

## 1. Introdução

O Laboratório de Apoio ao Desenvolvimento de Mercado (LADM) tem como principal função apoiar a Servatis S.A., empresa da qual é parte integrante, no que se refere ao desenvolvimento de produtos defensivos agrícolas formulados. Seu escopo de trabalho inclui o desenvolvimento de produtos desde a escala de laboratório à escala industrial, passando inclusive pelo suporte ao registro de produtos. O laboratório é acreditado em Boas Práticas de Laboratório (BPL) [1] pelo INMETRO, habilitado pela ANVISA e credenciado pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, sendo parte integrante das redes de laboratório RBLE e REBLAS. Seu escopo de credenciamento abrange os principais ensaios físico-químicos, inclusive a determinação de teor de ingrediente ativo.

A Servatis S.A. é uma empresa brasileira que atua no setor de defensivos agrícolas, principalmente como prestador de serviços de industrialização. Como empresa, a Servatis nasceu a menos de dois anos, quando a BASF, empresa multinacional alemã do ramo químico, vendeu os ativos fixos de sua fábrica localizada em Resende aos antigos funcionários daquela unidade. A operação de compra foi inicialmente financiada pelo Banco Real e, posteriormente, também pelo Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES). Estas instituições financeiras julgaram e aprovaram a viabilidade do projeto de aquisição ponto de vista econômico e financeiro. Outro aspecto relevante considerado pelo BNDES nesta ocasião, além da empresa empregar diretamente mais de 200 pessoas, foi o fato de a distribuição acionária da empresa ser pulverizada, levando este a ser caracterizado como um projeto de cunho social.

O LADM é um laboratório bem equipado, possuindo pessoal qualificado para o desenvolvimento de todos os tipos de formulações de defensivos agrícolas. Ultimamente, a maior parte do trabalho foi direcionada para o desenvolvimento de formulações líquidas, principalmente dos tipos suspensão concentrada (SC), concentrado emulsionável (CE) e concentrado solúvel (CS). Na Tabela 1.1, a seguir, são mostrados os principais tipos de formulação de defensivos agrícolas e respectivas descrições resumidas [2].

Tabela 1.1 – Principais tipos de formulações

Estado físico	Tipo	Sigla	Descrição resumida
Líquidas	Concentrado solúvel	CS	O Ingrediente ativo (IA) é dissolvido em água ou em solvente orgânico miscível em água.
	Concentrado emulsionável	CE	O IA é dissolvido em um solvente orgânico apolar. A formulação contém aditivos que garantem a emulsificação do produto no momento da aplicação.
	Suspensão concentrada	SC	O IA é praticamente insolúvel no solvente utilizado como diluente. No processo de formulação, o IA é moído já disperso no diluente. O produto é estabilizado pela ação de agentes dispersantes, umectantes, espessantes, anti-congelantes e biocidas.
	Emulsão	EO e EW	A formulação é composta de duas fases, uma fase aquosa e outra orgânica, estabilizadas em uma única fase pela ação de agentes emulsificantes. Estas podem ser de dois tipos: diluente água (EW) e diluente orgânico (EO)
	Suspo-emulsão	SE	A formulação contém partículas sólidas e líquidas em suspensão no meio diluente. É estabilizada pela ação de aditivos.
Sólidas	Pós Solúveis	SP	O IA é solúvel em água.
	Pós molháveis	WP	O IA é insolúvel em água. Aditivos garantem a umectação do produto no momento da aplicação.
	Grânulos dispersíveis	WG	Formulação granulada com altos teores de ingrediente ativo. Contem agentes dispersantes que garantem a dispersão no momento da aplicação do produto.

Os produtos formulados são fabricados a partir de produtos técnicos, os quais possuem teor de ingrediente ativo (IA) bem mais elevado. Por definição, o produto técnico é aquele obtido diretamente de matérias-primas por processos químicos, físicos ou biológicos, destinado à obtenção de produtos formulados [2].

Além de suprir as necessidades internas da empresa, o LADM tem também prestado serviços a terceiros, tanto no desenvolvimento de formulações e na realização de estudos físico-químicos, com finalidade de registro de produtos, quanto na realização de serviços analíticos. Dentre os serviços analíticos prestados a terceiros, pode-se destacar a determinação de

teor de IA, o que inclui a emissão de certificados, e que são realizados para amostras de soluções aquosas utilizadas em estudos eco toxicológicos. Neste caso particular, os dados gerados pelo laboratório servem como ferramenta auxiliar na comprovação da qualidade dos estudos toxicológicos nos quais estas soluções foram utilizadas. As razões que levam o cliente a contratar o serviço de análise de amostras de soluções para testes toxicológicos estão relacionadas com as diretrizes e exigências referentes à autorização de registro, renovação de registro e extensão de uso de produtos agrotóxicos e afins, estabelecidas no decreto de N°1, de 04 de Dezembro de 1991, emitido pela Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária – Ministério da Saúde [3]. Este decreto estabelece e define a avaliação toxicológica como um estudo minucioso dos dados biológicos, bioquímicos e toxicológicos de uma substância, com o objetivo de conhecer sua ação em animais, e daí inferir riscos à saúde humana. Dentre as informações exigidas, está um sumário de dados relacionados aos efeitos sobre o ambiente, no qual deve constar a toxicidade para peixes e organismos aquáticos inferiores. Sendo assim, surgiu, um novo problema para o LADM, já que análise de traços não fazia parte da rotina de trabalho de sua equipe.

Mantendo o foco na qualidade dos resultados, o laboratório precisa ser capaz de gerar resultados confiáveis e de preferência com relativa velocidade, a fim de satisfazer as necessidades dos clientes. Resolveu-se, então, incluir este problema como um dos objetos do trabalho da presente dissertação de Mestrado, cujo o principal objetivo é propor e avaliar um procedimento analítico, bem mais simples e rápido em comparação àquele procedimento utilizado em rotina para a análise de amostras de soluções aquosas, o qual seja ainda capaz de gerar resultados confiáveis. O procedimento proposto é baseado na técnica de absorciometria molecular, enquanto que o procedimento de referência é baseado na técnica de cromatografia líquida de alta eficiência. Além disso, será discutida também a possibilidade de utilização de um procedimento similar, baseado na mesma técnica analítica, como alternativa para a quantificação de produtos formulados. Por se tratar de um trabalho de dissertação de Mestrado em metrologia química, além de discutir todas as principais etapas de validação de procedimentos analíticos, de comparar os

procedimentos diretamente pela utilização de ferramentas estatísticas, será também abordado o cálculo das incertezas e comparação destas com as respectivas tolerâncias estabelecidas.

O imidacloprid, ingrediente ativo presente nas amostras avaliadas neste trabalho, é um inseticida sistêmico, largamente utilizado e aplicável ao solo, folhas e sementes. Foi primeiramente registrado para uso como inseticida em 1993, na Inglaterra, e em 1994, nos Estados Unidos. É comumente utilizado em culturas de arroz, cereais, milho, batata, beterraba, frutas, algodão entre outras. Quimicamente, o imidacloprid está relacionado à toxina do tabaco, a nicotina, e funciona bloqueando seletivamente os receptores nicotínicos do sistema nervoso de insetos, que são mais susceptíveis à ação do imidacloprid que animais de sangue quente. Seu nome químico de acordo com a IUPAC é 1-(6-cloro-3-piridilmetil)-N-nitroimidazolidina-2-ilideneamina. Sua fórmula estrutural é apresentada a seguir [4]:

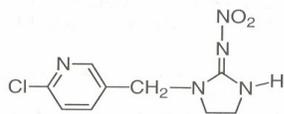


Figura 1.1 Fórmula estrutural do imidacloprid

A quantificação de imidacloprid em amostras ambientais e de alimentos, em quantidades-traço, tem sido realizada por cromatografia líquida de alta eficiência, com detector de espectrometria de massas (HPLC-MS) [5] ou detecção fotométrica no ultravioleta (HPLC-UV). Observa-se a utilização, neste último caso, tanto de detectores dispersivos convencionais [6] como de detectores que possibilitam a varredura de espectro [7]. A cromatografia gasosa foi também empregada para determinação de imidacloprid em água e solo, com utilização de detector de espectrometria de massa (CG-MS) [8]. Métodos não cromatográficos foram também desenvolvidos, utilizando como base princípios imunoenzimáticos (Elisa) [9], de análise de injeção de fluxo combinada com detecção por fluorescência foto-induzida [10] e por espectrofluorimetria após a fotoderivação do imidacloprid [11]. No caso específico dos métodos fluorimétricos, a derivação fotoquímica é feita objetivando a geração de uma espécie com características fluorescentes mais estáveis que as da substância original. No entanto, o próprio procedimento de foto-derivação produz

soluções de medida que apresentam flutuações relevantes de fluorescência, inviabilizando, no nosso ponto de vista, o uso deste tipo de procedimento como base de uma ferramenta metrologicamente confiável para análises de rotina.

Para a determinação de imidacloprid em produtos formulados, o CIPAC (Collaborative International Pesticide Analytical Council) recomenda a utilização de HPLC-UV [12]. Este procedimento, entretanto, foi considerado por alguns autores como sendo muito trabalhoso e demorado para a análise de um produto formulado, o que gerou o desenvolvimento de um procedimento baseado em espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) [13].

O procedimento analítico validado e utilizado neste trabalho como procedimento de referência para a determinação de imidacloprid em amostras de soluções aquosas é baseado em HPLC-UV com detector do tipo dispersivo convencional. Vale ressaltar que a escolha de uma técnica cromatográfica foi facilitada pela disponibilidade de equipamentos e de pessoal devidamente treinado, já que esta é uma das principais ferramentas utilizadas nos processos de controle na fabricação e desenvolvimento de defensivos agrícolas. É também fato que a marcha analítica não é complexa; entretanto, quando levamos em consideração a composição das amostras envolvidas nesta análise, que são preparadas pela simples adição de produtos formulados a águas, é questionável a necessidade de utilização de técnica cromatográfica. Isto por que embora tipos ligeiramente diferentes de águas sejam utilizados nos diferentes tipos de teste toxicológico, não é comum esperar interferências que impliquem na necessidade de utilização de uma separação prévia de componentes da amostra. Foi proposto, então, que a quantificação do IA neste tipo de amostra fosse realizada diretamente por espectrofotometria, tornando a marcha analítica mais simples, rápida, barateando os custos relacionados ao procedimento e ao material de consumo necessário para a análise (por exemplo; colunas, filtros, etc.). O procedimento espectrofotométrico foi validado e comparado diretamente ao procedimento de referência, com a utilização de técnicas estatísticas que serão detalhadas no corpo deste trabalho. Os ensaios de validação foram realizados de acordo com os critérios estabelecidos na norma ABNT NBR 14029 [14]. Estimaram-se,

separadamente, as incertezas de medição [15] de cada procedimento analítico, que foram comparados às tolerâncias estabelecidas [14].

O procedimento analítico de rotina (HPLC-UV) utilizado para a quantificação de imidacloprid em produtos formulados e técnico é bastante similar ao procedimento validado para análise de soluções aquosas, diferindo principalmente na concentração da faixa linear de trabalho. A avaliação da adequação dos procedimentos analíticos destinados à quantificação deste ingrediente ativo em produtos formulados foi realizada pela comparação das incertezas de medição, estimadas separadamente para cada procedimento, com as tolerâncias estabelecidas na Portaria n° 45 de 10 de Dezembro de 1990 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento [16] e também referenciadas internacionalmente em data mais recente [17].