

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
AGR 99006 – DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Débora Elisabeth Barbosa Medeiros

00180993

Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos

PORTO ALEGRE, abril 2017.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
AGR 99006 – DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO

Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos

Débora Elisabeth Barbosa Medeiros

00180993

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do Grau de Engenheira Agrônoma, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Supervisor do Estágio: Jupira de Fátima Pedroso de Souza, Especialista em Saúde Biológica
Orientador Acadêmico do Estágio: Magnólia Aparecida Silva da Silva, Eng. Agrônoma

COMISSÃO DE AVALIAÇÃO

Prof. Fábio Kessler Dal Soglio – Departamento de Fitossanidade (Coordenador)

Prof. Alberto Vasconcellos Inda Junior – Departamento de Solos

Profa. Beatriz Maria Fedrizzi – Departamento de Horticultura e Silvicultura

Profa. Carine Simioni – Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia

Profa. Carla Andrea Delatorre – Departamento de Plantas de Lavoura

Profa. Magnólia Aparecida Silva da Silva – Departamento de Horticultura e Silvicultura

Profa. Mari Lourdes Bernadi – Departamento de Zootecnia

Prof. Pedro Alberto Selbach – Departamento de Solos

PORTO ALEGRE, abril 2017.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, pela dádiva da vida e oportunidades que recebi.

Aos meus pais, Enaura e Edson, por em todo esse tempo de minha existência terem sido os pilares da minha estrutura, me proporcionando sustentação com seus ensinamentos, me estruturando emocionalmente e me fornecendo sempre muito apoio em tudo que me foi necessário. Obrigada, por terem sido os meus melhores exemplos de homem e mulher, pai e mãe, de amigos, de seres humanos com caráter e honestidade. Agradeço também à minha irmã caçula, Inaê por, mesmo na sua inocência de criança, ter me incentivado a ser uma pessoa melhor e trazer mais luz e alegria para minha vida.

À minha supervisora de estágio Jupira, pela oportunidade de estágio. À toda a equipe de trabalho da Seção de Contaminantes do Lacen-RS pela disposição, prestatividade e paciência em me orientar.

À minha orientadora de estágio, professora Magnólia, por ter expandido os meus horizontes e me proporcionado uma visão diferenciada, como um todo, dentro da Faculdade de Agronomia durante minha passagem pela disciplina alternativa de Produção Vegetal em Sistemas Orgânicos e por ter me inspirado a escolher este tema para estágio obrigatório e defesa de conclusão de curso.

RESUMO

O estágio foi realizado na Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde do Rio Grande do Sul (FEPPS), na Seção de Contaminantes, da Divisão de Análise de Produtos, do Instituto de Pesquisas Biológicas – Laboratório Central de Saúde Pública do Rio Grande do Sul (IPB-LACEN/RS), situada no município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. O período de estágio foi de 1 de agosto à 30 de novembro de 2016. Este estágio teve por objetivos adquirir conhecimentos, acompanhar a rotina de laboratório nas diversas etapas de análises e metodologia utilizada para detecção de resíduos de agrotóxicos em alimentos. Durante o estágio, foram realizadas diversas atividades de acompanhamento das técnicas analíticas no laboratório, bem como os cuidados e procedimentos relacionados à coleta e entrada das amostras, preparação das amostras para análise, método de extração, análise em cromatografia líquida e divulgação de resultados.

LISTA DE TABELAS

1. Exemplo de alguns LMRs do ingrediente ativo
Abamectina..... 13

LISTA DE FIGURAS

1.	Produção agrícola e consumo de agrotóxicos e fertilizantes químicos nas lavouras do Brasil, 2002-2011.....	11
2.	Amostras segundo a presença ou a ausência de resíduos.....	12
3.	Processamento de amostra de alface para extração.....	18
4.	Processamento de amostra de pepino para extração.....	19
5.	Fluxograma da extração de QuEChERS no LACEN-RS.....	20
6.	Cromatógrafo UPLC-MS/MS (Ultra Performance Liquid Chromatography acoplado à espectrometria de massas sequencial).....	22
7.	Representação de como seria um cromatograma.....	23
8.	Cromatograma expondo a área de um “pico” do analito Acefato em uma amostra de batata obtido em análise em cromatógrafo UPLC-MS/MS.....	23

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	8
2.	CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO	8
2.1	Fundação Estadual de Produção e Pesquisa e Saúde (FEPPS).....	8
2.2	Laboratório Central de Saúde Pública do Estado do Rio Grande do Sul (LACEN-RS).....	9
2.3	Divisão de Análise de Produtos (DAP).....	9
2.4	Seção de Contaminantes.....	10
2.5	Laboratório Pesticidas.....	10
3.	REFERENCIAL TEÓRICO	10
3.1	A situação do Brasil perante a problemática do uso intensivo de agrotóxicos e a consequente acumulação de resíduos.....	10
3.2	Cromatografia.....	15
3.3	Métodos multirresíduos: método QuEChERS.....	15
4.	ATIVIDADES REALIZADAS	17
4.1	Recebimento da amostra para análise.....	17
4.2	Processamento da amostra.....	18
4.3	Extração de agrotóxicos pelo método de QuEChERS.....	19
4.4	Análise em cromatografia.....	21
5.	DISCUSSÃO	25
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	26
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

1. INTRODUÇÃO

O presente Trabalho de Conclusão de Curso foi baseado no Estágio Curricular Obrigatório Supervisionado realizado na Seção de Contaminantes, da Divisão de Análise de Produtos, do Instituto de Pesquisas Biológicas – Laboratório Central de Saúde Pública do Rio Grande do Sul (IPB-LACEN/RS), da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde do Rio Grande do Sul (FEPPS), que está localizada no município de Porto Alegre, capital do Estado do Rio Grande do Sul. O estágio ocorreu no período de 01 de agosto a 30 de novembro de 2016, totalizando mais de 300 horas de atividades.

Serão abordadas neste relatório as atividades realizadas durante o estágio, que abrangeram todas as etapas para a análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos, bem como uma contextualização sobre a situação do Brasil perante a problemática do uso indiscriminado de agrotóxicos e a consequente acumulação de resíduos.

A escolha do estágio na área de resíduos de agrotóxicos em alimentos, dentre tantas áreas da Agronomia, foi com o objetivo de adquirir um conhecimento mais específico nesta área, devido ao fato de não termos disponível na grade curricular disciplinas específicas que tratem da contaminação dos alimentos com agrotóxicos ou de técnicas de identificação e quantificação de resíduos dessas substâncias nos alimentos, bem como dar evidência a um tema tão importante e tão pouco tratado dentro da Faculdade de Agronomia. Além disso, por entender que este tema deveria fazer parte da formação dos Agrônomos como profissionais, sendo preocupação, não apenas de garantir a produção, produtividade, segurança, saúde do agricultor e trabalhadores do meio rural, mas também assegurar a saúde do consumidor, a preservação do meio ambiente, em favor da sustentabilidade e a garantia de alimentos seguros à população.

2. CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO

2.1 Fundação Estadual de Produção e Pesquisa e Saúde (FEPPS)

A Fundação Estadual de Produção e Pesquisa e Saúde (FEPPS) foi extinta em dezembro de 2016, atualmente as funções desenvolvidas pela instituição, passam a ser responsabilidade da Secretaria da Saúde (AIRES, 2016).

A FEPPS se localizava na Avenida Ipiranga, 5.400, no Bairro Jardim Botânico na cidade de Porto Alegre, foi criada em 1994, vinculada à Secretaria Estadual de Saúde. O objetivo de sua criação foi de prestar serviços de qualidade em Saúde Pública no Rio Grande do Sul, a fim de proporcionar a população uma melhor qualidade de vida. Era constituída por uma Diretoria Administrativa e uma Diretoria Técnica. A Diretoria Técnica era constituída por cinco unidades técnicas, que visavam desenvolver ações nas áreas de pesquisa, produção e desenvolvimento, voltadas à saúde pública, dentre essas unidades, o Laboratório Central do Estado (LACEN-RS).

2.2 Laboratório Central de Saúde Pública do Estado do Rio Grande do Sul (LACEN-RS)

O LACEN-RS foi o primeiro laboratório de análises do Estado, criado em 31 de julho de 1902, ligado diretamente ao Departamento Estadual de Higiene e Saúde Pública (DEHSP), denominado como Laboratório de Saúde Pública do Estado. Em 1938, foi criado o Departamento Estadual de Saúde (DES), ligado à Secretaria da Educação e Saúde Pública e a partir desse momento, o Laboratório do Estado, já fazia parte do DES. Com o aumento do surto de doenças transmissíveis agudas que surgiram no estado no começo do século XX, foi dando-se importância ao Laboratório de Saúde Pública do Estado (FEPPS, 2016).

O LACEN/RS atua juntamente com a Vigilância em Saúde, organizando-se em divisões, sendo um delas a Divisão de Análise de produtos (DAP). Atualmente após a extinção da FEPPS, integra o CEVS - Centro Estadual de Vigilância em saúde (FEPPS, 2016).

2.3 Divisão de Análise de Produtos (DAP)

A Divisão de Análise de Produtos é constituída por quatro Seções. Cabe a essa Divisão coordenar as Seções nela composta, desenvolver e executar pesquisas relacionadas a sua área de abrangência, dar suporte laboratorial ao Sistema Único de Saúde (SUS), participar do plano de desenvolvimento de Recursos Humanos e servir de laboratório de referência estadual do Sistema Nacional de Laboratórios. As seções são: Seção de Microbiologia; Seção de Físico-Química; Seção de Microscopia e Triagem; Seção de Contaminantes (FEPPS, 2016).

2.4 Seção de Contaminantes

A Seção de Contaminantes realiza pesquisas analíticas de contaminantes em produtos, emitindo laudos dos seus resultados. O espaço físico destinado a essa seção, compreende quatro salas. Dessas salas, três são destinadas às pesquisas analíticas e uma destinada ao controle de gases que são utilizadas em alguns equipamentos e em algumas análises. As salas destinadas às análises são denominadas de: Laboratório Pesticidas, Sala Cromatógrafos e Laboratório Micotoxinas (FEPPS, 2016).

2.5 Laboratório Pesticidas

No laboratório de pesticidas são realizados todos os procedimentos de recebimento, preparação e extração da amostra. No espaço físico existem seis subdivisões, sendo denominadas como: sala dos técnicos, sala de análise sensorial, sala de extração de amostras, sala de lavagem, sala de preparo de amostras e sala de preparo de padrões. Além de amostras de alimentos, o laboratório também recebe amostras de água para análise de resíduos de agrotóxicos. O laboratório de pesticidas possui quatro técnicas especializadas atuantes, duas auxiliares de laboratório e quatro estagiárias (FEPPS, 2016).

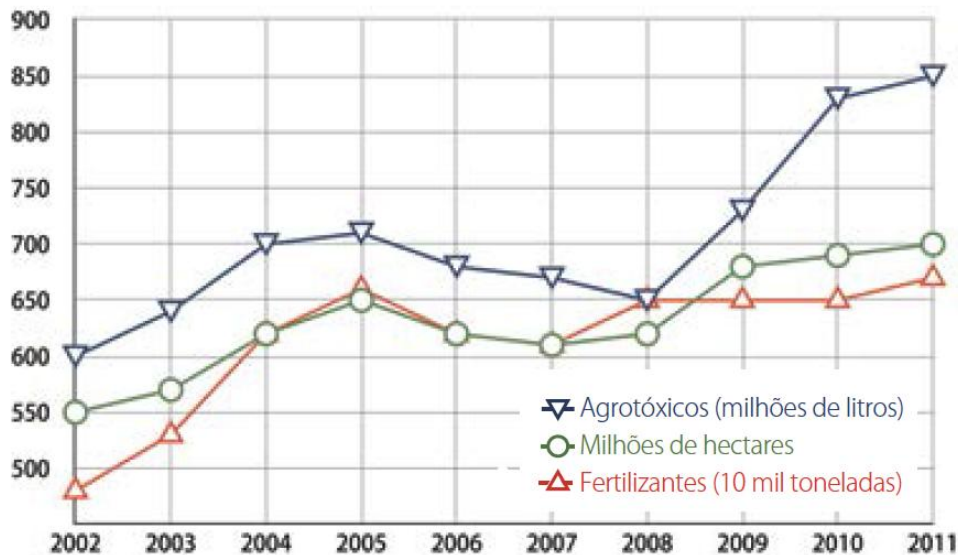
3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 A situação do Brasil perante a problemática do uso intensivo de agrotóxicos e a consequente acumulação de resíduos

Na década de 50, quando ocorreu a Revolução Verde, a produção agrícola sofreu uma drástica mudança no seu processo tradicional, onde ganharam espaço novas tecnologias, com o objetivo de ampliar a produção agrícola. Em grande parte, estas novas tecnologias além de envolver o uso de diversos insumos, incentivou a massificação na utilização de agrotóxico com o propósito de controlar, de forma efetiva, as pragas e aumentar a produtividade. Porém isso ocasionou um intensivo uso de agrotóxicos. Estes compostos químicos são considerados extraordinariamente fundamentais no modelo atual de desenvolvimento da agricultura no Brasil, atualmente, desde o ano de 2008, o Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos do mundo (CARNEIRO et al., 2015 e BRASIL, 2017).

A agricultura convencional está cada vez mais dependente dos agrotóxicos e fertilizantes químicos (Figura 1), sendo nos últimos anos, considerado o maior mercado mundial. Os pesticidas, desde o seu desenvolvimento, exercem um importante papel no progresso da agricultura moderna, porém, a utilização destes compostos químicos, que de uma forma produz benefícios como o controle de pragas e doenças e um aumento na produção, de outra é responsável pela contaminação do solo, da água e alimentos. Desta forma, o uso de agrotóxicos sem critérios técnicos adequados como, em excessiva quantidade e sem respeito ao período de carência, pode levar a ocorrência de resíduos dessas substâncias nos alimentos (CARNEIRO et al., 2015; JARDIM e CALDAS, 2009).

Figura 1 - Produção agrícola e consumo de agrotóxicos e fertilizantes químicos nas lavouras do Brasil, 2002-2011.



Fonte: CARNEIRO et al., 2015.

Os agrotóxicos, para serem produzidos, comercializados e utilizados, devem ser previamente registrados em órgão federal, de acordo com as diretrizes e exigências dos órgãos federais responsáveis pelos setores da saúde, do meio ambiente e da agricultura (BRASIL, 2017). Uma reportagem exibida em 6 de dezembro de 2016, realizada pelo Grupo de Investigação da RBS e que faz parte de uma série intitulada de Perigo no Prato, mostra a facilidade de agrotóxicos proibidos no Brasil, serem comprados facilmente em países vizinhos, como Paraguai e Uruguai, isso realça a utilização indiscriminada de agrotóxicos no Brasil (ROLLSING et al., 2016).

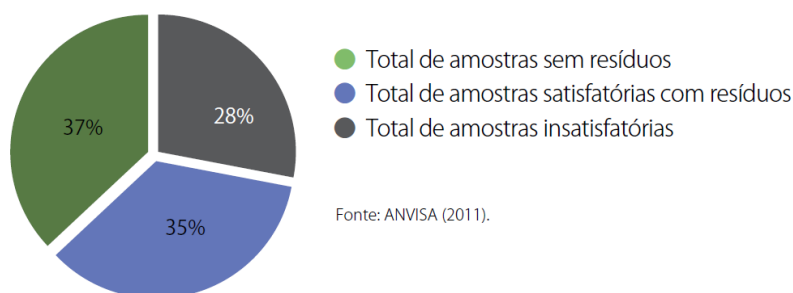
Diante da situação atual, em que o uso de agrotóxicos aumentou 288% entre os anos de 2000 e 2012, aproximadamente 64% dos alimentos estão contaminados por agrotóxicos e existem 34.147 notificações de intoxicação por agrotóxicos registradas de 2007 a 2014 no Brasil (ABRASCO, 2017). A determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos e em amostras ambientais é fundamental, em devido ao risco que estes compostos representam à saúde humana, além de persistirem no meio ambiente e terem propensão à bioacumulação (CARNEIRO et al., 2015).

Além de ser importante para estimar a exposição humana, a determinação de resíduos de agrotóxicos permite avaliar se a produção agrícola está em conformidade com as boas práticas agrícolas, abrindo possibilidades para que regulações comerciais possam garantir a segurança de alimentos saudáveis (PRESTES et al., 2009).

Em razão da aplicação de agrotóxicos nos cultivos poder ocasionar resíduos nos alimentos, houve a necessidade de estabelecer Limites Máximos de Resíduos (LMRs), que consiste na quantidade máxima de resíduo de agrotóxico, expresso em ppm ou mg/kg, que legalmente pode estar presente nos alimentos por razão da aplicação apropriada numa fase específica desde sua produção até o consumo. Os critérios para determinar o LMR de agrotóxicos em alimentos estão relacionados a estudos supervisionados de campo, de acordo com as boas práticas agrícolas (JARDIM e CALDAS, 2009 e BRASIL, 2002).

Em análises de amostras coletadas em 26 estados do Brasil, através do PARA (Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos), um terço dos alimentos mais consumidos pela população brasileira estão contaminados pelos agrotóxicos. A Figura 2, mostra que 63% das amostras analisadas obtiveram contaminação por agrotóxicos, sendo que 28% apresentaram ingredientes ativos não autorizados para o cultivo em análise e/ou ultrapassaram os limites máximos de resíduos (LMRs) considerados e 35% apresentaram contaminação dentro desses limites (CARNEIRO et al., 2015).

Figura 2 - Amostras segundo a presença ou a ausência de resíduos.



Atualmente, cerca de 510 ingredientes ativos (IA) são permitidos no Brasil de acordo com os critérios de uso e indicação estabelecidos em suas monografias. Dentro de cada monografia, estão estipulados, para cada cultura e estrutura de aplicação na planta (semente, folha), os LMRs, conforme o exemplo na Tabela 1 (UNA é Uso Não Alimentar e (1) Intervalo de segurança não determinado devido à modalidade de emprego) (ANVISA, 2017).

Tabela 1: Exemplo de alguns Limites máximos de resíduos do ingrediente ativo Abamectina.

Culturas	Modalidade de Emprego (Aplicação)	LMR (mg/kg)	Intervalo de Segurança
Algodão	Foliar	0,005	21 dias
Algodão	Sementes	0,005	(1)
Algodão	Tratamento de sementes no sulco de plantio	0,005	(1)
Alho	Bulbilhos	0,005	(1)
Batata	Foliar	0,005	14 dias
Café	Foliar	0,002	14 dias
Cana-de-açúcar	Tratamento industrial de propágulos vegetativos (mudas) antes do plantio	0,005	(1)
Cebola	Foliar	0,02	3 dias
Cebola	Sementes	0,02	(1)
Cenoura	Sementes	0,005	(1)
Citros	Foliar	0,005	7 dias
Coco	Foliar	0,005	14 dias
Cravo	Foliar		UNA
Crisântemo	Foliar		UNA
Ervilha	Foliar	0,005	4 dias
Feijão	Foliar	0,005	14 dias
Feijão-vagem	Foliar	0,005	4 dias
Figo	Foliar	0,005	7 dias
Maçã	Foliar	0,01	14 dias
Mamão	Foliar	0,005	14 dias
Manga	Foliar	0,01	7 dias
Melancia	Foliar	0,01	7 dias
Melão	Foliar	0,005	7 dias
Melão	Sementes	0,005	(1)
Milho	Sementes	0,005	(1)
Morango	Foliar	0,02	3 dias
Pepino	Foliar	0,01	3 dias
Pêra	Foliar	0,005	7 dias
Pêssego	Foliar	0,02	21 dias
Pimentão	Foliar	0,01	3 dias
Rosa	Foliar		UNA

Fonte: ANVISA, 2017.

Através de uma ação do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS), coordenado pela ANVISA, juntamente com órgão estaduais e municipais de vigilância sanitária e laboratórios estaduais de saúde pública, têm sido executados programas de monitoramento de resíduos de agrotóxicos em alimentos no Brasil, de abrangência estadual e nacional, como o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), sendo um indicador da ocorrência de resíduos de agrotóxicos em alimentos (ANVISA, 2008).

O PARA foi criado em 2001, com o objetivo de identificar e quantificar os níveis de agrotóxicos nos alimentos. Este programa também contribui na orientação das cadeias

produtivas sobre as inconformidades em seu processo produtivo, incentivando a adoção das Boas Práticas Agrícolas (BPA). O programa, atualmente, obtém a participação de 27 Unidades Federativas que abrangem amostragem e tomada de decisões após a emissão dos resultados. Quatro Laboratórios Centrais de Saúde Pública (Lacen GO, MG, RS e PR) e um laboratório privado são responsáveis pelas análises realizadas. Os resultados, além de informar se os alimentos comercializados estão com os níveis de resíduos de agrotóxicos dentro do LMR, conferem se os agrotóxicos utilizados estão de acordo com os registrados no país e autorizados para uso nas culturas analisadas. Além disso, também permite, um diagnóstico da utilização de agrotóxicos que fazem parte do programa e, por consequência, permite a reavaliação de ingredientes ativos, podendo adotar medidas restritivas a agrotóxicos que possam trazer alto risco para a saúde da população (ANVISA, 2008)

As coletas dos alimentos são realizadas pelas Vigilâncias Sanitárias (Estaduais/Municipais) de acordo com princípios e guias internacionalmente aceitos. É recomendado que a coleta seja realizada no local onde alimentos são comprados pela população, para que as amostras obtidas possuam características semelhantes ao que será consumido. Sendo assim, são realizadas coletas semanalmente no mercado varejista, com programação envolvendo uma seleção prévia dos pontos de coleta e das amostras que irão ser coletadas. Os dados de consumo obtidos na Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) (realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)), a disponibilidade dos alimentos nos supermercados das diferentes unidades da Federação e os agrotóxicos com maior índice de detecção nos alimentos, são a base para a escolha dos alimentos monitorados pelo PARA. O cronograma de amostragem anual é aprovado previamente durante as reuniões nacionais do Programa. Até o ano de 2015, vinte e cinco alimentos tiveram metodologias validadas para monitoramento, sendo sujeitos a serem monitorados devido a sua inclusão no plano amostral anual de coleta de amostras, como: abacaxi, abobrinha, alface, arroz, banana, batata, beterraba, cebola, cenoura, couve, feijão, goiaba, laranja, maçã, mamão, mandioca (farinha), manga, milho (fubá), morango, pepino, pimentão, repolho, tomate, trigo (farinha) e uva (ANVISA, 2008).

As análises são realizadas pelo método analítico de “multirresíduos” ou por metodologias específicas previamente validadas. O método multirresíduo (MRM, do inglês Multiresidue Methods), em uma mesma amostra, é capaz de analisar simultaneamente diferentes ingredientes ativos de agrotóxicos e ainda detectar diversos metabólitos. Porém, esse método não pode ser utilizado para a análise de alguns ingredientes ativos, como no caso

dos ditiocarbamatos (grupo importante de fungicidas derivados do ácido ditiocarbônico; ex.: Mancozeb, Thiram), que exigem a adição de metodologias específicas (que são utilizadas nos laboratórios do PARA no caso desses ingredientes ativos) (ANVISA, 2008).

Segundo os Laboratórios Centrais de Saúde Pública (Lacens), responsáveis pelas análises das amostras, têm sido utilizados os métodos QuEChERS e Mini-Luke modificado. Ambos os métodos, fornecem uma boa extração dos analitos (agrotóxicos), reduzindo o consumo de solventes e de matriz amostral (ANVISA, 2008).

3.2 Cromatografia

É um método físico-químico de separação, no qual os compostos presentes em uma mistura são distribuídos entre uma fase estacionária (adsorvente) e uma fase móvel (fluído). O objetivo da cromatografia é realizar a separação de dois ou mais componentes de uma mistura. A separação ocorre porque os compostos têm diferentes afinidades com a fase estacionária e com a fase móvel, portanto deslocam-se com diferentes velocidades. Através do botânico Mikhail Semenovitch Tswett, nascido em Asti (Itália), a cromatografia ganhou importância como método de separação, por volta de 1903, o mesmo foi considerado o pai da cromatografia devido à sua valiosa contribuição no desenvolvimento desta técnica (DEGANI, CASS e VIEIRA 1998).

A cromatografia tem diversas aplicações como método de separação, sendo ótima ferramenta analítica, pois é uma técnica que possui a grande vantagem de realizar separações e análises quantitativas de um grande número de compostos. (DEGANI, CASS e VIEIRA 1998).

3.3 Métodos multiresíduos: método QuEChERS

As análises de resíduos de agrotóxicos envolvem muitas dificuldades, as quais foram minimizadas através do desenvolvimento de métodos multiresíduos, pela capacidade de analisar um grande número de agrotóxicos, sem interferência na matriz, além de detectar e quantificar de forma evidente os analitos contidos na amostra mesmo em baixos níveis de concentração, de maneira categórica e com reduzido número de medidas, diminuindo a produção de resíduos perigosos, tempo, trabalho exercido e custo por mostra analisada (PRESTES et al., 2009).

O primeiro método multirresíduo para a extração de agrotóxicos foi criado na década de 1960, nos laboratórios do *U.S Food and Drug Administration* (FDA). O desenvolvimento e utilização de agrotóxicos com propriedades mais polares, como por exemplo, organofosforados e organonitrogenados, exigiu métodos novos de extração multirresíduo que compreendesse estes compostos. Em 1975, foi criado o método de Luke. Porém, este método possui desvantagens, sendo uma delas a quantidade de co-extrativos apolares, como lipídios e ceras (considerados interferentes), sendo necessária uma etapa posterior de *clean-up* (limpeza), aumentando de forma significativa o tempo e o custo do preparo de amostra. Com isso, o *Food and Consumer Product Safety Authority* da Holanda, na década de 1980, desenvolveu o método de extração mini-Luke (uma miniaturização do método de extração Luke original), o qual possibilitou a redução da quantidade de amostra e, conseqüentemente, de solventes utilizados (PRESTES et al., 2009).

Devido às fortes pressões ambientalistas e elementos referidos à saúde humana, durante os anos de 1990, aconteceu um amplo desenvolvimento de métodos alternativos de extração fundamentado na redução da quantidade de solvente utilizado na etapa de extração. Um método multirresíduos utilizado para preparar uma amostra para serem analisados resíduos de agrotóxicos, deve ter as seguintes propriedades: incluir o maior número de agrotóxicos possíveis, obter recuperações próximas de 100%, remover da amostra o maior número possível de compostos interferentes, possuir boa precisão e robustez, baixo custo, facilidade, rapidez e segurança, utilizando reduzido volume de solventes de baixa toxicidade. Com base nisso, no ano de 2003, com a intenção de superar as limitações dos métodos multirresíduos, foi introduzido um novo método de extração de resíduos de agrotóxicos em matrizes de frutas e verduras, titulado QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe* – rápido, fácil, econômico, efetivo, robusto e seguro), pronunciado como “*catchers*” (PRESTES et al., 2009).

O método QuEChERS modificado possui três etapas principais: extração, partição e limpeza. A etapa de extração é realizada com acetonitrila com 1% de ácido acético e faz com que ocorra uma ampla extração de diferentes polaridades de agrotóxicos, além de proporcionar uma extração com menor quantidade de co-extrativos lipofílicos (ceras, gorduras e pigmentos). A etapa de partição acontece a adição de sais (sulfato de magnésio e acetato de sódio) que tem por objetivo a redução da solubilidade dos agrotóxicos em água, bem como a diminuição de água na fase da acetonitrila (a adição de sais tem a grande vantagem de não diluir o extrato da amostra, além de proporcionar a separação das fases orgânica e aquosa),

ocasionando o efeito denominado “*salting-out*”. A etapa de limpeza (*clean-up*), realizada através de um método denominado extração em fase sólida dispersiva (*Dispersive Solid Phase Extraction – D-SPE*), permite que a limpeza e a redução de água residual sejam efetuadas de uma forma rápida e simultânea. No método QuEChERS original, a etapa de *clean-up* utiliza ainda, o sorvente PSA, muito eficiente na remoção de ácidos graxos e outros ácidos orgânicos contidos nos alimentos (PRESTES et al., 2009).

4. ATIVIDADES REALIZADAS

O estágio consistiu no acompanhamento de todas as etapas para a realização da análise de resíduo de agrotóxicos em alimentos, bem como a divulgação de resultados. Todos os materiais utilizados na condução das atividades foram fornecidos pela instituição, como jaleco, luvas, máscaras, óculos de proteção e touca de proteção.

Durante o período de estágio, foram recebidas amostras de alface, batata, pepino e abobrinha. Além disso, também foram utilizadas amostras de morango e couve para fins de testes de validação para análises futuras.

4.1 Recebimento da amostra para análise

As amostras de hortigranjeiros e frutas *in natura*, para análise de resíduos de agrotóxicos, foram coletadas pela Vigilância Sanitária do Rio Grande do Sul (VISA/RS) nos supermercados da capital, no caso do Programa Nacional de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), e na CEASA, no caso do Programa de Monitoramento dos Hortigranjeiros do Rio Grande do Sul (PMHRS). Após a coleta, foram recebidas no LACEN – RS, através da recepção da Divisão de Análise de Produtos (DAP) e encaminhadas à seção de contaminantes.

A maioria das amostras recebidas durante o período de estágio foram do Programa de Monitoramento dos Hortigranjeiros do Rio Grande do Sul (PMHRS), que tem por objetivo monitorar, identificar, quantificar e fiscalizar os eventuais contaminantes agrotóxicos e biológicos em frutas e hortaliças *in natura* comercializadas no Rio Grande do Sul; identificar e mapear as áreas de risco de fornecimento de produtos contaminados; promover a adoção de medidas de orientação, prevenção e controle da contaminação dos produtos hortigranjeiros ao longo de toda a cadeia de produção e consumo.

Ao chegar ao laboratório da sessão de contaminantes, as amostras foram pesadas e conferidos em cada TCA (Termo de Coleta da Amostra) que contém todos os dados referentes à amostra: os números de RG (Registro Geral) fornecidos pela recepção para identificação unívoca de cada amostra; o número do termo (dado pela Vigilância Sanitária de cada estado ou Coordenadoria ou Município responsável pela coleta da amostra); os dados do local onde foi coletado, os dados do produto e produtor; o número do Lacre e a identificação de quem coletou. Após foram adicionadas informações, a data e hora da entrada no laboratório, o nome e rubrica de quem recebeu e o peso total da amostra recebida. Também foi realizada uma análise crítica da amostra, a fim de avaliar a integridade e viabilidade da amostra. Então, a amostra foi processada para evitar deterioração.

4.2 Processamento da amostra

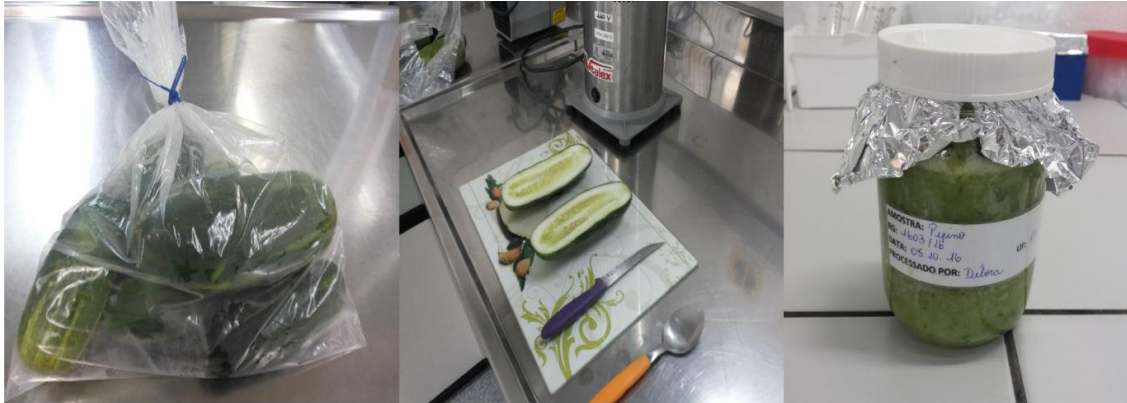
Para o processamento, as amostras foram retiradas do invólucro de plástico e cada unidade foi dividida ao meio e escolhida, ao acaso, uma das metades para o processamento e a outra foi descartada. O processamento foi realizado em um processador de alimentos (Figuras 3 e 4). Após, as amostras foram acondicionadas em frascos de vidro, previamente identificados, e armazenadas em ultrafreezer (-75°C) para posterior extração e análise.

Figura 3: Processamento de amostra de alface, Porto Alegre, 2016.



Fonte: MEDEIROS, 2016.

Figura 4: Processamento de amostra de pepino para extração, Porto Alegre, 2016.

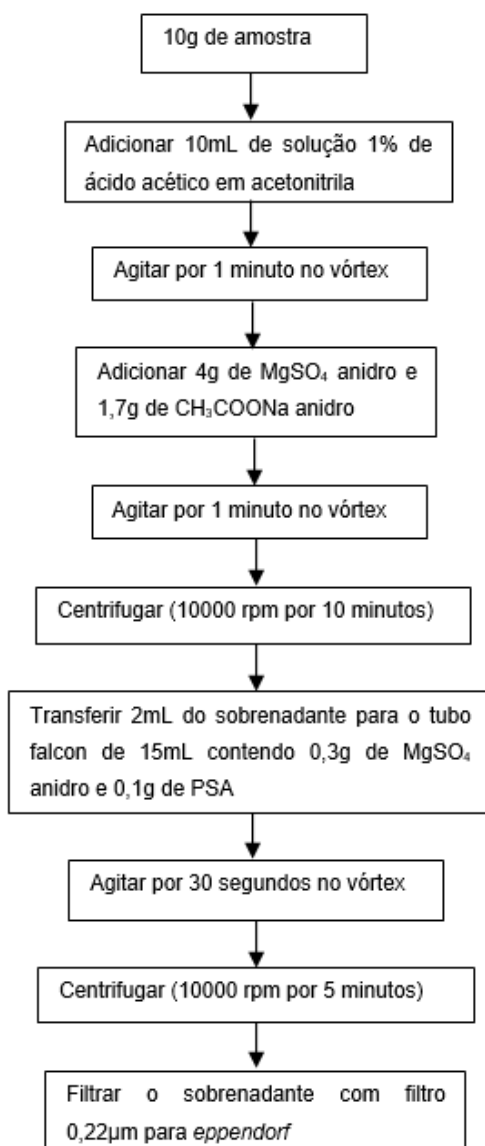


Fonte: MEDEIROS, 2016.

4.3 Extração de agrotóxicos pelo método de QuEChERS

Antes da realização da extração, no dia anterior, os sais utilizados na extração foram pesados. Os sais da primeira etapa (sulfato de magnésio e acetato de sódio) foram pesados em tubos falcon de 50 mL e os sais da segunda etapa (sulfato de magnésio e amina primária secundária – PSA) foram pesados em tubos falcon de 15 mL. As amostras foram retiradas do ultrafreezer no dia anterior ao da extração e deixadas a temperatura ambiente para descongelamento. No dia da extração, foram pesadas 10g de amostra em tubo falcon de 50 mL e a extração foi realizada pelo método QuEChERS conforme o procedimento experimental apresentado na Figura 5 em forma de fluxograma.

Figura 5: Fluxograma da extração de QuEChERS no LACEN-RS.



Fonte: LACEN-RS – Seção Contaminantes, 2016.

É importante salientar que antes de terem sido realizadas as extrações e análises com as amostras, foi feita uma extração com posterior análise da matriz Branco (branco testemunho) que é matriz isenta da substância a analisar (agrotóxicos) ou cujo nível de concentração seja suficientemente baixo de modo a não interferir nos resultados de medição. A matriz branco é oriunda do processamento do alimento proveniente de produção orgânica. Foi preparado um mix de analitos (contendo os agrotóxicos a serem analisados). Esse mix foi preparado com os padrões, que são soluções puras de agrotóxicos (99% de pureza), monitorados na cultura a ser analisada, ou seja, cada cultura tem um tipo de mix.

Cada agrotóxico foi pipetado de uma vez, com volume pré-estipulado de acordo com cálculos realizados pela técnica especializada responsável, depois completou-se com acetonitrila (solução compatível com os padrões e com o método). Após, foi investigada a isenção dos analitos do mix de agrotóxicos preparado, no extrato da Matriz Branco. A investigação foi feita avaliando-se o extrato nos métodos cromatográfico e espectrométrico estabelecidos para verificar se não havia analitos. Posteriormente, foi fortificado o extrato da Matriz Branco com o mix de agrotóxicos preparado e avaliado nos métodos cromatográfico e espectrométrico estabelecidos para definir os tempos de retenção de cada analito no extrato e foi registrado estes tempos em formulário.

4.4 Análise em cromatográfica

O cromatógrafo usado nesse setor para essa análise é o UPLC-MS/MS (Ultra Performance Liquid Chromatography acoplado à espectrometria de massas sequencial) (Figura 6). Para a realização da análise no cromatógrafo, foram preparadas as fases móveis, que são soluções utilizadas no cromatógrafo durante a determinação de resíduos de agrotóxicos e servem para ajudar na separação.

Foram utilizadas duas fases móveis, A e B, devido a diferença de polaridade dos analitos (por exemplo, usando apenas uma fase móvel, alguns analitos poderiam passar despercebidos). Para o preparo de 1L da fase móvel A, foram necessários 980 mL de água ultrapura, 20 mL de metanol, 1 mL de ácido fórmico e 5 mL de formiato de amônio, após a mistura. Para o preparo de 1 L da fase móvel B, são necessários, 1 mL de ácido fórmico e 1000 mL de acetonitrila. Após a misturas, as soluções foram filtradas. Depois de preparadas as fases móveis foram colocadas em um equipamento chamado Ultrasom, por 30 minutos para que serem removidas as bolhas de ar, pois essas bolhas podem gerar diferenças no tempo de retenção dos analitos.

Figura 6: Cromatógrafo UPLC-MS/MS (Ultra Performance Liquid Chromatography acoplado à espectrometria de massas sequencial), Porto Alegre, 2016.

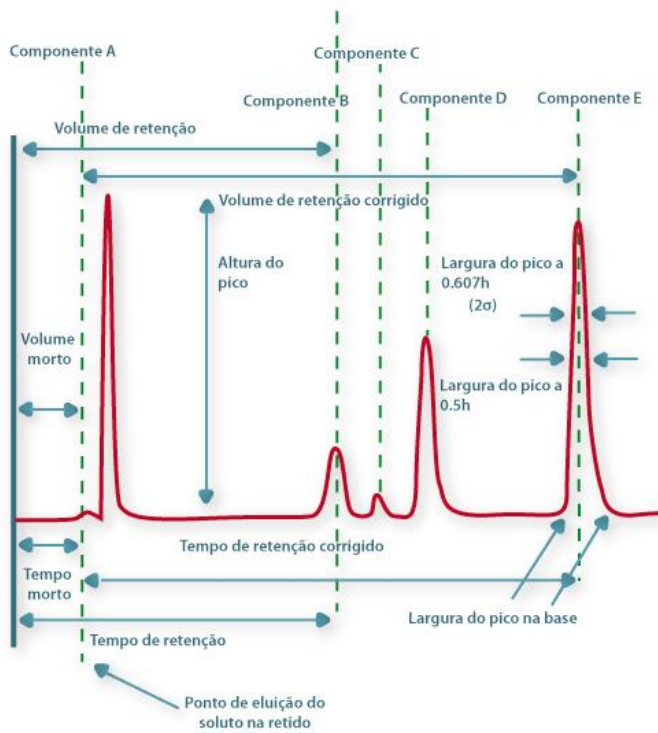


Fonte: MEDEIROS, 2016

Após tudo preparado e as amostras serem colocadas no cromatógrafo, foi iniciada as análises. Dentro do equipamento, os constituintes da amostra que se deslocam gradualmente pela fase móvel através da coluna, de acordo com os respectivos graus de afinidade em relação ao adsorvente, foram progressivamente separados à saída da coluna e, posteriormente, identificados com uma sucessão de “picos” em um cromatograma mostrados em um *software* do equipamento.

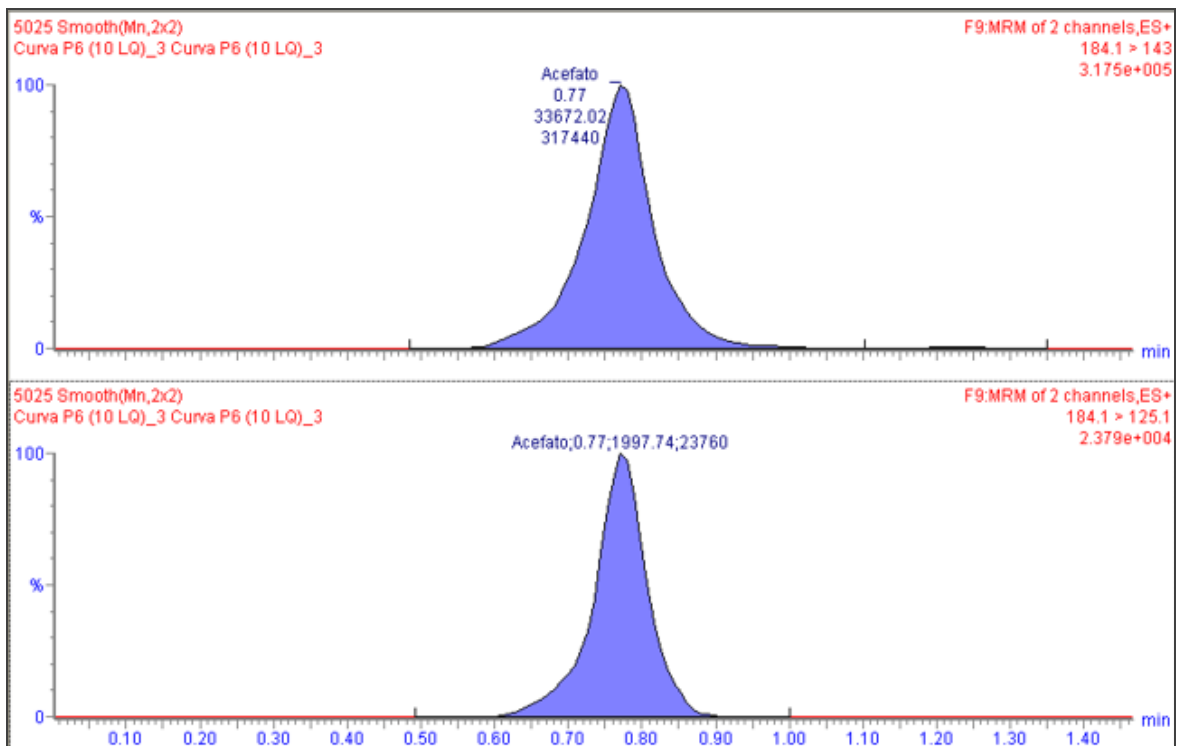
A Figura 7 caracteriza como um seria cromatograma no qual se identifica uma sucessão de “picos” correspondentes aos componentes separados, bem como algumas grandezas características de uma análise cromatográfica. As moléculas de uma amostra transportada pela fase móvel têm tempos de retenção diferentes de acordo com os respectivos graus de adsorção na fase estacionária, os tempos de retenção são dados pelos “picos”, ou seja, tempo de retenção (t_r) é o tempo que decorre entre o ponto de injeção até o máximo do pico. É através da área, proveniente do cálculo da altura do “pico”, largura do “pico” e largura da base do “pico”, que o *software* do equipamento expõe se a amostra possui resíduo de analito e a quantidade de resíduo do analito. A Figura 8 mostra um cromatograma de análise realizada no laboratório em amostra de batata, expondo a presença de Acefato.

Figura 7: Representação de como seria um cromatograma.



Fonte: PORTAL LABORATÓRIOS VIRTUAIS DE PROCESSOS QUÍMICOS, 2017.

Figura 8: Cromatograma expondo a área de um “pico” do analito Acefato em uma amostra de batata obtido em análise em cromatógrafo UPLC-MS/MS. Porto Alegre, 2016.



Fonte: MEDEIROS, 2016.

Posteriormente a análise no cromatógrafo ser finalizada, o técnico realizou uma avaliação do cromatograma, verificando os tempos de retenção de cada analito, com o objetivo de constatar se todos estão de acordo. Caso algum tempo de retenção do analito não estiver conforme o padrão necessário para demonstrar um resultado correto, semelhante à Figura 8, é realizada uma nova análise. Na maioria dos resultados das análises realizadas no laboratório durante o período de estágio, foi detectado resíduos de agrotóxicos. Os ingredientes ativos mais encontrados foram o Acefato e o Metamidofos.

Após o resultado ser divulgado, todos os laudos foram encaminhados para a Vigilância Sanitária, Ministério Público do estado, CEASA-RS e CREA-RS. Os laudos com resultado insatisfatório, ou seja, que no produto tem algum tipo de resíduo de agrotóxico acima do Limite Máximo de Resíduo (LMR) ou resíduo de agrotóxico proibido para a cultura analisada, são avaliados, segunda as competências da CEASA e EMATER. O produtor é enquadrado nas normas de regulamento da CEASA e são adotadas medidas para os produtores se adequarem as Boas Práticas Agrícolas (BPA), através de cursos e palestras. Além disso, o produtor pode ser suspenso temporariamente do comércio na CEASA até se adequar nas normas de acordo com o regulamento.

Antes de ser divulgado o resultado da análise de resíduo de agrotóxico, é obrigatório conferir no site da ANVISA, nas monografias dos ingredientes ativos, os valores de LMRs, pois podem ocorrer alterações nas monografias pela ANVISA. Cabe salientar que são comuns essas alterações nas monografias, durante o período de estágio aconteceram algumas vezes. Neste sentido, a ANVISA realiza, frequentemente, avaliações da exposição crônica com estudos supervisionados de campo que simulam o uso correto pelo agricultor, com o objetivo de estabelecer limites em níveis seguros aos consumidores e através disso pode: registrar um novo ingrediente ativo, fazer exclusão e alteração de LMRs. Por isso é de grande relevância conferir no site da ANVISA, pois influencia diretamente nos resultados.

5. DISCUSSÃO

Devido ao aumento da produção agrícola, da expansão de monocultivos, do progresso da resistência de plantas invasoras, dos fungos e insetos, ocorreu o aumento no consumo de agrotóxicos em relação a área plantada. Em 2002, o consumo era de cerca de 10,5 litros por hectare, passando para 12 litros por hectare em 2011 (CARNEIRO et al., 2015). Isso mostra que as análises de resíduos de agrotóxicos ao redor do Brasil e divulgação de resultados, que são respostas ao uso excessivo e indiscriminado destes produtos, são de extrema necessidade.

O risco a saúde humana é alto e há muito tempo se sabe disso. A intoxicação por agrotóxicos pode levar a sérios problemas crônicos à saúde: efeitos neurotóxicos retardados, alterações cromossômicas, lesões hepáticas, arritmias cardíacas, lesões renais, cânceres, entre outros. Além disso, alguns possuem a capacidade de acumular no corpo humano, inclusive no leite materno, podendo causar muitos agravos à saúde do recém-nascido devido a sua maior vulnerabilidade (CARNEIRO et al., 2015).

O Brasil ainda permite a utilização de ingredientes ativos já banidos em vários países do mundo devido ao enorme risco à saúde humana (CARNEIRO et al., 2015). No entanto, existe a facilidade de comprar, em países vizinhos, e comercializar para uso no campo, agrotóxicos já proibidos no país, como já foi noticiado. (ROLLSING et al., 2016)

A problemática do uso indiscriminado de agrotóxicos e a sua conseqüente acumulação de resíduos nos alimentos, também está ligada as diversas irregularidades na emissão do receituário agrônomo. Em diversas situações o receituário é emitido pelo Agrônomo sem que ocorra visita no local de produção agrícola, levando a utilização em culturas não autorizadas, a utilização em excesso, ao uso mesmo não havendo pragas, causando a resistência dessas, o que aumenta mais ainda a aplicação de defensivos químicos (CARNEIRO et al., 2015). Além da falta de respeito ao período de carência. Sendo assim, é necessário que não apenas os produtores rurais sejam penalizados e obrigados a se adequarem as normas, regulamentos e boas práticas agrícolas, mas também o Agrônomo responsável pela emissão do receituário, diante de resultados insatisfatórios nas análises de resíduos de agrotóxicos nos alimentos.

A cromatografia se mostrou uma poderosa ferramenta analítica para análise de resíduos de agrotóxicos. Apresentando uma elevada exatidão nos resultados, permitindo a identificação e a quantificação dos compostos presentes com confiabilidade. Também foi observado que o controle de qualidade se beneficia ao usar essa técnica que permite obter

resultados em curto espaço de tempo. Outro ponto pertinente de ser destacado é a praticidade de execução dessas análises, facilitadas também pelo uso dos *softwares* que são utilizados nesses equipamentos. Sendo, realmente a grande vantagem dessa técnica a capacidade de realizar separações e análises quantitativas de um grande número de compostos simultaneamente.

Em relação ao método QuEChERS de extração multirresíduos utilizado nas amostras, mostrou-se um processo rápido, simples e eficiente, podendo ser aplicado para a determinação de diferentes tipos de resíduos de agrotóxicos nas amostras de alimentos através da cromatografia (PRESTES et al., 2009). Além disso, também provou ser um método com pouca utilização de solventes e com grande praticidade, pois um único analista é capaz de realizar o preparo da amostra, sem a necessidade de utilizar muitos materiais e equipamentos.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estágio foi muito oportuno para o acompanhamento e conhecimento dos métodos de extração e análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos. Mas, o mais importante foi o destaque à importância do papel que os Agrônomos possuem dentro do cenário atual, de evitar a exposição dos trabalhadores rurais a várias substâncias químicas, a situação de insegurança alimentar de toda a população pelo consumo de alimentos contaminados e os impactos ambientais (contaminação de solo e de água) do uso intensivo e indiscriminado de agrotóxicos no Brasil.

A ação dos Agrônomos pode iniciar através da conscientização das decisões e atitudes no manejo. A utilização de BPA (Boas Práticas Agrícolas): rotação de culturas; respeito ao período de carência; rotação de ingredientes ativos para evitar resistência de pragas, pois já que é permitido a utilização de agrotóxicos então que seja usado da melhor forma possível; entre outras práticas.

O Manejo Integrado de Pragas também é uma boa ferramenta de manejo, pois coloca como alternativa a utilização de outras técnicas de controle além do controle químico. Além de utilizar o conceito de nível de dano econômico que coloca como opção o uso do controle químico, se realmente for necessário, ou seja, quando o inseto ou a doença estiver causando dano econômico.

A agricultura de precisão como alternativa em grandes áreas de cultivo, para que a aplicação de agrotóxicos ocorra somente aonde está ocorrendo a praga. E a agricultura

orgânica como opção, pois atualmente muitas culturas têm mostrado rentável produção neste sistema.

A pesquisa também é uma ferramenta muito importante, existe muitas alternativas que precisam ser mais pesquisadas e comprovadas. Infelizmente nos dias de hoje, há muitas pesquisas sendo realizadas mais para interesse de aumentar número de publicações e dar títulos de pós-graduação do que para gerar resultados novos e de relevante utilidade.

É necessária uma ação urgente de todos que são, ou deveriam ser, comprometidos com a saúde da população brasileira, de forma a passar por um sistema de rastreabilidade para alimentos. Este poderia ser implantado nacionalmente de forma a identificar os alimentos que apresentem riscos à saúde pela presença de resíduos de agrotóxicos, envolvendo todos os responsáveis pela produção e comercialização dos mesmos.

É importante uma ampliação do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), que apesar de ser uma fundamental referência, ainda é limitado, pois os ingredientes ativos analisados variam de acordo com a capacidade instalada do laboratório, que nem sempre possui as condições para realizar análises dos agrotóxicos usados com maior frequência nos cultivos. Além disso, a quantidade de produtos analisados em todo o Brasil deveria ser maior. Juntamente com isso, também seria pertinente a ampliação da rede de laboratórios de referência para monitoramento de agrotóxicos.

A conscientização também tem que estar ativa no consumidor, pois grande parte da população tem tratado de forma passiva a condição de alimentos contaminados, com uma preocupação muito maior com a aparência do alimento do que com a presença de resíduos tóxicos nos mesmos. Esse tipo de posicionamento, colabora para o fortalecimento à prática de usar agrotóxicos de forma indiscriminada. Uma forma de acabar com esse comportamento dos consumidores é a realização de ações de comunicação, de forma a alertar e enfatizar sobre os riscos sérios causados por intoxicação de agrotóxicos, fazendo com que os consumidores tenham atitudes de exigir que os alimentos estejam em conformidade em relação aos resíduos de agrotóxicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRASCO. **Alguns números sobre agrotóxicos no Brasil**. [2017] Disponível em: <<http://abrasco.org.br/dossieagrotoxicos/>> Acesso em: 13 de abr. 2017.

AIRES, A. Deputados aprovam a extinção da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde. **Zero Hora**, Porto Alegre, 22 dez. 2016. Disponível em: <<http://zh.clicrbs.com.br/rs/noticias/politica/noticia/2016/12/deputados-aprovam-a-extincao-da-fundacao-estadual-de-producao-e-pesquisa-em-saude-8849566.html#showNoticia=YS9RcjdGSzY3MTUzMjUwMjQ4NzEyNzkwMDE2SDkoODU4MDI0MDQxOTc0NTkyNjQ5NGNISTcyMTMyNTg4NDQ1Nzc3MjY0NjR+WSsLiQxalw0UUQ7PkkmNkE=>>>. Acesso em: 21 abr. 2017.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Monografias Autorizadas – A18 – Abamectina**. [2017] Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/monografia-de-agrotoxicos/autorizadas>>. Acesso em: 7 abr. 2017.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Nota Técnica 02/2017**. Brasília, 2017.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)**: Relatório de Atividades de 2001 – 2007. Brasília, 2008.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Agrotóxicos**. [2017] Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/agrotoxicos>>. Acesso em: 13 abr. 2017.

BRASIL. Presidência da República Casa Civil. Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 8 de jan. 2002. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074.htm>. Acesso em: 21 abr. 2017.

CARNEIRO, F. F. et al. **Dossiê ABRASCO**: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos. Rio de Janeiro: EPSJV; São Paulo: Expressão Popular, 2015. 624p.

DEGANI, G. A. L.; CASS, B. Q.; VIEIRA, C. P. Cromatografia um belo ensaio. **Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 7, p. 21 – 25, maio 1998.

FEPPS. Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde. **Serviços**. [2016] Disponível em: <<http://www.fepps.rs.gov.br/>>. Acesso em: 5 dez. 2016.

JARDIM, O. N. A.; CALDAS, D. E. Exposição humana a substâncias Químicas potencialmente tóxicas a dieta e os riscos para saúde. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n.7, p. 1898-1909, 27 jul. 2009.

PRESTES, O. 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**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 1620-1634, 28 jul. 2009.

ROLLSING, C. et al. Agrotóxicos proibidos no Brasil são vendidos livremente na Fronteira. **Zero Hora**, Porto Alegre, 06 dez. 2016. Disponível em:

<[http://zh.clicrbs.com.br/rs/noticias/gdi/noticia/2016/12/agrotoxicos-proibidos-no-brasil-sao-vendidos-livremente-na-fronteira-](http://zh.clicrbs.com.br/rs/noticias/gdi/noticia/2016/12/agrotoxicos-proibidos-no-brasil-sao-vendidos-livremente-na-fronteira-8640422.html#showNoticia=VjBQMjYzSlk0NTc4NTQ2MTM1MDYwMTkzMjgwdnZLNzY3MDk5MTU4MjU3NTE2ODg2MmUoMzE2NzgxNjI4OTc2ODkxMTY2NzI0c0x5QEQ9MyFQUFFNZDpuTV4=>)

[8640422.html#showNoticia=VjBQMjYzSlk0NTc4NTQ2MTM1MDYwMTkzMjgwdnZLNzY3MDk5MTU4MjU3NTE2ODg2MmUoMzE2NzgxNjI4OTc2ODkxMTY2NzI0c0x5QEQ9MyFQUFFNZDpuTV4=>](http://zh.clicrbs.com.br/rs/noticias/gdi/noticia/2016/12/agrotoxicos-proibidos-no-brasil-sao-vendidos-livremente-na-fronteira-8640422.html#showNoticia=VjBQMjYzSlk0NTc4NTQ2MTM1MDYwMTkzMjgwdnZLNzY3MDk5MTU4MjU3NTE2ODg2MmUoMzE2NzgxNjI4OTc2ODkxMTY2NzI0c0x5QEQ9MyFQUFFNZDpuTV4=>). Acesso em: 11 abr. 2017.