório complementar relativo à segunda etapa das análises de amostras coletadas em 2012. Brasília, outubro de 2014.
2. AGUIAR, T.J.A E MONTEIRO, M.S.L. Modelo agrícola e desenvolvimento sustentável: a ocupação do cerrado piauiense. **Ambiente e Sociedade**. 2005;8(2):1-18.
3. BARBOSA, L. C. A. **Os pesticidas, o homem e o meio ambiente**. Viçosa: UFV, 2004, p. 15-34.
4. DJUR FELDT, G. Green Revolution. **Encyclopedia of Food Security and Sustainability**. v. 3. p. 147-151, 2019. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/76a2/a8a6cbc72ce2c6db3a0efc6c664b3aaeb487.pdf>>. Acesso em: 15 de junho de 2019.
5. ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO (FAO). Perspectivas agrícolas 2015-2024. Disponível em: . Acesso em: 11 de março de 2018.