



ESTUDO DE AGROTÓXICOS USADOS EM AGRICULTURA ATRAVÉS DA TÉCNICA DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X

Leonardo Rodrigues

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Nuclear, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Nuclear.

Orientador: Delson Braz

Rio de Janeiro
Fevereiro de 2012

ESTUDO DE AGROTÓXICOS USADOS EM AGRICULTURA ATRAVÉS DA
TÉCNICA DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X

Leonardo Rodrigues

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO
LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA
(COPPE) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE
DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE
EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA NUCLEAR.

Examinada por:

Prof. Delson Braz, D.Sc.

Prof^a. Regina Cély Rodrigues Barroso, D.Sc.

Prof. Edgar Francisco Oliveira de Jesus, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ –BRASIL
FEVEREIRO DE 2012

Rodrigues, Leonardo

Estudo de Agrotóxicos Usados em Agricultura
Através da Técnica de Difração de Raios X/ Leonardo
Rodrigues. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2012.

XIV, 75 p.: il.; 29,7 cm.

Orientador: Delson Braz

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de
Engenharia Nuclear, 2012.

Referências Bibliográficas: p. 65-75.

1. Agrotóxicos. 2. Difração de Raios X. I. Braz,
Delson. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro,
COPPE, Programa de Engenharia Nuclear. III. Título.

Aos meus pais, Leomar e Neide e a minha irmã, Lilian.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por me dar forças para superar as inúmeras dificuldades.

Ao prof. Dr. Delson Braz, pela oportunidade, orientação e amizade na realização deste trabalho.

À prof. Dr. Regina Cely, pela ajuda e recomendações sobre a técnica de difração de raios X.

Aos alunos de doutorado, Fanny, André e Marcos pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos, Reinaldo e Soraia, pela amizade e ajuda na operação dos equipamentos.

Aos funcionários do Laboratório de Instrumentação Nuclear (LIN-COPPE/UFRJ). Ao Carlos Augusto e Sandro, pela cooperação na manutenção dos equipamentos e realização dos experimentos.

Ao aluno de iniciação científica, Felipe, pela ajuda na realização dos experimentos.

Ao agrônomo, Mário, pela ajuda na obtenção dos agrotóxicos.

A minha querida mãe, pelos conselhos e ajuda nos momentos de dificuldade.

Ao meu pai, por ser meu grande amigo.

A minha irmã, pelos momentos de amizade.

A todos que não tenha mencionado, mas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Resumo da Dissertação apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências (M.Sc.)

ESTUDO DE AGROTÓXICOS USADOS EM AGRICULTURA ATRAVÉS DA TÉCNICA DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X

Leonardo Rodrigues

Fevereiro/2012

Orientador: Delson Braz

Programa: Engenharia Nuclear

Neste trabalho, cinco marcas comerciais de agrotóxicos utilizados em agricultura no Brasil foram caracterizadas por meio da técnica de difração e de raios X. Os compostos comerciais são formados pela mistura de ingredientes ativos e inertes. Entre os ingredientes ativos que compõem os agrotóxicos estudados estão o imidacloprido, a ciromazina, o dimetomorfe, o diafentiurom, a famoxadona e o mancozebe. Estes ingredientes são utilizados em várias formulações de agrotóxicos e, portanto, a caracterização destes compostos servirá como material de referência no caso de alterações em suas estruturas moleculares devido à mistura com outros componentes tóxicos. Além disso, foram investigados perfis de espalhamento de sementes de feijão contaminadas por um dos agrotóxicos estudados. Os parâmetros utilizados para a caracterização dos picos característicos de difração foram: posição dos picos (2θ), as larguras a meia altura (FWHM), distâncias interplanares (d) e suas intensidades relativas ($I/I_{\max}$). Os resultados apontaram que os agrotóxicos analisados são materiais com características cristalinas e que a técnica de difração de raios X foi capaz de caracterizar os diferentes tipos de ingredientes ativos. Além disso, picos encontrados nos perfis de difração das cascas e polpas de feijão contaminados com 10 e 15% de agrotóxico apresentaram flutuações estatisticamente significativas na posição dos picos e FWHM em relação as amostras não contaminadas.

Abstract of Dissertation presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.)

STUDY OF PESTICIDES USED IN AGRICULTURE BY X-RAY DIFFRACTION TECHNIQUE

Leonardo Rodrigues

February/2012

Advisor: DelsonBraz

Department: Nuclear Engineering

In this study, five brands of pesticides used in agriculture in Brazil were characterized by X-ray diffraction technique. The commercial compounds are formed by mixing active and inert ingredients. Among the active ingredients that make up the pesticides studied are the imidacloprid, cyromazine, diafenthiuron, dimethomorph, famaxadone and mancozeb. These ingredients are used in various pesticide formulations and therefore the characterization of these compounds will serve as reference material in the case of amendments at their molecular structures owing to the mixture with other toxic components. In addition, scattering profiles of bean seeds contaminated with pesticides were investigated. The parameters chosen to characterize the characteristic peaks were: peak positions (2θ), width at half peak height (FWHM), interplanar distance (d) and their relative intensity ($I/I_{\max}$). The results showed that the pesticides analyzed are materials with crystalline characteristics and that the technique of X-ray diffraction was able to characterize the different types of active ingredients. In addition, peaks found in the diffraction profiles of the shells and pulps bean contaminated with 10 and 15% pesticide showed statistically significant fluctuations in the position of peaks and FWHM in relation to the uncontaminated sample.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	1
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO II.....	6
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	6
2.1 Agrotóxicos	6
2.1.1 Definição, Terminologias e Formulações.....	6
2.1.2 Classificação dos Agrotóxicos.....	9
2.1.2.1 Classificação Quanto à Finalidade.....	9
2.1.2.2 Classificação Toxicológica	10
2.1.2.3 Classificação Quanto o Grupo Químico	10
2.1.3 Descrição dos Agrotóxicos Estudados	12
2.1.4 Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos e as Técnicas de Análise	19
2.2 Interação da Radiação Eletromagnética com a Matéria	21
2.3 Materiais Cristalinos	22
2.3.1 Redes Cristalinas	22
2.3.2 Sistemas Cristalinos e Redes Bravais	23
2.3.3 Índices de Miller	25
2.4 Difração de Raios X	26
2.4.1 Métodos de Difração	29
2.5 Inferência Estatística – Teste de Hipóteses	32
CAPÍTULO III	34
MATERIAIS E MÉTODOS	34
3.1 Materiais.....	34
3.1.1 Agrotóxicos	34
3.1.2 Amostras de Alimentos	35

3.2 Métodos.....	36
3.2.1 Preparação das Amostras de Agrotóxicos para Análise por Difração de Raios X	36
3.2.2 Processo de Contaminação das Amostras de Feijão por Agrotóxico	37
3.2.3 Análise por Difração de Raios X.....	39
3.2.3.1 Análise de Dados	39
3.2.3.2 Parâmetros de Caracterização dos Agrotóxicos.....	41
3.2.3.3 Parâmetros de Análise de Resíduo de Agrotóxico no Feijão.....	42
CAPÍTULO IV.....	43
RESULTADOS E DISCUSSÕES	43
4.1 Caracterização dos Padrões de Difração de Raios X dos Agrotóxicos.....	43
4.1.1 Perfil de Espalhamento Característico do Agrotóxico da Marca A.....	43
4.1.2 Perfil de Espalhamento Característico do Agrotóxico da Marca B.....	45
4.1.3 Perfil de Espalhamento Característico do Agrotóxico da Marca C.....	47
4.1.4 Perfil de Espalhamento Característico do Agrotóxico da Marca D.....	49
4.1.5 Perfil de Espalhamento Característico do Agrotóxico da Marca E	51
4.2 Perfis de Espalhamento das Amostras de Casca e Polpa de Feijão	53
4.2.1 Perfis de Espalhamento das Cascas e Polpas de Feijão Orgânico e Convencional Não Contaminado.....	53
4.2.2 Perfis de Espalhamento das Cascas e Polpas de Feijão Contaminadas por Agrotóxico	57
CAPÍTULO V	62
CONSIDERAÇÕES FINAIS E SUGESTÕES	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 2.1: Estrutura química de compostos do grupo alifático aromático heterocíclico.	12
Figura 2.2: Fórmula estrutural do grupo químico triazina.	14
Figura 2.3: Série de pontos arranjados representando um cristal.	23
Figura 2.4: Representação de uma célula unitária.	23
Figura 2.5: Ilustração das 14 Redes Bravais.	25
Figura 2.6: Representação de dois planos que cortam um cristal cúbico	26
Figura 2.7: Efeito da diferença de caminho na fase de uma onda.	27
Figura 2.8: Difração de raios X por um cristal.	28
Figura 2.9: Exemplo de um difratograma de uma amostra de mineral, produzido durante um escaneamento por difração de raios X.	31
Figura 2.10: Perfil de difração de um material amorfo, sangue humano.	31
Figura 3.1: Embalagem contendo agrotóxico da Marca A na forma de grânulos. (As informações sobre o fabricante foram preservadas).	34
Figura 3.2: Sementes de feijão comercializadas em embalagens de um quilograma. (a) feijão preto comum; (b) feijão preto orgânico.	35
Figura 3.3: (a) Materiais para trituração. (b) agrotóxico em forma de pó.	36
Figura 3.4: Porta-amostras preenchidos com os agrotóxicos utilizados neste estudo.	37
Figura 3.5: Amostras de agrotóxicos armazenadas em recipientes plásticos.	37
Figura 3.6: Sementes de feijão separadas em cascas e polpas.	38
Figura 3.7: Amostra de casca e polpa de feijão de cada Grupo sujeitas a análise por difração de raios X.	39
Figura 3.8: Visão interna dos principais componentes do difratômetro XRD 6000.	40
Figura 3.9: Ilustração de um ajuste de curvas de um padrão de difração de agrotóxico utilizando o software Origin8.	42
Figura 4.1: Difratograma do agrotóxico da marca A, numa varredura de 5° a 60°.	43

Figura 4.2: Difratoograma do agrotóxico da marca B, numa varredura de 5° a 60°.	46
Figura 4.3: Difratoograma do agrotóxico da marca C numa varredura de 5° a 60°.	48
Figura 4.4: Difratoograma do agrotóxico da marca D numa varredura de 5° a 60°.	49
Figura 4.5: Difratoograma do agrotóxico da marca E, numa varredura de 5° a 60°.	51
Figura 4.6: Difratoogramas dos agrotóxicos estudados.	53
Figura 4.7: Difratoograma da casca de feijão orgânico, numa varredura de 5° a 60°.	54
Figura 4.8: Difratoograma da polpa de feijão orgânico, numa varredura de 5° a 60°.	54
Figura 4.9: Difratoograma da casca de feijão do Grupo I, numa varredura de 5° a 60°.	55
Figura 4.10: Difratoograma da polpa de feijão do Grupo I, numa varredura de 5° a 60°.	55
Figura 4.11: Difratoograma da casca de feijão orgânico e casca de feijão do Grupo I.	56
Figura 4.12: Difratoograma da polpa de feijão orgânico e polpa de feijão do Grupo I.	57
Figura 4.13: Difratoograma da casca de feijão não contaminada e das contaminadas com 1%, 3%, 5%, 10% e 15% do agrotóxico da marca A.	57
Figura 4.14: Difratoograma da polpa de feijão não contaminada e das contaminadas com 1%, 3%, 5%, 10% e 15% do agrotóxico da marca A.	59

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 2.1: Principais formulações de agrotóxicos comercializados.	8
Tabela 2.2: Classificação toxicológica dos agrotóxicos.	10
Tabela 2.3: Classificação química das principais classes de pesticidas.	11
Tabela 2.4: Características de identificação do imidacloprido.	14
Tabela 2.5: Características de identificação da ciromazina.	15
Tabela 2.6: Características de identificação do diafentiurom.	16
Tabela 2.7: Características de identificação do dimetomorfe.	17
Tabela 2.8: Características de identificação da famoxadona.	18
Tabela 2.9: Características de identificação do mancozeb.	19
Tabela 2.10: Sistemas Cristalinos.	24
Tabela 3.1: Tipos de agrotóxicos utilizados neste estudo. Informações contidas na bula dos produtos.	35
Tabela 3.2: Quantidades de agrotóxico a que cada grupo de casca e polpa de feijão foi exposto.	38
Tabela 3.3: Parâmetros de operação do difratômetro de raios X (LIN).	41
Tabela 4.1: Valores dos parâmetros de caracterização do perfil de difração do agrotóxico da marca A.	45
Tabela 4.2: Valores dos parâmetros de caracterização do perfil de difração do agrotóxico da marca B.	47
Tabela 4.3: Valores dos parâmetros de caracterização do perfil de difração do agrotóxico da marca C.	48
Tabela 4.4: Valores dos parâmetros de caracterização do perfil de difração do agrotóxico da marca D.	50
Tabela 4.5: Valores dos parâmetros de caracterização do perfil de difração do agrotóxico da marca E.	52
Tabela 4.6: Valores de picos e largura a meia altura dos perfis de difração correspondentes a cada grupo de casca de feijão contaminado com agrotóxico. Valores dados em graus.	58
Tabela 4.7: Valores T da comparação entre as médias de posição de pico e largura a meia altura nos processos de contaminação das cascas.	59

Tabela 4.8. Posições de pico (2θ) encontradas nos perfis de espalhamento das polpas de feijão. Valores dados em graus.	60
Tabela 4.9. Valores T da comparação entre as médias de posição de pico nos processos de contaminação das cascas por agrotóxico.	60
Tabela 4.10. Valores de largura a meia altura (FWHM), dados em graus, e distribuição T de Student para diferença entre médias da polpa de feijão não contaminada (Grupo I) e das polpas contaminadas.	61

LISTA DE SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CAS	Chemical Abstracts Service
DDT	Diclorodifeniltricloreto
I.A	Ingrediente Ativo
LIN	Laboratório de Instrumentação Nuclear
LMR	Limite Máximo de Resíduo
PARA	Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
SINDAG	Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola
XRPD	Difratometria de Materiais Policristalinos

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da humanidade, a presença de pragas nas lavouras tem causado danos ao homem, seja diminuindo a quantidade de alimentos a serem colhidos ou transmitindo doenças a pessoas ou animais que as cercam.

Existem inúmeros métodos de controle de pragas. Costuma-se dizer que uma praga está controlada quando seus níveis populacionais estão sob controle. Dados históricos relatam que na Antiguidade, o homem fazia uso de substâncias naturais como instrumentos de proteção das lavouras contra seres vivos nocivos, sem causar danos ao meio ambiente (FUNASA, 2001).

Com o passar do tempo, devido ao crescimento da população humana, a agricultura passou a ser orientada para uma atividade comercial, cujo foco é a produtividade. Por conseguinte, a necessidade de se aumentar a produção de alimentos para suprir a demanda tornou necessário o uso de novas tecnologias e produtos para o controle de pragas (MAGALHÃES, 2010).

Com a justificativa de melhorar a produção agrícola, as indústrias químicas passaram a desenvolver os chamados pesticidas, também denominados agrotóxicos, agroquímicos, biocidas, praguicidas e defensivos agrícolas. Os pesticidas são substâncias químicas especificamente desenvolvidas e produzidas para o uso no controle de pragas agrícolas e de saúde pública, para aumentar a produção de alimentos e facilitar os métodos agrícolas modernos (STENERSEN, 2004). Segundo VELASCO e CAPANEMA (2006), a Segunda Guerra Mundial foi um ponto crucial para o avanço técnico-científico na formulação de substâncias organossintéticas com características pesticidas.

De acordo com CARDONA (2004) por volta da década de 40 apareceu a primeira linha de produtos sintéticos conhecidos como organoclorados. Dentro desse grupo estava inserido o diclorodifeniltricloreto (DDT) que inicialmente foi desenvolvido para fins bélicos, porém com a descoberta do químico suíço Paul Müller de que o DDT possuía forte ação pesticida, este foi rapidamente adotado no setor agrícola para o controle de pragas devido a sua alta eficiência em curto prazo. Com o sucesso dessas substâncias no combate a espécies nocivas à agricultura, o uso de

agroquímicos sofreu enorme disseminação e, assim, ocasionaram uma profunda mudança nos métodos de controle fitossanitários aplicados na agricultura.

Segundo CANTOS (2008), a partir de 1950 países da Europa e os Estados Unidos intensificaram o uso de agroquímicos na agricultura com o propósito de aumentar os níveis de produtividade buscando atender a necessidade apresentada no cenário Pós-2ª Guerra. Posteriormente, o modelo de tecnologia agrícola sustentado pela utilização demasiada de insumos industriais (fertilizantes e agroquímicos), sementes melhoradas e mecanização, veio a ser implantado pelos países do chamado Terceiro Mundo.

No Brasil, os agrotóxicos foram inicialmente utilizados em programas de saúde pública, no controle de parasitas. Em 1975, através do Plano Nacional de Desenvolvimento, o país iniciou uma política de abertura ao comércio de agrotóxicos proporcionando aos agricultores facilidades na aquisição de agroquímicos. Essa política de incentivo e a repercussão da ação dos agrotóxicos no combate às pragas provocaram a expansão do uso dessas substâncias no Brasil (OPAS/OMS, 1996).

Segundo FERREIRA *et al.* (2002), atualmente, o mercado de agrotóxicos representa uma grande parcela do faturamento de empresas químicas que atuam no setor agropecuário. Segundo HOFMANN *et al.* (2010) o mercado mundial de agrotóxicos movimentou aproximadamente US\$ 33 bilhões em 2007.

Entre os países consumidores de agrotóxicos, o Brasil ocupa posição de destaque. Segundo o Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (SINDAG), o Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos do mundo, consumindo no ano de 2009 aproximadamente 725,6 mil toneladas dessas substâncias e movimentando US\$ 6,62 milhões (FIOCRUZ, 2010).

Apesar de trazerem benefícios à produção agrícola, o uso intenso de agrotóxicos pode proporcionar danos tanto ao meio ambiente quanto ao próprio homem. Segundo RECENA & CALDAS (2008) a exposição humana a agrotóxicos constitui um problema de saúde pública em todo o mundo. Para PERES *et al.* (2007), as consequências danosas sobre a saúde humana provocadas pelo uso de agrotóxicos é atualmente uma das principais prioridades do meio científico mundial.

Estudo realizado LEVERIDGE (1998) na Costa Rica sobre a exposição de trabalhadores rurais a agrotóxicos mostrou que dos 1274 casos analisados, 38,5% foi devido à exposição ocupacional e 33,8 % à exposição acidental. Os principais sintomas apresentados foram náusea, vômito, dores de cabeça, espasmos abdominais e tonteira.

Outros fatores que tem despertado preocupação quanto à utilização de pesticidas são a contaminação de alimentos e a degradação ambiental.

Segundo KLINGMAN *et al.* (1982), prever o comportamento dos pesticidas e sua interação com o meio ambiente é um processo complicado pois, o destino dessas substâncias no ambiente irá depender de fatores como as propriedades físico-químicas, a quantidade e frequência de uso, métodos de aplicação e características bióticas e abióticas ambientais.

De acordo com TERRA e PEDLOWSKI (2009), outro problema de saúde pública é a presença de resíduos de agrotóxicos nas cascas e no interior de alimentos. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (2006), a preocupação com indícios de agrotóxicos em alimentos é tão antiga quanto à introdução destes produtos na agricultura, porém, somente em anos mais recentes, é que os avanços na área científica vêm permitindo a avaliação da qualidade dos alimentos que chegam ao consumidor.

Devido à ampla utilização de agrotóxicos em todo o mundo e sua toxicidade, estes estão entre os compostos mais investigados nos produtos agrícolas (QUEIROZ *et al.*, 2008). A busca por novas formulações e a preocupação em controlar os níveis de resíduos em alimentos e no meio ambiente têm despertado o interesse de pesquisadores em analisar as características dessas substâncias através da caracterização da estrutura química e física.

Entre as técnicas de caracterização ou identificação de substâncias pode-se destacar a espectrometria no infravermelho, de ressonância magnética nuclear, de massa, de raios X e de ressonância de spin eletrônico (SILVA, 2008).

Segundo STEVENSON (1994) essas técnicas podem ser empregadas com pequenas quantidades da amostra, representando baixo custo em relação a outras técnicas, além de serem métodos de fácil aplicação.

A técnica de espectrometria de raios X se baseia na medida da emissão, absorção, dispersão, fluorescência e difração da radiação eletromagnética. A difração de raios X é uma técnica de análise da matéria baseada no espalhamento coerente de raios X, no qual a onda espalhada tem direção definida, mesma fase e a mesma energia em relação à onda incidente (ARAÚJO, 2009).

Existem duas principais aplicações da difratometria por raios X. A primeira refere-se à cristalografia cujo interesse está na determinação da estrutura das fases cristalinas. Neste tipo de aplicação são utilizados normalmente monocristais. Por outro

lado, a difratometria de materiais policristalinos (XRPD), utiliza a amostra na forma de pó (SURYANARAYANAN & RASTOGI, 2001). A difratometria pelo método do pó é dita única, pois somente este método analítico é hábil a proporcionar informações qualitativas e quantitativas de substâncias presentes em uma amostra sólida (ARAÚJO, 2006).

Por ser uma técnica eficaz na análise de materiais cristalinos e em estudos recentes de materiais amorfos, a difração de raios X pelo método do pó tem sido empregada na investigação de inúmeros compostos. CHERNYSHEV e MONAKHOVA (2010) caracterizaram cinco derivados de dienodiaminocetonas através da técnica de difração. WANG *et al.* (2005) estudaram as propriedades de dois surfactantes e suas interações com o pesticida Clorpirifós utilizando a técnica XRPD. KAN *et al.* (2011) analisaram, por meio da difração de raios X e espectroscopia de infravermelho, uma série de estruturas orgânicas-metálicas com propriedades luminescentes.

Como outro exemplo da utilização dessa técnica pode-se citar o estudo realizado por ZHAO Yuet *al.* (2010) no qual, novos compostos de neonicotinóides com potencial ação pesticida foram projetados e sintetizados. As estruturas desses compostos foram caracterizadas utilizando as técnicas de espectrometria por ressonância magnética nuclear de ^1H , análise elementar e difração de raios X.

Os agrotóxicos são utilizados no controle de pragas nos mais diversos gêneros alimentícios, no entanto, estes produtos podem ser prejudiciais à saúde e ao meio ambiente. Portanto, obter o maior número de informações sobre essas substâncias poderá ajudar no desenvolvimento de substâncias menos nocivas além de ajudar no controle e cadastramento destes produtos.

Segundo JARDIM e ANDRADE (2009), o estudo das características físicas, químicas e biológicas, intrínsecas de compostos orgânicos que podem ocasionar danos à natureza e ao homem, é fundamental para a obtenção de informações sobre a reatividade, toxicidade e mobilidade desses compostos no ambiente. Além disso, todas estas informações são essenciais na tomada de decisão para se tratar um sítio contaminado.

Este trabalho tem como objetivo caracterizar alguns agrotóxicos comercializados no Brasil por meio da técnica de difração de raios X. Os ingredientes principais destes agrotóxicos podem ser encontrados em diversas formulações, portanto, a caracterização destes produtos poderá servir como material de referência, uma vez que, levantados os perfis de espalhamento, quaisquer modificações estruturais nas moléculas devido à

mistura destes com outras substâncias tóxicas poderão ser identificadas utilizando esta mesma técnica.

Além disso, nesta pesquisa, espectros de difração de raios X de cascas e polpas de sementes de feijão contaminadas com agrotóxico foram comparados com espectros de sementes não contaminadas de modo a avaliar se a técnica de difração de raios X pode ser utilizada na percepção de resíduos de agrotóxicos em alimentos.

No capítulo II são apresentados os fundamentos teóricos relacionados aos agrotóxicos e a técnica de difração de raios X.

No capítulo III são abordados os materiais utilizados e os métodos realizados na caracterização dos agrotóxicos e análise das sementes de feijão contaminadas.

No capítulo IV são apresentados os resultados das análises realizadas com as técnicas aplicadas e discussões a respeito dos mesmos.

No capítulo V são apresentadas as conclusões e sugestões para futuros trabalhos.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste capítulo serão abordados conceitos gerais sobre os agrotóxicos, características dos agrotóxicos estudados e fundamentos da técnica de difração de raios X.

2.1 Agrotóxicos

2.1.1 Definição, Terminologias e Formulações

As substâncias químicas destinadas à proteção de culturas agrícolas e áreas urbanas contra a ação danosa de formas de vida animal e/ou vegetal são denominadas pesticidas, também conhecidos como agroquímicos, agrotóxicos, biocidas, defensivos agrícolas e praguicidas (MOURA, 2008).

No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento estabelece que a denominação mais adequada para essas substâncias é o termo agrotóxico. A Lei nº 7.802/1989, regulamentada pelo Decreto nº 4.074/2002, tem como definição:

Agrotóxicos e afins – produtos e agentes de processos físico, químico ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantações, de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da fauna ou da flora, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento (BRASIL, 2002).

O termo biocida não é muito utilizado na literatura científica. O termo pode designar todas as substâncias que são tóxicas e que matam diferentes formas de vida. Sais de Mercúrio (Hg^{++}), por exemplo, podem ser denominados biocidas por causa da sua toxicidade contra inúmeros organismos (STENERSEN, 2004).

Os agrotóxicos são constituídos por uma vasta gama de compostos químicos ou biológicos com a função de exterminar, repelir ou controlarem processos específicos. A constituição básica dos agrotóxicos é formada pelo ingrediente ativo, o diluente e o aditivo. O ingrediente ativo corresponde a produtos químicos, na forma sólida ou

líquida, que se encontra em pequenas porções nas formulações sendo o responsável pelo combate à praga ou doença que se deseja tratar. Sua concentração é expressa em gramas por litro do produto comercial, em percentagem, ou partes por milhão em peso unitário. O diluente ajuda a manter a dispersão e suspensão do ingrediente ativo. Sua presença aumenta a segurança no manuseio do pesticida, além de proporcionar uma repartição mais homogênea do ingrediente ativo no alvo a ser tratado. Os aditivos são substâncias surfactantes que melhoram a eficiência do agrotóxico pela alteração de suas propriedades físicas, químicas e biológicas (SANTOS, 2000).

Geralmente, a aplicação direta do ingrediente ativo no ambiente não é adequada, sendo, portanto necessária uma forma conveniente para utilização efetiva e segura. A formulação do agrotóxico permite a união do ingrediente ativo com elementos inertes, de modo a obter uma concentração apropriada para manipulação, aplicação e dispersão do pesticida, além de melhorar a eficácia do produto contra a espécie alvo a ser controlada. Na maioria dos casos, os compostos que constituem os ingredientes inertes são mantidos em sigilo por parte dos fabricantes de pesticidas (COX, 1999).

Existem diversos tipos de formulações comercializadas e em muitos casos, formulações diferentes com o mesmo ingrediente ativo (SUPERINTENDÊNCIA DE CONTROLE DE ENDEMIAS (SUCEN), 2000). Estima-se que no Brasil existam cerca de 300 princípios ativos adotados em 2 mil formulações comerciais diferentes (PEROSSO e VICENTE, 2007).

Existem dois tipos de formulações: as não comerciais e as comerciais. As formulações não comerciais equivalem aos produtos técnicos, que são substâncias obtidas diretamente da matéria prima por processos químicos, físicos ou biológicos, e aos produtos de padrão analítico, os quais são utilizados para controlar a qualidade das preparações formuladas (SUCEN, 2000).

As formulações comerciais são fabricadas sob as formas líquidas ou sólidas. As formulações líquidas são produzidas como soluções, emulsões ou suspensões, nas quais o ingrediente ativo é diluído em solventes adequados. As formulações sólidas são apresentadas na forma de pó, granulado ou isca, podendo ser aplicadas diretamente ou após processo de diluição (SUCEN, 2000).

As formulações voltadas para a comercialização são divididas em: formulações para diluição em água, para diluição em outros solventes e as de aplicação direta. A tabela 2.1 apresenta os principais modos de formulação dos agrotóxicos e suas respectivas características.

Tabela 2.1: Principais formulações de agrotóxicos comercializados (SUCEN, 2000).

Modo de Aplicação	Tipo de Formulação	Características
Diluição em água	Concentrado Emulsionável (CE)	É constituído do princípio ativo, emulsionante e o solvente. Após diluição em água, resulta uma emulsão.
	Suspensão Concentrada (SC)	Constituído por uma suspensão de ingrediente ativo, agente molhante, dispersante e suspensor em água.
	Pó Solúvel (PS)	Formulações na forma de pó que quando adicionado à água são dissolvidos e formam soluções. Alta percentagem de ingrediente ativo.
	Pó Molhável (PM)	Formulações na forma de pó constituída pelo ingrediente ativo misturado a agentes dispersantes e umectantes que facilitarão a dispersão em água.
	Microencapsulado	Microcápsulas formadas pela mistura do ingrediente ativo, agente molhante, dispersante e suspensor.
Diluição em outros solventes	Solução Não Aquosa	Constituída do princípio ativo em pequena quantidade diluído em óleo ou solventes especiais.
Aplicação Direta	Pó Seco (P)	Formulação sólida na forma de pó na qual o princípio ativo é misturado a um pó inerte na concentração em que será aplicado.
	Granulado (GR)	Formulação sólida na forma de granulado na qual o ingrediente ativo e o material inerte são envolvidos em uma proteção. O princípio ativo é liberado de forma lenta e controlada.
	Isca	Formulação sólida contendo o ingrediente ativo e uma substância que irá atrair o alvo desejado.

2.1.2 Classificação dos Agrotóxicos

Os ingredientes ativos dos agrotóxicos representam uma enorme gama de estruturas químicas que incluem inúmeros agentes biológicos. Devido à grande complexidade das estruturas, sistemas de classificação são necessários para acomodar a crescente diversidade dos agentes químicos e biológicos usados no controle de pragas (KRIEGER, 2001).

Os pesticidas podem ser classificados de diversas maneiras. A classificação pode ser baseada de acordo com a espécie-alvo a qual o pesticida é destinado, a natureza química, o modo de ação e a toxicidade (CARAPETO, 1999).

2.1.2.1 Classificação Quanto à Finalidade

Quanto a sua função os agrotóxicos podem ser classificados em (YAMASHITA, 2008):

- Inseticidas: utilizados no controle de insetos;
- Fungicidas: função de destruir ou inibir fungos;
- Herbicidas: utilizados no combate às plantas invasoras;
- Raticidas: utilizados no combate a ratos e outros roedores;
- Moluscocidas: função de combater moluscos;
- Nematicidas: função de combater nematóides;
- Acaricidas: utilizados no combate a ácaros;
- Desfolhantes: função de eliminar folhas indesejadas;
- Fumigantes: utilizados no combate às bactérias do solo.

Dentre os agrotóxicos utilizados, os mais consumidos são os herbicidas, seguidos dos inseticidas, fungicidas e acaricidas (JARDIM e ANDRADE, 2009). Segundo o INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA (2010), a classe dos herbicidas correspondeu pelo maior valor de vendas de defensivos agrícolas em 2009. Os inseticidas responderam por 19% da quantidade total vendida em produto comercial. A comercialização de fungicidas correspondeu a 89.889 toneladas de produto comercial e 37.934 toneladas de ingrediente ativo.

2.1.2.2 Classificação Toxicológica

O grau de periculosidade ambiental de um agrotóxico é baseado em estudos físico-químicos, toxicológicos e ecotoxicológicos. A periculosidade ambiental varia de acordo com as classes de I (altamente tóxico ao meio ambiente) a IV (pouco tóxico ao meio ambiente). A classificação dos agrotóxicos quanto aos efeitos provocados à saúde humana em decorrência da exposição a essas substâncias obedece a testes realizados em laboratórios que estabelecem a dosagem letal (DL) do agrotóxico em 50% dos animais utilizados naquela concentração (RIBAS e MATSUMURA, 2009). A tabela 2.2 apresenta de forma resumida a classificação dos agrotóxicos conforme o nível de dano ao ambiente e aos humanos.

Tabela 2.2: Classificação toxicológica dos agrotóxicos.

Classe Toxicológica	Toxicidade	DL50	Faixa Colorida (advertência)
I	Extremamente Tóxico	< 5mg/kg	Vermelha
II	Altamente Tóxico	Entre 5 e 50 mg/kg	Amarela
III	Mediamente Tóxico	Entre 50 e 500 mg/kg	Azul
IV	Pouco Tóxico	Entre 500 e 5000mg/kg	Verde
-	Muito Pouco Tóxico	Acima de 5000mg/kg	-

2.1.2.3 Classificação Quanto o Grupo Químico

Caso a classificação dos agrotóxicos seja realizada de acordo com a estrutura química, pode-se primeiramente distingui-los em orgânicos e inorgânicos. Os agrotóxicos inorgânicos são constituídos de elementos tóxicos, tais como, arsênico, mercúrio, chumbo e cobre (CARAPETO, 1999). Os agrotóxicos orgânicos apresentam átomos de carbono em sua estrutura química e podem ser divididos em sintéticos, aqueles que são fabricados pelo homem, e naturais.

Os inseticidas, herbicidas e fungicidas estão divididos em diferentes grupos químicos. A tabela 2.3 apresenta os principais grupos químicos nos quais as três principais classes de pesticidas estão inseridas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Tabela 2.3: Classificação química das principais classes de pesticidas.

Classe	Grupos Químicos
Inseticidas	Organoclorados
	Organofosforados
	Carbamatos
	Piretróides (sintéticos)
Fungicidas	Ditiocarbamatos
	Organoestânicos
	Dicarboximidas
Herbicidas	Glicina substituída
	Derivados do ácido fenóxiacético
	Dinitrofenóis
	Pentaclorofenol

Os agrotóxicos organoclorados são compostos químicos formados basicamente por carbono, cloro e hidrogênio. Suas principais características são: alta estabilidade e toxicidade, baixa biodegradabilidade e biossolubilidade em tecido lipídico (QUINETE, 2005). Alguns exemplos de agrotóxicos organoclorados são o DDT, HCB, aldrin e dieldrin. O mecanismo de ação desse grupo químico de agrotóxicos ocorre por meio da ingestão ou contato, bloqueando a transmissão de impulsos nervosos.

Os compostos organofosforados apresentam estrutura química originária do ácido fosfórico (figura 2.1). Essas substâncias são altamente lipossolúveis e atuam como inibidores das enzimas colinesterases, ocasionado o aumento dos impulsos nervosos (JÚNIOR *et al.*, 1999).

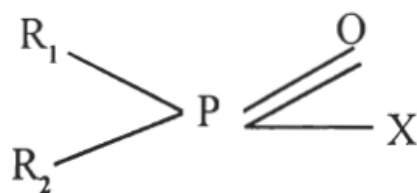


Figura 2.1: Estrutura química de compostos do grupo alifático aromático heterocíclico (JÚNIOR *et al.*, 1999).

Os carbamatos são agrotóxicos orgânicos derivados do ácido carbâmico. São compostos muito instáveis em condições neutras e alcalinas, à temperatura ambiente. Os carbamatos agem através da inibição da enzima acetilcolinesterase (GALLI *et al.*, 2006).

Os piretróides são derivados sintéticos das piretrinas que são ésteres tóxicos isolados de algumas espécies de flores. Atualmente, correspondem aos inseticidas mais utilizados devido à baixa toxicidade em mamíferos, baixo impacto ambiental e efetividade contra uma larga gama de insetos. O modo de ação ocorre pela interferência da transmissão de impulsos nervosos (SANTOS, 2007).

Os inseticidas organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides fazem parte da chamada Segunda Geração de inseticidas. Essa geração de inseticidas por possuir um largo espectro pode atingir organismos alvos e neutros. No entanto, a partir de 1990 foi lançada a Terceira Geração de Inseticidas, com características menos tóxicas. Neste grupo estão incluídos os reguladores de crescimento, os fago-inibidores e os neonicotinóides (FARIA, 2009).

Outro grupo de agrotóxicos bastante populares são os inibidores de fotossíntese. Esses grupos são caracterizados por várias formas estruturais nas quais existe a presença do nitrogênio. Entre esses compostos estão os derivados de uréia, s-triazinas, uracilas, hidroxibenzonitrilas, nitrofenóis e benzimidazóis (STENERSEN, 2004).

2.1.3 Descrição dos Agrotóxicos Estudados

Os agrotóxicos estudados neste trabalho são utilizados no controle de pragas na cultura do feijão e de outros alimentos e pertencem à classe dos inseticidas e dos fungicidas. Dentre a classe dos inseticidas estão o imidacloprido do grupo químico neonicotinóide, a ciromazina pertencente ao grupo químico triazinaamina e o

diafentiurom do grupo químico das feniltiouréias. Os fungicidas estudados são o dimetomorfe da classe química da morfolina, a famoxadona e o mancozebe dos grupos químicos oxazolidinadionas e dimetilditiocarbamatos, respectivamente (ANVISA, 2011). Nos parágrafos seguintes serão fornecidas informações sobre esses compostos.

IMIDACLOPRIDO

Os neonicotinóides correspondem a uma das classes de inseticidas mais comercializadas no mundo. São usados principalmente para proteção de cultivos contra espécies de insetos sugadores. Esses produtos são metabolizados pelas plantas e através de processos de oxidação, redução, clivagem e conjugação se tornam substâncias menos tóxicas que outros agrotóxicos similares (FORD *et al.*, 2011).

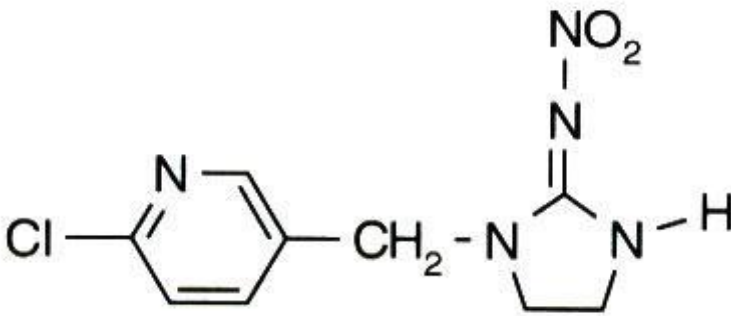
O principal representante dos inseticidas neonicotinóides é o imidacloprido ou imidacloprid. O imidacloprido foi o primeiro inseticida neonicotinóide com ação sobre receptores de acetilcolina e devido sua alta eficácia no controle de insetos e baixa toxicidade a mamíferos foi rapidamente adotado na agricultura (KRIEGER, 2001). Desde que foi introduzido no mercado, em 1992, o imidacloprido teve seu uso aumentado anualmente e vem substituindo, no comércio mundial, os compostos organofosforados e metilcarbamatos (DEPARTMENT OF PESTICIDE REGULATION, 2006).

A toxicidade do imidacloprido é em grande parte devido à interferência da neurotransmissão no sistema nervoso. A ativação prolongada dos receptores de acetilcolina por ação do imidacloprido leva a descoordenação, tremores e diminuição da temperatura corporal (DEPARTMENT OF PESTICIDE REGULATION, 2006).

O imidacloprido é considerado um contaminante em potencial de águas subterrâneas. As principais vias de dissipação do imidacloprido no ambiente são a fotólise aquosa, a degradação microbiana e absorção pelas plantas (DEPARTMENT OF PESTICIDE REGULATION, 2006).

No Brasil, o imidacloprido é autorizado para controle de vetores nas culturas de abacaxi, abóbora, abobrinha, alface, algodão, alho, almeirão, amendoim, arroz, feijão, tomate entre outras (ANVISA, 2011). A tabela 2.4 apresenta algumas características do imidacloprido.

Tabela 2.4: Características de identificação do imidacloprido (ANVISA, 2011).

Nome Comum	IMIDACLOPRID
Nome químico	1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine
Fórmula Bruta	C ₉ H ₁₀ ClN ₅ O ₂
Nº CAS	138261-41-3
Classificação toxicológica	Classe III
Fórmula Estrutural	

CIROMAZINA

A maior parte das triazinas são derivados simétricos da 1,3,5-triazina-2,4-diamina (figura 2.2), embora existam outras possibilidades (STENERSEN, 2004).

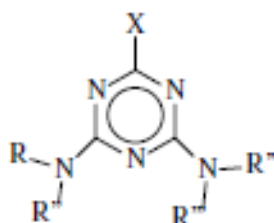


Figura 2.2: Fórmula estrutural do grupo químico triazina (STENERSEN, 2004).

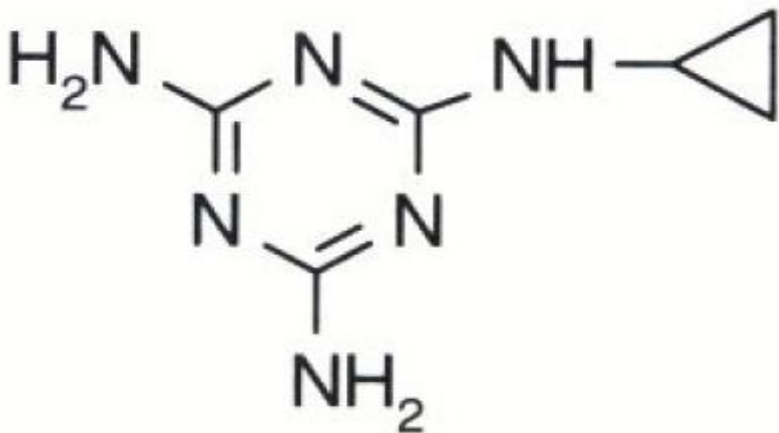
Entre os agrotóxicos do grupo triazina, destaca-se o inseticida sistêmico ciromazina. A ciromazina é uma s-triazina atipicamente substituída e atua como regulador de crescimento de insetos, possuindo boa atividade contra espécies dípteras

através do rápido enrijecimento da cutícula que reveste o corpo dessas espécies (JEMÂA e BOUSHIH, 2010).

Estudos realizados para avaliar a toxicidade da ciromazina mostraram que quando esta é administrada por via oral em ratos, ela é rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal e distribuída para todos os órgãos e tecidos, sendo excretada quase que totalmente pela urina num período de 24 horas. Os sinais de intoxicação foram sedação, dispneia, posição curvada e perda de pelo. Após inalação, o sinal clínico observado foi o corrimento nasal (DEPARTMENT FOR ENVIRONMENT, FOOD AND RURAL AFFAIRS, 1993).

No Brasil, a ciromazina tem sua utilização autorizada no controle de pragas que atacam as culturas de batata, crisântemo, feijão, feijão-vagem, melância, melão, pepino e tomate (ANVISA, 2011). Algumas propriedades da ciromazina são apresentadas na tabela 2.5.

Tabela 2.5: Características de identificação da ciromazina (ANVISA, 2011).

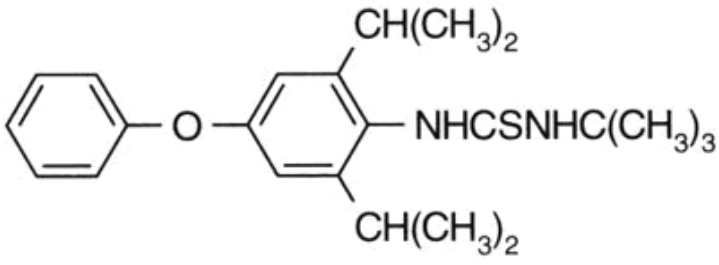
Nome comum	CYROMAZINE
Nome químico	N-cyclopropyl-1,3,5-triazine,2,4,6-triamine
Fórmula Bruta	$C_6H_{10}N_6$
Nº CAS	66215-27-8
Classificação Toxicológica	Classe IV
Fórmula Estrutural	

DIAFENTIUROM

O diafentiurom é um composto do grupo tiouréia com ação sobre os sítios bioquímicos, inibindo a ação mitocondrial e o metabolismo energético, tornando-o uma ferramenta viável para o gerenciamento de insetos e ácaros. A seletividade do diafentiurom está associada ao metabolismo de oxidação microsomal. Essa propriedade permite que o diafentiurom seja menos tóxico para insetos benéficos (PREETHA *et al*, 2009). Na presença de luz e oxigênio, o diafentiurom é convertido para o composto ativo 3-(2,6-diisopropyl-4-fenoxyphenyl)-1-tert. Butylcarbodiimide, o qual inibe a atividade da ATP-ase e ATP-síntese (DELBEKE *et al.*,1997).

De acordo com a ANVISA (2011) o diafentiurom é autorizado nas culturas de algodão, café, citros, feijão, melancia, melão, repolho, rosa e tomate. A tabela 2.6 mostra algumas características do diafentiurom.

Tabela 2.6: Características de identificação do diafentiurom (ANVISA, 2011).

Nome comum	DIFENTHIURON
Nome químico	1-tert-butyl-3-(2,6-di-isopropyl-4-phenoxyphenyl) thiourea
Fórmula bruta	C ₂₃ H ₃₂ N ₂ OS
Nº CAS	80060-09-9
Classificação Toxicológica	Classe III
Fórmula estrutural	

DIMETOMORFE

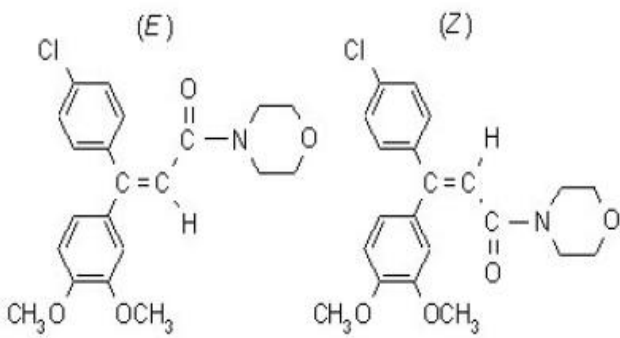
As morfolinas são compostos sistêmicos com qualidades curativas e preventivas. Essas substâncias são capazes de inibir enzimas chamadas Δ^{14} -redutase, que saturam a ligação dupla entre o carbono 14 e 15, e Δ^8 - Δ^7 isomerase, a qual altera a localização da ligação dupla. Os fungicidas pertencentes a este grupo foram descritos em 1967, no

entanto, seu modo de ação foi esclarecido muito mais tarde (STENERSEN, 2004). O dimetomorfe é um fungicida sistêmico, que protege as plantas de fungos tais como requeima e míldio. Sua ação afeta a produção da parede celular dos fungos através da inibição da síntese de esteróis. Esse composto possui baixa mobilidade em solo e baixa lixiviação (MINISTRY OF AGRICULTURE, FOOD AND FISHERIES, 2004).

Estudo sobre a toxicologia do dimetomorfe em ratos e coelhos indica que este composto não apresenta maior susceptibilidade em indivíduos no útero ou em período pré-natal. A pesquisa também avaliou a exposição de trabalhadores rurais ao dimetomorfe e não foram notificados efeitos adversos à saúde utilizando-se a quantidade recomendada pelo fabricante (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1998).

No Brasil, o dimetomorfe tem seu uso autorizado nas culturas de batata, cebola, melão, rosa e tomate (ANVISA, 2011). Algumas definições do dimetomorfe são apresentadas na tabela 2.7.

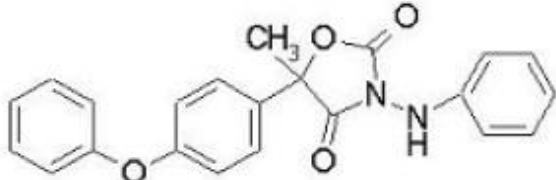
Tabela 2.7: Características de identificação do dimetomorfe (ANVISA, 2011).

Nome comum	DIMETHOMORPH
Nome químico	(E)-4-[3-(4-chlorophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)acryloyl]morpholine
Fórmula bruta	C ₂₁ H ₂₂ ClNO ₄
N° CAS	110488-70-5
Classificação Toxicológica	Classe III
Fórmula Estrutural	

FAMOXADONA

A famoxadona é um fungicida pertencente à classe oxazolidinodiona altamente ativo contra germinação de esporos e crescimento micelial (filamentos emaranhados de um fungo) de fungos sensíveis. O mecanismo de ação da famoxadona é a inibição da cadeia respiratória mitocondrial de fungos, ocasionado uma diminuição da produção de ATP pela célula fúngica. Em seres humanos, a famoxadona apresenta um grau de toxicidade entre mínimo e moderado, sendo moderadamente irritante para os olhos e a pele (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA), 2003). A utilização da famoxadona é autorizada no Brasil para as culturas de batata, cebola, cenoura, citros, feijão, maçã, mamão, melancia, melão, tomate e uva (ANVISA, 2011). Os critérios informativos sobre a famoxadona são descritos na tabela 2.8.

Tabela 2.8: Características de identificação da famoxadona (ANVISA, 2011).

Nome comum	FAMAXADONE
Nome químico	3-anilino-5-methyl-5-(4-phenoxyphenyl)-1,3-oxazolidine-2,4-dione
Fórmula bruta	C ₂₁ H ₂₂ ClNO ₄
Nº CAS	131807-57-3
Classificação Toxicológica	Classe III
Fórmula Estrutural	

MANCOZEBE

Os ditiocarbamatos são fungicidas de amplo espectro utilizados na prevenção de doenças fúngicas em vegetais, frutas e flores. Os compostos manebe, zinebe e mancozebe estão entre as principais substâncias inseridas neste grupo. O mancozebe apresenta ação semelhante aos inseticidas carbamatos. Devido o mancozebe ser um inibidor de colinesterase, ele pode afetar o sistema nervoso. Os sintomas da exposição incluem fadiga, dor de cabeça, visão turva e náuseas. Em doses elevadas, as pessoas expostas podem ter convulsões e retardamento do batimento cardíaco. (SHUKLA e

ARORA, 2001). Em território brasileiro, a utilização do mancozebe está autorizada para as culturas de abacate, abóbora, alho, amendoim, arroz, feijão, tomate, trigo entre outras. Na tabela 2.9 são apresentados alguns aspectos de identificação do mancozebe.

Tabela 2.9: Características de identificação do mancozeb (ANVISA, 2011)

Nome comum	MANCOZEB
Nome químico	Manganese ethylenebis(dithiocarbamate) (polymeric) complex with zinc salt
Fórmula bruta	$(C_4H_6N_2S_4Mn)_x (Zn)_y$
Nº CAS	8018-01-7
Classificação Toxicológica	Classe III
Fórmula Estrutural	$\left[\begin{array}{c} \text{CH}_2 - \text{NH} - \text{C} - \text{S} - \\ \quad \quad \quad \parallel \quad \quad \quad \text{S} \\ \text{CH}_2 - \text{NH} - \text{C} - \text{S} - \text{Mn} - \\ \quad \quad \quad \parallel \quad \quad \quad \text{S} \end{array} \right]_x (Zn)_y$

2.1.4 Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos e as Técnicas de Análise

A exposição de seres humanos aos agrotóxicos pode ocorrer através do consumo de alimentos provenientes da produção agropecuária ou pelo contato direto, no caso dos profissionais que realizam o manejo dessas substâncias.

O conjunto de dados obtidos nas análises de resíduos de agrotóxicos dá origem aos valores de limite máximo de resíduos (LMR). O LMR é a quantidade máxima de resíduo de um agrotóxico que pode estar legalmente presente em alimentos ou em suplementos para animais sem causar danos à saúde do consumidor. Seu valor é expresso em miligrama de ingrediente ativo por quilograma de alimento (RODRIGUES, 2006).

No Brasil, desde 2001 o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) avalia os níveis de resíduos de agrotóxicos nos alimentos *in natura* que chegam aos consumidores. Segundo relatório do PARA, em 2009 foram monitorados 20 alimentos e cerca de 230 ingredientes ativos. As principais

irregularidades foram a presença de ingredientes ativos acima do limite máximo de resíduo e a utilização de agrotóxicos não autorizados (ANVISA, 2010).

As técnicas mais utilizadas na determinação de resíduos de agrotóxicos são baseadas em métodos cromatográficos. A cromatografia é utilizada na separação de componentes de uma mistura, baseando-se na distribuição desses componentes entre uma fase estacionária e uma fase móvel (PITELLA, 2009). Durante a passagem da fase móvel sobre a fase estacionária, os componentes da amostra são distribuídos entre as duas fases, de modo que cada componente da mistura fique retido pela fase estacionária, tendo como resultado a migração diferencial que ocasiona a separação dos compostos (VIDOTTI, 2006).

Existe na Literatura uma gama de estudos descrevendo métodos de determinação de multirresíduos de agrotóxicos em alimentos. OVIEDO *et al.*(2003) analisaram resíduos de agrotóxicos piretróides em hortaliças utilizando cromatografia a gás com detector de captura de elétrons e cromatografia a gás acoplada em espectrômetro de massas. Amostras coletadas de um restaurante da Universidade Estadual de Campinas apresentaram resíduos de agrotóxicos acima do LMR, além disso, foram detectados resíduos de agrotóxicos não autorizados para o tipo de alimento analisado no estudo.

ZAVATTI e ABAKERLI (1999) analisaram amostras de tomate, durante dois anos consecutivos, tratadas com os agrotóxicos metamidofós, clorpirifós, captan, clorotalonil, endosulfan, λ -cialotrina, e cobre. O grau de contaminação dos frutos foi realizado através da validação de um método de análise de resíduos múltiplos capaz de identificar esses compostos. Os resultados apontaram que os resíduos na fase de maturação da cultura devem ser monitorados e que não houve contaminação dos frutos pelos agrotóxicos estudados.

ALVES (2010) investigou resíduos de pesticidas organoclorados e organofosforados em óleos essenciais cítricos brasileiros utilizando cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas em modo seletivo de íons (CG-EM-MSI). Foram identificados e quantificados resíduos dos agrotóxicos dicofol e paration acima do LMR em amostras de óleo essencial de laranja e de limão.

CASTRO *et al.* (2005) avaliaram os níveis de resíduos do agrotóxico carbofuran utilizando métodos específicos de análise em amostras de banana *Musa spp.* Foram realizadas nove aplicações distintas de controle químico. A análise dos frutos foi realizada por cromatografia gasosa de alta resolução, com detector de nitrogênio-fósforo (CGAR_DNP). O estudo mostrou que aplicações do agrotóxico em menor quantidade

deixaram resíduos nos frutos em concentrações similares às doses recomendadas pelo fabricante.

Embora os métodos mais comumente aplicados na análise de resíduos de agrotóxicos sejam altamente eficazes, eles exigem bastante tempo de operação e enorme quantidade de substâncias tóxicas para a preparação das amostras (CACHO *et al.*, 2003). Segundo OBANA *et al.*(1999), para que um método de análise se torne exequível é importante considerar os aspectos relacionados ao custo da análise, tais como, equipamentos, mão de obra e restrições ambientais.

2.2 Interação da Radiação Eletromagnética com a Matéria

Na faixa de energias que inclui os raios X e gama, existem várias interações possíveis com o átomo ou com os elétrons atômicos, ou até mesmo com o núcleo, no entanto, há possibilidade de não-interação. As probabilidades de interação dependem de características do meio e da radiação. Os processos físicos importantes em relação à difração e fluorescência de raios X são o espalhamento coerente (Efeito Rayleigh), o Efeito Fotoelétrico e o Efeito Compton.

No Efeito Fotoelétrico, a energia da radiação X ou gama é totalmente transferida a um único elétron orbital, que é expelido com uma energia cinética bem definida (E_c), que corresponde à diferença entre a energia do fóton incidente ($h\nu$) e a energia de ligação do elétron orbital (W).

$$E_c = h\nu - W \quad (1)$$

Onde h é a constante de Planck e ν é a frequência da radiação.

O Efeito Fotoelétrico é predominante para baixas energias e para elementos de número atômico elevado, uma vez que a probabilidade aumenta com Z^4 e decresce à medida que a energia aumenta.

O Efeito Compton está relacionado com a interação de um fóton com um elétron livre ou pouco ligado ao átomo. No processo de interação, parte da energia e do momento do fóton incidente é transferida para o elétron, e um fóton com a energia restante é espalhado em outra direção.

A probabilidade de ocorrer o Efeito Compton diminui quando a energia do fóton aumenta e aumenta com o número atômico dos materiais (PEREIRA, 2006).

O espalhamento coerente ocorre quando a radiação espalhada pelo material apresenta a mesma energia da radiação incidente, ou com uma mínima variação em relação a ela, porém com troca no momento linear. Para a região de baixo momento transferido (ou de baixo ângulo), o fenômeno de espalhamento com interferência construtiva, pode ser medido, o que possibilita a determinação da estrutura e composição de materiais.

Em termos de espalhamento coerente, os raios X ao interagirem com o meio têm seu comprimento de onda incidente (λ) associado às dimensões do centro espalhador. Considerando d como a dimensão do centro espalhador ou a distância entre planos de uma rede cristalina, o fenômeno de difração irá ocorrer para $d \approx \lambda$ e irá gerar uma dependência angular na radiação espalhada (FILGUEIRAS, 2006).

2.3 Materiais Cristalinos

Para melhor compreender o fenômeno de difração de raios X em materiais cristalinos é importante abordar algumas características dos cristais.

2.3.1 Redes Cristalinas

Um cristal pode ser definido como um sólido composto de átomos arranjados em um padrão, que se repete periodicamente em três dimensões. No entanto, nem todos os sólidos possuem um arranjo regular dos átomos em seu interior. Esses materiais que não possuem organização em sua rede são ditos amorfos (CULLITY, 1978).

A unidade básica de um cristal denomina-se célula unitária. Portanto, este pode ser dividido por um conjunto de células idênticas em tamanho, forma e orientação. Então, considerando um cristal como uma série de pontos imaginários ordenados e que tem uma distribuição de átomos fixa no espaço, ele pode ser caracterizado como uma espécie de esqueleto no qual o cristal real é construído, como exemplificado na figura 2.3 (CULLITY, 1978).

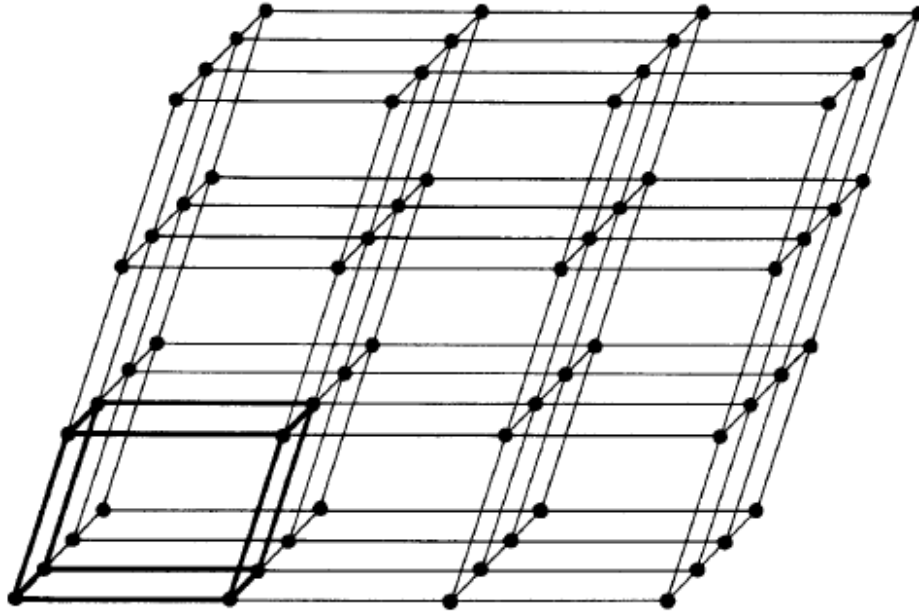


Figura 2.3: Série de pontos arranjados representando um cristal (CULLITY, 1978).

O tamanho e a forma da célula unitária podem ser descritos por três vetores, **a**, **b** e **c** traçados a partir de um canto da célula tomado como a origem. Esses eixos são chamados eixos cristalográficos, que por sua vez podem ser descritos em termos de seus comprimentos (a , b , c) e os ângulos entre eles (α , β , γ) (figura 2.4). Esses comprimentos e ângulos são denominados parâmetros de rede (CULLITY, 1978).

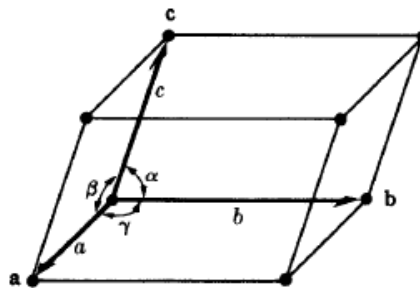


Figura 2.4: Representação de uma célula unitária (CULLITY, 1978).

2.3.2 Sistemas Cristalinos e Redes Bravais

Através da adoção de valores específicos associados aos parâmetros de rede, podem-se obter diversos tipos de células unitárias. Em 1848, August J. Bravais propôs que o estudo das estruturas cristalinas poderia ser elaborado por meio de sete sistemas

cristalinos (Tabela 2.10). A partir desses sete sistemas cristalinos seria possível descrever quatorze células unitárias, as quais englobariam qualquer tipo de estrutura cristalina. Essas redes foram denominadas Redes Bravais (FERNANDES, 2011).

Tabela 2.10: Sistemas Cristalinos

Sistema	Parâmetros de rede
Cúbico	$a=b=c$ $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$
Tetragonal	$a=b \neq c$ $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$
Ortorrômbico	$a \neq b \neq c$ $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$
Romboédrico	$a=b=c$ $\alpha=\beta=\gamma \neq 90^\circ$
Hexagonal	$a=b \neq c$ $\alpha=\beta=90^\circ; \gamma \neq 120^\circ$
Monoclínico	$a \neq b \neq c$ $\alpha=\gamma=90^\circ \neq \beta$
Triclínico	$a \neq b \neq c$ $\alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90^\circ$

A figura 2.5 ilustra as redes Bravais. Uma propriedade das redes é que cada ponto apresenta uma vizinhança idêntica, logo, olhando-se a rede de um determinado ponto, a estrutura deverá ser a mesma se observada em outro ponto na mesma direção (CULLITY, 1978).

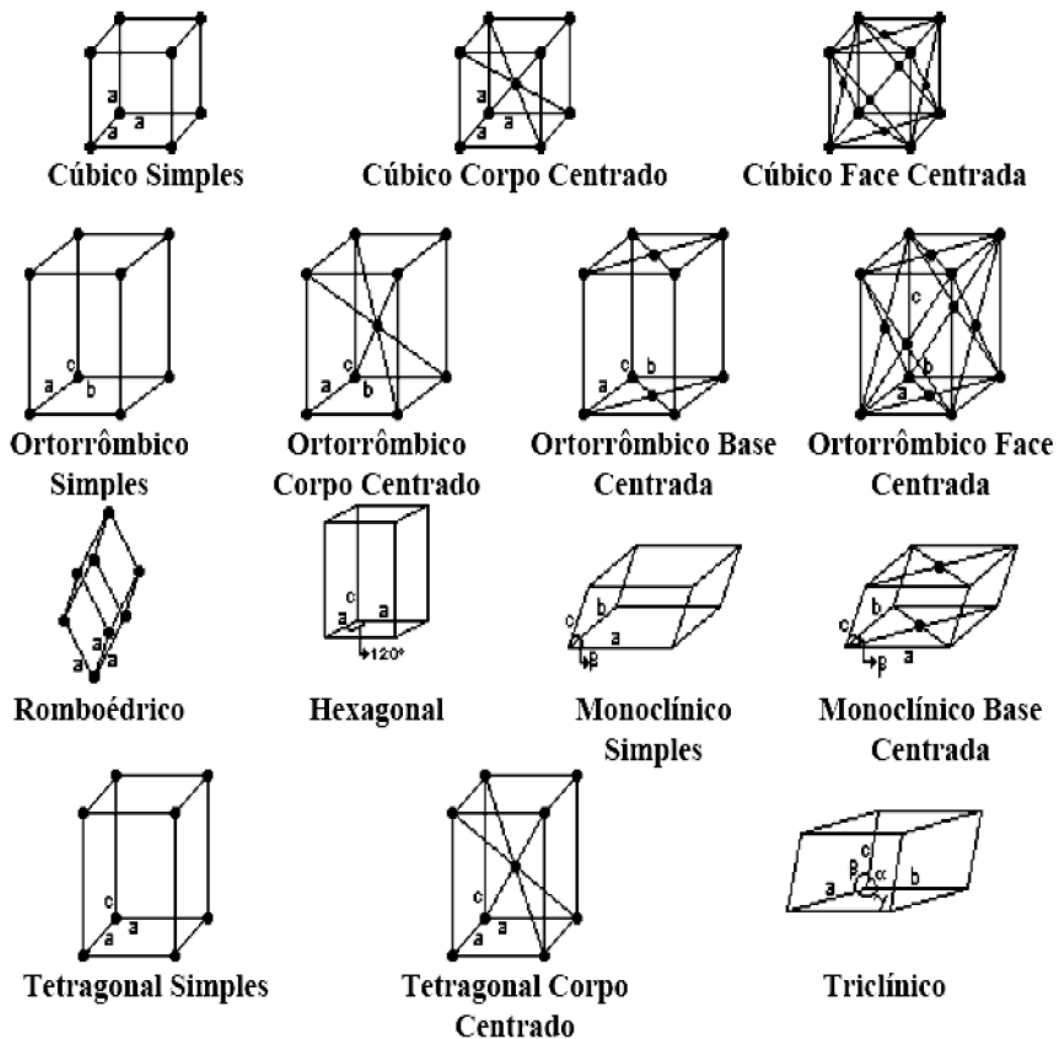


Figura 2.5: Ilustração das 14 Redes Bravais (CULLITY, 1978).

2.3.3 Índices de Miller

A posição de qualquer ponto de uma rede pode ser dada em termos de suas coordenadas. Considerando um vetor proveniente da origem da célula unitária ao ponto dado com componentes xa , yb e zc , onde x, y e z são frações, então as coordenadas do ponto são x, y e z (CULLITY, 1978).

No entanto, existe outra maneira de representar os planos cristalográficos. A orientação de planos numa rede pode também ser representada pelos índices de Miller, que são definidos como recíprocos de interceptos fracionários que o plano faz com os eixos cristalográficos. Por exemplo, se os índices de Miller de um plano são (h, k, l) , então, o plano faz interceptos fracionários de $1/h$, $1/k$ e $1/l$ com os eixos. Os índices de Miller são sempre livres de frações. Caso um plano seja paralelo a um dado eixo, seu intercepto fracionário sobre aquele eixo é tomado como infinito e o seu correspondente

índice de Miller é zero. Se um dado plano corta o eixo negativo, o correspondente índice é negativo, sendo representado com uma barra sobre ele (CULLITY, 1978). Na figura 2.6 são apresentados dois exemplos de como determinar os índices de Miller em uma dada célula. No exemplo (a), o plano passa no eixo c em 1/2, cortando o cristal em dois paralelepípedos iguais. Então, para o cálculo dos índices de Miller faz-se: $h=1/\infty=0$; $k=1/\infty=0$; $l=1/(1/2)=2$. Portanto, o plano é (002). No exemplo (b), o plano corta o cristal seguindo a diagonal das faces. Os eixos b e c são cortados em 1 e o eixo a não é cortado pelo plano. Assim, os índices de Miller são: $h=1/\infty=0$; $k=1/1=1$; $l=1/1=1$. Logo, o plano pode ser dito (011).

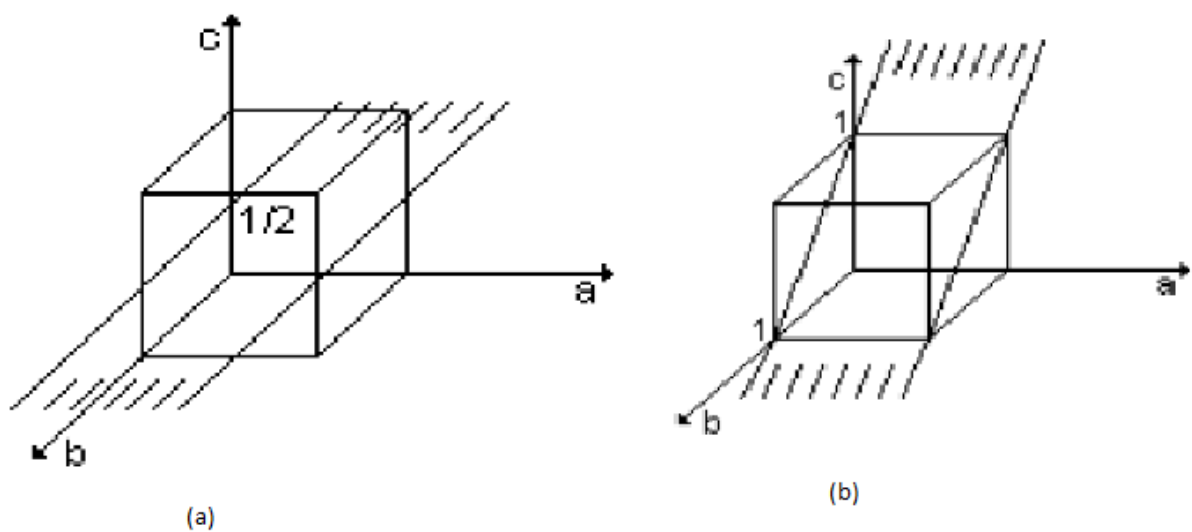


Figura 2.6: Representação de dois planos que cortam um cristal cúbico (BLEICHER e SASAKI, 2000).

2.4 Difração de Raios X

O fenômeno de difração é baseado na relação entre fases de duas ou mais ondas. Considerando um feixe de raios X, tal como o feixe 1 da figura 2.7, sendo composto por duas partes iguais, raios 2 e 3, cada qual com amplitude igual à metade daquela do feixe 1, pode-se dizer que esses dois raios, na frente de onda AA', estão completamente em fase se seus vetores elétricos têm a mesma magnitude e direção no mesmo instante de tempo, em qualquer ponto x medido ao longo da direção de propagação da onda (CULLITY, 1978).

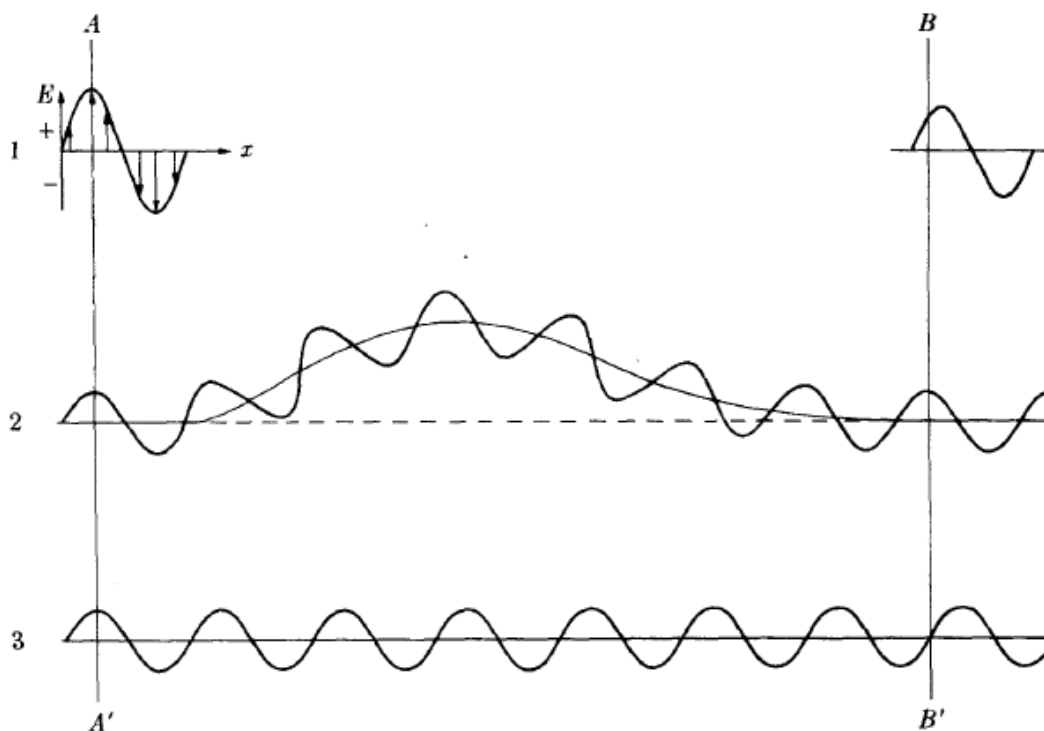


Figura 2.7: Efeito da diferença de caminho na fase de uma onda (CULLITY, 1978).

No entanto, supondo que o raio 3 permanece numa linha reta enquanto que o raio 2 é desviado por algum meio para um passo curvo antes de se juntar ao raio 3 na frente de onda BB' . Nessa frente, o vetor elétrico do raio 2 tem seu valor máximo, mas aquele do raio 3 é zero. Portanto, os dois raios estão fora de fase. Daí pode-se concluir que diferenças no comprimento de passo percorrido conduzem a diferenças de fase e que a introdução de diferenças de fase produz uma variação em amplitude (CULLITY, 1978).

Diferenças em comprimento de passo de vários raios surgem naturalmente quando se considera como um cristal difrata raios X. A figura 2.8 exemplifica esse processo. Uma seção de um cristal tem seus átomos arranjados num conjunto de planos paralelos (A, B, C, D, ...) espaçados numa distância d' entre eles. Supondo que um feixe de raios X monocromático de comprimento de onda λ , perfeitamente paralelo, esteja incidindo neste cristal, descrevendo um ângulo θ em relação ao plano cristalino.

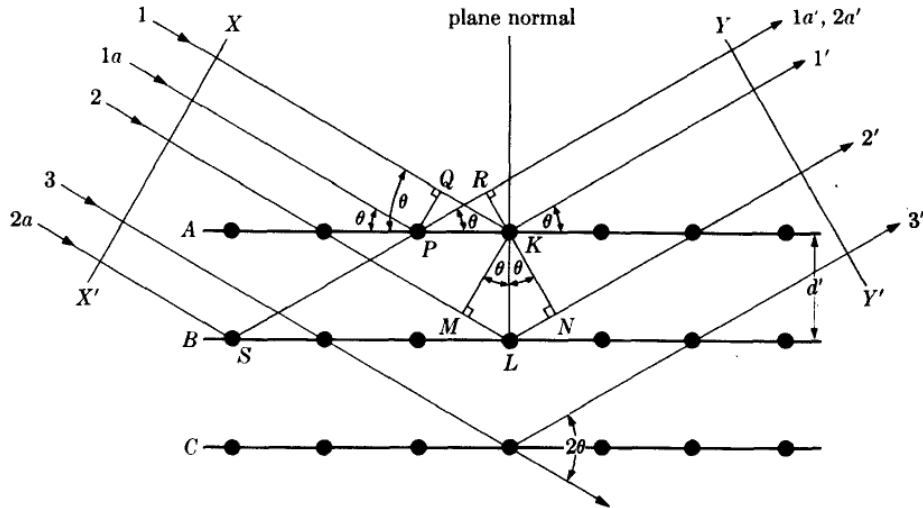


Figura 2.8: Difração de raios X por um cristal (CULLITY, 1978).

Os raios incidentes 1 e 1a batem nos átomos K e P, respectivamente no plano A e são espalhados em todas as direções, porém, somente nas direções 1' e 1a', eles estarão completamente em fase devido a diferença de caminho entre as frentes de onda XX' e YY' ser igual a

$$QK - PR = PK \cos\theta - PK \cos\theta = 0 \quad (2)$$

Todos os raios espalhados por átomos do primeiro plano e em uma direção paralela a 1' estarão em fase e, portanto, contribuirão construtivamente ao feixe difratado. Esse fato é observado em todos os outros planos. Feixes oriundos de planos diferentes também podem dar sua parcela de contribuição. Um exemplo pode ser visto pelos raios 1 e 2, que são espalhados (1' e 2') por átomos K e L, respectivamente. A diferença de caminho para os raios 1K1' e 2L2' será

$$ML + LN = d' \sin\theta + d' \sin\theta \quad (3)$$

Os raios espalhados por S e P estarão sobrepostos uma vez que não há diferença de caminho. O mesmo acontece para P e K.

Caso a diferença de caminho dos raios espalhados 1' e 2' seja igual a um número n inteiro de comprimento de onda, eles estarão em fase. Em outras palavras, se

$$n\lambda = 2d' \sin\theta \quad (4)$$

A equação (4) carrega a condição essencial para ocorrer a difração e é conhecida como **Lei de Bragg**, formulada por W. L. Bragg.

O termo n é conhecido como **ordem de reflexão** e é igual ao número de comprimento de onda presente na diferença de caminho entre os raios espalhados por planos adjacentes. Então, para valores fixos de λ e d' , podem existir vários ângulos de incidência nos quais a difração pode ocorrer. Os feixes espalhados por todos os átomos nos planos que estão completamente em fase produzem interferência construtiva para formar um feixe difratado na direção mostrada. No entanto, feixes espalhados em outras direções que estão fora de fase, se anulam mutuamente. Note que, na figura 2.8, numa reflexão de primeira ordem ($n=1$), os raios espalhados $1'$ e $2'$ difeririam em relação a fase por um comprimento de onda, os raios $1'$ e $3'$ por dois comprimentos de onda, os raios $1'$ e $4'$ em três comprimentos de onda, e assim por diante através dos planos do cristal (CULLITY, 1978).

Em procedimentos experimentais o que é medido é o 2θ , em vez de θ , que é o ângulo entre o feixe difratado e o feixe transmitido. Este ângulo é dito ângulo de difração.

A Lei de Bragg pode ser escrita sob a forma de:

$$\lambda = 2 (d'/n) \sin\theta \quad (5)$$

Para efeito de conveniência, fazemos $d = (d'/n)$, então, a lei de Bragg pode ser considerada como:

$$\lambda = 2 d \sin\theta \quad (6)$$

Deste modo, uma reflexão de qualquer ordem pode ser considerada como uma de primeira ordem, em planos espaçados de uma distância $1/n$ do espaçamento anterior.

2.4.1 Métodos de Difração

A Lei de Bragg impõe critérios rigorosos em relação à λ e θ para qualquer cristal. Um meio de satisfazer a lei de Bragg pode ser feito variando tanto λ quanto θ durante a realização de um procedimento experimental. A maneira como essas

quantidades variam distingue os três principais métodos de difração: Método de Laue; Método do Cristal Rotativo; e Método do pó (CULLITY, 1978).

No Método de Laue, o comprimento de onda da radiação (λ) é variável e o ângulo θ é mantido fixo. Esse método utiliza um fino feixe colimado de radiação policromática que incide num cristal estacionário. Assim, os comprimentos de onda que obedecem à lei de Bragg são selecionados pelos planos cristalinos e difratados formando um conjunto de pontos que são detectados por um filme (MARTINEZ, 1989).

No Método do Cristal Rotativo, o comprimento de onda λ é mantido fixo e o ângulo θ é variado em parte. Nesse método, um dos eixos de um cristal é posicionado normal a um feixe de raios X monocromático. Um filme cilíndrico é colocado ao redor do cristal e este é rodado em torno da direção escolhida, com o eixo do filme coincidindo com seu eixo de rotação. Ao passo que o cristal roda, um particular conjunto de planos de rede, por um instante, faz o correto ângulo de Bragg para reflexão do feixe incidente. No entanto, como o cristal gira ao redor de apenas um eixo, nem todo conjunto de planos é capaz de produzir um feixe difratado (CULLITY, 1978).

No Método do pó, o material a ser analisado é reduzido a um pó fino e colocado num feixe de raios X monocromático. Cada partícula do pó estará orientada aleatoriamente com respeito ao feixe incidente. Algumas dessas partículas estarão corretamente orientadas de maneira que seus planos possam refletir o feixe incidente (CULLITY, 1978).

Um equipamento típico de difração em pó utiliza uma geometria tipo (θ - 2θ). Neste caso, um feixe de raios X incide na amostra, que está colocada em um suporte, e os raios difratados incidem em um detector. A amostra e o detector estão sincronizados, de modo que quando a amostra sofre uma rotação de θ graus, o coletor varia 2θ graus. Esse processo gera um padrão de difração e o resultado é um espectro conhecido como difratograma (RENDÁ, 2010). A figura 2.9 ilustra um exemplo de difratograma de um material cristalino.

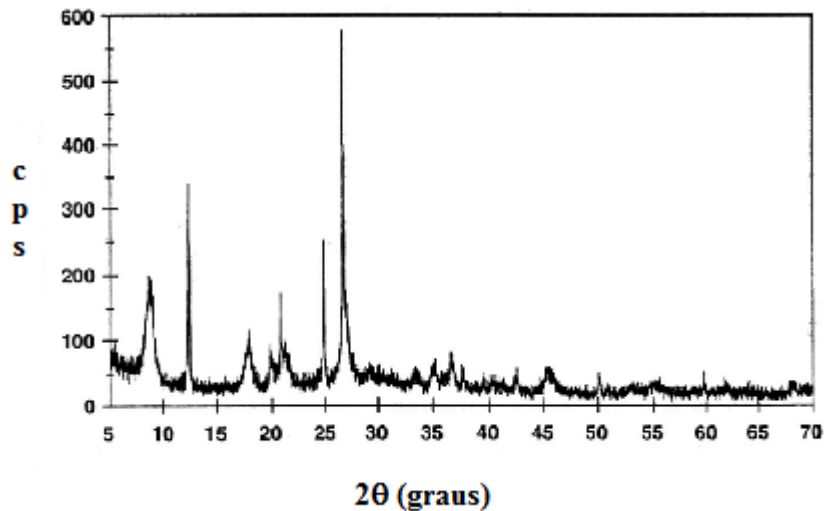


Figura 2.9: Exemplo de um difratograma de uma amostra de mineral, produzido durante um escaneamento por difração de raios X (DULONG e JACKSON, 1997).

No entanto, em materiais amorfos, devido sua estrutura ser irregular, os perfis de difração ao invés de apresentarem picos estreitos como os materiais cristalinos, apresentam máximos largos como mostra a figura 2.10.

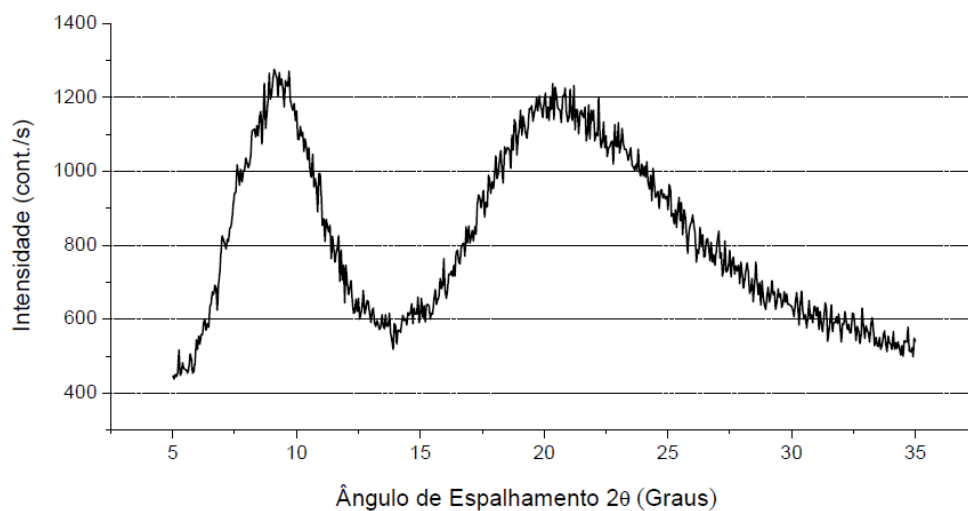


Figura 2.10: Perfil de difração de um material amorfo, sangue humano (FILGUEIRAS, 2006).

A melhor maneira de se compreender as informações estruturais que estão codificadas em um padrão de difração utilizando o método do pó é considerar esta informação como um conjunto de picos discretos de difração (reflexões de Bragg) sobrepostos a um background contínuo. Na maioria das aplicações de difração em pó, o background é um inconveniente que deve ser tratado, embora este possa ser usado para

extrair informações sobre a cristalinidade do material. Desconsiderando-se o background, a estrutura de um padrão típico de difração em pó pode ser descrito pelos seguintes componentes: posições, intensidades e formas de múltiplas reflexões de Bragg. Cada um destes componentes contém informações sobre a estrutura cristalina do material, as propriedades da amostra (absorção, porosidade, orientação preferencial, etc.) e parâmetros instrumentais (PECHARSKY e ZAVALIJ, 2009).

Em consequência das informações obtidas em um escaneamento por difração de raios X, o método do pó é amplamente utilizado na identificação de substâncias, uma vez que cada uma possui um espectro característico. O principal método de identificação de materiais desconhecidos é baseado na comparação de dados experimentais contidos em bancos de dados. Atualmente, o *International Center for Diffraction Data* (ICDD) mantém e atualiza dados de substâncias inorgânicas e orgânicas (LANGFORD e LOUËR, 1996).

Neste trabalho será empregado o método do pó para caracterização dos agrotóxicos e análise dos perfis de difração das amostras de feijão contaminadas por agrotóxicos.

2.5 Inferência Estatística – Teste de Hipóteses

Inferência estatística é um ramo da Estatística que busca realizar assertivas sobre parâmetros populacionais a partir de amostras disponíveis ou coletadas da população alvo. Uma forma importante da estatística inferencial é a realização dos testes de hipóteses.

O teste de hipótese é uma ferramenta estatística (para um número de amostras $n < 30$) utilizada na comparação, por exemplo, de duas médias amostrais, objetivando verificar se há diferenças entre elas ou não. Desse modo, duas hipóteses complementares são testadas: a hipótese nula, denominada H_0 , que representa que não houve mudança e a hipótese alternativa, denotada por H_1 , que representa a rejeição de H_0 .

Dois tipos de erro podem acontecer em procedimentos que envolvem tomadas de decisão. Pode-se rejeitar a hipótese nula (H_0) quando ela é verdadeira, o que caracteriza um erro tipo I, ou pode haver erro ao rejeitar H_0 quando verdadeiramente ela é falsa, assim o erro é do tipo II. A probabilidade de cometer o erro tipo I é denominado de α , também conhecida como nível de significância. De modo geral, usa-se um valor

de α de 0,10 (10%), 0,05 (5%) ou 0,01 (1%). Ao se escolher $\alpha=0,05$, por exemplo, no teste haverá 95% de confiança de ter tomado a decisão correta. (MOUNTGOMERY e RUNGER, 2003)

O teste de hipótese aplicado para avaliar se há diferença entre duas médias é o teste t de Student (ou Distribuição T). Na análise da diferença entre duas médias podem ser consideradas as seguintes hipóteses:

$H_0: \mu_1=\mu_2$, indicando que não há diferença entre as médias $\mu_1=\bar{x}_1$ e $\mu_2=\bar{x}_2$.

$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$, indicando que há diferença entre essas médias.

Definindo o nível de significância $\alpha=0,05$, a estatística de teste com n_1+n_2-2 graus de liberdade, onde n_1 e n_2 representam o número de amostras de cada grupo, é obtida através da expressão:

$$T = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s \sqrt{\frac{n_1 + n_2}{n_1 n_2}}} \quad (7)$$

Onde $s = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)\sigma_1^2 + (n_2 - 1)\sigma_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}$ e σ_1 e σ_2 correspondem aos desvios padrões das médias $\bar{x}_1$ e $\bar{x}_2$, respectivamente.

Desse modo, a estatística do teste terá um valor T. Ao considerarmos um teste bilateral, o nível de significância ($\alpha=0,05$) é dividido igualmente entre as duas caudas, determinando uma área de $\alpha/2$ em cada cauda. O valor de T é então, comparado com o valor tabelado para $t_{\alpha/2; (n-1)}$, onde n corresponde ao número de amostras. Caso T esteja fora do intervalo $-t_{\alpha/2} < T$ e $T > t_{\alpha/2}$, então a hipótese nula (H_0) será rejeitada, indicando que pode haver diferença significativa entre as médias μ_1 e μ_2 . No entanto, se T estiver dentro do intervalo de aceitação ($T < -t_{\alpha/2}$ e $T < t_{\alpha/2}$), não haverá evidência para rejeitar H_0 e μ_1 e μ_2 terão forte evidência de serem iguais (MOUNTGOMERY e RUNGER, 2003).

CAPÍTULO III

MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo serão descritos os procedimentos para a caracterização das amostras de agrotóxicos e análise das sementes de feijão contaminadas, os métodos de preparação das amostras para análise por XRD e descrição dos equipamentos utilizados.

3.1 Materiais

3.1.1 Agrotóxicos

Os agrotóxicos caracterizados neste estudo foram adquiridos em suas formas comerciais em estabelecimentos de produtos agrícolas. Cada forma comercial apresenta em sua composição um diferente princípio ativo misturado a ingredientes inertes. Foram utilizados cinco produtos comerciais diferentes sendo denominados de **Marca A**, **Marca B**, **Marca C**, **Marca D** e **Marca E**. A marca denominada E é composta por dois ingredientes ativos. Na figura 3.1 está ilustrada a imagem de uma das embalagens comerciais. Os nomes dos fabricantes foram preservados. Todos os agrotóxicos são registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

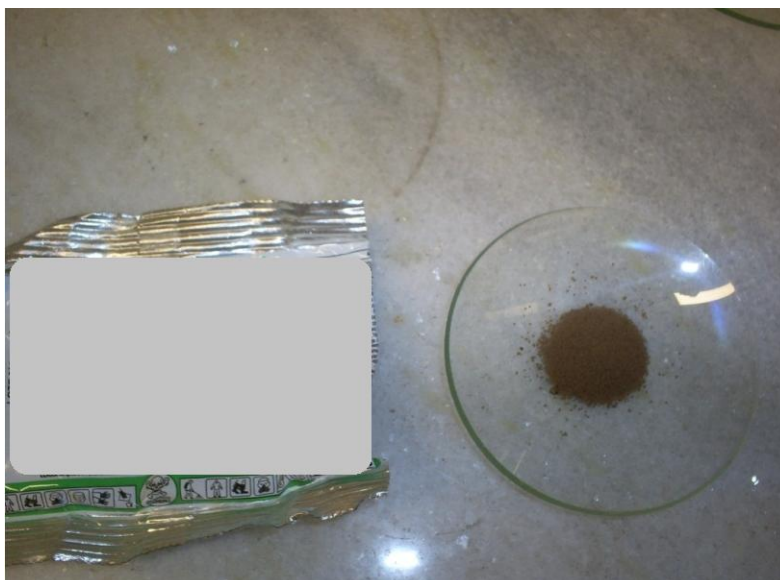


Figura 3.1: Embalagem contendo agrotóxico da Marca A na forma de grânulos. (As informações sobre o fabricante foram preservadas).

Na tabela 3.1 estão listadas as concentrações dos ingredientes ativos (I.A) na composição de cada produto, as formulações e a classificação toxicológica informada na bula do produto.

Tabela 3.1: Tipos de agrotóxicos utilizados neste estudo. Informações contidas na bula dos produtos.

Marca	Princípio ativo	Concentração do I.A (%)	Formulação	Classificação Toxicológica
A	Imidacloprido	70	Grânulo dispersível	IV
B	Ciromazina	75	Pó molhável	IV
C	Diafentiurom	50	Pó molhável	I
D	Dimetomorfe	50	Pó molhável	III
E	Famoxadona	6,25	Grânulo	I
	Mancozebe	62,5	Dispersível	

3.1.2 Amostras de Alimentos

Para a análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos por meio da difração de raios X foram utilizadas sementes de feijão convencionais, comercializadas em supermercados na quantidade de um quilograma. Também foram adquiridas sementes de feijão orgânico para realizar uma comparação entre os difratogramas dos dois tipos de feijões, pois alimentos orgânicos são cultivados sem agrotóxicos (figura 3.2).



Figura 3.2: Sementes de feijão comercializadas em embalagens de um quilograma. (a) feijão preto comum; (b) feijão preto orgânico.

3.2 Métodos

3.2.1 Preparação das Amostras de Agrotóxicos para Análise por Difração de Raios X

As amostras de agrotóxico foram trituradas individualmente através da utilização de um almofariz e pistilo e, posteriormente, peneiradas. A figura 3.3 mostra os materiais utilizados na preparação do pó.

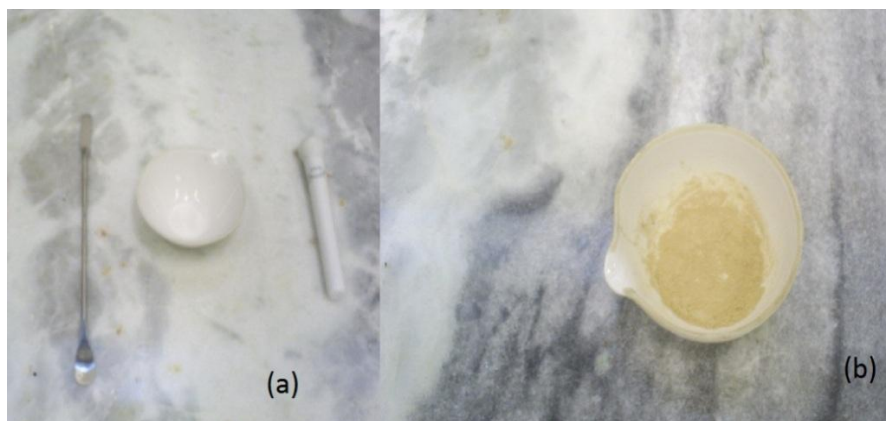


Figura 3.3: (a) Materiais para trituração. (b) agrotóxico em forma de pó.

O processo de peneiração foi repetido três vezes de modo a obter um pó fino que ficasse homogeneamente distribuído em um porta-amostra de alumínio. O porta-amostra de alumínio contém uma depressão circular central de 2,5cm de diâmetro e aproximadamente 1mm de profundidade para acomodar o material a ser analisado. Na figura 3.4 estão ilustrados porta-amostras preenchidos com os cinco agrotóxicos.

A massa dos agrotóxicos foi calculada pela diferença de massa dos porta-amostras antes e depois de preenchidos, com auxílio de uma balança de precisão. A quantidade de massa em gramas dos agrotóxicos foi de aproximadamente 0,4g. Foram preparadas três amostras para cada tipo de agrotóxico, totalizando 15 amostras submetidas à análise por difração de raios X. As amostras moídas foram mantidas em temperatura ambiente dentro de recipientes plásticos até o momento da realização do experimento (figura 3.5).

Para cada amostra de agrotóxico foram obtidos três perfis de difração, assumindo como valor final a média dos três perfis.

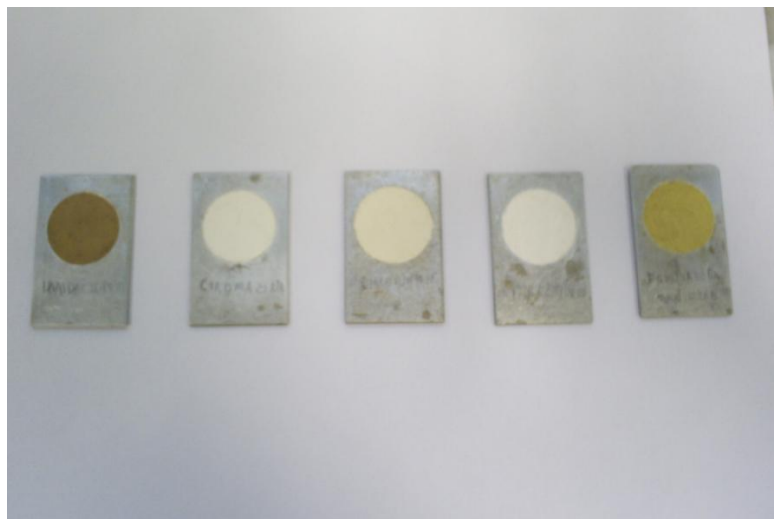


Figura 3.4: Porta-amstras preenchidos com os agrotóxicos utilizados neste estudo.

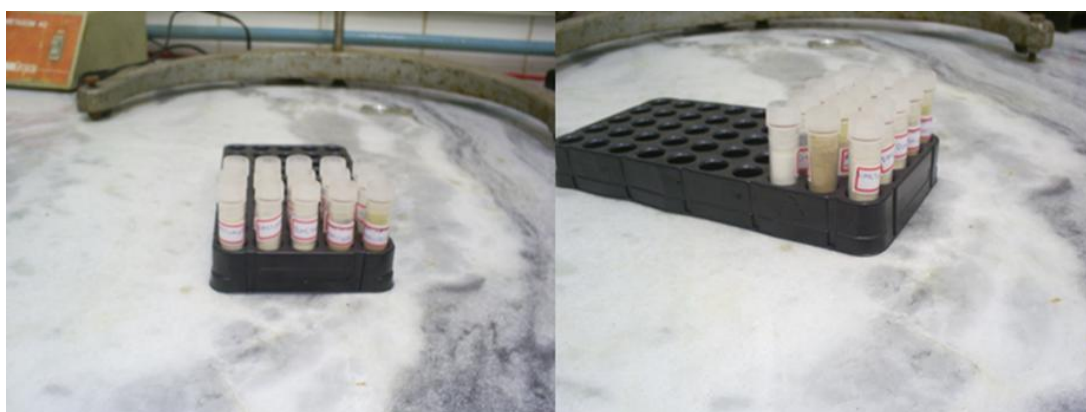


Figura 3.5: Amostras de agrotóxicos armazenadas em recipientes plásticos.

3.2.2 Processo de Contaminação das Amostras de Feijão por Agrotóxico

O processo de contaminação das sementes de feijão por agrotóxico foi realizado por meio da submersão da polpa e da casca do feijão, separadamente, às soluções contendo água destilada e o agrotóxico da **Marca A**, cujo princípio ativo é o imidacloprido. A escolha do agrotóxico da marca A deve-se ao fato do composto ser miscível em água e possuir boa estabilidade em temperatura ambiente de acordo com as informações do fabricante.

As sementes utilizadas para a contaminação foram as sementes de feijão convencional, devido a maior facilidade de acesso por parte dos consumidores. Inicialmente as sementes de feijão foram submetidas a um processo de lavagem em água destilada para a separação da casca e da polpa (figura 3.6). Em seguida as amostras foram divididas em seis grupos, onde cada grupo foi formado por 2g de casca e 8g de

polpa. Posteriormente, cada grupo foi inserido em uma solução contendo uma quantidade diferente do agrotóxico diluído.



Figura 3.6: Sementes de feijão separadas em cascas e polpas.

As cascas foram inseridas em soluções contendo 100 ml de água destilada e as quantidades de 0,02g, 0,06g, 0,1g, 0,2g e 0,3g do agrotóxico. As polpas foram colocadas em soluções contendo 400 ml de água destilada e as quantidades de 0,08g, 0,24g, 0,4g, 0,8g e 1,2g do agrotóxico. Desse modo, as cascas e polpas dentro de um mesmo grupo foram expostas a uma mesma concentração de agrotóxico. A tabela 3.2 lista a percentagem e a concentração de agrotóxico diluído em água destilada, a qual cada grupo foi exposto. O **Grupo I** foi selecionado como o de referência e, conseqüentemente, isento de contaminação por parte do agrotóxico em questão. Portanto, as cascas e polpas deste grupo foram submersos em soluções contendo apenas água destilada.

Tabela 3.2: Quantidades de agrotóxico a que cada grupo de casca e polpa de feijão foi exposto.

<i>Grupo</i>	<i>Percentagem de agrotóxico</i>	<i>Concentração ($\mu\text{g/ml}$)</i>
I	0%	0
II	1%	200
III	3%	600
IV	5%	1000
V	10%	2000
VI	15%	3000

As amostras foram deixadas em recipientes devidamente lacrados, submersas nas soluções por 48 horas em temperatura ambiente. Em seguida, as amostras foram expostas a luz ultravioleta para processo de secagem durante 24 horas. Depois de secas, as amostras de casca e polpa foram trituradas, utilizando-se o almofariz e o pistilo, peneiradas e colocadas em recipientes plásticos.

Para a análise por difração de raios X foi preparada uma amostra de casca e polpa para cada grupo, totalizando 12 amostras. As amostras foram colocadas nos porta-amostras de alumínio em uma quantidade de 0,4g. Também foram preparadas três amostras de casca e polpa de feijão orgânico. A figura 3.7 mostra as amostras de casca e polpa de cada Grupo inseridas nos porta-amostras.

Foram obtidos três perfis de difração para cada amostra, assumindo como valor final a média dos três perfis.

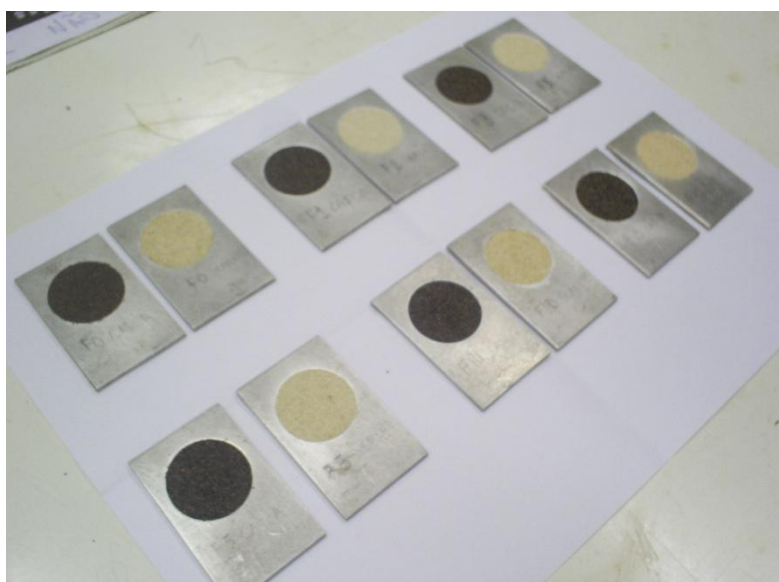


Figura 3.7: Amostra de casca e polpa de feijão de cada Grupo sujeitas a análise por difração de raios X.

3.2.3 Análise por Difração de Raios X

3.2.3.1 Análise de Dados

As medições dos agrotóxicos e sementes de feijão por meio da difração de raios X foram realizadas no Laboratório de Instrumentação Nuclear (LIN) do Programa de Engenharia Nuclear COPPE/UFRJ.

O difratômetro utilizado no LIN foi o XRD 6000 da Shimadzu. Os componentes principais do difratômetro são: tubo de raios X, goniômetro, detector cintilador, conjunto de fendas, monocromador de grafite e porta-amostra (figura 3.8). O tubo de raios X apresenta alvo de cobre (radiação Cu- K_{α} ; $E = 8,04 \text{ KeV}$; $\lambda = 1,542 \text{ angstroms}$) e filamento de tungstênio. O detector de radiação é um cintilador de NaI(Tl) que é responsável por enviar sinais eletrônicos correspondentes à intensidade da radiação espalhada para o sistema de processamentos de dados formado por um sistema computacional. O software XRD 6000[®] gera um gráfico relacionando a intensidade de radiação medida pelo detector com o ângulo de espalhamento 2θ .

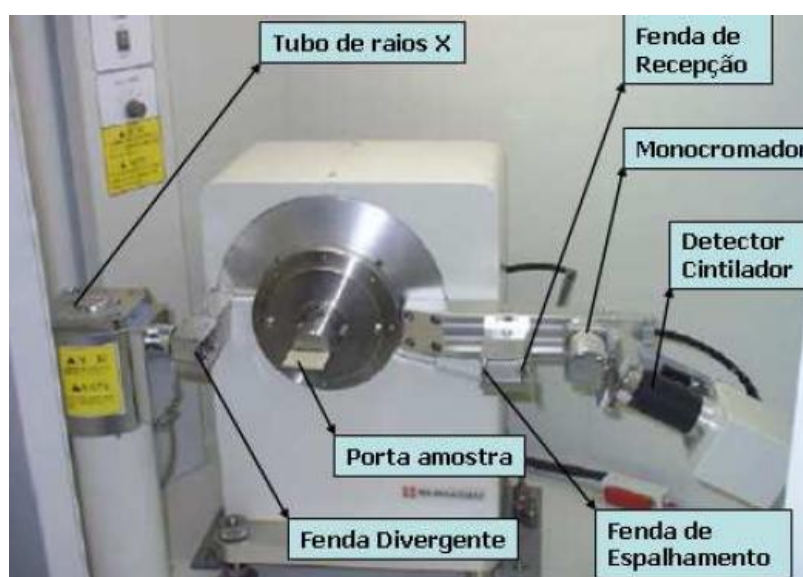


Figura 3.8: Visão interna dos principais componentes do difratômetro XRD 6000.

A calibração do sistema goniométrico foi realizada seguindo as orientações fornecidas pelo manual do equipamento e pelo software XRD 6000[®], os quais indicam o conjunto de fendas e materiais a serem utilizados na calibração θ - 2θ . Após a realização dos ajustes, levantamentos do perfil de difração do alumínio e do silício são realizados para gerar confiabilidade na calibração. Para a realização do processo de medição foi necessário a escolha do conjunto de fendas (DS, SS e RS), passo angular do goniômetro (em graus) e velocidade de rotação (em graus/min). Esses parâmetros estão diretamente relacionados com a resolução dos perfis de difração. Os parâmetros de varredura utilizados neste estudo estão listados na tabela 3.3. Esses parâmetros foram adotados após a realização de testes com o objetivo de obter uma boa resolução dos perfis de difração sem comprometer o funcionamento do equipamento.

Tabela 3.3: Parâmetros de operação do difratômetro de raios X.

Parâmetros	Valor
Tensão	40 kV
Corrente	30 mA
Fenda de Divergência (DS)	1°
Fenda de Espalhamento (SS)	1°
Fenda de Recepção (RS)	0,3 mm
Ângulo inicial de varredura	5°
Ângulo final de Varredura	60°
Passo angular	0,05°
Taxa angular	0,5°/min

3.2.3.2 Parâmetros de Caracterização dos Agrotóxicos

Os parâmetros selecionados para caracterização dos perfis de espalhamento dos agrotóxicos foram: posições dos picos ($2\theta_1$, $2\theta_2$, $2\theta_3$, ..., $2\theta_n$), distâncias interplanares (d), largura a meia altura (FWHM_1 , FWHM_2 , FWHM_3 , ..., FWHM_n) e Intensidade relativa (I_1/I_{max} , I_2/I_{max} , I_3/I_{max} , ..., I_n/I_{max}) determinada como a altura do pico de difração em relação ao pico mais intenso normalizada para a intensidade igual a 1. Esses parâmetros foram obtidos utilizando-se o software OriginPro 8.0[®], com o auxílio das ferramentas Regional Data Selector e FittingMulti-Peaks. Este programa realiza o ajuste das curvas, otimiza o background, as alturas dos picos, posições dos picos e larguras a meia altura. A figura 3.11 ilustra um ajuste típico de um conjunto de picos utilizando o software Origin. Para a análise dos picos foram utilizadas distribuições Lorentzianas e Gaussianas, adotando-se os valores que apresentaram o melhor coeficiente de ajuste (R^2). Na localização dos picos de difração também foi utilizado o programa FullProf e a ferramenta WinPlotR que possibilita a construção e análise de padrões de difração em pó para proporcionar maior confiabilidade aos resultados.

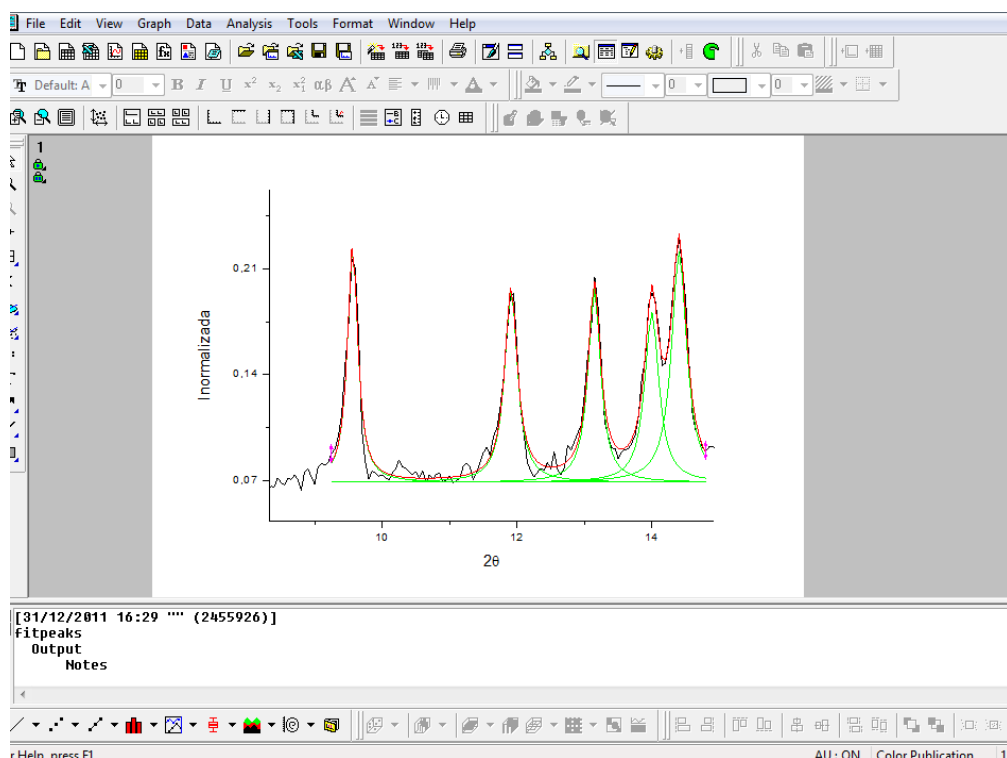


Figura 3.9: Ilustração de um ajuste de curvas de um padrão de difração de agrotóxico utilizando o software Origin8.

3.2.3.3 Parâmetros de Análise de Resíduo de Agrotóxico no Feijão.

A observação da presença de agrotóxicos na semente de feijão foi baseada na comparação dos perfis de espalhamento da casca e da polpa puras e contaminadas pelo agrotóxico da marca A. Primeiramente foram levantados perfis da casca e polpa das sementes de feijão orgânico. Posteriormente, estes perfis foram comparados com os perfis de espalhamento da casca e da polpa das sementes de feijão convencional pertencentes ao Grupo I, as quais não foram submetidas ao processo de contaminação pelo agrotóxico da marca A. Em seguida, foram realizadas medidas dos perfis de espalhamento das amostras contaminadas com diferentes concentrações do agrotóxico. A observação de picos no perfil de difração das cascas e polpas foi realizada por meio do programa OriginPro 8.0[®]. Também foram analisadas possíveis alterações na posição angular e largura a meia altura dos picos encontrados nas cascas e polpas aplicando-se um teste t de Student para diferença entre médias, com nível de significância $\alpha=0,05$. Os cálculos foram realizados utilizando o programa Excel[®].

CAPÍTULO IV

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo são apresentados, primeiramente, os espectros de difração de raios X correspondentes aos agrotóxicos estudados e os parâmetros adotados para a caracterização dos padrões. Posteriormente são apresentados os padrões de difração da polpa e casca de feijão orgânico e das polpas e cascas de feijão convencional contaminadas com o agrotóxico da Marca A, cujo princípio ativo é o imidacloprido. Os picos característicos encontrados nas cascas e nas polpas foram comparados para verificar se ocorreram alterações devido à contaminação por agrotóxico.

4.1 Caracterização dos Padrões de Difração de Raios X dos Agrotóxicos

4.1.1 Perfil de Espalhamento Característico do Agrotóxico da Marca A

A figura 4.1 mostra o perfil de espalhamento do agrotóxico da marca A obtido utilizando-se o difratômetro XRD 6000, numa varredura de 5° a 60°. Os eixos dos perfis são intensidade, em contagens por segundo (cps), normalizada para intensidade igual a 1 por ângulo de reflexão 2θ medido em graus.

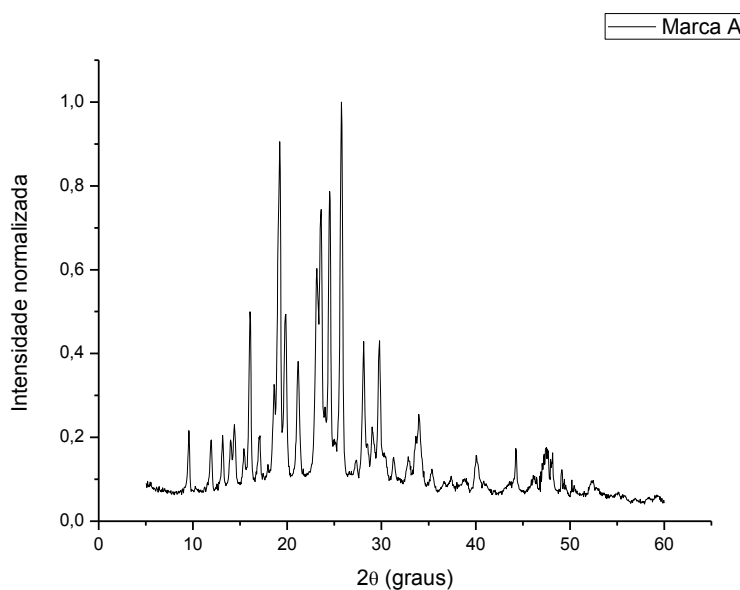


Figura 4.1: Difratograma do agrotóxico da marca A, numa varredura de 5° a 60°.

Os picos mais intensos observados na análise do perfil de difração do agrotóxico A são: $2\theta = 25,74^\circ$, $2\theta = 19,15^\circ$, $2\theta = 24,49^\circ$ e $2\theta = 23,57^\circ$. Estudos indicam que o Imidacloprido, em sua forma pura, apresenta um sistema Monoclínico, com parâmetros de rede $a = 19,290 \text{ \AA}$, $b = 4,839 \text{ \AA}$ e $c = 11,784 \text{ \AA}$ (CHOPRA et. al, 2004). A tabela 4.1 apresenta as posições dos picos (2θ), distâncias interplanares (d), largura a meia altura (FWHM) e intensidades relativas obtidas com o ajuste de curvas utilizando o programa Origin. Algumas reflexões apresentaram baixa intensidade, gerando um baixo valor do fator de ajuste R^2 para uma distribuição Lorentziana e Gaussiana, não possibilitando a análise dos parâmetros de caracterização.

Tabela 4.1: Valores dos parâmetros de caracterização do perfil de difração do agrotóxico da marca A.

2 θ (graus)	d (Å)	FWHM (graus)	I/Imax
9,563±0,019	9,250±0,018	0,185±0,040	0,216±0,031
11,911±0,018	7,431±0,011	0,228±0,024	0,194±0,011
13,145±0,006	6,736±0,003	0,224±0,003	0,204±0,009
13,997±0,002	6,328±0,001	0,254±0,034	0,187±0,008
14,403±0,006	6,151±0,003	0,271±0,006	0,230±0,005
15,407±0,026	5,752±0,010	0,460±0,136	0,173±0,015
16,052±0,008	5,522±0,003	0,246±0,023	0,500±0,060
17,042±0,007	5,203±0,002	0,457±0,099	0,196±0,020
17,963±0,044	4,939±0,012	0,055±0,136	0,135±0,001
18,598±0,009	4,772±0,002	0,449±0,057	0,287±0,028
19,159±0,002	4,633±0,001	0,345±0,011	0,821±0,037
19,826±0,007	4,479±0,001	0,273±0,015	0,489±0,045
21,159±0,003	4,199±0,001	0,406±0,006	0,381±0,022
23,133±0,001	3,845±0,001	0,386±0,019	0,603±0,028
23,571±0,004	3,775±0,001	0,317±0,007	0,727±0,023
24,008±0,018	3,707±0,003	0,137±0,079	0,272±0,032
24,497±0,003	3,634±0,001	0,295±0,013	0,787±0,020
25,747±0,001	3,461±0,001	0,281±0,013	1,000
27,285±0,007	3,269±0,001	0,408±0,215	0,145±0,072
28,107±0,002	3,175±0,001	0,267±0,014	0,429±0,170
29,048±0,005	3,074±0,001	0,280±0,128	0,215±0,129
29,769±0,002	3,002±0,001	0,286±0,001	0,411±0,003
31,295±0,007	2,859±0,001	0,356±0,042	0,152±0,002
32,879±0,008	2,724±0,001	0,461±0,097	0,154±0,012
33,978±0,032	2,639±0,002	0,574±0,218	0,255±0,067
35,333±0,070	2,541±0,005	0,514±0,325	0,124±0,090
37,379±0,077	2,406±0,005	0,220±0,127	0,105±0,017
40,107±0,037	2,248±0,002	0,503±0,313	0,156±0,110
44,269±0,035	2,046±0,002	0,151±0,072	0,174±0,075
49,129±0,140	1,855±0,005	0,227±0,116	0,119±0,050
50,201±0,109	1,818±0,004	0,009±0,003	0,098±0,006

4.1.2 Perfil de Espalhamento Característico do Agrotóxico da Marca B

A figura 4.2 mostra o perfil de espalhamento do agrotóxico da marca B obtido numa varredura de 5° a 60°.

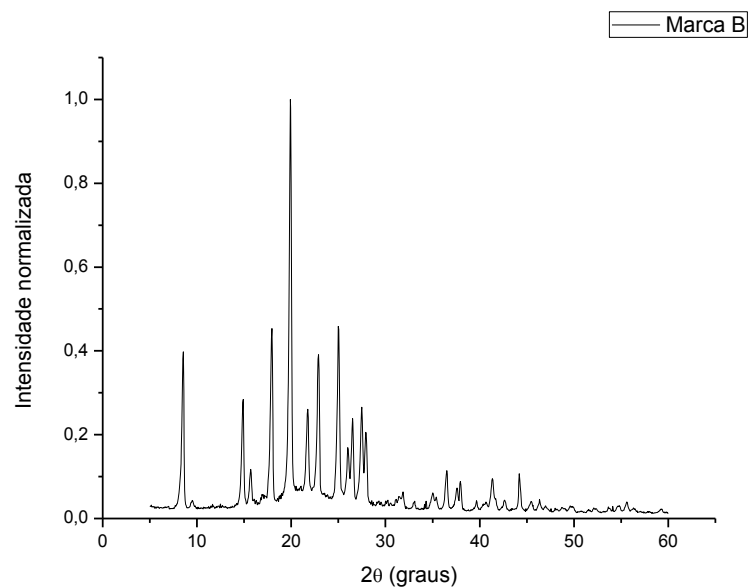


Figura 4.2: Difratograma do agrotóxico da marca B, numa varredura de 5° a 60° .

Os picos mais intensos observados na análise do perfil de difração do agrotóxico B estão posicionados em: $2\theta = 19,90^\circ$, $2\theta = 25,00^\circ$, $2\theta = 17,91^\circ$ e $2\theta = 8,51^\circ$. Os parâmetros de caracterização do agrotóxico da marca B determinados pelo ajuste de curvas por meio de uma distribuição Lorentziana são apresentados na tabela 4.2

Tabela 4.2: Valores dos parâmetros de caracterização do perfil de difração do agrotóxico da marca B.

2 θ (graus)	d (Å)	FWHM (graus)	I/I _{max}
8,514±0,001	10,387±0,001	0,214±0,003	0,381±0,020
14,862±0,004	5,961±0,002	0,227±0,005	0,026±0,003
15,698±0,008	5,646±0,003	0,222±0,021	0,118±0,002
17,915±0,004	4,952±0,001	0,252±0,009	0,430±0,013
19,909±0,002	4,460±0,001	0,248±0,004	1,000
21,726±0,003	4,091±0,001	0,318±0,013	0,250±0,010
22,870±0,007	3,889±0,001	0,269±0,005	0,380±0,006
25,007±0,003	3,561±0,001	0,264±0,001	0,458±0,017
26,000±0,004	3,427±0,001	0,409±0,089	0,169±0,019
26,507±0,003	3,363±0,001	0,236±0,007	0,238±0,004
27,468±0,004	3,247±0,001	0,308±0,020	0,260±0,013
27,934±0,005	3,194±0,001	0,235±0,015	0,205±0,003
31,838±0,007	2,811±0,001	0,400±0,133	0,063±0,027
35,026±0,039	2,562±0,003	0,378±0,351	0,061±0,011
36,479±0,006	2,463±0,001	0,291±0,010	0,105±0,003
37,565±0,007	2,395±0,001	0,285±0,058	0,069±0,004
37,957±0,003	2,371±0,001	0,179±0,010	0,088±0,009
39,660±0,006	2,273±0,001	0,189±0,066	0,042±0,002
41,347±0,001	2,184±0,001	0,338±0,037	0,095±0,004
42,634±0,010	2,121±0,001	0,290±0,015	0,044±0,003
44,219±0,004	2,048±0,001	0,228±0,013	0,107±0,004
46,347±0,005	1,959±0,001	0,244±0,076	0,046±0,001

4.1.3 Perfil de Espalhamento Característico do Agrotóxico da Marca C

O perfil de difração do agrotóxico da marca C é apresentado na figura 4.3. Os quatro picos mais intensos observados na análise do difratograma relacionado ao agrotóxico C estão localizados em: $2\theta = 21,24^\circ$, $2\theta = 8,42^\circ$, $2\theta = 13,28^\circ$ e $2\theta = 18,79^\circ$. Os parâmetros de caracterização do agrotóxico da marca C são apresentados na tabela 4.3.

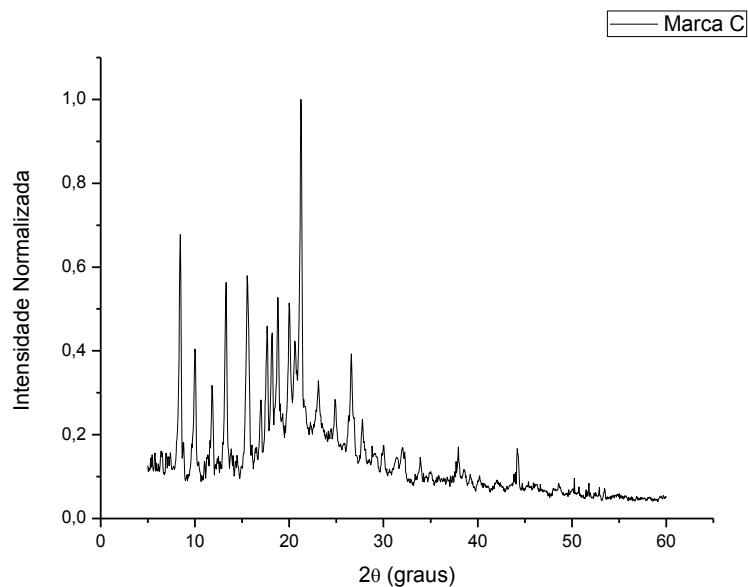


Figura 4.3: Difratograma do agrotóxico da marca C numa varredura de 5° a 60°.

Tabela 4.3: Valores dos parâmetros de caracterização do perfil de difração do agrotóxico da marca C.

2θ (graus)	d (Å)	FWHM (graus)	I/Imax
8,425±0,011	10,496±0,013	0,224±0,025	0,622±0,078
9,992±0,015	8,853±0,013	0,233±0,020	0,357±0,034
11,818±0,012	7,489±0,007	0,233±0,028	0,318±0,031
13,284±0,012	6,666±0,006	0,234±0,013	0,563±0,066
15,575±0,010	5,690±0,004	0,326±0,021	0,162±0,010
16,973±0,361	5,224±0,106	0,242±0,050	0,263±0,068
17,635±0,009	5,030±0,003	0,267±0,025	0,459±0,019
18,176±0,016	4,881±0,004	0,292±0,028	0,431±0,042
18,791±0,019	4,723±0,005	0,253±0,033	0,528±0,028
20,012±0,029	4,437±0,006	0,242±0,050	0,514±0,011
20,625±0,011	4,307±0,002	0,369±0,068	0,416±0,017
21,244±0,011	4,183±0,002	0,232±0,011	1,000
23,080±0,022	3,854±0,004	0,472±0,037	0,306±0,004
24,878±0,002	3,579±0,001	0,189±0,025	0,280±0,043
26,581±0,049	3,354±0,006	0,425±0,035	0,393±0,030
27,780±0,021	3,212±0,002	0,239±0,053	0,232±0,009
29,972±0,011	2,982±0,001	0,436±0,083	0,164±0,009
32,011±0,008	2,796±0,001	0,324±0,085	0,169±0,012
33,912±0,015	2,644±0,001	0,182±0,041	0,146±0,027
37,943±0,009	2,372±0,001	0,144±0,049	0,170±0,031
39,222±0,022	2,297±0,001	0,280±0,129	0,105±0,009
40,185±0,002	2,244±0,001	0,109±0,046	0,097±0,011
44,228±0,011	2,048±0,001	0,200±0,039	0,155±0,046

4.1.4 Perfil de Espalhamento Característico do Agrotóxico da Marca D

O perfil de espalhamento do agrotóxico da marca D é apresentado na figura 4.4.

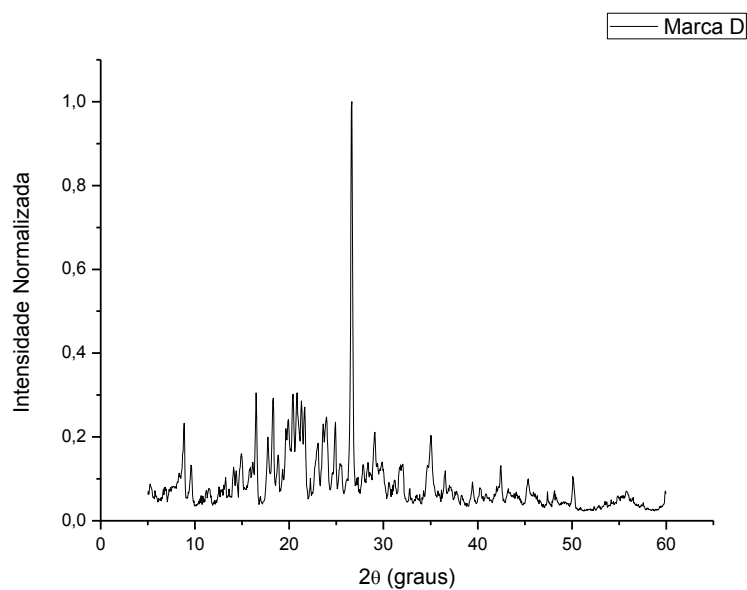


Figura 4.4: Difratograma do agrotóxico da marca D numa varredura de 5° a 60°.

Na análise do perfil de difração do agrotóxico D, os quatro picos de maior intensidade são observados em: $2\theta = 26,62^\circ$, $2\theta = 16,47^\circ$, $2\theta = 20,83^\circ$ e $2\theta = 20,39^\circ$. Os valores dos parâmetros de caracterização do padrão de difração do agrotóxico da marca D são apresentados na tabela 4.4.

Tabela 4.4: Valores dos parâmetros de caracterização do perfil de difração do agrotóxico da marca D.

2 θ (graus)	d (Å)	FWHM (graus)	I/I _{max}
8,798±0,003	10,052±0,003	0,321±0,062	0,212±0,014
9,588±0,010	9,225±0,010	0,236±0,085	0,133±0,014
12,555±0,009	7,051±0,005	0,103±0,048	0,081±0,005
13,235±0,029	6,690±0,015	0,216±0,063	0,103±0,002
14,109±0,031	6,278±0,013	0,268±0,091	0,128±0,016
14,372±0,008	6,164±0,003	0,274±0,045	0,117±0,004
14,906±0,012	5,944±0,005	0,407±0,095	0,159±0,011
16,133±0,049	5,494±0,016	0,148±0,101	0,140±0,008
16,480±0,025	5,380±0,008	0,260±0,041	0,305±0,005
17,738±0,016	5,001±0,004	0,283±0,037	0,200±0,017
18,277±0,021	4,855±0,006	0,220±0,016	0,293±0,032
18,822±0,007	4,715±0,002	0,240±0,048	0,156±0,018
19,315±0,015	4,596±0,003	0,355±0,192	0,122±0,017
19,894±0,008	4,463±0,002	0,245±0,032	0,241±0,006
20,393±0,013	4,355±0,003	0,215±0,023	0,302±0,013
20,832±0,011	4,265±0,002	0,281±0,045	0,305±0,015
21,306±0,006	4,171±0,001	0,227±0,044	0,286±0,011
21,621±0,011	4,111±0,002	0,317±0,038	0,260±0,009
22,248±0,177	3,996±0,031	0,076±0,025	0,101±0,006
23,011±0,006	3,865±0,001	0,285±0,160	0,179±0,026
23,627±0,009	3,766±0,001	0,422±0,113	0,212±0,005
23,921±0,012	3,720±0,002	0,268±0,081	0,240±0,010
24,873±0,006	3,580±0,001	0,209±0,043	0,221±0,015
26,624±0,013	3,348±0,002	0,219±0,006	1,000
27,845±0,028	3,204±0,003	0,388±0,049	0,134±0,016
28,342±0,030	3,149±0,003	0,366±0,171	0,139±0,007
29,057±0,003	3,073±0,001	0,420±0,076	0,205±0,028
29,836±0,013	2,995±0,001	0,148±0,096	0,140±0,012
30,607±0,275	2,921±0,026	0,373±0,137	0,090±0,004
31,193±0,041	2,868±0,004	0,350±0,145	0,096±0,009
32,777±0,258	2,733±0,021	0,153±0,010	0,076±0,002
35,005±0,022	2,564±0,002	0,381±0,107	0,191±0,009
36,527±0,019	2,460±0,001	0,234±0,042	0,119±0,022
38,309±0,115	2,350±0,007	0,319±0,109	0,060±0,004
39,441±0,010	2,285±0,001	0,270±0,024	0,093±0,023
40,269±0,001	2,240±0,000	0,295±0,060	0,079±0,019
42,438±0,019	2,130±0,001	0,256±0,035	0,132±0,004
45,361±0,024	2,000±0,001	0,432±0,092	0,100±0,008
47,413±0,029	1,918±0,001	0,055±0,031	0,069±0,017
48,128±0,014	1,891±0,001	0,079±0,097	0,072±0,005
50,130±0,003	1,820±0,001	0,277±0,031	0,099±0,011

4.1.5 Perfil de Espalhamento Característico do Agrotóxico da Marca E

O padrão de difração do agrotóxico da marca E é apresentado na figura 4.5.

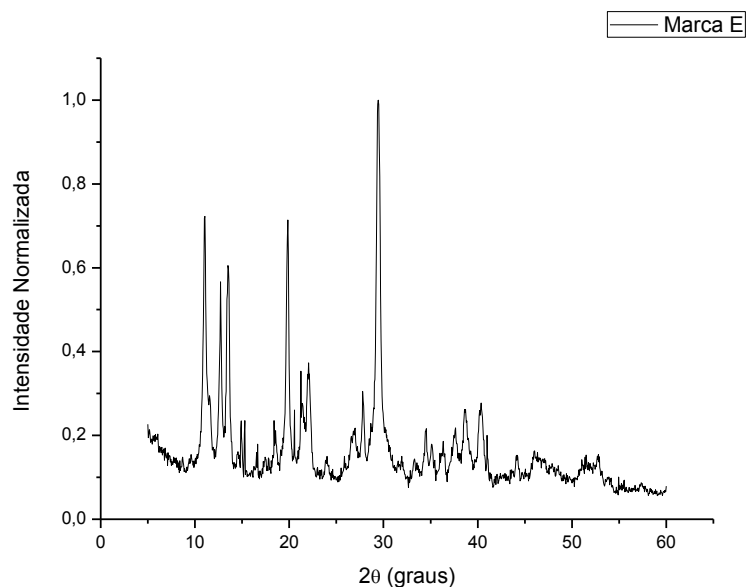


Figura 4.5: Difratograma do agrotóxico da marca E, numa varredura de 5° a 60°.

Na análise do padrão de difração do agrotóxico E, os quatro picos mais intensos são observados em: $2\theta = 29,47^\circ$, $2\theta = 11,04^\circ$, $2\theta = 19,82^\circ$ e $2\theta = 13,51^\circ$. Os valores das variáveis selecionadas para caracterizar o padrão de difração do agrotóxico da marca E são apresentados na tabela 4.5.

Tabela 4.5: Valores dos parâmetros de caracterização do perfil de difração do agrotóxico da marca E.

2θ (graus)	d (Å)	FWHM (graus)	I/Imax
8,698±0,279	10,167±0,345	0,273±0,002	0,148±0,026
11,040±0,003	8,015±0,002	0,365±0,009	0,722±0,008
12,710±0,003	6,966±0,002	0,224±0,037	0,566±0,041
13,513±0,018	6,553±0,009	0,292±0,021	0,605±0,028
14,909±0,178	5,943±0,072	0,209±0,088	0,234±0,068
19,828±0,002	4,478±0,001	0,324±0,024	0,714±0,053
21,250±0,072	4,182±0,014	0,090±0,074	0,353±0,010
22,056±0,005	4,031±0,001	0,915±0,289	0,373±0,218
27,823±0,006	3,207±0,001	0,273±0,037	0,305±0,009
29,447±0,003	3,034±0,001	0,449±0,005	1,000
33,266±0,027	2,694±0,002	0,303±0,176	0,141±0,026
34,496±0,021	2,600±0,002	0,306±0,057	0,211±0,011
35,118±0,016	2,556±0,001	0,280±0,089	0,179±0,008
38,691±0,010	2,327±0,001	0,549±0,121	0,144±0,020
40,325±0,016	2,237±0,001	0,801±0,117	0,278±0,023
44,167±0,029	2,051±0,001	0,538±0,056	0,141±0,024

A figura 4.6 apresenta uma comparação dos perfis de difração dos agrotóxicos estudados. Na análise por difração de raios X, cada substância terá um perfil dito único, que é característico do material. Então, ao analisarmos uma mistura de substâncias por difração de raios X, o perfil da mistura será a superposição dos padrões individuais de cada material. Devido ao fato de que os agrotóxicos analisados serem compostos formados pela mistura do ingrediente ativo com ingredientes inertes supõe-se que caso um ou mais agrotóxicos apresentem uma mesma substância como ingrediente inerte, o padrão de difração destes possuirá posições semelhantes onde a lei de Bragg é satisfeita.

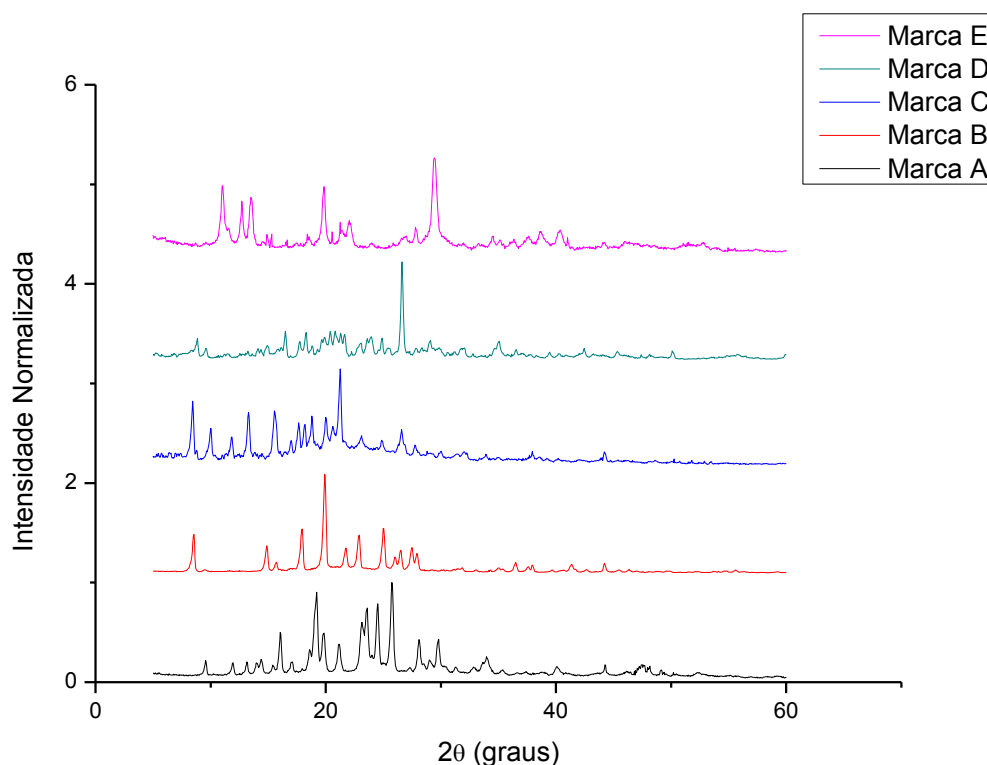


Figura 4.6: Difratomogramas dos agrotóxicos estudados.

Na análise dos ângulos de difração e das intensidades relativas dos picos presentes nos padrões de difração dos agrotóxicos não foram identificadas similaridades entre estes componentes, o que leva a acreditar que não existe correlação entre as moléculas dos ingredientes inertes utilizados na formulação de cada um dos pesticidas ou que a concentração do material inerte é muito menor que a dos ingredientes ativos.

4.2 Perfis de Espalhamento das Amostras de Casca e Polpa de Feijão

4.2.1 Perfis de Espalhamento das Cascas e Polpas de Feijão Orgânico e Convencional Não Contaminado

As figuras 4.7 e 4.8 mostram os perfis de espalhamento da casca e polpa do feijão orgânico, respectivamente.

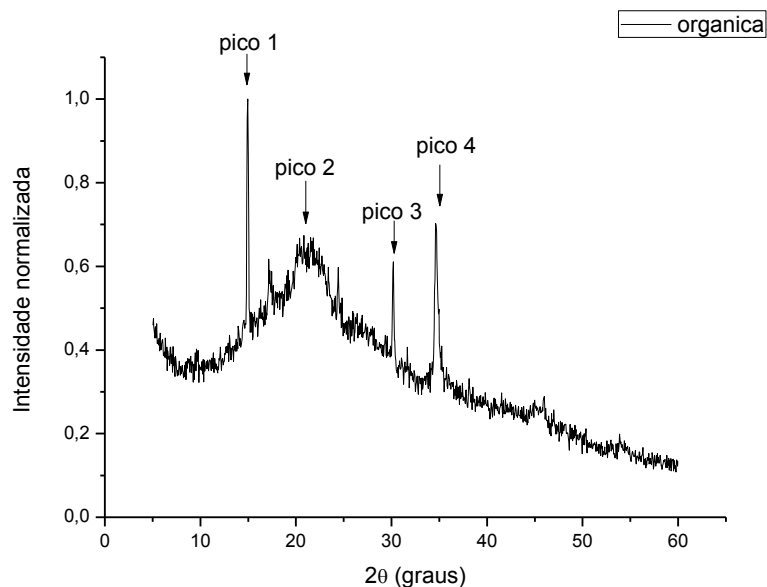


Figura 4.7: Difratograma da casca de feijão orgânico, numa varredura de 5° a 60°.

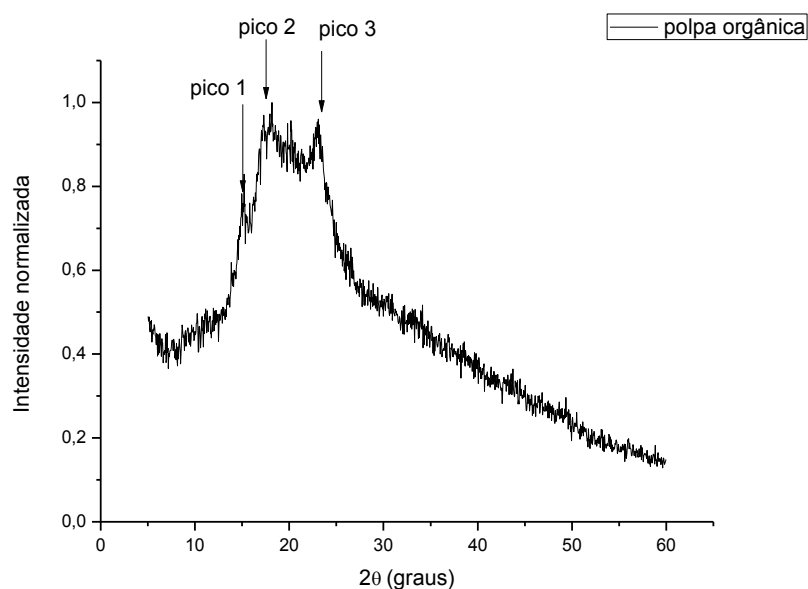


Figura 4.8: Difratograma da polpa de feijão orgânico, numa varredura de 5° a 60°.

Na análise do padrão de difração da casca de semente de feijão orgânico é possível verificar uma característica cristalina devido à presença de três picos estreitos de maior intensidade: $2\theta = 14,97^\circ$; $2\theta = 30,17^\circ$ e $2\theta = 34,68^\circ$. Um pico amorfo de maior intensidade pode ser observado em $2\theta = 21,27^\circ$ (pico 2).

Ao observarmos o padrão de difração da polpa de feijão orgânico, percebemos que se trata de um material de característica altamente amorfa. Três picos amorfos de maior intensidade podem ser observados em $2\theta = 15,17^\circ$, $2\theta = 18,13^\circ$ e $2\theta = 22,95^\circ$.

As figuras 4.9 e 4.10 apresentam os padrões de espalhamento da casca e polpa de feijão convencional, respectivamente, pertencentes ao grupo de controle, ou seja, ao Grupo I.

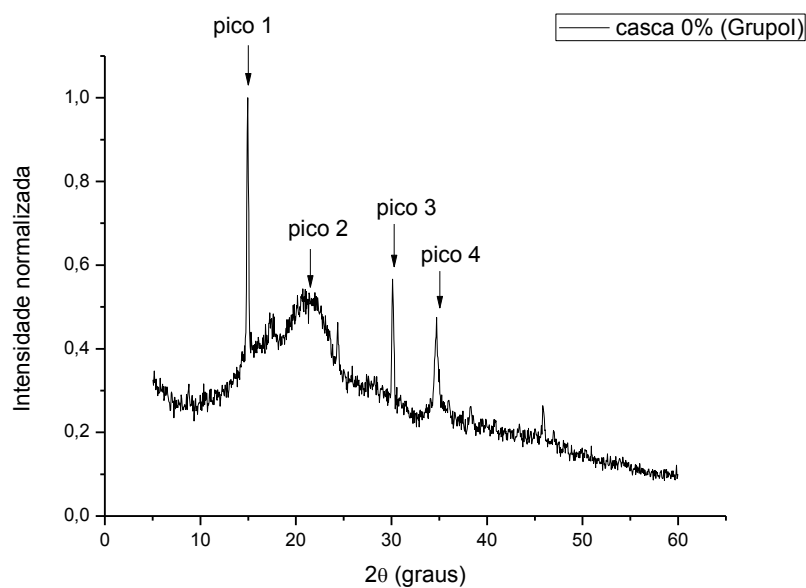


Figura 4.9: Difratograma da casca de feijão do Grupo I, numa varredura de 5° a 60° .

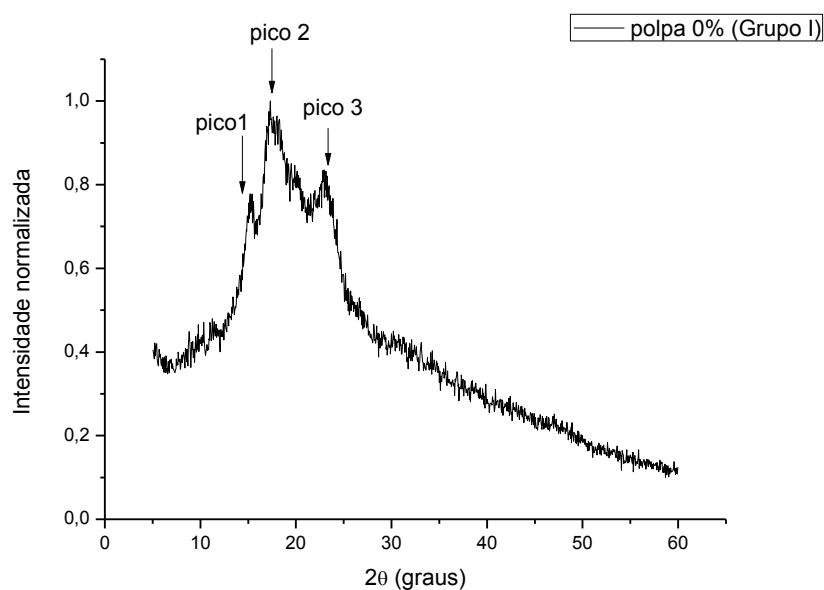


Figura 4.10: Difratograma da polpa de feijão do Grupo I, numa varredura de 5° a 60° .

A figura 4.11 mostra a comparação dos perfis de espalhamento das cascas de feijão orgânico e convencional do Grupo I.

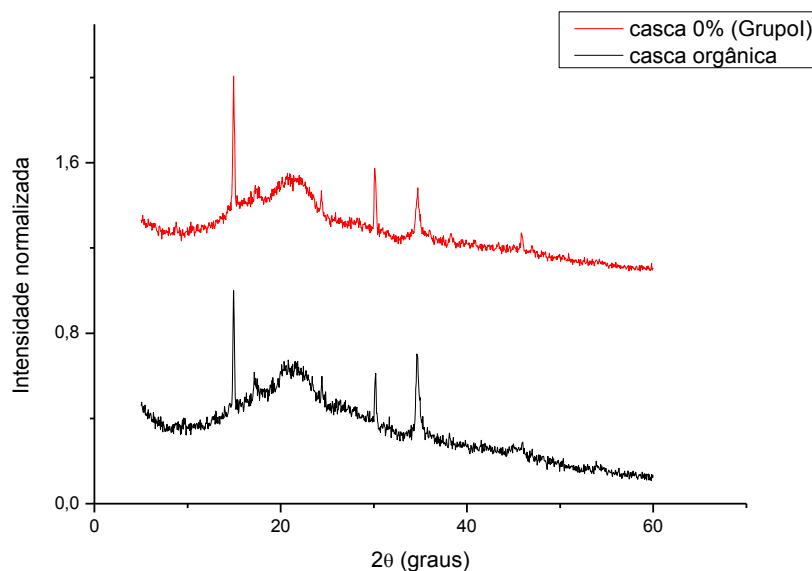


Figura 4.11:Difratograma da casca de feijão orgânico e casca de feijão do Grupo I.

Ao compararmos os padrões de espalhamento da casca de feijão convencional com o padrão obtido com o feijão orgânico, percebe-se que os perfis apresentam um comportamento semelhante, indicando que este padrão é característico da casca do feijão, independente que seja orgânico ou cultivado nos padrões convencionais. Esta característica também é observada quando comparamos as polpas de feijão orgânico e convencional, como demonstra a figura 4.12.

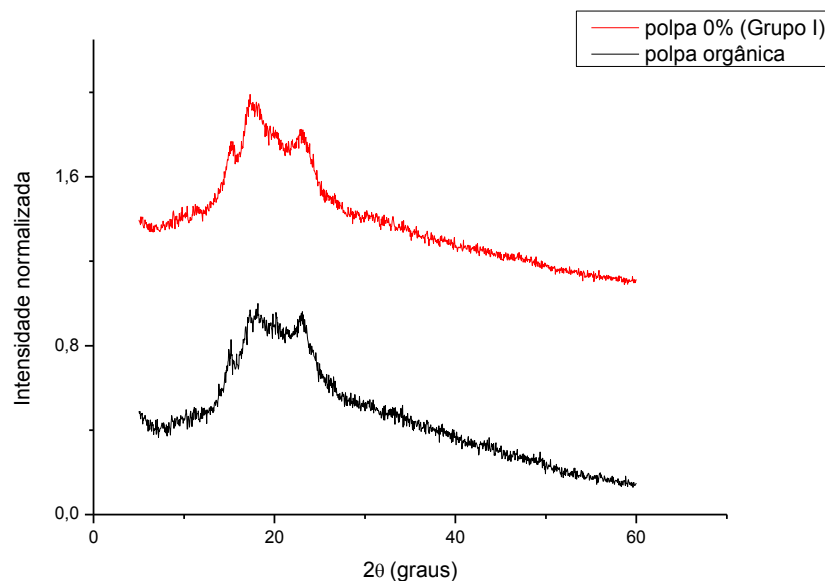


Figura 4.12: Difratograma da polpa de feijão orgânico e polpa de feijão do Grupo I.

4.2.2 Perfis de Espalhamento das Cascas e Polpas de Feijão Contaminadas por Agrotóxico

A figura 4.13 mostra o perfil de espalhamento das cascas de feijão contaminadas com as diferentes concentrações do agrotóxico da marca A. Também é apresentado o perfil de espalhamento da amostra de referência (casca do Grupo I). Os perfis representam a média obtida com as três leituras realizadas para cada amostra.

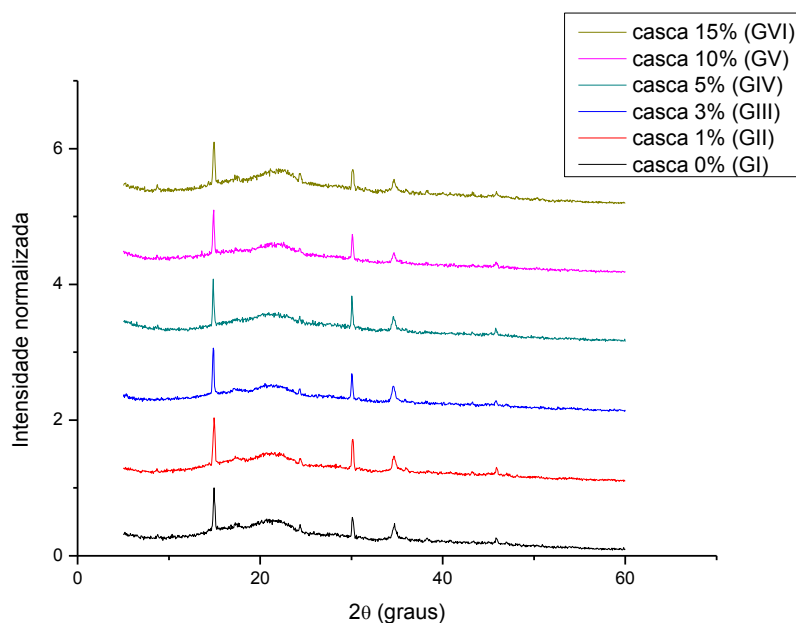


Figura 4.13: Difratograma da casca de feijão não contaminada e das contaminadas com 1%, 3%, 5%, 10% e 15% do agrotóxico da marca A.

Na análise dos perfis de espalhamento das cascas contaminadas com agrotóxico não é possível observar picos correspondentes ao agrotóxico da marca A. De acordo com o padrão de difração deste agrotóxico, os picos mais intensos estão localizados em: $2\theta = 25,74^\circ$, $2\theta = 19,15^\circ$, $2\theta = 24,49^\circ$ e $2\theta = 23,57^\circ$. A natureza amorfa que compreende a faixa de $18^\circ \leq 2\theta \leq 30^\circ$ dos perfis de difração das cascas torna-se um empecilho na percepção de picos cristalinos.

A tabela 4.6 mostra uma comparação entre as posições (2θ) e larguras a meia altura (FWHM) do pico amorfo (pico 2) e dos três picos estreitos mais intensos (pico 1, pico 3 e pico 4) encontrados nos perfis de difração das cascas. Os valores correspondem a um valor médio obtido com as três leituras realizadas para cada amostra.

Tabela 4.6: Valores de picos e largura a meia altura dos perfis de difração correspondentes a cada grupo de casca de feijão contaminado com agrotóxico. Valores dados em graus.

		Casca GI	Casca GII	Casca GIII	Casca GIV	Casca GV	Casca GVI
Pico 1	2θ	14,949 $\pm$ 0,050	14,952 $\pm$ 0,047	14,866 $\pm$ 0,070	14,863 $\pm$ 0,045	14,893 $\pm$ 0,046	14,938 $\pm$ 0,072
	FWHM	0,233 $\pm$ 0,023	0,248 $\pm$ 0,022	0,189 $\pm$ 0,039	0,165 $\pm$ 0,059	0,218 $\pm$ 0,021	0,287 $\pm$ 0,028
Pico 2	2θ	21,094 $\pm$ 0,075	21,172 $\pm$ 0,082	21,205 $\pm$ 0,088	21,226 $\pm$ 0,090	21,492 $\pm$ 0,073	21,776 $\pm$ 0,089
	FWHM	3,578 $\pm$ 0,401	4,060 $\pm$ 0,422	4,159 $\pm$ 0,432	3,257 $\pm$ 0,430	3,166 $\pm$ 0,462	3,326 $\pm$ 0,316
Pico 3	2θ	30,134 $\pm$ 0,060	30,132 $\pm$ 0,020	30,056 $\pm$ 0,030	30,061 $\pm$ 0,050	30,107 $\pm$ 0,060	30,142 $\pm$ 0,055
	FWHM	0,293 $\pm$ 0,052	0,240 $\pm$ 0,023	0,188 $\pm$ 0,033	0,162 $\pm$ 0,065	0,227 $\pm$ 0,029	0,339 $\pm$ 0,078
Pico 4	2θ	34,704 $\pm$ 0,080	34,675 $\pm$ 0,030	34,606 $\pm$ 0,030	34,629 $\pm$ 0,035	34,647 $\pm$ 0,060	34,662 $\pm$ 0,070
	FWHM	0,501 $\pm$ 0,089	0,501 $\pm$ 0,071	0,508 $\pm$ 0,061	0,656 $\pm$ 0,209	0,504 $\pm$ 0,088	0,438 $\pm$ 0,127

A tabela 4.7 mostra os valores de uma distribuição T de Student obtidos da comparação entre as médias das posições de pico e largura a meia altura do perfil de espalhamento da casca de feijão não contaminado (Grupo I) com as cascas dos Grupos II, III, IV, V e VI. Para um teste bicaudal com nível de significância $\alpha = 0,05$ e 4 graus de liberdade tem-se um valor tabelado de $t_{0,025/4} = 2,776$ (MONTGOMERY e RUNGER, 2003). Portanto, para valores de T entre as amostras contaminadas acima de 2,776 há forte evidência de que existe diferença entre a média da amostra não contaminada com a média das amostras contaminadas.

Tabela 4.7. Valores T da comparação entre as médias de posição de pico e largura a meia altura nos processos de contaminação das cascas.

		Casca GII	Casca GIII	Casca GIV	Casca GV	Casca GVI
Pico 1	2θ	-0,075	1,671	2,214	-0,866	0,217
	FWHM	-0,081	1,683	1,860	0,834	-2,581
Pico 2	2θ	-1,215	-1,662	-1,951	-6,586	-10,149
	FWHM	-1,434	-1,707	0,945	1,166	0,854
Pico 3	2θ	0,039	1,501	1,283	0,450	-0,137
	FWHM	0,040	0,052	0,058	1,920	-0,849
Pico 4	2θ	0,587	1,487	1,487	0,987	0,684
	FWHM	0,00	-0,112	-1,181	-0,041	0,703

Na análise da diferença entre as médias da posição de pico (2θ) e largura a meia altura do pico 2 da casca não contaminada com as cascas contaminadas com 10% e 15% de agrotóxico foram encontrados para a distribuição T de Student, os valores -6,586 e -10,149, respectivamente. Estes valores estão acima do valor crítico dado por $-t_{0,025/2;4} = 2,776$. Esse fato pode ser um indício da contaminação pelo agrotóxico, que pode ter provocado um alargamento no pico. Na análise dos picos 1,3 e 5, os valores de T ficaram abaixo do valor crítico para uma distribuição bilateral, indicando não haver diferença entre as posições dos picos e larguras a meia altura das cascas contaminadas em relação à amostra de controle (casca GI).

A figura 4.14 mostra os perfis de espalhamento das amostras de polpa de sementes de feijão contaminadas com o agrotóxico da marca A.

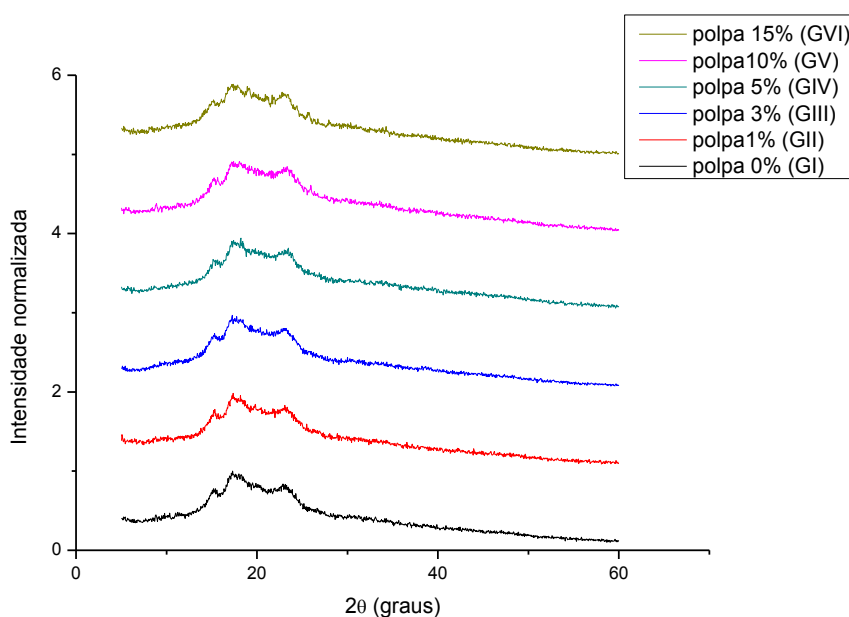


Figura 4.14: Difratograma da polpa de feijão não contaminada e das contaminadas com 1%, 3%, 5%, 10% e 15% do agrotóxico da marca A.

Na análise dos perfis de difração das amostras de polpa contaminadas não foram detectados picos de difração referentes ao agrotóxico da marca A. A tabela 4.8 mostra uma comparação das posições dos três picos amorfos existentes nos padrões de difração das polpas. Os valores correspondem a uma média das três leituras realizadas para cada amostra.

Tabela 4.8. Posições de pico (2θ) encontradas nos perfis de espalhamento das polpas de feijão. Valores dados em graus.

	Pico 1	Pico 2	Pico 3
Polpa GI	15,196±0,027	17,711±0,062	22,863±0,083
Polpa GII	15,184±0,022	17,676±0,017	22,847±0,025
Polpa GIII	15,230±0,037	17,674±0,001	22,867±0,025
Polpa GIV	15,136±0,047	17,630±0,007	22,808±0,031
Polpa GV	15,151±0,046	17,836±0,059	22,758±0,059
Polpa GVI	15,290±0,082	18,225±0,058	22,954±0,076

A tabela 4.9 mostra os valores T para a diferença entre as médias das polpas contaminadas e a polpa do grupo de controle. Observa-se que para a contaminação de 15%, o valor T ficou acima do valor crítico $-t_{0,025/2;4}= 2,776$. A quantidade de agrotóxico utilizada nesta contaminação pode ter provocado um deslocamento na posição do pico.

Tabela 4.9. Valores T da comparação entre as médias de posição de pico nos processos de contaminação das cascas por agrotóxico.

	Pico 1	Pico 2	Pico 3
Polpa GII	0,608	0,943	0,319
Polpa GIII	-1,276	1,033	-0,079
Polpa GIV	1,925	2,248	1,075
Polpa GV	1,469	-2,529	1,785
Polpa GVI	-1,881	-10,486	-1,400

A tabela 4.10 mostra os valores de largura a meia altura (FWHM) e valor T para a diferença entre as médias da polpa de controle e das polpas contaminadas. Para o pico 1 foram encontrados valores T acima do valor crítico $-t_{0,025;4}=2,776$ para as polpas contaminadas com 10% (Grupo V) e 15% (Grupo VI) de agrotóxico.

Para os picos 2 e 3, os valores T ficaram abaixo do valor crítico, indicando não haver diferença entre os valores médios de FWHM da polpa não contaminada com as polpas contaminadas.

Tabela 4.10. Valores de largura a meia altura (FWHM), dados em graus, e distribuição T de Student para diferença entre médias da polpa de feijão não contaminada (Grupo I) e das polpas contaminadas.

	Pico 1		Pico 2		Pico 3	
	FWHM	T	FWHM	T	FWHM	T
Polpa GI	1,140±0,557	-	2,146±0,062	-	1,478±0,701	-
Polpa GII	1,055±0,351	0,223	2,051±0,075	1,70	1,683±0,419	-0,435
Polpa GIII	1,097±0,060	0,131	2,014±0,060	2,652	1,727±0,490	-0,503
Polpa GIV	2,074±0,463	-2,234	2,071±0,068	1,424	1,301±0,161	0,426
Polpa GV	2,734±0,697	-3,093	2,045±0,029	2,564	1,244±0,242	0,547
Polpa GVI	2,561±0,640	-2,900	2,043±0,028	2,619	1,508±0,502	-0,061

Analisando os perfis de espalhamento das polpas de sementes de feijão contaminadas com o agrotóxico A, não é possível identificar picos correspondentes às reflexões de Bragg evidenciadas no padrão de difração do agrotóxico, utilizando os softwares Origin e Fullprof. A natureza amorfa da polpa e a presença de background tornam-se obstáculos na visualização de picos característicos do agrotóxico para as quantidades utilizadas na contaminação. No entanto, flutuações nas posições de pico e largura a meia altura em algumas das amostras contaminadas foram estatisticamente identificadas.

CAPÍTULO V

CONSIDERAÇÕES FINAIS E SUGESTÕES

O estudo de agrotóxicos por meio da técnica de difração de raios X é pouco explorado no cenário nacional e internacional devido à complexidade de manuseio e aquisição destas substâncias, além da alta toxicidade. Esta pesquisa teve caráter exploratório e foi baseada no interesse em observar as características da estrutura molecular destes compostos, uma vez que estes são extremamente utilizados no modelo agrícola atual. Além disso, as técnicas comumente utilizadas na análise de resíduos de agrotóxicos exigem inúmeras etapas. Por isso, foi realizada neste trabalho uma tentativa para verificar se seria possível observar resíduos de agrotóxicos em alimentos utilizando difração de raios X, pois esta técnica é não destrutiva e exige poucos procedimentos para a realização dos experimentos. De acordo com os resultados e discussões apresentados, pode-se concluir que:

- Por meio da técnica de difração de raios X foi possível a caracterização de cinco diferentes tipos de agrotóxicos utilizados em agricultura e comercializados no Brasil. Os compostos estudados apresentavam princípios ativos distintos. Entre eles estavam as substâncias conhecidas como Imidacloprido, Ciromazina, Diafentiurom, Dimetomorfe, Famoxadona e Mancozebe. Estas substâncias podem ser usadas em diferentes formulações de agrotóxicos ou misturadas a outros produtos ativos. Portanto, mudanças na estrutura molecular devido à adição de outras substâncias poderão ser identificadas por meio de comparações entre os perfis de difração. Além disso, este trabalho pode ser o primeiro passo para resolução da estrutura cristalina destes materiais.
- A análise dos padrões de difração de sementes de feijão mostrou que feijões orgânicos e feijões cultivados utilizando os métodos convencionais não apresentam diferenças entre os espectros.
- Os perfis de espalhamento das cascas de feijão apresentaram características cristalinas, ou seja, picos estreitos e bem definidos com posições angulares $2\theta=14,9^\circ$, $2\theta=30,13^\circ$ e $2\theta=34,7^\circ$. Também foi identificado um pico amorfo de intensidade significativa em torno de 21° , em relação a 2θ .

- Os perfis de espalhamento das polpas de feijão apresentaram características de materiais amorfos com picos largos de intensidade significativa em torno das posições angulares 15°, 17° e 22°, em relação a 2 θ .
- Nas análises dos resultados de difração de raios X das amostras de casca e polpa de feijão contaminadas com agrotóxico não foi possível identificar picos correspondentes ao padrão de difração do agrotóxico da marca A. A pequena ou nenhuma percepção de resíduos do agrotóxico nas amostras pode estar relacionada a fatores como:
 - 1 - O processo de absorção do agrotóxico por parte das cascas e polpas. O agrotóxico pode ter se fixado apenas superficialmente às amostras e rapidamente ter sido degradado pela ação da temperatura durante o processo de secagem na luz ultravioleta, não afetando suas estruturas moleculares e químicas.
 - 2 - As alterações nos espectros de difração foram pequenas suficientes para não serem possíveis de serem detectadas pelos softwares utilizados, devido ao background e a característica amorfa observados no padrão de difração das cascas e polpas.
 - 3 - A não aplicação do agrotóxico durante a fase de desenvolvimento das sementes de feijão, pois durante as etapas de plantio, os vegetais tornam-se mais susceptíveis na absorção de agrotóxicos.
 - 4 - A degradação do Imidacloprido na matriz orgânica, pois em matrizes como o solo e plantas, o imidacloprido pode se degradar em um número diferente de derivados, todos contendo a estrutura da cloropiridina com o ácido 6-cloronicotínico como um metabolito principal, como mencionado por ISHII *et al.*(1994). Propriedades físico-químicas, como a solubilidade e dissociação constante determinam a sua capacidade de penetrar em biomembranas.
- Embora a presença de picos de difração referentes ao agrotóxico da marca A nas amostras sujeitas ao processo de contaminação não tenham sido percebidas, pequenas flutuações nas posições de pico e largura a meia altura nas amostras de casca e polpa contaminadas com 10 e 15% de agrotóxico, em relação ao seu peso, foram identificadas estatisticamente. No entanto, seria necessário um maior número de amostras para observar se estas alterações são efetivamente decorrentes da contaminação por agrotóxico.

5 - Sugestões para trabalhos futuros

Em função dos resultados obtidos neste estudo, sugere-se para dar continuidade à linha de pesquisa, levantar padrões de difração de outros tipos de agrotóxicos que utilizem os mesmos princípios ativos para verificar o comportamento da estrutura molecular devido às mudanças de formulação.

Outro ponto de interesse seria desenvolver métodos para isolar o princípio ativo dos ingredientes inertes por meio de processos de extração utilizando agentes ácidos e alcoóis e posteriormente, levantar o padrão de difração do ingrediente ativo isolado e comparar com os obtidos com as formulações comerciais.

Outro campo de estudo seria utilizar os agrotóxicos nas fases de germinação do feijão, ou seja, desde o plantio da semente até a época de colheita, e verificar se nesta fase de desenvolvimento é possível observar mudanças na estrutura molecular e composição química das sementes devido à presença dos agrotóxicos.

Outra proposta seria investigar a presença dos agrotóxicos em outras matrizes, ao invés do feijão. Verduras e solo são exemplos de matrizes alvo, uma vez que estes constituem centros de acúmulo de agrotóxicos em áreas de cultivo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, A. A. R., 2010, **IVESTIGAÇÃO DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS ORGANOCLORADOS E ORGANOFOSFORADOS EM ÓLEOS ESSENCIAIS CÍTRICOS NACIONAIS UTILIZANDO CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS**. 131 p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Rio de Janeiro.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2011. **AGROTÓXICOS E TOXICOLOGIA**. Disponível em: <HTTP://www.anvisa.gov.br/>. Acesso em: 20 ago. 2011.
- ANVISA, 2006, “**RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS**”. Rev. Saúde Pública, 40(2), 361-363.
- ARAÚJO, F. A. da SILVA, 2009, **ANÁLISE DO OSSO SUÍNO IRRADIADO UTILIZANDO ESPALHAMENTO COERENTE DE RAIOS X E RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA**. 74p. Dissertação de Mestrado, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- ARAÚJO, T. S., 2006, **PRODUÇÃO DE HIDROXIAPATITA PURA E DOPADA PARA APLICAÇÃO EM BIOSENSORES**. 99p. Dissertação de Mestrado, Departamento de Física, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão.
- BLEICHER, L.; SASAKI, J. M., 2000, **INTRODUÇÃO À DIFRAÇÃO DE RAIOS-X EM CRISTAIS**. Notas de aula. Universidade Federal do Ceará.

BRASIL. Decreto nº 4074, de 4 de janeiro de 2002. 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 de resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Casa Civil da Presidência da República. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/D4074.htm Acesso em: 25 mar. 2011.

CACHO, C. *et al.*, 2003, **“CLEAN-UP TRIAZINES IN VEGETABLE EXTRACTS BY MOLECULARLY-IMPRINTED SOLID-PHASE EXTRACTION USING A PROPAZINE-INPRINTED POLYMER”**. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 376, p. 491-496.

CANTOS, C., 2008, **AVALIAÇÃO SOCIOAMBIENTAL DO PROCESSO DE DESCARTE DE EMBALAGENS VAZIAS DE AGROTÓXICOS: UM ESTUDO DE CASO NO MUNICÍPIO DE TRÊS PONTAS NO ESTADO DE MINAS GERAIS**. 97p. Dissertação de Mestrado, Centro Universitário SENAC, São Paulo.

CARAPETO, C., 1999, **POLUIÇÃO DAS ÁGUAS – CAUSAS E EFEITOS**, Universidade Aberta, Lisboa.

CARDONA, M. C. G., 2004, **LINGUAGEM DOS RISCOS E SUJEITOS POSICIONADOS: O USO DE AGROTÓXICOS NO VALE DE QUÍBOR, VENEZUELA**. 250p. Tese de Doutorado, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, São Paulo.

CASTRO, I. M., 2005, **“EFEITOS DE TRATAMENTOS DIFERENCIADOS NO PLANTIO DE BANANA VAR. PRATA-ANÃ ATRAVÉS DA QUANTIFICAÇÃO DE RESÍDUOS DE CARBOFURAN”**. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal-SP, v.27, n.1, p.40-42.

- CHERNYSHEV, V. V.; MONAKHOVA, N. S., 2010, **“POWDER DIFFRACTION IN STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF DIENEDIAMINOKETONES OF THE INDOLIN-3-ONE SERIES”**.J. Chem. Sci., vol.122, No. 5, p. 721-729.
- CHOPRA, D., *et al.*, 2004, **“(2E)-1-[(6-CHLOROPYRIDIN-3-YL)METHYL]-N-NITRO-IMIDAZOLIDIN-2-IMINE (IMIDACHLOPRID)”**, Acta Cryst., E60, p. 2415-2417.
- COX, C., 1999, **“INERT INGREDIENTS IN PESTICIDES: WHO’S KEEPING SECRETS?”** Journal of Pesticide Reform/ Fall, vol. 19, No. 3.
- CULLITY, B.D., 1978, **ELEMENTS OF X-RAY DIFFRACTION**. 2. ed Reading, Mass., Addison-Wesley.
- CUNHA e SILVA, 2002, **“ANALYSIS OF ARCHAEOLOGICAL CERAMIC USING ENERGY DISPERSIVE X-RAY MICROFLUORESCENCE”**. National Synchrotron Light Laboratory Activity Report 2001. Campinas: v.único, p.33-34.
- DELBEKE, F. *et al.*, 1997, **“TOXICITY OF DIFLUBENZURON, PYRIPROXYFEN, IMIDACLOPRID AND DIAFENTHIURON TO THE PREDATORY BUG ORIUS LAEVIGATUS (HET.: ANTHOCORIDAE)”**. Entomophaga, 42 (3), p. 349-358.
- DEPARTAMENT FOR ENVIRONMENT, FOOD AND RURAL AFFAIRS, 1993, **EVALUATION OF FULLY APPROVED OR PROVISIONALLY APPROVED PRODUCTS. EVALUATION ON: CYROMAZINE**.FOOD AND ENVIRONMENT PROTECTION ACT, PART III, No. 89.
- DEPARTAMENT OF PESTICIDE REGULATION, 2006, **IMIDACLOPRID. RISK CHARACTERIZATION DOCUMENT. DIETARY AND DRINKING WATER EXPOSURE**.

- DULONG, F. T., JACKSON, J. C., 1997, **X-RAY POWDER DIFFRACTION**. U. S. Geological Survey.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2003, **PESTICIDE FACT SHEET.FAMOXADONE**.Disponívelem: <http://www.epa.gov/> . Acessoem: 1 ago. 2011.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1998, **PESTICIDE FACT SHEET.DIMETHOMORPH**.Disponívelem: <http://www.epa.gov/> . Acesso em: 1 ago. 2011
- FARIA, A. B. C., 2009, “**REVISÃO SOBRE ALGUNS GRUPOS DE INSETICIDAS UTILIZADOS NO MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS FLORESTAIS**”. *Ambiência – Revista do setor de Ciências Agrárias e Ambientais*, V. 5, N. 2, maio/ago.
- FERNANDES, W. B., 2011, **CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE DUAS SULFONAMIDAS E DE UM ANÁLOGO DE CHALCONA DO TIPO RETINÓIDE**. 163 p. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Goiás.
- FERREIRA, C. R. R. P. T; SILVA, J. R; ASSUMPCÃO, R., 2002, “**DISTRIBUIÇÃO TERRITORIAL DAS VENDAS DE HERBICIDAS NO BRASIL, 1991-2000**”. *Rev. Informações Econômicas*, SP, v.32, n.6, p.15-23.
- FILGUEIRAS, R. A., 2006, **ANÁLISE DOS PERFIS DE ESPALHAMENTO COERENTE DE RAIOS X DE AMOSTRAS LIOFILIZADAS DE SANGUE HUMANO TOTAL E DERIVADOS**. 77p. Dissertação de Mestrado. COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- FIOCRUZ, 2010, **RADIS – COMUNICAÇÃO EM SAÚDE**, nº 95.
- FORD, K. A., *et al.*, 2011, “**E. NEONICOTINOID INSECTICIDES: OXIDATIVE STRESS IN PLANTA AND METALLO-OXIDASE INHIBITION.J**”. *Agric. FoodChem.*, 59, 4860-4867.

- FUNASA, 2001, **CONTROLE DE VETORES: PROCEDIMENTOS DE SEGURANÇA**. Brasília
- GALLI, A, *et al.*, 2006, “**UTILIZAÇÃO DE TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS NA DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS EM ALIMENTOS**”. *Quim. Nova*, Vol. 29, No. 1, 105-112.
- HOFMANN, R. M., *et al.*, 2010, “**A INSERÇÃO DO BRASIL NO COMÉRCIO INTERNACIONAL DE AGROTÓXICOS 2000-07**”. *Indc. Econ. FEE*, Porto Alegre, v.38, n.1, p.103-128.
- INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA, 2010, “**DEFENSIVOS AGRÍCOLAS: EXPECTATIVAS DE AUMENTO NAS VENDAS EM 2010**”. *Análise e Indicadores do Agronegócio*, v.5, n.7.
- ISHII, Y., *et al.*, 1994, “**HPLC DETERMINATION OF THE NEW INSECTICIDE IMIDACLOPRID (CHLORONICOTINYL INSECTICIDES), AND ITS BEHAVIOR IN RICE AND CUCUMBER**”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 2917-2921.
- JARDIM, I. C. S. F.; ANDRADE, J. A., 2009, “**RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS: UMA PREOCUPAÇÃO AMBIENTAL GLOBAL – UM ENFOQUE ÀS MAÇÃS**”. *Quim. Nova*, vol.32, No. 4, 996-1012.
- JEMÂA, J. M.; BOUSHIH, E., 2010, “**CYROMAZINE INDUCED EFFECTS ON LARVAE AND ADULTS OF LABORATORY TUNISIAN STRAIN OF THE MEDITERRANEAN FRUIT FLY *CERATITIS CAPITATA***”. *Tunisian Journal of Plant Protection*, Vol.5, No. 2.
- JÚNIOR, J. F., *et al.*, 1999, “**INTOXICAÇÃO POR ORGANOFOSFORADOS**”. *Medicina Interna*, Vol. 6, N.2.

- KAN, W. Q., *et al.*, 2011, **“A SERIES OF METAL-ORGANIC FRAMEWORKS BASED ON 9,10-BIS (IMIDAZOL-1-YLMETHYL) ANTHRACENE AND STRUCTURALLY RELATED AROMATIC DICARBOXYLATES: SYNTHESSES, STRUCTURES, AND PHOTOLUMINESCENCE”**. Polyhedron, v.30, p. 2106-2113.
- KLINGMAN, G.C.; ASHTON, F.M.; NOORDHOFF, L.J., 1982, **WEED SCIENCE: PRINCIPLES AND PRACTICES**. 2^a ed. New York, John Wiley, 449p.
- KRIEGER, R., 2001, **HANDBOOK OF PESTICIDE TOXICOLOGY: PRINCIPLES**. 2 ed., New York, Academic Press.
- LANGFORD, J. I.; LOUËR, D., 1996, **“POWDER DIFFRACTION”**. Rep. Prog.Phys, 59, 131-234.
- LEVERIDGE, Y. R., 1998, **“PESTICIDE POISONING IN COSTA RICA DURING 1996”**. Vet. Hum. Toxicol., 40(1), p.42-44.
- MAGALHÃES, M. A. S., 2010, **EXPOSIÇÃO A AGROTÓXICOS NA ATIVIDADE AGRÍCOLA: UM ESTUDO DE PERCEPÇÃO DE RISCOS À SAÚDE DOS TRABALHADORES RURAIS NO DISTRITO DE PAU DE FERRO-SALGUEIRO-PE**. 67p. Dissertação de Mestrado, Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife.
- MARTINEZ, L. G., 1989, **DESENVOLVIMENTO E IMPLEMENTAÇÃO DE UMA TÉCNICA DE ANÁLISE DE PERFIS DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X, PARA A DETERMINAÇÃO DA ENERGIA DE FALHA DE EMPILHAMENTO DE METAIS E LIGAS DE ESTRUTURA CFC**. 98p. Dissertação de Mestrado, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE, INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2006, **VIGILÂNCIA DO CÂNCER RELACIONADO AO TRABALHO E AO AMBIENTE**. Rio de Janeiro.

MINISTRY OF AGRICULTURE, FOOD AND FISHES, 2004,
DIMETHOMORPH. PESTICIDE INFO, BRITISH COLUMBIA.

MONTGOMERY, D. C.; RUNGER, G. C. 2003, **APPLIED STATISTICS AND PROBABILITY FOR ENGINEERS**. 3ª ed. John Wiley & Sons.

MOURA, A. O., 2008, **SÍNTESE E APLICAÇÃO DE MAGADIÍTA NA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE HERBICIDAS**. 126p. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília.

OBANA, H., *et al.*, 1999, “**MULTIRESIDUE ANALYSIS OF PESTICIDES IN VEGETABLES AND FRUITS USING A HIGH CAPACITY ABSORBENT POLYMER FOR WATER**”. *The Analyst*, v. 124, p. 1159-1165.

OPAS/OMS, 1996, **MANUAL DE VIGILÂNCIA DE SAÚDE DE POPULAÇÕES EXPOSTAS A AGROTÓXICOS**. Brasília. Disponível em <<http://www.opas.org.br/publicmo.cfm?codigo=19>> Acessado em: 27 mar. 2011.

OVIEDO, M. T. P.; TOLEDO, M. C. F.; VICENTE, E., 2003, “**RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS PIRETRÓIDES EM HORTALIÇAS**”. *Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente*, Curitiba, v.13, p. 9-18.

PECHARSKY, V.K.; ZAVALIJ, P.Y., 2009, **FUNDAMENTALS OF POWDER DIFFRACTION AND STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF MATERIALS**. 2ª Edição, Springer, 751p.

PERES, F; MOREIRA, J. C; CLAUDIO, L., 2007, “**OS IMPACTOS DOS AGROTÓXICOS SOBRE A SAÚDE E O MEIO AMBIENTE**”. *Ciência & Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro, v.12, n.1.

PEROSSO, B. G.; VICENTE, G. P., 2007, **DESTINAÇÃO FINAL DE EMBALAGENS DE AGROTÓXICOS E SEUS POSSÍVEIS IMPACTOS AMBIENTAIS**. 95p. Monografia, Fundação Educacional de Barretos, Barretos.

- PITELLA, M. C., 2009, **DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM MEL DE ABELHAS (Apissp) POR CROMATOGRAFIA DE FASE GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS**. 119p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte.
- PREETHA, G., *et al.*, 2009, **“TOXICITY OF IMIDACLOPRID AND DIAFENTHIURON TO CHRYSOPERLA CARNEA (STEPHENS) (NEUROPTERA: CHRYSOPIADAE) IN THE LABORATORY CONDITIONS”**. Journal of Plant Protection Research, 49 (3).
- QUEIROZ, S. C. N., *et al.*, 2008, **MÉTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DE MULTIRESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM PRODUTOS AGRÍCOLAS**. Embrapa Meio Ambiente.
- QUINETE, N. S., 2005, **EXTRAÇÃO DE POLUENTES ORGANOCLORADOS PERSISTENTES EM FRAGMENTOS REMANESCENTES DA MATA ATLÂNTICA, RJ: COMPARAÇÃO DE MÉTODOS**. 135p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Fluminense, Niterói.
- RECENA, M. C. P.; CALDAS, E. D., 2008, **“PERCEPÇÃO DO RISCO, ATITUDES E PRÁTICAS NO USO DE AGROTÓXICOS ENTRE AGRICULTORES DE CULTURAMA, MS”**. Rev. Saúde Pública, 42(2), p. 294-301.
- RENDA, J. L. C., 2010, **COMPORTAMENTO TÉRMICO DE ÓXIDOS DE FERRO PRESENTES EM SOLOS DA SAVANA DE RORAIMA**. 61p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Roraima.
- RIBAS, P. P.; MATSUMURA, A. T. S., 2009, **“A QUÍMICA DOS AGROTÓXICOS: IMPACTO SOBRE A SAÚDE E MEIO AMBIENTE”**. Revista Liberato, Novo Hamburgo, v.10, n.14, p. 149-158.

- RODRIGUES, N. R., 2006, “**AGROTÓXICOS: ANÁLISES DE RESÍDUOS E MONITORAMENTO**”. MultiCiência, Construindo a História dos Produtos Naturais, No. 7.
- SANTOS, F., 2000, **APLICAÇÃO DE PESTICIDAS EM AGRICULTURA**. Departamento de Fitotecnia e Engenharia Rural, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real.
- SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. R., 2007, “**PIRETRÓIDES – UMA VISÃO GERAL**”. Alim.Nutr., v.18, n.3, p. 339-349.
- SHUKLA, Y.; ARORA, A., 2001, “**TRANSPLACENTAL CARCINOGENIC POTENTIAL OF THE CARBAMATE FUNGICIDE MANCOZEB**”. EnvironPatholToxicolOncol, 20 (2), p. 127-31, 2001.
- SILVA, E. C., 2008, **ANÁLISE QUÍMICA INSTRUMENTAL**. Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.
- STENERSEN, J., 2004, **CHEMICAL PESTICIDES: MODE OF ACTION AND TOXICOLOGY**. CRC PRESS.
- STEVENSON, F. J., 1994, **HUMUS CHEMISTRY: GENESIS, COMPOSITION, REACTION**. 2nd ed. New York: Wiley, 496p.
- SUPERINTENDÊNCIA DE CONTROLE DE ENDEMIAS (SUCEN). **MANUAL DE SEGURANÇA QUÍMICA E CONTROLE DE VETORES**, 2000, Disponível em: <http://www.sucen.sp.gov.br/profi/segqui.html>. Acesso em: 1 ago. 2011.
- SURYANARAYANAN, R.; RASTOGI, S., 2001, **X-RAY POWDER DIFFRACTOMETRY**. In the Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, J. Swarbrick and J.C. Boylan (eds.), Marcel Dekker, New York.

- TERRA, M. A. C.; PEDLOWSKI, M., 2009, **AS CARACTERÍSTICAS E REPERCUSSÕES SÓCIO-AMBIENTAIS DO USO DE AGROTÓXICOS EM UM ASSENTAMENTO DE REFORMA AGRÁRIA NO NORTE FLUMINENSE**. In: XIX Encontro Nacional de Geografia Agrária, São Paulo, 2009. p.1-25. Disponível em: <
<http://www.geografia.fflch.usp.br/inferior/laboratorios/agraria/Anais%20XIXENGA/trabalhos.htm>> Acesso em: 28 mar. 2011.
- VELASCO, L. O. M.; CAPANEMA, L. X. L., 2006, “**O SETOR DE AGROQUÍMICOS**”. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n.24, p. 69-96.
- VIDOTTI, E. C., 2006, **DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS LIMPOS PARA A DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS EXPLORANDO AMBIENTES MICELARES**. 102p. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Química.
- WANG, B.; ZHANG, H.; EVANS, D. G.; DUAN, X., 2005, “**SURFACE MODIFICATION OF LAYERED DOUBLE HYDROXIDES AND INCORPORATION OF HYDROPHOBIC ORGANIC COMPOUNDS**”. *Materials Chemistry and Physics*, 92, p. 190-196.
- YAMASHITA, M. G. N., 2008, **ANÁLISE DE RÓTULOS E BULAS DE AGROTÓXICOS SEGUNDO DADOS EXIGIDOS PELA LEGISLAÇÃO FEDERAL DE AGROTÓXICOS E AFINS E DE ACORDO COM PARÂMETROS DE LEGIBILIDADE TIPOGRÁFICA**. 108p. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Arquitetura, Artes e Comunicação, Universidade de São Paulo, Bauru.
- ZAVATTI, L. M. S.; ABAKERLI, R. B., 1999, “**RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM FRUTOS DE TOMATE**”. *Pesq. Agropec. bras.*, Brasília, v. 34, n. 3, p. 473-480, mar.

ZHAO Yu, *et al.*, 2010, “**SYNTHESIS, CRYSTAL STRUCTURE AND INSECTICIDAL ACTIVITIES OF NOVEL NEONICOTINOID DERIVATIVES**”. Chem. Res. Chinese Universities, 26(3), p. 380-383.