

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

HEIVILA MONIQUE DA SILVA ALEXANDRE

DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS EM AMOSTRAS DE *Lactuca sativa var. crispata* (alface crespa) POR CROMATOGRÁFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-EM)

JOÃO PESSOA – PB
JUNHO – 2022

HEIVILA MONIQUE DA SILVA ALEXANDRE

DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS EM AMOSTRAS DE *Lactuca sativa* var. *crispa* (alface crespa) POR CROMATOGRÁFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-EM)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Farmácia, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Dr. Sócrates Golzio dos Santos

JOÃO PESSOA-PB

JUNHO – 2022

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A381d Alexandre, Heivila Monique da Silva.

Determinação de pesticidas em amostras de lactuca sativa var. Crispa (alface crespa) por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (cg-em) / Heivila Monique da Silva Alexandre. - João Pessoa, 2022.

41 f. : il.

Orientador : Sócrates Golzio dos Santos.
TCC (Graduação) - UFPB/CCS.

1. Pesticidas. 2. CG-EM. 3. Lactuca sativa. 4. Alface. I. Santos, Sócrates Golzio dos. II. Título.

UFPB/CCS

CDU 632.95.024

HEIVILA MONIQUE DA SILVA ALEXANDRE

DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS EM AMOSTRAS DE *Lactuca sativa* var. *crispa* (alface crespa) POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-EM)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Farmácia, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em 16 de Junho, de 2022.

Documento assinado digitalmente
 SOCRATES GOLZIO DOS SANTOS
Data: 30/06/2022 15:24:11-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Sócrates Golzio dos Santos
Universidade Federal da Paraíba- UFPB

Documento assinado digitalmente
 SILVANA TERESA LACERDA JALES
Data: 30/06/2022 15:48:10-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof^a. Dra. Silvana Teresa Lacerda Jales
Universidade Federal da Paraíba- UFPB



Prof. Dr. Hemerson Iury Ferreira Magalhães
Universidade Federal da Paraíba- UFPB

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado à minha avó Estela (*in memoriam*), cujo retrato de afeto estará eternizado em minha memória, como a pessoa que mais me amou e admirou. E hoje, mesmo que separadas fisicamente, consigo sentir sua proteção em cada momento do meu dia, e receber seu afago ao admirar o céu, o que me dá forças para continuar nos dias mais difíceis. Sinto falta das nossas conversas aos sábados, e anseio pelo nosso reencontro. Obrigada. Consegui, vó!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, por me guiar pelos melhores caminhos e ter sido providencial, me permitindo encontrar as pessoas certas, sem as quais eu não chegaria tão longe.

Aos meus avós (*in memoriam*), em especial a minha avó Estela, que não está aqui fisicamente, porém tenho certeza de que me acompanha em cada passo, e me dá forças para prosseguir quando eu acredito não ser capaz. Ela quem mais me amou e demonstrou, em todos os momentos dos breves vinte anos em que estivemos juntas.

Às quatro pessoas que detêm o significado de família em minha vida, que são prova do amor de Deus por mim e sem as quais eu não estaria aqui. A Rafaela e Rafael Filho agradeço pela irmandade e por estarem junto a mim em todos os momentos. A Marcileide por não medir esforços em prol da minha felicidade, por ter abdicado de seus desejos, muitas vezes, para que eu estivesse aqui. A Rafael por ser o meu exemplo e incentivo nos estudos, por estar sempre em busca de conhecimento, por trabalhar exaustivamente para que possamos realizar nossos sonhos.

A minha tia Lúcia, a minhas primas Amanda e Lara, por estarem incondicionalmente meu lado, e acreditarem sempre em mim, por se alegrarem em cada conquista minha por menor que seja ela. Ao meu tio Francisco, meus primos Márcio e Márcia por todo o carinho.

A Rubens, por se tornar um irmão pra mim. Agradeço pelos momentos de alegria, tristeza e desespero compartilhados comigo, por estar ao meu lado todos os dias independente de nossas brigas diárias, por me fazer rir o tempo inteiro com algum comentário sarcástico, e por ter sempre uma fofoca pra contar. Sem dúvida você foi essencial no meu processo de formação acadêmica e pessoal, te amo Rubinho.

A Larissa Alves e Mylenne que me auxiliaram nesses cinco anos e meio de graduação, que compartilharam comigo os bons e maus momentos, e estão sempre

presentes e dispostas a me ajudar independente da situação, vocês se tornaram indispensáveis em minha vida.

A Larissa Xavier, em especial, agradeço pelos três anos em que nos ajudamos durante a iniciação científica, pelo auxílio nas noites em claro compartilhadas no desenvolvimento de projetos, bem como na elaboração deste trabalho.

À Laryssa, Herlanny, Efigênia, Fernanda, Ramon, Lays, Gabriel, Thayná, agradeço pelos momentos especiais compartilhados, pelo apoio e amizade. Vocês foram essenciais e me permitiram contornar as adversidades surgidas pelo caminho. Agradeço a Deus por tê-los em minha vida.

Agradeço em especial ao meu Orientador, Sócrates Golzio, por ter acreditado em mim há um ano e me dado a possibilidade de trabalhar e aprender com ele. Serei eternamente grata pela oportunidade, empatia, ensinamentos e atenção, tanto na iniciação científica, quanto na graduação.

Por fim, à minha banca, composta pela professora Silvana Tereza Lacerda Jales e professor Hemerson Iury Ferreira Magalhães, agradeço pela atenção e empatia durante a graduação e por se disponibilizarem a contribuir com a realização deste trabalho.

Heivila Monique

RESUMO

Determinação de pesticidas em amostras de *Lactuca sativa* var. *crispa* (alface crespa) por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM). Heivila Monique da Silva Alexandre; Sócrates Golzio dos Santos

Os pesticidas são utilizados como principal estratégia no combate e prevenção de pragas agrícolas, a fim de garantir uma maior produção de alimentos para a população. Em países emergentes como o Brasil, cujos maiores rendimentos na economia dependem da exportação agrícola, o uso de agroquímicos é demasiado. Especialmente em culturas de alface, a contaminação por resíduos de pesticidas tem sido alvo de constante preocupação devido à elevada toxicidade associada a estas substâncias. Logo, torna-se evidente a necessidade de monitorar a qualidade dos alimentos produzidos, no intuito de prevenir possíveis danos à saúde do consumidor decorrentes da exposição a esses agentes tóxicos. Diante disso, esse estudo teve como objetivo avaliar a presença de resíduos de agrotóxicos em amostras de *Lactuca sativa* var. *crispa* através de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). As amostras foram obtidas das feiras livres de Oitizeiro, mercado central de Mangabeira, mercado central e CEASA, todas estas localizadas no município de João Pessoa, Paraíba. A análise foi realizada em duplicata, e a preparação das amostras foi processada através da extração com acetato de etila e hexano mais sulfato de sódio, estas foram submetidas a uma centrifugação de 300 rpm durante três horas. Visando a detecção dos resíduos tóxicos em diferentes picos de verificação, condições cromatográficas ideais foram adotadas no CG-EM. Diante do exposto, espera-se que os resultados deste trabalho sirvam de referência para a elaboração de métodos e programas de supervisão de agrotóxicos e gestão de risco, seja este ambiental ou para a saúde humana.

Palavras-chave: Pesticidas; CG-EM; *Lactuca sativa*; Alface

ABSTRACT

Determination of pesticides in *Lactuca sativa* var. *crispa* (crisp lettuce) by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Heivila Monique da Silva Alexandre; Sócrates Golzio dos Santos

Pesticides are used as the main strategy in the combat and prevention of agricultural pests in order to ensure greater food production for the population. In emerging countries like Brazil, whose major income in the economy depends on agricultural exports, the use of agrochemicals is too much. Especially in lettuce crops, contamination by pesticide residues has been a constant concern due to the high toxicity associated with these substances. Therefore, the need to monitor the quality of the food produced becomes evident, in order to prevent possible damage to consumer health from exposure to these toxic agents. Therefore, this study aimed to evaluate the presence of pesticide residues in samples of *Lactuca sativa* var. *crispa* through gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). The samples were obtained from the open markets of Oitizeiro, Mangabeira central market, central market and CEASA, all located in the municipality of João Pessoa, Paraíba. The analysis was performed in duplicate, and the preparation of the samples was processed through extraction with ethyl acetate and hexane plus sodium sulfate, these were submitted to a 300 rpm centrifugation for three hours. Aiming at the detection of the toxic residues at different peak checks, optimal chromatographic conditions were adopted in GC-MS. Given the above, it is expected that the results of this work will serve as a reference for the development of methods and programs for pesticide supervision and risk management, whether environmental or for human health.

Keywords: Pesticides; GC-MS; *Lactuca sativa*; Lettuce

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Componentes de um cromatógrafo gasoso	23
Figura 2- Esquematização do processo de preparação das amostras	26
Figura 3- Cromatograma referente à eluição utilizando Acetato de etila como solvente	29
Figura 4- Cromatograma referente ao mix de padrões injetados em <i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	30
Figura 5- Cromatogramas referentes aos tempos de retenção de cada padrão utilizado em amostra de <i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	31
Figura 6- Cromatogramas referentes às amostras de <i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Pesticidas utilizados no cultivo da alface no Brasil, de 2017 a 2019, segundo ANVISA	20
Tabela 2- Agrotóxicos não autorizados utilizados no Brasil, de 2017 a 2019, em culturas de alface, segundo ANVISA.....	21

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
CGL	cromatografia gás-líquido
CGS	cromatografia gás-sólido
DL50	Dose Letal Para 50% de uma população teste
GABA	Ácido gama-aminobutírico
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis
LMR	Limite Máximo de Resíduo
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
PARA	Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SNC	Sistema Nervoso Central

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1	PESTICIDAS: DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO	13
2.2	EFEITOS TÓXICOS DOS PESTICIDAS	16
2.3	PESTICIDAS NO BRASIL	17
2.4	PESTICIDAS E ALFACE	19
2.5	CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-EM)	22
3	OBJETIVOS	24
3.1	OBJETIVO GERAL.....	24
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
4	MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1	AMOSTRAS	24
4.1.2	Identificação das amostras	24
4.1.3	Preparo da amostra	25
4.1.3	Preparo e injeção dos padrões	26
4.2	PRDUTOS QUÍMICOS E REAGENTES.....	27
4.3	INSTRUMENTAÇÃO	28
5	RESULTADOS	28
6	DISCUSSÃO	33
7	CONCLUSÕES	35
	REFERÊNCIAS.....	36

1 INTRODUÇÃO

O uso de pesticidas para combater pragas, aumentar rendimento e diminuir perdas dos produtos agrícolas é uma prática antiga, importante e bem estabelecida na agricultura (AL-SALEH, 1994). Em contraste com os efeitos benéficos para as plantações, os pesticidas geram um impacto ambiental negativo, e o uso excessivo dessas substâncias químicas pode destruir a biodiversidade e gerar danos à sustentabilidade do meio ambiente (MAHMOOD et al., 2016).

Além disso, há uma crescente preocupação com os resíduos gerados pelos agrotóxicos que são comercializados, pois o uso destes podem gerar efeitos adversos, prejudiciais e potencialmente tóxicos para os seres humanos. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), é recomendado que as concentrações de agrotóxicos não excedam o limite máximo de resíduos (LMR), uma vez que cada substância tem seu LMR específico. (BONNER; ALAVANJA, 2017; ANVISA, 2019; KUMARI; JOHN, 2019)

Nesse sentido, as hortaliças são consideradas alimentos reguladores pois são ricas em vitaminas, minerais, fibras e água, que auxiliam na digestão e absorção dos nutrientes, melhorando o funcionamento do intestino. Entretanto, esses alimentos costumam portar um alto nível de pesticida em virtude da elevada expectativa em sua qualidade visual e pelo costume geral de consumi-las “*in natura*”. Nesse aspecto, esses vegetais merecem uma atenção especial (EMBRAPA, 2012; YUSHANANTA et al, 2020).

Dentre as hortaliças verdes, a alface (*Lactuca sativa* L.) é uma hortaliça folhosa que pertence à família *Asteraceae*. Apresenta uma série de nutrientes como a pró-vitamina A, luteína, vitamina B2, vitamina B5, vitamina B9, vitamina C, vitamina K, cálcio, ferro, magnésio e potássio. Além disso, é exemplo de hortaliça comercializada algumas vezes com o LMR excedido. Logo, é necessário encontrar alternativas que reduzam a concentração destes resíduos agrotóxicos, sem que haja prejuízos à produtividade do cultivo vegetal (EMPRAPA, 2012; EMBRAPA, 2013; BARRIÈRE et al., 2014; BLANKSON et al., 2016).

Diante disso, variadas técnicas estão disponíveis para uso em processos de extração de amostras, contudo, a determinação de resíduos de agrotóxicos é realizada, preferencialmente, por cromatografia gasosa acoplada a um detector/analizador. Tendo em vista que este método possibilita a quantificação de substâncias voláteis e produtos de degradação, mesmo quando em quantidades inferiores aos limites máximos estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), além disso, permite a quantificação de um grande número de matrizes simultaneamente (LIGEIRO et al., 2009).

Portanto, o objetivo desse estudo foi identificar os pesticidas presentes em amostra de *Lactuca sativa L. var. crispata* (alface crespa) obtidas em feiras livres do município de João Pessoa, Paraíba, através de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 PESTICIDAS: DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO

Pesticidas, agrotóxicos, praguicidas ou defensivos agrícolas são denominações dadas a produtos destinados ao controle de pragas que afetam a agricultura. Estas substâncias possuem elevada toxicidade e potencial de bioacumulação, e são apontados como causadores de danos à saúde humana e ao meio ambiente, quando manuseados de maneira inadequada (PERES; MOREIRA, 2003).

Neste sentido, os pesticidas podem ser especificados em diferentes classes de acordo com o seu grupo químico, finalidade, ou toxicidade, e seus mecanismos convergem no sentido de promover a letalidade através do bloqueio de processos metabólicos vitais aos organismos para os quais são tóxicos (SOUZA et al., 2016).

Em relação à finalidade os pesticidas recebem uma denominação baseada no organismo sobre o qual atuam, sendo os herbicidas, inseticidas e fungicidas os mais utilizados no controle de ervas daninhas, insetos e fungos. Além destes, fazem parte dessa classe os fumigantes, algicidas, avicidas, nematocidas, moluscicidas,

acaricidas, reguladores de crescimento, desfoliantes e disseccantes (QUADRO 1) (SILVA; FAY, 2004).

Quadro 1 - Denominações de pesticidas para o organismo a ser eliminado

Grupo	Praga controlada
Acaricida	Ácaros
Avecida	Aves
Bactericida	Bactérias
Carrapaticida	Carrapato
Columbicida	Pombo
Cupinicida	Cupim
Desfoliantes	vegetais
Dessecantes	vegetais
Formicida	Formiga
Fungicida	Fungos
Inseticida	Insetos
Herbicida	Ervas daninhas
Raticida	Roedores
Nematicida	Vermes
Larvicida	larvas

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Legenda: quadro relacionando grupo de pesticida e os respectivos alvos sobre os quais atuam.

Na classificação quanto ao grupo químico, considera-se a semelhança entre a estrutura das moléculas que constituem o princípio ativo. Estão contidos nesta classe os carbamatos (derivados do ácido N-metilcarbâmico), os piretroídes (inseticidas sintéticos derivados das piretrinas), os organoclorados (agrotóxicos orgânicos

sintéticos clorados), e os organofosforados (derivados do ácido fosfórico e tiofosfórico) (MENDES et al., 2019).

Ademais, no Brasil, os agrotóxicos podem ser classificados quanto ao grau de toxicidade, utilizando o indicador de letalidade DL50, dose capaz de matar 50% dos indivíduos de uma população teste, estabelecido através de estudos em laboratórios regulamentados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Neste sentido, a ANVISA, órgão responsável pela classificação toxicológica dos produtos no Brasil, através da RDC nº 294, de 29 de julho de 2019, determina que estes apresentem, em seus rótulos, uma faixa colorida advertindo a classe toxicológica a qual pertencem. Sendo assim, os agroquímicos estão subdivididos em seis categorias, nas quais estão representadas na categoria I, faixa vermelha, as substâncias que são extremamente tóxicas, na categoria II, faixa vermelha, substâncias altamente tóxicas, categoria III, faixa amarela, moderadamente tóxicas, na categoria IV, faixa azul, substâncias pouco tóxicas, categoria V, as que são improváveis de causar dano agudo, por fim, representados pela faixa verde, estão os produtos que não foram classificados em nenhuma das categorias mencionadas anteriormente (QUADRO 2) (ANVISA, 2019).

Quadro 2 Categorias da classificação toxicológica e suas respectivas cores representativas, segundo Anvisa (2019)

Classe toxicológica		Cor da faixa
Categoria I	Extremamente tóxico	vermelha
Categoria II	Altamente tóxico	Vermelha
Categoria III	Moderadamente tóxico	Amarela
Categoria IV	Pouco tóxico	Azul

Categoria V	Improvável de causar dano agudo	Azul
Não classificado	Produto não classificado	Verde

Fonte: adaptado de ANVISA (2019)

Legenda: quadro relacionando as categorias da classificação toxicológica dos pesticidas no Brasil, e suas respectivas cores. Categoria I, extremamente tóxico, faixa vermelha, categoria II, altamente tóxico, faixa vermelha, categoria III, moderadamente tóxico, faixa amarela, categoria IV, pouco tóxico, faixa amarela, categoria V, improvável de causar dano agudo, faixa azul, não classificado, faixa verde

2.2 EFEITOS TÓXICOS DOS PESTICIDAS

O uso demasiado e incorreto dos pesticidas representa elevado risco para a saúde e o meio ambiente, afetando o homem direta ou indiretamente. Isso porque possuem elevado potencial de bioacumulação, e seus resíduos são encontrados em compartimentos aquáticos, terrestres e atmosféricos, provocando sérios desequilíbrios biológicos através da degradação de recursos naturais de forma irreversível (JARDIM; ANDRADE; QUEIROZ, 2009; MENEZES FILHO, 2010).

Nesse sentido, a ausência de mecanismos eficientes na degradação dos praguicidas leva ao acúmulo destes nos organismos vivos, favorecendo sua inserção nos níveis tróficos da cadeia alimentar. Prova disso são os organoclorados, cuja volatilidade permite que sejam transportados por longas distâncias e se depositem em matrizes sobre as quais não foram aplicados diretamente (JARDIM et. al., 2009)

Além disso, devido a sua lipofilicidade, os organoclorados podem ser absorvidos por diferentes vias, tais como respiratória, dérmica e digestória, depositando-se preferencialmente no tecido adiposo. Ainda, estimulam o sistema nervoso central (SNC) e promovem alterações no sistema endócrino. As manifestações clínicas decorrentes da intoxicação variam de acordo com a via e o tempo de exposição, mas estão comumente associadas a convulsões, cefaleia e tremores, podendo evoluir para óbito (DOMINGUES, 2007; PAVANI, 2016).

Em relação aos carbamatos e organofosforados a via de exposição favorecida é a respiratória e cutânea, todavia, podem ser absorvidos pelo trato digestivo. Estas substâncias possuem uma rápida distribuição pelo organismo, e são metabolizadas preferencialmente pelo sistema hepático. Atuam inibindo a acetilcolinesterase, e conseqüentemente possuem como sinais clínicos de intoxicação a síndrome colinérgica caracterizada por apresentar visão turva, hiperatividade parassimpática, disfunção neuromuscular, taquicardia e fraqueza muscular (DOMINGUES, 2007; PAVANI, 2016).

Os piretróides e piretrinas possuem a via oral como predileção à exposição, contudo, podem ser absorvidos em pequenas concentrações através da pele. Possuem como mecanismos de intoxicação o antagonismo ao ácido gama-aminobutírico (GABA), além disso, afetam os canais de sódio, aumentando o tempo de abertura. O quadro clínico está associado a sintomas leves a moderados, a depender das características da exposição. O indivíduo afetado pode apresentar congestão nasal, falta de ar, sonolência e coma (PAVANI, 2016).

Os neonicotinóides são agonistas dos receptores nicotícos, e a intoxicação pelos pesticidas pertencentes a essa classe é caracterizada por sinais clínicos como convulsões, tremores, desorientação e colapso do sistema nervoso (PAVANI, 2016).

2.3. PESTICIDAS NO BRASIL

A agricultura proporcionou o surgimento das primeiras civilizações. Durante anos esteve dependente de condições ambientais, no entanto, a necessidade de combater as pragas que afetam a produtividade agrícola levou a criação de técnicas que concedem ao homem autonomia no processo produtivo, dentre as quais pode-se citar o desenvolvimento dos agrotóxicos (DE ALMEIDA BARBOSA, 2004; PAVANI, 2016).

Nesse contexto, os defensivos agrícolas são substâncias que, quando aplicadas em concentrações adequadas, são capazes de reduzir populações de pragas, diminuindo, com isso, os danos decorrentes de perdas de culturas. Todavia, apesar do incremento na produção, o uso indiscriminado destas substâncias leva ao acúmulo de resíduos nos compartimentos ambientais, favorece o aparecimento de

pragas resistentes, e pode comprometer a saúde humana sequente a sua elevada toxicidade (KIM et al.,2003; COSTA et al., 2004; AGUIAR-MENEZES, 2005).

Nesse aspecto, o advento da revolução verde na década de 1960 e o predomínio de monoculturas extensivas nos países agroexportadores, como o Brasil, fomentou a utilização destes agroquímicos nas lavouras, de tal modo que essa realidade incide até os dias atuais, uma vez que, no cenário mundial, o país desponta como um dos maiores consumidores de agrotóxicos, estando o seu processo produtivo agrícola intrínseco a estas substâncias (MOREIRA et. al., 2002; PRESTES et. al., 2009).

Diante disso, o Brasil destaca-se não apenas pelo consumo elevado dos agrotóxicos, mas também pela elevada comercialização destes. Vasconcelos e Rocha (2014) destacam que, na última década, o país expandiu em 190% o mercado de agrotóxicos, colocando-se em primeiro lugar no ranking mundial de consumo desde 2008. Ademais, segundo o GREENPEACE Brasil (2022), nos últimos três anos, mais de 1.550 novos produtos foram liberados, fato este que será agravado com a aprovação do Pacote do Veneno (PL 1459/2022).

Contudo, apesar dos benefícios trazidos em relação ao aumento da produtividade e redução de gastos, os pesticidas oferecem elevados riscos tanto ao ambiente, devido a persistência dos seus resíduos, quanto ao homem, impactando não apenas na saúde dos indivíduos que aplicam esses produtos nas lavouras, mas também dos que consomem os alimentos contaminados por estes resíduos (BRITO; MELLO; CÂMARA, 2009).

Nesse sentido, o consumo e comercialização destes defensivos agrícolas, é regulamentado pelo Ministério do Meio Ambiente e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, mediante aprovação do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos naturais renováveis (Ibama), Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), após a avaliação dos riscos ao meio ambiente, agronomia e à saúde, respectivamente.

Dito isso, a ANVISA determina o limite máximo de resíduos (LMR) que podem ser encontrados nos alimentos. Estes valores são estabelecidos para cada ingrediente ativo usado em determinada cultura. Todavia, é válido ressaltar que,

mesmo que a concentração do resíduo no alimento não ultrapasse o limite máximo fixado, os dados sobre a exposição crônica são desconhecidos, uma vez que essas informações são obtidas de estudos de toxicidade aguda (JARDIM et. al., 2009; PASTRELLO, 2012). Logo, evidencia-se a necessidade constante de monitoramento do uso de pesticidas mediante à boas práticas de produção agrícola.

2.4. PESTICIDAS E ALFACE

O Brasil destaca-se como um dos maiores agroexportadores do mundo com cerca de 300 milhões de hectares ocupados por culturas, florestas e pastos, dos quais 1 milhão é destinado ao cultivo de hortaliças, sendo a alface a mais produzida e comercializada (ALVES et al., 2014).

A alface, *Lactuca sativa* var. *crispa*, é uma hortaliça pertencente à família Asteraceae. É consumida mundialmente “*in natura*” na forma de salada, sendo fonte de uma variedade de nutrientes, dentre os quais pode-se citar vitaminas, sais minerais e ferro. Devido a facilidade de produção e obtenção desta hortaliça, é possível cultivá-la o ano inteiro (OLIVEIRA, 2004).

No Brasil, a alface é a hortaliça folhosa mais aceita pelo consumidor, estando na quarta posição entre as mais importantes, quando analisada a relação entre a área cultivada pelo valor da produção. Todavia, possui acentuada perecibilidade e consequente curta vida pós-colheita, além de elevada suscetibilidade a doenças, fator este limitante da produção, sendo necessário realizar o controle de pragas durante todo o cultivo (YURI, 2002; MELLO et al., 2003).

Diante disso, o uso de agroquímicos tem sido cada vez maior neste tipo de cultura, e apesar de permitido, é necessário que esteja dentro dos limites máximos de resíduos (LMR) estabelecido pela ANVISA. Atualmente, no Brasil, estão disponíveis para uso em culturas de alface 54 agrotóxicos, entretanto, o uso demasiado dos pesticidas não autorizados têm sido alvo constante de preocupação para os órgãos fiscalizadores (ANVISA, 2022).

Nesse sentido, de acordo com o relatório de 2017 a 2019, realizado pelo Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), foram

detectados 51 agrotóxicos, dentre os 195 pesquisados, em 286 amostras de alface. Os dados mostram que 31 amostras apresentaram resíduos acima do LMR estabelecido pela Anvisa, sendo os mais encontrados o imidacloprido, cipermetrina e peniciclorom (TABELA 2). Apesar da importância do PARA no monitoramento na de resíduos de agrotóxicos em alimentos, estas análises não são realizadas pelo programa desde o ano de 2020 (ANVISA, 2019).

Tabela 1- Pesticidas utilizados no cultivo da alface no Brasil, de 2017 a 2019, segundo ANVISA

Agrotóxicos	Detecções irregulares (%)	Número total de detecções
Imidacloprido	4,55	89
Difenoconazol	1,40	40
Ditiocarbamatos	1,40	40
Tiametoxicam	0,35	40
Penciclorom	1,75	23
Azoxistrobina	0,35	17
Iprodiona	0,35	14
Lambda-cialotrina	0,35	14

Fonte: Adaptado de ANVISA (2019)

Legenda: nome dos pesticidas mais utilizados em cultivo de alface entre 2017-2019 no Brasil, seus respectivos números de detecções irregulares em porcentagem e número total de detecções

Além disso, outras 48 amostras analisadas pelo PARA apresentaram resíduos de agrotóxicos não autorizados para cultura de alface, dentre os quais o acefato, clofenapir e carbendazim foram os mais detectados (TABELA 3).

Tabela 2- Agrotóxicos não autorizados utilizados no Brasil, de 2017 a 2019, em culturas de alface, segundo ANVISA

Agrotóxicos	Detecções irregulares (%)	Número total de detecções
Acefato	6,29	18
Clofenapir	5,94	17
Carbendazim	3,85	11
Cipermetrina	1,40	11
Metalaxil-M	3,50	10
Abamectina	3,15	9
Ciromazina	2,80	8
Espinosade	2,80	8
Ciflutrina	2,10	6
Deltametrina	2,10	6

Fonte: Adaptado de ANVISA (2019)

Legenda: nome dos pesticidas não autorizados mais utilizados em cultivo de alface entre 2017-2019 no Brasil, seus respectivos números de detecções irregulares em porcentagem e número total de detecções,

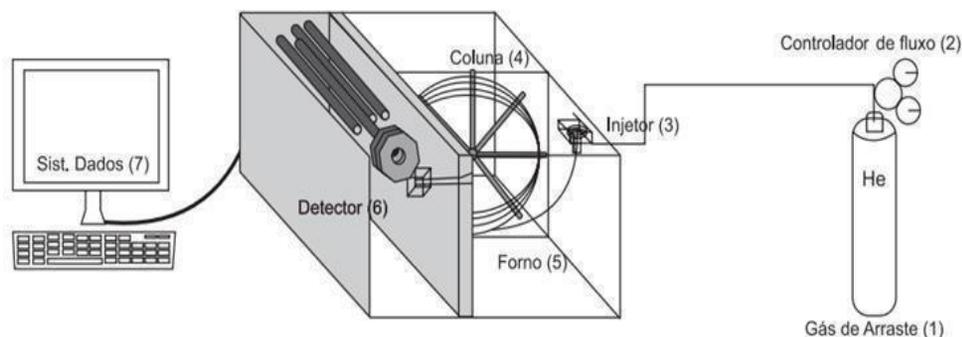
Diante disso, fica evidente a necessidade de monitorar as práticas de produção agrícola a fim de garantir a segurança da comunidade, para isso, é essencial a utilização de métodos de análises que possuam elevada sensibilidade, sendo capazes de detectar quantidades cada vez menores destes resíduos.

2.5. CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS (GC-MS)

A cromatografia corresponde ao método de separação de maior aplicabilidade nos dias atuais, e baseia-se na separação de misturas através da distribuição em duas fases: estacionária e móvel, podendo esta última ser constituída por um gás inerte, um líquido ou um fluido, a depender do processo cromatográfico utilizado (PAVUK et al., 2007).

A cromatografia gasosa é uma das mais importantes técnicas de separação de compostos voláteis, possuindo um elevado poder de resolução que permite identificar uma variedade de matrizes. Além disso, classifica-se quanto a natureza da fase estacionária em cromatografia gás-sólido (CGS) ou cromatografia gás-líquido (CGL), sendo a CGL mais versátil e seletiva, devido a variedade de fases líquidas disponíveis (PENTEADO, MAGALHÃES, MASINI, 2008).

O equipamento utilizado nas análises cromatográficas gasosas é o cromatógrafo a gás, que é constituído pelo gás de arraste (1), controlador de fluxo (2), injetor (3), coluna (4), forno (5), detector (6), sistema de obtenção de dados (7), conforme Figura 1 (NASCIMENTO et al., 2018).

Figura 1- Componentes de um cromatógrafo gasoso

Fonte: NASCIMENTO et al., (2018)

A corrida cromatográfica inicia-se a partir da injeção da amostra por um injetor previamente aquecido, com o auxílio de uma micro-seringa, em seguida a amostra é vaporizada e transferida para a coluna até um forno pré-aquecido, com o auxílio de um gás de arraste. Os componentes da amostra são eluídos e conduzidos em direção ao detector, este, por sua vez, emite um sinal elétrico que é registrado em gráficos sob a forma de picos (PENTEADO, MAGALHÃES, MASINI, 2008).

A separação dos analitos presentes na amostra ocorre pela diferente distribuição destes em uma fase estacionária dada pela temperatura, que pode ser sólida ou líquida, e uma fase móvel, constituída por um gás inerte, gás de arraste, cuja função é eluir a amostra através da coluna (fase estacionária), desse modo, quanto menor a interação dos compostos com a fase estacionária, maior a velocidade de eluição. Essas informações são detectadas e, após o processamento de dados, gera-se um cromatograma que relaciona o tempo de eluição pela concentração de analitos na amostra (NASCIMENTO et al., 2018).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Identificar os resíduos de pesticidas em amostras de *Lactuca sativa* var. *crispa* através do método de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1 - Coletar amostras em feiras abertas em João Pessoa;
- 2 - Testar solventes extratores;
- 3 - Desenvolver método de identificação;
- 4 - Identificar os pesticidas na matriz trabalhada.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAS

Foram avaliadas oito amostras de alfaces, duas de cada local, obtidas nas feiras livres de Oitizeiro, Mercado Central, CEASA, e Mercado Central de Mangabeira, todas localizadas no município de João Pessoa, Paraíba. Para a pesquisa de resíduos de pesticidas, foram escolhidos como padrões os princípios ativos Lufenurum, Clorfenapir, Indoxacarbe, Quizalofop-e-p-etílico, Metomil, e Abamectina, devido a possível detecção pela técnica empregada de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM). O preparo e extração das amostras foi realizado no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análises (LMCA) na Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

4.1.2 Identificação das amostras

As amostras foram identificadas e analisadas em duplicata, desse modo, as primeiras amostras, obtidas do Local A, foram identificadas como alface crespa A1-

Hexano, Alface crespa A1- Acetato, Alface crespa A2-Hexano, Alface crespa A2-Acetato. O mesmo padrão de identificação foi utilizado para as amostras obtidas nos outros pontos de coleta, sendo as amostras 3 e 4, obtidas do Local B, amostras 4 e 5, do Local C, e as amostras 7 e 8 do Local D, conforme mostra a Tabela 4.

Quadro 3- Identificação das amostras de alface e respectivos locais de coleta

Locais de coleta	Identificação das amostras	
LOCAL A	Al. crespa A1-hexano Al. crespa A1-Acetato	Al. crespa A2-hexano Al. crespa A2- Acetato
LOCAL B	Al. crespa A3-hexano Al. crespa A3- Acetato	Al. crespa A4 -hexano Al. crespa A4- Acetato
LOCAL C	Al. crespa A5-hexano Al. crespa A5- Acetato	Al. crespa A6-hexano Al. crespa A6- Acetato
LOCAL D	Al. crespa A7-hexano Al. crespa A7- Acetato	Al. crespa A8-hexano Al. crespa A8- Acetato

Fonte: Dados da autora (2022)

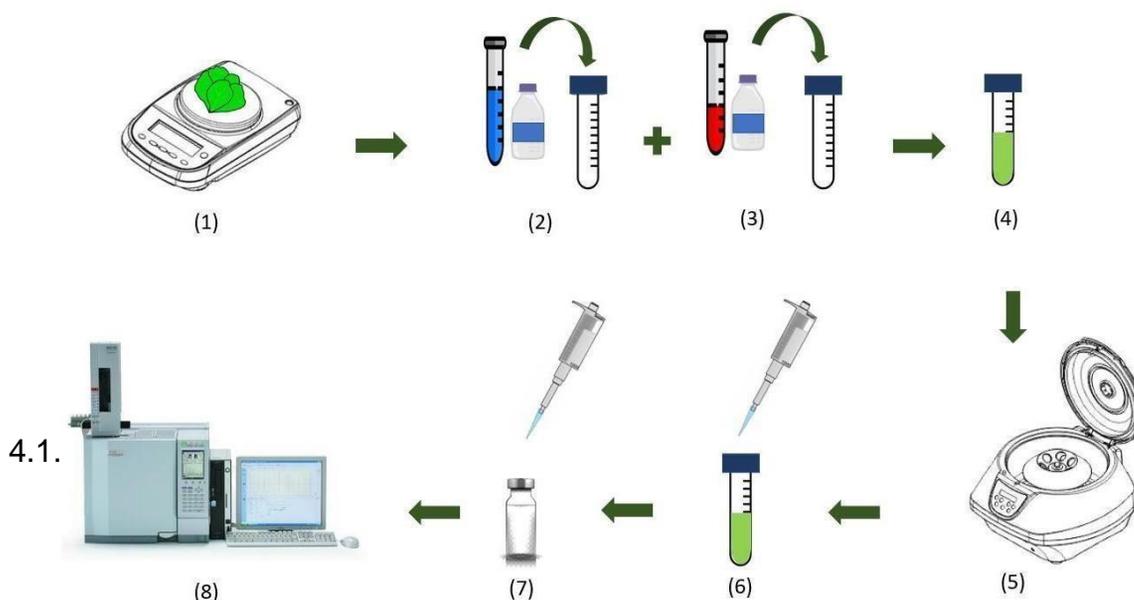
Legenda: locais de coleta, identificação das amostras e solventes utilizados, Hexano e Acetato de etila.

4.1.3. Preparo da amostra

Cerca de 2 gramas de *Lactuca sativa* var *crispa* foram cortados, pesados, identificados (1) e adicionados a dois tubos tipo *Falcon* 15 mL, em seguida adicionou-se um volume de 10 mL de Acetato de etila mais 3 gramas de sulfato de sódio anidro a um tubo (2) e ao outro 10 mL de Hexano mais 3 gramas de sulfato de sódio anidro (3), o material (4) foi submetido a uma centrifugação com velocidade de 300 rpm durante três horas (5). Após a centrifugação, coletou-se 1000 µL do sobrenadante de

cada amostra para um vial limpo (6, 7) para injeção em duplicata (8), conforme representado na Figura 2.

Figura 2- Esquematização do processo de preparação das amostras



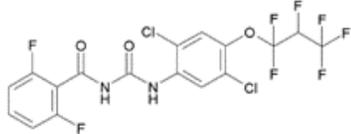
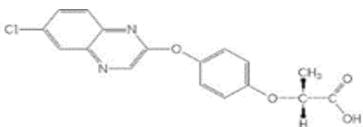
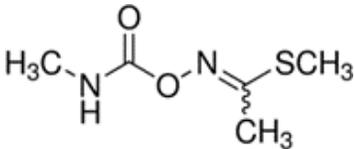
Fonte: elaborado pela autora (2022)

A preparação dos padrões Lufenurom, Clorfenapir, Quizalofope-p-etílico, e Metomil (QUADRO 3) foi realizada em duas etapas representadas pela diluição destes em Hexano, e ocorreu da seguinte forma:

- I. Solução padrão 1: 1 μL de cada pesticida foi adicionado separadamente a seis tubos tipo *Falcon* contendo 10 mL de Hexano
- II. Solução padrão 2: 1 μL de cada solução padrão 1 foi adicionado a seis tubos contendo 5 mL de hexano

Em seguida, 1 μL de cada solução padrão 2 foi adicionado a um tubo tipo *Falcon* contendo 2 gramas de alface, 3 gramas de sulfato de sódio e 10 mL de Hexano. A solução resultante foi submetida a uma centrifugação de 300 rpm por três horas. Ao final, o volume de 1 μL do sobrenadante dessa amostra foi adicionado a um *vial* limpo e submetido a análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM).

Quadro 4- Pesticidas utilizados como padrões e suas respectivas fórmulas químicas

Princípio ativo	Estrutura química	Grupo químico
Lufenuron		Inseticida
Clorfenapir		Inseticida Acaricida
Quizalofope-p-etílico		Herbicida
Metomil		Inseticida e acaricida

Fonte: Dados da autora (2022)

Legenda: quadro relacionando os princípios ativos utilizados como padrões à sua estrutura química e grupo químico.

4.2. PRODUTOS QUÍMICOS E REAGENTES

Os reagentes utilizados para a realização das etapas iniciais (preparo das amostras e preparo das soluções padrão) eram de grau analítico e foram adquiridos no comércio nacional e internacional. O acetato de etila, o hexano, e os princípios ativos, Lufenuron, Clorfenapir, Quizalofope-p-etílico, Metomil e Abamectina. Os equipamentos utilizados foram: balança analítica, centrífuga da marca Hettich zentrifugen, modelo Rotina 380R, CG-EM, marca Shimadzu Corp., modelo QP 2010

Ultra, do Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análises (LMCA) da UFPB Campus João Pessoa- PB.

4.3. INSTRUMENTAÇÃO

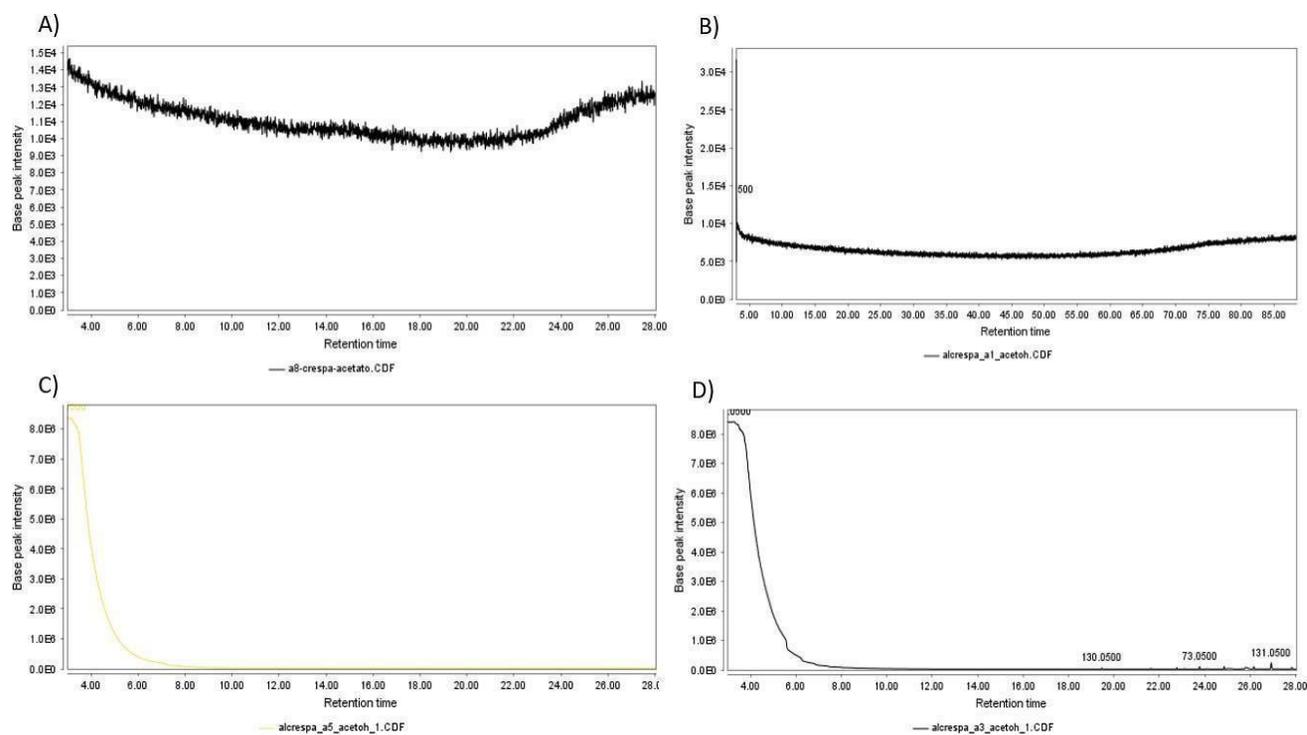
O equipamento utilizado para a quantificação dos pesticidas nas amostras foi o cromatógrafo a gás acoplado a Espectrômetro de Massas, modelo GCMS-QP-2010 Ultra, marca Shimadzu Corp. Este, por sua vez, foi operado sob as seguintes condições: Temperatura inicial de 60 °C hold/3min, sucedida de um aumento de 10 °C/min a 150 °C hold/3 min e, finalmente, 15 °C/min a 270 °C hold, com tempo de espera de cinco minutos.

A temperatura do injetor era de 250°C, o gás de arraste utilizado foi o hélio, com volume de injeção de 2 µL, o instrumento foi operado no modo *splitless* com fluxo de 1 mL/min, utilizando uma coluna capilar RTX-5MS, cuja fase estacionária era constituída de 5% difenil e 95% dimetilpolisiloxano, (30 m de comprimento com 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de filme).

5 RESULTADOS

As análises iniciais foram realizadas utilizando como solventes o Hexano e o Acetato de etila, no entanto, apesar de existirem relatos na literatura que apontam o Acetato de etila com resultados positivos na extração e eluição em análise de vegetais (PINHO, 2007), o mesmo resultado não foi observado neste trabalho, uma vez que este solvente não promoveu uma adequada separação dos picos no cromatograma (FIGURA 3). Portanto, seguiu-se com a análise dos padrões utilizando apenas o hexano como solvente para a extração.

Figura 3- Cromatograma referente à eluição utilizando Acetato de etila como solvente

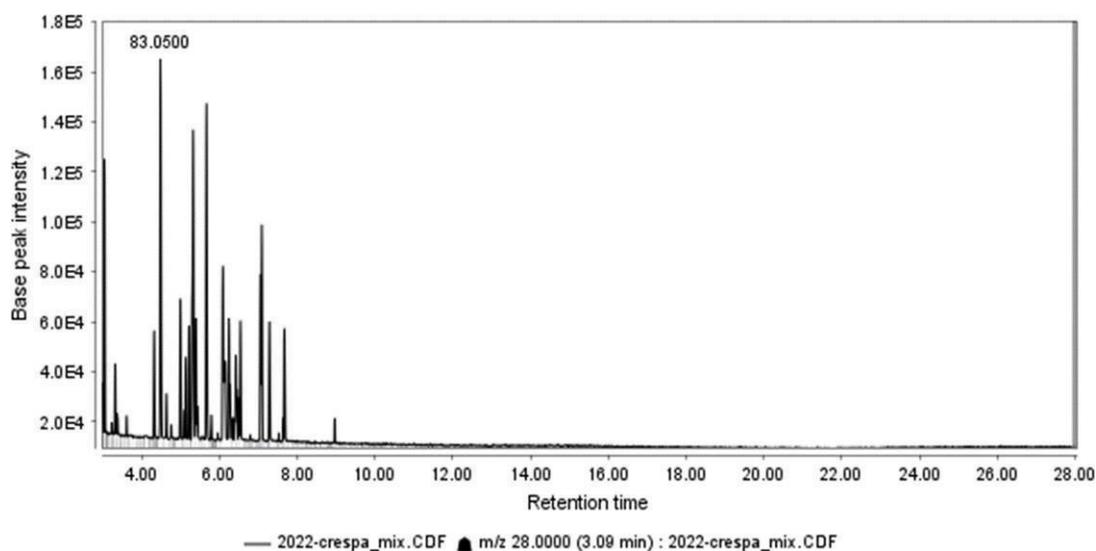


Fonte: dados da autora (2022)

Legenda: cromatogramas de amostras nas quais foi utilizado o Acetato de etila como solvente para eluição das substâncias. A) Al. crespa A8-Acetato. B) Al. crespa A1-Acetato. C) Al. crespa A6-Acetato D) Al. crespa A3-Acetato.

O controle utilizado para análise comparativa dos resultados foi obtido a partir da injeção dos princípios ativos: Lufenurum, Clorfenapir, Quizalofope-p-etílico, Metomil, e Abamectina, em uma amostra de *Lactuca sativa* var *crispa*, que foi denominada “mix alface crespa”. O cromatograma obtido foi utilizado para detectar os picos e tempo de retenção destes pesticidas nas amostras testadas (FIGURA 3).

Figura 4- Cromatograma referente ao mix de padrões injetados em *Lactuca sativa* var. *crispa*

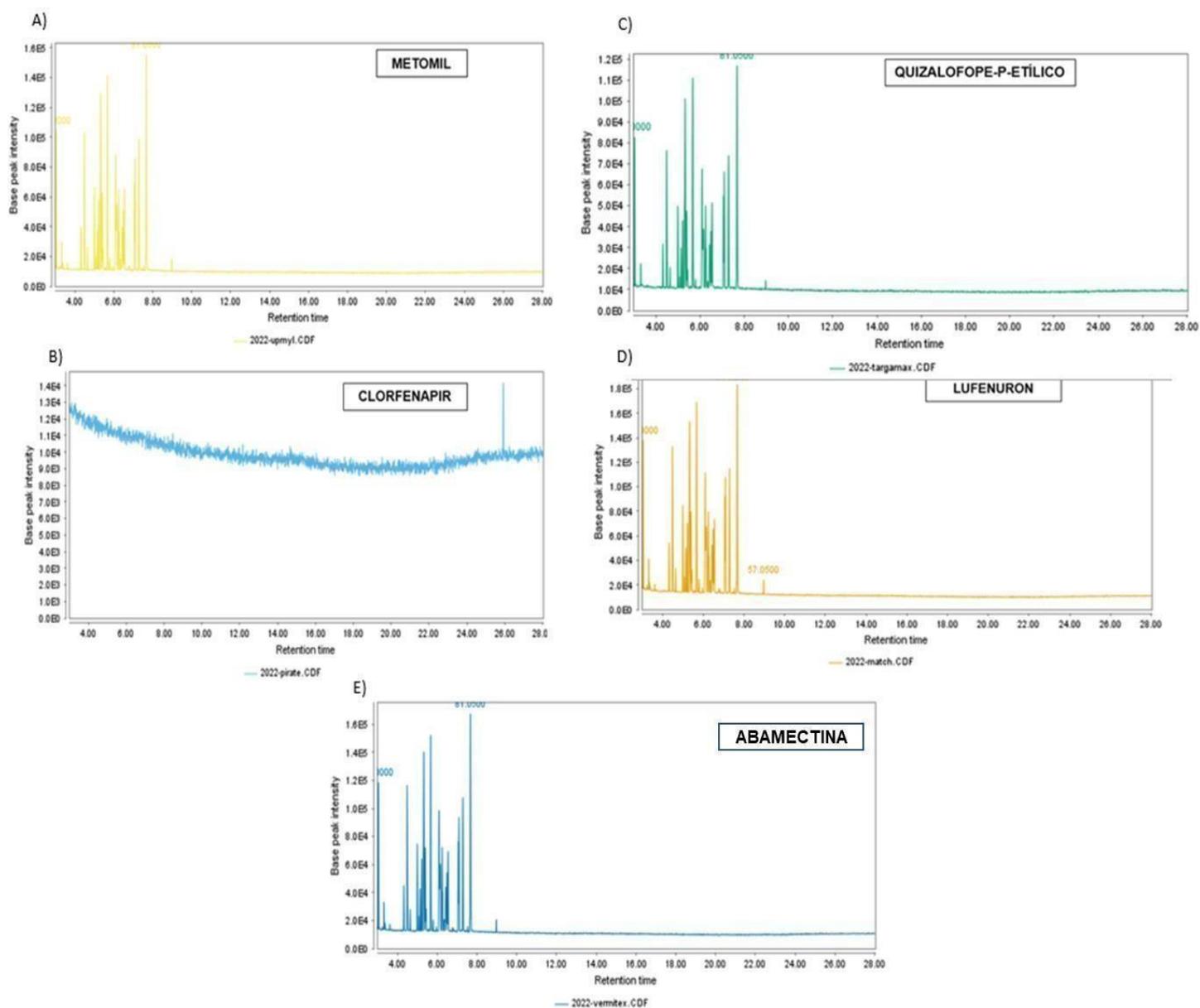


Fonte: Dados da autora (2022)

Legenda: cromatograma obtido a partir da injeção dos padrões Lufenurom, Clorfenapir, Quizalofope-p-etílico, Metomil, em amostra de *Lactuca sativa* var. *crispa*

A partir da análise dos cromatogramas que mostram o tempo de retenção de cada padrão separadamente, representados na figura 4, observa-se que o método empregado para análise, programação, temperatura, coluna e fluxo do gás de arraste, proporcionou uma distribuição adequada dos princípios ativos pesquisados.

Figura 5- Cromatogramas referentes aos tempos de retenção de cada padrão utilizado em amostra de *Lactuca sativa* var. *crispa*



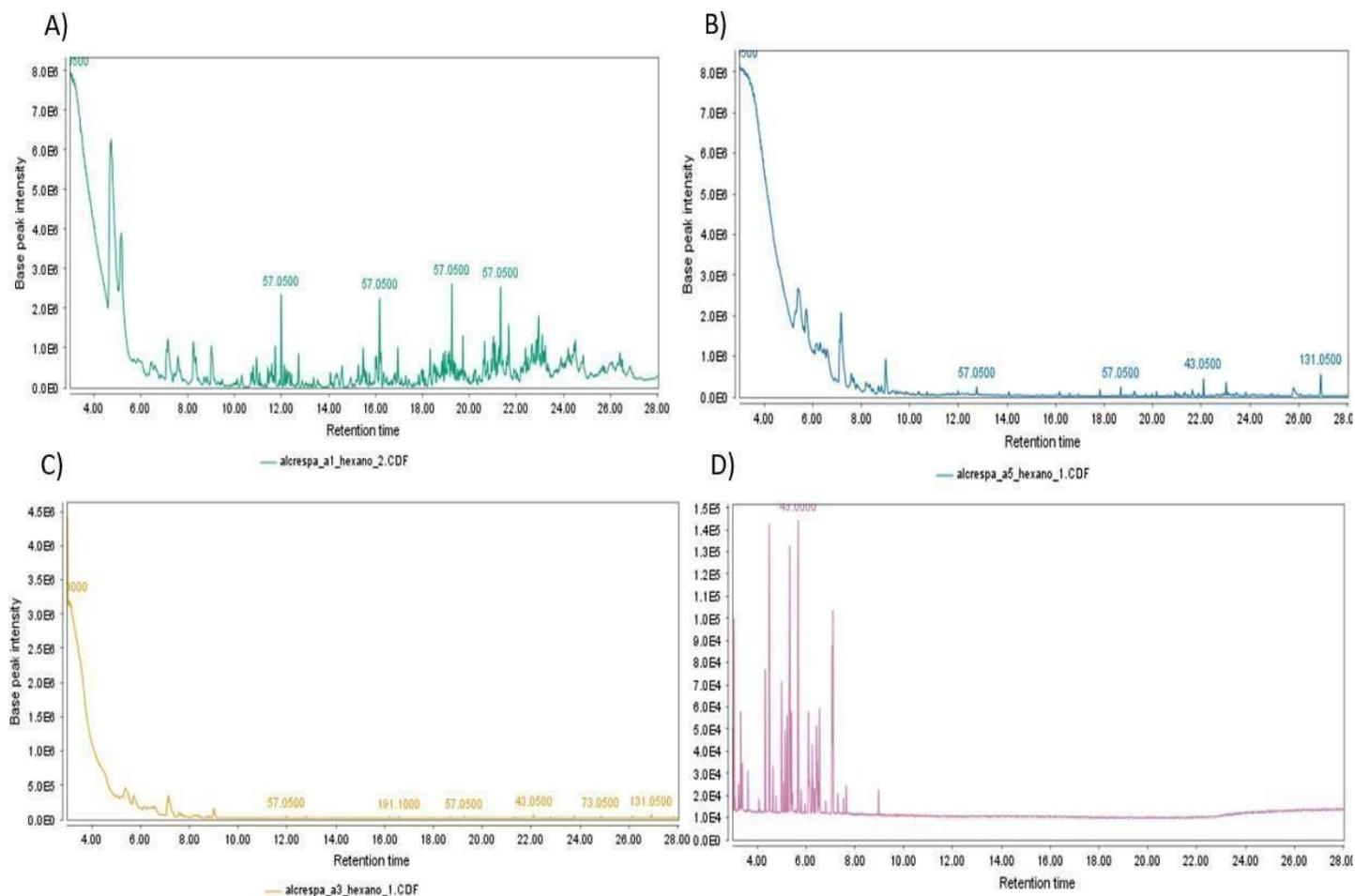
Fonte: dados da autora (2022)

Legenda: cromatogramas com tempos de retenção dos padrões: A) Metomil. B) Clorfenapir. C) Quizalofope-p-etílico. D) Lufenuron. E) Abamectina.

No entanto, comparando-se os cromatogramas dos picos de retenção dos padrões (FIGURA 5) com o cromatograma das amostras 1, 3, 5 e 7 de *Lactuca sativa*

var. *crispa* (FIGURA 6), obtidas dos locais A, B, C e D, nota-se que não houve semelhança entre os picos pesquisados.

Figura 6- Cromatogramas referentes às amostras de *Lactuca sativa* var. *crispa*



Fonte: Dados da autora (2022)

Legenda: cromatograma obtido no modo *splitless*. A) Amostra 1, coletada no local A. B) Amostra 3, coletada no local B. C) Amostra 5, coletada no local C. D) Amostra 7, coletada no local D.

6 DISCUSSÃO

Os agrotóxicos escolhidos para este trabalho foram Lufenurom, Clorfenapir, Quizalofop-e-p-etílico, Metomil, a seleção foi baseada nos boletins informativos que citam estes como principais ativos no combate a pragas que acometem a culturas folhosas (ANVISA, 2022).

O Lufenurom, é um inseticida não autorizado utilizado em culturas como as de alface. Atua inibindo ou bloqueando a síntese de quitina, principal componente do exoesqueleto dos insetos, e devido a característica das substâncias pertencente a este grupo, de não serem específicas, podem acumular-se nos compartimentos aquáticos causando efeitos prejudiciais, uma vez que são extremamente tóxicos para organismos deste ecossistema. (GHASEMZADEH; SINAIEI; BOLOUKI, 2015).

Além destes, a Abamectina, Clorfenapir e o Metomil, inseticidas, e o Quizalofop-e-p-etílico, herbicida, são autorizados para utilização em culturas de tomate, batata, algodão, mamão, melão, melancia. No entanto, seus resíduos já foram encontrados em amostras de alface, mesmo não sendo legalizado para este tipo de cultura (ANVISA, 2019).

Neste sentido, apesar de objetivarem o controle de pragas e reduções de danos aos cultivos agrícolas, estes pesticidas atuam negativamente sobre a saúde humana, e a ocorrência de efeitos colaterais decorrentes da contaminação de alimentos por estas substâncias é bem estabelecida na literatura. Em contrapartida, o senso comum corrobora com o aumento das intoxicações devido a cobrança, por parte dos consumidores, em relação ao aspecto de hortaliças consumidas “in natura”, uma vez que buscam os vegetais maiores e mais atrativos, em detrimento de produtos orgânicos (BRASIL, 2002; EMBRAPA, 2012; THEOPHILO, 2014; YUSHANANTA et al, 2020).

Assim, os produtores, visando atender as expectativas do consumidor, fazem uso cada vez maior de pesticidas em cultivos de hortaliças. Logo, devido ao consumo exacerbado de pesticidas no Brasil, faz-se necessário a monitoração destes alimentos mediante as práticas de produção agrícola, a fim de minimizar os riscos à saúde humana (MAHMOOD et al., 2016).

Neste contexto, foi utilizado neste trabalho o detector de cromatografia gasosa, que possui elevada sensibilidade para compostos voláteis, possibilitando a quantificação dos pesticidas pesquisados. A identificação destes é realizada por comparação entre os cromatogramas que mostram o tempo de retenção de cada substância. Todavia, resultados obtidos não evidenciaram a presença de resíduos ou subprodutos dos pesticidas pesquisados nas amostras testes.

Logo, a não detecção de resíduos nas amostras pesquisadas não significa que estas estavam isentas de pesticidas, mas sim que dentre as condições cromatográficas e metodologia estudada, não foram encontrados sinais de detecção.

Diante disso, alguns aspectos devem ser considerados para os resultados encontrados neste trabalho, são eles: o número de amostras teste foi pequeno, foram utilizados poucos padrões de agrotóxicos para a pesquisa de resíduos, pode ter ocorrido degradação dos resíduos de agrotóxicos das amostras, tendo em vista que cada substância possui condições de estabilidade específicas. Ademais, o tempo para realização do estudo foi curto.

Além disso, o fato dessas amostras terem sido coletadas de feiras livres, e não diretamente do local onde foram cultivados pode ter influência na perda dos analitos e conseqüentemente em sua detecção pelo método cromatográfico utilizado. Por se tratarem de substâncias extremamente voláteis, o processamento do material está intimamente relacionado com a concentração de pesticidas na amostra teste.

Para uma análise mais específica, semelhante à realizada pelo Programa de Análise de Resíduos em Agrotóxicos (PARA), seriam necessários um número maior de princípios ativos e amostras para serem pesquisados, bem como um tempo maior para a realização das análises.

7 CONCLUSÕES

Conclui-se que os resultados obtidos não evidenciaram a presença de resíduos ou subprodutos dos pesticidas pesquisados nas amostras testes através da metodologia utilizada, fazendo-se necessário, variações no método, bem como adequações no preparo da amostra.

É necessário ampliar o número de amostras teste e o número de padrões de agrotóxicos para a pesquisa de resíduos, fatores como degradação dos resíduos de agrotóxicos das amostras podem ter ocorrido, tendo em vista que cada substância possui condições de estabilidade específicas. Ademais, o tempo para realização do estudo foi curto.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR-MENEZES, E. de L. **Inseticidas botânicos**: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Embrapa Agrobiologia, 58p, 2005.
- AL-SALEH, Iman A. Pesticides: a review article. **Journal of environmental pathology, toxicology and oncology**: official organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer, v. 13, n. 3, p. 151-161, 1994.
- ALVES, Raysa M. et al. Leaf-surface characterization and the effects of the herbicide saflufenacil on the leaves of weeds. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 4, p. 550-555, 2014. BAIRD, C. Chemistry in your life. 2. ed. New York: W. H. Freeman, 2006.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. “**Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos PARA**: relatório das amostras analisadas no período de 2017-2018: primeiro ciclo do Plano Plurianual 2017-2020. 2019.
- ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Monografia de agrotóxicos**. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acesoainformacao/dadosabertos/informacoes-analiticas/monografias-de-agrotoxicos>. Acesso em: 14 jun. 2022.
- ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da diretoria colegiada - RDC nº 294, de 29 de julho de 2019. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-294-de-29-de-julho-de-2019-207941987>. Acesso em: 14 jun. 2022.
- BARRIÈRE, Virginie et al. Lettuce cropping with less pesticides. A review. **Agronomy for sustainable development**, v. 34, n. 1, p. 175-198, 2014.
- BLANKSON, G. K. et al. Contamination levels of organophosphorus and synthetic pyrethroid pesticides in vegetables marketed in Accra, Ghana. **Food control**, v. 68, p. 174-180, 2016.
- BONNER, Matthew R.; ALAVANJA, Michael CR. Pesticides, human health, and food security. **Food and Energy Security**, v. 6, n. 3, p. 89-93, 2017.
- BRITO, Paula Fernandes de; GOMIDE, Márcia; CÂMARA, Volney de Magalhães. **Agrotóxicos e saúde**: realidade e desafios para mudança de práticas na agricultura. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 19, n. 1, p. 207-225, 2009.

COSTA, Emerson Luís Nunes; SILVA, RFP da; FIUZA, Lidia Mariana. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 26, n. 2, p. 173-185, 2004.

DOMINGUES, Mara Regina et al. Agrotóxicos: risco à saúde do trabalhador rural. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 25, n. 1, p. 45-54, 2004.

DE ALMEIDA BARBOSA, Luiz Cláudio. **Os pesticidas, o homem e o meio ambiente**. UFV, 2004.

OLIVEIRA, Antonio Carlos Baião et al. Divergência genética e descarte de variáveis em alface cultivada sob sistema hidropônico. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 26, n. 2, p. 211-217, 2004.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Hortaliças. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **A importância nutricional das hortaliças**, n. 2, ano 1, 2012.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Hortaliças. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Desempenho produtivo de cultivares de alface crespa**, 1 ed., Brasília – DF, 2013.

GHASEMZADEH, Javad; SINAEI, Mahmood; BOLOUKI, Mehdi. Biochemical and histological changes in fish, spotted scat (*Scatophagus argus*) exposed to diazinon. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 94, n. 2, p. 164-170, 2015.

GREENPEACE. **Rodrigo Pacheco, de que lado você está: da destruição ou da vida?** Disponível em: <https://www.greenpeace.org.br/pacheco-destruicao-ou-vida??>. Acesso em: 23 jun. 2022.

JARDIM, Isabel Cristina Sales Fontes; ANDRADE, Juliano de Almeida; QUEIROZ, Sonia Claudia do Nascimento de. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global-Um enfoque às maçãs. **Química Nova**, v. 32, p. 996-1012, 2009.

KIM, Soon-Il et al. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored products research**, v. 39, n. 3, p. 293-303, 2003.

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.

LIGIERO, Carolina Bastos Pereira et al. Comparação entre métodos de quantificação em cromatografia gasosa: um experimento para cursos de química. **Química Nova**, v. 32, p. 1338-1341, 2009.

MAHMOOD, Isra et al. Effects of pesticides on environment. In: **Plant, soil and microbes**. Springer, Cham, p. 253-269, 2016.

MELLO, Júlio César et al. Efeito do cultivo orgânico e convencional sobre a vida-de-prateleira de alface americana (*Lactuca sativa* L.) minimamente processada. **Food Science and Technology**, v. 23, n. 3, p. 418-426, 2003.

MENDES, CÁSSIA REGINA ALVES et al. AGROTÓXICOS: principais classificações utilizadas na agricultura brasileira-uma revisão de literatura. **Revista Maestria**, n. 17, p. 95-107, 2019.

MENEZES FILHO, Adalberto. **Desenvolvimento, validação e aplicação de metodologias para determinação de resíduos de agrotóxicos em manga por SPME-GC-MS e SPME-HPLC-UV-Vis**. 2010.

MOREIRA, Josino C. et al. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 7, n. 2, p. 299-311, 2002.

NASCIMENTO, Ronaldo Ferreira do et al. **Cromatografia gasosa: aspectos teóricos e práticos**. 2018.

PASTRELLO, Bruna. **Otimização de um método cromatográfico de análise de pesticidas organoclorados em amostras de peixes**. 2013.

PAVANI, Nilton Dias. **Pesticidas: uma revisão dos aspectos que envolvem esses compostos**. 2016.

PAVUK, Marian et al. Dibenzo-p-dioxinas policloradas (PCDDs), dibenzofuranos policlorados (PCDFs) e bifenilos policlorados semelhantes a dioxinas (PCBs) no soro de veteranos da Força Aérea dos EUA em 2002. **Chemosphere**, v. 68, n. 1, p. 62-68, 2007.

PENTEADO, José Carlos P.; MAGALHÃES, Dulce; MASINI, Jorge C. Experimento didático sobre cromatografia gasosa: uma abordagem analítica e ambiental. **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 2190-2193, 2008.

PERES, Frederico; MOREIRA, Josino Costa. **É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente**. Editora Fiocruz, 2003.

PINHO, Gevany Paulino de. **Extração de pesticidas em amostras de tomate pelas técnicas: extração sólido-líquido e purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) e dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) para análise por cromatografia gasosa**. 2007.

PRESTES, Osmar D. et al. QuEChERS: um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1620-1634, 2009.

RIGOTTO, Raquel Maria; VASCONCELOS, Dayse Paixão; ROCHA, Mayara Melo. Uso de agrotóxicos no Brasil e problemas para a saúde pública. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, p. 1360-1362, 2014.

SILVA, CMMS; FAY, E. F. **Agrotóxicos e ambiente Brasília**: Embrapa Informação Tecnológica. v. 1. 2004.

SOUZA, Aline Habibe de et al. **Desafios e reflexões na contemporaneidade**: um estudo sobre a indústria de Agrotóxicos. 2016.

THEOPHILO, Camila Fontoura. Agrotóxicos permitidos no cultivo das frutas e verduras mais consumidas pela população brasileira e algumas de suas implicações na saúde. **Revista da Graduação**, v. 7, n. 1, 2014.

YURI, J. E. **Alface americana**: cultivo comercial. UFLA, 2002.

YUSHANANTA, Prayudhy et al. Risk of pesticides on anaemia events in horticulture farmers. **International Journal of Innovation, Creativity and Change**, v. 13, n. 2, p. 30-40, 2020.