



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA**

ANDRÉIA NUNES OLIVEIRA JARDIM

**VARIABILIDADE DE RESÍDUOS DE INSETICIDAS
ORGANOFOSFORADOS EM FRUTAS TROPICAIS E
VEGETAIS CULTIVADOS NO BRASIL.**

Orientadora: Professora Dra. ELOISA DUTRA CALDAS

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade de Brasília, IQ-UnB, como parte das exigências para obtenção do grau de Mestre em Química Analítica.

BRASÍLIA – DF, 15 DE ABRIL DE 2005

À minha mãe, uma pessoa fantástica.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a toda minha família, principalmente à minha mãe, ao meu irmão e ao meu pai, pelo apoio, carinho e compreensão.

À profª Drª Eloisa Dutra Caldas, minha orientadora-amiga-mãe-chefa, pela paciência e confiança.

Ao Lacen-DF, pela “hospedagem”, pelos créditos de confiança, e pela ajuda essencial para o desenvolvimento deste trabalho.

A todos os colegas do Laboratório de Resíduos de Pesticidas, principalmente à Maria Clara e à Susana pela parceria e ao Luiz César Kenupp pelos ensinamentos de cromatografia gasosa.

Aos professores e funcionários do Instituto de Química..

Aos professores Doutores Paulo Anselmo Ziani Suarez, Hugo Clemente de Araújo e Maria Hosana Conceição por participarem da banca examinadora.

Às minhas colegas de mestrado Lena e Ângela pela companhia no Laboratório aos finais de semana.

Aos meus amigos do “banquinho”.

Aos proprietários e funcionários das Fazendas Agronol e Sonhei, da Chácara Alex Gusmão, e do Núcleo Rural Pipiripau II.

À EMATER de Brazlândia.

Aos meus amigos que acompanham minha trajetória desde a adolescência.

A Drª Maria do Carmo pela ajuda nos momentos de angústia.

ÍNDICE

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	I
I. O uso de pesticidas no campo e seus resíduos nos alimentos	1
<i>O Limite Máximo de Resíduos</i>	<i>1</i>
<i>Os resíduos em alimentos</i>	<i>3</i>
II. Toxicidade dos pesticidas e os parâmetros de segurança para o homem	4
III. Risco da exposição humana aos pesticidas por meio da dieta	7
<i>A exposição crônica</i>	<i>8</i>
<i>A exposição aguda</i>	<i>9</i>
<i>O fator de variabilidade de resíduos de pesticidas</i>	<i>15</i>
IV. Metodologia analítica para análise de inseticidas organofosforados em alimentos.....	19
<i>Incertezas nas metodologias multirresíduo.....</i>	<i>22</i>
IMPORTÂNCIA DO ESTUDO E OBJETIVO GERAL	25
PARTE EXPERIMENTAL.....	27
I. Material e Instrumentação	27
II. Reagentes e Soluções	28
III. Validação da metodologia para cada pesticida em cada cultura	29
IV. Regressão ponderada e cálculo das concentrações	31
V. Estudos de campo	33
VI. Procedimento analítico dos estudos supervisionado	44
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
I. Validação da metodologia.....	51
II. Validação da metodologia durante o processo de extração	52
III. Gráficos analíticos em matriz utilizadas nas quantificações das amostras tratadas e fortificadas	55
IV. Precisão do processo de extração de amostras tratadas	56
V. Teste performance do sistema (SST)	58
VI. Resíduos em diferentes partes da planta.....	61
VII. Variabilidade	63
CONCLUSÃO.....	73

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
ANEXO I – TABELAS DETALHADAS DOS TESTES DE VALIDAÇÃO PARA OS INSETICIDAS ORGANOFOFORADOS EM CADA CULTURA E GRÁFICOS ANALÍTICOS DE CALIBRAÇÃO	82
ANEXO II – TESTES DE RECUPERAÇÃO DURANTES AS EXTRAÇÕES DOS LOTES DE AMOSTRAS	87
ANEXO III – EQUAÇÕES DOS GRÁFICOS ANALÍTICOS EM MATRIZ PARA CADA SEQUÊNCIA DE INJEÇÃO	93
ANEXO IV – TABELAS DETALHADAS DAS AMOSTRAS ANALISADAS EM LOTES EXTRAÇÃO DIFERENTES.	94
ANEXO V – TABELAS DETALHADAS DAS SOLUÇÕES SST EM CADA SEQUÊNCIA DE INJEÇÕES EM TODAS AS CULTURAS.....	96
ANEXO VI – VALORES CALCULADOS PARA CASCA E POLPA NAS CULTURAS MAMÃO FORMOSA, MAMÃO PAPAYA E MANGA KEIT	99
ANEXO VII – TABELAS COM CONCENTRAÇÕES INDIVIDUAIS DE CADA AMOSTRA TRATADA DE TODAS AS CULTURAS ESTUDAS	102
ANEXO VIII – RESÍDUOS EM AMOSTRAS COLETADAS EM CADA PLANTA	120
ANEXO IX – TABELAS DETALHADAS DAS AMOSTRAS COMPOSTAS....	126

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ácidos utilizados para produção dos inseticidas organofosforados e carbamatos.	5
Figura 2 – Interação entre a parationa metílica (OF) e o carbaril (carbamato) e o grupo hidroxila da serina	6
Figura 3. Coleta da amostra de mamão formosa.	35
Figura 4. Pivô da cultura de mamão formosa da fazenda Agronol.	37
Figura 5. Aplicação manual dos pesticidas diazinona e parationa metílica em mamão formosa.	38
Figura 6. Plantação de mamão formosa indicando a posição do fruto em relação ao fluxo de aplicação dos inseticidas.	39
Figura 7. Aplicação automática dos pesticidas metidationa e parationa metílica em mamão papaya.	40
Figura 8. Pé de manga indicando a posição do fruto em relação ao fluxo de aplicação dos inseticidas.	41
Figura 9. Aplicação manual de metidationa e parationa metílica em abobrinha Itália..	43
Figura 10. Plantação de berinjela mostrando os frutos cobertos pelas folhas.....	44
Figura 11. Fluxograma do processo das amostras coletas nos estudos supervisionados de campo.....	46
Figura 12. Extração das amostras de abobrinha tratadas com acetato de etila e sulfato de sódio anidro.....	47
Figura 13. Reação de silanização do <i>liner</i>	50
Figura 14. Gráficos analíticos em matriz: (a) seqüência 1 da manga; (b) seqüência 2 da abobrinha.	56
Figura 15. Cromatogramas da solução de SST (System Suitability Test) dos compostos diazinona e parationa metílica, injetados na seqüência 1 das análises de berinjela. (a) no início da seqüência de injeções; (b) no meio da seqüência de injeções; (c) no final da seqüência de injeções.....	60
Figura 16. Distribuição dos resíduos em amostras de mamão papaya.....	67
Figura 17. Distribuição dos resíduos em amostras de manga.....	67
Figura 18. Distribuição dos resíduos em amostras de abobrinha.....	68
Figura 19. Distribuição dos resíduos de etiona em amostras de berinjela.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Avaliações de risco da exposição aguda a pesticidas conduzidas pelo JMPR	14
Tabela 2. Resultados sumarizados de Ambrus (2000)*	16
Tabela 3. Volume de solução padrão adicionado na fortificação das amostras.	30
Tabela 4. Características da preparação do gráfico analítico em matriz	31
Tabela 5. Seqüência de injeções para o teste de recuperação.....	32
Tabela 6. Seqüências de injeção para a cultura da Berinjela no CG/FPD.	48
Tabela 7. Sumário dos resultados validação em cada cultura, em % ¹	51
Tabela 8. Parâmetros de validação aceitáveis para análise de pesticidas por cromatografia gasosa (FAO/IAEA, 2002).....	52
Tabela 9. Resultados da validação interna para mamão papaya, manga, abobrinha e berinjela ¹	53
Tabela 10. Resultados da validação interna para mamão formosa, com n=3.....	54
Tabela 11. Média dos valores R ² e Srr dos três gráficos analíticos em matriz por regressão ponderadas para cada combinação cultura/pesticida.	55
Tabela 12. Repetibilidade dos resíduos de porções de uma amostra tratada, extraídas em um mesmo lote	57
Tabela 13. Repetibilidade dos resíduos em uma amostra, extração em lotes diferentes ¹	58
Tabela 14. Coeficiente de variação (CV, %) entre as três injeções para cada seqüência	59
Tabela 15. Resíduos de acordo com a posição do fruto na planta para o mamão papaya e manga.....	62
Tabela 16. Relação entre níveis de resíduos na polpa e na fruta (n=10).....	63
Tabela 17. Valores encontrados (média) de resíduos e variabilidade.....	65
Tabela 18. Fatores de variabilidade calculados por planta;.....	71

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

I. O uso de pesticidas no campo e seus resíduos nos alimentos

O uso de pesticidas (também chamados agrotóxicos, praguicidas ou defensivos agrícolas) ainda é o meio mais utilizado para combater e prevenir doenças causadas por pragas que atingem a atividade agrícola e para controlar vetores que transmitem doenças ao homem.

A legislação brasileira define estes produtos como “agrotóxicos e afins - produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e indústrias, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento” (Brasil, 2002).

A exposição humana a estes compostos pode ocorrer ocupacionalmente (na indústria, no campo e em ambientes urbanos), intencionalmente (suicídio), acidentalmente ou pelo consumo de alimentos tratados no campo. A última estimativa da Organização Mundial de Saúde (OMS) indicou que cerca de 3 milhões de pessoas no mundo são intoxicadas anualmente, ocupacionalmente, acidentalmente ou intencionalmente (WHO, 1990). No Brasil, mais de 5000 casos de intoxicações são registrados oficialmente todos os anos (SINITOX, 2005).

Enquanto a exposição ocupacional ou intencional é consideravelmente alta e atinge populações específicas, a exposição a pesticidas por meio do consumo de alimentos tratados atinge toda a população e se situa em níveis significativamente mais baixos, mas pode oferecer risco à saúde (FAO, 2003). Desta maneira o uso racional destes produtos, no campo, protege não só o trabalhador, mas também a população que consome seus alimentos.

O Limite Máximo de Resíduos

O uso adequado de pesticidas no campo implica que o agricultor aplique o produto somente em culturas para as quais existe o registro de uso aprovado no país e de

acordo com as boas práticas agrícolas (BPA), isto é, seguindo as orientações de uso contidas no rótulo do produto. Entre estas orientações estão a preparação da calda, a frequência e o intervalo de aplicação, e o intervalo de segurança, ou o tempo entre a última aplicação e a coleta do produto (Caldas, 1999), o modo de aplicação e os cuidados que se deve ter no manuseio do produto e descarte das embalagens. Estudos supervisionados de campo com cada combinação cultura/pesticida, conduzidos pelas indústrias de pesticidas de acordo com as BPA, geram dados que serão utilizados pelos governos para o estabelecimento dos limites de tolerância de resíduos nos alimentos. Desta maneira, a presença em uma determinada cultura de resíduos de pesticidas acima dos limites legais estabelecidos é uma indicação do mau uso do produto no campo (FAO, 2002).

A legislação brasileira (Brasil, 2002) define estes limites legais, ou limite máximo de resíduos (LMR) como “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 partes (em peso) do agrotóxico e afim ou seus resíduos por milhão de partes de alimento ppm ou mg/kg”. No Brasil, os LMR são estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, órgão do Ministério da Saúde (ANVISA, 2005a). Todo o processo de registro envolve também o Ministério de Agricultura e Abastecimento, que avalia a eficiência agrônômica, e o Ministério do Meio Ambiente, que avalia o impacto do produto no meio ambiente e em outros organismos vivos (Brasil, 2002).

Internacionalmente, os limites máximos de resíduos (LMR) são estabelecidos pelo Comitê de Resíduos de Pesticidas do *Codex Alimentarius* (CCRP), baseado nas recomendações do Grupo de Peritos em Resíduos de Pesticidas da FAO/OMS (JMPR). Este Grupo recebe das indústrias de pesticidas os resultados dos estudos supervisionados de campo conduzidos em diversos países, e, em princípio, os LMR recomendados podem acomodar o uso do produto em qualquer país. Adicionalmente, os governos podem submeter dados que suportem especificamente o uso de algum pesticida localmente (FAO, 2002). Principalmente, estas recomendações têm como objetivo facilitar o comércio internacional de alimentos, eliminando barreiras sanitárias (Codex, 2003).

Até 1990, o Brasil utilizava como parâmetros legais nacionais os valores de MRL estabelecidos pelo *Codex*, quando a Legislação Federal de Agrotóxicos e Afins (Brasil, 1990), dispôs novas normas para o registro dos pesticidas. Dentre estas

determinações está a obrigatoriedade para o registro de novos produtos, para a inclusão de novas culturas, para a reavaliação de produtos e para o estabelecimento dos LMR por meio de estudos supervisionados de campo. O Brasil possuía, até setembro de 2004, cerca de 439 ingredientes ativos registrados e 1002 formulações (ANVISA, 2005a).

Os resíduos em alimentos

O primeiro programa de monitoramento nacional de resíduos de pesticidas em alimentos foi iniciado em 2001 pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2005b). Segundo seus organizadores, o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) representa um esforço das autoridades brasileiras em garantir que as boas práticas agrícolas (BPA) sejam devidamente cumpridas nas produções destinadas ao consumo interno (Oliva *et al*, 2003).

O objetivo geral deste programa é avaliar os níveis de resíduos de pesticidas nos alimentos *in natura* que chegam à mesa do consumidor. Para isso foram escolhidos 92 princípios ativos para serem analisados nas culturas alface, banana, batata, cenoura, laranja, maçã, mamão, morango, tomate. As amostras foram coletadas nas capitais dos Estados do Espírito Santo, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraná, Pernambuco, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e no Município de São Paulo (ANVISA, 2005b).

Entre julho de 2001 e dezembro de 2003, foram analisadas 2647 amostras. Das 243524 análises realizadas (92 compostos analisados por amostra), 1321 apresentaram resíduos acima do limite de quantificação do método (LOQ). Dos resultados positivos, 31,9% não estavam de acordo com a legislação vigente, por conterem resíduos de compostos não permitidos para a cultura em questão ou por apresentarem níveis de resíduos acima do limite máximo de resíduos (LMR). Os fungicidas ditiocarbamatos, classe de fungicidas não-sistêmicos bastante utilizados na agricultura, e os inseticidas organofosforados, os mais tóxicos hoje em uso, foram os pesticidas mais freqüentemente encontrados, com cerca de 20% de amostras positivas para cada classe de compostos (ANVISA, 2005b).

Poucos são os laboratórios no país que realizam análise de resíduos de pesticidas em alimentos, e um menor número ainda publica seus resultados. No Rio Grande do Sul, 18 amostras de tomate foram coletadas nos municípios de Santa Maria e Ijuí entre 2000 e 2001 e analisadas quanto à presença dos organofosforados acefato, clorpirifós, malationa, metamidofós e parationa metílica. Apenas uma amostra apresentou níveis

acima dos LMR – 2,4 mg/kg de metamidofós enquanto que seu LMR é 0,3 mg/kg (Gobo, *et al*, 2004). Conceição (2002) também conduziu estudos em tomates e, entre outros pesticidas, o organofosforado (OF) metamidofós foi analisado. Das oito amostras analisadas, o pesticida foi detectado em apenas uma amostra e num nível bem abaixo do LMR.

Os ditiocarbamatos são analisados espectrofotometricamente como dissulfeto de carbono (CS₂), após a hidrólise ácida dos compostos desta classe presentes no alimento (Keppel, 1971; Caldas *et al*, 2001). Entre agosto de 1998 e julho de 2003, 520 amostras de banana, mamão, maçã, morango, laranja, batata, tomate, arroz e feijão coletadas no comércio do Distrito Federal foram analisadas quanto ao teor de ditiocarbamatos (Caldas *et al.*, 2004). Foram encontrados níveis detectáveis de ditiocarbamatos (>0,10 mg/kg CS₂) em 60,8% das amostras analisadas, com morango, mamão e banana apresentando os maiores níveis (3,8 mg/kg). Como na época o LMR para esta classe eram definidos para cada composto separadamente, não foi possível observar a concordância com os parâmetros legais.

Entre 1994 e 2004, o Laboratório de Resíduos de Pesticidas do Instituto Biológico-SP, analisou 30 pesticidas em cerca de 7300 amostras de frutas e vegetais. As amostras foram coletadas na CEAGESP (Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo). Cerca de 1% das amostras analisadas continha pesticidas acima dos LMR e 13% apresentaram resíduos para compostos não permitidos para a cultura. (Gebara *et al*, 2005).

II. Toxicidade dos pesticidas e os parâmetros de segurança para o homem

Os Organofosforados (OF) e os carbamatos são classes de pesticidas utilizados como inseticidas na agricultura em grande parte dos países. São compostos derivados dos ácidos fosfóricos e tiofosfórico e do ácido carbâmico, respectivamente (Figura 1).

Os primeiros compostos organofosforados foram sintetizados no final da década de 30 por cientistas alemães e devido à sua alta toxicidade, foram utilizados na II Guerra Mundial como arma química (Ecobichon, 1996). Em março de 1995, um atentado terrorista no metrô do Japão utilizou o gás Sarin, composto organofosforado conhecido como O-isopropil-metil-fosforo-fluoridato, ocasionando a morte de 12 pessoas e mais de 5000 intoxicações (Okumuraa *et al*, 2005). Os organofosforados utilizados hoje na agricultura pertencem à terceira geração de organofosforados, sendo menos tóxicos ao

homem e mais seletivos com relação ao organismo alvo (Ecobichon, 1996). Atualmente, 38 ingredientes ativos da classe dos organofosforados e 99 formulações são registrados no Brasil (ANVISA, 2005a).

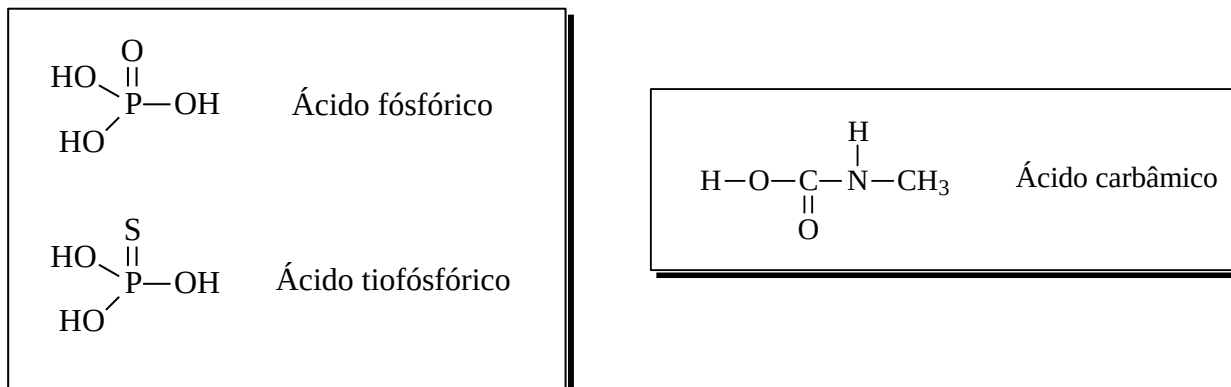


Figura 1 – Ácidos utilizados para produção dos inseticidas organofosforados e carbamatos.

O primeiro pesticida da classe dos carbamatos, um éster alifático do ácido carbâmico, foi sintetizado em 1930 e inicialmente comercializado como fungicida. Estes ésteres possuíam baixa atividade inseticida, e na década de 50 foram sintetizados aril ésters derivados do ácido metilcarbâmico, os quais apresentavam potente ação inseticida (Ecobichon, 1996). De acordo com a ANVISA (2005), até setembro de 2004, o Brasil possuía 18 princípios ativos e 41 formulações de carbamatos e metilcarbamatos.

Os inseticidas organofosforados e carbamatos são também chamados de inseticidas anti-colinesterase. Embora a natureza das estruturas químicas desses compostos seja diferente, eles possuem o mesmo mecanismo de ação tóxica no organismo, pois inibem a ação da enzima acetilcolinesterase (AChE), responsável pela desativação do neurotransmissor acetilcolina (Figura 2). A inibição ocorre na hidroxila do aminoácido serina no sítio ativo da AChE.

O acúmulo de acetilcolina nas terminações nervosas leva a uma contínua estimulação dos receptores muscarínicos, atingindo o sistema nervoso autônomo parassimpático, seguida da estimulação dos receptores nicotínicos, atingindo o sistema simpático e sistema nervoso central. Entre os sintomas de intoxicações agudas por esses inseticidas estão aumento de secreção, broncoconstrição, taquicardia, hipertensão

arterial, tremores, fraqueza, perda de memória, convulsões, coma e morte (Ecobichon, 1996).

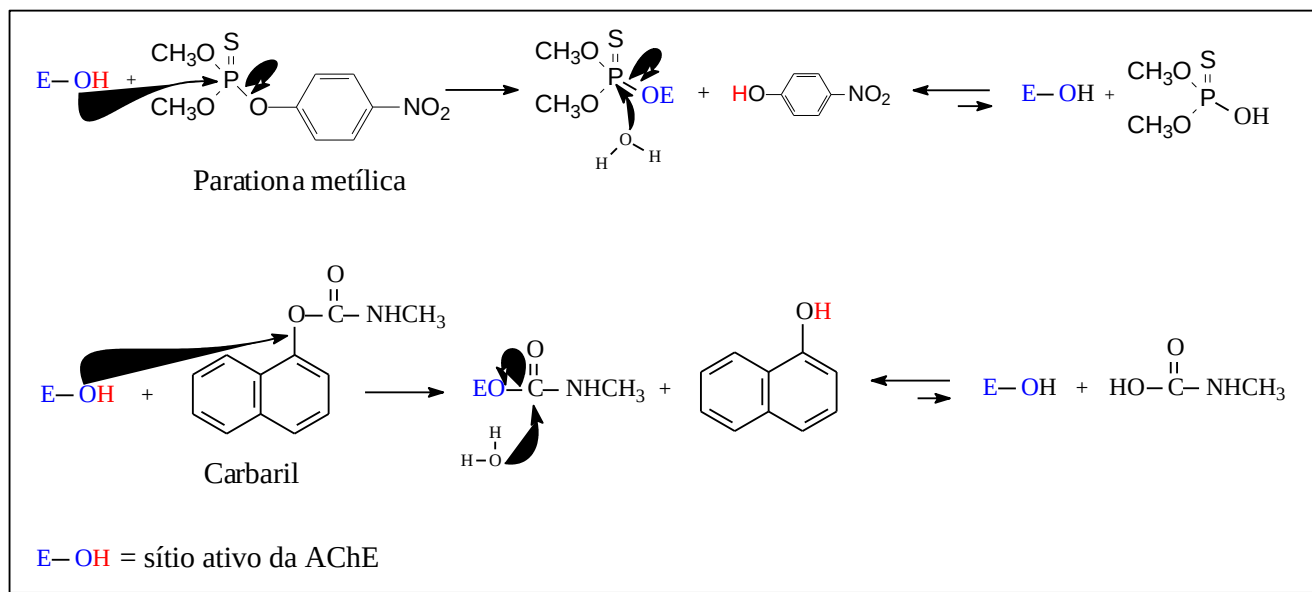


Figura 2 – Interação entre a parationa metílica (OF) e o carbaril (carbamato) e o grupo hidroxila da serina

Os consumidores de alimentos tratados com pesticidas estão diariamente expostos a esses compostos pela ingestão de seus resíduos. Para calcular o risco que essa ingestão pode causar, é necessário confrontar as quantidades ingeridas com parâmetros toxicologicamente seguros. Atualmente são utilizados dois parâmetros toxicológicos: a IDA (Ingestão Diária Aceitável) para as avaliações de risco crônico e a ARfD (Dose aguda de referência) para avaliações de risco agudo.

A IDA representa a quantidade do pesticida que pode ser ingerida ao longo da vida sem que ocorram efeitos adversos à saúde. A IDA é calculada em mg/kg de peso corpóreo/dia e é estabelecida para cada pesticida por meio de estudos toxicológicos conduzidos em animais de laboratório (WHO, 1997). Os estudos realizados pelas indústrias fornecem dados de absorção, distribuição nos órgãos, biotransformação, potencialização, neurotoxicidade, função reprodutiva, teratogenicidade, mutagenicidade, toxicidade aguda e crônica. O efeito da relação dose-resposta é observado por meio desses dados e então, determina-se a dose na qual nenhum efeito adverso foi observado (NOAEL) (Caldas, 1999). A IDA é obtida aplicando-se a esta dose o fator de segurança, normalmente, igual a 100. Este valor representa a variação de sensibilidade entre as

espécies testadas e o homem (assumindo-se que o ser humano é 10 vezes mais sensível) e a variação de sensibilidade entre os indivíduos da população humana (alguns indivíduos podem ser 10 vezes mais sensíveis que a média da população).

A dose de referência aguda ARfD (Acute Reference Dose), “de uma substância química é a estimativa da quantidade desta substância em alimentos ou água potável, expressa como base o peso corpóreo, que pode ser ingerida em um período curto de tempo, em uma ocasião ou até mesmo em um dia, sem risco apreciável à saúde do consumidor, baseado nos conhecimentos na época da avaliação” (WHO, 1997). A ARfD foi redefinida em 2002 pelo JMPR, como o parâmetro toxicológico que indica a quantidade máxima que pode ser ingerida em um período de 24h ou menos. Assim como a IDA, o valor da ARfD é calculado por meio de estudos toxicológicos e o fator de segurança também é aplicado à dose em que nenhum efeito adverso foi observado (Renwick, 2000). Normalmente, a ARfD reflete o valor seguro de exposição aguda para toda a população, porém, em alguns casos, doses diferentes devem ser estabelecidas para subgrupos da população. Por exemplo, crianças são mais sensíveis a compostos que afetam o desenvolvimento e gestante a compostos com potencial teratogênico (Renwick, 2000; FAO, 2004).

III. Risco da exposição humana aos pesticidas por meio da dieta

Nos últimos anos, a avaliação da exposição humana aos pesticidas por meio do consumo de alimentos e os riscos desta exposição para a saúde são considerados, cada vez mais, parte essencial do processo de registro de produtos pelos governos e pelas recomendações do sistema *Codex Alimentarius* (Surhre, 2000; EPA, 2000; EU, 2001). Os governos podem cancelar o registro de alguns produtos, em todas ou algumas culturas, ou restringir o seu uso dentro de certas práticas agrícolas (com a diminuição da dose ou frequência de aplicação, ou aumento do tempo de carência, por exemplo) se o processo de avaliação indicar um risco para a saúde de sua população (EPA, 2000). Internacionalmente, o *Codex Alimentarius* sinaliza aos governos quando o uso de alguns produtos em certas culturas pode significar um risco para a saúde, baseado em dados internacionais de resíduos e de consumo de alimentos (Codex, 2003). Neste caso, cabe aos governos refinarem o estudo para avaliar o risco utilizando dados nacionais (FAO, 2003).

No processo de avaliação de risco, três grupos de dados são necessários: a concentração de pesticida nos alimentos, o consumo de alimentos para uma dada população de estudo e o parâmetro toxicológico de segurança, seja ela exposição crônica (IDA) ou exposição aguda (ARfD).

A exposição crônica

Na avaliação da exposição crônica, isto é, durante toda a vida, o cálculo da ingestão diária é feito considerando o somatório da ingestão de todos os alimentos numa dieta de uma população, de acordo com a equação (1). A estimativa da ingestão, em mg/kg peso corpóreo, é feita para um único pesticida ou, em casos especiais, para um grupo deles. Desta maneira, **R** é a concentração de resíduos de um dado composto (ou grupo) no alimento *i*, em mg/kg; **C** é o consumo diário, em kg, deste alimento pela população em estudo e o **pc** o peso corpóreo desta população, em kg (WHO, 1997).

$$\text{Ingestão} = \frac{\sum(R_i \times C_i)}{pc} \quad (1)$$

A estimativa da ingestão dependerá então da qualidade dos dados envolvidos no seu cálculo. Quanto mais estes dados se aproximarem dos dados reais, melhor a estimativa.

Para se avaliar o risco desta exposição, a ingestão é comparada ao parâmetro toxicologicamente seguro (IDA), em mg/kg pc/dia, e expressa em %IDA. O risco pode existir quando a ingestão é superior à IDA (>100%IDA) (WHO, 1997).

No Brasil, assim como em outros países em desenvolvimento, a legislação não prevê estudos de avaliação de risco no processo de registro do pesticida. O Decreto nº 4074 (Brasil, 2002) prevê que “rotinas e procedimentos visando à implementação da avaliação de risco de agrotóxicos e afins” sejam desenvolvidos.

O primeiro trabalho de avaliação do risco de pesticidas na dieta no Brasil foi publicado em 2000 (Caldas e Souza, 2000). Neste trabalho, os limites máximos de resíduos estabelecidos pela legislação brasileira até dezembro de 1999 foram utilizados como parâmetros de resíduos de pesticidas em alimentos, com o cálculo da Ingestão Diária Máxima Teórica (IDMT), e peso corpóreo médio de 60 kg, de acordo com a recomendação da OMS (WHO, 1997). Dados de consumo alimentar foram obtidos do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e os valores de IDA foram obtidos

de vários países e do *Codex Alimentarius* (menor valor encontrado). Para os 281 compostos avaliados no estudo, 23 apresentaram risco para a saúde do consumidor brasileiro, isto é, pelo menos para uma região metropolitana do país, a IDTM ultrapassou a IDA (>100%IDA).

Este estudo foi posteriormente atualizado, utilizando-se os LMR vigentes até janeiro de 2004 e IDA nacionais, e adicionalmente, um refinamento do estudo foi conduzido com dados de resíduos gerados pelo programa PARA (Caldas e Souza, 2004). Neste estudo, apenas oito compostos tiveram a IDTM (Ingestão Diária Teórica Máxima) ultrapassando a IDA, incluindo os organofosforados etiona (170% IDA) e a metidationa (140% IDA). A exposição diária a estes compostos é preocupante por causa de sua ação inibidora da acetilcolinesterase (Ecobichon, 1996). A avaliação de risco crônico conduzida, baseado nos valores encontrados no PARA, mostrou que a %IDA foi expressamente menor que a ingestão teórica, para todos os compostos. Caldas *et al* (2004) refinou o estudo de avaliação de risco para os fungicidas ditiocarbamatos, utilizando dados de resíduos destes compostos, analisados como CS₂, encontrados nas 520 amostras coletadas no Distrito Federal. A %IDA para o metam sódio foi 130%, indicando um potencial risco da exposição da população do DF a este composto na dieta.

A exposição aguda

Até meados da década de 90, os estudos de avaliação de risco focavam-se na exposição crônica, pois, para vários compostos, alguns animais são mais sensíveis a pequenas doses repetidas por um longo período do que altas doses únicas (Hamilton *et al.*, 2004). No entanto, relatos de intoxicações agudas pelo consumo de alimentos altamente contaminados devido ao uso abusivo de pesticidas no campo (Goldman *et al.*, 1990, *appud* Hamilton *et al.*, 2004) indicaram a necessidade de se avaliar este tipo de exposição.

Desde que os pesticidas começaram a ser usados no campo para controle e prevenção de pragas e doenças, os resíduos da substância utilizada que permaneciam no alimento eram tratados como uniformes (Hamilton *et al.*, 2004). No início dos anos 90, porém, no Reino Unido, análises de amostras individuais de cenouras indicaram que as concentrações de alguns pesticidas, particularmente o organofosforado triazofós, podiam ser até 25 vezes maiores que os níveis encontrados nas amostras compostas, que contêm várias unidades de cenoura homogeneizadas (Harris, 2000). Desta maneira, um

consumidor poderia estar exposto a triazofós durante o consumo de uma única cenoura, a um nível até 25 vezes maior do que se poderia supor se o valor médio deste composto encontrado em amostras compostas de cenoura fosse considerado no cálculo da ingestão.

De acordo com Marrs (2000), algumas intoxicações agudas pela ingestão de pesticidas por meio do consumo de um alimento contaminado, podem passar despercebidas, por serem diagnosticadas como contaminação microbiológica. Por exemplo, resíduos dos pesticidas inibidores da acetilcolinesterase podem causar dores abdominais, cólicas e diarreia, sintomas também característicos de contaminações por microorganismos.

Em 1997, uma Consultoria OMS/FAO desenvolveu uma metodologia para avaliar a exposição aguda aos pesticidas, por meio do cálculo da ingestão aguda estimada, internacional ou nacionalmente, denominada International ou National Estimated Short-Term Intake (IESTI ou NESTI) (WHO, 1997). Durante o encontro, foi reconhecida a importância da variabilidade de resíduos de pesticidas entre as unidades de um mesmo lote de um alimento para avaliar a exposição aguda. Além disso, foi determinado que o parâmetro toxicológico usado na avaliação do risco agudo seria a Dose de Referência Aguda (ARfD) (WHO, 1997).

Enquanto a avaliação do risco crônico utiliza o valor médio de consumo de alimento durante um longo período, a avaliação de risco agudo avalia a exposição por meio de uma única refeição, ou seja, um indivíduo pode consumir uma porção muito maior de um determinado alimento em uma refeição, do que a média consumida durante a vida. Adicionalmente, esta porção pode conter um determinado pesticida em níveis muito maiores do que os valores médios normalmente utilizados para avaliar uma exposição crônica (WHO, 1997; Hamilton *et al.*, 2004).

Para entender a metodologia para o cálculo da exposição aguda é necessário considerar que alguns alimentos são consumidos em unidades, como maçãs, pêras e laranjas, e outros, são consumidos como parte de uma unidade, como a melancia. Para avaliar uma exposição aguda por meio do consumo destes alimentos, a média de resíduos encontrados no lote do alimento, que é representada pela quantidade de resíduos na amostra composta, não é adequada, pois existe uma diferença na quantidade de resíduos entre as unidades do lote. Para alimentos como cerejas, ervilhas e arroz, as porções consumidas possuem unidades que, em princípio, podem ser originárias de

vários lotes, neste caso, a média de resíduos em amostras compostas pode ser mais representativa (Hamilton *et al.*, 2004).

Durante a consultoria FAO/WHO (WHO, 1997), o fator de **variabilidade v** foi definido pela primeira vez como sendo o maior valor de resíduo encontrado na unidade do alimento dividido pela quantidade encontrada na amostra composta. Amostra composta, de acordo com o *Codex Alimentarius*, para alimentos de peso unitário de até 250 g, deve conter no mínimo 10 unidades, ou no mínimo 1 kg; para amostras acima de 250 g, uma amostra composta deve conter no mínimo 5 unidades (Codex, 1988). Desta maneira, supondo-se que uma única unidade que compõe uma amostra composta pode conter todo o resíduo desta amostra, o fator de variabilidade poderia ser igual ao número de unidades desta amostra. Então, fatores de variabilidade 10 e 5 foram estabelecidos para alimentos cuja unidade estivesse entre 25 g e 250 g, e acima de 250 g, respectivamente. Para alimentos com massa menor que 25 g, não seria necessário aplicar o fator de variabilidade.

A metodologia desenvolvida em 1997 foi posteriormente refinada pelo JMPR (FAO, 2000; 2001; 2003; 2004) e o fator de variabilidade passou a ser definido como sendo a razão entre o valor 97,5 percentil dos valores de resíduos encontrados nas unidades individuais do lote das amostras analisadas e a média das concentrações das unidades deste lote (FAO, 2003). Em 2003, o JMPR adotou $v=3$ para cálculo da estimativa de risco agudo em todos os alimentos com unidades acima de 25 g (FAO, 2004), baseada nas conclusões de um projeto financiado pela IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) no qual foram avaliados os dados disponíveis dos estudos supervisionados de campo para obtenção do fator de variabilidade v (Hamilton, 2004). Neste estudo, cerca de 8000 amostras analisadas individualmente, originárias de estudos de campo e de amostras coletadas no comércio, indicavam que, para a maioria dos estudos, o fator de variabilidade variava entre 2 e 3.

Diferentemente do cálculo da exposição crônica, em que o cálculo da exposição considera toda a dieta, a estimativa da IESTI é feita para cada combinação pesticida/alimento separadamente. No âmbito internacional, os dados de consumo (LP e U) e de peso corpóreo, para adultos e crianças até 6 anos, são fornecidos pela Austrália, França, Holanda, Japão, África do Sul, Inglaterra, Suécia e Estados Unidos. A metodologia atualmente utilizada (FAO, 2004) para o cálculo da ingestão aguda (IESTI), utiliza diferentes equações dependendo da quantidade, em gramas, da unidade

da cultura (U) e de sua proporção em relação à maior porção consumida (LP). Para o cálculo da IESTI, algumas definições são importantes:

LP – Large Portion; maior porção de consumo por dia do alimento. Representa a porção de 97,5 percentil dos consumidores.

HR – Highest Residue; maior valor de resíduos (mg/kg) encontrado em amostras compostas, da parte comestível do alimento, de estudos supervisionado de campo para obtenção do LMR.

HR-P – Highest Residue in Processed commodity; maior valor de resíduos encontrados em alimentos processados.

bw – Body weight; peso corpóreo; peso corpóreo médio da população do país em que o dado de maior porção de consumo foi utilizado.

U – Unit weight; massa da unidade do alimento (g) do país na região em que os estudo supervisionado para obtenção do LMR apresentou maior resíduo.

v – variability factor; fator de variabilidade que corresponde ao valor de 97,5 percentil da quantidade de resíduos, dividido pela média das amostras no estudo de campo controlado para avaliar a variabilidade.

STMR – Supervised Trials Median Residue; mediana dos valores de resíduos em amostras compostas encontrada nos estudos supervisionados com uso da quantidade máxima de pesticida aprovado.

STMR-P – Supervised Trials Median Residue in Processed commodity; mediana dos valores de resíduos em amostras compostas encontrada nos estudos supervisionados com uso da quantidade máxima de pesticida aprovado em alimentos processados.

Caso 1: – utilizado para alimentos com massa inferior a 25 g, quando o nível de resíduos encontrado em um amostra composta reflete o nível de resíduos encontrados no alimento consumido (por exemplo cereja e morango). Neste caso, os alimentos são bastante homogeneizados e podem ser originados de vários lotes.. Caso 1 também se aplica para alimentos de origem animal, exceto leite, e para cereais, leguminosas, sementes oleaginosas e alimentos processados quando a estimativa do HR foi baseada no uso pós-colheita do pesticida. A ingestão é então calculada pela fórmula (equação 2):

$$IESTI = \frac{LP \times HR}{bw} \sim \frac{LP \times HR - P}{bw} \quad (2)$$

Caso 2 – é utilizado para alimentos cujas unidades individuais são maiores que 25 g e o resíduo da amostra composta não representa a quantidade que pode ser ingerida em uma refeição. Duas situações podem ocorrer: (a) para alimentos em que a massa da maior porção de consumo (LP) ultrapassa a unidade do alimento ou (b) quando a porção for menor que o peso de a unidade do alimento.

Caso 2a. Neste caso, a massa da porção comestível da unidade do alimento (U) é menor que a massa da maior porção de consumo (LP). Na primeira parte do numerador, a massa da unidade do alimento é multiplicada pelo maior valor de resíduo encontrado nos estudos supervisionados pelo fator de variabilidade, ou seja, assumiu-se que a primeira unidade do alimento será a que irá possuir a maior quantidade de resíduo. A segunda parte do numerador é a maior porção de consumo, menos a unidade já consumida. Por exemplo, se o consumidor comer 2 maçãs, apenas a primeira contém o valor mais alto de resíduos ($U \times HR \times v$), a segunda maçã a ser consumida deverá conter o valor obtido de uma amostra composta, que representa a média dos resíduos das amostras de um lote.

$$IESTI = \frac{(U \times HR \times v) + (LP - U) \times HR}{bw} \sim \frac{(U \times HR - P \times v) + (LP - U) \times HR - P}{bw} \quad (3)$$

Caso 2b. Já neste caso, a massa da maior porção comestível do alimento é superior a massa de sua unidade. Então o consumidor irá ingerir parte da unidade do alimento com maior quantidade de resíduo.

$$IESTI = \frac{LP \times HR \times v}{bw} \sim \frac{LP \times HR - P \times v}{bw} \quad (4)$$

Caso 3: Utilizado para cereais, leguminosas, sementes oleaginosas e alimentos processados quando a estimativa do HR foi baseada no uso pré-colheita do pesticida.

$$IESTI = \frac{LP \times STMR}{bw} \sim \frac{LP \times STMR - P}{bw} \quad (5)$$

Para se avaliar o risco de uma exposição aguda, para cada binômio composto/pesticida, a IESTI é comparado com o parâmetro toxicologicamente seguro de exposição aguda, a ARfD. Assim como na avaliação de risco crônico, pode existir risco quando o valor encontrado para IESTI supera a ARfD. Desde 1999 o JMPR conduz estudos de avaliação de risco agudo comparando a IESTI calculada de acordo com a metodologia já descrita, com os parâmetros de referência, a ARfD, estabelecidos pelo próprio JMPR.

A Tabela 1 apresenta alguns resultados obtidos pelo JMPR nos últimos anos, em que IESTI calculada se mostrou muito acima das ARfD (%>100). O cálculo é feito para dados de consumo para população de forma geral e para crianças entre 0 e 6 anos de idade. Considerando que o consumo de alimentos por peso corpóreo é maior para crianças, esta população normalmente está sob uma situação de maior risco.

Tabela 1. Avaliações de risco da exposição aguda a pesticidas conduzidas pelo JMPR

Ano	Pesticida	Cultura	% ARfD	
			Adultos	Crianças ≤ 6 anos
2001 ¹	Fenamifós	Tomate	170	600
	Fosmet	Nectarina	780	2200
		Maçã	1200	3500
		Pêra	910	3000
2002 ²	Carbaril	Uva	460	1210
	Clorprofan	Batata	1080	2680
	Metomil	Brócolis	490	920
		Espinafre	2600	8010
	Oxamil	Maçã	330	830
		Uva	510	790
		Laranja	260	1050
2005 ³	Fenitrothion	Milho	80	160
		Trigo	90	150
	Fenpiroximato	Uva	120	310
	Oxidemeton-metil	Uva	80	220
	Procloraz	Cogumelo	130	150

1. FAO, 2002; 2. FAO, 2003; 3. FAO, 2004

Na Dinamarca um estudo foi conduzido para avaliar a exposição cumulativa aguda da ingestão de organofosforados (OF) e carbamatos pelo consumo de frutas, vegetais e cereais. Dados de resíduos de 32 OF e 3 carbamatos encontrados em 9860 amostras analisadas no período de 1996 a 2001 no país foram utilizados. O estudo concluiu que o nível de exposição desta população a esses compostos não significa um risco para a saúde (Jensen *et al*, 2003).

O fator de variabilidade de resíduos de pesticidas

Desde que foi observado que a quantidade de resíduos nas unidades individuais era bastante variável, foram iniciados estudos para que esse fenômeno fosse mais bem elucidado. De acordo com Harris (2000), as condições da aplicação do pesticida no campo, assim como as condições climáticas no momento da aplicação seriam alguns dos fatores que mais influenciariam a distribuição dos resíduos. Por outro lado, estudos conduzidos com diferentes tipos de culturas apontam que não existe correlação entre a variabilidade dos resíduos com o tamanho do alimento, o nível de resíduos, as características físico-químicas do ingrediente ativo e nem o intervalo entre a aplicação e a coleta (Hamilton *et al.*, 2004).

Ambrus (2000), examinou alguns dados experimentais de estudos relativos à distribuição de resíduos de pesticidas em unidades de tomates, kiwis, maçãs e batatas. Nesta investigação, para cada cultura foram considerados os diferentes pesticidas aplicados, a forma de aplicação e o intervalo de coleta das amostras a partir da última aplicação do produto. De acordo com Ambrus (2000), a área tratada deve ser devidamente representada para obter informações sobre a distribuição de resíduos. Como as frequências relativas de distribuição dos resíduos são bastante variadas, não se pode obter uma distribuição normal. Para isso uma porcentagem específica da população pode ser estimada aplicando a estatística da distribuição livre. De acordo com esses cálculos, é necessário coletar 300 unidades da cultura na área tratada para estimar a maior concentração de resíduo com 99% de probabilidade com 95% de confiança. Para estimar as concentrações equivalentes ao 97,5 e 95 percentil com 95% de confiança, são necessárias 120 e 59 unidades tratadas da cultura, respectivamente.

Em Ambrus (2002) foi investigado na cultura da maçã, a relação entre a quantidade de resíduos encontrada nas amostradas e a disposição dos frutos nas plantas.

As amostras de maçã foram coletadas em seis partes diferentes da planta e classificadas como expostas ou não expostas (frutos na parte interna) nas partes altas, no meio e na parte mais baixa. A média dos resíduos encontrados nas amostras mais expostas foi maior que a média das amostras não expostas, mas esta diferença não foi significativa. A batata foi à única cultura que recebeu aplicação granular, as demais receberam aplicação foliar. A Tabela 2 representa o resumo dos resultados. O fator de variabilidade (97,5 percentil/média) encontrado para maçã e kiwi variou entre 2,5 e 4,4 e para batatas entre 2,5 e 9,1. De acordo com o autor, o valor de 9,1 para batatas foi observado devido à forma de aplicação, granular, que normalmente é mais heterogênea que a aplicação foliar.

Tabela 2. Resultados sumarizados de Ambrus (2000)*

Cultura	Pesticida	Amostras analisadas/ >LOQ	Maior valor, mg/kg	97,5 P, mg/kg	Média, mg/kg	Fator v = 97,5 percentil/média
Tomate	Mancozeb	90/90	9,4	-	3,92	2,4
	Zineb	90/90	2,9	-	0,81	3,6
Kiwi	Clorpirifós	209/189	0,72	0,59	0,171	3,4
	Diazinona	209/196	0,14	0,13	0,046	2,8
	Permetrina	209/184	0,21	0,2	0,051	3,9
	Pirimifós-M	209/202	1,09	0,68	0,152	4,5
	vinclozolin	209/209	2,64	2,23	0,759	3,1
Maçã	Clorpirifós-M					
	dia 0	309/309	1,05	0,68	0,212	3,2
	dia 14	309/309	0,106	0,082	0,027	3,0
Batata	Aldicarb ^a	100/100-76	-	0,15 -0,93 ^b	0,045 -0,229	2,5-9,1 ^c

* adaptado de Hamilton *et al*, 2004 e Ambrus, 2000; ^a 12 áreas tratadas, 100 amostras em casa área; ^b Concentração máxima representa 97 percentil com 95% de confiança; ^c intervalo encontrado nas 12 diferentes áreas tratadas utilizadas no estudo;

Hamilton e colaboradores (2004) resumiu vários dos estudos recentes para determinação do fator de variabilidade em diversas culturas. Os estudos foram conduzidos com amostras coletadas em supermercados e de trabalhos controlados no campo. Na grande maioria destes estudos, os valores para os fatores de variabilidade encontrados permaneceram entre 2,0 e 3,0 e, segundo o autor, o valor 3 poderia ser adotado ao invés dos valores recomendados pela WHO em 1997.

Vários estudos com amostras coletadas no comércio tiveram como objetivo avaliar a qualidade do método de amostragem em programas de monitoramento. Num estudo conduzido no Reino Unido, 289 lotes de frutas, contendo cada um 110 unidades individuais, foram adquiridas no comércio local para análise quanto ao teor de pesticidas, incluindo carbamatos e organofosforados (Harris and Hamey, 1999). Primeiramente, amostras compostas de cada lote, contendo 10 unidades, foram analisadas e quando apresentaram resultados positivos para os pesticidas em estudo, as unidades individuais do lote eram analisadas (100 unidades). Trinta e duas amostras compostas, representando 32 lotes, apresentaram resíduos. O fator de variabilidade destes lotes (maior valor de resíduo nas unidades/ média dos resíduos) variaram entre 2 e 13 para a maioria dos lotes, com exceção do metamidofós e do carbaril em pêra e propargita em nectarina, cujo fator de variabilidade foi de 29.

Hill (2000) discutindo os resultados deste estudo conduzido no Reino Unido, conclui que a precisão analítica não contribuiu significativamente para a variabilidade dos resíduos encontrados nas unidades, com exceção de alguns casos em algumas folhosas onde esta variabilidade foi baixa. A distribuição dos resíduos das unidades individuais aproximou-se de uma distribuição log-normal, positivamente deslocada (*skew positive*). Este tipo de distribuição de resíduos também foi descrita por Ambrus (2000).

Com o objetivo de avaliar o método de amostragem conduzido no programa de monitoramento na Agência Nacional de Alimentos da Suécia (NFA- Swedish National Food Administration), Anderson (2000) comparou os níveis de resíduos de vários pesticidas em amostras compostas e unidades individuais de 7 frutas e vegetais. A variabilidade dos resíduos (maior valor de resíduo/ média) variou entre 1,3 para

procimidona em pimenta e 4,6 para monocrotofós em uvas (n entre 10 e 30). Os autores concluíram que a amostragem utilizada pelo NFA é adequada (3 amostras de 1-2 kg, que são analisados por dois laboratórios diferentes). A decisão de analisar as unidades individuais de um lote amostrado depende da toxicidade aguda pesticida e da quantidade de resíduo encontrado na amostra composta.

Num estudo realizado nos EUA (Earl *et al.*, 2000) em uma plantação de pêssegos com 120 árvores tratadas com inseticida organofosforado, foram coletadas 200 amostras de vinte e cinco árvores selecionadas aleatoriamente (oito de cada árvore). Cada amostra foi analisada individualmente. A partir dos 200 extratos, foram criados 20 grupos cada um com alíquotas de 10 extratos para obter 20 amostras compostas. As concentrações de resíduos variaram entre 0,18 mg/kg e 1,5 mg/kg nas unidades individuais e entre 0,06 mg/kg e 0,34 mg/kg nas amostras compostas. O fator de variabilidade calculado pela razão entre o valor 97,5 percentil e a média das amostras compostas foi 3,4. Lentza-Rizos e Tsioumplekou (2001) avaliaram o comportamento da disposição dos resíduos dos metabólitos do aldicarbe, aldicarbe-sulfóxido e aldicarbe-sulfona, em unidades de laranjas, na Grécia. O aldicarbe pertence à classe dos carbamatos e seu metabólito aldicarbe-sulfóxido é 10 a 20 vezes mais ativo no mecanismo de inibição da acetilcolinesterase do que o aldicarbe. O produto de formulação granular foi aplicado no solo e as amostras foram coletadas após 0, 15, 29, 57, 88 e 120 dias após a aplicação. Foram coletadas 36 amostras em cada intervalo. Somente os metabólitos de aldicarbe foram detectados nas amostras analisadas. Os fatores de variabilidade v (maior quantidade de resíduo/ resíduo encontrado na amostra composta) para os metabólitos aldicarbe-sulfóxido e aldicarbe-sulfona foram 2,7 e 3,8 no 15º dia da aplicação, e 4,4 no 29º dia.

Fernández-Cruz *et al* (2004) desenvolveram um estudo na Espanha, em caquis com o organofosforado fenitrotiona e seus metabólitos fenitrotiona-oxon e 3-metil-4-nitrofenol. O produto foi aplicado utilizando spray manual em três áreas demarcadas. Foram coletadas 24 unidades de cada área primeiramente antes da aplicação e em seguida nos intervalos de 3h e 5 dias após a aplicação. Das 24 unidades, 6 foram analisadas individualmente, 6 foram analisadas casca e polpa, 6 foram homogeneizadas para formar a amostra composta e 6 para amostra controle. Os fatores de variabilidade (razão entre o maior nível de resíduo encontrado e a média das amostras compostas) encontrados para a fenitrotiona foram 2,1 e 2,4 para os intervalos de 3h e 15 dias, respectivamente. Para os metabólitos do pesticida, foram encontrados resíduos nas

amostras compostas apenas no 15º dia. O valor do fator v calculado foi 2,7 para o fenitrothion-oxon e 3,9 para o 3-metil-4-nitrofenol.

Num estudo conduzido na Grécia com clorprofam em batatas (Lentza-Rizos and Balocas, 2001), as amostras foram coletadas após 10, 28 e 65 dias da aplicação do produto. As maiores quantidades de resíduo encontradas em unidades individuais em cada amostragem foram 7,6 mg/kg, 4,1 mg/kg e 3,8 mg/kg, respectivamente ($n=16$). O fator de variabilidade, calculado como a razão entre o maior nível de resíduo encontrado nas amostras individuais e a média das amostras compostas, foi estimado como sendo 2 pelos autores, baseado nos valores de v de 1,5, 1,1 e 1,3 obtidos de amostras coletadas após 10, 28 e 65 dias após a aplicação. Entre 91% e 98% dos resíduos foram retirados descascando as batatas e o processo de lavagem reduziu os resíduos entre 33% e 47%.

Hill e Reynolds (2002) realizaram um estudo onde foram analisados 36 pesticidas em 65 lotes de alimentos provenientes de países diferentes. O estudo demonstrou que não há relação entre fator variabilidade (97,5 percentil da concentração dividido pela média das concentrações das unidades), o país de origem, a concentração do resíduo e as características físico-químicas dos pesticidas. Foram analisadas amostras de maçãs, bananas, aipo, kiwi, laranjas, pêssegos, pêras, ameixas, batatas e tomates coletadas em 17 países diferentes, incluindo Suriname, Jamaica, Chile, Uruguai, Marrocos e vários países da Europa. Cada lote de amostra continha 120 unidades do alimento, com exceção do aipo (50 unidades). Os fatores de variabilidade foram calculados para a combinação pesticida/cultura em que pelo menos 10% das amostras do lote apresentaram limites detectáveis de resíduo. Os valores encontrados para os fatores de variabilidade variaram de 1,4 (para heptenofós em aipo) a 9,6 (carbaril em maçã)

IV. Metodologia analítica para análise de inseticidas organofosforados em alimentos

As metodologias utilizadas para determinação de organofosforados (OF) em frutas e vegetais são metodologias multirresíduo de análises. Nestes métodos, vários pesticidas são analisados, podendo ser ou não da mesma classe, de maneira a tornar a análise mais rápida e menos dispendiosa.

Por serem compostos de baixa polaridade, são facilmente cromatografáveis e detectados, principalmente, por detectores seletivos para nitrogênio e fósforo (NPD) e

fotométrico de chama com filtro para fósforo (FPD) ou captura de elétrons (ECD). O ECD apesar de não seletivo para fósforo, pois possui sensibilidade para detectar compostos fosforados, é usado em algumas metodologias multirresíduos que analisam outras classes de pesticidas além dos organofosforados, como os piretróides (Dórea & Lanças, 1999), organoclorados (Adou *et al*, 2001) e carbamatos (Kadenczki *et al*, 1992).

Vários estudos têm sido descritos na literatura para análise destes compostos em frutas, como caqui (Dórea & Lanças, 1999) melão e pêra (Adou *et al.*, 2001), tomates (Gobo *et al.*, 2004), suco de frutas (Albero *et al.*, 2003) e vegetais (Adou *et at.*, 2001; Dórea e Lanças, 1999; Holstege *et al*, 1991; Kadenczki *et al.*, 1992; e Leoni *et al.*, 1992, Patel *et al* 2004, Munoz *et al*, 2003).

No detector FPD a chama é posicionada no interior de um cadinho de paredes altas de maneira a evitar perturbações causadas pelo ruído de fundo. As moléculas são fragmentadas e excitadas até alcançarem estados energéticos superiores na atmosfera redutora da chama. O plasma sobre o cadinho é detectado mediante um tubo foto multiplicador por meio de um filtro que permite a passagem de uma banda estreita de comprimento de onda desejado (Lanças, 1993).

No detector NPD, uma pérola de cloreto de rubídio ou de cézio é envolta por fio aquecido, acima do qual é passado um fluxo de hidrogênio e ar sintético. A pérola alcalina aquecida emite elétrons por emissão termoiônica que são coletados no anodo, provendo a corrente de *background* do sistema. Quando um soluto contendo nitrogênio ou fósforo é eluído, os produtos da combustão parcial do material são absorvidos na superfície da pérola, causando uma alteração de corrente que é detectada.

O funcionamento do ECD é baseado na captura de elétrons pelas moléculas da amostra. Os elétrons capturados são gerados pela ionização do gás de arraste por uma fonte radioativa (^3H ou ^{63}Ni). A corrente gerada pelo fluxo de elétrons do gás de arraste é perturbada quando uma molécula com a afinidade de elétrons atravessa o detector. A queda de corrente é representada pela formação do pico no cromatograma. (Lanças, 1993).

A extração dos resíduos de OF em alimentos é usualmente feita com solventes polares como acetona ou outros menos polares, principalmente, acetado de etila, juntamente com sulfato de sódio anidro para retirar o excesso de água da matriz. Uma metodologia alternativa foi descrita por Patel e colaboradores onde, na etapa de extração, foi também adicionado bicarbonato de sódio (Patel *et al.*, 2004).

Normalmente não é necessário realizar a etapa de purificação do extrato, *clean-up*, quando utilizados detectores seletivos, como o NPD e o FPD. Alguns autores utilizam esta etapa de maneira a impedir o aparecimento de interferentes nos cromatogramas e prolongar a vida útil das colunas capilares. Leoni *et al* (1992) realizaram esta etapa com celite ou sílica dependendo do teor de gordura presente na amostra e Holstege *et al* (1991) empregaram permeação em gel com sílica-gel. Entre as desvantagens da introdução da etapa do *clean-up* na metodologia estão a possível diminuição nas porcentagens de recuperação, maior consumo de solventes e, principalmente o aumento do tempo gasto nas análises por serem processos demorados e trabalhosos.

Dórea e Sobrinho (2004) desenvolveram uma metodologia para análise dos OF parationa metílica e malationa e para o organoclorado endossulfona em arroz por CG-ECD. Nesta metodologia, foi utilizada a dispersão em matriz por fase sólida (MSPD) para elaboração de uma etapa única de extração com acetato de etila e purificação dos extratos com alumina. O limite de detecção (LOD) variou entre 20 pg e 105 pg. A média das recuperações, variaram de 75,5% a 116,0%, com desvio padrão entre 0,5% e 10,9%.

Patel *et al* 2004, validaram uma metodologia multirresíduo por RH-GC-FPD (resistive heating – gas chromatography with flame photometric detection) para análise de 37 OF em uva e pêssago e 36 em pimentão. Os pesticidas foram extraídos com acetato de etila, sulfato de sódio e bicarbonato de sódio. A média das recuperações obtidas variaram entre 70% e 114% com desvio padrão entre 2% e 20%. Após a validação da metodologia, 6 unidades de pêssago, uva e alface foram analisadas, encontrando-se resíduos de acefato e metamidofós em cinco amostras de pêssago e em duas de alface. Apenas uma amostra de uva apresentou acefato. O método LC-MS/MS foi utilizado para confirmação dos resíduos.

Em um outro método multirresíduo, os pesticidas organofosforados acefato, clorpirifós, malationa, metamidofós e parationa metílica em amostras de tomates foram determinados por CG-NPD (Gobo *et al*, 2004). As amostras foram extraídas com acetato de etila, solução 10% de cloreto de sódio e sulfato de sódio. Os extratos não passaram pela etapa do *clean-up*. As recuperações variaram entre 88% e 118% e o desvio padrão ficou entre 1,82% e 20,03%. O LOQ calculado com extrato da matriz variou de 0,0025 mg/L para clorpirifós a 0,02 mg/L para acefato.

Uma metodologia foi validada para analisar 20 OF em pepinos por CG-PFPD (Pulsed-flame photometric detector). Após extração com acetato de etila e sulfato de sódio. As recuperações permaneceram no intervalo de 61,9% a 88% e o desvio padrão relativo entre 10,3% e 21,9% (Munoz *et al*, 2003).

Na Espanha, foi validado um método multirresíduo para análise de nove OF em sucos de frutas por CG-NPD. O processo de *clean up* das amostras com florisil foi realizado juntamente com a extração dos pesticidas com acetato de etila. A média das recuperações obtidas ficou entre 70% e 110% com desvio padrão abaixo de 11%. Após a validação do método, foram analisadas 21 amostras de sucos de pêssago, maçã, abacaxi, uva e laranja adquiridos no supermercado. Em 20 amostras foram encontrados, pelo menos, um dos nove pesticidas estudados, entre eles a diazinona, o clorpirifós e a etiona (Albero *et al*, 2003).

Incertezas nas metodologias multirresíduo

Segundo o EURACHEM (2000), a incerteza da medição analítica é definida como um parâmetro associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão de valores que poderiam ser razoavelmente atribuídos ao mensurado. Esta incerteza pode ter várias fontes, incluindo a amostragem, efeito de matriz, interferentes, incertezas das massas dos equipamentos volumétricos, valores de referência, aproximações e suposições incorporadas ao método e ao procedimento de medição, e a variação aleatória.

Duas estratégias diferentes têm sido descritas para expressar um resultado analítico e sua incerteza: o “botton-up” e o “top-down”. O último soma as incertezas de cada etapa no procedimento analítico e a incerteza combinada vem da propagação das incertezas individuais de cada medida. O “botton-up” usa o procedimento de validação da metodologia para acessar a principal fonte de incerteza (Eurachem, 2000).

Na prática, a incerteza da medida pode ser avaliada através de estudos de validação (Eurachem, 2000). Estes procedimentos produzem dados que refletem a performance geral do método utilizado na medida e os fatores individuais que influenciam a estimativa da incerteza associada aos resultados. Estudos de validação determinam parâmetros que incluem a precisão, a tendência, a linearidade, o limite de detecção, a robustez e a especificidade do método.

As principais medidas de precisão incluem 1) o desvio padrão da repetibilidade, que indica a variabilidade observada em um mesmo laboratório, durante um curto

espaço de tempo, utilizando um mesmo operador e equipamento; 2) o desvio padrão da reprodutibilidade, que mostra a variabilidade obtida quando diferentes laboratórios analisam uma mesma amostra; e 3) a precisão intermediária, relacionada à variação dos resultados observados quando um ou mais fatores do método são variados dentro de um mesmo laboratório. A tendência de um método analítico é determinada pelo estudo de material de referência ou em estudos com amostras fortificadas, e poder ser expressa como recuperação analítica.

Stepan *et al.* (2004), estimaram as incertezas de um método multirresíduo para analisar pesticidas carbamatos, piretróides e compostos azólicos em maçãs tratadas pelas aproximações “botton-up” e “top-down”. A repetibilidade e a incerteza de recuperação do processo de extração foram identificados como as principais fontes de incerteza. Os autores indicaram que a aproximação “botton-up” é importante quando um novo método está sendo desenvolvido e o “top-down” é uma boa estratégia depois que o método já foi implementado.

Christeasen *et al* (2003) avaliaram a incerteza de um método multirresíduo para determinação de resíduos de 153 pesticidas em maçã, cenoura, alface e batata. Amostras fortificadas foram extraídas com acetona/acetato de etila/ciclohexano/sulfato de sódio anidro. Os extratos foram purificados com cromatografia de permeação gel e os pesticidas analisados por CG/NPD e CG/ECD. As amostras foram fortificadas em 3 níveis de concentração (0,02 mg/kg, 0,09 mg/kg e 0,35 mg/kg), em duplicata. O mesmo procedimento foi repetido em três dias diferentes, utilizando pelo menos 2 analistas. Nenhuma diferença significativa foi encontrada entre os desvios padrão relativos, também chamado de coeficiente de variação (CV), das recuperações obtidas nos níveis de concentração mais altos. No entanto, para alguns pesticidas, o CV para o menor nível de concentração, próximos ao limite de detecção (LOD) foram bem maiores, porém diferentes CV foram encontrados entre as diferentes matrizes investigadas. Por exemplo, os CV para etiona foram significativamente menores para batata (entre 5% e 7%) que para alface (entre 25% e 30%).

Como parte do controle das incertezas envolvidas no processo de análise de resíduos de pesticidas, é importante verificar o comportamento do sistema cromatográfico, incluindo a performance da coluna e a o sistema de detecção. Soboleva e Ambrus (2004) desenvolveram misturas de substâncias apropriadas para testar a performance do sistema cromatográfico com detectores ECD, NPD e FPD, denominadas “system suitability test mixtures” (SST). Estas misturas foram utilizadas

durante 3 anos para monitorar parâmetros incluindo o número de pratos teóricos, resolução, assimetria dos picos, limite de detecção e seletividade. Para detectores NPD e FPD, compostos como dimetoato, carbaril e imazalil são apropriados por serem sensíveis às condições de operação e podem indicar tanto a deterioração quanto o mal funcionamento do sistema. As alterações incluem má instalação da coluna, presença de sítios ativos na superfície do *liner* ou da coluna, contaminação do sistema e baixa resposta do detector. Outros compostos incluídos numa mistura SST incluem parationa metílica, metidationa e clorpirifós metílico. O coeficiente de variação do tempo de retenção de uma mistura SST contendo 12 compostos variou entre 0% e 0,027%.

IMPORTÂNCIA DO ESTUDO E OBJETIVO GERAL

Vários estudos têm demonstrado que a variabilidade dos resíduos de pesticidas em unidades individuais independe da classe do pesticida, dos aspectos agronômicos e ambientais e da cultura. O grupo da FAO/OMS responsável por realizar estudos de avaliação de risco internacionalmente (JMPR), definiu um fator de variabilidade único igual a 3 para todas as combinações pesticida/cultura para ser utilizado no cálculo da ingestão aguda de pesticida por meio do consumo de alimentos tratados. Esta definição se baseou em estudos conduzidos até 2003, principalmente em países de clima temperado e semitemperado em culturas de tamanho médio. Adicionalmente à sua aplicação em estudos de avaliação de risco, o fator de variabilidade em unidades individuais é também uma indicação da variabilidade dos resíduos em amostras compostas (incerteza da amostragem), importante no processo de amostragem em programas de monitoramento conduzidos por governos para avaliar o cumprimento das boas práticas agrícolas e a concordância com os LMR.

O presente estudo é parte de um projeto internacional coordenado pela Agência Internacional de Energia Atômica das Nações Unidas (IAEA) e FAO que tem como objetivo geral estudar a variabilidade dos resíduos de pesticidas de várias classes em alimentos para os quais estes dados são escassos ou indisponíveis (FAO/IAEA, 2002), determinados em estudos de campo conduzidos em regiões de clima tropical e subtropical.

Neste projeto, coube ao Brasil realizar estudos com culturas tipicamente de clima tropical - mamão e manga - e com vegetais (peso > 250 g) normalmente cultivados e consumidos no país - berinjela e abobrinha. Partindo do princípio que a variabilidade dos resíduos independe do composto aplicado, a escolha dos pesticidas no estudo, os inseticidas organofosforados, deveu-se principalmente ao aspecto analítico. A metodologia de análise destes compostos em alimentos por CG/FPD é relativamente simples, não envolvendo a etapa de *clean-up*, o que permite a análise de várias amostras num curto espaço de tempo, recomendada pela coordenação geral do projeto (Ambrus, 2002). Esta classe de pesticidas é particularmente importante sobre o aspecto toxicológico, devido a sua alta toxicidade aguda.

Objetivos Específicos

- Validar uma metodologia para as análises dos inseticidas organofosforados diazinona e parationa metílica em mamão formosa, metidationa e parationa metílica nas culturas mamão papaya, manga keit e abobrinha itália e malationa e etiona em berinjela;
- Realizar pré-testes para definir condições no campo para garantir amostras com níveis detectáveis de resíduos em unidades individuais;
- Realizar estudos de campo para determinar o nível de resíduos dos pesticidas em unidades individuais de cada cultura;
- Avaliar o efeito da posição das unidades de mamão e manga nas diferentes partes da planta nos níveis de resíduos;
- Calcular o fator de variabilidade de resíduos para cada pesticida em cada cultura;
- Comparar os resultados obtidos frente a outros estudos conduzidos em outros países com o fator de variabilidade único definido pelo JMPR.

PARTE EXPERIMENTAL

I. Material e Instrumentação

Ultra-som – marca Elma, modelo 890/H

Balança analítica – marca Sauter, moledo 424

Evaporador seco – marcas Pierce 18790 e Marconi MA4006

Processadores – liquidificador modelo 38BL52 Waring Commercial; mini processador Black and Decker

Pipetas automáticas – 1000 Gilson P1000 e Rainin SL100µL

Vidraria. Todas as vidrarias foram lavadas com detergente Extran (Merck) alcalino. Após o enxágüe, foram lavadas com água destilada, acetona e deixadas na estufa para secagem (30 °C).

Instrumentação

O equipamento utilizado nas análises do estudo com mamão formosa e manga keit foi um CG HP 6890 Series System Plus, Injetor automático: HP 7683 Series Injector, do Laboratório de Resíduos de Pesticidas do Instituto Biológico de São Paulo. As condições do cromatógrafo foram:

Injetor: Temperatura: 210 °C, modo splitless; nitrogênio, pressão – 11,67 psi; fluxo da purga: 50 mL/min; fluxo total: 54,1 mL/min

Coluna: Coluna capilar, Ohio Valley 5, 5%, fenil metil siloxano; 15,0 m, 250 µm D.I., 0,25 µm; Fluxo inicial: 2 mL/min. Rampa: 70 °C, 1 min; 30 °C/min até 250 °C; 250 °C, 1 min; Total = 8min.

Detector: FPD, temperatura 220 °C.

Gases: Hidrogênio: 75 mL/min; ar sintético: 100 mL/min (air); *make up* gás: nitrogênio; fluxo total: 15 mL/min (N50 ou 5,0=99,999%)

Todos os pré-testes e os experimentos com mamão papaya, abobrinha itália e berinjala foram realizados no cromatógrafo a gás, marca Finnigan-9001, Injetor automático: Finnigan AS-2000, do Laboratório de Resíduos de Pesticidas do LACEN-DF. As condições do cromatógrafo foram:

Injetor: Temperatura: 250 °C, modo splitless; *split vent*: 66mL/min; nitrogênio, pressão – 15 psi; purga do septo: 4 mL/min; fluxo: 5,2 mL/min.

Coluna: Coluna Capilar, Ohio Valley 5, 5% fenil metil siloxano; 15,0 m, 250 µm D.I., 0,25 µm; Fluxo inicial: 1-2 mL/min. Rampa: 70 °C /1 min. 30 °C/min até 250 °C, 250 °C 1min. Total = 8min.

Detector: FPD, temperatura 200 °C.

Gases: Hidrogênio: 110 mL/min; ar sintético: 160 mL/min (air); *make up* gás: nitrogênio; fluxo total 15 mL/min (N50 ou 5.0=99,999%).

II. Reagentes e Soluções

O solvente acetato de etila grau resíduo foi adquirido da Mallinkrodt (Merk) e grau P.A. da Vetec. Os solventes foram testados previamente no cromatógrafo antes do início de cada estudo. O sulfato de sódio anidro P.A. foi adquirido da Vetec e da Quimex.

Padrões analíticos

Padrões analíticos certificados (50 mg -100 mg) foram utilizados para estudos de validação da metodologia, recuperação durante os procedimentos analíticos e/ou teste de performance do sistema cromatográfico (SST; System Suitability Test). Malationa (99,9%) validade 10/2006) e dimetoato (99,5% validade 08/2004) foram gentilmente cedidos pela Cheminova, diazinona pela Novartis Crop Protection (99,5% validade 01/2000) ou Syngenta Crop Protection (99,5% ; validade 08/2004), metidationa pela Syngenta Crop Protection (99,9%; validade 02/2005), e parationa metílica pela Bayer Crop Science (97,5%; validade 09/2004) ou Cheminova (99,5%; validade 04/2004). Padrão analítico de etiona foi cedido pela Bayer Crop Science (94,7% ; validade 04/2004) ou obtido da Ultra Scientific (95%, validade 01/2008).

Soluções

Para cada padrão utilizado, uma solução mãe na concentração de 0,01% (m/v), foi previamente preparada em acetato de etila grau resíduo. Como para cada cultura foram analisados dois pesticidas, foram preparadas soluções secundárias mistas a partir das soluções mãe. Para cada teste de recuperação foram preparadas soluções nas concentrações de 20 ng/µL, 2 ng/µL e 0,2 ng/µL, usadas para fortificação das amostras

e preparação da gráfico analítico, conforme abaixo.

Solução padrão 20 ng/μL – 2 mL de cada solução mãe em balão volumétrico de 10mL e o volume final foi completado com acetato de etila

Solução padrão 2 ng/μL – 1mL da solução de 20 ng/μL em balão volumétrico de 10mL e o volume final foi completado com acetato de etila

Solução padrão 0,2 ng/μL – 1mL da solução de 2 ng/μL em balão volumétrico de 10mL e o volume final foi completado com acetato de etila

As soluções SST (System Suitability Test) utilizadas para testar a performance do sistema foram preparadas de acordo com as recomendações a FAO SOP P_12 (System Suitability Testing of GCs with thermoionic detector and pulsed flame photometric detector). As soluções estoque de 10 ng/μL foram preparadas cada uma para os pesticidas dimetoato, fentiona, etiona e parationa metílica. As soluções estoque de 5 ng/μL foram preparadas para cada um dos pesticidas metidationa e diazinona. As soluções de trabalho mistas, com dois pesticidas nas concentrações de 0,2 ng/μL para dimetoato, fentiona, etiona e parationa metílica e 0,1 ng/μL para metidationa e diazinona, utilizadas durante as seqüências de injeções, foram preparadas conforme abaixo:

Solução estoque 10 ng/μl – 1 mL da solução mãe em balão volumétrico de 10 mL em acetato de etila.

Solução estoque 5 ng/μl – 0,5 mL da solução mãe em balão volumétrico de 10 mL em acetato de etila.

Solução de trabalho – 500 μL de cada solução de estoque em balão de 25 mL em acetato de etila.

III. Validação da metodologia para cada pesticida em cada cultura

A metodologia analítica para análise de inseticidas organofosforados em alimentos já tinha sido validada anteriormente no Laboratório de Pesticidas para outras culturas. O procedimento se baseia na metodologia utilizada na Espanha (1998) e utiliza acetato de etila/sulfato de sódio e ultra-som no processo de extração.

Uma unidade ou parte da mesma de cada cultura a ser estudada, adquirida no

comercio local, foi triturada e homogeneizada. Para cada amostra homogeneizada, foram pesados 15 ± 2 g em erlenmeyer de 250 mL, e 0 μ L ou 750 μ L de uma solução estoque (Tabela 3) foram distribuídos na superfície da amostra. O erlenmeyer foi deixado em repouso por 10 minutos e 40 mL de acetato de etila (Vetec, PA ou Mallinchrot, grau RP) e 30g de sulfato de sódio (Vetec, PA) foram adicionados. Cada erlenmeyer foi vedado com parafilme e deixado por 15 minutos no ultra-som para extração. Os extratos foram quantitativamente transferidos para um balão volumétrico de 50 mL, utilizando um funil e um bastão de vidro, e o volume completado com acetato de etila. 5 mL do extrato foram pipetados para um tubo de ensaio de 10 mL, evaporados sob atmosfera de nitrogênio em banho seco a 30 °C, até aproximadamente 1 mL, transferidos quantitativamente para um *vial* de 2 mL e evaporados novamente até a secura.

Tabela 3. Volume de solução padrão adicionado na fortificação das amostras.

	Controle	Nível 1	Nível 2	Nível 3
Concentração (mg/kg)	0,00	0,01	0,1	1,0
750 μL da solução estoque de (ng/μL)	-	0,2	2,0	20,0
Volume ressuspendido (μL)	300	300	1000	1000
Massa injetada (pg)	0	50	150	1500
Nº de porções fortificadas	5	5	4	4

Preparação do gráfico analítico em matriz

O gráfico analítico foi preparada em um extrato de uma amostra controle. Volumes da solução estoque foram adicionados a 5 mL deste extrato. Os extratos contento os padrões foram evaporados até aproximadamente 1mL, transferidos quantitativamente para um *vial* de 2 mL, evaporados novamente até a secura e ressuspendidos conforme a Tabela 4.

Tabela 4. Características da preparação do gráfico analítico em matriz

	Controle	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4
Solução padrão (ng/μL)	0,0	0.2	2.0	2.0	2.0
Volume adicionado (μL)	0,0	75	100	250	750
Volume ressuspensionado (μL)	300	300	1000	1000	1000
Massa injetada (pg/μL)	0,0	50	200	500	1500

Seqüência de injeções

Todas as porções evaporadas foram ressuspensionadas e injetadas (1 μL) no mesmo dia no cromatográfico, seguindo uma seqüência de injeção ilustrada na Tabela 5. O tempo de corrida nas condições cromatográficas especificadas foi de 8 minutos.

IV. Regressão ponderada e cálculo das concentrações

A concentração dos resíduos dos inseticidas organofosforados nas amostras fortificadas e tratadas foi feita a partir da regressão ponderada dos pontos num gráfico padrão em matriz. Os cálculos foram feitos num *template* em Excel desenvolvido pela IAEA e fornecido pelo coordenador do projeto.

Os *templates* são utilizados individualmente para cada pesticida. Neste *template* são primeiramente inseridas as quantidades em pg injetadas e a área correspondente ao pico do pesticida analisado de todos os pontos do gráfico padrão em matriz, em duplicata. Com esses dados a planilha calcula automaticamente a regressão ponderada. Em seguida são inseridos os códigos de identificação das amostras, a quantidade em mg da amostra injetados, já considerando os fatores de diluição, e as áreas dos picos dos pesticidas. A partir desses dados a planilha calcula a quantidade em picogramas injetados e a concentração em mg/kg. Adicionalmente a planilha fornece parâmetros da regressão incluindo a correlação R^2 e o Srr, que é o desvio padrão dos resíduos relativos de y (resposta), calculado com n-2 graus de liberdade. Idealmente, R^2 deve ser no mínimo igual a 0,99 e Srr no mínimo deverá ser no máximo 0,1. (FAO/IAEA, 2002)

Tabela 5. Seqüência de injeções para o teste de recuperação

Injeção	Solução
01	Solvente (acetato de etila)
02	Solvente
03	Branco da amostra Recuperação 1
04	Branco da amostra Recuperação 2
05	Branco da amostra Recuperação 3
06	Branco da amostra Recuperação 4
07	Ponto 1 gráfico (menos concentrado)
08	Ponto 1 gráfico (menos concentrado)
09	Fortificação a 0,01 mg/kg Recuperação 1
10	Fortificação a 0,01 mg/kg Recuperação 2
11	Fortificação a 0,01 mg/kg Recuperação 3
12	Fortificação a 0,01 mg/kg Recuperação 4
13	Fortificação a 0,01 mg/kg Recuperação 5
14	Solvente
15	Ponto 2 gráfico
16	Ponto 2 gráfico
17	Fortificação a 0,1 mg/kg Recuperação 1
18	Fortificação a 0,1 mg/kg Recuperação 2
19	Fortificação a 0,1 mg/kg Recuperação 3
20	Fortificação a 0,1 mg/kg Recuperação 4
21	Solvente
22	Ponto 3 gráfico
23	Ponto 3 gráfico
24	Fortificação a 1 mg/kg Recuperação 1
25	Fortificação a 1 mg/kg Recuperação 2
26	Fortificação a 1 mg/kg Recuperação 3
27	Fortificação a 1 mg/kg Recuperação 4
28	Solvente
29	Ponto 4 gráfico (mais concentrada)
30	Ponto 4 gráfico (mais concentrada)
31	Solvente

O Cálculo dos resíduos a partir do gráfico analítico é então calculado na planilha segundo a equação 6

$$\text{mg/kg} = \frac{[(A - b)/a] \times V}{m \times 100000} \quad (6)$$

onde:

V= volume ressuspendido (300 µL ou 1000 µL)

A = área do pico

m = massa da amostra (g)

a e b = parâmetros do gráfico analítico usado na sequência na qual a amostra foi analisada, correspondendo a um gráfico do tipo $y = ax + b$

Para amostras que tiveram a polpa e a casca analisadas separadamente, a concentração na amostra total foi feita utilizando os resíduos encontrados na polpa e na casca. Quando os resíduos estavam abaixo de 0,01 mg/kg (LOQ), a 0,005 mg/kg ($\frac{1}{2}$ LOQ) foi utilizada no cálculo (equação 6).

V. Estudos de campo

Antes do estudo definitivo, para cada cultura, foi realizado um pré-teste no campo para se certificar que as condições de aplicação definidas, como a concentração da calda de aplicação, intervalo de aplicação e tempo de coleta após a última aplicação (PHI), levariam à presença de resíduos quantificáveis ($>LOQ$) nas amostras. Para o mamão, o pré-teste foi realizado na Estação Experimental de Biologia localizada no campus da UnB. Para a manga, abobrinha e berinjela os pré-testes foram realizados nas áreas selecionadas para o estudo, pois estas se localizavam nas proximidades do Distrito Federal. Os pré-testes foram conduzidos com os pesticidas na maior dosagem recomendada no rótulo dos produtos. O intervalo de aplicação e o PHI, porém, foram selecionados de maneira a garantir a presença de resíduos. Em cada caso, 3 a 4 plantas foram tratadas e cerca de 5 amostras coletadas para análise. Em todos os casos, os resíduos dos pesticidas aplicados foram encontrados nas amostras acima do LOQ. Em todos os estudos, uma calda de aplicação mista, contendo 2 pesticidas, foi preparada pelo aplicador local sob supervisão. Todo o processo de aplicação dos pesticidas nas

culturas foi feito pelo pessoal da fazenda ou chácara, de acordo com as práticas locais, sob nossa supervisão. No experimento final com mamão formosa, não houve este acompanhamento durante a parte final da segunda aplicação. Todo o procedimento de coleta de amostras foi conduzido com auxílio do pessoal local (mamão) ou do pessoal do Laboratório de Resíduos de Pesticidas do LACEN-DF.

Em cada experimento, uma área controle foi selecionada no lado oposto ao da área tratada, distante o suficiente para garantir amostras controles livres de resíduos dos pesticidas aplicados.

Antes de cada procedimento, a área demarcada para o estudo foi mapeada e um plano de amostragem foi feito, no qual as linhas foram representadas como colunas e cada pé como uma célula. 130 amostras foram selecionadas por meio da função “aleatório” do programa EXCEL.

Durante a coleta das amostras de mamão e manga, os frutos foram identificados também de acordo com a posição do fruto na planta. As amostras foram classificadas como expostas (E), medianamente expostas (ME) e não expostas (NE). As amostras expostas estavam da parte externa da planta, totalmente expostas à aplicação dos pesticidas, as amostras que estavam parcialmente cobertas por folhas ou frutos foram consideradas ME e as amostras que estavam na parte interna da planta ou totalmente cobertas por folhas, foram consideradas NE (Figura 8).

Cada amostra (tratada e controle) foi coletada diretamente em sacos plásticos (polipropileno), sem que houvesse contato com o fruto (como ilustrado na Figura 3), etiquetadas de acordo com sua posição na área e na planta (número da linha, número da planta na linha, e posição do fruto na planta). O saco foi lacrado, transferido para outro saco que também foi lacrado. As amostras foram encaixotadas no campo e transportadas no mesmo dia para o Laboratório de Resíduos de Pesticidas do LACEN-DF, em Brasília.



Figura 3. Coleta da amostra de mamão formosa.

As características dos compostos e dos produtos utilizados estão a seguir. Em todos os estudos um produto CE (Concentrado Emulsionável) foi utilizado. Todos os produtos foram adquiridos no comércio local.

Diazinona

IUPAC: O,O-diethyl-O-2-isopropyl-methylpyrimidin-4-yl phosphorothioate

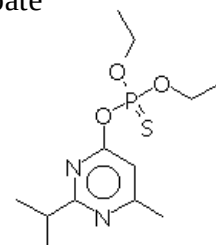
CAS: O,O-diethyl-O-[6-methyl-2-(1-methylethyl)-4-pyrimidinyl phosphorothioate

Fórmula empírica: $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$

Massa molecular: 304,4 g/mol

Nome comercial do produto: Diazinon 600 and Bravik 600

Concentração do princípio ativo: 600 g/L



Parationa metílica

IUPAC: O, O-dimethyl-O - 4 - nitrophenyl phosphorothioate

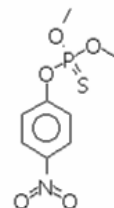
CAS: O, O-dimethyl-O - 4 - nitrophenyl phosphorothioate

Fórmula empírica: $C_8H_{10}NO_5PS$

Massa molecular: 263 g/mol

Nome comercial do produto: Folidol ou Mentox

Concentração do princípio ativo: 600 g/L



Metidationa

IUPAC: S-2,3-dihydro-5-methoxy-2-oxo-1,3,4-thiadiazol-3-ylmethyl-O,O-dimethyl phosphorodithioate

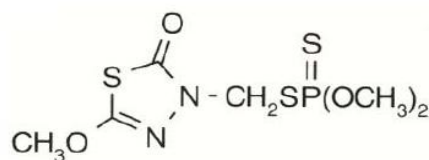
CAS: S-[(5-methoxy-2-oxo-1,3,4-thiadiazol-3(2H)-yl)methyl]-O,O-dimethyl phosphorodithioate.

Fórmula empírica: $C_6H_{11}N_2O_4PS_3$

Massa molecular: 304,4 g/mol

Nome comercial do produto: Supracid 400 CE

Concentração do princípio ativo: 400 g/L



Etiona

IUPAC: O,O,O',O'-tetraethyl-S,S'-methylene bis(phosphorodithioate)

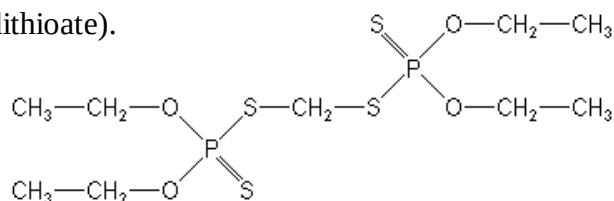
CAS: S,S'-methylene bis(O,O-diethyl phosphorodithioate).

Fórmula empírica: $C_9H_{22}O_4P_2S_4$

Massa molecular: 384,48 g/mol

Nome comercial do produto: Ethion 500 Bayer

Concentração do princípio ativo: 500 g/L



Malationa

IUPAC: diethyl (dimethoxythiophosphorylthio)succinate

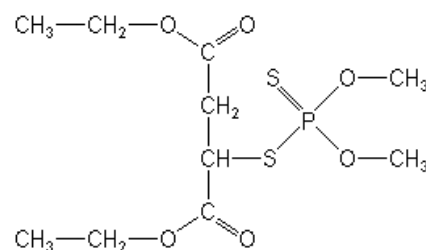
CAS: diethyl [(dimethoxyphosphinothioyl)thio]butanedioate

Fórmula empírica: $C_{10}H_{19}O_6PS_2$

Massa molecular: 330,36 g/mol

Nome do produto : Malathion 500 CE Pikapau

Concentração do princípio ativo: 500 g/L



Mamão Formosa (*Carica papaya L.*)

Foram utilizados os inseticidas diazinona e parationa metílica para este estudo. Na época em que o estudo foi realizado, a diazinona tinha registro de uso com aplicação foliar nas culturas de citros e maçã e a parationa metílica nas culturas de algodão, alho, arroz, batata, cebola, feijão, milho, soja e trigo (ANVISA, 2003).

O estudo de campo foi realizado na Fazenda Agronol, em Luiz Eduardo Magalhães, Bahia, entre os dias 14 e 22 de julho de 2003. O experimento foi conduzido em um pivô de aproximadamente 3 anos, com 516 metros de diâmetro e 109 ha de área, contendo aproximadamente 20000 pés de mamão (Figura 4). A área selecionada para tratamento com os pesticidas e amostragem continha 2210 pés.



Figura 4. Pivô da cultura de mamão formosa da fazenda Agronol.

Foram realizadas duas aplicações na área de amostragem, sempre no final da tarde, com intervalo de uma semana entre as aplicações (Figura 5). Os pesticidas foram misturados em um tanque com capacidade para 2000 litros e aplicados manualmente com um pulverizador de jato de ar. A concentração da calda de aplicação foi de 0,1 L do produto/hL de parationa metilica (0,06 kg ingrediente ativo/hL) e de 0,15 L do produto/hL de diazinon (0,09 kg ingrediente ativo/hL). Cerca de 1000 L do produto/ha foram aplicados.



Figura 5. Aplicação manual dos pesticidas diazinona e parationa metílica em mamão formosa.

As amostras foram coletadas cerca de 16 horas após a última aplicação. Foram coletados 131 amostras tratadas, de 305 pés da área de amostragem (Figura 6), e 30 amostras controle na região oposta da área tratada no pivô.

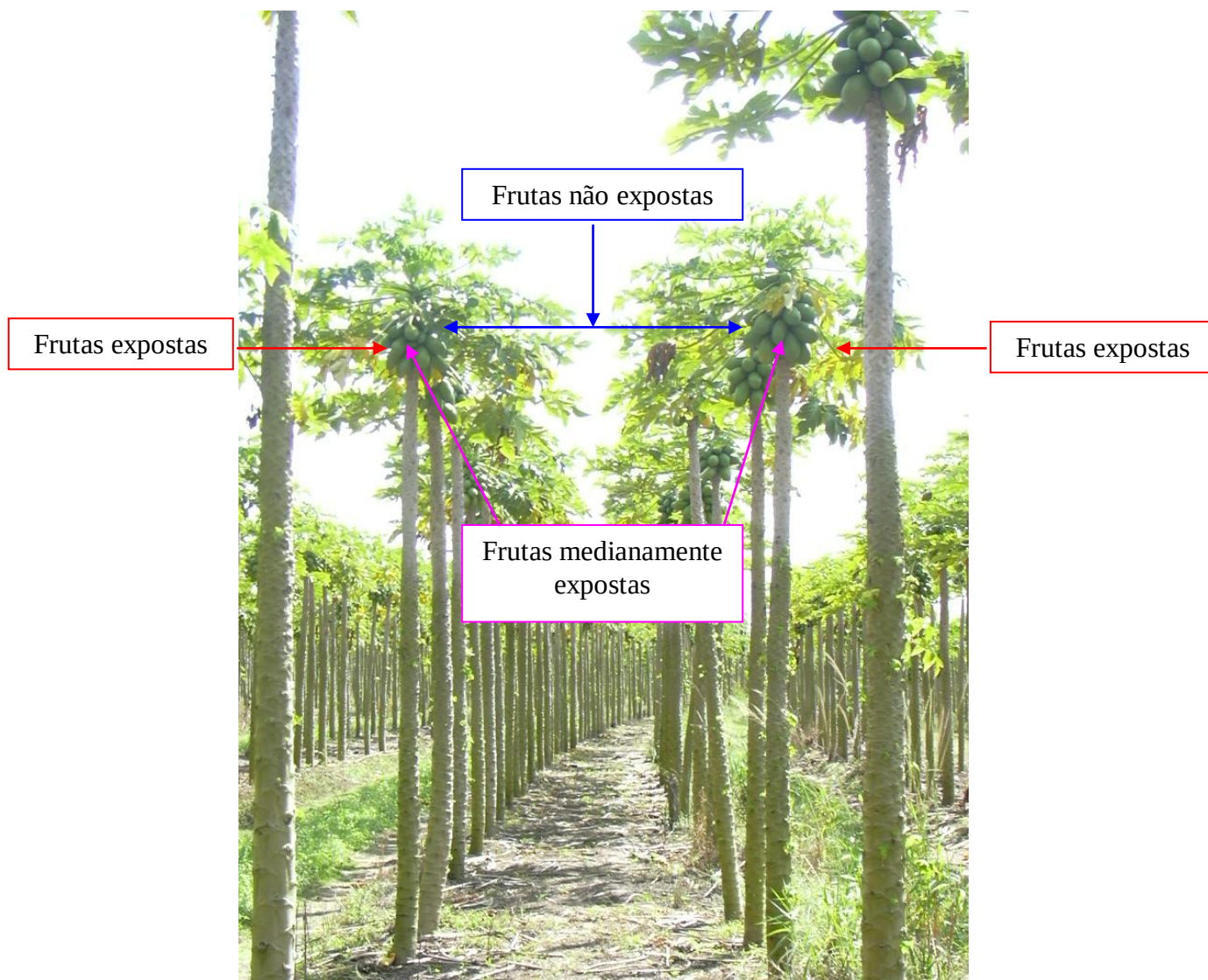


Figura 6. Plantação de mamão formosa indicando a posição do fruto em relação ao fluxo de aplicação dos inseticidas.

Mamão papaya (*Carica papaya* L.)

Foram utilizados os inseticidas metidationa e parationa metílica para este estudo. A metidationa tem registro permitido no Brasil para aplicação foliar nas culturas de algodão, citros e maçã, e a parationa metílica nas culturas de algodão, alho, arroz, batata, cebola, feijão, milho, soja e trigo (ANVISA, 2005).

O estudo de campo foi conduzido na Fazenda Vale do Arrojado, PO BOX 73 – Posse, Bahia, entre os dias 12 de julho e 20 de julho de 2004. O experimento foi conduzido em um pivô, de aproximadamente 4 anos, com 614 metros de diâmetro e

210ha de área. O pivô continha cerca de 210000 pés e a área utilizada para tratamento com os pesticidas selecionada para amostragem continha 559 pés.

Foram realizadas duas aplicações na área de amostragem, sempre no final da tarde, com intervalo de uma semana entre as aplicações (Figura 7). Os pesticidas foram misturados em um tanque Arbus 2000, com bocal 20/16 mm, de acordo com as práticas locais. A concentração da calda de aplicação foi de 0,1 L do produto/hL de parationa metílica (0,06 kg ingrediente ativo/hL) e de methidathion (0,04 kg ingrediente ativo/hL). Cerca de 1700 L do produto/ha foram aplicados.



Figura 7. Aplicação automática dos pesticidas metidathion e parationa metílica em mamão papaya.

As amostras foram coletadas no dia seguinte, cerca de 15 horas após a última aplicação. Foram coletados 132 frutos de 391 pés da área tratada e 20 amostras controle na região oposta da área tratada no pivô.

Manga Keit (*Mangifera indica*)

Para a cultura da manga, foram utilizados os mesmos inseticidas usados no mamão papaya, a metidationa e parationa metílica.

O estudo de campo foi conduzido na Fazenda Sonhei, Núcleo Rural Sobradinho 2, DF 205, Km 1, Distrito Federal, entre os dias 14 e 18 de fevereiro de 2004. O experimento foi conduzido em uma plantação comercial de 2 anos com aproximadamente 6000 m². A área continha cerca de 2000 pés e a área utilizada para tratamento com os pesticidas selecionada para amostragem continha 148 pés. Foram coletados 139 frutos de 72 pés da área tratada (Figura 8) e 20 amostras controle na região oposta da área tratada.



Figura 8. Pé de manga indicando a posição do fruto em relação ao fluxo de aplicação dos inseticidas.

Foram realizadas duas aplicações na área de amostragem com intervalo de 3 dias entre as aplicações. Os pesticidas foram misturados em um tanque com capacidade para 400 litros e aplicados manualmente com um pulverizador de jatos de ar, de acordo com as práticas locais. A concentração da calda de aplicação foi de 0,125 L do produto/hL de

parationa metílica (0,075 kg ingrediente ativo/hL) e de metidationa (0,05 kg ingrediente ativo/hL). Cerca de 1600 L do produto/ha foram aplicados.

As amostras foram coletadas no dia seguinte, cerca de 16 horas após a última aplicação.

Abobrinha itália (*Cucurbita pepomelo pepo*)

Para a cultura da abobrinha itália, foram utilizados os mesmos inseticidas usados no mamão papaya, a metidationa e parationa metílica para este estudo. O estudo de campo foi conduzido na Chácara Alex Gusmão, Chácaras 21/26 – Braslândia, DF – Brasil nos dias 4 e 5 de outubro de 2004. O experimento foi conduzido em uma plantação, de agricultura familiar de aproximadamente 40 dias e com 3000m² de área. A área continha cerca de 6000 pés e a área de amostragem selecionada utilizada para tratamento com os pesticidas, continha 310 pés.

Foram realizadas duas aplicações na área de amostragem com intervalo de 24 h entre as aplicações. Os pesticidas foram misturados em um aplicador costal, de acordo com as práticas locais (Figura 9). A concentração da calda de aplicação foi de 0,10 L do produto/hL de parationa metílica (0,06 kg ingrediente ativo/hL) e de metidationa (0,04 kg ingrediente ativo/hL). Cerca de 100 L do produto/ha foram aplicados.

As amostras foram coletadas cerca de 3 horas após a última aplicação entre as 14 h e 16 h. Foram coletados 130 frutos de 215 pés da área tratada e 20 amostras controle na região oposta da área tratada.



Figura 9. Aplicação manual de metidationa e parationa metílica em abobrinha Itália.

Berinjela (*Solanum melongena*)

Para o estudo com a berinjela, foram utilizados os inseticidas malationa e etiona. A malationa é registrada para uso na aplicação foliar de várias culturas, incluindo de alface, berinjela, brócolis, café, citros, couve, couve-flor, feijão, maçã, morango, pepino, pêra, pêssego, repolho e tomate e a etiona nas culturas de abacaxi, algodão, berinjela, café, citros, maçã, melancia, melão, pêra, pimentão e tomate.

O Estudo foi conduzido no Núcleo Rural Pípiripau II, Chácara 145 – Planaltina, DF, nos dias 29 e 30 de novembro de 2004. O experimento foi conduzido em uma plantação, de agricultura familiar de aproximadamente 40 dias e com 3000 m² de área. A área continha cerca de 6000 pés e a área selecionada para amostragem utilizada para o tratamento com os pesticidas continha 310 pés. A Figura 10 ilustra duas fileiras da plantação de berinjela utilizada no estudo.

Foram realizadas duas aplicações na área de amostragem com intervalo de 24 h entre as aplicações. Os pesticidas foram misturados em um aplicador costal, de acordo com as práticas locais. A concentração da calda de aplicação foi de 0,25 L do produto/hL de malationa (0,125 kg ingrediente ativo/hL) e de 0,1 L do produto/hL de

diazinon (0,05 kg ingrediente ativo/hL). Cerca de 1250 L do produto/ha de malationa e 500 L do produto/ha de etiona foram aplicados.



Figura 10. Plantação de berinjela mostrando os frutos cobertos pelas folhas.

As amostras foram coletadas cerca de 2 horas após a última aplicação (entre 14 h e 16 h). Foram coletados 130 frutos de 215 pés da área de amostragem. Foram coletadas 20 amostras controle na região oposta da área tratada.

VI. Procedimento analítico dos estudos supervisionado

O processamento das amostras se iniciou no mesmo dia ou no dia posterior à chegada das mesmas ao Laboratório. As etapas de processamento e extração das amostras duram no máximo 4 dias. Um resumo de todo o procedimento analítico está ilustrado na Figura 11.

Processamento

Mamão formosa. Foram processadas 126 das 131 amostras tratadas coletadas. Cada fruto foi pesado e fatiado longitudinalmente em 4 partes e destas, 2 partes opostas foram tomadas para processamento. As partes foram picadas, transferidas para o processador e homogeneizadas. Das 126 amostras, foram escolhidas aleatoriamente 10 para análises separadas da casca e polpa. Cada amostra foi pesada, descascada e a casca pesada. A casca e polpa foram picadas e processadas separadamente.

Mamão papaya. Foram processadas 128 das 132 amostras tratadas coletadas. Cada fruto foi pesado, picado, transferido para o processador e homogeneizado. Das 128 amostras, foram escolhidas aleatoriamente 10 para análises separadas da casca e polpa. Cada amostra foi pesada, descascada e a casca pesada. A casca e polpa foram picadas e processadas separadamente.

Manga keit: Todas as 139 amostras tratadas coletadas foram processadas. Cada fruto foi pesado, retirado o caroço. O caroço foi pesado e a polpa (juntamente com a casca) foram picadas, transferidas para um processador e homogeneizadas. 10 amostras foram escolhidas aleatoriamente para análises separadas da casca e polpa. Cada amostra foi pesada, descascada, retirado o caroço e a casca. Após a pesagem da casca e do caroço, casca e polpa foram picadas e processadas, separadamente, assim como para o fruto.

Abobrinha Itália: Das 130 amostras tratadas coletadas, 128 foram processadas. Cada fruto foi pesado, picado, transferido para um mini processador e homogeneizado. Neste estudo, não foram analisadas amostras com casca e polpa separadamente.

Berinjela: Foram processadas as 133 amostras tratadas coletadas. Cada fruto foi pesado, picado, transferido para um mini processador Black and Deckcer e homogeneizado. Neste estudo, não foram analisadas amostras com casca e polpa separadamente.

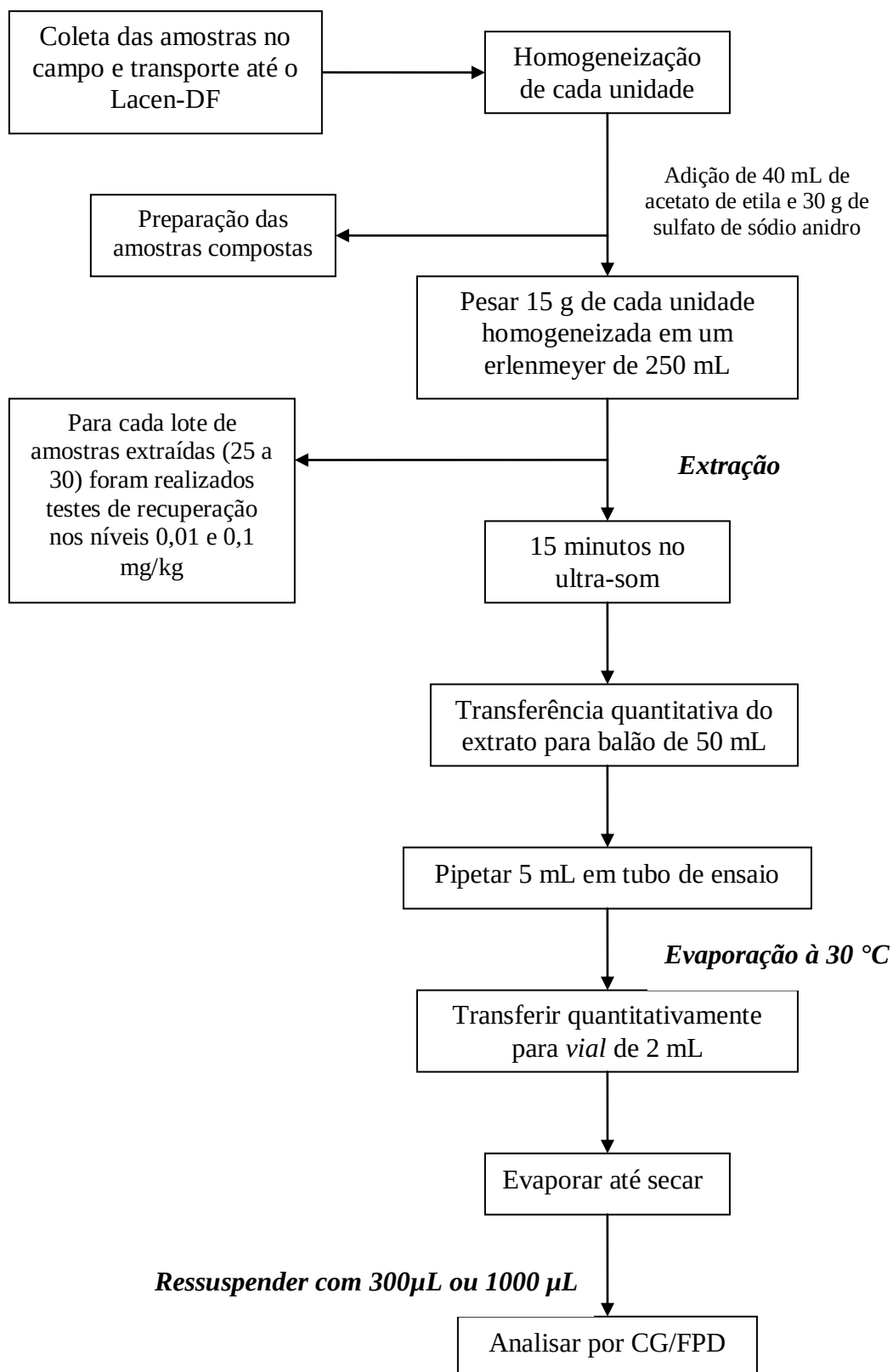


Figura 11. Fluxograma do processo das amostras coletas nos estudos supervisionados de campo

Extração

Para cada amostra homogeneizada, foram pesados 15 ± 2 g em um erlenmeyer de 250 mL. Em seguida, foram adicionados 40 mL de acetato de etila (Vetec, PA ou Mallinchrot, grau RP) e 30 g de sulfato de sódio (Vetec, PA). Cada erlenmeyer foi vedado com parafilm e deixado por 15 minutos em um ultra-som (Elma, GER) para extração. Os extratos foram quantitativamente transferidos para um balão volumétrico de 50 mL e o volume completado com acetato de etila. 5 mL do extrato foram pipetados para um tubo de ensaio de 10 mL. O processo de extração foi realizado com lotes de amostras, com cerca de 20-30 amostras por lote.

Os extratos do mamão formosa e da manga foram evaporados em banho seco a 30°C com nitrogênio até secarem completamente. Os tubos foram vedados com parafilme e os extratos secos foram mantidos a -15 °C até serem transportados até o Laboratório de Resíduos de Pesticidas do Instituto Biológico (IB) em São Paulo para análise. Para cada cultura, a análise dos extratos ocorreu em até 1 semana após a extração. Os extratos de mamão papaya, abobrinha e berinjela foram secos e mantidos a -15 °C até o dia da análise, realizada no próprio LACEN-DF, em até no máximo 2 semanas após a extração.

Para cada cultura, as amostras foram analisadas em três seqüências (Tabela 6) durante três dias consecutivos, durante a noite, utilizando o injetor automático. No dia da análise, os extratos foram ressuspensos com 300 µL ou 1000 µL de acetato de etila, agitados com auxílio de um vortex e imediatamente transferidos para um *vial* de 2 mL. O restante dos extratos secos foram mantido no freezer.

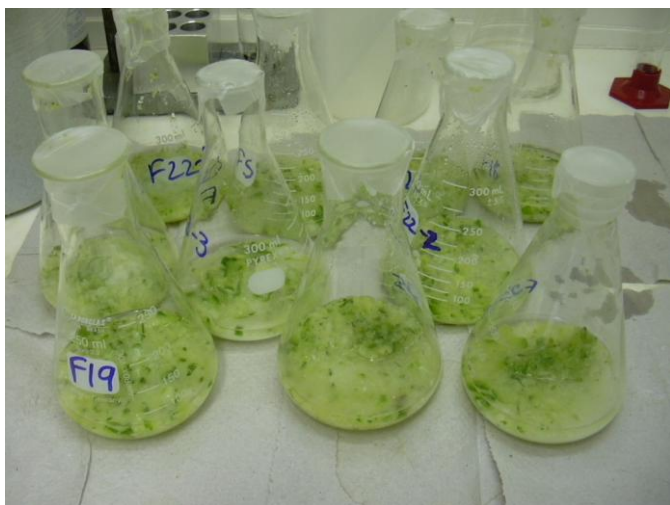


Figura 12. Extração das amostras de abobrinha tratadas com acetato de etila e sulfato de sódio anidro.

Tabela 6. Sequências de injeção para a cultura da Berinjela no CG/FPD.

Nº de injeções	Primeira sequência	Nº de injeções	Segunda sequência	Nº de injeções	Terceira sequência
01	Acetato de etila	01	Acetato de etila	01	Acetato de etila
02	SST	02	SST	02	SST
03	Branco do reagente	03-04	Ponto do gráfico analítico 50 pg	03-04	Ponto do gráfico analítico 50 pg
04	Ponto do gráfico analítico 0 pg	05	Berinjela, amostra controle 6	05	Berinjela, amostra controle 6
05-06	Ponto do gráfico analítico 50 pg	06-07	Fortificação a 0.01 mg/kg R5 e R6	06-07	Fortificação a 0.01 mg/kg R9 e R10
07-16	Berinjela, 10 amostras controle	08-09	Fortificação a 0.1 mg/kg R5 e R6)	08-09	Fortificação a 0.1 mg/kg R9 e R10
17-18	Fortificação a 0.01 mg/kg R1 e R2	10-11	Ponto do gráfico analítico 200 pg	10-11	Ponto do gráfico analítico 200 pg
19-20	Fortificação a 0.1 mg/kg R1 e R2	12-35	25 amostras tratadas (3º lote)	12-36	25 amostras tratadas (5º lote)
21-22	Ponto do gráfico analítico 200 pg	36	Acetato de etila	37	Acetato de etila
23-34	10 amostras tratadas (1º lote)	37	SST	38	SST
36	Acetato de etila	38-39	Ponto do gráfico analítico 500 pg	39-40	Ponto do gráfico analítico 500 pg
37	SST	40	Berinjela, amostra controle 6	41	Berinjela, amostra controle 6
38-39	Ponto do gráfico analítico 500 pg	41-42	Fortificação a 0.01 mg/kg R7 e R8	42-43	Fortificação a 0.01 mg/kg R11 e R12
40	Berinjela, amostra controle 6	43-44	Fortificação a 0.1 mg/kg R7 e R8	44-45	Fortificação a 0.1 mg/kg R11 e R12
41-42	Fortificação a 0.01 mg/kg R3 e R4	45-67	26 amostras tratadas (4º lote)	46-75	31 amostras tratadas (6º lote)
43-44	Fortificação a 0.1 mg/kg R3 e R4	68	Acetato de etila	76	Acetato de etila
45-66	24 amostras tratadas (2º lote)	69	SST	77	SST
67	Acetato de etila	70-71	Ponto do gráfico analítico 1500 pg	78-79	Ponto do gráfico analítico 1500 pg
68	SST	72	Acetato de etila	80	Acetato de etila
69-70	Ponto do gráfico analítico 1500 pg	73-74	Ponto do gráfico analítico 4000 pg	81-82	Ponto do gráfico analítico 4000 pg
71	Acetato de etila	75	Acetato de etila	83	Acetato de etila
72-73	Ponto do gráfico analítico 4000 pg				
74	Acetato de etila				

Validação da metodologia durante o processo de extração

Em cada lote de amostras a ser extraída, foram acrescentadas porções de uma amostra controle fortificadas (0,01 mg/kg a 1,0 mg/kg) para avaliar a eficiência das extrações durante o procedimento.

Precisão do processo de extração em lotes diferentes de amostras

Nos estudos de mamão papaya, manga, abobrinha e berinjela, uma mesma amostra foi analisada em dois grupos de extração diferentes.

Precisão do processo de extração em um mesmo lote de extração

Amostras de mamão formosa e de mamão papaya foram analisadas em replicata (n=5) num mesmo grupo de extração.

Amostras compostas

Para as culturas de berinjela e abobrinha, amostras compostas foram preparadas para análise. Cada amostra composta foi preparada com aproximadamente 100 g de 5 e 10 unidades diferentes de abobrinha e berinjela, respectivamente. Foram preparadas 10 amostras compostas e destas tomadas 15 g para análise.

Análise cromatográfica

Cada coluna foi condicionada a 350 °C por, em média, 20 h antes das injeções. Para o condicionamento da coluna, o *liner* foi limpo com água e acetona e em seguida mergulhado em uma solução de dimetil-dicloro-silano e ciclo-hexano, 10%. Após algumas horas, o *liner* foi retirado da solução e deixado na estufa, a 100 °C por aproximadamente 20 minutos para secar. Este processo conhecido como “silanização” é necessário para evitar que o *liner* comece a reter compostos em excesso por causa da presença de grupos hidroxilas (-OH) polares. A Figura 13 ilustra todo o processo de silanização.

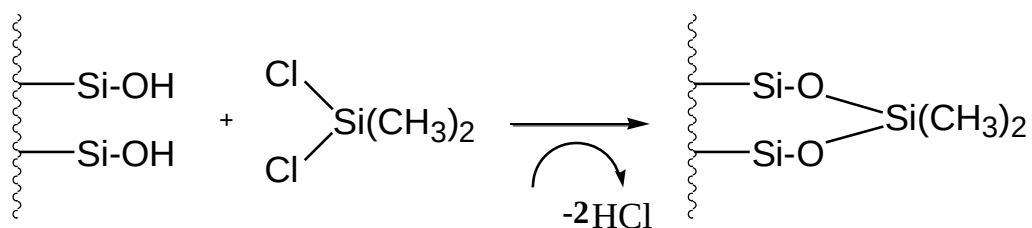


Figura 13. Reação de silanização do *liner*

Um exemplo de uma sequência de análise no injetor automático está ilustrada na Tabela 6. Em cada sequência, foram programadas entre 90 e 100 injeções. A performance da análise cromatográfica foi avaliada pela análise de uma mistura de 2 pesticidas (SST – System Suitability Test) no início, meio e fim da sequência. Os pesticidas utilizados como SST nas sequências de injeções em cada cultura estão apresentadas no anexo V.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

I. Validação da metodologia

A Tabela 7 mostra os resultados obtidos nos procedimentos de validação da metodologia para as culturas estudadas, nos três níveis de fortificação. Em todos os casos as amostras controle (testemunha), que foram utilizadas para fortificação, continham níveis de resíduos <LOQ. Os resultados de cada recuperação e as equações dos gráficos analíticos podem ser encontrados no ANEXO I.

Tabela 7. Sumário dos resultados validação em cada cultura, em %¹

Cultura	Pesticida	0,01 mg/kg, n = 5		0,1 mg/kg, n=4		1,0 mg/kg, n=4	
		Recuperação	CV%	Recuperação	CV%	Recuperação	CV%
Mamão formosa	P. Metílica	108	12,3	90,2	9,8	88,4	3,9
	Diazinona	99,5	16,2	90,9	13,9	86,2	5,4
Mamão papaya	P. Metílica	85,2	7,95	88,7	5,5	82,3	5,3
	Metidationa	88,5	9,75	86,7	7,4	80,5	7,1
Manga	P. Metílica	147	12,9	88,3	23,9	105	24,6
	Metidationa	145	8,6	91,4	12,6	99,8	18,6
Abobrinha	P. Metílica	79,5	8,1	86,8	3,9	89,5	3,6
	Metidationa	74,8	12,2	82,4	4,9	89,5	1,8
Berinjela	Malationa	77,4	4,7	77,6	6,3	76,3	6,3
	Etiona	81,5	12,4	84,8	7,5	83,8	8,1

¹Recuperação representa a média das amostras replicatas; CV= coeficiente de variação, média*100/desvio padrão; n = número de replicatas.

Com exceção da manga, os resultados de validação podem ser considerados satisfatórios. Segundo a FAO/IAEA (2002), os parâmetros de aceitabilidade de um método de análise de resíduos de pesticidas em alimentos por cromatografia gasosa num processo de validação dependem dos níveis de fortificação da amostras (Tabela 8). Para níveis de concentração mais baixos, próximos ao limite de quantificação do método, o coeficiente de variação CV (repetibilidade) pode chegar a 35% e a faixa de recuperação (tendência) é mais larga que em níveis de concentração maiores. Nestes níveis baixos, as interferências instrumentais e de matriz são mais significativas, e interferem na precisão e acuidade da medida (FAO/IAEA, 2002; Christeasen *et al.*, 2003).

Os resultados obtidos com manga, porém, apresentam-se fora dos parâmetros aceitáveis, com quase 150% de recuperação no nível de fortificação mais baixo, e CV de 24% para parationa metílica nos níveis 0,1 mg/kg e 1,0 mg/kg. Porém, estes resultados foram considerados como satisfatórios para os objetivos do estudo. Nos testes de recuperação, todos coeficientes de correlação dos gráficos analíticos em matriz calculada pela regressão ponderada mantiveram-se $\geq 0,99$ e $S_{rr} \leq 0,1$, de acordo com as recomendações da FAO/IAEA (2002).

Tabela 8. Parâmetros de validação aceitáveis para análise de pesticidas por cromatografia gasosa (FAO/IAEA, 2002)

Concentração mg/kg	CV%	Intervalo de recuperação, %
$\leq 0,001$	35	50 – 120
$> 0,001 - \leq 0,01$	30	60 – 120
$> 0,01 - \leq 0,1$	20	70 – 120
$> 0,1 \leq 1$	15	70 – 110
> 1	10	70 – 110

II. Validação da metodologia durante o processo de extração

Durante o processo de validação interna, é recomendado que, em cada lote de análise, amostras fortificadas, em duplicata, sejam analisadas juntamente com as amostras tratadas (FAO/IAEA, 2002). No mínimo dois níveis de fortificação são recomendados. A Tabela 9 mostra os resultados da validação interna para a parationa

metilica e a metidationa para mamão papaya, manga e abobrinha e de malationa e etiona para berinjela. Os resultados para cada lote de análise estão mostrados no Anexo II.

Tabela 9. Resultados da validação interna para mamão papaya, manga, abobrinha e berinjela¹

Cultura	Níveis de recuperação	Parâmetros	Parationa metilica (%)	Metidationa (%)
Papaya	0,01 mg/kg	Recup. média	76,3 – 103	82,4 – 111
		CV	0,9 – 4,3	0,9 – 4,3
	0,1 mg/kg	Recup. média	70,8 – 94,2	67,9 – 86
		CV	0,3 – 5,7	2,2 – 6,9
Manga	0,01 mg/kg	Recup. média	66,7 – 94,5	5,2 – 92,0
		CV	0,81 – 16,5	1,0 – 130
	0,1 mg/kg	Recup. média	66,7 – 87,4	76,1 – 88,9
		CV	0,7 – 6,2	0,66 – 5,4
Abobrinha	0,01 mg/kg	Recup. média	63,4 – 108	63,4 – 107
		CV	0,6 – 21	0,3 – 21,5
	0,1 mg/kg	Recup. média	70,8 – 110	74,2 – 108
		CV	0,3 – 14,8	0,2 – 12,4
Berinjela	Níveis de recuperação	Parâmetros	Malationa (%)	Etiona (%)
	0,01 mg/kg	Recup. média	49,0 – 77,5	50,3 – 136
		CV	5,3 – 30,8	0,8 – 21,9
	0,1 mg/kg	Recup. média	60,2 – 75,7	65,8 – 136
		CV	1,8 – 11,9	0,4 – 5,7

1. corresponde, para cada cultura, à faixa de recuperação média e de coeficiente de variação nos seis lotes de análise.

A maioria dos resultados (recuperação e CV) se apresentaram dentro ou bem próximos dos valores recomendados (Tabela 8). Em dois lotes de análise (Anexo II), a recuperação de metidationa em manga no LOQ apresentaram-se abaixo do valor

aceitável (<60%), sendo que um destes apresentou CV igual a 130%. A tendência de recuperação destes lotes, porém, foi oposta à indicada na validação da metodologia, onde as recuperações de metidationa e parationa metílica no LOQ mantiveram-se em torno de 146% (Tabela 7). Estes resultados indicam que erros aleatórios possam estar envolvidos na quantificação destes compostos em amostras de manga neste nível de concentração. Em berinjela, apesar da validação da metodologia se apresentar satisfatória (Tabela 7), uma larga faixa de recuperação média foi também observada nos lotes de análise de etiona (50,3% – 136%) e os níveis de recuperação de malationa em 4 lotes estiveram abaixo de 60% (Tabela 9 e Anexo II).

Diferentemente da outras culturas, apenas uma validação interna para parationa metílica e diazinona foi realizada em mamão formosa, já que as extrações das amostras desta cultura não foram divididas em lotes. Neste processo, três níveis de fortificação foram avaliados, com amostras triplicatas em cada nível. As amostras fortificadas extraídas foram quantificadas na primeira sequência de injeção no cromatógrafo. Os resultados estão mostrados na Tabela 10. As recuperações para parationa metílica se apresentaram, para todos níveis de fortificação avaliados, abaixo do aceitável (Tabela 8). Principalmente, a tendência de recuperação no LOQ (0,01 mg/kg), se mostrou oposta aos resultados encontrados na validação da metodologia, onde a recuperação média (n=5) foi de 108%. Os CV, em todos níveis, estão de acordo com as recomendações (Tabela 8).

Tabela 10. Resultados da validação interna para mamão formosa, com n=3

Nível de fortificação	Parâmetros	Diazinona (%)	Parationa metílica (%)
0,01 mg/kg	Recup. média	64,3	46,7
	CV	30,2	30,0
0,05 mg/kg	Recup. média	81,8	65,1
	CV	3,3	3,0
0,5 mg/kg	Recup. média	79,5	62,1
	CV	8,3	11,6

III. Gráficos analíticos em matriz utilizados nas quantificações das amostras tratadas e fortificadas

Como descrito na parte experimental, durante as análises das amostras, em cada uma das 3 seqüências injetadas no cromatógrafo foi injetado um gráfico analítico em matriz, que foram obtidas a partir de uma regressão linear ponderada de cinco níveis. A Tabela 11 mostra a média dos parâmetros de qualidade obtidos para cada combinação cultura/pesticida. Os gráficos analíticos em matriz de cada seqüência estão mostradas no Anexo III.

Tabela 11. Média dos valores R^2 e Srr dos três gráficos analíticos em matriz por regressão ponderadas para cada combinação cultura/pesticida.

	R^2	Srr	R^2	Srr
Cultura/ Pesticida	Diazinona		Parationa metílica	
Mamão formosa	0,989	0,1299	0,994	0,1089
	Metidationa		Parationa metílica	
Mamão papaya	0,978	0,1152	0,979	0,1216
Manga	0,999	0,0267	0,999	0,0234
Abobrinha	0,996	0,0617	0,994	0,0802
	Malationa		Etiona	
Berinjela	0,9987	0,0745	0,996	0,0903

Para o mamão formosa e o mamão papaya os coeficientes de correlação R^2 e Srr estiveram fora dos valores recomendados ($R^2 \geq 0,995$ e $Srr \leq 0,1$). Para cada cultura, os cinco pontos de cada um dos três gráficos analíticos foram preparados em seqüência, exatamente da mesma maneira. É possível, então, que o fato de que para o mamão os gráficos analíticos não se apresentaram a dentro dos parâmetros recomendada pela FAO/IAEA (2002) (tabela 8), esteja relacionado com a natureza desta matriz.

A Figura 14 ilustra os gráficos analíticos para a metidationa, da primeira seqüência de injeções na manga (a) e da segunda seqüência de injeções da abobrinha. Os valores do coeficiente de correlação R^2 e desvio padrão relativo Srr calculados por

meio da regressão ponderada,. O primeiro apresentou os dados calculados de $R^2=0,999$ e $S_{rr}= 0,0171$, é possível visualizar que os desvios se apresentam bem próximos a reta. No segundo, os dados calculados de $R^2=0,976$ e $S_{rr}=0,1278$, não estão dentro dos parâmetros recomendados (FAO/IAEA, 2002) e é possível constatar pelo gráfico que os desvios estão afastados da equação da reta.

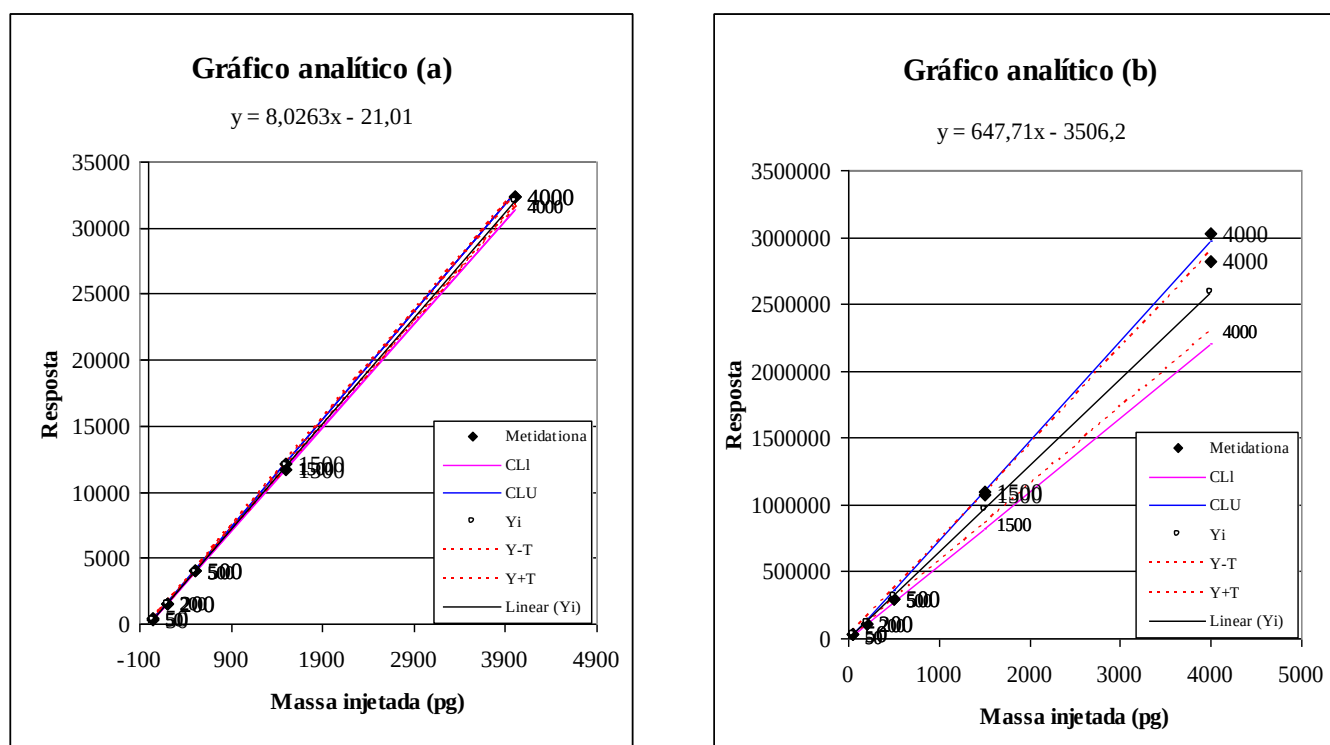


Figura 14. Gráficos analíticos em matriz: (a) seqüência 1 da manga; (b) seqüência 2 da abobrinha.

IV. Precisão do processo de extração de amostras tratadas

Em um mesmo lote

A repetibilidade do processo de extração dos resíduos de pesticidas de amostras tratadas foi avaliada para o mamão formosa, mamão papaya e abobrinha. Para o mamão formosa, foi escolhida aleatoriamente uma amostra tratada, e 4 porções da mesma foram extraídas em um mesmo lote de extração. Para o mamão papaya e a abobrinha a repetibilidade foi acessada por meio da amostra composta. Essas amostras compostas

foram preparadas tomando-se uma porção, equivalente a uma ponta de espátula, de cada amostra tratada. Cada amostra composta foi misturada para obter sua homogeneização, e 5 porções de cada extraídas e analisadas. Os resultados estão mostrados na Tabela 12.

Tabela 12. Repetibilidade dos resíduos de porções de uma amostra tratada, extraídas em um mesmo lote

Mamão formosa	Diazinona	Parationa metílica
Média (n=4), mg/kg	0,09	0,15
CV%	14,5	28,2
Mamão papaya	Metidationa	Parationa Metílica
Média (n=5), mg/kg	0,08	0,05
CV%	17,2	16,2
Abobrinha	Metidationa	Parationa Metílica
Média (n=5), mg/kg	0,09	0,03
CV%	18,1	16,6

Com exceção da parationa metílica em mamão formosa, o CV se manteve abaixo de 20%, indicando uma repetibilidade de extração dos resíduos de amostras contaminadas satisfatória.

Em lotes diferentes de amostras

A repetibilidade do processo de extração entre diferentes lotes foi acessada para a manga, abobrinha e berinjela. Durante o procedimento de um lote de extração, uma amostra foi escolhida, aleatoriamente, para ser novamente extraída no lote seguinte. Amostras cujos resíduos estavam < 0,01 mg/kg não foram consideradas. A Tabela 13 mostra a média dos resultados de todas as duplicatas para cada cultura e o Anexo IV os resultados individuais.

Tabela 13. Repetibilidade dos resíduos em uma amostra, extração em lotes diferentes¹

Manga	Metidationa	Parationa metílica
Faixa de concentração, mg/kg (n=4)	0,02-0,35	0,03-0,58
CV %, média	14,8	14,3
Abobrinha	Metidationa	Parationa metílica
Faixa de concentração, mg/kg (n=4)	0,02-0,32 (n=5)	0,06-0,16 (n=4)
CV %, média	25,4	5,5
Berinjela	Etiona	Malationa
Faixa de concentração, mg/kg (n=4)	0,01-0,18 (n=3)	0,01 (n=1)
CV %, média	15,4	0,6

1. n é o numero de lotes sequenciais de extrações para os quais amostras replicatas foram analisadas.

Em média, o CV entre lotes diferentes esteve abaixo de 20% para as culturas/pesticidas avaliadas, com exceção de metidationa em abobrinha. O maior CV médio para esta combinação cultura/pesticida se deveu ao CV de uma sequência de lotes (39% para metidationa e 23% para parationa metílica). As outras 3 seqüências apresentaram CV entre 4% e 17% (Anexo IV). Desta maneira, podemos concluir que a repetibilidade das extrações entre os lote é satisfatória.

V. Teste performance do sistema (SST)

Durante cada seqüência de injeção no cromatógrafo a gás, uma mistura de compostos organofosforados (SST) foi injetada 3 vezes, no início, meio e fim da seqüência, para avaliar a performance do sistema cromatográfico (Materiais e Métodos, Tabela 6). A Tabela 14 mostra, para cada seqüência e cultura/pesticida, os coeficientes de variação das áreas obtidas nas três injeções. Não se observou alteração significativa do tempo de retenção da mistura SST em nenhuma seqüência de cultura/pesticida estudadas. As tabelas detalhadas com as áreas de cada seqüência de injeções em todas as culturas estão no Anexo V.

Tabela 14. Coeficiente de variação (CV, %) entre as três injeções para cada seqüência

Mamão formosa	Dimetoato, 0,2 ng/μL	Metidationa, 0,1 ng/μL
Seqüência 1	5,3	9,3
Seqüência 2	3,7	8,1
Seqüência 3	9,2	13,3
Mamão papaya	Diazinona, 0,1 ng/μL	Fentiona, 0,2 ng/μL
Seqüência 1	6,8	16,5
Seqüência 2	2,2	9,4
Seqüência 3	12,3	3,0
Manga	Diazinona, 0,1 ng/μL	Dimetoato, 0,2 ng/μL
Seqüência 1	21,0	2,5
Seqüência 2	7,5	1,2
Seqüência 3	7,2	0,35
Abobrinha	Diazinona, 0,1 ng/μL	Fentiona, 0,2 ng/μL
Seqüência 1	14,5	31,1
Seqüência 2	8,3	127,6
	Diazinona, 0,1 ng/μL	Etiona, 0,2 ng/μL
Seqüência 3	13,1	6,5
Berinjela	Diazinona, 0,1 ng/μL	Parat Met, 0,2 ng/μL
Seqüência 1	15,3	14,0
Seqüência 2	7,1	8,8
Seqüência 3	0,27	2,5

A Figura 15 ilustra os cromatogramas da solução de trabalho dos compostos diazinona (100 pg/μL) e parationa metílica (200 pg/μL) utilizados como SST na primeira seqüência de injeções da berinjela. A solução foi injetada no início, meio e final da seqüência de injeções. Não houve alteração nos tempos de retentção das duas substâncias e os coeficientes de variação referente as áreas dos picos mantiveram-se abaixo de 20%, significando que o sistema cromatográfico permaneceu estável durante todas as injeções.

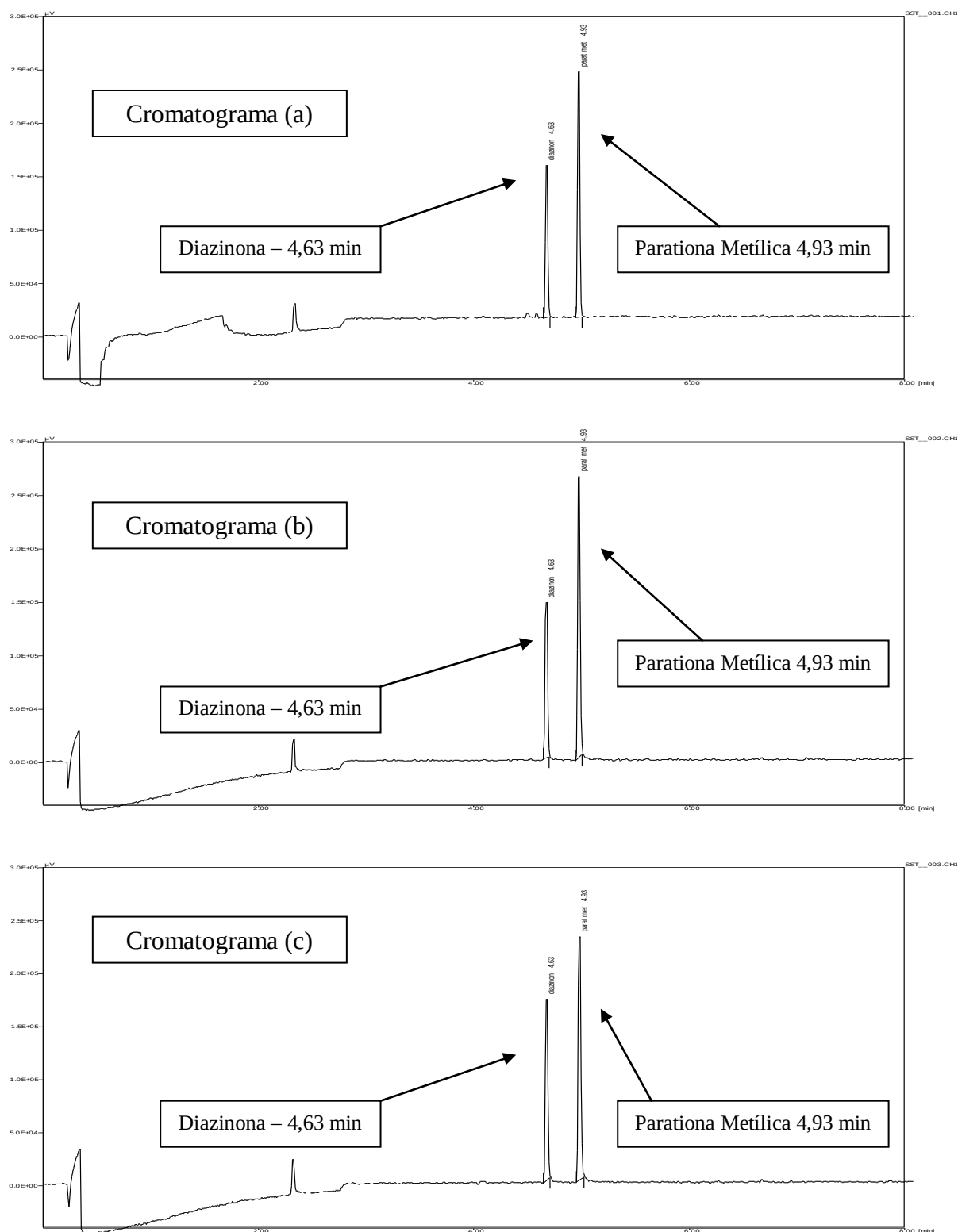


Figura 15. Cromatogramas da solução de SST (System Suitability Test) dos compostos diazinona e parationa metílica, injetados na sequência 1 das análises de berinjela. (a) no início da sequência de injeções; (b) no meio da sequência de injeções; (c) no final da sequência de injeções.

Com exceção da primeira sequência de diazinona em manga e fentiona em abobrinha, os CV foram $< 20\%$. Na terceira injeção das duas primeiras sequências da análise da abobrinha, observou-se uma degradação da fentiona, com o aparecimento de um pico adicional no final do cromatograma e uma diminuição da área do pico principal. Na terceira sequência, a fentiona foi substituída pela etiona na mistura SST. Estes resultados demonstram que a performance da coluna permaneceu estável durante as análises.

VI. Resíduos em diferentes partes da planta

Quando o problema da variabilidade de resíduos de pesticidas em unidades individuais foi primeiramente identificado na Inglaterra (Harris, 2000; Carter *et al.*, 2000), acreditava-se que um dos principais fatores que deveriam influenciar esta variabilidade seria a posição das unidades na planta e o potencial exposição ao fluxo de pesticida. Este fator foi avaliado neste projeto nas culturas de mamão papaya e manga. Durante a coleta, as amostras foram identificadas como expostas (E), medianamente expostas (ME) ou não expostas (NE). No caso do mamão, amostras voltadas para o exterior da linha, voltadas para o fluxo de aplicação, não cobertas por outros frutos, foram consideradas expostas (Figura 6). Amostras de manga poderiam estar cobertas pela folhagem da planta ou por outros frutos (Figura 8). Os níveis de resíduos encontrados nas amostras estão mostrados na Tabela 15.

Não houve diferença significativa entre a concentração média de resíduos de parationa metílica e metidationa e a posição das amostras para as duas culturas estudadas. A influência da posição dos frutos foi também avaliada por Ambrus (2000) em maçãs tratadas com clorpirifós metil e fosfamidona. Apesar dos frutos mais expostos terem apresentado níveis mais altos que os não expostos esta diferença não foi significativa. Por outro lado, a posição das maçãs na planta influenciou os níveis de fungicidas num estudo conduzido na Suíça, com níveis de resíduos mais altos encontrados nas maçãs que estavam posicionadas nas partes mais baixas da planta (Dieterle *et al.*, 2000, *appud* Hamilton *et al.*, 2004). Neste estudo um total de 126 amostras foi analisado

Tabela 15. Resíduos de acordo com a posição do fruto na planta para o mamão papaya e manga

Posição	Número de amostras	Parationa metílica, mg/kg		Metidationa, mg/kg	
		Média ± Dp	Intervalo	Média ± Dp	Intervalo
Mamão papaya					
E	66	0,05 ± 0,023	0,01 – 0,12	0,08 ± 0,034	0,02 – 0,16
ME	22	0,04 ± 0,026	<0,01 - 0,09	0,06 ± 0,03	0,02 – 0,12
NE	38	0,04 ± 0,024	0,01 – 0,12	0,06 ± 0,034	0,01 – 0,15
Manga					
E	54	0,21 ± 0,11	0,03 – 0,64	0,22 ± 0,10	0,03 – 0,50
ME	49	0,20 ± 0,12	0,03 – 0,59	0,20 ± 0,11	0,03 – 0,54
NE	36	0,19 ± 0,13	<0,01 – 0,56	0,17 ± 0,11	<0,01 – 0,43

E= exposta; ME= medianamente exposta; NE= não exposta

VI. Resíduos na polpa e casca de amostras de mamão e manga

Como o mamão e a manga são frutas consumidas sem a casca, é importante conhecer a fração do resíduo total do fruto que pode ser encontrado na polpa. Os organofosforados utilizados neste estudo são inseticidas de contato, não sistêmicos, (Exttoxnet, 2005). A Tabela 16, mostra a média e a faixa das razões [concentração na polpa]/[concentração na fruta] de diazinona, parationa metílica e metidationa em manga e mamão. Os valores de concentração encontrados na polpa, casca e fruta estão detalhados no Anexo IV.

Entre 19% e 96% dos resíduos encontrados nos frutos após 24 horas da última aplicação se concentraram na casca, confirmando o caráter não sistêmico destes compostos. A metidationa em manga apresentou um caráter levemente mais sistêmico que os outros compostos, que pode estar associado à característica desta cultura.

Tabela 16. Relação entre níveis de resíduos na polpa e na fruta (n=10)

Cultura	Pesticida	Média	Faixa
Mamão formosa	Diazinona	0,15	0,06 - 0,50
	Parationa metílica*	0,22	0,08 – 0,51
Mamão papaya	Metidationa	0,19	0,05 - 0,46
	Parationa metílica	0,19	0,08 - 0,32
Manga	Metidationa	0,35	0,06 - 0,81
	Parationa metílica	0,14	0,04 - 0,48

* Uma amostra não foi considerada por apresentar níveis baixos de polpa (<0,01 mg/kg) e casca (0,03 mg/kg).

VII. Variabilidade

A Tabela 17 mostra o peso médio das unidades individuais analisadas nos estudos, a relação entre o número de amostras analisadas e o número de amostras com resíduos acima do LOQ (0,01 mg/kg), os níveis de resíduos encontrados nas amostras analisadas e os fatores de variabilidade calculados. Os resultados individuais para cada amostra em cada cultura/pesticidas estão mostrados no Anexo VII.

O peso médio das unidades individuais variou entre 270,7 g e 1491,1 g, o que caracteriza estas culturas de tamanho grande (>250 g), segundo a classificação do *Codex Alimentarius* (1988). Com exceção do mamão formosa, entre 128 e 139 amostras de cada cultura foram analisadas e consideradas no estudo para o cálculo da variabilidade. Cento e vinte amostras são necessárias para se determinar, com 95% de confiança, que pelo menos 1 amostra exceda o valor 97,5 percentil dos resíduos encontrados nas unidades individuais (Ambrus, 2000; Hamilton, 2004). Este parâmetro é necessário para o cálculo da variabilidade neste nível (v 97,5 P). Se os valores de uma população de resíduos forem colocados em ordem crescente, o valor 97,5P pode ser

conceitualmente descrito como aquele que separa a parte superior que corresponde a 2,5% dos dados, do resto da população

No estudo com o mamão formosa, 45 das 60 amostras coletadas nas três últimas linhas selecionadas para serem amostradas, apresentaram resíduos no LOQ ou <LOQ (0,01 mg/kg) para os dois compostos analisados (parationa metílica e diazinona). Para as outras 15 amostras coletadas nesta área, os resíduos variaram entre 0,01 mg/kg a 0,04 mg/kg. Uma investigação posterior indicou que estas linhas não tinham recebido o segundo tratamento de pesticidas. A investigação mostrou que a calda de aplicação (solução com a mistura dos dois pesticidas) terminou antes do programado, devido ao uso de um bico de aplicação com diâmetro maior que o utilizado na primeira aplicação, o que resultou num maior volume aplicado por área. A equipe do projeto acompanhou a primeira parte desta aplicação, mas se retirou no final do processo, e não foi avisada pelo aplicador do problema ocorrido. Desta maneira, somente as 66 amostras coletadas na área que recebeu os dois tratamentos foram consideradas para o cálculo da variabilidade. Este número de amostras garante uma confiabilidade de 81% para o valor 97,5P.

Tabela 17. Valores encontrados (média) de resíduos e variabilidade

Cultura	Peso da unidade	CV, %	Compostos	Amostras analisadas / > LOQ	Resíduos, mg/kg				Variabilidade	
	Média, g				níveis	Média	CV, %	97,5 th	v _{max}	v _{97,5}
Mamão/ Formosa	1491,1	24,1	P, metílica	66 ^a / 66	0,01 - 0,42	0,14	72,6	0,38	2,9	2,6
			Diazinona	66 / 66	0,02 - 0,31	0,15	52,9	0,29	2,1	2,0
Mamão/ papaya	658,3	32,0	P, metílica	128 ^b / 126	<0,01 – 0,12	0,05	50,6	0,10	2,6	2,0
			Metidationa	128 / 128	0,01 – 0,16	0,07	49,0	0,14	2,3	2,0
Manga/ keit	853,3	27,8	P, metílica	139 ^b / 138	<0,01 – 0,64	0,20	59,7	0,50	3,2	2,5
			Metidationa	139 / 138	<0,01 – 0,54	0,19	55,2	0,43	2,8	2,2
Abobrinha	446,5	37,7	P, metílica	128 ^b / 118	<0,01 – 0,29	0,06	73,7	0,17	4,5	2,6
			Metidationa	128 / 127	<0,01 – 0,66	0,14	61,3	0,32	4,6	2,2
Berinjela*	270,7	18,8	Etiona	133 ^b / 116	<0,01 – 0,45	0,05	87,2	0,23	8,7	4,4
			Malationa	133 / 24	<0,01 – 0,07	–	–	–	–	–

^a 81% de confiança; ^b > 95% de confiança; v_{max} = maior valor de resíduo/média; v_{97,5} = 97,5th P/média.

Como somente 24 das 133 amostras analisadas apresentaram resíduos de malationa acima do LOQ, os fatores de variabilidade para este composto não foram calculados. Uma possível explicação para esta ausência de resíduos pode estar relacionado com a qualidade do produto formulado. O pré-teste conduzido com este produto apresentou resultado satisfatório e o mesmo foi deixado na fazenda por cerca de 2 semanas na temperatura ambiente, juntamente com o produto formulado de etiona, até a realização do estudo final. Uma possível degradação da malationa durante este tempo de estocagem não pode ser descartada.

Com exceção da malationa em berinjela, entre 87% e 100% das amostras analisadas apresentaram resíduos acima do LOQ. No cálculo da média, resíduos < LOQ foram considerados como 0,5 LOQ. Ambrus (2000) avaliou o impacto deste procedimento no cálculo das médias e dos fatores de variabilidade nas populações de resíduos de clorpirifós metil em maçãs (300 amostras) e vinclozolim em kiwi (209 amostras). Níveis de resíduos <LOQ foram substituídos por 0,5 LOQ e por valores mensuráveis de resíduos (acima do limite de detecção). Os fatores de variabilidade calculados por ambos os métodos só variaram na segunda casa decimal. Esta conclusão só foi obtida com populações de resíduos na qual o número de amostras com níveis <LOQ foi menor que 20%-22% do total de amostras.

As Figuras de 16 a 19 mostram as distribuições das frequências relativas dos resíduos de pesticidas nas amostras individuais tratadas para o mamão papaya, manga, abobrinha e berinjela. Os coeficientes de variação destas distribuições variaram entre 49% e 87,2 % (Tabela 17). Ambrus (2000) encontrou para clorpirifós metil e fosfamidon em maçã, CV entre 65% e 84% e para permetrina, organofosforados e vinclozolin, em kiwi, CV entre 62% e 109%. A média dos resíduos encontrados nas amostras variaram entre 0,05 mg/kg a 0,17 mg/kg para todos os compostos e 0,75 mg/kg para vinclozolin. Estes resultados indicam que a distribuição de resíduos em unidades individuais independe do tamanho e característica da cultura, do nível de pesticidas e das propriedades físico-químicas dos pesticidas aplicados. Outros autores também chegaram à conclusão semelhante (Hamilton *et al.*, 2004; Hill e Reynolds, 2002).

Pode-se observar que as distribuições dos resíduos nas unidades individuais aproximaram-se de uma distribuição log-normal, positivamente deslocada (*skew positive*), isto é, há uma maior frequência de amostras com níveis de resíduos próximos ao LOQ. Distribuições similares foram descritas por outros autores, para outras

culturas e pesticidas (Hill, 2000; Ambrus, 2000). Para a metidationa em mamão papaya e abobrinha, esta distribuição apresentou um perfil diferenciado, menos deslocada e mais próxima a uma distribuição normal. Este perfil não está porém relacionado com nenhum dos parâmetros mostrados na Tabela 17, como nível de resíduos e tamanho da unidade.

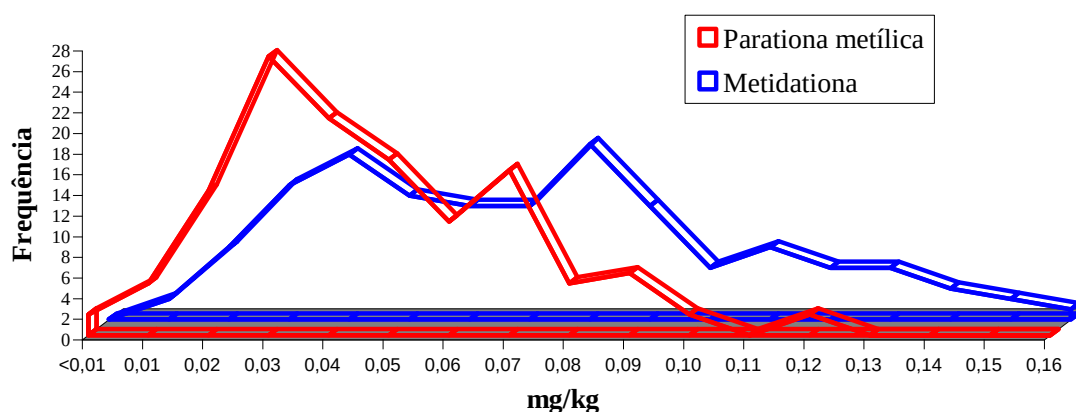


Figura 16. Distribuição dos resíduos em amostras de mamão papaya

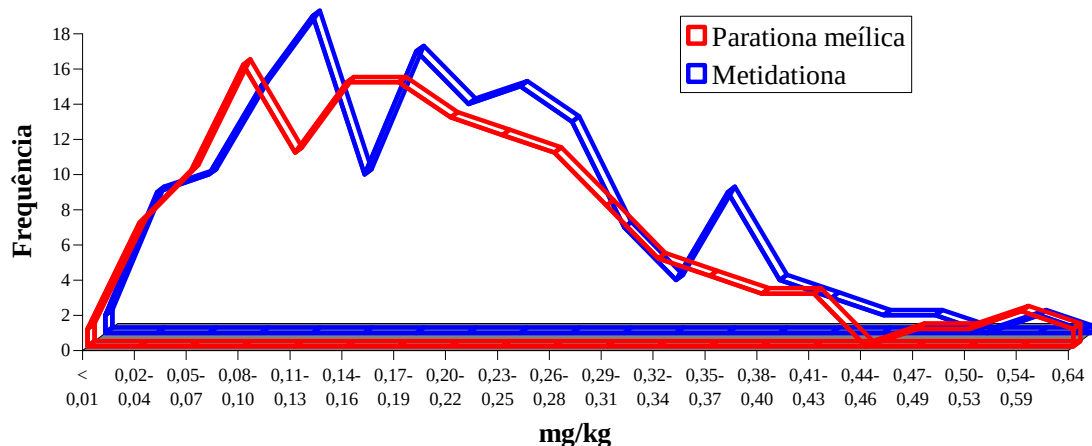


Figura 17. Distribuição dos resíduos em amostras de manga

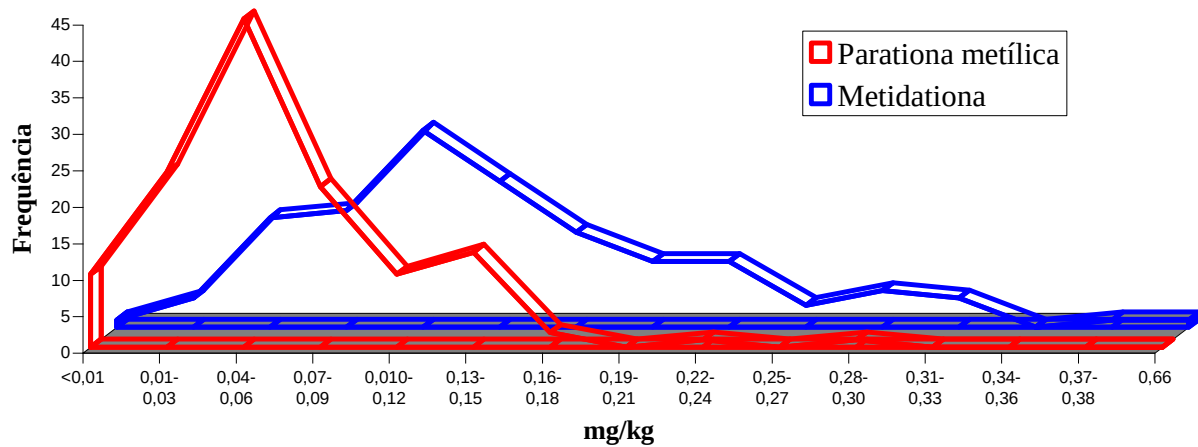


Figura 18. Distribuição dos resíduos em amostras de abobrinha

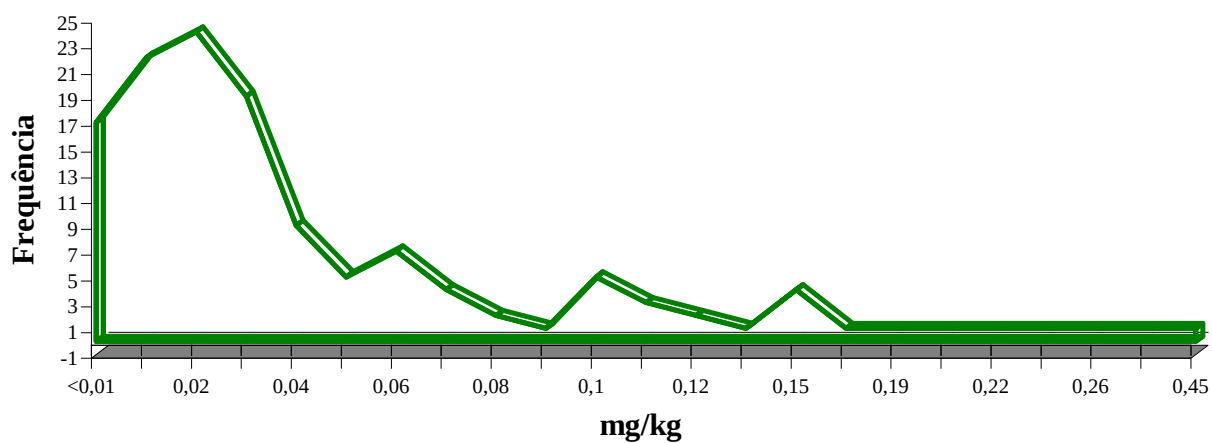


Figura 19. Distribuição dos resíduos de etiona em amostras de berinjela

Os fatores de variabilidade $v_{\max}$ (maior concentração de resíduo/média) calculados para cada cultura/pesticida (Tabela 17) variaram entre 2,1 e 3,2 para mamão e manga, e entre 4,5 e 8,7 para abobrinha e berinjela. Valores de $v_{97,5P}$ (valor de 97,5P/média) ficaram entre 2,0 e 2,6 para todas as culturas, com exceção da etiona em berinjela, com 4,4. Esta cultura também apresentou o maior CV de distribuição (87,5%), o que pode ser reflexo da disposição de alguns frutos na planta da berinjela, que estavam muito cobertos por folhas (Figura 10), levando a uma média de resíduos baixa em relação ao valor máximo (Tabela 17). A variabilidade dos resíduos com relação à posição da berinjela na planta não foi, porém, avaliada neste estudo. Enquanto os valores de $v_{\max}$ e $v_{97,5P}$ foram similares para as frutas, para as culturas abobrinha e berinjela, o $v_{97,5P}$ representou, em média, 50% do $v_{\max}$.

Os fatores de variabilidade encontrados no presente estudo são comparáveis aos obtidos em outros países. Hamilton *et al.* (2004) descreveram vários estudos de campo conduzidos na Europa em várias culturas e com pesticidas de várias classes. Em 22 estudos conduzidos em maçãs, cenoura, uva, kiwi e alface (no mínimo 120 amostras analisadas por estudo) e em 4 estudos com cenoura, alface e morango (entre 90 e 110 amostras analisadas), os $v_{97,5P}$ variaram entre 1,4 e 4,4.

Vários estudos tem mostrado que, na maioria dos casos, o método de aplicação não afeta o fator de variabilidade (Lentza-Rizos and Tsioumplekou, 2001; Lentza-Rizos and Balokas, 2001; Fernandez-Cruz *et al.*, 2004). Porém, em um estudo com aplicação pós colheita (Hamilton *et al.*, 2004), maçãs foram tratadas em um tanque com uma mistura de difenilamina, iprodiona e carbendazim. Os valores de $v_{97,5P}$ para os dois primeiros compostos foram 2,5 e 2,8 e para carbendazim, 7,2 (n=135). Os autores sugeriram que as propriedades físico-químicas do carbendazim, em combinação com a superfície da cultura, podem ter influenciado o $v_{97,5P}$. Ambrus (2000) também encontrou um alto valor de $v_{97,5P}$ para aplicação granular de aldicarbe em batata (9,1), confirmando que a forma de aplicação pode exercer influência sobre o fator de variabilidade.

No presente estudo, somente aplicação foliar foi utilizada para tratamento das culturas. Porém, para mamão papaya, um sistema automático de aplicação foi utilizado (Figura 7), enquanto nas outras culturas, os pesticidas foram aplicados manualmente. A aplicação automática fornece um fluxo de aplicação mais homogêneo, comparado com a manual e pode ter tido alguma influência no menor fator de variabilidade da

parationa metílica encontrado no mamão papaya, comparado com mamão formosa e manga. Os resíduos encontrados no mamão papaya estavam também numa menor faixa de concentração comparados com as outras frutas, apesar da dose de aplicação (kg ingrediente ativo/hL) ser similar.

Pouco tem sido discutido sobre o impacto da precisão analítica e acuidade dos resíduos de pesticidas no fator de variabilidade. Hill e Reynolds (2002) reportaram os resultados de 106 estudos onde 36 pesticidas e alguns de seus metabólitos foram analisados em frutas e verduras coletadas no comércio no Reino Unido, originadas de 17 países diferentes. Em cada estudo, cerca de 45 a 110 unidades foram analisadas. A $v_{97,5P}$ variou entre 1,4 e 9,6 e a recuperação média de amostras fortificadas se encontraram entre 64% e 118%, com CV máximo de 47%. Os autores concluíram que a incerteza analítica contribui somente com até 11% da variância total dos resíduos, e que a variabilidade de resíduos não é um artefato da incerteza analítica. Porém detalhes de como esta incerteza foi calculada não foi fornecida.

No presente estudo, é possível que a performance analítica durante a análise de etiona em berinjela, que apresentou recuperação na validação interna entre 50% e 140% (Tabela 9), tenha contribuído para a alta variabilidade encontrada nas amostras desta cultura. Porém, não houve nenhuma relação entre os níveis de resíduos encontrados nas amostras analisadas em um determinado lote de análise e os resultados obtidos na validação interna deste lote.

Durante os estudos de campo de mamão papaya, manga, abobrinha e berinjela, a variabilidade dos resíduos em cada planta foi avaliada e os resultados estão mostrados na Tabela 18. Os resultados individuais estão mostrados no Anexo VIII. Os valores de $v_{max \text{ intra planta}}$ variaram entre 1,2 e 2,9, bem inferiores aos v_{max} mostrados na Tabela 17. Os maiores valores foram encontrados para etiona em berinjela, confirmando a tendência de maior variabilidade de resíduos nesta cultura.

Tabela 18. Fatores de variabilidade calculados por planta;

Cultura	Nº de mostras por planta	Pesticida	v max intra planta
Mamão papaya	5 / 4	P. metílica	1,3 / 1,6
		Metidationa	1,2 / 1,4
Manga	10	P. metílica	1,9
		Metidationa	1,7
Abobrinha	3 / 3 / 3	P. metílica	1,8 / 1,3 / 2,1
		Metidationa	1,8 / 1,2 / 1,8
Berinjela	6 / 3 / 3 / 4 / 3	Etiona	2,9 / 2,1 / 2,3 / 1,4 / 1,7
	3	Etiona	1,5
		Malationa	2,0

Apesar de que o uso do valor médio de amostras individuais ser mais adequado para o cálculo da variabilidade (Ambrus, 2000), fatores de variabilidade têm sido calculados por alguns autores como a razão entre o valor máximo de resíduos ou 97,5P pelo valor de resíduos encontrados em amostras compostas (Hamilton *et al.*, 2004; Fernandes-Cruz *et al.*, 2004; Andreson, 2000; Lentza-Rizos e Tsioumplekoun, 2001; Lentza-Rizos e Balokas, 2001; Earl *et al.*, 2000). Neste estudo, amostras compostas de mamão papaya, abobrinha e berinjela foram preparadas, como descrito em Materiais e Métodos, e analisadas. Os valores detalhados da concentração de cada amostra estão no Anexo IX.

Para a abobrinha, a média das concentrações encontradas nas dez amostras compostas (Tabela 19) foram inferiores aos resíduos médios encontrados nas unidades individuais (Tabela 17; 0,06 mg/kg para parationa metílica e 0,14 mg/kg para metidationa). No entanto, para berinjela e mamão papaya a média das concentrações dos pesticidas das amostras compostas aproximaram-se do valor médio dos resíduos encontrados nas amostras individuais (Tabela 17). Hill e Reynolds (2002) reportaram os valores de resíduos de amostras compostas (10 unidades) e a média de resíduos de unidades individuais (n entre 45 e 110). A concentração de resíduos encontrada nas amostras compostas mostrou ser até 10 vezes superior à média dos resíduos em unidades individuais.

Os fatores v_c calculados mostrados na Tabela 19 variaram, relativos aos v calculados anteriormente (Tabela 17), proporcionalmente às médias dos resíduos encontrados em amostras compostas.

Tabela 19. Fatores de variabilidade calculados com resíduos em amostras compostas (v_c)

Cultura	Pesticida	Composta ¹ , mg/kg	Máximo ² , mg/kg	97,5 P ² , mg/kg	v_c max	v_c 97,5
Mamão papaya ²	P. metílica	0,05	0,12	0,10	2,4	2,0
	Metidationa	0,08	0,16	0,14	2,0	1,8
Abobrinha ³	P. metílica	0,04	0,29	0,17	7,3	4,3
	Metidationa	0,07	0,66	0,31	9,4	4,4
Berinjela ⁴	Etiona	0,04	0,45	0,23	11,2	5,8

1. Média de resíduos encontrada em 5 replicatas de uma amostra composta, formada por porções de todas as amostras tratadas (mamão papaya); média de resíduos de 10 amostras compostas, cada uma formada com 5 unidades (abobrinha) ou com 10 unidades (berinjela); 2. valores obtidos da população de resíduos em unidades individuais

De acordo com o *Codex Alimentarius* (1988), 10 ou 5 unidades devem ser tomadas para formar uma amostra composta que represente um lote, para culturas de tamanho médio e grande (>250 g), respectivamente. Ambrus (2000), indicou que, para amostras de tamanho médio, a incerteza da amostragem (CV) é de aproximadamente 30% quando a amostra composta tem 10 unidades, e de 20% para amostras com 24 unidades. No presente estudo, CV de 30,3% e 43,8% foram encontrados em amostras compostas de abobrinha (tamanho grande) (5 unidades) para metidationa e parationa metílica, respectivamente (n=10). Para etiona em berinjela (10 unidades) o CV foi de 80,9% (Anexo IX). Estes resultados contradizem os obtidos por Ambrus (2000) para amostras de tamanho médio, porém, mais estudos precisam ser conduzidos para indicar a real tendência do CV relacionado com o número de unidades.

CONCLUSÃO

Neste estudo, vários aspectos relacionados à área de resíduos de pesticidas foram abordados – estudos supervisionados de campo, metodologia analítica, incerteza do método analítico e variabilidade de resíduos. Os fatores de variabilidade dos resíduos em amostras individuais encontrados nas culturas estudadas se situaram na faixa reportada por outros estudos conduzidos em outras regiões estudadas do mundo, em outras culturas e com pesticidas de diversas características físico-químicas. Apesar de este estudo suportar a recomendação do JMPR de utilizar um fator 3 para todas as culturas/pesticidas, é importante ressaltar que para algumas culturas, este valor pode exceder o valor previamente estabelecido, e o cálculo da ingestão aguda utilizando o fator 3 pode subestimar a exposição aguda humana a pesticidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adou, K.; Bontoyan, W. R. and Sweeney P. J. Multiresidue method for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables by accelerated solvent extraction and capillary gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.* **49**(9), 4153-4160, 2001.
2. Albero, B.; Sánchez-Brunete, C.; and Tadeo, J. L. Determination of Organophosphorus Pesticides in Fruit Juices by Matrix Solid-Phase Dispersion and Gas Chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 6915-6921, 2003.
3. Ámbrus, Á. Within and between field variability of residue data and sampling implications. *Food Additives and Contaminants*. **17**, 519-37, 2000.
4. Ámbrus, Á. and Lantos, J. Evaluation of the studies on decline of pesticides residues. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 4846-4851, 2002.
5. Ambrus, A. Uncertainty of analyte concentration predicted by GLC and HPLC analysis. 10th IUPAC Congress on the Chemistry of Crop Protection Basel 2002, Poster 6a.22, Abstract book V2, 222, 2002.
6. Anderson, A. Comparison of pesticide residues in composite samples and in individual units: Swedish approach to sampling. *Food Additives and Contaminants*, **17**, 547-550, 2000.
7. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Toxicologia. Disponível em www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/index.htm. 2003
8. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Toxicologia. Disponível em www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/index.htm. 2005a
9. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Toxicologia. Disponível em http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/residuos/rel_anual_2003.pdf. 2005b

10. Brasil, 1990. Decreto N° 98.816, de 11/01/90, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Diário Oficial, Brasília, Brasil.
11. Brasil, 2002. Decreto N° 4074, de 04/01/2002. Anvisa, www.anvisa.gov.br/toxicologia/legis/especifica/afins/decretos.htm.
12. Caldas, E. D. Resíduos de pesticidas em alimentos e o *Codex Alimentarius*. *Bol SBCTA*, **33** (1), jan/jun, 1999.
13. Caldas, E. D. e Souza, L. C. K. R. Avaliação de risco crônico da ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. *Revista de Saúde Pública*. **34**, 529-37, 2000.
14. Caldas, E. D.; Conceição M. H.; Miranda, M. C. C. and Souza, L. C. K. R. Determination of dithiocarbamate fungicide residues in food by the spectrophotometric method using a vertical disulfide reaction system. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **49**, 4521–4525, 2001.
15. Caldas, E. D. and Souza, L. C. K. R. Chronic dietary risk for pesticide residue in food in Brazil: an update. *Food Additives and Contaminants*. **21**, 1057-64, 2004.
16. Caldas, E. D.; Conceição, M. H.; Miranda, M. C. C. and Souza, L. C. K. R. Dithiocarbamates residues in Brazilian food and the potential risk for consumers. *Food and Chemical Toxicology*. **42**, 1877–1883, 2004.
17. Carter, A. D.; Fogg, P. and Beard, G. R. Investigations into the causes of residue variability on carrots in the UK. *Food Additives and Contaminants*. **17**, 503-509, 2000.
18. *Codex Alimentarius* Codex Committee on Pesticide Residues, Draft revised recommended method of sampling for the determination of pesticide residues for compliance with MRLs, Alinorm 99.24, Appendix III, FAO, Rome, 1988(a).
19. *Codex Alimentarius* Procedural Manual, 12 ed, Geneva, 2003.

20. Conceição, M. H. Resíduos de pesticidas em tomates: metodologia analítica e avaliação da exposição humana. Tese de Doutorado, UnB, Brasília-DF.
21. Christeasen, H. B., Poulsen, M. E. and Pedersen, M. Estimation of the uncertainty in a multiresidue method for the determination of pesticide residues in fruit and vegetables. *Food Additives and Contaminants*. **17**, 764-775, 2000.
22. Crossley, S. J. Joint FAO/WHO Geneva consultation – acute dietary intake methodology. *Food Additives and Contaminants*. **17**, 557-562, 2000.
23. Dórea, H. S. and Lanças, F. M. Matrix solid-phase dispersion extraction of organophosphorus and synthetic pyrethroid pesticides in cashew nut and passion fruit. *J. Microcolumn Separations*., **11**(5), 367-375, 1999.
24. Dórea, H. S. and Sobrinho, L. L. Analysis of Pesticide Residues in Rice Using Matrix Solid-Phase Dispersion (MSPD). *J. Braz. Chem. Soc.* **15** (5), 690-694, 2004.
25. Ecobichon, D. J. Toxic effects of pesticides. In: Amdur, M. O. & Klaassen C.D., editors. *Casarett and Doll's toxicology: the basis of poisons*. 5º Edição. New York: Mc Graw Hill; 1996.
26. EPA. Available information on assessing exposure from pesticides in food - a user's guide United States Environmental Protection Agency. Office of Pesticide Programs, June 21, 2000.
27. Espanha. Método Multirresíduo modificado para amostras com alto teor de água. Metodologia desenvolvida pelo *Laboratori Agrari de Cabrils*, Barcelona, Espanha, 1998, não publicado.
28. EU. European Commission. Monitoring of pesticide residues in products of plant origin in the European Union, Norway, Iceland and Liechtenstein, 2001 Report.,

Health & Consumer Protection Directorate –General Directorate F – Food and Veterinary Office, 2001.

29. EURACHEM. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 2nd Edition, 2000. Eurachem/CITAC Guide CG 4. Editores Ellison, S. L. R.; Rosslein, M. and Williams, A. Disponível em <http://www.eurachem.ul.pt/guides/QUAM2000-1.pdf>
30. EXTTOXNET. The Extension Toxicology Network. Pesticide Information Profiles. Disponível em <http://exttoxnet.orst.edu/>, 2005.
31. FAO. Pesticide Residues in Food, Volume 2, 2 ed., 2000; Manual on the Submission and Evaluation of Pesticide Residues Data, FAO, Roma, 2002. <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/Pesticid/Default.htm>
32. FAO. Workshop on preparation for the implementation of FAO Project on Uncertainty of sampling, Vienna 12-16, August, 2002.
33. FAO. *Pesticide residues in food*. Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Expert Group on Pesticide Residues. FAO Plant Production and Protection Paper Food and Agriculture Organization. Chapter 3. Roma. 2000.
34. FAO. *Pesticide residues in food*. Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Expert Group on Pesticide Residues. FAO Plant Production and Protection Paper Food and Agriculture Organization. Chapter 3. Roma. 2001.
35. FAO. *Pesticide residues in food*. Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Expert Group on Pesticide Residues. FAO Plant Production and Protection Paper Food and Agriculture Organization. Chapter 3. Roma. 2003.
36. FAO. *Pesticide residues in food*. Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Expert

Group on Pesticide Residues. FAO Plant Production and Protection Paper Food and Agriculture Organization. Chapter 3. Roma. 2004.

37. FAO/IAEA. Workshop on preparation for the implementation of FAO Project on Uncertainty of sampling, Vienna 12-16, August, 2002.
38. Fernández-Cruz, M. L.; Villarroya, M.; Llanos, S.; Alonso-Prados, J. L. and García-Baudín, J. M. Field-Incurred Fenitrothion Residues in Kakis: Comparison of Individual Fruits, Composite Samples, and Peeled and Cooked Fruits. *J. Agric. Food Chem.* **52**, 860-863, 2004.
39. Gebara, A. B.; Ciscato, C. H. P. and Ferreira, M. S. Design and implementation of an effective regional monitoring program for pesticide residues in food. International workshop on crop protection chemistry in Latin America. 14-17 February, 2005. Costa Rica. *Proceedings*, 31-35, 2005.
40. Gobo, A. B.; Kurz, M. H. S.; Pizzutti, I. R.; Adaime, M. B. and Zanella, R. Development and Validation of Methodology for the Determination of Residues of Organophosphorus Pesticides in Tomatoes. *J. Braz. Chem. Soc.*, **15**, 945-950, 2004.
41. Goldman, L.R., Beller M. and Jackson R.J. Aldicarb food poisonings in California, 1985–1988: toxicity estimates for humans. *Arch Environ Health* **45**, 141–147 1990.
42. Hamilton D. J., Ambrus A., Dieterle R., Felsot A., Harris C., Petersen B., Racke K., Wong S., Gonzalez R., Tanaka K., Earl M., Roberts G. and Bhula R. Pesticides Residues in food - acute dietary exposure. *Pesticide Science*, **60**, 311-339, 2004.
43. Harris, C. A. and Hamey, P.Y. The variation of pesticide residues in fruits and vegetables and the associated assessment of risk. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **30**, S34-S41, 1999.

44. Harris, C. A. How the variability issue was uncovered: the history of the UK residue variability. *Food Additives and Contaminants*. **17**, 491-95, 2000.
45. Harris, C. A.; Mascall, J.R.; Warren S.F. and Crossley, S. J. Summary report of the international conference on pesticide residues variability and acute dietary risk assessment. *Food Additives and Contaminants*. **17**, 481-485, 2000.
46. Hill, A. R. C. Residue variability and sampling – practical problems and consequences for residues monitoring. *Food Additives and Contaminants*. **17**, 539-546, 2000.
47. Hill, A. R. C. and Reynolds, S. L. Unit-to-unit variability of pesticides residues in fruits and vegetables. *Food Additives and Contaminants*. **19**, 773-747, 2002.
48. Holstege, D. M.; Scharberg, D. L.; Richardson, E., R. and Möller G. Multiresidue screen for organophosphorus insecticides using gel permeation chromatography – silica gel cleanup. *Journal of AOAC International*. **74**(2), 394-399, **1991**.
49. Jensen, A. F.; Petersen, A. and Granby K. Cumulative risk intake of organophosphorus and carbamate pesticides in the Danish diet. *Food Additives and Contaminants*. **20**, 776-85, 2003.
50. Kadenczki L.; Árpád, Z. and Gardi I. Column extraction of residues of several pesticides from fruits and vegetables: a single multiresidue analysis method. *Journal of AOAC International*. **75**(1), 53-61, 1992.
51. Keppel, G. E. Collaborative study of the determination of dithiocarbamate. Residues by a modified carbon disulfide evolution method. *Journal of AOAC* **54**, 528–532, 1971.
52. Lanças, F. M. Detectores. *Cromatografia em fase gasosa*. São Carlos, editora Acta, 72-74, 1993.

53. Lentza-Rizos C. and Tsioumplekou M. Residues of aldicarb in oranges: a unit-to-unit Variability study. *Food Additives and Contaminants.*, **18**, 886-97, 2001.
54. Lentza-Rizos C. and Balocas, A. Residues levels of Chlorprofam in individual tubers and composite samples of postharvest-treated potatos. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 710-714, 2001.
55. Leoni, V.; Caricchia, A. N. and Chiavarini. Multiresidue method for quantitation of organophosphorus pesticides in vegetable and animal foods. *Journal of AOAC International.* **75**(3), 511-518, **1992**.
56. Marrs, T. C. The health significance of pesticides variability in individual commodity items. *Food Additives and Contaminants.***17**(7), 487-89, 2000.
57. Munoz, J. A.; González, E. F.;. García-Ayuso, L. E.; Casado, A. G. and Cuadros-Rodríguez, L. A. New approach to qualitative analysis of organophosphorus pesticide residues in cucumber using a double gas chromatographic system: GC-pulsed-flame photometry and retention time locking GC-mass spectrometry. *Talanta.* **00**, 1-15, 2003.
58. Okumuraa, T.; Hisaokaa, T.; Naitob, T.; Isonumab, H.; Okumurac, S.; Miurac, K.; Maekawac, H.; Ishimatsud, S.; Takasud, N. and Suzukie, K. Acute and chronic effects of sarin exposure from the Tokyo subway incident. *NeuroImage.* **25**(1) 43-50, 2005.
59. Oliva, R.; Gelmal, A. L.; Nóbrega, A. W. and Araújo, A. C. P. Pesticide monitoring programme of the Ministry of Health of Brazil. *Food Additives and Contaminants*, **20**, 758-763, 2003.
60. Patel, K.; Fussell, R. J.; Macarthur, R.; Goodall, D. M. and Keely, B. J. Method validation of resistive heating—gas chromatography with flame photometric detection for the rapid screening of organophosphorus pesticides in fruit and vegetables. *Journal of Chromatography A*, **1046**, 225–234, 2004.

61. Renwick, A. G. The use of safety or uncertainty factors in the setting of acute reference doses. *Food Additives and Contaminants*, **17**, 627-635, 2000.
62. SINITOX. Fundação Oswaldo Cruz. Centro de Informação Científica e Tecnológica. Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/sinitox>, 2005.
63. Soboleva, E. and Ambrus, A. Application of a system suitability test for quality assurance and performance optimization of a gas chromatographic system for pesticide residue analysis. *Journal of Chromatography A*, **1027**, 55-65, 2004.
64. Stepan, R.; Hajslova, J.; Kocourek, V. and Ticha, J. Uncertainty of gas chromatography measurement of troublesome pesticide residues in apples employing conventional and mass spectrometric detectors. *Analytica Chimica Acta*, **520**, 245-255, 2004.
65. Suhre, E.B. Pesticide residues and acute risk assessment – the US EPA approach. *Food Additives and Contaminants*, **17**, 569-573, 2000.
66. WHO. *Guidelines for predicting Dietary Intake of Pesticides Residues*. Global Environment Monitoring System Food Contamination Monitoring and Assessment programme (GEM/Foods) (Geneva: World Health Organization, Programme of Food Safety and Food Aid), 1997.

ANEXO I – Tabelas detalhadas dos testes de validação para os inseticidas organofosforados em cada cultura e gráficos analíticos de calibração

Tabela 1. Teste de recuperação para diazinona e parationa metílica em **mamão formosa**.

Níveis de recuperação	Diazinona recuperação (%)	Parationa Metílica recuperação (%)
0,01 mg/kg	125	118
	103	109
	81,3	87,5
	95,1	122
	93,0	106
Média	99,5	108
CV	16,3	12,3
0,1 mg/kg	83,7	78,2
	84,6	95,2
	110	98,3
	85,5	89,0
Média	90,9	90,2
CV	13,9	9,8
1,0 mg/kg	81,1	93,4
	83,0	86,2
	92,0	86,0
	89,0	87,7
Média	86,2	88,4
CV	5,4	3,9

Gráfico analítico em matriz utilizando regressão ponderada:

Parationa Metílica: $y = 201,4419x - 2272,48$ $r^2 = 0,9985$, $S_{rr} = 0,04765$

Diazinona: $y = 193,15856x - 914,6242$ $r^2 = 0,9976$, $S_{rr} = 0,05484$

Tabela 2. Teste de recuperação para metidationa e parationa metílica para **mamão** papaya.

Níveis de recuperação	Metidationa recuperação (%)	Parationa Metílica recuperação (%)
0,01 mg/kg	84,3	87,5
	80,1	84,2
	85,5	102,1
	79,8	79,0
	96,5	89,9
Média	85,2	88,5
CV	7,95	9,75
0,1 mg/kg	94,1	95,4
	91,0	86,2
	82,9	80,1
	86,9	85,0
Média	88,7	86,7
CV	5,50	7,35
1,0 mg/kg	86,3	86,8
	76,8	74,1
	85,2	83,5
	80,7	77,6
Média	82,3	80,5
CV	5,32	7,06

Gráfico analítico em matriz utilizando regressão ponderada:

Parationa Metílica: $y = 178,96x - 1932,41916$ $r^2 = 0,99285$ $S_{rr} = 0,04674$

Metidationa: $y = 99,3809x - 1162,02120$ $r^2 = 0,99266$ $S_{rr} = 0,0451$

Tabela 3. Teste de recuperação para metidationa e parationa metílica para **manga keit**.

Níveis de recuperação	Metidationa recuperação (%)	Parationa Metílica recuperação (%)
0,01 mg/kg	126,4	151,2
	159,3	176,8
	151,7	148,5
	140,8	127,1
	145,0	134,5
Média	144,6	147,6
CV	8,6	12,9
0,1 mg/kg	79,8	68,5
	105,2	118,1
	96,2	85,8
	84,5	80,9
Média	91,4	88,3
CV	12,6	23,9
1,0 mg/kg	90,2	97,2
	125,1	140,9
	82,5	79,5
	101,1	102,5
Média	99,8	105,0
CV	18,6	24,6

Gráfico analítico em matriz utilizando regressão ponderada:

Parationa Metílica: $y = 181,553x - 2480,785$ $r^2 = 0,999672$, $S_{rr} = 0,0409$

Metidationa: $y = 114,586x - 554,357$ $r^2 = 0,997401$, $S_{rr} = 0,0830$,

Tabela 4. Teste de recuperação para metidationa e parationa metílica para **abobrinha Itália**.

Níveis de recuperação	Metidationa recuperação (%)	Parationa Metílica recuperação (%)
0,01 mg/kg	73,7	69,5
	80,1	79,2
	87,5	87,6
	83,8	74,1
	72,4	63,7
Média	79,5	74,8
CV	8,1	12,2
0,1 mg/kg	81,9	76,9
	87,7	82,0
	89,7	84,9
	88,0	85,8
Média	86,8	82,4
CV	3,9	4,9
1,0 mg/kg	89,5	91,2
	84,9	87,3
	91,4	89,6
	92,1	90,1
Média	89,5	89,5
CV	3,6	1,8

Gráfico analítico em matriz utilizando regressão ponderada:

Parationa Metílica: $y = 1556,124x - 867,144$ $r^2 = 0,9985$ $S_{rr} = 0,0395$

Metidationa: $y = 973,009x - 6937,644$ $r^2 = 0,9986$ $S_{rr} = 0,0548$

Tabela 5. Teste de recuperação para a malationa e etiona para **berinjela**.

Níveis de recuperação	Malationa recuperação (%)	Etiona recuperação (%)
0,01 mg/kg	78,9	79,2
	79,0	75,7
	74,0	74,0
	81,8	99,1
	73,3	79,4
Média	77,4	81,5
CV	4,7	12,4
0,1 mg/kg	70,5	75,4
	80,8	87,0
	78,0	87,2
	81,1	89,7
Média	77,6	84,8
CV	6,3	7,5
1,0 mg/kg	74,0	80,7
	81,3	91,2
	70,7	76,0
	78,9	87,3
Média	76,3	83,8
CV	6,3	8,1

Gráfico analítico em matriz utilizando regressão ponderada

Malationa: $y = 957,027x - 3517,830$ $r^2 = 0,9985$ $S_{rr} = 0,0395$

Etiona: $y = 1101,945x - 2537,355$ $r^2 = 0,9984$ $S_{rr} = 0,0424$

ANEXO II – Testes de recuperação durante as extrações dos lotes de amostras

Tabela 1. Mamão formosa

Níveis de recuperação	Diazinona (%)	Parationa metílica (%)
0,01 mg/kg	43,0	58,0
	69,0	31,0
	81,0	51,0
Média	64,3	46,7
CV%	30,2	30,0
0,05 mg/kg	79,0	64,4
	82,0	67,2
	84,4	64,8
Média	81,8	65,1
CV%	3,31	2,95
0,5 mg/kg	73,6	55,8
	78,4	60,6
	86,6	69,9
Média	79,5	62,1
CV%	8,26	11,6

Tabela 7. Mamão papaya

Níveis de recuperação	Parationa metílica (%)	Metidationa (%)
Primeiro lote de extrações		
0,01 mg/kg	101	105
	103	104
Média	102	105
CV%	1,3	0,9
0,1 mg/kg	90,9	84,9
	93,7	84,8
Média	92,3	84,9
CV%	2,2	0,1
Segundo lote de extrações		
0,01 mg/kg	98,6	113
	107	109
Média	103	111
CV%	5,7	2,6
0,1 mg/kg	90,8	85,2
	97,5	86,8
Média	94,2	86,0
CV%	5,0	1,3
Terceiro lote de extrações		
0,01 mg/kg	93,1	92,9
	92,8	90,7
Média	92,9	91,8
CV%	0,3	1,7
0,1 mg/kg	77,0	76,6
	83,9	77,8
Média	80,5	77,2
CV%	6,1	1,1
Quarto lote de extrações		
0,01 mg/kg	88,5	86,4
	89,1	89,2
Média	88,8	87,8
CV%	0,5	2,2
0,1 mg/kg	81,5	77,2
	77,3	74,4
Média	79,4	75,8
CV%	3,7	2,6
Quinto lote de extrações		
0,01 mg/kg	76,9	84,9
	75,6	79,9
Média	76,3	82,4
CV%	1,3	4,3
0,1 mg/kg	79,9	76,1
	72,5	71,5
Média	76,2	73,8

Níveis de recuperação	Parationa metílica (%)	Metidationa (%)
CV%	6,9	4,4
Sexto lote de extrações		
0,01 mg/kg	79,8	84,7
	75,3	87,2
Média	77,6	85,9
CV%	4,1	2,0
0,1 mg/kg	69,3	65,7
	72,2	70,0
Média	70,8	67,9
CV%	2,9	4,5

Tabela 3. Manga keit

Níveis de recuperação	Parationa metílica (%)	Metidationa (%)
primeiro lote de extrações		
0,01 mg/kg	60,0	32,7
	70,0	35,7
	70,0	34,3
Média	66,7	34,2
CV%	8,7	4,4
0,1 mg/kg	65,0	77,2
	62,0	76,5
	73,0	82,7
Média	66,7	78,8
CV%	8,5	4,3
Segundo lote de extrações		
0,01 mg/kg	74,0	10,1
	56,0	7,9
	77,0	-2,5
Média	69,0	5,2
CV%	16,5	130,1
0,1 mg/kg	79,8	82,7
	77,4	81,3
	80,8	85,2
Média	79,3	83,0
CV%	2,2	2,4
Terceiro lote de extrações		
0,01 mg/kg level	96,0	87,7
	93,0	96,3
Média	94,5	92,0
CV%	2,2	6,6
0,1 mg/kg	77,9	82,6
	79,1	83,3
Média	78,5	83,0
CV%	1,08	0,66
Quarto lote de extrações		
0,01 mg/kg	94	88,5

Níveis de recuperação	Parationa metílica (%)	Metidationa (%)
	86	82,9
Média	90,0	85,7
CV%	6,3	4,6
0,1 mg/kg	75,7	75,0
	76,5	77,2
Média	76,1	76,1
CV%	0,7	2,1
Quinto lote de extrações		
0,01 mg/kg	95	86,8
	89	88,1
Média	92,0	87,4
CV%	4,6	1,0
0,1 mg/kg	90,3	91,4
	84,4	86,4
Média	87,4	88,9
CV%	4,8	3,9
Sexto lote de extrações		
0,01 mg/kg	87,0	78,7
	88,0	82,5
Média	87,5	80,6
CV%	0,81	3,4
0,1 mg/kg	84,1	87,2
	77,0	80,8
Média	80,6	84,0
CV%	6,2	5,4

Tabela 4. Abobrinha Itália

Níveis de recuperação	Parationa metílica (%)	Metidationa (%)
Primeiro lote de extrações		
0,01 mg/kg	76,5	78,8
	85,1	86,7
Média	80,8	82,7
CV%	7,6	6,7
0,1 mg/kg	80,2	85,8
	79,9	85,6
Média	80,0	85,7
CV%	0,3	0,2
Segundo lote de extrações		
0,01 mg/kg	113,0	108,8
	102,6	105,4
Média	108	107
CV%	6,8	2,3
0,1 mg/kg	119,6	116,4
	99,5	99,1
Média	110	108
CV%	12,9	11,4

Níveis de recuperação	Parationa metílica (%)	Metidationa (%)
Terceiro lote de extrações		
0,01 mg/kg	59,7	70,9
	70,6	76,0
Média	65,1	73,4
CV%	11,8	4,9
0,1 mg/kg	82,9	84,6
	78,9	76,0
Média	80,9	80,3
CV%	3,5	7,6
Quarto lote de extrações		
0,01 mg/kg	69,1	75,6
	73,2	77,5
Média	71,1	76,5
CV%	4,1	1,7
0,1 mg/kg	71,6	75,1
	70,0	73,4
Média	70,8	74,2
CV%	1,7	1,6
Quinto lote de extrações		
0,01 mg/kg	54,0	53,7
	72,8	73,0
Média	63,4	63,4
CV%	21,0	21,5
0,1 mg/kg	93,8	89,7
	99,2	95,2
Média	96,5	92,4
CV%	3,9	4,2
Sexto lote de extrações		
0,01 mg/kg	72,1	76,8
	71,5	77,1
Média	71,8	76,9
CV%	0,6	0,3
0,1 mg/kg	77,2	76,8
	95,3	91,5
Média	86,2	84,2
CV%	14,8	12,4

Tabela 5. Berinjela

Níveis de recuperação	Malationa (%)	Etiona (%)
Primeiro lote de extrações		
0,01 mg/kg	54,1	49,7
	64,0	67,9
Média	59,1	58,8
CV%	11,8	21,9
0,1 mg/kg	72,4	81,8
	79,1	87,1

Níveis de recuperação	Malationa (%)	Etiona (%)
Média	75,7	84,4
CV%	6,3	4,4
Segundo lote de extrações		
0,01 mg/kg	47,3	46,1
	51,0	54,4
Média	49,2	50,3
CV%	5,3	11,8
0,1 mg/kg	62,7	68,4
	57,8	63,2
Média	60,2	65,8
CV%	5,8	5,7
Terceiro lote de extrações		
0,01 mg/kg	66,8	148,2
	50,5	123,7
Média	58,7	136,0
CV%	19,6	12,7
0,1 mg/kg	58,5	125,6
	69,3	132,5
Média	63,9	129,0
CV%	11,9	3,8
Quarto lote de extrações		
0,01 mg/kg	45,4	121,0
	52,5	134,1
Média	49,0	127,5
CV%	10,1	7,3
0,1 mg/kg	71,0	132,8
	63,9	126,2
Média	67,4	129,5
CV%	7,5	3,6
Quinto lote de extrações		
0,01 mg/kg	60,6	97,7
	94,4	98,8
Média	77,5	98,3
CV%	30,8	0,8
0,1 mg/kg	70,5	121,4
	59,5	120,7
Média	65,0	121,0
CV%	11,9	0,4
Sexto lote de extrações		
0,01 mg/kg	71,1	106,0
	77,4	107,3
Média	74,3	106,7
CV%	6,0	0,9
0,1 mg/kg	75,2	132,9
	73,4	139,2
Média	74,3	136,0
CV%	1,8	3,3

ANEXO III – Equações dos gráficos analíticos em matriz para cada sequência de injeção

Tabela 1. Equações dos gráficos analíticos nas sequências de injeção para mamão formosa

Sequência de injeções	Diazinona			Parationa metílica		
	$Y = ax + b$	R^2	Srr	$Y = ax + b$	R^2	Srr
1	$Y = 0,190x + 3,938$	0,982	0,1443	$Y = 0,247x + 2,939$	0,994	0,1089
2	$Y = 0,197x + 3,054$	0,999	0,0481	$Y = 0,267x - 1,577$	0,998	0,0360
3	$Y = 0,260x + 0,314$	0,989	0,1299	$Y = 0,343x - 0,898$	0,954	0,1538

Tabela 2. Equações dos gráficos analíticos nas sequências de injeção para mamão papaya, manga e abobrinha

	Sequência de injeções	Metidationa			Parationa metílica		
		$Y = ax + b$	R^2	Srr	$Y = ax + b$	R^2	Srr
Mamão papaya	1	$Y = 169,666x - 5717,833$	0,969	0,1504	$Y = 278,345x - 9387,79$	0,975	0,1265
	2	$Y = 177,524x - 5150,564$	0,978	0,1152	$Y = 299,738x - 8561,073$	0,979	0,1216
	3	$Y = 116,615x - 2962,372$	0,994	0,1063	$Y = 200,409x - 4483,444$	0,996	0,095
Manga	1	$Y = 8,026x - 21,01$	0,999	0,0171	$Y = 11,668x + 23,037$	0,999	0,0169
	2	$Y = 8,059x + 10,016$	0,999	0,0267	$Y = 11,475x + 42,651$	0,999	0,0234
	3	$Y = 8,541 + 17,375$	0,999	0,0410	$Y = 11,934x + 34,907$	0,998	0,0447
Abobrinha	1	$Y = 531,659x - 3241,954$	0,997	0,0617	$Y = 828,135x - 5787,481$	0,994	0,0613
	2	$Y = 647,713x - 3506,225$	0,976	0,1278	$Y = 991,034x - 3150,554$	0,982	0,1096
	3	$Y = 1044,719x - 8256,754$	0,996	0,0391	$Y = 1471,69x - 16986,568$	0,996	0,0802

Tabela 5. Equações dos gráficos analíticos nas sequências de injeção para berinjela

Sequência de injeções	Malationa			Etiona		
	$Y = ax + b$	R^2	Srr	$Y = ax + b$	R^2	Srr
1	$Y = 1131,421x + 15488,797$	0,9987	0,0745	$Y = 1320,866x + 19607,393$	0,999	0,0903
2	$Y = 922,503x + 9242,924$	0,9998	0,0369	$Y = 647,713x - 3506,225$	0,977	0,1278
3	$Y = 1572,612x - 7484,451$	0,9826	0,1089	$Y = 1044,719x + 8256,754$	0,996	0,0391

ANEXO IV – Tabelas detalhadas das amostras analisadas em lotes extração diferentes.

Tabela 1. Replicatas entre os lotes das amostras da manga

Amostra/lote	Metidationa, mg/kg	Parationa metílica, mg/kg
A12-3 ME R1 – batch 1	0,03	0,04
A12-3 ME R2 – batch 3	0,02	0,03
Média	0,02	0,03
CV %	7,4	17,3
C11-1 E R1 – lote 2	0,13	0,13
C11-1 E R2 – lote 3	0,08	0,09
Média	0,10	0,11
CV %	39,0	23,4
C14-1 ME INF C R1 – lote 5	0,30	0,57
C14-1 ME INF C R2 – lote 6	0,32	0,59
Média	0,31	0,58
CV %	4,21	3,18
E27-1 E R1 – lote 4	0,33	0,28
E27-1 E R2 – lote 5	0,37	0,34
Média	0,35	0,31
CV %	8,52	13,24
Amostra/lote	Metidationa, mg/kg	Parationa metílica, mg/kg
A12-3 ME R1 – batch 1	0,03	0,04
A12-3 ME R2 – batch 3	0,02	0,03
Média	0,02	0,03
CV %	7,4	17,3
C11-1 E R1 – lote 2	0,13	0,13
C11-1 E R2 – lote 3	0,08	0,09

Tabela 2. Replicatas entre os lotes das amostras de abobrinha

	Parationa metílica mg/kg	Metidationa, mg/kg
F20R1 – lote 1	0,08	0,10
F20R2 – lote 2	0,06	0,10
Média	0,07	0,10
CV %	11,3	2,38
I4R1 – lote 2	0,15	0,28
I4R2 – lote 3	0,17	0,30
Média	0,16	0,29
CV %	8,84	4,16

E18R1 – lote 3	0,06	0,09
E18R2 – lote 4	0,06	0,11
Média	0,06	0,10
CV %	2,92	12,1
K5R1 – lote 4	0,13	0,32
K5R2 – lote 5	0,14	0,32
Média	0,14	0,32
CV %	4,18	1,15
G20R1 – lote 5	<0,01	0,02
G20R2 – lote 6	<0,01	0,01
Média		0,02
CV %		28,2

Tabela 3. Replicatas entre os lotes das amostras de berinjela

	Malationa, mg/kg	Etiona, mg/kg
B7R1 – lote 1	<0,01	<0,01
B7R2 – lote 2	<0,01	<0,01
Média		
CV %		
E8R1 – lote 2	<0,01	0,015
E8R2 – lote 3	<0,01	0,005
Média		0,010
CV %		65,3
M4-1R1 – lote 3	0,01	0,058
M4-1R2 – lote 4	0,01	0,076
Média	0,01	0,067
CV %	0,6	19,0
J3R1 – lote 4	<0,01	0,016
J3R2 – lote 5	<0,01	0,021
Média		0,018
CV %		18,2
G20R1 – lote 5	<0,01	0,012
G20R2 – lote 6	<0,01	0,014
Média		0,013
CV %		9,0

ANEXO V – Tabelas detalhadas das soluções SST em cada seqüência de injeções em todas as culturas

Tabela 1. Mamão formosa

	ÁREA	
	Dimetoato	Metidationa
Seqüência 1		
Injeção 1	53,95	24,46
Injeção 2	49,34	20,4
Injeção 3	49,2	21,76
Média	50,83	22,2
CV, %	5,3	9,3
Seqüência 2		
Injeção 1	52,3	25,4
Injeção 2	54,79	21,61
Injeção 3	56,26	23,6
Injeção 4	47,67	18,93
Média	54,45	23,54
CV, %	3,67	8,05
Seqüência 3		
Injeção 1	48,57	18,7
Injeção 2	58,41	23,96
Injeção 3	53,32	23,6
Média	53,43	22,09
CV, %	9,20	13,3

Tabela 2. Mamão papaya

	ÁREA	
	Diazinona	Fentiona
Seqüência 1		
Injeção 1	19545	18841
Injeção 2	19136	18811,25
Injeção 3	17168,5	13910
Média	18616,5	17187,42
CV, %	6,82	16,51
Seqüência 2		
Injeção 1	25757	20987,25
Injeção 2	26938	19510,5
Injeção 3	26255,5	17372,5
Média	26316,833	19290,083
CV, %	2,25	9,42
Seqüência 3		
Injeção 1	20053,5	25557,25
Injeção 2	24166,5	26356,25
Injeção 3	25569	24835
Média	23263	25582,83
CV, %	12,32	2,97

Tabela 3. Manga

	ÁREA	
	Diazinona	Dimetoato
Seqüência 1		
Injeção 1	882,51	439,18
Injeção 2	1292,2	454,5
Injeção 3	1319,2	460,73
Média	1164,64	451,47
CV, %	21,01	2,46
Seqüência 2		
Injeção 1	1033,1	443,47
Injeção 2	1183,44	439,01
Injeção 3	1174,48	449,96
Média	1130,34	444,15
CV, %	7,46	1,24
Seqüência 3		
Injeção 1	885,27	373,28
Injeção 2	988,38	374,25
Injeção 3	867,37	371,69
Média	913,67	373,07
CV, %	7,15	0,35

Tabela 4. Abobrinha

	ÁREA	
	Diazinona	Fentiona
Seqüência 1		
Injeção 1	100448,5	89361
Injeção 2	134283,25	77809,5
Injeção 3	115640,5	46562,5
Média	116790,8	71244,3
CV, %	14,5	31,1
Seqüência 2		
Injeção 1	131471,5	163306
Injeção 2	114787,25	25591
Injeção 3	134132	9745,5
Média	126796,9	66214,2
Desvio padrão	10485,4	84456,4
CV, %	8,3	127,6
Seqüência 3		
Injeção 1	221443	357395,5
Injeção 2	211832	401718
Injeção 3	171655,5	362752,5
Média	201643,5	373955,3
CV, %	13,1	6,5

Tabela 5. Berinjela

	ÁREA	
	Diazinona	Parat Met
Seqüência 1		
Injeção 1	141035	226866
Injeção 2	176018	286419
Injeção 3	191607	296819
Média	169553	270035
CV, %	15,3	14,0
Seqüência 2		
Injeção 1	175314	245651
Injeção 2	163034	231829
Injeção 3	152252	206223
Injeção 4	163533	227901
Média	11539,2	20005,2
CV, %	175314	245651
Seqüência 3		
Injeção 1	250394	369887
Injeção 2	249315	388443
Injeção 3	249147	383392
Média	249619	380574
CV, %	0,27	2,52

ANEXO VI – Valores calculados para casca e polpa nas culturas mamão formosa, mamão papaya e manga keit

Tabela 1. Valores encontrados na 10 amostras em que foram analisadas C e P separadamente formosa

Amostra	Concentração		Razão Polpa/fruto	
	Diazinona mg/kg	Parationa metílica, mg/kg	Diazinona	Parationa metílica
TL09IP	<0,01	<0,01	0,21	1,00
TL09IC	0,18	0,03		
TL09I	0,02	<0,01		
TL18IP	0,01	0,01	0,12	0,25
TL18IC	0,39	0,23		
TL18I	0,05	0,04		
TL23 P	0,01	0,02	0,06	0,14
TL23 C	0,94	0,72		
TL23E	0,13	0,11		
TV65IP	0,03	0,03	0,28	0,51
TV65IC	0,56	0,23		
TV65I	0,12	0,07		
TV82IP	0,01	0,01	0,11	0,17
TV82IC	0,73	0,29		
TV82I	0,09	0,04		
TV89IP	0,01	0,01	0,07	0,14
TV89IC	1,31	0,41		
TV89I	0,11	0,04		
TX26EP	0,01	0,01	0,06	0,08
TX26EC	0,68	0,57		
TX26E	0,09	0,07		
TX54EP	0,00	0,01	0,03	0,24
TX54EC	0,31	0,15		
TX54E	0,05	0,03		
TX52EP	<0,01	<0,01	0,06	0,10
TX52EC	0,40	0,22		
TX52E	0,09	0,05		
TØ19EP	0,02	<0,01		
TØ19EC	0,12	0,09		
TØ19E	0,04	0,02	0,50	0,33
	Média (Polpa/fruto)		0,15	0,30

Tabela 2. Valores encontrados na 10 amostras de mamão papaya em que foram analisadas C e P separadamente

Amostra	Concentração		Razão Polpa/fruto	
	Parationa metílica, mg/kg	Metidationa mg/kg	Parationa metílica	Metidationa
C19 I P	<0,01	<0,01	0,14	0,13
C19 I C	0,20	0,22		
C19 I	0,04	0,04		
E30 I P	0,02	0,02	0,29	0,24
E30 I C	0,33	0,34		
E30 I	0,07	0,06		
F26 M P	<0,01	<0,01	0,08	0,06
F26 M C	0,30	0,37		
F26 M	0,07	0,08		
G8 I P	<0,01	0,01	0,26	0,46
G8 I C	0,08	0,07		
G8 I	0,02	0,02		
K8 E P	0,01	0,03	0,14	0,20
K8 E C	0,43	0,59		
K8 E	0,10	0,14		
L25-1 I P	<0,01	<0,01	0,08	0,05
L25-1 I C	0,34	0,59		
L25 I 1	0,06	0,11		
N12-1 I P	<0,01	<0,01	0,32	0,22
N12-1 I C	0,06	0,10		
N12 I 1	0,02	0,02		
P23 I P	<0,01	0,01	0,10	0,13
P23 I C	0,26	0,38		
P23 I	0,05	0,08		
R19 I P	<0,01	<0,01	0,18	0,16
R19 I C	0,11	0,13		
R19 I	0,03	0,03		
R22 M P	<0,01	<0,01	0,32	0,23
R22 M C	0,06	0,09		
R22 M	0,02	0,02		
Média da razão Polpa/fruto			0,19	0,19

Tabela 3. Valores encontrados na 10 amostras da manga em que foram analisadas C e P separadamente

Amostra	Concentração		Razão Polpa/fruto	
	Parationa metílica, mg/kg	Metidation mg/kg	Parationa metílica	Metidationa
A19-1 E P	0,02	0,24	0,48	0,81
A19-1E C	0,17	1,95		
A19-1 E	0,04	0,30		
B16-4 ME P	<0,01	0,01	0,04	0,06
B16-4 ME C	0,52	0,59		
B16-4 ME	0,12	0,13		
B18-1 E INF P	0,02	0,05	0,09	0,20
B18-1 E INF C	1,04	0,89		
B18-1 E INF	0,25	0,23		
B22-2 E INF P	0,01	0,09	0,11	0,74
B22-2 E INF C	0,61	0,53		
B22-2 E INF	0,13	0,12		
C9-2 E INF P	0,01	0,03	0,09	0,17
C9-2 E INF C	0,80	0,64		
C9-2 E INF	0,17	0,15		
C14-1 ME INF P	0,01	0,01	0,21	0,34
C14-1 ME INF C	0,57	0,30		
C14-1 ME INF	0,06	0,04		
D11-1 E P	0,01	0,04	0,05	0,34
D11-1 E C	0,58	0,46		
D11-1 E	0,14	0,12		
D16-1 ME P	0,03	0,04	0,17	0,25
D16-1 ME C	1,52	1,32		
D16-1 ME	0,17	0,16		
D23-2 E INF P	0,01	<0,01	0,08	0,11
D23-2 E INF C	0,29	0,20		
D23-2 E INF	0,07	0,05		
E14-3 ME P	0,01	0,09	0,05	0,46
E14-3 ME C	1,01	0,80		
E14-3 ME	0,24	0,20		
Média da razão Polpa/fruto			0,14	0,35

ANEXO VII – Tabelas com concentrações individuais de cada amostra tratada de todas as culturas estudadas

Tabela 1. Resíduos nas amostras tratadas de mamão formosa encontrados nas fileiras K, L, V e X. E = exposta; I = não exposta; M = medianamente exposta

Código da amostra	Diazinona, mg/kg	Parationa metílica, mg/kg
TK41E	0,09	0,10
TK42E	0,03	0,02
TK50I	0,09	0,09
TK50E	0,09	0,09
TK51I	0,22	0,21
TK54E	0,13	0,16
TK57I	0,22	0,33
TK57E	0,11	0,09
TK60E	0,31	0,41
TK63I	0,15	0,19
TK68I	0,10	0,06
TK69E	0,06	0,06
TL06E	0,30	0,36
TL08I	0,03	0,04
TL09I	0,04	0,01
TL10E	0,11	0,08
TL14E	0,24	0,27
TL17I	0,12	0,22
TL18I	0,08	0,09
TL19I	0,06	0,05
TL23	0,20	0,27
TL25E	0,06	0,05
TL26E	0,10	0,03
TL47I	0,13	0,24
TL51I	0,24	0,28
TL54I	0,06	0,03
TL56E	0,19	0,21
TL58E	0,14	0,23
TL60E	0,17	0,27
TL60I	0,06	0,04
TL62I	0,05	0,02
TL63E	0,14	0,14

Código da amostra	Diazinona, mg/kg	Parationa metílica, mg/kg
TL64I	0,12	0,10
TL65E	0,02	0,01
TL67E	0,09	0,08
TV65I	0,18	0,17
TV68I	0,15	0,08
TV69E	0,07	0,05
TV74E	0,27	0,42
TV77I	0,25	0,27
TV78E	0,23	0,33
TV82I	0,14	0,10
TV82E	0,25	0,27
TV88I	0,17	0,09
TX5E	0,08	0,09
TX7I	0,29	0,32
TX11I	0,24	0,17
TX12I	0,29	0,32
TX16I	0,10	0,04
TX17E	0,19	0,09
TX19	0,11	0,08
TX23I	0,06	0,03
TX25E	0,19	0,19
TX26E	0,13	0,19
TX54E	0,08	0,07
TX55E	0,14	0,13
TX56E	0,18	0,13
TX60E	0,10	0,07
TX63E	0,10	0,09
TX64E	0,18	0,18
TX65E	0,12	0,08
TX68I	0,19	0,08
TX69I	0,22	0,23
TX71	0,03	0,01
TX74I	0,19	0,14
TX75I	0,27	0,16
Média	0,14	0,15
Máximo	0,31	0,42
97,5 percentil	0,30	0,38
Variabilidade,	2,0	2,6

Código da amostra	Diazinona, mg/kg	Parationa metílica, mg/kg
máximo		
Variabilidade, 97,5 percentil		

Tabela 2, Resíduos nas amostras tratadas de mamão papaya, E = exposta; I = não exposta; M = medianamente exposta

Código da amostra	Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
C10 E	0,03	0,07
C15 I	0,03	0,03
C19 I	0,04	0,04
C20 E	0,04	0,04
C20 I	0,03	0,02
C25 I	0,03	0,04
C28 E	0,03	0,03
C29 E	0,08	0,07
D3 I	0,12	0,13
D5 I	0,05	0,09
D6 M	0,02	0,05
D15 E	0,05	0,09
D21 I	0,07	0,09
D23 I	0,09	0,10
D24 E	0,05	0,08
D29-1 E	0,07	0,07
D29-2 M	0,07	0,08
D30 M	0,08	0,06
D32 E	0,02	0,04
E4 I	0,03	0,03
E13 I	0,01	0,01
E14 E	0,06	0,10
E21 E	0,04	0,04
E28 E	0,05	0,07
E30 I	0,07	0,06
E30 M	0,06	0,06
F10 I	0,04	0,05
F13 E	0,04	0,05
F16 I	0,01	0,01
F19 E	0,09	0,12

Código da amostra	Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
F26 M	0,07	0,08
F29 I	0,02	0,03
F34 E	0,04	0,04
G3 M	0,04	0,04
G6 E	0,02	0,02
G6 I	0,02	0,03
G8 E	0,02	0,03
G8 I	0,02	0,02
G11 E	0,09	0,07
G15 I	0,03	0,03
G17 E	0,07	0,08
G22 E	0,03	0,03
H8 M	0,07	0,09
H9 E	0,04	0,09
H20 M	0,06	0,08
I5-1 E	0,08	0,11
I5-2 E	0,05	0,05
I7 I	0,05	0,07
I9 E	0,05	0,16
I13 M	0,05	0,11
I18 M	0,06	0,09
I20 I	0,03	0,08
I22 E	0,03	0,08
J10 I	0,07	0,08
J11 E	0,06	0,13
K3 E	0,07	0,13
K4 E	0,09	0,14
K6 I	0,04	0,06
K8 E	0,10	0,14
K13 E	0,03	0,06
L5-1 E	0,05	0,11
L5-2 E	0,05	0,11
L8 E	0,06	0,12
L9 I	0,04	0,09
L13 E	0,04	0,08
L16 I	0,08	0,15
L18 E	0,04	0,07
L21 M	0,04	0,07

Código da amostra	Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
L22 I	0,03	0,04
L23 E	0,03	0,07
L23 I	0,02	0,04
L25-1 I	0,06	0,11
L25-2I	0,07	0,12
M3 I	0,02	0,05
M11 E	0,04	0,04
M11 I	0,04	0,10
M14 E	0,02	0,04
M15 E	0,03	0,06
M19 E	0,03	0,05
M25 E	0,01	0,03
M25 M	0,09	0,12
M26 M	0,01	0,02
N11 E	0,10	0,13
N12-1 I	0,02	0,03
N12-2 M	0,03	0,05
N12-3 E	0,03	0,05
N12-4 E	0,04	0,08
N17 E	0,07	0,12
N19 E	0,07	0,07
N23 E	0,07	0,10
N23 I	0,05	0,07
N32 E	0,03	0,08
O6-2 E	0,04	0,06
O6- 3 E	0,03	0,05
O10-1 E	0,06	0,08
O10-2 M	0,08	0,09
O10-3 E	0,06	0,08
O10-4 E	0,09	0,10
O10-5 I	0,05	0,05
O17 M	0,04	0,08
O21 E	0,07	0,11
O22 E	0,03	0,04
O26 E	0,05	0,09
P9 E	0,03	0,06
P18 M	<0,01	0,03
P21 E	0,03	0,05

Código da amostra	Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
P21 I	0,03	0,04
P23 I	0,05	0,08
Q6 E	0,06	0,08
Q6 M	0,03	0,04
Q10 I	0,02	0,04
Q13 E	0,04	0,09
Q20 E	0,07	0,15
Q20 M	<0,01	0,02
Q24 E	0,05	0,06
Q24 I	0,04	0,03
Q30 I	0,02	0,04
Q30 M	0,01	0,02
R6 E	0,06	0,14
R8 E	0,12	0,13
R9-1	0,05	0,11
R9-2	0,04	0,05
R14 E	0,07	0,09
R14 M	0,03	0,06
R19 I	0,03	0,03
R22-1 E	0,03	0,06
R22-2 E	0,05	0,08
R22 M	0,02	0,02
Média	0,05	0,07
Máximo	0,12	0,16
97,5 percentil	0,10	0,14
Variabilidade, máximo	2,58	2,31
Variabilidade, 97,5 percentil	2,03	1,99

Tabela 3. Resíduos nas amostras tratadas da manga, E = exposta; NE = não exposta; ME = medianamente exposta INF= parte inferior da planta; SUP: parte superior da planta;

Código da amostra	Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
A1-1 E	0,30	0,28
A1-2 ME	0,33	0,29
A1-3 NE	0,12	0,10

Código da amostra		Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
A1-4	ME	0,59	0,54
A2-1	E	0,42	0,35
A3-1	ME	0,10	0,10
A3-2	E	0,32	0,32
A3-3	NE	<0,01	<0,01
A5-1	E	0,29	0,24
A6-1	ME	0,16	0,15
A8-1	E	0,64	0,44
A8-2	NE	0,39	0,33
A8-3	ME	0,22	0,19
A12-1	ME	0,20	0,19
A12-2	ME	0,09	0,13
A12-3	ME	0,04	0,03
A19-1	E	0,04	0,30
A19-2	ME	0,26	0,26
A24-1	NE	0,07	0,06
A27-1	E	0,10	0,09
A27-2	E	0,14	0,13
A27-3	E	0,15	0,12
B1-1	E	0,19	0,18
B1-2	NE	0,25	0,25
B3-1	ME	0,07	0,06
B4-1	NE	0,23	0,16
B9-1	NE	0,05	0,05
B9-2	NE	0,14	0,11
B10-1	E	0,14	0,16
B10-2	NE	0,08	0,08
B12-1	ME	0,11	0,12
B12-2	E	0,20	0,25
B14-1	E	0,26	0,25
B14-2	E	0,39	0,50
B16-1	NE	0,32	0,31
B16-2	E	0,37	0,36
B16-3	ME	0,09	0,10
B16-4	ME	0,12	0,13
B16-5	ME INF	0,12	0,14
B16-6	NE INT	0,19	0,20
B16-7	E	0,18	0,18

Código da amostra		Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
B16-8	NE	0,18	0,21
B16-9	E	0,22	0,21
B16-10	ME	0,17	0,21
B18-1	E INF	0,25	0,23
B20-1	NE SUP	0,12	0,12
B20-2	NE SUP	0,20	0,18
B21-1	E	0,11	0,15
B22-1	ME	0,16	0,15
B22-2	E INF	0,13	0,12
B23-1	ME	0,18	0,22
C4-1	E	0,31	0,29
C4-2	ME	0,18	0,19
C5-1	E	0,14	0,13
C8-1	ME	0,03	0,03
C9-1	NE	0,08	0,06
C9-2	E INF	0,17	0,15
C10-1	ME	0,09	0,09
C11-1	E	0,13	0,13
C13-1	NE	0,06	0,05
C13-2	NE	0,14	0,09
C13-3	E	0,26	0,23
C14-1	ME INF	0,06	0,04
C15-1	E	0,28	0,26
C15-2	NE	0,24	0,23
C19-1	E	0,21	0,19
C19-2	NE	0,05	0,04
C21-1	ME	0,04	0,03
C21-2	E	0,02	0,02
C21-3	NE	0,18	0,14
C23-1	E	0,22	0,23
C23-2	ME	0,27	0,30
C23-3	ME INF	0,08	0,08
C26-1	E SUP	0,27	0,28
C26-2	ME	0,22	0,17
D1-1	E	0,14	0,18
D5-1	ME	0,18	0,14
D5-2	NE	0,10	0,08
D5-3	ME	0,35	0,35

Código da amostra		Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
D6-1	E	0,29	0,26
D9-1	ME	0,10	0,11
D9-2	E	0,41	0,39
D10-2	E	0,21	0,21
D14-1	E	0,10	0,10
D14-2	ME	0,21	0,20
D17-1	ME	0,11	0,10
D18-1	ME	0,10	0,12
D23-1	NE	0,03	0,04
D23-3	NE	0,08	0,08
D27-1	ME	0,11	0,14
D28-1	E	0,07	0,06
D28-2	ME	0,24	0,26
D10-1	ME	0,26	0,23
D11-1	E	0,14	0,12
D14-3	NE	0,32	0,28
D16-1	ME	0,17	0,16
D23-2	E INF	0,07	0,05
E1-1	ME	0,53	0,43
E2-1	NE	0,56	0,36
E5-1	E	0,14	0,12
E6-1	E INF	0,19	0,19
E6-2	NE	0,27	0,23
E7-1	NE	0,42	0,38
E7-2	ME	0,31	0,20
E8-1	E	0,19	0,19
E10-1	NE	0,24	0,19
E13-1	NE	0,06	0,05
E13-2	E	0,22	0,27
E13-3	ME	0,24	0,24
E14-1	NE	0,05	0,07
E14-2	NE	0,13	0,12
E14-3	ME	0,24	0,20
E14-4	E	0,20	0,20
E14-5	NE	0,30	0,26
E14-6	E	0,18	0,17
E15-1	ME	0,15	0,20
E15-2	ME	0,19	0,26

Código da amostra		Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
E16-1	E INF	0,14	0,18
E18-1	ME	0,10	0,10
E18-2	ME	0,23	0,24
E18-3	E INF	0,03	0,03
E18-1	ME	0,10	0,11
E20-1	NE	0,16	0,17
E21-1	ME	0,26	0,25
E21-2	E	0,15	0,17
E26-1	ME	0,23	0,29
E27-1	E	0,28	0,33
E29-1	ME	0,39	0,36
E29-2	ME	0,37	0,36
F3-1	NE	0,47	0,43
F3-2	E	0,24	0,25
F4-1	NE	0,28	0,27
F7-1	ME	0,34	0,36
F8-1	E	0,24	0,28
F8-2	E INF	0,10	0,09
F9-1	ME	0,30	0,37
F9-2	E	0,37	0,39
F10-1	E	0,22	0,21
F12-1	NE	0,29	0,22
Média		0,20	0,19
Máximo		0,64	0,54
97,5 percentil		0,50	0,43
Variabilidade, máximo		3,2	2,8
Variabilidade, 97,5 percentil		2,5	2,2

Tabela 4, Resíduos nas amostras tratadas da abobrinha itália

Código da amostra	Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
B6	0,14	0,21
B7	0,05	0,09
B8	0,04	0,10
B9	0,06	0,16
B14	0,03	0,07

Código da amostra	Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
C13	0,02	0,05
C5	0,01	0,03
C6	0,12	0,25
C7	0,06	0,13
C10	0,07	0,15
C12	0,03	0,10
D3	0,04	0,11
D7	0,03	0,06
D10-1	0,13	0,25
D10-2	0,11	0,22
D15	0,05	0,09
D22	<0,01	0,01
D23	<0,01	<0,01
E3	0,04	0,07
E4	0,06	0,12
E5	0,06	0,19
E6-1	0,06	0,17
E6-2	0,05	0,09
E8	0,03	0,05
E10	0,04	0,09
E13	0,07	0,14
E14	0,07	0,13
E15	0,04	0,08
E17	0,05	0,11
E18R1	0,06	0,09
E21	0,03	0,11
F3-1	0,06	0,10
F3-2	0,04	0,07
F4-1	0,02	0,06
F4-2	<0,01	0,13
F4-3	0,02	0,05
F5	0,13	0,22
F6-1	0,10	0,22
F7	0,29	0,66
F11	0,06	0,11

Código da amostra	Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
F12-1	0,05	0,15
F12-2	0,02	0,06
F13	0,04	0,07
F14	0,11	0,19
F16-1	0,11	0,24
F16-2	0,05	0,12
F18	0,07	0,14
F19-1	0,05	0,14
F19-2	0,09	0,20
F20-2	<0,01	0,12
F20R1	0,08	0,10
F21	0,13	0,28
F22-1	0,02	0,05
F22-2	0,09	0,15
F22-3	0,17	0,29
F23-1	0,06	0,12
F23-2	0,05	0,09
F23-3	0,09	0,14
F24	0,06	0,10
F25	0,08	0,17
F30	0,06	0,20
G3	0,04	0,09
G30	0,05	0,11
G4	0,13	0,21
G6-1	0,11	0,20
G6-2	0,10	0,19
G9	0,02	0,04
G10	0,07	0,12
G11	0,22	0,38
G12	0,13	0,29
G13	0,05	0,15
G14	0,09	0,16
G15	0,01	0,04
G16-1	<0,01	0,05

Código da amostra	Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
G19	0,07	0,18
G2	<0,01	0,02
G20R1	<0,01	0,02
G24-2	0,05	0,13
G25	0,04	0,15
H3	<0,01	0,16
H4-1	0,14	0,22
H4-2	0,04	0,10
H5	0,01	0,05
H11	0,06	0,14
H13	0,06	0,12
H17	0,02	0,05
H18-1	<0,01	0,07
H18-2	0,09	0,16
H19	0,04	0,12
H20	0,03	0,06
H22	0,04	0,07
H25	0,03	0,16
I4R1	0,15	0,28
I5-1	0,08	0,22
I5-2	0,03	0,12
I7	0,02	0,04
I9-1	0,09	0,17
I10	0,02	0,08
I15	0,06	0,13
I16	0,05	0,10
I17	0,07	0,15
I19	0,04	0,09
J3-1	0,05	0,10
J3-2	0,15	0,29
J3-3	0,02	0,10
J4	0,07	0,17
J5	0,08	0,16
J8-1	0,09	0,17
J8-2	0,05	0,12

Código da amostra	Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
J9-1	0,02	0,15
J9-2	0,06	0,13
J13-1	0,07	0,19
J13-2	<0,01	0,11
J14-1	0,09	0,22
J14-2	0,05	0,14
J16	0,05	0,11
J17	0,11	0,22
J18	0,13	0,26
K5R1	0,13	0,32
K7	0,10	0,18
K11-1	0,03	0,13
K13	0,02	0,05
K14	0,12	0,24
K15	0,07	0,11
K16	0,18	0,31
K17	0,04	0,11
K18	0,13	0,31
K19	0,13	0,32
Média	0,06	0,14
Máximo	0,29	0,66
97,5 percentil	0,17	0,32
Variabilidade, máximo	4,5	4,6
Variabilidade, 97,5 percentil	2,6	2,2

Tabela 5. resíduos nas amostras tratadas de berinjela

Código da amostra	Malationa, mg/kg	Etiona, mg/kg
B3	<0,01	0,01
B6	<0,01	<0,01
B7R1	<0,01	<0,01
B8	<0,01	0,01
B11	<0,01	0,04
C3	<0,01	0,04
C4	<0,01	0,05

Código da amostra	Malationa, mg/kg	Etiona, mg/kg
C5	<0,01	0,02
C6	<0,01	0,02
C10	<0,01	0,02
D3	<0,01	0,03
D5	<0,01	0,03
D7	<0,01	0,03
D8	<0,01	0,03
D10	<0,01	0,04
D11	<0,01	0,03
E3	<0,01	0,22
E4	<0,01	0,11
E6-1	<0,01	0,15
E6-2	<0,01	0,07
E8R1	<0,01	0,01
E9	0,01	0,11
F3	<0,01	0,12
F4	<0,01	0,02
F7	<0,01	<0,01
F8	<0,01	0,09
F9-1	<0,01	0,12
F9-2	<0,01	0,01
G4-1	0,02	0,15
G4-2	<0,01	0,02
G6	<0,01	0,06
G8	0,01	0,19
G9-1	<0,01	0,03
G9-2	<0,01	0,04
G9-3	<0,01	0,15
I4-1	0,01	0,03
I4-2	<0,01	<0,01
I4-3	0,01	0,02
I4-4	<0,01	<0,01
I4-5	<0,01	0,01
I4-6	<0,01	0,06
I6-1	<0,01	0,02
I6-2	<0,01	0,01
I7	<0,01	<0,01
I8-1	<0,01	<0,01

Código da amostra	Malationa, mg/kg	Etiona, mg/kg
I8-2	<0,01	0,01
I9	<0,01	0,01
I10	<0,01	<0,01
I11-1	<0,01	0,01
I11-2	<0,01	<0,01
J3R1	<0,01	0,02
J5	<0,01	0,01
J6-1	<0,01	<0,01
J6-2	0,01	0,03
J7	<0,01	<0,01
J8-1	<0,01	<0,01
J8-2	<0,01	<0,01
K4	<0,01	0,03
K6-1	<0,01	0,14
K6-2	0,01	0,07
K7	0,01	0,06
K8	<0,01	0,01
K9	<0,01	0,02
K12-1	<0,01	0,02
K12-2	<0,01	0,10
L3-1	<0,01	0,01
L3-2	<0,01	0,02
L5	<0,01	0,02
L8	<0,01	0,01
L9-1	<0,01	0,10
L9-2	<0,01	0,01
M41R1	0,01	0,06
M4-2	<0,01	0,02
M5	<0,01	0,01
M6	<0,01	0,05
M9	<0,01	0,03
N3-1	<0,01	0,01
N3-2	<0,01	0,02
N4	<0,01	0,05
N6-1	<0,01	0,04
N6-2	<0,01	0,01
N6-3	0,07	0,15
N7	<0,01	0,08

Código da amostra	Malationa, mg/kg	Etiona, mg/kg
N8-1	<0,01	0,02
N8-2	<0,01	0,02
N11-1	<0,01	0,02
N11-2	0,01	0,03
N11-3	<0,01	0,06
N11-4	<0,01	0,06
O3-1	0,04	0,42
O4	0,06	0,45
O6	0,01	0,04
O 6-1	<0,01	0,02
O8-1	<0,01	0,02
O9	<0,01	0,01
O10	0,01	0,02
P4	0,03	0,26
P5-1	<0,01	<0,01
P5-2	<0,01	0,01
P5-3	<0,01	<0,01
P7-1	0,03	0,07
P7-2	<0,01	<0,01
P8	0,01	0,20
P9	<0,01	0,02
Q4	<0,01	0,02
Q5	0,01	0,10
Q6	0,03	0,03
Q7	0,01	0,10
Q8-1	0,02	0,03
Q8-2	0,01	0,11
Q8-3	0,01	0,03
R3-1	<0,01	0,03
R3-2	<0,01	0,01
R4-1	<0,01	0,05
R4-2	<0,01	<0,01
R8	<0,01	0,02
R9	0,01	0,03
R10-1	0,01	0,04
R1021	<0,01	0,01
R11-1	0,01	0,07
R11-2	<0,01	0,02

Código da amostra	Malationa, mg/kg	Etiona, mg/kg
R12	0,01	0,10
S3	0,01	0,04
S5-1	<0,01	0,16
S5-2	<0,01	0,03
S6	0,02	0,23
S7-1	0,01	0,03
S7-2	0,01	0,04
S8-1	<0,01	0,03
S8-2	0,01	0,06
S8-3	<0,01	0,01
S9-1	<0,01	0,05
S9-2	0,01	0,08
Média	0,01	0,05
Máximo	0,07	0,45
97,5 percentil	-	0,23
Variabilidade, máximo	-	8,7
Variabilidade, 97,5 percentil	-	4,4

ANEXO VIII – Resíduos em amostras coletadas em cada planta

Tabela 1. Resultados dos resíduos em cinco amostras de mamão papaya tratadas coletada na planta O10

Código da amostra	Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
O10-1 E	0,06	0,08
O10-2 M	0,08	0,09
O10-3 E	0,06	0,08
O10-4 E	0,09	0,10
O10-5 I	0,05	0,05
Média	0,07	0,08
Máximo	0,09	0,10
97,5 percentil	0,09	0,10
Variabilidade, máximo	1,31	1,24
Variabilidade, 97,5 percentil	1,29	1,23

Tabela 2. Resultados dos resíduos em quatro amostras de mamão papaya tratadas coletada na planta N12.

Código da amostra	Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
N12-1 I	0,02	0,03
N12-2 M	0,03	0,05
N12-3 E	0,03	0,05
N12-4 E	0,01	0,01
Média	0,02	0,03
Máximo	0,03	0,05
97,5 percentil	0,013	0,015
Variabilidade, máximo	1,55	1,45
Variabilidade, 97,5 percentil	0,57	0,46

Tabela 3. Resultados dos resíduos em dez amostras de manga tratadas coletada na planta B16.

Código da amostra		Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
B16-1	NE	0,32	0,31
B16-2	E	0,37	0,36
B16-3	ME	0,09	0,10
B16-4	ME	0,12	0,13
B16-5	ME INF	0,12	0,14
B16-6	NE INT	0,19	0,20
B16-7	E	0,18	0,18
B16-8	NE	0,18	0,21
B16-9	E	0,22	0,21
B16-10	ME	0,17	0,21
Média		0,20	0,20
Máximo		0,37	0,36
97,5 percentil		0,36	0,35
Variabilidade, máximo		1,9	1,7
Variabilidade, 97,5 percentil		1,8	1,7

Tabela 4. Resultados dos resíduos em três amostras de abobrinhas tratadas coletadas na planta F22

Código da amostra	Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
F22-1	0,02	0,05
F22-2	0,09	0,15
F22-3	0,17	0,29
Média	0,09	0,16
Máximo	0,17	0,29
97,5 percentil	0,17	0,28
Variabilidade, máximo	1,84	1,79
Variabilidade, 97,5 percentil	1,80	1,74

Tabela 5. Resultados dos resíduos em três amostras de abobrinhas tratadas coletadas na planta F23

Código da amostra	Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
F23-1	0,06	0,12
F23-2	0,05	0,09
F23-3	0,09	0,14
Média	0,07	0,12
Máximo	0,09	0,14
97,5 percentil	0,09	0,14
Variabilidade, máximo	1,32	1,23
Variabilidade, 97,5 percentil	1,30	1,22

Tabela 6. Resultados dos resíduos em três amostras de abobrinhas tratadas coletadas na planta J3

Código da amostra	Parationa metílica, mg/kg	Metidationa, mg/kg
J3-1	0,05	0,10
J3-2	0,15	0,29
J3-3	0,02	0,10
Média	0,07	0,16
Máximo	0,15	0,29
97,5 percentil	0,14	0,28
Variabilidade, máximo	2,07	1,75
Variabilidade, 97,5 percentil	2,00	1,69

Tabela 7. Resultado dos resíduos em seis amostras tratadas de berinjela coletadas na planta I4

Código da amostra	Malationa, mg/kg	Etiona, mg/kg
I4-1	<0,01	0,03
I4-2	<0,01	0,005
I4-3	<0,01	0,02
I4-4	<0,01	0,005
I4-5	<0,01	0,01
I4-6	<0,01	0,06
Média		0,02
Máximo		0,06
97,5 percentil		0,06
Variabilidade, máximo		2,88
Variabilidade, 97,5 percentil		2,67

Tabela 8. Resultado dos resíduos em três amostras tratadas de berinjela coletadas na planta G9

Código da amostra	Malationa, mg/kg	Etiona, mg/kg
G9-1	<0,01	0,03
G9-2	<0,01	0,04
G9-3	<0,01	0,15
Média		0,07
Máximo		0,15
97,5 percentil		0,15
Variabilidade, máximo		2,08
Variabilidade, 97,5 percentil		2,00

Tabela 9. Resultado dos resíduos em três amostras tratadas de berinjela coletadas na planta N6

Código da amostra	Malationa, mg/kg	Etiona, mg/kg
N6-1	<0,01	0,04
N6-2	<0,01	0,01
N6-3	<0,01	0,15
Média		0,07
Máximo		0,15
97,5 percentil		0,15
Variabilidade, máximo		2,31
Variabilidade, 97,5 percentil		2,22

Tabela 10. Resultado dos resíduos em quatro amostras tratadas de berinjela coletadas na planta N11

Código da amostra	Malationa, mg/kg	Etiona, mg/kg
N11-1	<0,01	0,02
N11-2	<0,01	0,03
N11-3	<0,01	0,06
N11-4	<0,01	0,06
Média		0,04
Máximo		0,06
97,5 percentil		0,06
Variabilidade, máximo		1,37
Variabilidade, 97,5 percentil		1,37

Tabela 11. Resultado dos resíduos em três amostras tratadas de berinjela coletadas na planta Q8

Código da amostra	Malationa, mg/kg	Etiona, mg/kg
Q8-1	0,02	0,03
Q8-2	0,01	0,11
Q8-3	0,01	0,03
Média	0,01	0,06
Máximo	0,02	0,11
97,5 percentil	0,02	0,11
Variabilidade, máximo	1,53	1,96
Variabilidade, 97,5 percentil	1,50	1,89

Tabela 12. Resultado dos resíduos em três amostras tratadas de berinjela coletadas na planta S8

Código da amostra	Malationa, mg/kg	Etiona, mg/kg
S8-1	<0,01	0,03
S8-2	<0,01	0,04
S8-3	<0,01	0,15
Média		0,03
Máximo		0,06
97,5 percentil		0,06
Variabilidade, máximo		1,72
Variabilidade, 97,5 percentil		1,68

ANEXO IX – Tabelas detalhadas das amostras compostas

Tabela 1. Valores encontrados para as amostras composta da abobrinha

	Metidationa, mg/kg	Parationa metílica, mg/kg
Composta 1	0,046	0,022
Composta 2	0,092	0,056
Composta 3	0,054	0,017
Composta 4	0,046	0,021
Composta 5	0,061	0,035
Composta 6	0,051	0,026
Composta 7	0,059	0,034
Composta 8	0,062	0,037
Composta 9	0,080	0,052
Composta 10	0,103	0,063
Média	0,07	0,04
Máximo	0,10	0,06
CV, %	30,34	43,76
Variabilidade Max	1,58	1,74

Tabela 2. Valores encontrados para as amostras composta da berinjela

	Malationa, mg/kg	Etiona, mg/kg
Composta 1	<0.01	0.022
Composta 2	0.012	0.052
Composta 3	0.013	0.064
Composta 4	0.006	0.040
Composta 5	0.020	0.133
Composta 6	0.006	0.026
Composta 7	0.008	0.027
Composta 8	<0.01	0.021
Composta 9	<0.01	0.020
Composta 10	<0.01	0.026
Média	0.009	0.043
Máximo	0.02	0.13
CV, %	59,2	80,9
Variabilidade Max	-	3.1

