

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE
JOAQUIM VENÂNCIO

Beatriz Henrique da Rocha

Técnicas para determinação de resíduos de
agrotóxicos em alimentos

RIO DE JANEIRO

2017

BEATRIZ HENRIQUE DA ROCHA

Técnicas para determinação de resíduos de
agrotóxicos em alimentos

Monografia apresentada à Escola Politécnica de
Saúde Joaquim Venâncio – Fundação Oswaldo
Cruz (EPSJV-Fiocruz) como requisito parcial
para aprovação no Curso Técnico em Análises
Clínicas.

Orientadora: Profa Dr^a Virginia de Lourdes
Mendes Finete

RIO DE JANEIRO
2017

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por toda força durante este processo.

Agradeço aos meus pais, Simone e Vicente, por todo apoio e incentivo.

Agradeço à minha orientadora, Prof^a Virginia Finete, pela ajuda na escolha do tema, pelas orientações de qual caminho seguir na temática, pela confiança, pelo apoio, pelas sugestões e por toda ajuda.

Agradeço à Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio por este aprendizado, esse preparo para TCC's futuros, por essa oportunidade.

Agradeço a todos os meus amigos que aturaram meus dramas e meu medo de não conseguir terminar e fazer um bom trabalho, e, também pela ajuda e confiança.

“Os que se encantam com a prática sem a ciência são como os timoneiros que entram no navio sem timão nem bússola, nunca tendo certeza do seu destino.”

(Leonardo da Vinci)

RESUMO

Os agrotóxicos são substâncias químicas usadas, principalmente, na agricultura para eliminar seres vivos considerados nocivos para a população e o meio ambiente. Técnicas analíticas, como a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e a Cromatografia gasosa, acopladas à espectrometria de massas, são ferramentas essenciais para programas de controle de agrotóxicos, como o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos, que visa determinar os níveis de resíduos presentes em alimentos de origem vegetal. Com isso, usam os dados para reavaliação de agrotóxicos, estabelecendo os riscos à saúde e se tais substâncias serão restritas ou banidas. O objetivo deste trabalho é compreender as técnicas para a determinação de resíduos de agrotóxicos em matrizes alimentícias. Visto que as mesmas identificam, diferenciam e quantificam os variados tipos de agrotóxicos, essas metodologias são fundamentais para a determinação de multirresíduos destas substâncias, em níveis muito baixos, pois possuem alta sensibilidade e precisão, permitindo a realização de análises em um número elevado de amostras, em menor tempo e com custo reduzido. A metodologia deste trabalho consiste na revisão bibliográfica de livros e artigos científicos, fundamentada em levantamentos realizados em bases de dados nacionais e internacionais, e páginas eletrônicas de autoridades na área da saúde. A importância do trabalho foi entender como as determinações de resíduos de agrotóxicos são realizadas, além de alertar à população em relação aos possíveis riscos à saúde e impactos ambientais causados por estes venenos. Além disso, o essencial é a comunicação em saúde, visando despertar o cuidado com a alimentação e o meio ambiente.

Palavras-chave: agrotóxicos; alimentos; metodologias analíticas; técnicas.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Consumo de agrotóxicos, em milhões de litros, nas lavouras do Brasil entre 2005 e 2014 (Adaptado de ABRASCO, 2015).....	12
Figura 2 - Fórmula estrutural do DDT.....	16
Figura 3 - Estrutura química básica de inseticidas organofosforados (SANTOS <i>et al.</i> , 2007).	17
Figura 4 - Fórmulas estruturais de inseticidas orgânicos de origem vegetal (SANTOS <i>et al.</i> , 2007).	17
Figura 5 - Tipos de Cromatografia (PINTO, 2017).	27
Figura 6 - Representação esquemática de uma separação cromatográfica. O soluto A permanece ao decorrer da coluna por ter uma afinidade maior pela fase estacionária do que o soluto B. (HARRIS, 2001).	28
Figura 7 - Alargamento de uma banda inicialmente estreita de um soluto conforme percorre uma coluna (HARRIS, 2001).	29
Figura 8 - Esquema de um cromatógrafo a gás (HARRIS, 2001).	30
Figura 9 – Esquema da cromatografia líquida de alta eficiência, CLAE (Adaptado de ARAÚJO, 2016).	32
Figura 10 - Cromatogramas de uma mesma amostra exibindo o aumento de resolução proporcionado pela diminuição no tamanho da partícula de 10 para 5 µm. (Adaptado de HARRIS, 2001).	33
Figura 11 - Espectrômetro de massa quadrupolar (HARRIS, 2001).	35
Figura 12 - Espectrômetro de massas por tempo de voo (HARRIS, 2001).	36
Figura 13 - Espectrômetro de massas de coleta de íons (HARRIS, 2001).	36
Figura 14 - Representação gráfica da quantidade de agrotóxicos identificados ou não pelo PARA.	43
Figura 15 - Representação gráfica da quantidade de amostras com Carbendazim em comparação com o total de amostras analisadas	44
Figura 16 - Detecções regulares e irregulares, por grupo químico, considerando número de detecções por grupo superior a 200. (Adaptado de ANVISA, 2016).	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação toxicológica dos agrotóxicos	15
Tabela 2 - Princípios ativos de agrotóxicos utilizados na agricultura e suas características. ..	19
Tabela 3 - Sintomas da exposição aguda e crônica a classes de agrotóxicos.....	23
Tabela 4 - Métodos recentes para análise de multirresíduos de agrotóxicos.....	40
Tabela 5 - Dados sobre os três agrotóxicos com maior índice de detecções irregulares	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- CESTEH - Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana
- CG ou GC- Cromatografia Gasosa
- CL ou LC – Cromatografia Líquida
- CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
- CPG – Cromatografia por permeação em gel
- DLLME - Micro Extração Líquido-Líquido Dispersiva, do inglês Dispersive LiquidLiquid Extraction
- DSPE – Extração por Fase Sólida Dispersiva, do inglês Dispersive Solid Phase Extraction
- ECD - Detecção por Captura de Elétrons, do inglês Electron-Capture Detection
- EM - Espectrometria de Massas
- IDA - Ingestão Diária Aceitável
- LACEN - Laboratórios Centrais de Saúde Pública
- LC-DAD - Cromatografia Líquida acoplada ao Detector por Arranjo de Diodos, do inglês Liquid Chromatography coupled with Diode Array Detector
- LMR - Limite Máximo de Resíduos
- MS - Espectrometria de Massas, do inglês Mass Spectrometry
- PARA - Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
- QuEChERS - Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe–Multiresidue pesticide analysis
- SPE – Extração em fase sólida
- VISA - Vigilância Sanitária

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1.1	AGROTÓXICOS - DEFINIÇÃO	11
1.2	O USO DE AGROTÓXICOS NO BRASIL	11
2	OBJETIVOS	14
2.1	GERAL	14
2.2	ESPECÍFICOS.....	14
3	AGROTÓXICOS – CLASSIFICAÇÃO	15
3.1	AGROTÓXICOS ORGÂNICOS.....	16
3.1.1	Agrotóxicos orgânicos sintéticos	16
3.1.2	Agrotóxicos botânicos	17
3.2	AGROTÓXICOS INORGÂNICOS	18
3.3.1	Efeitos na saúde da população e no meio ambiente	20
3.3.2	Prevenção à intoxicação por agrotóxicos	24
4	TÉCNICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS	26
4.1	PRINCIPAIS TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS.....	26
4.1.1	Cromatografia.....	26
4.1.2	Cromatografia Gasosa (CG).....	29
4.1.3	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	32
4.1.4	Espectrometria de Massas (EM).....	34
4.2	ACOPLAMENTO DE TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS E SUA APLICAÇÃO NA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS	36
4.2.1	Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas (CL-EM)	37
4.2.2	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM)	38
4.2.3	Espectrometria de Massas acoplada à Espectrometria de Massas (EM/EM).....	38
4.3	PREPARAÇÃO DA AMOSTRA	39
5	PRINCIPAIS AGROTÓXICOS ENCONTRADOS EM ALIMENTOS - PARA	41
5.1	CONTROLE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS	41
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	48

1 INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos são substâncias químicas utilizadas em áreas agrícolas e não agrícolas. Nas áreas agrícolas, são destinados ao uso no cultivo e no armazenamento dos produtos. Já em áreas não agrícolas, são usados em ambientes domésticos e urbanos. A aplicação dos agrotóxicos tem como objetivo a prevenção de danos causados por seres vivos considerados nocivos, embora estas substâncias apresentem consideráveis níveis de toxicidade e afetem a saúde humana e ambiental.

A finalidade deste trabalho é entender e apresentar as técnicas para a determinação de resíduos de agrotóxicos em matrizes alimentícias, as quais abrangem um público mais amplo visto que todos já consumiram ou consomem diariamente alimentos contaminados por estes venenos.

Uma vez que as metodologias analíticas identificam, diferenciam e quantificam os variados tipos de agrotóxicos, estas são fundamentais para a determinação de multirresíduos dessas substâncias, em níveis muito baixos, pois apresentam alta sensibilidade e precisão, permitindo a realização de análises em um número elevado de amostras, em menor tempo e com custo reduzido.

Técnicas analíticas tais como a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e a Cromatografia Gasosa (CG), acopladas à Espectrometria de Massas (EM), são ferramentas essenciais para programas de controle de agrotóxicos, como o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) da ANVISA, que tem como objetivo determinar os níveis de resíduos presentes em alimentos de origem vegetal que chegam à mesa do consumidor. Com isso, usam os dados para reavaliação de agrotóxicos no intuito de estabelecer os riscos à saúde e se tais substâncias serão restritas ou banidas.

A importância do trabalho é compreender como as determinações de resíduos de agrotóxicos são realizadas, mas também alertar à população, tanto aos moradores da zona rural quanto aos da urbana, em relação aos possíveis riscos à saúde e impactos ambientais causados por agrotóxicos. Além disso, o fundamental é a comunicação em saúde, visando despertar o cuidado com a alimentação e o meio ambiente em que vivemos expostos a estas substâncias.

1.1 AGROTÓXICOS - DEFINIÇÃO

Os agrotóxicos são substâncias químicas utilizadas na agricultura para eliminar seres vivos considerados nocivos, tanto para a população, quanto para o meio ambiente.

Mediante ao destaque à toxicidade desses produtos, a palavra “agrotóxico” tornou-se a titular entre os venenos agrícolas, pois, a utilização dos mesmos prejudica a biota das regiões em torno das plantações, desequilibrando os ecossistemas destes locais. Estas substâncias também apresentam riscos à saúde, tais como: anomalias congênitas, câncer, doenças mentais, entre outras. Portanto, essas substâncias são venenos que afetam a vida humana e a natureza (SIQUEIRA; KRUSE, 2008).

Segundo a Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, são considerados agrotóxicos:

“... os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos” (BRASIL, 1989).

Esta Lei foi regulamentada pelos Decretos nºs 98.816 de 1990, e 4.074 de 2002, e, por meio desta, a legislação federal brasileira defende e determina que em todos os casos o termo a ser utilizado é “agrotóxico”, ao invés de biocida, defensivo agrícola, pesticida, praguicida e produto fitossanitário. Por conseguinte, neste trabalho o termo “agrotóxico” foi usado referindo-se aos diferentes modos de uso, como inseticida, herbicida, praguicida e outros.

1.2 O USO DE AGROTÓXICOS NO BRASIL

As indústrias de agrotóxicos surgiram após a Primeira Guerra Mundial, em 1918, porém, no Brasil, só apareceram em meados da década de 1940, que ficou sendo uma época denominada como “modernização da agricultura nacional” e, posteriormente, passou a se chamar “Revolução Verde” (TERRA; PELAEZ, 2016).

Este processo de modernização estabelecia a prática da monocultura em áreas extensas, retirando muitas famílias e trabalhadores dessas áreas.

No documentário “O veneno está na mesa”, do cineasta Silvio Tendler (2011), o agricultor Fernando Ataliba declarou que “o período da *Revolução Verde* arruinou todos os recursos da agricultura tradicional”. As consequências deste procedimento foram: perda da fertilidade do solo, perda dos mananciais e biodiversidade, contaminação do solo, das águas, das pessoas, do ar e mudanças climáticas.

Além de pôr máquinas no lugar de humanos, esse período também intensificou a utilização das sementes geneticamente modificadas, os transgênicos, para aumentar a produção. Sucessivamente, na década de 1960, multiplicou-se o uso de agrotóxicos juntamente a adubos químicos (TENDLER, 2011).

Em vista disso, o comércio de agrotóxicos no Brasil indicou um crescimento considerável. Entre os anos 1977 e 2006, em média, observou-se que o aumento foi de 10% ao ano (TERRA; PELAEZ, 2016).

As empresas do comércio de agrotóxicos possuem um interesse econômico, visto que o faturamento apurado é por volta de 5,4 bilhões de dólares. Além disso, toda esta renda é dividida entre somente dez empresas que assumem 90% do mercado. Dessa forma, as mesmas fazem as vendas dos agrotóxicos unidas às sementes transgênicas, com o intuito de tornar o que for cultivado, com essa semente, resistente a algum tipo de agrotóxico, como o glifosato (MILANEZ, 2008).

De acordo com a Figura 1, de 2005 a 2014, o Brasil manteve-se o aumento no uso de agrotóxicos, apesar dessa prática ser foco de preocupação tanto do cidadão comum como do meio científico e instituições governamentais, quanto aos impactos à saúde humana e ambiental que essas substâncias podem causar.

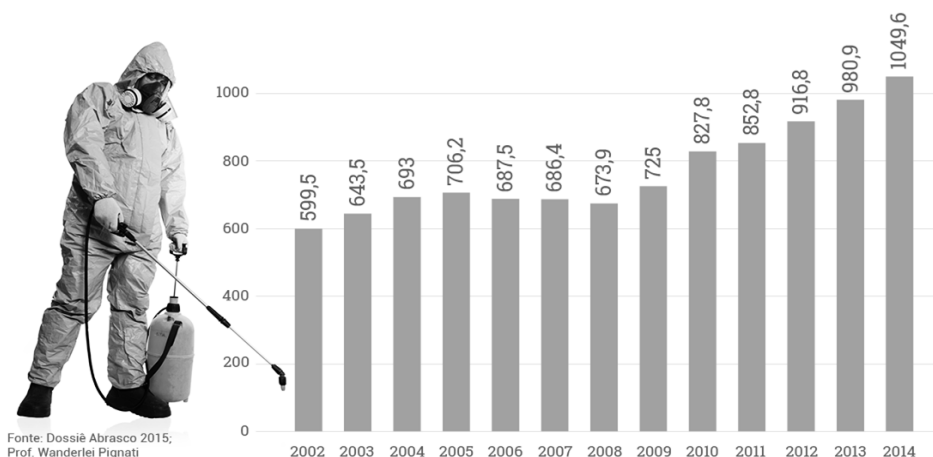


Figura 1 - Consumo de agrotóxicos, em milhões de litros, nas lavouras do Brasil entre 2005 e 2014 (Adaptado de ABRASCO, 2015).

Um dos principais motivos da ampla utilização de agrotóxicos no Brasil e no mundo se dá pela necessidade de produção de alimentos para a crescente população, a preservação desses alimentos e também a prevenção de doenças. Entretanto, são substâncias produzidas para matar ou repelir vetores de doenças e pragas na agricultura, atuando nos organismos desses seres de forma semelhante ao que atuam nos seres humanos e no ambiente, em outras espécies, conseqüentemente, afetando-as também (WHO, 2016).

Assim, desde 2008 o Brasil tem sido o maior consumidor de agrotóxicos do mundo, ficando à frente de países como os Estados Unidos e a China, e essa comercialização e consumo de agrotóxicos vem sempre aumentando desde então. Apesar disso, chama a atenção o fato do Brasil não ser o maior produtor de alimentos no mundo, o que demonstra um uso excessivo desses venenos (CARNEIRO; ABRASCO, 2015).

Há atualmente mais de 500 tipos de agrotóxicos, de herbicidas a inseticidas, registrados no Brasil. Portanto, é indispensável a instituição de políticas públicas de regulamentação desses produtos. Estas decretam os processos de pesquisa e desenvolvimento da criação de produtos até o descarte das embalagens (TERRA; PELAEZ, 2016).

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Compreender como é realizada a determinação de resíduos de agrotóxicos em matrizes alimentícias;

2.2 ESPECÍFICOS

- Estudar os principais tipos de agrotóxicos utilizados, sua classificação e efeitos;
- Compreender as principais técnicas analíticas para a determinação de agrotóxicos, e como são aplicadas nas matrizes alimentícias;
- Analisar os principais agrotóxicos encontrados nos alimentos, de acordo com os dados do PARA.

3 AGROTÓXICOS – CLASSIFICAÇÃO

Os agrotóxicos são diversificados e podem estar presentes em vários produtos, como herbicidas, bactericidas, fungicidas, inseticidas e até mesmo acaricidas e rodenticidas, que atingem, respectivamente, os ácaros e os roedores. Todos estes agrotóxicos compreendem uma larga variedade de substâncias químicas com diferentes grupos funcionais e, conseqüentemente, com diferentes modos de ação, biotransformação e eliminação.

Diante disso, há a necessidade de uma classificação para esses produtos por uma determinação legal. A toxicidade destas substâncias é associada ao tipo de ação e efeito que causam, de acordo com estudos de estabelecimento da dosagem letal, DL_{50} , que é a quantidade da substância em miligramas por quilograma de massa corporal necessária para matar 50% dos animais testados nos experimentos, e assim dividindo-as em classes (Tabela 1) (PERES; MOREIRA, 2003). Dessa forma, os agrotóxicos precisam ser identificados com uma faixa colorida nos rótulos para indicar sua classe toxicológica (SIQUEIRA; KRUSE, 2008).

Tabela 1 - Classificação toxicológica dos agrotóxicos

CLASSIFICAÇÃO TOXICOLÓGICA			
CLASSE	GRAU	DL_{50} (mg/kg)	COR DO RÓTULO
I	Extremamente tóxicos	≤ 5	Vermelha
II	Altamente tóxicos	5 – 50	Amarela
III	Medianamente tóxicos	50 – 500	Azul
IV	Pouco tóxicos	500 – 5000	Verde

(Adaptado de PERES; MOREIRA, 2003).

Os agrotóxicos também podem ser classificados de acordo com o seu grupo químico em: Orgânicos (sintéticos e botânicos) e Inorgânicos.

3.1 AGROTÓXICOS ORGÂNICOS

3.1.1 Agrotóxicos orgânicos sintéticos

O desenvolvimento de agrotóxicos orgânicos sintéticos se deu entre as décadas de 1950 e 1970, principalmente para a obtenção de produtos com atividade inseticida, destacando-se dentre estes o DDT, 1,1-bis-(4-clorofenil)-2,2,2-tricloro-etano (Figura 2) (SANTOS, 2007).

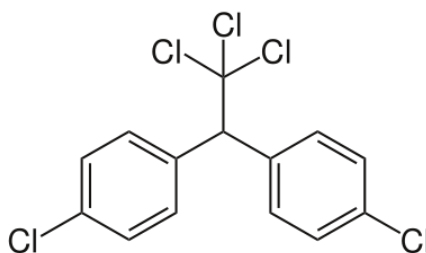


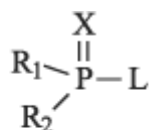
Figura 2 - Fórmula estrutural do DDT.

Os agrotóxicos orgânicos são divididos em várias classes químicas, algumas delas são: carbamatos (nitrogenados), clorados, fosforados e clorofosforados. Segundo Jardim *et al.* (2009), os agrotóxicos orgânicos que mais se evidenciam são: os inseticidas organoclorados, os inseticidas à base de organofosforados e carbamatos, os fungicidas, os herbicidas à base de triazinas e os agrotóxicos organometálicos.

A maior parte destes agrotóxicos orgânicos é consideravelmente tóxica para os humanos e outros mamíferos. Isto mesmo sendo usados nos níveis de dosagens recomendados para fazerem efeito nas execuções. Além do mais, metais e semimetais tóxicos presentes na constituição destes produtos não são biodegradáveis. Ou seja, a tendência deles é conservarem-se por tempo indeterminado em plantas, águas, solos ou sedimentos, sendo capazes de se incorporarem à cadeia alimentar (JARDIM, 2009).

Em meio aquoso, os compostos organoclorados são encontrados em diversas fontes e em grandes concentrações; por conta disso, o uso dos agrotóxicos organoclorados foi proibido (JARDIM, 2009).

Assim, inseticidas organofosforados são mais os utilizados na agricultura em substituição aos organoclorados no controle de insetos, e apresentam sua estrutura química básica representada na Figura 3 (SANTOS *et al.*, 2007).



X = O, S e Se

R₁; R₂ = alquil, SR', OR' ou NHR'

L = halogênios; alquil, aril ou heterocíclicos

Figura 3 - Estrutura química básica de inseticidas organofosforados (SANTOS *et al.*, 2007).

3.1.2 Agrotóxicos botânicos

Os agrotóxicos botânicos são produtos orgânicos de origem vegetal e tiveram ampla utilização como inseticidas na primeira metade do século XX. Dentre os principais, destacaram-se a nicotina, nor-nicotina, anabasina, piretrinas e aletrina, rotenona e quassina (Figura 4) (SANTOS *et al.*, 2007).

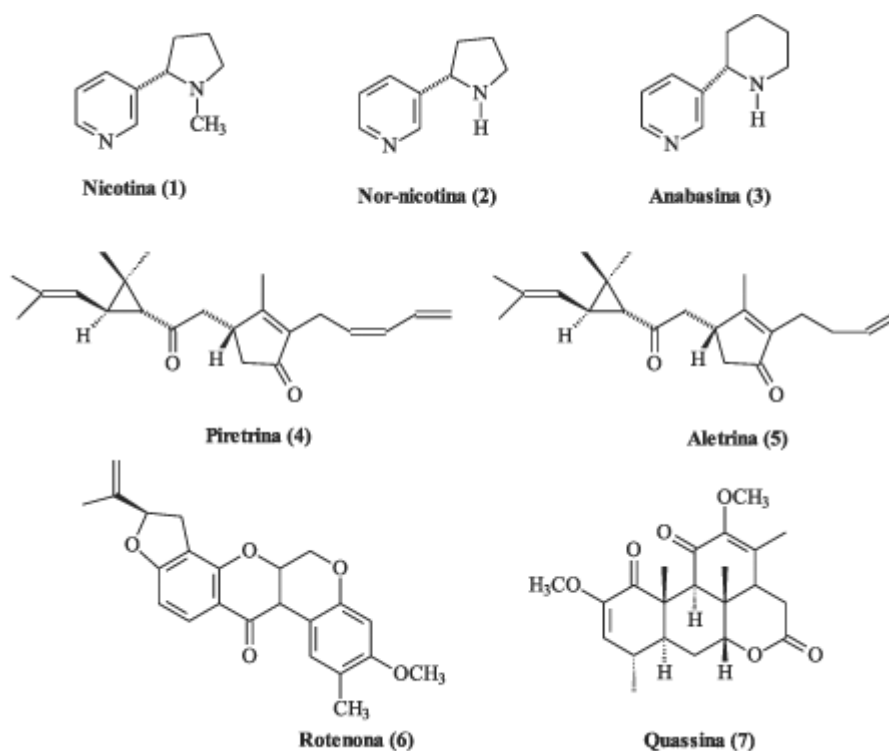


Figura 4 - Fórmulas estruturais de inseticidas orgânicos de origem vegetal (SANTOS *et al.*, 2007).

Embora os agrotóxicos orgânicos de origem vegetal tenham sido substituídos em grande parte pelo desenvolvimento dos produtos orgânicos sintéticos, devido aos problemas ambientais ocasionados pelo uso destes, principalmente a resistência e ressurgimento de

pragas, e efeito letal para organismos não alvo, tornou-se necessária a busca por meios alternativos de controle de pragas.

O interesse pelo estudo dos agrotóxicos botânicos surgiu então nos últimos anos com essa finalidade, pois apresentam toxicidade para diversas pragas de importância agrícola, porém oferecendo risco mínimo para a saúde humana e do ambiente. Por terem ocorrência natural, os agrotóxicos botânicos oferecem menor custo e alta disponibilidade, especialmente em países orientais, principalmente na Índia (PRAKASH *et al.*, 2008).

Os agrotóxicos botânicos são formados por substâncias como a nicotina, piretrina, sabadina e rotenona (extraída de uma planta tóxica, chamada timbó) (JARDIM, 2009).

O crescimento do uso destes agrotóxicos no futuro dependerá de mais pesquisas de suas propriedades biológicas contra as pragas, o que é feito a partir de seu isolamento natural (extração a partir de partes de vegetais, como folha, caules, raízes) e identificação de princípios ativos eficazes para sua aplicação (PRAKASH *et al.*, 2008).

3.2 AGROTÓXICOS INORGÂNICOS

O uso de agrotóxicos inorgânicos teve seu predomínio também na primeira metade do século XX, junto aos de origem vegetal. Os inseticidas inorgânicos mais utilizados naquela época foram arseniatos de cálcio e chumbo, cupratos, enxofre em pó e óleos minerais, mas tiveram seu uso diminuído ou descontinuado devido à sua alta toxicidade (SANTOS *et al.*, 2007).

Atualmente ainda são comercializados agrotóxicos inorgânicos constituídos de tálio, bário, nitrogênio, fósforo, cádmio, ferro, selênio, chumbo, cobre, mercúrio ou zinco (JARDIM, 2009).

3.3 AGROTÓXICOS E SEUS EFEITOS

Os agrotóxicos apresentam duas formas de atuar em um organismo vivo, direta ou indiretamente, nesta ordem, conseguindo matá-lo ou o limitando (prejudicando o seu processo de reprodução) (JARDIM, 2009).

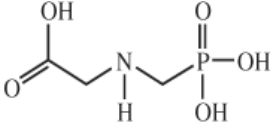
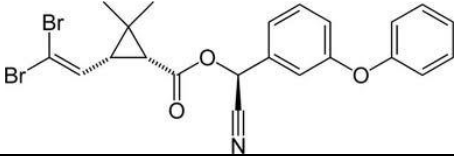
O agrotóxico é formado por um ingrediente ativo (i.a.), ou princípio ativo. Esse ingrediente ativo tem como finalidade eliminar organismos e, separadamente, não é adequado para aplicação direta no meio ambiente. Por isso, para uso eficaz e garantido, o agrotóxico

deve estar na forma adequada, ou seja, precisa estar em formulação, isto é, diluído em ingredientes inertes, logo auxiliando sua penetração no organismo (SCHIESARI, 2012).

As várias formulações de agrotóxicos apresentam em sua composição um ou mais princípios ativos, responsáveis pela atividade biológica desejada. É possível encontrar o mesmo princípio ativo em formulações diferentes, que são comercializadas com nomes diversos (BRAIBANTE; ZAPPE, 2012).

A Tabela 2 apresenta os princípios ativos glifosato e deltametrina, utilizados na formulação de agrotóxicos utilizados na agricultura, de acordo com dados da Anvisa (BRAIBANTE; ZAPPE, 2012).

Tabela 2 - Princípios ativos de agrotóxicos utilizados na agricultura e suas características.

PRINCÍPIOS ATIVOS		
	GLIFOSATO	DELTAMETRINA
Fórmula Estrutural		
Fórmula Molecular	$C_3H_8NO_5P$	$C_{22}H_{19}Br_2NO_3$
Grupo Químico	Glicina substituída	Piretroide
Funções Orgânicas	Ácido carboxílico, amina	Éster, éter, haleto orgânico, nitrila
Classe/Aplicação	Herbicida/ culturas de algodão, ameixa, arroz, banana, cacau, café, cana-de-açúcar, citrus, coco, feijão, fumo, maçã, mamão, milho, pastagem, pera, pêssego, soja, trigo, uva.	Inseticida/ culturas de abacaxi, algodão, alho, ameixa, amendoim, arroz, batata, berinjela, brócolis, cacau, café, caju, cebola, citrus, couve, couve-flor, crisântemo, eucalipto, feijão, figo, fumo, maçã, melancia, melão, milho, pastagem, pepino, pêssego, pimentão, repolho, seringueira, soja, sorgo, tomate, trigo.
Classificação Toxicológica	IV	III

(Adaptado de BRAIBANTE; ZAPPE, 2012).

Atualmente existem 511 monografias autorizadas de produtos registrados no Brasil usados como ingredientes ativos destinados ao uso agrícola, domissanitário, não agrícola, ambientes aquáticos e preservante de madeira. Destes, 350 contribuem com 98% das formulações de agrotóxicos mais utilizados, sendo que 80% deles são rotineiramente usados na agricultura (ANVISA, 2016).

Entretanto, a linguagem utilizada para informar sobre estes produtos é técnica, logo, quase inacessível para os trabalhadores rurais que os utilizam (SIQUEIRA; KRUSE, 2008).

A grande parte destas substâncias, quase sempre, possui uma especialidade comum, o impedimento rápido e eficaz de um processo metabólico vital dos organismos vivos. Logo, na agricultura, os agrotóxicos são aplicados em abundância (JARDIM, 2009).

A alta hidrofobicidade é uma característica presente em diversos agrotóxicos, principalmente da classe dos organoclorados. Ou seja, esta propriedade em conjunto com a ausência de um meio que degenere estes compostos conduz à acumulação dos mesmos em organismos vivos (seres humanos, peixes e outros) (SANTOS *et al.*, 2007).

Contudo, para que uma decisão seja tomada sobre a aplicação dessas substâncias tóxicas, suas propriedades devem ser analisadas, como a reatividade, toxicidade e mobilidade de cada uma em ambientes divergentes. Portanto, necessita-se compreender as características físicas, químicas e biológicas.

A aplicação repetida e numerosas vezes errada dos agrotóxicos facilita a contaminação de solos agrícolas, águas superficiais e subterrâneas e de alimentos, assim inviabilizando o consumo destes. Também, observa-se que as pragas tornam-se resistentes à ação de determinado tipo de agrotóxico, logo levando os agricultores a aumentarem as dosagens da substância. Com isso, agravando ainda mais os problemas causados por estes compostos (MÉLO-FILHO; GUENTHER, 2015).

Além disso, nota-se que o problema ocorre tanto nos limites permitidos e no modo de aplicação do agrotóxico no cultivo como no uso desorganizado de agrotóxicos não permitidos para certas culturas (JARDIM, 2009).

Atualmente, ainda não se compreendem ao certo quais são os efeitos que o acúmulo destas substâncias no organismo causa ao decorrer do tempo. As únicas coisas que se sabe a respeito dos agrotóxicos é que diversos deles são capazes de causar câncer e outros efeitos adversos nos seres humanos (JARDIM, 2009).

3.3.1 Efeitos na saúde da população e no meio ambiente

A aplicação dos agrotóxicos pode afetar a saúde da população e do meio ambiente, tanto no meio rural como no urbano.

Em relação aos efeitos nocivos dos agrotóxicos, a área rural é a mais prejudicada, visto que a aplicação dos agrotóxicos no cultivo de plantas e alimentos contamina grande parte daquele local, tanto a água, o solo e o ar atmosférico, como os indivíduos que trabalham e vivem neste ambiente (SIQUEIRA; KRUSE, 2008).

Os agricultores são quase forçados a manusear agrotóxicos em seus cultivos para ganharem credibilidade essencial e negociarem a colheita. Desse modo, normalmente, os trabalhadores têm que realizar a aplicação de agrotóxicos entre 2 a 8 vezes ao dia, dependendo do que está sendo cultivado (TENDLER, 2011).

Em virtude do desconhecimento por parte dos trabalhadores das consequências que os agrotóxicos podem causar, os equipamentos de proteção individual (EPIs) são muitas vezes descartados no preparo e na aplicação das substâncias (SIQUEIRA; KRUSE, 2008).

Mesmo quando os EPIs são utilizados, erros de utilização, falta de manutenção e problemas no armazenamento e descarte podem aumentar a probabilidade de contaminação destes trabalhadores rurais. Um estudo realizado por Veiga e colaboradores (2007) concluiu que os EPIs não eliminaram nem neutralizaram a insalubridade nos casos analisados, e ainda aumentaram o risco de contaminação por agrotóxicos (VEIGA *et al.*, 2007).

Por outro lado, na área urbana a contaminação se dá, principalmente, pelo consumo de alimentos contendo resíduos de agrotóxicos, por inseticidas de uso doméstico, e também pela prática da aplicação destes em canteiros, praças e jardins públicos, no sentido de manter o controle de ervas daninhas (ANVISA, 2010).

Dessa forma, devido à toxicidade apresentada pelos agrotóxicos, deve-se ter um controle intenso no uso dos mesmos, além de isolar a área contaminada (ANVISA, 2010).

No Brasil, as denúncias e pesquisa das intoxicações por agrotóxicos ainda são muito escassas. Os principais motivos são diagnósticos incorretos e a dificuldade de acesso dos agricultores aos centros de saúde (SIQUEIRA; KRUSE, 2008).

Estudos realizados em agricultores com a finalidade de identificar quais são os malefícios provocados pela exposição a estas substâncias tóxicas, apresentaram resultados de que há um vínculo entre o contato com os agrotóxicos e os sintomas de outras doenças, como câncer, depressão, dificuldade para respirar, problemas de pele e outros (JARDIM, 2009).

O CESTEHE, Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana, é um exemplo de instituição que realiza estes estudos, abordando o processo saúde e trabalho e sua relação com o trabalho e o meio ambiente. Estas pesquisas proporcionam a formação e fortalecimento de novas metodologias, diagnósticos, estratégias de intervenção, além da análise de políticas públicas no campo da Saúde do Trabalhador e Ambiente (WEBCESTEHE, 2017).

Os efeitos podem ser de duas formas: aguda ou crônica. Os efeitos agudos são decorrentes da exposição a concentrações de uma ou mais substâncias tóxicas, aptas a

provocarem dano permanente visivelmente em um período de 24 horas. Já os efeitos crônicos, são consequência de uma exposição sucessiva a doses de um ou mais produtos (PERES, 2003).

Além do mais, os efeitos agudos são mais perceptíveis, surgem ao longo do contato da pessoa com a substância ou após. Também, apresentam sinais bastante nítidos, como desmaios, convulsões, espasmos musculares, vômitos e dificuldades respiratórias; enquanto os efeitos crônicos são capazes de aparecer após semanas, meses ou anos e até mesmo gerações depois do período de contato com os agrotóxicos. Logo, a detecção dos mesmos é dificultada e muitas das vezes podem ser confundidos com outros distúrbios (PERES, 2003).

Os agrotóxicos da classe dos organofosforados e dos carbamatos inibem o grupo de enzimas, chamado colinesterases, do organismo humano. Tais enzimas realizam a decomposição da acetilcolina, um neurotransmissor que realiza a transmissão de impulsos no sistema nervoso. Se essa enzima for inibida e não degradar a acetilcolina, ocorrerá uma enfermidade denominada de crise colinérgica, sendo a causa principal dos sintomas apresentados no quadro acima nos casos de intoxicação por estas substâncias (PERES, 2003).

Além disso, os agrotóxicos organofosforados estão relacionados a diversos distúrbios do sistema nervoso, notado pelos efeitos neurológicos retardados.

Já os agrotóxicos da classe dos organoclorados têm a habilidade de acumularem-se nas células gordurosas no organismo humano e no animal. Aliás, eles são muito consolidados, isto é, a persistência nos organismos e no meio ambiente é cerca de trinta anos. Dessa forma, esta característica gera um problema de saúde pública e ecológico (JARDIM, 2009).

Diversos agrotóxicos organoclorados têm a aplicação restringida ou até mesmo proibida, por exemplo, o DDT. E, estes e vários outros tipos de agrotóxicos estão sendo associados com efeitos reprodutivos em animais e outros com a ação de redução da fertilidade em humanos. O Mancozeb e o Amitrol agem inibindo a tireóide. E, o aparecimento de alguns tipos de cânceres está relacionado aos herbicidas triazínicos (PERES, 2003).

Os agrotóxicos tidos como potenciais agentes carcinogênicos, ou seja, propiciam a formação de cânceres, são da classe dos fenoxiacéticos e dos ditiocarbamatos (tumores no aparelho respiratório). Há indícios de que alguns produtos organoclorados, como o DDT, com ação carcinogênica não são muito intensos no organismo humano, mas estudos mostram que em animais isto é o contrário (PERES, 2003).

A infertilidade em homens também tem sido associada à exposição a alguns agrotóxicos, como os herbicidas fenoxiacéticos e os nematicidas dibromocloropropano (DBCP) (PERES, 2003).

Um resumo dos sintomas da exposição às classes de agrotóxicos é apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 - Sintomas da exposição aguda e crônica a classes de agrotóxicos

Classe dos agrotóxicos por grupo químico	Sintomas de uma exposição aguda	Sintomas de uma exposição crônica
Organofosforados e Carbamatos	- Fraqueza; - Cólicas abdominais; - Vômitos; - Espasmos musculares; - Convulsões.	- Efeitos neurotóxicos retardados; - Alterações cromossomiais; - Dermatites de contato.
Organoclorados	- Náuseas; - Vômitos; - Contrações musculares involuntárias.	- Lesões hepáticas; - Arritmias cardíacas; - Lesões renais; - Neuropatias periféricas; - Alergias.
Piretroides sintéticos e Ditiocarbamatos	- Irritações das conjuntivas; - Espirros; - Excitação; - Convulsões; - Tonteados; - Vômitos; - Tremores musculares; - Dor de cabeça.	- Asma brônquica; - Irritações nas mucosas; - Hipersensibilidade; - Alergias respiratórias; - Dermatites; - Doença de Parkinson; - Cânceres.
Fentalamidas		- Teratogêneses.
Dinitrofenóis e Pentaclorofenol	- Dificuldade respiratória; - Hipertermia; - Convulsões.	- Cânceres; - Cloroacnes.
Fenoxiacéticos	- Perda do apetite; - Enjôo; - Vômitos; - Fasciculação muscular.	- Indução da produção de enzimas hepáticas; - Cânceres; - Teratogênese.
Dipiridilos	- Sangramento nasal; - Fraqueza; - Desmaios; - Conjuntivites.	- Lesões hepáticas; - Dermatites de contato; - Fibrose pulmonar.

(Adaptado de PERES, 2003).

Em relação à aplicação dos agrotóxicos no meio ambiente, podem ser observados outros distúrbios e alterações, como o desequilíbrio ecológico no convívio natural de duas ou mais espécies. A contaminação das águas superficiais e subterrâneas é outro impacto importante, pois se uma região agrícola for perto de uma nascente que fornece água para uma

cidade, certamente a condição desta água estará comprometida. Ainda sobre o contágio da água, outro problema é a contaminação dos peixes, crustáceos e moluscos, e, estes se tornam um dos motivos de contaminação dos seres humanos que consomem estes animais (PERES, 2003).

Também tem a questão da contaminação do solo, possibilitando que esta superfície fique frágil e inútil. Um fator que facilita a poluição tóxica do meio ambiente é a eliminação incorreta das embalagens. De acordo com os dados apresentados no livro “É veneno ou é remédio: agrotóxicos, saúde e ambiente”, os venenos são colocados no mercado por volta de 130 milhões de unidades de embalagens por ano e apenas 10 a 20% são recolhidas corretamente (PERES, 2003).

Consequentemente pode-se observar que seja qual for o benefício que os agrotóxicos causam, eles são muito menores que os diversos malefícios causados tanto ao meio ambiente, como à saúde humana.

3.3.2. Prevenção à intoxicação por agrotóxicos

Há pelo menos um agrotóxico na maioria das casas, por exemplo, produto de erva daninha em jardins, controle de algas em piscinas ou aerossóis para matar insetos, os inseticidas (BAIRD, 2002).

O campo de contaminação dos agrotóxicos é extenso, visto que os mesmos intoxicam o solo, os alimentos, a água e o ar, assim contaminando os seres humanos também. Assim, é importante apresentar os meios de prevenção e combate a estas substâncias para toda a população, em especial aos trabalhadores rurais, pois os mesmos estão mais expostos, inclusive por falta de informação, ou também por falta de recursos.

Uma maneira dos agricultores prevenirem-se da contaminação é uso correto dos equipamentos de proteção individual (EPI's), avental, botas de borracha, luvas e máscaras apropriadas ao tipo de substância manipulada. Embora tais equipamentos nem sempre sejam disponibilizados de forma adequada, seu uso é imprescindível (VEIGA *et al.*, 2007).

Outra forma de evitar a intoxicação, neste caso, alimentar, seria o consumo de alimentos orgânicos, porém nem toda a população tem condições de custear esta alimentação, já que possuem preços altos. Contudo, com a impossibilidade de obtenção desses alimentos, pode-se seguir as recomendações do portal da Anvisa.

No portal da Anvisa, há providências que o consumidor pode tomar, são elas: selecionar alimentos rotulados com a identificação do produtor e consumir alimentos procedentes de sistemas agroecológicos, sempre que possível, mas como já foi dito, os preços ainda limitam esta opção.

Os agrotóxicos apresentam duas formas de ação, as sistêmicas e as de contato. Os agrotóxicos sistêmicos penetram nas folhas e polpas, enquanto os de contato atuam na parte externa do vegetal, mesmo que possa ser absorvido da mesma maneira para as partes internas. Portanto, a Anvisa recomenda os procedimentos de lavagem dos alimentos em água corrente e o corte das cascas e folhas externas, contribuindo para a diminuição dos resíduos de agrotóxicos contidos na parte exterior.

A Anvisa aconselha também deixar os alimentos de molho por 20 minutos em água com hipoclorito de sódio, a água sanitária. Este processo tem o objetivo de reduzir a contaminação por germes e micróbios.

Contudo, é extremamente complicado prevenir-se de todas as formas de contaminações, visto que a aplicação da substância contaminará o solo, o ar e água, e, a contaminação por estas são quase impossíveis de evitar, já que são recursos essenciais à vida.

Portanto, ações que são fundamentais para a redução dos riscos de intoxicação por agrotóxicos nos seres humanos, são: fiscalizar os resíduos presentes nos produtos agrícolas e em frutas e verduras, além de sugestões e aplicações de métodos que tenham como objetivo reduzir os compostos químicos, em especial, no decorrer das etapas de plantio de determinadas culturas (JARDIM, 2009).

4 TÉCNICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS

As metodologias analíticas identificam, diferenciam e quantificam os diversos tipos de agrotóxicos, e, elas são essenciais para a determinação de multirresíduos das substâncias, em níveis muito baixos, pois dispõem de alta sensibilidade e precisão, permitindo a realização de análises em um número elevado de amostras, em menor tempo e com custo reduzido.

É importante destacar que para o bom desempenho dessas técnicas é fundamental a etapa de validação, que consiste em garantir a qualidade das medidas instrumentais e a confiabilidade estatística dos cálculos envolvidos durante a sua realização. A validação é conduzida de forma a assegurar a aplicação do método durante as operações de rotina em um laboratório (RIBEIRO *et al.*, 2008).

As técnicas analíticas comumente utilizadas para a determinação de resíduos de agrotóxicos são a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e a Cromatografia Gasosa (CG), que acopladas à Espectrometria de Massas (EM), tornam-se ferramentas muito importantes para programas de controle destas substâncias, como o PARA.

4.1 PRINCIPAIS TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS

4.1.1 Cromatografia

A cromatografia é uma técnica de separação e quantificação dos componentes de uma mistura, além de ser identificativa, quando associada à outras técnicas de análise, como a espectrometria de massas. Esta acontece pela distribuição dos componentes da mistura entre duas fases: estacionária e móvel. Dessa forma, a cromatografia é classificada em categorias baseadas no mecanismo de interação da substância dissolvida com a fase estacionária (COLLINS, 1997).

Há cinco categorias de cromatografia, que se baseiam no mecanismo físico-químico de separação: adsorção, partição, troca iônica, exclusão molecular e afinidade (Figura 5).

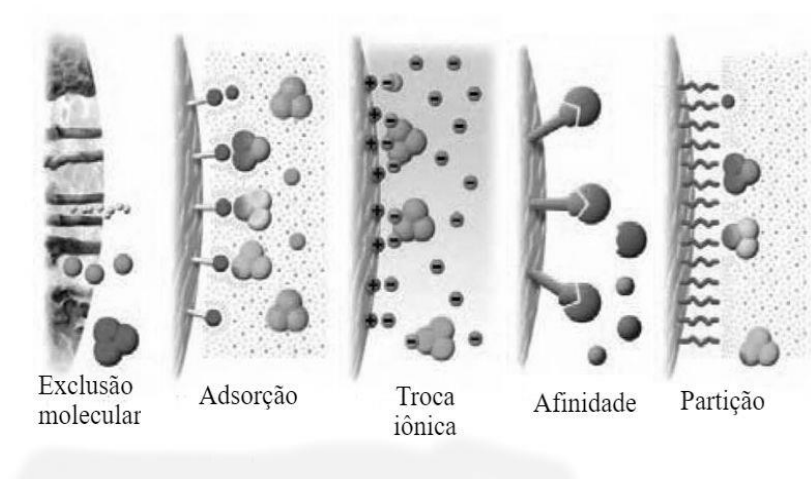


Figura 5 - Tipos de Cromatografia (PINTO, 2017).

A cromatografia de adsorção faz uso de uma fase estacionária sólida e uma fase móvel líquida ou gasosa. O soluto interage com superfície da fase estacionária (HARRIS, 2001).

A cromatografia de partição tem uma fase estacionária líquida, que gera um filme fino sobre a superfície de um suporte sólido. O soluto está em equilíbrio entre as duas fases (HARRIS, 2001).

Já a cromatografia de troca iônica, possui íons, ânions ou cátions, unidos à fase estacionária sólida, enquanto a fase móvel é um líquido. A fase estacionária atrai os íons de carga oposta ao do soluto pela força eletrostática (HARRIS, 2001).

A cromatografia de exclusão molecular aparta as moléculas pelo tamanho, tendo os maiores solutos passando com maior velocidade. A fase móvel líquida ou gasosa passa por um gel poroso. Assim, as moléculas pequenas demoram mais para passarem pela coluna, porque até saírem da coluna, passam por um volume maior de gel (HARRIS, 2001).

Por fim, a cromatografia por afinidade é o tipo mais seletivo, e, adota interações específicas entre um tipo de molécula do soluto e uma segunda molécula que está atada à fase estacionária (HARRIS, 2001).

A fase móvel, na qual o componente da mistura ou soluto percorre a coluna, pode ser líquida ou gasosa. Já a fase estacionária, a qual fica fixa dentro da coluna, é comumente um líquido viscoso que cobre o interior de um tubo capilar ou uma superfície com partículas sólidas empacotadas no interior da coluna. Contudo, em qualquer situação, a partição dos solutos entre estas duas fases gera a separação (COLLINS, 1997).

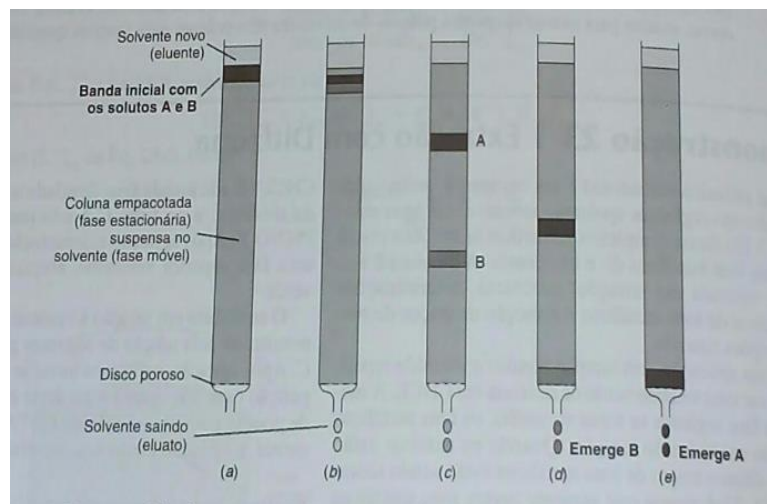


Figura 6 - Representação esquemática de uma separação cromatográfica. O soluto A permanece ao decorrer da coluna por ter uma afinidade maior pela fase estacionária do que o soluto B. (HARRIS, 2001).

O princípio físico da cromatografia é: quanto maior a razão dos coeficientes de partição entre as fases estacionária e móvel, maior será a separação entre os dois componentes de uma mistura. A partição se baseia nas diferentes solubilidades dos componentes entre as duas fases, estacionária e móvel. Quando a fase móvel é gasosa, a interação dependerá de sua volatilidade e, quando ela é líquida, da solubilidade do componente na mesma (COLLINS, 1997).

Na saída das colunas cromatográficas, onde ocorreu o processo de separação, há detectores. Esses detectores formam um gráfico, chamado cromatograma, que apresenta a resposta do detector em função do tempo de retenção, t_r , dos componentes, que é o tempo gasto entre a entrada de cada componente (injeção) na coluna e alcance do detector (COLLINS, 1997).

Há dois fatores que auxiliam para uma separação eficiente por cromatografia, são eles: diferença nos tempos de eluição entre os picos (quanto mais afastados, melhor a separação) e alargamento dos picos (quanto mais largo o pico, pior será sua separação) (HARRIS, 2001).

Assim que o soluto passar por uma coluna cromatográfica, a banda do mesmo alarga-se. A causa desse alargamento é a difusão, que é medida pela velocidade que substância leva de uma área de maior concentração para uma área de menor concentração, e, isto denomina-se coeficiente de difusão (HARRIS, 2001).

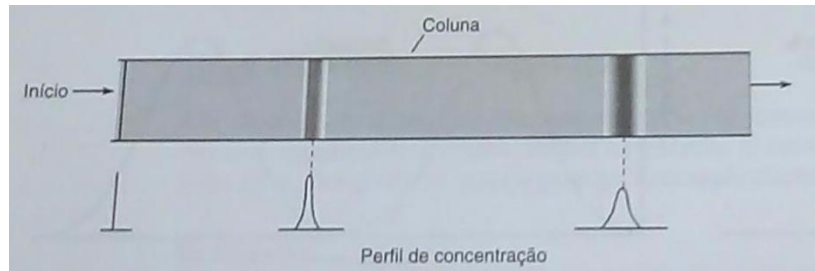


Figura 7 - Alargamento de uma banda inicialmente estreita de um soluto conforme percorre uma coluna (HARRIS, 2001).

A proporção entre variação da banda e a distância que ela deslocou-se se chama altura do prato. A altura do prato é útil para fazer a diferenciação dos solutos diferentes que percorrem a mesma coluna. Isso é possível porque eles têm coeficientes de difusão diferentes. Além disso, a diminuição da altura do prato amplia a habilidade de uma coluna de separar os componentes da mistura (COLLINS, 1997).

Conseqüentemente, a cromatografia é uma técnica analítica que está entre as mais usadas e de melhor funcionamento, e, esta pode ser associada a diversos sistemas de detecção (CHIARADIA, 2008).

4.1.2 Cromatografia Gasosa (CG)

A cromatografia gasosa é a qual utiliza o gás (normalmente He, N₂ ou H₂) na fase móvel. Essa fase chama-se gás de arraste e nela o gás é conduzido pela coluna (COLLINS, 1997).

O componente, um líquido volátil ou gás, é injetado por um disco de borracha (septo), como na Figura 8, dentro de uma cavidade quente, onde ele se dissipa depressa (HARRIS, 2001).

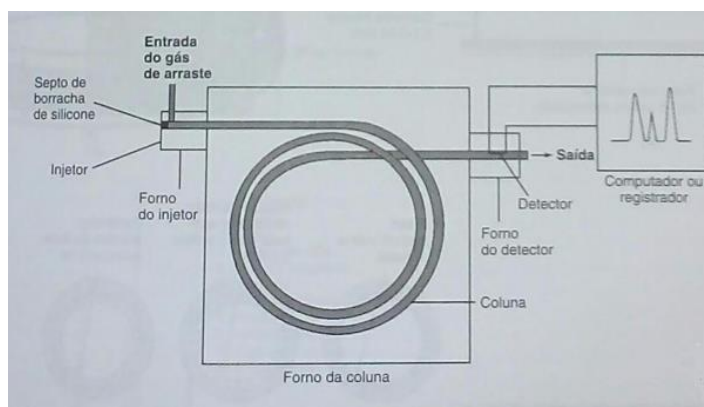


Figura 8 - Esquema de um cromatógrafo a gás (HARRIS, 2001).

O vapor que se forma é conduzido na coluna pelo gás de arraste e os componentes separados correm pelo detector, passando o resultado para um computador ou registrador (HARRIS, 2001).

A coluna deve estar bastante quente, provocando uma pressão de vapor satisfatória para que os componentes sejam precipitados em um tempo aceitável. Já o detector, deve ser condicionado em uma temperatura maior que a da coluna, assim todos os componentes serão gases (HARRIS, 2001).

Há dois tipos de colunas que podem ser utilizados na CG, são eles: colunas capilares e colunas recheadas (COLLINS, 1997).

As colunas capilares longas e estreitas são as mais usadas na maioria das análises. Produzidas com sílica fundida (SiO_2) e cobertas com poliimida (plástico resistente até 350°C) com intuito de dar suporte e preservar da umidade atmosférica. O formato capilar promove menores tempos de análise, uma maior resolução e sensibilidade, porém tem capacidades pequenas para a amostra, além de precisarem de uma pressão superior para atuar (HARRIS, 2001).

Problemas como o envelhecimento da coluna e a exposição em altas temperaturas ao oxigênio levam à geração e aumento da cauda no cromatograma (COLLINS, 1997).

Já as colunas recheadas, possuem um suporte sólido fino revestido com uma fase estacionária líquida não volátil (ou o próprio sólido pode ser a fase estacionária). Essas colunas são fundamentais para separações preparativas (necessita de grande quantidade de fase estacionária) ou para separação de gases que são pouco detidos, apesar de ter uma resolução menor. São produzidas, normalmente, com aço inoxidável, níquel ou vidro (HARRIS, 2001).

A atividade da coluna e do detector depende do tipo de gás de arraste utilizado. Um gás bom para maior eficiência da coluna e velocidade de análise é o H_2 , porém seu uso não

é permitido com um detector espectrométrico de massa, porque ele quebra a bomba de vácuo do detector. Já o N₂, é pouco usado nas colunas capilares de alta resolução. Outro problema é o fluxo de colunas estreitas que é muito baixo para que o detector tenha um bom funcionamento. Portanto, um gás complementar é aplicado entre a coluna e o detector (HARRIS, 2001).

Os componentes são injetados dentro do cromatógrafo com uma seringa. Usa-se uma seringa compacta quando o componente é gasoso (COLLINS, 1997).

A injeção completa possui muito amostra para uma coluna. Então, aplica-se uma injeção com divisor de fluxo, quando os componentes de interesse são maiores que 0,1% da amostra, transportando somente 0,2-2% do material. Os melhores resultados são atingidos com a menor quantidade de amostra com um trabalho de alta resolução. Já o modo de injeção sem divisor de fluxo, é indicado para análise de componentes que são menores que 0,01% da amostra (HARRIS, 2001).

A detecção dos componentes, além da identificação e quantificação, é realizada após os mesmos terem sido separados na coluna cromatográfica. Há diferentes tipos de detectores, como detector por condutividade térmica, detector por ionização em chama, detector por captura de elétrons, entre outros (COLLINS, 1997).

Antigamente, o detector por condutividade térmica era comumente usado na CG por serem fáceis e universais. Estes detectam todos os componentes em análise, porém não possuem sensibilidade considerável para detecção de quantidades pequenas de um componente de interesse. Além disso, em colunas de 0,53 mm e nas colunas recheadas, estes detectores ainda são utilizados. Este tipo de detector verifica a capacidade de alguma substância conduzir calor de uma região quente para uma região fria. O gás de arraste utilizado, em geral, é o hélio, com a segunda maior condutividade térmica entre os gases. Por fim, a sua sensibilidade é maior na menor vazão (HARRIS, 2001).

O componente é queimado em uma mistura de H₂ e ar no detector por ionização em chama. Estes detectores são muito usados em colunas cromatográficas a gás, capilares e recheadas. É sensível à maioria dos hidrocarbonetos, que estão presentes na maioria dos componentes analisados na cromatografia gasosa. No entanto, não são sensíveis às amostras que não sejam hidrocarbonetos (H₂, He, N₂, O₂, CO, CO₂, H₂O, NH₃, NO, H₂S e SiF₄), logo não é um detector global (HARRIS, 2001).

Já o detector por captura de elétrons é sensível a moléculas que possuem halogênios, carbonilas conjugadas, nitrilas, nitrocompostos e compostos organometálicos, mas não é

sensível a hidrocarbonetos, alcoóis e cetonas. Além do mais, a sensibilidade do detector é diminuída com a umidade. Normalmente, o gás de arraste utilizado é o N₂ ou a mistura de 5% de metano em ar (HARRIS, 2001).

Há um detector essencial para as análises de drogas, pesticidas e herbicidas, chamado detector de nitrogênio-fósforo, ou detector de chama alcalino. Este é uma modificação do detector por ionização em chama, que são altamente sensíveis a substâncias que têm nitrogênio e fósforo (HARRIS, 2001).

Antes de todos estes procedimentos, a amostra deve ser preparada, ou seja, deve ser alterada para que esteja adequada para análise. Há diversos processos que podem ser usados na preparação da amostra, são eles: extrair o componente em análise da matriz, concentrar componentes muito diluídos, retirar os interferentes da amostra, ou ainda transformar quimicamente o componente (chama-se derivatização) (HARRIS, 2001).

4.1.3 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A cromatografia líquida é uma técnica fundamental, pois nem todos os componentes são estáveis o suficiente para a CG (COLLINS, 1997).

Esta técnica faz uso de uma alta pressão, sujeitando a passagem do solvente pelas colunas, que possuem partículas finas viabilizando separações bastante eficientes. A composição do sistema da CLAE é (Figura 9): um sistema de distribuição do solvente, uma válvula de injeção de amostra, uma coluna de alta pressão, um detector e um computador para controlar o sistema e exibir os resultados (COLLINS, 1997).

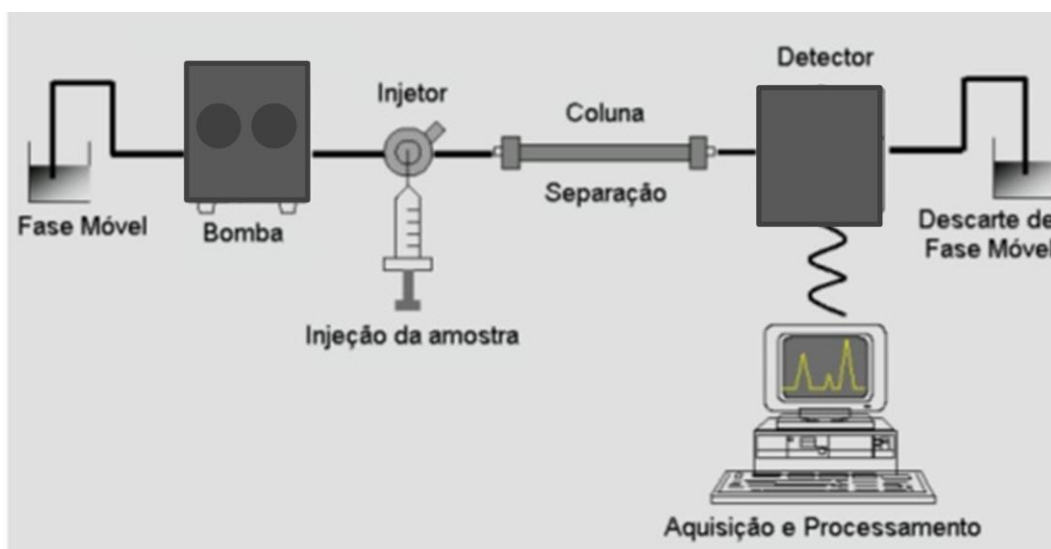


Figura 9 – Esquema da cromatografia líquida de alta eficiência, CLAE (Adaptado de ARAÚJO, 2016).

As moléculas líquidas demoram 100 vezes mais para difundirem-se do que as moléculas gasosas. Por isso, normalmente, não é viável o uso de colunas capilares na cromatografia líquida. Portanto, faz-se uso das colunas recheadas (HARRIS, 2001).

As colunas recheadas são muito eficientes quando há diminuição do tamanho das partículas da fase estacionária, como pode-se observar na Figura 10, nota-se a afinação dos picos (HARRIS, 2001).

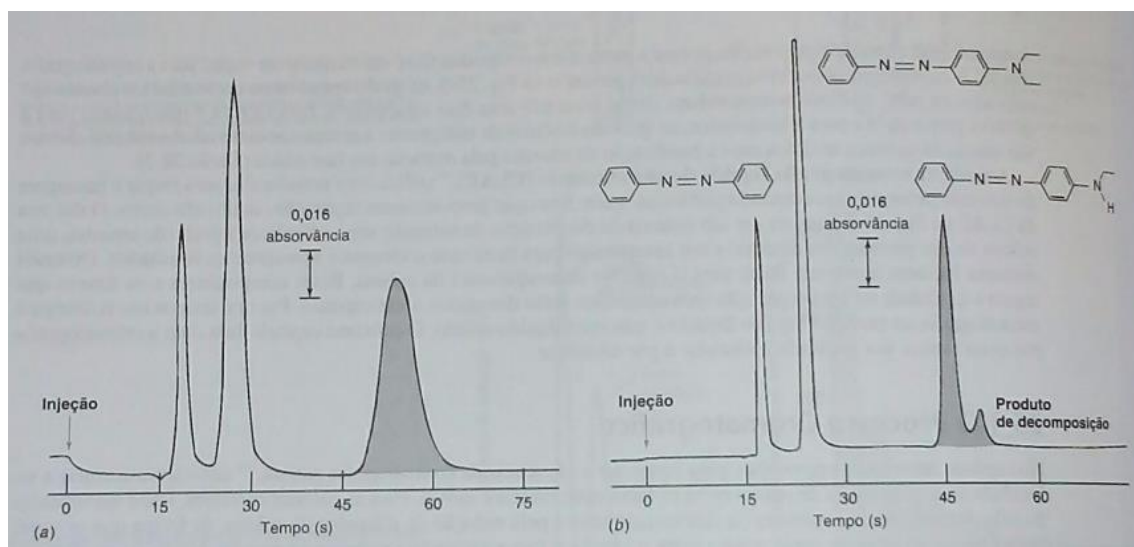


Figura 10 - Cromatogramas de uma mesma amostra exibindo o aumento de resolução proporcionado pela diminuição no tamanho da partícula de 10 para 5 μm . (Adaptado de HARRIS, 2001).

As colunas utilizadas no equipamento da CLAE são compostas por plástico ou aço, além disso, degeneram-se com facilidade por sujeiras ou interferentes presentes na amostra e são caras. Por conta dessa facilidade, há uma proteção na entrada da coluna principal, chamada pré-coluna. Essa pré-coluna de proteção detém a passagem de partículas finas e substâncias que se aderem vigorosamente. A mesma é trocada constantemente (COLLINS, 1997).

Para obtenção de um fluxo mais rápido, deve-se aquecer a coluna, assim abaixando a viscosidade do solvente e os tempos de retenção, além do aperfeiçoamento da resolução. Contudo, esta intensificação da temperatura pode causar danos, como a degeneração da fase estacionária e a diminuição da durabilidade da coluna. Por isso, deve-se manter a temperatura da coluna não muito distante da temperatura ambiente (HARRIS, 2001).

O processo de dissociação na CLAE por adsorção baseia-se na competição das moléculas do solvente com as moléculas do soluto por sítios na fase estacionária. Logo,

pode-se descrever este processo como o deslocamento do soluto da fase estacionária pelo solvente (COLLINS, 1997).

Existem outros de tipos de dissociação, como eluição isocrática e por gradiente. A eluição isocrática é realizada com a mistura constante de solventes ou com apenas um. Enquanto a eluição por gradiente é feita incluindo quantidades crescentes de outros solventes ao primeiro solvente, com o intuito de gerar misturas destes em diferentes proporções, definidas ao longo da corrida cromatográfica (COLLINS, 1997).

Na detecção em CLAE, pode-se utilizar diferentes tipos de detectores. O detector perfeito deve ser capaz de captar o componente de interesse até mesmo em pequenas concentrações, fornecer respostas simples e não alargar o pico no cromatograma. Alguns detectores acoplados a CLAE são: ultravioleta, índice de refração, evaporativo de dispersão de luz, eletroquímico, fluorescência, condutividade, espectrometria de massa e infravermelho com transformada de Fourier (HARRIS, 2001).

4.1.4 Espectrometria de Massas (EM)

As moléculas são ionizadas e um campo elétrico as agiliza, assim separando-as conforme a massa de cada uma. Esse processo chama-se espectrometria de massas. A energia utilizada na ionização é considerável para quebrar a molécula, formando uma diversidade de fragmentos (HARRIS, 2001).

O espectrômetro de massas é o equipamento detector que realiza o procedimento descrito. O mesmo é importante para as análises quantitativas e qualitativas dos componentes, tanto na cromatografia líquida quanto na gasosa. O detector do espectrômetro quando atingido pelo fragmento, exibe a abundância relativa de cada componente, através de um gráfico, o espectro de massas (HARRIS, 2001). Todavia, quando há uma associação entre a cromatografia e a EM, este gráfico denomina-se cromatograma de massas (CHIARADIA, 2008).

No tipo de espectrômetro de massas com setor magnético, o tubo que analisa é conservado em alto vácuo, enquanto as moléculas que ingressam na fonte de ionização por impacto de elétrons são atacadas por elétrons com uma energia cinética suficiente para quebrá-las em vários fragmentos pequenos. Além do mais, a fenda do detector permite que apenas os íons com uma pequena massa atinjam o detector (HARRIS, 2001).

Há outros tipos de detectores, como espectrômetro de massas com quadrupolo de transmissão, espectrômetro de massas por tempo de voo, espectrômetro de massas de coleta de íons, dentre outros (VESSECCHI *et al.*, 2011).

Na Figura 11, pode-se observar o espectrômetro de massas quadrupolar acoplado a uma coluna cromatográfica capilar para assinalar o espectro de cada pico diluído. A solução atravessa um conector aquecido, presente no interior da câmara de ionização de impacto de elétrons do espectrômetro e, para a mesma reter um bom vácuo, deve-se bombeá-la depressa. Antes de adentrarem o separador de massas quadrupolar, os íons são agilizados. É possível registrar de dois a oito espectros por segundo rapidamente (HARRIS, 2001).

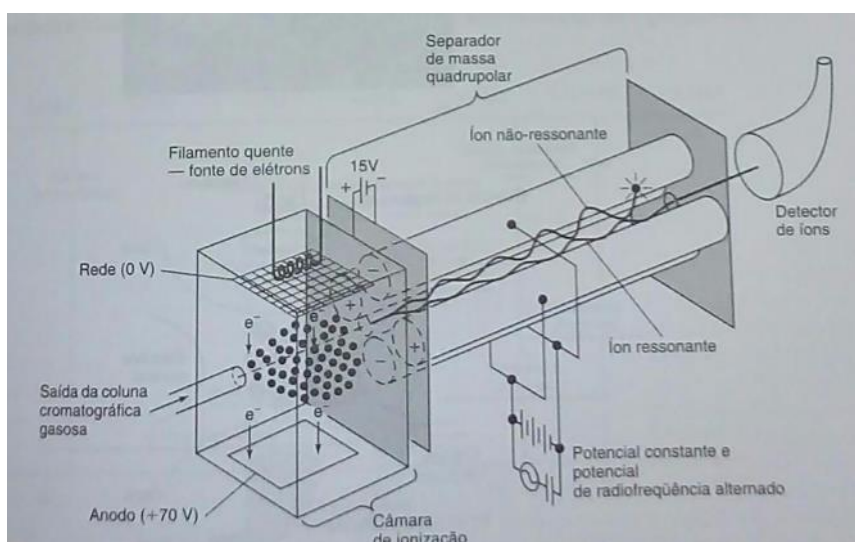


Figura 11 - Espectrômetro de massa quadrupolar (HARRIS, 2001).

Este separador constitui-se em quatro hastes metálicas paralelos, que possuem uma conexão elétrica, além de receberem um potencial de radiofrequência (CHIARADIA, 2008).

No espectrômetro de massas por tempo de voo (Figura 12) os componentes da amostra quando adentram no aparelho são transformados em cátions pelo impacto de elétrons (HARRIS, 2001). Após isso, os íons são acelerados por um potencial, lançando-os para o interior do tubo de orientação com energia cinética constante (CHIARADIA, 2008). Os íons mais pesados demoram mais para chegarem até o detector (HARRIS, 2001).

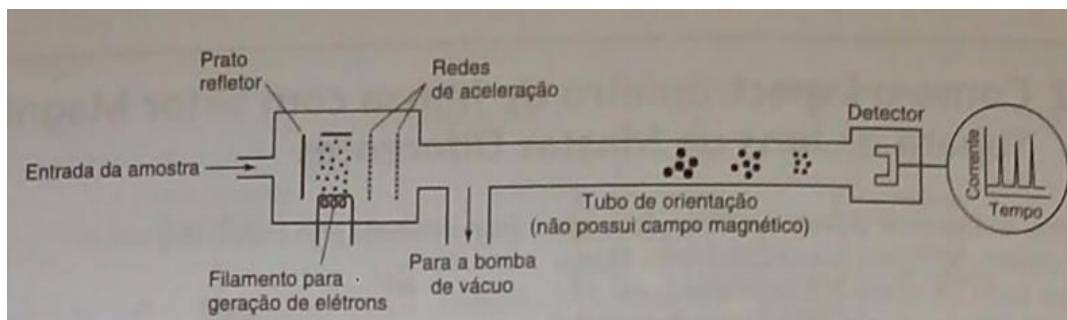


Figura 12 - Espectrômetro de massas por tempo de voo (HARRIS, 2001).

Já no espectrômetro de massas por coleta de íons (Figura 13), a solução entra na cavidade do analisador de massa por uma linha de transferência quente. O eletrodo de desbloqueio permite a passagem de elétrons do filamento da parte de cima. Os componentes da solução são ionizados no canal pelo impacto de elétrons. No entanto, para atingir uma ionização apressadamente, acrescenta-se um reagente gasoso, por exemplo, o metano, ao canal (HARRIS, 2001).

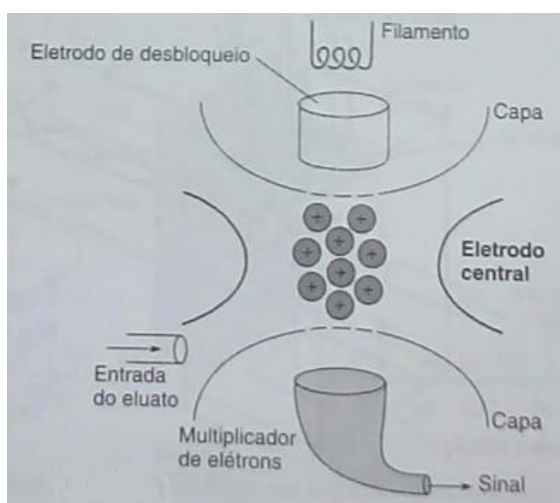


Figura 13 - Espectrômetro de massas de coleta de íons (HARRIS, 2001).

4.2 ACOPLAMENTO DE TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS E SUA APLICAÇÃO NA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS

A CG e CLAE são metodologias cromatográficas que, normalmente, são acopladas à espectrometria de massas, além da associação entre três técnicas, como CG-EM-EM (CHIARADIA, 2008).

A junção da cromatografia à espectrometria de massas combina vantagens. O cromatógrafo com sua alta seletividade e eficácia de separação, enquanto o espectrômetro de massas com sua aquisição de informação estrutural, massa molar e aumento adicional da seletividade (CHIARADIA, 2008).

Este acoplamento só é permitido se as características de cada instrumento não sejam modificadas pela sua união e se não acontecer alterações químicas do analito e decréscimo da amostra no decorrer da passagem do cromatógrafo para o espectrômetro de massas (CHIARADIA, 2008).

O acoplamento das técnicas multirresiduais (CG e CL) com a espectrometria de massas (EM), atualmente, tem se transformado em um método importantíssimo para a determinação dos resíduos de agrotóxicos em frutas e verduras. Portanto, esse método é um instrumento indispensável para a determinação transparente do componente químico de relevância, que possibilita uma ampla seletividade e ainda produz sinais mais impolutos, assim diminuindo as limitações de detecção e quantificação. Ou seja, as técnicas classificadas como mais atuais e desenvolvidas na determinação de resíduos de agrotóxicos são a CG e a CL acopladas às EM primária e secundária (JARDIM, 2009).

4.2.1 Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas (CL-EM)

O espectrômetro possui uma seletividade que favorece a preparação da amostra e/ou uma separação cromatográfica de todos os componentes de interesse (HARRIS, 2001).

No entanto, o acoplamento da CL com EM apresenta incompatibilidade, como a vazão do solvente do sistema cromatográfico com relação à velocidade de bombeamento do sistema de vácuo. A CLAE faz uso de vazões um tanto grandes, assim é impossível bombear o solvente de um cromatógrafo a líquido para dentro do espectrômetro. Dessa forma, para que seja realizado o acoplamento, uma função fundamental de uma interface é retirar toda ou uma parte importante da fase móvel (CHIARADIA, 2008).

A CLAE é aplicada em compostos pouco voláteis e sensíveis à temperatura, gerando outro problema, pois é impossível ionizar os mesmos com as técnicas de ionização que geralmente são usadas na EM (CHIARADIA, 2008).

Para isso, foram desenvolvidos métodos de ionização para inserir a solução da coluna no espectrômetro de massa, são eles: ionização química em pressão atmosférica e eletrospray pneumáticamente assistido (HARRIS, 2001).

A ionização química por pressão atmosférica transforma a solução em uma névoa fina de aerossol através de calor e fluxo de N₂. Esta é uma metodologia flexível entre a CL e a EM, pois reconhece uma diversidade de componentes e obtém vazões acima de 2 mL/min (HARRIS, 2001).

Já a ionização por eletrospray pneumáticamente assistida, gera um fino aerossol de partículas através de uma combinação entre um campo elétrico forte e um fluxo N₂ na saída da coluna do cromatógrafo. A solução deve possuir uma força iônica baixa para que os íons do solvente não ocultem os íons do componente em análise. Além disso, a escolha perfeita é uma vazão de 0,05 a 0,4 mL/min (HARRIS, 2001).

4.2.2 Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM)

O acoplamento da cromatografia gasosa com a espectrometria de massas é parcialmente fácil, visto que as características de desempenho do cromatógrafo a gás e exigência de alto vácuo do espectrômetro de massas são bastante conciliáveis (CHIARADIA, 2008).

A CG quando feita com colunas capilares, pode-se conectar a saída da coluna à fonte do espectrômetro, já que o sistema de bombeamento do espectrômetro de massas é capaz de absorver todo o solvente da coluna. No entanto, quando feita com colunas recheadas, antes da entrada do solvente na fonte de ionização do espectrômetro, a vazão do mesmo deve ser diminuída. Para isso, há divisores de fluxo que podem ser utilizados, porém é insatisfatório o desempenho da espectrometria por conta da perda na detectabilidade (CHIARADIA, 2008).

A CG-EM pode ser aplicada a compostos instáveis e estáveis nas temperaturas um pouco elevadas usadas ao decorrer do processo de separação cromatográfica. Além disso, os métodos de ionização usados neste acoplamento são: ionização por impacto de elétrons e ionização química (CHIARADIA, 2008).

4.2.3 Espectrometria de Massas acoplada à Espectrometria de Massas (EM/EM)

A metodologia espectrométrica EM/EM faz uso de duas etapas da espectrometria de massas (MS₁ e MS₂), portanto necessita de dois analisadores de massas (CHIARADIA, 2008).

No primeiro estágio, faz-se o isolamento do íon de interesse, enquanto no segundo, associa-se o íon de interesse que foi isolado aos outros íons feitos desde a degradação induzida (CHIARADIA, 2008).

Este método acoplado à cromatografia proporciona uma melhoria na detecção dos componentes em análise, limita os interferentes presentes nos componentes e amplia a quantidade de informação da estrutura que o espectrômetro pode adquirir (CHIARADIA, 2008).

Há três tipos de analisadores de massas utilizados na associação EM-EM, são eles: triplo quadrupolo, quadrupolo-analisador de tempo de vôle e ion-trap (CHIARADIA, 2008).

O triplo quadrupolo compõe-se por três quadrupolos em série. A dissociação dos íons por fragmentação induzida ocorre no segundo quadrupolo, que é usado como cela de colisão, além de orientar os íons gerados ao terceiro quadrupolo (CHIARADIA, 2008).

Já o quadrupolo-analisador de tempo de vôle, substitui a etapa final do triplo quadrupolo, identificando os componentes iônicos que atravessam o tubo de vôle em tempo determinado (CHIARADIA, 2008).

Por fim, o ion-trap, no qual regula-se o trap para a identificação de todos os íons que passam pelo espectrômetro de massas. Na fragmentação de íons, os íons gerados são voláteis, então são dispensados do trap para criação do espectro de massas (CHIARADIA, 2008).

4.3 PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

A preparação da amostra é essencial para que a amostra esteja na forma adequada para introdução da mesma no cromatógrafo. Esta etapa pode incluir diversos processos, como extração do componente em análise da matriz, concentração de componentes muito diluídos, ou ainda a transformação química do componente (que se chama derivatização) (HARRIS, 2001). Esta etapa é vista como uma das mais importantes entre todas as etapas analíticas manuseadas na determinação dos resíduos de agrotóxicos (JARDIM, 2009).

Além do mais, a preparação da amostra é muito importante para garantir a eficácia das técnicas analíticas e a obtenção de resultados seguros (TOMASINI, 2011). Principalmente da matriz alimentícia que possui muita complexidade, a qual muitas das vezes impossibilita a remoção apenas do analito de interesse. Logo, os fragmentos apresentarão interferentes (CHIARADIA, 2008).

Há diversos métodos de preparo da amostra de alimento, alguns deles são: cromatografia por permeação em gel (CPG), extração em fase sólida (SPE), mistura de solventes e filtração da amostra, microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME); porém a metodologia de preparo mais mencionada e usada nos dias atuais na literatura chama-se QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*), devido às vantagens que proporciona como o próprio nome indica (CHIARADIA, 2008; TOMASINI, 2011; QUEIROZ, 2011).

Esta técnica, a QuEChERS (rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro), foi desenvolvida para a extração de resíduos de agrotóxicos em frutas e vegetais em 2003 por ANASTASSIADES e colaboradores (TOMASINI, 2011).

O processo dessa técnica fundamenta-se em uma primeira remoção de 10g da amostra com um solvente orgânico (acetato de etila, acetona ou acetonitrila), acompanhada por uma separação líquido-líquido com acrescentamento de sais (em geral, cloreto de sódio, NaCl, em conjunto com sulfato de magnésio, MgSO₄) para ocasionar o efeito “*salting out*”. Após isso, realiza-se tamponamento se for necessário e secagem para enfim ser feita a etapa de limpeza (*cleanup*) do fragmento por extração em fase sólida dispersiva (DSPE) (TOMASINI, 2011; OSHITA, 2015).

Esta etapa de limpeza tem como objetivo a extração de interferentes que podem prejudicar as análises e os resultados das mesmas. Normalmente, opta-se por DPSE, da mesma maneira que o método oficial (TOMASINI, 2011).

O método oficial para determinação de multirresíduos de agrotóxicos em alimentos faz uso deste preparo de amostra, o QuEChERS (ANASTASSIADES *et al.*, 2003) . Além disso, muitos trabalhos também foram publicados fazendo referência a outras determinações de resíduos de agrotóxicos. Contudo, pode-se observar na Tabela 4, as metodologias mais recentes que compõem a análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos.

Tabela 4 - Métodos recentes para análise de multirresíduos de agrotóxicos em alimentos.

Matriz	Preparo da amostra	Método de análise	Limite de Quantificação	Referência
Alface	QuEChERS	UPLC-MS/MS	10 – 50 ng g ⁻¹	QUEIROZ, 2011
Maçã	QuEChERS	UPLC-MS/MS	10 – 50 ng g ⁻¹	QUEIROZ, 2011
Mel	SPE	LC-DAD	0,003 – 0,5 µg g ⁻¹	TOMASINI, 2011
Mel	QuEChERS	GC-ECD	0,02 – 0,05 mg	TOMASINI,

Morango	QuEChERS	LC-MS/MS	kg ⁻¹ 10 – 25 ng g ⁻¹	2011 OSHITA, 2015
Tomate	QuEChERS	UPLC-MS/MS	10 – 50 ng g ⁻¹	QUEIROZ, 2011
Uva	QuEChERS	UPLC-MS/MS	10 – 50 ng g ⁻¹	QUEIROZ, 2011

5 PRINCIPAIS AGROTÓXICOS ENCONTRADOS EM ALIMENTOS - PARA

A aplicação dos agrotóxicos em cultivo de alimentos, desde a semente até as etapas pós-colheita, armazenamento e transporte do produto, executa uma função considerável na proteção e na preservação de alimentos, mesmo que estas substâncias causem efeitos desagradáveis (JARDIM, 2009).

Contudo, para que haja uma análise dos riscos, oriundos de alguma via de exposição em um organismo, é necessária a vigilância dos resíduos de agrotóxicos em alimentos. Logo, a criação de um programa de monitoramento de resíduos de agrotóxicos em alimentos é de extrema importância para que os procedimentos da vigilância sanitária sejam postos em prática (JARDIM, 2009).

5.1 CONTROLE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS

O controle de resíduos de agrotóxicos em alimentos se dá através do monitoramento, pela aplicação de técnicas analíticas validadas, dos principais alimentos comercializados, com o objetivo de avaliar o grau de risco oferecido aos consumidores.

No Brasil, existem dois programas com essa finalidade: O Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes de Produtos de Origem Vegetal (PNCRC/Vegetal), coordenado pelo MAPA (BRASIL, 2010), e o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), que será abordado nesse trabalho.

O PARA, criado em 2001 pela Anvisa, junto com as Vigilâncias Sanitárias (Visas) e com os Laboratórios Centrais de Saúde Pública (Lacens) tem a finalidade de avaliar constantemente os níveis de resíduos de agrotóxicos nos alimentos de origem vegetal que são comercializados no Brasil (ANVISA, 2001).

Tendo em vista a garantia de alimentos seguros à população, a Anvisa aderiu e determinou o Limite Máximo de Resíduo (LMR) de agrotóxicos em produtos de origem vegetal destinados ao consumo humano e/ou animal (JARDIM, 2009). Com isso, as Visas realizam a coleta destes alimentos e enviam amostras aos Lacens, que realizam análises com o intuito de determinar se há agrotóxicos, se tais são autorizados para determinada cultura e se estão em níveis cabíveis aos LMRs (ANVISA, 2001).

É fundamental destacar dois pontos relacionados à legislação ambiental de agrotóxicos: como os órgãos de fiscalização e legislação ambiental determinam o LMR aprovável para o consumo por seres humanos e, definir o porquê de alguns agrotóxicos não serem permitidos para certas culturas (JARDIM, 2009).

De acordo com o padrão, o ser humano pode consumir determinada quantidade diária para toda a vida sem causar danos à saúde. Esta dose é expressa no valor, chamado de IDA (Ingestão Diária Aceitável), medida em miligramas de agrotóxico por quilo de peso do corpo da pessoa que o ingere (mg/kg), e é calculada para cada agrotóxico (ANVISA, 2001).

Dessa forma, a Anvisa define que os LMRs sejam expressos em miligramas do agrotóxico por quilo do alimento (mg/Kg). Logo, as aplicações destas doses de agrotóxicos são baseadas na IDA (ANVISA, 2016).

Ademais, o motivo de certos agrotóxicos não serem permitidos para algumas culturas e permitidos para outras “significa que, nunca foi registrado, ou que a cultura foi excluída devido ao impacto na ingesta ou até mesmo devido à modalidade de aplicação do produto, sendo que a aplicação com equipamentos carregados pelo próprio aplicador são as que provocam o maior número de exclusões de culturas durante a reavaliação do produto”, comunicou Adriano Pacheco, engenheiro agrônomo da Gerência de Avaliação de Riscos (GAVRI)/Anvisa, durante uma entrevista (ECODEBATE, 2006).

Em vista disso, os dados apresentados a seguir serão baseados no Relatório das Análises de Amostras Monitoradas no período de 2013 a 2015, do PARA/Anvisa.

Nesse período, o PARA realizou análises de 12.051 amostras de 25 alimentos de origem vegetal distribuídos em cinco categorias, são elas:

- Cereal / Leguminosa: arroz, feijão, milho (fubá) e trigo (farinha);
- Fruta: abacaxi, banana, goiaba, laranja, maçã, mamão, manga, morango e uva;
- Hortaliça folhosa: alface, couve e repolho;
- Hortaliça não folhosa: abobrinha, pepino, pimentão e tomate;

- Raiz, Tubérculo e Bulbo: batata, beterraba, cebola, cenoura e mandioca (farinha).

Nestes alimentos, realizaram-se análises em busca de até 232 agrotóxicos diferentes, incluindo os metabólitos e produtos de degradação. Destes, apenas 98 agrotóxicos não foram identificados nos alimentos monitorados, ou seja, foram detectados resíduos de 134 agrotóxicos diferentes nas amostras analisadas, obtendo um resultado de 22.721 detecções (Figura 14).

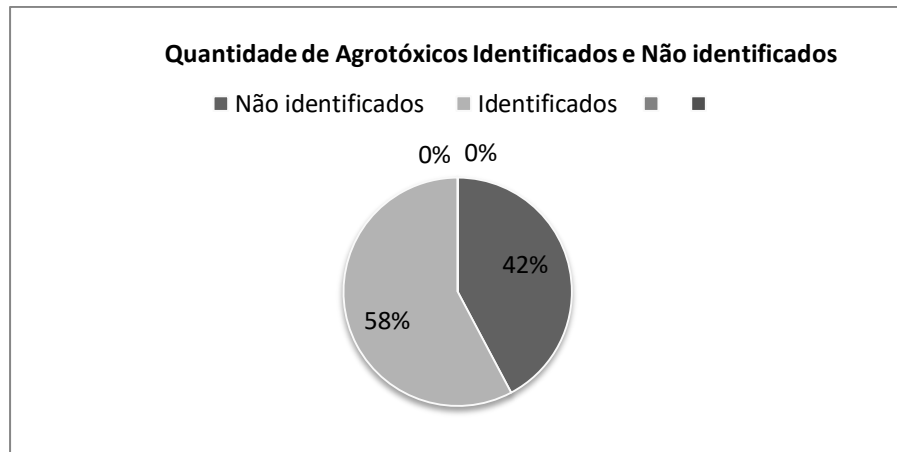


Figura 14 - Representação gráfica da quantidade de agrotóxicos identificados ou não pelo PARA.

Segue a ordem dos agrotóxicos que apresentaram maiores detecções, do que indicou maior número para o menor: carbendazim, acefato, ditiocarbamatos (precursores de CS₂) e tebuconazol. O carbendazim foi identificado em 2.553 amostras, equivalendo a 21% do total de amostras analisadas. As amostras consideradas insatisfatórias foram 327 do total de amostras que apresentaram carbendazim (Figura 15).

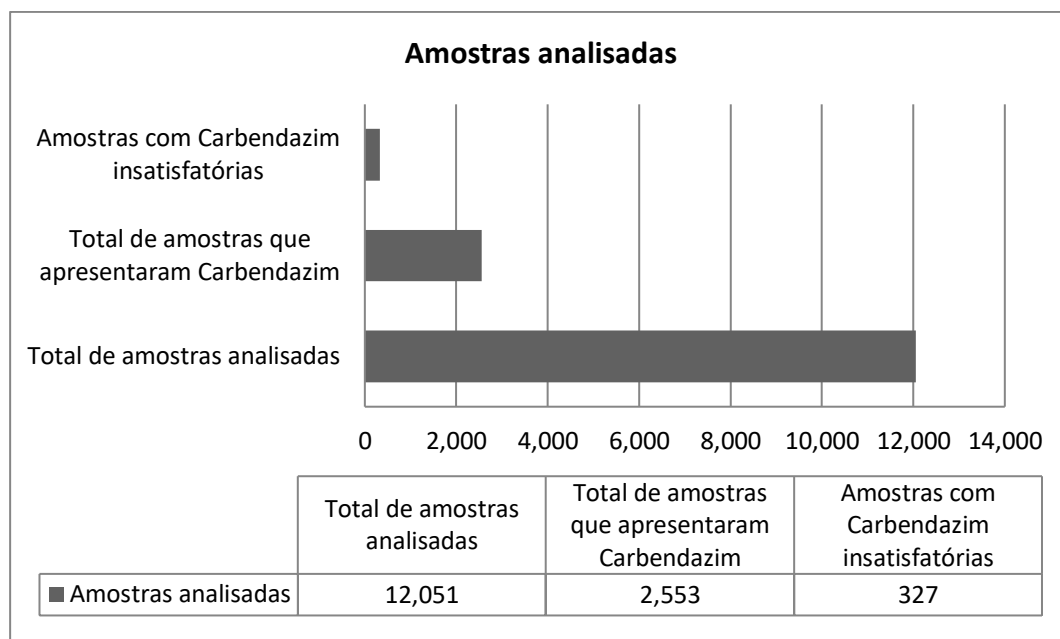


Figura 15 - Representação gráfica da quantidade de amostras com Carbendazim em comparação com o total de amostras analisadas

Na análise dos resultados, o programa considerou os LMRs determinados tanto na monografia do carbendazim quanto na monografia do tiofanato-metílico. Isto ocorre, pois os resíduos do tiofanato-metílico são expressos como carbendazim, ou seja, eles transformam-se em carbendazim.

Dentre todos os agrotóxicos pesquisados, os que mostraram maior índice de detecções irregulares foram: acefato, clorpirifós e carbendazim; porém a maior parte de identificações foi em amostras que não têm LMR definido. Ou seja, a maior irregularidade destes produtos está na aplicação, pois apresentaram resultados altos no quesito resíduo não autorizado para a cultura.

Já no quesito dos resíduos que excederam o LMR, estão carbendazim e imidacloprido entre os que mostraram maior índice de detecções.

Apesar de o carbendazim ter sido encontrado em 21% das amostras, o acefato foi o agrotóxico que indicou o maior número de detecções irregulares com o percentual de 5,09% das amostras analisadas. Enquanto isto, o carbendazim apresentou 3,06% de detecções irregulares, semelhante ao percentual do clorpirifós (3,28%) (Tabela 5).

Tabela 5 - Dados sobre os três agrotóxicos com maior índice de detecções irregulares

Nota: O carbendazim não foi pesquisado nas amostras de goiaba; o clorpirifós não foi pesquisado nas amostras de abobrinha, goiaba e pepino.
Fonte: Adaptado de ANVISA, 2016.

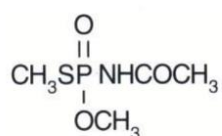
O foco nestes três agrotóxicos, acefato, carbendazim e clorpirifós, requer uma descrição mais detalhada de cada um deles.

Acefato

O acefato, ou Ortho 12420, é do grupo químico dos organofosforados e está classificado como inseticida e acaricida. Já sua classificação toxicológica, é classe III, ou seja, são mediamente tóxicos. Estes possuem aplicação autorizada nas culturas de algodão, amendoim, batata, citros, feijão, melão, milho, soja e tomate.

- a) Nome químico: O,S-dimetil fosforoamidotioato
- b) Fórmula molecular: $C_4H_{10}NO_3PS$
- c) Fórmula estrutural:

Agrotóxico	Nº de alimentos monitorados	Nº de amostras monitoradas	Total de amostras com detecções	% de amostras com detecções	Nº de amostras com detecções irregulares	% de amostras com detecções irregulares
ACEFATO	25	12.051	1.268	10,5	613	5,09
CARBENDAZIM	24	10.668	2.553	23,9	327	3,06
CLORPIRIFÓS	22	10.454	946	9,04	343	3,28



- d) Ingestão Diária Aceitável (IDA) = 0,0012 mg/Kg.

O acefato possui um metabólito chamado de metamidofós (O,S-dimetil fosforoamidotioato), ou seja, o mesmo é expresso como acefato.

Além disso, tendo em vista atender a reavaliação toxicológica, ocorreu a exclusão da aplicação em estufas, o uso domissanitário e em jardinagem e o uso nas culturas de brócolis, couve, couve-flor, cravo, crisântemo, fumo, pimentão, repolho, rosa e tomate de mesa.

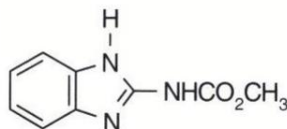
Já sobre a comercialização dos produtos expressos à base de acefato, a venda só será permitida na exibição de embalagens hidrossolúveis.

Este agrotóxico foi identificado irregularmente em 18 dos 25 alimentos monitorados, mas exibiu maior número de irregularidades nas amostras de uva e cenoura, respectivamente, 138 e 93.

Carbendazim

O carbendazim, MBC ou Carbendazol, é do grupo químico dos benzimidazóis e é classificado como fungicida. Além disso, possui classe toxicológica III. Estes possuem aplicação autorizada nas culturas de algodão, arroz, citros, feijão, maçã, milho, soja e trigo.

- a) Nome químico: methyl benzimidazol-2-ylcarbamate
- b) Fórmula molecular: $C_9H_9N_3O_2$
- c) Fórmula estrutural:



- d) Ingestão Diária Aceitável (IDA) = 0,02 mg/Kg.

O tiofanato-metílico é um metabólito do carbendazim, ou seja, é expresso em carbendazim. Por isso, é necessário considerar os LMRs definidos tanto para um quanto para o outro para que haja um controle de resíduos.

Além disso, para o cálculo do impacto na IDA também serão considerados os LMRs presentes tanto na monografia do carbendazim como na do tiofanato-metílico.

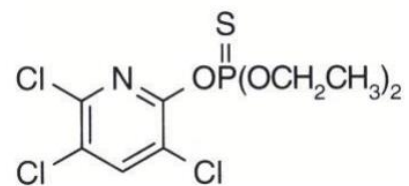
Este agrotóxico mostrou maior índice de detecções irregulares nas amostras de pimentão e abobrinha, respectivamente, 179 e 88, por conta da falta de LMR para tais culturas.

Clorpirifós

O clorpirifós, ou clorpirifós-etil, é do grupo químico dos organofosforados e está na classe dos inseticidas, formicidas e acaricidas. A classificação toxicológica deste agrotóxico é II, ou seja, altamente tóxico. Este tem autorização para serem aplicados em culturas de algodão, banana, batata, café, cevada, citros, feijão, maçã, milho, pastagem, soja, sorgo, tomate (somente o rasteiro) e trigo. Também é permitida a aplicação no controle de formigas, porém não há LMR definido.

- a) Nome químico: O,O-diethyl O-3,5,6-trichloro-2-pyridylphosphorothioate
- b) Fórmula molecular: $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$

c) Fórmula estrutural:



d) Ingestão Diária Aceitável (IDA): 0,01 mg/Kg.

Este agrotóxico apresentou o maior número de detecções irregulares nas amostras de tomate e cenoura, respectivamente, 126 e 79, sendo que a utilização desse agrotóxico não é permitida para essas culturas.

Para finalizar esta análise de resultados por agrotóxico pesquisado, a Figura 16 abaixo expõe as detecções regulares e irregulares por grupo químico. O grupo que apresentou o maior índice de detecções foi dos organofosforados (4.824 detecções; 3.088 regulares e 1.736 irregulares). Outros grupos que apresentaram números relevantes de detecções de agrotóxicos foram: benzimidazóis, triazóis e neonicotinóides.

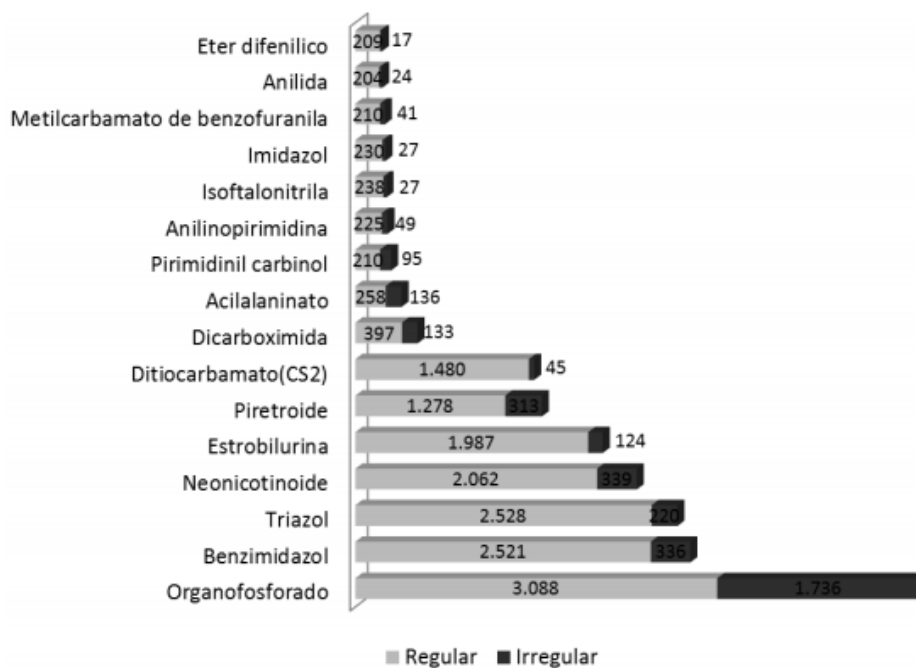


Figura 16 - Detecções regulares e irregulares, por grupo químico, considerando número de detecções por grupo superior a 200. (Adaptado de ANVISA, 2016).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo dos agrotóxicos é de extrema importância e relevância, visto que os mesmos são substâncias que podem ser altamente tóxicas, provocando a contaminação de seres humanos e de locais, incluindo alimentos, que foi a matriz de enfoque neste trabalho.

O objetivo principal deste trabalho foi compreender as metodologias analíticas que são utilizadas na determinação de resíduos de agrotóxicos e como são aplicadas na matriz

alimentícia. Hoje em dia, nota-se a disposição na execução de trabalhos científicos que otimizem e validem os métodos analíticos. Portanto, alguns destes estudos contribuíram bastante para finalização dos objetivos.

Portanto, foi possível aprender: as técnicas mais usadas na determinação de resíduos de agrotóxicos (que são CG e CLAE, além do acoplamento à EM), como elas são empregadas na matriz alimentícia e o porquê da importância do preparo da amostra de alimento, visto que são matrizes complexas e de difícil extração de analitos sem interferentes, além de verificar a relevância de analisar tais matrizes e o destaque do PARA em determinar a restrição ou não destes venenos.

Dessa forma, é evidenciado neste trabalho que as técnicas CG e CLAE são um complemento valioso para determinação dos resíduos, visto que alguns componentes não são estáveis o suficiente para a CG, logo se utiliza a CLAE. Além disso, há o acoplamento das mesmas à técnica de identificação, espectrometria de massa, que amplia diversas vantagens e não é à toa que tornaram-se as metodologias analíticas mais utilizadas e mais citadas na literatura como as principais no uso de determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos, por exemplo: frutas e vegetais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRASCO. Prof. Wanderley Pignati. **Dossiê ABRASCO 2015**. Imagem disponível em: <http://www.r7.com/r7/media/2016/2016-agrotoxicos/img/gp03.png>. Data de acesso: maio de 2017.

ANASTASSIADES *et al.* **Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce.** Journal of AOAC International, v. 86, n. 2, 2003.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Nota Sobre o Uso de Agrotóxicos em Área Urbana.** Página da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, 2010. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/451782/Informe+-+Uso+de+Agrot%C3%B3xicos+Em+%C3%81rea+Urbana/28034219-6d88-4277-b33a-5f1991f52c2f>. Data do acesso: 06 de out de 2016.

_____. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA).** Página da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, 2001. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/programa-de-analise-de-registro-de-agrotoxicos-para>. Data do acesso: 06 de out de 2016.

ARAÚJO, T. **Cromatografia Líquida.** 2016. Disponível em: <https://www.slideshare.net/TerezinhaAraujo7/cromatografia-lquida-73331666>. Data do acesso: 20 de nov de 2017.

BAIRD, C.; **Química Ambiental**, 2ª ed., Bookman: Porto Alegre, 2002. Disponível em: https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=bgUaHUqGPYIC&oi=fnd&pg=PA2&ots=id226u3IdL&sig=eLrXk9i_yUkkrn1YKVdGFNEugAc&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false. Data de acesso: 7 de outubro de 2017.

BRAIBANTE, M.E.F.; ZAPPE, J.A. **A química dos agrotóxicos.** Química Nova na Escola. v. 34, nº1, p. 10-15, 2012.

BRASIL. Presidência da República, Casa Civil-Subchefia para Assuntos Jurídicos. **Lei Nº 7.802, de 11 de julho de 1989.** Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L7802.htm. Data do acesso: 14 de out de 2016

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. PNCRC-Vegetal-2010. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/arquivos-publicacoes-laboratorio/pncrc-vegetal-2010.pdf/view>. Acesso em 20 nov. de 2017.

CARNEIRO, F. F.; ABRASCO. **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde.** Rio de Janeiro : São Paulo: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio ; Expressão Popular, 2015.

COLLINS, C.H. *et al.* **Introdução a Métodos Cromatográficos.** 7 ed. Campinas: Ed. da Unicamp, 1997.

ECODEBATE. Site de informações, artigos e notícias socioambientais. **Agrotóxicos: poluição invisível**, por Márcia Pimenta, 2006. Disponível em: <https://www.ecodebate.com.br/2006/09/28/agrotoxicos-poluicao-invisivel-por-marcia-pimenta/>. Data de acesso: 19 de nov. de 2017.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa.** 5.ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2001.

JARDIM, Isabel Cristina Sales Fontes *et al.* **Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global - Um enfoque às maçãs.** Química Nova, vol.32, no.4, São Paulo, 2009. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/23847>. Data de acesso: agosto de 2017.

OSHITA, Daniele; JARDIM, Isabel CSF. **Comparação de métodos por Cromatografia Líquida na determinação de multirresíduos de agrotóxicos em morangos.** Química Nova, v. 38, n. 10, p. 1273-1281, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20150145>. Data de acesso: novembro de 2017.

MÉLO-FILHO, L.R.; GUENTHER, M. **A resistência sistêmica induzida como alternativa sustentável ao uso de agrotóxicos.** Revista em Agronegócio e Ambiente, v.8, n. Edição Especial, p. 27-38, 2015.

MILANEZ, B.; FIRPO DE SOUZA PORTO, M.; CASTELO BRANCO, J.; LEROY, J.; NYCS, Z. **Os agrotóxicos e a força das multinacionais.** Le Monde Diplomatique, edição 14, 04/09/2008.

PERES, F.; MOREIRA, J. C. **É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente.** SciELO-Editora FIOCRUZ, 2003. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=UtkXAwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA2&dq=veneno+ou+%C3%A9+rem%C3%A9dio%3F+Agrot%C3%B3xicos,+sa%C3%BAde+e+ambiente.&ots=V7wcOrfXYe&sig=CspLPm3XTeReTvP2kzPtpJ7fOBo#v=thumbnail&q&f=false>. Data de acesso: 20 de outubro de 2017.

PINTO, L. **Proteômica: Cromatografia.** Disponível em: <http://slideplayer.com.br/slide/289119/>. Data do acesso: 19 de set de 2017.

QUEIROZ, Sonia CN; FERRACINI, Vera L.; ROSA, Maria A. **Validação de método multirresíduo para determinação de pesticidas em alimentos empregando QuEChERS e UPLC-MS/MS.** Química Nova, v. 35, n. 1, p. 185-192, 2012. Disponível em: <http://submission.quimicanova.s bq.org.br/qn/qnol/2012/vol35n1/31-NT11089.pdf>. Data de acesso: novembro de 2017.

RIBEIRO *et al.* **Planilha de Validação: Uma Nova Ferramenta Para Estimar Figuras de Mérito na Validação de Métodos Analíticos Univariados.** Química Nova, v. 31, n. 1, 164-171, 2008.

RODRIGUES, N.R. **Agrotóxicos: Análises de Resíduos e Monitoramento.** Disponível em: http://www.multiciencia.unicamp.br/artigos_07/a_09_7.pdf. Data de acesso: 15 de novembro de 2016.

SIQUEIRA, S.L.; KRUSE, M.H.L. **Agrotóxicos e Saúde humana: contribuição dos profissionais do campo da saúde.** Revista da Escola de Enfermagem da USP, Vol. 42, no.3, nº de págs. 7, São Paulo, setembro de 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0080-62342008000300024>. Data do acesso: 05 de jul de 2016.

SANTOS, V.M.R. *et al.* **Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais.** Química Nova, v. 30, nº1, p. 159-170, 2007.

SCHIESARI, L. **Defensivos agrícolas: Como evitar danos à saúde e ao meio ambiente.** Série Boas Práticas – Volume 8, 2012. Disponível em: https://www.ifc.org/wps/wcm/connect/4a761f00437b4db7b3afbb869243d457/IPAM_De115+_Agrochemical+booklet.pdf?MOD=AJPERES. Data de acesso: 20 de out de 2017.

TENDLER, S. Documentário: **O Veneno Está na Mesa.** Direção de Silvio Tandler. Brasil, 2011. 50 min. Documentário disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=8RVAgD44AGg>. Data de acesso: 07 de set de 2016.

TERRA, F. H.B.; PELAEZ, V. **A história da indústria de agrotóxicos no Brasil: das primeiras fábricas na década de 1940 aos anos 2000.** Disponível em: <http://sober.org.br/palestra/13/43.pdf>. Data do acesso: 27 de out de 2016.

TOMASINI, D. **Otimização e validação de método de extração (QuEChERS) e de análise (LC-DAD E LC-APCI-MS/MS) para determinação simultânea de agrotóxicos e hidroximetilfurfural em mel.** Disponível em: http://www.lacom.furg.br/images/stories/debora_tomasini.pdf. Data de acesso: 19 de nov de 2017.

VEIGA, M.M. *et al.* **A contaminação por agrotóxicos e os Equipamentos de Proteção Individual (EPIs).** Revista brasileira de Saúde ocupacional, v. 32 (116), p. 57-68, São Paulo, 2007.

VESSECCHI *et al.* **Nomenclaturas de Espectrometria de Massas em Língua Portuguesa.** Química Nova, v. 34, n. 10, 1875-1887, 2011.

WEBCESTEH. **Website do Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana**, 2017. Disponível em: <http://www.cesteh.ensp.fiocruz.br/o-cesteh>. Data de acesso: 18 de nov de 2017.

WHO. World Health Organization. **Temas de Saúde: Pesticidas.** Disponível em: <http://www.who.int/topics/pesticides/en/>. Data de acesso: 20 de out 2016.