

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

**ESTUDO DE MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS EM
HORTALIÇAS ORGÂNICAS UTILIZANDO GC MS/MS¹
METHOD STUDY FOR DETERMINATION OF PESTICIDES IN ORGANIC
VEGETABLES USING GC MS/ MS**

**Laura De Castro², Arthur Mateus Schreiber³, 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 Graduação em Engenharia Química da UNIJUI, bolsista iniciação científica PIBIC/UNIJUI

³ Aluno do curso de Graduação em Engenharia Química da UNIJUI, bolsista iniciação tecnológica PIBIT/UNIJUI

⁴ Professor Mestre do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI

⁵ Professora Mestre do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI, Orientadora

Introdução

O desenvolvimento sustentável, segundo a Comissão Mundial sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento (CMMAD, 1988) da Organização das Nações Unidas, é um conjunto de processos e atitudes que atende às necessidades presentes sem comprometer a possibilidade de que as gerações futuras satisfaçam as suas próprias necessidades. O crescimento da população mundial e a consequente necessidade do aumento da produtividade no setor agrícola levaram a intensificação do uso de agrotóxicos na produção de alimentos, cujas consequências para a saúde do homem e o impacto ambiental não são totalmente conhecidas. No Brasil, a presença de resíduos de agrotóxicos em alimentos, somada à contaminação da água, constitui um problema de saúde pública (ARAÚJO et al., 2002). A produção e o consumo de alimentos orgânicos representam valores significativos para a economia brasileira e para a saúde da população, sendo uma forma de sustentabilidade social e econômica da agricultura familiar (COELHO, 2001).

Para garantir a qualidade das hortaliças produzidas no Brasil, a ANVISA propôs um Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos com o objetivo de avaliar a qualidade dos alimentos consumidos pela população, caracterizar as fontes de contaminação, proporcionar uma avaliação quanto ao uso inadequado e não autorizado de agrotóxicos, estimular a adoção de Boas Práticas Agrícolas (BPA), além de oferecer subsídios para a reavaliação dos estudos de resíduos apresentados para fins de registro de agrotóxicos (ANVISA, 2015).

A cromatografia pode ser combinada com diferentes sistemas de detecção, tornando-se assim uma das técnicas analíticas mais utilizadas e de melhor desempenho para a análise de resíduos de agrotóxicos (CHIARADIA; COLLINS; JARDIM; 2008). De acordo com Prestes et al (2009), ela permite que a confirmação e a determinação de um grande número de compostos sejam realizadas simultaneamente. Além disso, possibilita obter baixos limites de detecção devido à alta

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

seletividade provenientes do modo de monitoramento do íon selecionado *SIM* (do inglês *Selected Ion Monitoring*). Essa técnica é aplicada para compostos voláteis e termicamente estáveis as temperaturas empregadas no sistema cromatográfico (CHIARADIA; COLLINS; JARDIM; 2008).

O detector acoplado MS/MS, ao invés de utilizar apenas um analisador de massas para separar os íons de mesma razão m/z gerados na fonte de ionização, utiliza dois estágios de espectrometria de massas, o primeiro isola o íon de interesse e o outro estabelece uma relação entre o íon de interesse isolado e outros íons que foram gerados a partir da sua fragmentação induzida (CHIARADIA; COLLINS; JARDIM; 2008).

A seletividade do método instrumental de separação é a capacidade de avaliar inequivocamente as substâncias em análise na presença de componentes que podem interferir na sua determinação em uma amostra complexa. A seletividade garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse (RIBANI et al, 2004).

Os agricultores do Rio Grande do Sul, especialmente da região noroeste, estão investindo cada vez mais na produção de alimentos orgânicos, essa prática é uma forma de diminuir os custos na propriedade e aumentar a lucratividade. Nesse trabalho será avaliado e otimizado método através da técnica de cromatografia em fase gasosa acoplada ao detector espectrométrico de massas em série GC-MS/MS para posteriormente determinar resíduos de agrotóxicos nas culturas utilizadas no estudo: abóbora, vagem, cenoura, batata-doce, milho, salsinha, cebola e cebolinha.

Metodologia

Inicialmente foi realizada ampla revisão bibliográfica referente aos pesticidas permitidos e não permitidos para as culturas de cenoura, abobrinha, vagem e batata através do sistema AGROFIT, sobre a validação das condições cromatográficas, validação e otimização do método de extração de pesticidas "Quechers", utilizando normas do INMETRO, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e artigos científicos. O estudo de otimização do método analítico para a determinação de resíduos de agrotóxicos foi desenvolvido junto a Central Analítica, Laboratório de Análises Ambientais da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUI - Campus Ijuí. Para as análises foi utilizado o 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 0,25 μm , consistindo de fase estacionária de 5% fenil, 95% dimetilsiloxano. A aquisição dos íons foi realizada através do modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM). Os padrões de pesticidas foram adquiridos da empresa *Sigma-Aldrich*, com pureza acima de 98%. As soluções padrão estoque foram preparadas na concentração de 1000 mg.L^{-1} , a partir dessa concentração foram realizadas diluições de 100 mg.L^{-1} e 11,5 mg.L^{-1} . No preparo das soluções foram utilizados os solventes acetonitrila, metanol, acetona e acetato de etila, todos grau HPLC.

As condições de análise para o sistema cromatográfico foram: temperatura do injetor de 280 °C,

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

volume de injeção 1,0 μL (modo *splitless*), programação da temperatura do forno da coluna - inicial: 70 $^{\circ}\text{C}$ (1 min), aumento de temperatura de 7 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 170 $^{\circ}\text{C}$, logo após mais um aumento de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 270 $^{\circ}\text{C}$ (15 min), vazão do gás de arraste (Hélio) constante em 1,0 $\text{cm}^3 \text{min}^{-1}$, tempo total de análise: 40,28 min. As condições do espectrômetro de massas: temperatura de *transferline*: 280 $^{\circ}\text{C}$, temperatura da fonte de ionização: 230 $^{\circ}\text{C}$, fonte de ionização por impacto de elétrons (70 eV), gás de colisão Nitrogênio a pressão de 2 mTorr e velocidade 1,5 $\text{cm}^3 \text{min}^{-1}$.

Resultados e discussão

Para obtenção das melhores condições cromatográficas foram injetados as soluções analíticas dos padrões de concentração 11,5 mg.L^{-1} monitorados no modo *full scan* o qual consiste em uma varredura, para ser identificado o tempo de retenção e o perfil de fragmentação dos íons de cada composto.

A Tabela 1, apresenta os compostos selecionados e analisados neste trabalho na qual foram identificados os íons selecionados para análise de cada agrotóxico, tempo de retenção e a melhor energia de colisão para cada transição. Foram adotadas duas transições características, sendo uma destinada para a quantificação, geralmente mais intensa, e a outra para a confirmação dos mesmos.

TABELA 1 – Agrotóxicos determinados por GC MS/MS, aquisição de espectro no modo MRM com tempo de retenção, íons precursores e produtos e energia de colisão para a quantificação e confirmação.

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Nome do composto	t_r (min)	Primeira transição—Quantificação			Segunda transição—Confirmação		
		Íon Precursor (m/z)	Íon Produto (m/z)	Energia de Colisão (eV)	Íon Precursor (m/z)	Íon Produto (m/z)	Energia de Colisão (eV)
Carbofurano	10,71	164	131	20	164	103	20
Paraquate	14,91	156	102	30	156	128	30
Trifluralina	17,26	306	206	20	306	264	20
Terbufós	18,56	231	129	15	231	175	15
Clorotalonil	19,10	266	133	30	266	170	30
Pirimifós-metil	20,59	276	151	20	276	125	20
Fentiona	20,95	278	245	5	278	169	5
Tetraconazol	21,17	336	156	30	336	204	30
Pendimetalina	21,66	252	191	10	252	162	10
Zoxamida	21,99	187	123	25	187	159	25
2,4 DDE	22,27	246	211	25	246	176	25
Profenofós	22,80	208	99	30	208	63	30
Clorfenapir	23,39	247	75	20	247	227	20
Benalaxil	24,24	148	105	20	148	79	20
Tebuconazol	24,65	250	70	15	250	125	15
Fempropatrina	25,48	181	152	25	181	152	25
Metconazol	25,67	125	63	35	125	89	35
Fenoxaprop-etílico	27,05	288	119	15	288	91	15
Cipermetrina isômeros	28,97	163	127	10	163	91	10
Cipermetrina isômeros	29,15	163	127	10	163	91	10
Cipermetrina isômeros	29,35	163	127	10	163	91	10
Deltametrina	33,15	253	172	10	253	93	10

Não foi possível analisar por cromatografia gasosa alguns agrotóxicos elencados para o estudo, como por exemplo cimoxanil, ácido 2,4-diclorofenoxiacético, ciprodinil, dimetomorfe, tiofanato-metílico, carbossulfan e captan. Esses agrotóxicos são termolábeis, consequentemente são determinados através de técnicas analíticas que não requerem aquecimento.

Na figura 1, está representado o cromatograma com o pico específico do agrotóxico benalaxil utilizando modo *full scan*. A figura 2a demonstra o espectro dos íons totais do benalaxil extraído na base de dados da biblioteca espectral de massas *NIST* e 2b o espectro da do íon 148 do benalaxil analisado pelo modo *SIM*.

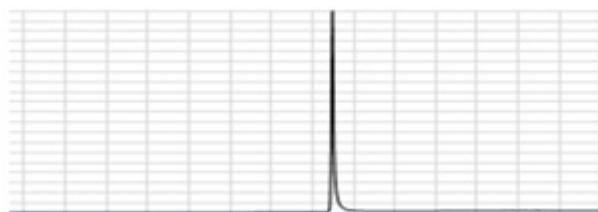


FIGURA 1 – Cromatograma com o pico do benalaxil pelo modo *full scan*.

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

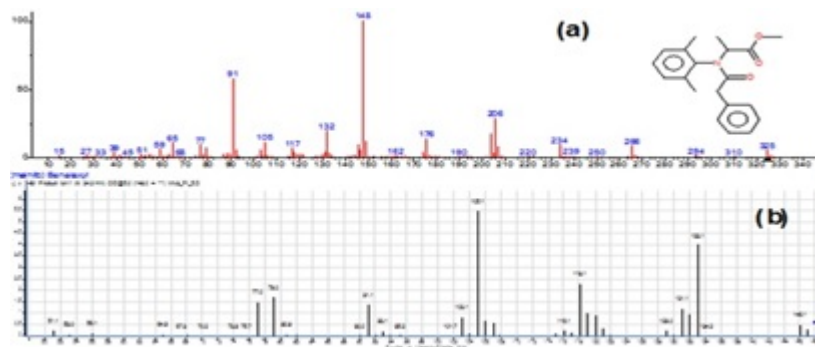


FIGURA 2 - (a) Espectro de massas de todos os íons do benalaxil, extraído da biblioteca espectral de massas *NIST* e **(b)** o espectro da do íon 148 do benalaxil analisada pelo modo *SIM*.

O espectrômetro de massas foi programado para a aquisição de dados através do modo *full scan* para analisar todas as massas do seu espectro dentro de uma faixa determinada *m/z*. No modo *SIM*, após a ionização foi escolhido um íon específico, no caso do benalaxil o íon 148 para novamente ser fragmentado, o que aumenta a sensibilidade, uma vez que os íons correspondentes ao ruído são ejetados sem serem detectados.

Conclusão

Devido a falta de informação sobre os agrotóxicos mais utilizados na região noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, a pesquisa teve como base para escolha dos princípios ativos o sistema Agrofit que é um banco de dados de todos os produtos agrotóxicos e afins registrados no país pelo MAPA, ANVISA E IBAMA.

As condições cromatográficas empregadas foram eficientes para otimizar o estudo de método. A partir desse estudo será validado o método para extração e determinação de agrotóxicos em abóbora, vagem, cenoura, batata-doce, milho, salsinha, cebola e cebolinha.

Palavras-Chaves: Otimização; Cromatografia; Agrotóxico;

Keywords: Optimization; Chromatography; Agrotoxic;

Referências

ANVISA. Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos (PARA). Disponível em: . Acesso em: 20 jun. 2017.

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

ARAUJO, A C P; NOGUEIRA, D P; AUGUSTO, L G S. Impacto dos praguicidas na saúde: estuda da cultura do tomate. **Revista da Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 309-313, 2002.

COELHO, C N. A expansão e o potencial do mercado mundial de produtos orgânicos. **Política Agrícola**, Cidade, v. 10, n. 2, p. 9-26, 2011.

COMISSÃO MUNDIAL SOBRE MEIO AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO (CMMAD) 1988. **Nosso Futuro Comum**. Rio de Janeiro. Fundação Getúlio Vargas, p. 430.

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

PRESTES, O D; ADAIME, C A; ZANELLA, R. 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, 2009.

RIBANI, M. et al. Validação de métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, São paulo, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2012.