

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE AMBIENTAL
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL

SUZANA MOREIRA MUNIZ CURTI

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO ANALÍTICO PARA
QUANTIFICAÇÃO DE RESÍDUOS DE CARBENDAZIM EM SUCOS DE
LARANJAS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO

CAMPO MOURÃO

2014

SUZANA MOREIRA MUNIZ CURTI

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO ANALÍTICO PARA
QUANTIFICAÇÃO DE RESÍDUOS DE CARBENDAZIM EM SUCOS DE
LARANJAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia Ambiental, da Coordenação de Engenharia Ambiental, do Câmpus Campo Mourão, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof^a Dr^a Patricia Valderrama

CAMPO MOURÃO

2014



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Campo Mourão
Diretoria de Graduação e Educação Profissional
Departamento Acadêmico de Ambiental - DAAMB
Curso de Engenharia Ambiental



TERMO DE APROVAÇÃO

DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE
RESÍDUOS DE CARBENDAZIM EM SUCOS DE LARANJAS

por

SUZANA MOREIRA MUNIZ CURTI

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 19 de dezembro de 2014 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a banca examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Prof. Dr. Patrícia Valderrama

Prof. Dr. Paulo Henrique Março

Prof. Dr. Nelson Consolin Filho

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me destinado a este caminho acadêmico, me guiando e dando forças para concluir esta etapa tão importante da minha vida.

Agradeço de todo meu coração a minha família, especialmente meu pai Edvani e minha mãe Ivete por ter me apoiado, me incentivado e acreditado no meu potencial por todos estes anos de vida.

A minha orientadora, em especial, Prof. Dr. Patrícia Valderrama que desde início de minha graduação me orienta em iniciações científicas e através de seu conhecimento, vem me ensinando, acompanhando e me fazendo crescer imensamente como profissional.

Aos professores que me lecionaram durante todos esses cinco anos, me passando todos seus conhecimentos que foram tão importantes na minha vida acadêmica, me ajudando a me tornar uma boa profissional.

Agradeço aos meus grandes amigos e parceiros e os que participaram de alguma forma nessa fase muito importante Thalita, Mariana, Nathan, Henrique Camarão, Letícia, Henrique, Lorene, Mateus, Renan, Thayse, Amanda, Amanda Picelli, Amanda Teixeira, Camilla Palharini, Jean Gutierrez, Fernanda Baldim e Felipe Tomazella guardo todos vocês em meu coração.

A todos que me auxiliaram não só na execução deste trabalho quanto aos que torceram por mim e estavam sempre me acompanhando nessa jornada, portanto, um muito obrigada a todos.

RESUMO

CURTI, Suzana Moreira Muniz. Desenvolvimento de um método analítico para quantificação de resíduos de carbendazim em sucos de laranjas. 2014. 25 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia Ambiental) Graduação de Engenharia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

O carbendazim é um fungicida utilizado na agricultura para controlar uma ampla gama de doenças em frutos, como os cítricos. A ingestão desse fungicida em uma dose maior do que a permitida pela legislação vigente causa infertilidade, problemas nos testículos, toxicidade a organismos presentes no solo, entre outras consequências, tão sérias que em alguns países o uso deste fungicida é proibido. Assim, o objetivo do trabalho foi desenvolver uma metodologia alternativa para a quantificação do carbendazim em sucos de laranjas. O método de referência descrito na literatura para determinar carbendazim faz uso de uma reação de complexação seguida por extração líquido-líquido e leitura espectrofotométrica em comprimento de onda de 478nm. As desvantagens desse método são o número de etapas envolvidas, o uso de reagentes e solventes e a geração de resíduos. Na proposta desenvolvida, adições de carbendazim são realizadas diretamente no suco de laranja e um espectro é obtido na região do ultravioleta visível (200 – 850nm). Os espectros são posteriormente organizados no formato de uma matriz onde se aplica o método quimiométrico de resolução multivariada de curvas MCR-ALS (Resolução de curva multivariada). Os resultados obtidos mostram que o perfil espectral do carbendazim recuperado pelo MCR-ALS é condizente com o perfil espectral reportado na literatura. O perfil de concentração referente ao carbendazim foi utilizado para construção de uma curva de calibração pseudo-univariada. Os resultados obtidos pela metodologia proposta foram comparados com os resultados obtidos através do método de referência. Verifica-se que o erro absoluto para as determinações através da metodologia de referência são superiores ao erro absoluto para as determinações através da espectroscopia UV-Vis aliada ao método quimiométrico MCR-ALS. Assim, a metodologia proposta é rápida, possui baixo custo e pode ser utilizada em laboratórios de rotina para controle de qualidade de laranjas em indústrias produtoras de sucos. Além disso, a metodologia está de acordo com os princípios requeridos pela “química verde” como minimização no uso de reagentes e solventes e geração de resíduos.

Palavras-chave: Carbendazim, Fungicida, Quimiometria, MCR-ALS, Química Verde

ABSTRACT

CURTI, Suzana Moreira Muniz. Development of an analytical method to quantify carbendazim residues in Orange juice. 2014. – 25 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel e Engenharia Ambiental) Graduação de Engenharia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

Carbedazim is a fungicide used in agriculture to control a wide range of fungi in fruits, such as citrus fruits. The ingestion of Carbedazim in a dose higher than the TLV (threshold limit value) allowed by the legislation provokes infertility, testicular problems, toxicity to organisms present in soil, among other consequences. Due to this, the use of Carbedazim is prohibited in several countries. The objective of the present work was to develop an alternative methodology for quantify Carbedazim in orange juice. The standard method in literature used for quantify Carbedazim a complexing reaction followed by a liquid-liquid extraction being the absorbance of final extract measured at $\lambda = 478$ nm. The disadvantage of such method is the number of steps, the use of reactants and solvents and the chemical-waste generation. In the developed methodology, Carbendazim were directly added to the orange juice and an UV-Vis spectrum 200 – 850 nm wavelength range was obtained after each addition. The data of spectra (intensity vs wavelength) were further organized in a matrix in which the chemometric method MCR-ALS of multivariate resolution was processed. The profile of Carbedazim spectrum recovered after MCR-ALS treatment matches to the Carbedazim spectrum profile shown in literature. The concentration profile related to Carbedazim was used for building a pseudo-univariate calibration curve. The results obtained through the proposed methodology were compared to the obtained by the standard method. The standard errors associated to the determinations using conventional method (standard one) were higher than those obtained through the UV-Vis combined to the chemometric MCR-ALS. Thus, the methodology developed in the present work is fast, not expensive and can be used in routine labs for quality control in orange juice industries. Beyond this, the new method is in accordance to the Green chemistry principle mainly in minimizing the use of chemical reactants, solvents and lowering the chemical-waste generation.

Keywords: Carbendazim, Fungicide, Chemometric, MCR-ALS, Green Chemistry

LISTA DE FIGURAS

Figure 1 – Estrutura do carbendazim	11
Figure 2- Espectros das amostras de suco de laranja com diferentes concentrações de carbendazim.	20
Figure 3 - Resultados do MCR-ALS. (A) Perfil de concentração relativa. (B) Espectros recuperados. (C) Espectro do carbendazim recuperado.	21
Figure 4 - Curva de calibração pseudo-univariada.	22
Figure 5 - Curva analítica univariada.	23

LISTA DE TABELAS

Table 1 - Resultados da previsão empregando a metodologia MCR-ALS.	22
Table 2 - Resultados da previsão empregando a metodologia de referência.	24

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
4 MATERIAL E METÓDOS	17
4.1. MÉTODO PADRÃO PARA A ANÁLISE DE CARBENDAZIM	17
4.2. PROPOSTA PARA A ANÁLISE DE CARBENDAZIM	17
4.3. MCR-ALS	18
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	20
6 CONCLUSÕES	25

1 INTRODUÇÃO

Os pesticidas, mais conhecidos como defensivos agrícolas ou agroquímicos, foram desenvolvidos para controlar as pragas e doenças que diminuía a produção e aumentavam o preço dos produtos agrícolas (MELGAR, 2009). No entanto, o impacto social e ambiental causado pelo uso desordenado destes produtos agroquímicos tem causado constante preocupação por parte da sociedade. O monitoramento dos pesticidas presentes no meio de produção é de extrema importância para a certificação da qualidade do produto e, portanto, para verificar se este se encontra dentro dos padrões exigidos na legislação vigente, pois os produtos finais irão ser consumidos por diversas pessoas e também exportados para diversos países. Neste contexto há também o policiamento dos resíduos químicos que irão ter como destino final o meio ambiente.

Quando se iniciou a “Revolução Verde”, após o período pós-guerra em 1950, foram observadas mudanças no processo de impactos causados ao ambiente e a saúde humana por meio do manejo tradicional da agricultura. (MOREIRA et al., 2002). A partir de 1970, foi criada no Brasil a regulamentação dos agrotóxicos, tendo em vista a necessidade de um monitoramento devido ao aumento do uso dos agroquímicos no País. A legislação foi sendo atualizada, por meio de inúmeras portarias e, posteriormente, pela Lei dos Agrotóxicos (Lei 7.802, de 11 de julho de 1987) e sua regulamentação (Decreto nº 98.816, 11 de janeiro de 1990) e atualizada conforme a necessidade até os últimos anos (Decreto: Lei 4.074, 04 de janeiro de 2002) (TAVELLA et al., 2011).

Os fungicidas são compostos químicos ou organismos biológicos usados para matar fungos ou inibir esporos fúngicos, prevenindo ou curando doenças na cultura. O carbendazim (metil benzimidazol-2-ylcarbamato), também conhecido como MBC ou carbendazol (Figura 1) é um fungicida utilizado na agricultura para controlar uma ampla gama de doenças em frutos, como os cítricos, e também em vegetais, tais como algodão, tabaco, relva e plantas ornamentais. Também é usado em pós-colheita de armazenamento de alimentos. A sua resistência é um grande problema, estando listada na classe toxicológica III de pesticidas, pois sua permanência

prolongada no ambiente pode causar contaminação ambiental (PURUSHOTHAM et al, 2011).

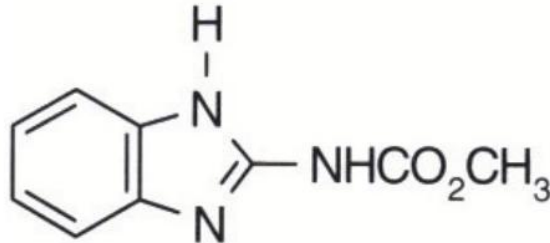


Figure 1 – Estrutura do carbendazim

Muitos tipos de agrotóxicos, que possuem estruturas químicas diferentes uns dos outros, têm sido utilizados, sendo que a classe de fungicidas ocupa a terceira colocação com 22% da comercialização de agrotóxicos no Brasil. A ingestão máxima permitida do fungicida carbendazim, segunda a Resolução RE nº 635 de 27/02/09 DOU de 02/03/09 da ANVISA, é 0,02 mg/Kg. Caso a ingestão do carbendazim, que normalmente são absorvidas pelas vias respiratórias, dérmica e oral, for maior que a permitida, pode provocar irritações na pele e nos olhos causando, na pele, dermatites e queimaduras. Além disso, a literatura relata que o carbendazim pode provocar alterações hormonais, no processo de reprodução e toxicidade testicular (RAMA et al., 2014) em seres humanos.

Em função da ampla utilização do carbendazim em todo o mundo aliada a falta de métodos rápidos e de baixo custo para a identificação deste composto nos produtos, o desenvolvimento de novos métodos de extração e análise que permitam a detecção e quantificação do herbicida em amostras naturais são de suma importância. O objetivo do trabalho consistiu no desenvolvimento de uma metodologia analítica para quantificar o fungicida carbendazim em sucos de laranjas a partir da espectroscopia na região do ultravioleta aliada à quimiometria.

A quimiometria é definida como a aplicação de métodos matemáticos e estatísticos a dados químicos (OTTO, 1999). Os espectros são considerados dados de primeira ordem e representam um vetor de medidas instrumentais para cada amostra. Os métodos empregados para calibração em dados de primeira ordem apresentam a chamada “vantagem de primeira ordem” que é a possibilidade de realizar análises mesmo na presença de interferentes, desde que esses interferentes estejam presentes nas amostras de calibração. Quando se obtém uma matriz de

resposta instrumental para cada amostra, tem-se dados de segunda ordem, que apresentam a chamada “vantagem de segunda ordem” definida como a possibilidade de realizar análises na presença de interferentes mesmo que estes interferentes não estejam presentes na etapa de calibração (BOOKSH e KOWALSKI, 1994). Quando se utiliza o método quimiométrico de resolução de curvas multivariadas (MCR-ALS), aplicado à dados de primeira ordem, é possível construir um modelo de calibração pseudo-univariado e com essa metodologia a vantagem de segunda ordem pode ser alcançada mesmo utilizando-se dados de primeira ordem (MARÇO et al, 2014).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral do trabalho é desenvolver uma metodologia para quantificar o fungicida carbendazim em sucos de laranja.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar uma metodologia alternativa de preparo de amostras, sem uso de reagentes e sem geração de resíduos tóxicos para a quantificação de carbendazim.
- Utilizar uma técnica de baixo custo, UV-Vis, para a quantificação de carbendazim.
- Aliar métodos quimiométricos para o tratamento dos dados gerados por UV-Vis.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Há séculos são usados produtos fitossanitários na agricultura. Fatos comprovam o uso de arsênio por volta do ano 1700 (DC) e uso de sulfurados no século XI. A partir do século XX, entretanto, com a introdução do DDT (diclorodifeniltricloroetano), uma molécula sintética, por Muller em 1931, ocorreu o reconhecimento da eficiência do controle químico, sendo o início do marco inicial da era de uso de produtos químicos na produção da agricultura (NUNES e RIBEIRO,1999) .

O SESA, Serviço da Saúde Ambiental e Toxicológico do Paraná, define Agrotóxico segundo a Lei Federal nº 7802 de 11/07/89, regulamentada pelo Decreto 98816 no seu artigo 2º, Inciso I: “Os produtos e os componentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou implantadas e de outros ecossistemas e também em ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora e da fauna, a fim de preservá-la da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como substâncias e produtos empregados como desfolhantes, desseccantes, estimuladores e inibidores do crescimento”.

Segundo a Agrofitec (2010), no Brasil o consumo de agrotóxicos encontra-se em grande expansão. Ele é o responsável pelo consumo da metade dos agrotóxicos utilizados na América Latina, o que envolve um comércio de bilhões de dólares.

A contaminação por agrotóxicos é um tema que vem despertando atenção crescente, tendo em vista suas consequências para a saúde humana e o risco de degradação do meio ambiente, causados por seu uso crescente e às vezes inadequado (SOARES et al., 2005).

A classe dos agrotóxicos inclui os inseticidas (controle de insetos), fungicidas (controle de fungos), herbicidas (combate às plantas invasoras), fumigantes (combate às bactérias do solo), algicida (combate a algas), avicidas (combate a aves), nematicidas (combate aos nematoides), moluscicidas (combate aos moluscos), acaricidas (combate aos ácaros), além de reguladores de crescimento,

desfoliantes (combate às folhas indesejadas) e dissecantes (BRAIBANTE e ZAPPE, 2012).

Fungicidas são substâncias usadas para exterminar fungos patogênicos que se instalam em plantas e por consequência em seus produtos gerados que servirão para o consumo de animais e para o homem. As doenças geradas por fungos são de difícil controle, pois devido ao fungo ter características semelhantes ao do vegetal, ele permanece em contato íntimo com o seu hospedeiro. Com este fato se explica a dificuldade de se encontrar substâncias que controlem o fungo sem danificar a planta hospedeira (WARE, 1978). Devido a sua forma de ação, que é por contato, ou seja, somente a parte da planta que estiver recoberta pela substância, é que estará protegida dos fungos, é preciso uma grande escala de aplicação de fungicida para atingir este objetivo, que muitas vezes ultrapassam da quantia permitida (MÍDIO e MARTINS, 2000).

O carbendazim é um fungicida potente bastante utilizado na agricultura brasileira para proteger frutas, legumes, gramíneas, nozes entre outros produtos, e também usado para pós-colheita e armazenamento de alimentos. O carbendazim é relativamente estável e persistente no meio ambiente. Devido aos possíveis efeitos na saúde humana e uso generalizado, é desejável monitorizar o carbendazim no ambiente (ZHU et al, 2007)

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2012), confirmou que houve uma campanha muito forte contra o suco de laranja brasileiro que é exportado para os Estados Unidos, tendo reflexo nos outros países. Isso ocorreu, pois o uso do fungicida carbendazim para o controle de pinta preta e de estrelinha nas laranjas possui uma carência de sete dias, mas os resíduos têm sido detectados até seis meses depois da aplicação. O governo americano proibiu o fungicida carbendazim em seus produtos importados, com isso no Brasil, o maior exportador de suco de laranja para os norte-americanos, foi suspenso o uso deste fungicida e as indústrias estão em negociações com o governo americano.

Dentro dos princípios da necessidade de um desenvolvimento sustentável, tem-se como regra que a química deve manter e melhorar a qualidade de vida. O grande desafio é a continuidade do desenvolvimento, diminuindo os danos causados ao meio ambiente. Tal fato requer uma nova conduta química para o aprimoramento dos processos, com o objetivo fundamental da geração cada vez menor de resíduos

e efluentes tóxicos. Esta nova proposta vem sendo denominada como química sustentável ou química verde (CLARK, 1999; PRADO, 2003).

De acordo com Tundo et al. (2000), a química verde é definida como “a criação, o desenvolvimento e a aplicação de produtos e processos químicos para reduzir ou eliminar o uso e a geração de substâncias tóxicas”. De acordo com esses princípios, enquadra-se o desenvolvimento de metodologias de análises mais “limpas”, que não utilizam reagentes e não geram resíduos tóxicos, objetivo deste trabalho de conclusão de curso.

Uma vez que o carbendazim pode provocar alterações hormonais, no processo de reprodução, além de toxicidade testicular (RAMA et al., 2014), métodos eficazes para determinações da concentração de resíduos de carbendazim em alimentos devem ser desenvolvidos.

Atualmente, as metodologias existentes para a análise do fungicida carbendazim são a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e fluorescência molecular (SUBHANI et al., 2013), cromatografia gasosa (GC) (VENEZIANO et al., 2004), métodos eletroquímicos (FRANÇA et al., 2012), espectrofotometria utilizando reações de complexação e derivatização (PURUSHOTHAM et al., 2011), sendo inexistente uma metodologia de detecção de fungicidas unicamente através do UV-Vis. Todos estes métodos além de demandar um tempo de análise relativamente elevado, apresentam alto custo, necessitam de preparo de amostra antes da análise propriamente dita, o que envolve a utilização de inúmeros reagentes e solventes, além disso, utilizam volumes excessivos de solventes químicos (caso do HPLC) e, conseqüentemente, geram inúmeros resíduos tóxicos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MÉTODO PADRÃO PARA A ANÁLISE DE CARBENDAZIM

Foram preparadas 5 amostras, em duplicata, de solução padrão de carbendazim cobrindo a faixa de concentração de 5 a 40 µg/mL (5, 8, 10, 20 e 40 µg/mL). Para o preparo das soluções foram utilizados balões volumétricos de 10 mL. Em cada balão foi adicionados 1 mL de solução de cloreto férrico 0,2% e 1 mL de solução de ferricianeto de potássio 0,5%. A mistura foi aquecida por 15 minutos a 60°C. Após, o volume do balão foi completado com água destilada. Estas soluções foram transferidas para um funil de separação, onde foram adicionados 10 mL de clorofórmio e foi promovida uma agitação por 2 minutos. O funil foi deixado em repouso até a completa separação das fases. A fase contendo o clorofórmio é utilizada para a leitura espectrofotométrica em 478 nm (PURUSHOTHAM et al., 2011). Este procedimento foi repetido para três amostras na concentração de 6, 15 e 30 µg/mL, em suco de laranja.

Uma curva de calibração foi construída a partir dos valores de concentração das amostras padrão contra os valores de absorbância em 478 nm.

4.2. PROPOSTA PARA A ANÁLISE DE CARBENDAZIM

Foram preparadas 8 amostras, em duplicata, de solução padrão de carbendazim cobrindo a faixa de concentração de 5 a 40 µg/mL. Para o preparo das soluções foram utilizados balões volumétricos de 10 mL. Em cada balão foram adicionados um volume conhecido da solução de carbendazim e completado o volume com suco de laranja isento de carbendazim. Foi coletado um espectro ultravioleta visível para cada amostra que foi posteriormente analisado utilizando o método quimiométrico de resolução multivariada de curvas MCR-ALS.

4.3. MCR-ALS

Os dados experimentais foram processados utilizando o software MatLab R2007b com aplicação das ferramentas para a utilização do MCR-ALS disponibilizadas pelo Professor Doutor Romà Tauler através de sua página de internet (TAULER, 2012).

Os dados químicos podem ser divididos quanto à sua complexidade ou dimensionalidade em ordem zero, de primeira ou de segunda ordem. Em modelos de calibração de ordem zero é usado um único valor da medida experimental por amostra (escalar), ou seja, é uma calibração univariada. Quando se tem um vetor de respostas instrumentais para cada amostra tem-se uma calibração multivariada de primeira ordem. Quando se obtém uma matriz de respostas instrumentais para cada amostra então a calibração multivariada é considerada de segunda ordem (VALDERRAMA et al., 2009).

O MCR é um método quimiométrico para a deconvolução espectral (TAULER, 1993) que pode ser aplicado a dados de primeira ou segunda ordem. Neste trabalho, na análise de cada amostra um vetor de respostas instrumentais foi obtido (um espectro) e estes, foram organizados no formato de uma matriz \mathbf{D}_k que será deconvoluída através do MCR-ALS em um produto de duas matrizes, conforme equação (1):

$$\mathbf{D}_k = \mathbf{C}_k \mathbf{S}^T + \mathbf{E} \quad k = 1, 2, \dots, k \quad (1)$$

em que \mathbf{C}_k é a matriz do perfil de concentração das espécies químicas presentes na amostra k , \mathbf{S} é a matriz contendo os espectros puros dos componentes presentes na amostra k e \mathbf{E} é uma matriz que contém os resíduos não modelados.

Desta maneira, a decomposição dos dados realizada pelo MCR-ALS fornece o perfil espectral de cada amostra na matriz \mathbf{S}^T (DE JUAN, 2003) e este tipo de abordagem tem sido empregado na recuperação do perfil espectral a partir de dados espectroscópicos na região do UV-Vis (MARÇO et al, 2011).

O MCR é baseado no algoritmo de mínimos quadrados alternantes (ALS) (DASZYKOWSKI e WALCZAK, 2006) no qual a partir dos resultados da análise de

fatores, o processo de otimização é realizado resolvendo iterativamente as duas equações abaixo:

$$\mathbf{C} = \mathbf{D}^* \mathbf{S}^+ \quad (2)$$

$$\mathbf{S} = \mathbf{C}^+ \mathbf{D}^* \quad (3)$$

A cada iteração de otimização nova matriz \mathbf{C} de concentração e \mathbf{S} de espectro é estimada e sucessivamente obtida. Quando é realizada uma estimativa inicial da matriz \mathbf{C} a equação (2) é resolvida para \mathbf{S}^T :

$$\mathbf{C}^+ \mathbf{D}^* = \mathbf{C}^+ \mathbf{C} \mathbf{S}^T = \mathbf{S}^T \quad (4)$$

Quando é realizada uma estimativa inicial da matriz \mathbf{S}^T de espectros puros, a equação (2) é resolvida para \mathbf{C} :

$$\mathbf{D}^* (\mathbf{S}^T)^+ = \mathbf{C} \mathbf{S}^T \mathbf{S}^{T+} = \mathbf{C} \quad (5)$$

a matriz \mathbf{C}^+ é a pseudoinversa da matriz \mathbf{C} e a matriz \mathbf{S}^+ é a pseudoinversa da matriz \mathbf{S} .

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados do presente trabalho foram obtidos a partir do rearranjo dos dados sob a forma matemática matricial para possibilitar o tratamento quimiométrico. Nesse sentido as linhas correspondem às amostras e as colunas referem-se aos valores de absorbância em diferentes comprimentos de onda. Dessa forma, têm-se um arranjo matricial (8x651), ou seja, 8 amostras, por 651 valores de absorbância, correspondentes ao intervalo analisado entre 200 a 850 nm, com absorbância a cada 1 nm, como mostra a Figura 2.

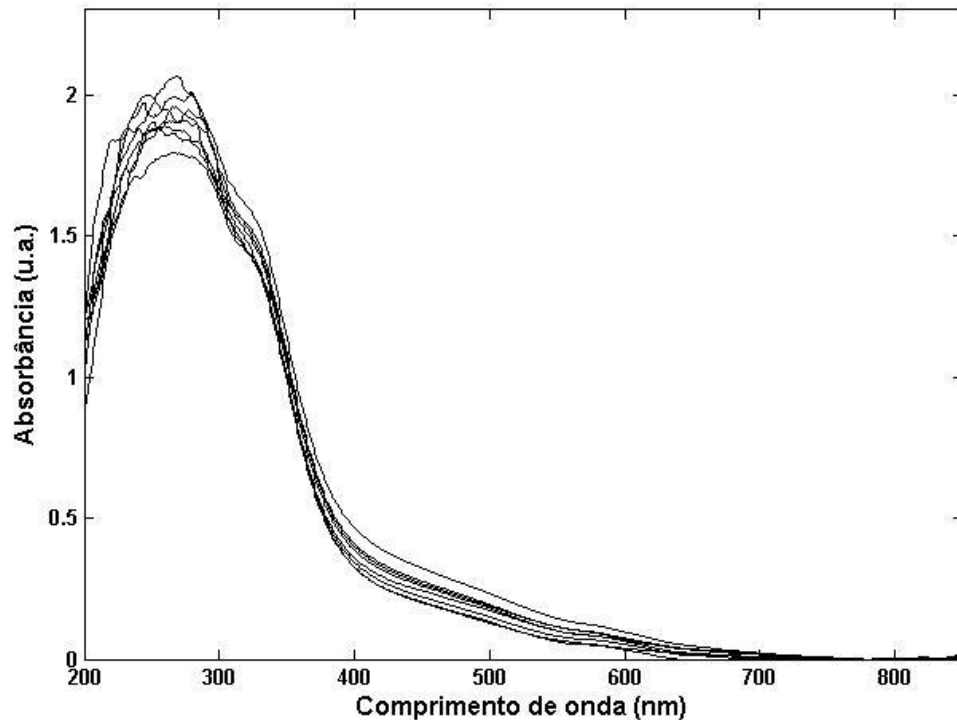


Figura 2- Espectros das amostras de suco de laranja com diferentes concentrações de carbendazim.

A matriz, analisada através do método quimiométrico MCR-ALS, possibilitou a obtenção dos valores de concentração relativa e espectros puros dos compostos presentes nas amostras. Para a aplicação do MCR-ALS, é necessário que se tenha uma estimativa inicial dos espectros ou das concentrações dos componentes presentes. Nesse caso, para inicializar o algoritmo do MCR-ALS, utilizou-se PURE (WIDING, 1988) como método de estimativa inicial dos perfis de concentração. O método SIMPLISMA, do qual se deriva PURE, seleciona a variável mais pura com

base na determinação do ângulo máximo entre as variáveis pelo cálculo do ângulo máximo gradual. Além disso, a estimativa do posto (rank) da matriz foi realizada através da Análise de Componentes Principais, conforme Março et al (2011). A Figura 3 apresenta os resultados obtidos pela implementação da metodologia quimiométrica MCR-ALS.

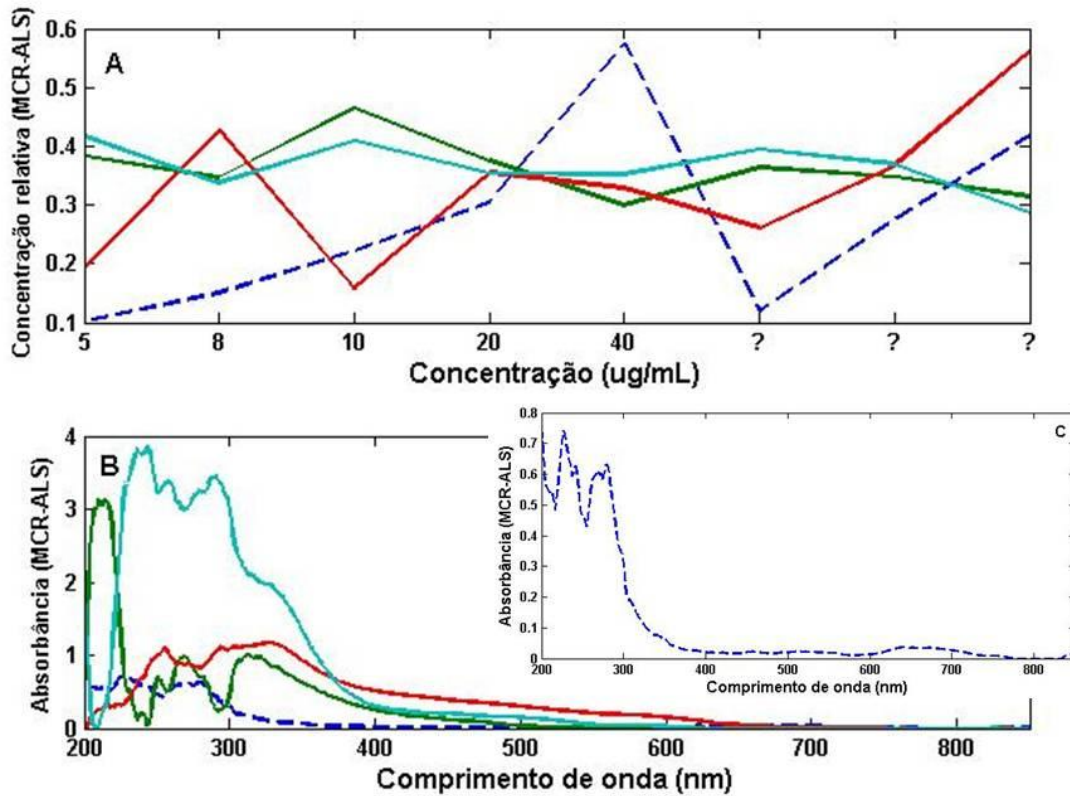


Figure 3 - Resultados do MCR-ALS. (A) Perfil de concentração relativa. (B) Espectros recuperados. (C) Espectro do carbendazim recuperado.

Os resultados obtidos mostram que o perfil espectral do carbendazim recuperado pelo MCR-ALS é condizente com o perfil espectral reportado na literatura (VAIHDEH, 2009) com uma banda de absorção máxima centrada em 230nm e uma banda dupla entre 250-300nm. O perfil de concentração referente ao carbendazim mostrou um aumento linear para as amostras padrão a serem empregadas na calibração. Este perfil de concentração relativa, referente ao carbendazim, foi colocado em um gráfico em função dos valores de concentração tidos como verdadeiros ou valores teóricos. O resultado é uma curva analítica de calibração pseudo-univariada, como ilustrado na Figura 4.

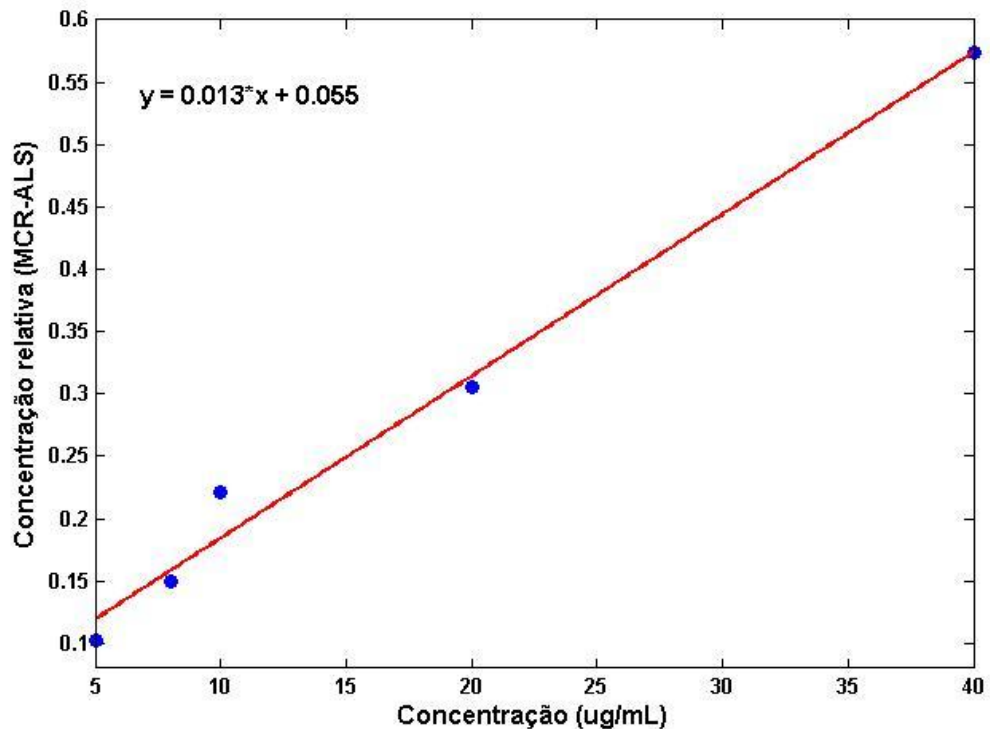


Figure 4 - Curva de calibração pseudo-univariada.

Através da equação da reta é possível determinar a concentração de carbendazim nas amostras de validação. Os resultados são apresentados na Tabela 1, onde é possível verificar que os erros absolutos foram da ordem de 2.

Tabela 1 - Resultados da previsão empregando a metodologia MCR-ALS.

Número da amostra	Concentração teórica (µg/mL)	Concentração relativa (MCR-ALS)	Concentração prevista pela equação $y=0,013x + 0,055$ (µg/mL)	Erro absoluto
1	6,00	0,1200	5,00	1,00
2	15,00	0,2752	16,90	1,90
3	30,00	0,4178	27,90	2,10

Os resultados obtidos pelo MCR-ALS foram comparados com os resultados obtidos empregando-se o método de referência. Nesse caso, uma curva de calibração foi construída a partir de uma série de padrões de concentração conhecida. As amostras padrão foram preparadas através da formação de complexo seguido pela medida da absorbância em comprimento de onda fixo, conforme

metodologia de referência descrita por Purushotham et al., 2011. Uma curva analítica foi construída colocando os valores de concentração teórica em função dos valores de absorbância em 478nm. A curva analítica, bem como a equação de reta podem ser visualizados na Figura 5.

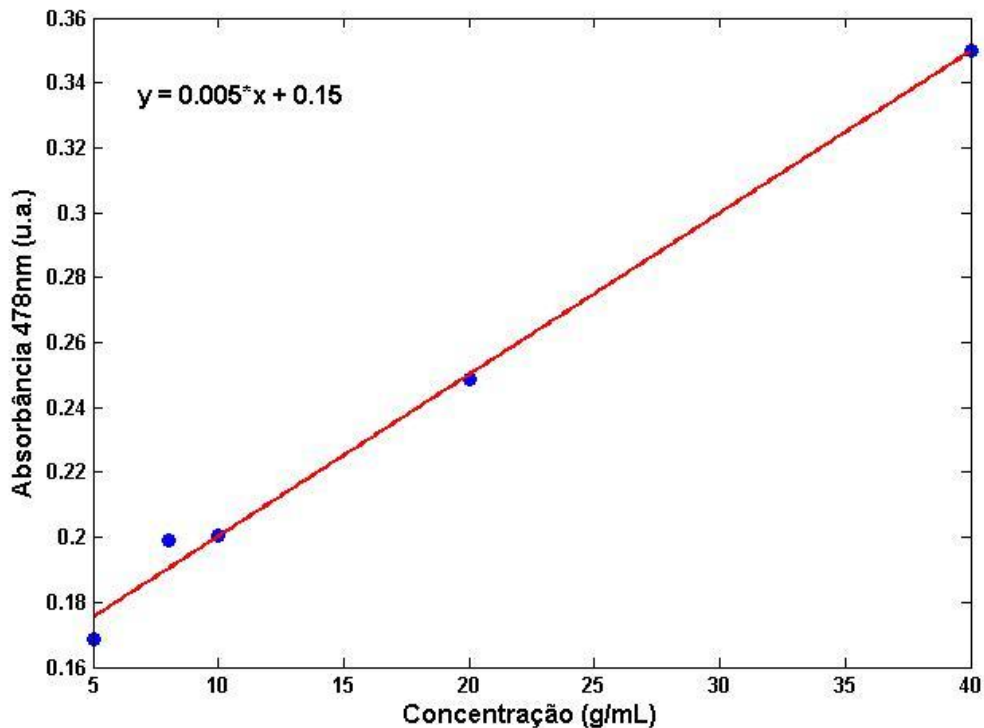


Figure 5 - Curva analítica univariada.

Três amostras com concentração teórica de 6, 15 e 30 $\mu\text{g/mL}$ foram preparadas em suco de laranja e o complexo, seguido pela extração e medida da absorbância no comprimento de onda 478nm, foi realizado. A Tabela 2 apresenta os resultados para a determinação da concentração do carbendazim em suco de laranja a partir do método de referência (PURUSHOTAM et al., 2011).

Tabela 2 - Resultados da previsão empregando a metodologia de referência.

Número da amostra	Concentração teórica (µg/mL)	Absorbância 478nm	Concentração prevista pela equação $y=0,005x + 0,15$ (µg/mL)	Erro absoluto
1	6,00	0,1904	8,08	2,08
2	15,00	0,2450	19,00	4,00
3	30,00	0,2701	24,02	5,98

Verifica-se que o erro absoluto para as determinações através da metodologia de referência são superiores ao erro absoluto para as determinações através da espectroscopia UV-Vis aliada ao método quimiométrico MCR-ALS. Isso pode ter acontecido devido às etapas envolvidas no preparo de amostras do método de referência que pode ser encarada como etapas onde erros são incluídos. Além disso, quando se aplica o MCR-ALS o sinal do carbendazim é separado do sinal dos interferentes e isso permite alcançar a vantagem de segunda ordem com dados de primeira ordem.

6 CONCLUSÕES

Os resultados permitem concluir que o método quimiométrico MCR-ALS aliado à espectroscopia na região do ultravioleta visível é uma alternativa que pode ser utilizada para quantificar carbendazim em amostras de suco de laranja. Além disso, o método é rápido, não requer preparo da amostra e não gera resíduo, sendo assim uma sugestão de metodologia bastante útil e eficiente para contribuições ambientais e de acordo com os requisitos da química verde. Este sistema pode ser utilizado em ambientes industriais no monitoramento *on-line* de espécies de interesse e consiste em uma alternativa aos métodos convencionais utilizados até então para a quantificação do carbendazim.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), **Carbendazim**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/b17ca88047458b58951fd53fbc4c6735/c24.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 25. Novembro. 2014.

BOOKSH, K.S.; KOWALSKI, B.R.; Theory in analytical chemistry. **Analytical Chemistry**, v. 66, n. 15, p. 782A – 791A, 1994.

BRAIBANTE, M.E.F.; ZAPPE, J.A.; A química dos agrotóxicos. **Química Nova na Escola**, v. 34, p. 10-15, 2012.

BRASIL. **Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989**. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 11 julho 1989. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l7802.htm>. Acesso em: 11 novembro 2014.

CLARK, James H.; Green Chemistry: challenges and opportunities. **Green Chemistry**, v. 1, p. 1-8, 1999.

DASZYKOWSKI, Michal; WALCZAK, Beata.; Use and abuse of chemometrics in chromatography. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 25, p. 1081-1096, 2006.

DE JUAN, Ana; TAULER, Romà.; Chemometrics applied to unravel multicomponent processes and mixtures: Revisiting latest trends in multivariate resolution. **Analytica Chimica Acta**, v. 500, p. 195-210, 2003.

FRANÇA, Rafaela F.; DE OLIVEIRA, Hueder P. M.; PEDROSA, Valber A.; CODOGNOTO, Lucia.; Electroanalytical determination of carbendazim and fenamiphos in natural waters using a diamond electrode. **Diamond and Related Materials**, v. 27–28, p.54-59, 2012.

LAMBERT, Mark.; **Agricultura e meio ambiente** / Tradução Nelson Bolognini Jr.; revisão técnica de José Carlos Sariegol. – São Paulo: Scipione, (Coleção preserve o mundo) p.8 - 14, 1997.

MARÇO, P.H.; VALDERRAMA, P.; ALEXANDRINO, G.L.; POPPI, R.J.; TAULER, R.; Resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes: descrição, funcionamento e aplicações. **Química Nova**, v. 37, n.9, p. 1525-1532, 2014.

MARÇO, P.H.; POPPI, R.J.; SCARMINIO, I.S.; TAULER, R.; Investigation of the pH effect and UV radiation on kinetic degradation of anthocyanin mixtures extracted from Hibiscus acetosella. **Food Chemistry**, v. 125, p. 1020-1027, 2011.

MELGAR, Liesbeth Z.; **Estudo das interações entre os fungicidas (carbendazim e fuberidazole) e as partículas de argila em suspensão aquosa. Adsorção, Fotofísica e Fotoquímica**. 2009. 119 f.. Tese de Doutorado em Físico- Química – Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA. E ABASTECIMENTO (MAPA). **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT)**. 2010. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 10. Julho. 2014.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Citricultura**. 2012. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Citricultura/30/Ata_30_RO_Citricultura.pdf>. Acesso em: 6. Agosto. 2014

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). **Agrotóxico**. 2014. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/agrotoxicos>>. Acesso em: 22. Novembro. 2014.

MÍDIO, A.F.; MARTINS, D.I.; **Toxicologia de Alimentos**, p.295, 2000.

MOREIRA, J. C., JACOB, S. C., PERES, F. et al.; Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 7, n. 2, 2002.

NUNES, G. S.; RIBEIRO, M. L.; Pesticidas: Uso, Legislação e Controle. **Pesticidas. Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v.9, p. 31-44, 1999.

LAMBERT, Mark.; **Agricultura e meio ambiente** / Tradução Nelson Bolognini Jr.; revisão técnica de José Carlos Sariegol. – São Paulo : Scipione, (Coleção preserve o mundo) p.8 - 14, 1997.

OTTO, Matthias; **Chemometrics**, Weinheim: Wiley, 1999.

PURUSHOTAM NAIDU, K.; NIRANJAN, T.; NAIDU N.; Spectrophotometric determination of Carbendazim in its Formulations and Environmental samples. **International Journal of ChemTech Research**, v.3, n.4, p. 1728-1733, 2011.

PRADO, Alexandre G.S.; Química verde os desafios da química do novo milênio. **Química Nova**, v.26, n.5, 738-744, 2003.

RAMA, Elkiane M.; BORTOLAN, Simone; VIEIRA, Milene L.; GERARDIN, Daniela C.C.; MOREIRA, Estefania G.; Reproductive and possible hormonal effects of carbendazim Regulatory. **Toxicology and Pharmacology**, v. 69, n 3, p. 476-486, 2014.

SUBHANI, Qamar; HUANG, Zhongping; ZHU, Zuoyi; ZHU, Yan.; Simultaneous determination of imidacloprid and carbendazim in water samples by ion chromatography with fluorescence detector and post column photochemical reactor. **Talanta**, v. 116, p. 127-132, 2013.

SOARES, W.L.; FREITAS, E. A.; COUTINHO, J. A. G.; Trabalho rural e saúde: intoxicação por agrotóxicos no município de Teresópolis – RJ. **Revista de economia e sociologia rural**, v.43, n.4, p. 685-701, 2005.

TUNDO, Pietro; ANASTAS, Paul; BLACK, David S.; BREEN, Joseph; COLLINS, Terrence; MEMOLI, Sofia; MIYAMOTO, Junshi; POLYAKOFF, Martyn; TUMAS, William. ; **Synthetic pathways and processes in green chemistry. Introductory overview**, v 72, n. 7, p. 1207-1228, 2000.

TAVELLA, Leonardo B.; SILVA, Ítalo N.; FONTES, Larissa, O.; DIAS, Jairo, R.M.; Silva, Maria, I.; O uso de agrotóxicos na agricultura e suas consequências toxicológicas e ambientais. **ACSA- Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v.7 n.2 p. 6-12, 2011.

TAULER, Romà. **MCR** Disponível em:<<http://www.ub.edu/mcr/welcome.html>>. Acesso em: 18. Janeiro. 2014.

TAULER, Romà; KOVALSKI, Bruce.; Multivariate Curve Resolution Applied to Spectral Data from Multiple Runs of an Industrial Process. **Analytical Chemistry**, v. 65, p. 2040- 2047, 1993.

VALDERRAMA, Patrícia; BRAGA, Jez W.B.; POPPI, Ronei J. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. **Química Nova**, v. 32, p. 1278-1287, 2009.

VAIHDEH, M.; Spectrophotometric Measurement of Carbendazin Residue Levels in Cucumber and its Comparision with HPLC. **Applied Entomology and Phytopathology**, v.77, n. 1(88), p. 59-77, 2009.

VENEZIANO, Attilio; VACCA, Giovanni; ARANA, Swizly.; DE SIMONE, Francesco; RASTRELLI, Luca; Determination of carbendazim, thiabendazole and thiophanate-methyl in banana (*Musa acuminata*) samples imported to Italy. **Food Chemistry**, v.87, n. 3, p. 383-386, 2003

WARE, G. W.; **The pesticide book**. San Francisco: W. H. Freeman & Co.,1978
Toxicologia de alimentos/ Antonio Flávio Midio, Deolinda Izumida Martins. – São Paulo: Livraria Varela, 2000.

WIDING, W.; Mixture analysis of spectral data by multivariate methods. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 4, p. 201-213, 1988.

ZHU, Shao-Hua; WU, Hai-Long, XIA, A-lin, HAN, Qing-Juan, ZHANG, Yan.; Determination of carbendazim in Bananas By Excitation- Emission Matrix Fluorescence with three Second-order Calibration Methods. **ANALYTICAL SCIENCES**, v.7, p. 1173, 2007.