



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**O papel do consumo de alimentos orgânicos e convencionais sobre parâmetros
bioquímicos e genéticos: resultados de um Ensaio Clínico Randomizado**

Júlia Oliveira Penteadó



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**O papel do consumo de alimentos orgânicos e convencionais sobre parâmetros
bioquímicos e genéticos: resultados de um Ensaio Clínico Randomizado**

Júlia Oliveira Penteado

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Ana Luiza Muccillo Baisch
Co-orientador: Prof. Dr. Flavio Manoel Rodrigues da Silva Júnior

Ficha Catalográfica

P419p Penteado, Júlia Oliveira.

O papel do consumo de alimentos orgânicos e convencionais sobre parâmetros bioquímicos e genéticos: resultados de um Ensaio Clínico Randomizado / Júlia Oliveira Penteado. – 2022
141 f.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Rio Grande/RS, 2022.

Orientadora: Dra. Ana Luiza Muccillo Baisch.

Coorientador: Dr. Flavio Manoel Rodrigues da Silva Júnior.

1. Nutrição 2. Toxicologia 3. Ensaio clínico randomizado
4. Agroquímicos I. Baisch, Ana Luiza Muccillo II. Silva Júnior, Flavio Manoel Rodrigues da III. Título.

CDU 612.3

Catologação na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344

Rio Grande, 2022

Júlia Oliveira Penteado

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

O papel do consumo de alimentos orgânicos e convencionais sobre parâmetros bioquímicos e genéticos: resultados de um Ensaio Clínico Randomizado

Banca Examinadora

Prof. Dr. Samuel de Carvalho Dumith – FURG

Prof. Dr Linjie Zangh – FURG

Letícia Scopel Camargo Carniel (externo) – BASF AS

Prof^a Dra Marina dos Santos (suplente) – UNIPAMPA

Orientadora: Prof^a. Dra Ana Luiza Muccillo Baisch

Co-orientador: Prof. Dr. Flavio Manoel Rodrigues da Silva Júnior

AGRADECIMENTOS

Agradeço de forma especial, aos meu orientadores **Ana Luiza Muccillo Baisch** e **Flavio Manoel Rodrigues da Silva Júnior**, por me acolher e orientar durante este trabalho. Os ensinamentos recebidos foram de grande valia para a vida profissional e pessoal. Minha admiração, respeito e gratidão.

Aos **colegas e amigos** do Laboratório de Ensaio Farmacológicos e Toxicológicos (LEFT), que não mediram esforços para ajudar em todas as etapas do Ensaio Clínico. Além disso, por toda parceria fora do ambiente acadêmico.

A **empresa Korin**, por acreditar que a indústria privada e a academia podem ser parceiras e, assim, contribuir para que as orientações na área da saúde sejam pautadas em evidências.

A **equipe de nutricionistas** da Universidade Federal do Rio Grande, pela dedicação, profissionalismo e parceria para a realização deste estudo dentro da Universidade.

Aos **participantes** do Ensaio Clínico que se disponibilizaram a participar do estudo e fornecer informações imprescindíveis para a realização da pesquisa.

A Coordenação e Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro disponibilizado a esta equipe.

Sumário

Resumo.....	6
Abstract.....	7
1. Introdução.....	8
2. Revisão Bibliográfica.....	11
2.1 Agrotóxicos no Brasil.....	11
2.2 Resíduos de agrotóxicos em alimentos e na água para consumo humano.....	15
2.3 Efeitos à saúde pela exposição aos agrotóxicos.....	19
2.4 Alimentos orgânicos.....	22
2.4.1 Estudos comparativos de alimentação convencional e orgânica.....	24
3. Objetivos.....	39
3.1 Objetivo geral.....	39
3.2 Objetivos específicos.....	39
Referências.....	40
4. Métodos.....	57
5. Aspectos Éticos.....	57
6. Análise crítica de riscos e benefícios.....	57
7. Responsabilidade dos pesquisadores.....	58
8. Uso e destinação de dados coletados.....	58
9. Orçamento.....	58
10. Resultados.....	58
Manuscrito 1.....	59
Manuscrito 2.....	98
11. Conclusões.....	130
Anexos.....	132
Anexo 1 – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	132
Anexo 2 – Sinais e Sintomas.....	134
Anexo 3 – Orientações para realização de exames clínicos.....	135
Apêndice.....	137

Resumo

O Brasil é o segundo maior exportador mundial de produtos agrícolas no mundo e cerca de um terço dos produtos agrícolas são produzidos por influência da aplicação de agrotóxicos nas plantações. A utilização excessiva desses produtos penetra ou atinge plantas não-alvo, contamina o meio ambiente e deixa resíduos em alimentos consumidos pela população. A exposição por via alimentar de agrotóxicos tem sido associada a efeitos à saúde como problemas no sistema endócrino, neurológico, piora em quadros como asma, sobrepeso e obesidade e até relação com o desenvolvimento de alguns tipos de câncer. Uma alternativa para essa problemática é o consumo de alimentos orgânicos, pois são proibidos por lei de utilizar agrotóxicos e fertilizantes de alta solubilidade na produção. Neste sentido, Ensaios Clínicos são o delineamento principal para avaliar exposição e efeito e preencher a lacuna de conhecimento nessa área. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de agrotóxicos e os efeitos da exposição a esses compostos através da via alimentar sobre os parâmetros bioquímicos de indivíduos saudáveis em um Ensaio Clínico Randomizado (ECR). Foram incluídos no estudo adultos saudáveis entre 19-40 anos da Universidade Federal do Rio Grande, Brasil. Os participantes foram alocados, aleatoriamente, em dois grupos experimentais: 1) consumidores de alimentos convencionais e 2) consumidores de alimentos orgânicos e foram fornecidas as refeições de café da manhã, almoço, janta e 2 lanches pelo período de 14 dias de intervenção do ECR. Antes e imediatamente após o período de intervenção, foram coletados urina para análise de resíduos de agrotóxicos, sangue para determinação de parâmetros bioquímicos e genéticos e realizada avaliação antropométrica. O grupo convencional foi composto por 70 indivíduos e o grupo orgânico 78 (N=148), 65,5% da amostra tinha idade entre 21-29 anos e 87,7% apresentaram dieta onívora. Na comparação entre os grupos ao fim da intervenção, o grupo orgânico apresentou redução na circunferência da cintura e o grupo convencional aumento na circunferência do quadril. Para avaliação dos níveis urinários e marcadores biológicos foram incluídos os indivíduos que apresentaram, pelo menos, um agrotóxico detectado na urina. Os níveis urinários de inseticidas diminuíram em ambos os grupos, com um percentual maior no grupo orgânico (98,6%) comparado ao grupo convencional (66,2%). O dano de DNA aumentou em ambos os grupos, mas os mecanismos de reparo ao DNA por BER e NER foram maiores no grupo orgânico. Em suma, os dados obtidos por este estudo sugerem que o consumo predominante de alimentos convencionais pode ter associação com maiores níveis urinários de inseticidas, principalmente piretróides e os indivíduos com esse hábito alimentar podem ter menor capacidade de reparo de dano ao DNA comparado a consumidores orgânicos.

Palavras chave: nutrição; toxicologia, ensaio clínico randomizado, agroquímicos.

Abstract

Brazil is the world's second largest exporter of agricultural products in the world and about a third of agricultural products are produced under the influence of pesticide application in plantations. The excessive use of these products penetrates or reaches non-target plants, contaminates environment and leaves residues in food consumed by population. Exposure to pesticides through food has been associated with health effects such as problems in endocrine and neurological system, worsening in conditions such as asthma, overweight and obesity and even related to development of some types of cancer. An alternative to this problem is the consumption of organic foods, as they are prohibited by law from using highly soluble pesticides and fertilizers in production. In this sense, Clinical Trials are the main design to assess exposure and effect and fill the knowledge gap in this area. Thus, the objective of this work was to evaluate the presence of pesticides and effects of exposure to these compounds through food route on the biochemical parameters of healthy individuals in a Randomized Clinical Trial (RCT). Healthy adults aged 19-40 years from Federal University of Rio Grande, Brazil were included in the study. Participants were randomly allocated into two experimental groups: 1) consumers of conventional foods and 2) consumers of organic foods and were provided with breakfast, lunch, dinner and 2 snacks for the 14-day period of RCT intervention. Before and immediately after intervention period, urine was collected for analysis of pesticide residues, blood for determination of biochemical and genetic parameters and an anthropometric evaluation was performed. The conventional group consisted of 70 individuals and organic group 78 (N=148), 65.5% of sample was aged between 21-29 years and 87.7% had an omnivorous diet. Comparing the groups at end of the intervention, organic group showed a reduction in waist circumference and conventional group showed an increase in hip circumference. To assess urinary levels and biological markers, individuals who had at least one pesticide detected in their urine were included. Urinary insecticide levels decreased in both groups, with a higher percentage in the organic group (98.6%) compared to conventional group (66.2%). DNA damage increased in both groups, but DNA repair mechanisms by BER and NER were greater in the organic group. In summary, data obtained by this study suggest that the predominant consumption of conventional foods may be associated with higher urinary levels of insecticides, mainly pyrethroids, and individuals with this eating habit may have a lower capacity to repair DNA damage compared to organic consumers.

Keywords: nutrition; toxicology, randomized clinical trial, agrochemicals.

1. Introdução

A utilização dos agrotóxicos na agricultura intensificou na década de 1970, durante a chamada Revolução Verde, com o início das novas tecnologias agrárias e técnicas de cultivo que aumentaram a produtividade e modernizaram o sistema agrícola. No Brasil, os agrotóxicos foram inseridos em grande escala para produção de alimentos também na década de 1970, em consequência do incentivo para o agricultor através da implantação do Programa Nacional de Defensivos Agrícolas (Bull et al., 1986). Assim, os agrotóxicos auxiliaram no crescimento dos sistemas agrícolas e atualmente mais de 1,8 bilhão de hectares de terra são utilizados para esta produção no mundo (EMBRAPA, 2018).

Os agrotóxicos são as substâncias sintéticas mais utilizadas para o controle eficiente e a proteção das culturas contra ataques de pragas, como insetos, fungos e bactérias (Casida et al., 2009). São classificados de acordo com a ação e a classe toxicológica, que incluem os inseticidas, os fungicidas, os herbicidas, os rodenticidas, os acaricidas, os nematocidas, os moluscicidas e os fumigantes (OMS – Organização Mundial de Saúde, 2022). Com relação a classificação toxicológica, a RDC nº 294 (2019) no Art. 39 define a nova classificação toxicológica a partir de valores referentes à Dose Média Letal (DL₅₀), por via oral, por miligramas do ingrediente ativo do produto por quilograma de peso vivo, como: produto extremamente tóxico (faixa vermelha), produto altamente tóxico (faixa vermelha), produto moderadamente tóxico (faixa amarela), produto pouco tóxico (faixa azul), produto improvável de causar dano agudo (faixa azul) e produto não classificado (faixa verde). Além disso, frases e figuras de advertência que representam a classificação toxicológica são obrigatórias na embalagem.

Segundo a Organização para Alimentação e Agricultura das Nações Unidas (FAO), a China é o maior consumidor de agrotóxicos do mundo, seguido do Brasil e Estados Unidos. Este protagonismo brasileiro na comercialização e uso tem sido estimulado nos últimos anos. Em 2019, 475 novos produtos foram autorizados pelo governo brasileiro, entre novos ingredientes ativos e produtos a partir de ingredientes ativos já existentes. Em 2020 foram 493 produtos e em 2021 499, o maior número em 20 anos (MAPA, 2022). Além disso, em julho de 2019, a Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) aprovou um novo regulamento para a classificação de toxicidade em relação ao uso de agrotóxicos com a justificativa de que a classificação estava em desacordo com o resto do mundo, segundo a base no Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos – GHS. Com isso, a nova classificação brasileira alterou o número de agrotóxicos classificados como extremamente tóxico de 702, para apenas 43 (ANVISA, 2022).

Para fiscalizar o uso de agrotóxicos no campo, a ANVISA realiza o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). No último relatório do PARA, que corresponde as análises de alimentos coletadas em todo país no período entre 2017-2018, foram observadas 28% das amostras analisadas com resíduos de agrotóxicos com concentrações iguais ou inferiores ao Limite Máximo de Resíduos (LMR) e 23% de amostras insatisfatórias. Ou seja, amostras com resíduos acima do LMR, que podem ser um ingrediente ativo proibido para cultivo ou ainda não permitido no país (ANVISA, 2019).

Segundo o Codex Alimentarius (2009), cerca de 70-80% dos metais pesados como cádmio, chumbo, mercúrio, e também dos agrotóxicos no corpo humano vêm dos alimentos consumidos. Em média anual, o consumidor ingere cerca de 2,5 kg de produtos químicos agrícolas e alimentares no corpo. Logo, existe uma preocupação com as consequências à saúde devido ao consumo de alimentos com resíduos de agrotóxicos, pois para a população geral a principal via de exposição aos agrotóxicos é através de alimentos (IPCS, 2009). A exposição prolongada aos resíduos de agrotóxicos nos alimentos pode ocasionar doenças como malformações congênitas, distúrbios neurológicos (Silva et al., 2011; Santos et al., 2014; Rumiato & Monteiro, 2017), distúrbios endócrinos, diabetes e obesidade (Meira et al., 2019). Entre as diferentes classes de agrotóxicos que a população pode estar exposta, os inseticidas, os organofosforados, os carbamatos e os piretróides foram descritos com efeitos neurotóxicos agudos (Jardim et al., 2018^a).

Diante do exposto, um objetivo de longo prazo é desenvolver sistemas alimentares sustentáveis por várias organizações intergovernamentais. Nos últimos anos, o sistema de agricultura orgânica, a produção e os mercados de produtos orgânicos cresceram em todo o mundo (Vigar et al., 2019). A agricultura orgânica é cultivada com produtos sintéticos limitados, como agrotóxicos, fertilizantes ou uso rotineiro de antibióticos e hormônios de crescimento (IFOAM, 2018). Logo, os alimentos obtidos a partir deste cultivo são geralmente produtos mais naturais e envolvem menos processamento do que os alimentos convencionais (Srednicka-Tober et al., 2020).

Estudos comparando alimentos orgânicos com alimentos convencionais descreveram níveis mais baixos de agrotóxicos e um maior valor nutricional em culturas orgânicas, mas poucos estudos clínicos e epidemiológicos foram realizados até o momento com o objetivo de avaliar efeitos à saúde entre o consumo dos dois cultivos. Os poucos estudos demonstraram que a intervenção dietética apresenta maiores quantidades de alguns compostos bioativos em alimentos orgânicos, que podem estar ligados a uma diminuição do risco de doenças crônicas,

incluindo doenças neurodegenerativas, obesidade e certos tipos de câncer (Grandjean et al., 2014; Kesse-Guyot et al., 2017; Badbury et al., 2018).

A nutrição baseada em evidências depende do acúmulo sistemático de informações sobre como os diferentes tipos de alimentos e dieta afetam a saúde do indivíduo. Estudos observacionais apresentam desafios para as intervenções nutricionais, incluindo a dieta como agente preventivo de doenças e a variedade de ingestão de nutrientes. Em estudos retrospectivos, há o viés de memória da dieta passada (Colditz, 2010). Os desenhos de ensaio clínico de grupos paralelos, duplo-cegos e randomizados, são considerados o padrão-ouro para verificar a eficácia ou efeito de intervenção dietética, ainda que apresente alto custo e seja necessário um grande tamanho de amostra (Bridges, 2016). Diante do exposto, é necessário que sejam realizados mais estudos para estimar como e em que medida os diferentes padrões de consumo de alimentos com e sem resíduos de agrotóxicos podem afetar a saúde. Assim, os resultados provenientes deste Ensaio Clínico podem auxiliar na investigação dos potenciais efeitos à saúde da exposição aos agrotóxicos pelo consumo de alimentos obtidos pelo cultivo convencional.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Agrotóxicos no Brasil

No Brasil, a utilização dos produtos químicos na agricultura foi regulamentada a partir do Decreto nº 24.114, de 12 de abril de 1934, instituindo o Regulamento de Defesa Sanitária Vegetal. O Decreto só determinava limites para os agrotóxicos da classe agrônômica inseticidas e fungicidas, pois os ingredientes ativos sintéticos ainda não eram utilizadas comercialmente. Porém, a produção agrícola no país só apresentou crescimento significativo em 1970 durante o período da Revolução Verde, devido as novas tecnologias agrárias, técnicas de cultivo, subsídios e incentivos para os agricultores por parte do governo. Com isso, a agricultura brasileira cresceu de 39 milhões de toneladas para 236 milhões (Rembischevski et al., 2018). Nessa mesma época, segundo a Portaria do Ministério da Agricultura nº 295 de 1971 foi determinada a nomenclatura de produtos químicos para defensivos agrícolas.

Novas regulamentações surgiram após a Revolução Verde com a publicação da Lei nº 7.802/1989, que estabelece da produção à comercialização dos agrotóxicos, além de normas para pesquisa, registro e fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins. O termo agrotóxico foi instaurado no Brasil depois de críticas e negociações políticas entre sindicatos, representantes dos trabalhadores rurais e a sociedade civil na qual discordava do termo - defensivos agrícolas, pois esta terminologia não representava o perigo que os compostos poderiam ocasionar para saúde humana e o meio ambiente. Assim, a definição de agrotóxico segundo a Lei 7.802/89 e Decreto Nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, Art. 1º é:

“Agrotóxicos são produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosas de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento.”

Para o registro de um novo agrotóxico no Brasil é necessária a avaliação dos 3 órgãos federais, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Ministério do Meio Ambiente (IBAMA) e a Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA). O papel do MAPA nesta aprovação é por meio do dossiê agrônômico no qual analisa a eficiência e o potencial para a utilização na agricultura, o IBAMA avalia os efeitos ao meio ambiente e a ANVISA analisa a toxicidade em seres humanos. O registro final é concedido pelo MAPA, sob a aprovação obrigatória do IBAMA e da ANVISA (ANVISA, 2022).

Depois da aprovação do produto, é obrigatório que na bula contenha as informações toxicológicas. Recentemente, a ANVISA publicou um novo marco regulatório para classificação e padronização de rotulagens dos agrotóxicos proposta pelo Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (GHS). A descrição e classificação da gravidade do perigo químico é realizada por classe de perigo e categoria de perigo, e são estabelecidas como demonstrado abaixo:

- Classe de perigo: significa a natureza do perigo, podem ser físicas para a saúde ou para o ambiente.

- Categoria de perigo: é a divisão de critérios dentro de cada classe de perigo

As três classes de perigo GHS, Perigo físico, Riscos à saúde e Riscos ambientais, divididas em 29 categorias de perigo estão apresentadas na **Tabela 1**.

Tabela 1. Categorias de classificação de perigos determinadas pelo GHS e suas classes de riscos.

Classe de perigo	Categorias de perigo
Perigos Físicos	Explosivos
	Gases Inflamáveis
	Aerossóis
	Gases Oxidantes
	Gases sob pressão
	Líquidos inflamáveis
	Sólidos inflamáveis
	Substâncias auto-reativas
	Líquidos pirofóricos
	Sólidos pirofóricos
	Substâncias de auto aquecimento
	Em contato com água, emitem gases inflamáveis
	Líquidos oxidantes
	Peróxidos orgânicos
	Corrosivos para metais
	Explosivos dessensibilizados

	Toxicidade Aguda (Oral – Dérmica – Inalatória)
	Corrosão – Irritação da pele
	Lesões oculares graves – Irritação ocular
	Sensibilização respiratória ou cutânea
Riscos à Saúde	Mutagenicidade em células germinativas
	Carcinogenicidade
	Toxicologia reprodutiva
	Toxicidade sistêmica em órgão alvo – exposição única
	Toxicidade em órgão alvo – exposição repetida
	Toxicidade por aspiração
Riscos Ambientais	Perigoso para o ambiente aquático
	Perigoso para a camada de ozônio

Com a nova classificação de riscos dos agrotóxicos no Brasil em 2019 podemos observar uma alteração em algumas categorias. Do total de 1942 produtos registrados, 702 produtos que eram classificados como extremamente tóxicos (classe I, Portaria nº 3/1992 Ministério da Saúde) foram reclassificados para classes menos perigosas (**Figura 1**). Na nova classificação do GHS, apenas 43 produtos continuam classificados como agrotóxicos extremamente tóxicos a saúde pública, ou seja, uma redução de 93,87%.

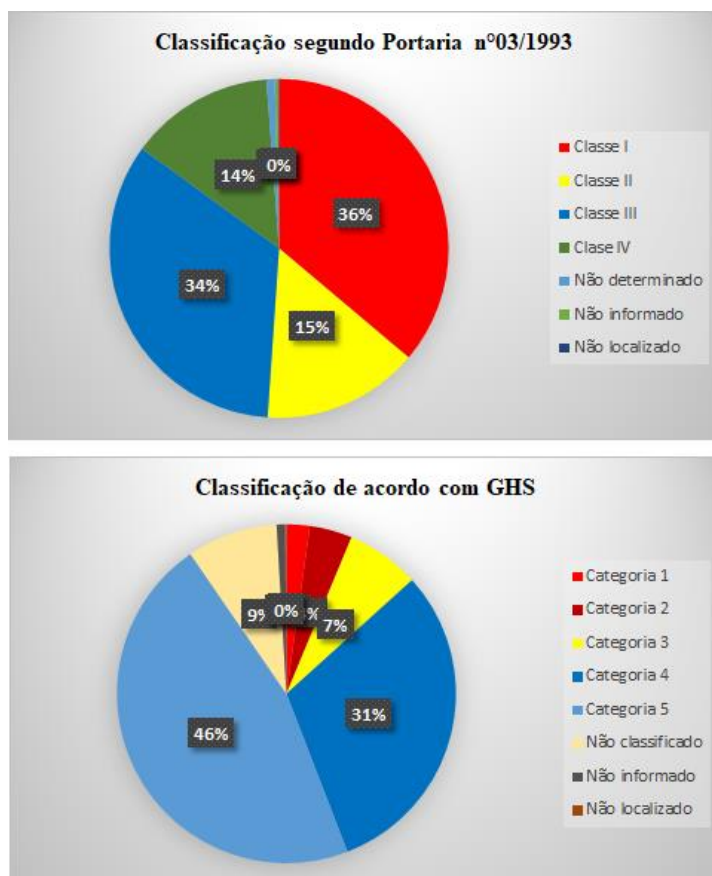


Figura 1. Classificação dos agrotóxicos no Brasil pela Portaria do Ministério da Saúde nº 3/1992 e a reclassificação segundo GHS.

Segundo os dados do relatório do IBAMA para o ano de 2020, os principais agrotóxicos comercializados no sistema agrícola brasileiro foram os herbicidas (60,35%), os fungicidas (15,80%) e os inseticidas (11,77%). Dentre os herbicidas, o glifosato e seus sais são o agrotóxico mais utilizado no Brasil (246.017,51 toneladas de Ingrediente Ativo), e o segundo herbicida mais utilizado no país é o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4D) com 57.597,57 toneladas de Ingrediente Ativo (IBAMA, 2022).

Os principais cultivares da produção agrícola no Brasil representados por rendimento médio por ano da safra 2021 são a cana-de-açúcar (68.778 kg por hectare), milho (9.508 kg por hectare), arroz (6.919 kg por hectare), soja (3.462 kg por hectare) e café arábica (1.341 kg por hectare), sendo que esses são alimentos também exportados para o mercado internacional. (IBGE/SIDRA, 2022). A expansão destes cultivos tornou o Brasil o segundo maior exportador de soja e milho e o maior exportador de açúcar e café. O aumento na exportação desses alimentos pode ser um dos fatores que explica o aumento no consumo de agrotóxicos no país (FAOSTAT, 2022).

Diante do exposto, podemos observar que os agrotóxicos quando bem utilizados controlam fatores indesejados na agricultura, como pragas, fungos e infestações de ervas daninhas. Porém, devem ser tomados os cuidados necessários na aplicação, respeitando a legislação brasileira vigente com relação aos níveis e culturas permitidas, bem como o tempo de ação e carência dos produtos. O uso intensivo de agrotóxicos pode causar a degradação dos recursos naturais como do solo e da água, em alguns casos de forma irreversível, podendo levar a desequilíbrios biológicos e ecológicos (FAO; OMS, 2016). Além disso, a utilização excessiva dos agrotóxicos na agricultura pode ocasionar a contaminação dos alimentos, sendo capaz de acarretar em efeitos adversos à saúde por intoxicações agudas ou crônicas.

2.2 Resíduos de agrotóxicos em alimentos e na água de consumo humano

A FAO salienta que a demanda global por alimentos tem aumentado constantemente, juntamente com o crescimento populacional, as colheitas recorde e a diversidade das dietas. Os dados também mostram que a população mundial em 2024 excederá 8 bilhões de pessoas e, em 2050, mais de 9,5 bilhões, representando a necessidade de 60% a mais de alimentos e 50% a mais de energia (FAO, 2022). Neste sentido, há benefícios na utilização de agrotóxicos para a produção de alimentos em grande escala. No entanto, nos últimos anos tem se observado resíduos de agrotóxicos no ambiente, contaminando diferentes ecossistemas e comprometendo os recursos alimentares e hídricos (Tudi et al., 2021). Nota-se que essa contaminação vem do crescimento populacional, uma vez que tal crescimento não seria possível sem um aumento na produção de alimentos, e isso está intimamente ligada ao uso de agrotóxicos e fertilizantes (Carvalho, 2017).

Os resíduos dos agrotóxicos podem permanecer nos tecidos vegetais, como por exemplo, em alimentos como as frutas. O controle desses resíduos é realizado pelas agências reguladoras de cada país, como a EPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, EFSA – Autoridade Europeia de Segurança Alimentar ou a ANVISA no Brasil, e é baseado no Limite Máximo de Resíduo (LMR), variando de acordo com o princípio ativo e a cultura pretendida (EPA, 2022; EFSA, 2022; ANVISA, 2022).

No último relatório do PARA (ANVISA, 2019), foram analisados 14 alimentos, coletados entre agosto/2017 a junho/2018, o que representa 30,86% dos alimentos de origem vegetal consumido pelos brasileiros e foram pesquisados resíduos de 270 ingredientes ativos de agrotóxicos. Os alimentos em inconformidade para os resíduos de agrotóxicos representaram 23%, os alimentos com resíduos até o limite permitido 28% e com ausência de resíduos 49%. Dentre os 23% dos alimentos irregulares, 17,3% eram de ingredientes ativos não permitidos

para cultura, 2,9% com mais de uma inconformidade, 2,3% eram com Limite Máximo de Resíduos e 0,5% com ingredientes proibidos pela legislação. Foram detectados 122 resíduos de ingrediente ativos em amostras de alimentos, sendo o imidacloprido (total de detecções = 713), o tebuconazol (570) e o carbendazim (526) os mais encontrados. Mediante os resultados, o relatório apresenta algumas recomendações como restringir o registro de ingredientes ativos que tenham elevados índices de irregularidade e situação de risco, ampliar os programas de monitoramento na esfera estadual, entre outras.

Quando comparamos os dados brasileiros com relatórios de outros países, observamos que a porcentagem de resíduos de ingredientes ativos nos alimentos é semelhante a o Brasil. O relatório do Programa de Controle coordenado pela União Europeia (EUCP) realizado no ano de 2019 também apresentam dados em inconformidade para legislação do país. Foram selecionados 12 produtos alimentares, entre alimentos de origem vegetal e animal, e foram analisados 182 resíduos de agrotóxicos. Das amostras analisadas, 53% estavam em conformidade, ou seja, sem níveis quantificáveis de resíduos (resíduos < limite de quantificação), 45% continham um ou mais resíduos de agrotóxicos em concentração acima do LOQ (Limite de Quantificação) e abaixo ou igual ao Limiar Máximo de Resíduos (LMR) e apenas 2% continham resíduos superiores aos seus respectivos LMR (EFSA, 2022).

Os alimentos brasileiros apresentam níveis de inconformidade maiores quando comparados com os do FDA (Food and Drug Administration) dos EUA. O estudo de Liang et al (2021) realizaram um compilado dos relatórios da FDA com mais de 56.000 amostras de alimentos entre 2009 a 2017. Os dados dos relatórios mostraram que 98% dos alimentos nacionais e 90,9% dos alimentos importados estavam em conformidade com os limites exigidos no país. Entre os alimentos com inconformidade, a taxa de violação foi de 2,0% para amostras nacionais, 9,1% para amostras importadas e 7% para todas as amostras combinadas. A incompatibilidade entre a tolerância estipulada pelos EUA e os LMRs internacionais podem levar a essas violações, pois de maneira geral a maioria das violações se deve a resíduos de agrotóxicos não autorizados para uso nos EUA e permitido em outros locais.

Ainda que o PARA apresente dados de resíduos de ingredientes ativos superior ao de outros programas, não temos dados suficientes para afirmar que os resíduos de ingredientes ativos apresentam efeitos negativos à saúde dos brasileiros. Oliveira et al (2021) simularam modificações dietéticas com a finalidade de atingir a adequação nutricional sem que isso levasse ao aumento da Ingestão Diária Aceitável (IDA) de agrotóxicos. Os autores observaram que a adequação nutricional pelo aumento de frutas, hortaliças, laticínios e frutos do mar, e a redução

de arroz, carne vermelha e bebidas açucaradas levou a um aumento na ingestão de agrotóxicos, mas sem exceder a IDA.

O PARA é um programa importante no Brasil e tem avançado muito nos últimos anos, com o aumento do número de amostras analisadas, aumento no número de ingredientes ativos e aumento da rede de laboratórios contratadas para essas análises. Além disso, os resultados apresentados pelo PARA são fundamentais para subsidiar ações de fiscalização de vigilância sanitária e dar suporte a uma estimativa de exposição alimentar aos agrotóxicos (Lopes et al., 2021). No entanto, o programa ainda precisa ampliar o número de amostras de alimentos, visto que não há análise de alguns alimentos essenciais como o feijão, presente na alimentação de 60% dos brasileiros (IBGE, 2022), nem produtos de origem animal. Da mesma maneira, é necessário ampliar o número de ingredientes ativos, pois atualmente o programa detecta apenas 270 ingredientes ativos dos mais de 500 existentes no país (MAPA, 2022).

Segundo os conceitos do último Guia Alimentar para População Brasileira (2014), a alimentação deve ser baseada em alimentos *in natura* ou minimamente processados. O Brasil produz anualmente cerca de 43 milhões de toneladas de frutas e hortaliças, porém os estudos com alimentos brasileiros detectam principalmente resíduos de agrotóxicos nesse grupo de alimentos. A revisão de Andrade et al (2021) observaram que 67% dos resíduos detectados são de uso irregular em 28 tipos de frutas e hortaliças comumente consumidos e exportados pelo Brasil e os principais resíduos são das classes de organofosforados e piretróides. Outros estudos que avaliaram multirresíduos de ingredientes ativos detectaram resíduos de clorpirifós em 20% das amostras de goiaba brasileira (Guedes et al., 2016), metil paration, buprofezím, ametrina e fenpropatrina em amostras de abacaxi (Barbosa et al., 2018), imidaclopride e carbendazim, e metamidofós em pelo menos uma das amostras de maracujá (Mozzaquatro et al., 2021).

Outros grupos alimentares brasileiros são estudados com menor frequência e em geral se encontram de acordo com os limites de segurança dos valores aceitáveis de ingestão diária. No grupo de alimentos oriundos de proteína animal, foram detectados organoclorados em peixes, principalmente compostos relacionados ao DDT (Ferreira et al., 2020). Na carne vermelha, frango, ovos e leite principalmente clorpirifós, cipermetrina (Dallegrave et al., 2018). Além disso, já foi encontrado resíduo de aldicarbe em amostras de arroz e bifentrina em massa, pão salgado e feijão (Jardim et al., 2018a). Além disso, o estudo realizado pelo Instituto Brasileiro de Defesa do Consumidor (IDEC, 2020), analisou produtos ultraprocessados e detectaram pelo menos um agrotóxico em 59,3% das amostras, aproximadamente metade dos produtos continham resíduos de glifosato ou glufosinato e todos os produtos que continham trigo apresentaram agrotóxicos.

Algumas medidas podem ser parcialmente eficazes na minimização da contaminação, como por exemplo, as práticas domésticas de lavagem em água, soluções ou descascamento de alimentos. A ANVISA (2022) orienta que os consumidores utilizem os procedimentos de lavagem dos alimentos em água corrente e a retirada de cascas e folhas externas. O estudo de Rodrigues et al (2017) observavam que a lavagem dos tomates com água removeu aproximadamente 44% do resíduo de clorotalonil, 26% de difenoconazol e 17% de azoxistrobina, soluções de bicarbonato de sódio e ácido acético removeram entre 32 e 83% dos resíduos, enquanto o descascamento removeu de 68 a 88% dos agrotóxicos. É importante ressaltar que essas medidas contribuem para redução dos resíduos de agrotóxicos presentes no exterior, porém, são incapazes de eliminar aqueles contidos no interior do alimento.

Além dos alimentos, a água própria para o consumo humano também deve ser livre de contaminantes, pois isso é essencial para uma dieta saudável e equilibrada. A contaminação da água por resíduos de agrotóxicos é causada por produtos químicos persistentes utilizados em atividades agrícolas, uso urbano e fábricas de produção de agrotóxicos (Sharma et al., 2019). Águas superficiais são contaminadas principalmente pela deriva de pulverização, água de escoamento, água de drenagem e deposição atmosférica, enquanto que as águas subterrâneas pode ser devido ao campo tratado com agrotóxicos, o local de descarte de resíduos e locais de fabricação de agrotóxicos (Syafudin et al., 2021). Já foram detectados resíduos de, aproximadamente, 113 agrotóxicos em água para consumo humano em 31 países em todo mundo (El-Nahhal et al., 2021).

No Brasil, a Coordenação Geral de Vigilância Sanitária coordena o Programa Nacional de Monitoramento da Qualidade da Água para Consumo Humano (Vigiagua), programa de monitoramento da água em quantidade suficiente e qualidade compatível com o padrão de potabilidade, estabelecido através da legislação do Anexo XX da Portaria de Consolidação nº 5/2017 do Ministério da Saúde (PRC nº 05/2017, Anexo XX). O programa funciona por meio da ferramenta do Sistema de Monitoramento da Qualidade da Água para Consumo Humano (Sisagua). São armazenadas informações sobre a qualidade da água para consumo humano, inseridas por empresas prestadoras de serviço de abastecimento da Vigilância Sanitária.

O estudo realizado por Barbosa et al (2015) identificaram que apenas 9 a 17% dos municípios brasileiros registraram seus dados no Sisagua até o ano de 2014, dificultando a avaliação real da exposição para a população a agrotóxicos por via água potável. Recentemente, duas agências brasileiras de jornalismo, a Repórter Brasil e a Agência Pública, em parceria com uma organização suíça, a Public Eye, solicitaram ao Ministério da Saúde os dados brutos através da Lei de Acesso à Informação. Os dados eram referentes aos anos entre 2014 a 2017 e

apontaram a presença de 27 agrotóxicos na água para consumo humano ofertada em 1.396 municípios brasileiros, dos 2.300 analisados. O Sisagua é uma ferramenta que ainda apresenta limitações, como a falta de informações de várias cidades do Brasil, maior número de detecção de ingredientes ativos, a falta de conhecimento da ferramenta nacional e internacionalmente e a facilidade de compreensão na apresentação dos resultados. Ainda assim, é uma fonte promissora de dados e vem apresentando dados preocupantes com relação a água para consumo humano.

2.3 Efeitos à saúde pela exposição aos agrotóxicos

A exposição aos agrotóxicos podem desencadear efeitos adversos à saúde, com sintomas agudos ou crônicos. Os sintomas agudos surgem rapidamente após a exposição excessiva, e podem incluir fraquezas, enjoo, náusea ou vômito, tonteadas, tremores, dores de cabeça, dificuldade respiratória e outros. Por outro lado, os sintomas crônicos tem o aparecimento mais lento, devido a uma exposição moderada por longo período de tempo, incluindo o desenvolvimento de problemas neurodegenerativos, câncer, alterações cromossômicas e outros (OMS, 1996).

No Brasil, os agricultores e trabalhadores rurais estão entre as populações mais expostas, aproximadamente 1,5 milhão de trabalhadores sofrem intoxicações no campo (Moura et al., 2014). Os dados do Departamento de Informática do Sus (DataSus), no período entre 2007 a 2021, apresentaram 97.118 mil casos de intoxicações registradas por agrotóxicos no Brasil na população adulta (20 a 59 anos). O agente tóxico mais registrado são os agrotóxicos agrícolas, seguido dos raticidas, agrotóxicos domésticos e agrotóxicos de saúde pública. Destes, 39% dos casos notificados estão presentes na região Sudeste, 22% da região Sul, 20,5% na região Nordeste, 10,5% no Centro-oeste e 6% dos casos no Norte (DataSus, 2022).

Ainda que os números sejam preocupantes, a subnotificação é historicamente expressiva no Brasil, em particular as mais graves como as intoxicações crônicas, para cada caso notificado por intoxicação outros 50 não são inseridos no sistema (Peres et al., 2001). Segundo o Protocolo de Avaliação das Intoxicações Crônicas por Agrotóxicos (2013), a subnotificação por falta de registro impossibilita o investimento na prevenção e no tratamento rápido de intoxicações por agentes tóxicos no Sistema Único de Saúde (SUS), assim como inviabilizam ações de prevenção e promoção saúde para a população.

Neste sentido, as intoxicações crônicas são ainda mais preocupantes, pois além de não termos notificações expressivas nos bancos de dados, os efeitos adversos à saúde são mais difíceis de serem identificados. Recentemente, alguns estudos encontraram correlação entre a

exposição ocupacional por agrotóxicos e problemas neurológicos. Os resultados apresentados mostram que um terço das mulheres grávidas que viviam a menos de 1,5 km de áreas de aplicação de agrotóxicos ou que tivessem contato com organofosfatos estava associada a 60% de aumento de risco de desenvolvimento de autismo pelo bebê (Shelton, 2014; Pelch et al., 2019). Este cenário preocupante levou o Ministério da Saúde, através da Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos, a desenvolver uma publicação com as Diretrizes Brasileiras para Diagnóstico e Tratamento de Intoxicações por Agrotóxicos com a finalidade de auxiliar os profissionais de Saúde da Atenção Básica, média e de alta complexidade na escolha de intervenções adequadas para o atendimento de pacientes intoxicados por agrotóxicos (Ministério da Saúde, 2020).

Além disso, há resultados positivos quanto à presença de agrotóxicos no leite materno, como os piretróides (Corcellas et al. 2012) e metabólitos de piretróides, como 3-PBA (Ácido 3-fenoxibenzóico) (Thiphom et al. 2014). Os agrotóxicos organoclorados também foram encontrados em amostras de leite materno (18 resíduos), inclusive altas concentrações de metoxicloro, agrotóxico proibido no Brasil por mais de 30 anos. Os autores também relataram a detecção simultânea de dois ou mais resíduos por amostra analisada (Souza et al., 2020). Os organoclorados apresentam alta lipofilicidade, o que facilita a absorção e distribuição nos tecidos podendo se difundir entre as membranas, internalizar as células e se acumular em órgãos com elevada gordura como fígado, rins, cérebro e o tecido mamário (Schaefer et al., 2015; Souza et al., 2020).

No entanto, quando se refere a exposição pelo consumo de alimentos com resíduos de agrotóxicos os dados na literatura ainda não são suficientes para realizar uma associação com os efeitos à saúde. A maioria dos trabalhos existentes de exposição por via alimentar avalia o desfecho - níveis de concentrações urinárias de indivíduos expostos a dieta convencional comparado com um período de dieta orgânica (Ye et al., 2015; Berman et al., 2016; Holme et al., 2016; Chiu et al., 2017; Sutris et al., 2017; Hyland et al., 2019). Esses estudos foram realizados principalmente na América do Norte (Canadá e Estados Unidos), na Ásia (Malásia) e países de área limítrofe como Israel e Georgia.

Os principais metabólitos de agrotóxicos urinários encontrados nos estudos foram metabólitos de inseticidas para organofosforados e piretróides como dimetilfosfato (DMP), dimetiltiofosfato (DMTP), dimetil-ditiofosfato (DMDTP), dietilfosfato (DEP), e dietiltiofosfato (DETP), dietilditiofosfato (DEDTP) ácido dicarboxílico malatião (MDA), metabólito do malation; 3,5,6-tricloro-2-piridinol (TCPy) e 3-PBA. Logo, sabe-se que há diferença na excreção dos níveis urinários de agrotóxicos com relação ao consumo de alimentos

convencionais comparado aos orgânicos. Mas, ainda não sabemos se essa exposição via alimentar pode apresentar riscos à saúde no que se refere aos efeitos crônicos de danos genéticos, câncer, problemas neurodegenerativos e outros.

Estudos realizados pelo Laboratório de Toxicologia da Universidade de Brasília (UnB) demonstraram que não há riscos à saúde pela exposição de agrotóxicos por via alimentar. Avaliações cumulativas de risco dietético agudo para organofosforados, carbamatos e piretróides foram realizadas para amostras de alimentos de programas nacionais de monitoramento. Laranja, suco de laranja, macarrão e pão salgado foram os alimentos que mais contribuíram para a ingestão de organofosforados, o arroz para carbamatos e massas, pães e feijão para piretróides. No entanto, nenhum índice ultrapassou ARfD estipulada e não apresentam riscos de exposição preocupantes para saúde (Jardim et al., 2018^a).

Outro estudo realizado pelo Laboratório de Toxicologia da UnB avaliou o risco à saúde estimado a partir de dados de resíduos para triazóis e ditiocarbamatos em mais de 30 alimentos utilizando o software de avaliação de risco de Monte Carlo. Os autores evidenciaram que o ingrediente ativo flusilazol é responsável pela exposição aguda cumulativa de 0.5% da ARfD em mulheres em idade fértil para os efeitos de malformação crânio-facial e variação esquelética, porém sem apresentar um problema relevante de saúde. Os mesmos achados foram encontrados para exposição crônica com o ciproconazol para os efeitos hepatotoxicidade e tileno-bisditiocarbamatos para toxicidade da tireóide) (Jardim et al., 2018^b).

É importante estimar a quantidade de agrotóxicos ingerida por via alimentar, pois desta forma é possível avaliar o risco real para a população. A quantificação de 17 piretróides e clorpirifós foi realizada em produtos de origem animal com elevado teor de gordura em amostras de alimentos brasileiros. Os inseticidas foram encontrados nas amostras analisadas e a avaliação de risco mostrou que os resíduos de inseticidas detectados não constituem risco para o cidadão brasileiro, pois os valores estimados ficaram abaixo da IDA (Dallegrave et al., 2018). Porém, de maneira geral os estudos com avaliação de risco à saúde para agrotóxicos são baseados em modelos matemáticos.

Uma alternativa ao uso das práticas agrônômicas convencionais é a agricultura orgânica. Estudos mostraram que a população tem optado por alimentos orgânicos por compreender que seria uma opção mais saudável, além de também serem motivados a consumir pela preocupação com a saúde ambiental, o bem-estar animal, ou pela percepção que os alimentos orgânicos têm maior valor nutricional do que os produtos convencionais (Oates et al. 2012; Smith-Spangler et al. 2012).

2.4 Alimentos orgânicos

Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação a definição de agricultura orgânica é:

“A agricultura orgânica é um sistema holístico de gestão da produção que promove e melhora a saúde do agroecossistema, incluindo a biodiversidade, os ciclos biológicos e a atividade biológica do solo. Ele enfatiza o uso de práticas de gestão em detrimento do uso de insumos fora da fazenda, considerando que as condições regionais exigem sistemas adaptados. Isso é feito usando, sempre que possível, métodos agronômicos, biológicos e mecânicos, em oposição a usando materiais sintéticos, para cumprir qualquer função específica dentro do sistema” (FAO/OMS Codex Alimentarius Commission, 1999).

No Brasil, a produção orgânica foi estabelecida pela Lei 10.831/2003, na qual define que é proibida a utilização de agrotóxicos e fertilizantes químicos de alta concentração e solubilidade. Assim, são substituídos por biofertilizantes, adubos orgânicos, defensivos alternativos como óleos e extratos naturais, adubação verde, rotação de culturas e plantio direto. O sistema de cultivo orgânico tem por objetivo ser menos prejudicial ao meio ambiente comparado ao convencional e, conseqüentemente, menos nocivo à saúde humana.

O mercado dos alimentos orgânicos tem apresentado um aumento significativo, e há evidências de que isto esteja relacionado com a preocupação dos consumidores com as implicações de saúde, éticas e ambientais de suas escolhas alimentares (Padilla Bravo et al. 2013). Os alimentos orgânicos possuem alto valor nutricional, garantindo consumo seguro, sem resíduos nocivos de fertilizantes e conservantes, e exclui modificações genéticas. Deste modo, o consumo destes alimentos é compreendido como mais saudável, mais ecológico e mais seguro que os alimentos produzidos pelo sistema convencional (Soroka et al., 2021).

Em 2018, a produção de alimentos orgânicos é realizada em mais de 180 países e ocupa 71,5 milhões de hectares (Willer et al., 2020). A Austrália ocupa o primeiro lugar em área agrícola orgânica (50% com 35,7 milhões de hectares), seguida pela Argentina (3,6 milhões de hectares) e a China (3,1 milhões de hectares) (Paull, 2019; Willer et al., 2020). Nos Estados Unidos, as vendas de produtos orgânicos apresenta um aumento de mais de 100% nos últimos 10 anos, US\$ 20,39 em 2008 e US\$ 47,9 bilhões em 2019 (Adamchak, 2020). No Brasil, as unidades de produção orgânica no país estão distribuídas em todas as regiões brasileiras com maior concentração na região Nordeste, principalmente entre Bahia, Pernambuco, Piauí e Ceará, na região Sul e em parte dos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Espírito Santo. Além disso, o número de produtores orgânicos registrados no MAPA apresentou aumento médio

anual de quase 17% entre os anos de 2010 a 2018 (Instituto de Pesquisa e Economia Aplicada, 2020).

As vendas mundiais dos produtos orgânicos atingiram, aproximadamente, 97 bilhões de dólares em 2017, um aumento de 10% nas vendas comparado a 2016. Apesar do mercado de orgânicos apresentar crescimento, a produção e o consumo de alimentos orgânicos ainda apresentam maior custo e menor produtividade em relação a agricultura convencional (Willer et al., 2020). Além disso, não há consenso se existe diferença da composição nutricional e conteúdo de metabólitos secundários dos alimentos orgânicos comparado com alimentos convencionais. Uma revisão sobre o conteúdo de metabólitos secundários afirmaram que em termos de composição nutricional ainda é não é possível concluir que um sistema de produção orgânico é melhor do que um sistema convencional (Baranski et al., 2017).

Alguns estudos *in vitro* encontraram maior teor de polifenóis em maçãs cultivadas organicamente e alguns cultivares de morangos (Young et al., 2005; Srednicka-Tober et al., 2020) quando comparados com os alimentos do cultivo convencional. No entanto, estes resultados não foram observados para os compostos fenólicos em ameixas e groselhas (Mikkonen et al., 2001). A diferença na composição fitoquímica encontrada por alguns estudos pode ocorrer devido as diferentes práticas de fertilização do solo, no qual o plantio convencional gera maior biodisponibilidade de nitrogênio, através dos fertilizantes sintéticos e isso acelera o processo de plantio, podendo alterar a composição dos alimentos. Outra razão, é que os alimentos no cultivo orgânico estão expostos a mais situações estressantes resultantes da falta de agrotóxicos, e isto pode aumentar a defesa natural e gerar mais metabólitos secundários (Faller e Fialho, 2009).

Devido a restrição de agrotóxicos no cultivo de alimentos orgânicos, é comum a utilização de esterco de animais e isso pode aumentar o risco de contaminação microbiológica em vegetais orgânicos crus (Williams, 2002; Johannessen et al., 2004). Os trabalhos realizados no Brasil detectaram contaminação microbiológica em alfaces e cenouras orgânicas (Arbos et al., 2010; Abreu et al., 2010). Neste sentido, o uso de agrotóxicos é considerado como fator de proteção, pois são capazes de inibir o crescimento de alguns micro-organismos (Oliveira et al., 2010). Em ambos os cultivos, a prática de produção e processamento devem ser realizadas de maneira segura, pois essa contaminação pode ocorrer no plantio, no manuseio ou no pós-colheita (Bourn et al., 2002). Kuan et al (2017) demonstraram que com o manuseio adequado não há diferenças no plantio para a contaminação de vegetais com diferentes micro-organismos (*Escherichia coli* O157:H7, *E. coli* produtora de toxina, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* e *Salmonella Enteritidis*).

As pesquisas atuais sobre os efeitos do consumo de alimentos orgânicos na saúde são escassas em comparação com outros tópicos de epidemiologia nutricional. Em particular, faltam estudos de intervenção de curto e longo prazo e isso ocorre principalmente devido ao alto custo. Estudos clínicos realizados em diferentes países geralmente são baseados em populações pequenas, restritos a substituição de um grupo ou um alimento orgânico e de curta duração, limitando assim o poder estatístico e a possibilidade de identificar efeitos de longo prazo. Estudos de intervenção com apenas um alimento orgânico não encontraram diferença significativa entre a dieta dos indivíduos com relação a concentração antioxidante plasmática, oxidação de LDL e danos de DNA (Briviba et al., 2007; Stracke et al., 2009^a; Stracke et al., 2009^b; Caris-Veyrat et al., 2004). É importante ressaltar, que a ação antioxidante dos alimentos não se restringe apenas a um alimento ou grupo de alimentos (Heimler et al., 2005).

Em estudos observacionais, a dificuldade de associação entre consumo e efeito é que indivíduos que consomem alimentos orgânicos tendem a escolher mais vegetais, frutas, produtos integrais e menos carne e apresentam padrões alimentares mais saudáveis (Mie et al., 2017). Assim, dependendo da questão do estudo, as associações entre o consumo de alimentos orgânicos comparado com convencionais e o resultado de saúde precisam ser cuidadosamente ajustadas para diferenças na qualidade da dieta e fatores de estilo de vida. No estudo prospectivo que incluiu 62.000 participantes com a variável consumo de alimentos orgânicos, o Índice de Massa Corpórea (IMC) e a obesidade (31%) ao longo do tempo foi menor entre consumidores frequentes de alimentos orgânicos em comparação com quem consumia menos produtos (Kesse-Guyot et al., 2017). Portanto, ensaios de intervenção dietética controlados, randomizados e de longo prazo comparando alimentos orgânicos e convencionais da mesma variedade são necessárias para determinar os possíveis efeitos benéficos da dieta orgânica na saúde humana.

2.4.1 Estudos comparativos de alimentação convencional e orgânica

Os estudos observacionais recentes que caracterizaram os efeitos do consumo de alimentos convencionais e orgânicos em adultos estão apresentados na Tabela 2. Os delineamentos mais utilizados foram o transversal (N = 8) e as coortes (N = 6), com desfecho para biomonitoramento na urina através de resíduos de agrotóxicos, associado a questionários autorrelatados de frequência alimentar. Em geral, os estudos já realizados associaram o maior consumo de alimentos convencionais, principalmente frutas e vegetais, com maiores níveis

urinários de agrotóxicos. Os organofosforados foram os agrotóxicos mais investigados, especificamente os metabólitos de DAPs.

Os estudos de coorte são mais robustos comparado aos transversais e constituem uma maneira viável de examinar associações, como os relatados nos estudos da Tabela 2 sobre menor IMC, melhora no sistema reprodutivo masculino e menor risco de alguns tipos de câncer. Porém, é um delineamento que apresenta desafios, como o tempo de duração e custo. Além disso, se dois ou mais grupos forem comparados em estudos observacionais pode ocorrer diferenças sistemáticas entre os grupos e não se pode afirmar que o resultado final por essas diferenças pela intervenção realizada no estudo (Howards, 2018).

O Ensaio Clínico Controlado Randomizado (ECR) é o delineamento que apresenta causalidade baseada em evidências, isto é, uma intervenção causa uma mudança direta em um resultado clínico, além de serem valorizados por seu rigor estatístico e mecanismos para evitar vieses (Brocklehurst et al., 2017). Os Ensaios Clínicos (EC) descritos na literatura que abordaram a associação entre o consumo de alimentos convencionais e saúde são predominantemente cruzado ou duplo-cego e, com menos frequência, simples-cego (Tabela 3). O procedimento de cegar os participantes (simples cego) ou ambos participantes e investigadores (duplo cego) minimiza o viés de informação inconsciente. O EC cruzado apresenta a vantagem de aumentar o número amostral pois utiliza o mesmo número de indivíduos nas duas intervenções (fase convencional e fase orgânica). Por outro lado, o ECR duplo-cego diminui a possibilidade de vieses (Bhide et al., 2018).

Baseado nos dados dos estudos encontrados, foi realizado um ECR duplo-cego. Porém, para o melhor desenvolvimento do estudo também realizamos um estudo piloto de sete dias antes da intervenção, por ser considerado como um período de adaptação e correção de problemas sem modificar a intervenção que já estava estabelecida. O tipo de intervenção e o tempo exposição são dois fatores fundamentais para determinar associação entre exposição e alguns desfechos (Kunz et al., 1998) como, por exemplo, parâmetros bioquímicos, atividade antioxidante, danos de DNA e desenvolvimento de câncer. Esses desfechos avaliados pelos ECR existentes necessitam de um tempo maior para que seja observada a redução de risco ou danos. Devido a semelhança nos desfechos, optamos por uma intervenção de 14 dias, semelhante alguns dos estudos. A revisão bibliográfica embasou as escolhas na construção do delineamento do ECR, com relação a número amostral, randomização, tipo de intervenção, tempo de exposição e aspectos metodológicos.

Tabela 2. Estudos observacionais que avaliaram os efeitos do consumo de alimentos com resíduos de agrotóxicos.

Referências	País	Delineamento	Número amostral	Idade	Desfechos para alimentos e saúde	Resultados
Kimata et al., 2009	Japão	Transversal	535	61,5±0,4	QFA; Amostra de urina	Associação significativa entre a concentração do 3-PBA e a frequência de consumo de tomate com uma tendência linear positiva significativa para mulheres.
Berman et al., 2013	Israel	Transversal	247	20-74	Recordatório de 24 horas e QFA; Amostra de urina	Metabólitos de OP foram detectáveis em todas as amostras de urina. Os DAPs totais foram maiores nos indivíduos com consumo de frutas acima do percentil 75.
Fortes et al., 2013	Itália	Transversal	55	49,9±13,4	Recordatório de 24 horas e QFA; Amostra de urina	O consumo 5 vezes ou mais por semana de vegetais crus e cozidos apresentaram níveis médios mais elevados de 3-PBA na urina.
McKelvey et al., 2013	New York	Transversal	876	20-59	QFA; Amostra de urina	As concentrações de DAPs aumentaram com o aumento da idade, para brancos ou negros não hispânicos em comparação com os hispânicos, uso profissional de pesticidas e aumento da frequência de consumo de frutas.
Ye et al., 2015	Canadá	Transversal	4.539	20-79	Questionário de ingestão de alimentos do banco de dados da	Mais de 90% dos participantes tinham pelo menos um tipo de DAP e 99,8% tinham metabólitos piretróides detectável em amostras de urina;

						<p>Pesquisa Canadense de Medidas de Saúde; Amostra de urina</p> <p>O DAP entre os participantes com alto consumo de frutas apresentou concentração 1,43 vezes maior entre aqueles com baixo consumo.</p> <p>O DAP também foi positivamente associado ao consumo de hortaliças para aqueles com alto consumo comparado aqueles com baixo consumo;</p> <p>O PYR entre os participantes com alto consumo de vegetais apresentou concentração 1,42 vezes maior entre aqueles com baixo consumo de vegetais.</p>
Berman et al., 2016	Israel	Transversal	42	50,7± 13.7	Recordatório de 24 horas; Amostra de urina	<p>As concentrações medianas de creatinina do total de DAPs e de TCPy foram significativamente maiores na população vegetariana comparada a população geral.</p> <p>Além disso, foi observada associação positiva entre a ingestão de vegetais e os níveis urinários de TCPy. Os níveis médios de dimetil fosfato totais foram mais baixos em indivíduos que relataram o consumo de produtos orgânicos.</p>
Chiu et al., 2016	New York	Transversal	189	18-22	QFA; Amostra de sêmen	<p>O consumo total de FV não teve relação com a qualidade do sêmen. Mas, a ingestão de FV com resíduos de pesticidas baixos a moderados foram</p>

						associados a uma maior concentração e contagem total de espermatozoides. E o alto consumo de frutas e hortaliças com agrotóxicos não apresentou relação com a qualidade do sêmen.
Baudry et al., 2017	França	Transversal	8174	Baixo consumo orgânicos 59.03 (12.84)	QFA; Prevalência de síndrome metabólica	O maior consumo de alimentos orgânicos foi associado a menor probabilidade de síndrome metabólica.
				Moderado consumo orgânicos 57.96 (12.41)		
				Alto consumo orgânicos 57.50 (11.71)		
Bradbury et al., 2014	Reino Unido	Coorte	623,080	Nunca consome 59.3 (4.9)	Questionário com a pergunta: Você consome alimentos orgânicos?	No início do estudo 30% das mulheres relataram nunca, 63% as vezes e 7% sempre consumir alimentos orgânicos. O consumo de alimentos orgânicos não foi associado a redução da incidência de todos câncer, apenas associado ao risco reduzido para o linfoma não Hodgkin.
				Às vezes 59.1 (4.9)	Com as respostas: nunca, as vezes, geralmente/sempre	
				Geralmente/sempre	geralmente sempre.	

Chiu et al., 2015	United States of America	Coorte	155	59.7 (5.0) 36,1(33.0, 39.2)	QFA; Amostra de sêmen	O consumo de FV com alto teor de resíduos de pesticidas foi associado à menor contagem total de espermatozoides, volume ejaculado e porcentagem de espermatozoides morfológicamente normais. A ingestão de pesticidas de baixa a moderada foi positivamente relacionada com a morfologia do esperma.
Curl et al., 2015	6 United States of America regions	Coorte	4.466	<65 à ≥75	QFA; Amostra urina	O aumento do tercil da exposição dietética estimada a OP foi associada a maiores concentrações de DAPs entre os consumidores de produtos convencionais. As concentrações de DAP também foram significativamente menores nos grupos que relataram consumo mais frequente de produtos orgânicos.
Kesse-Guyot et al., 2017	França	Coorte	62,224	45	QFA; Avaliação antropométrica	O menor IMC e menor risco de excesso de peso e obesidade foi observado em indivíduos com maior consumo de alimentos orgânicos. A associação permaneceu forte e significativa com redução o risco de obesidade de 37% nesses indivíduos.

Chiu et al., 2017	United States of America	Coorte	90	36.1 (33.8, 40.4)	QFA; Amostra de urina	As concentrações urinárias de pesticidas foram relacionadas com a alta ingestão de FV com pesticidas, mas inversamente relacionadas a baixas ingestão de FV de pesticidas.
Baudry et al., 2018	França	Coorte	68.946	36,1(33.0, 39.2)	QFA; Diagnóstico de câncer.	Pontuações altas de alimentos orgânicos foram associados negativamente com o risco geral de câncer. O consumo mais alto de produtos orgânicos comparado ao consumo mais baixo apresentou redução de câncer de linfomas Hodgkin, linfoma e câncer de mama.
Baudry et al., 2018	França	Caso controle	300	Não orgânico: 58,71 ± 12,78 Orgânico: 58,35 ± 11,69	QFA; Amostra de sangue (plasma).	Não houve diferenças significativas entre os 2 grupos para α -tocoferol e retinol, cádmio, cobre, ferritina ou transferrina. Os consumidores orgânicos apresentaram concentrações maiores de α -caroteno, β -caroteno, luteína, zeaxantina, magnésio, ácido palmitoleico inferior, ácido γ -linolênico, e ácido docosapentaenóico e ácido linoleico.
Baudry et al., 2019	França	Caso controle	300	Não orgânico: 58,71 ± 12,78 Orgânico:	QFA; Amostra de urina	Em geral, as concentrações de agrotóxicos foram abaixo do LOD. Os metabólitos de agrotóxicos DETP, DMTP, DAPs totais e 3-PBA livre foram

58,35 ± 11,69

significativamente maiores entre consumidores convencionais comparado aos orgânicos.

Legenda. QFA: Questionário de Frequência Alimentar; FV: Frutas e Vegetais; 3-PBA: ácido 3-fenoxibenzóico; DAP(s): metabólitos dialquifosfato; TCPy : 3,5,6-triclor-2-piridinol; MDA: ácido dicarboxílico malation; DMP: dimetil fosfato; DMTP: dimetil tiofosfato; DMDTP: dimetil ditiófosfato; DEP: dietil fosfato; DETP: dietil tiofosfato; DEDTP: dietil ditiófosfato; LOD: Limite de detecção.

Tabela 3. Resumo de estudos com delineamento de Ensaio Clínico.

Referências	País	Delineamento	Tempo	Intervenção	Número amostral	Idade	Desfechos	Resultados
Grinder-Pedersen et al., 2003	Dinamarca	ECR, duplo-cego	22 dias	Dietas idênticas com alimentos convencional e orgânico	16	21-35	Atividade antioxidante e amostras de urina (momento 0 e no dia 22 para dosar flavonóides e flavononas)	Os indivíduos com dieta orgânica apresentaram níveis urinários mais elevados de quercetina, e kaempferol. A análise TEAC foi significativamente maior após a ingestão de alimentos convencionais.
Caris-Veyrant et al., 2004	França	ECR paralelo simples-cego.	21 dias	100 g de purê de tomate convencional ou orgânico adicionado ao almoço ou jantar (1x/dia)	24	21-39	Dosagem de vitamina C, β -caroteno e licopeno no plasma sanguíneo	Não foram observadas diferenças significativas. O purê de tomate aumentou o β -caroteno e licopeno em ambos grupos.

Akçay et al., 2004	Peru	Ensaio cruzado	Consumo único	Dose única de vinho convencional ou orgânico	8	24-45	Dosagem de compostos antioxidantes e análise antioxidante em amostras de sangue no momento 0, 60 e 360 minutos.	de grupo orgânico comparado com ele mesmo no momento. A SOD aumentou em 6 horas no grupo convencional comparado com o momento inicial.
Di Renzo et al., 2007	Itália	Ensaio cruzado	30 dias	Dieta mediterrânea convencional ou orgânica	10	30-65	Capacidade antioxidante no plasma	Aumento significativo na capacidade antioxidante em 21% após a dieta mediterrânea orgânica.
Briviba et al., 2007	Germania	ECR, duplo-cego	Consumo único	Consumo de 1000 g de maçã convencional ou orgânica	6	---	Atividade antioxidante, oxidação de LDL, danos ao DNA	Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.
Stracke et al., 2009	Germania	ECR, paralelo, duplo-cego	14 dias	200 g de cenouras convencional	36	19-54	Concentração de carotenoides, vitaminas E e C no	Não foram observadas diferenças

				ou orgânica consumidas na refeição principal e adicional de, no mínimo, 10 g de gordura.			plasma, atividade antioxidante. Danos no DNA, glicose plasmática, ácido úrico e colesterol.	significativas entre os grupos.
				Grupo Controle: restrito de carotenóide na dieta				
De Lorenzo et al., 2010	Itália	Ensaio cruzado	30 dias	Dieta mediterrânea convencional ou orgânica	150		IMC, DXA, concentrações de fósforo, glicose no sangue, perfil lipídico, marcadores inflamatórios, microalbuminúria.	Diminuição significativa em colesterol e microalbuminúria após dieta orgânica.
Stracke et al., 2010a	Germania	ECR, duplo-cego	Consumo único	1000 g de maçãs convencional ou orgânicas	6	Orgânico 29.4 ± 5.6 Convencional	Polifenóis da maçã e análise antioxidante total	Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.

							28.5 ± 5.8		
							Controle		
							27.4 ± 3.1		
Stracke et al., 2010b	Germania	ECR, cego	duplo-30 dias	500 g de maçã convencional ou orgânica	43	Orgânico	29.4 ± 5.6	Polifenóis da maçã, glicose, colesterol, leucócitos, ácido úrico, análise antioxidante total.	Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.
				Grupo controle: restrição de maçã e alimentos ricos em polifenol		Convencional	28.5 ± 5.8		
						Controle	27.4 ± 3.1		
Soltoft et al., 2011	Dinamarca	ECR, cego	duplo-34 dias	Orgânico à base de esterco de gado, Orgânico à base de adubação verde	18	Orgânico	25.1 ± 6.7 (18–40)	Dosagem de conteúdo de carotenoides em amostras de sangue (dia 1 e dia 13)	Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.
				Convencional com fertilizantes minerais		Convencional	26.0 ± 7.1 (19–37)		
Oates et al., 2014	Austrália	Randomizado, cruzado	7 dias	Dieta: de até 80% orgânica ou convencional	13		42,1±10,1	Dosagem de metabólitos de agrotóxicos na urina	Os resultados médios de DAP total na fase orgânica foram 89%

				por 7 dias e depois passou para dieta alternativa		(2 momentos, dia 8 de cada fase de dieta)	menores do que na fase convencional. Para dimetil DAPs totais houve uma redução de 96%. Os níveis de DAP na fase orgânica eram metade dos encontrados na fase convencional.	
Toaldo et al., 2016	Brasil	ECR, simples-cego	Consumo único	Dose única de 400 mL de suco convencional ou orgânico ou água	24	20-55	Dosagem de GSH, SOD, TAC, glicose e ácido úrico em amostra de sangue (tempo 0 e 60 minutos)	Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.
Goen et al., 2017	Suíça	Cruzado	29 dias	Dieta convencional ou orgânica	2		Dosagem urinária de metabólitos de agrotóxicos (amostra de 4 últimos dias de EC)	Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.

Hyland et al., 2019	Califórnia, Minneapolis, Maryland and Geórgia	Cruzado	10 dias	Dieta convencional ou orgânica	7	42,3 ± 6,1	Dosagem de metabólitos de agrotóxicos na urina (dois momentos).	Houveram reduções de significativas nos níveis urinários de 13 metabólitos de agrotóxicos após a introdução de uma dieta orgânica. As maiores reduções foram observadas para clotianidina, MDA, metabólito de MDA, TCPy, metabólito de clorpirifós.
Rempelos et al., 2022	Reino Unido	ECR, simples-cego	14 dias	Dieta ocidental comparada com a dieta mediterrânea e tipo de alimento (convencional ou orgânico)	27	Orgânico Homens: 29 (24–31) Mulheres: 26 (21–30) Convencional Homens: 29 (22–36)	Dosagem de metabólitos de agrotóxicos na urina	Durante o período de intervenção, os níveis totais de metabólitos de agrotóxicos na urina foi de 91% menor no grupo orgânico. No grupo convencional, a mudança de dieta

Mulheres: 25
(23–30)

ocidental para a
mediterrânea
aumentou a excreção
de inseticida de 7 para
25 µg/d, excreção de
organofosforados de 5
a 19 µg/d, e excreção
de resíduo de piretróide
de 2,0 a 4,5 µg/d.

Legenda. IMC: índice de massa corporal; DAP: dialquilfosfato; DNA: ácido desoxirribonucleico; DXA: absorciometria radiológica de dupla energia; FRAP: capacidade redutora férrica do plasma; GPx: glutathione peroxidase; GR: glutathione reductase; GSH: glutathione; LDL: lipoproteína de baixa densidade; MDA: malatião; OP: organofosforado; ORAC: capacidade de absorção de radicais de oxigênio; SOD: superóxido dismutase; TAC: capacidade antioxidante total; TAG: triacilglicerol; TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; TCPy: 3,5,6-tricloro-2-piridinol; TEAC: equivalentes de trolox capacidade antioxidante.

3. Objetivos

3.1 Objetivo geral

Avaliar a presença de agrotóxicos e os efeitos da exposição a esses compostos através da via alimentar sobre os parâmetros bioquímicos de indivíduos saudáveis.

3.2 Objetivos específicos

Quantificar os níveis de agrotóxicos dos alimentos ofertados na dieta dos indivíduos do grupo exposto (cultivo convencional) e comparar ao grupo controle (cultivo orgânico);

Quantificar os níveis de agrotóxicos urinários de indivíduos expostos à dieta obtida pelo cultivo convencional e comparar com indivíduos de exposição dietética do cultivo orgânico;

Avaliar os parâmetros bioquímicos sanguíneos e de dano e reparo de DNA de indivíduos com consumo dietético de alimentos obtidos pelo cultivo convencional e comparar com indivíduos com o consumo dietético do cultivo orgânico.

Referências

Abreu, I.M.O.; Junqueira, A.M.R.; Peixoto, J.R.; Oliveira, S.A. Qualidade microbiológica e produtiva de alface sob adubação química e orgânica. **Ciênc. Tecnol. Alimentos**, v. 30, p: 108-118, 2010.

Adamchak, R. Organic farming, Encyclopaedia Britannica, Inc., 2020 Disponível em: <https://www.britannica.com/topic/organic-farming> Acessado em: 7 de janeiro de 2022.

Akçay, Y.D.; Yıldırım, H.K.; Güvenç, U.; Sözmen, E.Y. The effects of consumption of organic and nonorganic red wine on low-density lipoprotein oxidation and antioxidant capacity in humans. **Nutr. Res.**, v. 24, p: 541–554, 2004.

Andrade, J.C.; Galvan, D.; Effting, L.; Tessaro, L.; Aquino, A.; Conte-Junior, C.A. Multiclass Pesticide Residues in Fruits and Vegetables from Brazil: A Systematic Review of Sample Preparation Until Post-Harvest. **Crit Rev Anal Chem.**, v. 15, p: 1-23, 2021.

ANVISA – Agência de Vigilância Sanitária. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br> Acessado em: 10 de janeiro de 2022

ANVISA. Agência de Vigilância Sanitária. Novo Marco Regulatório de agrotóxicos. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acesoainformacao/perguntasfrequentes/agrotoxicos/novo-marco-regulatorio> Acessado em: 7 janeiro 2022.

ANVISA. Agência de Vigilância Sanitária. PARA – Programa de Análise de Resíduos de Alimentos: Relatório das amostras analisadas no período 2017-2018, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/3770json-file-1> Acessado em: 7 de janeiro 2022.

ANVISA. Agencia de Vigilancia Sanitária. Perguntas e respostas sobre rotulagem de alimentos. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/perguntas-view?p_p_id=101_INSTANCE_nySyFH9AWYKL&p_p_col_id=column-2&p_p_col_pos=1&p_p_col_count=2&_101_INSTANCE_nySyFH9AWYKL_groupId=111215&_101_INSTANCE_nySyFH9AWYKL_urlTitle=perguntas-e-respostas-sobre-

[agrotoxicos&_101_INSTANCE_nySyFH9AWYKL_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_INSTANCE_nySyFH9AWYKL_assetEntryId=1376681&_101_INSTANCE_nySyFH9AWYKL_type=content](#) Acessado em: 16 de fevereiro de 2022.

ANVISA. Agencia de Vigilancia Sanitária. Registro de agrotóxicos. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acesoainformacao/perguntasfrequentes/agrotoxicos/registro-de-agrotoxicos> Acessado em: 9 de janeiro de 2022.

Arbos, K.A.; Freitas, R.J.S.; Stertz, S.C.; Carvalho, L.A. Segurança alimentar de hortaliças orgânicas: aspectos sanitários e nutricionais. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.30 , p : 215-220, 2010.

Baranski, M. L.; Rempelos, P.; Iversen, C. Effects of organic food consumption on human health; the jury is still out! **Food Nutr. Res.**, v. 61, p:1287333, 2017.

Barbosa, A.M.C.; Solano, M.L.M.; Umbuzeiro, G.A. Pesticides in Drinking Water – The Brazilian Monitoring Program. **Front Public Health**, v. 3, p: 246, 2015.

Barbosa, P.G.A.; Martins, F.I.C.C.; Lima, L.K.; Milhome, M.A.L.; Cavalcante, R.M.; Nascimento, R.F. Statistical analysis for quality adjustment of the analytical curve for determination of pesticide multiresidue in pineapple samples. **Food Analytical Methods**, v. 11, n. 2,p: 466–478, 2018.

Baudry, J.; et al. Urinary pesticide concentrations in French adults with low and high organic food consumption: Results from the general population-based NutriNet-Santé. **J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.**, v. 29, p: 366–378, 2019.

Baudry, J.; Ducros, V.; Druésne-Pecollo, N.; Galan, P.; Hercberg, S.; Debrauwer, L.; Amiot, M.J.; Lairon, D.; Kesse-Guyot, E. Some Differences in Nutritional Biomarkers are Detected Between Consumers and Nonconsumers of Organic Foods: Findings from the BioNutriNet Project. **Curr. Dev. Nutr.**, v. 3, p: 090, 2018.

Baudry, J.; Lelong, H.; Adriouch, S.; Julia, C.; Allès, B.; Hercberg, S.; Touvier, M.; Lairon, D.; Galan, P.; Kesse-Guyot, E. Association between organic food consumption

and metabolic syndrome: Cross-sectional results from the NutriNet-Santé study. **Eur. J. Nutr.**, v. 57, p: 2477–2488, 2017.

Berman, T.; Goen, T.; Novack, L.; Beacher, L.; Grinshpan, L.; Segev, D.; Tordjman, K. Urinary concentrations of organophosphate and carbamate pesticides in residents of a vegetarian community. **Environ Int.**, v. 96, p: 34-40, 2016.

Berman, T.; Goldsmith, R.; Goen, T.; Spungen, J.; Novack, L.; Levine, H.; Amitai, Y.; Shohat, T.; Grotto, I. Urinary concentrations of organophosphate pesticide metabolites in adults in Israel: demographic and dietary predictors. **Environ. Int.**, v. 60, p: 183–189, 2013.

Bhide, A.; Shah, P.S.; Acharya, G. A simplified guide to randomized controlled trials. **Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica**, v. 97, n. 4, p: 380–387, 2018.

Bourn, D.; Prescott, J. A Comparison of the Nutritional Value, Sensory Qualities, and Food Safety of Organically and Conventionally Produced Foods. Critical Reviews. **Food Science and Nutrition**, v. 42, n. 1, p: 1–34, 2002.

Bradbury, K.E.; Balkwill, A.; Spencer, E.A.; Roddam, A.W.; Reeves, G.K.; Green, J.; Key, T.J.; Beral, V.; Pirie, K. Organic food consumption and the incidence of cancer in a large prospective study of women in the United Kingdom. **Br. J. Cancer**, v. 110, p: 2321–2326, 2014.

Bridges, C. New methods and clinical trial designs. **Clin Ther.**, v. 38 p:e2–e3, 2016.

Briviba, K.; Stracke, B.A.; Rufer, C.E.; Watzl, B.; Weibel, F.P.; Bub, A. Effect of consumption of organically and conventionally produced apples on antioxidant activity and DNA damage in humans. **J Agric Food Chem**, v. 55, p: 7716–21, 2007.

Brocklehurst, P.; Hoare, Z. How to design a randomised controlled trial. **BDJ**, v. 222, n. 9, p: 721–726, 2017.

Bull, D.; Hathaway, D. Pragas e Venenos: Agrotóxicos no Brasil e no Terceiro Mundo Petrópolis: Vozes. **Oxfam, Fase**, 1986.

Caris-Veyrat, C.; Amiot, M.J.; Tyssandier, V. Influence of organic versus conventional agricultural practice on the antioxidant microconstituent content of tomatoes and derived purees; consequences on antioxidant plasma status in humans. **J Agric Food Chem**; v. 52 p: 6503–6509, 2004.

Carvalho, F.P. Pesticidas, meio ambiente e segurança alimentar. **Segurança Alimentar Energética**, v. 6, p:48-60, 2017.

Casida, J.E. Pest toxicology: the primary mechanisms of pesticide action. **Chem Res Toxicol**, v. 22, p: 609–619, 2009.

Centro Estadual de Saúde do Trabalhador, Superintendência de Vigilância em Saúde, Secretaria de Estado da Saúde. Protocolo de avaliação das intoxicações crônicas por agrotóxicos, 2013.
http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/CEST/Protocolo_AvaliacaoIntoxicacaoAgrototoxicos.pdf Acessado em: 11 de janeiro de 2022.

Chiu, Y.H.; Afeiche, M.C.; Gaskins, A.J.; Williams, P.L.; Petrozza, J.C.; Tanrikut, C.; Hauser, R.; Chavarro, J.E. Fruit and vegetable intake and their pesticide residues in relation to semen quality among men from a fertility clinic. **Hum Reprod.**, v. 6, p:1342-1351, 2015.

Chiu, Y.H.; Gaskins, A.J.; Williams, P.L.; Mendiola, J.; Jorgensen, J.; Levine, H.; Hauser, R.; Swan, S.H.; Chavarro, J.E. Intake of Fruits and Vegetables with Low-to-Moderate Pesticide Residues Is Positively Associated with Semen-Quality Parameters among Young Healthy Men. **J Nutr.**, v. 146, n. 5, p: 1084-1092, 2016.

Chiu, Y.H.; Williams, P.L.; Minguéz-Alarcon, L.; Gillman, M.; Sun, Q.; Ospina, M.; Chavarro, J.E. Comparison of questionnaire-based estimation of pesticide residue intake from fruits and vegetables with urinary concentrations of pesticide biomarkers. **J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.**, v. 28, n. 1, p: 31–39, 2017.

Codex Alimentarius. *Textos Básicos de Higiene Alimentar*. FAO/OMS; Roma, Itália: 2009. Disponível em: https://acisat.pt/wp-content/uploads/2016/10/codex_alimentarius.pdf Acessado em: 7 de janeiro de 2022.

Colditz, G.A. Overview of epidemiology methods and applications: strengths and limitations of observational study designs. **Crit Rev Food Sci Nutr.**, v. 50, n. 1, p: 10–12, 2010.

Corcellas, C.; Feo, L.M.; Torres, P.J.; Malma, O.; Ocampo-Duque, W. Pyrethroids in human breast milk: Occurrence and nursing daily intake estimation. **Environ Int.**, v. 47, p:17-22, 2012.

Curl, C L.; Shirley, A.A.; Beresford, R.A.; Fenske, A.L.; Fitzpatrick, C. Estimating Pesticide Exposure from Dietary Intake and Organic Food Choices: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). **Environmental Health Perspectives**, v. 123, n. 5, 2015.

Dallegrave, A.; Pizzolato, T.M.; Barreto, F.; Bica, V.C.; Eljarrat, E.; Barceló, D. Insecticide residues in food and assessment of dietary exposure in Brazilian citizens. **Food Chemistry Toxicol.**, v. 115, p:329-335, 2018.

DATASUS. Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde do Brasil. Doenças e Agravos de Notificação – 2007 em diante (SINAN). Disponível em: <https://datasus.saude.gov.br/acesso-a-informacao/doencas-e-agravos-de-notificacao-de-2007-em-diante-sinan/> Acessado em: 11 de janeiro de 2022.

De Lorenzo, A.; Noce, A.; Bigioni, M.; Calabrese, V.; Della Rocca, D.G.; Di Daniele, N.; Tozzo, C.; Di Renzo, L. The effects of Italian Mediterranean organic diet (IMOD) on health status. **Curr. Pharm. Des.**, v. 16, p: 814–824, 2010.

Decreto nº 24.114, 12 de abril de 1934. Disponível em : <https://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/1930-1939/decreto-24114-12-abril-1934-500616-norma-pe.html> Acessado em: 9 janeiro de 2022.

Di Renzo, L.; Di Pierro, D.; Bigioni, M.; Sodi, V.; Galvano, F.; Cianci, R.; La Fauci, L.; De Lorenzo, A. Is antioxidant plasma status in humans a consequence of the antioxidant food content influence? **Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.**, v. 11, p: 185–192, 2017.

EFSA – Autoridade Europeia de Segurança Alimentar. Disponível em: https://european-union.europa.eu/institutions-law-budget/institutions-and-bodies/institutions-and-bodies-profiles/efsa_pt#:~:text=A%20Autoridade%20Europeia%20para%20a,os%20riscos%20associados%20aos%20alimentos.&text=O%20seu%20aconselhamento%20diz%20respeito,dos%20riscos%20na%20cadeia%20alimentar. Acessado em: 10 de janeiro de 2022.

EFSA – Autoridade Europeia de Segurança Alimentar. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/microstrategy/annual-pesticides-report-2019> Acessado em: 10 de janeiro de 2022.

El-Nahhal, I.; El-Nahhal, Y. Pesticide residues in drinking water, their potential risk to human health and removal options. **Journal of Environmental Management**, v. 299, p: 113611, 2021.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Potência agrícola e Ambiental – Áreas de cultivadas no Brasil e o no mundo. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/174066/1/4942.pdf> Acessado em: 15 de Janeiro de 2022.

EPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos Disponível em: <https://www.epa.gov/> Acessado em: 10 de janeiro de 2022.

Faller, A.L.K.; Fialho, E. The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking, **Food Research International**, v. 42, p: 210–215, 2009.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Pesticides use. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/?#data/RP/visualize> Acessado em: 7 de janeiro de 2022.

FAO, The state of food insecurity in the world 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Home, Disponível em: <http://www.fao.org/publications/sofi/en/> Acesso em: 10 de janeiro de 2022.

FAO/WHO Codex Alimentarius Commission. 1999 Disponível em: <https://www.fao.org/english/newsroom/highlights/1999/990608-e.htm> Acesso em: 11 de janeiro de 2022.

FAO; OMS. International Code of Conduct on Pesticide Management Guidelines on Highly Hazardous Pesticides, 2016. Acesso em: 9 de janeiro de 2022.

FAOSTAT. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data>. Acesso em: 9 de janeiro de 2022.

Ferreira, V.B. Legacy organochlorine pesticide residues and DDT metabolites in highly consumed fish from the polluted Guanabara Bay, Brazil: distribution and human health risk assessment. **Environ Sci Health B.**, v. 55, n. 1, p:30-41, 2020.

Fortes, C.; Mastroeni, S.; Pilla, M.A.; Antonelli, G.; Lunghini, L.; Aprea, C. The relation between dietary habits and urinary levels of 3-phenoxybenzoic acid, a pyrethroid metabolite. **Food Chem Toxicol.**, v. 52, p: 91-96, 2013.

Goen, T.; Schmidt, L.; Lichtensteiger, W.; Schlumpf, M. Efficiency control of dietary pesticide intake reduction by human biomonitoring. **Int. J. Hyg. Environ. Health**, v. 220, p: 254–260, 2017.

Grandjean, P.; Landrigan, P.J. Review the neurobehavioral effects of developmental toxicity. **Lancet Neurol.**, v. 13, n. 3, p:330-338, 2014.

Grinder-Pedersen, L.; Rasmussen, S.E.; Bugel, S.; Jorgensen, L.V.; Dragsted, L.O.; Gundersen, V.; Sandstrom, B. Effect of diets based on foods from conventional versus organic production on intake and excretion of flavonoids and markers of antioxidative defense in humans. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p: 5671–5676, 2003.

Guedes, J.A.C.; Silva, R.O.; Lima, C.G.; Milhome, M.A.L.; Nascimento, R.F. Matrix effect in guava multiresidue analysis by QuEChERS method and gas chromatography coupled to quadrupole mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 199, p: 380–386, 2016.

Heimler, D.; Vignolini, P.; Dini, M.G.; Romani, A. Rapid tests to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. Dry Beans. **J. Agric. Food Chem.**, v. 53, n. 8, p: 3053-3056, 2005.

Holme, F, Thompson B, Holte S, Vigoren EM, Espinoza N, Ulrich A, Griffith W, Faustman EM The role of diet in children's exposure to organophosphate pesticides. **Environ Res.**, v: 147, p:133-140, 2016.

Howards, P.P. An overview of confounding part 1: the concept and how to address it. **Acta Obstet Gynecol Scand.**, v. 97, p:394–399, 2018.

Hyland, C.; Bradman, A.; Gerona, R.; Patton, S.; Zakharevich, I.; Gunier, R. B.; Klein, K. Organic diet intervention significantly reduces urinary pesticide levels in U.S. children and adults. **Environmental Research**, v. 171, p: 568-575, 2019.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Relatório de comercialização de agrotóxicos. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais> Acessado em: 9 de janeiro de 2022.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo agro 2017. Disponível em: <https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/2013-agencia-de-noticias/releases/28646-pof-2017-2018-brasileiro-ainda-mantem-dieta-a-base-de-arroz-e-feijao-mas-consumo-de-frutas-e-legumes-e-abaixo-do-esperado.html> Acessado em 10 de janeiro de 2022.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistematico-da-producao-agricola.html?edicao=32715&t=destaques> Acessado em 10 de janeiro de 2022.

IDEC. Instituto Brasileiro de Defesa ao Consumidor. Tem veneno nesse pacote. Disponível em: https://idec.org.br/system/files/ferramentas/idec_cartilha_tem-veneno-nesse-pacote.pdf Acessado em 15 de fevereiro de 2022.

IFOAM. Relatório Anual Consolidado da IFOAM-Organics International. IFOAM; Bonn, Alemanha: 2018. Disponível em: <https://www.ifoam.bio/about-us/annual-reports> Acessado em: 7 janeiro de 2022.

Informações disponíveis na reportagem Coquetel” com 27 agrotóxicos foi achado na água de 1 em cada 4 municípios, de autoria das jornalistas Ana Aranha e Luana Rocha, publicada em 15/04/19 no site da Agência Pública e, posteriormente, repercutida em diversos veículos de comunicação do País. Disponível em: <https://portrasdoalimento.info/2019/04/15/coquetel-com-27-agrotoxicos-foi-achado-na-agua-de-1-em-cada-4-municipios/>

IPCS, 2009 Principles and methods for the risk assessment of chemicals in food. Environmental Health Criteria 240. WHO | International Programme on Chemical Safety. Disponível em: <http://www.who.int/foodsafety/publications/chemical-food/en/>. Acessado em: 7 de janeiro 2022.

IPEA. Instituto de Pesquisa e Economia Aplicada. Ministério da Economia (2020). Produção e consumo de produtos orgânicos no mundo e no Brasil. Disponível em: http://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/9678/1/TD_2538.pdf Acessado em 19 de fevereiro de 2022.

Jardim, A.N.O.; Brito, A.P.; Donkersgoed, G.V.; Boon, P.E.; Caldas, E.D. Dietary cumulative acute risk assessment of organophosphorus, carbamates and pyrethroids insecticides for the Brazilian population. **Food and Chemical Toxicology**, v. 112, p: 108-117, 2018.

Jardim A.N.O.; Mello, D.C.; Brito, A.P.; Van der Voet Hilko, B.P.; Caldas, E.D. Probabilistic dietary risk assessment of triazole and dithiocarbamate fungicides for the Brazilian population. **Food and Chemical Toxicology**, 118:317-327, 2018.

Johannessen, G. S. Froseth, R.B. Solemdal, L. Jarp, J.. Wasteson, Y. Rorvik, L. M. Influence of bovine manure as fertilizer on the bacteriological quality of organic Iceberg lettuce. **J. Appl. Microbiol.**, v. 96, p: 787–794, 2004.

Kesse-Guyot, E.; Baudry, J.; Assmann, K.E.; Galan, P.; Hercberg, S.; Lairon, D. Prospective association between consumption frequency of organic food and body weight change, risk of overweight or obesity: results from the NutriNet-Santé study. **Br J Nutr.**, v. 117, n. 2, p: 325–334, 2017.

Kimata, A.; Kondo, T.; Ueyama, J.; Yamamoto, K.; Kamijima, M.; Suzuki, K.; Inoue, T.; Ito, Y. Relationship between dietary habits and urinary concentrations of 3-phenoxybenzoic acid in a middle-aged and elderly general population in Japan. **Environ Health Prev Med.**, v. 3, p:173-179, 2009.

Kuan, C.H.; Rukayadi, Y.; Ahamd, S.H.; Thung, T.Y.; Premarathene, . J.M.K.J.K.; Chang, W.S.; Loo, Y,Y.; Tan, C.,W.; Ramzi, O.B. Comparison of the Microbiological Quality and Safety between Conventional and Organic Vegetables Sold in Malaysia. **Front. Microbiol.**, v. 8, p: 1433, 2017.

Kunz, R.; Oxman, A.D. The unpredictability paradox: Review of empirical comparisons of randomised and non-randomised clinical trials. **BMJ**, v. 317, n. 7167, p:1185-1190, 1998.

Lei 10.831, 23 de dezembro de 2003. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/2003/110.831.htm Acessado em: 12 de janeiro de 2022.

Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/17802.htm Acessado em: 9 de janeiro de 2022.

Liang, C.-P.; Sack, C.; McGrath, S.; Cao, Y.; Thompson, C.J.; Robin, L.P. US Food and Drug Administration regulatory pesticide residue monitoring of human foods: 2009-2017. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 38, n. 9, p: 1520–1538, 2021.

Lopes, C.V.A.; Albuquerque, G.S.C. Desafios e avanços no controle de resíduos de agrotóxicos no Brasil: 15 anos do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos. **Cadernos Saúde Pública**, v. 37, n. 2, 2021.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Informações técnicas: Registro concedidos 2005-2021. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/informacoes-tecnicas> Acessado em: 7 de janeiro de 2022.

McKelvey, W.; Jacobson, J.B.; Kass, D.; Barr, D.B.; Davis, M.; Calafat, A.M.; Aldous, K.M. Population-based biomonitoring of exposure to organophosphate and pyrethroid pesticides in New York City. **Environ. Health Perspect.**, v. 121, n. 11–12, p: 1349–1356, 2013.

Meira, A.P.G.; Silva, M. V. Resíduos de agrotóxicos potencialmente contidos na dieta habitual de escolares. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 26, p: 1-12, 2019.

Mie, A.; Adersen, H.R.; Gunnarsson, S.; Kahl, J.; Kesse-Guyot, E.; Rembialkowska, E.; Quaglio, G.; Grandjean, P. Human health implications of organic food and organic agriculture: a comprehensive review. **Environmental Health**, v.16, p: 11, 2017.

Mikkonen, T. P.; Maatta, K. R.; Hukkanen, A. T.; Kokko, H. I.; Torrone, A. R.; Karenlampi, S. O.; Karjalainen, R. O. Flavonol content varies among black currant cultivars. **J. Agric. Food Chem**, v. 49, p: 3274–3277, 2001.

Ministério da Saúde. Diretrizes Brasileira para o diagnóstico e tratamento de intoxicações agudas por agrotóxicos. Disponível em: https://renastonline.ensp.fiocruz.br/sites/default/files/arquivos/recursos/intoxicacoes_agudas_agrotoxicos_11_2020_isbn.pdf Acessado em 18 de fevereiro de 2022.

Ministério da Saúde. Guia Alimentar para População Brasileira, 2014. Disponível em: https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf Acessado em : 15 de fevereiro de 2022.

Moura, L.T.R; Morais, R.J.L; Dias, A.C.S; Bedor, C.N.G. **Perfil epidemiológico dos casos de intoxicação por agrotóxicos.** Journal of nursing. Vol. 8, n. 1, p.2333-41, 2014.

Mozzaquatro, J.O.; Cesar, I.A.; Pinheiro, A.E.B.; Caldas, E.D. Pesticide residues analysis in passion fruit and its processed products by LC–MS/MS and GC–MS/MS: Method validation, processing factors and dietary risk assessment. **Food Chemistry**, 2021.

Oates, L.; Cohen, M.; Braun, L. Characteristics and consumption patterns of Australian organic consumers. **J Sci Food Agric.**, v. 92, p: 2782–2787, 2012.

Oates, L.; Cohen, M.; Braun, L.; Schembri, A.; Taskova, R. Reduction in urinary organophosphate pesticide metabolites in adults after a week-long organic diet. **Environ. Res.**, v. 132, p: 105–111, 2014.

Oliveira, D.C.R.S.; Jardim, A.N.O.; Perignon, M.; Drogue, S.; Darmon, N.; Caldas, E. D.; Verly-Jr, E. Meeting nutritional adequacy in the Brazilian population increases pesticide intake without exceeding chronic safe levels. **International Journal os Food Sciences and Nutrition**, 2021.

Oliveira, M.; Usall, J.; Vinas, I.; Anguera, M.; Gatiús, F.; Abadías, M.. Microbiological quality of fresh lettuce from organic and conventional production. **Microbiol de Alim**, v. 27, p: 679-684, 2010.

OMS. Organização Mundial da Saúde. Manual de Vigilância da Saúde de populações expostas a agrotóxicos, 1996. Disponível em: <https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/livro2.pdf> Acessado em 8 de janeiro de 2022.

OMS. Organização Mundial de Saúde. Manual da saúde de populações expostas e agrotóxicos. Disponível em: <https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/livro2.pdf> Acessado em: 11 de janeiro de 2022.

OMS. Organização Mundial de Saúde. Recommended Classification of pesticides by hazard, Guidelines to Classification 2000–2002. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42524> Acessado em: 6 de janeiro de 2022.

Padilla Bravo, C.; Cordts, A.; Schulze, B.; Spiller, A. Assessing determinants of organic food consumption using data from the German National Nutrition Survey II. **Food Quality and Preference**, v. 28, p: 60–70, 2013.

Paull, J. Organic agriculture in Australia: attaining the global majority (51%). **J. Environ. Protect. Sustain. Develop.**, v. 5, p: 70–74, 2019.

Pelch, K. E.; Bolden, A. L; Kwiatkowski, C. F. Environmental chemicals and autism: a scoping review of the human and animal research. **Environ Health Perspec**, v. 12, n. 4, 2019.

Peres, F. e tal. Comunicação Relacionada ao Uso de Agrotóxicos na Região Agrícola do Estado do Rio de Janeiro. **Rev Saude Publica**, v.35, n.6, p.564-570, 2001.

Portaria de Consolidação n° 5, 28 de setembro de 2017. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prc0005_03_10_2017.html
Acessado em 18 de fevereiro de 2022.

Portaria n° 3, 16 de janeiro de 1992. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs1/1992/prt0003_16_01_1992.html
Acessado em: 9 de janeiro de 2022.

RDC. Resolução da Diretoria Colegiada n° 294, 29 de julho de 2019, Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-294-de-29-de-julho-de-2019-207941987>. Acessado em: 18 de fev de 2022.

RDC. Resolução da Diretoria Colegiada n° 296, 29 de julho de 2019. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-296-de-29-de-julho-de-2019-208028718> Acessado em: 07 de janeiro de 2022

Rembischevski, P.; Caldas, ED. Agroquímicos para controle de pragas no Brasil: análise crítica do uso do termo agrotóxico como ferramenta de comunicação de risco. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 6, n. 4, p: 2-22, 2018.

Rempelos L, et al. Diet and food type affect urinary pesticide residue excretion profiles in healthy individuals: results of a randomized controlled dietary intervention trial. **Am J Clin Nutr.**, v. 115, p:364–377, 2022.

Rodrigues, A.A.Z. Pesticide residue removal in classic domestic processing of tomato and its effects on product quality. **J Environ Sci Health B.**, v. 52, n. 12, p: 850-857, 2017.

Rumiato, A.C.; Monteiro, I. Contaminantes em alimentos e orientação nutricional: reflexão teórica. **Revista de Salud Pública**, v. 19, n. 4, p: 574-577, 2017.

Santos, F. et al. Avaliação da inserção de alimentos orgânicos provenientes da agricultura familiar na alimentação escolar, em municípios dos territórios rurais do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 19, n. 5, p: 1429-1436, 2014.

Schaefer, C.; Peters, P.; Miller, R. K. Drugs during Pregnancy and Lactation: Treatment Options and Risk Assessment. Academic Press: London, UK. 2015

Sharma, A.; Kumar, V.; Shahzad, B.; Tanveer, M.; Sidhu, G.P.S.; Handa, N.; Kohli, S.K.; Yadav, P.; Bali, A.S.; Parihar, R.D. Worldwide use of pesticides and their impacts on the ecosystem. **SN App. Sci.**, v. 1, p:1446, 2019.

Shelton. J. F.; Geraghty, E. M.; Tancredi, D. J.; Delviche, L. D.; Schmidt, R. J.; Ritz, B.; Hansen, R. L.; Hertz-Picciotto, I. Neurodevelopmental disorders and prenatal residential proximity to agricultural pesticides: the CHARGE study. Erratum in: *Environ Health Perspect* - Davis California University. 2014.

Silva, S.R.G., et al. Defeitos congênitos exposição a agrotóxicos no Vale do São Francisco. *Rev. Brás. Ginecologia e Obstetrícia*, v. 33, n. 1, p: 20-26, 2011.

Smith-Spangler, C.; et al. Are organic foods safer or healthier than conventional alternatives?: a systematic review. **Ann Intern Med.**, v. 157, p: 348–366, 2012.

Soltoft, M.; Bysted, A.; Madsen, K.H.; Mark, A.B.; Bügel, S.G.; Nielsen, J.; Knuthsen, P. Effects of organic and conventional growth systems on the content of carotenoids in carrot roots, and on intake and plasma status of carotenoids in humans. **J. Sci. Food Agric**, v. 91, p: 767–775, 2011.

Soroka, A.; Mazurek-Kusiak, A.K.; Trafialek, J. Organic Foods in the Diet of Residents of Visegrad Group Countries (V4) – Reasons and Barriers to Purchase. **Nutrients**, v.13, n. 12, p: 4351, 2021.

Souza, R. C.; et al. Human milk contamination by nine organochlorine pesticide residues (OCPs). **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, p: 1–9, 2020.

Srednicka-Tober, D.; Baranski, M.; Kazimierczak, R.; Ponder, A.; Kopczyńska, K.; Hallmann, E. Selected antioxidants in organic versus conventionally grown apple fruits. **Applic. Sci.**, v. 10, p:2997, 2020.

Średnicka-Tober, D.; Barański, M.; Kazimierczak, R.; Ponder, A.; Kopczyńska, K.; Hallmann, E. Selected Antioxidants in Organic vs. Conventionally Grown Apple Fruits. **Applied Sciences**, v. 10, n. 9, p: 2997, 2020.

Stracke, B.A.; Rufer, C.E.; Bub, A. Bioavailability and nutritional effects of carotenoids from organically and conventionally produced carrots in healthy men. **Br J Nutr**, v. 101, p: 1664–1672, 2009.

Stracke, B.A.; Rufer, C.E.; Bub, A. No effect of the farming system (organic/conventional) on the bioavailability of apple (*Malus domestica* Bork., cultivar Golden Delicious) polyphenols in healthy men: a comparative study. **Eur J Nutr**, 2010.

Sutris, J.; Isa, Z.; Sumeri, S.A.; Ghazi, H.F. Predictors of Detected Organophosphorus Pesticides Among Orang Asli Children Living in Malaysia. **Ann Glob Health**, v: 82, n: 5, p:770-778, 2017.

Syafrudin, M.; et al. Pesticides in Drinking Water—A Review. **Int J Environ Res Public Health**, v. 18, n. 2, p: 468, 2021.

Thiphom, S.; Prapamontol, T.; Chantara, S.; Mangklabruks, A.; Suphavitai, C.; Ahn, K.C.; Gee, S.J.; Hammock, B.D. Determination of the pyrethroid insecticide metabolite 3-pba in plasma and urine samples from farmer and consumer groups in northern thailand. **J Environ Sci Heal B.**, v. 49, n. 1, p:15-22, 2014.

Toaldo, I.M.; Cruz, F.A.; da Silva, E.L.; Bordignon-Luiz, M.T. Acute consumption of organic and conventional tropical grape juices (*Vitis labrusca L.*) increases antioxidants in plasma and erythrocytes, but not glucose and uric acid levels, in healthy individuals. **Nutr. Res.**, v. 36, p: 808–817, 2016.

Tudi, M.; et al. Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 3, p: 1112, 2021.

Vigar, M.; Oliver, A.; Robinson, L. A Systematic Review of Organic Versus Conventional Food Consumption: Is There a Measurable Benefit on Human Health? **Nutrients**, v. 12, n .1, p: 7, 2019.

VIGIAGUA. Programa Nacional de Monitoramento da Qualidade da Água para Consumo Humano. Ministério da Saúde. Disponível em: <http://sisagua.saude.gov.br/sisagua/paginaExterna.jsf> Acessado em 18 de fevereiro de 2022.

Willer, H., Schlatter, B., Trávníček, J., Kemper, L., Lernoud, J., 2020. The world of organic agriculture. Statistics and emerging trends 2020. The world of organic agriculture. Statistics and emerging trends 2020. <http://www.fao.org/agroecology/database/detail/en/c/1262695/>

Williams, C. M. Nutritional quality of organic food: shades of grey or shades of green? **Proc. Nutr. Soc.** 61, 19–24, 2002.

Ye, M., Beach, J., Martin, J.W., Senthilselvan, A. Associations between dietary factors and urinary concentrations of organophosphate and pyrethroid metabolites in a Canadian general population. **Int. J. Hyg. Environ. Health.**, v: 218, n: 7, p: 616–626, 2015.

Young, J. E.; Zhao, X.; Carey, E. E.; Welti, R.; Yang, S. S.; Wang, W. Phytochemical phenolics in organically grown vegetables. **Mol. Nutr. Food Res.**, v. 49, p: 1136–1142, 2005.

4. Métodos

A descrição detalhada dos métodos utilizados neste estudo estão descritas no manuscrito: *Consumption of organic food – aspects of a randomized clinical trial*, apresentado na seção Resultados.

5. Aspectos Éticos

Este estudo respeitou todos os princípios éticos estabelecidos pela Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde que regulamenta as pesquisas envolvendo seres humanos (Ministério da Saúde, 2012). O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa na Área da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande-FURG (CEPAS/FURG) com o parecer número 55/2019 (anexo 5).

6. Análise crítica de riscos e benefícios

Os métodos de coleta que foram utilizados para o presente estudo apresentaram riscos (incluindo a coleta de urina e de sangue). A coleta das amostras biológicas foi realizada em uma sala da Universidade Federal do Rio Grande devidamente equipada, higienizada e preparada para a coleta. A coleta de sangue foi realizada por profissionais habilitados, com o material adequado e a coleta de urina foi realizada pelo próprio participante e armazenada no mesmo momento pelo pesquisador devidamente treinado, respeitando as normas do Ministério da Saúde (2011).

Os procedimentos de coleta foram realizados de forma a não comprometer a integridade física e psicológica, estando de acordo com as normas éticas e de segurança exigidas neste procedimento. No entanto, os participantes foram informados que, se apesar de todos os cuidados que seriam tomados, se viessem a ter algum tipo de desconforto, seria encaminhado para a unidade de saúde mais próxima de onde estava ocorrendo a coleta.

Foi garantido o esclarecimento de dúvidas e dos resultados da pesquisa, também, foi garantida a liberdade para a retirada do termo de consentimento livre e esclarecido, sem qualquer prejuízo, a qualquer instante. Não houve despesas ou compensações pessoais quanto a participação da pesquisa. Os dados coletados serão utilizados apenas para a pesquisa e os resultados serão veiculados através de artigos científicos e/ou congressos, com absoluto sigilo da identificação dos participantes.

7. Responsabilidade dos pesquisadores

O projeto é de inteira responsabilidade dos pesquisadores que assumiram o compromisso de guardar sigilo sobre a identidade dos participantes da pesquisa e cumpriram até o momento. Os pesquisadores também são responsáveis pela sistematização e informatização dos resultados obtidos e sobre orientações e encaminhamentos necessários. Todos os pesquisadores participantes deste projeto se comprometeram em desenvolver a pesquisa, conduzindo-a com ética e o compromisso de divulgar os resultados obtidos.

8. Uso e destinação dos dados coletados

Os dados coletados neste trabalho serão conservados por cinco anos no Laboratório de Ensaio Farmacológicos e Toxicológicos do Instituto de Ciências Biológicas da FURG pelos pesquisadores responsáveis pelo presente projeto, após este período estes serão incinerados.

9. Orçamento e financiamento

Os recursos financeiros que foram utilizados para os alimentos orgânicos do Ensaio Clínico foram fornecidos pela empresa Korin e Jasmine os recursos para as análises bioquímicas, dano genético e cromatográficas foram provenientes do Laboratório de Ensaio Farmacológicos e Toxicológicos (Instituto de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Rio Grande) e parte financiada pelos próprios pesquisadores.

10. Resultados

Manuscrito 1: Será submetido a *Contemporary Clinical Trials* (Fator de impacto: 2,226)

Consumption of organic food – aspects of a randomized clinical trial

Abstract

Randomized Clinical Trials are considered the gold standard for studies with dietary intervention, mainly because they can establish causal relationships between food exposure or dietary patterns and body composition measures or biomarkers. Therefore, guidelines for designing, conducting, documenting and reporting these experimental designs in the area of nutrition need to be developed and disseminated as a reference for the academic community. The aim of this study was to perform a double-blind randomized clinical trial protocol to assess the effects of human food exposure to pesticide residues in food. Specific aspects of planning (development of a research question, determination of objectives, selection of participants, randomization and blinding) and conduction (recruitment of participants, measures to improve adherence, data collection, follow-up and evaluation of results) are addressed in this study). The study design proved to be effective in characterizing dietary patterns with foods from conventional and organic farming. However, difficulties were observed during the Clinical Trial, such as the recruitment of a larger sample number (total N = 148), adherence to meals such as breakfast, interference in the food routine and eventual underreporting of the consumption of extra foods. The practice of evidence-based nutrition has demanded that trials be well designed and systematically performed in the field of clinical nutrition. Therefore, this Clinical Trial emphasizes the importance of improving studies with toxicological nutrition that assess sources of exposure through food.

Keywords: Clinical trials; trial methodology, nutrition, pesticide.

Introduction

Diet can be a source of exposure to hazardous environmental chemicals. Food can be contaminated through residues of substances during food production or processing, and in marine and agricultural food chains [1]. The application of pesticides in plantations for pest control has been the subject of numerous discussions, including the detection of residues in food [2,3]. In this case, fruits and vegetables are expected to contain higher levels of pesticide residues than other food groups due to the large number of pesticides used and unprocessed ingestion [4,5]. However, it is important to mention that pesticide residues have been identified in food even after industrial processing [6].

The concentration of pesticides in food has been associated with adverse health effects in cohort studies, including decreased cognitive scores in children [7], asthma [8], cancer [9] and impacts on the reproductive system in a cross-sectional study [10]. Some biomonitoring studies have shown that replacing only conventional fruits and vegetables with organic items in the diet has been sufficient to reduce urinary levels of pesticides, including malathion and chlorpyrifos, as well as their metabolites to undetectable levels [11].

Food and nutrition security is based on the relationship between the supply and consumption of food by the population, considering its availability and quality access [12]. Pesticide residues (one or more substances) remaining in the food directly interfere with the principle of nutritional security of the population. Therefore, there is an increase need for toxicological studies, focused on health, that monitor the levels of pesticide residues in foods of daily consumption, as well as the effects of this exposure.

That said, organic products market has grown rapidly in recent decades due to the significant increase in the demand for these products [13]. Although each country may have specific legislation on the subject, in general, organic foods do not allow the use of synthetic fertilizers, pesticides, genetically modified organisms and restrict the use of veterinary drugs. As a result, organic products are less likely to contain pesticide residues than foods grown in conventional production systems. The recent systematic review by Vigar et al [14] shows significant positive health outcomes related to the consumption of organic foods in observational studies, but emphasizes that long-term clinical trials that perform a total diet replacement using certified organic foods are extremely needed.

Consumption of pesticides and its relationship with health

Observational studies provide evidence that pesticide concentrations in individuals who consume conventionally grown foods are higher than those in organic farming and are associated with adverse health outcomes. Most of the prospective cohorts identified surveyed mother-child, studying outcomes on the influence on fetal development (preeclampsia, fertility) [15,16] and food allergies in children [17]. Other cohort studies involving adults have studied outcomes in cancer incidence [18,9] and in health factors such as obesity [19].

The largest number of studies in adults are observational biomonitoring with urinary markers. These indicate that the levels of pesticides and their metabolites are higher in individuals with a diet containing conventionally produced foods when compared to organic production [20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,11]. The Food Frequency Questionnaire and the Food Diary are the most used instruments to quantify the food consumed by the participants during the intervention period (Table 1).

It is important to emphasize that the studies present weaknesses and limitations. Cohort studies are weak in establishing a causal link between the results, in cross-sectional studies the time frame is limited or there is an association with high levels of pesticides based only on food frequency questionnaires. Therefore, it is noted that there is evidence of an association between exposure to pesticides and health outcomes, however, more studies are needed to fill the existing gaps.

Clinical trials (partial or total diet replacement)

The Randomized Clinical Trial (RCT) is the experimental design considered the gold standard to assess efficacy in clinical research and constitute evidence for health treatment [31]. RCTs provide high quality data, causal relationships in detail and form the basis of evidence-based treatment. In addition, they have a low risk of confounding and biasing factors, they are a lot less prone to bias compared to other observational studies. RCTs have the advantage of reducing bias by allocating each individual to random groups. Therefore, the probability of receiving treatment is decided by chance alone [32]. Thus, randomization is the best way to reduce confusion and bias in experimental studies.

The RCTs that investigated the effect of replacing only a single conventional food with organic in a single dose, or in substitution for a few days, did not observe statistically significant differences. Studies with partial food replacement, in a short period of time or with a small sample number may not significantly reflect the effects of diet. On the other hand, RCTs that studied the effect of total replacement from conventional to organic diets (4 to 22 days) observed health benefits. There was a significant reduction in the amount of pesticide metabolites excreted in urine during different phases of dietary interventions (Table 2).

These studies present consistent data on the reduction of urinary levels of pesticides and their metabolites. However, further studies of health benefits are needed. In particular, long-term, whole-diet replacement RCTs, using interventions with certified organic products to provide reliable scientific evidence for the question: Does organic diet provide real measurable health benefits? In this study, we performed a double-blind randomized clinical trial protocol to identify, characterize and evaluate effects of human dietary exposure to pesticide residues in food.

Table 1. Data from observational studies with dietary intervention of organic foods.

Reference	n	Pesticide detected in biological sample	Food measuring instrument
[20]	251	- - -	Food Frequency Questionnaire
[21]	207	DDE	Food Frequency Questionnaire
[22]	535	3-PBA	Food Frequency Questionnaire
[23]	247	DEP, DETP, DEDTP, DMP, DMTP, DMDTP	Food Frequency Questionnaire + 24 hour record
[24]	55	3-PBA	Food Frequency Questionnaire + 24 hour record
[25]	876	DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP, DEDTP 4-F-3PBA, trans-DCCA, 3-PBA	Food Frequency Questionnaire
[26]	4.466	DMP, DMTP, DEP, 3-PBA, cis-DCCA, cis-DBCA	Food Frequency Questionnaire
[27]	4.539		Food Frequency Questionnaire
[28]	42	DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP, DEDTP, TCPy, IPPX, Naphtol	24 hour record
[29]	189	- - -	Food Frequency Questionnaire

[30]	90	TCPy, PNP, IMPY, 3-PBA, 2,4-D	Food Frequency Questionnaire
[11]	7	2,4-D, 3-PBA, cDDCA, Cloathianidin, FPBA, MDA, TCPy, tDCCA	Food diary

DDE: dichlorodiphenyldichloroethylene; 3-PBA: 3 phenyl benzoic acid; DEP: diethyl phosphate; DETP: diethyl dithiophosphate; DEDTP: dimethyl dithiophosphate; DMP: dimethyl phosphate; DMTP: dimethyl thiophosphate; DMDTP: dimethyl dithiophosphate; cis-DCCA: cis-trans-Permethric acid; cis-DBCA: 1,carboxyl-13C2; TCPy: 3,5,6-trichloro-2-pyridinol; IMPY: 2-isopropyl-4-methyl-pyridine; 2,4D: dichlorophenoxyacetic acid; FPBA:4 -fluoro 3-phenoxy benzoic acid.

Table 2. Data extracted from RCTs with partial and total dietary intervention.

Reference	N	Exposure	Outcomes	Results
[33]	43	<p><u>Partial intervention:</u></p> <p>Conventional or organic apple (500g each). The third group as a control, and maintained the diet with an apple and polyphenol restriction.</p>	<p>Apple polyphenols and their metabolites, glucose, cholesterol, leukocytes and uric acid; total antioxidant status; Vitamins C, E, and carotenoids.</p>	<p>No statistical difference between groups.</p>
[34]	150	<p><u>Total intervention:</u></p> <p>Conventional mediterranean diet or organic mediterranean diet.</p>	<p>BMI, DXA, phosphorus concentrations, glucose, lipid profile, inflammatory markers and microalbuminuria.</p>	<p>DXA showed differences between groups for fat mass; with an average loss of 6.1 kg. Significant decrease in cholesterol, calcium and microalbuminuria. Inflammatory parameters decreased in both groups after the diet.</p>
[35]	24	<p><u>Partial intervention:</u></p>	<p>Blood Markers: GSH, SOD, Gpx, TAC, glucose and uric acid.</p>	<p>No statistical difference between groups.</p>

			Single dose of 400 ml of conventional juice, organic juice or water.	
			Blood collection at 0 and 60 minutes after intervention.	
[36]	13	Standard conventional diet and organic diet intervention.	Urinary pesticide concentrations, including 6 organophosphate pesticide metabolites (DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP and DEDTP).	Lower urinary levels of DMP and DMTP, with a tendency towards DMDTP during the organic phase.
[37]	40	Standard conventional diet and organic diet intervention.	Urinary concentrations of 23 pesticides and metabolites: organophosphates, pyrethrin and pyrethroid, insecticides and herbicides.	Most metabolites were <LOD. Reductions of 40% for total DAPs, 49% for dimethyl DAPs and 25% for 2,4-D.
[38]	2	<u>Total intervention:</u> Conventional diet or organic diet.	Urinary excretion of pesticides, including DAP, pyrethroid metabolites, chlorinated phenoxy-carboxylic acids, glyphosate and AMPA.	Despite the reduced N, it presents statistical differences for organophosphorus, phenoxychlorine and carboxylic acids pesticides.

N: sample number; BMI: Body Mass Index, DXA: dual energy x-ray absorptiometry; GSH: glutathione, SOD: superoxide dismutase, Gpx: glutathione peroxidase, TAC: total antioxidant capacity, DAP: dialkyl phosphate; DEP: diethylphosphate; DETP: diethylthiophosphate; DEDTP: diethyldithiophosphate; DMDTP: dimethyldithiophosphate; DMP: dimethylphosphate; DMTP: dimethylthiophosphate

Methods

Key aspects of study designs for understand diet effects were considered as follows:

1. Type of trial (randomized controlled trial)
2. Control condition and blindness (Double-blind)
3. Test duration (14 days of intervention)
4. Study population (healthy adults)
5. Outcome measures (quantitative)
6. Statistical significance e. clinical relevance
7. Test report
8. Ethical aspects of clinical trials

Study Design

This is a randomized double-blind clinical trial with a 14-day intervention carried out at the Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, Brazil. The intervention was preceded by a seven-day washout period, in which participants received the same conventional diet. The study was performed between August and September 2019, in accordance with the ethical standards proposed by Resolution 466/12 of the National Health Council of the Ministry of Health, which regulates Brazilian research involving human beings. The study protocol was approved by the Health Research Ethics Committee of the Universidade Federal do Rio Grande - FURG and approved with the registry number of 55/2019 (CEPAS / FURG). The RCT was registered under the number U1111-1232-5349. The study schedule for enrollment, interventions, and assessments is summarized in Table 3.

Table 3. Summary of study schedule for enrollment, intervention, and evaluation.

Interventions	RCT days				
	Pré-RCT period	Pilot study	Washout period	RCT	Post RCT period
		1-3	4-9	10-23	24
Screening and enrollment	✓				
Consent with the Study	✓				
Organization and delivery of meals with the RCT team		✓			
Standardization of the participants' diet			✓		
Sample randomization			✓		
Collection of tests (blood, urine and nutritional assessment)				✓	
Intervention				✓	
Collection of tests (blood, urine and nutritional assessment)					✓

Study participants

Study participants were students residing in university housing at the Universidade Federal do Rio Grande.

Recruitment Strategy

Subjects were invited to participate in the study through posters and advertisements on the university's website and radio and contacted through meetings scheduled by University administrators. Interested students provided the researchers with their data: full name, date of birth, email address, telephone number and other personal information.

Inclusion and exclusion criteria

Study eligibility criteria included: 1) men and women; 2) age group between 18 and 40 years; 3) healthy individuals, that is, without chronic non-communicable diseases or autoimmune diseases. Smokers and women who, even within the inclusion criteria, were pregnant or breastfeeding were excluded from the study.

Pre-RCT

The research was presented to the Dean of Student Affairs and the university nutritionists. With the consent of these managers, a meeting was scheduled with all the students representing the houses offered by the university on its campus.

Divulagation

Publications of the study were carried out with banners, pamphlets and plates which briefly explained the research and contained the researchers' contact details for questions. The RCT disclosures were performed in the university social environments, with short messages in classrooms, display of banners in the cafeteria at meal times, in the coexistence center and throughout the university campus. In addition, space was provided on the university website and radio to present the research.

Pre-RCT meeting

The meetings were held in the social environments of the university houses. In the meetings, the benefits of the research, the scientific impact related to the theme, the

clarification of the eligibility criteria and restrictions during the study period were discussed. In addition, the possible risks and the appropriate measures that the researchers would take in case of any discomfort or risks to the participant's health were also explained. In a meeting prior to the RCT, participants were given the Free and Informed Consent Form, food diary and exam guidelines.

Training of participating researchers

All researchers involved in the study received two trainings before the start of the intervention. First, a training for Standards of Good Hygiene Practices at meal production sites and how to use Personal Protective Equipment was provided by a competent and registered professional. In addition, a training on RCT, regarding the importance of complying with the proposed experimental design and respecting the rules of randomization and blinding, was also performed.

Clinical Trial

The Clinical Trial took place at the University Restaurant of the Campus Carreiros. Meals were offered at the times usually stipulated by the University, breakfast from 7:00 to 9:00, lunch from 11:00 to 14:00, dinner from 18:00 to 22:00. Breakfast was offered at Restaurante Universitário 2 and lunch and dinner at Restaurante Universitário 1, both at Campus Carreiros.

Pilot study and washout period

A three-day pilot study was carried out for researchers, cooks and participants to adapt to the RCT routine. At this moment, the researchers were taught about the logistics on the intervention days, job training was carried out and information was passed on to the team of cooks responsible for preparing the study meals. In the washout period, performed for seven days, all participants went through a baseline period, in which no organic or pesticide-free food was offered by the researchers. After this period, the participants were randomized and allocated to the experimental groups: conventional (unexposed) and organic (exposed).

Randomization of participants

Simple randomization was performed. The names of all volunteers, with an informed consent form previously signed, were added in an Excel spreadsheet in

alphabetical order and numbered from 1 to 148, the total clinical trial volunteers. Afterwards, the Excel random function was chosen for 0 and 1, where 0 was the conventional group and 1 the organic group.

Clinical Trial Foods

Food from conventional cultivation was provided by the University, and food obtained from organic cultivation was provided by Korin and other organic food companies with a certification seal. Organic fruits and vegetables were obtained daily by local farmers with an organic certification seal.

The food used to prepare the meals was stored in the kitchen of the university restaurant. The other foods offered for daily consumption, such as yerba mate, popcorn, cookies and cakes, were repackaged daily in brown paper envelopes and identified on the outside with the participant's randomization number.

Diet

The RCT's daily diet was planned together with the university's team of nutritionists and is presented in the Table S1. The menu and the amount of food offered in the diets for both groups (conventional and organic) were identical. For breakfast it was offered coffee or milk, bread with cold cuts and a portion of fruits, cookies or cakes were delivered for the afternoon snack. At lunch and dinner, the dish consisted of vegetables from groups A and B, rice, beans, a side dish, a portion of meat and 2 eggs or vegetable protein. The daily intake per meal of fats, carbohydrates and proteins for each meal respected the reference food intake [39]. Individual portions were delivered to participants according to estimated energy consumption. Participants were encouraged not to consume foods and beverages other than those provided by the researchers. In addition, a food diary was provided to describe daily fluid intake and any extra food and drink that had been consumed.

Meal preparation

All meals for the main meals (lunch and dinner) were prepared in the restaurant's kitchen by the university staff. Organic food was also prepared inside the kitchen, but in a separate environment by a cook who was meant to take care of only these meals. In addition, the pre-preparation, preparation and cooking utensils (pots, cutlery, boards and vats) of organic food were sanitized and stored separately from the others. After the

cooking stage, the food was placed in the RCT buffet located inside the kitchen. This buffet was divided in a way that included conventional foods on one side and organic foods on the other, both with the same food groups. Breakfast and afternoon snack were delivered at the same time, during breakfast, inside the cafeteria of the university's restaurant.

Meal delivery

Study participants identified themselves at the restaurant door with their randomization number through the identification provided by the researchers (Figure) and were oriented by researcher 1 to the kitchen door. At this moment, researchers 2, 3 communicated to researchers 4,5,6,7,8 inside the kitchen the number of the requested dish. Those in charge prepared the dish inside the kitchen, handed it to researchers 2, 3 and the participants received the meals in prepared dishes.

Exams

In order to carry out the exams, a previously sanitized university building was provided, with all the necessary equipment for the collections. Blood and urine were collected and anthropometric assessment was performed on the participants on the first day of the RCT, before the first meal, and on the fifteenth day after the intervention, that is, on the initial day and on the last day of intervention. Blood collection was performed by researchers with training in nursing and biomedicine, urine was collected by the participants themselves in sterile plastic containers and delivered to the researchers. Anthropometric assessment was performed by researchers trained in nutrition. Participants were instructed to fast for 8 hours, to not consume alcoholic beverage and abstain from physical exercise in the 24 hours prior to the collection of the exams.

Blood and urine collection

The blood sample was collected and immediately centrifuged for 10 minutes at 3000rpm in a Sigma centrifuge to obtain the plasma and taken to an ultrafreezer at -80°C until the time of analysis. Liver indicators (Glutamic-Oxalacetic Transaminase, Glutamic-Pyruvic Transaminase), protein indicators (urea and creatinine) were evaluated using Labtest kits and genetic damage through the Comet Assay. The comet assay was performed right after the collection of the blood samples.

For urine collection, participants received a sterile plastic container, an universal collector. Samples were transferred from the universal collector to Falcon tubes and stored at -80°C in ultrafreezers. Samples were analyzed for pesticide biomarkers and metabolites according to the method of Arias et al [40]. 5g of sample were used, weighed in a 15 ml polypropylene tube; then 1 ml of acetonitrile was added to the mixture, which was mixed by vortex for 1 min. Then, 2g of MgSO₄ was added to the mixture, which was mixed again for 3 min, followed by centrifugation for 5 min at 7000 rpm (7793 × g). Finally, 500 µL of the acetonitrile layer was collected and diluted to 1 mL with ultrapure water in an HPLC *vial* and 20 µL was injected into the chromatographic system. The experiments were performed in triplicate. The pesticides and metabolites analyzed are described in Supplementary Table S2.

Anthropometric assessment

For the anthropometric assessment, weight, height and Body Mass Index (BMI) were measured, in addition to measurements of waist and hip circumference at the beginning and end of the intervention, using internationally accepted techniques [41]. The same measurements were taken with a bioimpedance scale, with percentage of fat, muscle and basal metabolism rate.

Mechanisms for maintaining adherence to the RCT

Food Diary

The food diary was prepared with the objective of quantifying the extra foods ingested by the participants during the intervention period of the study. The first page of the instrument contained guidelines, stressing the importance of specifically describing the type of food, quantity, brand if fast food was consumed and the amount of water for each day of intervention. To make it easier to fill in the diary, examples of utensils and foods have been added to determine quantity and portion size (Supplementary Material).

Application

To contribute to the adhesion of the participants in the study, a free app was developed. The app contained information about the RCT, pesticides and health, the complete menu for each day of intervention, options to photograph the dishes of the day, notepad, calendar with the dates of exams and games.

Games

A university student sports association organized and promoted games during the weekends of RCT. Different sports tournaments were held, where only the participants could compete in the games. The dispute generated symbolic prizes.

Statistical analysis

The sample characterization data were subjected to analysis of assumptions where normality was evaluated by Shapiro Wilk test; homoscedasticity by Hartley test; and, the independence of residues by graphic analysis and as they did not fit, they were then analyzed in a descriptive way. The variables were analyzed quantitatively using the IBM SPSS Statistics software, version 28.0.0.0, where descriptive statistics were calculated, such as absolute (n) and relative (%) frequencies, comparing the conventional and organic groups using Fisher's exact test for variables: Age, sex, type of diet, household and food allergies. Data from anthropometric measurements were submitted to analysis of variance (ANOVA) and, as there was statistical significance, the means were compared using t test at 5% and differences were presented.

Results

Of the 185 individuals who expressed interest in participating in the study, 27 volunteers dropped out after the pre-RCT meeting. Of the total of 158 participants who received the instructions and signed the Free and Informed Consent Form, 148 completed the study. Three dropped out during the pilot study and seven did not attend the final exam collection, totaling 6% of losses or dropouts (Figure 1).

The characteristics of the participants are shown in Table 4. The conventional group was represented by 47% of the sample (30 men and 40 women) and the organic group by 52% (39 men and 39 women). The age ranged between 23 and 27 years and 92.6% of the sample lived in the accommodation offered by the University. Individuals who had any food allergy/intolerance (lactose n=5, basil allergy n=1), or dietary restrictions due to personal taste, received meals suited to their preferences.

The data from the anthropometric evaluation by bioimpedance for the variables weight and percentage of fat decreased significantly in the organic group, as well as the abdominal circumference. However, when the groups were compared for each parameter, higher percentages of weight and body fat were observed in the bioimpedance in the organic group in the initial and final evaluation. Still in comparison between the groups,

there was a reduction in waist circumference in the organic group in the final evaluation and an increase in hip circumference in the conventional group (Table 5).

In order to assess adverse health effects during the RCT, we added a signs and symptoms questionnaire at the end of the Food Diary, in which 17.5% of participants in the conventional group reported diarrhea as the most prevalent effect. In the organic group, 14% of the participants reported being sick at some point during the study (Table 6). In the conventional group, one person reported having flu-like symptoms, and in the organic group, three participants reported the same symptoms. The most used medicine during the study period were analgesics (Conventional = 8, Organic = 14) and antipyretics (Conventional = 6, Organic = 14) All study participants completed the adverse effects questionnaire and the Food Diary.

Participants' adherence to meal consumption was similar between groups. The frequency at lunch meals was 88%, at dinner 78% and with less adherence at breakfast 57%. All participants received snacks for the rest of the day, including those who did not eat breakfast. In addition, all participants received extra foods such as popcorn or yerba mate.

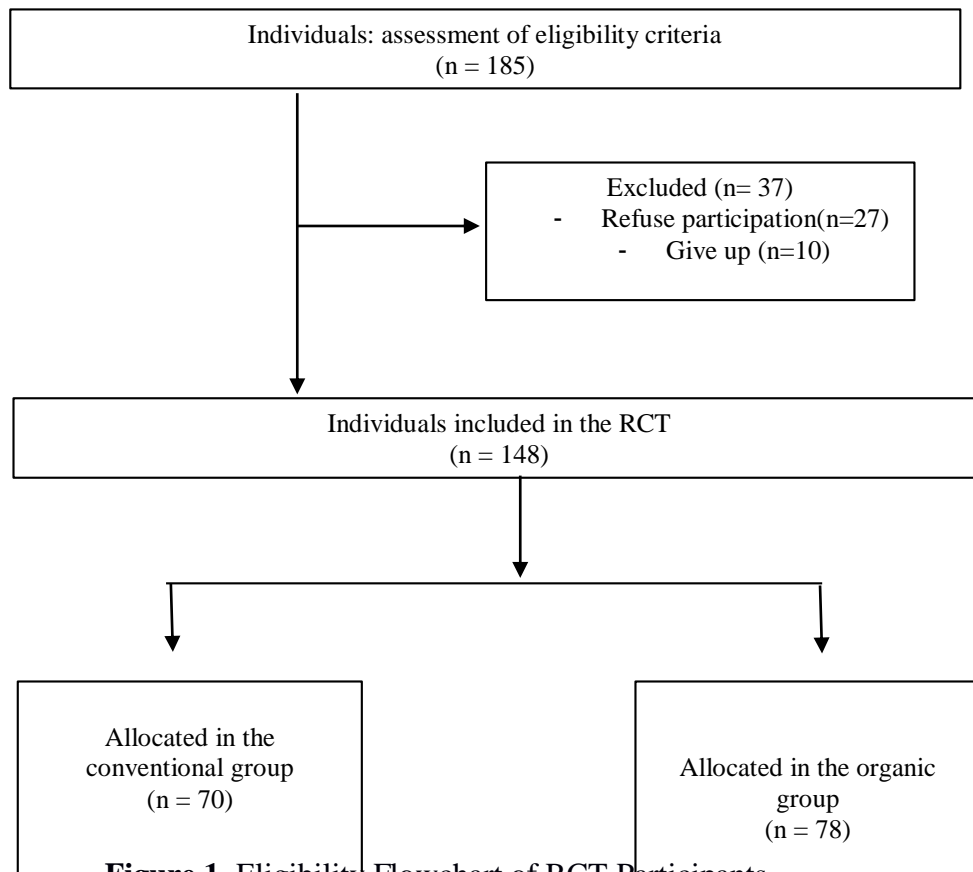


Figure 1. Eligibility Flowchart of RCT Participants.

Table 4. Social characteristics and type of diet of individuals in the Clinical Trial sample, Rio Grande, Brazil (n = 148).

Variables	Conventional group (n=70)	Organic group (n=78)	Total	p-value
	n (%)	n (%)	n (%)	
Sex				
Masculine	30 (20%)	39 (26.5%)	69 (46.5%)	
Feminine	40 (27%)	39 (26.5%)	79 (53.5%)	p=0.241
Age				
≤ 20	24 (16.2%)	19 (12.8%)	43 (29%)	
21 – 29	41 (27.7%)	56 (37.8%)	97 (65.5%)	p=0.098
≥ 30 anos	6 (4.1%)	2 (1.4%)	8 (5.5%)	
Home				

University housing	62 (41.9%)	75 (50.7%)	137 (92.6%)	p=0.074
Own house	8 (5.4%)	3 (2%)	11 (7.4%)	

Type of Diet

Ominivorous	61 (41.2%)	69 (46.5%)	130 (87.7%)	
Vegetarian	5 (3.4%)	8 (5.4%)	13 (8.8%)	p=0.497
Vegan	2 (1.4%)	0	2 (1.4%)	
Lacto-ovo-vegetarian	2 (1.4%)	1 (0.7%)	3 (2.1%)	

Food allergies or intolerances

	4 (2.7%)	1 (0.7%)	5 (3.4%)	
Lactose	1 (0.7%)	0	1 (0.7%)	p=0.833
Others	65 (43.9%)	77 (52%)	142 (95.9%)	

No allergies or
intolerances

Fisher's exact test ($p \leq 0.05$)

Table 5. Parameters of Nutritional Assessment pre and post Clinical Trial (N = 148).

Nutritional parameters	Conventional group (n = 70)	Organic group (n = 78)
Initial weigh (kg)	66.44 aA	71.31 aA
Final weigh (kg)	66.91 aA	72.63 aA
Stature (cm)	167.62 aA	169.20 aA
Initial BMI (kg/m ²)	24.33 aA	24.92 aA
Final BMI(kg/m ²)	23.32 aA	24.84 aA
<u>Bioimpedance</u>		
Initial weigh (kg)	66.06 aB	85.3 aA

Final weigh (kg)	66.81 aB	71.28 bA
Initial fat mass (%)	29.69 aB	34.61 aA
Final fat mass (%)	28.88 aB	31.64 bA
Initial lean mass (%)	32.22 aA	30.87 aA
Final lean mass (%)	32.02 aA	30.54 aA
Initial hip circumference	99.19 bB	116.97 aA
Final hip circumference	110.79 aA	98.52 bB
Initial abdominal circumference	80.52 aA	82.35 aA
Final abdominal circumference	79.09 aA	71.32 bB

Means followed by the same letter in the column and capital in the line, do not differ, comparing the initial and final anthropometric measurements, within each food group and comparing the measurements between the food groups within each of the evaluations, respectively, by the t test ($p \leq 0.05$).

Table 6. Adverse effects mentioned during the Clinical Trial period (N = 148)

Adverse effects	Conventional group (N = 70)	Organic group (N = 78)
Dizziness	2	2
Headache	5	4
Nausea	2	2
Vomit	5	-
Motion sickness	3	4
Reflux	2	2
Abdominal pain	1	5
Diarrhea	6	2

Discussion

In this study we developed a double-blind RCT. In the field of human nutrition, RCTs are considered the gold standard for establishing causal relationships between exposure to nutrients, foods or dietary patterns and outcome measures pre-specified as biomarkers [42]. Study participants were randomly allocated to experimental groups (conventional or organic). Randomization in an EC is important due to the selection bias of the participants included in the study, as differences in individual characteristics can be a confounding factor, and can make the impact of the intervention difficult or impossible [32].

In addition, we performed the RCT in a double-blind manner, neither the participant nor the researcher knows the intervention treatment assignment for each group. This additionally ensures that any care provided during the study by the researcher or participant is not influenced and thus minimizes bias [31]. However, double-blind RCTs are difficult to perform for treatments with food, that is, non-pharmacological. Unlike pharmaceutical trials, human nutrition RCTs often test foods that are identifiable by taste, appearance, texture and/or smell [43]. To minimize this, we offered the same quality of food to both groups, with the difference in cultivation (conventional or organic). Other RCTs already performed single blinding [44,45] and double-blind, similar to the one proposed by this study [46, 33].

In order to minimize bias, we recruited a large sample size (n=148) compared to other RCTs on this topic (Table 2). The most effective recruitment was through targeted

correspondence (emails), but it is necessary to highlight the need to combine recruitment methods to achieve accumulation goals (emails, printed and digital leaflets, etc.) [47]. The study by De Lorenzo et al [34] had a similar sample number (n=150), however the authors studied patients with a specific pathology, different from that proposed in this study. With large enough samples, randomization balances all unknown factors related to the participant and eliminates possible biases that can be generated by confounding factors [31].

The study examinations were performed before and after the dietary intervention. The trained multidisciplinary team carried out the collections in an identified way according to randomization. Nutrition professionals received standardized forms to identify the participant by randomization number and all parameters to be evaluated. Blood and urine samples were carefully stored for processing and storage temperature, light exposure, and aliquot volumes for each sample. Sample labeling schemes were readable without ambiguous information or personal identification. Participants who attended only the initial collection had their samples stored separately from the rest until the time of analysis.

Nutritional research presents some unique challenges. The modification of a complete diet can trigger compensatory changes in the composition of the diet that, in itself, can alter the results and interpretation of findings [48]. Our data show that study participants adhered more to lunch (88%) and dinner (78%) meals, and to prevent changes in diet composition from including compensatory behaviors in total or relative intake, measures of adherence to the RCT were performed. The food diary was completed by all participants, containing all the extra foods that were consumed. In addition, the RCT app and interactive games kept participants' enthusiasm and commitment. Effective communication promotes a strong sense of loyalty and reinforces the importance of adherence to the study protocol.

However, common barriers to RCT performance are widely recognized and discussed. In 2008, Duley et al [49] identified the main difficulties in carrying out RCTs: inadequate funding; complex regulations that sometimes make it difficult to interpret results, monitor and lack of training and understanding of the methodology. Furthermore, because RCTs are highly controlled for both the study environment and the inclusion and exclusion criteria, this generates a homogeneous population of participants and limits the generalization of results to other populations [50].

From a public health perspective, nutrition is vital to the health, economic development and lifelong productivity of the population. Therefore, the RCT performed becomes necessary for the results obtained to contribute to nutritional security and the health of the population. After all, if we understand that nutrition is a therapy and can prevent and promote health, there

is a need for an increase in large-scale multicenter RCTs, with robust methodologies, with transparent reporting and with the development of international research networks to advance the field, helping to acquire, interpret and apply the best possible evidence on the effects of consuming foods produced in the conventional system with pesticides.

The present study has some limitations. Although the sample size is large enough to provide adequate statistical power, it is relatively small for population studies. Although we did our best to control our participants' food intake, this was difficult because they had free choice outside of meal times. Routine interference and eventual underreporting are possible method biases. In addition, pesticide exposure was assessed only for seasonal food groups (fruits and vegetables), as organic foods were purchased from local producers and are grown at pre-established periods. Therefore, the observed exposure includes only the foods related to the moment of the study. Our study methodology also does not measure effects of the generation of pesticide metabolites that may occur naturally from environmental exposure.

The design carried out in this study confirmed that RCT is a gold standard methodology for trials in area of nutrition, which requires previously structured planning of the study design with transparent reports and which still needs more financial support from government and private companies. The rigor of scientific research is essential to provide quality inputs on which to base the development of nutritional policies and guidelines. Failure to comply with methodological and ethical standards may compromise the scientific integrity of the study results. Thus, improving the quality of clinical research in toxicological nutrition becomes necessary to clarify the relationship between diet and exposure to contaminants for the population and determine their health effects.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S1. 14-day RCT menu.

Foods	Days of the week						
	<i>Monday</i>	<i>Tuesday</i>	<i>Wednesday</i>	<i>Thursday</i>	<i>Friday</i>	<i>Saturday</i>	<i>Sunday</i>
<i>Rice</i>			White rice and brown rice	White rice and brown rice	White rice and brown rice	White rice and brown rice	White rice and brown rice
<i>Legumes</i>			Black bean	Black bean	Black bean	Black bean	Black bean
<i>Meat</i>			Chicken bait	Red meat steak	Roast Chicken	Red meat steak stuffed with vegetables	Red meat steak with fried egg
<i>Vegetarian portion</i>			Bean cake	Cabbage cigar with soy Cooked vegetables (broccoli, carrots, potatoes, onions)	Mushrooms with onion	Chickpea	Soy beans
<i>Garrison</i>			Baked sweet potato	Polenta with sauce	Macaroni in red sauce	Mashed potatoes	
<i>Cooked salad</i>			Boiled beetroot	Cauliflower	Cooked carrot	Braised mustard	Cooked carrot
<i>Raw salad</i>			Broccoli	Radish	Cabbage	Beet	Radish
<i>Leafy salad</i>			Mixed leaves (lettuce, arugula)	Mixed leaves (lettuce, arugula)	Mixed leaves (lettuce, arugula)	Mixed leaves (lettuce, arugula)	Mixed leaves (lettuce, arugula)
<i>Fruit</i>			Bergamot	Orange	Banana	Bergamot	Orange
<i>Rice</i>	White rice and brown rice	White rice and brown rice	White rice and brown rice	White rice and brown rice	White rice and brown rice	White rice and brown rice	White rice and brown rice
<i>Legumes</i>	Black bean	Black bean	Black bean	Black bean	Black bean	Black bean	Black bean

<i>Meat</i>	Grilled Chicken Steak	Red meat in sauce	Red meat with sauce	Crispy chicken	roast	Fried red meat steak	Fried red meat steak	Grilled Chicken Steak
<i>Vegetarian portion</i>	Mushroom in tomato sauce	Bean cake	Soy beans with vegetables	Chickpea		Soy with potatoes	Mushroom pancake Cooked vegetables (broccoli, carrots, potatoes, onions)	Chickpea burger
<i>Garrison</i>	Baked sweet potato	Cooked cassava	Pumpkin puree	Macaroni in red sauce		Corn flour Potato, carrot		Baked sweet potato
<i>Cooked salad</i>	Boiled beetroot	Braised mustard	Broccoli	Cooked carrot		and egg salad	Cauliflower	Cooked carrot
<i>Raw salada</i>	Cabbage	Carrot	Radish	Cabbage		Beet	Radish	Beet
<i>Leafy salada</i>	Mixed leaves (lettuce, arugula)	Mixed leaves (lettuce, arugula)	Mixed leaves (lettuce, arugula)	Mixed leaves (lettuce, arugula)		Mixed leaves (lettuce, arugula)	Mixed leaves (lettuce, arugula)	Mixed leaves (lettuce, arugula)
<i>Fruit</i>	Orange	Banana	Orange	Banana		Orange	Banana	Orange
<i>Rice</i>	White rice and brown rice	White rice and brown rice						
<i>Legumes</i>	Black bean	Black bean						
<i>Meat</i>	Fried red meat steak	Roast Chicken						
<i>Vegetarian portion</i>	Soy croquette	Chickpea Macaroni with red sauce						
<i>Garrison</i>	Manioc puree	Beet						
<i>Cooked salad</i>	Cauliflower	Carrot						
<i>Raw salada</i>	Cabbage	Mixed leaves (lettuce, arugula)	Mixed leaves (lettuce, arugula)					
<i>Leafy salada</i>	Mixed leaves (lettuce, arugula)	Mixed leaves (lettuce, arugula)						
<i>Fruit</i>	Banana	Orange						

Table S2. Pesticides and metabolites measured in the urine of pre and post RCT participants.


Pesticides	Retention time	1 Transition – Quantification		2 Transition - Confirmation		3 Transition – Confirmatio	
		Transition	EC (V)	Transition	EC (V)	Transition	EC (V)
(E)-Chlorfenvinphos	11.746	323.0>267.0	16	267.0>159.0	18	267.0>203.0	12
(Z)-Chlorfenvinphos	11.968	323.0>267.0	16	267.0>159.0	18	267.0>203.0	12
2,4'-Methoxychlor	14.261	227.1>121.1	16	121.1>78.0	22	121.1>91.0	12
Acrinathrin-1	16.118	181.1>152.1	26	289.1>93.0	14	181.1>127.1	28
Acrinathrin-2	16.456	181.1>152.1	26	289.1>93.0	14	181.1>127.1	28
Alachlor	10.405	188.1>160.1	10	188.1>132.1	18	160.1>132.1	10
Aldrin	11.090	262.9>191.0	34	262.9>193.0	28	292.9>219.9	26
alpha-BHC	8.378	180.9>144.9	16	218.9>182.9	8	218.9>144.9	20
alpha-Endosulfan	12.540	194.9>160.0	8	194.9>125.0	24	194.9>123.0	22
Ametryn	10.476	227.1>185.1	6	227.1>58.0	14	227.1>170.1	14
Atrazine	8.802	215.1>58.0	14	215.1>173.1	6	200.1>104.1	18
Atrazine-d5	8.764	205.0>105.0	10	205.0>127.0	5		
Azoxystrobin	19.807	344.1>329.1	16	388.1>345.1	18	388.1>300.1	20
Benalaxyl	14.251	148.1>105.1	16	148.1>79.1	24	148.1>133.1	14
beta-BHC	8.910	180.9>144.9	16	218.9>182.9	8	218.9>144.9	20
beta-Endosulfan	13.611	194.9>160.0	8	194.9>125.0	24	194.9>123.0	22
Bifenthrin	15.333	181.1>166.1	12	181.1>179.1	12	181.1>153.1	8
Boscalid	18.020	140.1>112.1	12	140.1>76.0	24	342.1>140.1	14
Bromopropylate	15.324	340.9>182.9	18	340.9>184.9	20	340.9>157.0	30
Bupirimate	13.194	273.1>108.1	16	273.1>193.1	8	316.1>208.1	10
Buprofezin	13.139	172.1>57.0	14	175.1>132.1	12	175.1>117.1	24
Cadusafos	8.161	158.9>130.9	8	158.9>97.0	18	126.9>99.0	10
Carbofuran	8.406	164.1>149.1	8	149.1>121.1	10	164.1>103.1	24
Carbophenothion	14.208	157.0>45.0	18	341.9>157.0	14	341.9>199.0	8
Chlorfenapyr	13.433	247.1>227.0	16	139.0>102.0	12	247.1>200.0	24
Chlorothalonil	0.000	263.9>168.0	24	263.9>228.8	18	265.9>168.0	22
Chlorpropham	7.783	127.1>65.0	22	213.1>171.1	6	127.1>92.0	18

Chlorpyrifos	11.192	196.9>168.9	14	313.9>257.9	14	313.9>285.9	8
Chlorpyrifos-methyl	10.263	285.9>93.0	22	287.9>93.0	22	285.9>270.9	14
cis-Chlordane	12.590	374.8>265.9	26	372.8>263.9	28	372.8>265.9	22
cis-Permethrine	17.038	183.1>153.1	14	183.1>168.1	14	183.1>165.1	10
Cyfluthrin-1	17.160	163.1>127.1	6	163.1>91.0	14	226.1>206.1	14
Cyfluthrin-2	17.613	163.1>127.1	6	163.1>91.0	14	226.1>206.1	14
Cyfluthrin-3	17.697	163.1>127.1	6	163.1>91.0	14	226.1>206.1	14
Cyfluthrin-4	17.812	163.1>127.1	6	163.1>91.0	14	226.1>206.1	14
Cypermethrin-1	17.921	163.1>127.1	6	163.1>91.0	14	181.1>152.1	22
Cypermethrin-2	18.011	163.1>127.1	6	163.1>91.0	14	181.1>152.1	22
Cypermethrin-3	18.092	163.1>127.1	6	163.1>91.0	14	181.1>152.1	22
Cypermethrin-4	18.122	163.1>127.1	6	163.1>91.0	14	181.1>152.1	22
Cyproconazole-1	13.498	139.1>111.1	16	222.1>125.1	24	222.1>82.0	12
Cyproconazole-2	13.387	222.1>125.1	24	139.1>111.1	16	222.1>82.0	12
Cyprodinil	11.685	224.1>208.1	16	224.1>197.1	22	224.1>131.1	14
Deltamethrin-1 (Tralomethrin deg.-1)	19.334	180.9>151.9	22	252.9>93.0	20	252.9>171.9	8
Deltamethrin-2 (Tralomethrin deg.-2)	19.532	180.9>151.9	22	252.9>93.0	20	252.9>171.9	8
Diazinon	0.000	304.1>179.1	10	179.1>137.1	18	179.1>122.1	24
Dichlofluanid	11.087	223.9>123.1	8	167.1>124.1	10	167.1>97.0	22
Dichlorvos	3.883	109.0>79.0	8	185.0>93.0	14	185.0>109.0	14
Dicloran	8.607	206.0>176.0	10	176.0>148.0	12	206.0>124.0	24
Dieldrin	13.033	276.9>241.0	8	262.9>193.0	34	262.9>228.0	24
Disulfoton	9.417	153.0>97.0	10	153.0>125.0	6	186.0>153.0	6
Endrin	13.443	262.9>191.0	30	262.9>193.0	28	244.9>173.0	32
Epoxiconazole	14.984	192.0>138.0	14	192.0>111.0	26	192.0>165.0	8
Ethion	13.805	153.0>97.0	14	230.9>129.0	24	153.0>125.0	6
Ethoprophos	7.618	200.0>158.0	6	158.0>97.0	18	158.0>114.0	8
Etrimfos	9.615	181.1>153.1	10	292.1>181.1	8	181.1>56.0	24
Fenamidone	15.581	238.1>103.1	22	268.1>180.1	16	238.1>210.1	10
Fenarimol	16.506	251.0>139.0	14	330.0>139.0	8	251.0>111.0	26
Fenazaquin	15.605	160.2>145.1	8	145.2>115.1	24	145.2>91.1	24

Fenitrothion	10.792	277.0>260.0	6	277.0>109.1	14	260.0>125.1	12
Fenpropathrin	15.464	181.1>152.1	22	265.1>210.1	12	181.1>127.1	28
Fenpropimorph	11.135	128.1>70.0	10	128.1>110.1	8	128.1>84.0	18
Fenthion	11.159	278.0>109.0	20	278.0>169.0	14	278.0>125.0	20
Fenvalerate-1	18.821	225.1>119.1	20	225.1>147.1	10	419.1>225.1	6
Fipronil	11.977	366.9>212.9	30	368.9>214.9	30	366.9>254.9	22
Fluazifop-P-butyl	13.366	282.1>91.0	18	282.1>238.1	18	383.1>282.1	14
Fluquinconazole	17.289	340.0>298.0	20	340.0>313.0	14	342.0>300.0	22
Flusilazole	13.150	233.1>165.1	14	206.1>151.1	16	233.1>152.1	14
Flutriafol	12.628	219.1>123.1	14	219.1>95.0	28	164.1>95.0	28
Fosthiazate-1	11.531	195.0>103.0	10	195.0>60.0	22	195.0>139.0	6
Fosthiazate-2	11.579	195.0>103.0	10	195.0>60.0	22	195.0>139.0	6
gamma-BHC (Lindane)	9.033	180.9>144.9	16	218.9>182.9	8	218.9>144.9	20
Heptachlor	10.421	271.8>236.9	20	273.8>238.9	16	271.8>117.0	32
Hexachlorobenzene	8.528	283.8>248.8	24	283.8>213.8	28	285.8>250.8	22
Hexaconazole	12.762	214.0>159.0	20	214.0>172.0	20	216.0>161.0	22
Indoxacarb	19.459	218.0>203.0	10	264.0>176.0	14	218.0>134.0	22
Kresoxim-methyl	13.214	206.1>131.1	14	206.1>116.1	6	131.1>89.0	28
lambda-Cyhalothrin	16.310	181.1>152.1	24	163.1>91.0	22	163.1>127.0	14
Malathion	10.978	173.1>99.0	14	173.1>127.0	6	158.1>125.0	10
Methidathion	12.310	145.0>85.0	8	145.0>58.0	14	125.0>45.0	24
Methiocarb	10.865	168.1>153.0	8	153.0>109.0	10	168.1>45.0	22
Methoxychlor	15.455	227.1>169.1	24	227.1>212.1	14	227.1>141.1	28
Metolachlor (S-Metolachlor)	11.111	162.1>133.1	16	238.1>162.1	12	238.1>133.1	26
Mevinphos-1	5.524	127.0>109.0	12	192.0>127.0	12	127.0>95.0	18
Mevinphos-2	5.524	127.0>109.0	12	192.0>127.0	12	127.0>95.0	18
Mirex	16.247	271.8>236.8	18	273.8>238.8	18	271.8>234.8	18
Myclobutanil	13.097	179.1>125.0	14	179.1>152.0	8	150.0>123.0	18
o,p'-DDT	13.811	235.0>165.0	24	237.0>165.0	28	235.0>199.0	16
Oxadixyl	13.828	163.1>132.1	8	132.1>117.1	18	163.1>117.1	24
p,p'-DDT	14.426	235.0>165.0	24	237.0>165.0	28	235.0>199.0	16

Parathion	11.210	139.0>109.0	8	291.1>109.0	14	291.1>137.0	6
Parathion-methyl	10.263	263.0>109.0	14	125.0>47.0	12	125.0>79.0	8
Penconazole	11.838	248.1>157.1	26	159.1>123.1	22	248.1>192.1	14
Pendimethalin	11.812	252.1>162.1	10	252.1>191.1	8	252.1>208.1	6
Phenothrin-1	15.720	123.1>81.0	8	183.1>153.1	14	183.1>168.1	14
Phenothrin-2	15.815	123.1>81.0	8	183.1>153.1	14	183.1>168.1	14
Phenthoate	12.038	273.9>125.0	20	273.9>246.0	6	246.0>121.0	6
Phorate	8.254	260.0>75.0	8	231.0>129.0	24	231.0>175.0	12
Phosmet	15.307	160.0>77.0	24	160.0>133.0	14	160.0>105.0	18
Pirimicarb	9.837	238.1>166.1	12	166.1>55.0	20	166.1>96.0	18
Pirimiphos-methyl	10.809	290.1>125.0	22	290.1>233.1	12	305.1>180.1	8
Procymidone	12.155	283.0>96.0	10	285.0>96.0	10	283.0>68.0	24
Profenofos	12.883	338.9>268.9	18	336.9>266.9	14	338.9>310.9	6
Prometryn	10.476	226.1>184.1	10	241.2>184.1	12	241.2>58.0	14
Propiconazole-1	14.336	173.0>145.0	16	173.0>109.0	28	259.0>69.0	14
Propiconazole-2	14.452	173.0>145.0	16	173.0>109.0	28	259.0>69.0	14
Pyraclostrobin	18.945	132.1>77.0	20	164.1>132.1	14	132.1>104.1	12
Pyrazophos	16.559	221.1>193.1	12	221.1>149.1	14	221.1>177.1	16
Pyridaben	17.179	147.1>117.1	22	147.1>132.1	14	147.1>119.1	10
Pyrimethanil	9.264	198.1>183.1	14	198.1>118.1	28	198.1>158.1	18
Simazine	8.520	201.1>173.1	6	201.1>186.1	6	186.1>91.0	8
Spirodiclofen	17.066	312.0>109.0	20	312.0>259.0	12	312.0>277.0	6
trans-Chlordane	12.303	374.8>265.9	26	372.8>263.9	28	372.8>265.9	22
trans-Permethrine	17.160	183.1>153.1	14	163.1>127.1	6	183.1>168.1	14
Trifloxystrobin	14.377	222.1>190.1	4	222.1>130.1	12	222.1>162.1	10

Food Diary

	<p style="text-align: center;">UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE</p> <p style="text-align: center;">FACULDADE DE MEDICINA</p> <p style="text-align: center;">PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE</p>
<p>Consumption of organic food – aspects of a randomized clinical trial</p>	

Personal data

Name: _____

Date of birth: ___/___/_____ Sex: () Masculine () Feminine

Telephone: (____) _____

Email: _____

Guidelines for filling out the Food Diary

Is important:

- **Note specifically the extra FOOD and QUANTITY consumed;**

Examples: 1 slice of ham, 1 small slice of chocolate cake, 3 filled cookies, 1 large glass of soda

- **Note the MARK of the extra food consumed;**

Examples: Dona Benta chocolate cake (or homemade), Hobby stuffed wafer, Coca-Cola soda

- **Record the number of glasses of water ingested per shift;**

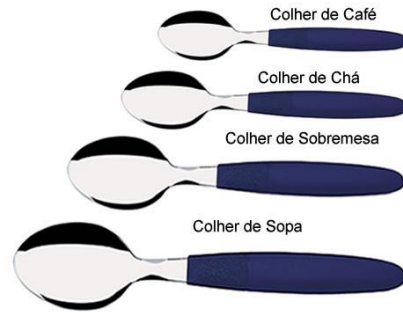
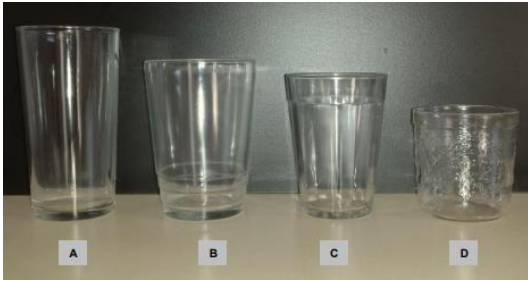
Example: 3 large glasses, 2 bottles (500 ml)

- **Record the consumption of SNACKS (FAST-FOOD) during the study period.**

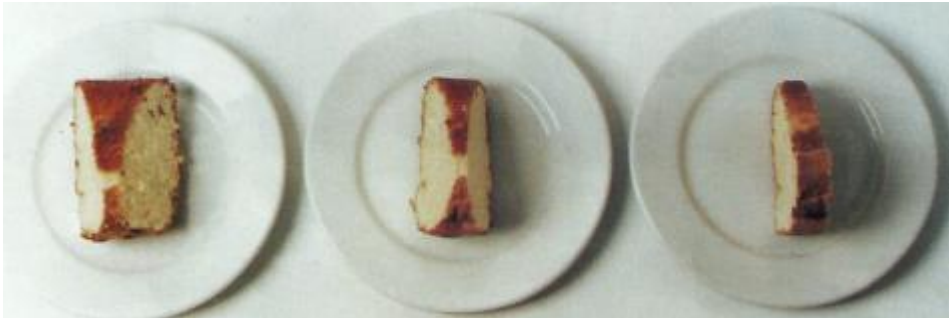
Example: 1 baurú filet, 1 McDonald's Double Block snack, 1 large fried chicken drumstick

Utensils and Food portions:

Cups A (250ml), B (278ml), C (150ml), D (150ml) Spoons



Small cake slice (60g) = 1 finger thick



Example of a complete Food Diary day:

Name:				
Date:				
Meals	Food	The amount	Brand	Water cups
Morning				500mL of water
Evening				Two bottles of water (500ml)

Night	Chicken Stroganoff with French Fries Beer	Two tablespoons of chicken; A tablespoon of potato chips; One beer	All food prepared at home; Polar beer (brand)	250mL of water
-------	---	--	---	-------------------

Food Diary

Name: _____				
Date: ___/___/___				
Meals	Food	The amount	Brand	Water cups
Morning				
Evening				
Night				

Comments: _____

References

- [1] W. Willett, J. Rockström, B. Loken, M. Springmann, T. Lang, S. Vermeulen, C.J.L. Murray, 2019. Food in the Anthropocene: the EAT–Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems. *The Lancet*. 393,447-492. doi:10.1016/s0140-6736(18)3
- [2] E.D. Caldas, A.N.O. Jardim, 2011. Exposure to toxic chemicals in the diet: Is the Brazilian population at risk? *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*. 22,1, 1–15. doi:10.1038/jes.2011.35
- [3] K.A.G Wyckhuys, A. Aebi, M.F.I.J. Bijleveld van Lexmond, C.R. Bojaca, J.M. Bonmatin, L. Furlan, Y. Ikenaka, 2020. Resolving the twin human and environmental health hazards of a plant-based diet. *Environment International*. 144, 106081. doi:10.1016/j.envint.2020.106081
- [4] C. Fortes, S. Mastroeni, M.A. Pilla, G. Antonelli, L. Lunghini, C. Aprea, 2013. The relation between dietary habits and urinary levels of 3-phenoxybenzoic acid, a pyrethroid metabolite. *Food Chem. Toxicol.: An Int. J. Published Br. Ind. Biol. Res. Assoc.* 52, 91–96.
- [5] J. Xue, V. Zartarian, R. Tornero-Velez, N.S. Tulse, 2014. EPA’s SHEDS-multimedia model: children’s cumulative pyrethroid exposure estimates and evaluation against NHANES biomarker data. *Environ. Int.* 73, 304–311.
- [6] IDEC. Instituto Brasileiro de Defesa do Consumidor. Tem veneno nesse pacote, 2021. Available:
<http://informe.ensp.fiocruz.br/assets/anexos/9fb55e7b72d612049064637e237a066e.PDF>
(accessed in: 5 Jan, 2022)
- [7] F.W. Gaspar, K.G. Harley K. Kogut, J. Chevrier, A.M. Mora, A. Sjödin, B. Eskenazi, 2015. Prenatal exposure to DDT and DDE and infant IQ in the CHAMACOS cohort. *Environ Int.* 85, 206-12. doi: 10.1016 / j.envint.2015.09.004.
- [8] R. Raanan, J.R. Balmes, K.G. Harley, R.B. Gunier, S. Magzamen, A. Bradman, B. Eskenazi, 2016. Decreased lung function in 7-year-olds with early exposure to organophosphates. *Chest*. 71, 2, 148-153. doi: 10.1136 / thoraxjnl-2014-206622.
- [9] J. Baudry, K.E. Assmann, M. Touvier, B. Allès, L. Seconda, P. Latino-Martel, K. Ezzedine, P. Galan, S. Hercberg, D. Lairon, 2018. Association of frequency of organic food consumption with cancer risk: Findings from the nutrinet-santé prospective cohort study. *JAMA Intern. Med.* 178, 1597–1606.
- [10] Y.H. Chiu, A.J. Gaskins, P.L. Williams, J. Mendiola, N. Jørgensen, H. Levine, R. Hauser, S.H. Swan, J.E Chavarro, 2016. Intake of Fruits and Vegetables with Low-to-Moderate Pesticide Residues Is Positively Associated with Semen-Quality Parameters among Young Healthy Men. *J Nutr.* 146,5,1084-1092. doi: 10.3945/jn.115.226563.

- [11] C. Hyland, A. Bradman, R. Gerona, S. Patton, I. Zakharevich, R.B. Gunier, K. Klein, 2019. Organic diet intervention significantly reduces urinary pesticide levels in U.S. children and adults. *Environmental Research*. 171, 568-575. doi:10.1016/j.envres.2019.01.024
- [12] J.M.G. Marques, M.V. Silva, 2021. Estimation of chronic food intake of pesticide residues. *Rev. Saúde Pública* 55,36. doi.org/10.11606/s1518-8787.2021055002197
- [13] IFOAM. Relatório Anual Consolidado da IFOAM-Organics International. IFOAM; Bonn, Alemanha: 2018. <https://www.ifoam.bio/about-us/annual-reports> (accessed in: 6 Jan, 2022)
- [14] V. Vigar, S. Myers, C. Oliver, J. Arellano, S. Robinson, C. Leifert, 2019. A Systematic Review of Organic Versus Conventional Food Consumption: Is There a Measurable Benefit on Human Health? *Nutrients*. 12,1, 7. doi:10.3390/nu12010007
- [15] H. Torjusen, A.L. Brantsæter, M. Haugen, J. Alexander, L.S. Bakketeig, G. Lieblein, H. Stigum, T. Næs, J. Swartz, G. Holmboe-Ottesen, 2014. Reduced risk of pre-eclampsia with organic vegetable consumption: Results from the prospective Norwegian Mother and Child Cohort Study. *BMJ Open*. 4, 4, 6143.
- [16] Y.H. Chiu, P.L. Williams, M.W. Gillman, A.J. Gaskins, L. Minguez-Alarcon, I. Souter, T.L. Toth, J.B. Ford, R. Hauser, J.E. Chavarro, 2018. Association between pesticide residue intake from consumption of fruits and vegetables and pregnancy outcomes among women undergoing infertility treatment with assisted reproductive technology. *JAMA Intern. Med.* 178, 17–26.
- [17] F. Stenius, J. Swartz, G. Lilja, M. Borres, M. Bottai, G. Pershagen, A. Scheynius, J. Alm, 2011. Lifestyle factors and sensitization in children-the ALADDIN birth cohort. *Allergy*. 66, 1330–1338.
- [18] K.E. Bradbury, A. Balkwill, E.A. Spencer, A.W. Roddam, G.K. Reeves, J. Green, T.J. Key, V. Beral, K. Pirie, 2014. Organic food consumption and the incidence of cancer in a large prospective study of women in the United Kingdom. *Br. J. Cancer*. 110, 2321–2326.
- [19] E. Kesse-Guyot, J. Baudry, K.E. Assmann, P. Galan, S. Hercberg, D. Lairon, 2017. Prospective association between consumption frequency of organic food and body weight change, risk of overweight or obesity: results from the NutriNet-Santé study. *Br J Nutr*. 117, 2, 325–334.
- [20] R.K. Juhler, S.B. Larsen, O. Meyer, N.D. Jensen, M. Spanò, A. Giwercman, J.P. Bonde, 1999. Human semen quality in relation to dietary pesticide exposure and organic diet. *Arch Environ Contam Toxicol*. 37, 3, 415-423.

- [21] M. Galván-Portillo, C. Jiménez-Gutiérrez, L. Torres-Sánchez, L. López-Carrillo, 2002. Food consumption and adipose tissue DDT levels in Mexican women. *Cad. saúde pública*. 18, 2, 447-452.
- [22] A. Kimata, T. Kondo, J. Ueyama, K. Yamamoto, M. Kamijima, K. Suzuki, T. Inoue, Y. Ito, 2009. Relationship between dietary habits and urinary concentrations of 3-phenoxybenzoic acid in a middle-aged and elderly general population in Japan. *Environ Health Prev Med*. 14, 3, 173-179. doi: 10.1007/s12199-009-0077-x.
- [23] T. Berman, R. Goldsmith, T. Goen, J. Spungen, L. Novack, H. Levine, Y. Amitai, T. Shohat, I. Grotto, 2013. Urinary concentrations of organophosphate pesticide metabolites in adults in Israel: demographic and dietary predictors. *Environ. Int.* 60, 183–189.
- [24] C. Fortes, S. Mastroeni, M.A. Pilla, G. Antonelli, L. Lunghini, C. Aprea, 2013. The relation between dietary habits and urinary levels of 3-phenoxybenzoic acid, a pyrethroid metabolite. *Food Chem Toxicol.* 2, 91-96.
- [25] W. McKelvey, J.B Jacobson, D. Kass, D.B. Barr, M. Davis, A.M. Calafat, K.M. Aldous, 2013. Population-based biomonitoring of exposure to organophosphate and pyrethroid pesticides in New York City. *Environ. Health Perspect.* 121, 11–12, 1349–1356.
- [26] C.L. Curl, S.A.A. Beresford, R.A. Fenske, A.L. Fitzpatrick, C. Lu. J. A. Nettleton, J.D. Kaufman, 2015. Estimating Pesticide Exposure from Dietary Intake and Organic Food Choices: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Environmental Health Perspectives.* 123, 5.
- [27] M. Ye, J. Beach, J.W. Martin, A. Senthilselvan, 2015. Associations between dietary factors and urinary concentrations of organophosphate and pyrethroid metabolites in a Canadian general population. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 218, 7, 616–626.
- [28] T. Berman, T. Göen, L. Novack, L. Beacher, L. Grinshpan, D. Segev, K. Tordjman, 2016. Urinary concentrations of organophosphate and carbamate pesticides in residents of a vegetarian community. *Environ Int.* 96, 34-40. doi: 10.1016/j.envint.2016.08.027.
- [29] Y.H. Chiu, A.J. Gaskins, P.L. Williams, J. Mendiola, N. Jorgensen, H. Levine, R. Hauser, S.H. Swan, J.E. Chavarro, 2016. Intake of Fruits and Vegetables with Low-to-Moderate Pesticide Residues Is Positively Associated with Semen-Quality Parameters among Young Healthy Men. *J Nutr.* 146, 5, 1084-1092. doi: 10.3945/jn.115.226563.
- [30] Y.H. Chiu, P.L. Williams, L. Minguez-Alarcon, M. Gillman, Q. Sun, M. Ospina, J.E. Chavarro, 2017. Comparison of questionnaire-based estimation of pesticide residue intake from fruits and vegetables with urinary concentrations of pesticide biomarkers. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 28, 1, 31–39. <https://doi.org/10.1038/jes.2017.22>.

- [31] E.C. Zabor A.M. Kaizer, B.P. Hobbs, 2020. Randomized Controlled Trials. *Chest*. 158, 1, 79-87. doi: 10.1016/j.chest.2020.03.013
- [32] N. Sharma, A.K. Srivastav, A.J. Samuel, 2020. Randomized clinical trial: gold standard of experimental designs - importance, advantages, disadvantages and prejudice. *Rev Pesqui Fisioter*. 10, 3, 512-519. doi: 10.17267/2238-2704rpf.v10i3.3039
- [33] B.A. Stracke, C.E. Rufer, A. Bub, S. Seifert, F.P. Weibel, C. Kunz, B. Watzl, 2010. No effect of the farming system (organic/conventional) on the bioavailability of apple (*Malus domestica* Bork, cultivar Golden Delicious) polyphenols in healthy men: A comparative study. *Eur. J. Nutr*. 49, 301–310.
- [34] A. De Lorenzo, A. Noce, M. Bigioni, V. Calabrese, D.G. Della Rocca, N. Di Daniele, C. Tozzo, L. Di Renzo, 2010. The effects of Italian Mediterranean organic diet (IMOD) on health status. *Curr. Pharm. Des*. 16, 814–824.
- [35] I.M. Toaldo, F.A. Cruz, E.L. da Silva, M.T. Bordignon-Luiz, 2016. Acute consumption of organic and conventional tropical grape juices (*Vitis labrusca* L.) increases antioxidants in plasma and erythrocytes, but not glucose and uric acid levels, in healthy individuals. *Nutr. Res*. 36, 808–817.
- [36] L. Oates, M. Cohen, L. Braun, A. Schembri, R. Taskova, 2014. Reduction in urinary organophosphate pesticide metabolites in adults after a week-long organic diet. *Environ. Res*. 132, 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.03.021>.
- [37] A. Bradman, L. Quirós-Alcalá, R. Castorina, R.A. Schall, J. Camacho, N.T. Holland, D.B. Barr, B. Eskenazi, 2015. Effect of organic diet intervention on pesticide exposures in young children living in low-income urban and agricultural communities. *Environ. Health Perspect*. 123, 1086–1093.
- [38] T. Goen, L. Schmidt, W. Lichtensteiger, M. Schlumpf, 2017. Efficiency control of dietary pesticide intake reduction by human biomonitoring. *Int. J. Hyg. Environ. Health*. 220, 254–260.
- [39] Institute of Medicine (US), 2005. Dietary Reference Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (macronutrients). Washington:National Academies Press. 1331. (accessed in 7 Jan, 2022)
- [40] J.L.O. Arias, C.B. Rocha, L. Kupski, S.C. Barbosa, E.G. Primel, 2021. Salting-Out Induced Liquid-Liquid Microextraction: an Environmentally Friendly Approach to Preservative Determination in Food Samples. *Food Analytical Methods*. doi.org/10.1007/s12161-021-01989-3
- [41] T.J. Lohman, A.F. Roache, R. Martorell, 1991. Anthropometric standardization reference manual. Champaign (IL): Human Kinetics Publishing House Books. 22.

- [42] C. Ritz, 2021. Statistical analysis of continuous outcomes from parallel-arm randomized controlled trials in nutrition-a tutorial. *Eur J Clin Nutr.* 75, 160–171. doi.org/10.1038/s41430-020-00750-z.
- [43] H. M. Staudacher, P.M. Irving, M.C.E. Lomer, K. Whelans, 2017. The challenges of control groups, placebos and blinding in clinical trials of dietary interventions. *Proceedings of the Nutrition Society.* 76, 04, 628.
- [44] C. Caris-Veyrat, M.J. Amiot, V. Tyssandier, D. Grasselly, M. Buret, M. Mikolajczak, J.C. Guillard, C. Bouteloup-Demange, P. Borel, 2004. Influence of organic versus conventional agricultural practice on the antioxidant microconstituent content of tomatoes and derived purees; consequences on antioxidant plasma status in humans. *J. Agric. Food Chem.* 52, 6503–6509.
- [45] C.L., Curl, J. Porter, I. Penwell, R. Phinney, M. Ospina, A.M. Calafat, 2019. Effect of a 24-week randomized trial of an organics intervention on exposure to pyrethroid and organophosphate pesticides among pregnant women. *Int Amb.* 132, 104957. doi: 10.1016/j.envint.2019.104957
- [46] Briviba, K.; Stracke, B.A.; Rufer, C.E.; Watzl, B.; Weibel, F.P.; Bub, A. Effect of consumption of organically and conventionally produced apples on antioxidant activity and DNA damage in humans. *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 7716–772
- [47] B.M. Pinto, S.I. Dunsiger, 2021. The many faces of recruitment in a randomized controlled trial. *Contemporary Clinical Trials.* 102, 106285. doi.org/10.1016/j.cct.2021.106285
- [48] C.M. Weaver, J.W. Miller, 2017. Challenges in conducting clinical nutrition research. *Nutrition Reviews,* 75,7, 491–499.
- [49] L. Duley, K. Antman, J. Arena, A. Avezum, M. Blumenthal, J. Bosch, 2008. Specific barriers to the conduct of randomized trials. *Clin Trials.* 5, 1, 40–48. doi: 10.1177/1740774507087704.
- [50] A.H. Lichtenstein, K. Petersen, K. Barger, K.E. Hansen, C.A.M. Anderson, D.J. Baer, N.R. Matthan, 2020. Perspective: Design and Conduct of Human Nutrition Randomized Controlled Trials. *Advances in Nutrition.* 12, 1, 4–20.

Manuscrito 2:

Parâmetros bioquímicos e dano e reparo de DNA em indivíduos consumindo dieta orgânica e convencional – um Ensaio Clínico Randomizado com enfoque em inseticidas

Resumo

Os inseticidas são um grupo de agrotóxicos amplamente utilizados em todo mundo para o controle de insetos nas plantações e para o controle de doenças por vetores na saúde pública. Assim, há uma necessidade de compreender a relação entre a exposição e os efeitos à saúde entre eles os bioquímicos e genéticos, logo o objetivo do presente estudo foi realizar um Ensaio Clínico Randomizado (ECR) para analisar os efeitos à saúde da exposição a dieta em adultos saudáveis. Realizamos um ECR duplo cego com 14 dias de intervenção com um grupo de consumidores de alimentos convencionais e um grupo de consumidores de alimentos orgânicos. Foram coletadas urina dos participantes para quantificação de inseticidas e sangue para avaliação de efeitos por marcadores bioquímicos e dano de DNA no início e no final da intervenção. Os 49 participantes do estudo estavam distribuídos de maneira homogênea entre os grupos convencional (n=25) e orgânico (n=24). Inicialmente, detectamos 24 inseticidas nos níveis urinários dos participantes e depois do período intervenção houve uma redução para ambos os grupos: convencional (66,2%) e orgânico (98,6%). Os inseticidas piretróides reduziram de 4,6µg/L para não níveis não detectáveis no grupo orgânico e aumentaram de 0,18µg/L para 0,34µg/L no grupo convencional. Após a intervenção, todos os marcadores bioquímicos estavam dentro dos limites estabelecidos como normais. O dano genético foi observado para ambos os grupos após a intervenção, e o percentual de reparo do dano ao DNA pelos mecanismos BER e NER foram significativamente maiores no grupo orgânico após a intervenção. Nossos dados sugerem que a exposição a inseticidas, principalmente os piretróides, podem ter associação com a dieta e que os alimentos orgânicos podem ter maior relação com os mecanismos de reparo de dano de DNA. É possível que esse efeito positivo resulte da quantidade reduzida de resíduos de inseticidas e o aumento da ingestão de metabólitos secundários de plantas que caracterizam os alimentos orgânicos.

Palavras chave: Ingestão dietética, segurança alimentar, agroquímicos, biomarcadores de curto prazo.

Introdução

Os agrotóxicos são um amplo grupo de produtos aplicados na agricultura para proteger as culturas do ataque de fungos, insetos e plantas concorrentes. Eles são vantajosos para a produção agrícola, pois tem objetivo de atacar pragas específicas. No entanto, é necessário que os resíduos de agrotóxicos em alimentos provenientes da plantação estejam abaixo do Limite Máximo de Resíduos (LMR) estabelecidos por órgãos responsáveis para cada país para serem considerados seguros para consumo (ANVISA, 2019; Comissão Europeia, 2022). Apesar do controle para resíduos de agrotóxicos, há um número significativo de amostras de culturas que contém níveis acima do LMR e consumidores de alimentos provenientes desse cultivo podem estar continuamente expostos (Oates et al., 2011; Ye et al., 2015). Os efeitos da exposição a agrotóxicos ainda são difíceis de interpretar devido a fatores interferentes como a meia-vida curta e a rápida excreção de alguns compostos (Barr, 2008), além de variação do estilo de vida (Vigar et al., 2019) ou hábitos alimentares (Baudry et al., 2021).

Os principais grupos de agrotóxicos estudados são herbicidas, fungicidas e inseticidas piretróides e organofosforados. Muitos estudos apontam gestantes e recém-nascidos como populações de risco (Bouchard et al., 2011; Engel et al., 2016; Van den Dries et al., 2018). No entanto, alguns efeitos também foram observados para outros indivíduos, como efeitos neurológicos, respiratórios, dermatológicos, digestivos e carcinogênicos (Nicolopoulou-Stamati et al., 2016; Kim et al., 2017). Além disso, a exposição a grandes quantidades de agrotóxicos tem sido documentada como fator que afeta o sistema endócrino (Mnif et al., 2011), causando problemas reprodutivos e efeitos adversos no desenvolvimento, e também resultando em distúrbios metabólicos (Casals-Casas et al., 2011).

A exposição a agrotóxicos pode diferir entre populações de países ao redor do mundo, particularmente entre países desenvolvidos e em desenvolvimento (Silverio et al., 2017; Hyland et al., 2019). O Brasil é atualmente o líder mundial na produção de alimentos à base de plantas para consumo humano e animal (da Silva et al., 2020). Logo, são comercializadas mais de 2.300 formulações de agrotóxicos, inclusive aquelas proibidas na União Europeia. O acefato é um exemplo de agrotóxicos banido pela União Europeia (2002) devido a preocupações com a exposição aguda de humanos e animais (Comissão Europeia: Saúde e Direção-Geral da Defesa do Consumidor, 2002). Além disso, existem registros de formulações de agrotóxicos com o mesmo princípio ativo classificadas em diferentes graus de perigo pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), agência de saúde responsável por promover a proteção as saúde da população (Brasil, 2022).

A alternativa ao modelo de produção de alimentos convencional é o consumo de produtos orgânicos. O uso de agrotóxicos sintéticos é proibido na produção de alimentos certificados como orgânicos, e o US Food Monitoring confirmou que os alimentos cultivados organicamente geralmente contêm menos resíduos de agrotóxicos do que os alimentos cultivados convencionalmente (USDA, 2011). Uma revisão sistemática comparando alimentos orgânicos com dados de composição de culturas convencionais, demonstraram que as culturas orgânicas são 4 vezes menos propensas a conter resíduos de agrotóxicos detectáveis do que as culturas convencionais (Smith-Spangler et al., 2012).

Estudos observacionais e experimentais de curto prazo mostraram que o consumo de uma dieta orgânica está associado a uma redução significativa nos níveis de alguns agrotóxicos, quando comparado ao consumo de uma dieta convencional (Lu et al., 2006; Oates et al. 2014; Bradman et al. 2015, Hyland et al., 2019). Além disso, apresentaram menores riscos para diferentes patologias associado ao consumo de alimentos orgânicos. Incluindo sobrepeso/obesidade (Kesse-Guyot et al., 2017), síndrome metabólica (Baudry et al., 2017) e câncer (Baudry et al., 2017). No entanto, embora a menor exposição a agrotóxicos na dieta tenha sido sugerida como um fator importante para esses resultados positivos de saúde, não há ensaios clínicos que confirme esses dados.

O enfoque deste estudo foram os agrotóxicos do grupo dos inseticidas devido as inúmeras aplicações e o uso crescente desse grupo na última década (Hurtado-Barroso et al., 2018). As classes químicas mais perigosas de inseticidas para saúde são os piretróides e os organofosforados. Os piretróides tem seu mecanismo de ação semelhante aos inseticidas organoclorados de geração anterior, conhecidos por impedir a abertura e fechamento dos canais de sódio em células nervosas de animais (Riederer et al., 2008). Além disso, são encontrados em muitas formulações utilizadas na agricultura para controlar insetos, na horticultura, em jardins e residências, em armazéns e edifícios públicos (Saillenfait et al., 2015). Outra classe de inseticidas importante são os organofosforados, pois apresentam toxicidade aguda em altas doses se ligando a enzimas que inibem a transmissão sináptica e essa associação resulta em piora da qualidade de parâmetros do sistema reprodutor masculino e no desenvolvimento neurológico em crianças (Mancintosh et al., 2001).

A exposição de inseticidas não ocupacional pode ocorrer mais frequentemente do que a aplicação direta em ambientes agrícolas ou profissionais (Alavanja et al., 2004). Não há muitos estudos que investigaram a relação entre o consumo dietético e os níveis urinários de inseticidas, mas os poucos existentes mostraram que há uma associação entre consumo e exposição. Os maiores níveis urinários de inseticidas foram associados com o maior consumo

de alimentos específicos, como vegetais, leguminosas e nozes. (Fortes et al., 2013; Ye et al., 2015). Assim, é importante estimar a quantidade de agrotóxicos ingerida via alimentos, pois assim é possível avaliar o risco real para a população. O objetivo do presente estudo foi realizar um Ensaio Clínico Randomizado (ECR) para analisar os efeitos à saúde da exposição pela dieta em adultos saudáveis.

Métodos

Desing do estudo

Trata-se de um ensaio clínico randomizado duplo-cego com intervenção de 14 dias realizado na Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, Brasil. A intervenção foi precedida por um período washout de sete dias, no qual os participantes receberam a mesma dieta convencional. O estudo foi realizado entre agosto e setembro de 2019, de acordo com as normas éticas propostas pela Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde, que regulamenta a pesquisa brasileira envolvendo seres humanos. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Saúde da Universidade Federal do Rio Grande e aprovado com o número de registro 55/2019 (CEPAS/FURG). O RCT foi registrado sob o número U1111-1232-5349.

Crítérios de inclusão e exclusão

Os critérios de elegibilidade do estudo incluíram: 1) homens e mulheres; 2) faixa etária entre 18 e 40 anos; 3) indivíduos saudáveis, ou seja, sem doenças crônicas não transmissíveis ou doenças autoimunes. Fumantes e mulheres que, mesmo dentro dos critérios de inclusão, estivessem grávidas ou amamentando foram excluídas do estudo. Além disso, foram excluídos das análises seguintes os indivíduos que não apresentaram um ou mais agrotóxicos nos níveis urinários.

Randomização dos participantes

Foi realizada randomização simples. Os nomes de todos os voluntários, com termo de consentimento informado previamente assinado, foram adicionados em planilha Excel em ordem alfabética e numerados de 1 a 148, o total de voluntários do ensaio clínico. Em seguida, a função aleatória do Excel foi escolhida para 0 e 1, onde 0 era o grupo convencional e 1 o grupo orgânico.

Ensaio Clínico

O Ensaio Clínico foi realizado no Restaurante Universitário do Campus Carreiros. As refeições eram ofertadas nos horários estipulados pela Universidade, café da manhã das 7h00 às 9h00, almoço das 11h00 às 14h00, jantar das 18h00 às 22h00. A dieta diária do ECR foi planejada em conjunto com a equipe de nutricionistas da Universidade. O cardápio e a quantidade de alimentos oferecidos nas dietas para ambos os grupos (convencional e orgânico) foram idênticos. No café da manhã foi oferecido café ou leite, pão com frios e uma porção de frutas, biscoitos ou bolos foram entregues para o lanche da tarde. No almoço e no jantar, o prato era composto por vegetais dos grupos A e B, arroz, feijão, um acompanhamento, uma porção de carne e 2 ovos ou proteína vegetal. A ingestão diária por refeição de gorduras, carboidratos e proteínas para cada refeição respeitou a ingestão alimentar de referência (Dietary Reference Intakes – US, 2005). Porções individuais foram entregues aos participantes de acordo com o consumo energético estimado. Os alimentos oriundos do cultivo convencional foram fornecidos pela Universidade, e os alimentos oriundos do cultivo orgânico foram fornecidos pela Korin e outras empresas de alimentos orgânicos com selo de certificação. Frutas e hortaliças orgânicas foram obtidas diariamente por agricultores locais com selo de certificação orgânica.

Os alimentos utilizados no preparo das refeições eram armazenados na cozinha do restaurante universitário. Os demais alimentos oferecidos para consumo diário, como ervamate, pipoca, biscoitos e bolos, eram reembalados diariamente em envelopes de papel pardo e identificados na parte externa com o número de randomização do participante. Os participantes foram incentivados a não consumir alimentos e bebidas que não fossem ofertados pelos pesquisadores. Além disso, um diário alimentar foi fornecido para descrever a ingestão diária de líquidos e qualquer alimento e bebida extra que fosse consumido no período do ECR.

Coleta de sangue

A amostra de sangue foi coletada e imediatamente centrifugada por 10 minutos a 3000rpm em centrífuga Sigma para obtenção do plasma e levada ao ultrafreezer a -80°C até o momento da análise. Os indicadores hepáticos (Transaminase Glutâmico-Oxalacética, Transaminase Glutâmico-Pirúvica), indicadores de proteína (creatinina) foram avaliados com kits Labtest e danos genéticos por meio do Ensaio Cometa. O ensaio do cometa foi realizado logo após a coleta das amostras de sangue essencialmente como descrito por Singh et al. (1988), com algumas modificações. As lâminas foram analisadas por microscopia de fluorescência onde 100 células por indivíduo foram fotografadas e então medidas pelo software de imagem ImageJ (NIH). Todas as amostras foram realizadas em duplicata, e os resultados apresentados

em percentual de dano ao DNA. O reparo por excisão de base (BER) foi avaliado seguindo o procedimento de Fairbairn e O'Neill (1994). Para o reparo por excisão de nucleotídeos (NER) foi utilizada a metodologia de Zheng et al (2005). Após o tempo de incubação de ambos os procedimentos de reparo (BER e NER), os passos seguem os mesmos realizados para o ensaio do cometa.

Coleta de urina

Para coleta de urina, os participantes receberam um coletor universal, recipiente plástico estéril. As amostras foram transferidas do coletor universal para tubos Falcon e armazenadas a -80°C em ultracongeladores. As amostras foram analisadas para biomarcadores e metabólitos de agrotóxicos no métodos que combina uma etapa de extração por Microextração Líquido-Líquido Induzida por Salting-Out (SILLME) e determinação por Cromatografia Gasosa em Espectrometria de Massa (GC-MS/MS). As condições de extração foram adaptados de um método anterior desenvolvido por ARIAS et al (2021).

Análise estatística

As variáveis foram analisadas quantitativamente por meio do software IBM SPSS Statistics, versão 28.0.0.0, onde foram calculadas estatísticas descritivas, como frequências absoluta (n) e relativa (%) e os grupos convencional e orgânico foram comparados pelo teste exato de Fisher para as variáveis: idade, sexo e tipo de dieta. As análises dos marcadores bioquímicos (creatinina, TGO e TGP) e dano e reparo de DNA foram submetidas à análise de normalidade e as variáveis apresentaram distribuição assimétrica. Os testes não paramétricos de Wilcoxon foram realizados para comparar medidas repetidas e o teste de Mann-Whitney para amostras independentes a 5% de probabilidade.

Resultados

Foram descritos neste estudo os dados referente aos participantes com níveis quantificáveis de agrotóxicos na urina. A descrição completa dos 49 indivíduos está na Tabela 1. A idade e o tipo de dieta diferiram significativamente, sendo a faixa etária entre 21-29 com maior percentual para o grupo orgânico (36,7%) e para o grupo convencional (28,6%). O tipo de dieta para 89,8% dos participantes foi a onívora (convencional = 50% e orgânico = 38,8%) e apenas 10,2% dos indivíduos do grupo orgânico optaram pela dieta vegetariana.

Os níveis de resíduos e metabólitos de inseticidas quantificáveis na urina para ambos os grupos apresentaram redução após a intervenção. Porém, o grupo orgânico apresentou redução

nos níveis de agrotóxicos de 98,6% e o grupo convencional de 66,2% (Tabela 2). Dos 24 inseticidas detectados no grupo orgânico, apenas três foram detectados após a intervenção (aldrin, fipronil e mirex) e no grupo convencional os metabólitos encontrados ao final da intervenção foram Fenotrina-1 e Fenotrina-2. O grupo dos inseticidas piretróides reduziram de 4,6µg/L para níveis não detectáveis no grupo orgânico e aumentaram de 0,18µg/L para 0,34µg/L no grupo convencional. Enquanto os organofosforados foram detectados apenas no início do estudo para ambos os grupos.

Os alimentos convencionais ofertados durante o período de intervenção apresentaram o dobro de agrotóxicos nas amostras comparado aos alimentos orgânicos (Figura 1), sendo que o agrotóxico mais detectado entre as amostras foi o pirimifós-metílico. O arroz integral e a banana, ambos de cultivo convencional, foram os alimentos com maior número de agrotóxicos. No entanto, os níveis de detecção de agrotóxicos nos alimentos estão abaixo dos limites de Ingestão Diária Aceitável (IDA) e do LMR. A farinha de trigo convencional (0,251mg/kg p.c) é o único alimento que IDA está acima do permitido (0,03 mg/kg p.c), mas abaixo do LMR (5,0mg/kg). Além disso, foram detectados onze agrotóxicos na água, sendo cinco desses <LOQ (Limite de Quantificação) (Tabela Suplementar 2).

Nos resultados de marcadores de efeito observamos que todos os parâmetros bioquímicos analisados estavam em conformidade com os valores de referência. Em especial, TGO (Transaminase Oxalacética) e TGP (Transaminase Pirúvica) apresentaram diferença estatística para o grupo orgânico inicial e final comparado ao grupo convencional (Tabela 3). Na análise do Ensaio Cometa, o percentual de dano de DNA final foi estatisticamente maior que o inicial em ambos os grupos. O percentual de reparo de dano do DNA por BER e NER foram maiores no grupo orgânico final comparado ao grupo convencional final (Tabela 4).

Tabela 1. Características da população estudada, Brasil (n=49).

Variáveis	Grupo Convencional (n= 25)		Grupo Orgânico (n=24)		Total		p-valor
	n	%	n	%	n	%	
Sexo							p=0,910
Homens	5	10,2	10	20,4	15	30,6	
Mulheres	20	40,8	14	28,6	34	69,4	
Idade							p<0,022*
≤ 20	9	18,4	5	10,2	14	28,6	
21 - 29	14	28,6	18	36,7	32	65,3	
≥ 30	2	4,1	1	2,0	3	6,1	
Tipo de Dieta							p<0,049*
Onívora	25	51	19	38,8	44	89,8	
Vegetariana	0	0	5	10,2	5	10,2	

* valor p significativo pelo teste exato de Fisher ($p \leq 0,05$).

Tabela 2. Resíduos de inseticidas e metabólitos, separados por classificação química, monitorados na urina antes e após a intervenção (Grupo Orgânico=24; Grupo Convencional = 25).

Inseticidas (µg/L)	Grupo Orgânico (Pré-teste)	Grupo Orgânico (Pós-teste)	Pré-teste Pós-teste*	Grupo Convencional (Pré-teste) – (Pós-teste)	Grupo Convencional (Pós-teste)	Pré-teste – Pós-teste*
<i>Piretróides</i>						
Fenotrina-1	3,00	<LOD	3,00	<LOD	0,16	-0,16
Fenotrina-2	0,02	<LOD	0,02	<LOD	0,18	-0,18
Lambda-Cialotrina	0,10	<LOD	0,10	0,18	<LOD	0,18
trans-Permetrina	0,11	<LOD	0,11			
Ciflutrina-1	0,06	<LOD	0,06			
Ciflutrina-2	0,06	<LOD	0,06			
Ciflutrina-3	0,07	<LOD	0,07			
Ciflutrina-4	0,08	<LOD	0,08			
Cipermetrina-1	0,11	<LOD	0,11			
Cipermetrina-2	0,20	<LOD	0,20			
Cipermetrina-3	0,11	<LOD	0,11			
Cipermetrina-4	0,28	<LOD	0,28			
Fenvalerato-1	0,08	<LOD	0,08			

Deltametrina-1

(Tralometrin deg.- 0,10 <LOD 0,10
1)

Deltametrina-2

(Tralometrin deg.- 0,15 <LOD 0,15
2)

Organofosforados

Etoprofós	0,04	<LOD	0,04			
Etrimfos	0,32	<LOD	0,32	0,01	<LOD	0,01
Metidationa	0,04	<LOD	0,04	0,08	<LOD	0,08
Fosmete	1,00	<LOD	1,00	0,75	<LOD	0,75

Organoclorados

Aldrin	0,02	0,05	-0,03
p,p'-DDT	0,03	<LOD	0,03

Pirazol

Fipronil	<LOD	0,001	-0,004
----------	------	-------	--------

Sulfonamidas

Mirex	0,06	0,01	0,04
-------	------	------	------

Piridazinona

Piridabem	0,06	<LOD	0,06
-----------	------	------	------

Total inseticidas	6,22	0,08	6,14	1,03	0,34	0,68
--------------------------	-------------	-------------	-------------	-------------	-------------	-------------

* Pré-teste – Pós-teste = níveis de inseticidas detectados antes da intervenção subtraído dos níveis de inseticidas detectados após a intervenção

LOD: Limite de Detecção

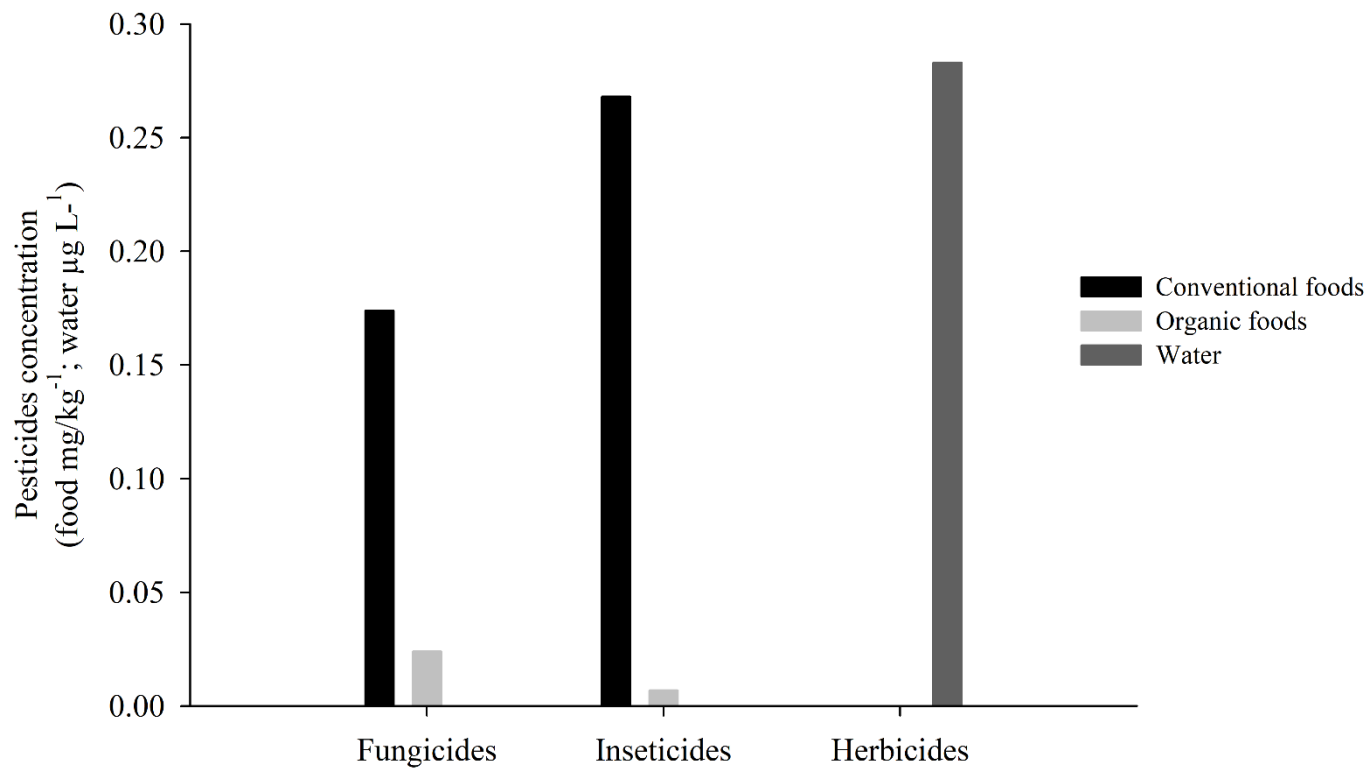


Figura 1. Detecção de agrotóxicos em alimentos e água agrupados por classe agronômica.

Tabela 3. Efeito do consumo de alimentos convencionais comparados intragrupo e intergrupo aos alimentos sobre marcadores bioquímicos (n=49), Brasil.

Marcadores	Comparações				
	Entre grupos			Intragrupos	
	Grupo Convencional	Grupo Orgânico	p-valor ^a	Grupo Convencional p-valor ^b	Grupo Orgânico p-valor ^b
Creatinina					
<i>Pré-teste</i>	1,00 (0,2)	0,90 (0.9)	0,333	0,285	0,257
<i>Pós-teste</i>	1,00 (0,2)	0,90 (0.3)	0,343		
TGO					
<i>Pré-teste</i>	18,00 (9)	23,00 (12)	0,036	1,000	1,000
<i>Pós-teste</i>	18 (9)	23 (12)	0,046		
TGP					
<i>Pré-teste</i>	18 (11)	24,00 (11)	0,036	0,131	0,122
<i>Pós-teste</i>	18 (9)	24,00 (11)	0,050		

^aTeste de Mann-Whitney para amostras independentes (p≤0,05)

^bTeste de Wilcoxon foi realizado para comparar medidas repetidas (p≤0,05)

Tabela 4. Efeito do consumo de dieta convencional e orgânica no dano ao DNA e capacidade de reparo por NER e BER (n=49), Brasil.

Marcadores	Comparações				
	Entre grupos			Intragrupos	
	Grupo Convencional	Grupo Orgânico	p-valor ^a	Grupo Convencional p-valor ^b	Grupo Orgânico p-valor ^b
<hr/>					
% dano de DNA					
<i>Pré-teste</i>	1,68 (0,8)	1,64 (0,5)	0,567	<0,001	<0,001
<i>Pós-teste</i>	2,32 (0,9)	2,64 (0,9)	0,771		
<hr/>					
% reparo de DNA (NER)					
<i>Pré-teste</i>	95,46 (7,4)	96,55 (4,7)	0,493	<0,001	<0,001
<i>Pós-teste</i>	91,97 (11,6)	94,12 (14,7)	0,043		
<hr/>					
% reparo de DNA (BER)					
<i>Pré-teste</i>	92,33 (13,5)	93,26 (10,1)	0,317	0,003	0,013
<i>Pós-teste</i>	95,46 (7,73)	97,29 (7,9)	0,046		

^aTeste de Mann-Whitney para amostras independentes (p≤0,05)

^bTeste de Wilcoxon foi realizado para comparar medidas repetidas (p≤0,05)

Discussão

Os dados do ECR mostraram uma exposição a agrotóxicos para os participantes de dieta convencional e orgânica. Detectamos 24 inseticidas na urina entre os participantes dos dois grupos e a classe química dos inseticidas predominante foi a dos piretróides (15) e organofosforados (4). Os principais inseticidas detectados em ambos os grupos foram Fenotrina-1, Fosmete, Etrimfos e Lambda-Cialotrina (Tabela 2). A exposição aos agrotóxicos durante o período de intervenção foi capaz de revelar uma redução nos níveis urinários do grupo convencional (66,2%) e uma redução ainda maior de inseticidas para o grupo orgânico (98,6%). Antes da intervenção, todos os inseticidas foram encontrados em níveis urinários quantificáveis nos participantes do grupo orgânico e apenas três (aldrin, fipronil e mirex) foram quantificados após a intervenção do ECR (Tabela 2). No total, foram detectados níveis urinários de aldrin e mirex em dois consumidores orgânicos e investigamos os diários alimentares dos voluntários para elucidar a origem desses agrotóxicos ao final da intervenção. Não foram encontradas semelhanças em alimentos extras consumidos que possam explicar esses resultados.

É possível que os participantes do grupo orgânico possam ter consumido alimentos com resíduos de inseticidas nos dias que antecederam a realização da coleta de urina final sem mencionar no diário alimentar ou podem ser provenientes por outra via de exposição que não a alimentar. O grupo dos organofosforados apresentam meia-vida curta entre 24 e 36 horas e a dos piretróides até três dias (Balalian et al., 2020). Os níveis dos metabólitos originais ou produtos químicos em amostras de urina de 24 horas são considerados o padrão ouro para avaliar exposição diária a agrotóxicos e outros produtos químicos ambientais que são excretados na urina (Lermen et al., 2019). A detecção de compostos em níveis urinários é uma maneira de medir os níveis de agrotóxicos em todas as vias de exposição e é uma parte importante da avaliação das regulamentações e restrições de agrotóxicos existentes (Aylward et al., 2015; Granzleben et al., 2017).

No entanto, não há valores urinários de referência para a exposição humana de inseticidas e nem legislação regulamentadora para comparar esses valores no Brasil. Além disso, são escassos os dados sobre os valores de referência para inseticidas em órgãos e agências toxicológicas no mundo, os dados existentes relatam metabólitos na urina, mas esses metabólitos podem ser produtos de diversos inseticidas (Ravula et al., 2021). Estudos de biomonitoramento mostraram que as concentrações urinárias totais de inseticidas encontradas no presente estudo são semelhantes/inferiores aos valores já reportados na literatura (Leng et al., 2005; Leng et al., 2006; Fortes et al., 2013; Ye et al., 2015; Morgan et al., 2016; Baudry et al., 2018). Os níveis urinários totais de piretróides detectados para o grupo de dieta orgânica no

início deste estudo foi de 4,6µg/L e após a intervenção não foram detectados piretróides neste grupo. No grupo convencional, após o período de intervenção os níveis de piretróides aumentaram de 0,18µg/L para 0,34µg/L. Rempelos et al. (2022) com 2 semanas de intervenção em Ensaio Clínico, também observaram aumento nos níveis de piretróides de 2,0 para 4.5 µg/L para o grupo convencional. Além disso, a literatura aponta o 3-phenoxybenzoic acid (3-PBA) como principal metabólito dos piretróides, com níveis urinários detectáveis de até 3,99µg/L (Morgan et al., 2016). Alguns piretróides precursores desse metabólito são phenothrin-1, phenothrin-2 e Lambda-Cyhalothrin (Leng et al., 2005; Leng et al., 2006; Morgan et al., 2016), detectados neste estudo com níveis inferior a semelhante dos já encontrados na literatura (0,3 a 3,0µg/L). O grupo dos organofosforados foram detectados apenas no início do estudo para ambos os grupos (0,8µg/L no grupo convencional e 1,4µg/L no grupo orgânico) e o subproduto comum do metabolismo da maioria dos organofosforados são os dialquilfosfato (DAPs) (Curl et al., 2015). Níveis desses metabólitos que já foram reportados na literatura apresentados na Tabela Suplementar 1 são notavelmente superiores ao encontrado neste estudo antes da intervenção (Ye et al., 2015; Holme et al., 2016; Simaremare et al., 2019).

A adesão à dieta proposta pelo ECR pode ter associação com a diminuição dos contaminantes em ambos os grupos. A dieta ofertada durante o período de intervenção foi calculada e planejada para que todos os macro e micronutrientes diários necessários fossem alcançados, baseada em alimentos sazonais, *in natura* e minimamente processados. Diferentemente de outros padrões de dieta, como a dieta ocidental que é caracterizada pela alta ingestão de alimentos processados, carboidratos refinados, adição de açúcar, sódio e baixa ingestão de frutas, vegetais e grãos integrais (Varlamov, 2017). Ainda que não existam recomendações de padrões alimentares que promovam a redução nos níveis de agrotóxicos, a dieta planejada com produtos naturais e com restrição de alimentos processados pode ter relação com a exposição a agrotóxicos pelo tipo de alimento consumido (Brazilian Institute for Consumer Protection, 2020). Estudos realizados comparando o tipo de dieta apresentaram associação com níveis urinários de agrotóxicos, como a dieta mediterrânea (Rempelos et al., 2022) e a dieta vegetariana (Baudry et al., 2021; Bernan et al., 2016), ambas ricas em alimentos *in natura*, como frutas e hortaliças, com baixo consumo de carnes e minimamente processados.

A ingestão dietética de resíduos de agrotóxicos varia substancialmente entre os grupos de alimentos e produtos individuais. Neste estudo, observamos que os alimentos convencionais apresentaram mais agrotóxicos comparado aos alimentos orgânicos. Todos os ingredientes ativos encontrados nos alimentos deste ECR são avaliados pelo Programa de Análises de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos da ANVISA no Brasil e foram detectados em uma ou

mais amostra no último relatório do Programa em 2019. Em especial, o imacloprido, carbendazim, acetamiprido e tebuconazol encontrados nas amostras deste estudo estão entre os ingredientes ativos mais detectados nos alimentos do PARA. Além disso, foram detectados 11 ingredientes ativos na água que foi utilizada nesse estudo para lavagem e preparo dos alimentos. É importante ressaltar que todos os alimentos, convencionais ou orgânicos, do grupo das frutas e hortaliças eram submetidos a lavagem diária em água corrente, depois submetidos a lavagem com hipoclorito de sódio (2 - 2,5%) por 10 minutos e novamente eram submetidos a lavagem em água corrente (ANVISA, 2014). Ainda assim, todos os alimentos e a água do ECR estavam dentro do LMR permitidos em legislações vigentes.

Algumas técnicas podem reduzir os resíduos de agrotóxicos nos alimentos, como a limpeza e a lavagem corretas ou a retirada de cascas, além dos métodos como o branqueamento, cozimento e a pasteurização dos alimentos (Kaushik, Satya e Naik 2009; Zhao et al. 2014). Wanwimolruk et al (2015) observaram que ao lavar os vegetais em água corrente por 2 minutos, reduz os níveis de profenofós nos vegetais em aproximadamente 55%, enquanto a lavagem com vinagre é mais eficaz para a redução da cipermetrina, Além disso, fatores importantes para a remoção de resíduos é o modo de ação de cada agrotóxico, a localização do resíduo no alimento, o período de imersão em soluções, a solubilidade e a temperatura em que o alimento ser submetido durante o processo (Yigi et al., 2019).

Os alimentos podem ser contaminados por agrotóxicos durante a produção, transporte, armazenamento ou até mesmo com a água própria para consumo humano. Mas, é importante ressaltar que escolhas e grupos de alimentares isolados também devem ser analisadas, pois alguns alimentos podem ter um impacto maior nos níveis de exposição e efeitos à saúde pela suscetibilidade individual (Riederer et al., 2008). Neste estudo, avaliamos o efeito do consumo da dieta com alimentos convencionais e orgânicos em relação a marcadores bioquímicos e notamos que creatinina, TGO e TGP estavam dentro dos valores estabelecidos como normais para ambos os grupos.

A composição e a fonte da dieta também podem influenciar na geração de dano oxidativo ao DNA (Del Bo et al. 2019). Neste sentido, os alimentos orgânicos são potencialmente mais saudáveis devido a maiores quantidades de fitoquímicos protetores e níveis mais baixos de agrotóxicos e fertilizantes (Briviba et al. 2007). Alguns desses fitoquímicos são conhecidos pela atividade antioxidante e auxílio ao mecanismo de reparo do DNA (Chakraborty et al. 2004), enquanto que agrotóxicos pesticidas e fertilizantes são reconhecidos por possuírem efeitos genotóxicos (Bolognesi 2003; Bull et al. 2006).

A avaliação no dano de DNA observada após a intervenção com dieta convencional *versus* orgânica nos permitiu identificar dois principais achados: (a) uma elevação no nível de dano no final do experimento para ambas as dietas; e (b) uma melhora em ambos os mecanismos de reparo estudados para a dieta orgânica. Isso pode ser explicado pelos mecanismos adaptativos e protetores que podem ser estimulados ao longo do tempo por exposição a baixas doses de algum agente genotóxicos que podem prevenir a ocorrência de mutações nas células, conhecido como a teoria da hormese. A alteração repentina da dieta a qual os indivíduos estavam acostumados pode ter gerado um efeito metabólico estressor e que eventualmente levou a um aumento no nível de dano genético dos participantes. É importante salientar que o dano ao DNA medido pelo ensaio cometa são anormalidades em que o DNA humano está continuamente exposto como danos de agentes ambientais, produtos genotóxicos ingeridos na alimentação, o componente UV da luz solar, produtos do metabolismo celular e a degradação química espontânea das bases no DNA (Milic et al. 2021).

Para lidar com isso nosso organismo desenvolveu mecanismos de reparo que podem atuar nos diferentes tipos de danos gerados (Lindahl and Wood 1999; Hoeijakers 2001). Dentre esses mecanismos dois merecem atenção especial por atuarem em danos possivelmente gerados pela dieta, o reparo por excisão de base (BER) e o reparo por excisão de nucleotídeos (NER). O BER atua na reparação de danos ao DNA causados devido a oxidação por espécies reativas de oxigênio, desaminação e hidroxilação decorrentes do metabolismo celular e depurinação espontânea (Hoeijakers 2001). O NER remove lesões que causam distorção estrutural da hélice de DNA, exemplos incluem a formação de dímeros de pirimidina após exposição a UV e grandes adutos de hidrocarbonetos de DNA, como aqueles derivados da alimentação e do hábito de fumar (Friso and Choi 2002).

Em nosso estudo, a dieta orgânica apresentou um aumento significativo em ambas as capacidades de reparo de dano ao DNA (BER e NER) comparada a dieta convencional, tendo um aumento mais expressivo no mecanismo de reparo por excisão de base. Presume-se que esse achado decorreu de duas vertentes principais, a presença de compostos característicos nesse tipo de dieta, as quais podem possuir em sua composição elevados níveis de antioxidantes que podem proteger o DNA e também induzir o reparo do DNA (Chakraborty et al. 2004; Ramos et al. 2011; Mohanta et al. 2014), e ausência ou diminuição na incidência de pesticidas nesse tipo de alimentação, os quais são reconhecidos por possuírem representantes genotóxicos e que possuem a capacidade de afetar o sistema de reparo genético dos organismos (Bolognesi 2003; Bull et al. 2006; Kaur and Kaur 2018).

Apesar dos achados inéditos, algumas limitações devem ser descritas em nosso estudo. A dieta ofertada durante o período de intervenção foi programada para atender entre 80-100% do consumo calórico diário dos participantes, mas não tínhamos como controlar os alimentos extra consumidos durante o período de estudo, ainda que registrados em diário alimentar. Assim como não temos a precisão da extensão de outras fontes de exposição, como a ocupacional ou a domiciliar. Outra importante limitação é a água utilizada para lavagem e cozimento de todos os alimentos. É possível que essa tenha sido uma fonte de contaminação a resíduos de pesticidas para o grupo orgânico. Além disso, não quantificamos um dos principais metabólitos do grupo dos piretróides o 3-PBA e os seis metabólitos DAPs mais comuns para organofosforados: dimetil fosfato, dietil fosfato, dimetil tiofosfato, dimetil ditiofosfato, dietil tiofosfato e dietil ditiofosfato. Deve-se notar também que, diante da maioria das frações de pesticidas aqui estudadas estes não foram os mais consumidos para agricultura convencional, e as diferenças na exposição geral a pesticidas entre os dois grupos de consumidores são provavelmente subestimados.

Conclusões

Nossos achados mostraram que indivíduos com dieta predominantemente de alimentos convencionais apresentaram maiores níveis urinários de inseticidas piretróides. Além disso, sugerem que o consumo de alimentos orgânicos tem associação com biomarcadores de exposição através de menores níveis urinários e com marcadores de efeito através do aumento dos mecanismos de reparo ao dano de DNA. No entanto, pesquisas clínicas que avaliem outras fontes de exposição são necessárias para que possamos determinar com precisão a representatividade da dieta nos efeitos à saúde. Além disso, recomendamos estudos com outras classes de agrotóxicos associado ao consumo de alimentos e os níveis de metabólitos na urina.

Material Suplementar

Tabela S1. Principais metabólitos de piretróides e organofosforados detectados e valores de referência encontrados na literatura.

Agritóxicos	Principais metabólitos	Valor de referência (µg/L)	Referências
<i>Piretróides</i>			
Phenotrin-1, Phenotrin-2, LambdaCyhalothrin, trans- Permethrin, Cypermethrin-1, Cypermethrin-2, Cypermethrin-3, Cypermethrin-4, Deltamethrin-1 (Tralomethrin deg.-1), Deltamethrin-2 (Tralomethrin deg.-2)	3-PBA	0,83±3,99	Morgan et al (2016)
		0,26 - 3,06	Leng et al (2006)
		8,85 ± 1,17	Simaremare et al (2019)
trans-Permethrin, Cypermethrin-1, Cypermethrin-2, Cypermethrin-3, Cypermethrin-4	trans-DCCA	0,17 – 3,35	Leng et al (2005)
		19,25 ± 3,38	Simaremare et al (2019)
Cyfluthrin-1, Cyfluthrin-2, Cyfluthrin-3, Cyfluthrin-4	cis-DCCA	0,05 – 2,33	Leng et al (2006)
Cypermethrin-1, Cypermethrin-2, Cypermethrin-3, Cypermethrin-4		4,93 ± 1,81	Simaremare et al (2019)

Fenvalerate-1

Organofosforados

	DEP, DETP, DEDTP, DMP,	DEP: 2,05 ± 2,11, DETP: 7,53 ±	Simaremare et al (2019)
Ethoprophos,	Etrymphos,	DMTP, DMDTP	1,71, DEDTP: 3,25 ± 1,16, DMP:
Metidathione, Phosmet			8,02 ± 4,49, DMTP: 3,91 ± 0,83,
			DMDTP: 4,49 ± 0,77

3-PBA: ácido 3-fenoxibenzóic, trans-DCCA: Ácido trans-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico, cis-DCCA: ácido cis-trans-permétrico, DEP: dietil fosfato; DETP: dietil ditiofosfato; DEDTP: dimetil ditiofosfato; DMP: dimetilfosfato; DMTP: dimetiltiofosfato; DMDTP: dimetil ditiofosfato

Tabela S2. Quantificação de agrotóxicos em alimentos convencionais e orgânicos utilizados no RCT e respectivos limites de ADI.

Agrotóxicos	Alimentos										LMR (mg/kg)*	IDA (mg/kg p.c./dia)*	
	Arroz integral (O)	Arroz integral (C)	Farinha de trigo (C)	Grão de bico (C)	de Banana (O)	Banana (C)	Ovos fritos (O)	Ovos fritos (C)	Laranja (C)				
<i>Fungicidas</i>													
Fenarimol	0,012											0,05	0,01
Epoxiconazol		<LOQ				0,003						0,01	0,003
Tebuconazol		0,003										1.0	0,03
Carbendazim					0,012	0,14				0,028		0,5	0,02
<i>Inseticidas</i>													
Acetamiprid		0,005										0,3	0,02
Pyrimiphos- methyl		0,003	0,251	<LOQ				0,004	0,003			5	0,03
Imidacloprid						0,006						0,1	0,05
Mecarbam	0,003												

O: Orgânico; C: Convencional; LMR: Limite Máximo de Resíduo; IDA: Ingestão Diária Aceitável

* Reference values for authorized monographs - Anvisa (2022)

Tabela S3. Quantidades máximas permitidas de resíduos de ingredientes ativos na água para consumo humano.

Agrotóxicos	Água ($\mu\text{g/L}^{-1}$)	VMP ($\mu\text{g/L}$)	Referência
<i>Fungicidas</i>			
Ciproconazol	<LOQ	30	Portaria n° 888,2021
Flutriafol	0.021	30	Portaria n° 888,2021
Picoxistrobina	<LOQ	258	Portaria n° 320/2014
Triciclazol	<LOQ	180	Portaria n° 320/2014
<i>Herbicidas</i>			
2,4D	0,054	30	Portaria n° 888,2021
Atrazina	<LOQ	2.0	Portaria n° 888,2021
Clomazone	0,022	36	FIOCRUZ, 2020
Imazetapir	<LOQ	1500	Portaria n° 320/2014
Quinclorac	0,152	-	-
Saflufenacil	0,034	-	-
<i>Inseticidas</i>			
Profenofos	<LOQ	0.3	ANVISA, 2022

VMP: Valor Máximo Permitido; LOQ: Limite de Quantificação

Referências Material Supplementa

ANVISA – Agência de Vigilância Sanitária. Monografias autorizadas – Ingrediente Ativo. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias>

FIOCRUZ - Fundação Oswaldo Cruz. Presença de agrotóxicos em água potável no Brasil: Parecer técnico do GT de Agrotóxicos da Fiocruz para a Revisão do Anexo XX da Portaria de Consolidação nº 05, de 28 de setembro de 2017 do Ministério da Saúde, para o parâmetro “agrotóxicos”. Disponível em: file:///C:/Users/SSD/Downloads/recomendacoes_cp_fiocruz_revisao_portaria_agua_versao_final_2020.pdf

Ministério da Saúde. Portaria nº888, 4 de maio de 2021. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/portaria-gm/ms-n-888-de-4-de-maio-de-2021-318461562>

Portaria nº 320, 28 de abril de 2014. Disponível em: <file:///C:/Users/SSD/Downloads/11110603-portaria-agrotoxicos-n-320-de-28-de-abril-de-2014.pdf>

Referências

Alavanja, M.C.; Hoppin, J.A.; Kamel, F. Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. **Annu Rev Public Health**, v. 25, p:155–197, 2004.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Cuidado com os alimentos para consumo humano. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/folder/cuidado_alimentos_consumo_humano_2014.pdf Acesso do em: 21 de fevereiro de 2022.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). Relatório de amostras analisadas no período 2017-2018. Primeiro ciclo do Plano Plurianual 2017-2020. Brasília, 10 dezembro, 2019. Disponível em:

Arias, J.L.O.; Rocha, C.B.; Kupski, L.; Barbosa, S.C.; Primel, E.G. Salting-Out Induced Liquid-Liquid Microextraction: an Environmentally Friendly Approach to Preservative Determination in Food Samples. **Food Analytical Methods**, 2021.

Aylward, L.L.; Hays, S.M. Interpreting biomonitoring data for 2,4-dichlorophenoxyacetic acid: Update to Biomonitoring Equivalents and population biomonitoring data. **Regul Toxicol Pharmacol.**, v. 73, n. 3, p : 765-769, 2015.

Balalian, A.A.; Liu, X.; Siegel, E.L.; Herbstaman, J.B.; Rauh, V.; Wapner, R.; Factor-Litvak, P.; Whyatt, R. Preditores de concentrações de compostos de piretróides e organofosforados urinários entre mulheres grávidas saudáveis em Nova York. **Int J Environ Res Saúde Pública**, v. 17, n. 17, p: 6164, 2020.

Barr, DB. Biomonitoring of expositions to pesticides . **J. Chem. Health Safe**, v.15, n. 6, p: 20–29, 2008.

Baudry, J.; Rebouillat, P.; Alles, B.; Cravedi, J.P.; Touvier, M.; Hercberg, S.; Lairon, D.; Vidal, R.; Kesse-Guyot, E. Estimated dietary exposure to pesticide residues based on organic and conventional data in omnivores, pesco-vegetarians, vegetarians and vegans. **Food Chem Toxicol.**, v. 153, p:112179, 2021.

Baudry, J.; Ducros, V.; Druesne-Pecollo, N.; Galan, P.; Hercberg, S.; Debrauwer, L.; Amiot, M.J.; Lairon, D.; Kesse-Guyot, E. Some Differences in Nutritional Biomarkers are Detected Between Consumers and Nonconsumers of Organic Foods: Findings from the BioNutriNet Project. **Curr. Dev. Nutr.**, v. 3, 2018.

Baudry, J.; Lelong, H.; Adriouch, S.; Julia, C.; Allès, B.; Hercberg, S.; Touvier, M.; Lairon, D.; Galan, P.; Kesse-Guyot, E. Association between organic food consumption and metabolic syndrome: Cross-sectional results from the NutriNet-Santé study. **Eur. J. Nutr.**, v. 57, p: 2477–2488, 2017.

Baudry, J.; Rebouillat, P.; Alles, B.; Cravedi, J.P.; Touvier, M.; Hercberg, S.; Lairon, D.; Berman, T.; Goen, T.; Novack, L.; Beacher, L.; Grinshpan, L.; Segev, D.; Tordjman, K. Urinary concentrations of organophosphate and carbamate pesticides in residents of a vegetarian community. **Environ Int.**, v. 96, p:34-40, 2016.

Bolognesi, C. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 543, n. 3, p: 251-272, 2003.

Bouchard, M.F.; Chevrier, J.; Harley, K.G.; Kogut, K.; Vedar, M.; Calderon, N.; Trujillo, C.; Johnson, C.; Bradman, A.; Barr, D.B.; Eskenazi, B. Prenatal exposure to organophosphate pesticides and IQ in 7-year-olds. **Environ's Health Perspective**, v. 119, n. 8, p: 1189-95, 2011.

Bradman, A.; Quirós-Alcalá, L.; Castorina, R.; Schall, R.A.; Camacho, J.; Holland, N.T.; Barr, D.B.; Eskenazi B. Effect of Organic Diet Intervention on Pesticide Exposures in Young Children Living in LowIncome Urban and Agricultural Communities. **Environ Health Perspect.**, v. 123, p: 1086-1093, 2015.

Brazil. Public Consultation 613, 2022. Proposal for a Resolution of the Board that provides for the maintenance of the active ingredient glyphosate in agrochemical products in the country and measures resulting from its toxicological reassessment. Official Gazette of the Federative Republic of Brazil, Brasília, DF. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/5344168/Consulta+Pu%C2%B4blica+613-2019.pdf/f2e6adfb-e12a-4285-b3c3-e8aeb17d6e91> Acessado em: 19 de fevereiro de 2022.

Brazilian Institute for Consumer Protection. There's poison in this package, 2020. Disponível em: https://idec.org.br/system/files/ferramentas/idec_cartilha_tem-veneno-nesse-pacote.pdf Acessado em: 20 de fevereiro de 2022.

Briviba, K.; Stracke, B.A.; Rüfer, C.E.; Watzl, B.; Weibel, F.P.; Bub, A. Effect of consumption of organically and conventionally produced apples on antioxidant activity and DNA damage in humans. **J. of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 19, p: 7716-7721, 2007.

Bull, S.; Fletcher, K.; Boobis, A. R.; Battershill, J. M. Evidence for genotoxicity of pesticides in pesticide applicators: a review. **Mutagenesis**, v. 21, n. 2, p: 93-103, 2006.

Casals-Casas, C. Desvergne B. Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. **Annu Rev Physiol.**, v. 73, p:135– 162, 2011.

Chakraborty, S.; Roy, M.; Bhattacharya, R. K. Prevention and repair of DNA damage by selected phytochemicals as measured by single cell gel electrophoresis. **Journal of environmental pathology, toxicology and oncology**, v. 23, n. 3, 2004.

Da Silva, A.C.G.; Sousa, I.P.; Santos, T.R.M.; Valadares, M.C. Assessing agricultural toxicity in Brazil: advances and opportunities in the 21st century. **Toxicological Sciences**, v. 177, p: 316-324, 2020.

Del Bo, C.; Marino, M.; Martini, D.; Tucci, M.; Ciappellano, S.; Riso, P.; Porrini, M. Overview of human intervention studies evaluating the impact of the mediterranean diet on markers of DNA damage. **Nutrients**, v. 11, n. 2, p: 391, 2019.

Engel, S.M.; et al. Prenatal exposure to organophosphate pesticides and infant neurodevelopment at 24 months: an analysis of four birth cohorts. **Environ's Health Perspective**, v. 124, n. 6, p: 822-830, 2016.

European Commission. EU Pesticides Database. Disponível em: https://ec.europa.eu/food/plants/pesticides/eu-pesticides-database_en Acessado em: 18 de fevereiro de 2022.

European Commission: Directorate-General for Health and Consumer Protection. (2002). Acephate active substance review report. Directorate E—Food Safety: Plant health, animal health and welfare, international issues. E1—Health of plants. Disponível em: <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=909> Acessado em 19 de fevereiro de 2022.

Fairbairn, D.W.; O'Neill, K.L. DNA Strand Break Repair Involvement in Hydrogen Peroxide Induced Damage. **Mol. Cells**, v. 4, p: 343-348, 1994.

Friso, S.; Choi, S. W. Gene-nutrient interactions and DNA methylation. **The Journal of Nutrition**, v. 132, n. 8, p: 2382S-2387S, 2002.

Ganzleben, C.; et al. Human biomonitoring as a tool to support the regulation of chemicals in the European Union. **Int J Hyg Environ Health**, v. 220, p : 94-97, 2017.

Hoeijmakers, J. H. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. **Nature**, v. 411, n. 6835, p: 366-374, 2001.

<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/3770json-file-1> Acessado em: 18 de fevereiro de 2022.

Hurtado-Barroso, S.; et al. Organic food and the impact on human health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p: 1–11, 2017.

Hyland, C.; Bradman, A.; Gerona, R.; Patton, S.; Zakharevich, I.; Gunier, R. B.; Klein, K. Organic diet intervention significantly reduces urinary pesticide levels in U.S. children and adults. **Environmental Research**, 2019.

Institute of Medicine (US), 2005. Dietary Reference Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (macronutrients). Washington:National Academies Press. 1331. Acessado em 19 de fevereiro de 2022.

Kaur, K.; Kaur, R. Occupational pesticide exposure, impaired DNA repair, and diseases. **Indian Journal of Occupational and Environmental Medicine**, v. 22, n. 2, p: 74, 2018.

Kaushik, G.; Satya, S.; Naik, S.N. Food processing a tool to pesticide residue dissipation – A review. **Food Research International**, v. 42, n. 1, p:26–40, 2009.

Kesse-Guyot, E.J.; Baudry, K.E.; Assmann, P.; Galan, S.; Hercberg, D. Prospective association between consumption frequency of organic food and body weight change, risk of overweight or obesity: results from the NutriNet-Santé study. **Br J Nutr.**, v. 117, n. 2, p: 325–334, 2017.

Kim, K.H.; Kabir, E.; Jahan, S.A. Exposure to pesticides and the associated human health effects. **Sci Total Environ.**, v. 575 p: 525–535, 2017.

Leng, G.; Gries, W. Simultaneous determination of pyrethroid and pyrethrin metabolites in human urine by gas chromatography–high resolution mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 814, n. 2, p: 285–294, 2005.

Leng, G.L.; Gries, W.; Selim, S. Biomarker of pyrethrum exposure. *Toxicol. Lett.*, v. 162, n. 2-3, p: 195-201, 2006.

Lermen, D.; Bartel-Steinbach, M.; Gwinner, F.; Conrad, A.; Weber, T.; Von Briesen, H.; Kolossa-Gehring, M. Trends in the characteristics of 24-hour urine samples and their relevance to human biomonitoring studies - 20 years of experience in the German Environmental Samples Bank. **Int J Hyg Environ Health**, v. 222, n. 5, p: 831-839, 2019.

Lindahl, T.; Wood, R. D. Quality control by DNA repair. **Science**, v. 286, n. 5446, p: 1897-1905, 1999.

Lu, C.; Toepel, K.; Irish, R.; Fenske, R.A.; Barr, D.B.; Bravo, R. Organic diets significantly lower children's dietary exposure to organophosphorus pesticides. **Environ. Health Perspect.**, v. 114, p: 260-263, 2006.

Macintosh, D.L.; Kabiru, C.W.; Ryan, P.B. Longitudinal investigation of dietary exposure to selected pesticides. **Environmental Health Perspective**, v. 109, n. 2, p:145-50, 2001.

Milic, M.; Ceppi, M.; et al. The COMET project: International database comparison of results with the comet assay in human biomonitoring. Baseline frequency of DNA damage and effect of main confounders. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 787, p: 108371, 2021.

Mnif, W.; Hassine, A.I.H.; Bouaziz, A.; Bartegi, A.; Thomas, O.; Roig, B. Effect of endocrine disruptor pesticides: a review. **Int J Environ Res Public Health**, v. 8, p:2265–303, 2011.

Mohanta, T.K.; Tamboli, Y.; Zubaidha, P.K. Phytochemical and medicinal importance of Ginkgo biloba L. **Natural Product Research**, v. 28, n. 10, p: 746-752, 2014.

Morgan, M.K.; et al. Temporal variability of pyrethroid metabolite levels in bedtime, morning, and 24-h urine samples for 50 adults in North Carolina. **Environmental Research**, v. 144, p: 81–91, 2016.

Nicolopoulou-Stamati, P.; Maipas, S.; Kotampasi, C.; Stamatis, P.; Hens, L. Chemical Pesticides and Human Health: The Urgent Need for a New Concept in Agriculture. **Front Public Health**, v. 4, 2016.

Oates, L.; Cohen M.; Schembri A.; Taskova R. Reduction in urinary organophosphate pesticide metabolites in adults after a week-long organic diet. **Environ. Res.**, v. 132, p: 105-111, 2014.

Oates, L.; Cohen, M. Diet assessment as a modifiable risk factor for pesticide exposure. **Int J Environ Res Public Health**, v. 8, n. 6, p: 1792-804, 2011.

Ramos, A.A.; Lima, C.F.; Pereira-Wilson, C. DNA damage protection and induction of repair by dietary phytochemicals and cancer prevention: What do we know. **Select Topics in DNA Repair**, p: 237-270, 2011.

Ravula, A.R.; Yenugu, S. Pyrethroid based pesticides – chemical and biological aspects. **Critical Reviews in Toxicology**, p: 1–24, 2021.

Rempelos L, et al. Diet and food type affect urinary pesticide residue excretion profiles in healthy individuals: results of a randomized controlled dietary intervention trial. **Am J Clin Nutr.**, v. 115, p:364–377, 2022.

Riederer, A.M.; Bartell, S.M.; Barr, D.B.; Ryan, P.B. Diet and non-diet predictors of urinary 3-phenoxybenzoic acid in NHANES 1999-2002. **Environmental Health Perspective**, v. 116, n. 8, p:1015-1022, 2008.

Saillenfait, A.-M.; Ndiaye, D.; Sabaté, J.-P. Pyrethroids: Exposure and health effects – An update. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 218, n. 3, p: 281–292, 2015.

Silvério, et al. Assessment of exposure to pesticides in rural workers in southern of Minas Gerais, Brazil. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 55, p: 99–106, 2017.

Smith-Spangler, C.; et al. Are organic foods safer or healthier than conventional alternatives?: a systematic review. **Ann Intern Med.**, v. 157, n. 5, p:348-366, 2012.

Simaremare, S.R.S.; Hung, C-C.; Hsieh, C-J.; Yin, L-M. Relationship between organophosphate insecticides and pyrethroids in blood and their metabolites in urine: a pilot study. **Int J Environ Res Saúde Pública**, v. 17, n. 1, p: 34, 2019.

Singh, N.P.; McCoy, M.T.; Tice, R.R.; Schneider, E.L. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. **Exp Cell Res.**, v. 175, p:184–191, 1988.

USDA (US Department of Agriculture). 2011. Pesticide Data Program. Washington, DC: Disponível em: <http://www.ams.usda.gov/datasets/pdp> Acessado em 19 de fevereiro de 2022.

Van den Dries, et al. Determinants of organophosphate pesticide exposure in pregnant women: A population-based cohort study in the Netherlands. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 221, n. 3, p: 489–501, 2018.

Varlamov, O. Review western. **Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.**, v. 1863, n .5, p:1147-1155, 2017.

Vidal, R.; Kesse-Guyot, E. Estimated dietary exposure to pesticide residues based on organic and conventional data in omnivores, pesco-vegetarians, vegetarians and vegans. **Food Chem Toxicol.**, v. 153, p:112179, 2021.

Vigar, M.; Oliver, A.; Robinson, L. A Systematic Review of Organic Versus Conventional Food Consumption: Is There a Measurable Benefit on Human Health? **Nutrients**, v. 12, n .1, p: 7, 2019.

Wanwimolruk, S.; Kanchanamayoon, O.; Phopin, K.; Prachayasittikul, V. Food safety in Thailand 2: Pesticide residues found in Chinese kale (*Brassica oleracea*), a commonly consumed vegetable in Asian countries. **Science of the total environment.**, v. 532, p: 447-455, 2015.

Wanwimolruk, S.; Kanchanamayoon, O.; Phopin, K.; Prachayasittikul, V. Food safety in Thailand 2: Pesticide residues found in Chinese kale (*Brassica oleracea*), a commonly consumed vegetable in Asian countries. **Science of the total environment.**, v. 532, p: 447-455, 2019.

Ye, M., Beach, J.; Martin, J.W.; Senthilselvan, A. Associations between dietary factors and urinary concentrations of organophosphates and pyrethroid metabolites in a general Canadian population. **Int J Hyg Environ Health**, v. 218, n. 7, p: 616-626, 2015.

Yigit, N., & Velioglu, Y. S. Effects of processing and storage on pesticide residues in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p: 1–20, 2019.

Zhao, L.W.; et al. Effects of storage and processing on residue levels of chlorpyrifos in soybeans. **Food Chemistry**, v. 150, p:182–186, 2014.

Zheng, W.; He, J. L.; Jin, L.F.; Lou, J. L.; Wang, B.H. Assessment of human DNA repair (NER) capacity with DNA repair rate (DRR) by comet assay. **Biomed Environ Sci**, v. 18, n. 2, p: 117-23, 2005.

11. Conclusões

O ECR como método desenvolvido neste estudo foi capaz de detectar no período de 14 dias a excreção urinária de agrotóxicos em consumidores convencionais e orgânicos. A intervenção estabelecida foi capaz de reduzir os níveis de inseticidas para ambos os grupos, com percentual nitidamente maior nos consumidores orgânicos (98,6%) comparado aos consumidores convencionais (66,2%). Observamos que indivíduos com dieta predominantemente baseada em alimentos convencionais apresentaram maiores níveis de inseticidas do grupo piretróides do que indivíduos com dieta orgânica. Além disso, essa exposição a agrotóxicos pode ter associação com os marcadores de dano e reparo do DNA. Os dois grupos apresentaram maiores percentuais de dano ao DNA após a intervenção, mas os percentuais de mecanismos de reparo (BER e NER) foram maiores significativamente no grupo orgânico.

É importante ressaltar que os resultados encontrados neste estudo também podem ter associação com variáveis não mensuradas, como a exposição ocupacional ou dérmica de agrotóxicos. Por regulamentação da ANVISA, produtos desinfetantes estão contidos na categoria de produtos saneantes, sendo destinados à aplicação em domicílios e suas áreas comuns ou no interior de edifícios públicos para controle de pragas como insetos ou roedores. Os inseticidas são o grupo mais comum incluídos nessa categoria de produtos para uso doméstico, veterinário, para empresas especializadas, jardinagens amadoras ou repelentes. Sendo assim, há uma limitação no estudo pela ausência de análise das vias de exposição dérmica e inalatória para os agrotóxicos e sua representação nos níveis urinários encontrados neste estudo.

A via alimentar, utilizada como a principal fonte de exposição neste estudo, também sofreu interferência de alimentos consumidos pelos participantes de ambos os grupos que não foram ofertados pela pesquisa. Esses dados foram quantificados no diário alimentar, instrumento elaborado para mensurar os agrotóxicos nos alimentos extra consumidos visto que os indivíduos eram livres para realizar suas escolhas alimentares. O autorrelato no diário e o viés de memória podem ser limitações importantes, principalmente para o grupo orgânico. Ensaios Clínicos na área de nutrição são difíceis de serem controlados, pois os indivíduos tem livre escolha no consumo dietético para além daquele ofertado na pesquisa.

Outro ponto importante é a ausência de análise de alguns metabólitos dos inseticidas piretróides, como o 3-PBA, 4-fluoro-3-PBA ou metabólitos DAPs, comuns aos inseticidas organofosforados. Ainda que esses metabólitos sejam inespecíficos e não forneçam a identidade

e a toxicodinâmica do composto original são úteis porque a análise do ingrediente ativo agregada aos principais metabólitos forneceriam um cenário mais real da exposição humana ao grupo dos inseticidas. Além disso, utilizamos a técnica de detecção de multiresíduos de agrotóxicos por Cromatografia Gasosa em Espectrometria de Massa (GC-MS/MS), portanto agrotóxicos que exigem diferentes técnicas e preparo de amostra não foram incluídos no estudo devido ao alto custo.

No entanto, o estudo apresenta pontos fortes. O número total da amostra é grande, comparado aos demais estudos, especialmente Ensaios Clínicos com este desfecho. Os participantes de ambos os grupos residiam dentro da universidade (92,6%), local próximo ao que era ofertado as refeições, proporcionando um controle maior de assiduidade no ECR. Além disso, o fornecimento de lanches (bolos ou bolachas) e outros alimentos como milho para pipoca, chimarrão ou ovos extras evitaram que mais alimentos fora da pesquisa fossem consumidos. Outro ponto importante é que foram analisados 114 ingredientes ativos na urina e 173 nos alimentos, o que fornece um panorama moderado de exposição por via alimentar desta população.

Em suma, os resultados desse ECR evidenciam que indivíduos que consomem alimentos convencionais estão mais suscetíveis a excreção de níveis urinários de inseticidas, principalmente do grupo piretróides, além de apresentarem menor percentual de reparo de dano ao DNA. A intervenção realizada por 14 dias mostra indícios de que é necessário investigar o efeito à saúde a longo prazo do consumo de alimentos convencionais para que seja garantida a Segurança Alimentar e Nutricional e, assim, aplicada a nutrição baseada em evidências para população. Atualmente, observamos que algumas ações dificultam isso, como os recursos limitados para a pesquisa científica e a extinção do Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional (CONSEA), através da Medida Provisória nº 870. Essa extinção compromete a garantia do Direito Humano à Alimentação Adequada, como também constitui evidente retrocesso social quando desmonta um espaço de participação social (2/3 dos membros do CONSEA eram da sociedade civil). É importante salientar que a alimentação adequada e saudável é um direito humano, e é obrigação do Estado brasileiro garantir a Segurança Alimentar e Nutricional aos seus cidadãos, estabelecida na Constituição Federal. É necessário uma ampliação do debate com a sociedade de fácil acesso e entendimento, além de transparência nas informações, incluindo os estudos toxicológicos realizados e os critérios utilizados para a autorização de novos agrotóxicos no Brasil.

Anexos

Anexo 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, concordo em participar do projeto intitulado “**Consumo de alimentos de cultivo orgânico e convencional: Ensaio Clínico Randomizado**”. Que tem como objetivo Avaliar os efeitos dos resíduos de agrotóxicos em frutas e hortaliças sobre os parâmetros bioquímicos de indivíduos saudáveis. Este projeto será desenvolvido sob responsabilidade dos professores doutores Ana Luiza Muccillo-Baisch e Flavo Manoel Rodrigues da Silva Júnior.

Declaro que fui informado(a), de forma clara dos objetivos, da justificativa, da forma a ser realizado o trabalho e dos instrumentos e procedimentos de pesquisa. Fui igualmente informado(a):

- Da garantia de requerer resposta a qualquer pergunta ou dúvida acerca dos temas geradores;
- Da liberdade de retirar meu consentimento, a qualquer momento, e deixar de participar do trabalho, sem que traga qualquer prejuízo;
- Da segurança de que eu não serei identificado(a) e que se manterá o caráter confidencial das informações relacionadas a minha privacidade;
- De que serão mantidos todos os preceitos ético-legais durante e após o término do trabalho;
- Descrição do método de coleta para o presente estudo: De que a realização dos diferentes protocolos utilizados para a coleta dos dados apresenta riscos (incluindo coleta de urina e de sangue). A coleta das amostras biológicas será realizada em uma sala da Universidade Federal do Rio Grande devidamente equipada, higienizada e preparada para a coleta. A coleta de sangue será realizada por pessoa habilitada e com material adequado e a coleta de urina será realizada pelo próprio indivíduo e armazenada no mesmo momento pelo pesquisador devidamente treinado, respeitando as normas do Ministério da Saúde (2011). No entanto, se apesar de todos os cuidados que serão tomados, eu venha a ter algum tipo de desconforto, serei encaminhado para a Unidade Básica de Saúde da Família CAIC, local mais próximo da coleta;
- De que estes procedimentos de coleta serão realizados de forma a não comprometer a minha integridade física e psicológica, estando de acordo com as normas éticas e de segurança exigidas neste procedimento, Mas caso me sinta desconfortável/constrangido serei encaminhado para a Unidade Básica de Saúde da Família CAIC com apoio total, integral e gratuito;
- Do compromisso de acesso às informações em todas as etapas do trabalho bem como dos resultados, podendo chamar os pesquisadores integrantes da equipe de pesquisa do Laboratório de Ensaio Farmacológicos e Toxicológicos da FURG pelo telefone (32336850), ainda que isso possa afetar minha vontade de continuar participando;
- De que este estudo não me acarretará nenhum prejuízo e nenhum ganho econômico, mas poderá trazer grande benefício para a saúde da população em geral;

- De que caso precise de alguma assistência especializada devido os possíveis danos psicológicos acarretados pelo instrumento, os pesquisadores disponibilizaram um profissional da área para suprir-me.
- De que recebi cópia do presente Termo de Consentimento.

Rio Grande, _____ de _____ de 20____

Ass. Entrevistado: _____

Ass. Entrevistador: _____

Ass. Responsáveis:

**Júlia Oliveira Penteadó
Junior**


Email: julia-penteadó@hotmail.com

Flavio Manoel Rodrigues da Silva

Email: f.m.r.silvajunior@gmail.com

Comitê de Ética em Pesquisa na Área de Saúde – CEPAS
Rua Visconde de Paranaguá, 102
Hospital Universitário Dr. Miguel Riet Corrêa Júnior - 1º Andar
Telefone: 53 - 3237.4652

Anexo 2

	<p style="text-align: center;">UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE FACULDADE DE MEDICINA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE</p>
<p>Projeto de doutorado: Consumo de alimentos de cultivo orgânico e convencional: Ensaio Clínico Randomizado</p>	

Nome completo:

Data de nascimento:

Idade:

Sexo: () Feminino () Masculino

Dieta

() Vegetariana () Vegana () Ovolactovegetariana () Não vegetariana

() Outras: _____

Alergias alimentares

() Glúten () Lactose () Outras _____

Você utilizou algum medicamento nos últimos 30 dias? () Sim () Não

Qual? _____

Com que frequência você utilizou este medicamento?

() 1x na semana () 2x na semana () 3x na semana () 4x na semana () Diariamente

Você desenvolveu alguma doença durante o Ensaio Clínico? () Sim () Não

Qual? _____

Você sentiu algum desconforto durante o Ensaio Clínico? () Sim () Não

Qual/ Quais?

() tontura () dor de cabeça () náuseas () vômito () enjoo () refluxo () dor abdominal

() diarreia

Outros: _____

Anexo 3

Orientações para realização dos exames clínicos

Datas da 1ª coleta: 26, 27 e 28 de Agosto

Datas da 2ª coleta: 11 e 12 de Setembro

Para coleta de sangue

- É necessário jejum de 8 horas;
- Durante o período de jejum pode consumir água, apenas evitar consumo excessivo.

Para coleta de urina

- É recomendado realizar a higiene íntima usando sabonete e água antes do exame, para evitar contaminação;
- Solicitamos, preferencialmente, a primeira urina da manhã para realização do exame; • É indicado que o frasco seja aberto somente na hora da coleta para evitar a contaminação;
- Orientamos para caso esteja menstruada nos dias da coleta informe aos pesquisadores para identificação da amostra;
- Orientamos que despreze o primeiro jato de urina no vaso sanitário, colhendo-se o jato médio em diante (aproximadamente 10mL), desprezando o restante da micção. O primeiro jato de urina deve ser desprezado porque traz células e secreção que podem estar presentes na uretra.
- Verifique se o frasco ficou totalmente fechado para não perder amostra. Entregue o mais rápido possível aos pesquisadores responsáveis.

Para o Exame de Bioimpedância

A análise da bioimpedância é um exame sensível à presença de água no corpo, por este motivo deve seguir a padronização do seu método, a fim de se minimizar os erros de mensuração. Para isso, devem-se respeitar os seguintes procedimentos:

- É recomendado que o consumo de alimentos e bebidas sejam evitados até 4 horas antes da realização do teste;
- É necessário que evite a ingestão de álcool nas 48 horas que antecedem o exame, assim como o consumo excessivo de chás, café, chimarrão na véspera;
- O exame deve ser realizado com o participante em repouso e a prática de exercícios até 8 horas anteriores não é recomendada;

- É necessário retirar objetos de metal presos ao corpo, como anéis e brincos no momento do exame;
- É necessário suspender o uso de medicamentos diuréticos no mínimo 24 horas antes da realização do teste;
- Medicamentos que causem retenção hídrica, se possível, devem ser retirados para a realização do exame;
- É recomendado que não esteja febril no momento do exame.

Apêndice

Diante da literatura apresentada na tese, a hipótese inicial deste estudo era que os níveis urinários de agrotóxicos de todas as classes agronômicas seriam maiores nos consumidores convencionais comparado ao consumidores orgânico. Assim como foram observados nos estudos das Tabela 2 e 3 da seção Revisão Bibliográfica. Os estudos observacionais encontrados que basearam esta teoria apresentaram delineamento transversal e detectaram maiores níveis urinários de metabólitos de agrotóxicos em consumidores convencionais comparado aos consumidores orgânicos (Kimata et al., 2009; Berman et al., 2013; Fortes et al., 2013; McKelvey et al., 2013; Ye et al., 2015; Berman et al., 2016). Além disso, os estudos de coorte e caso controle que também avaliaram esse desfecho encontraram associação entre a dieta com menores índices de agrotóxicos e redução nos níveis urinários desses compostos excretados (Curl et al., 2015; Chiu et al., 2017; Baudry et al., 2019). Ensaio Clínicos, com desing semelhante ao realizado por esse estudo, o qual dosaram os metabólitos de agrotóxicos na urina observaram redução dos compostos estudados entre os consumidores orgânicos (Hyland et al., 2019; Rempelos et al., 2022), ainda que sem significância estatística devido ao pequeno número amostral do estudo (n=2) de Oates et al (2014).

No entanto, ficaram lacunas a respeito dos resultados de excreção urinária obtidos para a classe dos herbicidas e fungicidas neste estudo. Os dados mostraram uma redução para os consumidores convencionais de 72% para os herbicidas e 94% para os fungicidas, enquanto que os indivíduos do grupo orgânico apresentaram aumento de 38% nos níveis de herbicidas e 25% para os fungicidas (Tabela 1 – apêndice). No último boletim de comercialização de agrotóxicos emitido pelo IBAMA em 2020, os dados de vendas por classes de usos por produtos formulados (toneladas de ingredientes ativos) dos herbicidas apresentaram valores cinco vezes maiores que os inseticidas (inseticidas: 80.733,41, fungicidas = 108.366,05 e herbicidas: 413.833,41). Assim, é de difícil compreensão os resultados encontrados para o grupo convencional que, teoricamente, estavam mais expostos por via alimentar que o grupo orgânico. Desta maneira, elaboramos o manuscrito 2 (Seção Resultados: manuscritos prontos para publicação) com foco apenas nos dados de inseticidas diante da importância desta classe e o pouco enfoque dos estudos. No Brasil, dentre os dez ingredientes ativos mais vendidos, quatro são inseticidas (Acefato, Malationa, Imidacloprido e Clorpirifós).

Quanto aos herbicidas e fungicidas, algumas inferências foram realizadas para elucidar os resultados encontrados neste estudo: a) os indivíduos do grupo orgânico em nosso ECR podem ter consumido mais alimentos extras que os mencionado no diário alimentar; b) os indivíduos podem ter outras vias de exposição não mensuradas e podem ser um fator de

confusão; e c) a ausência de análise de metabólitos de agrotóxicos importantes podem ter subestimado a exposição. Os Ensaio Clínicos no campo da nutrição são naturalmente mais suscetíveis a variáveis de confusão em comparação com ensaios farmacêuticos. Um dos maiores desafios é o controle do consumo alimentar dos participantes ao longo do dia. O registro no diário alimentar é uma ferramenta útil, porém o viés de memória e o autorrelatado com falta de informações suficientes no diário alimentar também são limitações. Ainda que os alimentos extra consumidos sejam descritos de maneira correta, esses ainda apresentam associação direta com o desfecho. A análise de quantificação total de agrotóxicos e seus metabólitos em níveis urinários finais não diferencia sobre o tipo de alimento (orgânico ou convencional) ou a via a qual os participantes foram expostos. Logo, também é possível que os participantes de ambos os grupos apresentem diferentes fontes de exposição para as classes de herbicidas e fungicidas por via dérmica e inalatória que não foram analisadas neste estudo. De maneira geral, diferentes fatores relacionados à dieta podem alterar a forma química dos nutrientes e da matriz alimentar e, conseqüentemente, a excreção dos compostos químicos. Como exemplo, as interações entre nutrientes e aditivos alimentares, métodos de processamento de alimentos (cozinhar, assar ou fritar), fatores intestinais e sistêmicos que podem influenciar a absorção e biodisponibilidade dos compostos alimentares e seus metabólitos excretados.

Em suma, estudos futuros serão realizados para melhor compreensão dos resultados obtidos para herbicidas e fungicidas estratificando por classe química e de toxicidade, uso agrícola, tipo de cultura e limite máximo de resíduos permitidos. Além disso, explorar a relação entre os agrotóxicos encontrados na água, predominantemente herbicidas e fungicidas, com os níveis urinários detectados para essas classes e seus metabólitos não analisados por esse ECR.

Tabela Apêndice. Detecção de agrotóxicos em níveis urinários não utilizados nos dados do Manuscrito 2.

Agrotóxicos (µg/L)	Grupo Orgânico (inicial)	Grupo Orgânico (final)	Inicial - Final	Grupo Convencional (inicial)	Grupo Convencional (final)	Inicial - Final
<i>Fungicidas</i>						
Hexaclorobenzeno	0,03	0,06	-0,03			
Pirimetaniil	0,02	0,03	-0,004			
Fenpropimorfe	0,01	0,04	-0,03			
Penconazole	0,16	0,31	-0,14	0,008	0,05	-0,04
Procimidona	0,12	0,20	-0,08	0	0,02	-0,02
Flutriafol	0	0,05	-0,05			
Hexaconazol	0,93	0,28	0,64	1,90	0	1,90
Miclobutanil	0,13	0,33	-0,19			
Flusilazole	0,17	0,26	-0,09			
Propiconazol-1	0,22	0,65	-0,42	0	0,02	-0,02
Propiconazol-2	0,22	0,58	-0,35	0	0,02	-0,02
Fenamidona	0	0,02	-0,02			
Fenarimol	0	0,005	-0,005			
Fluquinconazol	0,03	0,03	-0,0050			
Total	1,85	2,34	-0,48	1,90	0,10	1,80

Herbicidas

Clorprofam				0,04	0,01	0,02
Prometrina	0,12	0,15	-0,02	0,01	0	0,01
Fluazifop-P-butyl	0,07	0,12	-0,04			
Total	0,19	0,27	-0,07	0,06	0,01	0,04

Acaricidas

Acrinatrina-1	0,09	0	0,09			
Acrinatrina-2	0,12	0	0,12			
Total	0,002	0	0,002			
