

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA
SERGIO AROUCA
ENSP

“Avaliação da Exposição Ambiental ao Glifosato na Área Agrícola da Serrinha do Mendanha”

por

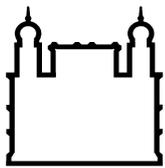
Eros Izidoro Amaral

Dissertação apresentada com vistas à obtenção do título de Mestre em Ciências na área de Saúde Pública e Meio Ambiente.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Paula de Novaes Sarcinelli

Segundo Orientador: Prof. Dr. Armando Meyer

Rio de Janeiro, maio de 2009.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA
SERGIO AROUCA
ENSP

Esta dissertação, intitulada

“Avaliação da Exposição Ambiental ao Glifosato na Área Agrícola da Serrinha do Mendanha”

apresentada por

Eros Izidoro Amaral

foi avaliada pela Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Jefferson José Oliveira-Silva

Prof. Dr. Josino Costa Moreira

Prof.^a Dr.^a Paula de Novaes Sarcinelli – Orientadora

Dissertação defendida e aprovada em 27 de maio de 2009.

Catálogo na fonte
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica
Biblioteca de Saúde Pública

A485 Amaral, Eros Izidoro
 Avaliação da exposição ambiental ao Glifosato na área agrícola da
 Serrinha do Mendanha. / Eros Izidoro Amaral. Rio de Janeiro: s.n.,
 2009.
 xiii, 59 f.

 Orientador: Sarcinelli, Paula de Novaes
 Meyer, Armando
 Dissertação (Mestrado) – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio
 Arouca, Rio de Janeiro, 2009

 1. Glifosato. 2. Exposição Ambiental. 3. Saúde do trabalhador. 4.
 Cromatografia gasosa. I. Título.

CDD - 22.ed. – 363.7098153

Agradecimentos

Agradeço a Deus antes de tudo, pois sem Ele, nenhum dos outros agradecimentos seria possível.

- Ao meu pai, Sérgio, pela amizade e as conversas, sejam elas ao vivo, por telefone ou MSN.
- À minha mãe, Ana Shirley, por todo o amor incentivo ao longo deste curso de mestrado.
- À minha avó Laura, por tudo que fez por mim até hoje.
- À minha avó Aurelina, pelo carinho e boas lembranças.
- Ao meu irmão, Ulisses.
- Por todos em minha família; tios, primos, do primeiro ao vigésimo grau!
- Ao Sérgio, Vânia, Júnior, Cauã, Mariana, Dona Augusta, “Seu” Ivanildo, Vanderley e Ronaldo.
- À Isabele, por tudo que representa pra mim, por todo seu carinho, amor e apoio.
- À minha amiga Alessandra, por todas as conversas, apoio e pelas desestressantes conversas XD.
- À minha orientadora Paulinha, por ter sido muito mais que uma orientadora, pela compreensão nas horas mais difíceis.
- À Ana Cristina, pelas dicas, pela paciência e por me ajudar com este bendito procedimento!
- Ao “Seu” Élzio por toda a ajuda durante as visitas à Serrinha!
- À Nair pela grande ajuda no começo do Trabalho.
- À Paula Brito, pela paciência e pela ajuda inestimável.
- À todos os trabalhadores da Serrinha, meu muito obrigado!
- Ao grande amigo Davidson, por toda amizade, por ser quem é, pelos anos que me atura!
- Ao BFR, por todas as emoções, por tudo que representa, pelos amigos que me trouxe.
- Ao amigo Paulo Luz, por ter ajudado muito psicologicamente neste trabalho.
- Aos amigos do Laboratório; Amandinha, Alan, Ana Luiza (as duas), Arthur, Beatriz (não fique com ciúmes!), Bianca, Bia, Cris (implicante!), Francisco, Leandro (só pelas caronas!

haha), Lú, Jonas, Juju, Sérgio, Taty, Thalita e Vinício. Obrigado pela amizade e pelo clima sempre agradável.

- Aos amigos do mestrado; Jaílson, Marcelo, Rafaela, Amanda e Thaís.
- Aos amigos de república! É muita gente pra listar de 1997 até 2008, mas obrigado a todos vocês! Um especial para os da primeira (Alan, Arthur, Bard, Daniel e Igor) e os da última (Adeiiiiilson, Gilka, Maria, Martino e Cristiano).
- Aos amigos das antigas! Ciro, Gean, Minduim, Ulisses, Alini, Leandro (vai casar no dia que estou escrevendo isso!), Thiago, Kivia, Jaya (parabéns pela Valentina!), Toin (obrigado pelo abrigo), Jean-Pierre, Serginho, Digo, Guigo, Tico, Andréia (os meninos também!) e Taíze.
- Aos grandes companheiros alvinegros, Felipe e Diego (parabéns pelo João Pedro!).
- Aos novos amigos; Bruno, Bin, Cidrini, Luciano, Milena, Pinheiro e Régis.
- Aos demais amigos, se não os citei antes, desculpas mil. Isso é a última coisa a ser digitada e posso acabar tendo falhas de memória rs. Agradeço a todos que têm a minha amizade (e vocês sabem bem quem são) e que me ajudaram a construir quem sou hoje. Um grande abraço a todos vocês.

Lista de Abreviaturas

ug	Micrograma
uL	Microlitro
AMPA	Ácido aminometilfosfônico
CESTEH	Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana
CG	Cromatografia gasosa
Crimper	Frisador para fechar vial
CV	Coefficiente de Variação
Decrimper	Defrisador para abrir vial
DP	Desvio Padrão
EPA	Environmental Protection Agency
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
g	Gramma
L	Litro
M	Molar
mbar	Milibar
mM	Milimolar
mg	Miligramma
mL	Mililitro
°C	Graus Celsius
OGMs	Organismos geneticamente modificados
ppb	Parte por bilhão
Soja RR	Soja Roundup-Ready
Splitless	Sem divisão de fluxo
Vial	Frasco para injeção cromatográfica
TFAA	Anidrido Triflúor acético
TFE	Trifluor Etanol
WHO	World Health Organization

Lista de Tabelas

Tabela I - Agrotóxicos mais utilizados na área agrícola da Serrinha do Mendanha	17
Tabela II - Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para o dia 00 e com menor quantidade de reagentes	25
Tabela III - Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para o dia 00 e com maior quantidade de reagentes	25
Tabela IV - Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para o dia 01 e com menor quantidade de reagentes	25
Tabela V - Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para o dia 01 e com maior quantidade de reagentes	26
Tabela VI - Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para o tempo de aquecimento de 30 minutos	27
Tabela VII - Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para o tempo de aquecimento de 60 minutos	27
Tabela VIII - Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para o tempo de aquecimento de 90 minutos	27
Tabela IX - Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para a proporção Metanol:HCl 200:2,7	29
Tabela X - Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para a proporção Água:metanol:HCl 50:150:2,7	29
Tabela XI - Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para a proporção Água:metanol:HCl 100:100:2,7	29
Tabela XII - Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para a proporção Água:metanol:HCl 150:50:2,7	29
Tabela XIII - Áreas médias dos picos de glifosato para curva padrão no procedimento sem extração	31
Tabela XIV - Áreas médias dos picos de AMPA para curva padrão no procedimento sem extração	31
Tabela XV - Áreas médias dos picos de glifosato para curva padrão no procedimento com	33

extração

Tabela XVI - Áreas médias dos picos de AMPA para curva padrão no procedimento com 33

extração

Tabela XVII - Valores de recuperação para o glifosato 35

Tabela XVIII: Valores de recuperação para o glifosato, sem o ponto 5 ppb 36

Tabela XIX - Valores de recuperação para o AMPA 36

Tabela XX - Dados sócio-demográficos e de percepção de risco dos trabalhadores da Serrinha 41

do Mendanha

Tabela XXI - Agrotóxicos mais utilizados na área agrícola da Serrinha do Mendanha em 2009, 42

segundo levantamento feito por meio de questionário

Lista de Figuras

Figura I - Fórmula estrutural da molécula do glifosato	03
Figura II - A via do Xiquimato	04
Figura III - Diagrama de blocos exemplificando a síntese do Triptofano	05
Figura IV - Diagrama de blocos exemplificando a síntese de Fenilalanina e Tirosina	05
Figura V - Distribuição da produção mundial de soja por país	09
Figura VI - Produção brasileira de soja, em grãos	09
Figura VII - Exportações brasileiras de soja em grãos	09
Figura VIII - Quadro comparativo das exportações de soja em grãos	10
Figura IX - Representação de ciclo celular normal de células somáticas	13
Figura X - Representação do ciclo celular, com suas fases bem definidas e com suas durações e transições mediadas pelas ciclinas.	13
Figura XI - Foto de satélite da área agrícola estudada	16
Figura XII - Reação de derivatização do glifosato e do AMPA com TFAA e TFE	22
Figura XIII - Curva padrão de glifosato sem extração	32
Figura XIV - Curva padrão de AMPA sem extração	32
Figura XV - Curva padrão de glifosato com extração	34
Figura XVI - Curva padrão de AMPA com extração	34
Figura XVII - Ponto 1 da coleta de amostras (açude)	44
Figura XVIII - Produtos da plantação de uma das propriedades, mostrando a biodiversidade no local e, ao mesmo tempo, a precariedade das condições de trabalho	44
Figura XIX - Aspecto da biodiversidade em uma das propriedades, com quatro diferentes culturas ao mesmo tempo	45
Figura XX - Demonstração dos problemas causados pela falta de orientação ao agricultor: Frasco de Gramoxone contendo o herbicida Roundup (reaproveitamento de embalagens)	45
Figura XXI - Outro exemplo da falta de orientação para a lida com as embalagens vazias, a foto mostra local de queima destes frascos	46
Figura XXII - Local de armazenamento dos agrotóxicos em uma das propriedades	46
Figura XXIII - Frasco de herbicida contendo glifosato e a falta de orientação ao agricultor, que	47

trabalha sem proteção alguma

Figura XXIV - Local para descarte de embalagens vazias em uma das propriedades 47

Figura XXV - Foto comparativa. A vegetação verde não teve herbicida glifosato aplicada a si, ao contrário da parte amarelada mostrada pela imagem 48

Figura XXVI - Aspecto da agricultura de soja para exportação no interior do Brasil. Em destaque, o que restou da vegetação nativa no local 48

Resumo

O glifosato é um herbicida não-seletivo, sistêmico e suas vendas representam em torno de 60% das vendas de herbicida em todo o planeta, totalizando uma quantia de 1,2 bilhões de dólares anuais. Este princípio ativo é apontado como um potencial contaminante ambiental, juntamente a seu metabólito, o ácido aminometilfosfônico (AMPA), visto que são altamente hidrossolúveis. A degradação de glifosato em AMPA ocorre rapidamente no meio ambiente. A dispersão pelo ar e a contaminação de corpos hídricos, são potenciais fontes de exposição a seres humanos, que pode acontecer de forma direta ou indireta, sendo que a exposição crônica a estas substâncias vem sendo estudada com resultados que sugerem correlação entre a exposição e desregulação endócrina, câncer e dermatites.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o processo de contaminação ambiental por Glifosato, na área rural da Serrinha do Mendanha, pertencente ao bairro de Campo Grande, município do Rio de Janeiro. Essa comunidade é considerada como periurbana, apesar das características comuns às comunidades agrícolas, devido à proximidade de centros urbanos. O local é caracterizado pela presença de pequenas propriedades, onde as principais culturas são as de chuchu, abobrinha, banana, aipim, jiló e quiabo, observando-se um elevado consumo do herbicida glifosato. Para a avaliação da contaminação ambiental foi otimizado um método de análise para o glifosato em água. Além disso, foram avaliadas as diferenças no processo de trabalho da área periurbana em relação a áreas exclusivamente rurais.

O glifosato pode ser identificado e quantificado analiticamente através de vários métodos, sendo a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) a técnica escolhida para o desenvolvimento deste trabalho, após uma reação de derivatização, necessária para este tipo de análise. Foram investigadas 8 diferentes amostras de água, oriundas de 8 diferentes propriedades, sendo encontrado o metabólito AMPA na concentração de 2,98 ug/L em uma delas. Também foi investigado através de questionário.

Apesar de apenas uma amostra ter apresentado resultado positivo, não se pode afirmar que a população não está exposta ambientalmente ao glifosato e a outros agrotóxicos, visto que há intensa aplicação destes produtos no local e esta não é feita com a devida proteção. Sugere-se estudos posteriores avaliando não só a matriz água, mas também o ar, além de matrizes biológicas, a fim de investigar os efeitos da exposição a estas substâncias sobre a saúde dos trabalhadores atuantes na Serrinha do Mendanha.

Abstract

The herbicide glyphosate is a non-selective, systemic, and its sales represent around 60% of the sales of herbicide around the world, totaling an amount of 1.2 billion dollars annually. This active principle is identified as a potential environmental contaminant, together with its metabolite, the aminomethylphosphonic acid (AMPA), since they are highly water soluble. The degradation of glyphosate in AMPA occurs rapidly in the environment. The scattering by air and contamination of water bodies are potential sources of exposure to humans, which can happen directly or indirectly, Chronic exposure to these substances has been studied with results that suggest a correlation between exposure and endocrine disruption , cancer and dermatitis.

The objective of this study was to evaluate the process of environmental contamination by Glyphosate in the rural area of Serrinha do Mendanha which belongs to the neighborhood of Campo Grande, Rio de Janeiro. This community is considered periurban due to the proximity to urban centers, despite the common characteristics with other agriculture communities. The site is characterized by the presence of small properties, where the main crops are vegetables, observing a high consumption of the herbicide glyphosate. To assess environmental contamination an analytical method was optimized to determine glyphosate in water. In addition, the differences between the work process in rural and periurban areas were evaluated.

Glyphosate can be identified and quantified by several analytical methods, and the gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) the technique chosen for the development of this work after a reaction of derivatization is necessary for this type of analysis. In this study 8 different samples of water were investigated from 8 different properties, and found the metabolite AMPA in a concentration of 2.98 ug / L in one of them. The process of working was investigated through a questionnaire.

Although only one sample has shown a positive result, it can not be said that the population is not environmentally exposed to glyphosate and other pesticides, as there is intense application of these products in place and this is not done with proper protection. It is suggested that further studies evaluating not only water but also the air, and biological matrices, to investigate whether the effects of exposure to these substances on the health of workers from Serrinha do Mendanha.

Sumário

1- Introdução	01
2- Objetivos	16
2.1- Objetivos gerais	16
2.2 - Objetivos específicos	16
3- Metodologia	16
3.1- Área de estudo	16
3.2- Materiais, vidrarias e equipamentos	18
3.3- Reagentes e soluções padrão	19
3.4- Procedimento Experimental	19
3.5- Coleta de amostras	20
3.6- Análise estatística	21
4- Resultados e discussão	21
4.1- Otimização do método	22
4.2- Análise das amostras	37
4.3- Avaliação do processo de trabalho	38
4.4- Imagens do Trabalho de campo	43
5. Conclusão	49
6- Referências Bibliográficas	50
Anexo I	56

1- Introdução

O uso de substâncias químicas nas lavouras, visando a produção em larga escala, de modo a mobilizar outros setores da economia (indústrias de fertilizantes, agrotóxicos, insumos) foi iniciado na década de 20, em baixa escala. O crescimento do segmento se deu de fato a partir da década de 40, com a segunda guerra mundial. Com este advento no cenário global, muitas substâncias novas foram sintetizadas, com fins bélicos e, dada a sua ação biocida a agricultura passa ser um novo campo de ação para estas substâncias, após a segunda grande guerra. A produção agrícola da época, associada ao aumento progressivo da população, levou a comunidade científica à conclusão de que o mundo passaria por uma grande escassez alimentar. Com o uso das novas substâncias, hoje denominadas como agrotóxicos, estaria assegurada a diminuição das perdas nas lavouras, o conseqüente aumento das áreas produtivas ^[1].

No entanto, pouco se sabia acerca da toxicidade e dos possíveis efeitos colaterais causados pelo uso dessas novas substâncias, principalmente no que tange aos efeitos a longo prazo. Eram alardeados apenas a diminuição da escassez alimentar e o aumento da produção agrícola, utilizando-se um discurso sobre o crescimento populacional e a diminuição da fome no planeta. Essa época foi chamada de “Revolução Verde”, com a mudança das atividades agrícolas, suas tecnologias, cargas de trabalho e, seus efeitos sobre saúde e meio-ambiente, então desconhecidos ^[2].

Com o passar dos anos, a visão de que os agrotóxicos trariam apenas benefícios foi se modificando, observando-se que o uso indiscriminado dessas substâncias causava diversos males à saúde humana e ambiental, com a contaminação de rios, lagos, bacias e os seres vivos desses meios. Nessa época, houve o crescimento do movimento ambientalista que, associado ao aumento do conhecimento sobre a questão, resultou no questionamento do uso dos agrotóxicos aos fabricantes, havendo maior cobrança sobre seu uso de forma indiscriminada. Resultado de uma associação de fatores, entre eles a descoberta de sua alta toxicidade, capacidade de bioacumulação através da cadeia alimentar, além da associação a alguns tipos de câncer, os organoclorados, quem tem em seu mais “famoso” representante o DDT (Dicloro-Difenil-Tricloroetano), começaram a ser banidos em alguns países na década de 70, e na década de 80 essa proibição chegou ao Brasil ^[3]. O movimento ambientalista não foi só importante na questão dos organoclorados, mas também em inúmeras outras. Esse movimento, oriundo do século XIX, tem tido cada vez maior participação na sociedade com importantes debates com as indústrias e a camada científica. Algumas das “vitórias” obtidas a partir

destes debates foram decisivas na criação de novas políticas ambientais, tais como a diminuição nos parâmetros de valores aceitáveis da emissão de poluentes atmosféricos (CO₂, SO_x, NO_x, CFC) e as pesquisas sobre princípios ativos menos tóxicos e persistentes, no caso dos agrotóxicos.^[4]

No Brasil, os agrotóxicos são definidos de acordo com a Lei 7.802, de 11 de julho de 1989 ^[3] e o decreto regulamentador n.º 98.816, de 11/01/1990, como: *“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 implantadas, de ecossistemas e também ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da fauna e da flora, e de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos; substâncias e produtos empregados como desfolhantes, desseccantes, estimulantes e inibidores de crescimento.”*

O Brasil é, atualmente, o segundo maior consumidor mundial de agrotóxicos por área permitida ^[5]. Entre 2002 e 2007, o faturamento líquido do setor passou de US\$ 1,9 bi a US\$ 5,4 bi ^[6] e tudo indica que o crescimento deve continuar, graças ao modelo exportador de commodities agrícolas. Como segundo maior consumidor, o Brasil também sofre com o problema da intoxicação de trabalhadores e um problema grave relativo ao número de intoxicações é a subnotificação, que não permite saber ao certo o número de casos, mas, alguns autores acreditam que este número pode chegar a 25 milhões de trabalhadores/ ano apenas nos países em desenvolvimento ^[7]. Como a grande maioria dos locais onde a agricultura é exercida não possui uma rede hospitalar adequada, os agricultores muitas vezes não tem a quem recorrer. Quando há o atendimento, muitas vezes os sintomas da intoxicação por agrotóxicos são associados a outras patologias, por conta da inespecificidade dos sintomas mais comuns, contribuindo para que o número de casos notificados seja muito menor que o número de casos reais.

Os agricultores expostos podem apresentar sintomas agudos, que são os sintomas surgidos decorrentes da exposição a altas doses num curto espaço de tempo, tais como: irritação, tonturas, náuseas, vômito, cefaléia, salivação, miose, sudorese aumentada, dentre outros. Os sintomas também podem ser decorrentes da exposição crônica, que é a exposição a doses relativamente baixas, por tempo prolongado ^[8], sendo os sintomas mais comuns as lesões hepáticas, má-formação de fetos, esterilidade masculina, problemas endócrinos e tumores malignos. Daí a grande importância da avaliação da exposição (que deve ser feita de forma interdisciplinar, avaliando não só aspectos físicos, químicos e

biológicos, mas também sociais), tanto ambiental como diretamente em humanos. A avaliação humana, por meio de indicadores de efeito e de exposição pode correlacionar os dados com a avaliação ambiental, permitindo inferir se dado sintoma, queixa ou mesmo doença, pode ser relacionada à exposição a agrotóxicos. Permite ainda estabelecer um limite considerado aceitável pelas agências reguladoras para a exposição aos agentes químicos estudados. ^[9]

Com o aumento do conhecimento e o crescimento do movimento ambientalista, a indústria foi forçada a investir nas pesquisas pela busca de princípios ativos menos tóxicos ao meio ambiente, animais e ao próprio ser humano. Entre estes princípios ativos mais novos está o Glifosato (Figura I). Desde 1971, quando foi relatado primeiramente como herbicida, três tipos de glifosato vêm sendo comercializados: glifosato-isopropilamônio, glifosato-sesquisódio (patenteados por Monsanto e vendido como Roundup), e glifosato-trimesium (patenteado por ICI, atual Syngenta) ^[10]. É um herbicida classificado no Grupo IV- pouco tóxico, segundo a Organização Mundial de Saúde, que age nas plantas inibindo a enzima 5-enolpiruvilshikimate-3-fosfato sintase (EPSPS) ^[10], que faz com que aminoácidos aromáticos não sejam sintetizados, havendo acúmulo de ácido xiquímico e a impossibilidade da planta sintetizar os aminoácidos fenilalanina, tirosina e triptofano, essenciais à sua sobrevivência, ocasionando a morte do vegetal ^[11] (Figuras II, III e IV). O glifosato é um herbicida não-seletivo, sistêmico e pós-emergente e suas vendas representam em torno de 60% das vendas de herbicida em todo o planeta, totalizando uma quantia de 1,2 bilhões de dólares anuais ^[12].

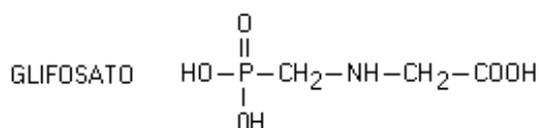


Figura I: Fórmula estrutural da molécula do glifosato

Fonte: Da Silva, Peralba & Mattos, 2003 ^[13]

O glifosato é apontado como um potencial contaminante ambiental, visto que é altamente hidrossolúvel, existindo muitos relatos de sua detecção em águas superficiais ^[14]. Entretanto, há poucos relatos de contaminação de lençóis freáticos, possivelmente por conta de sua propriedade de alta adsorção ao solo, variando essa capacidade, possivelmente, em função dos diferentes teores de íons

metálicos presentes nos mesmos^[15]. A dispersão pelo ar, juntamente à contaminação de corpos hídricos, são potenciais fontes de exposição a seres humanos, sendo de forma direta (aplicadores de agrotóxicos, agricultores) ou indireta (pessoas que se servem das águas contaminadas, por exemplo). No meio-ambiente, o Glifosato é rapidamente convertido a seu principal metabólito, o Ácido Amino-Metil Fosfônico (AMPA), que também possui baixa toxicidade, mas uma persistência maior. O AMPA é relacionado ao excesso de divisão celular nos rins e bexigas de ratos, além de provocar diminuição de peso nestes^[16].

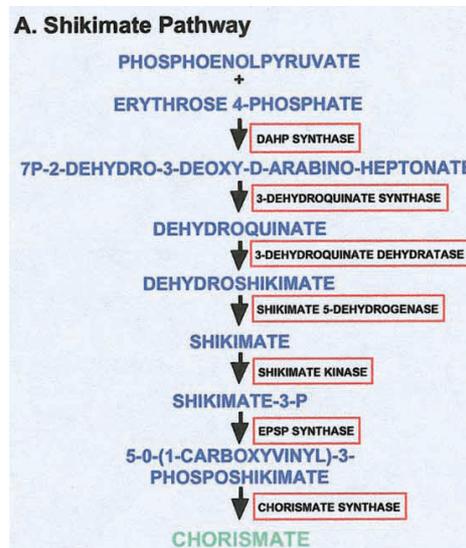


Figura II: A via do Xiquimato (Fonte: ROBERTS, C.W. et al, 2002^[11])

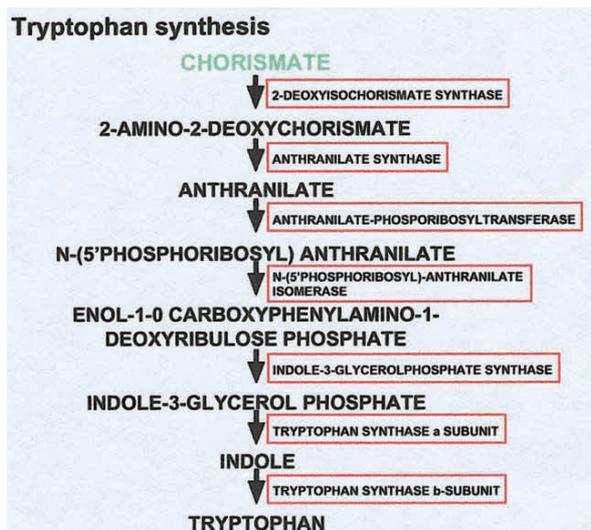


Figura III: Diagrama de blocos exemplificando a síntese do Triptofano (Fonte: ROBERTS, C.W. et al, 2002 ^[11])

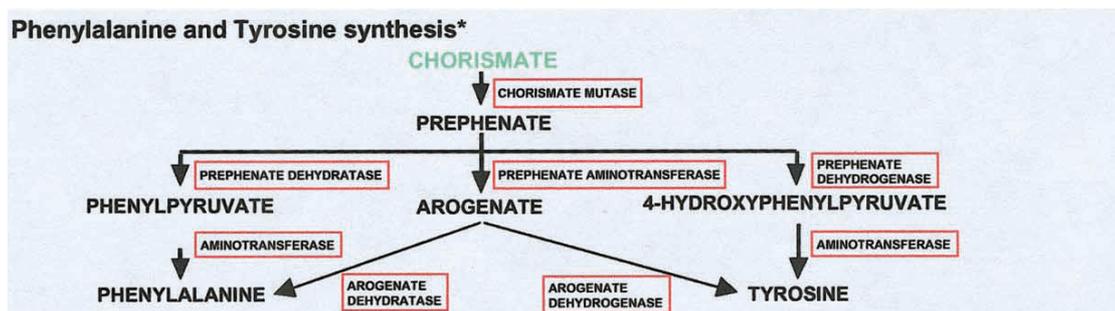


Figura IV: Diagrama de blocos exemplificando a síntese de Fenilalanina e Tirosina

Fonte: ROBERTS, C.W. et al, 2002 ^[11]

O glifosato é indicado para uso diretamente na água para controle de plantas aquáticas, controle de ervas daninhas anuais e perenes, monocotiledôneas ou dicotiledôneas, em diversas culturas, sendo seu uso mais comum no plantio de arroz e de soja ^[10]. Nesse último caso, é mais utilizado ainda, em virtude da aprovação do plantio transgênico no Brasil, em outubro de 2003 ^[17]. Como age não-seletivamente, o glifosato possui ação sobre qualquer planta. Porém, a soja transgênica utilizada nas lavouras brasileiras,

a Roundup Ready (RR), é modificada geneticamente para ser resistente ao herbicida. Desta feita, este agrotóxico pode ser usado em larga escala sobre a lavoura, visto que esta é resistente ao princípio ativo.

O plantio de soja transgênica, além de favorecer o maior consumo de glifosato e outros agrotóxicos (Ex: o fenoxiácido 2,4-D, na colheita), traz outros tipos de problemas à saúde humana e ambiental, além de graves problemas sociais. Persley ^[18] faz alusão à mitologia grega ao comparar a biotecnologia à Prometeu, Titã responsável por levar o fogo aos homens. A comparação de Persley se faz ao afirmar que o fogo, bem como a biotecnologia, traz riscos e benefícios, dependendo de seu uso. Afirma ainda que a biotecnologia seja talvez a mais importante ferramenta para a redução da pobreza e malnutrição, além do aumento da segurança alimentar. Ou seja, o discurso atual a favor dos transgênicos em muito se parece com o discurso da década de 1950, quando da Revolução Verde, onde se afirmava que o uso de agrotóxicos seria responsável por um aumento da produção agrícola e redução da fome e da pobreza no mundo, cujas “promessas” não foram completamente cumpridas, além de causarem graves efeitos à saúde do homem e do meio ambiente.

Um dos problemas relacionados ao plantio transgênico é o pouco conhecimento acerca de seus efeitos a longo prazo, tanto sobre o homem como sobre o meio-ambiente. Segundo o paradigma preventivo clássico, as inovações tecnológicas seriam sempre positivas à sociedade e o progresso, até que se prove o contrário. Assume-se então que havendo benefício líquido ao se introduzir uma nova tecnologia, esta não deve ser barrada ^[19]. Um exemplo muito claro neste caso foi a liberação do uso de organoclorados nas lavouras e seu posterior banimento. A experiência com os agrotóxicos mostra que os problemas oriundos da liberação de uma inovação tecnológica sem se conhecer a fundo seus problemas podem ser desastrosos. Em contraponto, o princípio da precaução questiona o paradigma preventivo clássico no caso das tecnologias cujas incertezas sejam elevadas. Por este novo paradigma, uma tecnologia de alto risco, como é o caso dos transgênicos, só poderia ser definitivamente adotada quando seus riscos fossem completamente conhecidos a médio e longo prazo. Este princípio tende a desacelerar a velocidade da difusão de novas tecnologias, mas também tende que essas novas tecnologias apresentem muito menos riscos à sociedade ^[19].

Porto afirma ainda que, “os efeitos da biotecnologia para a saúde humana e ambiental possivelmente representam o maior exemplo de riscos complexos e incertos da atualidade” ^[19]. Os riscos dos novos organismos geneticamente modificados (OGMs) são ainda uma incógnita e uma das maiores preocupações nesse sentido é a introdução de novas cargas genéticas no meio ambiente.

Segundo os defensores dos transgênicos, seria essa uma preocupação infundada, já que sempre houve cruzamento genético naturalmente no meio ambiente. Porém, este cruzamento natural é o chamado fluxo gênico vertical, que ocorre entre plantas da mesma espécie e não o fluxo gênico horizontal, que é a troca de genes entre espécies diferentes e que, na grande maioria dos casos, não ocorre naturalmente, pela impossibilidade de reprodução entre essas ^[19]. Poderia ocorrer, por exemplo, a “transformação” de uma lavoura não transgênica em uma lavoura transgênica, através da introdução dos genes modificados da soja transgênica na soja comum, por meio de polinização, que ocorre naturalmente. Apesar dessas preocupações, segundo Abud et al, 2007 ^[20], bastaria uma distância de 10 metros entre as plantas transgênicas e as não transgênicas para um fluxo genético menor que 1%. Ainda segundo Abud, a principal causa de contaminação cruzada entre as lavouras transgênica e não transgênica, seriam efetivamente os agentes polinizadores, tendo o vento efeito próximo de zero ^[20].

Outro ponto levantado pelos defensores das lavouras transgênicas é justamente a afirmação de que este tipo de plantio reduziria a aplicação de agrotóxicos. Segundo o Greenpeace ^[21], teriam sido descobertos anomalias e efeitos imprevistos nos cruzamentos genéticos, além da esperada redução do uso de agrotóxico e do aumento da produção nas lavouras não terem sido confirmados. Ainda segundo o Greenpeace, os dados da Monsanto[®] acerca da produtividade da soja RR não condizem com a verdade e o uso em larga escala de glifosato, estimulado pelo fato de que a lavoura é resistente a este princípio ativo, leva à redução da biodiversidade visto que destrói as plantas silvestres e, como consequência, acaba alterando o ecossistema local, já que existem animais que se alimentam dessas plantas que são extintas. O documento critica ainda a avaliação de risco feita pela empresa, que segundo o Greenpeace, não leva em conta fatores chave da avaliação como o consumo de nitrogênio da planta ou os efeitos genéticos sobre ela como um todo ^[21]. Segundo Porto ^[19], deve se questionar a quem beneficia o incentivo ao uso de transgênicos. O uso dessa tecnologia beneficiaria preferencialmente os grandes produtores, aqueles que impõem um sistema intensivo na cultura da soja e levaria à perda de competitividade do pequeno produtor, visto que com o pagamento de “royalties” às transnacionais e o uso da chamada tecnologia “terminator”, em que a planta não germina - ou seja, o produtor sempre deve comprar as sementes a cada nova safra. A liberação dos transgênicos pode acarretar no fim de um outro tipo de trabalho no campo, a agricultura familiar ^[19]. Portanto, os riscos do plantio de lavouras transgênicas não se resumem à saúde do homem e do meio ambiente, mas também mostra que pode haver um grande impacto social atrelado a si. E quanto a este impacto social,

os transgênicos seriam apenas mais um passo. O cultivo da soja comum, seja pelo uso intenso de pesticidas ou pelo simples fato da disseminação da monocultura, já é um fator muito impactante no que diz respeito à biodiversidade e à sobrevivência da agricultura familiar. A cultura transgênica seria portanto um passo à frente no sentido da dominação do agronegócio sobre a agricultura familiar ^[19].

A monocultura da soja foi favorecida no Brasil, pela época em que foi introduzida onde a sua demanda internacional era grande, pelo incentivo do governo às culturas não tradicionais e pelo fato de sua cultura requerer grande quantidade de insumos, além claro, das condições climáticas favoráveis ^[22]. Segundo Barreto, o modelo pelo qual foi implantado o cultivo de soja no Brasil foi responsável pela manutenção da estrutura agrária antiga, dos latifúndios e, logicamente, excluiu os pequenos produtores e concentrou a posse de terras, ocorrendo para isso a expulsão de muitos pequenos produtores de suas propriedades ^[22]. Viladesau, 2008 ^[23] afirma que a introdução da monocultura de soja é responsável pela perda da soberania alimentar dos locais onde ela é realizada, já que as famílias expulsas de suas terras não produzem alimentos para seu consumo e precisam fazer uma mudança radical em sua dieta normal e isso acarreta com o tempo, na perda da soberania cultural, já que uma alimentação não comum ao local é introduzida. Isso ocasiona ainda o aumento do desemprego, da fome, das diferenças sociais e da violência contra camponeses e os movimentos sociais que os representam ^[23]. Há ainda os problemas ambientais causados pelas monoculturas de modo geral, como a utilização intensiva de irrigação, ocasionando na salinização dos solos, desertificação, erosão, aparecimento de novas pragas, perda de biodiversidade, exploração de forma errada dos recursos naturais, entre outros ^[22].

Um grande problema no caso da monocultura é a intensa propaganda alardeada pelo governo federal, com um drástico incentivo ao agronegócio e a expansão das áreas de cultivo de soja. Em “Projeções do agronegócio, Mundial e Brasil 2006/07 a 2016/17” ^[24], do Ministério da Agricultura, não se fala em um só momento de desenvolvimento sustentável, mas sim de bater metas, recordes e de tornar o Brasil o maior exportador mundial em 10 anos, não citando no texto, a que preço isso deve ocorrer. As figuras V, VI, VII e VIII ilustram bem isso.

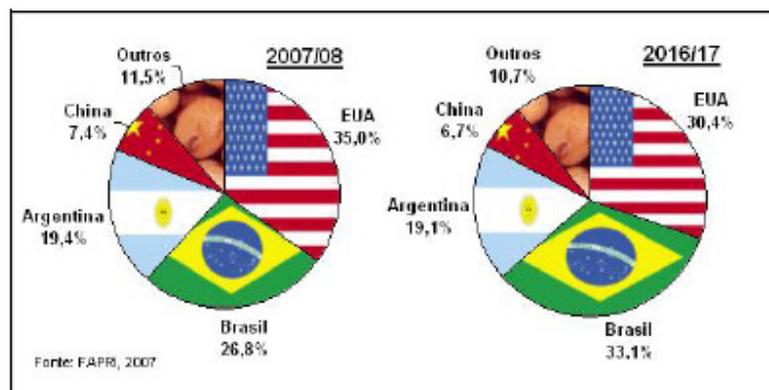


Fig.V: Distribuição da produção mundial de soja por país

Fonte: Projeções do agronegócio, 2006 ^[24]

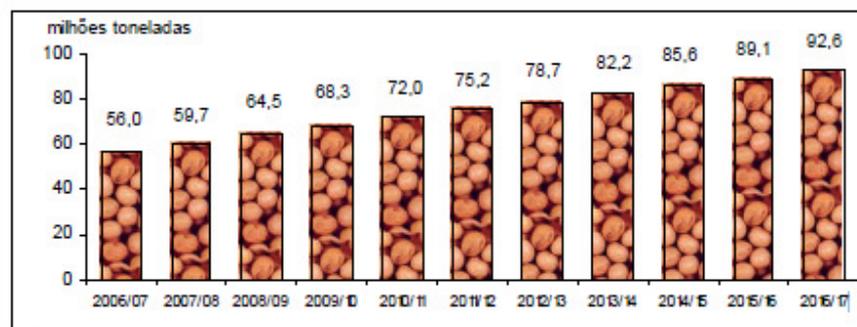


Fig.VI: Produção brasileira de soja, em grãos

Fonte: Projeções do agronegócio, 2006 ^[24]

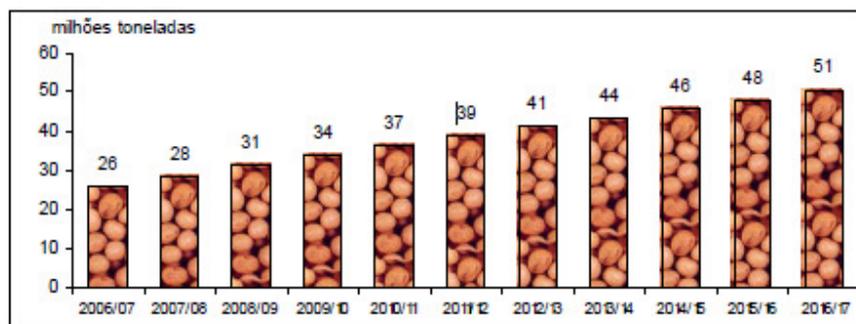


Fig. VII: Exportações brasileiras de soja em grãos

Fonte: Projeções do agronegócio, 2006 ^[24]

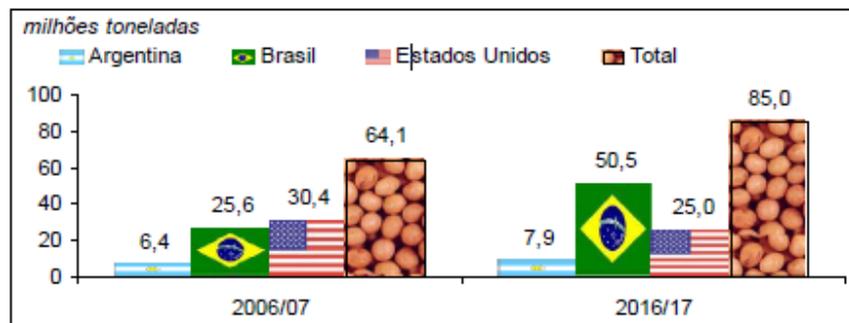


Fig. VIII: Quadro comparativo das exportações de soja em grãos

Fonte: Projeções do agronegócio, 2006 ^[24]

Com os impactos sociais, econômicos e ambientais da monocultura de soja bem estudados e sabidos, ainda existem os efeitos ambientais do uso do Glifosato, que, a longo prazo, são desconhecidos. Além disso, a aplicação de forma indiscriminada gera diversas fontes de exposição a seres humanos, sendo necessários mais estudos que façam esse tipo de avaliação.

O Glifosato é considerado específico para sua função e, teoricamente, sem riscos para humanos. Outro problema que ocorre é que essa substância, bem como os outros agrotóxicos, possui uma quantidade definida a ser utilizada no campo (0,36 a 2,16 mg/L)^[25], que na maioria das vezes, não é respeitada por quem aplica, o que pode acarretar num “excesso” de exposição ao herbicida, sendo que o manuseio errado de agrotóxicos é um dos principais causadores de acidentes de trabalho no campo^[26]. Apesar da propalada inofensividade atribuída pelos fabricantes, diversos efeitos colaterais à saúde humana vem sendo associados à sua exposição, citando alguns exemplos abaixo:

Desreguladores Endócrinos

Desreguladores endócrinos são agentes químicos sintéticos que, ao serem absorvidos pelo organismo, mimetizam ou bloqueiam hormônios e alteram (desregulação) as funções orgânicas normais. Estas alterações ou disrupções podem ser de diversas naturezas, tais como o estímulo à produção de hormônios, a alteração nos níveis normais dessas substâncias, alterações no mecanismo de transporte desses hormônios etc.

Diversos agentes químicos vem sendo associados à desregulação endócrina. Dentre estes, diversos agrotóxicos, como o DDT, os PCBs e alguns de seus sub-produtos, como as dioxinas, têm sido apontados – em estudos laboratoriais em diversas espécies de animais e com células humanas *in vitro* – como potenciais agentes de desregulação endócrina, os chamados “desreguladores” endócrinos”^[27].

Hokanson et al, 2007^[28]; sugerem que os níveis de estrógenos são desregulados pelo glifosato, causando alteração da expressão dos genes EGR-1, CXCL12 e HIF-1, (genes estrogênio-dependentes). Esses genes são responsáveis por diversas funções fisiológicas no organismo, e sua alteração, na presença do glifosato, pode acarretar a indução de apoptose celular em tecido cerebral e miocárdico, aumento da angiogênese em tumores, isquemia retinal, hipertensão, pré-eclâmpsia, retardo do crescimento fetal e inativação de genes supressores de tumor, entre outras.

Daruich et al, 2001^[29]; mostram que ratas expostas ao glifosato durante o período de gravidez, apresentaram diversas alterações enzimáticas, bem como em seus fetos. Isso significa a alteração de importantes funções no organismo, pois essas enzimas atuam em diferentes órgãos, como cérebro, fígado e coração. Particularmente no caso dos fetos, a inibição em qualquer dessas funções, principalmente a cerebral, pode gerar seqüelas para o resto da vida. Foi mostrado ainda que os animais apresentavam perda de peso, diminuição no consumo de água e comida, além da diminuição no tamanho do fígado. A toxicidade às mães foi demonstrada pelo número aumentado de abortos ou mortes, ocasionados pela exposição ao herbicida.

Richard et al, 2005^[30]; sugerem que o glifosato atua como inibidor da enzima Aromatase, no Citocromo P-450, em seres humanos. Essa enzima é de fundamental importância na síntese de estrógenos. O mesmo estudo mostra ainda uma comparação entre os efeitos do glifosato isoladamente e do Roundup, produto comercial que tem o glifosato como princípio ativo, mas que apresenta outros componentes adjuvantes na fórmula. Os resultados dessa comparação mostram que o Roundup é mais nocivo à saúde, possivelmente por efeito sinérgico entre o glifosato e os adjuvantes do produto. Então, o Roundup atua mais fortemente como inibidor enzimático/disruptor endócrino que o princípio ativo isolado, sendo que os resultados de inibição da Aromatase aparecem mesmo em doses cem vezes menores que as recomendadas pelo fabricante, para o uso na lavoura.

Em um estudo com aves, **Oliveira et al, 2006**^[31], mostram a alteração da morfologia dos testículos e do epidídimo, bem como a alteração nos níveis séricos de estradiol e testosterona nesses

animais. Os resultados apresentaram relação dose-resposta, mostrando que o herbicida glifosato pode causar problemas reprodutivos a longo prazo.

Benachour et al, 2006 ^[32]; fazem relação entre o aumento da citotoxicidade do glifosato, bem como sua ação como desregulador endócrino, e o tempo de exposição, mostrando que a exposição prolongada ao herbicida pode levar a sérios problemas de cunho reprodutivo em seres humanos. O autor afirma que os efeitos tóxicos, incluindo os de disrupção endócrina, de diversas substâncias, podem estar sendo subestimados ao não se levar em conta sua interação com adjuvantes presentes na fórmula, bem como com outros princípios ativos, levando a graves erros na elaboração de políticas regulatórias para tais produtos.

Desregulação do ciclo celular

O ciclo celular é o processo pelo qual as células se reproduzem. Ele é fundamental no desenvolvimento dos organismos animais e vegetais e é o que torna possível o crescimento e desenvolvimento dos mesmos. Esse ciclo se divide em: Fase S, onde ocorre a síntese de DNA; fase M, onde há divisão dos pares de cromossomos para cada uma das células-filhas; fase G1, onde há a conexão entre a conclusão da fase M e o início da fase S e fase G2, que separa as fases S e M (Figura IX) . Cada fase possui um “checkpoint”, mediado por proteínas chamadas ciclinas (Figura X). A desregulação se dá nesse processo mediador, o que acaba por alterar o tempo de cada fase, ocasionando na divisão da célula com replicação incorreta do DNA ou com segregação incorreta de cromossomos para as células-filhas. Essas falhas promovem instabilidade genômica e o desenvolvimento de câncer a partir da célula alterada inicialmente. A desregulação do ciclo celular é considerada como uma forte evidência do aparecimento de células tumorais e câncer em seres humanos ^[33].

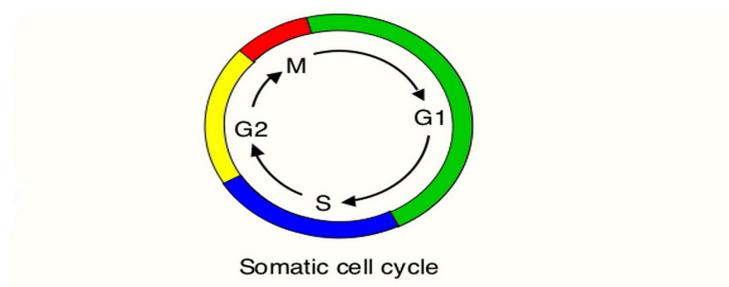


Figura IX : Representação de ciclo celular normal de células somáticas

Fonte: VAN DEN HEUVEL, S.; 2005^[33]

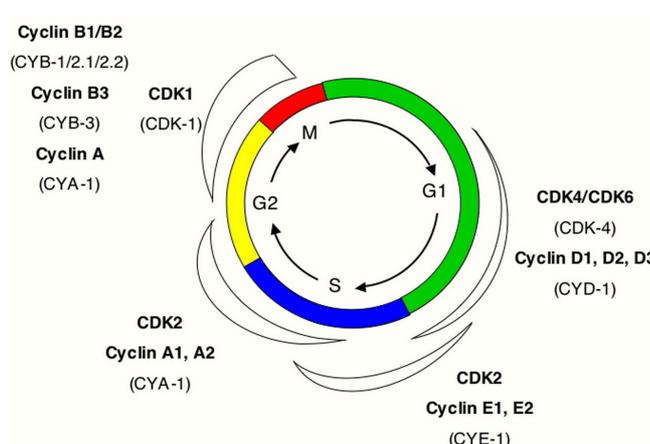


Figura X: Representação do ciclo celular, com suas fases bem definidas e com suas durações e transições mediadas pelas ciclinas.

Fonte: VAN DEN HEUVEL, S.; 2005^[33]

Marc et al, 2002^[34]; fizeram um estudo utilizando células embrionárias de ouriço do mar. Neste estudo, os autores demonstram os efeitos do Roundup sobre o ciclo celular. O resultado encontrado mostra que o herbicida atua efetivamente na desregulação do ciclo, demonstrando sua ação como gerador de células tumorais, utilizando concentrações bem acima das recomendadas para uso nas lavouras. Como o mecanismo do ciclo celular é o mesmo, desde células eucarióticas primitivas até seres complexos como os mamíferos, os resultados levam a questionar se a saúde humana poderia ser afetada da mesma forma pelo produto comercial contendo glifosato. Além disso, o próprio fato de afetar os ouriços sugere que estes animais podem ser utilizados como indicadores ambientais de

exposição ao Roundup ou qualquer outro produto comercial com glifosato. Isto porque o glifosato isolado não mostrou efeitos no mesmo sentido. Foi então observado efeito sinérgico entre o glifosato e os adjuvantes da fórmula, sendo desconhecidos os efeitos exatos dessa interação na saúde humana e também da interação entre o glifosato e outros agrotóxicos, além da observação de que, quanto maior o tempo de exposição, maiores os efeitos observados nas células. O estudo sugere ainda que todas as espécies expostas a agrotóxicos contendo glifosato podem estar sujeitas a um possível desenvolvimento de tumores, visto que o mecanismo do ciclo celular é comum a todos os organismos vivos.

Marc et al, 2004 ^[35]; organizaram um estudo sobre os efeitos de diferentes produtos comerciais contendo o glifosato como princípio ativo sobre a regulação do ciclo celular, em comparação com o Roundup. Os resultados obtidos mostraram que todos os produtos atuavam de maneira similar, causando retardamento nas fases do ciclo celular, ocasionando em replicação errônea do DNA e/ou segregação de segmentos errados de cromossomos para as células-filhas. Isso demonstra que não só o Roundup, mas todos os produtos contendo glifosato em sua fórmula atuam da mesma maneira sobre as células somáticas. Mostra que, a possibilidade levantada de o glifosato interagir sinergicamente com os demais componentes da formulação dos produtos comerciais é de grande plausibilidade. As doses para aparecimento de efeitos adversos em pelo menos uma célula variaram entre as cinco marcas testadas, indo de 10 uM até 120 uM. Uma vez que a dose recomendada pelo fabricante é de 40mM, pode-se afirmar que a exposição se dá a doses, pelo menos, 360 vezes maiores que a dose onde começam a ocorrer as primeiras alterações celulares. Isso sem considerar possíveis sinergismos com outros princípios ativos, tempo de exposição, exposição crônica e que, as doses aplicadas, usualmente, são maiores do que as recomendadas pelos fabricantes. O estudo diz ainda que a aplicação também pode ser perigosa para os locais vizinhos a aplicação, uma vez que o produto se dispersa facilmente pelo ar e é bem absorvido por via inalatória. Por fim, os autores afirmam que o método desenvolvido por eles é capaz de detectar as alterações celulares causadas pela exposição a produtos contendo glifosato em um estágio prematuro.

Dermatite

Dermatite é definida como uma inflamação da pele, acompanhada de prurido ou dor, com aparecimento de vermelhidão, inchaço, exsudação, bolhas ou escamas. Entre os agentes químicos mais frequentemente associados à sintomatologia da dermatite, estão os agrotóxicos.

Durante a aplicação desses produtos nas lavouras, o órgão mais exposto dos trabalhadores é a pele, principalmente quando não há o uso adequado dos EPIs, prática muito comum entre os aplicadores. A exposição dérmica também pode acontecer durante a solubilização do princípio ativo e preparação da “calda” a ser usada. A situação se agrava pelo fato de que, ao haver a exposição, a limpeza do local não é feita no momento em que o agrotóxico entra em contato com o corpo, mas sim ao fim do dia, com um simples banho e troca de roupas.

Um grande número de agrotóxicos vêm sendo associados ao aparecimento de tais sintomas, dentre eles, o Glifosato. **Penagos et al, 2004** ^[36]; em estudo feito com trabalhadores de uma plantação de bananas, no Panamá, mostram que uma considerável percentagem dos expostos a glifosato e outros agrotóxicos, apresentavam sinais de doenças cutâneas. Os autores sugerem a introdução de um teste que identifique os trabalhadores sensíveis dermicamente a esses compostos. Os testes apresentaram resultado positivo para 41% dos trabalhadores diagnosticados como tendo doenças cutâneas. O estudo conclui que as dermatites são uma doença ocupacional comum nos trabalhadores das áreas agrícolas do Panamá. Os autores sugerem ainda, que os testes sejam aprimorados e feitos mais freqüentemente a trabalhadores que sofram uma grande carga de exposição a agrotóxicos.

Wester et al, 1996 ^[37]; relatam, em seu estudo sobre a absorção cutânea do Glifosato e do Malathion, presentes em roupas de algodão, uma via de contaminação importante relacionada ao desenvolvimento de dermatites. Esse estudo foi motivado por conta de, na Guerra do Golfo, soldados americanos terem apresentado grande número de sintomas de problemas dérmicos e intoxicações. Isso foi explicado pelo fato dos uniformes, durante sua fabricação, terem sido submetidos a exposição a agentes químicos para evitar a contaminação das roupas por parte de insetos. Juntando a isso, o fato de que, não apenas uniformes de guerra, mas também roupas comuns sofrem exposição a agentes químicos para coloração de tecido e controle de insetos, tal estudo se mostra muito relevante. Os resultados obtidos sugerem que há absorção cutânea, tanto do Glifosato, quanto do malathion, podendo esses agentes chegarem até mesmo à circulação sistêmica.

Outro fato importante no que diz respeito à absorção de agentes químicos pela pele, é a exposição dos trabalhadores a agrotóxicos. Muitas vezes, esses trabalhadores dão preferência à roupas de algodão, em detrimento do EPI, que efetivamente o protegeria. Isso mostra o quanto eles se expõem utilizando um tipo de roupa inadequado não só por conta da falta de proteção, mas também, por reter os agrotóxicos e prolongar a exposição do aplicador a esses agentes.

2- Objetivos

2.1- Objetivos gerais

- Avaliar o processo de contaminação ambiental por glifosato na área agrícola da Serrinha do Mendanha, uma área rural periurbana.

2.2- Objetivos específicos

1. Avaliar o processo de trabalho e correlacioná-lo com as concentrações observadas nas matrizes.
2. Avaliar as diferenças no processo de trabalho da área periurbana em relação à área exclusivamente rural.
3. Desenvolver e otimizar um método de análise para o glifosato em água, o agrotóxico mais utilizado nesta região.

3- Metodologia

3.1 - Área de estudo



Figura XI: Foto de satélite da área agrícola estudada. Fonte: Google Earth

A comunidade agrícola estudada se localiza na Serrinha do Mendanha (Figura XI), pertencente ao bairro de Campo Grande, município do Rio de Janeiro, e é considerada como uma extensão da Serra do Mendanha. O município do Rio de Janeiro tinha, em 1999, apenas 4,1% de área destinada às pastagens e culturas, segundo a Secretaria Municipal do Meio Ambiente, 2006. Campo Grande, no entanto, não tem parte reconhecidamente destinada à agricultura ^[26].

Essa comunidade é considerada como periurbana, apesar das características comuns às comunidades agrícolas, devido à proximidade de centros urbanos ^[26].

O local é caracterizado pela presença de pequenas propriedades, onde as principais culturas são as de chuchu, abobrinha, banana, aipim, jiló e quiabo.

A tabela I mostra os agrotóxicos mais utilizados na referida área, em estudo realizado por BRITO, P.F.; GOMIDE, M. & CÂMARA, V., 2006 ^[26].

Tabela I: Agrotóxicos mais utilizados na área agrícola da Serrinha do Mendanha, Fonte: BRITO, P.F.; GOMIDE, M. & CÂMARA, V., 2006 ^[26]

Nome comercial	%Uso	Grupo químico	Classe
Roundup (Glifosato)	62,20	Glicina substituída	Herbicida
Gramoxone (Paraquat)	45,90	Amônio quaternário	Herbicida
Hosthation	37,80	Organofosforado	Acaricida
Decis	16,20	Piretróide	Inseticida
Confidor	16,20	Piretróide + neonicotinóide	Inseticida
Piredan	10,80	Piretróide	Acaricida
Tamaron	10,80	Organofosforado	Acaricida

O procedimento inicial, após a aprovação pelo Comitê de Ética e da Fundação Oswaldo Cruz (parecer número 171/08), foi o contato com a Associação de Moradores, vinculada ao Sindicato Rural da cidade do Rio de Janeiro. Foram coletadas 8 amostras de água de 8 propriedades diferentes, em garrafas de vidro de 1000 ml, mantidas sob refrigeração até o laboratório e em seguida congeladas até o

momento da análise. Os trabalhadores foram entrevistados e responderam a um questionário com a finalidade de coletar informações acerca do uso dos agrotóxicos e avaliar o processo de trabalho.

3.2- Materiais, vidrarias e equipamentos

- Tubo graduado de 25 mL
- Vials de 1,5 mL
- Microvials de 0,4 mL
- Becher de 50 mL
- Becher de 250 mL
- Becher de 1000 mL
- Pipeta volumétrica de 1,00 mL
- Balão volumétrico de 5,00 mL
- Balão volumétrico de 50,00 mL
- Funil
- Bastão de vidro
- Pipetas Pasteur
- Vials âmbar com tampa de rosca, com capacidade de 4 mL
- Crimper para fechamento dos vials
- Decrimper para abertura dos vials
- Pipeta automática de volume ajustável, faixa de 2 a 20 uL
- Pipeta automática de volume ajustável, faixa de 20 a 200 uL
- Pipeta automática de volume ajustável, faixa de 100 a 1000 uL
- Proveta de 50 mL
- Ultra-som modelo 5210 da marca Branson
- Frascos de coleta de 1000 mL
- Cromatógrafo gasoso 6850, com um quadrupolo com impacto de elétrons, acoplado a um espectrômetro de massas 5973, ambos da marca Agilent

- Rotavapor BÜCHI, modelo R-144
- Vacuum controller BÜCHI V-800
- Bloco de alumínio DB-3D para aquecimento, da marca Techne
- Ponteiras para pipetas automáticas

3.3- Reagentes e soluções padrão

- Glifosato, marca Accustandard, lote 11414
- AMPA, marca Fluka lote 426845/1
- Água milli-Q
- Ácido clorídrico P.A., marca VETEC, lote 920418
- Metanol marca VETEC, lote 0607351
- Acetato de Etila ,da marca MERCK, lote 1008681000
- Acetona, da marca TEDIA lote 603209R
- Hexano, da marca TEDIA lote 712182R
- Anidrido Triflúor-acético da marca SIGMA-ALDRICH, lote 11911BJ
- Triflúor Etanol da marca SIGMA-ALDRICH, lote 546786-128

Foram preparadas soluções-padrão de glifosato e AMPA, variando de 1 ug/L até 510 mg/L.

3.4- Procedimento Experimental

O método utilizado foi o descrito por STALIKAS, PILIDIS & KARAYANNIS, 2000 ^[38], com adaptações em função da realidade do laboratório, e é realizado de acordo com as seguintes etapas:

Um volume de 50,00 mL de amostra são transferidos para um tubo graduado de 25 mL, de 10 em 10 mL; da seguinte forma: 10 mL são adicionados ao tubo e levados à secura. Então, mais 10 mL são adicionados e levados à secura, e assim sucessivamente até que os 50 mL da amostra sejam evaporados. O tubo é levado a um aparelho rotaevaporador, a 55°C de temperatura e 20 mbar de pressão, até completa secura. Ao atingir a secura, a amostra é ressuspensa em 0,2 mL de Anidrido

Tri-flúor acético (TFAA) e 0,1 mL de Tri-flúor etanol (TFE), com cuidado para rinsar muito bem as paredes do tubo. Os tubos são levados ao ultrassom por 5 minutos. Após essa etapa, o conteúdo dos tubos é transferido para microvials de 400 uL com auxílio de uma pipeta. Os microvials são inseridos em vials maiores e levados a aquecimento em bloco de alumínio por 1 hora, a 100°C. Os vials são retirados, aclimatados, abertos e levados à secura sob jato de N₂, onde permanecem por mais 5 minutos após a secura aparente ser atingida. São adicionados 0,3 mL de Acetato de Etila a cada vial. Os vials são novamente levados ao ultrassom, por 5 minutos e em seguida analisados por CG-EM no modo SIM (modo seletivo de íons), uma hora após a adição de Acetato de Etila.

As condições cromatográficas foram definidas a partir do método de ROYER et al, 2000^[39], chegando-se ao seguinte resultado:

- A fase móvel deve ser o gás Hélio, a fluxo constante de 1mL/minuto(min).
- Rampa do forno: 60°C, por 1 minuto, indo até 260°C, onde permanece por 1 minuto, a 34°C/min. O tempo total da corrida é de 7,88 minutos.
- 2µL da amostra devem ser injetados no modo “splitless”, a uma temperatura de operação do injetor de 200°C.
- O “transfer line” deve estar a 280°C.

3.5- Coleta de amostras

As amostras foram coletadas em oito diferentes propriedades, de diferentes locais, em três diferentes visitas e três datas diferentes, de acordo com a aplicação dos agrotóxicos. Foram coletadas águas de açude (Pontos 1; 2; 5 e 8, dos quais os pontos 2 e 8 ainda eram usados para criação de peixes); águas de rio (Pontos 3 e 4), água encanada vinda de uma cachoeira próxima (Ponto 6) e água retida entre os sulcos da lavoura (Ponto 7). As análises foram feitas em duplicata.

3.6- Análise estatística

Foi utilizado o programa estatístico SPSS versão 13.0 para a análise descritiva das variáveis do questionário, e para os testes de comparação de médias nos procedimentos de otimização do método (teste-t de Student).

4- Resultados e discussão

Um método analítico foi desenvolvido e otimizado para a determinação do Glifosato em água. Os procedimentos encontrados, que mais facilmente se ajustavam à realidade do Laboratório do CESTEH/ENSP/FIOCRUZ/MS, foram os descritos por SOUZA et al, 2005^[16]; ROYER et al, 2000^[39] e STALIKAS, PILIDIS & KARAYANNIS, 2000^[38], que permitem a identificação e quantificação tanto de Glifosato quanto de AMPA, seu principal metabólito, através da junção de duas técnicas: a Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM). Como o Glifosato e o AMPA são moléculas de baixa volatibilidade, e para esse tipo de análise é necessário que as moléculas-alvo sejam voláteis, foi necessário incluir uma reação de derivatização, como a descrita por Borjesson & Torstensson, 2000^[40] (Figura XII) para alcançar este objetivo.

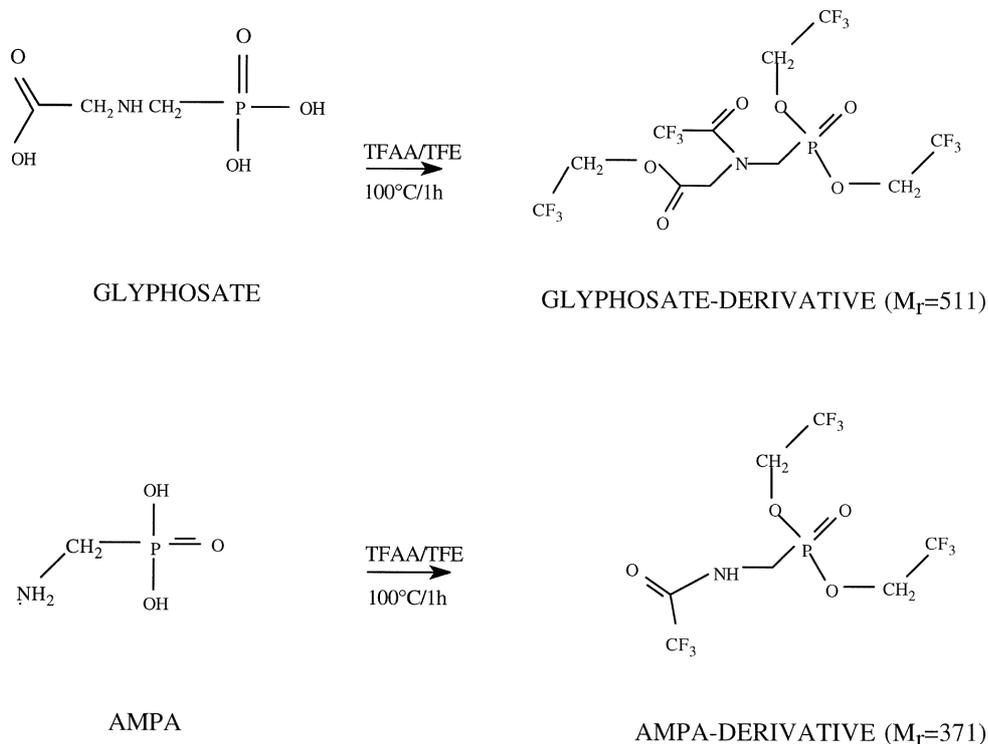


Figura XII: Reação de derivatização do glifosato e do AMPA com TFAA e TFE
Fonte: BÖRJESSON & TORSTENSSON, 2000 [40]

Até se chegar ao procedimento descrito no item 3.4, tido como o ideal para a análise no Laboratório do CESTEH/ENSP/FIOCRUZ/MS, muitas variações foram testadas, seja alterando a quantidade de reagentes, o tempo de aquecimento ou mesmo os frascos onde seriam feitas as análises. Segue agora uma compilação dos métodos, testes e resultados obtidos para os mesmos até se chegar ao procedimento final.

4.1- Otimização do método

A primeira etapa foi a verificação da aplicabilidade da reação de derivatização, por meio de testes. Nesse procedimento, uma alíquota pré-definida de padrão das duas substâncias foi levada a um pequeno frasco (vial) e colocada sob fluxo de Nitrogênio (N_2) até atingir total secura. Após essa etapa,

0,8 mL de Anidrido Tri-flúor acético (TFAA) e 0,4 mL de Tri-flúor etanol (TFE) foram adicionados aos vials, que foram então levados ao ultrassom por 5 minutos e em seguida a aquecimento em bloco de alumínio por 1,5 hora, a 100°C. Passado o referido tempo, os vials foram retirados, aclimatados, abertos e levados novamente à secura sob jato de N₂, permanecem por mais 5 minutos após atingirem total secura. Após a secura, 1,0 mL do solvente Acetato de Etila foi adicionado a cada vial, que foi fechado e guardado em freezer por 24 horas, até a injeção no CG-EM, com as condições iguais as descritas por ROYER et al, 2000^[39]:

- A fase móvel deve ser o gás Hélio, a fluxo constante de 1mL/minuto(min).
- Rampa do forno: 80°C, por 1,5 minutos, indo até 260°C, onde permanece por 1 minuto, a 30°C/min. Uma segunda rampa é colocada de 260°C a 300° C, também a 30°C/min. O tempo total da corrida é de 9,83 minutos.
- 2µL da amostra devem ser injetados no modo “splitless”, a uma temperatura de operação do injetor de 200°C.
- O “transfer line” deve estar a 280°C.

Nessas etapas iniciais, a injeção no CG-EM foi feita no modo “SCAN”, que rastreia todas as espécies presentes na amostra. Sendo assim, a identificação do produto desejado se dá pela comparação com a literatura, através dos íons, de acordo com a massa de cada um, tidos como específicos para a identificação de substâncias. Além disso, foi realizada uma análise em branco, isto é, contendo todos os reagentes exceto Glifosato e AMPA, onde esperava-se visualizar o espectro sem a formação dos íons característicos sugeridos pela literatura, o que foi confirmado. Foi verificada também a plausibilidade da formação dos fragmentos, analisando teoricamente cada possibilidade de formação através da quebra da molécula do produto derivatizado. Após a identificação do tempo de retenção de cada analito e a do Target-Ion (íon de maior abundância no fragmentograma) e dos íons qualificadores (outros íons presentes em quantidade abundante, no caso, sendo adotados 3 íons para cada analito), passou-se a utilizar o SIM (modo seletivo de íons), onde se programa o equipamento para rastrear apenas os íons desejados, aumento a sensibilidade e a especificidade do método. Neste caso, segundo STALIKAS, PILIDIS & KARAYANNIS, 2000^[38], o Target-Ion para o Glifosato é o de massa 113, e seus

qualificadores os de massa 511 (Molecular- mostra a formação da molécula desejada na derivatização), 411 e 238. O Target-Ion para o AMPA é o 126, e seus qualificadores o 371(molecular), 302 e 246.

Tendo se observado na etapa anterior a formação dos picos desejados e o aparecimento de todos os íons-alvo desejados no espectro (Anexo I) muito semelhantes aos da referência STALIKAS, PILIDIS & KARAYANNIS, 2000^[38], partiu-se para a segunda etapa. Nesta, os testes repetiram todo o procedimento original, partindo-se de 50,00 mL de água e não iniciando o método da etapa de derivatização, a fim de verificar se a identificação no CG-EM ocorreria de forma satisfatória após a aplicação do método completo. Assim sendo, antes do procedimento da reação, foi realizada a concentração de alíquotas de 50,00 mL de água milli-Q contaminada com glifosato e AMPA, a 10 µg/L . Dessa forma, 50,00 mL de amostra foram transferidos para um balão de fundo redondo, levado a um aparelho rotaevaporador, a 55°C de temperatura e 35 mbar de pressão, até completa secura. Ao atingir esse objetivo, a amostra foi ressuspensa em 1 mL de mistura água-metanol-HCl (160:40:2,7)^[40] e o conteúdo do balão foi transferido para um vial, de onde segue para a já descrita etapa de derivatização.

Os testes envolvendo a etapa de concentração também mostraram resultados satisfatórios, com o aparecimento dos picos característicos das duas substâncias para uma concentração inicial de até 10 µg/L dos analitos em questão (Anexo I) sendo que o limite de detecção encontrado por STALIKAS, PILIDIS & KARAYANNIS, 2000^[38] foi de 0,09 µg/L.

Na terceira etapa, iniciou-se a comparação entre os métodos e o primeiro parâmetro a ser comparado foi a quantidade de reagentes derivatizantes a ser utilizada. Enquanto STALIKAS, PILIDIS & KARAYANNIS, 2000^[38] descrevem um procedimento com 200 µL de TFAA e 100 µL de TFE e apenas 0,3mL de volume final para ressuspensão; ROYER et al, 2000^[39] fazem uso de 800 µL de TFAA e 400 µL de TFE, além de um volume final de ressuspensão de 1,0 mL. Juntamente com esse teste, foram comparados também os resultados de acordo com os dias de injeção (Mesmo dia da reação- dia 00, dia seguinte à reação-dia 01)

A análise foi feita em triplicata e os resultados obtidos para as áreas dos picos obtidos estão apresentados nas tabelas II, III, IV e V.

Tabela II – Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para o dia 00 e com menor quantidade de reagentes, segundo STALIKAS, PILIDIS & KARAYANNIS, 2000^[38]

Substância	N	Média	DP	CV(%)
Glifosato	3	1779068	2735889	15,38
AMPA	3	3718520	954571	25,67

DP = Desvio-Padrão

CV = Coeficiente de variação (DP / Média X 100)

Tabela III – Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para o dia 00 e com maior quantidade de reagentes, segundo procedimento de ROYER et al, 2000^[39]

Substância	N	Média	DP	CV(%)
Glifosato	3	2252803	1426266	63,31
AMPA	3	2909288	1992901	68,50

DP = Desvio-Padrão

CV = Coeficiente de variação (DP / Média X 100)

Tabela IV – Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para o dia 01 e com menor quantidade de reagentes, segundo STALIKAS, PILIDIS & KARAYANNIS, 2000^[38]

Substância	N	Média	DP	CV(%)
Glifosato	3	1871321	270776	14,47
AMPA	3	3949486	890883	22,56

DP = Desvio-Padrão

CV = Coeficiente de variação (DP / Média X 100)

Tabela V – Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para o dia 01 e com maior quantidade de reagentes, segundo procedimento de ROYER et al, 2000^[39]

Substância	N	Média	DP	CV(%)
Glifosato	3	2433850	1288547	52,94
AMPA	3	3003936	2121751	70,63

DP = Desvio-Padrão

CV = Coeficiente de variação (DP / Média X 100)

Com isso, chegou-se à conclusão que a melhor quantidade de reagente é a descrita por STALIKAS, PILIDIS & KARAYANNIS, 2000^[38], haja visto que as variações obtidas entre as triplicatas foram muito menores. As maiores médias de picos do AMPA também foram obtidas para esse procedimento. O procedimento realizado como o descrito por ROYER et al, 2000^[39], apresentou as maiores médias para os picos do Glifosato, porém sem diferença significativa estatisticamente. O mesmo pode ser afirmado para as diferenças nos resultados entre dia 00 e dia 01. Apesar dos resultados do dia 01 terem sido maiores, não há diferença significativa estatisticamente entre esses resultados e os do dia 00. Então, pode-se afirmar que a melhor quantidade de reagente é 200 µL de TFAA e 100 µL de TFE, além de um volume final de 0,3 mL de Acetato de Etila. Também pode-se afirmar que a injeção no CG-EM pode ser feita no dia 00 ou no dia 01, pois não há diferença significativa, segundo teste t, entre os resultados dos dois dias, sendo que, devido à maior praticidade e rapidez, escolheu-se fazer a injeção no dia 00, ou seja, o mesmo dia onde a reação de derivatização é feita. Todos os testes foram realizados com a concentração de 10 µg/L

Com a seleção do procedimento STALIKAS, PILIDIS & KARAYANNIS, 2000^[38], outra variável foi testada: Tempo de aquecimento. Nesse procedimento, vials em duplicata de mesma concentração foram testados para três tempos diferentes: 30, 60 e 90 minutos. Os resultados foram os seguintes, para a concentração de 10 µg/L, de acordo com as áreas de pico obtidas:

Tabela VI – Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para o tempo de aquecimento de 30 minutos

Substância	N	Média	DP	CV(%)
Glifosato	2	2131741	259558	12,18
AMPA	2	1566842	598951	38,23

DP = Desvio-Padrão

CV = Coeficiente de variação (DP / Média X 100)

Tabela VII – Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para o tempo de aquecimento de 60 minutos

Substância	N	Média	DP	CV(%)
Glifosato	2	2866867	72619	2,53
AMPA	2	2264288	30829	1,36

DP = Desvio-Padrão

CV = Coeficiente de variação (DP / Média X 100)

Tabela VIII – Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para o tempo de aquecimento de 90 minutos

Substância	N	Média	DP	CV(%)
Glifosato	2	2597142	648360	24,96
AMPA	2	1849001	112467	6,08

DP = Desvio-Padrão

CV = Coeficiente de variação (DP / Média X 100)

Com os resultados obtidos, chegou-se à conclusão de que o melhor tempo para o aquecimento a 100°C é o de 60 minutos (1 hora), tendo em vista os resultados obtidos (maiores médias para ambos os analitos e menor coeficiente de variação).

As condições cromatográficas escolhidas foram as descritas por ROYER et al, 2000^[39], já que as outras descrições feitas envolviam mais do que os dois analitos em questão. No entanto, visando um menor tempo de injeção dos analitos, observando o comportamento das substâncias desejadas no espectro, algumas etapas da chamada “rampa” (variação de graus Celsius em função do tempo em minutos) foram modificadas, de forma a diminuir o tempo total da corrida de 9,83 minutos para 7,88 minutos, conforme descrito em “Procedimento Experimental”.

Um outro problema encontrado era a ressuspensão realizada após a etapa de concentração em rotaevaporador. Nos testes descritos até aqui, após o balão de 500 mL atingir a secura, 1,00 mL de uma mistura água:metanol:HCl, na proporção 160:40:2,7 era adicionada a fim de ressuspender os analitos, que, após transferência para um vial, eram secos sob jato de N₂, e só então era realizada a adição dos agentes derivatizantes. Este procedimento gerava perdas muito grandes. Dos 1,00 mL adicionados ao balão, apenas algo em torno de 0,6 mL conseguiam ser recuperados. Ou seja, já havia uma perda inicial de 40% no método. A fim de mudar isso, decidiu-se substituir o balão por um tubo de 25 mL, de modo que as evaporações fossem feitas de 10 em 10 mL. Com isso, os 1,00 mL adicionados eram recuperados praticamente em sua totalidade, eliminando uma perda bem visível. O inconveniente passou a ser então o tempo. O que levava antes cerca de 20 minutos para evaporar, passou a levar 1 hora e 20 minutos. Como era impossível alterar o tempo da evaporação, decidiu-se testar novas proporções nos solventes utilizados para a ressuspensão. Isso porque, a secagem em N₂ da etapa seguinte também demandava muito tempo. Testou-se então quatro novas possibilidades, além da já utilizada: Metanol:HCl 200:2,7; água:metanol:HCl 100:100:2,7; água:metanol:HCl 50:150:2,7 e água:metanol:HCl 150:50:2,7. A proporção que obteve os melhores resultados, com maiores médias e menores variações foi a de Água:Metanol:HCl a 50:150:2,7, como observado nas tabelas a seguir:

Tabela IX – Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para a proporção Metanol:HCl 200:2,7

Substância	N	Média	DP	CV(%)
Glifosato	2	780280	139951	17,94
AMPA	2	0	-	-

DP = Desvio-Padrão

CV = Coeficiente de variação (DP / Média X 100)

Tabela X – Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para a proporção Água:metanol:HCl 50:150:2,7

Substância	N	Média	DP	CV(%)
Glifosato	2	1950131	974583	49,98
AMPA	2	1224646	420542	34,34

DP = Desvio-Padrão

CV = Coeficiente de variação (DP / Média X 100)

Tabela XI – Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para a proporção Água:metanol:HCl 100:100:2,7

Substância	N	Média	DP	CV(%)
Glifosato	2	1508778	725577	48,09
AMPA	2	387873	548535	141,42

DP = Desvio-Padrão

CV = Coeficiente de variação (DP / Média X 100)

Tabela XII – Áreas médias dos picos de glifosato e AMPA obtidos nos cromatogramas para a proporção Água:metanol:HCl 150:50:2,7

Substância	N	Média	DP	CV(%)
Glifosato	2	1164743	1345903	115,55
AMPA	2	869230	899762	103,51

DP = Desvio-Padrão

CV = Coeficiente de variação (DP / Média X 100)

As concentrações testadas nestes ensaios foram sempre as mesmas (10 µg/L), a fim de se obter uma comparação confiável. A escolha do solvente em questão (Água:Metanol:HCl a 50:150:2,7) implicou numa diminuição de meia hora nas evaporações sob fluxo de nitrogênio, já que quanto maior a proporção de metanol, mais rápida é a evaporação.

Entretanto, a utilização de solvente para a ressuspensão dos analitos continuou se mostrando ineficaz e ocasionando muitas perdas. Então, em uma tentativa de se fazer a reação diretamente nos tubos, eliminando a etapa de ressuspensão em solvente e secagem sob fluxo de N₂, tubos de 10 mL foram testados pra se fazer a evaporação. Isso porque os tubos de 25 mL não se conectam corretamente no bloco de aquecimento, então um tubo menor era necessário para tal tentativa. No entanto, essa hipótese foi descartada após a extrema demora verificada para se fazer as reações, visto que os tubos só podiam ser cheios de 4 em 4 mL, sob pena de perda de amostra. Cada tubo então levava cerca de 2 horas e 20 minutos, tornando o método inviável, mesmo com a ressuspensão sendo feita diretamente com os agentes derivatizantes TFAA e TFE.

Desta feita, pensou-se então em utilizar os tubos de 25 mL, e, ao invés de usar o solvente, utilizar os derivatizantes diretamente. Antes da etapa de aquecimento se faria necessária a transferência para um recipiente menor e a opção escolhida primeiramente foram os vials. O procedimento deu certo e os resultados foram satisfatórios, mas, para efeitos de praticidade, optou-se por nova tentativa, desta vez transferindo o conteúdo diretamente para um microvial, colocado dentro de um vial. Fez-se esta opção porque o microvial é necessário para a injeção em CG-EM de modo que, sendo aquecido diretamente num vial, este conteúdo precisa ser novamente transferido para um microvial. Já fazendo o aquecimento direto no microvial, esta perda é eliminada. Desta forma então, a utilização de solventes de quaisquer proporções foi definitivamente eliminada da metodologia, sendo a adição direta de agentes derivatizantes após a secagem da matriz, o método eleito. Chegou-se então ao procedimento final, descrito em “Procedimento Experimental”.

Com este procedimento foi feita a curva-padrão do método, com e sem a extração, a fim de se avaliar a recuperação e repetitividade. As curvas foram elaboradas da seguinte forma:

Com extração – É a execução do método por completo, em cinco concentrações diferentes (5; 10; 15; 20 e 25 ug/L ou ppb), de modo que se faça uma curva por dia. Exemplo: Dia 1, faz-se cinco análises das cinco concentrações diferentes, uma análise para cada concentração. Isto para que um eventual erro cometido seja refletido em todas as concentrações. O valor gerado por estas análises corresponde a um percentual do que pode ser alcançado em relação ao método sem extração.

Sem extração – É a execução do método sem a etapa de concentração. Ou seja, a mesma quantidade em massa dos analitos é adicionada a cada tubo, de forma a equivaler à concentração final (5; 10; 15; 20 e 25 ug/L ou ppb) e o método é levado adiante desta forma. O valor gerado por estas análises corresponde ao valor máximo que se pode obter para cada concentração.

Os resultados obtidos foram os seguintes:

Tabela XIII : Áreas médias dos picos de glifosato para curva padrão no procedimento sem extração, para N = 3

GLIFOSATO

Concentração (ug/L)	Média da Área	Coef. Variação (%)
5	489875	9,44
10	2461936	4,20
15	3721136	8,12
20	5035838	19,97
25	7226019	12,91

Tabela XIV : Áreas médias dos picos de AMPA para curva padrão no procedimento sem extração, para N = 3

AMPA

Concentração (ug/L)	Média da Área	Coef. Variação (%)
5	1227709	15,78
10	4136706	8,52
15	5506794	11,65
20	11002811	15,14
25	15500257	6,95

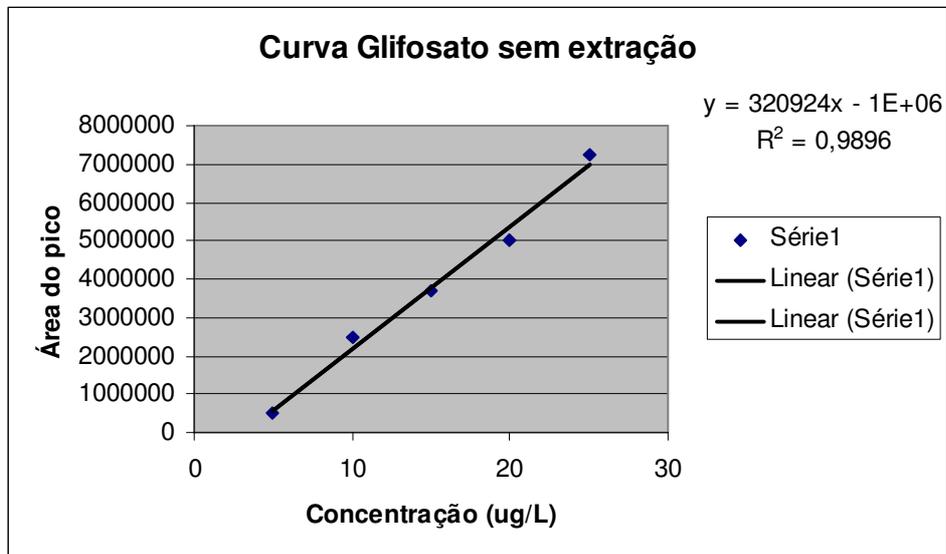


Figura XIII: Curva padrão de glifosato sem extração

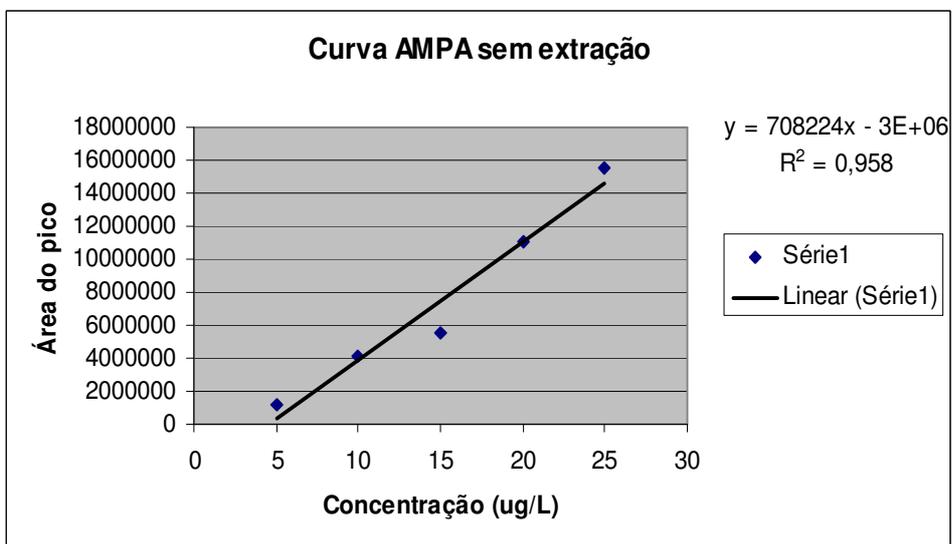


Figura XIV: Curva padrão de AMPA sem extração

Tabela XV: Áreas médias dos picos de glifosato para curva padrão no procedimento com extração, para N = 3

GLIFOSATO

Concentração (ug/L)	Média da Área	Coef. Variação (%)
5	1107334	46,80
10	2017645	20,15
15	3325042	12,05
20	3622827	30,41
25	6350485	6,70

Tabela XVI: Áreas médias dos picos de AMPA para curva padrão no procedimento com extração, para N = 3

AMPA

Concentração(ppb)	Média da Área	Coef. Variação (%)
5	1418506	34,51
10	2772811	14,88
15	4183705	22,19
20	6670125	6,00
25	8856352	26,44

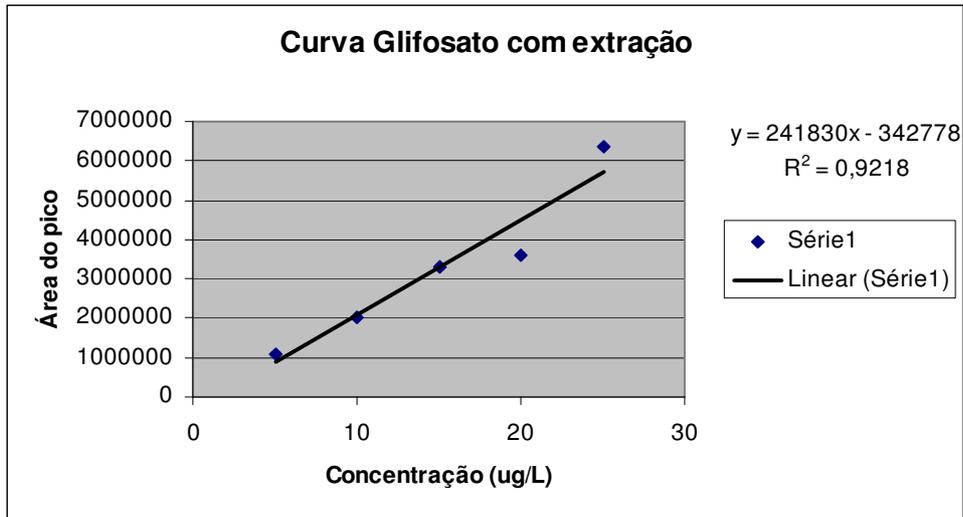


Figura XV: Curva padrão de glifosato com extração

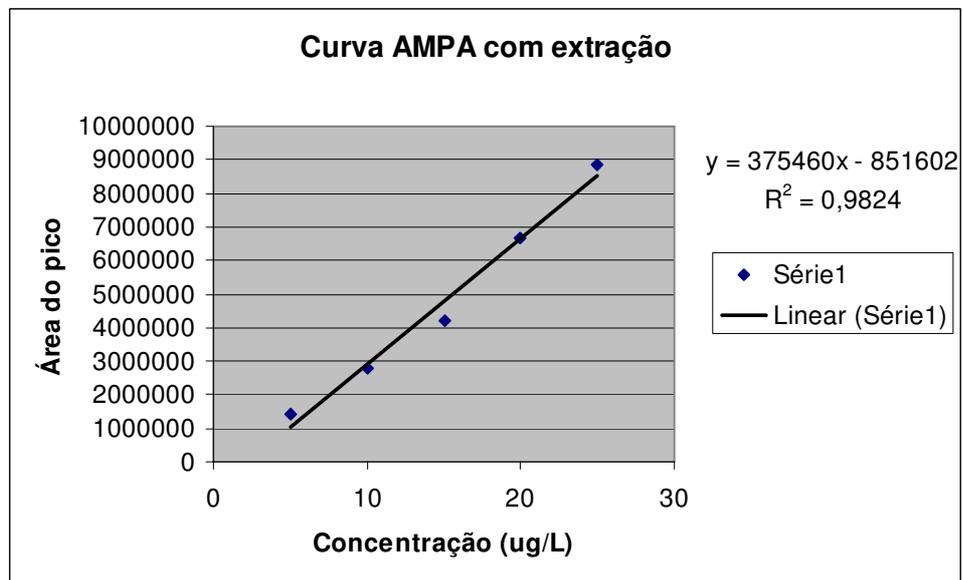


Figura XVI: Curva padrão de AMPA com extração

As recuperações foram calculadas da seguinte forma, por regra de três:

Valor sem extração _____ **100%**

Valor com extração _____ **x %**

Assim sendo, os valores de recuperação expressam quanto do analito se perde na etapa de extração ou quanto deste analito consegue ser efetivamente extraído e convertido. A recuperação do método é feita separadamente para cada concentração, devendo ser feita uma média entre os valores encontrados e que são expressos na forma de recuperação média do método.

As tabelas XVII e XVIII mostram os dados referentes aos valores de recuperação encontrados para cada concentração, bem como o valor médio de recuperação do método, para cada um dos analitos.

Tabela XVII: Valores de recuperação para o glifosato

Glifosato			
Com extração		Sem extração	Recuperação (%)
5 ppb	1107334	489875	226,04
10 ppb	2017645	2461936	81,95
15 ppb	3325042	3721136	89,36
20 ppb	3622827	5035838	71,94
125ppb	6350485	7226019	87,88
		Recuperação média	111,44

Dado que o valor obtido para a concentração de 5 ppb foi muito distante da faixa desejável (70-120%) e, simultaneamente, muito discrepante dos demais valores, optou-se por excluir este valor para efeitos do cálculo da Recuperação média do método, obtendo-se:

Tabela XVIII: Valores de recuperação para o glifosato, sem o ponto 5 ppb

Glifosato			
Com extração		Sem extração	Recuperação (%)
10 ppb	2017645	2461936	81,95
15 ppb	3325042	3721136	89,36
20 ppb	3622827	5035838	71,94
25 ppb	6350485	7226019	87,88
		Recuperação média	82,78

Tabela XIX: Valores de recuperação para o AMPA

AMPA			
Com extração		Sem extração	Recuperação (%)
5 ppb	1418506	1227709	115,54
10 ppb	2772811	4136706	67,03
15 ppb	4183705	5506794	75,97
20 ppb	6670125	11002811	60,62
25 ppb	8856352	15500257	57,14
		Recuperação média	75,26

Dado que os valores estabelecidos como aceitáveis para recuperação se encontram na faixa de 70-120%, pode se afirmar que a recuperação média do método para identificação e quantificação de glifosato e AMPA em água está dentro dos valores regulamentados.

Os coeficientes de variação, para serem considerados aceitáveis, devem apresentar valores até 20%. Tal fato não ocorreu em algumas concentrações. Isso pode ser explicado por alguns fatores presentes no método. Por exemplo, o glifosato e o AMPA possuem a propriedade de se adsorverem à superfície do vidro ^[38]. O vidro está presente em diversas etapas do procedimento, desde o tubo onde se realiza a concentração até o aquecimento dos vials para posterior injeção. O uso de ultrassom por duas vezes ao longo do ensaio visa minimizar este efeito, que não é revertido completamente. Outro fator importante é a própria realização da reação. Uma reação química possui um determinado rendimento,

que dificilmente se aproxima de 100%. Logo, aquilo que não é convertido ao pesticida derivatizado, é uma perda no procedimento. O fato da reação ser feita em tão baixas concentrações indica ainda que qualquer perda pode significar uma baixa muito grande na identificação dos analitos por CG-EM, em termos da resposta do equipamento.

Com todos esses fatores contrários, é difícil estabelecer um baixo limite para o coeficiente de variação entre as replicatas. Isto se mostrou um grande problema ao longo da otimização do método, sendo perdidas muitas tentativas por conta de altas variações. Um exemplo de que o glifosato é um analito que se mostra problemático com a variação dos resultados entre as replicatas é a publicação de em um artigo no *Jornal de Cromatografia A*, em que é apresentada uma variação de 23% ^[40].

Contudo, muitos estudos vem encontrando glifosato em níveis cada vez mais baixos em amostras ambientais, o que indica uma maior facilidade na detecção deste analito no meio-ambiente. Os limites máximos permitidos em água para consumo humano, para o glifosato, variam muito entre os países. A legislação brasileira atual estabelece um VMP (Valor Máximo Permitido) de 500 ug/L (ppb) ^[41], a Agência de Proteção Ambiental Americana, EPA, estabelece este limite em 700 ug/L ^[42], e a Agência Canadense, Health Canada, estabelece em sua legislação (*Canadian Drinking Water Guidelines*, 2008), um valor máximo de 280 ug/L, menos da metade do limite da EPA ^[43].

Tais níveis deveriam ser revistos, buscando-se uma maior harmonização entre os parâmetros de avaliação, segundo Provoost *et al.*, 2008 ^[44] e Armas *et al.*, 2007 ^[45]. Aliado a isto, tem-se o fato de que muitos autores sugerem ser o glifosato uma substância nociva ao ser humano quando este se expõe continuamente ao princípio ativo ^{[30] [32] [34] [35]}.

4.2- Análise das amostras

Apenas um dos pontos analisados apresentou resultado positivo para a identificação dos analitos glifosato e AMPA, sendo todos os outros considerados iguais a zero ou presente em concentração não detectável pelo método. Estes resultados podem ser explicados por alguns fatores.

Primeiramente explicando os resultados iguais a zero; o fator principal já foi descrito na discussão acerca do método, como o procedimento com diversos graus de dificuldade, fatores complicadores para a análise. Em análises com amostras preparadas em laboratório, a execução da técnica é muito mais fácil que a aplicação numa amostra real, devido ao efeito da matriz, que no caso são águas superficiais

ambientais. Numa amostra real, existem diversas outras substâncias presentes, além da molécula-alvo, que funcionam como interferentes. Outros fatores que podem explicar tal fato é a época da coleta das águas. Em duas datas, a aplicação dos agrotóxicos tinha sido feita há um tempo demasiado longe da data da visita. Além disso, alguns locais, principalmente os açudes, ficavam numa distância considerável de onde se dava a aplicação de pesticidas. Outro aspecto é a propriedade de alta adsorção ao solo, do glifosato, o que limita sua detecção em águas superficiais ^[15].

O resultado positivo foi encontrado para o AMPA no ponto 8, um açude bem próximo à plantação, onde há ainda criação de peixes, o que indica que estes peixes podem estar contaminados não só por glifosato, mas também por outros princípios ativos. Quanto ao fato de apenas o AMPA ter sido encontrado no local de coleta do ponto 8, uma possível explicação está na aplicação do glifosato ter sido feita há mais de 20 dias e devido à sua rápida degradação ambiental, sendo convertido em AMPA, que é um pouco mais persistente no ambiente. Embora se tenha detectado o AMPA em apenas uma das amostras coletadas, este resultado é importante pela grande dificuldade de se determinar a presença de glifosato ou de seu metabólito no ambiente, além da questão metodológica, como já foi descrito anteriormente.

O método foi trabalhado com uma concentração mínima de 5 µg/L. Apesar de não ter sido feito o cálculo do Limite de Detecção do método, a aplicação da equação da reta da curva padrão para o AMPA com extração ($y = 375460x - 851602$) - *Figura XVI* - e a área encontrada de 268456, sugere que foi encontrada uma concentração de AMPA de 2,98 µg/L. A sugerida concentração de AMPA determinada nesta amostra é muito inferior ao limite estabelecido pela legislação brasileira, mas considerando o fato da coleta da amostra ter sido feita há mais de 20 dias da data da aplicação do produto, em algum momento deste intervalo poderiam ter sido detectadas concentrações elevadas tanto de AMPA quanto do próprio Glifosato.

4.3- Avaliação do processo de trabalho

Os agricultores, em geral, conhecem os EPIs, mas não os utilizam por conta do incômodo e da pouca praticidade que os mesmos oferecem. A agricultura familiar é praticada no local e a exposição pelo uso de agrotóxicos no local possui características diferentes dos grandes produtores ^[26]: Praticamente todos estão expostos, por contato direto (em função do trabalho) ou de outras formas,

incluindo situações como o armazenamento inadequado dos produtos e a contaminação da água e alimentos consumidos ^[46]. As mulheres podem se contaminar ao ajudar os homens no trabalho agrícola ou ao lavar a roupa dos mesmos, por exemplo. As crianças podem se contaminar ao brincar perto das lavouras, muito próximas às casas. Pode haver exposição até mesmo dentro de casa, pois os agrotóxicos se dispersam pelo ar e podem adentrar as residências, como observado no trabalho de Rosa, 2003 ^[47], Pode se afirmar que não há distância plausível entre os locais de aplicação e as casas. Além disso, como observa **BRITO et al, 2005** ^[48], a dinâmica destas comunidades mescla carências diversas (como dificuldade de acesso à educação, ao transporte, ao saneamento básico e aos serviços de saúde de qualidade) e o uso intensivo de agrotóxicos. Os homens, quase sempre os aplicadores, não recebem qualquer orientação para aplicação correta dos agrotóxicos, apenas seguem as instruções contidas nos rótulos das embalagens. Este cenário pode fazer com que estes indivíduos e comunidades estejam mais vulneráveis ao risco de adoecimento.

Foram entrevistados 11 trabalhadores em 10 propriedades diferentes, com média de idade de 53 anos aproximadamente, sendo o mínimo de 33 anos e o máximo de 81, com desvio-padrão de 14,56; todos eles do sexo masculino, dos quais 63,6 % eram casados, 18,2 % solteiros e 9,1 % viúvos ou divorciados. Entre os entrevistados, 9,1% se declararam analfabetos; 36,4% possuem o primário completo; 27,3% o ginásio incompleto; 18,2 % o primário incompleto e outros 9,1% se declararam com o segundo grau completo. A grande maioria dos entrevistados; 72,7%; eram proprietários das terras; 18,2 % empregados e apenas um dos entrevistados, ou 9,1%, se declarou um parceiro que possui o ônus dos insumos.

Segundo Brito , há a tendência a uma mudança de hábito na região, com as mulheres e os jovens trabalhando nas indústrias instaladas no local, fazendo com que o futuro da região agrícola da Serrinha do Mendanha seja incerto ^[26]. Por essa razão, foi incluída a pergunta “Você trabalha exclusivamente com a agricultura?”. A resposta mostrou uma tendência da população a buscar alternativas para a renda familiar, já que 40% declararam trabalhar também em outras frentes além da agricultura, sendo que 27,3% declararam ainda quem seus familiares não trabalham com a agricultura, o que reforça a idéia de que a tendência na área estudada é a busca de alternativas para trabalhar. Outra pergunta feita no questionário foi acerca do rendimento familiar. O resultado não foi incluído por conta de muitos trabalhadores não saberem precisar ou afirmarem uma variação muito grande de acordo com a época

do ano, mas o maior rendimento admitido foi de cerca de R\$ 700,00, o que mostra a grande diferença de renda entre um pequeno produtor e um latifundiário.

Buscando comparar o agronegócio, característico por seus grandes campos de monocultura com a agricultura familiar, onde pequenas áreas são plantadas com diferentes culturas, uma pergunta sobre biodiversidade foi incluída: “Você planta diferentes culturas simultaneamente?”, que obteve 100% de respostas “sim”. Ou seja, foi evidenciado que a agricultura familiar é praticada no local, com diversas culturas simultâneas, sendo uma alternativa agroecológica e muito menos danosa ao meio-ambiente e também em termos sociais, quando comparados aos agronegócio.

Passando para as perguntas que caracterizam o uso de agrotóxicos e a percepção acerca deste risco, foi perguntado “Você faz uso de agrotóxicos?”, onde 91% respondeu “sim” e 9 %, “não”. Também foi incluída uma pergunta sobre uso de EPI (considerando EPI completo), quando 70% dos entrevistados que utilizam agrotóxicos afirmaram não usar o equipamento. Quando a pergunta era se tomavam banho após a aplicação de agrotóxicos, 90% disseram que sim e 10% afirmaram apenas lavar as mãos. Os mesmos 90% afirmavam lavar as roupas logo após a aplicação e os mesmos 10% afirmaram lavar apenas dias depois e junto com outras roupas. Ainda acerca da exposição aos agrotóxicos, 30% afirmaram lavar as roupas eles próprios, 50% afirmaram que a esposa é quem executa tal tarefa e 20% afirmaram ser a irmã.

Quando perguntados acerca do armazenamento dos frascos de agrotóxicos, 30 % afirmaram utilizar um local exclusivo para este intento, 60% declararam armazenar junto com outros materiais e 10%, na própria lavoura. Quando perguntados o que fazem com as embalagens vazias, 30% afirmou queimar, 10% guardam e outros 10% deixam na própria lavoura. 20% afirmavam entregar no local onde compraram, que é o procedimento correto. 10% faz uso da queima, abandona na lavoura ou descarta em lixo comum; 10% queima ou guarda e outros 10% queima ou atira nos corpos d’água. Perguntados sobre a origem da água de consumo, 30% se utilizam de fonte natural, 50% da água fornecida pela CEDAE, 10% usam água de poço e outros 10% optam pela água de poço e a água da CEDAE. Quando a questão é a água usada na irrigação, 18,2 % usam água da CEDAE; 27,3 % de poço; 45,5 % água de rio e 9,1 % disseram se aproveitar apenas da chuva (plantação de frutas apenas).

Mesmo após altas percentagens acerca do não uso de EPIs, 100% dos entrevistados afirmaram acreditar que os agrotóxicos podem causar males à saúde, sendo que 60% declararam nunca ter sentido

qualquer sintoma após a aplicação, enquanto 40% afirmam ter sentido efeitos tais como cefaléia, dor no peito, náuseas e vertigens. Estes dados podem ser visualizados na Tabela XX.

Foram perguntados os produtos mais usados em cada propriedade, para saber a quais princípios ativos os trabalhadores estão mais frequentemente expostos e avaliar sua exposição. Entre os trabalhadores que faziam uso de agrotóxicos; 90% afirmaram usar Glifosato, 80% Hosthation, 50% Gramoxone, 20% Tamaron, Piredan e Folisuper, enquanto 10% apenas usavam o produto “Decis”. Estes dados podem ser observados na Tabela XX.

Tabela XX: Agrotóxicos mais utilizados na área agrícola da Serrinha do Mendanha em 2009, segundo levantamento feito por meio de questionário

Nome comercial	%Uso	Grupo químico	Classe
Roundup (Glifosato)	90,00	Glicina substituída	Herbicida
Gramoxone (Paraquat)	50,00	Amônio quaternário	Herbicida
Hosthation	80,00	Organofosforado	Acaricida
Tamaron	20,00	Organofosforado	Acaricida
Folisuper	20,00	Organofosforado	Acaricida
Piredan	20,00	Piretróide	Acaricida
Decis	10,00	Piretróide	Inseticida

Tabela XXI: Dados sócio-demográficos e de percepção de risco dos trabalhadores da Serrinha do Mendanha

		<i>Frequência (%)</i>
Sexo	Masculino	100,00
	Feminino	0,00
Proprietário	Sim	72,70
	Não	27,30
Escolaridade	Analfabeto	9,10
	Primário Incompleto	18,20
	Primário Completo	36,40
	Ginásio Incompleto	27,30
	Segundo grau completo	9,10
Agricultura como única fonte de renda	Sim	60,00
	Não	40,00
Faz plantio de diferentes culturas simultâneas	Sim	100,00
	Não	0,00
Uso de agrotóxicos	Sim	90,90
	Não	9,10
Uso de EPI completo	Usa	30,00
	Não usa	70,00

Analisando a tabela XX, que mostra os agrotóxicos mais utilizados na região e comparando com a tabela I do item 3.1, pode se observar o crescimento do uso de diversos princípios ativos, especialmente de glifosato, que saltou de 62,20% em 2006 para 90,00% em 2009. Apenas o Confidor deixou de figurar entre os agrotóxicos mais utilizados na região.

4.4- Imagens do Trabalho de campo

Nesta parte, estão presentes as fotos relativas ao trabalho que descrevem e mostram diversas situações presentes no cotidiano dos agricultores da Serrinha do Mendanha. O trabalho de campo se mostrou muito importante para evidenciar algumas características do local, tais como: A biodiversidade presente nas culturas produzidas em cada propriedade, contrastando com os grandes latifúndios da soja (Figura XXVI), onde além de apenas haver a monocultura, há também a retirada da vegetação nativa, responsável pela manutenção do equilíbrio no ecossistema local. Percebe-se ainda as diferenças entre a agricultura familiar de subsistência e o agronegócio para exportação, mostrando a biodiversidade presente entre as culturas mantidas nas pequenas propriedades (Figuras XVIII e XIX). Entre os trabalhadores, percebe-se a falta de conhecimento acerca dos riscos a que estão expostos (Figuras XX a XXIV) e as dificuldades encontradas para a manutenção de suas atividades agrícolas, sejam elas de infraestrutura ou financeiras.



Figura XVII: Ponto 1 da coleta de amostras (açude)



Figura XVIII: Produtos da plantação de uma das propriedades, mostrando a biodiversidade no local e, ao mesmo tempo, a precariedade das condições de trabalho



Figura XIX: Aspecto da biodiversidade em uma das propriedades, com quatro diferentes culturas ao mesmo tempo

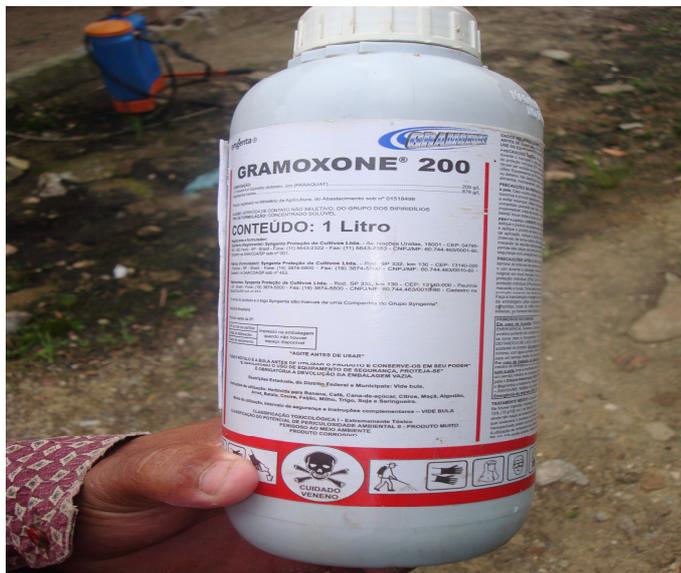


Figura XX: Demonstração dos problemas causados pela falta de orientação ao agricultor: Frasco de Gramoxone contendo o herbicida Roundup (reaproveitamento de embalagens)



Figura XXI: Outro exemplo da falta de orientação para a lida com as embalagens vazias, a foto mostra local de queima destes frascos



Figura XXII: Local de armazenamento dos agrotóxicos em uma das propriedades



Figura XXIII: Frasco de herbicida contendo glifosato e a falta de orientação ao agricultor, que trabalha sem proteção alguma



Figura XXIV: Local para descarte de embalagens vazias em uma das propriedades



Figura XXV: Foto comparativa. A vegetação verde não teve herbicida glifosato aplicada a si, ao contrário da parte amarelada mostrada pela imagem



Figura XXVI: Aspecto da agricultura de soja para exportação no interior do Brasil. Em destaque, o que restou da vegetação nativa no local

Fonte: http://resistir.info/peak_oil/imagens/soja_m_grosso.jpg ^[49]

5. Conclusão

Este estudo mostrou que é possível detectar a presença de AMPA em água, mesmo em baixas concentrações, com a metodologia otimizada para esta análise. Com os resultados obtidos experimentalmente, pode-se afirmar que há uma grande exposição ao glifosato em algum momento da aplicação, já que o sugerido valor encontrado na água foi passível de detecção mesmo após cerca de 20 dias da aplicação do princípio ativo. Este fato, aliado às informações fornecidas pelos próprios agricultores através de questionário, indica uma alta exposição do trabalhador ao produto, principalmente pelas vias dérmica e respiratória. Com o fato de os trabalhadores não consumirem a mesma água que é usada para a irrigação da lavoura, não se pode afirmar que há intensa exposição ao glifosato por esta via, sendo ela considerada como um indicador de contaminação ambiental e de que, como supracitado, há uma intensa exposição ao agrotóxico no momento da aplicação. Além disso, a dispersão pelo ar pode atingir as casas, contaminando crianças, mulheres e outros moradores que sequer trabalham na agricultura, até mesmo durante a noite. Foi verificado também que há, além do consumo elevado do agrotóxico glifosato na região, outros princípios ativos utilizados, cuja interação pode gerar efeito sinérgico desconhecido sobre a saúde humana e ambiental.

Mais estudos devem ser feitos a fim de se avaliar os níveis de Glifosato e AMPA na água, incluindo o geoprocessamento da área e um plano estratégico de coleta de amostras que leve em conta os fatores determinantes das concentrações nesta matriz. É importante também ampliar as possibilidades de análises em outras matrizes, como o ar, e as matrizes biológicas, para se detectar diretamente os efeitos sobre a saúde desta população, correlacionando-os com os dados obtidos na avaliação ambiental e possibilitando a realização de um estudo mais completo e detalhado acerca da saúde dos trabalhadores rurais da Serrinha do Mendanha.

6- Referências Bibliográficas

- [1] **FARIA, M.V.C.** Avaliação de ambientes e produtos contaminados por agrotóxicos *In PERES, F. e MOREIRA, J.C., É veneno ou é remédio?*, Editora Fiocruz, 2003 pp. 177-209
- [2] **FREITAS, C.M. & SÁ, I.M.B.** Por um gerenciamento de riscos integrado e participativo na questão dos agrotóxicos *in PERES, F. e MOREIRA, J.C., É veneno ou é remédio?*, Editora Fiocruz, 2003 pp. 211-250
- [3] Lei 7.802, de 11 de julho de 1989. Disponível em <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/17802.htm>, acessado em 04/01/2009
- [4] **FRANK D.J.; HIRONAKA, A. & SCHOFER, E.** Environmentalism as a Global institution., *In American Sociological Review*, 2000 Feb;65(1):122-7
- [5] Invertia “Brasil caminha para liderar uso de defensivo agrícola”, disponível em <<http://br.invertia.com>>, acessado em 12/02/2009
- [6] Abiquim, “A indústria química brasileira em 2007”, disponível em <www.abiquim.org.br> , acessado em 12/02/2009
- [7] **PERES, F. & MOREIRA, J.C.** Apresentação *In PERES, F. e MOREIRA, J.C., É veneno ou é remédio?*, Editora Fiocruz, 2003 pp. 15-18
- [8] **PERES, F. ; MOREIRA, J.C. & GAETAN, S.D.** Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema *in PERES, F. e MOREIRA, J.C., É veneno ou é remédio?*, Editora Fiocruz, 2003 pp. 21-41
- [9] **NEEDHAM, L.L.; CALAFAT, A.M.; BARR, D.B.** Uses and issues of biomonitoring. *In Int. J. Hyg. Environ.-Health* (2006), doi:10.1016/j.ijheh.2006.11.002

- [10] **JUNIOR, O.P.A. & SANTOS, T.C.R.** Glifosato: Propriedades, toxicidade, usos e legislação *In Química Nova*, Vol. 25, No. 4, 589-593, 2002
- [11] **ROBERTS, C.W.; ROBERTS, F.; LYONS, R.E.; KIRISITS, M.J.; MUI, E.J.; FINNERTY, J.; JOHNSON, J.J.; FERGUSON, D.J.; COGGINS, J.R.; KRELL, T.; COOMBS, G.H.; MILHOUS, W.K.; KYLE, D.E.; TZIPORI, S.; BARNWELL, J.; DAME, J.B.; CARLTON, J. & MCLEOD, R.** The Shikimate Pathway and Its Branches in Apicomplexan Parasites *In The Journal of Infectious Diseases* 2002;185(Suppl 1):S25–36, 2002
- [12] **TEÓFILO, R. F.; REIS, E. L.; REIS, C.; SILVA, G. A. DA & KUBOTA, L. T.** Experimental Design Employed to Square Wave Voltammetry Response Optimization for the Glyphosate Determination *In J.Braz.Chem.Soc.* Vol.15 No.6, 2004.pp 865-871
- [13] **DA SILVA, M. D.; PERALBA, M.C.R. & MATTOS, M.L.T.** Determinação de glifosato e ácido aminometilfosfônico em águas superficiais do Arroio Passo do Pilão *In Pesticidas: R.Ecotoxicol. e Meio Ambiente*, Curitiba, v. 13, jan./dez. 2003
- [14] **COX, C.;** Glyphosate (Roundup) *In J. Pest. Reform* 18:3-17, 1998
- [15] **SOUZA, T.A.; MATTA, M.H.R; MONTAGNER, E. & ABREU, A.B.G.** Estudo de recuperação de glifosato e AMPA derivados em solo utilizando-se resinas nacionais, *In Química Nova*, Vol. 29, No. 6, 1372-1376, 2006
- [16] **SOUZA, T. A.; MATTA, M. H. R. ; MONTAGNER, E. & SOMERA, N. M.** Proposta de mecanismo de derivatização do ácido aminometilfosfônico (AMPA) com TFAA e TFE. *In: Reunião anual, 2005, Fortaleza. 57º Reunião Anual da SBPC. São Paulo : Imprensa Oficial, 2005. v. 1. p. 106-106.*
- [17] **VENDRAMINI, C.R.** Origem do Movimento dos Trabalhadores Rurais Sem-Terra *In VIII Congresso Luso-Afro-Brasileiro de Ciências Sociais*, Coimbra, 2004

- [18] **PERSLEY, G.J.** Agricultural Biotechnology and the Poor: Promethean Science, disponível online em <<http://www.cgiar.org/biotech/rep0100/persley.pdf>>, acessado em 10/10/2008
- [19] **PORTO, M.F.** *Riscos, incertezas e vulnerabilidades: transgênicos e os desafios para a ciência e a governança* In III seminário Internacional de Estudos Interdisciplinares, Florianópolis, 2004
- [20] **ABUD, S.; SOUZA, P.I.M.; VIANNA, G.R.; LEONARDECZ, E.; MOREIRA, C.T.; FALEIRO, F.G.; JÚNIOR, J.N.; MONTEIRO, P.M.F.O. ; RECH, E.L. & ARAGÃO, F.J.L.** Gene flow from transgenic to nontransgenic soybean plants in the cerrado region of Brazil *In Genetics and molecular research* 6 (2): 445-452, 2007
- [21] Greenpeace. Soja Transgênica Roundup Ready da Monsanto: O que mais pode dar errado?, 2004
Disponível on line em:
http://www.greenpeace.org/raw/content/brasil/documentos/transgenicos/greenpeacebr_040716_transgenicos_documento_roundup_port_v1.pdf, acessado em 10/10/2008
- [22] **BARRETO, C. A.** OS IMPACTOS SOCIOAMBIENTAIS DO CULTIVO DE SOJA NO BRASIL disponível online em
http://anppas.org.br/encontro_anual/encontro2/GT/GT05/clarissa_barreto.pdf , acessado em 10/10/2008
- [23] **VILADESAU, T.P.** El agronegocio de la soja en Paraguay- antecedentes e impactos sociales e económicos *In Fernandes, B.M. Campesinato e agronegocio na América Latina: a questão agrária atual*,. Ed. Expressão popular, 2008
- [24] Projeções do agronegócio, Mundial e Brasil 2006/07 a 2016/17, *In Ministério da Agricultura, pecuária e abastecimento*, 2006
- [25] **GLUSCZAK, L.; MIRON, D.S.; MORAES, B.S.; SIMÕES, R. R. ; SCHETINGER, M.R.C.; MORSCH, V. M. & LORO, V.** Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic

parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*) *In Comparative Biochemistry and Physiology*, Part C 146 (2007) 519–524, 2007

[26] **BRITO, P.F.; GOMIDE, M. & CÂMARA, V.**; Trabalho e exposição aos agrotóxicos em uma pequena comunidade agrícola no município do Rio de Janeiro, *In Cadernos de Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro, 14(3): 531-548, 2006.

[27] World Health Organization, Endocrine Disruptors, chapter 2 in IPCS Global Assessment of EDCs, disponível online em: <<http://www.who.int/ipcs/publications/en/ch2.pdf>>, acessado em 10/10/2008

[28] **HOKANSON, R.; FUDGE, R.; CHOWDHARY, R. & BUSBEE, D.**; Alteration of estrogen-regulated gene expression in human cells induced by the agricultural and horticultural herbicide glyphosate *In Human & Experimental Toxicology*, 26; 747, 2007.

[29] **DARUICH J.; ZIRULNIK, F. & GIMENEZ, M.S.** Effect of the Herbicide Glyphosate on Enzymatic Activity in Pregnant Rats and Their Fetuses *In Environmental Research Section A* 85, 226-231, 2001.

[30] **RICHARD, S.; MOSLEMI, S.; SIPAHUTAR, H.; BENACHOUR, N. & SÉRALINI, G.E.**, Differential effects of Glyphosate and Roundup on human placental cells and aromatase *In Environmental Health Perspectives*, vol. 113, N°6, pp. 716-720, 2005

[31] **OLIVEIRA, A.G.; TELLES, L.F.; HESS, R.A.; MAHECHA, G.A.B. & OLIVEIRA, C.A. et al**; Effects of the herbicide Roundup on the epididymal region of drakes *Anas platyrhynchos* *In Reproductive Toxicology* 23 182–191, 2007

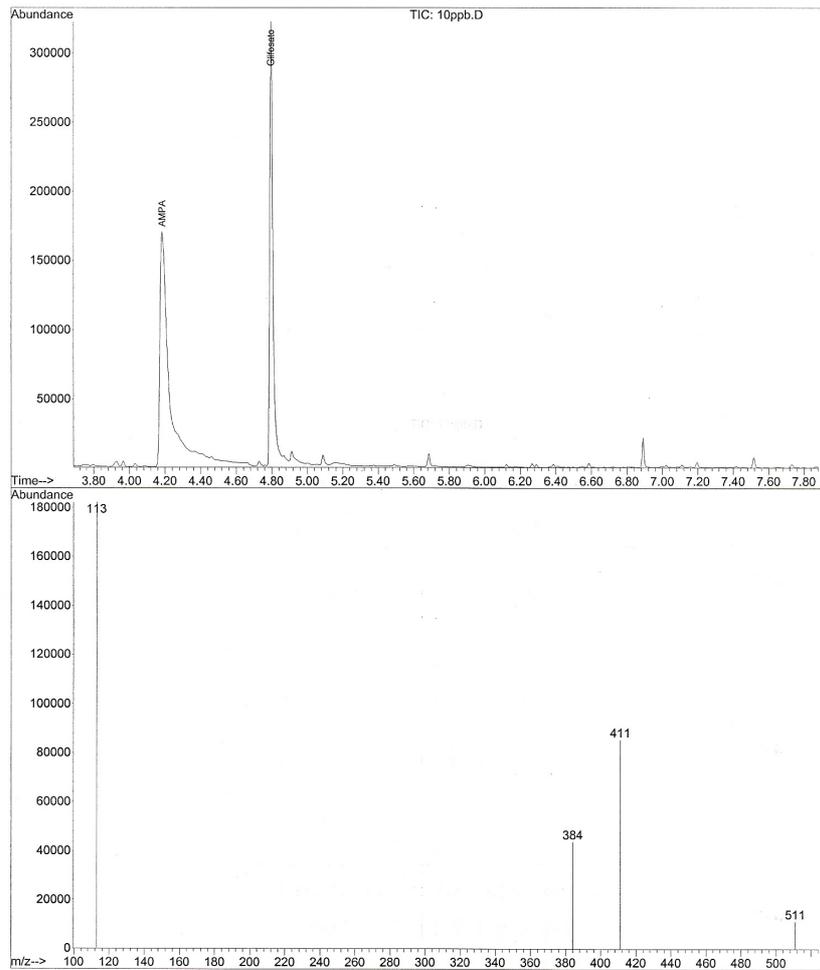
[32] **BENACHOUR, N.; SIPAHUTAR, H.; MOSLEMI, S.; GASNIER, C.; TRAVERT, C. & SÉRALINI, G. E.** Time- and Dose-Dependent Effects of Roundup on Human Embryonic and Placental Cells *In Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 53, 126–133, 2007

- [33] **VAN DEN HEUVEL, S.;** Cell Cycle Regulation *In Wormbook*, ed. The *C. elegans* research community, 2005
- [34] **MARC, J.; MULNER-LORILLON, O.; DURAND, G. & BELLÉ R.** Pesticide Roundup Provokes Cell Division Dysfunction at the Level of CDK1/Cyclin B Activation *In Chem. Res. Toxicol.* 15, 326-331, 2002
- [35] **MARC, J.; MULNER-LORILLON, O. & BELLÉ, R.** Glyphosate-based pesticides affect cell cycle regulation *In Biology of the cell*, pp; 245-249, 2004
- [36] **PENAGOS, H.; RUEPERT, C.; PARTANEN, T. & WESSELING, C.** Pesticide Patch Test Series for the Assessment of Allergic Contact Dermatitis Among Banana Plantation Workers in Panama *In American Contact Dermatitis Society*, 15 (3): 137-145, 2004
- [37] **WESTER R. C.; QUAN, D. & MAIBACH, H.I.** *In Vitro* Percutaneous Absorption of Model Compounds Glyphosate and Malathion from Cotton Fabric into and through Human Skin *In Food and Chemical Toxicology* 34 731-735, 1996
- [38] **STALIKAS, C.D.; PILIDIS, G.A. & KARAYANNIS, M.I.** An Integrated Gas Chromatographic method Towards the Simultaneous determination of Phosphoric and Amino Acid Group Containing Pesticides *In Chromatographia* Vol. 51, N°11/12, 2000 pp. 741-746
- [39] **ROYER, A.; BEGUIN, S.; TABET, J.C.; HULOT, S.; REDING, M.A. & COMMUNUAL, P.Y.** Determination of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid residues in water by gas Chromatography with tandem mass spectrometry after exchange ion resin purification and derivatization Application on vegetable matrixes *In Analytical chemistry*, vol. 72, N°16, 2000 pp. 3826-3832
- [40] **BÖRJESSON, E. & TORSTENSSON, L.** New methods for determination of glyphosate and (aminomethyl)phosphonic acid in water and soil *In Journal of Chromatography A*, 886 207–216, 2000

- [41] Portaria MS nº 1.469, de 29 de dezembro de 2000, disponível em: <http://www.fooddesign.com.br/arquivos/legislacao/port_1469_2000_sys_ms_rt_potabilidade_de_agua.pdf>, acessado em 25/04/2009
- [42] U.S. Environmental Protection Agency, disponível online: <<http://www.epa.gov/safewater/dwh/c-soc/glyphosa.html>>, acessado em 25/04/2009
- [43] **HEALTH CANADA**. Guidelines for Canadian drinking water quality. Summary Table. Disponível online em: http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/alt_formats/hecs-sesc/pdf/pubs/water-eau/sum_guide-res_recom/summary-sommaire-eng.pdf. 2008. Acessado em 29/01/2009.
- [44] **PROVOOST, J.; REIJNDERS, L.; SWARTJES, F.; BRONDERS, J.; CARLON, C.; D’ALESSANDRO, M & CORNELIS, C.** Parameters causing variation between soil screening values and the effect of harmonization *In Science and Policy* v.08 n. 05, pp. 298-311, 2008.
- [45] **ARMAS, E.D.; MONTEIRO, R.T.R; ANTUNES, P.M.; SANTOS, M.A.P.F. & CAMARGO, P.B.** Diagnóstico espaço-temporal da ocorrência de herbicidas nas águas superficiais e sedimentos do Rio Corumbataí e principais afluentes *In Química Nova*. v. 30, n. 05 pp. 1119-1127, 2007
- [46] **GARCIA, E. G. & ALMEIDA, W. F.** Exposição dos trabalhadores rurais aos agrotóxicos no Brasil *In Revista Brasileira de Saúde Ocupacional*. v. 19, n. 72, p. 7 - 11, 1991.
- [47] **ROSA, A.C.S.** Avaliação da contaminação no ar por organoclorados na área rural do município de Nova Friburgo. Dissertação apresentada na Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca para obtenção de título de mestre em Ciências na área de Saúde Pública, 2003
- [48] **BRITO, P.F.; MELLO,M.G.S.; CÂMARA, V.M. & TURCI, S.R.B.** Agricultura familiar e exposição aos agrotóxicos: uma breve reflexão *In Cadernos Saúde Coletiva*. Rio de Janeiro, v. 13, n. 4, p. 887 - 900, 2005.
- [49] <http://resistir.info/peak_oil/imagens/soja_m_grosso.jpg> , acessado em 25/04/2009

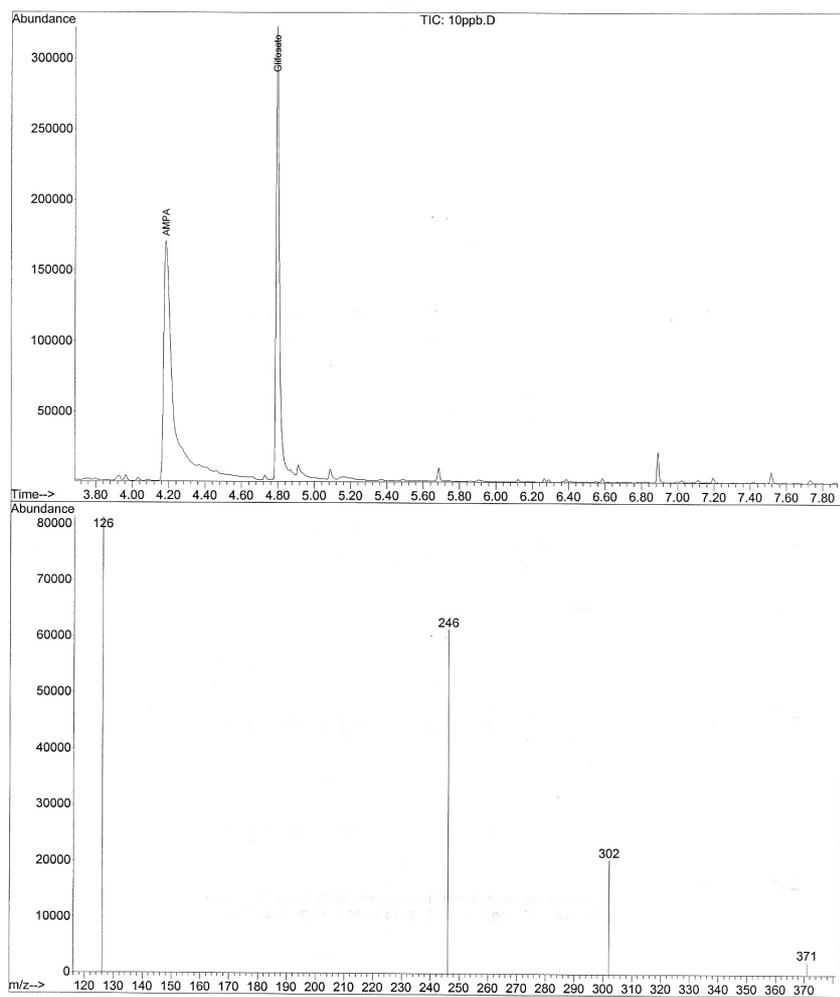
ANEXO I

File : C:\MSDCHEM\1\DATA\Erosmestrado\S_070309\10ppb.D
Operator : Eros
Acquired : 7 Mar 2009 2:12 using AcqMethod GLIF7SIM
Instrument : Instrumen
Sample Name: 10 ppb
Misc Info : 07/03/2009
Vial Number: 3



Espectro obtido na análise de AMPA e glifosato no Laboratório do CESTE/ENSP/Fiocruz, em concentração de 10 ppb. Na parte de baixo do espectro, fragmentograma com target-ion (113) e íons qualificadores do glifosato

File :C:\MSDCHEM\1\DATA\Erosmestrado\S_070309\10ppb.D
Operator : Eros
Acquired : 7 Mar 2009 2:12 using AcqMethod GLIF7SIM
Instrument : Instrumen
Sample Name: 10 ppb
Misc Info : 07/03/2009
Vial Number: 3



Espectro obtido na análise de AMPA e glifosato no Laboratório do CESTE/ENSP/Fiocruz, em concentração de 10 ppb. Na parte de baixo do espectro, fragmentograma com target-ion (126) e íons qualificadores do AMPA

Abaixo, segue o fragmentograma obtido por STALIKAS, PILIDIS & KARAYANNIS, 2000 [38] para o AMPA, seguido do obtido no laboratório de Toxicologia do CESTE/ENSP/Fiocruz, para efeito de comparação.

Na página seguinte, a mesma comparação é feita entre os espectros obtidos para o glifosato.

