

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO

FABIANO BUENO GARDIM

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE MÉTODOS
ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE
AGROTÓXICOS EM FLUÍDOS BIOLÓGICOS**

BAURU
2013

FABIANO BUENO GARDIM

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE MÉTODOS
ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE
AGROTÓXICOS EM FLUÍDOS BIOLÓGICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências Exatas e Sociais Aplicadas como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Química, sob a orientação do Prof. Me. Fernando Tozze Alves Neves.

BAURU
2013

G219a	<p data-bbox="492 1312 784 1339">Gardim, Fabiano Bueno</p> <p data-bbox="492 1375 1243 1497">Avaliação comparativa de métodos analíticos para determinação de agrotóxicos em fluidos biológicos / Fabiano Bueno Gardim -- 2013. 33f. : il.</p> <p data-bbox="544 1533 1175 1560">Orientador: Prof. Me. Fernando Tozze Alves Neves.</p> <p data-bbox="492 1596 1243 1656">Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Química) – Universidade do Sagrado Coração – Bauru – SP.</p> <p data-bbox="492 1692 1243 1780">1. Organoclorados. 2. Organofosforados. 3. Carbamatos. 4. Métodos. 5. Analíticos. I. Neves, Fernando Tozze Alves. II. Título.</p>
-------	--

FABIANO BUENO GARDIM

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA
DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM FLUÍDOS BIOLÓGICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências Exatas e Sociais Aplicadas da Universidade do Sagrado Coração como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Química sob orientação do Prof. Me. Fernando Tozze Alves Neves.

Banca examinadora:

Prof. Me. Fernando Tozze Alves Neves
Universidade do Sagrado Coração

Prof^a Esp. Marly Richter Barnabé
Universidade do Sagrado Coração

Prof. Me Dorival Roberto Rodrigues
Universidade do Sagrado Coração

Bauru, 18 de junho de 2013

AGRADECIMENTO

É difícil agradecer todas as pessoas que de algum modo, nos momentos serenos e ou apreensivos fizeram ou fazem parte da minha vida, por isso, agradeço a todos de coração.

Agradeço primeiramente o meu orientador professor Fernando Tozze Alves Neves, pela paciência, pela dedicação e por sua generosidade por ter aceitado este desafio, demonstrando seus conhecimentos e sua confiança neste trabalho, dando-me total atenção em todos os momentos em que necessitei.

Agradeço todos os professores envolvidos diretamente ou indiretamente para minha formação acadêmica, ao professor Dorival Roberto Rodrigues por mudar meu conceito errado sobre a química por me fazer entender a importância desta disciplina, a professora Setsuko Sato pelas exigências e rigor transmitida ao longo de todo trabalho, a professora Ana Paula Cerino Coutinho pela atenção e dedicação nesta fase de conclusão do meu trabalho.

Agradeço a duas mulheres especiais, minha mãe e minha esposa, que sempre me apoiaram principalmente nos momentos mais difíceis, e por sempre estarem torcendo pelo meu sucesso e a todos que me apoiam por todas as oportunidades que me proporcionam e a tudo aquilo me ensinou e todo o apoio que desde sempre tenho recebido.

A todos, muito obrigado!

RESUMO

Os agrotóxicos são produtos químicos utilizados para combater pragas, sendo também chamados de praguicidas, pesticidas, defensivos agrícolas, agroquímicos ou biocidas. Todos os representantes desta classe de agentes tóxicos são potencialmente perigosos, podendo causar danos à saúde de pessoas, animais e ao meio ambiente. Estudos brasileiros e em outros países têm destacado os elevados custos para a saúde humana, ambiental e mesmo perdas econômicas na agricultura, devido ao uso de pesticidas. Desta forma, pode-se considerar que a investigação dos casos de intoxicação dos acidentes ocupacionais com agrotóxicos pode ser considerada uma área de avaliação ocupacional de interesse. Na literatura científica encontramos diversos tipos de métodos analíticos descritos sobre a análise de agrotóxicos, entretanto poucos trabalhos fornecem todas as informações necessárias. Sendo assim, este trabalho apresentou como objetivo identificar e descrever de forma comparativa os parâmetros analíticos das metodologias utilizadas para a determinação de compostos químicos agrotóxicos em diferentes fluidos biológicos. Foram realizadas pesquisas bibliográficas em sites especializados no assunto e em livros de toxicologia e foram confrontados os termos: "TOXICOLOGY ANALYSIS"; "CARBAMATES"; "ORGANOPHOSPHORES"; "ORGANOCHLORINE". Foram encontrados diferentes trabalhos científicos que apresentaram variações quanto ao tipo de metodologia empregada na análise dos compostos organoclorados, organofosforados e carbamatos, quanto aos aspectos de tipo de fluido biológico, método utilizado e limites de avaliação. Para compostos organoclorados, organofosforados e carbamatos, o método de escolha é cromatografia gasosa, sendo esta normalmente acoplada a espectrometria de massa. Esta combinação de métodos possibilita a aplicação desta análise em diferentes materiais biológicos e com a vantagem de apresentar uma faixa de limite de detecção e quantificação variável.

Palavras-chave: Organoclorados. Organofosforados. Carbamatos. Métodos analíticos.

ABSTRACT

Pesticides are chemicals used to combat pests, and are also called pesticides, agrochemicals and biocides. All representatives of this class of toxic agents are potentially dangerous and can cause harm to the health of people, animals and the environment. Studies in Brazil and other countries have highlighted the high cost to human health, environmental and even economic losses in agriculture due to the use of pesticides. Thus, it can be considered that the investigation of cases of poisoning accidents with pesticides can be considered an area of occupational interest assessment. In the scientific literature, there are multiple analytical methods described on the analysis of pesticides, however, few papers provide all necessary information. Therefore, this work presented to identify and describe the comparative form of the analytical methods used for the determination of pesticide chemicals in different biological fluids. Literature searches were performed on specialized sites and books on the subject of toxicology and were confronted terms: "ANALYSIS TOXICOLOGY" "Carbamates"; "ORGANOPHOSPORES"; "organochlorine". Found different scientific studies showed variations in the type of methodology used in the analysis of organochlorines, organophosphates and carbamates, in the matters of biological fluid type, method and limits of the evaluation. For organochlorines, organophosphates and carbamates, the method of choice is gas chromatography, which is typically coupled to mass spectrometry. This combination of methods allows the application of this analysis in different biological materials and with the advantage of providing a range of limit of detection and quantitation variable.

Key words: Organochlorine. Organophosphores. Carbamates. Analytical Methods.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Hexaclorocicloexano	12
Figura 2 – Fórmula estrutural do DDT	13
Figura 3 – Biotransformação do DDT em DDE	13
Figura 4 – Produtos de biotransformação do DDT	14
Figura 5 – Fórmula estrutural do ácido fosfórico	16
Figura 6 – Fórmula estrutural do paration metílico	16
Figura 7 – Biotransformação do paration	17
Figura 8 – Fórmula estrutural do propoxur	19
Figura 9 – Hidrólise do carbaril em alfa-naftol	21
Figura 10 – Registros de intoxicações.....	22
Figura 11 - Relação entre os compostos agrotóxicos e os tipos de fluidos utilizados nas análises toxicológicas	27
Figura 12 - Relação entre os compostos agrotóxicos, tipos de fluidos e metodologias utilizadas nas análises toxicológicas	27

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	OBJETIVOS	10
2.1	OBJETIVO GERAL	10
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3	DESENVOLVIMENTO	11
3.1	COMPOSTOS QUÍMICOS UTILIZADOS COMO AGROTÓXICOS	11
3.1.1	Organoclorados	11
3.1.1.1	<i>Estruturas químicas e propriedades</i>	12
3.1.1.2	<i>Aspectos toxicocinéticos e toxicodinâmicos</i>	13
3.1.1.3	<i>Métodos analíticos para análise de intoxicação</i>	14
3.1.2	Organofosforados	15
3.1.2.1	<i>Estruturas químicas e propriedades</i>	16
3.1.2.2	<i>A toxicocinéticos e toxicodinamicos</i>	17
3.1.2.3	<i>Métodos analíticos para análise de intoxicação</i>	18
3.1.3	Carbamatos	19
3.1.3.1	<i>Estruturas químicas e propriedades</i>	19
3.1.3.2	<i>Aspectos toxicocinéticos e toxicodinamicos</i>	20
3.1.3.3	<i>Métodos analíticos para análise de intoxicação</i>	20
3.2	ASPECTOS LEGAIS E OCUPACIONAIS DA EXPOSIÇÃO	21
4	MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1	MATÉRIAS	24
4.2	MÉTODOS	24
5	RESULTADOS	25
6	CONCLUSÃO	29
	REFERENCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos são produtos químicos utilizados para combater pragas, sendo também chamados de praguicidas, pesticidas, defensivos agrícolas, agroquímicos ou biocidas. Todos os representantes desta classe de agentes tóxicos são potencialmente perigosos, podendo causar danos à saúde de pessoas, animais e ao meio ambiente. É a classe de produtos químicos que mais leva a óbito, e suas intoxicações ocorrem principalmente por duas formas de contato: contato direto (no preparo, aplicação ou qualquer tipo de manuseio com o produto) ou pelo contato indireto (contaminação de água e alimentos ingeridos). (BRASIL, 2006).

O uso de agrotóxicos na agricultura apresenta-se como uma prática frequente, por meio do uso de diversos tipos de compostos químicos diferentes, sendo que, diversas publicações científicas têm apontado as intoxicações por agrotóxicos como um grave problema de saúde, especialmente entre trabalhadores rurais. (FARIA; FASSA; FACCHINI, 2007).

De acordo com publicações da Organização Internacional do Trabalho (OIT) 2,2 milhões de pessoas anualmente morrem de acidentes e doenças relacionadas ao trabalho. Além disso, 160 milhões de pessoas adquirem novas doenças devido a falta ou uso inadequado de equipamentos individual de segurança (EPI). (ILO, 2008).

Estudos realizados entre trabalhadores de países em desenvolvimento no ano de 2005 pela Organização Internacional do Trabalho/Organização Mundial da Saúde (OIT/OMS) estimam que os agrotóxicos causam anualmente 70 mil intoxicações agudas e crônicas que evoluem para óbito e pelo menos 7 milhões de doenças agudas e crônicas não fatais. (ILO/WHO, 2005; ILO, 2005).

Estudos brasileiros e em outros países têm destacado os elevados custos para a saúde humana, ambiental e mesmo perdas econômicas na agricultura, devido ao uso de pesticidas. (SOARES; MORO; ALMEIDA, 2002; GARCIA, 2008).

Neste sentido para contrapor-se aos efeitos nocivos da poluição do ar, das águas, dos alimentos, e para diminuir os riscos provocados pelo exagerado aumento do arsenal terapêutico e disponibilidade crescente das drogas de abuso e outros produtos químicos, a toxicologia como ciência e os seus representantes, os toxicologistas, precisam estar preparados e atentos para a resolução dos problemas

de intoxicação nas suas diversas formas, principalmente na área ocupacional. (MORAES; SZNELWAR; FERNICOLA, 1991).

Por intoxicação entendemos a manifestação (clínica e/ou laboratorial) de efeitos adversos que se revelam num estado patológico ocasionado pela interação de um toxicante, isto é, de um agente químico, com o organismo. Os agentes tóxicos seriam, portanto, substâncias químicas que rompem o equilíbrio orgânico, ou seja, substâncias que provocam alterações na normal homeostase do organismo. (LARINI, 1997).

A intoxicação propriamente dita só pode ser definida a partir da ocorrência simultânea dos três elementos básicos da Toxicologia: a) a existência de uma substância química (agente) capaz de produzir uma determinada resposta num organismo vivo, b) a identificação do sistema (organismo) sobre o qual a substância poderá interagir e c) a necessidade de que a resposta (efeito) possa ser considerada nociva ao sistema com o qual interage. (MOREAU; SIQUEIRA, 2008).

A avaliação toxicológica de um composto praguicida compreende o estudo dos dados toxicológicos do composto puro, do produto técnico e de suas formulações, em animais de laboratório e em outros sistemas de provas. Na avaliação toxicológica dos praguicidas não existem dados que devem ser considerados de maior ou menor importância; todos devem ser igualmente analisados e interpretados. (LARINI, 1999).

Desta forma, pode-se considerar que a investigação dos casos de intoxicação dos acidentes ocupacionais com agrotóxicos está inserida na área da Toxicologia Ocupacional, a qual se utiliza de conceitos e conhecimentos de diversas áreas da química como Química Analítica (qualitativa, quantitativa e instrumental), Química Orgânica, Química Inorgânica. (MOREAU, 2008).

Atualmente encontramos disponíveis na literatura científica diferentes tipos de metodologias descritas para a análise de intoxicações por agrotóxicos. Entre estas metodologias podemos destacar as análises espectrofotométricas e cromatográficas. Tais metodologias diferem quanto ao tipo e quantidade de fluido biológico utilizado e quanto a parâmetros analíticos para a sua realização como exatidão, precisão (reprodutibilidade e repetibilidade), linearidade, limite de quantificação, limite de detecção e robustez. (LARINI, 1997).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Identificar e descrever de forma comparativa os parâmetros analíticos das metodologias utilizadas para a determinação de compostos químicos agrotóxicos em diferentes fluídos biológicos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificar e caracterizar as principais informações das estruturas químicas dos compostos químicos organoclorados, organofosforados e carbamatos.

Identificar e descrever as principais características toxicocinéticas e toxicodinâmicas dos compostos químicos organoclorados, organofosforados e carbamatos.

Descrever de forma comparativa os métodos analíticos utilizados para a determinação de compostos químicos organoclorados, organofosforados e carbamatos em diferentes tipos de fluidos biológicos a partir dos parâmetros de análise química.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 COMPOSTOS QUÍMICOS UTILIZADOS COMO AGROTÓXICOS

Os agrotóxicos pertencem a diferentes grupos químicos, entre eles os mais estudados são os:

- Organoclorados
- Organofosforados
- Carbamatos

A utilização de praguicidas em todo território brasileiro tem tido um aumento considerável depois do grande conflito bélico (Do latim bellícus, a palavra bélico é um adjetivo que permite fazer referência àquilo que pertence ou diz respeito à guerra. Um conflito bélico, por exemplo, é um conflito armado que deixa entrever a envergadura dos acontecimentos, o poder de destruição de armas seja química ou biológicas, faz com que a guerra implique na milhares de mortes de pessoas). especialmente nos últimos dez anos, o termo agrotóxicos no sentido geral inclui todos os compostos químicos usados na agricultura com a finalidade de destruir, repelir ou mitigar pragas (insetos, ácaros, nematódeos, roedores e outras formas de vida animal, fungos, plantas daninhas terrestres e aquáticas). Contudo, os agrotóxicos são potencialmente tóxico ao homem e aos organismos vivos relacionados com seu ecossistema, devido esses efeitos, são estabelecidas medidas preventivas para que a probabilidade de ocorrência de efeitos injuriosos seja mantida em níveis compatíveis com a vida. (LARINI, 1999).

3.1.1 Organoclorados

São compostos orgânicos, geralmente de estruturas diferentes, nos quais se substituem um ou vários átomos de hidrogênio por cloro, e como todo inseticida que contenha cloro e seja relacionado ao DDT (diclorodifeniltricloroetano) ou de atividade semelhante, é classificado como organoclorado. Os principais exemplos são DDD (Diclorodifenildicloroetano), DFDT (Difluorodifeniltricloroetano), BHC (Hexaclorocicloexano) entre outros. A utilização desse tipo de inseticida foi banido

no Brasil devido ao efeito acumulativo, não apenas no solo, mas também no organismo. (BRITO FILHO, 1988).

3.1.1.1 Estruturas químicas e propriedades

São compostos de estruturas cíclicas, com peso molecular de 290 a 545 g.mol⁻¹, com propriedades físico-químicas semelhantes, bastante lipofílicos e altamente resistentes aos mecanismos de decomposição dos sistemas biológicos. Os principais compostos organoclorados são o BHC (Figura 1) e o DDT (figura 2). (OGA, 1996; LARINI, 1999).

O Hexaclorocicloexano conhecido popularmente pela sigla BHC, apresenta a nomenclatura química de 1, 2, 3, 4, 5, 6-hexaclorocicloexano. Sua fórmula Molecular é C₆H₆Cl₆ e peso molecular 290,80 g.mol⁻¹. É constituído de diversos isômeros, sendo os principais o alfa, o beta, o gama, o delta e o épsilon, os quais apresentam diferenças quanto as suas características físicas e químicas (Tabela 1).

Tabela 1 - Toxicidade dos isômeros do hexacloroexano.
Fonte: Larini (1999, p.31).

Características físicas e químicas	Isômeros				
	Alfa	Beta	Gama	Delta	Épsilon
Ponto de fusão	159-160	309-310	112 – 113	138 - 139	219 – 220
Solubilidade (%)					
Acetona	14	10	43	71	32
Benzeno	10	2	29	41	-
Éter etílico	6	2	20	36	3
Etanol	2	1	6	24	4
Metanol	2	2	7	27	4
Xileno	8	3	25	42	-
Toxicidade em ratos					
DL 50 (mg/kg) oral	500	6000	90	1000	-
DL 50 (mg/kg) dérmica	-	-	900	-	-

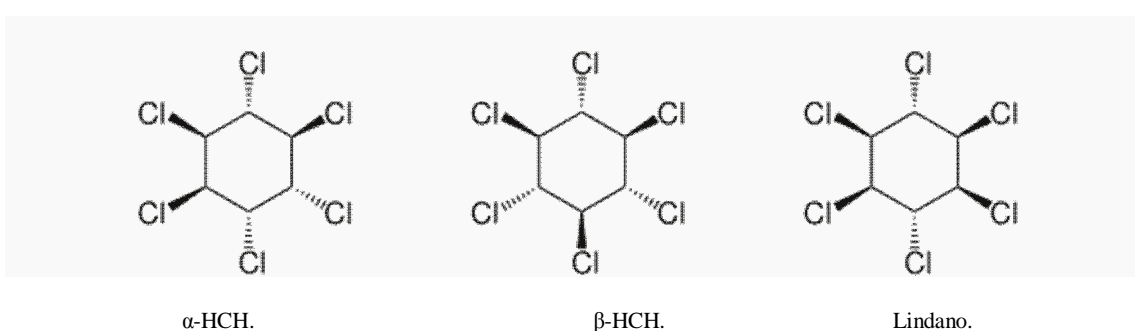


Figura 1 – Isômeros do hexaclorocicloexano.
Fonte: Larini (1999, p.40); Larini (1997, p.172-173).

O Diclorodifeniltricloroetano conhecido popularmente pela sigla DDT, apresenta também outros nomes de uso comercial como dicofene, clorofenotane, clorofenan, penticide, paracloride, neocid e cerasol. Apresenta-se como um pó cristalizado, branco ou creme, solúvel em solventes orgânicos. Sua faixa de fusão varia entre 80 e 90°C. Sua fórmula molecular $C_{14}H_9Cl_5$ e peso molecular 354,49 $g.mol^{-1}$. (BRITO FILHO, 1988).

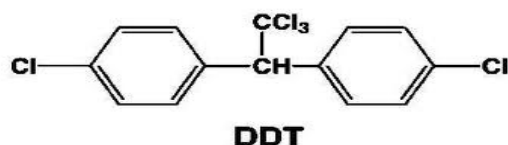


Figura 2 - Fórmula estrutural DDT.
Fonte: Oga (1996, p. 476).

A decomposição dos praguicidas no ambiente ocorre por diferentes processos como pela ação bacteriana, por reações fotoquímicas e por reações químicas (Figura 3) como oxidação, redução, hidrólise, interação com radicais livres e substituições nucleofílicas.

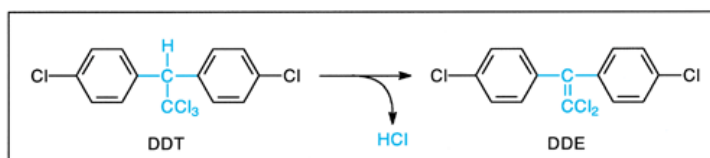


Figura 3 - Biotransformação do DDT em DDE.
Fonte: Klaassen (2008, p.195).

Na tabela 1 verificam-se variações quanto a ponto de fusão, % de solubilidade e toxicidade em animais experimentais. Pode-se verificar que o isômero gama apresenta ao mesmo tempo menor faixa de ponto de fusão e maior toxicidade pela via oral em ratos.

3.1.1.2 Aspectos toxicocinéticos e toxicodinâmicos

Os inseticidas organoclorados são altamente lipossolúveis, sendo rapidamente absorvidos pela membrana no trato gastrointestinal nos casos de ingestão acidental ou tentativa de autoextermínio pela via oral. Pela via respiratória,

pode ocorrer absorção em indivíduos que trabalham nas indústrias de formulação destes produtos químicos e naqueles que trabalham na aplicação no campo sob a forma de pulverização nos casos ocupacionais ou acidentais. Essa absorção é distribuída uniformemente pelo organismo, concentrando-se nos tecidos gordurosos, especialmente no tecido abdominal, no cérebro e fígado. Após as etapas toxicocinéticas de absorção e distribuição, estes compostos são submetidos a processos complexos de biotransformação com a produção de diversos compostos (Figura 4), destacando-se fenóis e mercapturados. Estes metabólitos podem ser excretados na urina em diferentes proporções e em variáveis intervalos de tempo (LARINI, 1997).

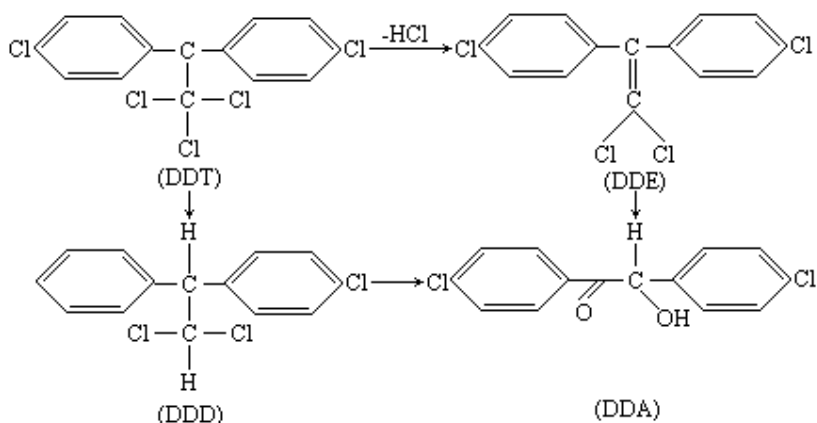


Figura 4 - Produtos de biotransformação do DDT.
Fonte: Brito Filho (1988, p.277).

3.1.1.3 Métodos analíticos para a análise de intoxicações

Na análise de compostos organoclorados, podemos encontrar diferentes métodos analíticos disponíveis como as técnicas cromatográficas.

Segundo Moraes (1991) de acordo com a investigação toxicológica de compostos organoclorados por cromatografia em camada delgada (CCD), utiliza-se como fluido biológico o sangue total (soro ou plasma). Nesta técnica podem ser utilizados diversos solventes como fase móvel dependendo do grau de afinidade e polaridade dos compostos organoclorados pesquisados. Dentre estes solventes podemos destacar acetona, n-Hexano, cicloexano, metanol, clorofórmio, solução etanólica de rodamina β (0,25%) e solução aquosa de Na_2CO_3 (10%).

Esta técnica apresenta como sensibilidade o valor de $1\mu\text{g}$, sendo considerada satisfatória para a identificação de inseticidas organoclorados nos casos de intoxicação aguda. (MORAES, 1991).

Outra técnica que pode ser utilizada é a cromatografia gasosa (CG). O soro representa o fluido biológico de escolha para a aplicação do método, podendo ser utilizados como fase móvel gases inertes como o hidrogênio ou o nitrogênio. Segundo Lauwerys (1982), o modelo de cromatógrafo a gás equipado com detector de captura de elétrons é o mais indicado para os seguintes organoclorados: isômeros do hexaclorocicloexano, aldrin, dieldrin, endrin, isômeros do DDT e metabólitos, α -clordano, γ -clordano e heptacloroepóxido.

O valor normal para o DDT e seus produtos de biotransformação (DDT + DDD + DDE), corresponde a $< 2\mu\text{g}/100\text{ mL}$ de sangue. São admitidos para exposição profissional, os valores: DDT, 20 a $50\mu\text{g}/100\text{mL}$; dieldrin, $< 15\mu\text{g}/100\text{mL}$ e endrin, $< 5\mu\text{g}/100\text{mL}$ de sangue. Para o lindano, a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda um valor $< 2\mu\text{g}/100\text{mL}$ de sangue no caso de exposição profissional. (MORAES, 1991).

3.1.2 Organofosforados

Os inseticidas organofosforados (OF) são compostos orgânicos derivados do ácido fosfórico e seus homólogos (ácido fosfórico, tiofosfórico, ditiofosfórico e fosfônico).

Suas atividades inseticidas foram evidenciadas a partir de 1937 por Gerhard Schrader, na Alemanha, com a síntese do Tabum e do Sarin. A partir disto Schrader ficou conhecido como o pai dos inseticidas organofosforados. (OGA, 1996).

São, possivelmente, os inseticidas mais amplamente usados no mundo e os que mais causam intoxicações e grande número de mortes, com mais de 35.000 formulações diferentes em uso nos últimos 40 anos. Nos casos de intoxicações crônicas são responsáveis pelos transtornos psíquicos, como depressão e ansiedade que levam a elevados números de mortes no Brasil, devido ao alto índice de suicídios (MEYER, 2007).

3.1.2.1 Estruturas químicas e propriedades

Mais de 50.000 compostos OF são conhecidos pelo homem, mas, pouco mais de 40 são usados como praguicidas. O primeiro OF sintetizado foi o tetraetilpirofosfato (TEEP) em 1854. A partir de 1932 começou-se a investigar esses agentes, inicialmente como praguicidas e mais tarde para uso como agentes de guerra. (MEYER, 2007).

Estruturalmente são derivados do ácido fosfórico, cuja fórmula estrutural é mostrada na figura 5.

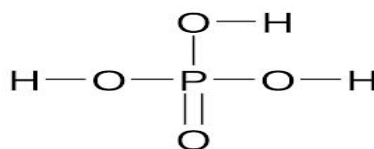


Figura 5 - Fórmula estrutural do Ácido fosfórico
Fonte: Larini (1997, p.145).

São exemplos de Organofosforados: Azinfós etílico (Gusathion A®), Clorpirifós (Dursban®, Lorsban®), Diclorvos (DDVP®, Nuvan®, Vapona®), Dimetoato (Dimexion®, Perfektion®), Diazinon (Basudin®, Diazitol®), Fenitrotion (Sumigran®, Sumithion®), Fention (Baytrex®, Lebaycid®), Fosfamidon (Dimecron®), Malation (Carbofós®, Malatol, Malaton®), Metamidofós (Tamaron®), Monocrotofós (Azodrin®, Nuvacron®), Paration metílico (Folidol®). (LARINI, 1997).

O Paration metílico cuja fórmula estrutural aparece na figura 06, também conhecido como metil-paration, metacidade, folidol e methafox. Apresenta nomenclatura química como 0,0-dimetil 0-(4-nitrofenil) fosforotioato e fórmula molecular $C_8H_{10}NO_5PS$ e peso molecular de $263,2 \text{ g.mol}^{-1}$. (LARINI, 1997).

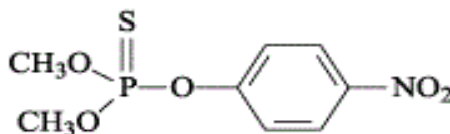


Figura 6 - Fórmula estrutural Paration metílico
Fonte: Oga (1996, p.482).

3.1.2.2 Aspectos toxicocinéticos e toxicodinâmicos

Os inseticidas organofosforados são absorvidos pelo organismo humano através de todas as vias possíveis, incluindo a dérmica, o trato gastrintestinal, a via respiratória e as membranas das mucosas. A absorção dérmica é a via principal de penetração nos envenenamentos ocupacionais, seja nos indivíduos que pulverizam o produto nas plantações ou naqueles que lidam, após a aplicação, fazendo a colheita, cotações, poda, etc. Os organofosforados não têm efeito acumulativo no organismo humano sendo facilmente degradado e excretado, é eliminado através da urina sendo a eliminação pelas fezes consideradas de pequena importância. (LARINI, 1997).

Segundo Larini (1997) o paration sofre biotransformação, como mostra a figura 07 em diversos compostos, sendo que, a conversão para a forma paraoxon representa a formação de um metabólito com maior toxicidade

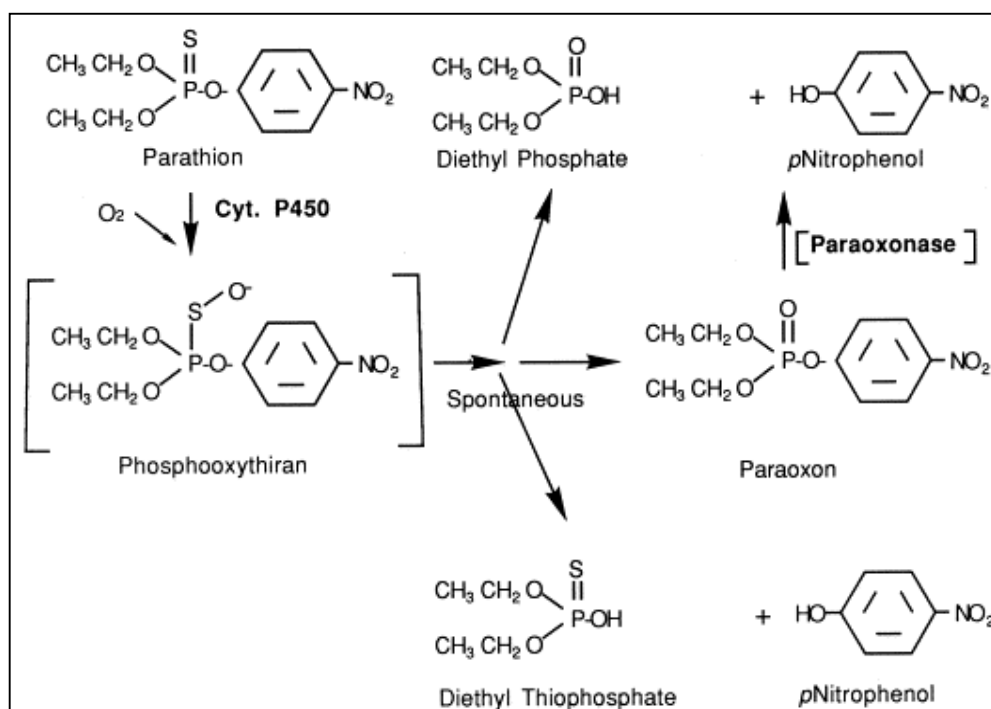


Figura 07: Biotransformação do paraoxon.
Fonte: Klaassen (2008, p.231).

A ação desses agrotóxicos se dá pela inibição de enzimas no organismo, chamadas de colinesterases, principalmente a acetilcolinesterase. Estas enzimas estão presentes na transmissão de impulsos nervosos em diversos órgãos e

músculos. Quando ocorre uma contaminação por organofosforado ou carbamato, há uma ligação entre essas enzimas e o veneno, impedindo que as mesmas realizem sua função. (MOREAU; SIQUEIRA, 2008).

3.1.2.3 Métodos analíticos para a análise de intoxicações

Diversos métodos podem ser utilizados para a determinação de compostos organofosforados nas investigações toxicológicas. Dentre estes métodos podemos citar as análises cromatográficas, potenciométricas e espectrofotométricas.

Segundo Moraes (1991) a CCD representa uma técnica utilizada para a determinação de compostos organofosforados como diclorvos, diazinon, mevinfos, melation e metilparation. Nesta técnica a fase móvel de escolha é o éter dietílico e o fluido biológico o sangue. Como revelador cromogênico o composto 5-BIA é o mais indicado para a avaliação das cores das manchas formadas a partir da aplicação das amostras e dos padrões, sendo que o aparecimento de manchas brancas sobre o fundo vivamente colorido de azul corresponde ao inseticida pesquisado. Neste caso o cálculo do fator de retenção (R_f) deve ser utilizado para confirmar o deslocamento da amostra na fase estacionária e servir como base de comparação com o R_f do padrão utilizado. Outro método é a determinação potenciométrica, a qual representa uma determinação indireta. A variação de pH de um meio ao qual se adiciona a amostra e substrato (acetilcolina) em meio tamponado corresponde a atividade enzimática a ser determinada. A enzima presente na amostra hidrolisa o substrato, liberando ácido acético, responsável pela acidificação do meio e, portanto pela variação de pH. O fluido biológico de escolha é o sangue heparinizado. (MOREAU; SIQUEIRA, 2008).

Segundo Moreau; Siqueira (2008) o método espectrofotométrico para a região do visível também representa uma análise indireta de determinação de compostos organofosforados utilizando como fluido biológico o sangue heparinizado. Neste método a medida colorimétrica da velocidade da hidrólise da acetilcolina pela colinesterase sanguínea ocorre por meio da liberação da tiocolina que reage como ácido ditiobinitrobenzóico (DTNB), liberando assim um composto de coloração amarela. Este composto é quantificado em comprimento de onda de 412 nm, sendo que, a variação de absorvância por minuto é diretamente proporcional à atividade enzimática.

3.1.3 Carbamatos

Os inseticidas carbamatos são ésteres de ácidos carbâmicos, tendo a estrutura fundamental do ácido N-metilcarbâmico. Foram desenvolvidos e usados em grande escala nos últimos quarenta anos e mais de cinquenta carbamatos são conhecidos. Apresentam alta eficiência praguicida, principalmente, atividade inseticida, baixa ação residual e baixa toxicidade em longo prazo, com amplo espectro de uso. (OGA, 1996).

À semelhança dos compostos organofosforados, os inseticidas carbamatos e seus metabólitos agem inibindo a acetilcolinesterase, diferenciando-se pelo fato de a combinação se processar de uma maneira mais reversível, resultando, todavia, sempre num acúmulo de acetilcolina onde é normalmente liberada. (LARINI, 1997).

Atualmente, os carbamatos disponíveis no mercado são: Aldicarb (Temik®), Aminocarb (Metacil®), Carbaril (Sevin®), Carbofuran (Carboran®, Furadan®), Landrin (Landrin®), Metacalmato (Bux®), Metiocarb (Mesurol®), Metomil (Lannate®, Nudrin®), Mexacarbato (Zectran®), Propoxur (Baygon®, Uden®). (MOREAU; SIQUEIRA, 2008).

3.1.3.1 Estrutura química e propriedades

Quando puros, são sólidos, quase sempre de coloração branca, muito pouco solúvel na água e solúveis na maioria dos solventes orgânicos (OGA, 1996). O propoxur de fórmula Molecular $C_{11}H_{15}NO_3$ e peso molecular de $209.24g.mol^{-1}$ representa um dos principais compostos carbamatos utilizados na agricultura (Figura 8).

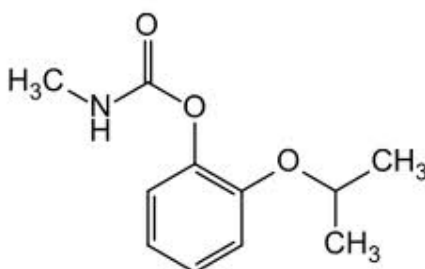


Figura 8. Fórmula estrutural Propoxur.
Fonte: Larini (1999, p.165).

3.1.3.2 Aspectos toxicocinéticos e toxicodinâmicos

Os inseticidas carbamatos são poucos absorvidos pelo organismo humano, as intoxicações ocorrem por ingestão gastrointestinal de produtos formulados ou pela via respiratória nas exposições ocupacionais por negligência no uso dos equipamentos de proteção individual. A excreção dos inseticidas carbamatos e de seus produtos de biotransformação é bastante rápida. Quando a absorção ocorre pela via respiratória, a excreção urinária é mais lenta, somente uma porção muito pequena do carbofuram é excretada nas fezes (cerca de 2 %), depois da administração oral em ratos. Os carbamatos são comumente considerados como inibidores reversíveis da acetilcolinesterase resultando no aparecimento de uma sintomatologia grave e polimorfa, que pode causar danos metabólicos no fígado e na síntese cerebral, além das alterações dos níveis de serotonina no sangue e diminuição da atividade da glândula tireoide. (OGA, 1996).

3.1.3.3 Métodos analíticos para a análise de intoxicações

Nas investigações toxicológicas a CCD, representa um método de triagem para determinar a presença de compostos carbamatos na urina. Neste método a fase móvel de escolha é a mistura dos solventes n-hexano-clorofórmio (1:1). Para a identificação dos compostos é utilizada uma técnica de aplicação de dois reveladores cromatográficos sequenciais como a p-nitroanilina diazotada e a solução hidroetanólica de NaOH a 40%. O aparecimento de manchas com coloração “vinho” identificam a presença dos derivados de carbamato. (BRITO FILHO, 1988).

Brito Filho (1988) descreve ainda que dependendo do tipo de derivado de carbamato presente podem ser utilizadas combinações de solventes para favorecer a separação dos compostos na fase estacionária. Dentre estas fases móveis temos: acetona: etanol:água (20:20:40), metanol:ácido fórmico:água (5:1:4), benzeno:acetona (80:20), éter de petróleo:tolueno:ácido acético (7:2:1), benzeno:éter etílico (90:10), clorofórmio:metanol (90:10) e benzeno:acetato de metila (80:20). Neste caso, outros tipos de reveladores para a determinação qualitativa dos compostos com revelação à luz UV também podem ser utilizados tais

como: combinação de vapor de bromo e fluoresceína a 0,2% em etanol, solução ácida de rodamina β e nitrato de prata, solução etanólica de KOH 1% combinada com fluorborato de p-nitrobenzenodiamônio e dietilenoglicol a 10% em etanol, e ácido sulfanílico diazotado misturado com solução com KNO_2 e NaOH a 5%.

No caso específico do Carbaril devido a reação de biotransformação do composto e consequente formação de alfa-naftol, este metabólito pode ser identificado devido ao desenvolvimento de cor azul (Figura 09). (BRITO FILHO, 1988).

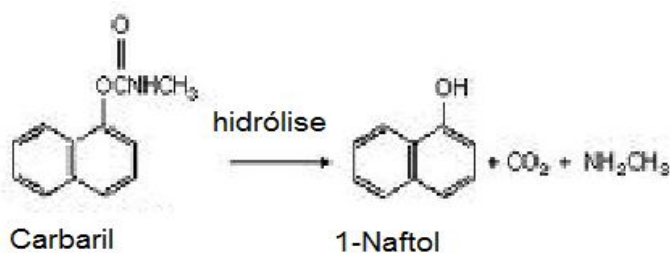


Figura 9 - Hidrólise do carbaril em alfa-naftol.
Fonte: Brito Filho (, p.317).

Segundo Moraes (1991) diversos tipos de carbamatos podem ser identificados utilizando o sangue como amostra e CCD como técnica de triagem toxicológica. Dentre estes compostos podemos citar o carbaril, diclorvos, diazinon e mevinfos. O aparecimento de manchas brancas sobre o fundo vivamente colorido de azul corresponde a identificação da presença do compostos na amostra. A avaliação das cores das manchas formadas a partir da aplicação das amostras e dos padrões, juntamente com o cálculo do fator de retenção (R_f) devem ser utilizados para confirmar o deslocamento da amostra na fase estacionária e servir como base de comparação com o R_f do padrão utilizado.

3.2 ASPECTOS LEGAIS E OCUPACIONAIS DA EXPOSIÇÃO

Um dado preocupa as autoridades sanitárias nacionais. Em 2008, o Brasil assumiu o posto de maior consumidor de agrotóxicos em todo mundo, posição antes ocupada pelos Estados Unidos. Só o mercado de agrotóxicos movimentou mais de US\$ 7 bilhões. Para proteger a saúde da população dos riscos associados ao uso destes produtos nas culturas agrícolas nacionais, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) trabalha na reavaliação de substâncias ativas utilizadas em

agrotóxicos no Brasil. “Como o registro de um agrotóxico é eterno, a reavaliação ocorre quando há alguma alteração de riscos à saúde, em comparação aos riscos avaliados durante a concessão de registro de determinada substância ativa.” (BRASIL, 2009). A evolução dos casos registrados de intoxicação humana por agrotóxico como mostra na figura 10 a gerente de avaliação toxicológica da ANVISA, Letícia Rodrigues.

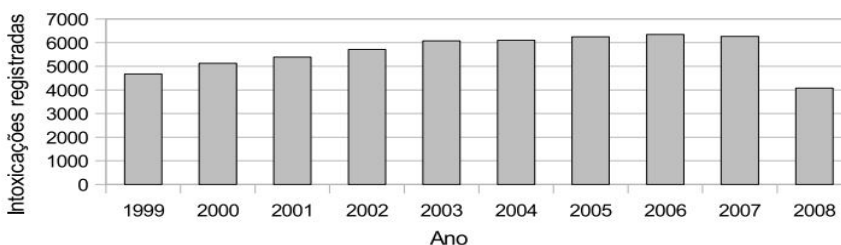


Figura 10 – Registros de intoxicações.
Fonte: Londres (2011, p. 40).

A toxicidade dos CARB e OF é extremamente variável (ver tabela 03, na pagina 22). Vários fatores influem na toxicidade:

- **Organofosforados**

O risco desta substância no organismo é diretamente relacionado com a dose, tempo e via de exposição. Atravessa a barreira hematoencefálica, penetrando assim no SNC (Sistema Nervoso Central), levando a quadros de moderados a graves. Em determinadas condições como certas patologias temos alterações dos níveis de acetilcolinesterase (AchE), sendo que, nas circunstâncias como idade, recém nascidos e gravidez esta atividade colinesterásica encontra-se reduzida. Desta forma, representam potenciais situações de agravamento dos casos de intoxicação. Temos ainda que alguns compostos organofosforados altamente lipofílicos (fention, dissulfoton) depositam-se no tecido adiposo atuando por mais tempo e persistindo por longos períodos nos tecidos. (BRASIL, 2009).

- **Carbamatos**

Têm inibição colinesterásica de curta duração, não penetram efetivamente no SNC, resultando toxicidade limitada; Gravidade do quadro: usualmente leve a

moderada; o aldicarb (um carbamato) especialmente tem alta toxicidade podendo levar a quadros severos e podem evoluir ao óbito em poucas horas. (BRASIL, 2009).

São degradados no organismo por mecanismo oxidativos e hidrolíticos sendo os metabólitos eliminados como compostos livres ou conjugados, a análise pode ser efetivada caracterizando-se o produto puro, não metabolizado, ou os produtos resultantes da biotransformação. (LARINI, 1979).

➤ Toxicidade e mecanismo de ação

A avaliação de toxicidade dos compostos tem uma grande importância para o estabelecimento dos níveis aceitáveis de exposição, expressa pela quantidade necessária em mg/kg de peso corpóreo, para provocar a morte de 50% de um lote de animais submetidos à experiência. A dose letal média (DL₅₀) a qual é expressa, é utilizada como escala de toxicidades para xenobióticos, ou seja, são referências iniciais para os diversos limites de tolerância (LT) como é mostrado na Tabela 3. (MORAES, 1991).

Tabela 2 – Toxicidade dos organofosforados e Carbamatos.

Organofosforados	DL50 mg/kg	Carbamatos	DL50 mg/kg
Azametiofós	1010	Aldicarb	0,93
Bromofós	1600	Bendiocarb	55
Diazinon	300	Carbaril	300
Diclorvos (DDVP)	56	Carbofuran	8
Dimetoato	150	Carbonsulfan	90
Dissulfoton	2,6	Dioxacarb	90
Fenitroton	503	Furatiocarb	137
Fention	330	Isoprocarb	403
Fentoato	400	Metomil	17
Malation	100	Oxamil	6
Metamidofós	30	Pirimicarb	147
Mevinfós	4	Propoxur	95
Monocrotofós (Azodrin)	14	Tiodicarb	39
Naled	430	-	-
Paration	13	-	-
Temefós	4202	-	-
Triclorfon (Dipterex)	560	-	-

Fonte: Brasil (2009)

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

Foram realizadas pesquisas bibliográficas em sites especializados no assunto e em livros de toxicologia descritos nas referências.

4.2 MÉTODOS

Para a realização da pesquisa bibliográfica foram confrontados os seguintes termos em sites de busca de artigos científicos: “TOXICOLOGY ANALYSIS”; “CARBAMATES”; “ORGANOPHOSPORES”; “ORGANOCHLORINE”. Os sites de pesquisa utilizados foram: scielo, pubmed, science direct e medline.

O levantamento bibliográfico também foi realizado nos livros especializados em toxicologia analítica e geral.

As pesquisas foram realizadas no período de março a junho de 2013, nos computadores da biblioteca “Cor Jesu”.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nas avaliações de compostos organoclorados, organofosforados e carbamatos, diversos métodos podem ser utilizados, sendo que a escolha destes dependem das características do tipo de composto a ser pesquisado, do tipo de fluido biológico e os parâmetros analíticos do método.

Covaci e Schepens et al. (2001) em uma avaliação de compostos organoclorados utilizando cromatografia líquida verificaram variações de solubilidade entre os compostos organoclorados, após a dissolução em reagentes aquosos. Estes compostos lipofílicos não apresentaram um percentual adequado de liberação na solução e, portanto, baixa porcentagem de disponibilidade para a interação com o solvente. No teste quanto ao tipo de coluna mais adequada ao método, foi verificado que as colunas cromatográficas TH-8 e DB-1 ofereceram menor quantidade de co-eluições dos analitos alvo quando comparadas a coluna DB-5. As porcentagens de recuperação para todos os compostos utilizando com amostra de fios de cabelo foram consideradas aceitáveis.

O cabelo é uma amostra biológica mais fácil de coletar e armazenar do que o sangue e a urina, após a coleta a amostra de cabelo permite a realização de avaliações retrospectivas, além de permitir demonstrar uma exposição única a uma pequena concentração de um dado xenobiótico excretado pelo cabelo, fornecendo informações sobre o período de uso ou exposição a substância (MOREAU;SIQUEIRA, 2008).

Fernando Goni e Raul López et al. (2009) desenvolveram um método de cromatografia de permeação em gel (CPG) para determinação de pesticidas organoclorados, o qual permite a automação da extração da amostra. Este método apresenta como melhoria a economia de solventes e de tempo analítico. Para a determinação das amostras dos compostos organoclorados foram realizadas extrações utilizando placas de discos de fase sólida, com a subsequente quantificação por cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons e espectrometria de massa. Neste método foi verificado que os limites de quantificação variaram de 06 a 16 ng.mL⁻¹ em amostras de soro.

Grande parte das análises toxicológicas é realizada com sangue, em especial com o soro, pois pressupõe-se que a distribuição entre fração celular e extracelular da maioria dos componentes é aproximadamente a mesma, sendo geralmente

válida. Quando esta situação não acontece, devem ser analisados os efeitos da hemólise sobre a concentração do composto, desta forma, para a determinação de algumas substâncias, torna-se necessário inibir a coagulação do sangue através do uso de anticoagulantes, obtendo-se assim o plasma. Outras vezes, para a obtenção de resultados precisos devem-se utilizar conservantes, agindo de maneira eficiente no mecanismo de coagulação. (MORAES, 1991).

Tollbäck et al. (2006) realizaram uma análise de compostos organofosforados por meio da cromatografia líquida acoplada a espectrofotometria de massa utilizando membrana de extração em fase sólida, a partir de amostras de ar exalado encontrando valores de limite de detecção que variaram entre 0,4 e 19 pg/m³.

A utilização do ar expirado como amostra biológica vem crescendo gradativamente por ser um método não invasivo e reflete adequadamente a concentração sanguínea dos compostos de interesse que algumas precauções devem ser tomadas para não interferirem na análise como tempo de coleta estabelecido após a exposição, a presença de vapor de água na amostra e o tipo de material coletor. (MOREAU;SIQUEIRA, 2008).

Perez et al. (2010) desenvolveram um método de determinação de organofosforados e outros compostos agrotóxicos em amostras de sangue a partir do uso da metodologia de extração em fase sólida e cromatografia à gás de alta resolução acoplado a espectrometria de massa obtendo valores de limites de detecção que variaram entre 10 e 158 pg/mL.

Para amostra de sangue alguns cuidados devem ser tomados para a realização da coleta, no caso, o paciente deve ter tomado banho e reforçar a limpeza no local da pele onde ocorrerá a coleta, o paciente deverá permanecer sentado por aproximadamente 15 minutos, antes da punção venosa para evitar a hemoconcentração e uso de anticoagulantes quando necessário. (MOREAU; SIQUEIRA, 2008).

Park et al. (2009) avaliaram amostras de sangue *post mortem* a partir do uso da metodologia de extração em fase sólida e cromatografia líquida acoplada a espectrofotometria de massa (CG/MS) e obtiveram os valores de detecção entre 0,04 e 0,08 mg/L e valores de quantificação entre 0,13 e 0,17 mg/L de compostos organofosforados.

A amostra de sangue *post mortem* deve ser coletada preferencialmente de locais periféricos, geralmente das veias femorais, por meio de punção percutânea,

atentando-se para não coletar de outras veias como artérias mais centrais, pois, poderá provocar alterações dinâmicas nas concentrações das substâncias a serem pesquisadas no sangue. (MOREAU; SIQUEIRA, 2008).

Os diferentes compostos agrotóxicos encontrados nas intoxicações podem ser pesquisados em diversos tipos de fluidos biológicos. A escolha adequada do tipo de fluido a ser utilizado depende de algumas características de exposição ao agente tóxico, assim como características químicas do próprio composto químico como podemos observar sequencialmente nas Figura 11, 12 e Tabela 4.

Agrotóxico	Fluído biológico
Organoclorados	Sangue total (Soro, Plasma).
	Soro
	Cabelo
Organofosforado	Sangue
	Sangue Heparizado
	Ar exalado
Carbamato	Urina
	Sangue

Figura 11 - Relação entre os compostos agrotóxicos e os tipos de fluidos utilizados nas análises toxicológicas.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Agrotóxico	Fluído biológico	Método analítico
Organoclorados	Sangue total (Soro, Plasma)	CCD
	Soro	CG
	Cabelo	HPLC
Organofosforados	Sangue	CCD
	Sangue Heparizado	CG
	Ar exalado	CG/MS
Carbamato	Urina	CCD
	Sangue	CCD

Figura 12 - Relação entre os compostos agrotóxicos e os tipos de fluidos utilizados nas análises toxicológicas.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 3 - Relação entre os compostos agrotóxicos, tipos de fluidos e metodologias utilizadas nas análises toxicológicas.

Agrotóxico	Fluído biológico	Método analítico	Limites
Organoclorados	Sangue total (Soro, Plasma).	CCD	-
	Soro	CG/MS	0,6 a 16 ng.mL ⁻¹
	Cabelo	HPLC	-
Organofosforados	Sangue	CG/MS	0,13 a 0,17
	Sangue	CG/MS	10 e 158 pg/mL
	Ar exalado	CG/MS	0,4 e 19 pg/m ³
Carbamato	Urina	CCD	-
	Sangue	CCD	-

6 CONCLUSÃO

Nas análises toxicológicas podemos utilizar como métodos de escolha diferentes metodologias analíticas, as quais devem ser escolhidas mediante o conhecimento das características do material a se analisado, assim como as deficiências do método escolhido. Os métodos mais utilizados são os cromatográficos e os espectrofotométricos.

Para compostos organoclorados, organofosforados e carbamatos, o método de escolha é cromatografia gasosa, sendo esta normalmente acoplada a espectrometria de massa. Esta combinação de métodos possibilita a aplicação desta análise em diferentes materiais biológicos e com a vantagem de apresentar uma faixa de limite de detecção e quantificação variável.

Entretanto, dependendo da capacidade tecnológica e do objetivo da análise toxicológica, temos que dispor de diferentes metodologias analíticas, as quais deverão ser capazes de identificar e/ou quantificar estes compostos químicos.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde; RIO GRANDE DO SUL. Conselho Estadual de Saúde. **A saúde no trabalho: a exposição a agrotóxicos**. 4 ed. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Reavaliação de agrotóxicos: 10 anos de proteção a população**. ANVISA, 2009. Disponível em: <<http://s.anvisa.gov.br/wps/s/r/h02>>. Acesso em: 22 maio 2013.

BRITO FILHO, D. **Toxicologia humana e geral**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 1988.

COVACI, A.; SCHEPENS P. Determination of organochlorine pollutants in human serum by solid-phase. **Chemosphere**. n 43, p. 439–443, 2001.

FARIA, N. M. X.; FASSA, A. C. G.; FACCHINI, L. A. Intoxicação por agrotóxicos no Brasil: os sistemas oficiais de informação e desafios para realização de estudos epidemiológicos **Ciência & Saúde Coletiva**. v. 12, n. 1, p. 25-38, 2007.

GONI F.; LOPEZ R.; MILLAR E.; AMIANO P.; Determination of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in human. **Journal of Chromatography**. v. 862, p.15-21, 2007.

GARCIA, J. E. Acute poisoning from pesticides: human and economic costs. Rev. Panam. **Salud Publica**. v. 4, n. 6, p.383-7, 1998.

ILO/WHO. **Joint Press Release ILO/WHO: Number of Work related Accidents and Illnesses Continues to Increase - ILO and WHO Join in Call for Prevention Strategies**. Disponível em: <<http://www.ilo.org/public/english/bureau/inf/pr/2005/21.htm>>. Acesso em: 04 Mar 2013

ILO. **World Day for Safety and Health at Work 2005: A Background Paper**. Geneva: ILO - International Labour Organization. Disponível em: <http://www.ilo.org/public/english/bureau/inf/download/sh_background.pdf>. Acesso em: 04 Mar 2013.

ILO. **World Day for Safety and Health at Work: Worldwide events to mobilize workers, employers and governments on managing risks at work**. Geneva: ILO - International Labour Organization. 2008. Disponível em: <http://www.ilo.org/global/about-the-ilo/media-centre/press-releases/WCMS_092126/lang-en/index.htm>. Acesso em: 04 Mar 2013.

KLAASSEN, D. C. **Toxicology: the basic science of poisons**. 7 ed. Kansas: Mc Graw Hill, 2008.

LARINI, L. **Toxicologia**. 3 ed. São Paulo: Manole, 1997.

LARINI, L. **Toxicologia dos inseticidas**. São Paulo. Servier, 1979.

LARINI, L. **Toxicologia dos praguicidas**. 1 ed. São Paulo: Manole, 1999.

LAUWERYS, R. R. **Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles**. 2 ed. Paris: Masson, 1982.

LONDRES, F. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida**. Rio de Janeiro. AS-PTA – Assessoria e serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011.

MEYER, T. F.; RESENDE, I. L. C.; ABREU, J. C. Incidência de suicídios e uso de agrotóxicos por trabalhadores rurais em Luz (MG), Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**. São Paulo, v. 32, n. 116, p.24-30, 2007.

MORAES E. C. F.; SZNELWAR R. B.; FERNICOLA N. A. G. G. **Manual de toxicologia analítica**. São Paulo: Roca, 1991.

MOREAU. R. L. M.; SIQUEIRA. M. E. P. B. **Toxicologia analítica: Ciências Farmacêuticas**. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2008.

OGA S.; **Fundamentos de toxicologia**. São Paulo: Atheneu, 1996.

PARK, M. J.; IN, S. W.; LEE, S. K.; CHOI, W. K.; PARK, Y. S.; CHUNG, H. S. Postmortem blood concentrations of organophosphorus pesticides. **Forensic Science International**., v. 184, n. 1–3, p.28–31, 2009.

PÉREZ, J. J.; WILLIAMS, M. K.; WEERASEKERA, G.; SMITH, K.; WHYATT, R. M.; NEEDHAM, L. L.; BARR, D. B. Measurement of pyrethroid, organophosphorus, and carbamate insecticides in human plasma using isotope dilution gas chromatography-high resolution mass spectrometry. **J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.** n. 878, v. 27, p. 2554-62, 2010 Oct 1.

SOARES, W.; MORO, S.; ALMEIDA, R. M. Rural workers' health and productivity: an economic assessment of pesticide use in Minas Gerais, Brazil. **Appl. Health Econ. Health Policy**. v. 1, n. 3, p.157-64, 2002.

TOLLBÄCK, J.; TAMBURRO, D.; CRESCENZI, C.; CARLSSON, H. Air sampling with Empore solid phase extraction membranes and online single-channel desorption/liquid chromatography/mass spectrometry analysis: determination of volatile and semi-volatile organophosphate esters. **Journal of Chromatography A**, n. 1129, p. 1-8, 2006.