



**Associação Instituto de Tecnologia de Pernambuco – ITEP OS
Mestrado Profissional em Tecnologia Ambiental**

**ESTABILIDADE DE PADRÕES ANALÍTICOS DE
AGROTÓXICOS EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS**

Maria Carolina Silveira Costa Silva

**Recife – PE
2007**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Maria Carolina Silveira Costa Silva

**ESTABILIDADE DE PADRÕES ANALÍTICOS DE
AGROTÓXICOS EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Tecnologia Ambiental, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre.

Orientador(a): Dra. Danuza Leal Telles

Recife – PE

2007

S586e

Silva, Maria Carolina Silveira Costa, 1978-

Estabilidade de padrões analíticos de agrotóxicos em condições laboratoriais. / Maria Carolina Silveira Costa Silva . – Recife: Ed. do autor, 2007.

61f. : il.

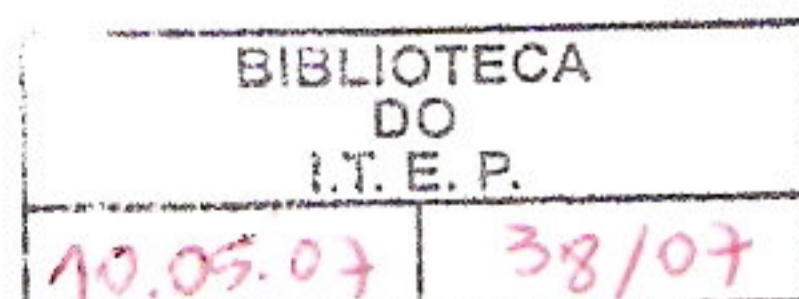
Inclui bibliografia

Orientadora: Dr^a Danuza Leal Telles

Dissertação (Mestrado) – Associação Instituto de Tecnologia de Pernambuco – ITEP-OS, 2007.

1. AGROTÓXICOS – CONTAMINAÇÃO. 2. AGROTÓXICOS – ASPECTOS AMBIENTAIS. 3. AGROTÓXICOS – PADRÃO ANALÍTICO EM LABORATÓRIOS. 4. MEIO AMBIENTE – PRESERVAÇÃO. I. Telles, Danuza Leal. II. Título.

CDU 543.393:542



MARIA CAROLINA SILVEIRA COSTA SILVA

**ESTABILIDADE DE PADRÕES ANALÍTICOS DE
AGROTÓXICOS EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS**

Dissertação apresentada e aprovada para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia Ambiental da Associação Instituto de Tecnologia de Pernambuco - ITEP - OS.

Recife, 23 de abril de 2007.

Orientadora:



Dra. Danuza Leal Telles
Instituto de Tecnologia de Pernambuco - ITEP

Examinadora Interna:



Dra. Adélia Cristina Pessoa Araújo
Instituto de Tecnologia de Pernambuco - ITEP

Examinador Externo:



Dr. Renato José Reis Molica
Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

DEDICATÓRIA

Aos meus pais ARTHUR ALVARO COSTA SILVA E TANIA SILVEIRA COSTA SILVA por todas as conquistas em minha vida.

À meu marido JÚLIO CÉSAR GOMES BRAGA pelo apoio e incentivo em todos os momentos, quando da realização deste trabalho.

Á meu irmão ARTHUR ALVARO COSTA SILVA FILHO por está ao meu lado com seu carinho e apoio.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me dar força para superação dos obstáculos da vida.

À Orientadora Dra. Danuza Leal Telles pela dedicação, incentivo e orientação na realização deste trabalho.

À Coordenadora do LabTox Dra. Adélia Cristina Pessoa Araújo pelo apoio e incentivo na realização deste trabalho.

À Coordenação do Mestrado, nas pessoas dos professores Caetano de Queiroz Monteiro, Sônia Valéria Pereira, Marta Maria Menezes Bezerra Duarte pela atenção.

Aos colegas do LabTox – ITEP, pelo apoio técnico e constante disponibilidade.

Aos colegas do curso pelo incentivo e colaboração através de discussões e sugestões sobre o trabalho.

À todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

A aceitação dos resultados dos estudos de estabilidade de padrões analíticos puros e em soluções estoques em laboratórios garante a qualidade dos procedimentos analíticos em países da Europa e EUA. No Brasil, as constantes auditorias exigem, como forma de manter a acreditação, atualização dos padrões baseado na data do fornecedor; por esta razão, a estabilidade dos padrões analíticos, as soluções estoques, a calibração das soluções e o extrato das amostras são continuamente verificados e controlados. Normalmente, os fornecedores dessas substâncias fornecem padrões com período próximo a data de expiração, forçando os laboratórios a adquirir novos padrões e a preparar novas soluções estoques. Neste estudo, foi avaliada a expansão da data de validade de alguns padrões analíticos puros com o objetivo de iniciar um banco de dados sobre a estabilidade química dos agrotóxicos e contribuir com a redução da contaminação ambiental. A técnica analítica utilizada neste estudo foi a cromatografia gasosa com detectores de captura de elétrons, CG/DCE e fotométrico de chama, CG/DFC. As respostas cromatográficas foram integradas e a variação percentual entre as áreas foi calculada, com o objetivo de verificar se esta variação atende o limite máximo aceito, que é de até 10%. Os dados obtidos neste estudo estão de acordo com a literatura e pode-se concluir que o procedimento de armazenamento, preparação e uso de solventes atendem aos requisitos de controle de qualidade utilizados por laboratórios de referência americanos e europeus e aceitos pelos órgãos acreditadores internacionais.

ABSTRACT

The revalidation of analytical standards by laboratories with quality assurance procedures is well accepted in Europe and in the US. In Brazil, on the other hand, studies about stability of pesticide standards in samples extracts, as stock or as calibration solutions, are limited. Brazilian accreditation board regulation, in this matter, allows the usage of standards by laboratories only if the analytical certificate date, provided by the producer, is not expired. Laboratories that follow multi-residue methods, then, have to face time consuming preparation of stock solutions, high import rates and environmental problems. In this study, stability of some organochlorine, chlorinated molecules and organophosphate compounds in the neat form were evaluated. The objective was to start a pesticide stability database in ITEP/LabTox and help decrease the rate of pesticide disposal to the environment. The technique used was gas chromatography and standards were analyzed in an electron capture detector and flame photometric detector. The analytical chromatographic responses were integrated and the percent variation, between valid and expired dates compounds, calculated to a limit of 10%. The results obtained in this study are in accordance with reports in the literature and it is possible to conclude that the procedures for the storage of standards, preparation and choice of solvents for the solutions used in the ITEP/LabTox meet the requirements of quality assurance. These requirements are in use by American and European accredited laboratories and accepted by international accreditation boards.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Fórmula estrutural do Lindano (γ - HCH) e DDT.....	18
Figura 2 - Fórmula estrutural da Parationa Metílica.....	20
Figura 3 - Vidraria especial utilizada para armazenamento das soluções de padrões analíticos puros.....	27
Figura 4 - Cálculo comparativo entre os compostos do grupo A e do grupo B.....	32
Figura 5 - Perfil cromatográfico do padrão analítico puro de Heptacloro vencido e válido.....	37
Figura 6 - Perfil cromatográfico do padrão analítico puro de Mirex vencido e válido.....	37
Figura 7 - Perfil cromatográfico do padrão analítico puro de Metidationa vencido e válido.....	38
Figura 8 - Perfil cromatográfico do padrão analítico puro de Clorpirifós vencido e válido.....	38
Figura 9 - Perfil cromatográfico das 5 injeções sobrepostas do padrão analítico puro de Heptacloro válido e vencido.....	39
Figura 10 - Perfil cromatográfico das 5 injeções sobrepostas do padrão analítico puro de Mirex válido e vencido.....	40

Continuação da Lista de Figuras.

Figura 11 - Perfil cromatográfico das 5 injeções sobrepostas do padrão analítico puro de Metidationa válido e vencido.....	42
Figura 12 - Perfil cromatográfico das 5 injeções sobrepostas do padrão analítico puro de Clorpirifós válido e vencido.....	43

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Situação dos agrotóxicos organoclorados no Brasil, Argentina, Chile e México.....	13
Tabela 2 - Sinais e sintomas de intoxicação por inseticidas organoclorados (LARINI, 1999).....	18
Tabela 3 - Sinais e sintomas de intoxicação por inseticidas organofosforados (LARINI, 1999).....	20
Tabela 4 - Modelo do controle de qualidade do padrão analítico puro.....	33
Tabela 5 - Variação percentual dos padrões analíticos puros da classe dos organoclorados.....	35
Tabela 6 - Variação percentual dos padrões analíticos puros da classe dos organofosforados.....	36
Tabela 7 - Área integrada para cada injeção do padrão analítico puro válido e vencido de Heptacloro.	41
Tabela 8 - Área integrada para cada injeção do padrão analítico puro válido e vencido de Mirex.....	41
Tabela 9 - Área integrada para cada injeção do padrão analítico puro válido e vencido de Metidationa.....	44

Continuação da Lista de Tabelas.

Tabela 10 - Área integrada para cada injeção do padrão analítico puro válido e vencido de Clorpirifós.....	44
Tabela 11 – Comparação entre a variação percentual dos padrões analíticos puros encontrados neste estudo e na literatura	49
Tabela 12 - Comparação entre os períodos de validade das soluções dos padrões analíticos encontrados neste estudo e na literatura.....	50

LISTA DE ABREVIATURAS

- BFR** – Federal Institute for Risk Assessment
- CACEX** – Banco de Dados Nacional de Importação e Exportação
- CDFA** – Center for Analytical Chemistry
- CG/DCE** – Cromatografia Gasosa com Detector de Captura de Eletróns
- CG/DFC** – Cromatografia Gasosa com Detector Fotométrico de Chama
- CGCRE** – Coordenadoria de Credenciamento
- CONAMA** – Conselho Nacional do Meio Ambiente
- CPRH** – Agência Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos
- DICLA** – Divisão de Credenciamento de Laboratórios
- DDT** – Dicloro Difenil Tricloroetano
- EBDC's** - Etilenobisditiocarbamatos
- INMETRO** – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
- IPA** – Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária
- ITEP** – Associação Instituto de Tecnologia de Pernambuco
- LABTOX** – Laboratório de Análise de Resíduos de Agrotóxicos e de Bebidas Alcoólicas
- LMR** – Limite Máximo de Resíduos
- OCs** – Organoclorados
- OFs** – Organofosforados
- ONG** – Organização Não Governamental
- PAHO** – Organização Pan-Americana de Saúde
- RBC** – Rede Brasileira de Calibração
- RBLE** – Rede Brasileira de Laboratórios de Ensaio
- SUREHMA** – Superintendência de Recursos Hídricos e de Meio Ambiente
- UFPE** – Universidade Federal de Pernambuco
- VALEXPOR** – Associação dos Exportadores do Vale do São Francisco
- VWA** – Food and Consumer Product Safety Authority

SUMÁRIO

	Página
Dedicatória	
Agradecimentos	
Resumo	
Abstract	
Lista de Figuras	
Lista de Tabelas	
Lista de Abreviaturas	
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. DESENVOLVIMENTO DO TEMA.....	07
2.1 Agrotóxicos e o meio ambiente	08
2.1.1 O uso de agrotóxicos no Brasil.....	08
2.1.2 O uso de agrotóxicos em Pernambuco.....	13
2.2 Inseticidas organoclorados (OCs): estrutura química e efeitos tóxicos.....	17
2.3 Inseticidas organofosforados (OFs): estrutura química e efeitos tóxicos.....	19
2.4 A técnica cromatográfica e a importância dos padrões analíticos.....	21
3 OBJETIVOS.....	23
3.1 Objetivo Geral.....	24
3.2 Objetivos Específicos.....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1 Seleção dos agrotóxicos.....	26
4.2 Pesagem e preparação de soluções estoque e diluída de padrões analíticos puros.....	26
4.3 Condições cromatográficas.....	28
4.3.1 Cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons, CG/DCE.....	28
4.3.2 Cromatografia gasosa com detector fotométrico de chama, CG/DFC.....	30

Continuação do Sumário.

4.4	Identificação e quantificação dos padrões analíticos puros.....	31
5	RESULTADOS	34
5.1	Variações percentuais entre os padrões analíticos puros-grupo A e B.....	35
5.2	Cromatogramas de alguns dos padrões analíticos puros-grupo A e B.....	36
6	DISCUSSÃO.....	45
7	CONCLUSÕES.....	52
8	SUGESTÕES.....	54
9	REFERÊNCIAS	56

1. INTRODUÇÃO

O homem tem continuamente procurado uma melhora na sua condição de vida. O esforço para aumentar a produção, em quantidades suficientes de alimentos, se contrapõe às devastações causadas pelas pragas. Como forma de resolver essa questão foram produzidas substâncias denominadas de agroquímicos, que inclui os agrotóxicos e fertilizantes. Os agrotóxicos são compostos orgânicos sintéticos com baixo peso molecular, geralmente com baixa solubilidade em água e alta atividade biológica, usados para prevenir ou reduzir efeitos adversos de pragas. Na agricultura são utilizados com três objetivos principais: maior produtividade, produção de culturas de alta qualidade e redução de custo de mão-de-obra (SILVA & FAY, 2004).

No passado, organismos indesejáveis à agricultura eram controlados através da aplicação de um número reduzido de compostos inorgânicos à base de cobre e arsênio, além de alguns inseticidas de ocorrência natural como as piretrinas. Até a Segunda Guerra Mundial o desenvolvimento e o uso efetivo de compostos orgânicos foi lento. No entanto, com a descoberta da propriedade inseticida do dicloro-difenil-tricloroetano, o DDT, primeiro composto orgânico sintético, caracterizou-se o início de problemas ambientais, uma vez que ele, também, foi empregado no combate aos mosquitos transmissores de doenças. (KOTAKA & ZAMBRONE, 2001; NIMMO, 1985).

As propriedades então descobertas, possibilitaram o aumento da produtividade agrícola, no entanto, seu uso desordenado e excessivo vem provocando vários impactos sobre o meio ambiente. Dentre esses efeitos, destaca-se a presença de resíduos desses produtos no solo, na água, no ar, nas plantas e nos animais. Além da contaminação do meio ambiente, essas substâncias podem atingir o homem pela cadeia alimentar e ocasionar danos à saúde. Datam da década de 50 os

primeiros relatos sobre a presença de resíduos de inseticidas organoclorados no ambiente e nos alimentos, quando pode ser observado a ocorrência dos processos de bioconcentração e bioacumulação na cadeia alimentar (ALMEIDA, 1974; EDWARDS, 1973).

As três vias de exposição aos agrotóxicos no ambiente são: através da ingestão de alimento ou água, respiração e contato externo com a pele. A molécula química que passar pelas várias barreiras do organismo pode ser metabolizada pelos tecidos ou ser armazenada. A bioacumulação se dá quando o agrotóxico é lentamente metabolizado pelo organismo e solubilizado em gorduras ou sorvido por outros constituintes do corpo, a sua concentração final será maior do que a concentração do meio a qual esteve exposto. Considerando que o ambiente é formado por diferentes fases como água, ar, solo e biota, o agrotóxico, ao ser introduzido nesse ambiente é distribuído entre as diferentes fases, de acordo com suas propriedades. Os sedimentos aquáticos, por exemplo, são formados por depósito de partículas e colóides e, assim, podem atuar como uma fonte desses poluentes; nessa matriz, o uso dos agrotóxicos persistentes eleva a sua concentração, que muitas vezes pode exceder a contaminação da água, devido à partição do composto nos sítios de ligação do sedimento. Da mesma forma, a partição água-biota, freqüentemente denominada de fator de bioconcentração, pode bioacumular concentrações significantes de um substrato que estava em concentrações muito baixas na água (SILVA & FAY, 2004).

Os organismos vivos estão expostos diariamente a várias substâncias tóxicas que vão desde poluentes industriais no ar a resíduos de agrotóxicos ou metais pesados em alimentos e água potável, o que causa sérios riscos à saúde humana pela persistência no meio ambiente e poder bioacumulador (SILVA & FAY, 2004).

Outro tipo de exposição é caracterizada pela utilização de misturas de vários agentes tóxicos. O emprego dessas misturas é vantajoso quando comparado com a aplicação de um único composto. As vantagens relatadas são muitas, entre elas destaca-se o aumento da eficiência contra os organismos alvo, da segurança para organismos não-alvo e diminuição das quantidades aplicadas sem redução da eficiência. No entanto, há equívocos em relação a verdadeira contaminação ambiental deixada por essas misturas, pois além de alguns compostos persistirem por períodos mais longos no meio ambiente, também são aplicados repetidamente (MARKING, 1985).

A agricultura é a principal fonte de contaminação de agrotóxicos para o meio ambiente, mas uma significativa contribuição nesse processo reside no descarte dessas substâncias, utilizados não só na agricultura, mas também em laboratórios e indústrias químicas. Essas indústrias produzem hoje mais de cem mil compostos diferentes e muitos deles acabam sendo lançados no ambiente acidentalmente ou por falta de políticas de fiscalização ambiental (SILVA & FAY, 2004).

O governo aborda o gerenciamento ambiental através do estabelecimento de normas de poluição admissíveis para água, ar e terra. A indústria reage instalando equipamentos, só nos dispositivos finais de processo para manter a emissão dentro das normas estabelecidas. Esse processo está sujeito a falhas, pois são regulamentados por autoridades diferentes. Assim, fica evidente a necessidade de se aprimorar a legislação e implementar mecanismos formais para controlar e avaliar o risco para a saúde e para o meio ambiente.

Nesse sentido, é urgente a diminuição de descartes de agrotóxicos, como forma de colaborar com a diminuição da contaminação ambiental. Os impactos dessas substâncias no meio ambiente, seus eventuais efeitos tóxicos, produção, utilização e disposição, ainda são bastante discutidos até hoje. O que parece

existir, no entanto, é uma falta de controle dessas substâncias perigosas e o mais grave é que não temos uma política nacional de segurança química.

Os riscos apresentados por essas substâncias devem ser avaliados considerando não só as características físico-químicas, a reatividade e a toxicidade, como também as condições de manipulação, as possibilidades de exposição do trabalhador e as vias de penetração no organismo. Além disso, tem-se que considerar a disposição final do produto químico, sob a forma de resíduo e os impactos que podem causar no meio ambiente.

Esforços foram desenvolvidos no período de 2000 a 2002 no sentido de se criar um grupo de trabalho com o objetivo de identificar ações efetivas para o controle de descarte dos vários resíduos de instituições como: UFPE, ITEP, CPRH, IPA e outros. Não houve continuidade do processo e o ITEP, assim como os outros órgãos, enfrentam o problema de forma pontual e não integrada. Hoje, o Nordeste carece de uma maneira segura e correta, do ponto de vista ambiental, de se destruir essas substâncias que, até o momento, é realizada pelo processo de incineração e esse procedimento tem gerado uma preocupação extra para os laboratórios, devido à localização desses incineradores, alto custo de incineração e a falta de transportes especializados.

Com o objetivo de avançar nesse processo de preservação do meio ambiente, iniciou-se um estudo de estabilidade dos padrões analíticos de agrotóxicos e de suas soluções utilizados no LabTox. A expansão do prazo de validade desses padrões por laboratórios com programas de qualidade implementados é uma conduta recomendada em vários países da Europa e Estados Unidos. No entanto, aqui no Brasil os órgãos acreditadores se ressentem de respaldo científico para adotar semelhante conduta, muito em função da recente introdução do conceito metrológico em laboratórios de ensaios nas áreas de química

e biologia. Como conseqüência, os laboratórios de ensaios acreditados pela norma ISO IEC 17025 têm que manusear padrões analíticos apenas dentro do prazo de validade citado no certificado fornecido pelo fabricante e que se possuírem data de validade expirada devem ser descartados e novos padrões válidos deverão ser adquiridos.

São raros os trabalhos realizados no Brasil referentes à estabilidade de padrões puros (pó ou líquido), em soluções estoque ou de calibração e em extratos de amostras, práticas recomendadas pelo *Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis - SANCO/10232/2006*. As literaturas européia e americana indicam que a maioria dos padrões puros e suas soluções estoque são estáveis por longos períodos, dependendo das condições de armazenamento e do solvente utilizado. Esse estudo de expansão da validade dos padrões analíticos, está sendo apoiado pela Comissão Técnica de Química da Divisão de Credenciamento de Laboratórios – DICLA / CGCRE do INMETRO em função da importância para manutenção dos ensaios e ampliação dos laboratórios que pertencem a Rede Brasileira de Laboratórios de Ensaio – RBLE.

Até o momento, os laboratórios que fazem uso de métodos multi-resíduos para a análise de resíduos de agrotóxicos, muitas vezes, arcam com despesas e trabalhos extras. Se levarmos em consideração a grande estabilidade de muitos desses compostos, em especial dos organoclorados, os custos, as dificuldades para importação e o descarte desnecessário justificam o estudo aqui proposto.

DESENVOLVIMENTO DO TEMA

2. DESENVOLVIMENTO DO TEMA

2.1 Agrotóxicos e o meio ambiente

2.1.1 O uso de agrotóxicos no Brasil

Nos últimos anos, o desenvolvimento tecnológico evidenciado no setor agropecuário proporcionou crescimento de produtividade agrícola, favorecendo uma maior diversidade de alimentos ao consumidor e uma elevação nas taxas de exportação de produtos agropecuários nacionais. Esse aumento de produtividade deu-se em função direta da pesquisa agropecuária que viabiliza, constantemente, métodos cada vez mais centrados nas particularidades dos agroecossistemas. Registram-se, também, a existência de uma variedade maior de produtos fitossanitários disponibilizados para o controle de pragas, doenças e plantas daninhas das culturas. Os agrotóxicos sempre foram usados, em detrimento de outros métodos de controle, pela eficiência na redução imediata das populações de pragas das culturas.

Assim, além da evidente contaminação ambiental por agrotóxicos, deve-se considerar a resistência as pragas, que ocorre devido ao uso e ao grau de exposição do ambiente a misturas complexas de agrotóxicos em inúmeras matrizes ambientais. Além disso, existe uma habilidade desenvolvida por alguns organismos em tolerar doses de agrotóxicos que seriam letais para a maioria da população (BULL & HATHAWAY, 1986; SILVA & FAY, 2004).

O consumo mundial de agrotóxicos sofreu um rápido incremento e nos anos de 50 a 80 o crescimento se deu a uma taxa anual de aproximadamente 10%. Estudos revelam que mais da metade da produção mundial de agrotóxicos é utilizada nos Estados Unidos e na Europa Ocidental, regiões que abrigam cerca de 25% das terras globais ocupadas com culturas. Por outro lado, cerca de 20% dos agroquímicos

são utilizados nos países em desenvolvimento que contam com 55% das terras cultivadas do mundo, com tendência de crescimento, conforme estudo realizado pela Organização Pan-Americana de Saúde - PAHO (ALVES FILHO, 2001).

O uso generalizado dos agrotóxicos aumentou de 1,5 milhão de toneladas/ano em 1970 para cerca de 3 milhões em 1985 e, após 10 anos, a estimativa era que este uso deveria dobrar, especialmente nos países em desenvolvimento. Assim, em 1995, as vendas na Argentina já superavam em 2,5 vezes os valores estimados para 1999. No Chile o consumo foi cerca de 7,5 vezes maior e o Brasil já alcançava cerca de 78% da estimativa de vendas desses produtos. Os valores de vendas mundiais de agrotóxicos cresceram cerca de oito vezes em duas décadas, evoluindo de US\$ 2,700 milhões em 1970, para US\$ 15,900 em 1980, atingindo US\$ 21,500 milhões em 1999 (ALVES FILHO, 2001).

Os Estados Unidos, maiores consumidores mundiais de agrotóxicos, contam, atualmente, com mais de 25.000 formulações de agrotóxicos registradas e disponíveis para uso no mercado. O consumo anual é de cerca de 1 milhão e 350 mil toneladas de ingredientes ativos. No Brasil, o consumo desses produtos encontra-se em franca expansão; o país é responsável por cerca de 50% da quantidade de agrotóxicos utilizados na América Latina, o que para o ano de 1998 representou um negócio estimado de cerca de US\$ 2,5 bilhões (ALVES FILHO, 2001).

Atualmente, o Brasil ocupa o quarto lugar no ranking de consumidores de agrotóxicos e são os Estados concentradores de monoculturas, como São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul, Minas Gerais, Goiás e Bahia, os grandes consumidores (PESSOA & SCRAMIN, 2004).

Historicamente, o uso de agrotóxicos no Brasil iniciou-se em 1972 com o primeiro Plano Nacional do Desenvolvimento do Banco do Brasil que consistia na redução das importações desses produtos através da criação de subsídios para o desenvolvimento da indústria brasileira de agrotóxicos. O plano também incentivava o cultivo de soja, trigo e algodão, culturas que demandam a aplicação de grandes quantidades de agrotóxicos. O Banco do Brasil passou a criar linhas de crédito para agricultores desde que 15% do crédito fossem empregados em tecnologia “moderna”, isto é, aplicação de agrotóxicos nas lavouras. Esses fatos, juntamente com a alta propaganda realizada pela imprensa, promoveram a idéia de que os agrotóxicos eram indispensáveis para uma boa produtividade agrícola e melhor qualidade dos alimentos, sendo inofensivos aos seres humanos e ao meio ambiente (DINHAM, 1993).

Por um curto período, essa política governamental mostrou-se bastante eficiente e a produção de agrotóxicos diversificou para algo em torno de 290 princípios ativos e cerca de 800 produtos foram legalizados para uso na agricultura.

Hoje, as fusões entre os grandes produtores internacionais foram utilizadas como a alternativa para conquista de mais mercados na economia globalizada. Entre as fusões mais importantes que ocorreram recentemente pode-se citar a Basf que adquiriu a Cyanamid, convertendo-se em uma grande produtora de herbicidas, especialmente para a soja; a Novartis e a Zeneca se fundiram e formaram a Syngenta, e a Dow Química que adquiriu a divisão agrícola da Rohm-and-Haas. Com esse quadro, a Aventis, que ocupava o primeiro lugar em vendas no Brasil, cedeu o lugar a Syngenta. O fato é alarmante por demonstrar uma tendência contínua de crescimento desse comércio, sem que sejam identificadas ações integradas e sistemáticas de fiscalização e monitoração ambiental pelos órgãos públicos competentes.

Esse crescimento indiscriminado e sem controle do uso dessas substâncias gerou uma preocupação no que se refere à contaminação ambiental. A SUREHMA (Superintendência de Recursos Hídricos e de Meio Ambiente) publicou um estudo após o aparecimento de grandes quantidades de peixes mortos no rio Miranda (Mato Grosso) e na Baía de Guaraquecaba (Paraná), conseqüência da pulverização do herbicida Tordon[®] (2,4-D) por três dias, em ambas as cidades.

Na cidade de Primavera do Leste-MT, através de estudos de parâmetros físicos e químicos do solo e de 29 agrotóxicos em águas superficiais e subterrâneas, foi possível identificar o risco potencial de cada agrotóxico. Ficou evidente a possibilidade de se obter um diagnóstico de uma provável contaminação utilizando-se análises preliminares do comportamento ambiental e da toxicidade dos agrotóxicos (DINHAM, 1993; DORES & DE-LAMONICA-FREIRE, 2001).

Outros esforços isolados de avaliação ambiental foram reportados na região da Baía de Todos os Santos-Salvador. Nessa região, bivalves regionais, *Anomalocardia brasiliiana*, foram analisados, seguindo a metodologia do Programa "Mussel Watch" (Organismos Sentinelas) na busca da presença de organoclorados. As concentrações encontradas foram baixas quando comparadas com aquelas obtidas em países industrializados e pode-se identificar claramente um aumento dessas quantidades em estações de amostragem reconhecidamente mais vulneráveis a esse tipo de contaminação (TAVARES, 1988). O mesmo grupo de pesquisadores desenvolveu outro trabalho nessa região no período de 1985 a 1994 e identificou a presença de resíduos de DDT e seus produtos de biotransformação em três espécies de organismos sentinelas como, por exemplo, mexilhões. O estudo mostrou que as concentrações de agrotóxicos organoclorados aumentaram durante esse período, sendo que em alguns locais as concentrações detectadas são até 15 vezes superiores aquelas obtidas em 1985 (TAVARES et al., 1995). Esses resultados estão de acordo com a suspeita de que, apesar de proibido, cerca de 1000 toneladas/ano de DDT ainda vêm

sendo empregadas na agricultura brasileira em geral (MAYNARD, 1995).

Através do relatório publicado pelo Programa de Meio Ambiente das Nações Unidas em 1998 pode-se verificar que o Brasil não produz industrialmente nenhum dos compostos ditos persistentes que fazem parte da lista dos chamados “12 sujos” ou “Dirty Dozen”. No entanto, dados do relatório anual do Greenpeace informam que existe uma produção indireta no Brasil através da importação de alguns desses compostos, destacando-se o Heptacloro, utilizado como conservante para madeira. Outra informação sobre a produção indireta dos “12 sujos” vem do Banco de Dados Nacional de Importação e Exportação - CACEX, onde registros confirmam que no ano de 1998 foram importados 18kg de Aldrin, 55kg de DDT e 38 toneladas de Heptacloro.

Para se ter uma ampla visão do problema de contaminação por agrotóxicos persistentes, como é o caso dos organoclorados, deve-se considerar as formas de utilização desses produtos não só no Brasil, mas também nos países vizinhos. A importância de se observar a conduta de países sul-americanos com relação aos agrotóxicos persistentes está no fato dessas substâncias se dispersarem facilmente pelo meio ambiente. A Tabela 1 mostra a situação do Brasil e de outros países da América Latina referente ao uso/legislação de agrotóxicos persistentes.

Tabela 1 – Situação dos agrotóxicos Organoclorados no Brasil, Argentina, Chile e México.

Composto	Argentina	Brasil	Chile	México
Aldrin	B	B	B	B
Dieldrin	B	NR	B	B
Heptacloro	B	R1	B	R1
Clordano	B	NR	B	R2
DDT	B	B	B	R2
Endrin	B	B	B	B
HCB	B	R3	NR	B
Mirex	B*	B	NR	B

B= Banido; **NR=** Não registrado; **R1=** Restrito para o controle de cupins; **R2=** Restrito para o controle da malária; **R3=** Uso restrito do Ministério da Saúde em caso de emergências.

(*) - Legislação contempla proibição de importação, comercialização, uso e prazo para esgotamento dos estoques desde 1999.

Fonte: Greenpeace.org

2.1.2 O uso de agrotóxicos em Pernambuco

O Estado de Pernambuco apresenta uma agricultura basicamente canavieira, exceto a região do vale do São Francisco, que se destaca como área de agricultura irrigada. Outras áreas, em menores proporções, apresentam cultivo de tomate de mesa, coco, algodão, dentre outras.

Com relação à zona da mata, região tipicamente de cultivo da cana-de-açúcar e historicamente de grande importância social para o Estado, o quadro de degradação ambiental reflete a utilização inadequada dos seus recursos naturais, poluição ambiental e pobreza generalizada. A poluição nessa área é causada, principalmente, pelos lançamentos de efluentes domésticos nos cursos d'água, uso de adubos e agrotóxicos. Apesar da melhora registrada a partir da década de oitenta, com a diminuição da descarga de vinhoto nos rios da

região, a pressão sobre o meio ambiente natural continua constituindo um problema sério.

Segundo SILVA (1991), o desconhecimento da legislação, o descumprimento das constituições federal, estadual e municipal e dos códigos penal e civil, a falta de informação de usuários, a não utilização do receituário agrônômico, a omissão de funcionários e de órgãos públicos e o pouco conhecimento de técnicos de serviços de extensão rural, fazem de Pernambuco um dos grandes consumidores de agrotóxicos do país. Esse desconhecimento da legislação por parte dos órgãos que têm atribuições dessa natureza, e as ações em desenvolvimento carecem de integração e eficácia. O emprego indiscriminado de agrotóxicos pode vir a comprometer a saúde do trabalhador e a qualidade da água disponível para o abastecimento da população; esse quadro está particularmente, evidenciado no estudo realizado por SILVA (1999) no município de Camocim de São Félix onde também, foi identificada a falta de critérios de escolha pelo agricultor do produto a ser utilizado; além disso, a prática de mais uma aplicação do produto para “garantir” a mercadoria durante o transporte, é uma contribuição importante para a contaminação ambiental (ARAÚJO,1998).

No âmbito da exposição ocupacional a essas substâncias pode-se destacar o diagnóstico da contaminação de trabalhadores rurais a inseticidas organofosforados no período de 1991 a 1992, onde ficou constatado que 13% da população estudada apresentava intoxicação por organofosforados (LUNA et al., 1995).

Em 1991, com a implantação do Laboratório de Análise de Resíduos de Agrotóxicos e de Bebidas Alcoólicas do ITEP- LabTox, alguns estudos tiveram início no Estado de Pernambuco. Dentre eles destaca-se a contaminação por agrotóxicos na cultura do tomate de mesa e tomate industrial. Os resultados indicaram que a produção orientada da agricultura resulta em tomates com melhor qualidade, no

que se refere a resíduos de agrotóxicos. Porém, ficou constatado que as duas regiões estudadas, Camocim de São Félix e Projeto Senador Nilo Coelho-Petrolina, indiscriminadamente, carecem de ações que visem à proteção dos trabalhadores rurais que lidam com os agrotóxicos e de medidas contra danos ao meio ambiente (ARAÚJO, 1998; ARAÚJO et al., 1999).

Dados secundários referentes ao uso de agrotóxicos foram analisados também por ARAÚJO et al. (2000) e foi possível concluir que:

- das 129 formulações comerciais em uso na agricultura para todo o Estado, 26 não tinham registro e apresentavam produção e composição desconhecidas pelos usuários;
- dentre os inseticidas, os organofosforados foram os mais citados e responderam por cerca de 50% da classe de inseticidas, estando os carbamatos e piretróides em segundo lugar;
- os inseticidas organoclorados com referência de uso na agricultura foram Endrin, Endossulfan e Mirex;
- os fungicidas cúpricos, seguidos dos Etilenobisditiocarbamatos (EBDC's), foram mencionados em todas as regiões indiscriminadamente, compondo, em média, 21,2% do total de agrotóxicos citados.

Na região de Petrolina, caracterizada pela agricultura de irrigação, foi realizada uma parceria entre a Associação dos Exportadores do Vale do São Francisco (VALEXPOR) e o ITEP/LabTox, com o objetivo de monitorar os resíduos de agrotóxicos em mangas e uvas destinadas à exportação. O estudo mostrou que a grande fonte de contaminação nesses produtos estava relacionada com a utilização do fungicida do grupo dos EBDC's, comercialmente chamado de Mancozeb® e Zineb® (ARAÚJO & TELLES 2000). A manga, em particular, não tem LMR estabelecido para esses fungicidas

pelos grandes importadores Estados Unidos e União Européia. Por ser uma cultura de baixo valor comercial, não despertou o interesse dos grandes grupos de empresas do ramo, e assim, o Limite Máximo de Resíduos (LMR) estabelecido é o limite de quantificação do método. Esse valor de 0,01mg/kg é incompatível com o manejo agrícola que esta cultura exige.

No que se refere ao meio ambiente, existem dois trabalhos de investigação analítica sobre a contaminação ambiental por agrotóxicos no Estado de Pernambuco. O primeiro é referente a um diagnóstico da qualidade da água do rio Ipojuca com identificação dos trechos mais críticos de contaminação, na tentativa de rastrear as principais fontes poluidoras. O estudo abrangeu o período de seca e de chuva, com pontos de coleta distribuídos ao longo de toda bacia do rio Ipojuca, cujos 250km localizam-se nas mesorregiões do Agreste, da Mata e Metropolitana. Nesse estudo, o Lindano ou γ -HCH e, sobretudo, o Heptacloro estavam presentes em várias das amostras coletadas, com concentrações de 3,5 $\mu\text{g/L}$ para o Lindano e 24,2 $\mu\text{g/L}$ para o Heptacloro. O limite máximo estabelecido pela Resolução nº. 357 de 17/03/2005 CONAMA é de 0,02 $\mu\text{g/L}$ para o Lindano e 0,01 $\mu\text{g/L}$ para o Heptacloro (ARAÚJO et al., 1998).

O segundo estudo foi realizado na região estuarina de Itamaracá (Rio Botafogo, Canal de Santa Cruz e Rio Igarassu) em amostras de água, ostras e sedimentos. Os resultados mostraram que o Heptacloro, Heptacloro Epóxido e DDT e isômeros estavam presentes em 46% das amostras de sedimentos analisadas. Além dos citados, o Lindano, foi detectado, mas não quantificado em 25% das amostras. Entre os compartimentos ambientais estudados, os sedimentos apresentaram as maiores concentrações de agrotóxicos e não influenciaram as concentrações em ostra de mangue e água. Não foi observado uma variação sazonal das concentrações de agrotóxicos encontradas, o que indicou a contaminação por efeito residual. (TELLES, 2001).

No caso dos organofosforados, pode-se citar um estudo realizado em Pernambuco na cultura de acerola no município de Carpina. Nesse trabalho, foi realizada a verificação de resíduos de Parationa Metílica e Metidationa e observou-se que até 6 dias antes da colheita, esses compostos podem ser aplicados sem riscos para a população (LIMA, 2002).

2.2 Inseticidas organoclorados (OCs): estrutura química e efeitos tóxicos

Os organoclorados são hidrocarbonetos, na sua maioria sintéticos, que contém cloro associado a sua estrutura química. Possuem grande persistência no meio ambiente, são de difícil degradação, bioacumulativos, possuem ação como indutor enzimático e tem ação carcinogênica. Atuam no sistema nervoso, interferindo nas transmissões dos impulsos nervosos. O uso indiscriminado e sem controle está relacionado a inúmeros danos ambientais provocados pelos agrotóxicos e outras substâncias químicas que contém cloro em sua molécula. Por isso seu uso é bastante restrito no Brasil (LARINI, 1999).

Os compostos organoclorados de estruturas químicas diferentes apresentam mecanismos de ação tóxicas diferentes, principalmente no que se refere à interação com receptores, porém esses mecanismos não são totalmente conhecidos. O Lindano, Figura 1, por exemplo, produz sintomas de intoxicação que lembram os produzidos pelo DDT, como tremores, ataxia, convulsões e prostração intensa (LARINI, 1999).

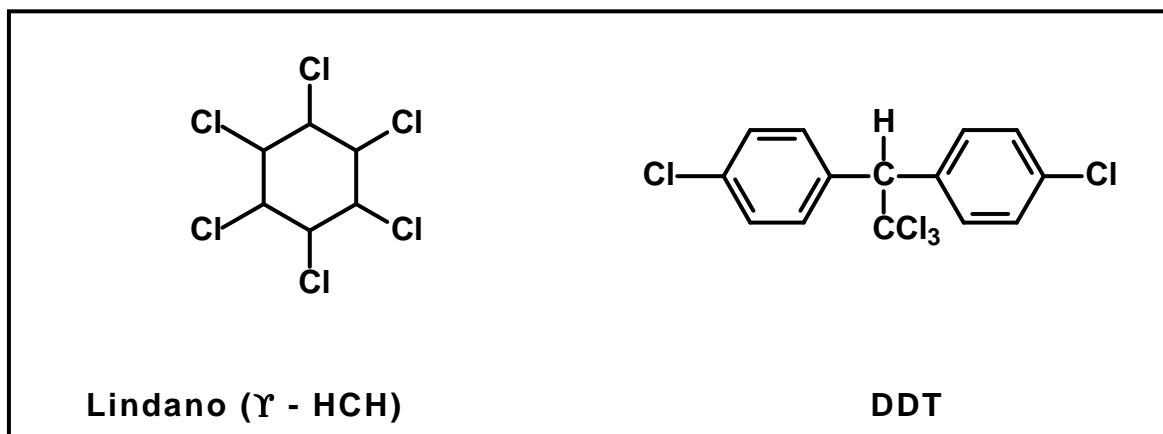


Figura 1 – Fórmula estrutural do Lindano (γ - HCH) e DDT

A diversidade química dos inseticidas organoclorados se reflete nos sinais e sintomas de intoxicação. A Tabela 2 resume os principais sintomas provenientes da exposição aguda e crônica do homem a esses contaminantes.

Tabela 2 – Sinais e sintomas de intoxicação por inseticidas organoclorados (LARINI, 1999).

Classe do Agrotóxico	Intoxicação Aguda	Intoxicação Crônica
Organoclorados	Náusea, vômito, convulsão, dor de cabeça, tremores.	Perda de peso, anorexia, cefaléia, perda da consciência.

Nem sempre os agrotóxicos ao serem degradados tornam-se substâncias menos tóxicas, podendo formar subprodutos altamente tóxicos. A persistência, em parte, é por causa da forma como o composto entra no ambiente e a sua tendência de partição no sistema. Todos os agrotóxicos tendem a se degradar, mas com reações

diferentes, e isso é positivo porque, dessa forma, atingem os LMR estabelecidos nos estudos de campo. A vantagem de um agrotóxico persistente está no controle de pragas, porém pode ser a persistência a principal desvantagem de produzir resíduos que se acumulam na cadeia trófica.

Para se ter um conhecimento maior da contaminação por organoclorados, deve-se levar em consideração a forma de utilização desses produtos, além da persistência no meio ambiente e a facilidade de dispersão (TELLES, 2001).

2.3 Inseticidas organofosforados (OFs): estrutura química e efeitos tóxicos

Os organofosforados são compostos químicos instáveis, derivados do ácido fosfórico produzidos em 1945. Alguns inseticidas organofosforados foram primeiramente desenvolvidos como armas químicas durante a Segunda Guerra Mundial. São compostos menos persistentes que os organoclorados, agem inibindo a enzima colinesterase, com conseqüente acúmulo de acetilcolina nas fibras nervosas, o que impede a transmissão de novos impulsos gerando uma série de efeitos no organismo, tais como convulsões, paradas respiratórias e coma (SILVA & FAY, 2004).

Esses produtos causam severos problemas ambientais, como a contaminação dos cursos d'água, e seus resíduos e subprodutos, em concentrações elevadas, podem ocasionar a morte de animais e contaminar o alimento humano (SILVA et al., 1999). A Parationa Metálica, Figura 2, por exemplo, possui seu uso restrito em função de sua elevada toxicidade.

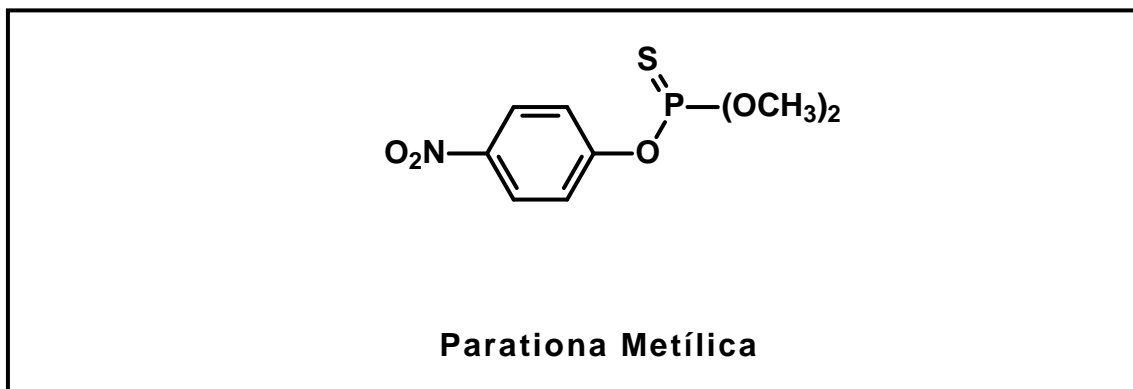


Figura 2 - Fórmula estrutural da Parationa Metílica.

A diversidade química dos inseticidas organofosforados se reflete nos sinais e sintomas de intoxicação. A Tabela 3 resume os principais sintomas provenientes da exposição aguda e crônica do homem a esses contaminantes.

Tabela 3 – Sinais e sintomas de intoxicação por inseticidas organofosforados (LARINI, 1999).

Classe do Agrotóxico	Intoxicação Aguda	Intoxicação Crônica
Organofosforados	Perda de apetite, náusea, vômito, convulsão, dores abdominais, diarreias, transpiração excessiva.	Distúrbios no sono, dificuldade de concentração, comprometimento da memória.

2.4 A técnica cromatográfica e a importância dos padrões analíticos

A química analítica, com relação a agrotóxicos teve seu avanço a partir da década de 60, devido a consciência da humanidade em relação aos seus efeitos nocivos ao homem e ao ambiente. Surgem, assim, as Organizações Não Governamentais (ONGs) ambientalistas de repercussão mundial e a opinião pública começa a manifestar-se pela preservação ambiental. Com isso, alguns fatos importantes contribuíram para uma discussão do desenvolvimento sustentável, como a conferência de Estocolmo, realizada em 1972, e a RIO 92, realizado no Rio de Janeiro. Essas conferências deram origem a Agenda 21, ao Protocolo de Kyoto e a vários outros eventos de repercussão internacional.

Essa consciência ambiental cresceu atrelada ao desenvolvimento da instrumentação analítica para os compostos orgânicos. Também, os métodos de pré-concentração de amostras foram refinados e aperfeiçoados em larga escala. Detectores específicos de cromatografia em fase gasosa, tais como o detector de captura de elétrons para organoclorados e o fotométrico de chama ou de nitrogênio e fósforo para os organofosforados, permitem a determinação de grupos orgânicos funcionais de forma seletiva e com a vantagem de serem efetivos nas concentrações em torno de partes por bilhão.

No que se refere a confirmação dos compostos encontrados pelos detectores específicos temos a contribuição da cromatografia gasosa com o detector seletivo de massas, CG-DMS e, em particular, a associação da técnica de espectrometria de massas a cromatografia líquida, LC-MS/MS. Essa associação de técnicas, no momento, se apresenta como a mais versátil e confiável para a identificação de resíduos. A técnica MS/MS baseia-se na detecção dos compostos através da corrente de íons de uma relação entre massa e carga

estabelecida (*daughter ion*), a qual é resultante de uma fragmentação inequívoca induzida por colisão de uma relação massa-carga previamente selecionada (*parent ion*). A cromatografia, nesses casos, passa a ser utilizada apenas como técnica de separação. A identificação e a quantificação não são mais obtidas a partir da comparação de picos cromatográficos, mas sim através da comparação da razão de fragmentação de íons pré-selecionados.

Essas técnicas requerem a utilização de padrões analíticos puros, que, devido a introdução do conceito de metrologia química, devem apresentar propriedades bem estabelecidas e métodos de análises específicos para identificação. Pureza conhecida e cálculo de incerteza também fazem parte das exigências na qualificação do padrão analítico puro, especialmente se forem utilizados em análises de resíduos da ordem de $\mu\text{g}/\text{kg}$. Assim, a importância do padrão analítico puro para o laboratório é evidente e deve estar acompanhado de procedimentos de rastreabilidade, armazenamento e preparação de suas soluções. Esse conjunto de procedimentos é essencial para demonstrar a confiabilidade metrológica do programa de garantia da qualidade analítica do laboratório.

Do ponto de vista da análise de orgânicos de baixa concentração está evidente as diferenças encontradas nesses métodos quando comparados com a metodologia analítica convencional. Os limites de detecção, cada vez mais baixos, têm estimulado os químicos analíticos a desenvolverem técnicas de extração, identificação e quantificação cada vez mais refinadas através de programas computacionais especialmente criados para esta finalidade.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Contribuir para a expansão do uso de padrões analíticos de agrotóxicos em laboratório, de forma a reduzir os custos e a contaminação ambiental.

3.2 Objetivos Específicos

- Verificar a estabilidade química de alguns padrões analíticos de agrotóxicos do grupo dos organoclorados e organofosforados.



4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Seleção dos agrotóxicos

Os agrotóxicos selecionados para este estudo foram aqueles considerados persistentes, de difícil degradação e de alto impacto no meio ambiente. As classes escolhidas foram os organoclorados Aldrin, Alfa-endossulfan, Alfa-HCH, Beta-HCH, Captana, Clorotalonil, Endrin, Fenarimol, HCB, Heptacloro, Mirex, OP-DDT, PP-DDD, PP-DDE, acrescidos de outros compostos que também contêm átomos de cloro na sua molécula como Bioaletrina, Ciflutrinias 1, 2, 3 e 4, Deltametrina, Difenoconazol, Iprodiona, Tetradifona, Trifluralina, Vinclozolina e os organofosforados Clorpirifós, Diazinona, Fenamifós, Fentiona, Metidationa e Parationa Metílica. O estudo foi realizado no LabTox/ITEP e obedeceu a critérios internacionais de qualidade estabelecidos pelo *Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis* - SANCO/10232/2006.

4.2 Pesagem e preparação de soluções estoque e diluída dos agrotóxicos

22 padrões analíticos puros vencidos e 22 padrões analíticos puros válidos da classe dos organoclorados e 6 padrões analíticos puros vencidos e 6 padrões analíticos puros válidos da classe dos organofosforados descritos em 4.1 foram utilizados neste estudo.

Os padrões analíticos puros de Aldrin, Alfa-Endossulfan, Alfa-HCH, Beta-HCH, Captana, Ciflutrinias 1, 2, 3 e 4, Clorotalonil, Clorpirifós, Deltametrina, Difenoconazol, Endrin, Fenamifós, Fenarimol, HCB, Heptacloro, Iprodiona, Metidationa, Mirex, op-DDT, Parationa Metílica, pp-DDD, pp-DDE, Tetradifona, Trifluralina e Vinclozolina vencidos e válidos estavam na fase sólida e os padrões analíticos

puros de Bioaletrina, Diazinona e Fentiona vencidos e válidos estavam na fase líquida.

Em um béquer de 5mL, pesou-se aproximadamente 10mg do padrão puro vencido em balança analítica de 5 casas decimais (*Mettler Toledo Modelo AG285®*) e dissolveu-se em aproximadamente 0,5mL de acetona grau pesticida. O mesmo procedimento foi utilizado para o padrão analítico válido.

Transferiu-se, qualitativamente, a solução para balão volumétrico calibrado de 10mL e completou-se o volume com tolueno grau pesticida, obedecendo a critérios internacionais de qualidade estabelecidos pelo *Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis - SANCO/10232/2006*.

As soluções, de aproximadamente 1mg/mL, foram transferidas para tubo Schott, identificadas, protegidas da luz com papel alumínio e armazenadas em freezer a -18°C. A Figura 3 mostra o tipo de vidraria especial utilizada para armazenamento das soluções preparadas para este estudo.



Figura 3 – Vidraria especial utilizada para armazenamento das soluções de padrões analíticos puros.

Fonte: Autora

O grupo de padrões analíticos com data vencida foi denominado grupo A e o grupo dos padrões analíticos dentro da validade foi denominado grupo B.

A partir das soluções do grupo A e das soluções do grupo B, foram preparadas soluções diluídas de concentração em torno de 10µg/mL com mistura de isooctano:tolueno (9:1) grau pesticida. Toda a vidraria utilizada para preparação das soluções diluídas foi calibrada pela Rede Brasileira de Calibração–RBC e seguindo o mesmo método de armazenamento das respectivas soluções estoque (SANCO/10232, 2006).

Um terceiro grupo de soluções (soluções de trabalho) foi preparado seguindo o procedimento das soluções diluídas até uma concentração de 100ng/mL e injetadas isoladamente em cromatógrafo à gás com detectores de captura de elétrons (DCE) ou fotométrico de chama (DFC), de acordo com a classe do padrão analítico (SANCO/10232, 2006).

4.3 Condições cromatográficas

4.3.1 Cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons, CG/DCE

A cromatografia a gás com detector de captura de elétrons (DCE) é a mais adequada para análise de organoclorados devido a seletividade obtida entre os compostos organohalogenados e, o mais importante, que é a alta sensibilidade na faixa de picogramas (10^{-12} g).

O DCE possui fonte radioativa de níquel 63 que emite elétrons de alta energia, sujeitos a repetidas colisões com as moléculas do gás de arraste, produzindo elétrons secundários e gerando uma corrente de fundo. Esta corrente de fundo é amplificada e gera a linha de base no cromatograma. À medida que moléculas de compostos halogenados,

com alta afinidade por elétrons, entram em contato com essa corrente de fundo, os elétrons secundários são capturados provocando uma redução na corrente de fundo que é proporcional a quantidade do composto analisado. Esta é a base do funcionamento do DCE como ferramenta analítica, mas a resposta final, corrente de fundo *versus* concentração, não é linear para todos os valores. A faixa dinâmica de linearidade é estreita e depende de uma série de fatores como temperatura do detector, fluxo de gás de arraste, e claro, do composto em estudo.

O equipamento utilizado na análise dos compostos organoclorados foi um cromatógrafo a gás com detector de captura de elétrons da Agilent Technologies (modelo HP-6890), com amostrador automático série 7683, um insersor split/splitless. A separação foi obtida em duas colunas capilares e dois detectores de captura de elétrons (ARAÚJO et al., 2001; ZONEN, 1996). As colunas capilares instaladas foram:

- HP 1701 com 14% cianopropil metil fenil de fase, 30m de comprimento, 0,32mm de diâmetro interno e 0,25 μ m de espessura de fase. O fluxo de gás de arraste, hélio ultra puro, foi de 1,3mL/min e pressão de 7,04psi.
- HP 5MS com 5% metil fenil siloxane, 30m de comprimento, 0,32mm de diâmetro interno e 0,25 μ m de espessura de fase. O fluxo de gás de arraste, hélio ultra puro, foi de 1,3mL/min e a pressão de 7,04psi. A programação de temperatura, ou rampa de aquecimento, e temperaturas do detector e injetor foram as seguintes:
- Programação de temperatura para análise de organoclorados:

Temperatura do Injetor: 250 °C

Temperatura do Detector: 320 °C

Programação de aquecimento do forno:

- 60 °C, 1,34 min;
- 60 °C, → 100 °C , 25 °C/min (0min);
- 100 °C → 250 °C, 10 °C/min (5min);
- 250 °C → 255 °C, 5 °C/min (32min).
- Volume injetado: 2µL
- Tempo total de análise: 60 minutos
- Fluxo total do gás auxiliar, nitrogênio: 60mL/min

4.3.2 Cromatografia gasosa com detector fotométrico de chama, CG/DFC

A cromatografia a gás com detectores fotométrico de chama (DFC) e nitrogênio-fósforo (DNF) é a mais indicada para análise de organofosforados, por determinar grupos orgânicos que contenham N ou P de forma seletiva e em concentrações baixas.

O equipamento utilizado na análise dos compostos organofosforados foi um cromatógrafo a gás com detectores fotométrico de chama (DFC) e nitrogênio-fósforo (DNF) da Agilent Technologies (modelo HP-6890), com amostrador automático série 7683, um insersor split/splitless. A separação foi obtida em duas colunas capilares e dois detectores (DFC/DNF) (ARAÚJO et al., 2001; ZOONEN, 1996). As colunas capilares instaladas foram:

- HP 1701 com 14% cianopropil metil fenil de fase, 30m de comprimento, 0,32mm de diâmetro interno e 0,25µm de espessura de fase. O fluxo de gás de arraste, hélio ultra puro, foi de 1,2mL/min e pressão de 6,92psi.
- HP 5MS com 5% metil fenil siloxane, 30m de comprimento, 0,32mm de diâmetro interno e 0,25µm de espessura de fase O fluxo de gás de arraste, hélio ultra puro, foi de 1,2mL/min e pressão de 6,92psi. A

programação de temperatura, ou rampa de aquecimento, e temperaturas do detector e injetor foram as seguintes:

- Programação de temperatura para análise de organofosforados:

Temperatura do Injetor: 220°C

Temperatura dos Detectores: 325 °C (DNF); 50°C (DFC)

Programação de aquecimento do forno:

- 80°C, 1,24 min;
- 80 °C, → 230 °C , 25 °C/min (0min);
- 230 °C → 250 °C, 5 °C/min (5min);
- 250 °C → 260 °C, 5 °C/min (15min).
- Volume injetado: 2µL
- Tempo total de análise: 30 minutos
- Fluxo total do gás auxiliar, nitrogênio: 60mL/min

4.4 Identificação e quantificação dos padrões analíticos puros

A identificação cromatográfica foi realizada através do registro do tempo de retenção do respectivo padrão.

Cada substância química apresenta tempo de retenção específico, de acordo com a afinidade com a fase móvel ou estacionária. No entanto, substâncias diferentes podem apresentar tempos de retenção semelhantes. Neste estudo, no entanto, esse problema não ocorreu por se tratar de injeção de um único composto com identidade conhecida.

Na etapa da quantificação, os padrões analíticos foram injetados 6 vezes cada um, e após a integração da área dos picos, uma injeção aberrante foi descartada.

A partir das 5 injeções selecionadas, calculou-se a média das áreas e estabeleceu-se uma variação aceitável de até 10% entre a área do pico do padrão vencido grupo A e a área do pico do padrão válido grupo B (SANCO/10232, 2006). A Figura 4 exemplifica a equação de quantificação que compara os compostos do grupo A e do grupo B e a Tabela 4 mostra o modelo do cálculo do controle de qualidade do padrão analítico puro.


$$\text{Variação \%} = 100 - [(X_1/X_2) \times 100]$$

X_1 = média da resposta cromatográfica da solução vencida (grupo A), dividida pela sua concentração.

X_2 = média da resposta cromatográfica da solução válida (grupo B), dividida pela sua concentração.

Figura 4 – Cálculo comparativo entre os compostos do grupo A e do grupo B.

Tabela 4 - Modelo do controle de qualidade do padrão analítico puro.

 CONTROLE DE QUALIDADE DE PADRÃO ANALÍTICO PURO												
Nome / Identidade do Padrão Analítico Puro:								Clorpirifós				Balança Analítica: 001
Padrão Analítico Puro injetado em:								Isooctano:Tolueno (9:1)				
Técnico Responsável:								Autora				
Solução	Concentração (µg/mL)	Coluna	Resposta (Área)						Diferença % 100-(f/g x 100)	Aval. OK ou Repetir	Data	
			a	b	c	d	e	Média/ Conc.				
Grupo B	0,0994	HP 1701	231	243	220	270	253	2453	2.67% (HP 1701)	OK	22.06.06	
		HP 5MS	3.37	3.45	3.43	3.02	3.25	33.24				
Grupo A	0,1048	HP 1701	238	262	245	267	240	2389	3,81% (HP 5MS)	OK	22.06.06	
		HP 5MS	3.52	3.34	3.28	3.20	3.44	32.02				

5. RESULTADOS

5.1 Variações percentuais entre os padrões analíticos puros – Grupo A e B

A Tabela 5 mostra a variação percentual da resposta cromatográfica do grupo A (padrões analíticos puros vencidos) em relação ao grupo B (padrões analíticos puros válidos) dos agrotóxicos da classe dos organoclorados.

Tabela 5 – Variação percentual dos padrões analíticos puros da classe dos organoclorados.

Padrão analítico puro	Data de validade (mês/ano)	Período fora da validade (meses)	Variação percentual (%)
Aldrin	Abr/2005	10	0,4
Alfa-endossulfan	Mar/2003	35	5,0
Alfa-HCH	Out/2003	28	8,8
Beta – HCH	Jun/2004	23	0,8
Bioaletrina	Jun/2004	23	6,1
Captana	Mar/2005	12	8,0
Ciflutrinas 1, 2, 3 e 4	Jul/2004	20	6,4
Clorotalonil	Mar/2004	23	5,7
Deltametrina	Nov/2004	17	3,3
Difenoconazol	Nov/2005	9	3,7
Endrin	Abr/2005	11	3,7
Fenarimol	Out/2003	29	7,4
HCB	Abr/2004	23	1,1
Heptacloro	Dez/2004	14	0,2
Iprodiona	Dez/2004	14	2,5
Mirex	Mai/2004	21	2,9
OP-DDT	Ago/2004	19	5,5
PP-DDD	Abr/2005	13	2,1
PP-DDE	Out/2003	28	10,0
Tetradifona	Mar/2004	24	0,7
Trifluralina	Jan/2005	15	8,1
Vinclozolina	Set/2004	17	4,0

A Tabela 6 mostra a variação percentual da resposta cromatográfica do grupo A (padrões analíticos puros vencidos) em relação ao grupo B (padrões analíticos puros válidos) dos agrotóxicos da classe dos organofosforados.

Tabela 6 – Variação percentual dos padrões analíticos puros da classe dos organofosforados.

Padrão analítico puro	Data de validade (mês/ano)	Período fora de validade (meses)	Variação percentual (%)
Clorpirifós	Abr/2003	38	2,6
Diazinona	Out/2005	8	0,4
Fenamifós	Fev/2005	16	7,5
Fentiona	Dez/2005	6	9,6
Metidationa	Nov/2002	42	8,3
Parationa Metílica	Jan/2006	5	3,2

5.2 Cromatogramas de alguns dos padrões analíticos puros – Grupo A e B

As Figuras 5 e 6 mostram dois exemplos do perfil cromatográfico de representantes dos padrões analíticos puros vencidos e válidos, Heptacloro e Mirex da classe dos organoclorados.

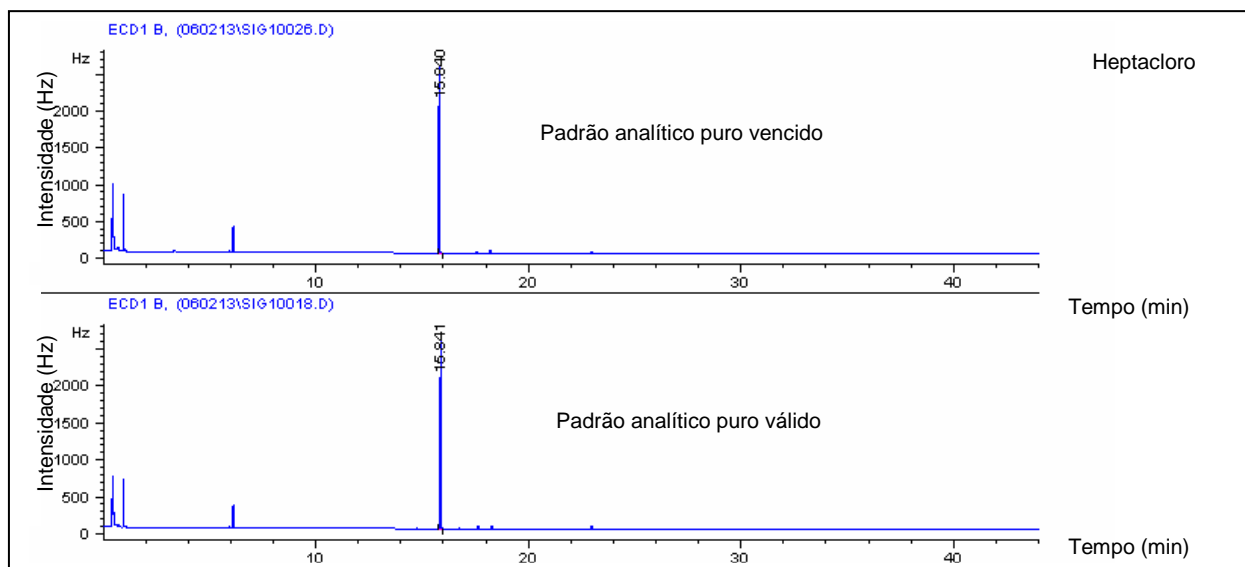


Figura 5 – Perfil cromatográfico do padrão analítico puro de Heptachloro vencido e válido.

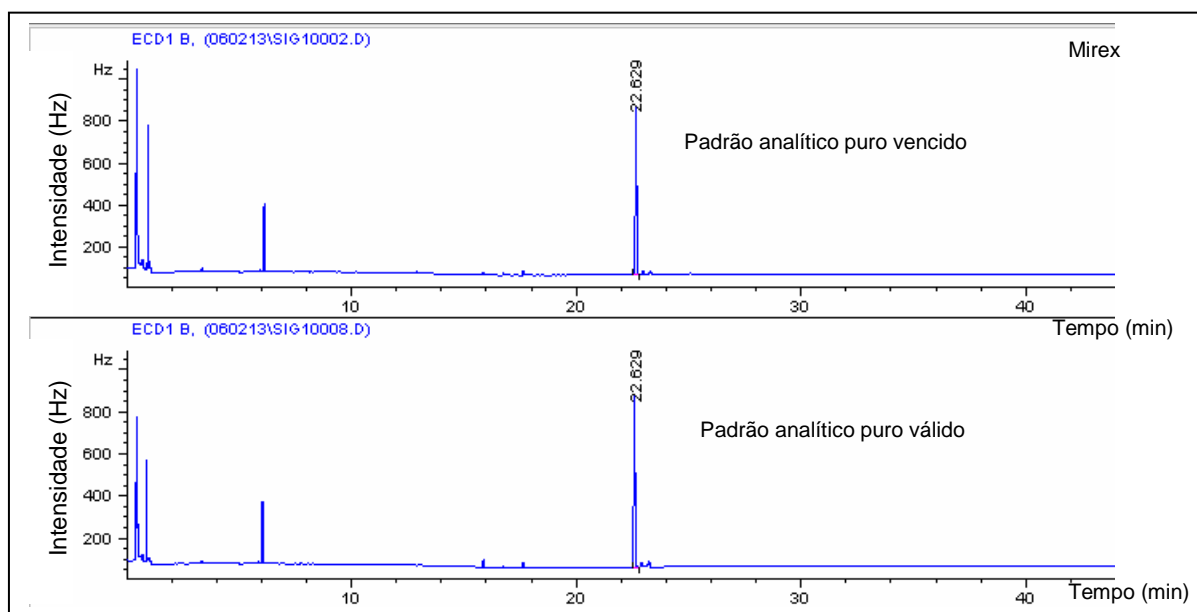


Figura 6 – Perfil cromatográfico do padrão analítico puro de Mirex vencido e válido.

As Figuras 7 e 8 mostram dois exemplos do perfil cromatográfico de representantes dos padrões analíticos puros vencidos e válidos, Metidationa e Clorpirifós da classe dos organofosforados.

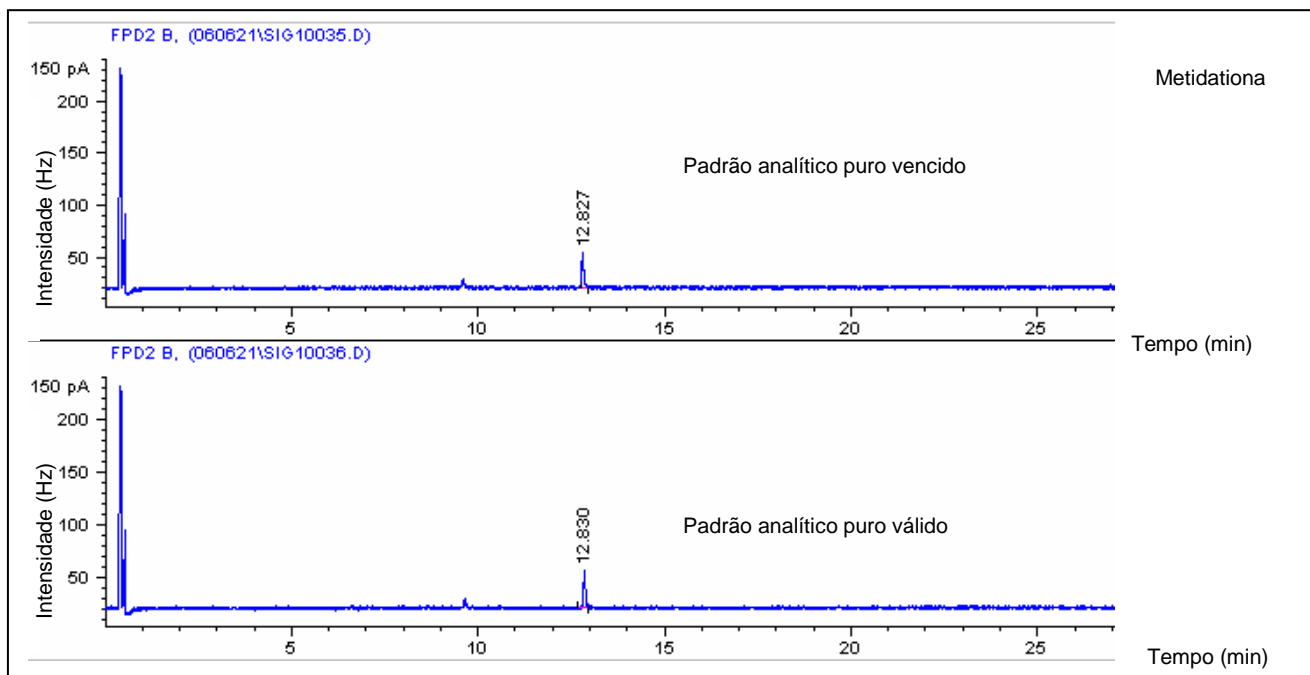


Figura 7 – Perfil cromatográfico do padrão analítico puro de Metidationa vencido e válido.

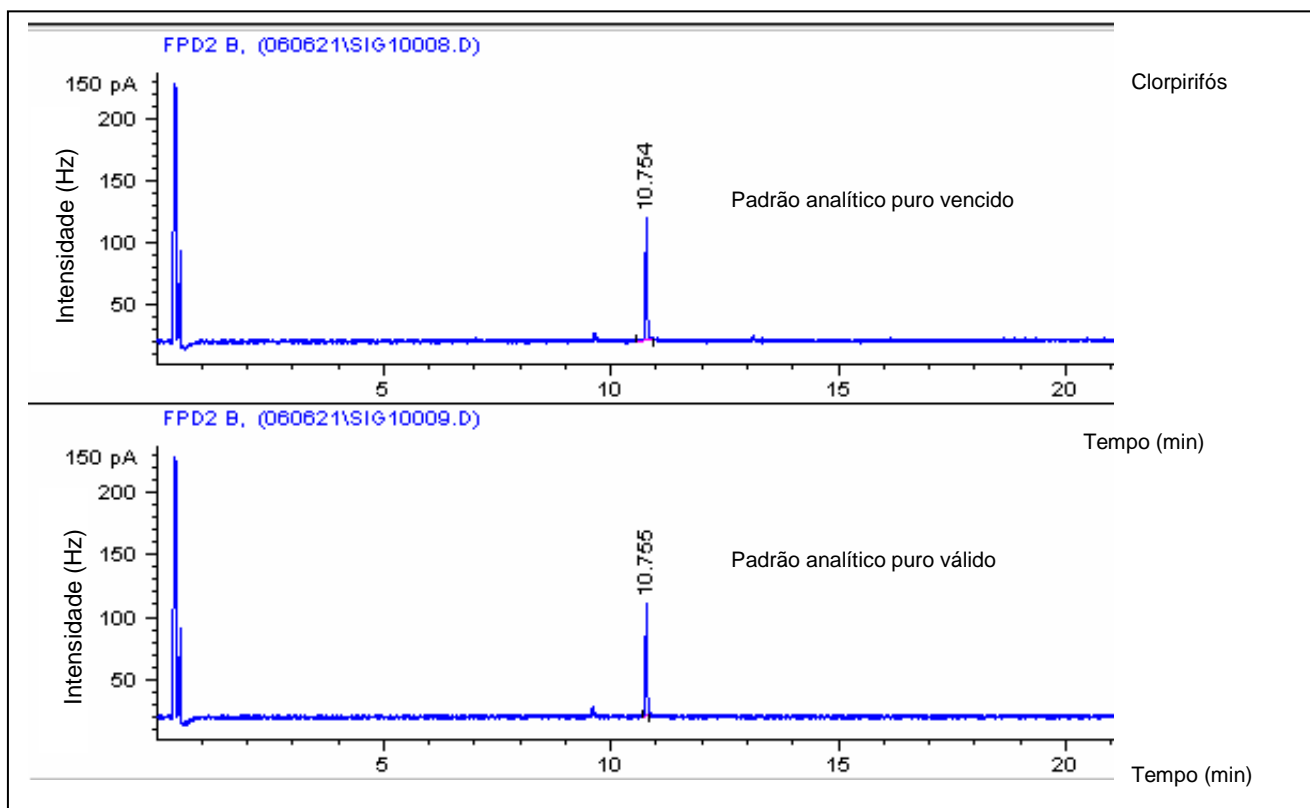


Figura 8 – Perfil cromatográfico do padrão analítico puro de Clorpirifós vencido e válido.

A Figura 9 mostra o exemplo do perfil cromatográfico das 5 injeções sobrepostas do padrão analítico puro válido e vencido de Heptacloro.

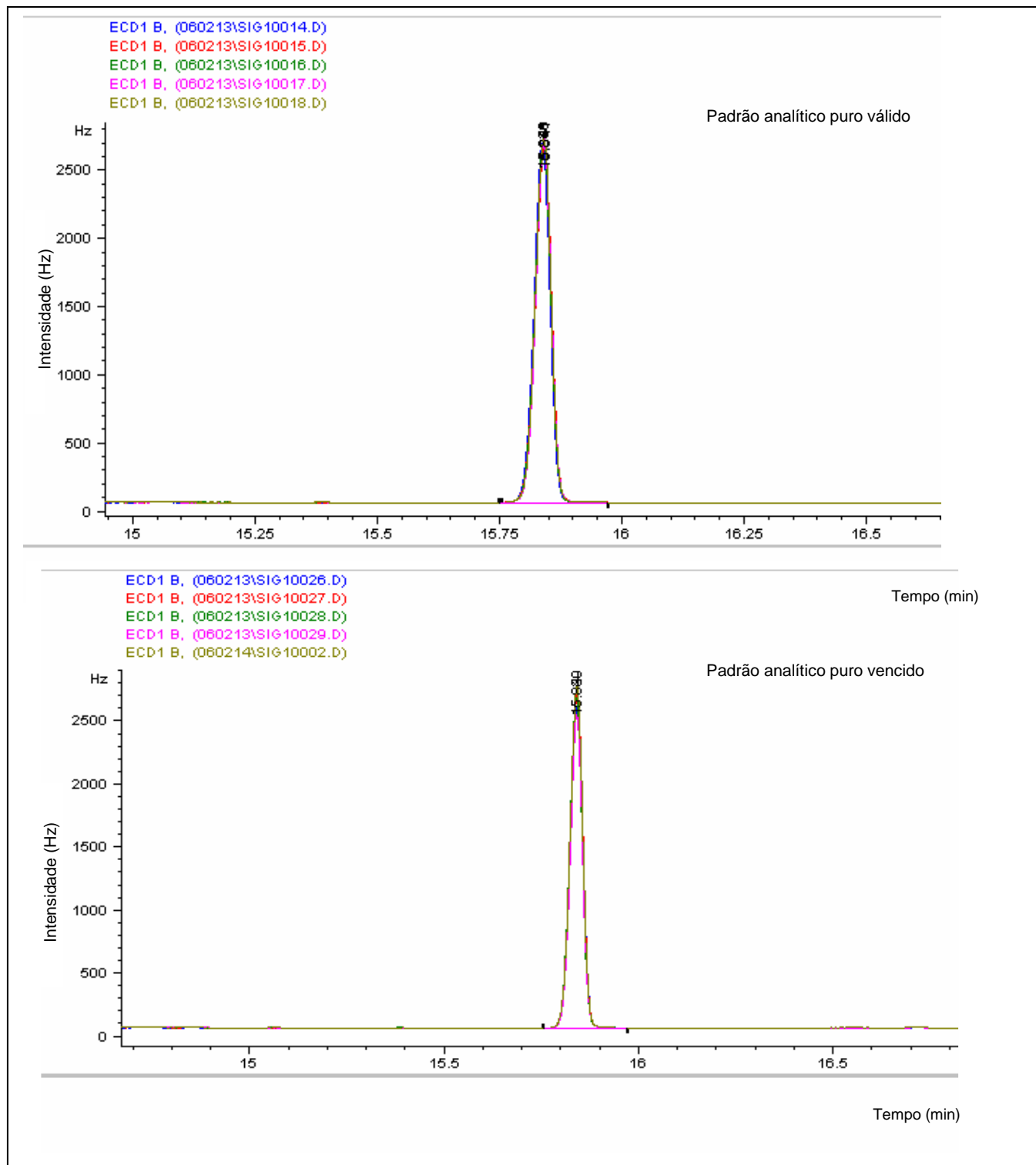


Figura 9 – Perfil cromatográfico das 5 injeções sobrepostas do padrão analítico puro de Heptacloro válido e vencido.

A Figura 10 mostra o exemplo do perfil cromatográfico das 5 injeções sobrepostas do padrão analítico puro válido e vencido de Mirex.

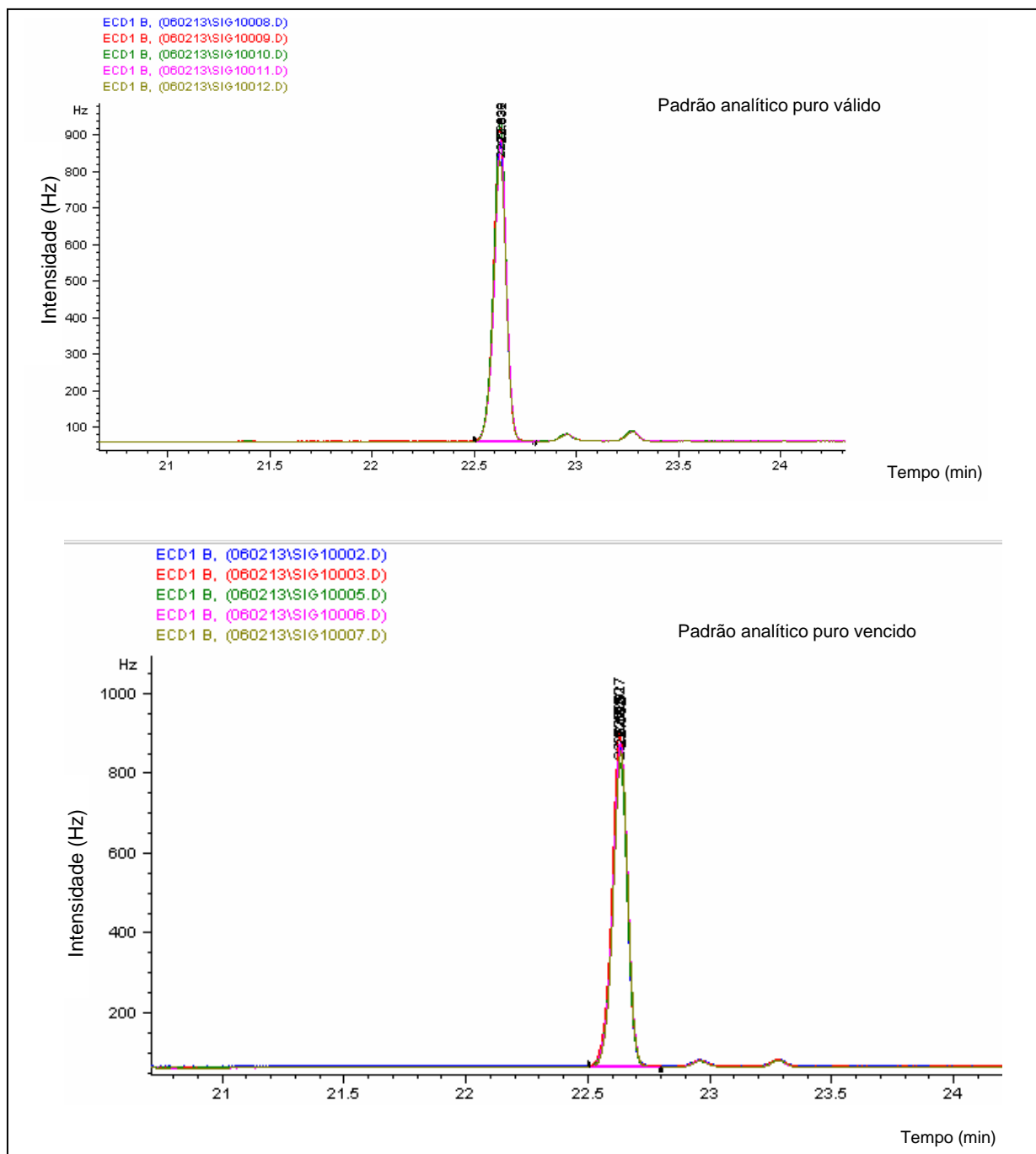


Figura 10 – Perfil cromatográfico das 5 injeções sobrepostas do padrão analítico puro de Mirex válido e vencido.

As Tabelas 7 e 8 mostram as respectivas áreas integradas para cada injeção dos padrões analíticos puros válidos e vencidos de Heptacloro e Mirex.

Tabela 7 – Área integrada para cada injeção do padrão analítico puro válido e vencido de Heptacloro.

Injeção	Área padrão analítico		Variação (%)
	Válido	Vencido	
1	6076	6025	0,8
2	6182	6150	0,5
3	6100	5997	1,7
4	6039	6286	4,1
5	6124	6480	5,8
Média	6104	6187	1,3

Tabela 8 – Área integrada para cada injeção do padrão analítico puro válido e vencido de Mirex.

Injeção	Área padrão analítico		Variação (%)
	Válido	Vencido	
1	3508	3404	2,9
2	3681	3627	1,4
3	3507	3284	6,3
4	3371	3529	4,7
5	3770	3386	10,2
Média	3567	3446	3,4

A Figura 11 mostra o exemplo do perfil cromatográfico das 5 injeções sobrepostas do padrão analítico puro válido e vencido de Metidationa.

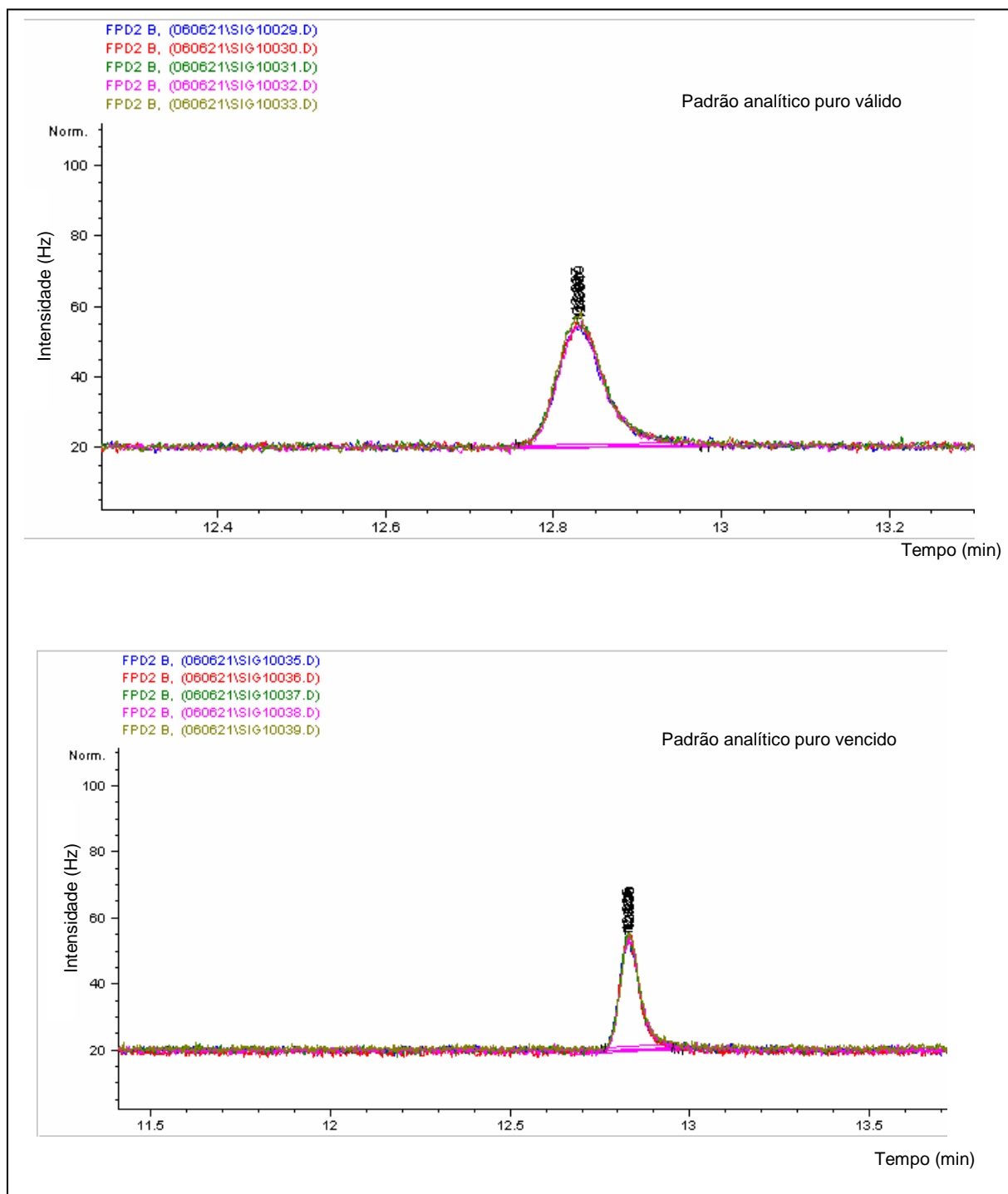


Figura 11 – Perfil cromatográfico das 5 injeções sobrepostas do padrão analítico puro de Metidationa válido e vencido.

A Figura 12 mostra o exemplo do perfil cromatográfico das 5 injeções sobrepostas do padrão analítico puro válido e vencido de Clorpirifós.

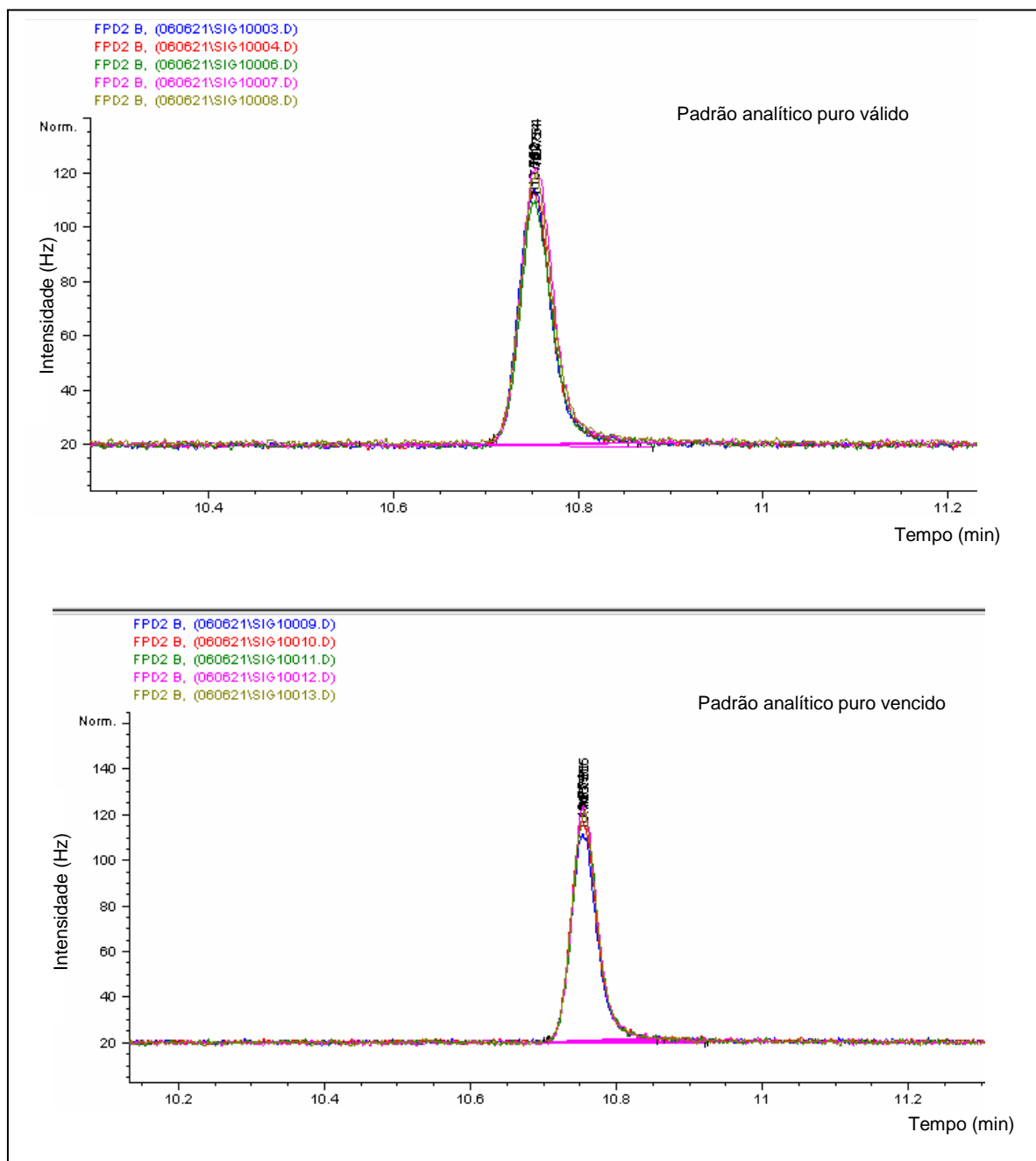


Figura 12 – Perfil cromatográfico das 5 injeções sobrepostas do padrão analítico puro de Clorpirifós válido e vencido.

As Tabelas 9 e 10 mostram as respectivas áreas integradas para cada injeção dos padrões analíticos puros válidos e vencidos de Metidationa e Clorpirifós.

Tabela 9 – Área integrada para cada injeção do padrão analítico puro válido e vencido de Metidationa.

Injeção	Área padrão analítico		Variação (%)
	Válido	Vencido	
1	138	143	3,6
2	146	151	3,4
3	141	146	3,5
4	147	147	0,0
5	145	137	5,5
Média	143	145	1,4

Tabela 10 – Área integrada para cada injeção do padrão analítico puro válido e vencido de Clorpirifós.

Injeção	Área padrão analítico		Variação (%)
	Válido	Vencido	
1	231	238	3,0
2	243	262	7,8
3	220	245	11,3
4	270	267	1,1
5	253	240	5,1
Média	243	250	2,9

6. DISCUSSÃO

A estabilidade dos padrões analíticos puros e de suas soluções estoque é um fator importante e pode levar a erros sistemáticos ou até prejudicar a autenticidade dos resultados das análises. Portanto, o controle na preparação, armazenagem e escolha do solvente é fundamental para a preservação da estabilidade dos padrões analíticos (VIETH et al., 2004).

Os padrões de agrotóxicos da classe dos organofosforados, dos organoclorados, e de outros compostos também com cloro em sua molécula foram estudados com o objetivo de avaliar a possibilidade de expansão das datas de validade determinadas pelo fabricante e utilizadas pelos órgãos acreditadores.

Para se obter uma maior abrangência neste estudo, classes diferentes de agrotóxicos foram selecionadas através de consultas a literatura e a disponibilidade das respectivas soluções vencidas armazenadas no LabTox.

Neste estudo, a variação percentual dos padrões analíticos puros da classe dos organoclorados e organofosforados foi calculada e apresentada nas Tabelas 5 e 6. Apesar dos organoclorados serem reconhecidamente mais persistentes no meio ambiente, as outras moléculas selecionadas, moléculas cloradas e os organofosforados, também apresentaram variação percentual dentro dos limites definidos para este estudo que foi de até 10%. Dessa forma, 68% dos padrões analisados estão dentro dos limites de 5% para os organoclorados e outros, e para os organofosforados a faixa de compostos fora do limite de 5% chegou a 50% mas, deve-se considerar que apenas 6 compostos fizeram parte desta classe de agrotóxicos e dentre eles, a Metidationa foi o que teve o maior período fora da validade.

As Figuras 5 e 6 mostram o exemplo do perfil cromatográfico do padrão válido de Heptacoro e Mirex comparado com os mesmos compostos com datas de validades vencidas. Como pode ser observado, esses perfis são semelhantes tanto para o Heptacloro como para o Mirex. Não foi observada redução na intensidade do pico, nem formação de produtos de degradação.

Com relação a classe dos organofosforados, as Figuras 7 e 8 também mostram perfis cromatográficos semelhantes para os padrões puros válidos e vencidos de Metidationa e Clorpirifós.

As Figuras 9, 10, 11, 12 mostram o perfil cromatográfico de 5 injeções sobrepostas dos padrões analíticos de Heptacloro, Mirex, Metidationa e Clorpirifós válidos e vencidos. As Tabelas 7, 8, 9 e 10 confirmam a reprodução dos perfis cromatográficos através da integração das áreas de cada injeção.

Esse fato está de acordo com o que foi reportado por De KOK & De KROON (1996), que pela primeira vez, apresentaram um estudo sobre a possibilidade de se implantar uma validação inter e intralaboratorial de padrões analíticos sólidos de agrotóxicos a partir da comparação entre soluções estoque válidas e vencidas. O procedimento utilizado naquela época foi o mesmo utilizado para este estudo e já naquele momento foram estabelecidas regras de aceitação desses padrões pelos órgãos de acreditação europeus.

BESAMUSCA et al. (1996) e AVRAMIDES (2004, 2005) também realizaram testes interlaboratoriais entre soluções de agrotóxicos novos e soluções com data expirada, admitindo uma variação de 5% entre elas. Para variações acima desse valor, as soluções eram preparadas a partir do pó. Também foi observado a temperatura e o tempo de armazenamento. Os dados mostraram que era possível prolongar o uso dos padrões analíticos expirados, e que apenas os agrotóxicos de alta polaridade apresentaram adsorção na vidraria de armazenamento.

A Tabela 11 mostra uma comparação dos percentuais de variação obtidos para alguns compostos utilizados neste estudo com os encontrados na literatura. Como pode ser observado os compostos pp-DDE, Fenamifós e Metidationa estão com variações percentuais bem acima dos reportados na literatura.

No entanto, na Tabela 12, a comparação entre os padrões é feita pelo período de validade das soluções. Nesse caso, os compostos pp-DDE, Fenamifós e Metidationa estão no limite do período considerado aceitável pelos estudos disponíveis na literatura o que justifica as altas variações percentuais obtidas neste estudo.

A discussão sobre estabilidade de padrões analíticos em pó em laboratórios de análises de resíduos de agrotóxicos europeus e americanos, está esgotada e é particularmente importante para o caso daqueles laboratórios que são acreditados.

No Brasil, as constantes auditorias exigem, como forma de manter a acreditação, atualização dos padrões baseado na data do fornecedor e por isso a estabilidade dos padrões analíticos, as soluções estoques, a calibração das soluções e o extrato das amostras são continuamente verificados e controlados. Normalmente, os fornecedores dessas substâncias vendem padrões com período próximo a data de expiração (armazenando os mesmos em temperatura ambiente ou a 4°C) forçando os laboratórios a adquirir novos padrões e a preparar novas soluções estoques.

Enquanto que a discussão aqui no Brasil está na expansão da data de validade do padrão analítico em pó, estudos desenvolvidos por VIETH et al. (2006), investigam a estabilidade dos padrões já em solução. A preocupação, nesse caso, está no número cada vez maior de padrões com características polares a serem analisados por técnicas como LC-MS/MS onde o tolueno não é adequado para diluição

e a opção seria, então, o metanol ou acetonitrila. Assim, as condições de armazenamento foram padronizadas para -18°C em freezer ou 4°C em geladeira e o estudo concluiu que das 60 soluções estoque estudadas em metanol, solvente utilizado na técnica do LC-MS/MS, 50% foram consideradas estáveis para um período de 12 a 20 meses.

Tabela 11—Comparação entre a variação percentual dos padrões analíticos puros encontrados neste estudo e na literatura.

Compostos	Variação percentual (%)		
	De KoK col., 1996 (Holanda)	Avramides col., 2005 (Grécia)	Estudo atual, 2007 (Brasil)
Aldrin	-	1,0	0,4
Alfa-endossulfan	2,1	-	5,0
Captana	5,5	-	8,0
Clorotalonil	-	0,3	5,7
Clorpirifós	1,4	2,3	2,6
Deltametrina	2,9	-	3,3
Diazinona	0,2	0,1	0,4
Fenamifós	3,2	-	7,5
Fenarimol	-	0,0	7,4
HCB	-	2,6	1,1
Heptacloro	-	0,9	0,2
Iprodiona	6,7	-	2,5
Metidationa	-	1,2	8,3
OP-DDT	-	3,0	5,5
Parationa metílica	-	3,4	3,2
PP-DDD	-	0,2	2,1
PP-DDE	-	0,5	10,0
Tetradifona	-	0,3	0,7
Vinclozolina	1,8	-	4,0

Tabela 12–Comparação entre os períodos de validade das soluções dos padrões analíticos encontrados neste estudo e na literatura.

Compostos	Validade (meses)			
	De KoK col., 1996 (Holanda)	Felix col., 1999 (Califórnia)	Avramides col., 2005 (Grécia)	Estudo atual, 2007 (Brasil)
Aldrin	-	21	48	10
Alfa-endossulfan	36	27	-	35
Captana	36	44	-	12
Ciflutrinas 1, 2, 3 e 4	-	19	-	20
Clorpirifós	36	27	52	38
Clorotalonil	-	40	54	23
Deltametrina	36	27	-	17
Diazinona	36	27	50	8
Endrin	-	38	-	11
Fenamifós	36	17	-	16
Fenarimol	-	28	37	29
Fentiona	-	12	-	6
HCB	-	4	65	23
Heptacloro	-	17	36	14
Iprodiona	36	16	-	14
OP-DDT	-	22	38	19
Metidationa	-	22	49	42
PP-DDD	-	20	36	13
PP-DDE	-	22	36	28
Parationa Metílica	-	17	54	5
Tetradifona	-	25	54	24
Trifluralina	-	24	-	15
Vinclozolina	36	40	-	17

Os dados obtidos neste estudo estão de acordo com a literatura e pode-se concluir que o procedimento de armazenamento, preparação e uso de solventes atendem aos requisitos de controle de qualidade utilizados por laboratórios de referência como o Food and Consumer Product Safety Authority – VWA (Holanda), Center for Analytical Chemistry – CDFA (Califórnia, EU) e o Federal Institute for Risk Assessment – BFR (Alemanha).

Vale ressaltar que o procedimento de revalidação de padrões analíticos demanda um trabalho extra para a equipe técnica dos laboratórios, porém a relação custo benefício em favor do laboratório é evidente.

Assim, a aceitação desses dados analíticos pelos órgãos acreditadores reduziria os custos financeiros e contribuiria, sobre maneira, para a redução da contaminação ambiental pelo descarte desses compostos no meio ambiente.

7. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, foi possível concluir que:

- Padrões analíticos dos agrotóxicos estudados se apresentaram estáveis por períodos de tempo maiores que os especificados pelo fornecedor;
- O trabalho forneceu subsídios para a adoção de regras mais flexíveis pelos órgãos acreditadores;
- Irá reduzir o descarte ou incineração de agrotóxicos com benefícios para o meio ambiente;
- Os órgãos acreditadores do Brasil podem vir a aceitar a expansão de validade dos padrões analíticos baseados na literatura, desde que, os laboratórios apresentem procedimentos de controle e registros de suas condições de armazenamento e preparo das soluções.

8. SUGESTÕES

- Propor a continuidade do estudo de novos padrões de agrotóxicos com validade expirada de diferentes classes, com o objetivo de se obter dados em laboratórios no Brasil, e dessa forma, contribuir com os órgãos acreditadores;
- Considerando que o LC-MS/MS é, hoje, a técnica de escolha para análise de resíduos de agrotóxicos, é importante verificar a estabilidade desses mesmos padrões em solventes mais polares, como por exemplo o metanol.



REFERÊNCIAS

9. REFERÊNCIAS

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS **NBR ISO/IEC 17025:2005**: Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro, 2005. p.1-25.

ALMEIDA, W. F. Acúmulo de inseticidas no homem e sua significação epidemiológica. **O Biológico**, São Paulo, v. 40, n. 6, p.171-183, 1974.

ALVES FILHO, J. P. **Agrotóxicos e Agenda 21: sinais e desafios da transição para uma agricultura sustentável**. II Simpósio Internacional de Tecnologia de Aplicação de Agrotóxicos: Eficiência, Economia e Preservação da Saúde Humana e do Ambiente. Jundiaí, São Paulo, 2001.

ARAÚJO, A. C. P.; TELLES, D. L.; GORNY, R.; LIMA, L. Organochlorine pesticide contamination in the Ipojuca Basin. *Environ. Technol.* 19, p. 109-113, 1998.

ARAÚJO, A. C. P. **Importância da análise de resíduos de praguicidas para ações de saúde pública: estudo da cultura do tomate do Estado de Pernambuco**. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998, 200f.

ARAÚJO, A. C. P.; TELLES, D. L.; GORNY, R.; LIMA, L. L. A. Endosulfan residue in Brazilian tomatoes and its impact upon public health and the environment. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 62, p.671-676, 1999.

ARAÚJO, A. C. P. & TELLES, D. L. A monitoring program for export fruits in Northeastern Brazil. In: CDFACAC WORKSHOP ON PESTICIDES RESIDUE, 7th. 2000, Fresno, **Anais....**Fresno, CDFACAC, 2000.

ARAÚJO, A. C. P.; AUGUSTO, L. G. S.; TELLES, D. L. A. A questão dos praguicidas na agricultura e a situação no Estado de Pernambuco. **Rev. Bras. de Toxicol.** 13 (1), p.25-30, 2000.

ARAÚJO, A. C. P.; TELLES, D. L.; LIMA, L. L. A.; RODRIGUES, J.; LIMA, T. L. A.; SILVA, M. Monitorização de resíduos de praguicidas em frutas destinadas à exportação. **Rev. Bras. de Toxicol.** 14 (2), p. 43-48, 2001.

AVRAMIDES, E. J. **The stability of pure standards and stock standard solutions for pesticide residue determination using gas chromatography.** Abstracts of EPRW 2004, p. 202, 2004.

AVRAMIDES, E. J. **Long-term stability of pure standards and stock standard solutions for the determination of pesticide residues using gas chromatography.** J. Chromatogr A., Jul 8; 1080 (2); p. 166-176; 2005.

BESAMUSCA, E. W.; VREEKER, C. P.; TOONEN, A. A.; De KOK, A. **Validation and stability of pesticides standards.** 1st European Pesticides Residues Workshop. Alkmaar., 1996.

BULL, D. & HATHAWAY, D. **Pragas e venenos: Agrotóxicos no Brasil e no terceiro mundo.** Ed. Vozes, p. 9-18, Rio de Janeiro, 1986.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente – Ministério do Meio Ambiente – **Resolução 357, 17 de março de 2005.**

De KOK, A. & De KROON, M. **The stability of pesticides standards and solutions.** Abstracts of EPRW, p. 88, 1996.

DINHAM, B. **The pesticide hazard: A Global Health and Environmental Audit.** London: Zed Books Ltd., p. 227, 1993.

DORES, E. F. G. C. & DE-LAMONICA-FREIRE, E. M. Contaminação do ambiente aquático por pesticidas. Estudo de caso: águas usadas para consumo humano em Primavera do Leste, Mato Grosso – análise preliminar. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 27-36, 2001.

EDWARDS, C. A. **Persistent pesticides in the environment.** 2. Ed. U.S.A.: CRC Press, p. 170, 1973.

FELIX, F. **The continuing study of the stability of pesticide standards.** 12th California Pesticide Residue Workshop. California, 1999.

KOTAKA, E. T. & ZAMBRONE, F. A. D. **Contribuições para a construção de diretrizes de avaliação do risco toxicológico de agrotóxicos.** Campinas: International Life Sciences Institute do Brasil, p. 160, 2001.

LARINI, L. **Toxicologia dos Praguicidas.** São Paulo: Manole, 1999. 230p.

LIMA, L. L. de A. **Inseticidas Organofosforados na Cultura da Acerola (*Malpighia glabra* L.): Verificação de Resíduos.** Tese (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, p. vi, 62, 2002.

LUNA, A. J.; TEXEIRA, M. C.; CORREIA, M.; DANTAS, R. C.; MOURA, V. V. R. **Resultados e ações de prevenção de intoxicação por organofosforados e carbamatos da campanha “Agrotóxicos: responsabilidade de todos”.** In: 1^o SEMINÁRIO DE DESTINAÇÃO DE EMBALAGENS DE AGROTÓXICOS NO ESTADO DE PERNAMBUCO, 1995, **Resumos....** São Paulo. Fundacentro 1995.

MARKING, L. L. Toxicity of chemical mixtures. In: RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R.; (Ed.). **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications.** New York: Hemisphere, p. 164-176, 1985.

MAYNARD, R. Sperm Alert. **Living Earth 188**, p. 8-9, 1995.

NIMMO, D. R. Pesticides. In: Rand, G. M.; PETROCELLI, S. R.; (Ed.). **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications.** New York: Hemisphere, p. 335-373, 1985.

PESSOA, M. C. P. Y. & SCRAMIN, S. **Agrotóxicos e Ambiente.** Embrapa Informações Tecnológicas, Brasília, p. 319-321, 2004.

SANCO/10232/2006. **Quality Control Procedures for Pesticide Residue Analysis.** European Commission, 24/March/2006; p. 4-5-6-27-29.

SILVA, J. N. **Educação ambiental comunitária: alternativas para as zonas rurais- um estudo de caso**. Monografia (Especialização em educação ambiental) - Departamento de Educação Pública, Fundação Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 1991, 95f.

SILVA, A. B. **Ambientes e Uso Agrícola do Município de Camocim de São Félix (PE)**. Tese (Doutorado em agronomia)-Departamento de Solos e Nutrição de Plantas, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 1999, 201f.

SILVA, F. C.; CARDEAL, Z. DE L.; CARVALHO, C. R. DE. Determinação de pesticidas organofosforados em águas usando microextração em fase sólida e CGAR-EM. **Química Nova**, v. 22, n. 2, Mar/Abr, São Paulo, 1999.

SILVA, C. M. M. S. DE & FAY, E. F. **Agrotóxicos e Ambiente**. Embrapa Informações Tecnológicas, Brasília, 2004.

TAVARES, T. M. Applications of the Mussel Watch Concept in Studies of Hydrocarbons, PCB's and DDT in the Brazilian Bay of Todos os Santos (Bahia). **Mar. Poll. Bull**, 19 (11): p. 575-578, 1988.

TAVARES, T. M.; BERETTA, M.; COSTA, M. A. Evolution of DDT residues in All Saints Bay, Brazil, 1985-1994. **IAEA-SM-343/17**, p.321-329. 1995.

TELLES, D. L. **Inseticidas organoclorados e bifenilos policlorados (PCB's) na região estuarina de Itamaracá/PE: aspectos analíticos e ambientais**. Tese (Doutorado em Oceanografia). Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, p. 2-12, 2001.

VIETH, B.; ALDER, L.; HAPPEL, V. **Storage stability of stock solutions and solid pesticide standards**. Abstracts of EPRW2004, p. 231, 2004.

VIETH, B.; ALDER, L.; HAPPEL, V. MENDEN, M. **Storage stability of pesticide stock solutions**. In: 6th European Pesticide Residue Workshop, Corfu, Greece, p. 68, 2006.

ZOONEN, P. V. Dutch Ministry of Public Health, Welfare and Sport. General inspectorate for health protection. **Analytical methods for pesticide residues in foodstuffs** – Part I: Multi-residue methods. Bithoven, The Netherlands, 1996.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)