

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
COORDENAÇÃO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS  
CÂMPUS FRANCISCO BELTRÃO  
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

MAGALI BIONDO  
SANDRA CRISTINA DE SOUSA

**DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM ALFACES ORGÂNICAS E  
CONVENCIONAIS PRODUZIDAS NO MUNICÍPIO DE FRANCISCO  
BELTRÃO – PR.**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

FRANCISCO BELTRÃO  
2012

MAGALI BIONDO  
SANDRA CRISTINA DE SOUSA

**DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM ALFACES ORGÂNICAS E  
CONVENCIONAIS PRODUZIDAS NO MUNICÍPIO DE FRANCISCO  
BELTRÃO – PR.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos, no Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Alessandra Machado-Lunkes

Co-Orientador: Prof<sup>º</sup>. Dr. Márcio Barreto Rodrigues

FRANCISCO BELTRÃO

2012

## **FOLHA DE APROVAÇÃO**

### **DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM ALFACES ORGÂNICAS E CONVENCIONAIS PRODUZIDAS NO MUNICÍPIO DE FRANCISCO BELTRÃO – PR.**

Por

**Magali Biondo**  
**Sandra Cristina de Sousa**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos, no Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

#### **BANCA AVALIADORA**

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Thalita Grando Rauen  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

---

Prof<sup>ª</sup> Dra. Ticiane Sauer Pokrywiecki  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Alessandra Machado-Lunkes  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR  
(Orientadora)

---

Prof<sup>º</sup>. Dr. Luciano Lucchetta  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR  
(Coordenador do curso)

A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso.

Francisco Beltrão, outubro de 2012.

Dedicamos este trabalho mutuamente: A glória da amizade não é a mão estendida, nem o sorriso carinhoso, nem mesmo a delícia da companhia. É a inspiração espiritual que vem quando você descobre que alguém acredita e confia em você.

## AGRADECIMENTOS

A ti Senhor, porque és o único merecedor de toda honra e glória, obrigada por sua misericórdia e proteção nos momentos difíceis.

Aos nossos pais, irmãos e demais familiares que sempre estiveram presentes em cada passo desta jornada, ofertando-nos compreensão, força, amor e palavras de carinho e consolo nos momentos de ausência.

À orientadora Prof<sup>ª</sup>. Dra. Alessandra Machado pelo carinho, atenção e esforços envidados no desenvolvimento deste trabalho.

Ao co-orientador Prof<sup>º</sup>. Dr. Marcio Barreto Rodrigues, UTFPR-PB pelo apoio durante a realização inicial das análises.

À Eliane Hooper que gentilmente abriu as portas do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) para a realização das nossas análises, fruto da finalização deste trabalho.

À Professora Andréa Badaró pela sensibilidade e orientação que tornou o presente trabalho exequível. Após o leite ter sido derramado, você não permitiu que a vaca fosse pro brejo.

À EMATER-DF pelo incentivo e investimento profissional. Ao orientador de graduação pela EMATER-DF Marcelo Mencarini e em especial a amiga Eusângela pelas orientações técnicas e o apoio incondicional nos momentos de ausência.

À toda equipe da UTFPR-FB, nossos mestres, servidores e colaboradores por terem compartilhado conosco seus conhecimentos e experiências.

À equipe do Centro de Treinamento da EMATER – DF pelo apoio e dedicação ao longo da realização deste trabalho, a vocês nosso muito obrigado.

Aos nossos colegas e amigos, coadjuvantes preciosos nos momentos de aflição: obrigada pelas palavras de incentivo, pelos elogios, pelo carinho, por compartilhar intimidades. De todos levaremos muitas saudades.

E a todos que de alguma forma colaboraram com a realização de mais esta etapa, o nosso muito obrigado.

“Nem a sociedade, nem o homem, nem nenhuma outra coisa deve ultrapassar os limites estabelecidos pela natureza”.

Hipócrates

## RESUMO

BIONDO, Magali; SOUSA, Sandra Cristina. **Determinação de agrotóxicos em alfaces orgânicas e convencionais produzidas no município de Francisco Beltrão – PR.** 2012. 54f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Tecnologia em Alimentos) Curso de Tecnologia em Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Francisco Beltrão, 2012.

A cadeia produtiva das hortaliças se destaca como um dos principais sistemas de produção da agricultura sob plantio convencional. O atendimento à demanda do consumo da população intensifica a sua produção e a caracteriza como um sistema de grande utilização de produtos químicos, haja vista a sazonalidade de produção e as condições climáticas. Com o aumento da preocupação da sociedade diante das questões ambientais e em busca de uma alimentação mais saudável, a produção orgânica tem se destacado como um sistema produtivo alternativo que possibilita o equilíbrio entre o homem e o meio ambiente. O consumo de hortaliças folhosas e em especial a alface (*Latuca sativa* L.) têm se destacado pela suas qualidades nutricionais e a praticidade no preparo e consumo. Entretanto, o consumidor não distingue nas gôndolas dos supermercados quais as folhosas produzidas no sistema orgânico e convencional de cultivo, a não ser pela presença do selo de certificação de produção a que estão sujeitos os produtos de cultivo orgânico. Partindo dessas premissas, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a presença de agrotóxicos em alfaces orgânicas e convencionais produzidas e comercializadas no município de Francisco Beltrão – PR. Foram avaliadas três amostras de alface, as quais eram compostas por alface orgânica com certificação, alface orgânica sem certificação e alface convencional, por cromatografia gasosa com detector por captura de elétrons. As amostras foram preparadas nos laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná e encaminhadas para o Instituto Mineiro de Agropecuária para realização das análises cromatográficas. As amostras de alfaces orgânica certificada, orgânica não certificada e convencional avaliadas não apresentaram contaminação pelos pesticidas estudados, azoxistrobina, beta-ciflutrina, difenoconazol e iprodiona.

**Palavras-chave:** *Latuca sativa* L. Agrotóxicos. GC/EM. GC/ECD.

## ABSTRACT

BIONDO, Magali; SOUSA, Sandra Cristina. **Determination of pesticides in lettuce from organic and conventional production system in city of Francisco Beltrão – PR.** 2012. 54f. Monography (School of Food Technology) Food technology course. Federal University of Technology – Paraná. Francisco Beltrão, 2012.

The productive chain of greenery stands out as one of the main production systems of agriculture under conventional tillage. Answering the demand of consumption of the population intensifies its production and is characterized as a great use of chemicals, given the seasonality of production and climatic conditions. With the increased concern of society on environmental issues and in search of healthier eating, organic production has distinguished itself as an alternative production system that enables a balance between man and the environment. The consumption of vegetables broadleaves and in particular the lettuce (*Latuca sativa* L.) has distinguished itself by its nutritional qualities and practicality in preparation and consumption. However the consumer does not distinguish in supermarket gondolas which hardwood dusts produced in organic and conventional cropping system, except for the presence of production certification seal to which they are subject the products of organic cultivation. From these premises, this work to evaluate the presence of pesticides in conventional and organic lettuce produced and marketed in the municipality of Francisco Beltrão - PR. Were evaluated three samples of lettuce, which were composed of organic lettuce, certified organic lettuce and conventional lettuce without certification, coupled by gas chromatography with Eletron Capture Detector. The samples were prepared in the laboratories of the Federal University of Technology - Paraná and forwarded to the Instituto Mineiro de Agropecuária chromatographic analyses conducted. Samples of certified organic lettuce, non-certified organic and conventional evaluated did not show contamination by fungicides studied, azoxystrobin, beta-cyfluthrin, iprodione and difenoconazole.

**Keywords:** *Latuca sativa* L. Agrochemicals. GC/EM. GC/ECD.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 – Fórmula estrutural do princípio ativo azoxistrobina.....</b>	<b>33</b>
<b>Figura 2 – Cromatograma de corrente total de íons obtida para um padrão de Azoxistrobina a uma concentração de 0,01 mg/kg .....</b>	<b>33</b>
<b>Figura 3 – Espectrometria de massa para azoxistrobina.....</b>	<b>34</b>
<b>Figura 4 – Fórmula estrutural do princípio ativo beta-ciflutrina.....</b>	<b>34</b>
<b>Figura 5 – Cromatograma de corrente total de íons obtida para um padrão de Beta-ciflutrina a uma concentração de 0,01 mg/kg .....</b>	<b>35</b>
<b>Figura 6 - Espectrometria de massa para Beta-ciflutrina.....</b>	<b>35</b>
<b>Figura 7– Fórmula estrutural do princípio ativo Difenconazol.....</b>	<b>37</b>
<b>Figura 8 – Cromatograma de corrente total de íons obtida para um padrão de Difenconazol a uma concentração de 0,01 mg/kg .....</b>	<b>37</b>
<b>Figura 9 – Espectrometria de massa para Difenconazol.....</b>	<b>38</b>
<b>Figura 10 – Fórmula estrutural do princípio ativo Iprodiona.....</b>	<b>38</b>
<b>Figura 11 - Cromatograma de corrente total de íons obtida para um padrão de Iprodiona a uma concentração de 0,01 mg/kg .....</b>	<b>39</b>
<b>Figura 12 – Cromatograma de corrente total de íons obtida para um padrão de Azoxistrobina injetado em GC-ECD pelo Instituto Mineiro de Agropecuária....</b>	<b>40</b>
<b>Figura 13 – Cromatograma de corrente total de íons obtida para um padrão de Beta ciflutrina injetado em GC-ECD pelo Instituto Mineiro de Agropecuária.....</b>	<b>41</b>
<b>Figura 14 – Cromatograma de corrente total de íons obtida para um padrão de Difenconazol injetado em GC-ECD pelo Instituto Mineiro de Agropecuária.....</b>	<b>41</b>
<b>Figura 15 – Cromatograma de corrente total de íons obtida para um padrão de Iprodiona injetado em GC-ECD pelo Instituto Mineiro de Agropecuária.....</b>	<b>42</b>
<b>Figura 16 – Cromatograma de corrente total de íons da amostra de alface orgânica certificada injetada em GC-ECD pelo Instituto Mineiro de Agropecuária.....</b>	<b>43</b>
<b>Figura 17 – Cromatograma de corrente total de íons da amostra de alface orgânica sem certificação injetada em GC-ECD pelo Instituto Mineiro de Agropecuária .....</b>	<b>43</b>
<b>Figura 18 – Cromatograma de corrente total de íons da amostra de alface convencional injetada em GC-ECD pelo Instituto Mineiro de Agropecuária.....</b>	<b>44</b>

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1 – Princípios ativos recomendados pela EMATER-PR no ano de 1997.....</b>	<b>23</b>
<b>Quadro 2 – Agrotóxicos mais utilizados na cultura de alface no comércio local de Francisco Beltrão – PR.....</b>	<b>31</b>
<b>Quadro 3 – Agrotóxicos pesquisados nas culturas de alface .....</b>	<b>32</b>
<b>Quadro 4 – Resultados dos picos do padrão azoxistrobina.....</b>	<b>40</b>
<b>Quadro 5 – Resultados dos picos do padrão bet-ciflutrina.....</b>	<b>41</b>
<b>Quadro 6 – Resultados dos picos do padrão difenoconazol.....</b>	<b>42</b>
<b>Quadro 7 – Resultados dos picos do padrão iprodiona.....</b>	<b>42</b>
<b>Quadro 8 – Resultados dos picos da amostra alface orgânica certificada.....</b>	<b>43</b>
<b>Quadro 9 – Resultados dos picos da amostra orgânica sem certificação.....</b>	<b>43</b>
<b>Quadro 10 – Resultados dos picos da amostra de alface convencional .....</b>	<b>44</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 – Fragmentações da azoxistrobina.....</b>	<b>34</b>
<b>Tabela 2 – Possíveis fragmentações da beta-ciflutrina .....</b>	<b>36</b>
<b>Tabela 3 – Fragmentações do difenoconazol.....</b>	<b>38</b>

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASSESOAR	Associação de Estudos, Orientação e Assistência Rural
ECD	Deteção por captura de elétrons (Eletron Capture Detector)
EMATER	Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural
GC	Cromatografia gasosa (Gas Chromatography)
IMA	Instituto Mineiro de Agropecuária
LARA	Laboratório de Análise de Resíduos e Agrotóxicos
LMR	Limite Máximo de Resíduos
MS	Espectrometria de Massas (Mass Spectrometry)
PARA	Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
SEAB	Secretaria de Agricultura e Abastecimento

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
2.1	Objetivo geral.....	16
2.2	Objetivos específicos .....	16
<b>3</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>17</b>
3.1	Alface.....	17
3.2	Produtos orgânicos.....	18
3.3	Agrotóxicos.....	21
3.4	Cromatografia gasosa (GC).....	23
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>27</b>
4.1	Material .....	27
4.2	Métodos.....	27
4.2.1	Métodos Analíticos e Cromatográficos .....	27
4.2.2	Preparo dos padrões de pesticidas .....	28
4.2.2.1	Solução-padrão estoque .....	29
4.2.2.2	Soluções-padrão intermediárias .....	29
4.2.2.3	Soluções-padrão de trabalho.....	29
4.2.3	Métodos Preparativos.....	29
4.2.3.1	Extração sólido-líquido dos Agrotóxicos .....	29
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>31</b>
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>47</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>48</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A alface (*Latuca sativa L.*) está entre as hortaliças folhosas de maior consumo diário em todo o mundo, devido a sua importância alimentar como fonte de vitaminas e sais minerais. Seu consumo tem aumentado devido à mudança de hábitos alimentares dos consumidores que buscam uma alimentação mais saudável. Além de se destacar em consumo, é uma das principais folhosas em produção e comercialização (PORTO, et al. 1999; OHSE, et al. 2001; LOPES, et al. 2005; OLIVEIRA, et al. 2010).

Com o objetivo de aumentar a produção de alimentos e evitar as perdas no rendimento das colheitas, devido à presença de pragas nas culturas, é intenso o uso de agrotóxicos (POPIA et al. 2007; STOPPELI, MAGALHÃES, 2005). Diante disso o aumento do uso de produtos químicos na agricultura tem gerado uma preocupação crescente quanto aos riscos à saúde humana e ao meio ambiente. Esta preocupação decorre da ocorrência de doenças registradas em seres humanos e de alterações ambientais, que parecem ter como agentes etiológicos os agrotóxicos (KOTAKA, ZAMBRONE, 2001).

Vários são os compostos utilizados com o intuito de aumentar a produção de alimentos. Estima-se que mais de 2000 compostos diferentes, distribuídos em acaricidas, bactericidas, fungicidas, herbicidas, inseticidas, feromônios, nematicidas, regulador de crescimento, espalhante adesivo, estimulante, lesmicida, moluscida, formicida e outros. Para a cultura de alface existem 25 tipos de agrotóxicos liberados pela Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Paraná (SEAB – PR, 2011).

Com a criação do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), desde o ano de 2001, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) avalia os níveis de agrotóxicos presentes nos alimentos *in natura*, identifica a utilização de compostos não autorizados para a cultura nos 25 estados que fazem parte do Programa. As amostras recolhidas pelo PARA, são encaminhadas para a realização destas análises nos laboratórios credenciados para este fim (ANVISA, 2006; ANVISA, 2011).

Segundo a ANVISA (2011) os princípios ativos azoxistrobina, iprodiona, beta-ciflutrina e difenoconazol, estudados neste trabalho, são uns dos fungicidas utilizados nas culturas de alfaves convencionais, autorizados pela ANVISA, que através do PARA publica relatórios anualmente, informando os consumidores dos agrotóxicos encontrados ou não nas culturas pesquisadas. Estes fungicidas são usados para combater as principais doenças causadas por fungos em alfaves, os quais podem levar a destruição total da folha.

As principais doenças são a mancha de septoria que é causada pela *Septoria Lactucae* (SOUZA, KERR, SANTOS et al. 2003) a qual pode ser combatida pelos princípios ativos azoxistrobina e difenoconazol. Já o *Sclerotinia sclerotiorum* é um fungo que sobrevive no solo e causa a doença conhecida como mofo branco ou podridão de esclerotínia na cultura da alface (RODRIGUES, SCHWAN-ESTRADA, FIORI-TUTIDA, et al. 2007) podendo ser combatido com o princípio ativo iprodiona. Já a beta-ciflutrina é o princípio ativo que pode ser utilizada no combate da Lagarta rosca (*Agrotis ipsilon*), a qual vive no solo nas proximidades das plantas que atacam durante a noite, cortando as mesmas, próximo à superfície do solo (FERREIRA, BARRIGOSI, 2006).

Dentro os métodos empregados nas análises de agrotóxicos, os cromatográficos são os mais empregados, sendo a cromatografia gasosa (GC) a mais utilizada para identificação e quantificação de compostos (IAL, 2008). A cromatografia gasosa é uma ferramenta analítica utilizada para separar os compostos de uma mistura através da sua distribuição entre as fases estacionária e móvel e destaca-se por ser uma análise rápida que possibilita quantificar um grande número de agrotóxicos simultaneamente (CECCHI, 2003; COUTINHO, et al. 2005; PINHO, NEVES, QUEIROZ, et al. 2009).

A cromatografia gasosa quando acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) torna-se uma ferramenta poderosa de detecção, identificando os compostos por fracionamento das moléculas em várias partes e determinando diferentes massas molares (SKOOG, WEST, HALTER, et al. 2008, HARRIS, 2008). Os métodos baseados na detecção por captura de elétrons (GC-ECD) são os mais utilizados, pois apresentam como vantagem a elevada sensibilidade (AMARANTE JUNIOR, SANTOS, NUNES, et al. 2002). De fato, os avanços científicos e as novas tecnologias de análises instrumentais vêm permitindo avanços na avaliação da qualidade dos alimentos que chegam à mesa do consumidor (ANVISA, 2006).

A agricultura orgânica surgiu como alternativa de um sistema de produção sustentável, com o objetivo de favorecer a biodiversidade, diminuir os impactos negativos no meio ambiente de produção de alimentos e com o intuito de produzir alimentos mais saudáveis e livres de contaminantes (MEDAETS, 2003; LUNARDON, 2008).

Com o crescimento da consciência da preservação ecológica e a busca por uma alimentação cada vez mais saudável, houve um aumento do número de consumidores de produtos orgânicos (ORMOND, et al. 2002).

A crescente preocupação quanto à presença de resíduos químicos e a possibilidade de contaminação dos alimentos desperta o interesse da sociedade em produzir e consumir

alimentos orgânicos com vistas a garantir uma maior segurança alimentar para a geração presente e a futura.

Partindo dessas premissas, o presente trabalho visa avaliar a presença de agrotóxicos nas alfaces orgânicas em relação à mesma cultura obtida no cultivo convencional, produzidas e comercializadas no Município de Francisco Beltrão – PR utilizando a técnica de cromatografia gasosa com detector por captura de elétron.



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Determinar a presença de agrotóxicos em alfaces orgânicas e convencionais produzidas e comercializadas no município de Francisco Beltrão – PR.

### 2.2 Objetivos específicos

- ✓ Identificar produtores de alface nos sistemas de cultivo convencional e orgânico, através de pesquisa de campo.
- ✓ Identificar no comércio local os produtos utilizados no controle fitossanitário da cultura da alface.
- ✓ Identificar a presença dos agrotóxicos, Azoxistrobina, Iprodiona, Beta-Ciflutrina e Difenconazol, através da cromatografia gasosa.
- ✓ Quantificar os compostos na alface da produção orgânica com e sem certificação.
- ✓ Quantificar os compostos na alface produzida convencionalmente.
- ✓ Confrontar os resultados obtidos entre os diferentes sistemas de produção e os descritos na literatura.
- ✓ Avaliar se os níveis destes compostos estão de acordo com a legislação pertinente.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 Alface

A alface (*Latuca sativa L.*) destaca-se entre as hortaliças folhosas de maior importância comercial e de maior consumo em todo o mundo, devido a sua importância alimentar como fonte de vitaminas e sais minerais. No Brasil está entre as principais hortaliças, no que se refere à produção, à comercialização e ao valor nutricional, sendo a região sul e sudeste as maiores consumidoras. É consumida com maior frequência em saladas cruas e em sanduíches (PORTO, et al. 1999; LOPES, et al. 2005; OLIVEIRA, et al. 2010).

O consumo de hortaliças tem aumentado não só pelo crescimento da população, mas também pela tendência de mudança de hábito alimentar do consumidor (OHSE, et al. 2001).

Segundo Hamerschmidt (2009) as hortaliças possuem importantes vitaminas e sais minerais que regulam e auxiliam o bom funcionamento do organismo. Muitas doenças podem ser evitadas, como a cegueira noturna, xerofthalmia, anemia, resfriados e problemas de pele. O consumo de hortaliças estimula o crescimento e o apetite, fortalece o tecido nervoso, ajudam na cicatrização dos ferimentos e queimaduras, fortalecem ossos e dentes e ajudam na coagulação do sangue.

A grande suscetibilidade da alface às doenças torna-se um fator de limitação na produção dessa hortaliça. Por tratar-se de uma cultura de inverno, o seu cultivo em outras épocas do ano, pode favorecer, em algumas regiões, a incidência de doenças e desequilíbrios nutricionais, principalmente, se as condições climáticas se caracterizarem por elevados índices pluviométricos e altas temperaturas (YURI, RESENDE, MOTA et al., 2004).

Segundo Filgueira (2003) são conhecidos aproximadamente 75 diferentes tipos de doenças, devendo ser evitado, o quanto possível, o uso de produtos tóxicos no controle fitossanitário, pois estes podem deixar resíduos ao consumidor.

Conforme Biscaro, Oliveira [s.d.] as principais doenças que atacam a alface são a septoriose, cercosporiose, tombamento, podridão de Sclerotinia, podridão da saia, míldio, mancha bacteriana e vírus do mosaico.

Para Souza, Kerr, Santos, et al. (2003) a septoriose é uma das doenças mais importantes que afetam a cultura da alface, sendo causada pelo fungo *Septoria lactucae* Passerini, muito comum em regiões de clima ameno e em épocas chuvosas.

As condições favoráveis para o desenvolvimento da doença são alta umidade e temperatura na faixa de 10 a 28 °C. O fungo ataca principalmente as folhas, mas pode afetar também a haste e os órgãos florais, em campos de produção de sementes. Os sintomas nas folhas são manchas com contornos irregulares (SOUZA, KERR, SANTOS, et al, 2003, p. 555).

Segundo Yuri, Resende, Mota et al. (2004) a dificuldade em produzir a alface vem aumentando, principalmente pela infestação das áreas de produção pelo fungo causador do míldio (*Bremia lactucae*). Para Yuri, Resende, Mota et al. (2004) apud Davis et al., (1997) p. 323, “esta é a principal doença da alface que, em regiões com temperaturas amenas, pode provocar destruição total. O sintoma inicia-se com a formação de pequenas manchas angulares, de coloração verde-clara a amarelada, na face superior da folha”.

A doença do mofo branco ou podridão de esclerotínia é causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, um patógeno que sobrevive no solo e pode atacar a planta em qualquer estágio de desenvolvimento, principalmente próxima à colheita, tornando a doença de difícil controle, uma vez que o fungo é muito agressivo e produzem estruturas de resistência, os escleródios (RODRIGUES, SCHWAN-ESTRADA, FIORI-TUTIDA, et al. 2007)

### 3.2 Produtos orgânicos

A crescente demanda por alimentos orgânicos advém da conscientização dos consumidores dos benefícios que estes trazem a saúde, e a preocupação com o meio ambiente (ORMOND, et al. 2002; ARBOS, et al 2010). Os danos promovidos ao meio ambiente pela produção agrícola convencional têm levado a um aumento na demanda por produtos produzidos em sistemas que sejam ambientalmente mais adequados (MEDAETS, 2003).

Conforme Ormond et al. (2002, p. 05),

A agricultura orgânica é um conjunto de processos de produção que parte do pressuposto básico de que a fertilidade é função direta da matéria orgânica no solo. As ações dos microrganismos presentes nos compostos biodegradáveis existentes no solo possibilitam o suprimento de elementos minerais e químicos necessários ao desenvolvimento dos vegetais cultivados.

O produto orgânico favorece a diversidade biológica, mantém a qualidade da água, dos solos e dos próprios produtos, resultando em uma melhoria na qualidade de vida do agricultor e sua família, e dos consumidores (MEDAETS, 2003). Devido à crescente demanda

mundial por alimentos saudáveis, a agricultura orgânica é uma alternativa de trabalho e renda para os pequenos agricultores (CAMPANHOLA, VALARINI, 2001).

Existe certa dificuldade de analisar a produção de orgânicos, dada a heterogeneidade de sub setores agropecuários envolvidos, que vai desde a pecuária extensiva ao cultivo de hortaliças. A produção de hortaliças e legumes é parte importante da produção sob manejo orgânico, porém ocupam áreas relativamente pequenas em comparação com o volume obtido (ORMOND, et al. 2002).

O produto orgânico não apresenta diferenças aparentes, como forma e cor, ao produto convencional. O que leva o consumidor a preferir os produtos orgânicos é a informação sobre suas vantagens nutricionais, a ausência de toxicidade e a confiança do que foi produzido conforme os preceitos que preservam esses fatores (ORMOND, et al. 2002).

Quanto à embalagem os produtos orgânicos, na sua grande maioria, são comercializados em bandejas de isopor, sacos e filmes plásticos e não a granel como a maioria dos convencionais. O objetivo da embalagem além de diferenciar o produto orgânico, é diminuir a exposição do produto à contaminação pelo manuseio e/ou contato com outros produtos não orgânicos (ORMOND, et al. 2002).

A produção de orgânicos no Brasil, por ser ainda pequena, eleva os preços destes frente aos produtos convencionais. O diferencial no preço de mercado dos produtos orgânicos em relação aos produtos convencionais tenderá a desaparecer à medida que a quantidade ofertada de produtos orgânicos aumente (CAMPANHOLA, VALARINI, 2001).

Segundo Hamerschmidt, Silva, Lizarelli (2005) a agricultura orgânica é praticada por cerca de 100 países do mundo. Conforme Lunardon (2008) o mercado de orgânicos no âmbito mundial movimentava cerca de 40 milhões de dólares ao ano. Os países que se destacam em produção e comercialização são os Estados Unidos, a Alemanha, o Japão e o Reino Unido.

No Brasil, o setor tem crescido a uma taxa de 20% ao ano. No ano de 2006 o país possuiu em torno de 20 mil produtores e cerca de 6,5 milhões de hectares de área cultivada. O Estado de São Paulo é o principal produtor de frutas, hortaliças e cana de açúcar. Já o Estado do Paraná por apresentar agricultura orgânica desenvolvida por pequenos produtores e principalmente, por ser familiar, se destaca em números de produtores, com cerca de 5.300 agricultores orgânicos (LUNARDON, 2008).

No Estado do Paraná, a produção orgânica atingiu 66.256 toneladas na safra de 2003/04, gerando renda bruta de cerca de 25 milhões de dólares, já na Safra 2004/05 a renda bruta gerada foi de 42,5 milhões de dólares. Na última safra registrada (2006/07) o Paraná

produziu 107.230 toneladas de produtos orgânicos. A área total explorada no Estado está próxima de 12.000 hectares e as principais cidades e municípios produtores são: Curitiba, Paranaguá, União da Vitória, Guarapuava, Francisco Beltrão, Cascavel, Toledo, Londrina, Ivaiporã, Maringá, Apucarana Campo Mourão, Santo Antonio da Palatina e Cornélio Procopio. Destaca-se a produção de hortaliças orgânicas em torno das grandes cidades como Curitiba e Londrina (LUNARDON, 2008).

A produção de hortaliças no Estado do Paraná atingiu uma área de 1.231 (ha), 14.633 toneladas de produção e 1208 produtores envolvidos na safra de 2004/05 (HAMERSCHIMIDT, SILVA, LIZARELLI, 2005; POPIA et al., 2007; LUNARDON, 2008).

Na atualidade, o mercado de orgânicos vem crescendo com vigor. Porém, há muitos casos de pessoas que vendem seus produtos convencionais como orgânicos. Para fornecer a garantia ao consumidor de que o produto vendido é realmente orgânico foi desenvolvido o processo de certificação. A certificação está amparada pela Instrução Normativa n. 07 de 1999 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e pela lei 10.831 de 23 de dezembro de 2003 que regulam se determinada propriedade está dentro das normas de produção e comercialização (POPIA et al., 2007).

Conforme a Lei 10.831/03,

O sistema orgânico de produção agropecuária é todo aquele em que são adotadas técnicas específicas, mediante a otimização do uso dos recursos naturais e sócios econômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, tendo por objetivo a sustentabilidade ecológica e econômica, a maximização dos benefícios sociais, à minimização da dependência de energia não renovável, empregando, sempre que possível, métodos culturais, biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de materiais sintéticos, a eliminação do uso de organismos geneticamente modificados e radiações ionizantes, em qualquer fase do processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização, e a proteção do meio ambiente (BRASIL, 2003).

De acordo com Campanhola, Valarini (2001, p. 77) “a certificação de produtos orgânicos visa conquistar maior credibilidade dos consumidores e conferir maior transparência às práticas e aos princípios utilizados na produção orgânica”. A certificação pode ser conferida a associações e cooperativas de produtos, empresas de insumos agrícolas, distribuidoras e processadoras de produtos agrícolas. Segundo Ormond et al. (2002) foi a partir da década de 80, que se organizaram muitas cooperativas de produção e consumo de produtos naturais.

Um das instituições certificadoras é a Associação de Estudos, Orientação e Assistência Rural (ASSESOAR), que foi criada em outubro de 1966 e está sediada no município de Francisco Beltrão, no estado do Paraná.

Seu objetivo central é catalisar ações de desenvolvimento regional na perspectiva da agricultura familiar, utilizando uma estratégia de parceria institucional. A ASSESOAR solicitou seu credenciamento no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) como entidade certificadora nacional (CAMPANHOLA, VALARINI, 2001, p. 80).

Conforme Hamerschmidt, Silva, Lizarelli (2005) a certificação participativa é um sistema solidário de geração de credibilidade. O selo de certificação expressa que o produto foi gerado com respeito ao meio ambiente e que é fruto de relações sociais saudáveis. A aplicação dos princípios e a verificação das normas de produção ecológica são realizadas com a participação efetiva dos agricultores e consumidores envolvidos no processo garantindo aperfeiçoamento constante.

A certificação participativa se difere de outras certificações, pois se trata de uma rede que tem por princípio a atuação solidária e, como fim, o fortalecimento da agricultura familiar. O selo indica: que o produto está sendo acompanhado por técnico especializado na área, com visitas rotineiras para as inspeções técnicas no local de produção; que é realizada análise de resíduos para verificar os níveis de contaminantes; e por fim que a propriedade aprovada se enquadra nas diretrizes para os padrões de qualidade. O selo Ecovida é obtido após uma série de procedimentos desenvolvidos dentro de cada núcleo regional, ocorrendo à filiação à rede (HAMERSCHIMIDT, SILVA, LIZARELLI, 2005).

Em 2001 foi criado o PARA (Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos) pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, que tem o objetivo de avaliar continuamente os níveis de agrotóxicos nos alimentos *in natura* que chegam à mesa dos consumidores, fortalecendo a capacidade do Governo em atender a segurança alimentar, evitando assim, possíveis agravos à saúde da população (ANVISA, 2006).

### **3.3 Agrotóxicos**

Conforme Popia et al. (2007) a agricultura é a que ocupa as maiores áreas terrestres e uma das que mais provocam modificações no meio ambiente. Os agricultores sempre provocaram mudanças no ambiente, com o objetivo principal de aumentar a obtenção de alimentos. As transformações que ocorreram foram principalmente nas paisagens, como

cobertura vegetal, relevo, rios e também nos processos ecológicos, como a extinção de espécies.

A agricultura brasileira tem se destacado em números de produção, área plantada, exportação e na quantidade de tecnologias empregadas no campo. Tal crescimento leva também a utilização de grandes quantidades de agrotóxicos na produção agrícola (ANVISA, 2006).

Os agrotóxicos são produtos químicos ou biológicos utilizados para inibir ou matar o organismo nocivo, o qual deve ser efetivo no controle desde que seja inócuo ao homem e ao meio ambiente (EMATER, 1997).

Conforme a Portaria número 03, de 16 de janeiro de 1992, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária,

O resíduo de agrotóxico consiste em uma substância ou mistura remanescente ou existente em alimentos ou no meio ambiente, decorrente do uso ou da presença de agrotóxicos e afins, inclusive quaisquer derivados específicos, tais como: produtos de conversão e de degradação, metabólitos, produtos de reação e impurezas, consideradas tóxicas e ambientalmente importantes (BRASIL, 1992).

A utilização de agrotóxicos surgiu com o objetivo de proteger a agricultura, evitando perdas no rendimento das colheitas, devido à presença de pragas nas culturas. Foi durante a segunda guerra mundial que ocorreu a produção e expansão de diversos compostos químicos, com propriedades antibióticas e inseticidas (STOPPELI, MAGALHÃES, 2005).

Segundo Zaratti e Abakerli (1999), o uso intensivo de agrotóxicos tem causado preocupações quanto à provável contaminação do produto final. O desconhecimento dos agrotóxicos empregados e a incerteza de que sua utilização tenha sido correta resultam na necessidade de analisar grandes números de princípios ativos.

Conforme a Nota técnica de Esclarecimento sobre o Risco de Consumo de Frutas e Hortaliças Cultivadas com Agrotóxicos o Limite Máximo de Resíduos (LMR),

É a quantidade máxima de resíduo de agrotóxico ou afim, oficialmente aceita no alimento, em decorrência da aplicação adequada numa fase específica, desde sua produção até o consumo, expressa em miligramas do agrotóxico, afim ou seus resíduos por quilo do alimento analisado (mg/Kg) (ANVISA, 2009, p. 4).

Apesar de a produção agrícola convencional ter trazido resultados positivos importantes para a sociedade em âmbito geral, tem causado impactos negativos ao meio ambiente, à saúde dos produtores que aplicam os agrotóxicos e à saúde dos consumidores que ingerem os resíduos dos mesmos (MEDAETS, 2003).

Atualmente a agricultura convencional está construída a partir de seis práticas básicas, que são: cultivo intensivo do solo; monocultura; irrigação; aplicação de fertilizantes sintéticos; controle químico de pragas e doenças e manipulação genética de plantas (POPIA, et al., 2007).

Conforme a EMATER-PR (1997) os princípios ativos recomendados nas culturas de alfaces convencionais estão descritas no Quadro 1.

<b>PRINCÍPIO ATIVO</b>	<b>CLASSE</b>	<b>GRUPO QUÍMICO</b>
Fluazifop-p-butyl	Herbicida	Ácido ariloxifenoxipropiônico
Glufosinato de amônia	Herbicida e regulador de crescimento	Homoalanina substituída
Pirimicarb	Inseticida	Dimetilcarbamato
Fenitrothion	Inseticida e formicida	Organofosforado
Iprodione	Fungicida	Dicarboximida
Proximidone	Fungicida	Dicarboximida

**Quadro 1 – Princípios ativos recomendados pela EMATER-PR no ano de 1997**

Fonte: adaptado de EMATER – PR (1997)

### 3.4 Cromatografia gasosa (GC)

De acordo com Cecchi (2003) a cromatografia é uma técnica analítica utilizada para a separação dos componentes de uma amostra, os quais são distribuídos entre duas fases, a fase estacionária e a fase móvel. Sendo a cromatografia gasosa uma técnica de separação em que a fase móvel é um gás e a fase estacionária pode ser um líquido (Cromatografia líquida - gasosa – CLG) ou sólido (cromatografia sólida - gasosa – CSG). A cromatografia gás - sólido encontra amplo uso em todas as áreas da ciência, seu nome é geralmente abreviado para cromatografia gasosa (GC) (SKOOG, WEST, HALTER, et al. 2008).

A fase móvel é sempre um gás, o qual deve ser inerte, pois terá a função apenas de transportar os componentes da amostra através da coluna, sem nenhum tipo de afinidade entre eles (CECCHI, 2003). O analito gasoso é transportado através da coluna por uma fase gasosa móvel, conhecido como gás de arraste (HARRIS, 2008).

Os métodos cromatográficos são os mais empregados nas análises de agrotóxicos, sendo a cromatografia gasosa (GC) a mais utilizada para identificação e quantificação de compostos voláteis. A cromatografia gasosa se destaca por determinar agrotóxicos em quantidades inferiores aos Limites Máximos de Resíduos (LMR), estabelecidos pela Agência



Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), além de ser uma análise rápida que possibilita quantificar um grande número de agrotóxicos simultaneamente (COUTINHO, TANIMOTO, GALLI, et al. 2005; PINHO, NEVES, QUEIROZ et al. 2009).

Conforme Chiaradia, Collins e Jardim (2008) a cromatografia pode ser combinada a diferentes sistemas de detecção. O acoplamento de um cromatógrafo com o espectrômetro de massas combina as vantagens da cromatografia como a alta seletividade e eficiência de separação, com as vantagens da espectrometria de massas. As quais são a obtenção de informação estrutural, massa molar e aumento adicional da seletividade.

O cromatógrafo acoplado com espectrômetro de massas (GC-MS) identifica os compostos separados no GC por fracionamento das moléculas em várias partes e com várias massas, fornecendo um espectro de massas que vem a ser uma impressão digital do composto (CECCHI, 2003). O espectro de massas é extremamente sensível e propicia informações tanto de natureza qualitativa como quantitativa (HARRIS, 2008).

A combinação da GC com a MS é relativamente simples, uma vez que as características de funcionamento do GC 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 (ARDREY, 2003 apud CHIARADIA, COLLINS E JARDIN 2008).

Quando são utilizadas colunas capilares em GC é possível conectar a saída da coluna diretamente à fonte do espectrômetro, uma vez que, em condições normais de operação, o sistema de bombeamento do espectrômetro de massas é capaz de captar todo o eluente da coluna. Quando são utilizadas colunas recheadas, a vazão do eluente deve ser reduzida antes da sua entrada na fonte de ionização do espectrômetro. Para isto, podem ser utilizados divisores de fluxo, mas seu desempenho não é tão satisfatório, uma vez que podem gerar perdas na detectabilidade (KITSON, LARSEN, MCEWEN, 1996 *apud* CHIARADIA, COLLINS E JARDIN, 2008, p. 623, 624).

A GC-MS destaca-se por permitir determinar agrotóxicos e/ou seus produtos de degradação em quantidades inferiores aos limites máximos de resíduos (LMR), estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (PINHO, NEVES, QUEIROZ, et al., 2009).

Conforme Galli, Garbelline, Coutinho, et al. (2006) o espectrômetro de massas acoplado ao GC possui a habilidade de quantificar e confirmar a identidade dos agrotóxicos presentes em amostras complexas em pequenas quantidades.

O detector seletivo de massas (MS) é extremamente importante na análise de resíduos de praguicidas devido a seu baixo limite de detecção podendo ser utilizado para a identificação precisa de um composto desconhecido com base na sua massa molecular, fórmula empírica e fragmentação do analito (MUSZKAT et al 1986, apud SANTOS, AREAS, REYES, 2007 p. 345).

Os principais métodos de detecção em cromatógrafo a gás são classificados de acordo com as propriedades físicas que configuram o mecanismo de detecção. Dentre as técnicas de detecção, destaca-se a cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons (GC-ECD), que é um detector seletivo, pois detecta qualquer substância que apresente grupo atômico capaz de captar elétrons (PUCRS, 2012).

É considerado um dos detectores mais populares, devido a sua alta sensibilidade e utilidade para análise de uma grande quantidade de compostos com atividade tóxica e biológica. É muito utilizado para análise de traços de agrotóxicos, e tem como vantagem à de GC-MS a detectabilidade para compostos que possuam na sua estrutura molecular cloro, nitrogênio e enxofre (GONÇALVES, GOMES, ARANTES, et al. 2009; SILVERIO, GONÇALVES, RODRIGUES, et al. 2010; PUCRS, 2012).

Segundo Prestes, Friggi, Adaime et al (2009) p. 1620,

A determinação de resíduos de pesticidas desempenha um papel importante para a estimativa da exposição humana e do meio ambiente aos compostos. Os laboratórios vêm desenvolvendo métodos para a determinação de resíduos de pesticidas, sendo os produtos agrícolas como frutas, vegetais e cereais as matrizes mais analisadas, apresentando frequentemente resíduos de pesticidas de diversas classes. 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.

O método analítico utilizado para identificação de agrotóxicos pelo PARA é o de multirresíduos, que segundo ANVISA (2011) trata-se da mais reconhecida e utilizada tecnologia para monitoramento de resíduos de agrotóxicos em alimentos. São vários os países que adotam e atualmente vários trabalhos e pesquisas na área têm sido relatados (JARDIM, ANDRADE, QUEIROZ, 2009; PRESTES, FRIGGI, ADAIME et al., 2009).

Existem muitos métodos descritos na literatura que permitem a determinação de agrotóxicos em alimentos em níveis muito baixos de concentração (LEHOTAY, 2007; CHIARADIA, COLLINS, JARDIM, 2008; CARDOSO, GOUVEA, NOBREGA et al., 2010). A cromatografia gasosa (GC) tem sido a técnica selecionada para a análise desses compostos em frutas e verduras (ARREBOLA, MARTÍNEZ-VIDAL, MATEU-SANCHES et al., 2003;

ARREBOLA, MARTÍNEZ VIDAL, GONZALEZ-RODRIGUEZ et al., 2003; BUTLER, STEINIGER, PHILLIPS, 2008; CHIARADIA, COLLINS, JARDIM, 2008).

Neste contexto, Abad (2006) utilizou análise por GC-MS em amostras de cenouras para identificação de compostos do grupo químico dos piretróides e dicarboximida. Já Maciel (2005) validou a metodologia de multirresíduos por GC-MS para identificação do princípio ativo difenoconazol em manga.

Especificamente para a cultura de alface, Costa (2011) otimizou e validou a metodologia para a determinação em amostras de resíduos de agrotóxicos em alfaces, utilizando a técnica de extração sólido líquido com partição a baixa temperatura (ESL-PBT) e análise por cromatografia gasosa com detector por captura de elétron (GC-ECD).

Conforme trabalho de Oviedo, Toledo, Vicente (2003) que analisaram resíduos de piretróides em alface determinados por GC-ECD com confirmação da identidade dos picos por GC-MS, pode-se afirmar que as hortaliças analisadas do restaurante da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), atenderam à legislação brasileira e às boas práticas agrícolas quanto aos resíduos de agrotóxicos piretróides. Contrariamente, os níveis residuais de piretróides em alface coletadas na Central de Abastecimento de Campinas (CEASA) evidenciaram o uso inadequado destes inseticidas.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

Foram avaliadas três amostras de alfaces, orgânica certificada, orgânica sem certificação e alface convencional, produzidas e comercializadas no município de Francisco Beltrão. Para a pesquisa foram escolhidos os princípios ativos azoxistrobina, iprodiona, beta-ciflutrina e difenoconazol, devido a possível detecção pela técnica empregada de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas. Os princípios ativos foram comprados com recursos da EMATER-DF. O preparo e extração das amostras foram realizados nos Laboratórios da UTFPR Câmpus Francisco Beltrão. O preparo das soluções padrões dos pesticidas foi realizado na Central de Análises da Universidade Tecnológica Federal do Paraná Câmpus de Pato Branco. Já a análise cromatográfica das amostras foi realizada de forma voluntária pelo Laboratório de Análise de Resíduos e Agrotóxicos (LARA) do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA).

### **4.1 Material**

Os reagentes utilizados para a realização das análises iniciais (preparo das amostras, princípios ativos e preparo da solução padrão) eram de grau analítico e foram adquiridos no comércio nacional e internacional. A acetona da marca Impex, a acetonitrila grau cromatográfico, o diclorometano e o hexano procedentes da marca Vetec, e os princípios ativos, azoxistrobina, difenoconazol, iprodiona, beta-Ciflutrina, todos da Chem service.

Os equipamentos utilizados foram: balança analítica Eletronic Balance FA2104N, centrífuga para vegetais da marca Consul, modelo C2A05BBANA, ultra turrax da Pavitest, cromatógrafo a gás GC/MS, marca Varian, modelo 431GC-210MS, da Central de Análises da UTFPR Câmpus Pato Branco, e o cromatógrafo a gás marca Varian, modelo CP3800 do Instituto Mineiro de Agropecuária.

### **4.2 Métodos**

#### **4.2.1 Métodos Analíticos e Cromatográficos**

##### **Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (GC-MS)**

A análise dos compostos pesticidas, na Central de Análises UTFPR Câmpus Pato Branco, foi realizada em cromatógrafo a gás marca VARIAN modelo 431GC. A temperatura do injetor e detector durante no método foi de 250° C. Coluna cromatográfica capilar de sílica fundida CP WAX 52CB com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de filme, com as seguintes condições cromatográficas: Temperatura rampa: 150-225°C (25°C/min); 225-290°C (10°C/min). Fluxo de gás: 1mL/min. O tempo total de corrida: 45 minutos, integração: área normalizada de picos. Para a espectrometria de massas, utilizou espectrômetro da marca Varian modelo 210ms ion trap.

### **Cromatografia Gasosa com Detector de Captura de Elétrons (GC-ECD)**

Para a realização das análises dos agrotóxicos nas amostras no Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), foi utilizado o cromatógrafo em fase gasosa da marca Varian, modelo CP3800, equipado com: amostrador automático modelo CP8400, detector de captura de elétrons modelo 02-001972-01 com fonte de Ni63. Coluna cromatográfica capilar de sílica fundida CP-Sil 19CB (14% cianopropilfenila e 86% dimetilpolisiloxano) com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura do filme, com as seguintes condições cromatográficas: Fluxo de hélio de 1,0 mL/min; Temperatura do injetor: 250 °C; Temperatura do detector ECD: 300 °C; Rampa de temperatura do forno da coluna: 70 °C por 1 min, 30 °C/min até 180 °C, manutenção por 2 min, 15 °C/min até 250 °C, manutenção por 8 min, 15 °C/min até 280 °C, manutenção por 17 min; tempo total de corrida: 35 min. A coluna utilizada na confirmação dos resultados foi a CP Sil 8CB (5% de phenyl, 95% dimethylpolysiloxane) nas mesmas condições cromatográficas da outra coluna. Foi utilizada uma coluna para verificação da presença do agrotóxico e outra para confirmação.

#### **4.2.2 Preparo dos padrões de pesticidas**

As soluções-padrões a serem utilizadas na identificação dos pesticidas em GC-MS foram preparadas de acordo com as normas do IAL (2008).

Para a determinação com GC-ECD pelo IMA, foi preparada uma solução padrão de concentração de 1µg/mL a qual foi injetada nas condições mencionadas no item 4.2.1. Os limites de quantificação foram estabelecidos segundo o método visual (RIBEIRO, FERREIRA, MORANO, et al. 2008).

#### **4.2.2.1 Solução-padrão estoque**

Foi pesado 0,005 g de cada padrão de pesticida em pesa-filtro e dissolvido com uma pequena quantidade de acetonitrila. Após isso, foi transferido quantitativamente para um balão volumétrico de 50 mL e completado o volume com acetonitrila (IAL, 2008).

#### **4.2.2.2 Soluções-padrão intermediárias**

A partir da solução-padrão estoque, foi pipetado 0,1 mL, de cada princípio ativo, para um balão volumétrico de 10 mL e completado o volume com acetonitrila (IAL, 2008).

#### **4.2.2.3 Soluções-padrão de trabalho**

A partir das soluções intermediárias, foram pipetados 0,1 mL para um balão volumétrico de 10 mL. Após foi adicionado acetonitrila e completado o volume do balão (IAL, 2008).

### **4.2.3 Métodos Preparativos**

As três amostras, alface de cultivo orgânico certificada, alface de cultivo orgânico não certificada e a alface de cultivo convencional, foram adquiridas em feiras livres do município de Francisco Beltrão – PR, na quantidade de 1 kg da amostra para cada tipo de alface. Após a sua compra, foram armazenadas sobre refrigeração até a realização das análises.

#### **4.2.3.1 Extração sólido-líquido dos Agrotóxicos**

As extrações das amostras foram realizadas nos laboratórios de bioquímica, físico-química e de tecnologia de frutas e hortaliças, da UTFPR, Câmpus Francisco Beltrão – PR. Inicialmente, as amostras foram lavadas em água corrente e em seguida foram secadas em centrifuga. As folhas de alface foram retiradas aleatoriamente, trituradas manualmente e homogeneizadas, conforme a metodologia do IAL (2008).

Foram pesadas 30 g de amostra para cada tipo de alface em becker, em seguida foram adicionadas 30 mL de acetona. A mistura foi agitada em ultra turrax por 30 segundos. Após isso, foram adicionados 60 mL de uma mistura de diclorometano/hexano 1:1 (v/v) sendo novamente agitado por 30 segundos. Por fim, foi filtrado em funil de vidro com algodão tratado para um frasco nalgene (IAL, 2008).

As amostras refrigeradas foram encaminhadas para o Laboratório de Análise de Resíduos e Agrotóxicos (LARA) do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) para a realização das análises cromatográficas.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, foram realizadas visitas na ASSESOAR com o intuito de obter informações sobre a produção de orgânicos e em especial a alface orgânica. No município de Francisco Beltrão há uma feira agro-ecológica semanal, onde são comercializados os produtos certificados. Informações adicionais foram coletadas na Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado (SEAB) que orientou pela busca de informações nas agroveterinárias sobre quais eram os princípios ativos mais utilizados no município de Francisco Beltrão – PR para o controle das doenças em alfaces.

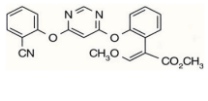
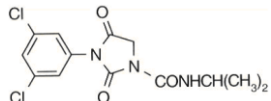
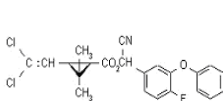
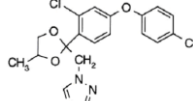
Após o conhecimento dos princípios ativos comercializados para a cultura de alface no município (Quadro 2), foram pesquisados quais destes poderiam ser detectáveis pela técnica de cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas já que este tipo de cromatografia era o único disponível no Laboratório da UTFPR Câmpus Pato Branco.

Agrotóxico (Nome Comercial)	Classe	Doença	Princípio Ativo	Dose	Grupo Químico
Amistar wg	Fung.	Mancha de septoria <i>Septoria lactucae</i>	Azoxistrobina (500 g/kg)	12 a 16 g/100L	Estrobilurina
Flare	Fung.		Difenoconazol (250 g/l)	20 mL/100L	Triazol
Score	Fung.		Difenoconazol (250 g/l)	20 mL/100L	Triazol
Vantigo	Fung.		Azoxistrobina (500 g/kg)	96 a 128 g/ha	Estrobilurina
Acuthon	Fung.	Mildio - <i>bremia lactucae</i>	Mandipropamida (250 g/l)	400 a 600 mL/ha	éter mandelamida
Carial	Fung.	<i>Bremia lactucae</i>	Mandipropamida (250 g/l)	400 a 600 mL/ha	Éter mandelamida
Censor	Fung.	<i>Bremia lactucae</i>	Fenamidona (500 g/l)	300 ml/ha	Imidazolinona
Revus	Fung.	<i>Bremia lactucae</i>	Mandipropamida (250 g/l)	400 a 600 mL/ha	éter mandelamida
Monceren 250 c	Fung.	<i>Rhizoctonia solani</i>	Pencicurorom (250g/l)	1,5 a 2 l/ha	Feniluréia
Rovral	Fung.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Iprodiona (500 g/l)	150g/100L	Dicarboximida
Sumilex 500 wp	Fung.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Procimidona (500g/kg)	1 a 1,5 kg/ha	Dicarboximida
Bulldock 125 sc	Inset.	Lagarta rosca ( <i>agrotys ipilon</i> )	Beta ciflutrina (125 g/l)	10mL/100 L	Piretróide
Evidence 700 wg	Inset.	Mosca branca ( <i>bemisia tabaci</i> raça b)	Imidacloprid (700g/kg)	300 g/ha	Neonicotinóide

**Quadro 2 - Agrotóxicos mais utilizados na cultura de alface no comércio local de Francisco Beltrão – PR.**  
**Fonte: Comércio local de Francisco Beltrão – PR.**



A pesquisa em literatura especializada (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008; LEHOTAY, 2007; BUTLER, STEINIGER, PHILLIPS, 2008) mostrou que os princípios ativos detectáveis por cromatografia gasosa seriam a azoxistrobina, iprodiona, beta-ciflutrina e difenoconazol cujas características são apresentadas no Quadro 3.

Princípio ativo	AZOXISTROBINA (azoxystrobin)	IPRODIONA (iprodone)	BETA-CIFLUTRINA (beta-cyfluthrin)	DIFENOCONAZOL (difenoconazole)
Nome IUPAC	metil(E)-2-{2-[6-(2-cianofenoxi)pirimidin-4-iloxi]fenil}-3-metoxiacrilato	3-(3,5-diclorofenil)-N-isopropil-2,4-dioxoimidazolidina-1-carboxamida	reaction mixture of 2 enantiomeric pairs: pair I (S)- $\alpha$ -cyano-4-fluoro-3-phenoxybenzyl(1R)-cis-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate and the corresponding (R) (1S)-cis- isomer; pair II (S) (1R)-trans and (R) (1S)-trans isomers, in the ratio 1:2	cis-trans-3-cloro-4-[4-metil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1,3-dioxolan-2-il]fenil 4-clorofenil éter
Fórmula bruta	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> C <sub>12</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>2</sub> F N O <sub>3</sub>	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> C <sub>12</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>
Fórmula estrutural				
Massa Molar	403 g/mol	330 g/mol	434 g/mol	406 g/mol
Grupo químico	Estrobilurina	Dicarboximida	Piretróide	Triazol
Classe	Fungicida	Fungicida	Inseticida	Fungicida
Classificação toxicológica	Classe III	Classe IV	Classe II	Classe I
LMR (mg/kg)	1,0	1,0	0,5	0,5

Quadro 3 – Agrotóxicos pesquisados nas culturas de alface.

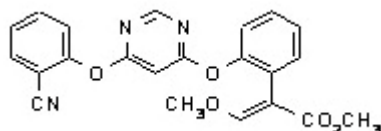
Fonte: Adaptado de BRASIL, 2007; BRASIL, 2008; BRASIL, 2010a; BRASIL, 2010b.

Preliminarmente, as análises ocorreram na Central de Análises da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, para o preparo dos padrões, para injeção e calibração do cromatógrafo gasoso.

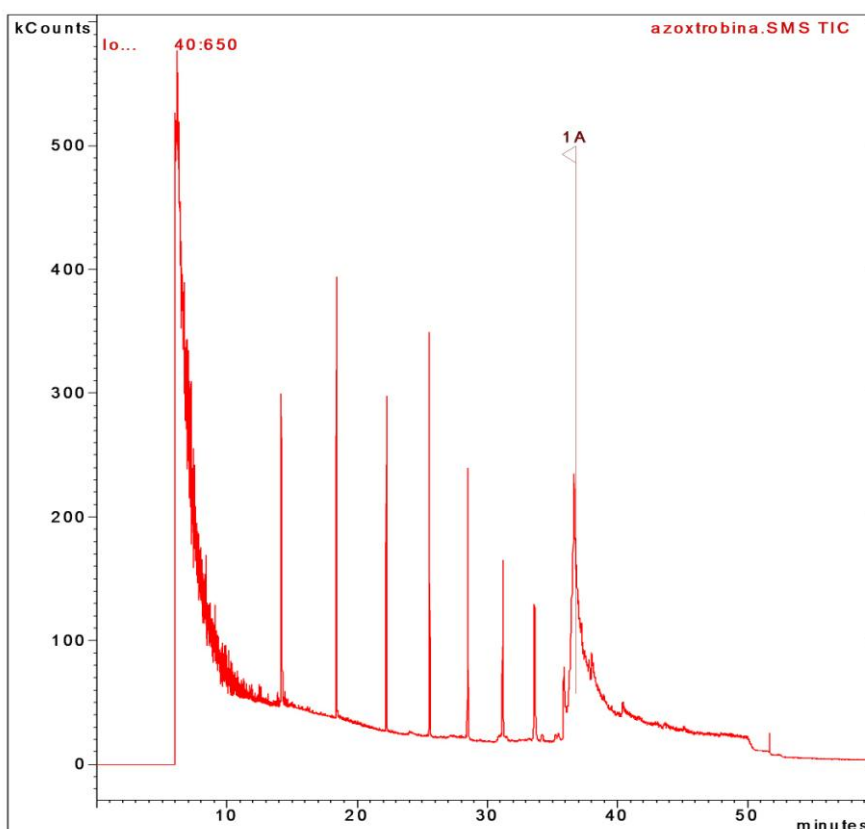
Após o preparo das soluções padrões de trabalho dos princípios ativos, na concentração 0,01 mg/Kg, estas foram analisadas no GC-MS, para determinar as condições mais adequadas de análise destes compostos dentro das especificidades do equipamento.

De acordo com o Quadro 3, a azoxistrobina de massa molar 403 g/mol (Figura 1) é um princípio ativo do grupo químico estrobilurina, e apresentou no cromatograma total de íons

(Figura 2) vários sinais caracterizando que a coluna apresentava contaminantes. De fato, após repetição das análises para este agrotóxico e identificação das massas correspondentes aos diferentes picos no cromatograma constatou-se que parte deles era proveniente da sangria, ou seja, despacotamento da coluna (dados não mostrados).



**Figura 1 – Fórmula estrutural do princípio ativo Azoxistrobina**  
**Fonte: Brasil (2010b)**



**Figura 2 – Cromatograma de corrente total de íons obtida para um padrão de Azoxistrobina a uma concentração de 0,01 mg/kg**

Assim, o espectro de massas da azoxistrobina (Figura 3) apresenta as fragmentações ocorridas. O mesmo apresentou como pico base, o pico de massa 344,6 m/z que corresponde ao fragmento  $-\text{CO}_2\text{CH}_3$  (Tabela 1).

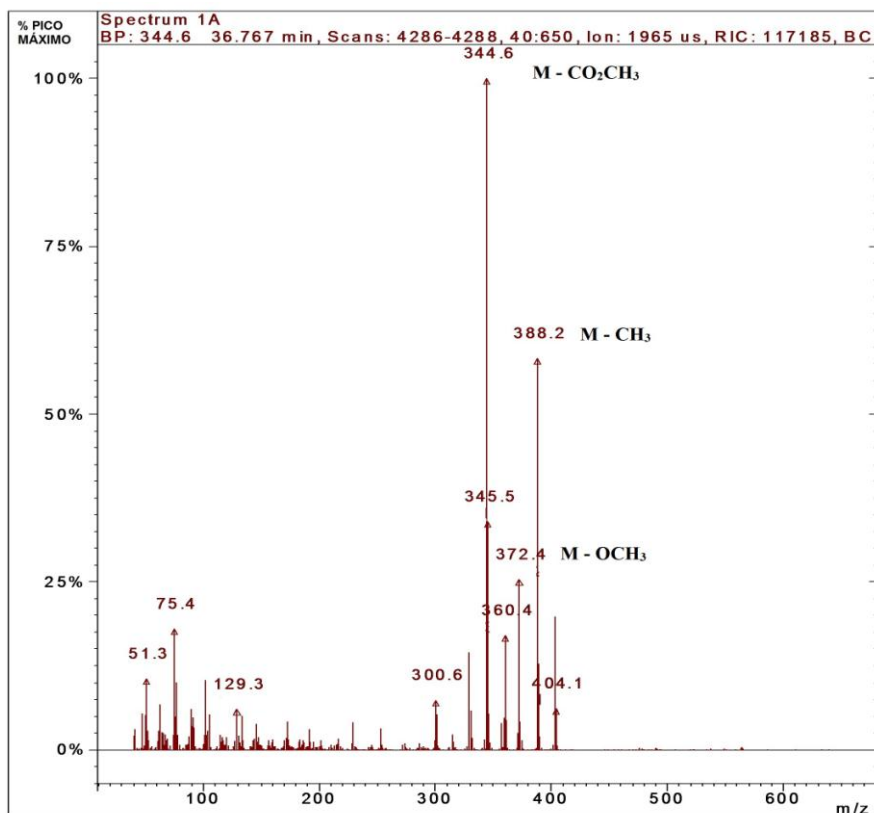


Figura 3 – Espectrometria de massa para Azoxistrobina

Tabela 1 – Fragmentações da Azoxistrobina

FRAGMENTAÇÃO	MASSA (m/z)
M - CH <sub>3</sub> = [M-15]	388,2
M - OCH <sub>3</sub> = [M-31]	372,4
M - CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> = [M-59]	344,6

O cromatograma de corrente total de íons da beta-ciflutrina, que possui massa molar 434 g/mol (Figura 4) não apresentou o pico do íon molecular (Figura 5) e os fragmentos formados no espectro de massas não estavam de acordo com as possíveis ionizações que se esperam para esta molécula (Figura 6, Tabela 2).

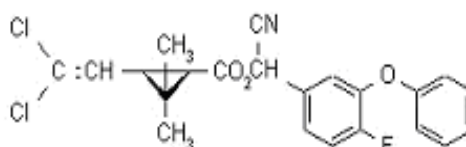


Figura 4 – Fórmula estrutural do princípio ativo Beta ciflutrina  
Fonte: Brasil (2007)

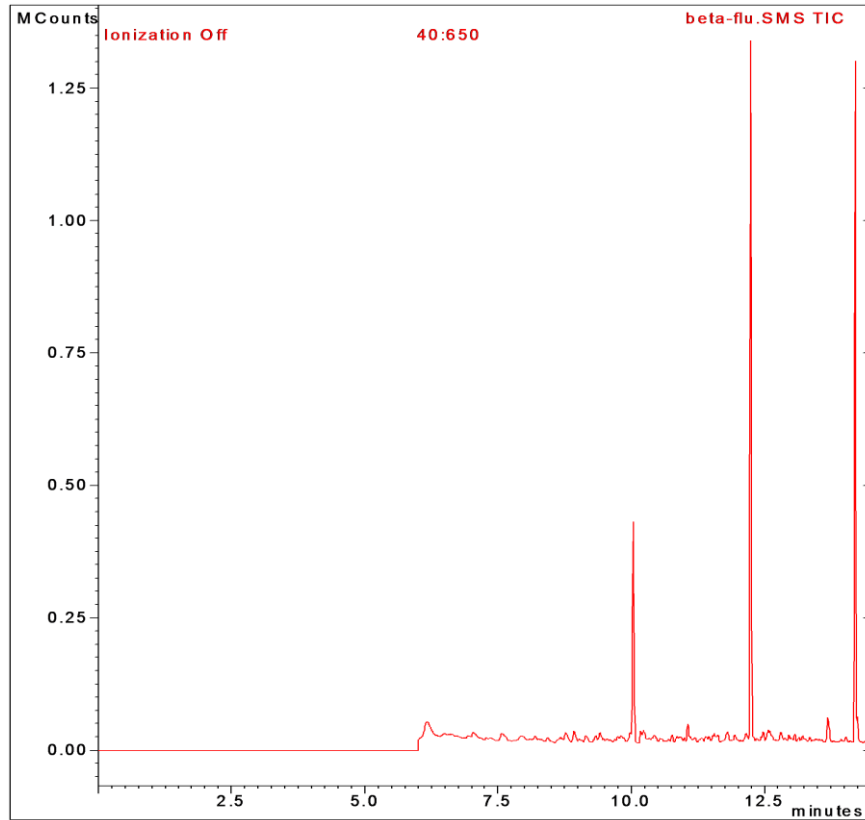


Figura 5 – Cromatograma de corrente total de íons obtida para um padrão de Beta-ciflutrina a uma concentração de 0,01 mg/kg

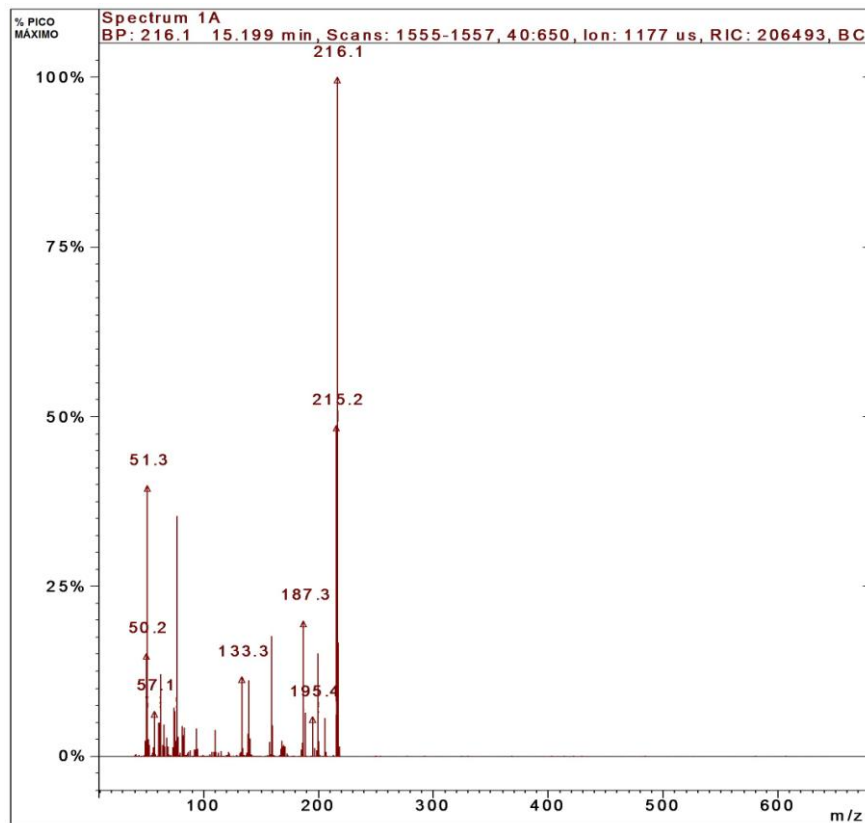
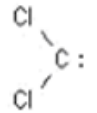
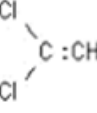
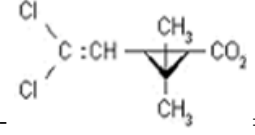
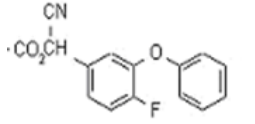
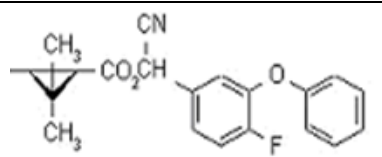
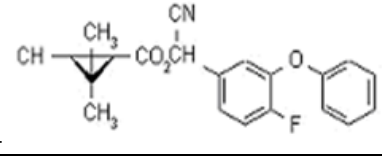
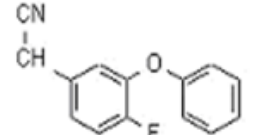
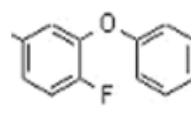


Figura 6 - Espectrometria de massa para Beta-ciflutrina

Tabela 2 – Possíveis fragmentações da beta-ciflutrina

FRAGMENTAÇÃO	MASSA (m/z)
 $M - \text{C}(\text{Cl})_2\text{H}^+ = [M - 82]$	352
 $M - \text{C}(\text{Cl})\text{H}_2^+ = [M - 95]$	339
 $M - \text{C}(\text{Cl})_2\text{CH}(\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2) = [M - 169]$	265
 $M - \text{C}(\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2)(\text{CN})\text{CH}(\text{C}_6\text{H}_4\text{F})\text{OC}_6\text{H}_5 = [M - 270]$	164
 $M - \text{C}(\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2)(\text{CN})\text{CH}(\text{C}_6\text{H}_4\text{F}) = [M - 300]$	134
 $M - \text{C}(\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2)(\text{CN})\text{CH}_2(\text{C}_6\text{H}_4\text{F})\text{OC}_6\text{H}_5 = [M - 313]$	121
 $M - \text{C}(\text{CN})\text{CH}(\text{C}_6\text{H}_4\text{F})\text{OC}_6\text{H}_5 = [M - 226]$	208
 $M - \text{C}(\text{C}_6\text{H}_4\text{F})\text{OC}_6\text{H}_5 = [M - 187]$	247

O cromatograma corrente total de íons do difenoconazol que possui 406 g/mol (Figura 7) apresentado na Figura 8 mostra diferentes sinais, os quais estão correlacionados com a perda da vida útil da coluna. O espectro de massa (Figura 9) apresenta as fragmentações provenientes da sua ionização no espectrômetro de massas. O pico base encontrado é o de massa 323,3 m/z que corresponde ao composto  $\text{C}_3\text{N}_3\text{H}_4$  (Tabela 2).

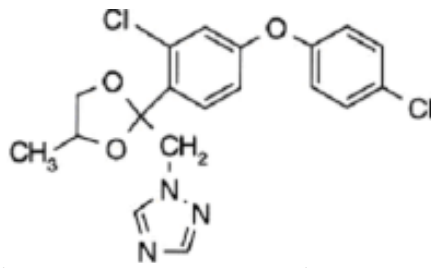


Figura 7– Fórmula estrutural do princípio ativo Difenoconazol  
Fonte: (Brasil, 2010b)

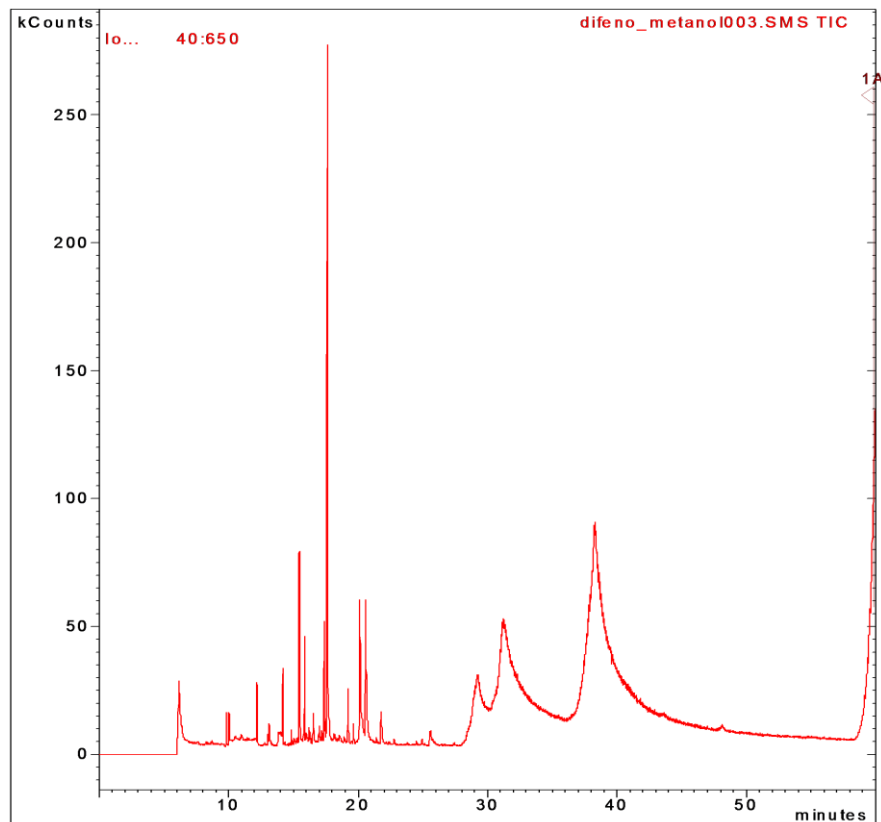


Figura 8 – Cromatograma de corrente total de íons obtida para um padrão de Difenoconazol a uma concentração de 0,01 mg/kg

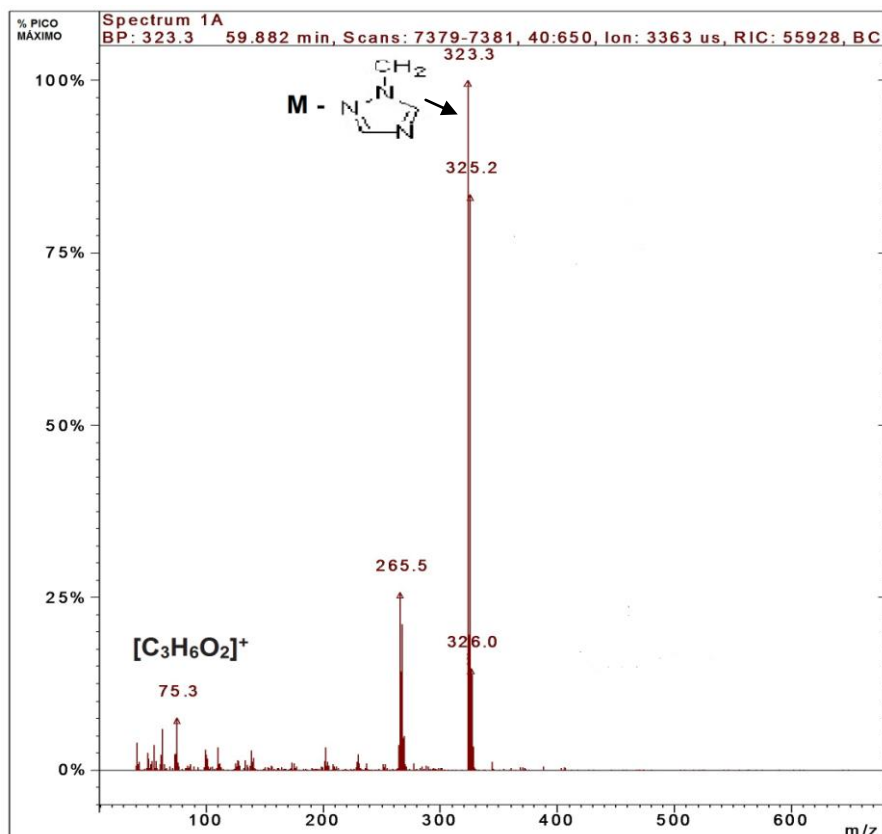


Figura 9 – Espectrometria de massa para Difenoconazol

Tabela 3 – Fragmentações do Difenoconazol

FRAGMENTAÇÃO	MASSA (m/z)
M - $C_3N_3H_2 = [M-80]$	326,0
M - $C_3N_3H_3 = [M-81]$	325,2
M - $C_3N_3H_4 = [M-82]$	323,3

Na identificação da iprodiona que possui massa molar 330 g/mol (Figura 10), não foi possível determinar o pico referente ao composto (Figura 11) nem as fragmentações e o pico base através do espectro de massa, pois o mesmo não foi gerado.

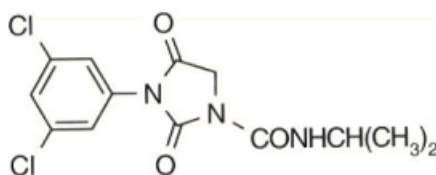
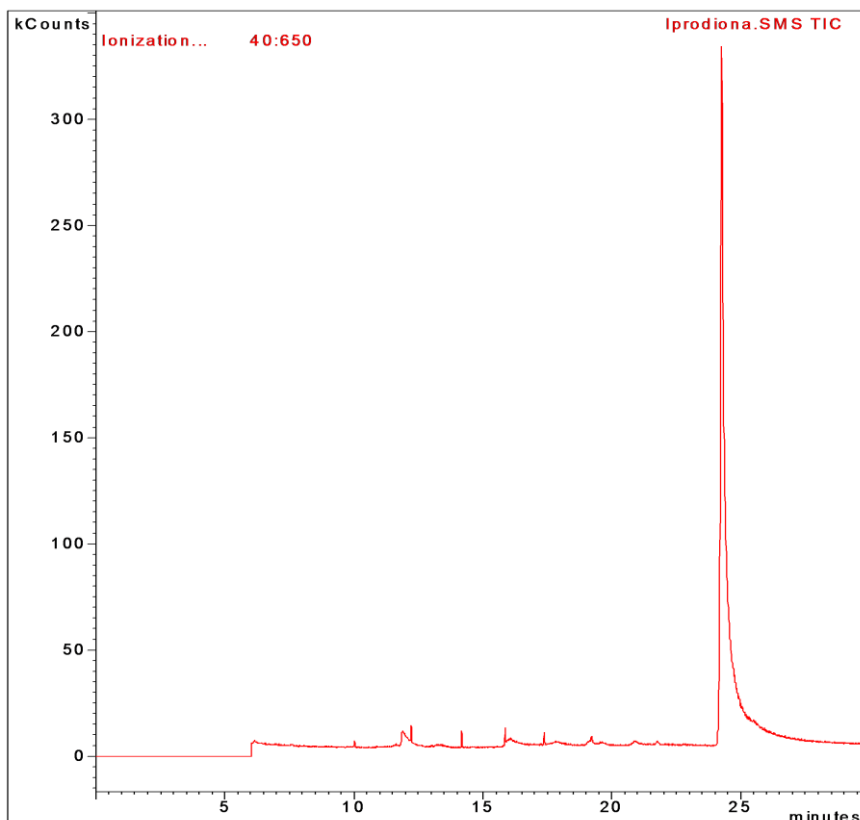


Figura 10 – Fórmula estrutural do princípio ativo Iprodiona  
Fonte: Brasil (2008)



**Figura 11 - Cromatograma de corrente total de íons obtida para um padrão de Iprodiona a uma concentração de 0,01 mg/kg**

Devido problemas de contaminação encontrados na coluna do GC da Central de Análises da UTFPR Câmpus de Pato Branco, não foi possível identificar com exatidão quais eram os picos que correspondiam aos padrões estudados e definir o comportamento destes no aparelho. Sendo assim, as amostras foram preparadas e encaminhadas para o IMA para análise das mesmas.

Os perfis cromatográficos dos padrões utilizados como estudo na determinação do IMA através da GC-ECD, são apresentados nas Figuras 12, 13, 14 e 15.

Conforme a Figura 12 e o Quadro 4, o tempo de retenção do princípio ativo azoxistrobina foi 32,31 minutos. O tempo de retenção é definido como o tempo gasto desde a injeção do composto até o ponto máximo que é necessário para que o composto percorra toda a extensão da coluna. Estes resultados estão de acordo com os observados por Arrebola, Martinez-Vidal, Gonzalez-Rodríguez, et al. (2003) em pesquisa de resíduos de pesticidas em vegetais pela técnica GC-MS. Para estes autores, o tempo de retenção do padrão azoxistrobina foi entre 29,96 a 30,96 minutos.

Conforme a Figura 13 e o Quadro 5, o tempo de retenção da beta-ciflutina foi entre 26,18 a 26,62 minutos, próximo ao trabalho de Arrebola, Martinez-Vidal, Gonzalez-



Rodríguez, et al. (2003) onde o tempo de retenção da beta-ciflutrina foi 24,11 a 25,74 minutos.

O tempo de retenção do padrão difenoconazol conforme a Figura 14 e o Quadro 6, foi entre 30,62 a 30,82 minutos e para o padrão iprodiona foi 18,88 minutos (Figura 15 e Quadro 7). No trabalho de Arrebola, Martinez-Vidal, Gonzalez-Rodríguez, et al. (2003) o tempo também foi próximo, entre 28,09 a 29,66 minutos e 16,86 a 17,46 minutos, respectivamente. Possivelmente estas semelhanças devem-se ao fato que neste trabalho foi utilizado a mesma coluna (capilar sílica fundida CP-Sil 8CB) que a dos referidos autores (ARREBOLA, MARTINEZ-VIDAL, GONZALEZ-RODRÍGUEZ, 2003).

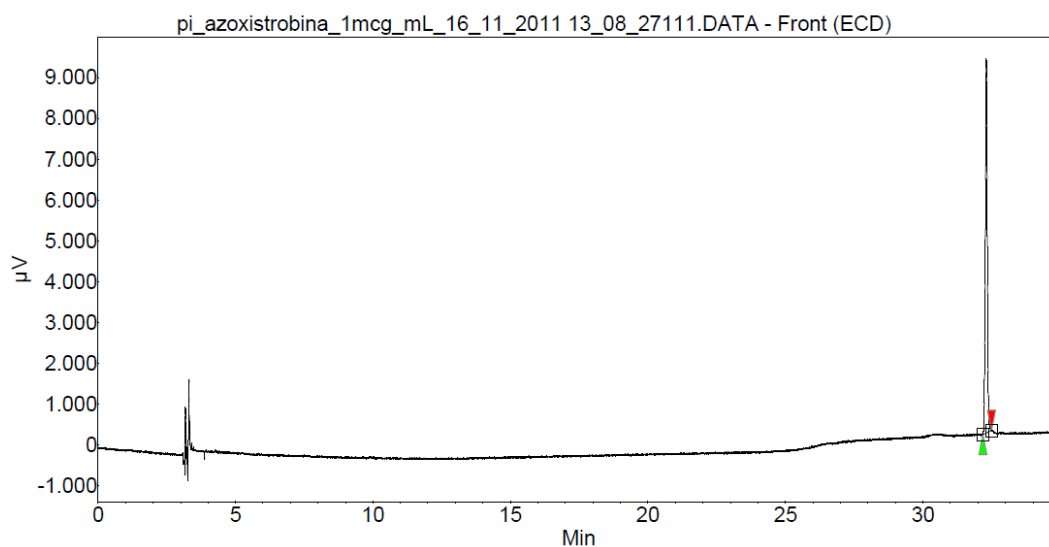


Figura 12 – Cromatograma de corrente total de íons obtida para um padrão de Azoxistrobina injetado em GC-ECD pelo Instituto Mineiro de Agropecuária

Index	Name	Time [Min]	Area % [%]	Area [ $\mu\text{V} \cdot \text{Sec}$ ]	Quantity [ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ]
1	Azoxistrobina	32.31	100.000	45851.7	0.00
<b>Total</b>					
			100.000	45851.7	0.00

Quadro 4 – Resultados dos picos do padrão Azoxistrobina

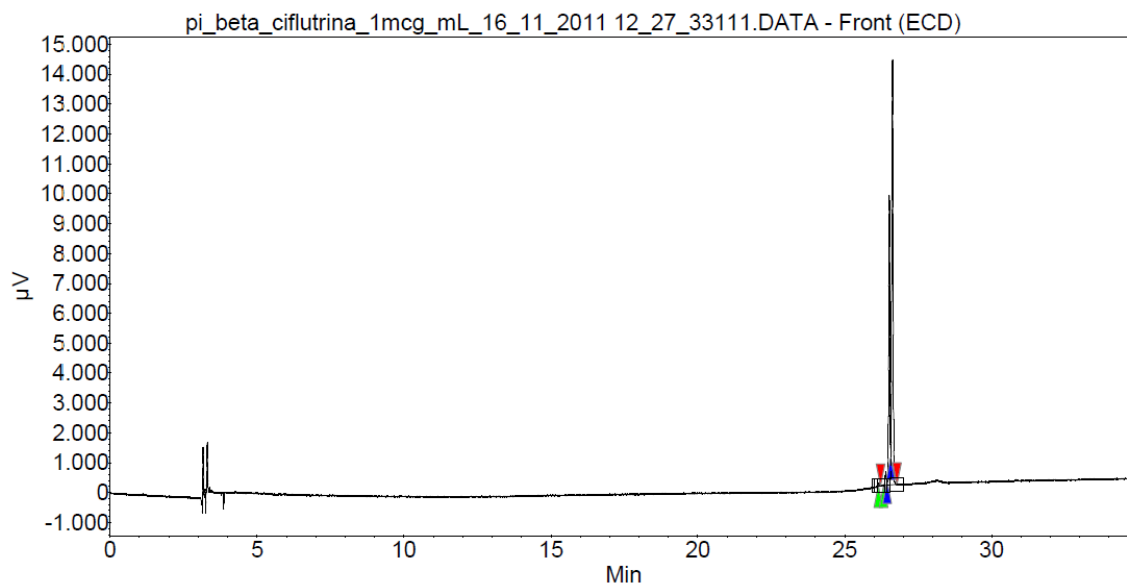


Figura 13 – Cromatograma de corrente total de íons obtida para um padrão de Beta ciflutrina injetado em GC-ECD pelo Instituto Mineiro de Agropecuária

Index	Name	Time [Min]	Area % [%]	Area [µV.Sec]	Quantity [µg/mL]
4	Ciflutrina I	26.18	0.449	330.1	0.00
1	Ciflutrina II	26.40	1.834	1347.1	0.00
2	Ciflutrina III	26.52	38.233	28085.9	0.00
3	Ciflutrina IV	26.62	59.484	43696.8	0.00
Total			100.000	73459.9	0.00

Quadro 5 – Resultados dos picos do padrão Beta ciflutrina

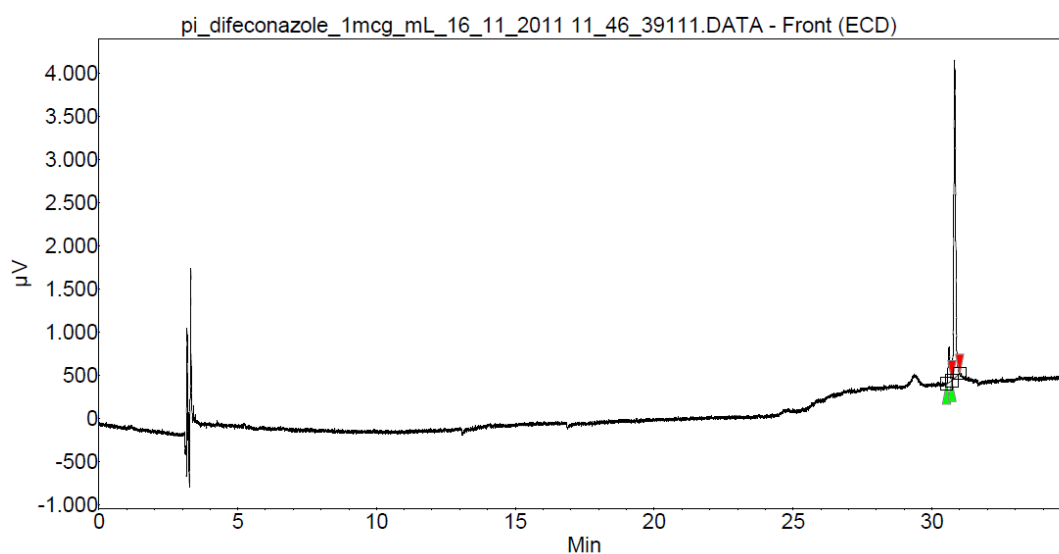


Figura 14 – Cromatograma de corrente total de íons obtida para um padrão de Difenconazol injetado em GC-ECD pelo Instituto Mineiro de Agropecuária

Index	Name	Time [Min]	Area % [%]	Area [uV.Sec]	Quantity [ug/mL]
1	Difeconazole I	30.62	9.249	1830.3	0.00
2	Difeconazole II	30.82	90.751	17959.1	0.00
Total			100.000	19789.4	0.00

Quadro 6 – Resultados dos picos do padrão Difeconazol

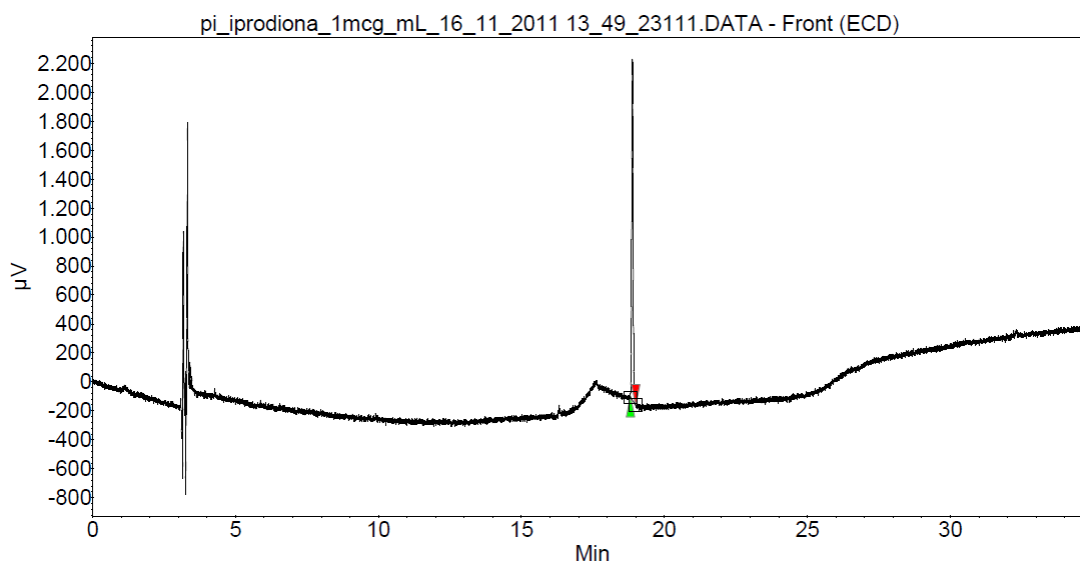


Figura 15 – Cromatograma de corrente total de íons obtida para um padrão de Iprodiona injetado em GC-ECD pelo Instituto Mineiro de Agropecuária

Index	Name	Time [Min]	Area % [%]	Area [uV.Sec]	Quantity [ug/mL]
1	Iprodiona II	18.88	100.000	7607.5	0.00
Total			100.000	7607.5	0.00

Quadro 7 – Resultados dos picos do padrão Iprodiona

As análises da alface realizadas pelo IMA demonstraram a ausência dos compostos azoxistrobina, beta-clflutrina, difenoconal e iprodiona nas amostras segundo as condições analítica estabelecidas que corresponderam a um limite de quantificação estimado pelo método visual como sendo abaixo de 1 µg/mL. A azoxistrobina, beta-clflutrina, difenoconazol e iprodiona, não apresentaram picos para os respectivos tempos de retenção (32,31; 26,18 a 26,62; 30,62 a 30,82; 18,88 minutos) quando estes foram analisados para calibração e aferição do equipamento. Além disso, o perfil cromatográfico não apresentou nenhum tipo de agrotóxico já que o mesmo tinha ausência de picos nas condições cromatográficas empregadas nestas análises (Figuras 16, 17 e 18 e Quadros 8, 9, 10).

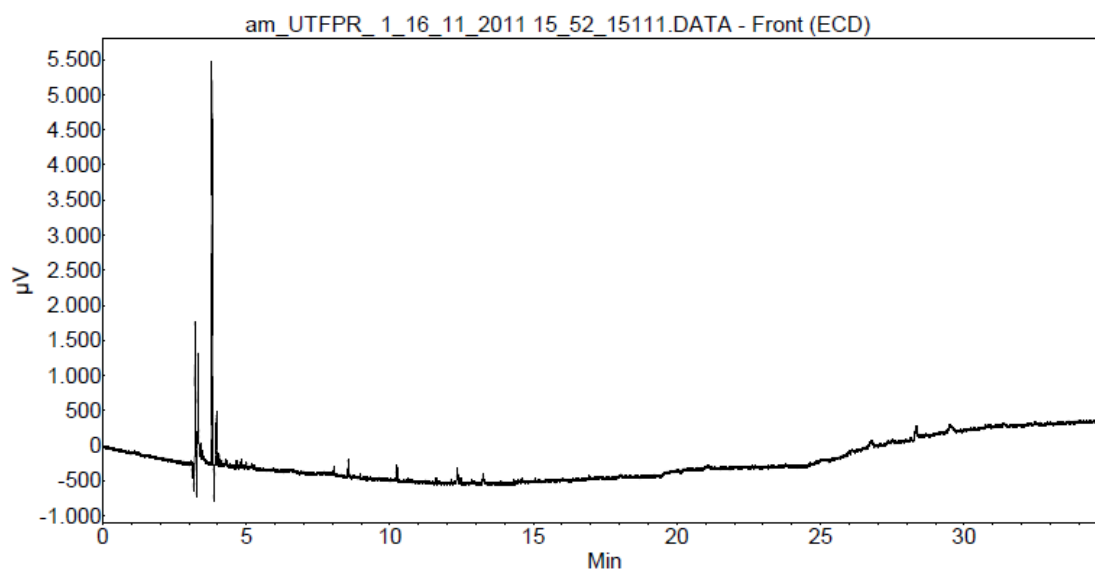


Figura 16 – Cromatograma de corrente total de íons da amostra de alface orgânica certificada injetada em GC-ECD pelo Instituto Mineiro de Agropecuária

Index	Name	Time [Min]	Area % [%]	Area [µV.Sec]	Quantity [ug/mL]
Total			0.000	0.0	0.00

Quadro 8 – Resultados dos picos da amostra de alface orgânica certificada

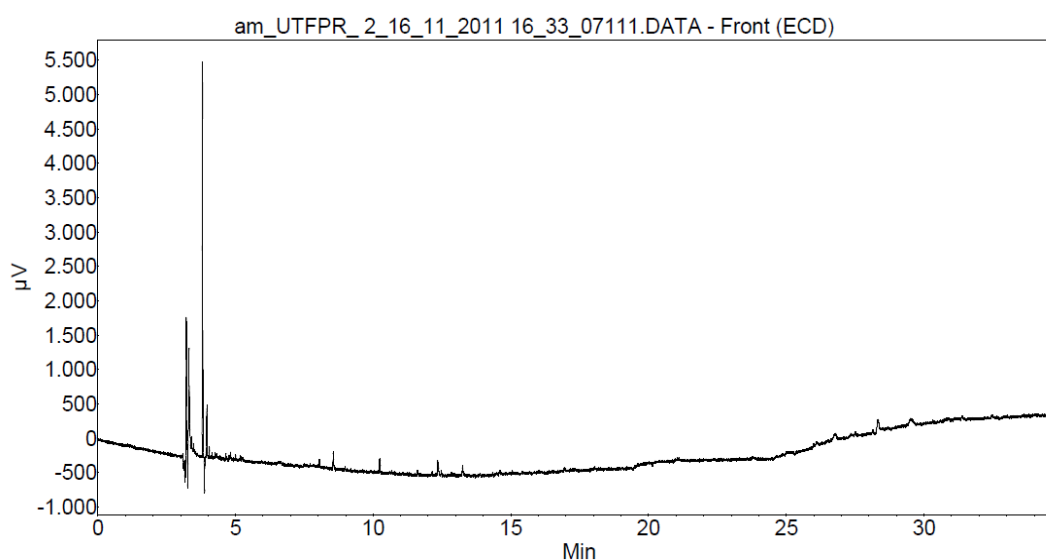
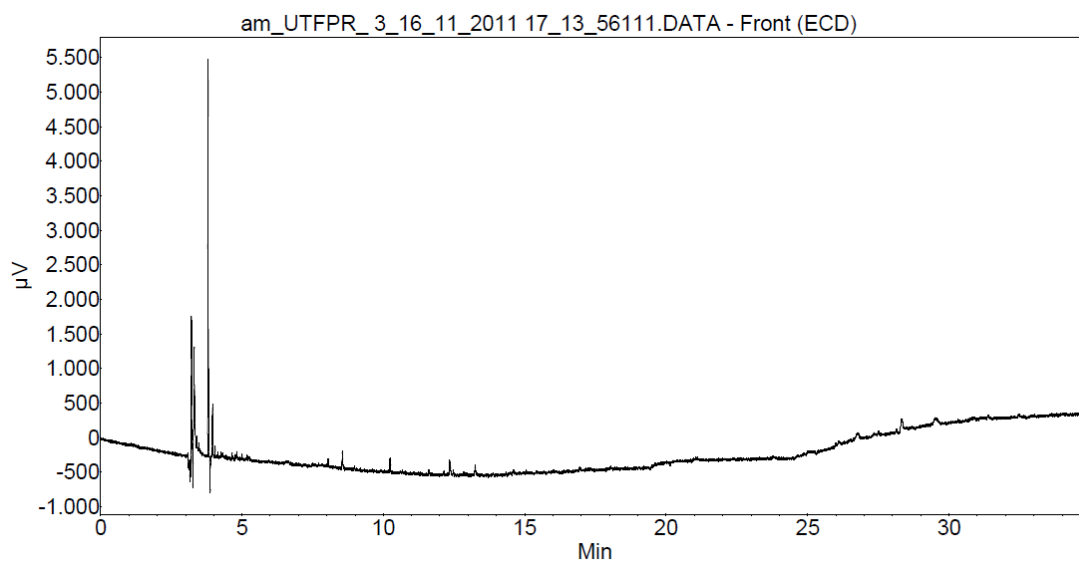


Figura 17 – Cromatograma de corrente total de íons da amostra de alface orgânica sem certificação injetada em GC-ECD pelo Instituto Mineiro de Agropecuária

Index	Name	Time [Min]	Area % [%]	Area [µV.Sec]	Quantity [ug/mL]
Total			0.000	0.0	0.00

Quadro 9 – Resultados dos picos da amostra de alface orgânica sem certificação



**Figura 18 – Cromatograma de corrente total de íons da amostra de alface convencional injetada em GC-ECD pelo Instituto Mineiro de Agropecuária**

Index	Name	Time [Min]	Area % [%]	Area [µV.Sec]	Quantity [ug/mL]
Total			0.000	0.0	0.00

**Quadro 10 – Resultados dos picos da amostra de alface convencional**

Não se pode afirmar que a alface de cultivo orgânico e a de plantio convencional não apresentem agrotóxicos, pois estas podem ter sido cultivadas com outros princípios ativos permitidos para a cultura, os quais não foram possíveis de identificação no presente trabalho, ou podem ter sido cultivadas com pesticidas recomendados para outras culturas.

As hipóteses levantadas pela não detecção dos compostos, podem estar relacionadas ao fato de que geralmente os agricultores aplicam vários pesticidas em uma mesma cultura ou utilizam o mesmo pesticida para todas as culturas plantadas na propriedade. Em função desta realidade, Maciel (2005) destaca que é economicamente inviável e operacionalmente não praticável utilizar métodos analíticos individuais com o objetivo de quantificar os resíduos de vários pesticidas nos alimentos. A pesquisa de resíduos de agrotóxicos pela técnica de multirresíduos tem sido muito estudada e validada por vários autores, apresentando resultados excelentes para análise da cultura de alface e os princípios ativos aqui pesquisados (MACIEL, 2005; PRESTES, FRIGGI, ADAIME, et al. 2009; COSTA, 2011).

Outra hipótese levantada refere-se ao preparo e extração da amostra utilizado pelo IAL (2008), uma vez que Silva (2010) determinou agrotóxicos em alfaves usando a técnica de extração em fase sólida. De fato, a técnica apresenta vantagens com relação aos métodos mais

clássicos, como a praticidade, maior sensibilidade, melhor recuperação, menor tempo gasto na extração e requer menor consumo de reagentes, permite uma maior seletividade que a extração líquido-líquido (HENNION, 1999 apud FARIA, 2004; BARRIONUEVO, LANÇAS, 2000).

A extração em fase sólida é atualmente uma das técnicas mais utilizadas para extração e/ou pré-concentração de amostras complexas, permitindo que analitos em concentrações muito baixas sejam detectados pela cromatografia gasosa (QUEIROZ, MELO, JARDIM, 2006). Segundo Silva (2010) a dispersão da matriz em fase sólida consiste na homogeneização de uma pequena quantidade de amostra com um material adsorvente. Esta mistura é transferida para uma coluna ou cartucho. Os analitos são extraídos com solventes orgânicos que são percolados pela coluna.

Outra hipótese para a não detecção dos compostos nas amostras pode estar relacionado à distância temporal entre a coleta de amostra, preparo e envio para a análise em GC-ECD ao IMA. Como o preparo das amostras e a suas extrações foram realizados no Câmpus da UTFPR de Francisco Beltrão sendo necessário o encaminhamento posteriormente ao IMA para a realização das análises de identificação dos compostos nas amostras, o tempo levado entre o preparo da amostra e a chegada no IMA pode ter acarretado a decomposição dos agrotóxicos impossibilitando, assim, a sua detecção.

De fato, o princípio ativo beta-ciflutrina pode não ter sido detectado, pois segundo Laskowski (2002) apud Santos, Areas, Reyes (2007) alguns piretróides possuem sensibilidade à luz e apresentam vida média entre 0,67 a 2,5 dias. Os piretróides são inseticidas de origem vegetal que apresentam amplo espectro de atividade, ação rápida, eficiência em pequenas doses, com baixo poder residual, chegando a atingir a concentração de resíduo aceitável em poucos dias (HIRATA, 1995 apud BARRIONUEVO, LANÇAS, 2000; RIPLEY, 2001 apud SANTOS, AREAS, REYES, 2007).

Segundo Costa (2011) o composto iprodiona possui carência de 14 dias, ou seja, a demora na realização da análise propriamente dita pode ter prejudicado na identificação.

Devido a isto o método de detecção deve ter alta sensibilidade com uma ou duas ordens de magnitude maior que o limite máximo de resíduo estabelecido (LMR) para que o composto de interesse possa ser identificado (SANTOS, AREAS, REYES, 2007).

“Em GC, a coluna cromatográfica mais utilizada para a análise de piretróides é a 5% fenil-metilpolisiloxano” (SANTOS, AREAS, REYES, 2007 p. 345). A não detecção do

composto beta-ciflutrina pode estar relacionado também ao fato da não utilização da coluna 5% fenil-metilpolisiloxano.

Segundo os mesmos autores, ainda não existem sistemas específicos para a detecção dos resíduos dos pesticidas da classe dos piretróides, como a beta-ciflutrina.

Embora não existam sistemas específicos de detecção para piretróides, aqueles que possuem átomos de halogênios em suas moléculas são sensíveis ao detector seletivo por captura de elétrons (ECD). Assim, métodos de derivatização foram desenvolvidos para aumentar a volatilidade e diminuir o limite de detecção das moléculas ausentes de átomos de halogênios. O detector por ionização em chama (FID) também pode ser usado para detecção de piretróides não halogenados, entretanto, não apresenta sensibilidade suficiente para análise de resíduos (CHEN, WANG 1996 apud SANTOS, AREAS, REYES, 2007 p. 345).

Semelhantemente aos resultados deste trabalho, Queiroz, Ferracini e Rosa (2011) na determinação de pesticidas em alimentos empregando o método de QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe)<sup>1</sup> não detectaram os princípios ativos difenoconazol e azoxitrobina em amostras de alface, porém os princípios ativos foram detectados em matrizes de tomate, uva e maçã.

Ao contrário do trabalho de Costa (2011) o fungicida iprodiona foi um dos princípios ativos que apresentaram maiores concentrações residuais em amostras de alfaces.

No contexto do trabalho desenvolvido, o relatório de atividades do PARA do ano de 2010, mostrou que das 156 amostras de alface coletadas em 26 Unidades Federativas do Brasil, os ingredientes ativos detectados acima do LMR permitido foram a iprodiona em uma amostra e o difenoconazol em duas amostras. Foram detectadas ainda a azoxitrobina em oito amostras, beta-ciflutrina em quatro amostras, difenoconazol em seis amostras e iprodiona em duas amostras, porém dentro dos LMR (ANVISA, 2011).

O relatório demonstrou ainda que das seis amostras da cultura de alfaces analisadas do estado do Paraná, três apresentaram insatisfatórias, contendo resíduos de produtos não autorizados ou quantidades de resíduos de agrotóxicos para a cultura, porém superiores ao LMR (ANVISA, 2011).

---

<sup>1</sup> Tradução: Rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise de resíduos de agrotóxicos é de extrema importância no controle de aplicações de compostos químicos em alimentos, pois o seu monitoramento comprova o uso indiscriminado de compostos não permitidos e/ou adição de compostos permitidos, porém em quantidades acima do limite recomendado segundo a legislação vigente.

As amostras de alfaces orgânica certificada, orgânica não certificada e convencional avaliadas pela técnica de GC-ECD, nas condições estabelecidas pelo método não apresentaram contaminação pelos pesticidas estudados, azoxistrobina, beta-ciflutrina, difenoconazol e iprodiona. Porém, isso não comprova que as amostras estão isentas de agrotóxicos, pois as mesmas podem ter sido cultivadas com outros compostos, permitidos ou não para a cultura de alface. A não detecção dos pesticidas pode ter ocorrido em função da distância temporal entre a coleta, preparo e envio das amostras para análise no IMA e as técnicas utilizadas.

Como forma de comprovação, sugere-se o estudo aprofundado como forma de dar continuidade a pesquisa de agrotóxicos em alfaces orgânicas e convencionais da região, estudando outros princípios ativos, os quais, não foram possíveis neste estudo e outras técnicas de detecção.



## REFERÊNCIAS

- ABAD, F. C. **Determinação multiresíduos de pesticidas em cenouras utilizando extração com líquido pressurizado e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas. 2006. 122 f.** Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.
- AMARANTE JUNIOR, O. P. DE; SANTOS, T. C. R. DOS; NUNES, G. S.; RIBEIRO, M. L. Breve revisão de métodos de determinação de resíduos do herbicida ácido 2,4 Diclorofenoxiacético (2,4-d). **Química Nova**, v. 26, n. 2, p. 223-229, 2003.
- ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em alimentos.** Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home/agrotoxicotoxicologia>>. Acesso em 20 de Mai. 2011.
- ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Nota Técnica de Esclarecimento sobre o Risco de Consumo de Frutas e Hortaliças Cultivadas com Agrotóxicos.** Agrotóxicos e Alimentos. 2009.
- ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resíduos de agrotóxicos em alimentos. **Revista Saúde Pública.** Informe técnico institucional, v.40, n. 2, p. 361-363, 2006.
- ANVISA. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em alimentos (PARA).** Relatório de Atividades de 2010. Brasília, 05 de Dezembro de 2011.
- ARBOS, K. A.; FREITAS, R. J. S. de; STERTZ, S. C.; CARVALHO, L. A. Segurança alimentar de hortaliças orgânicas: Aspectos sanitários e nutricionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, n.1, p.215-220, 2010.
- ARREBOLA, F. J.; MARTÍNEZ VIDAL, J. L.; MATEU-SÁNCHEZ, M.; ÁLVAREZ-CASTELLÓN, F. J. Determination of 81 multiclass pesticides in fresh foodstuffs by a single injection analysis using gas chromatography–chemical ionization and electron ionization tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 484, p. 167–180. 2003.
- ARREBOLA, F. J.; MARTINEZ VIDAL, J. L.; GONZALEZ-RODRIGUEZ, M. J.; GARRIDO-FRENICH, A.; SANCHEZ MORITO, N. Reduction of analysis time in gas chromatography Application of low-pressure gas chromatography–tandem mass spectrometry to the determination of pesticide residues in vegetables. **Journal of Chromatography A**, v.1005, p. 131–141. 2003.

BARRIONUEVO, W. R.; LANÇAS, F. M. Extração em fase sólida (SPE) e micro extração em fase sólida (SPME) de piretróides em água. **Química Nova**, v. 24, n. 2, 172-175, 2001.

BISCARO, G. A; OLIVEIRA, A. C. **Boletim técnico do produtor rural**. Programa Regional UEMS de incentivo de hortaliças irrigadas. Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, Cassilândia - MS.[s.d].

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n° 3, de 16 de Janeiro de 1992, ratifica os termos das diretrizes e orientações referentes à autorização de registros, renovação de registro e extensão de uso de agrotóxicos e afins da Portaria n°1, de 09 de Dezembro de 1991. **Diário Oficial da União**, Brasil, 4 fev. 1992.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Lei Federal n° 10.831 de dezembro de 2003. Dispõe sobre normas para a produção de produtos orgânicos vegetais e animais. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, Seção 1, p.11, 23 dez 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde – ANVISA. Consulta pública n. 08 de Janeiro de 2007. Beta-Ciflutrina. **Diário Oficial da União**, de 31 de Janeiro de 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde – ANVISA. Resolução RE n° 4.867 de 26/12/08. Altera o intervalo de segurança para a cultura de morango de 3 dias para 1 dia, na monografia do ingrediente ativo I05 – IPRODIONA. **Diário Oficial da União**, de 29 de Dezembro de 2008, p.158 seção 1 n° 252.

BRASIL. Ministério da Saúde – ANVISA. Resolução RE n° 4.446 de 23/09/10. Inclui a cultura de girassol na modalidade de emprego (aplicação) foliar, com Limite Máximo de Resíduo de 0,04 mg/kg e Intervalo de Segurança de 14 dias, na monografia do ingrediente ativo D36 - DIFENOCONAZOL, na relação de monografias dos ingredientes ativos de agrotóxicos, domissanitários e preservantes de madeira. **Diário Oficial da União**, p. 45 seção 1 n° 185. de 27 de Setembro de 2010a.

BRASIL. Ministério da Saúde – ANVISA. Resolução RE n° 446, de 10/02/10. Inclui o ingrediente ativo A26-AZOXISTROBINA, na relação de monografias dos ingredientes ativos de agrotóxicos, domissanitários e preservantes de madeira. **Diário Oficial da União**, p. 55 seção 1 n° 29 de 11 de Fevereiro de 2010b.

BUTLER, J.; STEINIGER, D.; PHILLIPS, E. Analysis of Pesticide Residues in Lettuce Using a Modified QuEChERS Extraction Technique and Single Quadrupole GC/MS. **Thermo fisher scientif**, Technical Note 10222. Austin, TX, USA, 2008.

CAMPANHOLA, C.; VALARINI, P. J. Agricultura orgânica e seu potencial para o pequeno agricultor. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 69-101, 2001.

CARDOSO, M. H. W. M.; GOUVEA, A. V.; NOBREGA, A. W. DA.; ABRANTES, S. DE M. P. Validação de método para determinação de resíduos de agrotóxicos em tomate: uma experiência laboratorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30 (Supl.1), p. 63-72, 2010.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2 ed. Campinas: UNICAMP, 2003.

CHIARADIA, C. M.; COLLINS, C. H.; JARDIN, I. C. S. F. 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. 623-636, 2008.

COSTA, A. I. **Análise de multiresíduos de agrotóxicos em alface por Cromatografia Gasosa**. 2011. 118 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2011.

COUTINHO, C. F. B.; TANIMOTO, S. T.; GALLI, A.; GARBELLINI, G. S.; TAKAYAMA, M.; AMARAL, R. B.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S. pesticidas: Mecanismos de ação, degradação e toxidez. **Pesticidas: Revista de ecotoxicologia e meio ambiente**, Curitiba, v. 15, p. 65-72, 2005.

EMATER. **Manual técnico de olericultura**. 5º ed. Curitiba: EMATER, 1997.

FARIA, L. J. da S. **Avaliação de diferentes sorventes na extração em fase sólida de pesticidas em água. Desenvolvimento e validação de metodologia**. 2004. 79 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Instituto de Química, UNICAMP, 2004.

FERREIRA, E.; BARRIGOSI, J. A. F. **Insetos Orizívoros da Parte Subterrânea**. EMBRAPA, Goiás, 2006.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2ª ed. Viçosa: UFV, 2003.

GALLI, A. SOUZA, S. DE; GARBELLINE, G. S.; COUTINHO, C. F. B.; MAZO, L. A.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Química Nova**, v.29, n.1, p.105-112, 2006.

GONÇALVES, C.; GOMES, L. E.; RODRIGUES, G. M. A.; KATSUOKA, L.; HIRAMATSU, C. Y.; SILVERIO, P. F. **Validação de método para determinação de pesticidas da soja em águas subterrâneas por GC-ECD**. I Congresso Internacional de Meio Ambiente Subterrâneo. São Paulo – SP. 2009.

HAMERSCHIMIDT, I. **Horta caseira orgânica**. Curitiba: EMATER, 2009. 16p.

HAMERSCHIMIDT, I.; SILVA, J. C. B. V.; LIZARELLI, P. A. **Agroecologia: o novo enfoque da Extensão Rural**. Curitiba-PR: EMATER, 2005. 84p.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 7 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo: IAL, 2008.

JARDIM, I. C. S. F.; ANDRADE, J. DE A.; QUEIROZ, S. C. DO N. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global – um enfoque às maçãs. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 996-1012, 2009.

KOTAKA E.T.; ZAMBRONE F.A. **Contribuições para a construção de diretrizes de avaliação do risco toxicológico de agrotóxicos**. Campinas: ILSI Brasil, 2001.

LEHOTAY, S. J. Determination of pesticide residues in food by acetronitrine extraction and partitionig with magnesium sulfate: collaborative study. **Journal of AOAC international**, v. 90, n. 2, p. 485-520, 2007.

LOPES, J. C.; RIBEIRO, L. G.; ARAUJO, M. G. BERALDO, M. R. B. S. Produção de alface com doses de lodo de esgoto. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 143-147, 2005.

LUNARDON, M. T. **Agricultura Orgânica**. Secretaria da Agricultura do Estado do Paraná, Departamento de Economia Rural. Análise da conjuntura agropecuária Safra 2008/09. 2008.

MACIEL, E. **Desenvolvimento e validação de metodologia analítica de multiresíduos para quantificação de resíduos de pesticidas de manga (*mangifera indica*)**. 2005. 86 f.

Dissertação (Mestrado em Ecologia de agroecossistemas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

MEDAETS, J. P. **Construção da qualidade na produção agrícola familiar: sistemas de certificação de produtos orgânicos**. 2003. 226 f. Tese (Doutorado em desenvolvimento sustentável, área de concentração Política e Gestão ambiental) – Centro de desenvolvimento sustentável, Universidade de Brasília, 2003.

OHSE, S.; DOURADO-NETO, D.; MANFRON, P. A.; SANTOS, O. S. dos. Qualidade de cultivares de alface produzidos em hidroponia. **Scientia Agricola**, v.58, n.1, p.181-185, 2001.

OLIVEIRA, E. Q. de.; SOUZA, R. J. de.; CRUZ, M. do C. M. da; MARQUES, V. B.; FRANÇA, A.C. Produtividade de alface e rúcula em sistema consorciado sob adubação orgânica e mineral. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.28, n. 1, 2010.

ORMOND, J. G. P.; PAULA, S. R. L. de.; FAVARET FILHO, P.; ROCHA, L. T. M. da. Agricultura orgânica: quando o passado é futuro. **BNDES setorial**, Rio de Janeiro, n. 15, p. 3-34, 2002.

OVIEDO, M. T. P.; TOLEDO, M. C. F.; VICENTE, E. Resíduos de agrotóxicos piretróides em hortaliças. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, p. 9-18, 2003.

PINHO, G. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.; SILVERIO, F. O. Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 987-995, 2009.

POPIA, A. F.; CIDADE JUNIOR, H. A.; HAMERSCHIMIDT, I.; TOLEDO, M. V.; ASSIS, O. **Manual de olericultura orgânica**. Curitiba: EMATER, 2007. 128p.

PORTO, V. C. N.; NEGREIROS, M. Z. de; NETO, F. B.; NOGUEIRA, I. C. C. Fontes e doses de matéria orgânica na produção de alface. **Caatinga**, Mossoró – RN, v.12, p.7-11, 1999.

PRESTES, D. O.; FRIGGI, C. A.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. QuEChERS – um método moderno de preparo de amostra para determinação multiresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1620-1634, 2009.

PUCRS. **Detector de Captura Eletrônica (ECD)**. Disponível em: <[http://www.pucrs.br/quimica/professores/arigony/cromatografia\\_FINAL/gc.htm](http://www.pucrs.br/quimica/professores/arigony/cromatografia_FINAL/gc.htm)>. Acesso em 02 de out. 2012.

QUEIROZ, S. C. N.; MELO, L. F. C.; JARDIM, I. C. S. F. Novos sorventes baseados em poli (metiloctilsiloxano) sobre sílica para uso em extração em fase sólida. **Química Nova**, v. 29, n.4, p. 637-640. 2006.

QUEIROZ, S. C. N.; FERRACINI, V. L.; ROSA, M. A. Validação de método multirresíduo para determinação de pesticidas em alimentos empregando QuEChERS e UPLC-MS/MS. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 185-192, 2012.

RIBEIRO, F. A. DE L.; FERREIRA, M. M. C.; MORANO, S. C.; SILVA, L. R. DA; SCHNEIDER, R. P. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química Nova**, v. 31, n.1, p. 164-171, 2008.

RODRIGUES, E.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; FIORI-TUTIDA, A.C.G.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de alface em sistema de cultivo orgânico contra *Sclerotinia sclerotiorum* pelo extrato de gengibre. **Summa Phytopathologica**, v.33, n.2, p.124-128, 2007.

SANTOS, M. A. T. dos; AREAS, M. A.; REYES, F. G. R. Piretróides – uma visão geral. **Revista Alimentos e Nutrição**. Araraquara, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2007.

SEAB – PR. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Departamento de Fiscalização – Divisão de Fiscalização de Insumos e de Serviços Agrícolas - Setor de Cadastramento de Agrotóxicos. **Agrotóxicos no Paraná**. Disponível em: <<http://celepar07web.pr.gov.br/agrotoxicos/pesquisar.asp>>. Acesso em 27 de Mai. 2011.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HALTER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8 ed. São Paulo: Cengage Learning, 2008.

SILVA, Rogério L. da. **Desenvolvimento de método para determinação de resíduos de pesticidas em alface (*lactuca sativa* L.) produzida em sistema convencional**. 2010. 85 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Sergipe. 2010.

SILVERIO, P. F.; GONÇALVES, C.; RODRIGUES, G. M. A.; CLARIMUNDO, S. J. **Análise de alfa e beta-BHC por GC-ECD: como garantir a fidedignidade dos resultados em estudos ambientais?**. XVI Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas. São Luiz – MA. 2010.

SOUZA, C. S.; KERR, W. E.; SANTOS, M. R.; ARRUDA, A. S.; SPINI, V. B. M. G. JULIATTIL, F. C.; TAKATSUL, A. Mancha de Septoria da Alface: Isolamento, Inoculação e Avaliação de Cultivares em Condições de Campo e Casa de Vegetação. **Fitopatologia brasileira**, v. 28, n. 5, p. 555-558, 2003.

STOPPELLI, I. M. de B. S.; MAGALHÃES, C. P. Saúde e segurança alimentar: a questão dos agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 10, p. 91-100, 2005.

YURI, J.E.; RESENDE, G.M.; MOTA, J.H.; SOUZA, R.J.; RODRIGUES JÚNIOR, J.C. Comportamento de cultivares e linhagens de alface americana em Santana da Vargem (MG), nas condições de inverno. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 322-325, 2004.

ZARATTI, L. M. S.; ABAKERLI, R. B. Resíduos de agrotóxicos em frutos de tomate. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n.3, p.473-480, 1999.

