

Evento: IX Seminário de Inovação e Tecnologia - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI

**ESTRATÉGIAS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS
EM BATATA DOCE E ABOBRINHA POR GC-MS/MS¹
STRATEGIES FOR DETERMINATION OF AGROCHEMICAL RESIDUES IN
SWEET POTATO AND ZUCCHINI BY GC-MS/MS**

**Liege Göergen Romero², Larissa Meincke Eickhoff³, Alessandro Hermann⁴,
Anagilda Bacarin Gobo⁵**

¹ Estudo vinculado a pesquisa Institucional “Agroindustrialização de hortaliças orgânicas produzidas no noroeste do RS”, Grupo de pesquisa Alimentos e Nutrição da UNIJUI.

² Aluna do curso de Engenharia Química da Unijuí

³ Aluna do curso de Engenharia Química da Unijuí

⁴ Professor Mestre do Departamento de Ciências da Vida da Unijuí

⁵ Professor Mestre do Departamento de Ciências da Vida Unijuí.

INTRODUÇÃO

Com o passar dos anos a população mundial cresceu significativamente, acarretando necessidade de aumento na produção agrícola. Para suprir as necessidades de produção, ocorreu um avanço no uso de agrotóxicos, os quais combatem pragas e doenças nocivas à produção agrícola. Além disso, o uso indiscriminado desses compostos também pode causar efeitos adversos à saúde humana se expostos a estas substâncias (Camino-Sánchez *et al.*, 2010). A realização da determinação de resíduos de agrotóxicos pode ser feita através da utilização da cromatografia combinada com diferentes sistemas de detecção, tornando-se assim umas das técnicas analíticas mais utilizadas e de melhor desempenho (CHIARADIA; COLLINS; JARDIM; 2008). Atualmente, um dos métodos de preparo de amostra para análise de resíduos mais empregados é o QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Robust and, safe), o qual consiste no preparo de amostra, envolvendo a extração dos analitos e a subsequente limpeza do extrato com a finalidade de isolar os compostos de interesse e remover interferentes da matriz (CABRERA *et al.*, 2012). Este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de estratégias para o preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em abobrinha (*Cucurbita pepo*) e batata doce (*Ipomoea batatas*).

MATERIAIS E MÉTODOS

1. SELEÇÃO DE AGROTÓXICOS

Para definir os agrotóxicos que seriam utilizados durante o estudo, foi feita uma revisão bibliográfica referente aos agrotóxicos permitidos e não permitidos para as culturas de abobrinha e batata doce, bem como, das culturas de milho, trigo e soja, amplamente cultivadas na região.

2. PADRÕES E SOLUÇÕES ANALÍTICAS DOS AGROTÓXICOS

Os padrões de agrotóxicos utilizados foram adquiridos da empresa Sigma-Aldrich, com pureza acima de 98%. As soluções padrão estoque foram preparadas na concentração de 1000 mg. L⁻¹ em acetonitrila grau HPLC, armazenadas em frascos âmbar a uma temperatura de -18°C e a partir dessa concentração foram realizadas

Evento: IX Seminário de Inovação e Tecnologia - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI

diluições de 100 mg. L⁻¹. A partir dessas soluções foi preparado uma mistura (Mix) com concentração 10,0 mg. L⁻¹ contendo todos os compostos. Através dessa, preparou-se as demais soluções analíticas para o desenvolvimento do trabalho.

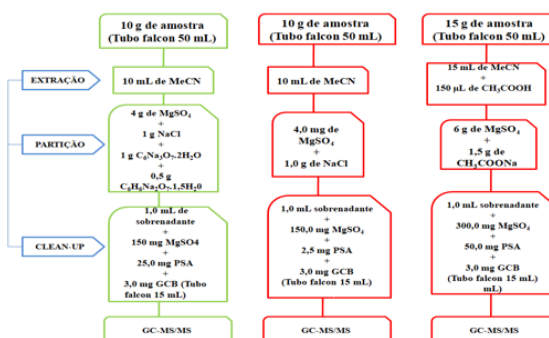
3. PREPARO DAS AMOSTRAS

As hortaliças utilizadas foram a abobrinha (*Cucurbita pepo*) e a batata doce branca (*Ipomoea batatas*), variedade Cuia, estes todos orgânicos, fornecidos pela UNICOPER - Cooperativa Central da Agricultura Familiar Ltda. As amostras foram trituradas com cascas para diminuir a superfície de contato da matriz e após foram pesadas e armazenadas em tubos falcon e congeladas a -40°C em ultra congelador (modelo UCE -20, marca ECO).

4. EXTRAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EMPREGANDO QuEChERS

As amostras isentas de agrotóxicos, de abobrinha e batata doce foram fortificadas nas concentrações de 50 µg. kg⁻¹, e posteriormente foram realizados três experimentos de extração, utilizando os métodos QuEChERS (original, citrato e acetato), os quais estão apresentados na figura 1. Os testes foram realizados em triplicata, com o objetivo de verificar qual seria o método que teria os melhores resultados de recuperação dos agrotóxicos injetados amostras fortificadas em ambas as matrizes de batata e abobrinha.

Figura 1: Método QuEChERS original, acetato e citrato



Fonte: Elaborada pelo autor 2019

5. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Para o método QuEChERS que teve maior recuperação para cada tipo de hortaliça, foi realizado o planejamento experimental, o qual visa melhorar os resultados de recuperações e limpeza do extrato da matriz, permitindo assim a melhor remoção dos interferentes. Para a batata doce e a abobrinha foram gerados 27 ensaios, os quais foram utilizados para identificação das melhores condições de recuperação e limpeza do extrato da matriz, através da análise estatística da superfície de resposta. A tabela 1, apresentada os ensaios gerados para a abobrinha.

Evento: IX Seminário de Inovação e Tecnologia - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI

Tabela 1: Ensaios gerados pelo planejamento fatorial 2^4 para a abobrinha.

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

Fonte: Elaborada pelo autor 2019

6. CONDIÇÕES DO SISTEMA CROMATOGRÁFICO E DO ESPECTRÔMETRO DE MASSAS

Para a determinação dos resíduos de agrotóxicos foi utilizado cromatógrafo Agilent Technologies 7890B/7000C, com amostrador automático modelo 7693. Os componentes foram separados em coluna capilar de sílica fundida HP-5MS com 30m de comprimento e diâmetro interno de 0,25 mm, bem como a espessura do filme de 0,25µm, consistindo de fase estacionária de 5% fenil, 95% dimetilsiloxano. A aquisição dos íons foi realizada através do modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM). As condições de análise para o sistema cromatográfico foram: temperatura do injetor de 280 °C, volume de injeção 1,0 µL (modo *splitless*), programação da temperatura do forno da coluna: temperatura inicial de 70 °C (1 min), aumento de temperatura de 8 °C min⁻¹ até 170 °C, seguido de 10 °C min⁻¹ até 270 °C (15 min), vazão do gás de arraste (Hélio) constante em 1,0 cm³ min⁻¹. As condições do espectrômetro de massas: temperatura de transferline de 280 °C, temperatura da fonte de ionização: 230 °C, fonte de ionização por impacto de elétrons (70 eV), gás de colisão Nitrogênio a pressão de 2 m Torr e velocidade 1,5 cm³ min⁻¹. O tempo total de corrida cromatográfica de 28,95 min.

7. AVALIAÇÃO DO PONTO ÓTIMO IDENTIFICADO ATRAVÉS DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA A BATATA DOCE

A partir do ponto ótimo definido, foi realizada uma avaliação do mesmo, com a finalidade de verificar se as proporções de sorventes utilizados na etapa de partição e *clean-up* estavam coerentes com os dados estatísticos, encontrados através do planejamento experimental. A análise para a verificação foi então realizada seguindo o método QuEChERS citrato, sendo as amostras branco de batata doce fortificadas nas concentrações de 50 µg kg⁻¹, em triplicata e um branco.

8. ENSAIOS GRAVIMÉTRICOS

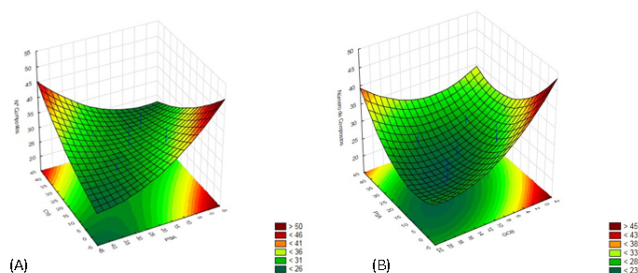
A avaliação gravimétrica da remoção de interferentes foi observada a partir da medida da massa de co-extrativos remanescentes após a etapa de limpeza. A avaliação constituiu na adição de 3 mL do extrato após a etapa de limpeza, em viais de 15 mL previamente pesados e secos em estufa por 24 horas, o solvente de extração e os co-extrativos voláteis foram evaporados sob atmosfera de gás nitrogênio até a completa secura. Após a etapa de evaporação os viais com co-extrativos não voláteis foram armazenados em dessecador e pesados até massa constante.

Evento: IX Seminário de Inovação e Tecnologia - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A partir da extração de multirresíduos de agrotóxicos em batata doce e abobrinha, através do método QuEChERS original, acetato e citrato, obtivemos nos primeiros testes, os melhores resultados de recuperações dos agrotóxicos para o método QuEChERS citrato para ambas as hortaliças. Avaliando a recuperação dos agrotóxicos e as variações de massas do reagente e de cada combinação dos sorventes analisados, geraram-se seis gráficos de superfícies de resposta para cada hortaliça. Com o auxílio do programa estatística® 12.0, foram gerados os gráficos, os quais estão apresentados na figura 2 (A) para a abobrinha relacionando nos eixos os sorventes C18 e PSA, e na figura 2 (B) para a batata doce relacionando nos eixos os sorventes PSA e GCB. Os resultados indicados a partir da análise da superfície de resposta para a abobrinha, com a melhor proporção para o reagente utilizado na partição foi de 1,24 mg (NaCl) e para os demais utilizados na etapa de clean-up foram de: 22,70 mg (C18), 18,10 mg (PSA) e 15,40 mg (Terra Diatomácea).

Figura 2: Superfícies de respostas geradas pelo planejamento 2^4 , utilizando o programa estatística® 12.0, para os ensaios da abobrinha e para os ensaios da batata doce.



Fonte: Elaborada pelo autor 2019.

As superfícies de resposta para a batata doce também foram geradas e avaliadas, indicando, as seguintes proporções: 1,10mg (NaCl); 24,60 mg (PSA); 12,5mg (GCB) e 15,5mg (C18). As condições ótimas indicadas na avaliação estatística foram desenvolvidas experimentalmente, obtendo desta forma, nas condições indicadas: recuperação de 28 compostos de um total 48. A partir disso verifica-se que ocorreu uma recuperação de 58,33% dos compostos, ou seja, 25% a menos do que recuperado nos testes prévios. Por esse motivo a massa de GCB utilizada na otimização do ponto ótimo foi reduzida 68% da massa inicial utilizada nos testes prévios e de avaliação do mesmo, pois no início era adicionado 12,5 mg do adsorvente, e após a otimização foi verificado que é necessário a utilização de apenas 4 mg de GCB na etapa de *clean-up*. Obteve-se uma recuperação de 34 compostos, 70,83% dos agrotóxicos avaliados, chegando mais próximo da percentagem atingida nos primeiros testes, a qual foi 83,33%. A opção em reduzir a quantidade de GCB indicado na condição ótima deu-se pelo fato de que esse é um sorvente constituído por uma grande estrutura de carbonos, além de ter uma grande superfície de contato. Essas características podem causar retenção de alguns analitos planares, o que pode ter ocasionado a baixa recuperação, além de reter alguns compostos de interesse durante a etapa de limpeza da matriz.

Evento: IX Seminário de Inovação e Tecnologia - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI

CONCLUSÕES

Através do estudo realizado nas matrizes de batata doce e abobrinha, foi possível avaliar o comportamento físico-químico dos 48 agrotóxicos utilizados na fortificação das mesmas. É possível verificar que cada hortaliça possui características diferentes umas das outras, como por exemplo, pigmentação e pH as quais podem interferir no método de extração dessas matrizes. Também foi possível encontrar resultados satisfatórios para os valores de recuperação tanto nos testes iniciais, quanto durante as etapas de otimização do ponto ótimo para o método QuEChERS citrato, assumindo esse como o método com maior percentagem de recuperação dos compostos injetados na matriz de batata doce e abobrinha. A partir dos resultados conseguiu-se realizar os 27 ensaios dos planejamentos experimentais, os quais permitiram encontrar a melhor relação entre os fatores avaliados, conseguindo então maximizar a etapa de limpeza e recuperação dos agrotóxicos avaliados. Através das recuperações encontradas, foi verificando a importância da realização dos testes iniciais, para tomada de decisão do método de extração, além de que a otimização do processo através do planejamento experimental permite uma economia na quantidade de reagentes, solventes e sorventes utilizados na aplicação dos métodos estudados. Com a realização dos testes gravimétricos para a batata doce, é possível verificar que na etapa de limpeza está ocorrendo à retirada de pigmentos, porém, a mesma pode estar retraindo alguns agrotóxicos de interesse, interferindo nos resultados de recuperação. O ensaio gravimétrico apresentou eficiência de 77,6% (m,m) na etapa de clean-up, removendo co-extrativos como pigmentos e metabólitos secundários. A partir dos resultados, a próxima etapa a ser realizada será a verificação das condições ótimas indicadas pelo planejamento experimental para a abobrinha, e posterior validação dos métodos analíticos segundo o INMETRO para ambas as hortaliças estudadas.

Palavras Chaves: gas chromatography, determination of pesticides, experimental design, liquid spectrometry.

REFERÊNCIAS

CABRERA, et al. **Estudo do efeito matriz na determinação de agrotóxicos em diferentes tipos de arroz pelo método QuEChERS modificado e LC-MS/MS.** [tese]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2012.

CAMINO-SÁNCHEZ, F. J.; Zafra-Gómez, A.; Oliver-Rodriguez, B.; Ballesteros, O.; Navalón, A.; Crovetto, G.; Vilchez, J. L.; FoodAddit. Contam. 2010, 27, 1532.

CHIARADIA, M C; COLLINS, C H; JARDIM, I C S F. **O estado da arte da cromatografia gasosa associada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos.** Química Nova, v. 31, n. 3, p. 623-636, 2008.