

ESCOLA POLITÉCNICA
BACHARELADO EM QUÍMICA – L.F QUÍMICA INDUSTRIAL

ANA PAULA ACUÑA NUNES

**AGROTÓXICOS ORGANOFOSFORADOS EM ALIMENTOS VEGETAIS *IN*
*NATURA***

Porto Alegre
2021

GRADUAÇÃO



Pontifícia Universidade Católica
do Rio Grande do Sul

Ana Paula Acuña Nunes

Agrotóxicos Organofosforados em Alimentos Vegetais *in natura*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para a obtenção do grau de Bacharel em Química Industrial pela Escola Politécnica da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Prof.^a Dra. Rosane Angélica Ligabue

Coorientadora: Prof.^a Dra. Jeane Estela Ayres de Lima

Porto Alegre

2021

ANA PAULA ACUÑA NUNES

Agrotóxicos Organofosforados em Alimentos Vegetais *in natura*

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito para a
obtenção do grau de Bacharel em Química
Industrial pela Escola Politécnica da
Pontifícia Universidade Católica do Rio
Grande do Sul.

Aprovado em: _____ de _____ de _____.

Banca Examinadora:

Porto Alegre

2021

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais que sempre me apoiaram e incentivaram a realização deste sonho.

Aos colegas e amigos que caminharam juntos comigo durante todo este período.

A todos os professores pela disponibilidade e conhecimento compartilhado durante os meus estudos.

E a todos que direta ou indiretamente ajudaram a tornar possível a realização deste trabalho.

RESUMO

O Brasil é um dos principais produtores e fornecedores mundiais de alimentos. No entanto, a grande produção de frutas e vegetais é fortemente relacionada ao uso excessivo de agrotóxicos, sendo um dos maiores consumidores mundiais de agrotóxicos. O crescente uso tem gerado problemas devido a contaminação de alimentos. Dentre as principais classes de agrotóxicos, se destacam os organofosforados (OPs) pela sua ampla utilização na agricultura e agropecuária, sendo efetivos e econômicos para diversos cultivos. Os OPs são amplamente usados como inseticidas, onde inibem irreversivelmente a enzima acetilcolinesterase (AChE) no sistema nervoso de insetos levando a paralisia e morte. Este trabalho objetivou relacionar a contaminação de alimentos vegetais *in natura* por organofosforados através de revisão de publicações dos últimos 20 anos. Para detectar os resíduos de OPs em alimentos o método *QuEChERS* associado à cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa ou à cromatografia líquida-espectrometria de massa tandem foi o mais difundido e aceito. O Limite Máximo de Resíduos (LMR) tem sido usado como parâmetro para avaliação da contaminação de alimentos. LMRs do Brasil, Estados Unidos e União Europeia em amostras de maçã, morango, pimentão e tomate foram comparados, sendo evidente a disparidade de valores nas três regiões, com maior aceitação da presença de OPs ora no Brasil ora nos Estados Unidos. Dentre os alimentos estudados, pimentão e morango mostraram maior inconformidade, especialmente para acefato, clorpirifós, dimetoato, metamidofós e ometoato. Organofosforados podem ser hepato, neuro, nefro e genotóxicos, carcinogênicos e alterar a fertilidade e o metabolismo, principalmente em quem está exposto na agricultura. Alguns estudos sugerem danos à saúde pelo contato de pequenas doses em longo prazo, mas apesar disso vários OPs foram reclassificados no Brasil como agentes de menor toxicidade.

Palavras-chave: Agrotóxicos; Organofosforados; LMR; Alimentos

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Consumo de agrotóxicos e afins no Brasil (2000 - 2019).....	15
Figura 2 – Estrutura química de alguns OFs empregados no Brasil.....	19
Figura 3 – Estrutura química geral dos OPs.....	19
Figura 4 – Reação de hidrólise da acetilcolina.....	22
Figura 5 – Classificação toxicológica dos OPs usados no Brasil.....	39
Figura 6 – Regularidade das Detecções das culturas estudadas.....	40

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Grupos, subgrupos e exemplos de agrotóxicos utilizados mundialmente.....	16
Quadro 2 – Classificação dos tipos de OPs.....	20
Quadro 3 – Etapas das principais versões do método <i>QuEChERS</i>	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação toxicológica dos agrotóxicos.....	18
Tabela 2 – Valores de Ingestão Diária Aceitável e Dose de Referência Aguda para OPs.....	24
Tabela 3 – Resíduos encontrados em maçãs (mg.kg^{-1}) e o LMR (mg.kg^{-1}).....	32
Tabela 4 – Resíduos encontrados em morangos (mg.kg^{-1}) e o LMR (mg.kg^{-1}).....	34
Tabela 5 – Resíduos encontrados em pimentões (mg.kg^{-1}) e o LMR (mg.kg^{-1}).....	35
Tabela 6 – Resíduos encontrados em tomates (mg.kg^{-1}) e o LMR (mg.kg^{-1}).....	36
Tabela 7 – Valores de Ingestão Diária Aceitável Internacional.....	41

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

ACh - Acetilcolina

AChE - Acetilcolinesterase

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC - Método Oficial da Associação de Químicos Agrícolas Oficiais
(*Association of Official Agricultural Chemists Official Method*)

C18 - Sílica-Octadecil

DL50 - Dose Letal Mínima para 50% dos indivíduos

DRfA - Dose de Referência Aguda

D-SPE - Extração em Fase Sólida Dispersiva (*Dispersive Solid Phase Extraction*)

ECD - Captura de Elétrons (*Electron Capture Detector*)

EFSA - Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (*European Food Safety Authority*)

EI - Ionização de Elétrons (*Electron Ionization*)

ESI - Ionização por Eletropulverização (*Electrospray Ionization*)

FAO - Organização para Alimentos e Agricultura (*Food and Agriculture Organization*)

FPD - Detector Fotométrico de Chama (*Flame Photometric Detector*)

FTD - Detector Termiônico de Chama (*Flame Thermionic Detector*)

GCB - Negro de Fumo Grafitado (*Graphitised Carbon Black*)

GC/MS - Cromatografia Gasosa - Espectrometria de Massa (*Gas Chromatography–Mass Spectrometry*)

GC-MS / MS - Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massa Tandem (*Gas Chromatography– Tandem Mass Spectrometry*)

GPC - Cromatografia de Permeação em Gel (*Gel Permeation Chromatography*)

HPLC - Cromatografia Líquida de Alto Desempenho (*High Performance Liquid Chromatography*)

I. A. - Ingrediente Ativo

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

IDA - Índice de Ingestão Diária Aceitável

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

ITD - Detector Captura de Íons (*Ion Trap Detector*)

LC-MS - Cromatografia Líquida-Espectrometria de Massa (*Liquid Chromatography–Mass Spectrometry*),

LC-MS/MS - Cromatografia Líquida-Espectrometria de Massa Tandem (*Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry*)

LMRs - Limite Máximo de Resíduos

LOD - Limite de Detecção (*Limit of Detection*)

LOQ - Limite de Quantificação (*Limit of Quantification*)

LP-GC/MS - Cromatografia Gasosa de Baixa Pressão – Espectrometria de Massa (*Low-Pressure Gas Chromatography–Mass Spectrometry*)

MAE - Extração Assistida por Micro-ondas (*Microwave Assisted Extraction*)

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MSPD - Dispersão da Matriz em Fase Sólida (*Matrix Solid Phase Dispersion*)

NPD - Detector de Nitrogênio-Fósforo (*Nitrogen Phosphorus Detector*)

OMS - Organização Mundial da Saúde

OPs - Organofosforados (*Organophosphates*)

PARA - Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxico

PDP - Programa de dados de pesticidas (*Pesticide Data Program*)

PLE - Extração de Líquido Pressurizado (*Pressurized Liquid Extraction*)

PNCRC/VEGETAL - Plano de Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes de Origem Vegetal

PSA - Amina Primária Secundária (*Primary Secondary Amine*)

QuEChERS - Rápido, Fácil, Barato, Eficiente, Robusto e Seguro (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe*)

SFE - Extração de Fluido Supercrítico (*Supercritical Fluid Extraction*)

SPE - Extração em Fase Sólida (*Solid Phase Extraction*)

SPME - Microextração em Fase Sólida (*Solid Phase Microextraction*)

RSD - Desvio Padrão Relativo (*Relative Standard Deviation*)

UA-MSPD - Dispersão de Fase Sólida de Matriz Assistida por Ultrassom (*Ultrasound-Assisted Matrix Solid-Phase Dispersion*)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	OBJETIVOS.....	14
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
3.1	Agrotóxicos no Brasil.....	15
3.2	Classificação toxicológica.....	17
3.3	Agrotóxicos Organofosforados.....	18
3.3.1	Classificação Organofosforados.....	19
3.3.2	Ação dos Organofosforados.....	22
3.4	Limites Legais.....	22
3.5	Métodos de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos.....	25
3.5.1	Técnicas de preparo de amostra.....	25
3.5.2	Técnicas de análise.....	28
3.5.2.1	Cromatografia Gasosa (GC).....	30
3.5.2.2	Cromatografia Líquida (LC).....	31
3.6	Contaminação de Alimentos.....	32
3.6.1	Maçã.....	32
3.6.2	Morango.....	33
3.6.3	Pimentão.....	34
3.6.4	Tomate.....	35
3.7	Impactos à saúde.....	37
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	39
5	REFERÊNCIAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

A crescente demanda por alimentos, com o grande crescimento populacional no mundo, impulsionou diversos avanços na pesquisa e desenvolvimento de tecnologias de produção agrícola (KARAM et al., 2015). Depois da Segunda Guerra Mundial, houve grande salto tecnológico nas atividades agrícolas, como o desenvolvimento de sementes variadas com alto rendimento e a utilização de insumos químicos como fertilizantes e agrotóxicos (GERAGE, 2016). Visando um maior rendimento e menores prejuízos na safra, o uso de agrotóxicos acaba sendo parte fundamental do modelo agrícola dos dias de hoje (CHOWDHURY et al., 2013; FERNANDES, 2018).

Os agrotóxicos são usados antes e depois da colheita, antes para proteger as safras de doenças de plantas, pragas de insetos e ervas daninhas e depois para garantir seu alto rendimento (QUIJANO et al., 2016; RAI et al., 2016; ZHANG et al., 2018). Nas últimas décadas, foram registradas mundialmente mais de 100 classes de pesticidas com suas propriedades físicas e químicas distintas (HONG et al., 2016). Dentre as principais classes se encontram os organoclorados, usados com sucesso no controle de uma série de doenças, porém já proibidos ou restringidos em diversos países desde 1960, os organofosforados e carbamatos que são amplamente utilizados em todo mundo e os piretróides que tem um alto nível de eficácia e uma baixa toxicidade em comparação com outros inseticidas (AKTAR et al., 2009; JALALI et al., 2011; TANG et al., 2018). Dentre essas classes, se destacam os inseticidas organofosforados pela sua ampla utilização na agricultura e agropecuária, sendo efetivo e econômico para diversos cultivos (JUAN et al., 2003; PEREZ, et al., 2009)

Com terras extensas, férteis e clima favorável para a agricultura, o Brasil é um dos principais produtores e fornecedores mundiais de alimentos. No entanto, a grande produção de frutas e vegetais é fortemente relacionada ao uso excessivo de agrotóxicos. De acordo com dados do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), o consumo de agrotóxicos e afins cresceu em torno de 200.000 toneladas para em torno de 700.000 toneladas, entre os anos de 2000 e 2019, sendo o Brasil um dos maiores

consumidores de agrotóxicos do mundo (LORENZ et al., 2014; LEMOS et al., 2015; IBAMA, 2021).

Apesar dos benefícios do uso dos agrotóxicos, seu crescente uso tem gerado problemas devido a contaminação do solo, água e alimentos (PANG et al., 2006; CHOWDHURY et al., 2014) e, com a exposição prolongada a essas substâncias, existem muitos riscos associados à saúde humana (CARNEIRO et al., 2012). A contaminação pode ocorrer através da aplicação de agrotóxicos e com o consumo através de alimentos contendo resíduos de agrotóxicos. No ano de 2018, os agrotóxicos organofosforados acefato e clorpirifós foram os que tiveram maiores irregularidades em sua utilização, e em 4º lugar no *ranking* de detecções em alimentos, estavam os organofosforados (ANVISA, 2019). Estudos apontam que muitos deles atuam como desreguladores endócrinos, imunotóxicos ou cancerígenos e estão ligados a doenças degenerativas como Alzheimer e esclerose lateral amiotrófica (BLAIR et al., 2015; KALLIORA et al., 2018).

Em função das quantidades de agrotóxicos a que a população está exposta, através da alimentação, o controle de resíduos de agrotóxicos em alimentos é exigido por lei, em diversos países, visando garantir a segurança alimentar e saúde dos consumidores. Por este motivo são necessários métodos analíticos sensíveis e confiáveis para a determinação de resíduos, controlando assim a quantidade de resíduos contida nos alimentos para que estejam dentro dos limites legais (GONZÁLEZ-CURBELO et al., 2015; STACHNIUK e FORNAL, 2016).

2 OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo principal avaliar, através de revisão bibliográfica, a presença de agrotóxicos organofosforados em alimentos vegetais *in natura* nos últimos 20 anos.

2.1 Objetivos específicos

- Apresentar os principais agrotóxicos organofosforados;
- Comparar os limites legais de agrotóxicos no Brasil com outros países;
- Apresentar os principais métodos analíticos para determinação de agrotóxicos organofosforados em alimentos;
- Identificar os principais alimentos vegetais que contém resíduos de agrotóxicos organofosforados;
- Relacionar os riscos à saúde humana.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Agrotóxicos no Brasil

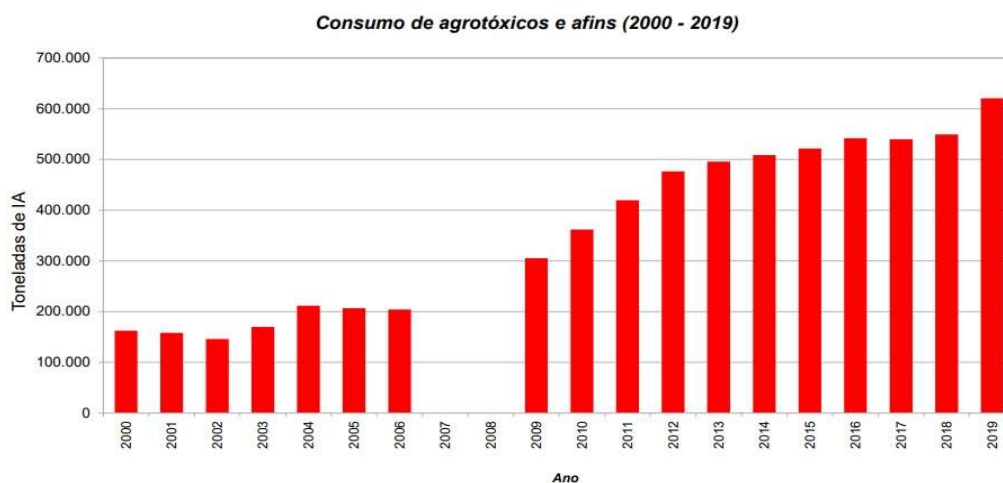
Segundo a legislação brasileira o termo agrotóxico significa:

“Produtos e 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 plantadas, e de outros ecossistemas e 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, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento” (BRASIL, 2002).

A utilização dos agrotóxicos no Brasil cresceu substancialmente a partir de 1990, comparado com outros países do Mercosul. Ao longo desses anos ocorreram mudanças na dimensão da produção agrícola e expansão das áreas cultivadas, sendo este o principal motivo desse crescimento (MORAES, 2019).

O crescimento no consumo em toneladas dos agrotóxicos está expresso no gráfico da Figura 1, no qual pode ser observado um expressivo aumento desde o ano 2000 (IBAMA, 2001).

Figura 1. Consumo de agrotóxicos e afins no Brasil (2000 - 2019).



Fonte: IBAMA, 2021

Os agrotóxicos podem ser classificados, de acordo com a praga a que se aplicam, como: inseticidas, para o controle de insetos em geral; larvicidas, contra larvas de insetos; formicidas, contra formigas; acaricidas, no combate ácaros; carrapaticidas, contra carrapatos de animais; nematicidas, no combate a

nematóides parasitas de plantas, que formam nódulos nas raízes; moluscocidas, para combate a moluscos; rodenticidas – raticidas, contra roedores em geral; fungicidas, contra fungos; herbicidas, contra ervas daninhas e outros vegetais indesejáveis; desfoliantes no combate às folhas e fumigantes, no combate às bactérias do solo (ALMEIDA et al., 1985; PERES et al., 2003).

Em consideração a grande variedade de agrotóxicos existentes, o Quadro 1 apresenta os principais tipos utilizados no mundo, seus grupos químicos e alguns exemplos.

Quadro 1. Grupos, subgrupos e exemplos de agrotóxicos utilizados mundialmente.

Grupos	Subgrupos	Exemplos
Inseticidas	Inorgânicos	Fosfato de alumínio
	Extratos vegetais	Óleos vegetais
	Organoclorados	Aldrin, DDT, BHC
	Organofosforados	Paration, Malation
	Carbamatos	Carbofuran, Aldicarb
	Piretróides sintéticos	Deltametrina, Permetrina
Fungicidas	Inorgânicos	Calda Bordalesa, enxofre
	Ditiocarbamatos	Mancozeb, Tiram, Metiram
	Dinitrofenóis	Binapacril
	Organomercuriais	Acetato de fenilmercúrio
	Antibióticos	Estreptomicina
	Trifenil estânico	Duter, Brestam
	Compostos Formilamina	Triforina, Cloraniformetam
Herbicidas	Inorgânicos	Arsenito de sódio
	Dinitrofenóis	Bromofenoxim, Dinoseb
	Fenoxiacéticos	CMPP, 2,4-D, 2,4,5-T
	Carbamatos	Profam, Cloroprofam
	Dipiridilos	Diquat, Paraquat
	Dinitroanilinas	Nitralin, Profluralin
	Benzonitrilas	Bromoxinil, Diclobenil
	Glifosato	Round-up
Desfoliantes	Dipiridilos	Diquat, Paraquat
	Dinitrofenóis	Dinoseb, DNOC

Fumigantes	Hidrocarbonetos halogenados Geradores de Metilisocianato -	Brometo de metila Dazomet, Metam Formaldeídos
Rodenticidas/ Raticidas	Hidroxicumarinas Indationas	Cumatetralil, Difenacum Fenil-metil-pirozolona
Moluscocidas	Inorgânicos (aquáticos) Carbamatos (terrestres)	Sulfato de cobre Aminocarb, Metiocarb
Nematicidas	Hidrocarbonetos halogenados Organofosforados	Dicloropropeno, DD Diclofention, Fensulfotion
Acaricidas	Organoclorados Dinitrofenóis	Dicofol, Tetradifon Dinocap, Quinometionato

Fonte: PERES et al., 2003.

3.2 Classificação toxicológica

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) classifica os agrotóxicos conforme sua toxicidade do ponto de vista dos seus efeitos agudos. Para o Ministério da Saúde, os produtos são classificados em base na DL₅₀, denominada dose letal em ratos, ministrada na forma oral ou dérmica das formulações líquidas e sólidas. Para a Organização Mundial da Saúde (OMS), a classificação toxicológica do agrotóxico também é baseada na dose letal mínima (DL₅₀) em ratos. DL₅₀ é uma forma de medir o potencial de envenenamento de curto prazo, onde a quantidade de uma substância química quando administrada em uma única dose oral ou dérmica, por mg/kg de peso, das formulações líquidas e sólidas, produz a morte de 50% dos animais expostos dentro de 24 horas (CAN, 2014; KARAM et al., 2015; CETESB, 2021). A classificação segue a ordem a seguir (BRASIL, 2019a):

- I- Categoria 1 – Produto Extremamente Tóxico – faixa vermelha;
- II- Categoria 2 – Produto Altamente Tóxico – faixa vermelha;
- III- Categoria 3 – Produto Moderadamente Tóxico – faixa amarela;
- IV- Categoria 4 – Produto Pouco Tóxico – faixa azul;

V- Categoria 5 – Produto Improvável de Causar Dano Agudo – faixa azul;

VI- Não Classificado – Produto Não Classificado - faixa verde.

Sendo assim, a classificação dos produtos conforme a DL50 é mostrada na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação toxicológica dos agrotóxicos.

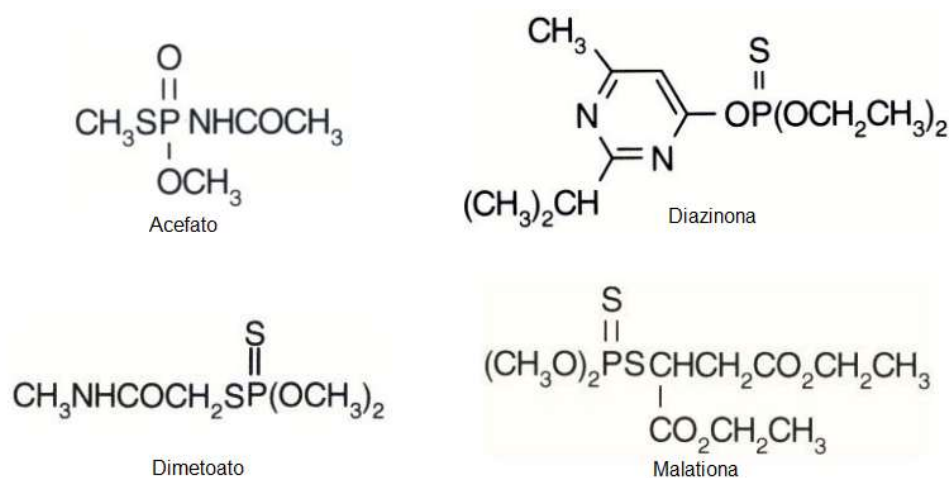
Categoria		Via de exposição Oral (mg/kg p.c.)	Via de exposição Dérmica (mg/kg p.c.)
Categoria 1	Extremamente Tóxico	≤ 5	≤ 50
Categoria 2	Altamente tóxico	>5 - 50	>50 - 200
Categoria 3	Mediamente tóxico	>50 – 300	>200 - 1000 >1000 -
Categoria 4	Pouco tóxico	>300- 2000	2000 >2000 -
Categoria 5	Improvável de Causar Dano Agudo	>2000 - 5000	5000
Não Classificado	Não Classificado	> 5000	> 5000

Fonte: BRASIL, 2019a. p.c.= peso corporal.

3.3 Agrotóxicos Organofosforados

Os organofosforados (*Organophosphates*, OPs) constituem uma grande classe de produtos químicos, usados principalmente no controle de pragas. São geralmente os mais tóxicos de todos os pesticidas para os vertebrados, mas devido à sua natureza menos persistente, são usados como uma alternativa aos organoclorados, que persistem no meio ambiente. O uso de cada de tipo OPs depende do seu custo, da regulamentação de cada país e do clima de cada região. Em muitos países, alguns OPs mais tóxicos, como o paration, foram proibidos há décadas. No geral, os pesticidas OPs são responsáveis por cerca de 38% de todos os pesticidas empregados no mundo (CAN, 2014; KUMAR et al., 2016; LEMOS et al., 2015; CASTRO et al., 2017). Na figura 2 é possível observar as estruturas químicas de alguns OPs usados no Brasil.

Figura 2. Estrutura química de alguns OPs empregados no Brasil.

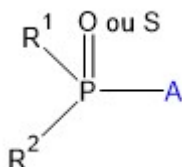


Fonte: ANVISA, 2021

3.3.1 Classificação Organofosforados

O termo organofosforado é usado como um termo genérico para incluir todos os compostos orgânicos que contêm fósforo (figura 3). Eles são compostos originados a partir da reação de álcoois com ácido fosfórico e contêm elementos como oxigênio, carbono, enxofre ou nitrogênio. Devido à grande variedade de combinações químicas possíveis, atualmente existem centenas de OPs em uso (GUPTA, 2006; CAN, 2014; GEORGIADIS et al., 2018; FROTA e VASCONCELOS, 2019).

Figura 3. Estrutura química geral dos OPs.



Fonte: SOGORB e VILANOVA, 2002

Normalmente, R¹ e R² são grupos arila ou alquila que estão ligados ao átomo de fósforo de uma forma direta (formando fosfinatos) ou através de um átomo de oxigênio ou enxofre (formando fosfatos ou fosfotioatos). Em outros casos, R¹ está diretamente ligado ao átomo de fósforo e R² está ligado a um átomo de oxigênio ou enxofre (formando fosfonatos ou tiofosfonatos). Nos fosforamidatos, pelo menos um é um grupo amino podendo ser mono- ou bi-substituído. O átomo com ligação dupla ao fósforo é o oxigênio ou o enxofre. E o grupo A pode pertencer a uma ampla gama de grupos halogênio, alifáticos, aromáticos ou heterocíclicos. Ele também pode se ligar ao átomo de fósforo através de um átomo de oxigênio ou enxofre sendo chamado de grupo de saída, uma vez que é liberado do átomo de fósforo quando o organofosforado é hidrolisado por fosfotriesterases. (SOGORB e VILANOVA, 2002).

A complexa classificação de OPs é devida às diferentes cadeias laterais ligadas ao átomo de fósforo e à posição em que essas cadeias laterais estão ligadas. Existem pelo menos 13 tipos de OPs que são apresentados na Quadro 2 (MARRS, 1993; GUPTA, 2006).

Quadro 2. Classificação dos tipos de OPs.

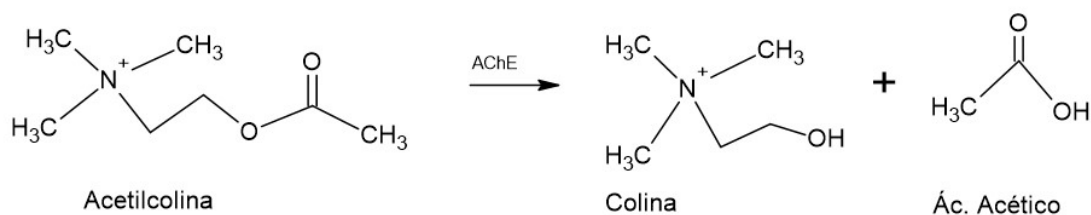
Tipo de OFs	Estrutura Química	Exemplos
Fosfatos	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{RO}-\text{P}-\text{OR} \\ \\ \text{OR} \end{array}$	Clorfenvinfos Diclorvos
Fosfonatos	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{RO}-\text{P}-\text{R} \\ \\ \text{OR} \end{array}$	Triclorfon
Fosfinatos	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}-\text{P}-\text{R} \\ \\ \text{OR} \end{array}$	Glufosinato
Fosfotioatos (S =)	$\begin{array}{c} \text{S} \\ \\ \text{RO}-\text{P}-\text{OR} \\ \\ \text{OR} \end{array}$	Diazinon Fentião Paratião

Fosfonotioatos (S =)	$\begin{array}{c} \text{S} \\ \\ \text{RO}-\text{P}-\text{R} \\ \\ \text{OR} \end{array}$	Leptofós
Fosforotioatos (S- substituídos)	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{RS}-\text{P}-\text{OR} \\ \\ \text{OR} \end{array}$	Demeton-S-metil
Fosfonotioatos (S- substituídos)	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{RS}-\text{P}-\text{R} \\ \\ \text{OR} \end{array}$	VX
Fosforoditioatos	$\begin{array}{c} \text{S} \\ \\ \text{RS}-\text{P}-\text{OR} \\ \\ \text{OR} \end{array} \quad \text{or} \quad \begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{RS}-\text{P}-\text{SR} \\ \\ \text{OR} \end{array}$	Dimetoato Malathion
Fosforotritioatos	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{RS}-\text{P}-\text{SR} \\ \\ \text{SR} \end{array}$	Tribufos
Fosforamidatos	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{RO}-\text{P}-\text{N} \\ \quad \diagup \quad \diagdown \\ \text{RO} \quad \text{R} \quad \text{R} \end{array}$	Fenamifos
Fosforamidotioatos	$\begin{array}{c} \text{S} \\ \\ \text{RO}-\text{P}-\text{N} \\ \quad \diagup \quad \diagdown \\ \text{OR} \quad \text{R} \quad \text{R} \end{array} \quad \text{or} \quad \begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{RS}-\text{P}-\text{N} \\ \quad \diagup \quad \diagdown \\ \text{OR} \quad \text{R} \quad \text{R} \end{array}$	Metamidofós
Fosforofluoridatos	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{RO}-\text{P}-\text{F} \\ \\ \text{OR} \end{array}$	Fosforofluoridato de diisopropil
Fosfonofluoridatos	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{RO}-\text{P}-\text{F} \\ \\ \text{R} \end{array}$	Ciclosarina

3.3.2 Ação dos Organofosforados

Amplamente usados como inseticidas, eles inibem irreversivelmente a enzima acetilcolinesterase (AChE) nos sistemas nervosos de vertebrados e de invertebrados. O principal sítio de ação dos OPs é o sistema nervoso na junção neuromuscular, interagindo com a AChE, cuja função é catalisar a hidrólise da acetilcolina (ACh) em ácido acético e colina (figura 4) interrompendo a transmissão dos impulsos nervosos nas sinapses dos neurônios colinérgicos dos sistemas nervosos central e periférico. A AChE é uma enzima regulatória responsável pela transmissão dos impulsos nervosos presente nos mamíferos e insetos, sendo que sua inibição, leva a paralisia e morte dos insetos (SANTOS et al., 2007; GIACOPPO et al., 2014; LEMOS et al., 2015; GEORGIADIS et al., 2018).

Figura. 4 Reação de hidrólise da acetilcolina.



Fonte: SANTOS et al., 2007.

3.4 Limites Legais

No Brasil existem dois programas de monitoramento do uso de agrotóxicos, o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Vegetal (PNCRC/Vegetal), coordenado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), e o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), coordenado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (MAPA, 2021; ANVISA, 2021).

O PNCRC/Vegetal tem como objetivo monitorar a qualidade dos produtos de origem vegetal produzidos em todo o território nacional, em relação à ocorrência de resíduos de agrotóxicos e contaminantes químicos e biológicos. São monitorados produtos de origem vegetal destinados ao mercado interno e à exportação (MAPA, 2021).

O PARA tem como objetivo avaliar os resíduos em alimentos de origem vegetal, detectando eventuais irregularidades e riscos à saúde devido a exposição pelo consumo dos vegetais. A avaliação consiste em analisar o risco dietético, resultante da ingestão de alimentos que contenham resíduos de agrotóxicos. Os parâmetros estabelecidos são a Dose de Referência Aguda (DRfA), a Ingestão Diária Aceitável (IDA) e o Limite Máximo de Resíduos (LMR) descritas a seguir (ANVISA, 2021).

- Ingestão Diária Aceitável (IDA) é um dos parâmetros utilizados o qual é definido pela quantidade máxima de agrotóxico que pode ser ingerido por dia, durante toda a vida, e que não cause prejuízos a saúde. Essa quantidade de ingestão diária permitida é calculada para cada agrotóxico, medida em miligramas de agrotóxico por quilo de peso corpóreo da pessoa que o ingere (mg/kg) (ANVISA, 2021).
- Dose de Referência Aguda (DRfA) é o parâmetro de segurança toxicológico agudo, no qual a quantidade estimada do resíduo de agrotóxico que se encontra nos alimentos pode ser ingerida durante um período de 24 horas, sem causar algum efeito adverso à saúde. A DRfA é expressa em miligrama de resíduo por quilograma de peso corpóreo (mg/kg p.c.). Sendo a DRfA é somente para ingredientes ativos que tenham potencial de toxicidade aguda (ANVISA, 2021).
- Limite Máximo de Resíduos (LMR) é a quantidade máxima de resíduos de agrotóxicos ou afins permitida no alimento resultante da aplicação em uma cultura agrícola, expresso em miligramas do agrotóxico por quilo do alimento (mg/Kg). Com fim de estabelecer limites de níveis seguros para os consumos dos alimentos, os valores do LMR são definidos por meio de estudos de resíduos que partem da utilização de quantidades mínimas de agrotóxicos com o intuito de atender a eficiência agrícola necessária. (ANVISA, 2021).

Para todo este controle a Anvisa utiliza como referência os controles utilizados no Estados Unidos e na União Europeia. Nos Estados Unidos, existe o *Pesticide Data Program (PDP)*, no qual é um programa nacional que monitora resíduos de pesticidas e produz o banco de dados de resíduos de pesticidas. Na União Europeia o *European Food Safety Authority (EFSA)* que cuida do monitoramento dos resíduos de agrotóxicos em alimentos (ANVISA, 2021; USDA, 2021; EFSA, 2021).

As quantidades de IDA são encontradas para quase todos os OPs utilizados no Brasil (Tabela 2), já as de DRfA são encontradas em poucos, indicando que a maioria dos OPs não tenha potencial de toxicidade aguda.

Tabela 2. Valores de Ingestão Diária Aceitável e Dose de Referência Aguda para OPs.

I.A.	IDA	DRfA.	CLASSE AGRONÔMICA
Acefato	0,0012	-	INSETICIDA E ACARICIDA
Azametifós	-	-	INSETICIDA
Cadusafós	0,0003	-	INSETICIDA E NEMATICIDA INSETICIDA, FORMICIDA E
Clorpirifós	0,01	0,1	ACARICIDA
Diazinona	0,002	-	INSETICIDA E ACARICIDA
Diclorvós	-	-	INSETICIDA
Dimetoato	0,002	-	INSETICIDA E ACARICIDA
Etoprofós	0,0004	-	NEMATICIDA E INSETICIDA
Fenamifós	0,0008	-	NEMATICIDA
Fenitrothiona	0,005	-	INSETICIDA E FORMICIDA
Fosmete	0,005	-	INSETICIDA E FORMICIDA
Fostiazato	-	-	INSETICIDA E NEMATICIDA
Foxim	-	-	INSETICIDA
Glifosato	0,5	-	HERBICIDA
Malationa	0,3	-	INSETICIDA E ACARICIDA
Metidationa	0,001	-	INSETICIDA E ACARICIDA
Pirimifós-			
metílico	0,03	-	INSETICIDA E ACARICIDA
Profenofós	0,01	1	INSETICIDA E ACARICIDA
Tebupirinfós	0,0002	-	INSETICIDA

Temefós	-	-	INSETICIDA, LARVICIDA
Terbufós	0,0002	-	INSETICIDA E NEMATICIDA INSETICIDA, ACARICIDA E
Triazofós	0,001	-	NEMATICIDA

Fonte: ANVISA, 2021. I. A.= Ingrediente Ativo; IDA (mg/kg p.c); DRfA (mg/kg p.c).

O LMR se refere a concentração máxima de um resíduo de pesticida permitido em um alimento. Para que essa determinação ocorra é importante que os resíduos encontrados estejam dentro do Limite de Detecção (*Limit of Detection* – LOD) e do Limite de Quantificação (*Limit of Quantification* – LOQ). O LOD revela a menor concentração da substância estudada que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, já o LOQ, por outro lado, é a menor concentração pela qual o analito pode ser medido com um certo nível de confiança (LEMOS et al., 2015; ANVISA, 2019).

3.5 Métodos de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos

3.5.1 Técnicas de preparo de amostra

O primeiro método foi desenvolvido por Mills para a análise de múltiplos resíduos por volta de 1960, onde o principal foco era analisar os inseticidas organoclorados em alimentos não gordurosos. Sua extração era feita com acetonitrila e logo após a etapa de partição era feita com éter de petróleo, um solvente não polar, consequentemente pesticidas polares como organofosforados eram perdidos no processo (MILLS, 1963 *apud* ANASTASSIADES *et al.*, 2003). Um dos principais limitantes na obtenção de métodos de análise de resíduos está na extração a partir da amostra, bem como na sensibilidade da metodologia de detecção. Nesse sentido, outros métodos foram estudados visando aprimorar esses aspectos.

Na década de 1970, novos métodos foram criados, visando cobrir uma faixa maior de polaridade para extração. Esses métodos se diferenciavam do inicial pois era usada acetona, em vez de acetonitrila para a extração, porém ainda usavam solventes apolares para remover a água em uma etapa de

partição líquido-líquido. No método de Luke, o cloreto de sódio foi adicionado para saturar a fase aquosa durante a etapa de partição, cuja quantidade teve efeito direto na faixa de polaridade coberta pelos métodos (LUKE,1975; apud ANASTASSIADES et al., 2003; PRESTES et al, 2011). Posteriormente, outro método utilizou acetato de etila para extração, logo após uma adição de sulfato de sódio anidro, e a purificação da amostra por cromatografia de permeação em gel (*Gel Permeation Chromatography*, GPC) (KRIJGSMAN, 1976 apud DIÉZ et al., 2006).

Na década de 1990, ocorreu um grande desenvolvimento, com vários novos métodos de extração visando diminuir o volume de solventes utilizados. Entres estes métodos, se destacaram a Extração em Fase Sólida (*Solid Phase Extraction*, SPE), empregada na etapa de purificação do extrato para amostras de alimentos; a Extração de Fluido Supercrítico (*Supercritical Fluid Extraction*, SFE) e a Extração de Líquido Pressurizado (*Pressurized Liquid Extraction*, PLE), que são técnicas dependentes de instrumentos, que consomem muito tempo com suas etapas e tem manutenção cara. Ainda, a Dispersão da Matriz em Fase Sólida (*Matrix Solid Phase Dispersion*, MSPD), e a Microextração em Fase Sólida (*Solid Phase Microextraction*, SPME), que juntamente com a Extração por Fluido Supercrítico (SFE), não fornecem grande escopo de analitos dentro de um único processo. Finalmente, a Extração Assistida por Micro-ondas (*Microwave Assisted Extraction*, MAE) e o PLE não fornecem seletividade suficiente, apresentam uma boa eficiência, mas requerem um grande investimento. Esses são métodos úteis para várias aplicações, mas não são muito simples e eficazes para a detecção de múltiplos resíduos (ANASTASSIADES et al., 2003; PRESTES et al., 2011; WILKOWSKA e BIZIUK, 2011).

O método *QuEChERS* (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*), desenvolvido em 2003, caracteriza-se como sendo rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro. Esta metodologia analítica original combina a extração de pesticidas de matrizes de alimentos e purificação de extrato, o que permite a extração de compostos alvo de uma amostra homogeneizada em menos de 30 minutos (WILKOWSKA e BIZIUK, 2011; KIM et al., 2019).

Neste método original (Quadro 3a) a extração ocorre com algum solvente comum como acetonitrila, acetona, acetato de etila, metanol, que fornecem altas recuperações, sendo geralmente a acetonitrila mais utilizada. Essa etapa é seguida pela partição com adição de sais e centrifugação, onde no *QuEChERS* original se utiliza o sulfato de magnésio e cloreto de sódio. Após a centrifugação, que proporciona uma separação física perfeita das fases, a limpeza e a secagem residual são realizadas simultaneamente utilizando um método proposto junto ao *QuEChERS*, chamado de Extração em Fase Sólida Dispersiva (*Dispersive Solid Phase Extraction, D-SPE*), onde a amostra é adicionada a um frasco contendo um sorvente como uma amina primária secundária (*primary secondary amine, PSA*) e um sal como $MgSO_4$ anidro, então a mistura é agitada em um Vortex, onde se distribui uniformemente, e separada por centrifugação ou filtragem, sendo que uma alíquota do extrato final é retirada para análise (ANASTASSIADES et al., 2003; DIÉZ et al., 2006; GONZÁLEZ-CURBELO et al., 2015; KIM et al., 2019).

Modificações do *QuEChERS* foram desenvolvidas para tornar o desempenho do método ainda melhor para alguns analitos. Devido a certos compostos que apresentam problemas de estabilidade e/ou recuperação de acordo com o pH da matriz, a adição de uma etapa de tamponamento foi a primeira modificação proposta, com o objetivo de melhorar os percentuais de recuperação. O método “*QuEChERS* acetato” (Quadro 3b), no qual o efeito tamponante (pH = 4,8) é promovido pela adição de acetato de sódio e o método “*QuEChERS* citrato” (Quadro 3c), este utiliza uma mistura de citrato de sódio di-hidratado e hidrogenocitrato sesqui-hidratado como responsáveis pelo efeito tamponante (PRESTES et al., 2011; GONZÁLEZ-CURBELO et al., 2015).

Quadro 3. Etapas das principais versões do método *QuEChERS*

	<i>QuEChERS</i> Original (a)	<i>QuEChERS</i> Acetato (b)	<i>QuEChERS</i> Citrato (c)
Extração	10 g Amostra + 10 mL Acetonitrila	10 g Amostra + 10 mL Acetonitrila	10 g Amostra + 10 mL Acetonitrila

Partição	4 g MgSO ₄ + 1 g NaCl	6 g MgSO ₄ + 1,5 g Acetato de Sódio	4 g MgSO ₄ + 1 g NaCl + 1 g Citrato de Sódio Diidratado + 0,5 g Hidrogenocitrato Sesquihidratado
Limpeza	1 mL sobrenadante + 150 mg MgSO ₄ + 25 mg PSA	1 mL sobrenadante + 150 mg MgSO ₄ + 50 mg PSA	1 mL sobrenadante + 150 mg MgSO ₄ + 25 mg PSA

(PRESTES et al., 2011)

Outras modificações do *QuEChERS* foram a adição de C18 (sílica-octadecil) junto com o PSA na etapa d-SPE, o qual ajuda a melhorar a limpeza de algumas amostras, especialmente aquelas que contêm lipídios. Conseqüentemente, alguns métodos modificados usaram apenas C18 para remover gorduras, uma vez que o PSA não era necessário ou diminuiu as recuperações. O uso do negro de fumo grafitado (*graphitised carbon black*, GCB) também foi combinado com PSA para remover co-extrativos de clorofila de matrizes verdes, resultando em extratos menos coloridos, porém com a redução de 25% na recuperação de alguns pesticidas (LEHOTAY, 2007; LEHOTAY et al., 2010; GONZÁLEZ-CURBELO et al., 2015).

3.5.2 Técnicas de análise

O método oficial da AOAC (*Association of Official Agricultural Chemists Official Method 2007.01*) para análise de pesticidas utiliza o *QuEChERS* juntamente com a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (*Gas chromatography–mass spectrometry*, GC-MS) e cromatografia líquida-espectrometria de massa tandem (*liquid chromatography-tandem mass spectrometry*, LC-MS / MS), mas pode ser muito flexível e ser usado para LC e GC com outros detectores (LEHOTAY, 2007).

Nos últimos anos, as técnicas cromatografia gasosa (GC), cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS) e cromatografia gasosa-espectrometria de massa tandem (GC-MS / MS), tem sido frequentemente usada para análise de pesticidas multirresíduos em alimentos devido à sua alta sensibilidade e seletividade, capacidade de rastrear muitos pesticidas de várias classes químicas em matrizes muito complexas em uma única execução (SHARMA et al., 2010; STACHNIUK e FORNAL, 2016). A variedade de detectores sensíveis acoplados a GC, como captura de elétrons (*electron capture detector*, ECD), detector termiônico de chama (*Flame Thermionic Detector*, FTD), detector de nitrogênio-fósforo (*nitrogen phosphorus detector*, NPD), detector captura de íons (*ion trap detector*, ITD), detector fotométrico de chama (*flame photometric detector*, FPD) aprimorou os procedimentos de detecção e quantificação do monitoramento de resíduos de agrotóxicos em diferentes matrizes (SHARMA et al., 2010; HJORTH et al., 2011; LORENZ et al., 2014; REILER et al., 2015).

Embora o GC tenha sido empregado de forma satisfatória, também é possível a utilização de outros métodos de quantificação tradicionais, como cromatografia líquida de alto desempenho (*high performance liquid chromatography*, HPLC), cromatografia líquida-espectrometria de massa (*liquid chromatography–mass spectrometry*, LC-MS) e cromatografia gasosa de baixa pressão - espectrometria de massa (*low-pressure gas chromatography–mass spectrometry*, LP-GC / MS) (SHARMA et al., 2010).

A Anvisa no Brasil, utiliza em seus laboratórios credenciados os métodos de extração *QuEChERS* e um método Mini-Luke modificado. As metodologias analíticas adotadas pelos laboratórios, são reconhecidas internacionalmente e são validadas, a fim de garantir a confiabilidade dos resultados analíticos. As amostras são analisadas pelo método analítico de multirresíduos, onde é possível analisar simultaneamente diferentes componentes ativos de agrotóxicos em uma mesma amostra, ou metodologias específicas previamente validadas (ANVISA, 2019).

3.5.2.1 Cromatografia Gasosa (GC)

Diferentes estudos em todo o mundo adotaram diferentes procedimentos de extração para estimativa de OPs usando GC.

Em um estudo realizado por KUMARI e JOHN (2019) estimaram os resíduos do clorpirifós, etiona, malationa, parationa-metílica em frutas e vegetais (maçã, uvas, couve-flor, repolho, ervilhas, batata), através do método QuEChERS original, utilizando o GC-MS / MS. OS resíduos foram analisados usando CG-MS onde o hélio ultrapuro foi usado como gás de arraste e argônio como gás de colisão. O detector que foi usado para detectar resíduos de pesticidas foi o espectrômetro de massa triplo quádruplo (MS). O LOD variou entre 0,0011 e 0,012 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ e o LOQ entre 0,0012 e 0,035 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. As taxas de recuperação variaram de 94 a 99%, indicando a precisão e reprodutibilidade do método.

DOS SANTOS et al. (2019) desenvolveram um método utilizando a dispersão de fase sólida de matriz assistida por ultrassom (*ultrasound-assisted matrix solid-phase dispersion*, UA-MSPD), usando areia do mar como suporte sólido alternativo, para extrair 36 agrotóxicos, incluindo alguns OPs, de amostras de alface, cenoura, tomate, couve, morango e pimentão. A análise cromatográfica de 27 pesticidas foi realizada usando o GC-MS. A fonte foi a ionização de elétrons (EI). O gás hélio foi usado como gás de arraste. Os LOQ variaram de 0,005 a 0,5 mg.kg^{-1} . As recuperações ficaram entre 60 e 140% com um desvio padrão relativo (*relative standard deviation*, RSD) inferior a 20%. O método desenvolvido mostrou-se robusto e capaz de ser utilizado com diferentes grupos de matrizes alimentares.

Em um outro estudo, REILER et al. (2015) analisaram tomates para dois grandes grupos de inseticidas, os organoclorados e os organofosforados. Foi utilizado o método *QuEChERS*, com a diferença na etapa de purificação onde junto ao PSA e ao MgSO_4 foi adicionado o carvão ativado. A quantificação dos resíduos de pesticidas no extrato final foi realizada em cromatógrafo a gás com detector termiônico de chama (FTD) e hélio como gás de arraste. Todas as concentrações encontradas de OPs estavam acima de 1,00 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ na primeira análise, sendo que foram feitas análises no dia 3, 6 e 10 após colheita e todas

as concentrações de organofosforados diminuíram significativamente com o tempo.

3.5.2.2 Cromatografia Líquida (LC)

DOS SANTOS et al. (2019) desenvolveram o método UA-MSPD, usando areia do mar como suporte sólido alternativo, onde 9 dos 36 pesticidas determinados em amostras de alface, cenoura, tomate, couve, morango e pimentão, foram analisados pelo cromatógrafo líquido no modo gradiente de eluição. A fase móvel foi uma mistura de água ultrapura com ácido acético 0,1% e metanol. A composição inicial de metanol foi 8%, aumentou linearmente para 80% em 6 min, após 4 min voltou à composição inicial 8% com o tempo analítico total sendo 15 min. Para determinação por LC-MS / MS o modo de operação MS/MS foi conduzido usando argônio como gás de colisão. Para o acefato, o único OP analisado por LC, o LOQ variou de 0,005 a 0,05 mg.kg⁻¹. As taxas de recuperação foram de 74 a 108%. Como o RSD foi inferior a 20% o método foi considerado capaz de ser utilizado com diferentes grupos de alimentos.

Em outro estudo, HUANG et al. (2019) determinaram mais de 100 agrotóxicos em chá verde, incluindo OPs, usando o método *QuEChERS* modificado, onde na etapa de partição foi utilizado 4 g de MgSO₄ anidro e 1 g de CH₃COONa, e na limpeza junto ao PSA e ao MgSO₄ foram adicionados a sílica C18 e o GCB. Para análise foi usado HPLC-MS/MS, com acetonitrila e ácido fórmico 0,1% em água como fase móvel a uma taxa de fluxo de 0,3 mL.min⁻¹. Para a análise de espectrometria de massa em tandem (MS/MS) equipado com uma fonte de ionização por eletropulverização (*electrospray ionization*, ESI). Os resultados mostraram que os LODs e LOQs variaram de 0,03 a 15 µg.kg⁻¹ e 0,1 a 50 µg.kg⁻¹ respectivamente. As recuperações para todos os agrotóxicos estavam na faixa de 62-125%, indicando que o método pode atender aos requisitos de monitoramento diário para compostos alvo. Os valores de RSD estavam na faixa de 1,1–17,8% atendendo aos critérios de RSD ≤ 20%.

3.6 Contaminação de Alimentos

3.6.1 Maçã

Em 2005, no Brasil, foi realizado um estudo que envolvia detectar resíduos de agrotóxicos em maçãs, e no qual fez uma comparação entre os métodos de preparação de amostra, que concluiu que a extração com fluido supercrítico foi mais eficaz que a extração sólido-líquido. A técnica GC-ECD foi usada para quantificação, e a análise confirmatória foi realizado por GC/MS no monitoramento de íons selecionados. Os resíduos dos OPs analisados, clorpirifós, diazinona, diclorvós e dimetoato estão apresentados na tabela 6. (RISSATO et al., 2005).

Um projeto, em 2007 entre cinco países: Dinamarca, Estônia, Finlândia, Noruega e Suécia, teve seu objetivo reunir o máximo de informações possíveis sobre resíduos de pesticidas em lavouras importadas da América do Sul. Neste estudo foram utilizados diversos métodos de extração, sendo um destes o *QuEChERS* e para análise foram usados métodos múltiplos de GC com detecção de ECD, NPD, ITD, MS ou MS / MS e métodos múltiplos de HPLC com detecção de MS / MS. O Brasil foi o país com mais amostras contendo resíduos acima dos LMRs, entre elas, estava a maçã, que continha resíduos de dimetoato e fenitrotona (Tabela 3) (HJORTH et al., 2011).

Tabela 3. Resíduos encontrados em maçãs (mg.kg^{-1}) e o LMR (mg.kg^{-1}).

OPs				LMR		
	2005(a)	2007(b)	2010(c)	BR	USA	UE
Clorpirifós	1,25	-	0,15	1,00	0,10	0,01*
Dimetoato	0,91	0,04	0,04	2,00	NP	0,01*
Diazinona	0,53	-	-	0,50	0,50	0,01*
Diclorvós	0,10	-	0,05	NE	0,50	0,01*
Fenitrotona	-	0,02	0,05	0,50	NP	0,01*
Malationa	-	-	0,01	2,00	8,00	0,02
Metidationa	-	-	0,03	0,02	0,05	0,03

Parationa-metfílica	-	-	0,03	NP	NP	0,01*
---------------------	---	---	------	----	----	-------

Fonte: RISSATO et al., 2005(a); HJORTH et al., 2011(b); ANVISA, 2010 (c); ANVISA, 2021; USDA, 2021; EFSA, 2021. NP- não permitido; NE – não empregado; * - Indica limite inferior ao LOD.

Na tabela 3 é possível observar que o dimetoato teve uma diminuição nas quantidades de resíduo de 2005 a 2007 estabilizando-se dentro do LMR brasileiro, porém continua acima dos limites preconizados nos USA e UE. O diclorvós não é empregado para a cultura de maçãs, porém foi encontrado nos anos de 2005 e 2010. Houve uma grande redução ao longo dos anos do uso de clorpirifós e sua ocorrência em maçãs, o que também foi observado na Índia, porém com concentração menor ($0,003 \text{ mg Kg}^{-1}$) que a encontrada no Brasil (KUMARI e JOHN, 2019). Embora apenas a malationa seja aprovada na UE, todos tem uma quantidade de resíduos detectados dentro do LMR, onde a maioria indica o limite inferior ao LOD. Em comparação aos EUA apenas o clorpirifós foi encontrado em quantidades acima do LMR, sendo que dimetoato, fenitrotona e parationa-metfílica estariam irregulares pois não são permitidos. (USDA, 2021; EFSA, 2021).

3.6.2 Morango

No ano de 2010, no Brasil, o relatório do PARA analisou diversas culturas, onde um grande número de OPs foi encontrado, umas destas foi a do morango onde continha resíduos de acefato, clorpirifós, dimetoato, fosmete, metamidofós, metil parationa e profenofós (tabela 4) (ANVISA, 2010).

No relatório do PNCRC/Vegetal, foram encontradas irregularidades de resíduos de OPs. As análises utilizadas pelo PNCRC/Vegetal, são realizadas pelos laboratórios oficiais do MAPA, ou por laboratórios credenciados pelo Ministério, para os quais são exigidos de todos os seus integrantes a acreditação do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro) pela Norma ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005 (BRASIL, 2019c).

Em outro estudo mais recente também foram encontradas quantidades de clorpirifós e dimetoato (tabela 4). Nesse estudo foi utilizada a dispersão de fase

sólida de matriz assistida por ultrassom (UA-MSPD) com determinação por GC-MS e LC –MS / MS. (DOS SANTOS et al., 2019).

Tabela 4. Resíduos encontrados em morangos (mg.kg^{-1}) e o LMR (mg.kg^{-1}).

OPs				LMR		
	2010a	2015b	2017c	BR	EUA	UE
Acefato	0,09	-	-	NE	0,02	0,01*
Clorpirifós	0,02	0,55	0,02	NE	0,20	0,01*
Dimetoato	0,07	-	0,06	NE	NP	0,01*
Fosmete	0,08	-	-	NE	NP	0,05
Metamidofós	0,94	0,69	-	NP	0,02	0,01*
Parationa-metílica	0,02	-	-	NP	NP	0,01*
Profenofós	0,05	0,03	-	NE	NP	0,01*

Fonte: ANVISA, 2010 (a); BRASIL, 2019b (b); DOS SANTOS et al., 2019 (c); ANVISA, 2019; ANVISA, 2021; USDA, 2021; EFSA, 2021. NP- não permitido; NE – não empregado; * - Indica limite inferior ao LOD.

No Brasil para a cultura de morango só é permitida a malationa, entretanto em todos os estudos são encontrados vários outros OPs como o metamidofós proibido desde 2011, e parationa-metílica, proibida desde 2015. Visto que o metamidofós é o principal produto de degradação do acefato, a amostra pode ser considerada irregular se o somatório dos resíduos de acefato e metamidofós for superior ao LMR estabelecido para o acefato na cultura. Sendo assim é visível diversas irregularidades no morango ao longo dos anos. A maioria desses OPs não são aprovados na UE, exceto pelo fosmete. Já nos EUA metade são proibidos, os quais são acefato, clorpirifós e metamidofós (BRASIL, 2019b; ANVISA, 2021; USDA, 2021; EFSA, 2021).

3.6.3 Pimentão

Outra cultura listada no relatório do PARA de 2010 foi a do pimentão, o qual apresentou diversas irregularidades que incluía a utilização de OPs que não são permitidos para a cultura (tabela 5). O relatório do PNCRC/Vegetal e o mais

recente do PARA também demonstra as mesmas irregularidades com OPs encontrados (BRASIL, 2019b; ANVISA, 2010; ANVISA, 2019).

Tabela 5. Resíduos encontrados em pimentões (mg.kg⁻¹) e o LMR (mg.kg⁻¹).

OPs				LMR		
	2010(a)	2015(b)	2018(c)	BR	EUA	UE
Acefato	1,80	-	2,23	NE	4,00	0,01*
Clorpirifós	0,70	-	0,14	NE	1,00	0,01*
Diclorvos	-	-	0,02	NE	0,50	0,01*
Dimetoato	0,53	-	0,18	NE	2,00	0,01*
Fenitrotiona	<LOQ	-	-	NE	NP	0,01*
Metamidofós	0,62	0,24	-	NP	1,00	0,01*
Profenofós	2,72	1,68	2,98	NE	NP	0,01*
Triazofós	0,09	-	-	NE	NP	0,01*

Fonte: ANVISA, 2010 (a); BRASIL, 2019b (b); ANVISA, 2019 (c); ANVISA, 2021; USDA, 2021; EFSA, 2021. <LOQ - menor que o LOQ; NP- não permitido; NE – não empregado; * - Indica limite inferior ao LOD.

Visto que o acefato foi o que apresentou o maior percentual de detecções irregulares, seguido pelo clorpirifós, no último relatório do PARA, já era esperado encontrar esse tipo de irregularidade (ANVISA, 2021). Dentre os OPs da tabela 8, nenhum é empregado no cultivo do pimentão, e nenhum é aprovado na UE. Comparando com o LMR dos EUA, a maioria deles estaria de acordo, estando inclusive abaixo do permitido. Embora o uso do clorpirifós no Brasil não deva ocorrer no cultivo do pimentão, foram detectados resíduos deste OP no pimentão e em uma quantidade superior do encontrado em um estudo na China (0,082 mg.kg⁻¹), o qual utilizou um método semelhante ao *QuEChERS* junto à GC-MS (CHU et al., 2019).

3.6.4 Tomate

O mesmo estudo de 2005 feito com maçãs citado anteriormente, também analisou tomates, onde foram encontrados resíduos de OPs. No relatório do PARA de 2010 e 2018 também foram encontradas irregularidades com o uso de

OPs não permitidos e não empregados para essa cultura (tabela 6). O mesmo estudo citado anteriormente que utilizou a UA-MSPD com determinação por GC-MS e LC-MS / MS, também detectou acefato em tomates (RISSATO et al., 2005; ANVISA, 2010; ANVISA, 2019; DOS SANTOS et al., 2019)

Tabela 6. Resíduos encontrados em tomates (mg.kg^{-1}) e o LMR (mg.kg^{-1}).

OPs					LMR		
	2005(a)	2010(b)	2017(c)	2018(d)	BR	EUA	UE
Acefato	-	0,29	0,45	0,85	0,02	0,02	0,01*
Clorpirifós	0,95	0,70	-	0,16	0,50	0,01	0,01*
Dimetoato	0,89	0,06	-	-	1,00	2,00	0,01*
Diclorvós	-	0,23	-	0,64	NE	0,05	0,01*
Fentoato	-	0,01	-	-	NP	NP	NP
Metamidofós	-	0,32	-	-	NP	2,00	0,01*
Ometoato	-	-	-	0,20	NP	2,00	0,01*
Profenofós	-	0,09	-	0,07	1,00	NP	10
Triazofós	-	0,17	-	-	0,50	NP	0,01*

Fonte: RISSATO et al., 2005(a); ANVISA, 2010 (b); DOS SANTOS et al., 2019 (c); ANVISA, 2019 (d); ANVISA, 2021; USDA, 2021; EFSA, 2021. NP- não permitido; NE – não empregado; * - Indica limite inferior ao LOD.

O acefato também foi uma das irregularidades, encontradas em tomates, visto que ele se apresentou em quantidade maior do que o LMR. Para o clorpirifós pode se observar uma diminuição da quantidade ao longo dos anos, considerado já satisfatório no último registro em 2018 (tabela 6). O ingrediente ativo ometoato, detectado no último relatório do PARA, não é permitido no Brasil, no entanto, o ometoato é metabólito do dimetoato, agrotóxico autorizado para cultura de tomate. Outra irregularidade foi a presença de diclorvós que não é permitida para cultura (ANVISA, 2019). Embora a maioria dos OPs (tabela 6) sejam aprovados nos EUA, eles não estariam em conformidade pelo LMR, já na UE nenhum deles é aprovado (USDA, 2021; EFSA, 2021).

3.7 Impactos à saúde

Todos os OPs apresentam um risco potencial à saúde, pois podem ser ingeridos nos alimentos ou mesmo na água potável, inalados ou absorvidos por via transdérmica. Os OPs inibem irreversivelmente a acetilcolinesterase (AChE), resultando no acúmulo de acetilcolina (ACh) na placa terminal com um resultado de despolarização persistente. Sendo assim a transmissão do sinal neuromuscular é prejudicada. Os efeitos dos OPs são categorizados como agudos, retardados e de longo prazo, dependendo do momento de sua apresentação. Devido ao aumento da infiltração de pesticidas em nosso meio ambiente, a exposição humana a tais compostos tornou-se quase inevitável, não apenas nos países em desenvolvimento, onde as práticas agrícolas ainda dependem amplamente de pesticidas, mas também em países desenvolvidos onde os pesticidas são usados com mais frequência para fins de saúde pública. Produtos alimentícios e água geralmente estão contaminados com pesticidas (GEORGIADIS et al., 2018).

A toxicidade aguda dos OPs pode se tornar aparente com sintomas como salivação, lacrimejamento, micção, defecação, desconforto gastrointestinal, aumento da sudorese, arritmia, dor de cabeça, inquietação, confusão, tremor, câibras, resultados de convulsões e morte devido a parada respiratória ou cardíaca. A neurotoxicidade retardada, apresenta-se com câibras, ataxia e fraqueza dos membros que se manifestam em 10 a 14 dias após a exposição devido à fosforilação e desalquilação de uma enzima chamada neuropática. (MUÑOZ-QUEZADA et al., 2013; GEORGIADIS et al., 2018).

Diversos estudos fornecem evidências de que a exposição aos OPs é um fator de risco para o neurodesenvolvimento deficiente, principalmente de exposições pré-natais (MUÑOZ-QUEZADA et al., 2013). O leite materno contaminado devido à exposição materna revelou deficiências imunológicas pronunciadas e aumento do risco de infecções, principalmente meningite e infecções do ouvido interno (KALLIORA et al., 2018).

Os OPs malationa e diazinona são classificados como provavelmente carcinogênicos para humanos. As exposições ocupacionais a malationa e

diazinona relatam associações com o linfoma não-Hodgkin, um risco aumentado de leucemia e câncer de próstata. Em ratos, a malationa aumentou o carcinoma de tireoide, carcinoma hepatocelular e adenocarcinoma de glândula mamária (FRITSCHI et al., 2015). A exposição prolongada de coelhos a diazinona causou lesões histopatológicas (inflamação focal e fibrose) nos rins e no fígado, estresse oxidativo e efeitos genotóxicos induzidos com dano oxidativo ao DNA (TSITSIMPIKOU et al., 2013).

Ainda são limitados os estudos sobre a toxicidade a exposição crônica do acefato. Já é conhecido que pode causar processos metabólicos perturbados em ratos, incluindo os da glicose, ácidos nucleicos e de proteínas. Em ratos machos, a toxicidade crônica está associada à diminuição da contagem de espermatozoides (RAJAK et al., 2018). A exposição gestacional de ratos ao acefato sugeriu a predisposição da prole ao diabetes tipo 2 e dislipidemia durante a idade adulta (RIBEIRO et al., 2016). Outro OP associado a alterações da glicose no sangue é o clorpirifós, onde a maioria dos estudos com ratos expostos a baixas doses relatam hiperglicemia, porém a exposição a altas doses de clorpirifós também pode reduzir os níveis de glicose no sangue dando o impacto da hipoglicemia que pode estar relacionado ao distúrbio da função hepática, resultando em hepatotoxicidade (FARKHONDEH et al., 2020).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A classificação toxicológica dos OPs no Brasil (Figura 5) sofreu inúmeras mudanças em 2019, onde diversos OPs antes classificados como extremamente tóxicos ou altamente tóxicos foram realocados. Na classificação mais atual já estão incluídos em uma categoria de mais baixa toxicidade (BRASIL, 2019c). Os parâmetros desta reavaliação envolvem mudanças na rotulagem das embalagens dos agrotóxicos, onde visam a identificação de perigos à vida e à saúde humana. Esse fato suscita inúmeras dúvidas quanto à necessidade destas alterações e suas causas, uma vez que essa tendência não foi encontrada em registros ou normas para o restante do mundo no mesmo período. Ainda assim, mais de 40% dos OPs ainda seguem classificados como altamente ou extremamente tóxicos.

Figura 5. Classificação toxicológica dos OPs usados no Brasil.



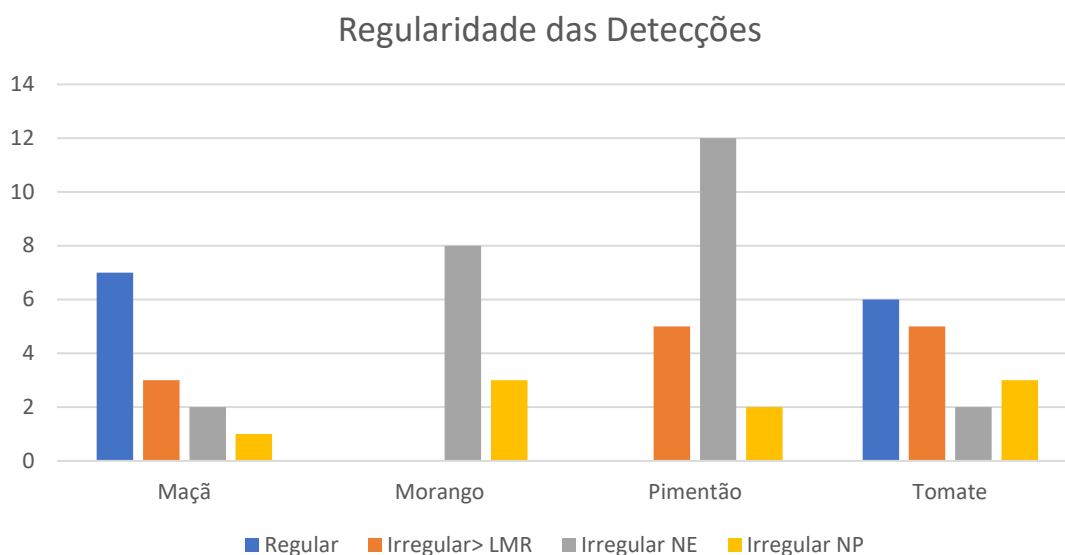
Fonte: BRASIL, 2019c; ANVISA, 2021.

Para os métodos analíticos, apesar dos vários procedimentos de extração foi possível observar que o uso do método *QuEChERS* já está bem difundido, seja na versão original ou modificada, sendo ele bastante flexível em suas etapas. Embora o uso da cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa seja mais frequente no que diz respeito a detecção de organofosforados, tanto esta cromatografia quanto a cromatografia líquida associada à espectrometria de massa são eficientes para a quantificação, com flexibilidade

no uso de diferentes detectores e fontes de ionização. Ambas têm uma alta sensibilidade e seletividade, sendo capazes de rastrear múltiplos resíduos de agrotóxicos de várias classes químicas em uma única execução.

Para os alimentos estudados, é possível observar (Figura 6) que o morango e o pimentão foram os que tiveram maiores irregularidades, seja por OPs proibidos, seja por uso indevido de OPs em ambas as culturas ou ainda por estar acima do LMR, como é o caso do pimentão. A maçã foi o alimento mais satisfatório aos longos dos anos dentre os citados, onde a maioria de suas detecções estavam regulares. Já o tomate embora tendo resultados satisfatórios em seus resíduos, mostrou a maioria das detecções como irregulares.

Figura 6. Regularidade das Detecções das culturas estudadas.



Fonte: Elaborado pela autora, 2021

O acefato foi o OP mais irregular dentre as culturas estudadas, o qual foi usado em excesso no tomate e indevidamente no morango e pimentão, seguido pelo clorpirifós e dimetoato que também tiveram seu uso indevido. O metamidofós e ometoato apareceram de forma irregular por serem proibidos no Brasil, mas como são provenientes do acefato e dimetoato respectivamente, resultam em algumas detecções fora de conformidade. É importante que se destaque que, eventualmente, os resíduos detectados não necessariamente são provenientes apenas do uso deliberado de agrotóxicos, podendo ser também resultantes de contaminações ambientais.

Como não foi possível detectar um padrão na diminuição dos resíduos de OPs aos longos dos anos e, contrariamente, inclusive em alguns casos houve aumento nas quantidades encontradas, fica clara a necessidade de maior fiscalização dos poderes públicos. Além disso, a padronização das informações públicas sobre a contaminação dos alimentos também se mostrou necessária, já que há uma grande diferença nos relatórios ao longo dos anos quanto à forma como são apresentados os resultados, dificultando assim uma comparação adequada.

O *Codex Alimentarius* é um programa conjunto da FAO (*Food and Agriculture Organization*) e OMS (Organização Mundial da Saúde), que visa as práticas de segurança alimentar internacionais (CODEX ALIMENTARIUS, 2021). Observando os padrões de IDA segundo o *Codex Alimentarius* (Tabela 7), é perceptível que são muito próximos dos valores registrados no Brasil (Tabela 2). Visto que os valores de IDA devem obviamente ser semelhantes, pois a ingestão aceitável de agrotóxicos deve ser a mesma indiferente do país de origem, por questões de saúde. O IDA estima a quantidade diária que pode ser consumida ao longo da vida sem um risco para a saúde do consumidor e é o parâmetro fundamental para a determinação dos limites máximos de resíduos (LMRs), sendo assim não fica claro como pode haver tanta disparidade entre os valores do LMR entre as três regiões estudadas, sejam Brasil, Estados Unidos (EUA) e União Europeia (UE). Em alguns casos, quando o OP é permitido para a cultura, o LMR do Brasil acaba sendo maior que dos EUA. Entretanto os EUA permitem uma maior utilização de OPs na maioria das culturas, tendo um LMR para cada um, frequentemente muito superior ao do Brasil. Já a UE apresenta LMR para todos os OPs em quantidades muito inferiores, menores que o LOD, sendo que a maioria dos OPs não são aprovados.

Tabela 7. Valores de Ingestão Diária Aceitável Internacional

I.A	IDA (mg/kg p.c)
Acefato	0,03
Clorpirifós	0,01
Diazinona	0,005
Dimetoato	0,002

Malationa	0,3
Profenofós	0,03
Triazofós	0,001

Fonte: CODEX ALIMENTARIUS, 2021.

Outro fator limitante em relação ao IDA é o fato de que ele não estima esses agrotóxicos usados indevidamente em diferentes culturas, sugerindo um aumento da ingestão de certos resíduos, podendo assim afetar a segurança alimentar, contribuindo para o dilema entre saúde pública e proteção de cultivos.

Os impactos relacionados a saúde ainda não são claros para os consumidores, apenas os efeitos agudos e crônicos para os agricultores já são bem conhecidos. Dentre deles destacam-se os efeitos hepatotóxicos, nefrotóxicos, neurotóxicos, genotóxicos, e a influência na fertilidade e metabolismo, bem como indução de estresse oxidativo, com decorrente carcinogênese. Entretanto, a fim de conhecer os efeitos a longo prazo para quem consome tais alimentos, ainda são necessários estudos adicionais quanto aos prejuízos potenciais à saúde com o uso de organofosforados, especialmente considerando o efeito acumulativo pela ingestão de maior diversidade de alimentos *in natura* e derivados por um mesmo indivíduo.

5 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Waldemar de et al. Agrotóxicos. **Cadernos de saúde pública**, v. 1, p. 220-249, 1985.

ANASTASSIADES, Michelangelo et al. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC international**, v. 86, n. 2, p. 412-431, 2003.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Agrotóxicos. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos>. Acesso em: 10 set. 2021

ANVISA. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos – PARA. Relatório das Amostras Analisada no Período de 2017 – 2018, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos>. Acesso em: 21 abril. 2021

ANVISA. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos – PARA. Relatório de atividade de 2010. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/3799json-file-1>. Acesso: 05 out. 2021.

AKTAR, M.; SENGUPTA, D.; CHOWDHURY, A. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. **Interdisciplinary toxicology**, v. 2, n. 1, p. 1, 2009.

BLAIR, Aaron et al. Pesticides and human health. **Occupational and Environmental Medicine**, v.72, n. 2, p.81-82, 2015.

BRASIL. Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074.htm. Acesso em: 03 jun. 2021.

BRASIL. Resolução RDC Nº 294, de 29 de julho de 2019a. Aprova os **Crítérios para avaliação e classificação toxicológica**. Órgão Emissor: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/consultas-publicas#/visualizar-legislacao/403290>. Acesso em: 15 set. 2021

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 267, de 11 de dezembro de 2019. Regulamenta os resultados do Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes de 2º semestre de 2015 (2015.2), no ano de 2016, no ano de 2017 e no ano de 2018 na forma dos Anexos à presente Portaria. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 11 dez. 2019b. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/portaria-n-267-de-11-de-dezembro-de-2019-233738781>. Acesso em: 23 out. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Ato Nº 58, DE 27 de agosto de 2019. Resolve dar publicidade as alterações das classificações toxicológicas dos produtos formulados agrotóxicos e afins. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 27 ago. 2019c. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/ato-n-58-de-27-de-agosto-de-2019-213474289>. Acesso em 29 out. 2021.

CAN, Alper. Quantitative structure–toxicity relationship (QSTR) studies on the organophosphate insecticides. **Toxicology letters**, v. 230, n. 3, p.434-443, 2014.

CARNEIRO, Fernando Ferreira et al. **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. EPSJV/Expressão Popular, 2015. Disponível em: https://www.abrasco.org.br/dossieagrototoxicos/wpcontent/uploads/2013/10/DossieAbrasco_2015_web.pdf. Acesso em: 10 abr. 2021.

CASTRO, Alexandre Alves de et al. Enzimas degradantes de organofosforados: Base molecular e perspectivas para biorremediação enzimática de agroquímicos. **Ciência e agrotecnologia**, v. 41, p. 471-482, 2017.

CETESB. CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo, 2021. Emergências Químicas. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/emergencias-quimicas/aspectos-gerais/toxicologia/conceitos-basicos-de-toxicologia/>. Acesso em: 02 set. 2021.

CHOWDHURY, Muhammed Alamgir Zaman et al. Determination of carbamate and organophosphorus pesticides in vegetable samples and the efficiency of gamma-radiation in their removal. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

CHOWDHURY, M. Alamgir Zaman et al. Detection of the residues of nineteen pesticides in fresh vegetable samples using gas chromatography–mass spectrometry. **Food control**, v. 34, n. 2, p. 457-465, 2013.

CHU, Zunhua et al. Residue levels and health risk of pesticide residues in bell pepper in Shandong. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 36, n. 9, p. 1385-1392, 2019.

CODEX ALIMENTARIUS. Pesticides Functional Classes. Disponível em: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/functional-classes/en/>. Acesso em: 02 nov. 2021.

DIEZ, C. et al. Comparison of an acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” method with classical multi-residue methods for the extraction of herbicide residues in barley samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1131, n. 1-2, p. 11-23, 2006.

DOS SANTOS, Elisane O. et al. Sand as a solid support in ultrasound-assisted MSPD: A simple, green and low-cost method for multiresidue pesticide determination in fruits and vegetables. **Food chemistry**, v. 297, p. 124926, 2019.

EFSA. **European Food Safety Authority**, Pesticides, 2021. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/pesticides#maximum-residue-levels>. Acesso em: 20 set. 2021.

FARKHONDEH, Tahereh et al. Impact of chlorpyrifos on blood glucose concentration in an animal model: a systematic review and meta-analysis. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 3, p. 2474-2481, 2020.

FERNANDES, Tatiana Sainara Maia. Uso das técnicas QuEChERS e CG-EM na gestão ambiental para monitoramento de resíduos de agrotóxicos organofosforados em pimentão. 2018.

FRITSCHI, L. et al. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. **Red**, v. 114, n. 2, p. 70134-70138, 2015.

FROTA, Evanise Batista e VASCONCELOS, Nadja Maria Sales de. **Química Ambiental**. 2 ed. Fortaleza, Editora da Universidade Estadual do Ceará – edUECE, 2019. Disponível em: <https://educapes.capes.gov.br/handle/capes/559748> Acesso em: 02 set. 2021.

GEORGIADIS, G. et al. Nephrotoxicity issues of organophosphates. **Toxicology**, v. 406, p. 129-136, 2018.

GERAGE, Jacqueline Mary. **Exposição aos resíduos de agrotóxicos por meio do consumo alimentar da população brasileira**. Dissertação (Mestre em Ciências). Escola Superior de Agricultura, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2016.

GIACOPPO, Juliana OS et al. Guerra química: Perspectivas no estudo de reativadores da enzima acetilcolinesterase inibida por organofosforados. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 3, p. 653-670, 2014.

GONZÁLEZ-CURBELO, M. Á. et al. Evolution and applications of the QuEChERS method. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 169-185, 2015.

GUPTA, Ramesh C. Classification and uses of organophosphates and carbamates. In: *Toxicology of Organophosphate & Carbamate Compounds*. **Academic Press**, p. 5-24, 2006.

HJORTH, Karen et al. Pesticide residues in fruits and vegetables from South America—A Nordic project. **Food control**, v. 22, n. 11, p. 1701-1706, 2011.

HONG, J. et al. Fundamental study of a novel membrane filtration cleanup method for pesticide analysis in agricultural products. **Food Control**, v. 64, p.1-9, 2016.

HUANG, Yousheng et al. Determination of multi-pesticide residues in green tea with a modified QuEChERS protocol coupled to HPLC-MS/MS. **Food chemistry**, v. 275, p. 255-264, 2019.

IBAMA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos**. Disponível em:

http://www.ibama.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=594. Acesso em: 10 mai. 2021.

JALALI, Navid et al. Alterações eletrofisiológicas em pacientes com intoxicação aguda por pesticidas organofosforados. **Farmacologia e toxicologia básica e clínica**, v. 108, n. 4, pág. 251-255, 2011.

JUAN, Antonio; PICÓ, Yolanda; FONT, Guillermina. Revisión de los métodos de determinación de residuos de plaguicidas organofosforados en alimentos. **Revista de Toxicología**, v. 20, n. 3, p. 166-175, 2003.

KALLIORA, Charikleia et al. Association of pesticide exposure with human congenital abnormalities. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 346, p. 58-75, 2018.

KARAM, Décio et al. Agrotóxicos. **Embrapa Milho e Sorgo-Documentos (INFOTECA-E)**, 2015. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1039789/1/doc192.pdf>. Acesso em: 02 set. 2021.

KIM, Leesun et al. Review of the QuEChERS method for the analysis of organic pollutants: Persistent organic pollutants, polycyclic aromatic hydrocarbons, and pharmaceuticals. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 22, p. e00063, 2019.

KUMAR, Shardendu; KAUSHIK, Garima; VILLARREAL-CHIU, Juan Francisco. Scenario of organophosphate pollution and toxicity in India: A review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 10, p. 9480-9491, 2016.

KUMARI, D.; JOHN, S. Health risk assessment of pesticide residues in fruits and vegetables from farms and markets of Western Indian Himalayan region. **Chemosphere**, v. 224, p. 162-167, 2019.

LEMOS, Mariana F. et al. Monitoring of organophosphorous pesticide residues in samples of banana, papaya, and bell pepper. **Química Nova**, v. 38, p. 268-273, 2015.

LEHOTAY, Steven J.; ANASTASSIADES, Michelangelo; MAJORS, Ronald E. The QuEChERS revolution. **Lc Gc Europe**, v. 23, n. 9, p. 418-428, 2010.

LEHOTAY, Steven J. Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 90, n. 2, p.485-520, 2007.

LORENZ, Juliana G. et al. Multivariate optimization of the QuEChERS-GC-ECD method and pesticide investigation residues in apples, strawberries, and tomatoes produced in Brazilian south. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, p. 1583-1591, 2014.

MAPA, Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Vegetal (PNCRC/Vegetal). Acesso em: 11 out. 2021 Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/pncrcvegetal>

MARRS, Timothy C. Organophosphate poisoning. **Pharmacology & therapeutics**, v. 58, n. 1, p. 51-66, 1993.

MORAES R. **Agrotóxicos no Brasil: Padrões de uso, política da regulação e prevenção da captura regulatória**, 2019. Disponível em: http://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/9371/1/td_2506.pdf. Acesso em: 21 abr. 2021.

MUÑOZ-QUEZADA, María Teresa et al. Efeitos do neurodesenvolvimento em crianças associados à exposição a pesticidas organofosforados: uma revisão sistemática. **Neurotoxicology**, v. 39, p. 158-168, 2013.

PANG, Guo-Fang et al. Validation study on 660 pesticide residues in animal tissues by gel permeation chromatography cleanup/gas chromatography–mass spectrometry and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1125, n. 1, p. 1-30, 2006.

PERES, F.; Moreira, J. C.; DUBOIS, G. S. **É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csp/a/ML3S6fnLVqzwrvtg8LnVK/?lang=pt>. Acesso em: 10 abr. 2021

PEREZ, M. A. et al. Organophosphate pesticide residues in broccoli (*Brassica oleracea*) heads determined by gas chromatography. **Revista internacional de contaminación ambiental**, v. 25, n. 2, p. 103-110, 2009.

PRESTES, Osmar Damian; ADAIME, Martha Bohrer; ZANELLA, Renato. QuEChERS: possibilidades e tendências no preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos. **Scientia Chromatographica**, v. 3, n. 1, p. 51-64, 2011.

QUIJANO, Leyre et al. Chronic cumulative risk assessment of the exposure to organophosphorus, carbamate and pyrethroid and pyrethrin pesticides through fruit and vegetables consumption in the region of Valencia (Spain). **Food and Chemical Toxicology**, v. 89, p. 39-46, 2016.

RAI, Satyajeet et al. Comparative evaluation of QuEChERS method coupled to DLLME extraction for the analysis of multiresidue pesticides in vegetables and fruits by gas chromatography-mass spectrometry. **Food analytical methods**, v. 9, n. 9, p. 2656-2669, 2016.

RAJAK, Prem et al. Chronic exposure to acephate triggers ROS-mediated injuries at organismal and sub-organismal levels of *Drosophila melanogaster*. **Toxicology research**, v. 7, n. 5, p. 874-887, 2018.

REILER, Emilie et al. The influence of tomato processing on residues of organochlorine and organophosphate insecticides and their associated dietary risk. **Science of the Total Environment**, v. 527, p. 262-269, 2015.

RIBEIRO, Tatiane Aparecida et al. Acephate exposure during a perinatal life program to type 2 diabetes. **Toxicology**, v. 372, p. 12-21, 2016.

RISSATO, Sandra Regina et al. Development of a supercritical fluid extraction method for simultaneous determination of organophosphorus, organohalogen, organonitrogen and pyrethroids pesticides in fruit and vegetables and its comparison with a conventional method by GC-ECD and GC-MS. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, p. 1038-1047, 2005.

SANTOS, Viviane Martins Rebello dos et al. Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. **Química Nova**, v. 30, p. 159-170, 2007.

SHARMA, Dipakshi et al. Analytical methods for estimation of organophosphorus pesticide residues in fruits and vegetables: A review. **Talanta**, v. 82, n. 4, p. 1077-1089, 2010.

SOGORB, Miguel A.; VILANOVA, Eugenio. Enzymes involved in the detoxification of organophosphorus, carbamate and pyrethroid insecticides through hydrolysis. **Toxicology letters**, v. 128, n. 1-3, p. 215-228, 2002.

STACHNIUK, Anna; FORNAL, Emilia. Liquid chromatography-mass spectrometry in the analysis of pesticide residues in food. **Food Analytical Methods**, v. 9, n. 6, p. 1654-1665, 2016.

TANG, Wangxin et al. Pyrethroid pesticide residues in the global environment: an overview. **Chemosphere**, v. 191, p. 990-1007, 2018.

TSITSIMPIKOU, Christina et al. Lesões histopatológicas, estresse oxidativo e efeitos genotóxicos no fígado e rins após exposição prolongada de coelhos ao diazinon e propoxur. **Toxicology**, v. 307, p. 109-114, 2013.

USDA, U. S. Department of Agriculture. **Agricultural Marketing Service**. Pesticide Data Program 2021. Disponível em: <https://www.ams.usda.gov/datasets/pdp>. Acesso em: 20 set. 2021.

WILKOWSKA, Angelika; BIZIUK, Marek. Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology. **Food chemistry**, v. 125, n. 3, p. 803-812, 2011.

ZHANG, Lu et al. O impacto dos insumos químicos agrícolas no meio ambiente: evidências globais da análise e visualização informétrica. **Jornal internacional de tecnologias de baixo carbono**, v. 13, n. 4, pág. 338-352, 2018.