

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijui

ESTUDO DE MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM CENOURA E FEIJÃO-VAGEM POR GC-MS/MS¹
METHOD STUDY FOR DETERMINATION OF RESIDUES OF PESTICIDES IN CARROT AND POD BEANS BY GC-MS/MS

Arthur Mateus Schreiber², Larissa Vilma Lohmann³, Liege Goergen Romero⁴, Alessandro Hermann⁵, Anagilda Bacarin Gobo⁶

¹ Estudo vinculado a pesquisa Institucional "Agroindustrialização de hortaliças orgânicas produzidas no noroeste do RS"

² Aluno do curso de Engenharia Química da UNIJUI, bolsista PIBIC/UNIJUI, arthur.schreiber@hotmail.com

³ Aluna do curso de Engenharia Química da UNIJUI, bolsista PIBIC/UNIJUI, larissa_lohmann@hotmail.com

⁴ Aluna do curso de Engenharia Química da UNIJUI, bolsista PIBIC/UNIJUI, liege.goergen@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 (FAO, 2018). 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 (AGUIAR e MONTEIRO, 2005).

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). Segundo análise de amostras coletadas em todas as 26 Unidades Federadas do Brasil, realizadas pelo Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) da ANVISA (2014). Evidenciou-se que 67% das amostras analisadas apresentaram contaminação por agrotóxicos, sendo que 25% apresentaram ingredientes ativos não autorizados para aquele cultivo e/ou ultrapassaram dos limites máximos de resíduos considerados aceitáveis.

Diante do cenário apresentado, este trabalho objetiva avaliar o melhor método QuEChERS de extração de agrotóxicos, e as melhores condições para a remoção de interferentes do extrato através de planejamento experimental para as matrizes cenoura e o feijão-vagem.

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijuí

2. Materiais e Métodos

2.1- Preparo das soluções

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

2.2 - Preparo das amostras

Foram utilizadas neste estudo cenoura (*Daucus carota L.*) e feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris L.*), orgânicos, fornecidos pela UNICOOPER - Cooperativa Central da Agricultura Familiar Ltda. As hortaliças com casca passaram por um processo de trituração e posteriormente congeladas a -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), conforme figura 1, a fim de avaliar qual método forneceria as melhores condições para extração com melhor 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 a partir da injeção 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 a serem realizados para análise da superfície de resposta e escolha das condições ideais para extração e limpeza, conforme a Tabela 1. Os resultados foram avaliados com auxílio do software Statistica® 12.0.

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijui

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

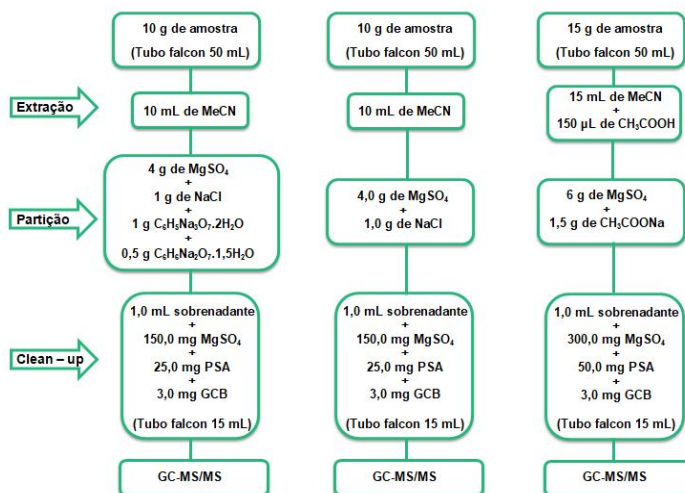


Tabela 1 - Ensaios para planejamento fatorial 2^4 para a cenoura e feijão-vagem

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

2.4 - Condições cromatográficas e do espectrômetro de massas

O estudo foi desenvolvido 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. As condições para o sistema cromatográfico e do espectrômetro de massas estão demonstrados na tabela 2.

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijuí

Tabela 2 - Condições de análise dos agrotóxicos por GC-MS/MS

Condições cromatográficas	
Volume de injeção	1 µL
Modo de injeção	Splitless
Temperatura do injetor	280°C
Fluxo de gás Hélio	1 cm³ min ⁻¹
Forno da coluna	
Temperatura inicial	80°C (1 min)
1ª manutenção	25°C min até 160°C
2ª manutenção	8°C min até 270°C (11 min)
Condições do espectrômetro de massas	
Temperatura da transferline	280°C
Temperatura da fonte de ionização	230°C
Fonte de ionização	70 eV
Fluxo de gás Nitrogênio	1,5 cm³ min ⁻¹

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 otimizar as condições para a rampa de aquecimento do forno da coluna visando o maior número de separação possível dos 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.

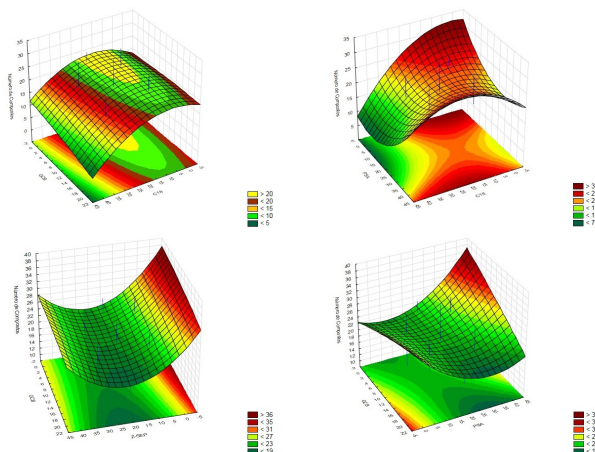
Para a cenoura, com a utilização do método QuEChERS original foi alcançado recuperação entre 70% e 120% para 40 compostos, com o QuEChERS citrato, 29 compostos e com o QuEChERS acetato apenas 4 compostos, de um total de 48. Para o feijão-vagem o método QuEChERS citrato apresentou recuperação de 41 compostos, para o QuEChERS original 35 compostos e para o QuEChERS acetato 28 compostos, na faixa de 70% a 120%.

As melhores condições experimentais para a execução da etapa de *clean-up* foram determinadas a partir da avaliação da superfície de resposta, representadas na figura 2, sendo indicado a partir destas, a melhor proporção dos sorventes testados, sendo: 26,0 mg para o Zsep, 15,7 mg para o C18, 3,4mg para o GCB e 18,0 mg para o PSA.

Figura 2 - Superfícies de resposta geradas pelo planejamento 2⁴ para otimização do método de extração de agrotóxicos em cenoura

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijuí



4. Conclusões

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, as diferenças nas recuperações encontradas em cada método testado, podem estar relacionadas a condições de pH proporcionadas por cada método e a influência do pH sobre o equilíbrio químico que a espécie desenvolve no meio de extração. 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*. Posteriormente serão realizados os ensaios do planejamento experimental para o feijão-vagem e também a validação do método analítico segundo o INMETRO para ambas matrizes.

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

5. 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. ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO (FAO). Perspectivas agrícolas 2015-2024. Disponível em: Acesso em: 11 de março de 2018.