

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE-UV PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS AGROTÓXICOS EM UVAS VERDES COMERCIALIZADAS EM CARUARU-PE

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF AN ANALYTICAL METHOD BY HPLC-UV FOR THE DETERMINATION OF PESTICIDE RESIDUES IN GREEN GRAPES MARKETED IN CARUARU-PE

DOI: <https://doi.org/10.16891/2317-434X.v12.e1.a2024.pp3903-3911> Recebido em: 12.05.2023 | Aceito em: 19.02.2024

Carlos Eduardo Miranda de Sousa^b, Clayton Anderson de Azevedo Filho^a, Ellison Neves de Lima^a, Joyce Millena de Melo Barros^a, Cecília Regina Gomes^a, Henrique Carlos Marinho Pereira Silva

^aCentro Universitário Tabosa de Almeida – ASCES-UNITA, Caruaru – PE, Brasil

^bCentro Universitário da Vitória de Santo Antão – UNIVISA, Vitória de Santo Antão – PE, Brasil

*E-mail: eduardosousafarma@gmail.com

RESUMO

Pesticidas podem prevenir, destruir, repelir ou diminuir o dano causado por pragas, a maioria das plantações deve ter um limite máximo de resíduo dessas substâncias, assim, existem registros de métodos analíticos criados para rastreá-los. Este estudo buscou desenvolver e validar um método analítico capaz de quantificar resíduos de agrotóxicos em uvas verdes. O método foi desenvolvido utilizando CLAE acoplado a um detector de espectroscopia UV de comprimento de onda fixo nos seguintes parâmetros: fase estacionária em coluna Kinetex C18 de fase reversa 150 x 4,6 mm (5 µm) e fase móvel constituída por acetonitrila e água em modo isocrático; fluxo de 0,8 mL/min e injeção de 20 µL; detecção a 220 nm. O desenvolvimento e validação de método analítico foram realizados conforme a RDC 166/2017. Na linearidade, foi feita uma curva de calibração de 5 pontos, em triplicata, resultando em: $R=0,9915$, $y=20307x + 193193$ para a Ciromazina e, $R=0,9918$, $y=70578,4x + 110230$ para Imidacloprido. A exatidão foi testada com injeções em triplicata, resultando nas médias: 5,038; 20,091 e 41,017 µg/mL para a Ciromazina e 0,502; 2,051; e 4,091 µg/mL para Imidacloprido. Na precisão do método injetou-se solução de 20 e 2 µg/mL, para a Ciromazina e Imidacloprido, respectivamente, em dois dias diferentes, por diferentes analistas, totalizando 24 injeções, resultando em CV abaixo de 1,85 e 1,82. O método revelou-se adequado para a quantificação da Ciromazina e Imidacloprido nas amostras de uva. Das três amostras, uma continha Ciromazina, não autorizada neste tipo de cultura segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Palavras-chave: Resíduos; CLAE-UV; Pesticidas.

ABSTRACT

Pesticides can prevent, destroy, repel, or lessen the damage caused by pests, most crops need a maximum residue limit of these substances. There are records of analytical methods created to track them. This study sought to develop and validate an analytical method capable of quantifying pesticide residues in green grapes. The method was developed using HPLC coupled to a fixed wavelength UV spectroscopy detector in the following parameters: stationary phase in Kinetex C18 reverse phase 150 x 4.6 mm (5 µm) column and mobile phase consisting of acetonitrile and water in isocratic mode; flow of 0.8 mL/min and injection of 20 µL; detection at 220 nm. The development and validation of the analytical method were carried out in accordance with RDC 166/2017. In linearity, a 5-point calibration curve was made, in triplicate, resulting in: $R=0.9915$, $y=20307x + 193193$ for Cyromazine and, $R=0.9918$, $y=70578.4x + 110230$ for Imidacloprid. Accuracy was tested with triplicate injections, resulting in averages: 5.038; 20.091 and 41.017 µg/mL for Cyromazine and 0.502; 2.051; and 4.091 µg/mL for Imidacloprid. In the precision of the method, a solution of 20 and 2 µg/mL was injected for Cyromazine and Imidacloprid, respectively, on two different days, by different analysts, totaling 24 injections, resulting in VC below 1.85 and 1.82. The method proved to be adequate for the quantification of Cyromazine and Imidacloprid in grape samples. Of the three samples, one contained Cyromazine, not authorized in this type of culture according to the National Health Surveillance Agency.

Keywords: Residue; HPLC-UV; Pesticides.



INTRODUÇÃO

Pesticidas são substâncias ou misturas de substâncias que podem prevenir, destruir, repelir ou diminuir o dano causado por pragas. As pragas podem ser plantas patógenas, pássaros, mamíferos, peixes e especialmente, insetos e microrganismos; podendo espalhar ou ajudar a carregar doenças e inclusive, destruir colheitas inteiras (YADAV & DEVI, 2017). Com isso, o uso rotineiro desses compostos se tornou algo comum, assim, levando a falta de cuidado dos aplicadores e ocasionando envenenamento de vegetais, águas e solo.

A partir desses fatos, a ANVISA determinou que a maioria das plantações devem ter um limite máximo de resíduo (LMR) de pesticidas. Frutas e vegetais com resíduos acima dos limites estabelecidos serão considerados inapropriados para o consumo. A fim de rastrear os níveis de pesticida nesses vegetais, foram criados métodos de análise. A extração de pesticidas em matrizes vegetais utiliza o método QuEChERS; já na instrumentação, grande parte desses métodos são baseados em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE ou LC) ou Cromatografia Gasosa (CG ou GC) acoplados a detectores de espectrometria de massas (LC-MS/MS) ou detectores UV-Visível (CLAE-UV) (ANDRADE et al, 2011).

Imidacloprido destaca-se no combate às pragas em culturas de uva, é um neonicotinóide, uma classe de inseticidas modelados a partir da nicotina, denominado quimicamente como *1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine*, é medianamente tóxico, apresenta solubilidade relativamente elevada e estabilidade na água (SANTOS et al., 2019). É comercializado como meio de controle de pragas, tratamento de sementes, controle de cupins e pulgas, e inseticida sistêmico (PUBCHEM, 2019). A EMBRAPA (2021) define o limite máximo de resíduos de imidacloprido em 1mg/Kg.

O ciromazina é utilizado em larga escala devido à sua alta eficiência em eliminar larvas de insetos, além de agir no inseto adulto ocasionando um curto período de vida uma vez que este inseticida interrompe o crescimento do inseto (CABRAL, 2014). De acordo com o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2007), o ciromazina, compõem o grupo de risco toxicológico da classe IV, sendo desta forma pouco tóxico. A concentração máxima permitida estabelecida pela ANVISA (2002) é de 12,5% p/p, porém seu uso em culturas de uva não é permitido. Estudos toxicológicos (WHO, 1984) em ratos apontam que este pesticida pode

causar dificuldade respiratória e protrusão anormal dos olhos (30 mg/kg), dessa forma, assim como o ciromazina, seu uso não é autorizado em uvas (ANVISA, 2002).

A fim de se obter um preparo de amostra que aumente a eficiência e superar as limitações de metodologias analíticas de pesticidas, em 2003, Anastassiades e colaboradores introduziram o método QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*). Esse método tem diversas vantagens, como ser rápido, fácil, barato, efetivo, robusto e seguro (ANASTASSIADES et al., 2003).

Ao longo do tempo, modificações neste método foram feitas a fim de melhorar a estabilidade das soluções. Por exemplo, tamponamento dos extratos entre pH 4 e 5 com ácido acético e acetato de sódio. Para não aumentar o número de etapas do método original, o ácido acético (1% v/v) foi adicionado à acetonitrila e o acetato de sódio (1,5) foi adicionado no lugar de cloreto de sódio. Além disso, a quantidade de amostra (15 g) e de solvente (15 mL) é maior no método modificado.

Levando em consideração o risco à saúde trazido pelo acúmulo de pesticidas em sistemas orgânicos, este trabalho, procurou determinar a quantidade de resíduos dos pesticidas imidacloprido e ciromazina em culturas de uva verde comercializadas em feira livre no município de Caruaru-PE através do desenvolvimento e validação de método analítico por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e detecção em faixa de luz Ultravioleta (CLAE-UV).

METODOLOGIA

Padrões e Amostras

Os padrões de imidacloprido e ciromazina foram obtidos da Sigma-Aldrich®. Foram utilizadas para a pesquisa três amostras de uva verde foram obtidas em três diferentes feiras livres no município de Caruaru, Pernambuco, Brasil. Em seguida estas amostras foram processadas seguindo um processo adaptado da metodologia de Anastassiades et al. (2003).

Equipamentos

Utilizou-se os seguintes equipamentos: balança analítica (OHAUS®), Vortex Mixer (KASVI basic®), CLAE (Shimadzu, Kyoto, Japão), com injetor manual, equipado com duas bombas quaternárias (Shimadzu LC-20AD) ligadas ao desgaseificador (DGU 20A3) com integrador (CBM-20A), detector UV/VIS de comprimento

de onda fixo e software LC solution Shimadzu. Na fase estacionária foram avaliadas as colunas: Gemini C18150x 4,6mm, 5u 110A Phenomenex; Hypersil ODS C18 100x 4,6mm, 10; C18 Shim-Pack C18 150x 4,6mm, 10u e Kinetex C18 150 x 4,6 mm, 5 µm Phenomenex.

Preparo das soluções (SQR)

Para preparação da solução de SQR, foi pesado, exatamente, o equivalente a 10 mg de cada padrão (imidacloprido e ciromazina) e dissolvido em 10 mL de metanol (1,0 mg/mL) e levado para ultrassom por 10 min. Alíquotas desta solução foram diluídas em acetonitrila: água (1:1) para obter concentrações (Para o Imidacloprido as concentrações utilizadas foram 0,5 µg/mL, 1 µg/mL, 2 µg/mL, 3 µg/mL e 4 µg/mL; para a Ciromazina as concentrações utilizadas foram 5 µg/mL, 10 µg/mL, 20 µg/mL, 30 µg/mL e 40 µg/mL.) que foram utilizadas para o desenvolvimento e validação do método.

Processamento da amostra

O processo exato se deu da seguinte forma: Pesou-se um total de 40g da amostra triturada, divididas entre 4 tubos Falcon de 50 mL, sendo assim 10g de amostra por tubo; em seguida adicionou-se 10ml de acetonitrila (*PanReact*, Espanha) em cada um dos tubos; o conteúdo foi homogeneizado em vórtex por 1 minuto; após a homogeneização, adicionou-se 4g de MgSO₄ (*Inlab*, Brasil) em cada um dos tubos e o conteúdo foi novamente homogeneizado em vórtex por 1 minuto; as amostras foram divididas em tubos menores, calibrados para a centrifugação, realizada a 3600rpm por 25 minutos; por fim o sobrenadante foi reservado para a análise.

Desenvolvimento do método analítico

No desenvolvimento deste método analítico avaliou-se na construção de diversas etapas como a preparação da amostra e sua extração, a escolha de condições cromatográficas, com a natureza e proporção da fase móvel e a quantificação do produto em questão. Parâmetros como a fase móvel, o fluxo, a coluna cromatográfica e o comprimento de onda de detecção foram avaliados experimentalmente e selecionado com critério analítico os que obtiveram as melhores condições. Foram executadas diversas tentativas, com diversas formas de se trabalhar com fase móvel, como: acetonitrila e água purificada em diferentes proporções se mostraram falhas: (70:30 v/v); (60:40 v/v) (50:50 v/v); (60:40 v/v);

(70:30 v/v), todas essas mostraram picos cromatográficos que foram gradualmente melhorando a sua assimetria e possíveis de serem quantificados. Além das tentativas de fase móvel, também foi trabalhada formas com fases estacionárias diferentes, como: Gemini C18150x 4,6mm, 5u 110^a Phenomenex; Hypersil ODS C18 100x 4,6mm, 10; C18 Shim-Pack C18 150x 4,6mm, 10u e Kinetex C18 150 x 4,6 mm, 5 µm Phenomenex.

Condições cromatográficas

Através da metodologia de tentativa-erro, a condição cromatográfica melhor encontrada foi constituída de: Fase estacionária Kinetex C18 de fase reversa 150 x 4,6 mm (5 µm); Fase móvel de acetonitrila e água purificada (30:70 v/v); Fluxo da fase móvel em 0,8mL/min em modo isocrático; com tempo de análise cromatográfica de 5 minutos. O comprimento onda de detecção para foi 220nm; com volume de injeção de 20 µL; temperatura ambiente; software de captação de dados LC Solution.

Validação do método

Foram avaliados os seguintes parâmetros: especificidade, linearidade, intervalo, precisão (repetibilidade e precisão intermediária), exatidão, efeito matriz e robustez.

Especificidade

Para avaliar o grau de interferência de espécie como outra substância ativa, componentes da matriz, impurezas, e produtos de degradação. O comprimento onda de detecção para foi 215 nm para Propamocarb e Ciromazina, e 270 nm para Imidacloprido. Para o Imidacloprido, Ciromazina e Imidacloprido as concentrações utilizadas foram 0,5 µg/mL, 5 µg/mL, 0,05 µg/mL, respectivamente para o método CLAE.

Linearidade

No teste da linearidade foi realizada a determinação quantitativa do analito em formas farmacêuticas, através de curvas analíticas feitas em triplicatas com injeção de cinco concentrações para CLAE, para o Imidacloprido as concentrações utilizadas foram 0,5 µg/mL, 1 µg/mL, 2 µg/mL, 3 µg/mL e 4 µg/mL; para a Ciromazina as concentrações utilizadas foram 5 µg/mL, 10 µg/mL, 20 µg/mL, 30 µg/mL e 40 µg/mL;. As

curvas analíticas e os coeficientes de determinação linear foram realizados no Programa Microsoft Excel.

Precisão

A precisão do método foi realizada por meio da repetibilidade através da análise de seis soluções da mesma concentração de 2 µg/mL, 20 µg/mL, para Imidacloprido e Ciromazina, respectivamente, realizando o mesmo procedimento, no mesmo equipamento, mesmo laboratório, porém com dois analistas e dias diferentes. A análise consistiu em seis injeções da solução no sistema, por cada analista e em cada dia. Os dados gerados forneceram a média aritmética, o desvio padrão que representará a precisão; bem como da precisão nos diferentes dias e os diferentes analistas.

Exatidão

A solução padrão foi analisada a partir de três níveis de concentrações diferentes (Para o Imidacloprido as concentrações utilizadas foram 0,5 µg/mL, 2 µg/mL e 4 µg/mL; para a Ciromazina as concentrações foram 5 µg/mL, 20 µg/mL, e 40 µg/mL;). As amostras foram submetidas a testes para avaliar a exatidão do método analítico e a proximidade dos resultados obtidos pelo método padrão. A análise consistiu em três injeções da solução no sistema, por cada nível de concentração. Os dados gerados forneceram a média aritmética, o desvio padrão e teor, servindo para estimar a exatidão.

Robustez

A robustez foi realizada para testar a estabilidade do método e também foram avaliados solventes para fase móvel de fabricantes diferentes, a partir de cinco replicatas diferentes, da amostra padrão, teste 1 (fornecedores de

acetonitrila diferentes), teste 2 (estabilidade de refrigeração da solução) teste 3 (estabilidade da amostra pós-processada), obtendo-se a média, coeficiente de variação e desvio padrão.

Efeito Matriz

O efeito Matriz foi avaliado a partir da construção de uma curva padrão de análise em triplicata de cinco pontos de concentração, nos mesmos níveis de concentração dos aplicados na linearidade, da solução SQR e uma solução de amostra da pesquisa, a fim que se comprove que há proporcionalidade de resultado entre as duas.

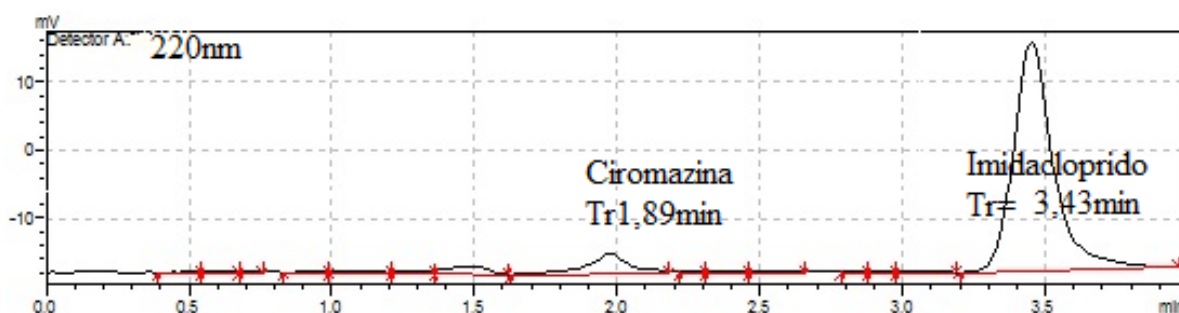
Doseamento

Foi realizado para medir o teor dos agrotóxicos (Ciromazina e Imidacloprido) nas amostras de uva foram obtidas em feira livre, compradas de produtor rural em regime de microcultura familiar. A análise foi realizada em triplicata, obtendo-se a média, desvio padrão, coeficiente de variação e exatidão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fase móvel que apresentou uma melhor condição cromatográfica foi acetonitrila e água purificada, na proporção de 30:70 v/v, a qual obteve-se um pico cromatográfico com melhor resolução, seletividade, simetria e com o tempo de retenção de 1,89min e 3,43 min para a Ciromazina e Imidacloprido, respectivamente (Figura 1), fora do volume morto do método em estudo, o qual representa neste fluxo de 0,8 mL/min e fase estacionária selecionada (Kinetex C18 de fase reversa 150 x 4,6 mm, 5 µm).

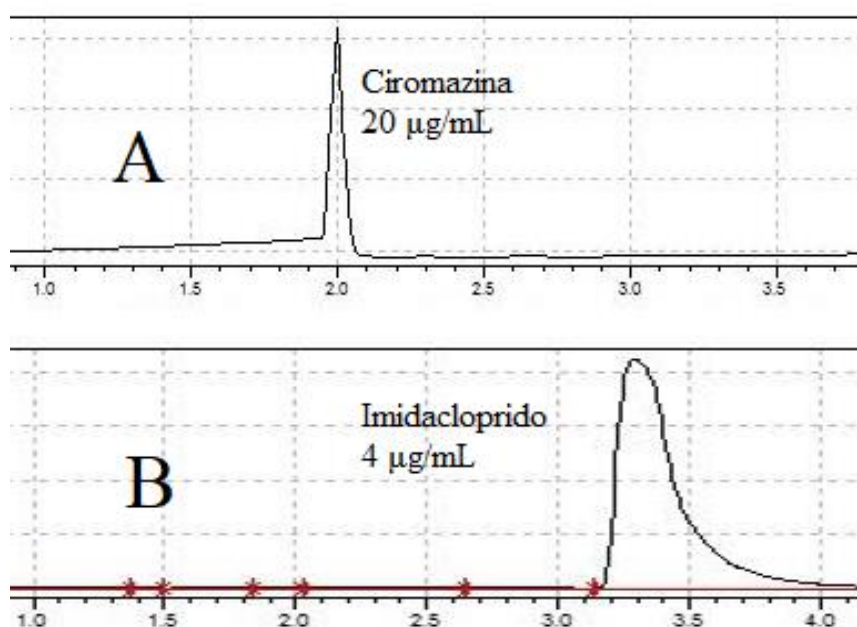
Figura 1. Perfil cromatográfico da Ciromazina e do Imidacloprido nas concentrações de 5 µg/mL e 0,5 µg/mL, respectivamente, utilizando fase estacionária C₁₈, fase móvel acetonitrila:água (30:70 v/v), fluxo 0,8 mL/min, 27°C a 220 nm.



A seletividade para os métodos cromatográficos é avaliada no sentido de garantir que o pico de resposta do analito seja proveniente exclusivamente desse, e não de outros compostos (interferentes) presentes na amostra (VECHIA, et al, 2015). Ela pode ser observada no cromatograma apresentado na Figura 2, proporcionando a elucidação do pico referente à substância analisada, com

tempo de retenção de 1,89min e 3,43 min para a Ciromazina e Imidacloprido, respectivamente. Desta forma foi possível determinar que o método desenvolvido não apresenta interferência dos constituintes da formulação, caracterizando-se específico para os compostos em estudo nas condições testadas.

Figura 2. No cromatograma A solução pura da Ciromazina 20 µg/mL e no cromatograma B solução pura da Imidacloprido na concentração de 4 µg/mL, utilizando fase estacionária C18, fase móvel acetonitrila:água (30:70 v/v), fluxo 0,8 mL/min, 27°C a 220 nm.



Através desta análise, foi comprovado que os picos cromatográficos são realmente da ciromazina e do imidacloprido não houve ação de outros possíveis interferentes. Os resultados foram seletivos, inclusive sem ausência de interferentes dos produtos de degradação gerados nas condições acima expostas.

A linearidade do método foi comprovada a partir dos dados obtidos através do gráfico da curva da linearidade, no qual foram fornecidas as seguintes informações: o método de análise para Imidacloprido, a linearidade é representada pela equação $y = 70578,4x + 110230$, resultando em $R = 0,9918$. Já para o método de análise para Ciromazina a linearidade é representada pela equação $y = 20307x + 193193$, resultando em $R = 0,9915$. Onde o eixo Y representa a área do pico no cromatograma obtido e o eixo X a concentração do ciromazina ou do imidacloprido. Ambos obedecendo o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r) no valor de 0,99, certificando a adequabilidade do resultado encontrado.

O Efeito Matriz foi realizado após a avaliação dos resultados entre a solução da amostra e solução SQR, este já apresentado na linearidade, tornando o método aprovado neste quesito, para ambos os compostos em estudo. Já que foram avaliados os coeficientes por meio do teste T e ambos os coeficientes apresentaram não sendo estatisticamente diferente de zero, conforme desejado para aprovação. E também a inclinação das resta não são estatisticamente diferentes, para um nível de significância de 5%, pelo teste T para avaliar o efeito matriz.

A precisão do método foi determinada pela precisão intra-dia (repetibilidade) e a precisão inter-dia (intermediária). O coeficiente de variação (CV%) obtido foi, para o analista 1 de 1,61% e 1,82%, e para o analista 2, 1,72% e 0,91% para Imidacloprido (Tabela 1). Já para a Ciromazina, o coeficiente de variação (CV%) obtido foi, para o analista 1 de 0,84% e 1,85%, e para o analista 2, 1,21% e 0,84% (Tabela 2), desta forma, esses valores se enquadram no que preconiza a resolução RDC 166/17 da

ANVISA, na qual aceita limites de variação até 5%. Ou seja, Os valores da precisão obtidos para as áreas dos picos cromatográficos e tempo de retenção, encontram-se dentro dos valores satisfatórios. Estes dados mostram que o método desenvolvido apresenta uma ótima precisão, com uma baixa variação entre as análises quando realizadas por

analistas diferentes e/ou em dias diferentes. Podemos assim afirmar que a determinação da precisão intermédia encontra-se com valores satisfatórios para a validação de um método de acordo com o trabalho de Ribani et al. (2004).

Tabela 1. Valores obtidos na precisão do método para Imidacloprido

	Dia 1		Dia2	
	Analista 1	Analista 2	Analista 1	Analista 2
Média (n=6)	2,02	1,99	2,01	2,07
Desvio padrão	0,023	0,038	0,030	0,015
Coef.de Variação	1,61	1,82	1,72	0,91
Exatidão %	101,00	99,51	99,63	103,50

Tabela 2. Valores obtidos na precisão do método para Ciromazina.

	Dia 1		Dia2	
	Analista 1	Analista 2	Analista 1	Analista 2
Média (n=6)	20,99	20,50	20,80	20,33
Desvio padrão	0,21	0,46	0,25	0,43
Coef.de Variação	0,84	1,85	1,21	0,84
Exatidão %	104,95	102,50	104,00	101,66

De acordo com a execução do teste da exatidão, o qual foi realizado em três concentrações diferentes (0,5 µg/mL, 2 µg/mL e 4 µg/mL para Imidacloprido e 5 µg/mL, 20 µg/mL, e 40 µg/mLciromazina), comprovando que o método é exato, visto que, todos os resultados deste teste

obtiveram resultados no intervalo de 0,40-2,55% (Tabela 3 e Tabela 4). Desta forma, esses valores se enquadram no que preconiza a resolução 166/17, na qual aceita limites de variação até 5%.

Tabela 3. Valores obtidos na exatidão do método a partir de diferentes concentrações de Imidacloprido

Nível (µg/mL)	Média (n=3)	Desvio padrão	Coef.de Variação	Exatidão
0,5	0,502	0,01	2,00	0,40%
2,0	2,051	0,05	2,43	2,55%
4,0	4,091	0,13	3,18	2,27%

Tabela 4. Valores obtidos na exatidão do método a partir de diferentes concentrações de Ciromazina.

Nível (µg/mL)	Média (n=3)	Desvio padrão	Coef.de Variação	Exatidão
5,0	5,038	0,11	2,22	0,76%
20,0	20,091	0,07	0,35	0,46%
40,0	41,017	0,18	0,44	2,54%

No teste da robustez foram avaliados os parâmetros da estabilidade das soluções sobre refrigeração ($8 \pm 3^{\circ}\text{C}$, 10 dias) e com fornecedores diferentes de acetonitrila (LiChrosolv e Merck) e a estabilidade da amostra pós-processamento 48h. Na qual apresentou uma precisão representada pelo coeficiente de variação menor que 1,51% e 1,14% para Imidacloprido e Ciromazina, respectivamente. E

exatidão variou de 99,00-101,00% para os ensaios envolvendo o Imidacloprido e uma variação de 98,75-100,95 da Ciromazina. Os resultados estão apresentados nas tabelas 5 e 6, ambos de acordo com os critérios especificados pela Anvisa.

Tabela 5. Valores obtidos na robustez para o Imidacloprido (2,0µg/mL).

	Padrão	Teste 1	Teste 2	Teste 3
Média (n=6)	1,99	1,98	2,02	1,98
Desvio padrão	0,01	0,03	0,02	0,04
Coef.de Variação	0,50	1,51	0,99	2,02
Exatidão %	99,50	99,00	101,00	99,00

Tabela 6. Valores obtidos na robustez para Ciromazina (20,0µg/mL).

	Padrão	Teste 1	Teste 2	Teste 3
Média (n=6)	19,75	19,89	20,13	20,19
Desvio padrão	0,21	0,19	0,41	0,23
Coef.de Variação	1,06	0,95	0,99	1,14
Exatidão %	98,75	99,45	100, 65	100,95

Após a otimização e validação do método analítico, procedeu-se a aplicação do método com às análises três amostras de uva foram obtidas em três diferentes feiras livres no município de Caruaru, Pernambuco, Brasil. Após o processamento das amostras as análises das mesmas foram realizadas em triplicata. O Doseamento apresentou teor de ciromazina (Nº CAS: 66215-27-8) de $39,32 \pm 2,35$ µg/mL em uma das amostras

avaliadas, conforme a Tabela 7. Como para a Ciromazina não autorização para uso neste tipo de cultura segundo a Anvisa, esta amostra encontra-se imprópria para o consumo. Já para Imidacloprido (Nº CAS: 138261-41-3) o qual é permitido para esta cultura, com um LMR 1,0 mg/kg segundo a Anvisa, não foi detectado nas amostras avaliadas.

Tabela 7. Análise das Amostras de Uva.

Amostra	Ciromazina µg/mL (Não permitido)	Imidacloprido µg/mL (LMR 1,0 mg/kg)
Amostra 1	0,00	0,00
Amostra 2	39,32±2,35	0,00
Amostra 3	0,00	0,00

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O método desenvolvido através de CLAE revelou-se adequado para a quantificação da ciromazina e do Imidacloprido nas amostras de uva. Através da validação, os parâmetros de seletividade, linearidade, precisão, efeito matriz e exatidão apresentaram conformidade com as exigências nacionais descritas na RDC 166/2017 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). A nova metodologia consiste numa alternativa simples, rápida, econômica e segura

para a avaliar a qualidade e segurança dos alimentos pelos laboratórios de pesquisa e de controle de qualidade, comprovando que é seletivo, exato, sensível e rápido. A respeito dos resultados, das três amostras analisadas, as amostras 1 e 3 para os parâmetros avaliados estavam adequadas ao consumo, entretanto a amostra 2 apresentou quantificação da ciromazina, a qual não tem seu uso liberado pela Anvisa para a cultura de uva. Portanto, a amostra 2 foi reprovada para o consumo. Isto apenas demonstra a importância deste tipo de estudo para garantir uma melhor qualidade dos alimentos comercializados.

REFERÊNCIAS

- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RESOLUÇÃO DE DIRETORIA COLEGIADA – RDC Nº 347, DE 16 DE DEZEMBRO DE 2002**. Brasília, 2002. Pág. 106-108. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_347_2002_COMP.pdf/a19d667f-d963-4a8c-a55b-7a60265a99d5. Acesso em: 17/06/2019
- ANASTASSIADES, Michelangelo et al. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC international**, v. 86, n. 2, p. 412-431, 2003. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412>.
- ANDRADE, Graziela CR et al. Determination of pesticide residues in tomato using dispersive solid-phase extraction and gas chromatography/ion trap mass spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 9, p. 1701-1708, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532011000900012>.
- CABRAL, Wanessa Botelho Marques. **Análise da genotoxicidade in vivo dos agrotóxicos ciromazina e mancozeb em baixas doses**. / Wanessa Botelho Marques Cabral. Vitória de Santo Antão: O Autor, 2014. (pag 25-28)
- GARRIDO, Lucas Da Ressurreicao; BOTTON, Marcos. Limite máximo de resíduos na uva de mesa e para processamento: segurança dos alimentos x barreira não tarifária. In: EMBRAPA (Brasil). **Embrapa Uva e Vinho: Documentos**, 126. Bento Gonçalves, RS, 2021. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1134321>. Acesso em: 4 nov. 2021.
- Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. **CERTIFICADO DE REGISTRO DE AGROTÓXICO COM FINALIDADE FITOSSANITÁRIA**. Brasília 2007.
- PUBCHEM - National Center for Biotechnology Information. **PubChemDatabase**. Imidacloprid, CID 86287518, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Imidacloprid>. Acesso em 20 de Julho, 2019.
- RIBANI, Marcelo et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química nova**, 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422004000500017>.
- SANTOS, Roberta Daniela da Silva; SILVA, Paula Tereza de Souza e; GAVA, Carlos Alberto Tuão; MONTEIRO, Veruschka Escarião Dessoles; MELO, Márcio Camargo de. **AVALIAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO DO INSETICIDA IMIDACLOPRIDO EM REATOR DE BANCADA**. **Revista Eletrônica de Gestão e Tecnologias Ambientais**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 45-60, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.9771/gesta.v7i1.28073>.
- WHO/FAO; Joint Meeting on Pesticide Residues; **Pesticide Residues in Food**, 1984. Disponível em <<http://www.inchem.org/pages/jmpr.html>>. Acesso em 19 de Julho, 2019.
- YADAV, I. S.; DEVI, N. L. Pesticides Classification and Its Impact on Human and Environment. **Environment Science and Engineering**, v. 6, 2017.