Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

**Avaliação da dissipação do inseticida malation
utilizado em nebulização a ultrabaixo volume no
controle da dengue: avaliação ecotoxicológica e de
risco ambiental**

Ana Carla Coleone

**Dissertação apresentada ao Programa
de Pós Graduação em Saúde Pública
para obtenção do título de Mestre em
Ciências.**

Área de Concentração: Saúde Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Wanderley da Silva Paganini

São Paulo

2014

**Avaliação da dissipação do inseticida malation
utilizado em nebulização a ultrabaixo volume no
controle da dengue: avaliação ecotoxicológica e de
risco ambiental**

Ana Carla Coleone

**Dissertação apresentada ao Programa
de Pós Graduação em Saúde Pública
para obtenção do título de Mestre em
Ciências.**

Área de Concentração: Saúde Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Wanderley da Silva Paganini

Versão Revisada

São Paulo

2014

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida **exclusivamente** para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e por todas as oportunidades concedidas.

Ao Professor Dr. Wanderley da Silva Paganini pela oportunidade, confiança e orientação para realização deste trabalho.

À minha família, meu motivo de determinação, pelo incentivo e compreensão nos muitos momentos de ausência.

Aos Professores Drs. Murilo Damato e Roque Passos Piveli, pelas valiosas sugestões que enriqueceram esta dissertação.

À minha segunda e querida família formada em Jaboticabal: Camila Linhares Taxini, Carolina S. Scarpellini, Livia M. Ferreira e Sílvia Patrícia Carraschi, pela amizade e apoio em todos os momentos.

Ao Professor Dr. Joaquim Gonçalves Machado Neto pela oportunidade, apoio e auxílio intelectual no desenvolvimento deste trabalho.

A todos os membros do NEPEAM, em especial ao Prof. Dr. Claudinei da Cruz pela concessão do espaço para realização do experimento de campo e pelas valiosas contribuições para discussão desta dissertação.

Ao Prof. Dr. Flávio Soares Silva por todo o suporte analítico concedido durante o desenvolvimento do método cromatográfico e químico geral.

Ao funcionário da FCAV, Gilson Leite, pela incansável ajuda nos experimentos de campo.

Ao funcionário da FSP, Pedro Daniel, pela disposição, simpatia e auxílio.

À funcionária da SABESP, Kátia, por toda a atenção dispendida a mim nesse período.

À doutoranda Flávia Renata Abe pela amizade e apoio com a análise estatística.

A toda a equipe do LABORSEG, Angela, Juliana, Manuela, Márcia, Maria e Naiara, pelas contribuições para a realização deste trabalho.

A todos do Núcleo de Pesquisa em Meio Ambiente e Saúde Pública, pelas discussões que enriqueceram este estudo, em especial para Odymara, Sulamita e Paulo pela amizade e companheirismo com que pude contar desde nosso contato no corredor de espera para entrevista da Pós Graduação.

Ao Gil, pelo auxílio, amor, companheirismo e cuidado com que sempre pude contar, além da compreensão em todos meus momentos de ausência, que foram constantes neste período.

À UNESP, por permitir esta conquista.

E a todos que de alguma forma contribuíram para que mais esta etapa fosse vencida.

“O único lugar em que o sucesso vem antes do trabalho é no dicionário.”

Albert Einstein

Coleone AC. Avaliação da dissipação do inseticida malation utilizado em nebulização a ultrabaixo volume no controle da dengue: avaliação ecotoxicológica e de risco ambiental [dissertação de mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP, 2014.

RESUMO

A dengue é um dos principais problemas de Saúde Pública da atualidade. É transmitida por mosquitos do gênero *Aedes*, sendo a espécie *Aedes aegypti* o vetor responsável pela transmissão no Brasil. O principal alvo de controle da doença é seu vetor, sendo o controle químico amplamente utilizado em todas as regiões atingidas. Como forma de prevenção ou em períodos de epidemia, torna-se necessária a eliminação dos mosquitos adultos, sendo indicada a nebulização a ultrabaixo volume (UBV) a frio do organofosforado malation por meio do uso de equipamentos pulverizadores acoplados a veículos. Este inseticida utilizado pode sofrer desvios durante e após a aplicação a UBV, caracterizando-se como um potencial agente de desequilíbrio ecológico, podendo atingir e gerar efeitos danosos em organismos não alvos aquáticos e terrestres. Este trabalho teve como objetivo desenvolver e validar um método de análise para o malation em cromatografia líquida de alta eficiência e obter recuperação do inseticida em níveis aceitáveis em água e solo, avaliar seu período de dissipação e tempo de meia vida ($t_{1/2}$) nestas matrizes e classificá-lo quanto à toxicidade aguda e ao risco ambiental de acordo com diferentes autores, para o microcústaceo *Daphnia magna*, para a minhoca *Eisenia foetida*, para o peixe mato grosso (*Hyphessobrycon eques*) e para a macrófita *Lemna minor*. O método foi considerado adequado para análise do malation. A recuperação obtida para água foi de 97 % e para solo, 96 %. Efeitos tóxicos decorrentes da exposição ao inseticida foram observados para todos os organismos, sendo a *Daphnia magna* a espécie mais sensível aos testes de toxicidade aguda, com alto risco de intoxicação ambiental oriundo do uso peridomiciliar do malation. Em solo, o composto permaneceu na superfície com $t_{1/2}$ de 4,5 h e sofreu lixiviação após ocorrência de chuva, sendo detectado por até 29 dias após a aplicação. Em água, o $t_{1/2}$ foi de 0,1 h em pH 9.0 não sendo mais detectado a partir do segundo dia após aplicação. Em pH 7.0 e 5.0, esse período estendeu-se por até 7 dias, sendo o $t_{1/2}$ de 3,2 e 4,4 d, respectivamente.

Palavras-chave: dengue, UBV, malation, dissipação, ecotoxicologia.

Coleone AC. Evaluation of malathion insecticide's dissipation used in ultra-low volume nebulization in dengue control: ecotoxicological assessment and environmental risk [dissertation]. São Paulo (BR): Faculdade de Saúde Pública da USP, 2014.

ABSTRACT

Dengue is one of the major public health problems nowadays. It is transmitted by mosquitoes of the genus *Aedes*, and the *Aedes aegypti* specie is the vector responsible for transmission in Brazil. The main target to control the disease is its vector, and the chemical control is widely used in all affected regions. As a preventive measure or in epidemic periods, it becomes necessary to eliminate adult mosquitoes, being indicated the ultralow volume nebulization of malathion organophosphate in cold way through the use of sprinklers attached to vehicles. This used insecticide can suffer deviation during and after application ULV, characterizing itself as a potential agent of environmental imbalance, with the possibility of reach and generate harmful effects on aquatic and terrestrial non-target organisms. This work had the objective to develop and validate a method of analysis for malathion in high performance liquid chromatography and obtain recovery of insecticide in acceptable levels in water and soil, evaluate its dissipation period and half-life time in these matrices and classify it on acute toxicity and environmental risk according to different authors, to the microcrustacean *Daphnia magna*, to the earthworm *Eisenia foetida*, to the fish *Hyphessobrycon eques* and to the macrophyte *Lemna minor*. The method was considered appropriate for analysis of malathion. The obtained recovery for water was 97 % and for soil, 96 %. Toxic effects resulting from exposure to the insecticide were observed for all organisms, resulting that *Daphnia magna* is the most sensitive species to the acute toxicity tests, with high risk of environmental intoxication originated from malathion peridomiciliary use. In soil, the compound remained on the surface with $t_{1/2}$ of 4.5 h and suffered lixiviation after rain occurrence, being detected for up to 29 days after application. In water, the $t_{1/2}$ was 0.1 h in pH 9.0 and was not detected from the second day after application. In pH 7.0 and 5.0, this period was extended for up to 7 days, being the $t_{1/2}$ of 3.2 and 4.4 d, respectively.

Keywords: dengue, ULV, malathion, dissipation, ecotoxicology.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	19
2. OBJETIVOS	21
2.1. OBJETIVO GERAL	21
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
3.1. DENGUE E SAÚDE PÚBLICA	22
3.2. INSETICIDAS QUÍMICOS	24
3.2.1. Avaliação dos efeitos no solo e na água	26
3.2.1.1. Solo	26
3.2.1.2. Água	30
3.2.1.3. Índice de Gus e Método de Goss	32
3.3. DELTAMETRINA	34
3.3.1. Características da Deltametrina	34
3.3.2. Resistência do <i>Aedes aegypti</i> ao Inseticida Deltametrina	35
3.4. ORGANOFOSFORADOS	36
3.4.1. Malation	38
3.4.1.1. Características do Malation	38
3.4.1.2. Aspectos Ecotoxicológicos do Malation e Risco Ambiental	41
3.5. A APLICAÇÃO DOS INSETICIDAS	44
3.6. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS	47
4. MATERIAL E MÉTODOS	48
4.1. AVALIAÇÃO DA DISSIPAÇÃO DO MALATION	48
4.1.1. Água	48
4.1.2. Solo Argiloso	51
4.2. CÁLCULO DA MEIA VIDA	55
4.3. ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS	56

4.3.1. Validação do Método Analítico.....	56
4.3.2. Análise das Amostras de Água.....	60
4.3.3. Análise das Amostras de Solo	62
4.4. TESTES ECOTOXICOLÓGICOS.....	65
4.4.1. Testes Ecotoxicológicos para o Microcrustáceo <i>Daphnia magna</i> (STRAUS, 1820; Crustacea, Cladocera)	65
4.4.1.1. Cultivo dos Organismos-Teste.....	65
4.4.1.2. Testes de Toxicidade Aguda	66
4.4.2. Testes Ecotoxicológicos para a Macrófita <i>Lemna Minor</i> (LINNAEUS, 1753)	68
4.4.2.1. Cultivo dos Organismos-Teste.....	68
4.4.2.2. Testes de Toxicidade Aguda	69
4.4.3. Teste Ecotoxicológicos para Peixes <i>Hyphessobrycon Eques</i> (STEINDACHNER, 1882)	71
4.4.3.1. Cultivo dos Organismos-Teste.....	71
4.4.3.2. Testes de Toxicidade Aguda	72
4.4.4. Teste Ecotoxicológicos para Minhocas <i>Eisenia Foetida</i> (SAVIGNY, 1826)	73
4.4.4.1. Cultivo Dos Organismos-Teste	73
4.4.4.2. Testes de Toxicidade Aguda	75
4.5. CLASSIFICAÇÃO QUANTO À TOXICIDADE AGUDA E RISCO DE INTOXICAÇÃO AMBIENTAL	79
4.5.1. Classificação Quanto à Toxicidade Aguda.....	79
4.5.2. Risco de Intoxicação Ambiental.....	81
4.6. AVALIAÇÃO DAS VARIÁVEIS DA ÁGUA.....	84
4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	84
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
5.1. AVALIAÇÃO DA DISSIPAÇÃO DO MALATION.....	85
5.1.1. Água	85
5.2.2. Solo	91

5.2. TESTES DE TOXICIDADE AGUDA E RISCO AMBIENTAL	97
5.2.1. <i>Daphnia Magna</i>	97
5.2.2. <i>Lemna minor</i>	102
5.2.3. <i>Hyphessobrycon eques</i>	110
5.2.4. <i>Eisenia foetida</i>	115
6. CONCLUSÕES	122
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	124
8. ANEXOS.....	140
9. CURRÍCULO LATTES – Ana Carla Coleone.....	148
10. CURRÍCULO LATTES – Wanderley da Silva Paganini.....	149

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Equação para determinação do índice de GUS de um pesticida. Extraído de: SOARES, 2011.	32
Tabela 2. Critérios e classificação utilizados para avaliação do potencial de poluição de águas superficiais por pesticidas. Extraído de: SOARES, 2011.	33
Tabela 3. Propriedades físico-químicas da deltametrina. Extraído de: TOMLIN, 1995.	35
Tabela 4. Propriedades físico-químicas do malation. Extraído de: WHO, 2003; EPA, 2006; KULLURU, DAS e PANDA, 2010; ROCHA, 2011 e IUPAC, 2013.	40
Tabela 5. Análise química e física do solo para as profundidades de 0-10 e 10-20cm.	53
Tabela 6. Valores dos parâmetros utilizados para validação do método analítico para análise do malation em CLAE.	59
Tabela 7. Porcentagem de recuperação do malation em água para três níveis de concentração. DP = desvio padrão e CV = coeficiente de variação.	61
Tabela 8. Nível aceito de recuperação de um analito em função da sua concentração. Extraído de BRITO, 2003.	62
Tabela 9. Porcentagem de recuperação do malation em solo predominantemente argiloso para três níveis de concentração. DP = desvio padrão e CV = coeficiente de variação.	64
Tabela 10. Porcentagem de recuperação do malation em filtro Benchkote Plus Whatman® para três níveis de concentração. DP = desvio padrão e CV = coeficiente de variação.	65
Tabela 11. Análise química e física da areia e do solo argiloso utilizados nos testes de toxicidade aguda.	78
Tabela 12. Classes de toxicidade propostas por ZUCKER (1985).	79
Tabela 13. Classes de toxicidade propostas por HELFRISH et al. (1996).	80

Tabela 14. Sistema de Classificação quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental – PPA do IBAMA para microcrustáceos e peixes. X representa o valor da CE50 ou CL50 obtida nos testes de toxicidade aguda.	80
Tabela 15. Sistema de Classificação quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental – PPA do IBAMA para minhocas. X representa o valor da CL50 obtida nos testes de toxicidade aguda.	80
Tabela 16. Classificação dos valores de QR de acordo com GOKTEPE, PORTIER e AHMEDNA (2004).	82
Tabela 17. Classificação do risco oriundo do uso de determinado pesticida para minhocas de acordo com relação entre CL50 (mg.kg ⁻¹) e a CAE (KOKTA e ROTHERT, 1992).	83
Tabela 18. Médias das concentrações de malation (mg.kg ⁻¹) obtidas ao longo do tempo em pH 5.0, 7.0 e 9.0.	86
Tabela 19. Médias das concentrações de malation (mg.kg ⁻¹) nas diferentes profundidades de solo ao longo do período de estudo.	93
Tabela 20: Concentração efetiva inicial mediana de NaCl e malation (mg.L ⁻¹) em testes de toxicidade aguda para <i>D. magna</i> e classificação segundo ZUCKER (1985), HELFRISH et al. (1996) e quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental do IBAMA (1996).	97
Tabela 21. Valores de QR calculados para <i>D. magna</i> , sendo CAE1 = 0.049, CAE2 = 0.0097, CAE3 = 0.0073 mg.L ⁻¹ e CENO = 0.0001 mg.L ⁻¹ .	101
Tabela 22. Classificação do inseticida quanto ao risco de intoxicação ambiental para GOKTEPE, PORTIER E AHMEDNA (2004) e EC (2003).	101
Tabela 23. Concentração inibitória inicial mediana de NaCl e malation (mg.L ⁻¹) em testes de toxicidade aguda para <i>L. minor</i> e classificação segundo ZUCKER (1985), HELFRISH et al. (1996) e quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental do IBAMA (1996).	102
Tabela 24. Diferentes valores de QR para <i>L. minor</i> , em que CAE1 = 0.049, CAE2 = 0.0097, CAE3 = 0.0073 mg.L ⁻¹ e CENO = 1 mg.L ⁻¹ .	109

Tabela 25. Classificação do inseticida quanto ao risco de intoxicação ambiental para Goktepe, Portier e Ahmedna (2004) e EC (2003).	109
Tabela 26: Concentração letal inicial mediana de KCl e malation (mg.L ⁻¹) em testes de toxicidade aguda para <i>H.eques</i> e classificação segundo ZUCKER (1985), HELFRISH et al. (1996) e quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental do IBAMA (1996).	110
Tabela 27. Diferentes valores de QR calculados para <i>H. ecques</i> , sendo CAE1 = 0.049, CAE2 = 0.0097, CAE3 = 0.0073 mg.L ⁻¹ e CENO = 0,5 mg.L ⁻¹ .	113
Tabela 28. Classificação do inseticida quanto ao risco de intoxicação ambiental para GOKTEPE, PORTIER e AHMEDNA (2004) e EC (2003).	114
Tabela 29. Concentração letal inicial mediana de cloroacetamida e malation (mg.kg-1) em testes de toxicidade aguda para <i>E.foetida</i> e classificação quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental do IBAMA (1996).	115
Tabela 30. Classificação do inseticida quanto ao risco de intoxicação ambiental segundo KOKTA e ROTHERT (1992). CAE em mg.kg ⁻¹ .	118

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Evolução do número de municípios infestados por <i>Aedes aegypti</i> entre os anos de 1995 e 2010. Extraído de: BRASIL, 2012c.	23
Figura 2. Países/áreas de risco de transmissão de dengue em 2011. As regiões em amarelo representam as áreas de risco. Extraído de: WHO, 2012.	23
Figura 3. Diferentes destinos envolvendo agrotóxicos em águas superficiais. Extraído de SOARES, 2011.	31
Figura 4. Fórmula estrutural da deltametrina. Extraído de: CARVALHO, 2003.	35
Figura 5. Estrutura química básica dos organofosforados. Extraído de: SANTOS et al., 2007b.	37
Figura 6. Estrutura molecular do malation. Extraído de: EPA, 2006.	38
Figura 7. Uso de equipamento nebulizador de inseticida acoplado a veículo. Extraído de: BRASIL, 2009.	45
Figura 8. Dispersão da neblina em aplicações espaciais a UVB. Extraído de: BRASIL, 2009.	46
Figura 9. Caixas d'água utilizadas para montagem dos testes de dissipação de malation em água em diferentes pH.	49
Figura 10. Lonas utilizadas para evitar a alteração na concentração de malation nas caixas d'água devido a ocorrência de chuvas.	50
Figura 11. Aplicação do inseticida Fyfanon® em solo predominantemente argiloso (A) e isolamento do campo após a pulverização (B).	51
Figura 12. Filtros de papel absorvente Benchkote Plus Whatman® dispostos sobre o solo.	54
Figura 13. Coleta das amostras de solo.	55
Figura 14. Cromatograma do padrão analítico de 0,75 mg.L ⁻¹ de malation.	57
Figura 15. Curva analítica obtida para o inseticida malation com as concentrações de 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 0,75 e 1 mg.L ⁻¹ .	59

Figura 16. Vidrarias e equipamentos utilizados para pré-concentração das amostras de água. A amostra foi transferida do frasco de vidro âmbar em que estava armazenada para o balão de fundo redondo (A). O balão seguiu então para o banho ultratermostatizado até a evaporação total da amostra (B). Após ser resfriado, 1 mL de ACN foi adicionado e o conjunto seguiu para um banho ultrassônico por 10 min (C) e agitação por mais 2min (D).	61
Figura 17. Processo de extração de malation do solo: 10 g foram pesados (A) em frasco de borossilicato (B) e 30 mL de ACN foram adicionados. Os frascos foram então agitados por 2 h. A parte líquida foi coletada e filtrada em filtro de 45 µm (C). Mais 20 mL de ACN foram inseridos nos frascos, que seguiram para agitação por mais 30min. As amostras foram coletadas novamente, filtradas e seguiram para processo de pré-concentração.	64
Figura 18: Exemplar de <i>Daphnia magna</i> adulta (A) e neonato (B).	66
Figura 19. Recipientes utilizados na criação de <i>Daphnia magna</i> .	66
Figura 20. Frascos utilizados para montagem dos testes de toxicidade aguda com <i>Daphnia magna</i> .	68
Figura 21. Exemplares de <i>Lemna minor</i> , planta aquática da família Lemnaceae, vulgarmente conhecida como lentilha d'água.	69
Figura 22. Cultivo de <i>Lemna minor</i> .	69
Figura 23. Testes de toxicidade aguda com diferentes concentrações de malation para <i>Lemna minor</i> .	70
Figura 24. Aclimação dos peixes.	72
Figura 25. A) Exemplar de <i>Hyphessobrycon eques</i> . B) Aquário utilizado nos testes de toxicidade aguda com os peixes.	73
Figura 26: Exemplar de <i>Eisenia foetida</i> .	74
Figura 27. Aclimação das minhocas.	74
Figura 28. Recipientes utilizados nos testes de toxicidade aguda para minhocas com substrato argiloso (A) e areia (B).	76

Figura 29. Avaliação dos testes de toxicidade aguda realizado com as minhocas após 14 dias. Os animais foram coletados do substrato teste (A), contados (B), lavados, secos (C) e pesados (D).	77
Figura 30. Fórmulas utilizadas para o cálculo dos diferentes quocientes de risco (QR), com base na relação entre a Concentração Ambiental Estimada (CAE) para três diferentes profundidades e a toxicidade letal mediana (CL50) ou a Concentração de Efeito não Observado (CENO). Dependendo do organismo, a CL50 foi substituída por CE50 ou CI50.	83
Figura 31. Diminuição das concentrações (mg.L^{-1}) de malation ao longo do tempo (dias) para pH 5.0, 7.0 e 9.0 em água.	86
Figura 32. Dados de Temperatura (A), evaporação referente a um tanque de 20m ² (B) e período de insolação (C) durante o teste.	89
Figura 33. Variação das características físico-químicas da água ao longo do tempo para pH 5.0, 7.0 e 9.0 e o controle.	90
Figura 34. Caixa d'água 5 dias após a aplicação do inseticida.	91
Figura 35. Concentrações de malation (mg.kg^{-1}) ao longo do tempo (dias) para diferentes profundidades de solo.	93
Figura 36. Dados de temperatura (A), quantidade de chuva (B) e período de insolação (C) durante o teste.	95
Figura 37. Porcentagem de imobilidade/mortalidade de <i>D.magna</i> pelas concentrações crescentes de malation.	98
Figura 38. Variação das características físico-químicas da água ao longo das concentrações de malation entre os dias de avaliação dos testes de toxicidade aguda.	100
Figura 39. Diminuição do número de frondes de <i>L.minor</i> nos testes de toxicidade aguda, após 7 dias, da menor para a maior concentração de malation.	103
Figura 40. Porcentagem de inibição de crescimento de <i>L.minor</i> pelas concentrações crescentes de malation.	104
Figura 41. Comparação das médias do número de frondes de <i>L. minor</i> no momento inicial do teste e nos 3°, 5° e 7° dias.	104

Figura 42. Inibição do crescimento das frondes e necrose (aspecto esbranquiçado) provocadas pela presença do inseticida em diferentes concentrações de estudo.	105
Figura 43. Taxa de crescimento relativa de frondes ao longo das concentrações nos testes de toxicidade aguda para <i>Lemna minor</i> .	106
Figura 44. Variação das características físico-químicas da água ao longo das concentrações de malation entre os dias de avaliação dos testes de toxicidade aguda.	107
Figura 45. Porcentagem de mortalidade de <i>H.ecques</i> pelas concentrações crescentes de malation.	111
Figura 46. Variação das características físico-químicas da água ao longo das concentrações de malation entre os dias de avaliação dos testes de toxicidade aguda.	112
Figura 47. Porcentagem de mortalidade de <i>E. foetida</i> pelas concentrações crescentes de malation em areia.	116
Figura 48. Porcentagem de mortalidade de <i>E. foetida</i> pelas concentrações crescentes de malation em solo argiloso.	116
Figura 49. Comportamento de fuga dos animais (A) e resistência em penetrar no substrato (B).	117
Figura 50. Redução da biomassa úmida das minhocas em relação ao aumento das concentrações de malation em areia.	119
Figura 51. Redução da biomassa úmida das minhocas em relação ao aumento das concentrações de malation em solo argiloso	119
Figura 52. Redução da biomassa úmida das minhocas em relação ao aumento das concentrações de malation em solo argiloso após os testes ecotoxicológicos.	120
Figura 53. Redução da biomassa úmida das minhocas em relação ao aumento das concentrações de malation em areia após os testes ecotoxicológicos.	121

ANEXOS

Anexo 1. Mortalidade/imobilidade de <i>Daphnia magna</i> obtida nos testes de toxicidade aguda.	140
Anexo 2. CE(l)48h (mg.L ⁻¹), limite inferior (LI) e limite superior (LS) obtidos nos testes de toxicidade aguda com <i>D. magna</i> .	140
Anexo 3. Valores das características físico-químicas da água ao longo das concentrações de malation nos dias de avaliação dos testes de toxicidade aguda com <i>D. magna</i> .	141
Anexo 4. Mortalidade de <i>Hyphessobrycon eques</i> obtida nos testes de toxicidade aguda.	142
Anexo 5. CL(l)48h (mg.L ⁻¹), limite inferior (LI) e limite superior (LS) obtidos nos testes de toxicidade aguda com <i>H. ecques</i> .	142
Anexo 6. Valores das características físico-químicas da água ao longo das concentrações de malation nos dias de avaliação dos testes de toxicidade aguda com <i>H. ecques</i> .	143
Anexo 7. Inibição de crescimento de <i>Lemna minor</i> obtida nos testes de toxicidade aguda.	144
Anexo 8. CI(l)7d (mg.L ⁻¹), limite inferior (LI) e limite superior (LS) obtidos nos testes de toxicidade aguda com <i>L. minor</i>	144
Anexo 9. Valores das características físico-químicas da água ao longo das concentrações de malation nos dias de avaliação dos testes de toxicidade aguda com <i>L. minor</i> .	145
Anexo 10. Mortalidade de <i>Eisenia foetida</i> obtida nos testes de toxicidade aguda com areia.	146
Anexo 11. CL(l)14 d (mg.kg ⁻¹), limite inferior (LI) e limite superior (LS) obtidos nos testes de toxicidade aguda com <i>E. foetida</i> para areia.	146
Anexo 12. Mortalidade de <i>E. foetida</i> obtida nos testes de toxicidade aguda com solo argiloso.	146
Anexo 13. CL(l)14d (mg.kg ⁻¹), limite inferior (LI) e limite superior (LS) obtidos nos testes de toxicidade aguda com <i>E. foetida</i> para solo argiloso.	147

SIGLAS UTILIZADAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

AChE – acetilcolinesterase

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC - Association of Official Analytical Chemists

ATSDR – Agency for Toxic Substances and Disease Registry

CAE - Concentração Ambiental Estimada

CAS- Chemical Abstracts Service

C18 - octadecilsilicano

CE50 – concentração efetiva mediana

CE(I)50 – concentração efetiva inicial mediana

CENO – concentração de efeito não observado

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CG – cromatografia a gás

CL – cromatografia a líquido

CL50 – concentração letal mediana

CL(I)50 – concentração letal inicial mediana

CLAE – cromatografia líquida de alta eficiência

CI50 – concentração inibitória mediana

CI(I)50 - concentração inibitória inicial mediana

DDT – dicloro-difenil-tricloroetano

EC – European Communities

EPA – Environmental Protection Agency

FCAV – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry

Kow – coeficiente de partição octanol-água

Koc – constante de adsorção

LD – limite de detecção

LI – limite inferior

LQ – limite de quantificação

LS – limite superior

OD – oxigênio dissolvido

OECD – Organization for Economic Cooperation and Development

OMS – Organização Mundial da Saúde

pH – potencial hidrogeniônico

PNCD - Programa Nacional de Controle da Dengue

PPA – Potencial de Periculosidade Ambiental

PPDB - Pesticide Properties DataBase

QR – quociente de risco

$t_{1/2}$ - tempo de meia vida

UBV- ultrabaixo volume

UH - University of Hertfordshire

WHO – World Health Organization

1. INTRODUÇÃO

A dengue representa um dos maiores problemas de saúde pública nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo os mosquitos do gênero *Aedes* os vetores da doença e a fêmea da espécie *A. aegypti* a mais importante na transmissão. O *Aedes albopictus*, também presente nas Américas, e com ampla dispersão nas regiões Sudeste e Sul do Brasil, é o vetor da dengue na Ásia, não sendo ainda associado à transmissão da dengue nas Américas (BRASIL, 2009).

Esta é a doença viral transmitida por vetor com maior velocidade de dispersão, havendo um aumento de 30 vezes em sua incidência nos últimos 50 anos com o aumento da expansão geográfica para novos países. Cerca de 50 milhões de infecções anuais ocorrem atualmente, e dois quintos da população mundial vivem em países endêmicos (WHO, 2009; BRASIL, 2012a).

A prevenção contra a doença ou redução da transmissão do vírus da dengue depende inteiramente do controle dos mosquitos vetores, em especial das fêmeas, ou interrupção de seus contatos com humanos. O combate ao adulto é feito com o uso de inseticidas químicos (TAUIL, 2002; WHO, 2009).

Porém, a utilização frequente destes inseticidas pode levar à seleção de populações de mosquitos resistentes a estes compostos, comprometendo o controle e favorecendo a transmissão da doença. O número de casos de resistência aos inseticidas vem aumentando em países da Ásia, Caribe e Américas Central e do Sul (MARCORIS et al., 1999; CARVALHO et al., 2004).

Há alguns anos, o adjuvante indicado para uso no combate ao *A. aegypti* no Brasil era a deltametrina. No entanto, em muitas regiões o mosquito mostrou-se resistente a este piretroide (FONTOURA, 2008). Como alternativa tem se empregado o organofosforado malation.

O Programa Nacional de Controle da Dengue – PNCD é um programa do Ministério da Saúde instituído em julho de 2002 pela Portaria nº1347/GM para lidar com o problema da dengue no país. Em consonância com o PNCD, foram elaboradas as Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue

(BRASIL, 2009), que recomenda: “O uso de substâncias químicas – inseticidas – para o controle do vetor nas fases larvária e adulta”.

As Diretrizes recomendam para o controle dos vetores em quadros de epidemia, o uso de equipamentos de aplicação de adulticidas acoplados a veículos, responsáveis por pulverizações em que ocorre a aplicação de gotículas a ultrabaixo volume (UBV) a frio.

Este equipamento, quando em período de uso, é higienizado semanalmente e pouco se sabe sobre o destino das águas de lavagem. Ainda, a pulverização possibilita que o inseticida sofra desvios durante e após a aplicação, podendo atingir meios que não sejam alvos, como o solo e corpos d’água, além de outros organismos não alvos (CHAIM, 1989).

Com a possibilidade da ocorrência de desequilíbrios ambientais devido ao uso de agentes químicos, é de fundamental importância o estudo da dissipação do malation em meio aquático e terrestre em condições regionais. Além disso, estudos ecotoxicológicos e de risco ambiental tornam-se necessários a fim de se estabelecer medidas mitigadoras, para controlar ou minimizar os efeitos adversos sobre os ecossistemas.

A Saúde Ambiental, mais especificamente, é a esfera da área da saúde atingida, uma vez que existe o risco de contaminação/poluição frequente das regiões próximas àquelas em que ocorre a preparação de calda, higienização dos equipamentos e veículos e a própria aplicação do inseticida.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar a dissipação do malation no meio ambiente após aplicação do inseticida por pulverização a ultrabaixo volume (UBV) e avaliar seus efeitos tóxicos em organismos de diferentes níveis tróficos.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver e validar um método de análise para o malation em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e obter recuperação do inseticida em níveis aceitáveis para matriz água e solo;
- Avaliar a dissipação e calcular a meia vida do inseticida em água e solo após sua extração das matrizes e leituras por CLAE;
- Determinar a toxicidade aguda e o risco ambiental do malation para o microcústáceo *Daphnia magna*, para a minhoca *Eisenia foetida*, para o peixe mato grosso (*Hyphessobrycon eques*) e para a macrófita *Lemna minor*, de acordo com diferentes metodologias já descritas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. DENGUE E SAÚDE PÚBLICA

A dengue é uma doença febril aguda causada por quatro sorotipos de vírus dengue do gênero *Flavivirus* (família *Flaviviridae*). Ocorre tanto em área rural como urbana e apresenta-se hoje como um dos principais problemas de saúde pública em inúmeras regiões do planeta (BARRETO, 2005; BARRETO e TEIXEIRA, 2008).

A ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS) estima que 2,5 bilhões de pessoas, ou 2/5 da população mundial, estão sob risco de contrair a doença e que entre 50 a 100 milhões efetivamente se infectam anualmente, em mais de 100 países, de todos os continentes, exceto a Europa com casos raros. Cerca de 550 mil doentes necessitam de hospitalização e 20 mil morrem em consequência da doença (SOUZA, 2010; BRASIL, 2012b).

Por mais que existam programas de controle e erradicação da dengue, nas ultimas duas décadas sua incidência nas Américas tem apresentado uma tendência ascendente e os picos epidêmicos têm sido cada vez maiores (BRASIL, 2012b). No Brasil o número de municípios atingidos tem aumentado nos últimos anos, como indica a figura 1.

Até setembro de 2013, 1.4 milhão de casos da doença foi notificados no país, um número quase três vezes maior do que o ocorrido no mesmo período do ano anterior. A região Sudeste registrou o maior número de casos (63,4 %), seguida pela região Centro-Oeste (18,4 %), Nordeste (10,1 %), Sul (4,8 %) e Norte (3,3 %) (BRASIL, 2013).

Figura 1. Evolução do número de municípios infestados por *Aedes aegypti* entre os anos de 1995 e 2010.

Extraído de: BRASIL, 2012c.

A figura 2 indica os países e áreas de risco de transmissão de dengue no mundo no ano de 2011.

Figura 2. Países/áreas de risco de transmissão de dengue em 2011. As regiões em amarelo representam as áreas de risco.

Extraído de: WHO, 2012.

Em quadros de epidemia, para o controle dos vetores e da transmissão, as diretrizes nacionais indicam a aplicação de inseticida com o uso dos equipamentos pulverizadores acoplados a veículos. Nessas pulverizações ocorre a aplicação de gotículas a ultrabaixo volume (UBV) a frio. No Brasil, o inseticida mais utilizado no combate aos mosquitos foi a deltametrina e, atualmente, o malation.

3.2. INSETICIDAS QUÍMICOS

De acordo com ROSE (2001), um dos métodos mais utilizado no manejo sustentável e integrado de vetores em Saúde Pública é o controle químico com inseticidas. Um grande avanço na área de controle de insetos ocorreu no século XX com o surgimento de inseticidas que passaram a permanecer ativos por longos períodos no ambiente.

O dicloro-difenil-tricloroetano, ou DDT, foi o primeiro inseticida de efeito prolongado, ou propriedade residual utilizado (ROZENDAAL, 1997). Entretanto, este composto apresentou sérios problemas, como o grande período de permanência no ambiente.

Como relatado por BRAGA E VALE (2007), atualmente os inseticidas mais utilizados pertencem principalmente aos grupos dos organofosforados, carbamatos ou piretroides, compostos que atuam sobre o sistema nervoso central dos insetos e são empregados em programas de controle de doenças transmitidas por vetores.

Distintos compostos possuem propriedades físico-químicas e atuação biológica diferentes, interagindo com o meio de maneiras diversas e apresentando comportamentos variados, o que influencia no destino final dos resíduos, devido às diferentes composições e rearranjos das moléculas que os compõem (LAVORENTI, 1996).

Durante e após a aplicação, inseticidas podem ser degradados, redepositados ou dispersos no ambiente, dependendo do meio que atingem. Eles podem volatilizar-se no ar, e atingir até mesmo locais distantes de onde aplicados. A volatilização representa a maior taxa de perda do composto aplicado (SOARES, 2011).

Em locais mais quentes, que são ótimos para o desenvolvimento do *A. aegypti*, a volatilização constitui um fator muito importante para a contaminação atmosférica.

Gotículas de aerossol formadas durante o processo de aplicação a UBV podem se aderir à poeira e constituir uma fonte de contaminação do ar. Fatores climáticos como a presença de ventos e chuvas podem influenciar na extensão da zona de atingimento, transportando os inseticidas a longas distâncias. Gotículas muito pequenas, formadas com a aplicação a UBV possuem uma baixa velocidade de sedimentação, o que possibilita que sejam deslocadas por grandes distâncias antes de atingirem o solo (CHAIM, 1989).

Quando no solo, além de degradar, um inseticida pode escoar superficialmente, ser adsorvido, ou ainda, infiltrar-se, ocorrendo a lixiviação, que pode levar a contaminação de águas subterrâneas. A lixiviação é maior em solos com maior teor de areia, já a sorção depende, além das características do solo e da quantidade de matéria orgânica nele presente, das características do composto em questão.

Após processos de erosão, chuvas e escoamento superficial, resíduos dos compostos químicos podem ser transportados para dentro de corpos d'água. Em ambos os meios, podem ainda ser assimilados por outros organismos não alvos, sofrerem decomposição ou permanecerem neles por diferentes períodos. Na superfície, a fotodecomposição também pode levar a degradação dos compostos (SOARES, 2011).

A água é muito importante no processo de carreamento de agrotóxicos¹ dos locais em que foram aplicados, e o solo constitui-se como fonte de resíduos que

¹ 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, de culturas florestais e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento (lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989).

podem ser disponibilizados para a atmosfera, águas subterrâneas e organismos, que podem utilizar esses compostos como fonte de carbono (RIBEIRO e VIANA, 2010).

No meio ambiente, a água e o solo acabam constituindo o destino final destes compostos, que correspondem a uma parte significativa da dose originalmente aplicada. Nestes meios, ficam sujeitos a diversos processos, influenciados pelas próprias características do meio e do composto químico em questão (CHAIM, 1989).

Além do próprio processo de aplicação a UBV, o acúmulo em equipamentos de proteção, nos pulverizadores e nos veículos utilizados durante a aplicação representa um problema no momento de lavagem, pois disponibiliza para o ambiente uma grande quantidade acumulada de produto ativo, caso não seja dado um destino adequado ao resíduo.

3.2.1. Avaliação dos efeitos no solo e na água

3.2.1.1. Solo

O solo é um meio heterogêneo, composto por três fases: líquida, gasosa e sólida. A maioria das reações ocorre na interface sólido-solução. Quando um composto químico entra em contato com este meio, seu comportamento pode variar e ser bastante complexo, resultando de interações com alguns de seus constituintes como ácidos fúlvicos e húmicos ou óxidos, além da possibilidade de sofrer reações que interfiram em sua ação, muitas vezes intensificando sua ação tóxica no solo.

O comportamento do composto pode ser influenciado por diversos fatores, principalmente seu próprio tipo químico e tipo do solo, que pode ser caracterizado por diferenças, como por exemplo, na intensidade de adsorção (ADAMS, 2002; TUCCI e CABRAL, 2003).

Diferentes tipos de solos possuem variação na quantidade de matéria orgânica, na textura e na granulometria. Quanto maior o teor de areia em um solo, maior a capacidade de mobilização do inseticida. Se houver mais argila, essa mobilização poderá ser reduzida (RIEDER, 2005).

A matéria orgânica leva a sorção dos contaminantes, impedindo que percolem até o lençol freático. Porém, precipitações pluviais, podem carregá-los por escoamento superficial até águas superficiais (KHAN, 1980).

A movimentação dos compostos também pode ser influenciada pelas condições climáticas e pelo relevo, mas depende principalmente, conforme descreve SOARES (2011), das características do solo (composição, matéria orgânica, capacidade de troca catiônica – CTC, pH, textura, umidade) e das características do composto (coeficiente de sorção – Koc, solubilidade, constante de dissociação – pka, coeficiente de partição octanol-água – Kow, pressão de vapor - PV e meia-vida).

A presença de macroporos (canais de raízes, frestas, rachaduras, orifícios de minhocas) pode aumentar a probabilidade do inseticida ser lixiviado.

Os compostos que permanecem na superfície do solo podem ser carregados, por escoamento superficial. Geralmente, a taxa de escoamento superficial tende a ser maior para compostos com solubilidade maiores (NAKANO, 2004).

Quanto à adsorção, conforme KOSKINEN e HARPER (1990) é a interação do soluto da fase líquida com a superfície das partículas da fase sólida, constituída de argila, hidróxidos de alumínio e ferro, matéria orgânica, minerais, óxidos, sílica, e é temporária, dependendo das características dos meios envolvidos.

Para expressar a adsorção do solo, uma constante de adsorção (Koc), baseada na quantidade de carbono orgânico do meio, é utilizada. Ela está relacionada à capacidade do contaminante em se adsorver aos coloides do solo (MARTINI, 2010).

A constante também é utilizada para cálculo do índice de GUS (Groundwater Ubiquity Score), que indica a tendência do composto à lixiviação e será discutida mais adiante. Quanto maior for este valor, maior será a tendência do composto de ser sorvido ao solo, reduzindo sua mobilidade no meio (SOARES, 2011). Uma Koc baixa representa uma maior solubilidade do composto, que pode ser biodegradado mais rapidamente (SILVA, 2009).

Outra característica importante é a solubilidade, que expressa a quantidade máxima em que o composto é dissolvido em água em determinada temperatura, e influencia em seu comportamento, transporte e destino, e indica sua tendência ao carregamento superficial, ou capacidade de atingir águas subterrâneas (SILVA, 2009).

De acordo com SILVA e SILVA (2007), a solubilidade relaciona-se com a polaridade do composto. Quanto maior a polaridade, maior a quantidade de grupos hidrofílicos no composto e maior a sua afinidade por água e solubilidade.

Compostos mais solúveis possuem coeficientes de sorção baixos no solo, sendo mais fácil dissiparem-se neste meio por fluxo de água (SILVA, VIVIAN e ANTONINO, 2012). Documento da University of Hertfordshire (UH, 2013), com base em dados do Pesticide Properties DataBase (PPDB), descreve uma baixa solubilidade de determinado agrotóxico em água, a 20 °C, quando esta é $\leq 50\text{mg.L}^{-1}$; moderada, quando o valor encontrar-se entre 50 e 500 mg.L^{-1} e alta caso seja $> 500\text{mg.L}^{-1}$.

A constante da Lei de Henry (ou coeficiente de partição ambiental-ar: KH), em conjunto com a pressão de vapor (Pv), indica a tendência de volatilização (escape para a atmosfera) ou permanência em fase aquosa do composto. Quando estes valores são altos indicam que o composto é altamente volátil (SILVA, 2009).

Conforme a categorização apresentada pela UH (2013), para a pressão de vapor, a 25 °C, compostos com Pv menor do que 1.10^{-6} mPa são considerados não voláteis. Para valores entre 1.10^{-4} - 1.10^{-6} mPa , a volatilidade é considerada como intermediária, sendo voláteis os compostos com $\text{Pv} > 1.10^{-4}\text{ mPa}$.

Para a constante da Lei de Henry, a 25 °C, compostos em que o KH é maior do que $100\text{ Pa.m}^3.\text{mol}^{-1}$ são voláteis, já para os valores de $0,1$ - $100\text{ Pa.m}^3.\text{mol}^{-1}$, a volatilidade deve ser moderada, e os compostos com KH menores do que $0,1$ são considerados não voláteis. A 20 °C, de forma adimensional, compostos com KH maior do que $2,5 \times 10^{-5}$ são considerados voláteis e com KH menor do que $2,5 \times 10^{-7}$, não voláteis. Para valores intermediários, a volatilidade deve ser moderada.

Já o coeficiente de partição octanol-água (Kow) é a razão entre as concentrações de um composto distribuído entre duas fases imiscíveis em equilíbrio e indica sua tendência em se distribuir em região hidrofóbica, levando à bioacumulação (SILVA, 2009).

Compostos apolares ou lipofílicos, que possuem $\text{Kow} > 10.000$, possuem maior tendência em se adsorver a fração orgânica dos colóides do solo, já os polares ou hidrofílicos, com $\text{Kow} < 10$, devem se relacionar com a fração mineral. Além disso, compostos que apresentam Kow alto e baixa solubilidade em água podem

sofrer forte adsorção no solo e bioacumulação em organismos aquáticos (SILVA, VIVIAN e ANTONINO, 2012).

De acordo com a UH (2013), para valores de $\log K_{ow} < 2.7$ deve haver uma baixa bioacumulação, valores entre 2.7 e 3.0, uma moderada bioacumulação e para $\log K_{ow} > 3.0$, estão as substâncias com alto potencial de bioacumulação.

Quanto à degradação dos contaminantes, a camada superficial do solo é mais susceptível a foto e termo decomposição do que as camadas mais profundas. O composto localizado na parte diretamente exposta aos raios solares encontra-se em condições mais intensas de degradação do que as camadas não diretamente expostas. Estes processos, também se dão de maneira diferente em regiões tropicais e não tropicais (RIEDER, 2005).

A temperatura do solo afeta a volatilização, e a taxa de fotólise do composto, exercendo efeito sob sua pressão de vapor (TAYLOR e SPENCER, 1990). Ainda, FELSOT e SHELTON (1993) sugerem que a biodegradação dos contaminantes e a taxa de dessorção no solo são influenciadas pela umidade do solo.

As perdas de agrotóxicos, além de vias físicas, podem ocorrer por via microbiológica e química, sendo denominadas de degradação (SOARES, 2011). Estes fatores caracterizam a meia vida do contaminante, dependendo das próprias características do solo (teor de carbono orgânico, pH e textura), da população de micro-organismos e do ambiente (temperatura e precipitação) (GEBLER et al., 2007).

SOARES (2011), também afirma que, como o comportamento dos agrotóxicos no ambiente, principalmente no solo, depende de muitos processos, o desenvolvimento de pesquisas no país, em condições tropicais, é extremamente importante para compreensão de como os compostos utilizados no Brasil atuam no meio ambiente.

Além do comportamento dos contaminantes no meio ambiente, também devem ser consideradas suas informações toxicológicas e os possíveis efeitos em espécies não-alvo.

3.2.1.2. Água

Nos sistemas aquáticos, os inseticidas químicos podem ser transportados por diferentes distâncias. A capacidade de uma substância ser transportada depende diretamente de alguns fatores, como suas próprias características químicas, sua estabilidade, seu estado físico e a velocidade da água (ALVES e OLIVEIRA-SILVA, 2003).

Ao atingir os sistemas hídricos, os inseticidas podem interagir com outros poluentes ali presentes e comprometer a saúde e a vida daqueles que dependem desta água (PAGANINI, 2007). Ainda, águas superficiais contaminadas podem ter efeitos ecotoxicológicos para a fauna e flora aquáticas e para a saúde humana, se utilizadas para abastecimento público (SOARES, 2011).

De acordo com este autor, a contaminação da água por estes compostos pode ocorrer diretamente pela deriva das pulverizações aéreas, por meio da erosão dos solos contaminados, por escoamento superficial (*runoff*), por lixiviação e ainda pelo descarte incorreto de águas de lavagem de embalagens de produtos, equipamentos de proteção, pulverizadores e veículos utilizados na pulverização.

A figura 3 ilustra os processos que podem ocorrer nesses ambientes aquáticos, a maioria deles já discutidos anteriormente: fotólise, volatilização, sedimentação, ressuspensão, sorção/dessorção, biodegradação, bioacumulação e biotransformação. O escoamento superficial pode contribuir para contaminação das águas superficiais e a percolação para a contaminação das águas subterrâneas.

A contaminação de águas superficiais é geralmente separada de águas subterrâneas, porém, o ciclo hidrológico conecta diretamente os dois compartimentos, já que águas superficiais podem fluir para águas subterrâneas ou serem reabastecidas por essas águas.

Assim como para o solo, as características da água são fundamentais para o entendimento da dissipação do composto químico. De acordo com a Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR, 2003), nesse meio a hidrólise constitui-se como um importante fator de degradação, relacionado ao pH. Em meio

alcalino a taxa de degradação de agrotóxicos em geral tende a ser maior do que em pH ácido e neutro.

Segundo HOLVOET et al. (2007), dois processos apresentam um importante impacto no destino dos agrotóxicos neste ambiente: sorção/dessorção e biodegradação, que são influenciados pela presença de sedimento.

Figura 3. Diferentes destinos envolvendo agrotóxicos em águas superficiais

Extraído de: SOARES, 2011.

A fotodegradação também ocorre, de acordo com GARDIN et al. (2002) em ambiente aquático e depende de diversas variáveis como comprimento de onda e intensidade de luz incidente, espectro de absorção do composto em questão, características químicas e concentração das demais substâncias presentes.

A meia vida do contaminante é essencial para compreensão de seus possíveis efeitos no meio aquoso. Os organofosforados, em geral, não são persistentes nesse meio (ALVES e SILVA, 2003).

3.2.1.3. Índice de Gus e Método de Goss

O índice de GUS (Groundwater Ubiquity Score) indica o potencial de um composto ser carregado por percolação e eventualmente atingir águas subterrâneas. Foi desenvolvido por GUSTAFSON (1989) e confirmado por modelos desenvolvidos por GLEAMS (Groundwater Loading Effects of Agricultural Management Systems), sendo calculado de acordo com a seguinte equação:

$$\text{GUS} = \log(t_{1/2} \text{ solo}) \times (4 - \log(K_{oc}))$$

Em que:

$t_{1/2}$ solo = meia vida do produto no solo

K_{oc} = coeficiente de adsorção ao carbono orgânico.

Conforme se pode observar, o índice de GUS está relacionado com os valores de K_{oc} e de meia vida de um composto em determinado solo. Os valores calculados podem ser classificados em categorias pré-estabelecidas, como indica a tabela 1.

Tabela 1. Equação para determinação do índice de GUS de um pesticida.

Equação	Classificação do potencial de lixiviação			
	Alto	Baixo	Muito Baixo	Médio
$\text{GUS} = \log(DT_{50}) \times (4 - \log(K_{oc}))$	$\geq 2,8$	$\leq 1,8$	< 0 ou solubilidade < 1 e $DT_{50} \leq 1$	Demais valores

Extraído de: SOARES, 2011.

Para avaliação do potencial de contaminação de águas superficiais, é utilizado o método desenvolvido por GOSS (1992), que classifica os contaminantes em dois grupos quanto ao transporte: os que são dissolvidos em água e os que são associados ao solo/sedimento em suspensão (REBELO, 2013). Os algoritmos de Goss consideram o coeficiente de adsorção à matéria orgânica (K_{oc}), meia-vida no solo e solubilidade em água a 20 °C, conforme descrito na tabela 2.

De acordo com BRITO et al. (2001), a partir do cálculo do índice de GUS e de acordo com método da Environmental Protection Agency (EPA), o malation não

sofre infiltração/percolação, não apresentando mobilidade no solo, não devendo assim contaminar águas subterrâneas. Já segundo a International Union of Pure e Applied Chemistry (IUPAC, 2013), o composto possui uma baixa mobilidade, alertando que para realização do cálculo não leva em conta as condições ambientais locais.

Quanto ao transporte em águas superficiais, o malation apresenta um médio potencial de transporte quando é aplicado o método de Goss (BRITO et al., 2001). O potencial de transporte segundo a IUPAC (2013) deve ser baixo, mas também há um alerta de que não leva em conta as condições ambientais locais.

Tabela 2. Critérios e classificação utilizados para avaliação do potencial de poluição de águas superficiais por pesticidas.

Transporte	Potencial de contaminação		
	Alto	Baixo	Médio
Associado ao solo/sedimento (AD – adsorbed surface)	$DT_{50} \geq 40$ e $K_{oc} \geq 1000$ ou $DT_{50} \geq 40$ e $K_{oc} \geq 500$ e Solubilidade $\leq 0,5$	se $DT_{50} \leq 1$ ou	Demais valores
		se $DT_{50} \leq 2$ e $K_{oc} \leq 500$ ou	
		se $DT_{50} \leq 4$ e $K_{oc} \leq 900$ e solubilidade $\geq 0,5$ ou	
		se $DT_{50} \leq 40$ e $K_{oc} \leq 500$ e solubilidade $\geq 0,5$ ou	
Dissolvido em água (SL – solution surface)	Se solubilidade ≥ 1 e $DT_{50} > 35$ e $K_{oc} < 100.000$ ou Se solubilidade ≥ 10 e solubilidade < 100 e $K_{oc} \leq 700$	se $DT_{50} \leq 40$ e $K_{oc} \leq 900$ e solubilidade ≥ 2	Demais valores
		Se $K_{oc} \geq 100.000$ ou	
		se $K_{oc} \geq 1.000$ e $DT_{50} \leq 1$ ou se solubilidade $< 0,5$ e $DT_{50} < 35$	

Extraído de: SOARES, 2011.

Além das características já citadas para o malation, a deltametrina também não é considerada um potencial contaminante de águas subterrâneas, mas apresenta um médio potencial de contaminação de águas superficiais (DORES e FREIRE, 2001).

3.3. DELTAMETRINA

3.3.1. Características da Deltametrina

A deltametrina é um inseticida do grupo dos piretroides cujo nome químico é (S)-alfa-ciano-m-fenoxibenzil (1R, 3R)-3-(2,2 dibromovinil)-2-2-dimetil ciclopropano carboxilato (ANDREI, 1996).

Os piretroides são derivados sintéticos das piretrinas, ésteres tóxicos isolados das flores das espécies de *Chrysanthemum cinerariaefolium* e espécies relacionadas (SANTOS et al., 2007a).

Piretroides sintéticos podem causar hipersensibilização e irritação nas mucosas de aves e mamíferos e para animais aquáticos são descritos como extremamente tóxicos (BRAGA e VALLE, 2007). A deltametrina pertence à quarta geração de piretroides, e se apresenta como o composto mais tóxico para vertebrados dentre todos os conhecidos até o momento (SANTOS et al., 2007a).

Este grupo químico apresenta modo de ação similar ao do DDT. Atuam, aparentemente, mantendo abertos os canais de sódio das membranas dos neurônios. Além disso, interagem com os receptores do ácido gama amino butírico (GABA) nos filamentos nervosos, ou seja, ligam-se a estes receptores bloqueando os canais de cloro e sua ativação o que pode ser responsável por uma hiperexcitabilidade (MONTANHA e PIMPÃO, 2012). Afetam o sistema nervoso periférico e central dos insetos, estimulando as células nervosas a produzir descargas repetitivas e, eventualmente, causam paralisia (WARE e WHITACRE, 2004).

A fórmula estrutural da deltametrina encontra-se abaixo, na Figura 4 e algumas de suas propriedades físico-químicas como coeficiente de partição, solubilidade em água e pressão de vapor, encontram-se na tabela 3.

A deltametrina não é muito sensível à luz em água. Além disso, em solução aquosa, os piretroides em geral tendem a ser estáveis em pH ácido e neutro, mas tornam-se crescentemente susceptíveis a hidrólise em valores de pH além do neutro (SANTOS et al., 2007a).

O tempo de meia vida deste composto em água ou solo pode variar dependendo das características do meio. DELLAMATRICE et al. (2012), citam uma meia vida de cerca de 11 a 72 dias para a deltametrina em água. Em solo, esse tempo deve ser menor do que 23 dias (FERRACINI et. al, 2001).

Figura 4. Fórmula estrutural da deltametrina.

Extraído de: CARVALHO, 2003.

Tabela 3. Propriedades físico-químicas da deltametrina.

Parâmetros	Valores
fórmula química	$C_{22}H_{19}Br_2NO_3$
peso molecular	505,2
ponto de fusão	100-102 °C
coeficiente de partição (K_{ow})	4,6 (25 °C)
solubilidade em água	<0,2 µg/L (25 °C)
pressão de vapor (25°C)	$1,24 \times 10^{-5}$ mPa

Extraído de: TOMLIN, 1995.

3.3.2. Resistência do *Aedes aegypti* ao Inseticida Deltametrina

O intenso uso de inseticidas pode favorecer o desenvolvimento da resistência dos organismos a estes compostos químicos, comprometendo assim o controle do vetor e favorecendo a transmissão de doenças. A resistência é um caráter genético que se evidencia mediante frequente uso de determinado inseticida. Quanto maior o

uso deste composto, maior e mais rápida será a seleção de insetos resistentes na população e, conseqüentemente maior será o nível de resistência atingido.

A resistência também é influenciada por fatores operacionais ligados ao uso de inseticidas (como classe, formulação, concentração, etc.), que facilmente seriam controlados, mas devido ao uso indiscriminado destes produtos não ocorrem adequadamente (CRUZ, 2002; CARVALHO et al., 2004).

O uso de piretroides no Brasil contra *A. aegypti* iniciou-se por volta de 1999-2000 e já entre 2002-2003 identificou-se uma alteração no status de susceptibilidade de algumas populações do mosquito a este grupo químico. Como relata RIBEIRO (2008), tal resistência pode estar relacionada à resistência cruzada, pelo uso de inseticidas de outros grupos que possuam o mesmo alvo de ação dos piretroides ou que levem ao mesmo mecanismo de resistência.

Resultados provenientes de doze anos de avaliação da Rede de Monitoramento da Resistência de *Aedes aegypti* a inseticidas (Rede MORENA) indicam que as populações do vetor avaliadas no país apresentam altos níveis de resistência aos piretroides em uso pelo Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD). Um agravante a esta situação, é que a disponibilidade de ingredientes ativos de outros grupos é restrita a organofosforados e carbamatos, compostos mais tóxicos do que os piretroides.

Com a restrição ao uso destes, o único inseticida disponível a ser utilizado para aplicações a UBV contra mosquitos adultos no Brasil passou a ser o organofosforado malation (BRASIL, 2012d).

3.4. ORGANOFOSFORADOS

O termo organofosforado refere-se aos ésteres ou tióis derivados de ácidos fosfóricos, fosfônico, fosfínico ou fosforamídico, com estrutura geral descrita na figura 5. Este grupo pode ser dividido em três subgrupos: os alifáticos, em que se encontra o malation, os derivados de fenil e os heterocíclicos, que são a classe de agrotóxicos de maior interesse comercial e toxicológico.

Figura 5. Estrutura química básica dos organofosforados.

Extraído de: SANTOS et al., 2007b.

Como afirmam WARE e WHITACRE (2004), estes compostos são bastante utilizados em Saúde Pública, como é o caso do controle de mosquitos *A. aegypti*, e na agricultura como combate a pragas, embora sejam tóxicos também para outros organismos não alvos.

O sucesso no uso dos organofosforados como inseticidas está baseado principalmente em dois fatores: a sua forte atividade biológica e ao fato de ter uma relativa instabilidade na biosfera. Nas últimas décadas, estes compostos estão sendo utilizados como alternativa ao uso dos compostos organoclorados, grupo que era utilizado até então e que foi causador de grandes danos ambientais por apresentar alta toxicidade e persistência.

Em 1941, foi sintetizado o inseticida octametilpirofosforamida (Scharadan) dando início à aplicação industrial e comercial desta classe de compostos. A partir de então, houve um grande avanço dos organofosforados, surgindo em 1944 o composto paration, um importante agrotóxico utilizado ainda na atualidade. Inseticidas menos tóxicos foram sintetizados posteriormente, como clortion, fention, fenitrothion e malation (SANTOS et al., 2007b).

De acordo com BRAGA e VALLE (2007), os organofosforados inibem a acetilcolinesterase (AChE), importante enzima do sistema nervoso, que é fosforilada pelo inseticida ficando irreversivelmente inativada. A inibição da AChE leva ao acúmulo do neurotransmissor acetilcolina nas junções nervosas/sinapses, impossibilitando a interrupção da propagação de impulsos elétricos. Assim, ocorre a interferência na transmissão dos impulsos nervosos, desencadeando o processo de paralisia que pode levar a morte do inseto.

O sistema nervoso dos insetos é bastante complexo, e as ações decorrentes do contato com organofosforados ocorrem de maneira similar também em outros grupos de organismos, podendo levar à intoxicação em diferentes graus, dependendo das vias e do tempo de exposição, da molécula e da dose à qual o organismo é exposto.

Em plantas, os organofosforados inibem monooxigenases do citocromo P450, que estão ligadas à desintoxicação destes compostos (BIEDIGER et al., 1992; KAPUSTA E KRAUSZ, 1992; MUNKEGAARD et al., 2008). Estudos feitos com milho indicam que o malation afeta o metabolismo da planta, sendo o composto com maior potencial inibitório de reações de hidroxilação P540 dentre os organofosforados estudados (BAERG et al. 1996).

3.4.1. Malation

3.4.1.1. Características do Malation

O malation é um inseticida do grupo dos organofosforados cujo nome químico é O,O dimetil ditiofosfato de dietil mercaptosuccinato (EPA, 2006).

A fórmula estrutural do malation encontra-se abaixo, na figura 6.

Figura 6. Estrutura molecular do malation.

Extraído de: EPA, 2006.

As características físico-químicas do composto são importantes para compreensão de seus efeitos nos organismos, e principalmente, no meio ambiente, além de seu grau de toxicidade. Na tabela 4 são apresentadas algumas destas

propriedades do malation, como solubilidade, peso molecular, pressão de vapor, constante de Henry (KH), o coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}), o coeficiente de adsorção (K_{oc}) e o tempo de meia vida ($t_{1/2}$), características já discutidas com detalhes anteriormente.

Quanto a polaridade, em relação ao pH do meio, os organofosforados são considerados moderados ou fracamente polares.

Como afirma SILVA (2008), a meia-vida é definida como o tempo necessário para que ocorra a dissipação de 50 % da quantidade inicial do agrotóxico aplicado, e este cálculo depende da ordem cinética da velocidade na qual se dá a reação. Dentre os fatores que contribuem para alterar a concentração de uma substância, MACKAY (1997) destaca: a intensidade da radiação solar, a temperatura e a natureza da população microbiana existente no meio.

Segundo dados da University of Hertfordshire (UH, 2013), agrotóxicos com meia-vida ≤ 30 dias são não persistentes, entre 30-100 dias, são moderadamente persistentes; com uma meia vida entre 100 e 365 dias são persistentes, já para meia vida > 365 dias são muito persistentes.

Os organofosforados e piretroides são considerados, em geral, como não persistentes ou moderadamente persistentes.

No ambiente, o malation pode ser degradado por biodegradação, hidrólise e fotólise. No ar, o inseticida é degradado por reação com radicais de hidroxila produzidos fotoquimicamente, com meia-vida estimada de cerca de 5 h. Em outros meios, este fator é fortemente dependente do pH e do teor de matéria orgânica.

De acordo com WOLFE et al. (1975), o malation é degradado rapidamente por hidrólise em pH alcalino, sendo estável em pH ácido. Já em pH neutro, ocorre hidrólise menos acentuada em relação ao meio alcalino. Em determinadas condições (baixo pH, ou baixo teor de matéria orgânica), este composto químico pode persistir com uma meia-vida de meses (WHO, 2004).

Tabela 4. Propriedades físico-químicas do malation.

Parâmetros	Valores
Registro CAS	121-75-5
Fórmula química	$C_{10}H_{19}O_6PS_2$
Massa Molar (g mol ⁻¹)	330,4
Solubilidade em água a 20°C (mg l ⁻¹)	148
Ponto de ebulição (°C)	156-157
Pressão de Vapor a 25°C (mPa)	3,1
Constante de Henry a 25°C (Pa m ³ mol ⁻¹)	$1 \cdot 10^{-3}$
Constante de Henry a 20°C (adimensional)	$4,8 \cdot 10^{-5}$
Log Kow em pH7.0 a 20°C	2,75
Koc	1117-1800
t _{1/2} solo (dias)*	0,08-7
t _{1/2} água (dias)*	6-107

*O tempo de meia vida pode variar dependendo das condições locais.

Extraído de: MILES e TAKASHIMA (1991); WHO, 2003; EPA, 2006; KULLURU, DAS e PANDA, 2010; ROCHA, 2011 e IUPAC, 2013.

O inseticida em questão pode gerar subprodutos dependendo das condições às quais é submetido. O composto malaoxon é o metabolito primário de malation e, sob certas condições, é formado como um produto de sua degradação ambiental, tornando-se disponível para a exposição humana direta, sendo muito mais tóxico que o próprio químico original (EPA, 2006).

Os potenciais produtos gerados a partir da degradação do malation incluem: malaoxon, malation monoácido (α e β), dietil fumarato + ácido O,O dimetilfosforoditioico, dietil tiomalato + ácido O,O dimetilfosforotionico (WOLFE et al., 1975).

Muitos efeitos subletais oriundos da exposição ao malation, para as mais diversas espécies de organismos, são relatados por alguns autores nos últimos anos.

A intoxicação pode levar a diferentes efeitos agudos e crônicos. Além de alterações no sistema nervoso central, simpático e parassimpático, estudos indicam que este composto é carcinogênico (PAVÃO e LEÃO, 2005) e citotóxico, além de gerar efeitos deletérios em células reprodutivas e hormônios de vários organismos (COX, 2003).

CABELLO et al. (2001), por exemplo, demonstram a indução de tumores mamários em ratas que foram tratadas com 17 mg/100 g de malation por massa corpórea. Alterações no DNA de ratos foram observadas após a injeção de 100mg/kg, além de outros danos causados em doses maiores, comprovando sua ação mutagênica e carcinogênica (RÉUS et al., 2008).

3.4.1.2. Aspectos Ecotoxicológicos do Malation

A ecotoxicologia estuda os efeitos tóxicos gerados por compostos químicos em organismos. Para que sejam estudados tais efeitos, são realizados testes de toxicidade e, por meio destes, determinam-se as denominadas concentração letal mediana (CL50), concentração efetiva mediana (CE50) ou concentração inibitória mediana (CI50), responsáveis por causar mortalidade, imobilidade/mortalidade ou inibição do crescimento em metade dos organismos-teste, respectivamente. O termo empregado depende da espécie estudada.

Segundo RAND e PETROCELLI (1985) e LOMBARDI (2004), testes de toxicidade aguda avaliam uma resposta rápida e severa em condições controladas, geralmente ocorrendo em períodos de curta duração, entre 24 a 96 horas para organismos aquáticos. Para organismos terrestres, como minhocas, podem durar até 14 dias.

Alguns compostos químicos comprometem a estrutura e a função das comunidades mesmo em concentrações não letais, podendo gerar impactos em muitos níveis, incluindo moléculas, tecidos, órgãos, indivíduos, populações e comunidades (GRISOLIA, 2005).

Os organismos utilizados em testes ecotoxicológicos devem ser representativos de diferentes níveis tróficos, pois estes podem apresentar diferentes

níveis de sensibilidade a um mesmo composto (LOMBARDI, 2004). Os principais organismos recomendados são produtores primários, como microalgas e macrófitas; consumidores primários, como zooplânctons; consumidores secundários, como peixes (IBAMA, 1987); além de organismos associados aos sedimentos, como crustáceos e minhocas (MOORE et al., 2007).

O malation, além de ser indicado para uso agrícola para diversas culturas como inseticida e acaricida, e para uso como preservante de madeira, também tem emprego domissanitário e vem sendo utilizado com frequência em Saúde Pública nos últimos anos (ANVISA, 2012).

Verifica-se assim a grande importância de estudos ecotoxicológicos realizados com o composto. Os estudos encontrados com o ingrediente ativo malation geralmente referem-se a formulações utilizadas na agricultura e não a formulação oleosa utilizada em Saúde Pública.

Em um trabalho realizado com tilápias adultas (*Oreochromus niloticus*), a CL50(96h) calculada para malation foi de 2,2 mg.L⁻¹ (PATHIRATNE e GEORGE, 1998). Para SHAO-NAN e DEFANG (1996), este composto foi considerado moderadamente tóxico para peixes, com CL50(96h) entre 0,25 e 15 mg.L⁻¹. Valor de CL50(96h) de 0,03 mg.L⁻¹ foi encontrado em testes agudos para perca-Sol de guelras azuis (*Bluegill sunfish*), sendo considerado extremamente tóxico para a espécie (EPA, 2006).

Uma CE50(48h) de 0,001 mg.L⁻¹ foi obtida para pulga d'água (*Daphnia magna*) em testes agudos, classificando o malation também como extremamente tóxico para os microcrustáceos (EPA, 2006).

Este inseticida promove uma queda significativa do peso corpóreo de minhocas *Eisenia foetida*, provoca efeito citotóxico e afeta a estrutura testicular acima de 150 mg.kg⁻¹ de solo (NAVARRO e OBREGÓN, 2005). WANG et al. (2012) qualificaram alguns organofosforados como muito ou extremamente tóxicos para estes invertebrados.

ROBERTS e DOROUGH (1984) classificaram o malation como muito tóxico para *E. foetida* a partir de estudos de toxicidade aguda. BUTLER e VERRELL (2005) também alertam para o efeito tóxico deste composto para as minhocas.

Dados ecotoxicológicos referentes ao malation para macrófitas são pouco frequentes. MUNKEGAARD et al. (2008) em estudos com diferentes formulações combinadas de agrotóxicos obtiveram CE50(7d) de 0,001 a 14,109 mg.L⁻¹ para lentilha d'água (*Lemna minor*).

Com base nos dados de toxicidade aguda, um composto pode ser classificado em diferentes classes toxicológicas, como as classes de ZUCKER (1985), HELFRISH et al. (1996) e do IBAMA (1996), que é utilizada no Brasil para a regulamentação do registro de agrotóxicos.

De acordo com a legislação brasileira, a classe obtida com a classificação toxicológica quanto ao potencial de periculosidade ambiental do IBAMA para um agrotóxico deve ser impressa em seu rótulo e na sua bula, como medida preventiva de comunicação imediata de perigo para o ambiente e para o trabalhador.

Já as classificações de ZUCKER (1985) e HELFRISH et al. (1996), não são utilizadas para regulamentação de registro de agrotóxicos.

Os estudos de toxicidade aguda são importantes ferramentas para análise de risco ambiental, que indicam a probabilidade de ocorrência de efeitos adversos à biota oriunda do uso de um composto químico (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006). Os ensaios de toxicidade são realizados com organismos não alvos que coabitam os ecossistemas e que são selecionados como representativos de diferentes níveis tróficos (GUILHERME, 2005).

A determinação da concentração ambiental estimada (CAE) é essencial na determinação do risco ambiental e depende da quantidade de produto que atinge o ecossistema aquático ou terrestre. O cálculo da CAE depende da dose e da área atingida pelo composto, da profundidade e da densidade do meio em questão (MEDEIROS, 2008).

A partir da concentração ambiental estimada e dos dados gerados pelos testes de toxicidade aguda, seja por comparação entre os valores, seja pelo cálculo do quociente de risco, é possível verificar se determinado composto oferece risco de intoxicação ambiental a determinada espécie, bem como o nível deste risco.

O método do quociente de risco (QR) relaciona a CAE e a CL50 (CAE/CL50), e é utilizado por GOKTEPE, PORTIER e AHMEDNA (2004) para

este cálculo, classificando o composto em questão em diferentes níveis de risco para organismos aquáticos.

O guia técnico das EUROPEAN COMMUNITIES leva em consideração a CAE e a maior concentração a não causar mortalidade (CENO) nos ensaios de toxicidade (EC, 2003), calculando-se o quociente da relação entre eles (CAE/CENO). Segundo a regulamentação de EC (2003) para avaliação de risco de substâncias já existentes, o mais adequado é que se realizem ensaios de toxicidade aguda com organismos de três diferentes níveis tróficos.

KOKTA e ROTHERT (1992) também fazem a relação entre a CAE e a CL50 a fim de verificar a existência de risco para organismos terrestres.

Outras metodologias podem ser utilizadas para cálculo e enquadramento do risco. SOLOMON (1996) cita a multiplicação do QR por um fator de incerteza, que não será utilizado neste trabalho, considerando-se situações extremas.

A avaliação de risco permite identificar efeitos adversos potenciais aos organismos ou ao meio que resultam da exposição a compostos tóxicos (GUILHERME, 2005). GOKTEPE, PORTIER e AHMEDNA (2004) destacam que a avaliação do risco ambiental permite orientar ações de tomada de decisão sobre estimativas de riscos adversos de produtos fitossanitários ao ambiente.

Assim, a determinação da concentração letal mediana e da concentração ambiental estimada são importantes ferramentas para análise do risco de intoxicação ambiental do malation em meio hídrico e terrestre.

3.5. A APLICAÇÃO DOS INSETICIDAS

A tecnologia de aplicação de inseticidas a UVB vem sendo utilizada desde o início da década de 60. Um dos primeiros documentos de normatização desta técnica foi feito pelo Exército Americano.

Este tipo de aplicação objetiva a eliminação das fêmeas de *A. aegypti* e é fortemente preconizada pela Organização Mundial de Saúde, tendo sido incorporada à lista de indicação de intervenções do Comitê de Especialistas em Praguicidas (WHO Pesticide Evaluation Scheme - WHOPES), e indicada em situações em que

existem riscos de epidemia, ou como ferramenta principal de interrupção de surtos/epidemias (BRASIL, 2010).

Uma situação de risco epidêmico ou epidemia ocorre quando há um aumento constante de casos notificados em um município. Esta situação pode ser observada por meio da curva endêmica, diagrama de controle e outras medidas estatísticas.

A nebulização espacial a frio– tratamento a UBV –, utiliza equipamentos portáteis ou pesados. Dentre os diferentes tipos de métodos utilizados no auxílio de combate ao vetor, o equipamento nebulizador acoplado a veículos (Figura 7) é bastante útil para o controle de surtos ou epidemias, em razão do seu alto rendimento (80 quarteirões/dia).

Figura 7. Uso de equipamento nebulizador de inseticida acoplado a veículo.

Extraído de: BRASIL, 2009.

O controle vetorial a UBV consiste na fragmentação de uma pequena quantidade de inseticida pelo equipamento de modo a formar pequenas partículas chamadas de aerossóis. Através da ação de contato, a nebulização elimina os mosquitos que estiverem voando no local, sendo assim, o ideal é que a aplicação ocorra durante a maior atividade vetorial, e que não atinja uma grande altura, pois o mosquito move-se próximo ao solo.

Na Figura 8 é apresentado um esquema da nebulização a UBV.

A aplicação espacial a UBV deve ocorrer com uma periodicidade específica, com o objetivo de impactar as sucessivas gerações de *Aedes*. Os esquemas propostos

consistem na aplicação diária por 4 ciclos consecutivos ou na aplicação a cada 7 dias, por 4 a 5 semanas.

Figura 8. Dispersão da neblina em aplicações espaciais a UVB.

Extraído de: BRASIL, 2009.

O Ministério da Saúde recomenda uma mistura destes dois esquemas e preconiza a realização de cinco aplicações a UVB em ciclos de três a cinco dias. Após o quinto ciclo, deve-se avaliar o impacto dessa aplicação sobre a transmissão de dengue e, caso necessário, pode-se realizar a aplicação por mais dois ciclos. O veículo deve realizar um percurso de maneira a contornar cada quarteirão antes de iniciar o seguinte.

Um local específico para a manutenção e guarda dos equipamentos utilizados para a aplicação de inseticida deve ser construído ou adaptado, sendo dimensionado conforme a necessidade da localidade. Tanto as instalações como o uso dessa área devem seguir as diretrizes e normas de segurança, conforme manual editado pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2009).

A lavagem dos equipamentos e veículos é um item que merece atenção especial da gestão estadual e municipal, de maneira a evitar a contaminação ambiental com a destinação inadequada dos resíduos e sobras das soluções e da água de lavagem.

3.6. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS

A determinação de resíduos de praguicidas em diferentes matrizes é tradicionalmente realizada por meio de técnicas cromatográficas devido à facilidade de separação, identificação e quantificação dos analitos presentes na amostra, havendo inúmeros detectores com possibilidade de uso (GALLI et al., 2006)

A cromatografia a gás (CG) é uma técnica muito utilizada na determinação de piretroides e orgâfosforados. A cromatografia a líquido (CL) também é descrita na literatura como possível método de determinação destes compostos.

Muitos métodos analíticos são descritos para análise de malation por CG. Porém, alguns autores descrevem métodos de análise por cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE), como ABU-QARE e ABOU-DONIA (2001), que utilizaram um detector de ultra violeta a 210 nm, e fase móvel consistindo basicamente em acetonitrila e água.

Ainda, a existência de interferentes nas matrizes e a presença das substâncias de interesse em baixas concentrações requerem a utilização de técnicas de extração, limpeza e pré-concentração para que a determinação dos componentes se torne possível. O objetivo final é a obtenção de uma sub-fração da amostra original enriquecida com as substâncias de interesse analítico, com o intuito de se obter uma separação cromatográfica livre de interferentes (QUEIROZ et al., 2001).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Os testes de toxicidade aguda e as análises cromatográficas, bem como todo processo de extração das amostras de água e solo foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia dos Agrotóxicos e Saúde Ocupacional do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Jaboticabal.

O teste de dissipação do malation em água nos diferentes pH foi realizado no Núcleo de Estudos e Pesquisas Ambientais em Matologia (NEPEAM) e em solo, na Fazenda Experimental, também situados na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Jaboticabal.

A validação do método cromatográfico para análise de resíduos de malation em água e solo deu-se conforme recomendação da Resolução nº 899 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA - (BRASIL, 2003) e da norma NBR14029:2005, da ABNT (ABNT, 2005). Toda a vidraria utilizada neste estudo foi lavada de acordo com a norma NBR 13073:2003 da ABNT (ABNT, 2003).

O produto comercial utilizado nos testes foi o Fyfanon® 96 UBV – CHEMINOVA, composto de 96,5 % de malation, utilizado pelo Ministério da Saúde para combate peridomiciliar do mosquito *Aedes aegypti*.

Os testes de toxicidade aguda para daphnias, peixes e minhocas foram realizados de acordo com as normas da ABNT, sendo respectivamente, NBR 12713:2009 (ABNT, 2009), NBR 15088:2011 (ABNT, 2011) e NBR 15537:2007 (ABNT, 2007). Já para *Lemna minor*, os testes foram realizados de acordo com a Guideline 221 (OECD, 2002).

4.1. AVALIAÇÃO DA DISSIPAÇÃO DO MALATION

4.1.1. Água

Nesta etapa, um estudo simulando o processo de aplicação do malation sobre pequenos corpos de água em diferentes pH foi realizado (figura 9). Dez caixas

d'água com capacidade de 250 l foram preenchidas com água até os 180 l, devido à altura limitadora dos tubos de esgotamento. Galões de 20 l foram utilizados para o preenchimento, de forma a reduzir variações nas concentrações entre as caixas.

Figura 9. Caixas d'água utilizadas para montagem dos testes de dissipação de malation em água em diferentes pH.

Posteriormente ao preenchimento, o pH foi corrigido para 5.0 nas três primeiras caixas, para 7.0 em outras três e para 9.0 nas demais, imediatamente antes da adição do inseticida. As soluções empregadas para correção de pH foram hidróxido de sódio 0.2 N, quando necessário aumentar o pH e solução de ácido clorídrico 2 N, para reduzir o pH. As quantidades utilizadas diariamente foram baixas, não sendo necessária a correção da concentração.

Após o preenchimento das caixas e correção dos pH, foi aplicada então a calda do inseticida na dose de 146 g/ha, em conformidade com o Programa Nacional de Controle da Dengue. As aplicações seguiram o padrão estabelecido pelo Ministério da Saúde, porém, o malation grau técnico 96,5 % foi diluído em acetonitrila para o preparo da calda, ao invés de óleo, possibilitando melhor solubilização em água.

A décima caixa não teve o pH alterado e serviu como controle, recebendo somente a aplicação de acetonitrila. A correção do pH ocorreu diariamente e no mesmo horário, bem como a coleta de amostras de água de todas as caixas a fim de verificar-se o período de dissipação do inseticida e a interferência do pH no processo.

As caixas d'água foram tampadas todas as noites e sempre que preciso com lonas individuais para evitar alteração na concentração de malation devido à ocorrência de chuvas (figura 10).

Figura 10. Lonas utilizadas para evitar a alteração na concentração de malation nas caixas d'água devido à ocorrência de chuvas.

A coleta das amostras ocorreu 1 h, 8 h, 1 d, 2 d, 3 d, 5 d, 7 d, 9 d e 11 d após a aplicação, até que o resíduo se encontrou abaixo do limite de detecção obtido pelo método cromatográfico. Nestes mesmos períodos foram verificados a condutividade, a temperatura da água e do ambiente, o oxigênio dissolvido e o pH de todas as caixas.

Um tubo com três orifícios foi utilizado para homogeneizar e coletar a amostra de diferentes profundidades. Três coletas foram feitas de cada caixa d'água em um béquer de vidro de 500 mL, totalizando cerca de 300 mL de água por tanque, que foram imediatamente transferidos para frascos de vidro âmbar devidamente rotulados, conforme preconizado no Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras (CETESB, 2011).

Todas as amostras foram encaminhadas para o laboratório e imediatamente analisadas. A parcela não utilizada foi estocada em refrigerador a - 4 °C.

Os dados de temperatura, insolação e evaporação da água ocorridos durante o teste foram disponibilizados pela Estação Agroclimatológica da FCAV.

4.1.2. Solo Argiloso

O inseticida Fyfanon® foi aplicado em solo predominantemente argiloso na Fazenda Experimental da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP de Jaboticabal na concentração de campo de 146 g.ha^{-1} , em conformidade com o Programa Nacional de Controle da Dengue (Figura 11). Uma área de 36 m^2 foi previamente demarcada e a parte vegetal removida.

Figura 11. Aplicação do inseticida Fyfanon® em solo predominantemente argiloso (A) e isolamento do campo após a pulverização (B).

Um quilo da camada superficial correspondente aos primeiros 10 cm desta área foi coletado de cinco diferentes localidades para posterior análise química e granulométrica. O mesmo foi feito para a parcela de 10-20 cm. As análises foram feitas pelo laboratório Athenas – consultoria agrícola e laboratório de Jaboticabal, certificado pelo Programa de Qualidade em Análise de Solo em 2013. Os resultados destas análises seguem abaixo, na tabela 5.

Cinco amostras da profundidade de 0-10 cm do solo e 5 amostras da profundidade de 10-20 cm foram coletadas e levadas para o laboratório, onde 50 g de cada amostra foram pesadas e levadas em estufa a 104 °C por 24 h para cálculo da umidade do solo no momento da aplicação do inseticida, por meio da diferença entre massa úmida e massa seca:

$$H = \frac{Mu - Ms}{Ms} \times 100$$

Em que,

H= umidade (%)

Mu = massa úmida

Ms = massa seca

A umidade média calculada das amostras na profundidade de 0-10 cm foi de 10,45 % e para a profundidade de 10-20 cm, de 21,18 %.

Para preparo da calda, o Fyfanon® 96,5 % foi diluído em acetonitrila ao invés de óleo, na dose de 146 g/ha, em conformidade com o Programa Nacional de Controle da Dengue.

A aplicação foi realizada com pulverizador pressurizado com CO₂ 40 lbf/cm³, em formato de barra, com quatro pontas XR11002 distanciadas 0,5 m entre si, perfazendo um total de 2 m de comprimento na barra. Durante a aplicação, a velocidade do vento foi praticamente nula.

Tabela 5. Análise química e física do solo para as profundidades de 0-10 e 10-20 cm.

Profundidade de 0-10 cm			
Análise química		Análise física	
Composição química	Valores	Composição física	Valores
pH (CaCl ₂)	6.2	Argila (%)	57
MO (g.dm ⁻³)	18	Silte (%)	10
P (mg.dm ⁻³)	27	Areia fina (%)	17
S (mg.dm ⁻³)	7	Areia grossa (%)	15
Ca (mmolc.dm ⁻³)	41	Classe textural	Argilosa
Mg (mmolc.dm ⁻³)	17		
K (mmolc.dm ⁻³)	5.9		
Al (mmolc.dm ⁻³)	1		
H + Al (mmolc.dm ⁻³)	21		
SB (mmolc.dm ⁻³)	63.9		
CTC (mmolc.dm ⁻³)	84.9		
V (%)	75		

Profundidade de 10-20 cm			
Análise química		Análise física	
Composição química	Valores	Composição física	Valores
pH (CaCl ₂)	5.1	Argila (%)	57
MO (g.dm ⁻³)	19	Silte (%)	11
P (mg.dm ⁻³)	12	Areia fina (%)	19
S (mg.dm ⁻³)	36	Areia grossa (%)	13
Ca (mmolc.dm ⁻³)	22	Classe textural	Argilosa
Mg (mmolc.dm ⁻³)	12		
K (mmolc.dm ⁻³)	2.5		
Al (mmolc.dm ⁻³)	1		
H + Al (mmolc.dm ⁻³)	43		
SB (mmolc.dm ⁻³)	34.5		
CTC (mmolc.dm ⁻³)	77.5		
V (%)	44		

MO = Matéria Orgânica; H + Al = Hidrogênio + Alumínio; SB = Soma de Bases;
 CTC = Capacidade de Troca de Cátions; V = Porcentagem de saturação de bases.

Quatro faixas de círculos de papel absorvente Benchkote Plus Whatman[®] (figura 12) de 4,5 cm de diâmetro, que possui uma face absorvente e outra

impermeável, contendo três filtros por faixa, foram dispostos a distância aproximada de 30 cm, sob aproximadamente cada bico pulverizador para posterior verificação da variação da homogeneidade da massa do inseticida liberada por cada bico.

Figura 12. Filtros de papel absorvente Benchkote Plus Whatman[®] dispostos sobre o solo.

A coleta das amostras ocorreu 1 h, 8 h, 1 d, 3 d, 5 d, 7 d, 9 d, 11 d, 14 d, 17 d, 23 d e 29 d após a aplicação, até o esgotamento da área de coleta, e coincidentemente, até que o resíduo na maioria das amostras se encontrou abaixo do limite de detecção encontrado no método cromatográfico.

Cinco amostras foram coletadas aleatoriamente de quatro profundidades do solo para verificar-se além da dissipação, a possível lixiviação: 1) camada superficial de 0-5 cm, 2) camada de 5-10 cm, 3) camada de 10-15 cm e 4) camada de 15-20 cm.

Para a coleta do solo, um cano de PVC de diâmetro de 7,5 cm e com 5 cm de altura foi utilizado, como indica a figura 13. Após sua fixação, a amostra foi coletada com auxílio de uma colher. Nenhuma contaminação entre as camadas de diferentes profundidades foi observada. Uma régua foi utilizada para medição das profundidades durante as coletas.

O solo foi coletado em sacos plásticos e levado para o laboratório, onde foi realizada a homogeneização manual das amostras, que foram posteriormente peneiradas para remoção do material vegetal e dispostas em placas de Petri sob ventilação a 20 °C por 2 h para secagem. Então, 10 g foram transferidos para um

recipiente de borossilicato, iniciando-se o processo de extração. O restante das amostras que não foram utilizadas foi estocado em refrigerador a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Figura 13. Coleta das amostras de solo.

Os dados de temperatura, insolação e pluviosidade ocorridos durante o período de estudo foram disponibilizados pela Estação Agroclimatológica da FCAV.

4.2. CÁLCULO DA MEIA VIDA

A meia vida do malation em solo e água, para os diferentes pH, foi calculada conforme as seguintes equações para reações cinéticas de primeira e segunda ordem, conforme descrito por TARIQ, AFZAL e HUSSAIN (2006):

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k}, \text{ para reação de primeira ordem}$$

Em que,

$t_{1/2}$ = tempo de meia vida

k = constante da taxa de dissipação em um número sucessivo de dias, dada pela inclinação da curva.

$$t_{1/2} = \frac{1}{[A]_0 \times k}, \text{ para reação de segunda ordem}$$

Em que,

$[A]_0$ = concentração inicial do composto

Ainda, segundo TARIQ, AFZAL e HUSSAIN (2006), uma maneira de distinguir entre reações de primeira e segunda ordem é traçar gráficos tanto para $\ln[A]_t$ e $1/[A]_t$ em função do tempo t . Se o resultado for uma linha reta com $\ln[A]_t$, trata-se de uma reação de primeira ordem, mas se for linear com os valores de $1/[A]_t$, é de segunda ordem.

Todas as reações de malation em água foram consideradas de primeira ordem e em solo, de segunda ordem. O k foi obtido plotando-se gráficos do tempo no eixo das abscissas e de $\ln[A]/[A_0]$ nas ordenadas para as reações de primeira ordem e de $1/[A]_t$ para reações de segunda ordem, em que $[A]$ é a concentração do composto no tempo de coleta e $[A_0]$ a concentração inicial.

4.3. ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS

Amostras de 10 mL de água e de 10 g de solo foram utilizadas para determinação qualitativa e quantitativa do malation em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

4.3.1. Validação do Método Analítico

A análise de malation foi realizada em sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em um equipamento Surveyor LC da marca ThermoFinnigan® com programa Chromquest 4.1, acoplado a um detector UVvisível. A coluna utilizada foi ACE C18 (4,6 mm x 25 cm) e 5 μ m de tamanho de partícula. O método cromatográfico foi adaptado do método descrito por ABU-QARE e ABOU-DONIA (2001).

Diversos estudos preliminares foram realizados na tentativa de otimização das condições cromatográficas, como a variação no volume de injeção, no comprimento de onda e no tipo e na proporção de fase móvel. Além de acetonitrila, testes

realizados com metanol como constituinte da fase móvel foram realizados, mas não foi observado um bom desempenho.

O sistema cromatográfico adotado foi composto por duas fases móveis 68:32 (v:v): acetonitrila pura grau HPLC (fase A) e água ultra-pura (fase B), filtradas em membrana de 0,45 μm e desgaseificadas em ultra-som por 15 minutos. A vazão e o volume de injeção utilizados foram, respectivamente, 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e 20 μL e o comprimento de onda utilizado no detector de UV foi de 210 nm. O tempo de retenção do analito foi de 4,2 min (figura 14) e o tempo de corrida cromatográfica, de 10 min para água e 15 min para solo.

Figura 14. Cromatograma do padrão analítico de 0,75 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de malation.

A validação do método cromatográfico foi realizada considerando os parâmetros recomendados pela recomendação da Resolução nº 899 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2003) e da NBR14029:2005 da ABNT (ABNT, 2005).

O limite de detecção (LD), considerado como a menor concentração que pode ser detectada, mas não quantificada, e o limite de quantificação (LQ), considerado como a menor concentração que pode ser quantificada com exatidão e precisão aceitáveis (SILVA, 2006), podem ser calculados de diversas maneiras, mas neste

trabalho foram calculados a partir do preconizado pela International Union of Pure and Applied Chemistry - IUPAC (CURRIE, 1999):

$$LD = 3 \times Sd/b$$

$$LQ = 3 \times LD$$

Em que,

Sd = desvio padrão da curva analítica

b = coeficiente angular da curva analítica

O limite de detecção obtido foi de 0,017 mg.L⁻¹ e o limite de quantificação, de 0,051 mg.L⁻¹. A região linear, ou seja, a região em que o resultado obtido foi proporcional a concentração do analito, estabeleceu-se entre as concentrações de 0,01 mg.L⁻¹ e 1 mg.L⁻¹.

Uma curva analítica foi elaborada com os seguintes pontos: 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 e 1 mg.L⁻¹, caracterizando o intervalo de trabalho, ou seja, a faixa da menor a maior concentração que pode ser determinada com precisão e exatidão em relação à linearidade e acima do limite de quantificação obtido pelo método (SILVA, 2006).

Para avaliação da linearidade, foi dividido o fator de resposta (área média/concentração) pela concentração. As áreas médias/concentração foram ordenadas e a mediana (independente dos valores anômalos) foi determinada com 10 % de variação superior e inferior.

O método foi considerado preciso e exato, havendo proximidade entre várias medidas realizadas para uma mesma amostra e também concordância entre o valor real do analito e o estimado pelo processo analítico em questão.

A exatidão e a precisão intra-ensaio foram calculadas com três concentrações: a mais baixa da curva analítica (0,05 mg.L⁻¹), uma média (0,5 mg.L⁻¹) e a mais alta (1 mg.L⁻¹), em sete réplicas.

Para o cálculo da exatidão, utilizou-se o valor real encontrado para cada concentração após injeção e análise por CLAE, dividido pelo valor teórico (0.05, 0.5 ou 1.0 mg.L⁻¹), multiplicado por 100. Já para a precisão, o coeficiente de variação foi calculado após a injeção de sete repetições de amostras de cada concentração citada acima.

Os valores obtidos dos parâmetros acima descritos encontram-se na tabela 6 e estão em consonância com a norma consultada.

A curva analítica obtida após injeção dos padrões de 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 e 1.0 mg.L⁻¹ de malation encontra-se na figura 15. O coeficiente obtido (R^2) foi 0.999, indicando uma correlação fortíssima entre as variáveis. As soluções-padrão foram obtidas a partir da diluição de padrão analítico PESTANAL®, com 97,5 % de pureza, em acetonitrila grau HPLC JT BAKER®.

Tabela 6. Valores dos parâmetros utilizados para validação do método analítico para análise do malation em CLAE.

Parâmetro	Malation (n=7)
Limite de detecção (mg.L ⁻¹)	0,017
Limite de quantificação (mg.L ⁻¹)	0,051
Curva de calibração	$y=69075x - 853,75$ $R^2 = 0,999$
Exatidão (%)	
0,05 mg.L ⁻¹	112
0,25 mg.L ⁻¹	98
1 mg.L ⁻¹	101
Precisão (CV%)	<i>Intra-ensaio</i>
0,05 mg.L ⁻¹	3,68
0,25 mg.L ⁻¹	2,33
1 mg.L ⁻¹	0,81

r = coeficiente de correlação linear

cv = coeficiente de variação

n = número de repetições

Figura 15. Curva analítica obtida para o inseticida malation com as concentrações de 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 e 1 mg.L⁻¹.

4.3.2. Análise das Amostras de Água

Testes de fortificação e recuperação de amostras de água foram realizados antes do início dos testes de dissipação do malation nas caixas d'água, em sala climatizada a 20 ± 5 °C, a fim de verificar-se a porcentagem do analítico recuperada após o processo de pré-concentração e extração da matriz. A água utilizada nestes testes foi água de sistema público de abastecimento, sem passar por processo de destilação.

Volumes de 10 mL de água foram fortificados com 1 mL de padrão analítico de 0.05, 0.5 e 1.0 mg.L⁻¹, correspondentes a três níveis da curva padrão: o mais baixo, um médio e o maior. Dessa maneira, concentrações de 0.005 mg.L⁻¹, 0.05 mg.L⁻¹ e 0.1 mg.L⁻¹ foram obtidas. Estas amostras passaram então por um processo de rotoevaporação.

O balão de fundo redondo contendo determinada amostra foi ligado ao sistema do evaporador rotativo 802A, cujo banho de aquecimento estava a 60 °C e o banho ultratermostatizado, a 4 °C. O frasco permaneceu o tempo todo em rotação a 40 rpm até a evaporação total da água, quando foi removido do sistema e deixado em repouso até resfriar à temperatura ambiente.

Então, 1 mL de acetonitrila foi adicionado ao balão, que seguiu para um banho ultrassônico por 10 min. Após esta etapa, o balão foi agitado por mais 2 min em agitador de tubos. Finalmente a amostra foi coletada e transferida para vial, seguindo para análise em cromatografia líquida de alta eficiência.

Para as amostras de campo, 10 mL foram coletados dos frascos âmbar em que estavam armazenadas, passando posteriormente pelo mesmo processo de extração e pré-concentração acima descritos.

O esquema da etapa de extração e pré-concentração segue abaixo (figura 16) bem como a tabela com os valores de recuperação obtidos (tabela 7). A recuperação foi calculada segundo a seguinte fórmula:

$$\%Rec = \frac{Conc_{obs}}{Conc_{exp}} \times 100$$

Em que,

%Rec = recuperação percentual do analito utilizado para contaminação;

Conc_{obs} = concentração observada do analito na solução contaminada;

Conc_{exp} = concentração esperada do analito na solução contaminada.

Figura 16. Vidrarias e equipamentos utilizados para pré-concentração das amostras de água. A amostra foi transferida do frasco de vidro âmbar em que estava armazenada para o balão de fundo redondo (A). O balão seguiu então para o banho ultratermostatizado até a evaporação total da amostra (B). Após ser resfriado, 1 mL de ACN foi adicionado e o conjunto seguiu para um banho ultrassônico por 10min (C) e agitação por mais 2min (D).

Tabela 7. Porcentagem de recuperação do malation em água para três níveis de concentração. DP = desvio padrão e CV = coeficiente de variação.

Concentração (mg.L ⁻¹)	% Recuperação	DP	CV
0,005	99	1,29	1,28
0,05	97	0,82	0,80
0,1	95	0,24	0,21
Média	97		

A recuperação para as três concentrações de estudo foram enquadradas na faixa recomendada pela ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC) (1993). Segundo a AOAC, o nível de aceitação para recuperação de agrotóxicos em diferentes matrizes depende da concentração investigada. Os valores aceitos encontram-se na tabela 8.

Tabela 8. Nível aceito de recuperação de um analito em função da sua concentração (AOAC, 1993).

Concentração do analito (%)	Intervalo de recuperação aceito (%)
≥ 10	98-102
≥ 1	97-103
$\geq 0,1$	95-105
$\geq 0,01$	90-107
$\geq 0,001 - > 0,0001$	80-110
$\geq 0,000001$	60-115
$\geq 0,0000001$	40-120

Extraído de: BRITO, 2003.

Ainda, um teste em que o produto comercial Fyfanon® previamente diluído em acetonitrila e esta solução diluída em água, numa concentração final de $0,0292 \text{ mg.L}^{-1}$ também foi realizado antes do início dos testes nas caixas d'água, para verificar a solubilização do ingrediente ativo nesta matriz. Resultados muito semelhantes entre as concentrações foram obtidos nas cinco amostras coletadas, indicando uma boa homogeneidade do inseticida na matriz após agitação.

4.3.3. Análise das Amostras de Solo

Testes de fortificação e recuperação de amostras de solo e filtros Benchkote Plus Whatman® foram realizados em sala climatizada a $20 \pm 5 \text{ }^{\circ}\text{C}$, anteriormente ao início dos testes de dissipação do malation em campo a fim de verificar a porcentagem do analítico obtida após o processo de pré-concentração e extração das matrizes.

O solo utilizado nos testes foi obtido da camada de 0-20 cm de profundidade do campo da Fazenda Experimental da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, sem contaminação por outros agrotóxicos. Os filtros, utilizados para verificação da massa de malation pulverizada em diferentes áreas, foram cortados em círculos de 4,5 cm de diâmetro.

Porções de 10,00 g da amostra de solo foram umidificadas com 1mL de acetonitrila e então fortificadas pela adição de 1,00 mL das soluções padrão de 0.05,

0.5 e 1.0 mg.kg⁻¹ de malation, resultando em concentrações finais de 0.005, 0.05 e 0.1 mg.kg⁻¹. Após a fortificação, as amostras de solo foram vigorosamente homogeneizadas manualmente e em agitadora por 10 min, sendo então deixadas em repouso por 2 h no escuro, com ventilação constante a 20 °C, para eliminação do solvente. A metodologia utilizada neste processo foi baseada nos trabalhos de BERNAL et al. (1996), ADAMS (2002) e VILLA, OLIVEIRA e NOGUEIRA (2011).

Em seguida, volumes de 30 mL de acetonitrila foram adicionados às amostras que foram agitadas por 2 h, sendo o líquido coletado e filtrado em filtro de 0,45 µm dentro de balão de fundo redondo. Mais 20 mL de acetonitrila foram adicionados às amostras de solo, que seguiram para agitadora por mais 30 min, sendo posteriormente coletados e filtrados.

Os balões contendo as amostras seguiram para rotoevaporação nas mesmas condições das amostras de água. Após secagem da solução, os frascos resfriaram-se a temperatura ambiente e receberam 1 mL de acetonitrila, sendo posteriormente levados para banho ultrassônico por 10 minutos. Em seguida, foram agitados em agitador de tubos por mais 2 minutos e as soluções neles contidas foram transferidas para vials e analisadas qualitativamente e quantitativamente em cromatografia líquida de alta eficiência.

Um esquema da etapa da extração do inseticida (figura 17) segue abaixo, bem como a tabela com os valores de recuperação obtidos para o solo (tabela 9) e para os filtros Benchkote Plus Whatman[®] (tabela 10).

Esses valores foram enquadrados na faixa recomendada pela AOAC para os níveis de fortificação investigados.

Figura 17. Processo de extração de malation do solo: 10 g foram pesados (A) em frasco de borossilicato (B) e 30 mL de ACN foram adicionados. Os frascos foram então agitados por 2 h. A parte líquida foi coletada e filtrada em filtro de 45 μm (C). Mais 20 mL de ACN foram inseridos nos frascos, que seguiram para agitação por mais 30 min. As amostras foram coletadas novamente, filtradas e seguiram para processo de pré-concentração.

Tabela 9. Porcentagem de recuperação do malation em solo predominantemente argiloso para três níveis de concentração. DP = desvio padrão e CV = coeficiente de variação.

Concentração (mg.kg^{-1})	% Recuperação	DP	CV
0,005	100	8,85	8,87
0,05	94	5,88	5,51
0,1	95	5,49	5,16
Média	96		

Tabela 10. Porcentagem de recuperação do malation em filtro Benchkote Plus Whatman® para três níveis de concentração. DP = desvio padrão e CV = coeficiente de variação.

Concentração (mg.L ⁻¹)	% Recuperação	DP	CV
0,05	102	13,28	13,49
0,5	103	4,98	5,10
1	101	3,17	3,20
Média	102		

Testes em que 1mL do produto comercial Fyfanon® previamente diluído em acetonitrila foi adicionado a 200 g de solo, em uma concentração final de 0,292 mg.kg⁻¹, representando as amostras de cada profundidade estudada, foram realizados. Resultados muito semelhantes foram obtidos nas cinco amostras realizadas, indicando uma boa homogeneidade do malation nesta matriz.

4.4. TESTES ECOTOXICOLÓGICOS

4.4.1. Testes Ecotoxicológicos para o Microcrustáceo *Daphnia magna* (STRAUS, 1820; Crustacea, Cladocera)

4.4.1.1. Cultivo dos Organismos-Teste

Os exemplares de *Daphnia magna* (figura 18) foram cultivados em laboratório, de acordo com a norma NBR 12713:2009, da ABNT (2009). Os animais foram mantidos em recipientes de vidro de 2 L em câmaras (BODs) com temperatura de 20 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h claro-escuro (figura 19). O meio de cultivo foi composto de água destilada reconstituída com nutrientes, pH 7.0 ± 0.2 , dureza total de 250 ± 25 mg.L⁻¹ em CaCO₃ e condutividade de 600 ± 21 µs.cm⁻¹.

Figura 18: Exemplar de *Daphnia magna* adulta (A) e neonato (B).

Figura 19. Recipientes utilizados na criação de *Daphnia magna*.

A alimentação foi constituída por uma suspensão de algas da espécie *Scenedesmus subspicatus* e alimento composto, constituído por proporções iguais de solução de ração para peixe ornamental fermentada e solução de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*).

4.4.1.2. Testes de Toxicidade Aguda

Inicialmente foram realizados testes de sensibilidade com a substância de referência cloreto de sódio (NaCl) para avaliar a sanidade e sensibilidade dos organismos-testes com base na carta controle de cultivo da espécie. Os testes foram

realizados com neonatos com 2 a 26 horas de vida, conforme preconizado pela norma NBR 12713:2009 (ABNT, 2009).

Foram utilizados tubos de vidro com 15 mL de capacidade, sendo o volume final total de 10 mL contendo cinco neonatos por tubo. Os testes foram mantidos durante 48 horas em sistema estático de exposição, no escuro, a 20 ± 2 °C e sem alimentação dos animais.

Após 48 horas da instalação dos testes foi avaliada a imobilidade/mortalidade dos organismos em cada recipiente. Quatro réplicas dos testes de toxicidade aguda foram realizadas, com quatro repetições para cada concentração e o controle. Foram calculadas a concentração efetiva inicial mediana - CE(I)50(48h), e a faixa de segurança, descrita pelo limite superior e o limite inferior (LS e LI; $p=0,05$) e posteriormente, a média desses dados.

As concentrações de NaCl utilizadas nos testes de sensibilidade foram: 4.0; 4.5; 5.0; 5.5; 6.0; 6.5 e 7.0 mg.L⁻¹. As soluções testes e o meio de cultivo foram adicionados aos frascos, totalizando um volume de 9 mL. Em seguida foi adicionado mais 1mL do meio contendo os neonatos.

Posteriormente, testes preliminares foram conduzidos a fim de determinar as faixas de concentração de malation a serem utilizadas nos testes definitivos. Nestes testes foram determinadas as maiores concentrações não letais e as menores que causam 100% de imobilidade nos organismos-teste.

Esses testes foram mantidos sob as mesmas condições dos testes de sensibilidade, no escuro, com duração de 48 horas, compostos por três repetições de cada concentração e do controle e cinco organismos neonatos por repetição.

As concentrações de malation utilizadas para montagem dos testes de toxicidade aguda para os microcrustáceos foram: 0.0001, 0.00025, 0.0005, 0.001, 0.0025, 0.005, 0.01 e 0.05 mg.L⁻¹ (0.01; 0.025; 0.05; 0.1; 0.25; 0.5; 1.0 e 5.0 µg.L⁻¹). Na figura 20 pode-se observar como foram montados os testes.

As características físico-químicas da água (temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica) foram registradas no início e após o final dos testes definitivos com malation.

Figura 20. Frascos utilizados para montagem dos testes de toxicidade aguda com *Daphnia magna*.

4.4.2. Testes Ecotoxicológicos para a Macrófita *Lemna minor* (LINNAEUS, 1753)

4.4.2.1. Cultivo dos Organismos-Teste

O cultivo das macrófitas (figura 21) foi feito de acordo com a norma Guideline 221 (OECD, 2002), em meio de Hoagland composto de água destilada reconstituída com nutrientes, pH 6.5, mantido em sala climatizada com temperatura de 24 ± 2 °C (Figura 22).

Após quinze dias neste meio, as plantas foram utilizadas nos testes, sendo previamente desinfetadas em solução de hipoclorito de sódio 2 %. As frondes (folhas) foram selecionadas para os testes de acordo com o aspecto sanitário, nutricional e de tamanho homogêneo.

Figura 21. Exemplos de *Lemna minor*, planta aquática da família Lemnaceae, vulgarmente conhecida como lentilha d'água.

Figura 22. Cultivo de *Lemna minor*.

4.4.2.2. Testes de Toxicidade Aguda

Os testes ecotoxicológicos também foram realizados de acordo com a norma Guideline 221 (OECD, 2002). Primeiramente foram verificadas a sanidade e a sensibilidade das macrófitas com a substância de referência cloreto de sódio (NaCl) com base na carta controle de cultivo da espécie (CHASTINET e SILVA, 2000).

Foram utilizados recipientes de vidro, sendo adicionadas quatro colônias com três frondes cada (12 frondes totais) em um volume final de 100 mL composto de

meio de cultivo e substância teste. Estes recipientes foram mantidos em sala climatizada a 24 ± 2 °C e fotoperíodo de 16 horas. Após o final dos testes, foram calculados a concentração inibitória inicial mediana - CI(I)50(7d) - e os limites de segurança inferior e superior (LI e LS; $p=0,05$).

As concentrações de NaCl utilizadas nos testes de sensibilidade foram: 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 e 1 mg.L⁻¹. As soluções foram colocadas nos frascos que já haviam sido preenchidos com 50 mL de meio de cultivo e com as 12 frondes 24 h antes e completou-se o volume para 100 mL com meio de cultivo.

Após esta etapa, testes preliminares com o malation foram realizados a fim de estabelecer o intervalo de concentrações a ser utilizado nos testes definitivos, que foram conduzidos sob as mesmas condições,

Quatro réplicas dos testes de toxicidade aguda foram instaladas, com quatro repetições para cada concentração e o controle. Foram calculados a CI(I)50(7d) e o LS e LI para cada réplica e posteriormente, a média desses dados.

Os testes definitivos com o inseticida foram realizados com as seguintes concentrações: 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 e 128 mg.L⁻¹.

Figura 23. Testes de toxicidade aguda com diferentes concentrações de malation para *Lemna minor*.

Nos 3º, 5º e 7º dias após o início dos testes, a avaliação da inibição de crescimento decorrente da exposição ao inseticida foi realizada, por meio da contagem do número de frondes vivas. A taxa de crescimento relativa foi calculada com a seguinte fórmula proposta por GUILLARD (1979):

$$K (d)^{-1} = (\text{Log}_2 n_f - \text{Log}_2 n_i) / t$$

Em que:

K = taxa de crescimento diário;

$\text{Log}_2 n_f$ = Logarítmo na base dois do número de frondes ao final do experimento;

$\text{Log}_2 n_i$ = Logarítmo na base dois do número de frondes no início do experimento;

t = tempo de incubação (dias).

Ao final dos testes foram calculadas a concentração inibitória inicial mediana: CI(I)50(7d) e limites inferior e superior (LI e LS; $p = 0,05$), como descrito anteriormente. As características físico-químicas da água (temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica) foram medidas no início, no terceiro, no quinto e no sétimo dia de teste.

4.4.3. Teste Ecotoxicológicos para Peixes *Hyphessobrycon eques* (STEINDACHNER, 1882)

4.4.3.1. Cultivo dos Organismos-Teste

Os peixes da espécie *Hyphessobrycon eques* (figura 25) foram adquiridos comercialmente e aclimatados por 15 dias em reservatórios de 500 litros de água com renovação e aeração constante no Núcleo de Estudos e Pesquisas Ambientais (NEPEAM) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP de Jaboticabal. A alimentação ocorreu diariamente com ração comercial (Polinutri®, 32 % de proteína bruta).

Um lote homogêneo de animais foi então transferido para um reservatório de 50 litros, com fluxo e aeração constante e temperatura de 25 ± 2 °C no Laboratório de Ecotoxicologia dos Agrotóxicos e Saúde Ocupacional (figura 24). A alimentação e limpeza dos detritos do tanque ocorreram diariamente.

Figura 24. Aclimação dos peixes.

4.4.3.2. Testes de Toxicidade Aguda

Os testes de toxicidade aguda para os peixes se deram conforme a norma NBR 15088:2011 (ABNT, 2011). Inicialmente foram realizados testes de sensibilidade com a substância de referência cloreto de potássio (KCl) para avaliar a sanidade e sensibilidade dos organismos-testes com base na carta controle de cultivo da espécie.

Os peixes, com massa corpórea média de 1 g cada, foram expostos às concentrações de 2.0; 4.0; 6.0; 8.0; e 10.0 mg.L⁻¹ de KCl durante 48 horas, a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 16 horas. Os testes foram feitos em recipientes de vidro (figura 25) com capacidade de 3 L e sistema estático.

Após, foram realizados os testes preliminares com concentrações crescentes de malation, a fim de se obter a faixa de concentração a ser utilizada nos testes definitivos, com a menor concentração que provocou 100 % de mortalidade e a maior que resultou em 0 % de mortalidade dos animais. Os testes definitivos foram

realizados sob as mesmas condições escritas anteriormente, com as seguintes concentrações do composto estudado: 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 e 10.0 mg.L⁻¹.

Quatro réplicas dos testes de toxicidade aguda foram instaladas, com quatro repetições para cada concentração e o controle. Foram então calculados a concentração letal inicial mediana - CL(I)50(48h) - e a faixa de segurança, descrita pelo limite superior e o limite inferior (LS e LI; $p=0,05$) para cada réplica e posteriormente, a média desses dados.

Figura 25. A) Exemplar de *Hyphessobrycon eques*. B) Aquário utilizado nos testes de toxicidade aguda com os peixes.

As características físico-químicas da água (temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica) foram registradas no início dos testes e após 24 e 48 h.

4.4.4. Teste Ecotoxicológicos para Minhocas *Eisenia foetida* (SAVIGNY, 1826)

4.4.4.1. Cultivo Dos Organismos-Teste

Minhocas da espécie *Eisenia foetida* (figura 26) foram obtidas de um minhocário mantido no Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP de Jaboticabal, com ventilação e iluminação

natural e temperatura ambiente média de 25 °C, abastecido com esterco bovino e coberto com material vegetal seco e umidade em torno de 60 % do peso do substrato.

Figura 26: Exemplar de *Eisenia foetida*.

Um lote homogêneo de animais adultos com até dois meses de idade que apresentaram clitelo foi coletado e transportado para caixas de plástico para aclimação no laboratório (figura 27), onde foram mantidas no mesmo substrato do minhocário por 15 dias à temperatura de 20 ± 2 °C e intensidade luminosa entre 400 e 800 lux, coberto por material vegetal seco para manutenção da umidade.

Figura 27. Aclimação das minhocas.

4.4.4.2. Testes de Toxicidade Aguda

Testes de sensibilidade foram realizados inicialmente com a substância de referência cloroacetamida, de acordo com a norma ABNT NBR 15537:2007 (ABNT, 2007) a fim de avaliar a sanidade e sensibilidade das minhocas com base na carta controle de cultivo da espécie.

Estes testes foram realizados com areia como substrato. As concentrações utilizadas de cloroacetamida foram: 6.0, 8.0, 10.0, 12.0 e 14.0 mg.kg⁻¹. Testes com cloroacetamida em solo argiloso também foram realizados, mas não foram considerados como resultados para carta controle por não atingirem um número mínimo para isso.

Em seguida, testes preliminares com areia e solo predominantemente argiloso foram realizados com concentrações crescentes de malation, obtendo-se a menor concentração que provocou 100 % de mortalidade e a maior que resultou em 0% de mortalidade dos animais, bem como a faixa de concentrações utilizada nos testes definitivos.

Para estes testes, os animais foram expostos as concentrações de 3.0, 6.0, 9.0, 12.0 e 16.0 mg.kg⁻¹ de malation para areia e 25.0, 30.0, 35.0, 40.0, 45.0, 50.0 e 55.0 mg.kg⁻¹ para solo argiloso durante 14 dias, em ambiente climatizado a 20 ± 2 °C, com luz contínua.

Quatro réplicas dos testes de toxicidade aguda foram instaladas, com três repetições para cada concentração e o controle. Foram então calculados a concentração letal inicial mediana - CL(I)50(14d) - e a faixa de segurança, descrita pelo limite superior e o limite inferior (LS e LI; $p=0,05$) para cada réplica e posteriormente, a média desses dados.

A areia utilizada nos testes foi areia fina de construção, obtida comercialmente. O solo predominantemente argiloso foi coletado com uma retroescavadeira de profundidades de até cerca de 3 m na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP de Jaboticabal, caracterizando-o com uma baixa atividade biológica. Ambos os substratos foram secos a temperatura ambiente e peneirados.

Para montagem dos testes, recipientes de vidro (figura 28), com capacidade de 2 litros foram preenchidos com 750 g de substrato (areia ou solo argiloso), que foi devidamente misturado à solução teste com uma umidade final de 35-45 %. Posteriormente, em cada recipiente, foram adicionados 10 organismos com massa corpórea total com um peso médio de 500 mg.

Figura 28. Recipientes utilizados nos testes de toxicidade aguda para minhocas com substrato argiloso (A) e areia (B).

Vinte e quatro horas antes do início dos testes, os animais foram transferidos para caixas contendo o substrato teste umedecido com água para substituição do conteúdo do aparelho digestório.

Imediatamente antes da instalação dos testes, os animais foram coletados, contados e lavados em água corrente para remoção do excesso de substrato. Então foram secos, pesados e colocados diretamente sobre o substrato nos recipientes. Um esquema desse processo segue na figura 29.

A massa corpórea dos animais foi anotada no início e ao final dos testes a fim de ser verificar a perda de biomassa durante este período.

Figura 29. Avaliação dos testes de toxicidade aguda realizado com as minhocas após 14 dias. Os animais foram coletados do substrato teste (A), contados (B), lavados, secos (C) e pesados (D).

Antes do início dos testes a areia e o sedimento argiloso passaram por uma avaliação granulométrica e química. Estes dados encontram-se na tabela 11.

Tabela 11. Análise química e física da areia e do solo argiloso utilizados nos testes de toxicidade aguda.

Areia			
Análise química		Análise física	
Composição química	Valores	Composição física	Valores
pH (CaCl ₂)	5.2	Argila (g.kg ⁻¹)	27
MO (g.dm ⁻³)	2	Silte (g.kg ⁻¹)	2
P (mg.dm ⁻³)	9	Areia fina (g.kg ⁻¹)	264
Ca (mmolc.dm ⁻³)	4	Areia grossa (g.kg ⁻¹)	707
Mg (mmolc.dm ⁻³)	1	Classe textural	Arenosa
K (mmolc.dm ⁻³)	0.5		
H + Al (mmolc.dm ⁻³)	11		
SB (mmolc.dm ⁻³)	5.5		
CTC (mmolc.dm ⁻³)	16.5		
V (%)	33		

Solo argiloso			
Análise química		Análise física	
Composição química	Valores	Composição física	Valores
pH (CaCl ₂)	5.3	Argila (g.kg ⁻¹)	591
MO (g.dm ⁻³)	20	Silte (g.kg ⁻¹)	135
P (mg.dm ⁻³)	22	Areia fina (g.kg ⁻¹)	155
Ca (mmolc.dm ⁻³)	21	Areia grossa (g.kg ⁻¹)	119
Mg (mmolc.dm ⁻³)	11	Classe textural	Argilosa
K (mmolc.dm ⁻³)	3.9		
H + Al (mmolc.dm ⁻³)	31		
SB (mmolc.dm ⁻³)	35.9		
CTC (mmolc.dm ⁻³)	66.5		
V (%)	54		

MO = Matéria Orgânica; H + Al = Hidrogênio + Alumínio; SB = Soma de Bases; CTC = Capacidade de Troca de Cátions; V = Porcentagem de saturação de bases.

4.5. CLASSIFICAÇÃO QUANTO À TOXICIDADE AGUDA E RISCO DE INTOXICAÇÃO AMBIENTAL

4.5.1. Classificação Quanto à Toxicidade Aguda

Os dados obtidos nos testes de toxicidade aguda para cada espécie de organismo foram utilizados para calcular os valores de concentração efetiva inicial mediana - CE(I)50, concenconcentração inibitória inicial mediana - CI(I)50 e concentração letal inicial mediana – CL(I)50, dependendo do organismo de estudo, com o uso do software Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON et al. 1977).

A partir destes dados, o malation foi classificado de acordo com as classes toxicológicas propostas por ZUCKER (1985) (tabela 12) e HELFRICH et al. (1996) (tabela 13), como indica a tabela 4, para os organismos aquáticos. Ainda, as CE50 ou CL50 foram utilizadas para classificar o inseticida em classes de toxicidade aguda estabelecidas no Sistema de Classificação quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental – PPA do IBAMA para minhocas, peixes e microcrustáceos (tabelas 14 e 15) (IBAMA, 1996).

Tabela 12. Classes de toxicidade propostas por ZUCKER (1985).

Classe de toxicidade	CL50, CE50 ou CI50 (mg.L⁻¹)
Extremamente tóxico	<0,1
Altamente tóxico	0,1 a 1,0
Moderadamente tóxico	> 1,0 a < 10
Ligeiramente tóxico	> 10 a < 100
Praticamente não-tóxico	> 100

Tabela 13. Classes de toxicidade propostas por HELFRISH et al. (1996).

Classe de toxicidade	CL50, CE50 ou CI50 (mg.L⁻¹)
Super extrema	<0,01
Extrema	0,01 a 0,1
Alta	0,1 a 1,0
Moderada	1,0 a 10,0
Leve	10,0 a 100,0
Mínima	>100

Tabela 14.: Sistema de Classificação quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental – PPA do IBAMA (1996) para microcrustáceos e peixes. X representa o valor da CE50 ou CL50 obtida nos testes de toxicidade aguda.

CE50/CL50(48h) - mg.L ⁻¹					
0	≤	X	<	1	Altamente tóxico
1	≤	X	<	10	Muito tóxico
10	≤	X	<	100	Medianamente tóxico
100	≤	X			Pouco tóxico

Tabela 15.: Sistema de Classificação quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental – PPA do IBAMA (1996) para minhocas. X representa o valor da CL50 obtida nos testes de toxicidade aguda.

CL50(14d) - mg.kg ⁻¹					
0	≤	X	<	1	Altamente tóxico
1	≤	X	<	10	Muito tóxico
10	≤	X	<	100	Medianamente tóxico
100	≤	X			Pouco tóxico

As classificações de ZUCKER (1985) e HELFRISH et al. (1996) são semelhantes, porém HELFRISH et al. é mais rigoroso, pois divide a última classe de Zucker em duas, considerando uma toxicidade super extrema para $CL50 < 0,01 \text{ mg.L}^{-1}$. As classes do IBAMA (1996) são divididas em quatro, contendo em sua classe

“altamente tóxico”, as duas classes de maior toxicidade de ZUCKER (1985) e as três de maior toxicidade de HELFRISH et al. (1996).

A junção destas classes de ZUCKER (1985) e HELFRISH et al. (1996) em apenas uma pelo IBAMA (1996) é adequada, pois a classificação do IBAMA é utilizada para a regulamentação do registro dos agrotóxicos (quatro classes). Pela legislação brasileira, a classe do potencial de periculosidade ambiental dos agrotóxicos é impressa no rótulo e na bula dos agrotóxicos como medida preventiva de comunicação imediata do perigo para o ambiente.

Por outro lado, a subdivisão da primeira classe do IBAMA (1996) em duas classes por ZUCKER (1985) e três por HELFRISH et al. (1996) também é adequada, pois essas escalas de classificação não são utilizadas para regulamentação de registro de agrotóxicos.

4.5.2. Risco de Intoxicação Ambiental

Para o cálculo do risco de intoxicação ambiental, primeiramente foi calculada a concentração ambiental estimada (CAE), em mg.L^{-1} , para ambiente aquático e terrestre.

A dose de malation utilizada para os cálculos foi de $146.000 \text{ mg.ha}^{-1}$, a mesma recomendada para aplicação a UBV pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2009).

Considerou-se que o produto estava uniformemente distribuído no espelho d'água ou no solo em uma área de 1 ha (10.000m^2).

A densidade média da água foi considerada 1.0 g.cm^{-3} e da areia e solo, 1.5 g.cm^{-3} , conforme sugerido por KOKTA e ROTHERT (1992).

Três profundidades foram consideradas para cada ambiente. Para o meio aquático foi utilizada a profundidades de 0.3 m, por compreender a faixa onde se encontram o zooplâncton e o fitoplâncton, que são as bases da cadeia alimentar aquática e profundidades de 1.5 e 2.0 m recomendadas pela EPA para avaliação de risco em ambientes aquáticos (URBAN e COOK, 1986; SOLOMON, 1996; MOURA, 2009).

Para o ambiente terrestre foram consideradas as profundidades propostas por SOLOMON (1996): 2.5, 5.0 e 20.0 cm.

Após o cálculo das diferentes CAEs, para cada profundidade, foi calculado o quociente de risco, com base na seguinte fórmula, conforme descrito por GOKTEPE, PORTIER e AHMEDNA (2004):

$$QR = \frac{CAE}{CL50}$$

Em que,

QR: Quociente de Risco;

CAE: Concentração Ambiental Estimada;

CL50: Concentração letal mediana (ou CI50 ou CE50).

A tabela 16 indica a classificação dos valores de QR segundo GOKTEPE, PORTIER e AHMEDNA (2004) para organismos aquáticos. Neste caso há uma comparação direta do resultado de QR com o nível de efeito.

Tabela 16. Classificação dos valores de QR de acordo com GOKTEPE, PORTIER e AHMEDNA (2004).

Quociente de risco	Classes
QR > 0,5	Alto risco
0,05 < QR < 0,5	Médio risco
QR < 0,05	Baixo risco

De acordo com EUROPEAN COMMUNITIES (EC, 2003), o risco ocorre quando a relação CAE/CENO > 1 para organismos não alvos pertencentes a pelo menos três níveis tróficos, sendo o CENO (em mg.L⁻¹) a maior concentração em que não se observa efeito nos testes ecotoxicológicos. Se CAE/CENO < 1, não há risco. Não há neste caso um ranqueamento como para os métodos do QR citados anteriormente.

Para a avaliação do risco ambiental para as minhocas, KOKTA e ROTHERT (1992) sugerem a seguinte classificação com base na CL50 e na CAE (tabela 17):

Tabela 17. Classificação do risco oriundo do uso de determinado pesticida para minhocas de acordo com relação entre CL50 (mg.kg^{-1}) e a CAE (KOKTA e ROTHERT, 1992).

Relação entre CL50 e CAE	Classes de risco
CL50 < 10 x CAE	Risco potencial
10 x CAE < CL50 < 100 x CAE	Podem ocorrer efeitos, dependendo das circunstâncias
CL50 > 100 x CAE	Provavelmente baixo risco

Se o pesticida em questão apresentar um risco potencial, estudos adicionais considerando efeitos subletais devem ser realizados. Se estes efeitos forem observados, o composto pode ainda ser classificado como de alto risco, de risco moderado ou de baixo risco, dependendo da intensidade dos efeitos adversos.

Seis quocientes para classificação do malation foram calculados de acordo com seu risco ambiental aos quatro organismos estudados (figura 30), dividindo-se as CAEs, que levam em conta três diferentes profundidades, pelo CENO ou pela CL50 (que pode ser substituída pela CI50 ou CE50 dependendo da espécie de estudo).

Figura 30. Fórmulas utilizadas para o cálculo dos diferentes quocientes de risco (QR), com base na relação entre a Concentração Ambiental Estimada (CAE) para três diferentes profundidades e a toxicidade letal mediana (CL50) ou a Concentração de Efeito não Observado (CENO). Dependendo do organismo, a CL50 foi substituída por CE50 ou CI50.

$$\begin{array}{lll} \text{QR 1} = \frac{\text{CAE 1}}{\text{CL50}} & \text{QR 2} = \frac{\text{CAE 2}}{\text{CL50}} & \text{QR 3} = \frac{\text{CAE 3}}{\text{CL50}} \\ \text{QR 4} = \frac{\text{CAE 1}}{\text{CENO}} & \text{QR 5} = \frac{\text{CAE 2}}{\text{CENO}} & \text{QR 6} = \frac{\text{CAE 3}}{\text{CENO}} \end{array}$$

4.6. AVALIAÇÃO DAS VARIÁVEIS DA ÁGUA

O pH, a condutividade elétrica, a temperatura e o oxigênio dissolvido foram medidos antes, durante e ao final de três réplicas dos testes de toxicidade aguda realizados com os quatro diferentes organismos. Estas variáveis também foram medidas nos dias de coleta das amostras de água para avaliação da dissipação do malation em campo, logo após correção do pH para 5.0, 7.0 ou 9.0, com uma sonda multi parâmetros YSI, modelo MDS 556.

4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados das variáveis da água e de dissipação de malation em água e solo foram analisados pelo coeficiente de correlação de Pearson, com nível de significância a 5 % utilizando-se o programa estatístico SAS (2001).

Segundo FIGUEIREDO FILHO e SILVA JUNIOR (2009), o coeficiente de correlação de Pearson (r) varia de -1 a 1. O sinal indica a direção positiva ou negativa do relacionamento e o valor sugere a intensidade da relação entre as variáveis. Para DANCEY e REIDY (2006) um $r = 0,10 - 0,30$ indica uma correlação fraca, $r = 0,40 - 0,60$ uma correlação moderada e $r = 0,70 - 1,00$, uma correlação forte.

Foi também realizada a análise de variância entre médias (ANOVA) com delineamento inteiramente ao acaso com nível de significância de 5 % para a taxa de crescimento relativa das macrófitas, para a dissipação do inseticida em água e solo e redução da biomassa úmida das minhocas, aplicando-se o teste de Tukey, com o mesmo programa descrito anteriormente.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. AVALIAÇÃO DA DISSIPAÇÃO DO MALATION

5.1.1. Água

Diferenças significativas na dissipação do malation foram encontradas entre os distintos tratamentos ao longo do período de estudo ($p < 0,0001$).

A dissipação do inseticida foi mais acentuada em pH alcalino, não havendo diferenças estatisticamente significativas entre pH neutro e ácido ao decorrer do tempo. Após 2 dias da aplicação, em pH 9.0, a concentração do inseticida encontrou-se abaixo dos limites de quantificação do método desenvolvido após a pré concentração das amostras ($< 0,005 \text{ mg.L}^{-1}$).

Para pH 7.0 e 5.0, no 2º e no 5º dias houve uma queda na concentração do composto e após 7 dias, uma concentração de 0,005 e 0,015 mg.L^{-1} de malation foi obtida, respectivamente, não sendo mais detectado o inseticida após o 9º dia de coleta, conforme indica a figura 31 e a tabela 18.

Uma correlação negativa significativa forte ($p < 0,0001$) foi observada quando se comparou os diferentes pH pelo tempo, indicando a tendência da dissipação do malation em água nos diferentes pH ao longo do período de estudo.

De acordo com a concentração obtida para a calda preparada e o volume das caixas d'água utilizadas, uma concentração inicial de 0,041 mg.L^{-1} deveria ser esperada em todos os tanques no momento inicial do teste, evidenciando que para pH 9.0 houve uma queda brusca na concentração de malation já na primeira hora de estudo.

O tempo de meia vida obtido para pH 9.0 foi de 0,1h. Já para pH 7.0 esse valor foi de 3,2 d e pH 5.0, de 4,4 d.

Figura 31. Diminuição das concentrações de malation (mg.L^{-1}) ao longo do tempo (dias) para pH 5,0, 7,0 e 9,0 em água.

Tabela 18. Médias das concentrações de malation (mg.L^{-1}) obtidas ao longo do tempo em pH 5,0, 7,0 e 9,0.

Tempo (dias)	Concentração (mg.L^{-1})					
	pH 9,0	DP	pH 7,0	DP	pH 5,0	DP
0,042	0,012Ab	0,030	0,036Aa	0,030	0,043Aa	0,030
0,33	0,014Ab	0,060	0,041Aa	0,010	0,043Aa	0,030
1	0,006Ab	0,020	0,037Aa	0,040	0,035ABa	0,020
2	0,000Bb	—	0,024Ba	0,110	0,029BCa	0,010
3	0,000Bb	—	0,021Ba	0,050	0,025BCa	0,020
5	0,000Bb	—	0,014BCa	0,050	0,018CDa	0,030
7	0,000Bb	—	0,005CDb	0,020	0,015Da	0,020
9	0,000Ba	—	0,000Da	—	0,000Ea	—

DP = Desvio padrão. Teste de Tukey com nível de significância a 5 %: $F = 44,66$ e $p < 0,0001$. Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey. Letras maiúsculas comparam na vertical o pH ao longo do tempo e letras minúsculas comparam na horizontal o tempo para os diferentes pH. Teste de coeficiente de correlação de Pearson ($\alpha = 5\%$). pH 5,0: $r = -0,9454$ e $p < 0,0001$; pH 7,0: $r = -0,8948$ e $p < 0,0001$ e para pH 9,0: $r = -0,7277$ e $p < 0,0001$.

Os resultados aqui obtidos são semelhantes aos encontrados em outros estudos, que descrevem uma dissipação mais acelerada do malation em pH alcalino em relação ao neutro e ácido.

MULLA et al. (1981), reporta que em pH 9.0 a meia vida deste inseticida foi de 12-24 h e para pH 7.0, maior que 3 dias. Já para pH ácido (>2), o composto foi estável, não degradando por 3 dias em $\text{pH} \geq 6,2$.

A degradação do malation é dependente de pH e ocorre rapidamente em $\text{pH} > 7.0$ (NEWHART, 2006). A hidrólise é a principal via de degradação em condições aeróbicas alcalinas.

Como descrito em documento da WHO (2004), em pH 5.0 a hidrólise do malation não é significativa, já em pH 9.0 deve ocorrer em menos de 12 h, levando de 6-7 d em pH 7.0.

A IUPAC (2013) afirma que o inseticida é considerado estável, com meia vida devido a hidrólise a 20 °C em pH 7.0, de 6,2 d. Este período é reduzido em pH 9.0, sendo de 0.49 dias e chega a 107 d para pH 5.0.

Uma meia vida de 6,21 d foi relatada em pH 7.0 de acordo com ATSDR (2003) e de 1,7 semanas para CHAPMAN e COLE (1982). Ainda, a ATSDR relata uma degradação de 20 % do composto após 28 dias em pH 5.0.

Os dados obtidos neste estudo, em adição àqueles disponíveis a partir de outros trabalhos, indicam que em condições tipicamente encontradas no meio ambiente, em que o pH é geralmente de 5-9, a hidrólise tem um papel significativo na degradação deste inseticida, principalmente em pH mais alcalinos.

Em meio aquoso, além do pH, outros fatores podem também interferir na dissipação do inseticida, como a temperatura, a incidência de luz e a presença de micro-organismos.

Como afirma MULLA et al. (1981), a temperatura exerce efeito sobre a hidrólise do malation. Em seu trabalho, este autor obteve um aumento de 4x na hidrólise do inseticida a cada aumento de 10 °C na temperatura. FREED, CHIOU e SCHMMEDING (1979) relatam que em pH 7.4, a taxa de degradação do malation diminuiu 8x quando a temperatura foi reduzida de 37,5 para 20 °C.

Em água de rio filtrada a pH de 7.3, LARTIGES e GARRIGUES (1995) reportam uma meia vida para malation de 53 dias em temperatura de 6 °C e 7 dias a 22 °C. A temperatura da água também interfere na degradação em pH alcalino (WOLFE et al., 1975; 1977). Em pH de 8.2, WANG E HOFFMAN citam uma meia vida de 2 dias do composto para uma temperatura de 28 °C.

STARNER (1999), em estudo feito com água de rio na Califórnia, obteve uma meia vida do malation semelhante em duas épocas distintas do ano. Nos estudos realizados em abril, cujo pH da água variou de 7.9 a 8.1, a meia vida do composto a 10 °C foi de 16 d e a 25 °C, de 5 d. No mês de agosto o pH da água variou de 7.3 a 7.7, sendo a meia vida obtida a 10 °C também de 16 d e a 25 °C de dois dias.

A fotólise parece interferir menos no processo de degradação do composto. Segundo WOLFE et al., (1975), o inseticida foi fotoliticamente estável em água destilada de pH 6.0 quando exposto a irradiação com comprimentos de onda maior do que 290 nm, mas degradou (meia vida de 16 h) em água de rio com materiais coloridos, derivados de ácidos húmicos que contribuíram para fotólise indireta.

Como descrito pela IUPAC (2013), o composto é considerado estável quanto a fotólise, com meia vida de 98 a 156 d em pH 7.0.

Quanto à degradação microbiana, bactérias parecem ser mais eficientes na degradação de malation do que fungos. A degradação microbiana dos malation tem sido estudada em diferentes tipos de água. Estudos realizados por COTHAM e BIDDLEMAN (1989), evidenciam a degradação mais acentuada de malation em água de mar não esterilizada quando comparada à água esterilizada.

A biodegradação desempenha um papel importante quando o pH < 7,0 e a taxa de hidrólise é lenta em relação à taxa de biodegradação.

O período de estudo foi caracterizado por intensa radiação luminosa e altas temperaturas (Figura 32), principalmente no período inicial, que certamente influenciaram na taxa de dissipação do inseticida.

A temperatura média diária durante os 9 dias de estudo foi de 23,98 °C (máxima média de 30,03 e mínima média de 19,66 °C), a taxa de evaporação média diária em referência a um tanque de 20 m² foi de 6,21 mm e não foi considerada para efeitos de correção de concentração, e a insolação média diária, ou seja, o número de horas em que ocorreu radiação solar direta, foi de 5,95 h.

Figura 32. Dados de Temperatura (A), evaporação referente a um tanque de 20 m² (B) e período de insolação (C) durante o teste.

As características físico-químicas da água também foram medidas durante o teste, e encontram-na figura 33:

A temperatura não variou entre os diferentes pH durante o período de estudo ($p > 0,05$). A alta temperatura, principalmente nos primeiros dias após a aplicação, provavelmente contribuiu para a dissipação do inseticida.

Não foi feita análise estatística do pH pois este foi corrigido diariamente para 5.0, 7.0 e 9.0. Um aumento gradual desta variável na caixa controle foi observado a partir do primeiro dia, provavelmente pelo desenvolvimento de algas e decorrente processo fotossintético.

Figura 33. Variação das características físico-químicas da água ao longo do tempo para pH 5.0, 7.0 e 9.0 e o controle.

Teste de coeficiente de correlação de Pearson (alfa = 5 %). A: $r = -0,0741$ e $p = 0,7736$ para pH 5.0, $r = -0,1680$ e $p = 0,4598$ para pH 7.0 e $r = -0,2313$ e $p = 0,2884$ para pH 9.0. B: $r = 0,8736$ e $p < 0,0001$ para pH 5.0, $r = 0,8167$ e $p < 0,0001$ para pH 7.0 e $r = 0,8194$ e $p < 0,0001$ para pH 9.0. C: $r = 0,9274$ e $p < 0,0001$ para pH 5.0, $r = 0,6151$ e $p = 0,0006$ para pH 7.0 e $r = -0,5448$ e $p = < 0,0043$ para pH 9.0.

Para condutividade, em pH 5.0 e 7.0 houve correlação positiva significativa ($p < 0,05$ e r positivo), mas para o pH 9.0, uma correlação negativa significativa ($p < 0,05$ e r negativo) foi observada, ou seja, a condutividade aumentou significativamente ao longo do tempo nas caixas d'água com pH neutro e ácido, o que não ocorreu em pH alcalino.

Esse fato pode ser explicado pela adição diária de solução ácida para correção do pH para 7.0 ou 5.0, já que a tendência do pH nas caixas d'água foi sempre subir.

Uma forte correlação positiva significativa ($p < 0,05$ e r positivo) foi observada entre o oxigênio dissolvido (OD) e os diferentes pH, indicando um aumento do OD ao longo do tempo. Este aumento provavelmente se deu pela produção de O_2 por algas que cresceram nos tanques através do processo da

fotossíntese (CETESB, 2009), o que também pode estar parcialmente relacionado ao aumento do pH.

Restos de folhas e pequenos frutos foram encontrados nas caixas (figura 34), devido ao transporte pelo vento das árvores localizadas próximas à região do experimento. A presença de algas caracterizou os tanques com uma coloração esverdeada ao decorrer do tempo.

Figura 34. Caixa d'água 5 dias após a aplicação do inseticida.

Estes fatores que ocorrem em condições ambientais reais, como temperatura, incidência de luz, variação de pH, presença de micro-organismos e matéria orgânica, influenciam a taxa de dissipação do inseticida, explicando as diferenças encontradas sobre o tempo de meia vida do composto em distintos artigos científicos.

Ainda, neste estudo, o pH foi corrigido diariamente, podendo ter levado o malation em pH neutro e ácido à hidrólise por pequenas alterações diárias (aumentos) de pH.

5.2.2. Solo

A presença do malation foi detectada somente na camada superficial (0-5 cm) do solo nas primeiras 24 h, apresentando neste perfil uma meia vida de 4,5 h. A baixa umidade do solo no momento da aplicação provavelmente favoreceu a retenção do

inseticida na superfície. De acordo com PROCÓPIO et al., (2001), o baixo teor de água favorece a ligação do inseticida à fase sólida do solo, reduzindo ou impedindo sua mobilidade.

Já a partir de 48 h, o composto foi detectado somente na camada mais profunda de estudo (15-20 cm) e na camada de 10-15 cm apenas no quinto dia, numa concentração média de $0,002 \text{ mg.kg}^{-1}$, sendo detectado apenas em duas das cinco amostras coletadas. A explicação para este resultado é a intensa chuva que ocorreu entre as 24 e 48 h, levando à lixiviação do inseticida.

Após os 29 dias de estudo a presença do composto encontrou-se abaixo dos níveis de detecção do método cromatográfico em todas as profundidades. Apenas em uma das cinco amostras foi detectado o malation em uma concentração de $0,005 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Abaixo (figura 35) encontra-se o gráfico indicando a dissipação do inseticida nas diferentes profundidades de solo ao longo do período de estudo e na tabela 19 as concentrações de malation nestas ocasiões.

Uma correlação significativamente negativa ($p < 0,05$) foi observada entre a concentração pelo tempo na superfície do solo (0-5 cm), evidenciando que nesta camada a dissipação do inseticida aumentou ao longo do período de análise, reduzindo sua concentração.

A concentração obtida na camada superficial foi significativamente distinta nos quatro primeiros períodos de análise. Já na camada mais profunda, se manteve constante a partir do segundo até o penúltimo dia de estudo.

Conforme anteriormente descrito, vários fatores influenciam o comportamento do inseticida neste meio.

De acordo com a análise da concentração da calda e após confirmação da homogeneidade da aplicação do malation no campo, obtida pela extração dos filtros Benchkote Plus Whatman® dispostos pela área de experimentação, uma concentração inicial de malation de $0,26 \text{ mg.kg}^{-1}$ deveria ser obtida.

Esta perda inicial pode ser dada, dentre outros fatores que serão discutidos abaixo, pela volatilização do composto. Conforme sua pressão de vapor a 25°C , o composto é considerado volátil (IUPAC, 2013).

Figura 35. Concentrações de malation (mg.kg^{-1}) ao longo do tempo (dias) para diferentes profundidades de solo.

Tabela 19. Médias das concentrações de malation (mg.kg^{-1}) nas diferentes profundidades de solo ao longo do período de estudo.

Tempo (dias)	Concentração média (mg.kg^{-1})							
	0-5cm	DP	5-10cm	DP	10-15cm	DP	15-20cm	DP
0,042	0,196Aa	0,020	0,000Ab	—	0,000Ab	—	0,000Cb	—
0,33	0,071Ba	0,060	0,000Ab	—	0,000Ab	—	0,000Cb	—
1	0,041Ca	0,190	0,000Ab	—	0,000Ab	—	0,000Cb	—
2	0,000Db	—	0,000Ab	—	0,000Ab	—	0,022Aa	0,520
3	0,000Db	—	0,000Ab	—	0,002Bb	0,030	0,024Aa	0,040
5	0,000Db	—	0,000Ab	—	0,000Ab	—	0,021Aa	0,170
7	0,000Db	—	0,000Ab	—	0,000Ab	—	0,032Aa	0,130
9	0,000Db	—	0,000Ab	—	0,000Ab	—	0,022Aa	0,100
11	0,000Db	—	0,000Ab	—	0,000Ab	—	0,020Aa	0,140
14	0,000Db	—	0,000Ab	—	0,000Ab	—	0,021Aa	0,004
17	0,000Db	—	0,000Ab	—	0,000Ab	—	0,017ABa	0,080
23	0,000Db	—	0,000Ab	—	0,000Ab	—	0,015ABa	0,090
29	0,000Da	—	0,000Aa	—	0,000Aa	—	0,001Ba	0,020

DP = Desvio padrão. Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey. Letras maiúsculas comparam na vertical a profundidade ao longo do tempo e letras minúsculas comparam na horizontal o tempo para as diferentes profundidades. Teste de Tukey com nível de significância a 5 %: $F = 86,63$ e $p < 0,0001$. Teste de coeficiente de correlação de Pearson (alfa = 5%). 0-5cm: $r = -0,4440$ e $p = 0,0002$; 10-15 cm: $r = -0,1214$ e $p = 0,3353$ e para 15-20 cm: $r = -0,0047$ e $p = 0,9730$.

Os níveis de chuva podem afetar significativamente o processo de sorção e lixiviação do composto, podendo favorecer sua percolação no perfil do solo, que é, por sua vez, influenciada pela característica do meio em questão. Solos mais arenosos tendem a lixiviar mais. Já os argilosos tendem a sorver mais o composto. A matéria orgânica presente neste meio também influencia no comportamento do inseticida, reduzindo sua lixiviação (COX et al., 1998).

O solo utilizado neste estudo, embora seja predominantemente argiloso, tem uma parcela de areia grossa e areia fina, que podem contribuir com a lixiviação.

KULLURU, DAS e PANDA (2010), comparando três tipos de solo com diferentes granulometrias, dentre eles, um muito semelhante ao utilizado neste estudo, obtiveram em testes realizados com colunas, uma lixiviação de 30cm para solo com Koc de 1117 e meia vida de 0.3 a 1.7 dias para malation.

Embora, os valores de koc e meia vida do inseticida variem conforme o solo em questão, de acordo com BRITO et al.,(2001), conforme cálculo do índice de GUS e de acordo com método da EPA, o malation não deve sofrer infiltração/percolação a ponto contaminar águas subterrâneas e apresenta um médio potencial de transporte quando é aplicado o método de Goss.

Já a IUPAC (2013) cita um baixo potencial de lixiviação, mas alerta para o fato do cálculo não considerar as condições ambientais locais.

Além das características intrínsecas do inseticida e do solo em questão, as condições ambientais são fundamentais no comportamento do composto.

Os dados de temperatura, pluviosidade e insolação obtidos durante o teste encontram-se na figura abaixo (figura 36). Pode-se observar que este período foi caracterizado por altas temperaturas (média diária de 24,20 °C, com média máxima diária de 30,67 e média mínima diária de 19,40 °C), uma média diária de 7,25 mm de chuva e de 7,17 h de insolação.

De acordo com ATSDR (2003), em solos a degradação microbiana e hidrólise são processos importantes para a dissipação de malation, principalmente em maiores valores de pH e umidade do solo. O mesmo cita ainda vários trabalhos em cujo tempo de meia vida deste composto em solo foi curto, durando de horas a aproximadamente uma semana.

Figura 36. Dados de temperatura (A), quantidade de chuva (B) e período de insolação (C) durante o teste.

MILES e TAKASHIMA (1991), por exemplo, em solo havaiano obtiveram meia vida do inseticida de 8.2 h em laboratório e 2 h em campo. A IUPAC (2013) cita uma meia vida para malation de 0,17 a 1 dia em ambiente aeróbico, classificando-o como não persistente. Já ROCHA (2011), cita uma meia vida de 7 dias, sem detalhar o meio em questão.

Neste trabalho a dissipação do composto foi bastante acentuada nas primeiras horas, em comparação com os trabalhos discutidos acima. Somente quando ocorreu a lixiviação foi observada a sua persistência relativa.

A fotodegradação não parece ser um processo significativo para dissipação do malation neste meio. CHUKWUDEBE et al. (1989) relata que o composto foi relativamente estável à luz solar natural, exibindo pequena degradação quando exposto à luz UV. De acordo com a ATSDR (2003), a meia-vida resultante da fotodegradação no solo é de 173 dias em solo arenoso de pH 6.5.

A temperatura também interfere no processo de degradação, além da volatilização do inseticida no solo (SILVA, VIVIAN e ANTONINO, 2012). ANDREA et al. (1996) afirma, por exemplo, que a dissipação de atrazine aumenta proporcionalmente conforme aumenta a temperatura.

Quanto à biodegradação, alguns micro-organismos podem utilizar o inseticida como fonte de energia, ou podem simplesmente modificar sua estrutura sem fornecimento de energia para uso próprio (MONTEIRO, 1996). Como afirma RAVELLI et al. (1997), a taxa de degradação dos inseticidas diminui conforme aumenta a profundidade do solo, pois haverá menor exposição a microbiota ativa, que localiza-se principalmente na superfície.

Este fator pode explicar a constância na concentração de malation na camada mais profunda de análise a partir do segundo dia de coleta, após a lixiviação. Presente na superfície o composto sofreu influência de vários processos, principalmente a biodegradação e a exposição a altas temperaturas, o que explica a acentuada dissipação no período inicial de estudo.

Estes processos ficam reduzidos a partir dos 15 cm de profundidade. Desta forma, quando a lixiviação é rápida, o composto pode se tornar mais persistente.

O pH do solo também pode influenciar a sorção do composto. Normalmente, os solos com pH elevado, acima de 6,0, possuem menor capacidade de reter agrotóxicos. O solo em questão apresentou um pH de 6.2 na camada de 0-10 cm e 5.1 na camada de 10-20 cm, indicando uma maior probabilidade de retenção do inseticida.

5.2. TESTES DE TOXICIDADE AGUDA E RISCO AMBIENTAL

5.2.1. *Daphnia Magna*

Os testes de sensibilidade com cloreto de sódio (NaCl) confirmaram a sanidade e a sensibilidade destes organismos, estando de acordo com a carta controle do laboratório. Os resultados dos testes ecotoxicológicos com malation, bem como a classificação quanto à toxicidade aguda para diferentes autores encontram-se na tabela 20:

Tabela 20: Concentração efetiva inicial mediana de NaCl e malation (mg.L^{-1}) em testes de toxicidade aguda para *D. magna* e classificação segundo ZUCKER (1985), HELFRISH et al. (1996) e quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental do IBAMA (1996).

	LI	CE(I)50(48h)	LS	Classificação Zucker (1985)	Classificação Helfrish et al. (1996)	Classificação IBAMA (1996)
NaCl	3,95	4,40	4,93	–	–	–
Malation	0,0012	0,0016	0,0022	Extremamente tóxico	Toxicidade super extrema	Altamente tóxico

Na figura 37 encontra-se a curva construída com os dados de imobilidade dos organismos ao final dos testes de toxicidade aguda *versus* as concentrações de malation utilizadas, em que se pode observar um aumento da imobilidade em relação ao aumento das concentrações teste.

Com uma CE(I)50(48h) de $1,6 \mu\text{g.L}^{-1}$ ($0,0016 \text{ mg.L}^{-1}$), o inseticida foi classificado como extremamente tóxico conforme as classes de toxicidade aguda propostas por ZUCKER (1985), como altamente tóxico pelo Sistema de Classificação quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental do IBAMA (1996) e caracterizado por uma toxicidade super extrema pela classificação de HELFRISH et al. (1996), todos os níveis mais extremos destas classificações.

Estes resultados estão de acordo com outros estudos, em que o malation apresentou uma elevada toxicidade para o organismo mesmo em baixas

concentrações. Segundo BARATA, SOLAYAN e PORTE (2003), *D. magna* é muito sensível aos pesticidas organofosforados e muitas vezes habita pequenos corpos d'água em torno de campos agrícolas que recebem tratamentos com agrotóxicos desta classe.

Este mesmo autor encontrou uma CE50(48h) de 12,38 nM para este organismo. Já EPA (2006), cita uma CE50(48h) de 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para pulga d'água em testes de toxicidade aguda e a IUPAC (2013), uma CE50(48) de 0,07 $\mu\text{g.L}^{-1}$, classificando o malation como altamente tóxico para a espécie.

Figura 37. Porcentagem de imobilidade/mortalidade de *D.magna* pelas concentrações crescentes de malation.

Estudos com outros organofosforados também evidenciam uma elevada toxicidade para os microcrustáceos. ABE et al. (2014) obtiveram uma CE50(48h) de 0,15 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para temefós, um larvicida utilizado no combate às larvas de *Aedes aegypti*. Uma CE50(48h) de 0,70 ng.L^{-1} foi obtida para triclorfon (ARAUCO, CRUZ e MACHADO-NETO, 2005). Para outras espécies de Daphnias os valores foram semelhantes: 0,52 ng.L^{-1} para *D. similis* e 0,92 ng.L^{-1} para *D. laevis*.

MESQUITA (2005) obteve uma CE50(48h) de 0,58 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para quinalfós e 0,68 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para clorfenvinfós, além de observar efeitos deletérios sobre o

crescimento e na reprodução de *D. magna* expostas aos organofosforados. Tais efeitos tóxicos também são observados em outros organismos zooplancônicos.

A comunidade zooplancônica, onde se inserem as daphnias, é responsável por 80 % da produção secundária no ambiente aquático. Alterações nestas populações podem causar danos à dinâmica de todo um ecossistema aquático (MANGAS-RAMÍREZ et al. 2004).

Como afirma BARATA, SOLAYAN e PORTE (2003), os organofosforados podem causar graves efeitos populacionais duradouros sobre espécies não-alvo aquáticas, principalmente invertebrados. Estes inseticidas provocam a inibição da acetilcolinesterase (AChE) e induzem respostas letais e subletais, devendo ser considerados uma preocupação ambiental para as espécies de *Daphnia*.

O Departamento de Proteção Ambiental da Flórida, que acompanhou a fauna de macroinvertebrados em cinco lagos, relatou a redução ou ausência destes organismos que vivem nos sedimentos e são expostos ao malation (BALDAN, 2012).

A aplicação do malation no Brasil para combate ao mosquito *A. aegypti*, ocorre principalmente no verão, período em que há frequência de chuvas, como se pôde observar neste estudo, podendo haver o carreamento deste produto para corpos d'água.

A lavagem de equipamentos de proteção, bem como os pulverizadores e carros utilizados também é um fator preocupante, pois pode liberar uma quantidade concentrada do inseticida para o meio ambiente quando realizada sem cuidados especiais. Com isso, pode haver quedas bruscas nas populações do microcrustáceo, que tem uma importante posição na cadeia trófica aquática.

Além da avaliação da imobilidade dos organismos ao final dos testes de toxicidade aguda, as características da água foram medidas no início e no final dos testes para avaliar possíveis efeitos do composto sobre estas variáveis.

Para cada variável da água analisada foi construído um gráfico em relação às concentrações utilizadas nos testes. Os gráficos são apresentados na figura 38. Nas concentrações de 0; 0,01; 0,025; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 1 e 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$, o inseticida não alterou significativamente a condutividade elétrica, o oxigênio dissolvido e o pH da

água no período de estudo ($p > 0,05$), o que indica que tais variáveis não estão relacionadas à mortalidade dos organismos.

Não foi feita análise estatística da temperatura, pois os testes foram mantidos em sala climatizada com temperatura controlada.

Para cálculo do risco ambiental, primeiramente foram calculadas as CAEs para três diferentes profundidades, já descritas anteriormente, simulando um corpo hídrico. Em seguida, esses valores foram divididos pela CE(I)50 ou pelo valor do CENO obtidos nos testes de toxicidade aguda, gerando seis diferentes quocientes de risco (tabela 21).

Figura 38. Variação das características físico-químicas da água ao longo das concentrações de malation entre os dias de avaliação dos testes de toxicidade aguda.

Teste de coeficiente de correlação de Pearson (alfa = 5%). B: $r = -0,1465$ e $p = 0,4658$ para 0 h e $r = -0,1274$ e $p = 0,5266$ para 48 h; C: $r = 0,0967$ e $p = 0,6315$ para 0 h e $r = -0,2016$ e $p = 0,3133$ para 48 h; D: $r = -0,0727$ e $p = 0,7188$ para 0 h e $r = -0,2771$ e $p = 0,1618$ para 48 h.

Tabela 21. Valores de QR calculados para *D. magna*, sendo CAE1=0.049, CAE2=0.0097, CAE3=0.0073mg.L⁻¹ e CENO = 0.0001 mg.L⁻¹.

	1	2	3
$QR = \frac{CAE}{CE50}$	30,62	6,06	4,56
$QR = \frac{CAE}{CENO}$	480,00	97,00	73,00

Após o cálculo do quociente de risco nas diferentes condições, o inseticida foi classificado quanto ao risco de intoxicação ambiental de acordo com GOKTEPE, PORTIER e AHMEDNA (2004) e EC (2003) (tabela 22).

Tabela 22. Classificação do inseticida quanto ao risco de intoxicação ambiental para GOKTEPE, PORTIER E AHMEDNA (2004) e EC (2003).

	GOKTEPE, PORTIER E AHMEDNA (2004)	EC (2003)
QR1 = 30,62	Alto risco	—
QR2 = 6,06	Alto risco	—
QR3 = 4,56	Alto risco	—
QR4 = 480	—	Causa Risco
QR5 = 97	—	Causa Risco
QR6 = 73	—	Causa Risco

Para EC (2003), com estes valores de QR obtidos, o inseticida oferece risco para os microcrustáceos. O malation foi classificado para todos os QR calculados no maior nível de risco para as classificações de GOKTEPE, PORTIER e AHMEDNA (2004).

Poucos estudos relacionados ao risco de intoxicação ambiental são encontrados. Segundo ABE (2014), o organofosforado temefós também apresentou um alto risco de intoxicação para estes organismos com base na classificação de

GOKTEPE, PORTIER e AHMEDNA (2004). ARAUCO, CRUZ e MACHADO-NETO (2005), utilizando o método do quociente de risco, obtiveram um alto risco com o uso de triclorfon na dose utilizada em piscicultura para *D.magna*, *D.similis* e *D. laevis*.

Os resultados obtidos neste estudo indicam que o malation, além de ser muito tóxico para o microrustáceo em baixas concentrações, oferece um alto risco de intoxicação ambiental à espécie, trazendo um alerta quanto ao uso peridomiciliar em Saúde Pública, e possibilidade do comprometimento da Saúde Ambiental nas condições de uso para combate ao mosquito *A. aegypti*.

5.2.2. *Lemna minor*

Os resultados dos testes de toxicidade aguda realizados com as macrófitas encontram-se na tabela abaixo (tabela 23):

Tabela 23. Concentração inibitória inicial mediana de NaCl e malation (mg.L^{-1}) em testes de toxicidade aguda para *L.minor* e classificação segundo ZUCKER (1985), HELFRISH et al. (1996) e quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental do IBAMA (1996).

	LI	CI(I)50(7d)	LS	Classificação Zucker (1985)	Classificação Helfrish et al. (1996)	Classificação IBAMA (1996)
NaCl	3600,00	4100,00	4700,00	–	–	–
Malation	11,96	14,75	17,61	Ligeiramenre tóxico	Toxicidade leve	–

Os testes de sensibilidade indicaram que os organismos eram adequados para realização dos testes com o malation, de acordo com a carta controle do laboratório.

Com uma CI(I)50(7d) média de $14,75 \text{ mg.L}^{-1}$ de malation, o inseticida foi considerado como ligeiramente tóxico, de acordo com a classificação de ZUCKER (1985) e levemente tóxico segundo HELFRISH et al. (1996), ficando na mesma

faixa de classificação que compreende uma CI50 de 10 a 100 mg.L⁻¹. As macrófitas não são classificadas pelo PPA - IBAMA (1996).

A figura 39 indica a diminuição no número de frondes ao final do teste conforme se aumenta a concentração de malation, ficando evidente a inibição do crescimento da macrófita. Um gráfico da inibição do crescimento *versus* concentração de malation é exibido na figura 40.

A contagem do número de frondes foi realizada no início do teste e no 3°, 5° e 7° dias, indicando uma inibição de crescimento gradual ao longo do período de estudo, conforme se pode observar na figura 41, sendo total na maior concentração (128 mg.L⁻¹).

Além disso, observou-se sinais de necrose foliar (figura 42) desde a segunda concentração de estudo (2 mg.L⁻¹), que acentuaram-se ao longo das concentrações.

Figura 39. Diminuição do número de frondes de *L.minor* nos testes de toxicidade aguda, após 7 dias, da menor para a maior concentração de malation.

Figura 40. Porcentagem de inibição de crescimento de *L.minor* pelas concentrações crescentes de malation.

Figura 41. Comparação das médias do número de frondes de *L. minor* no momento inicial do teste e nos 3°, 5° e 7° dias.

Figura 42. Inibição do crescimento das frondes e necrose (aspecto esbranquiçado) provocadas pela presença do inseticida em diferentes concentrações de estudo.

O processo de necrose provavelmente ocorreu devido ao comprometimento de alguma via fisiológica dos organismos, e é observado com frequência em outros estudos envolvendo a exposição de macrófitas a agrotóxicos (SOUZA, 2008).

Uma queda significativa ($p < 0,0001$) foi observada na taxa de crescimento relativa de frondes de *Lemna minor* com o aumento das concentrações de malathion (figura 43). Houve variação significativa entre a taxa de crescimento nas últimas três concentrações, que não foi observada para as primeiras concentrações de estudo.

Figura 43. Taxa de crescimento relativa de frondes ao longo das concentrações nos testes de toxicidade aguda para *Lemna minor*.

Teste de Tukey com nível de significância a 5 %: $F = 36,29$ e $p < 0,0001$.

As letras comparam a taxa de crescimento relativa pela concentração.

MUNKEGAARD et al. (2008) realizou um estudo com misturas de malation e outros herbicidas e obteve uma CE50(7d) de 1,2 a 14109,0 $\mu\text{g.L}^{-1}$, dependendo do herbicida utilizado, observando efeitos sinérgicos entre os compostos. Respostas semelhantes foram obtidas para outros organofosforados, como o clorpirifós.

ABE (2012) obteve para o temefós, organofosforado utilizado em Saúde Pública no controle de larvas de *Aedes aegypti*, uma CI50(7d) de 19,7 mg.L^{-1} , próxima a CI50 obtida para o malation neste estudo, classificando o composto também como ligeiramente tóxico segundo ZUCKER (1985). Além disso, uma queda significativa na taxa de crescimento relativa foi observada para este inseticida pela autora.

Apesar de não terem o mesmo mecanismo de ação que nos organismos alvos, em plantas, os organofosforados inibem a enzima citocromo P450 monooxigenase, responsável pela detoxificação e metabolização de agrotóxicos em compostos não tóxicos (BAERG, 1996; TARDIF e POWLES, 1999).

Estas enzimas são capazes de transformar o composto tóxico em polar, tornando-o mais solúvel e mais fácil de ser eliminado. Quando este composto é um organofosforado, estas enzimas provocam a dessulfuração oxidativa dos grupos tio-

fosfatos dos tóxicos, resultando em compostos com enxofre reativos, que se ligam à cisteína das enzimas e as inativam (DECKER e DOERGE, 1992; KYLE, 2005; ABE, 2012).

As variáveis da água foram medidas no início, no 3º, 5º e 7º dias após o início dos testes de toxicidade aguda. Os gráficos indicando as variações que ocorreram neste período encontram-se abaixo (figura 44):

Figura 44. Variação das características físico-químicas da água ao longo das concentrações de malation entre os dias de avaliação dos testes de toxicidade aguda.

Teste de coeficiente de correlação de Pearson (alfa = 5%). B: $r = -0,0367$ e $p = 0,8558$ para 0 d, $r = -0,4723$ e $p = 0,0129$ para 3 d, $r = -0,4701$ e $p = 0,0134$ para 5 d e $r = -0,5540$ e $p = 0,0027$ para 7 d; C: $r = -0,2271$ e $p = 0,2546$ para 0 d, $r = 0,3260$ e $p = 0,0970$ para 3 d, $r = 0,4476$ e $p = 0,0192$ para 5 d e $r = 0,5060$ e $p = 0,0071$ para 7 d. D: $r = 0,6910$ e $p = 0,0001$ para 0 d, $r = -0,7588$ e $p < 0,0001$ para 3 d, $r = -0,5264$ e $p = 0,0048$ para 5 d e $r = -0,6471$ e $p = 0,0003$ para 7 d.

A temperatura da água foi menor no início do teste em relação aos demais dias. Porém, esta variável não foi analisada estatisticamente, já que o teste se

manteve em sala climatizada. Variações podem ser explicadas pelo fluxo de pessoas e pequenas alterações aceitáveis na temperatura ambiente.

Uma moderada correlação positiva significativa entre concentração e condutividade ($p < 0,05$ e r positivo) foi observada nos 5° e 7° dias de avaliação em relação aos demais períodos.

Uma redução no pH foi observada no 3°, 5° e 7° dias de avaliação (correlação moderada negativa, $p < 0,05$) em relação ao aumento das concentrações. Para o oxigênio houve correlação positiva no primeiro e correlação negativa ($p < 0,05$) no terceiro, quinto e sétimo dias com uma queda em relação ao aumento das concentrações.

A queda no pH acompanhada da queda de O_2 deve estar associada a danos no metabolismo natural das macrófitas, prejudicando o processo fotossintético, em que o organismo retira menos CO_2 da água, reduzindo o pH do meio e produzindo menos O_2 (BRASIL, 2000; CETESB, 2009).

Em relação ao tempo, inicialmente o pH, o O_2 e a condutividade foram menores no primeiro dia de avaliação em relação aos demais, o que provavelmente também está relacionado a fotossíntese pelos organismos.

A queda no pH também pode estar associada a mortalidade de organismos, levando a uma taxa de degradação nos frascos testes com produção de íons H^+ , diminuindo o pH (ESTEVES, 1998).

Um menor pH e uma menor condutividade foram observados no início dos testes em relação aos demais períodos provavelmente devido ao menor número de frondes iniciais.

Para cálculo do risco de intoxicação ambiental, foram calculadas as CAEs para três diferentes profundidades, já descritas anteriormente, simulando um corpo hídrico. Estes valores foram então divididos pela $CI(1)50$ ou pelo valor do CENO obtidos nos testes de toxicidade aguda com as macrófitas, gerando seis diferentes quocientes de risco (tabela 24).

Após o cálculo do quociente de risco nas diferentes condições, o inseticida foi classificado quanto ao risco de intoxicação ambiental de acordo com GOKTEPE, PORTIER e AHMEDNA (2004) e EC (2003) (tabela 25).

Tabela 24. Diferentes valores de QR para *L. minor*, em que CAE1 = 0.049, CAE2 = 0.0097, CAE3 = 0.0073 mg.L⁻¹ e CENO = 1 mg.L⁻¹.

	1	2	3
$QR = \frac{CAE}{CI50}$	0,0030	0,0006	0,0005
$QR = \frac{CAE}{CENO}$	0,049	0,009	0,007

Tabela 25. Classificação do inseticida quanto ao risco de intoxicação ambiental para GOKTEPE, PORTIER e AHMEDNA (2004) e EC (2003).

	GOKTEPE, PORTIER E AHMEDNA (2004)	EC (2003)
QR1 = 0,0030	Baixo risco	—
QR2 = 0,0006	Baixo risco	—
QR3 = 0,0005	Baixo risco	—
QR4 = 0,048	—	Não causa Risco
QR5 = 0,009	—	Não causa Risco
QR6 = 0,007	—	Não causa Risco

Para EC (2003), com estes valores de QR obtidos, o inseticida não oferece risco para as macrófitas. O malation foi classificado como de baixo risco nas classificações de GOKTEPE, PORTIER e AHMEDNA (2004).

Poucos estudos são encontrados envolvendo risco ambiental para *Lemna minor*. Segundo ABE (2012), o organofosforado temefós também apresentou um baixo risco de intoxicação ambiental para estes organismos após avaliação pelo método do quociente de risco.

Os resultados aqui apresentados indicam que o malation é ligeiramente tóxico e não apresenta risco conforme classificação da EC (2003) e se classifica como de baixo risco de intoxicação ambiental à espécie pelas classes de GOKTEPE, PORTIER e

AHMEDNA (2004) na dose utilizada para combate peridomiciliar ao mosquito *A. aegypti*.

5.2.3. *Hyphessobrycon eques*

Os testes de toxicidade aguda com cloreto de potássio (KCl) certificaram a sanidade e sensibilidade dos animais, de acordo com a carta controle do laboratório, possibilitando a realização dos testes com malation. Os resultados dos testes ecotoxicológicos são encontrados nas tabela 26.

Tabela 26: Concentração letal inicial mediana de KCl e malation (mg.L^{-1}) em testes de toxicidade aguda para *H.eques* e classificação segundo ZUCKER (1985), HELFRISH et al. (1996) e quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental do IBAMA (1996).

	LI	CL(I)50(48h)	LS	Classificação Zucker (1985)	Classificação Helfrish et al. (1996)	Classificação IBAMA (1996)
KCl	2.820,00	3.2000,00	3.640,00	–	–	–
Malation	2,36	3,05	3,93	Moderadamente tóxico	Toxicidade moderada	Muito tóxico

Um aumento na mortalidade dos peixes em relação ao aumento da concentração de malation foi observado ao final do teste, conforme se verifica na figura 45

Com uma CL(I)50(48h) de $3,05 \text{ mg.L}^{-1}$, o malation classificou-se como moderadamente tóxico conforme as classes de toxicidade aguda propostas por ZUCKER (1985) e HELFRISH et al. (1996) e como muito tóxico pelo Sistema de Classificação quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental (PPA) do IBAMA, compreendo a faixa de 1 a 10 mg.L^{-1} . Esta classificação, porém, por ter um objetivo diferente, contém apenas quatro divisões, originando uma classificação diferente das anteriores.

Figura 45. Porcentagem de mortalidade de *H.ecques* pelas concentrações crescentes de malation.

Esta classe de inseticidas apresenta um CL50 baixa para peixes em geral. PATHIRATNE e GEORGE (1998), em trabalho realizado com tilápias adultas (*Oreochromus niloticus*), obtiveram uma CL50(96h) para malation de 2,2 mg.L⁻¹. Em trabalho realizado com diferentes espécies de peixes, SHAO-NAN e DEFANG (1996), obtiveram CL50(96h) entre 0,25 e 15 mg.L⁻¹.

Um baixo valor de CL50(96h) de 0,03 mg.L⁻¹ foi encontrado em testes agudos para perca-Sol de guelras azuis (*Bluegill sunfish*), sendo o inseticida considerado extremamente tóxico para a espécie (EPA, 2006). A IUPAC (2013) cita uma CL50(96h) de 0,018 mg.L⁻¹ para a truta arco íris (*Oncorhynchus mykiss*), classificando o inseticida como altamente tóxico.

Em relação a outros organofosforados, ABE (2012) obteve para temefós uma CL50(48h) de 7,30 mg.L⁻¹ para o peixe mato grosso e 7,11 mg.L⁻¹ para tilápia do Nilo. A autora cita uma CL50(48h) de 0,594 mg.L⁻¹ para o peixe *Pseudomugil signifler*.

Para metil paration, segundo REHWOLDT, KELLEY e MAHONEY (1977) a CL50(48h) para *Fundulus diplanusa* foi de 18,6 mg.L⁻¹. Para *Pimelodus maculatus*, a CL50(96h) foi 10,87 mg.L⁻¹ (CORDENUNZZI, 2011). SELVI et al. (2005) obteve para peixes *Poecilia reticulata* uma CL50(96h) de 1,79 mg.L⁻¹ para o composto metil-clopirifós.

VENTURINI (2010), em estudo realizado com triclorfon em *Piaractus mesopotamicus*, obteve uma $CI_{50}(96h)$ de $0,04 \text{ mg.L}^{-1}$ para alevinos e $0,07 \text{ mg.L}^{-1}$ para jovens.

Estes dados revelam que, a toxicidade além de depender do organofosforado estudado, varia muito em relação à espécie de peixe em questão.

A temperatura da água, a condutividade, o oxigênio dissolvido e o pH foram medidos no início dos testes de toxicidade aguda e após 24 e 48 h. Os dados referentes a estas variáveis encontram-se na figura 46.

Figura 46. Variação das características físico-químicas da água ao longo das concentrações de malation entre os dias de avaliação dos testes de toxicidade aguda.

Teste de coeficiente de correlação de Pearson (alfa = 5 %). B: $r = 0,2672$ e $p = 0,1534$ para 0 h, $r = -0,2268$ e $p = 0,2280$ para 24 h e $r = 0,6843$ e $p < 0,0001$ para 48 h. C: $r = -0,1858$ e $p = 0,3256$ para 0 h, $r = -0,2383$ e $p = 0,2047$ para 24 h e $r = -0,4990$ e $p = 0,0107$ para 48 h; D: $r = -0,2879$ e $p < 0,1228$ para 0 h, $r = -0,0344$ e $p = 0,8569$ para 24 h e $r = -0,28841$ e $p = 0,1222$ para 48 h.

Não foi aplicada análise estatística para a temperatura da água, pois a sala de testes era climatizada. Variações podem ser explicadas pelo fluxo de pessoas e alterações aceitáveis na temperatura ambiente.

Alterações significativas no OD não foram observadas no período de estudo. Uma correlação significativa ($p < 0,05$) moderada entre o pH e a condutividade (r entre 0,3 - 0,7) em relação com as concentrações foi observada após 48h do início dos testes.

A correlação foi negativa para pH e positiva para condutividade, indicando queda do pH e aumento da condutividade, em relação ao aumento das concentrações

A maior mortalidade de animais nas maiores concentrações pode ter levado a uma taxa de decomposição nos aquários, aumentando a quantidade de íons H^+ de forma a diminuir o pH dos aquários (ESTEVES, 1998).

Um aumento na condutividade elétrica pode ser observado na concentração de 10 mg.L^{-1} após 48 h do início do teste. O aumento da condutividade está diretamente associado à redução do pH.

Para os cálculos de risco de intoxicação ambiental, primeiramente foram calculadas as CAEs para três diferentes profundidades de um corpo hídrico. Posteriormente, tais valores foram divididos pela CL(I)50 ou pelo valor do CENO obtidos nos testes de toxicidade aguda, gerando seis diferentes quocientes de risco (tabela 27).

Tabela 27. Diferentes valores de QR calculados para *H. ecques*, sendo $CAE1 = 0.049$, $CAE2 = 0.0097$, $CAE3 = 0.0073 \text{ mg.L}^{-1}$ e $CENO = 0,5 \text{ mg.L}^{-1}$.

	1	2	3
$QR = \frac{CAE}{CL50}$	0,0160	0,0032	0,0024
$QR = \frac{CAE}{CENO}$	0,098	0,019	0,014

Após o cálculo do quociente de risco nas diferentes condições, o inseticida foi classificado quanto ao risco de intoxicação ambiental para a espécie (tabela 28).

Para EC (2003), o inseticida não apresenta risco para os peixes sob todas as condições de estudo. O malation foi classificado para todos os QR calculados como de baixo risco para as classificações de GOKTEPE, PORTIER e AHMEDNA (2004).

Segundo ABE (2012), o temefós, um larvicida organofosforado, apresentou um médio risco de intoxicação para esta espécie de peixes e também para tilápias.

Tabela 28. Classificação do inseticida quanto ao risco de intoxicação ambiental para GOKTEPE, PORTIER e AHMEDNA (2004) e EC (2003).

	GOKTEPE, PORTIER E AHMEDNA (2004)	EC (2003)
QR1 = 0,0160	Baixo risco	—
QR2 = 0,0031	Baixo risco	—
QR3 = 0,0024	Baixo risco	—
QR4 = 0,096	—	Não Causa Risco
QR5 = 0,019	—	Não Causa Risco
QR6 = 0,014	—	Não Causa Risco

Estes resultados indicam que o malation é moderadamente tóxico pelas classes de ZUCKER (1985) e HELFRISH et al. (1986) e muito tóxico pelo PPA (IBAMA, 1996) e não apresenta risco, pela classificação da EC (2003), e é considerado como de baixo risco de intoxicação ambiental pela classificação de GOKTEPE, PORTIER e AHMEDNA (2004) à espécie de peixe estudada, nas condições de uso do composto em atividades de combate ao vetor da dengue.

5.2.4. *Eisenia foetida*

Inicialmente, foram realizados os testes de sensibilidade com as minhocas em areia com o composto cloroacetamida. Após a confirmação de que os animais estavam em condições adequadas de acordo com a carta controle do laboratório, os testes ecotoxicológicos com malation em areia e solo argiloso foram iniciados.

Os resultados destes testes encontram-se na tabela abaixo, bem como a classificação do inseticida quanto à toxicidade aguda (tabela 29):

Tabela 29. Concentração letal inicial mediana de cloroacetamida e malation (mg.kg^{-1}) em testes de toxicidade aguda para *E.foetida* e classificação quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental do IBAMA (1996).

	LI	CL(I)50(14d)	LS	Classificação IBAMA (1996)
Cloroacetamida (areia)	9,50	10,03	10,59	—
Malation – areia	5,34	5,98	6,68	Altamente tóxico
Malation - solo argiloso	33,74	35,42	37,18	Muito tóxico

Também foram realizados testes ecotoxicológicos com cloroacetamida em solo argiloso nas concentrações de 50.0, 60.0, 70.0, 80.0, 90.0 e 100.0 mg.kg^{-1} . O valor obtido para a CL(I)50(14d) foi de 74.32 mg.kg^{-1} (LS = 80.33; LI = 68.76), porém, este valor não foi considerado para efeito de carta controle por não ter sido realizado em repetições suficientes para isso.

Com uma CL(I)50(14d) de 5,98 mg.kg^{-1} , o inseticida foi considerado como altamente tóxico em areia e muito tóxico para solo argiloso, com uma CL50(14d) de 35,42 mg.kg^{-1} , de acordo com o Sistema de Classificação quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental do IBAMA (1996), relacionado à classificação de agrotóxicos, sendo as duas primeiras faixas de toxicidade mais extremas.

Seguem abaixo as curvas de mortalidade para os organismos nos dois substratos (figuras 47 e 48).

Figura 47. Porcentagem de mortalidade de *E. foetida* pelas concentrações crescentes de malation em areia.

Figura 48. Porcentagem de mortalidade de *E. foetida* pelas concentrações crescentes de malation em solo argiloso.

Não foram utilizadas as classificações de ZUCKER (1985) e HELFRISH et al. (1986), já que os autores discutem a classificação toxicológica para organismos aquáticos.

Uma alta toxicidade aos organofosforados tem sido demonstrada para minhocas, como alertam BUTLER e VERRELL (2005). WANG et al. (2012)

classificaram alguns organofosforados como muito ou extremamente tóxicos para estes invertebrados.

Dados disponibilizados pela IUPAC (2013), indicam uma CL50(14d) de 306 mg.kg⁻¹, enquadrando o composto como moderadamente tóxico, embora não cite o modo de elaboração do teste. Já ROBERTS e DOROUGH (1984) classificaram o malation como muito tóxico para *E. foetida* a partir de estudos de toxicidade aguda.

Neste estudo, em solo argiloso a CL50(14d) calculada foi maior do que em areia. Este fato deve-se às características próprias do substrato, havendo uma maior adsorção do malation em solo argiloso em relação à areia.

Durante os testes observou-se o comportamento de tentativa de fuga de alguns animais a partir da segunda concentração de estudo nos dois substratos. Ainda, houve resistência na penetração no substrato teste (Figura 49).

Figura 49. Comportamento de fuga dos animais (A) e resistência em penetrar no substrato (B).

A análise do risco ambiental foi realizada conforme sugerida por KOKTA e ROTHERT (1992), após o cálculo da CAE para as três diferentes profundidades de solo (tabela 30):

Tabela 30. Classificação do inseticida quanto ao risco de intoxicação ambiental segundo KOKTA e ROTHERT (1992). CAE em mg.kg^{-1} .

KOKTA e ROTHERT (1992)		
CAE1 = 0,389	Areia	Podem ocorrer efeitos, dependendo das circunstâncias
CAE2 = 0,195		Podem ocorrer efeitos, dependendo das circunstâncias
CAE3 = 0,049		Provavelmente baixo risco
CAE1 = 0,389	Solo Argiloso	Podem ocorrer efeitos, dependendo das circunstâncias
CAE2 = 0,195		Provavelmente baixo risco
CAE3 = 0,049		Provavelmente baixo risco

O inseticida enquadrou-se na faixa intermediária de classificação ($10 \times \text{CAE} < \text{CL}_{50} < 100 \times \text{CAE}$) dos autores quando calculada a CAE para uma profundidade de até 2,5 cm para solo argiloso e 5 cm somente para areia, podendo exercer efeitos sobre os animais dependendo das circunstâncias.

Este resultado indica a influência do substrato na avaliação de risco, pois, como já discutido anteriormente o composto assume diferentes comportamentos dependendo do meio em questão.

Na maior profundidade, o inseticida provavelmente deve causar um baixo risco de intoxicação ambiental em ambos os substratos.

Em condições ambientais, a profundidade que uma minhoca penetra no solo depende da espécie em questão, da temperatura e das características do próprio solo, como textura e umidade.

A biomassa dos animais também foi medida no início e ao final dos testes ecotoxicológicos. Houve uma redução significativa ($p < 0,0001$) da biomassa úmida em relação ao aumento das concentrações de malation tanto em areia quanto em solo argiloso, nas últimas concentrações em que se pôde fazer a avaliação (quando não houve mortalidade), como se observa nas figuras 50 e 51.

Nas figuras 52 e 53 pode-se observar a redução da biomassa corporal dos animais nas fotos registradas após a finalização dos testes ecotoxicológicos nos dois substratos.

Figura 50. Redução da biomassa úmida das minhocas em relação ao aumento das concentrações de malation em areia.

As letras comparam as médias de redução de peso pelas concentrações de malation utilizadas nos testes de toxicidade aguda. Teste de Tukey com nível de significância a 5 %: $F = 50,02$ e $p < 0,0001$. As letras comparam a redução da biomassa pela concentração.

Figura 51. Redução da biomassa úmida das minhocas em relação ao aumento das concentrações de malation em solo argiloso.

As letras comparam as médias de redução de peso pelas concentrações de malation utilizadas nos testes de toxicidade aguda. Teste de Tukey com nível de significância a 5 %: $F = 25,55$ e $p < 0,0001$. As letras comparam a redução da biomassa pela concentração.

Em estudo realizado por NAVARRO e OBREGÓN (2005), este inseticida também promoveu uma queda significativa na massa corpórea de minhocas *Eisenia foetida*, além de provocar efeito citotóxico e afetar a estrutura testicular acima de 150 mg.kg^{-1} de solo (tamanho de partícula $<2\text{mm}$, pH6.5). Este autor também descreve outros trabalhos que correlacionam o efeito da inibição da acetilcolinesterase pelos organofosforados com a queda da massa corpórea dos animais.

Figura 52. Redução da biomassa úmida das minhocas em relação ao aumento das concentrações de malation em solo argiloso após os testes ecotoxicológicos.

Figura 53. Redução da biomassa úmida das minhocas em relação ao aumento das concentrações de malation em areia após os testes ecotoxicológicos.

Estes resultados indicam que podem ocorrer efeitos tóxicos para *Eisenia foetida* oriundos do uso de malation como forma de combate ao mosquito *Aedes aegypti*. O nível de toxicidade está relacionado ao tipo de substrato em que se encontra o organismo.

6. CONCLUSÕES

A validação do método cromatográfico desenvolvido neste estudo atende às exigências da Resolução 899/2003 (BRASIL, 2003) e da NBR14029 (ABNT, 2005), garantindo a confiabilidade dos resultados. A recuperação do malation obtida no processo de extração e pré-concentração desenvolvido para as matrizes água e solo é de 97 e 96 %, respectivamente, estando enquadradas na faixa recomendada pela ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (1993) para os níveis de concentração de estudo.

O inseticida mantém-se presente em água por até 7 dias em pH 5.0 e 7.0, com $t_{1/2}$ de 4,4 e 3,2 d, respectivamente. Este período é bastante reduzido para pH 9.0, com $t_{1/2}$ de 0,1 h, sendo o composto não mais detectado acima do limite de quantificação a partir do segundo dia após a aplicação.

Em estudos realizados em condições de laboratório, as condições são mais severas do que aquelas que ocorrem na realidade. Assim, a aplicação a UBV de malation proporciona um risco relativo para contaminação de águas, havendo uma dissipação mais rápida do composto em maiores pH.

Em solo argiloso, o malation se mantém na superfície, apresentando um $t_{1/2}$ de 4,5 h e ocorre percolação após incidência de chuva, sendo detectado por até 29 dias na profundidade de 15-20 cm.

Condições mais próximas da realidade foram obtidas nos estudos realizados com solo, indicando a possibilidade de permanência do inseticida em maiores profundidades. Desta forma, dependendo da carga hídrica de chuvas durante o período em que o composto está presente neste meio, pode haver a contaminação do lençol freático após a percolação do composto.

Com tempo de meia vida menor do que 30 dias, tanto na água como no solo o inseticida é considerado como não persistente, entretanto, como já mencionado, é detectado por um maior período no solo.

O organismo mais afetado pelos testes de toxicidade aguda é o microcrustáceo *Daphnia magna*. O composto é classificado como extremamente tóxico pelas classificações de ZUCKER (1985) e IBAMA (1996) e caracterizado por apresentar uma toxicidade super extrema ao animal segundo as classes de

HELFRISH et al. (1996). O inseticia causa risco de intoxicação ambiental para a espécie (EUROPEAN COMMUNITIES, 2003), sendo classificado pelas classes de GOKTEPE, PORTIER e AHMEDNA (2004) como de alto risco.

Para *Lemna minor*, o malation é considerado ligeiramente tóxico segundo as classes de ZUCKER (1985) e HELFRISH et al. (1996), não devendo causar risco de intoxicação ambiental para as macrófitas segundo a classificação das EC (2003) e considerado como de baixo risco pelas classes de GOKTEPE, PORTIER e AHMEDNA (2004).

Já para o peixe *Hyphessobrycon eques*, o inseticida classifica-se como moderadamente tóxico pelas classes de toxicidade de ZUCKER (1985) e HELFRISH et al. (1996), e como muito tóxico pelo IBAMA (1996), não devendo causar risco de intoxicação ambiental para a espécie segundo a classificação das EC (2003) e considerado como de baixo risco de intoxicação ambiental para estes animais pelas classes de GOKTEPE, PORTIER e AHMEDNA (2004).

Para *Eisenia foetida*, em areia o composto é considerado altamente tóxico e em solo argiloso, muito tóxico, de acordo com a classificação do PPA do IBAMA (1996). De acordo com a classificação de risco de KOKTA e ROTHERT (1992), efeitos oriundos da exposição ao malation podem ocorrer dependendo da situação, como profundidade e tipo de substrato a qual o animal é exposto.

O inseticida mostrou-se severamente tóxico à *Daphnia magna*, com possibilidades de efeitos deletérios agudos também para peixes, minhocas e lemnas.

Como não é possível a interrupção da aplicação do malation com os quadros de dengue registrados hoje no Brasil, recomendamos maiores cuidados no uso do inseticida em relação aos organismos não alvos e ao meio ambiente, principalmente no que se refere ao descarte inadequado de soluções concentradas do composto, como águas residuais da lavagem de equipamentos de proteção e veículos utilizados na pulverização.

A intensificação de pesquisas na direção de possíveis controles biológicos, como por exemplo, a produção de machos estéreis, e o investimento maciço no envolvimento da sociedade são essenciais para prevenção e controle da doença.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, F. R. **Avaliação ecotoxicológica e risco ambiental dos inseticidas utilizados no controle da larva de *Aedes aegypti* para *Daphnia magna*, *Lemna minor* e peixes.** 2012. 130 p. Dissertação (mestrado em Aquicultura). Universidade Estadual Paulista – UNESP, Jaboticabal.

ABE, F. R.; COLEONE, A. C.; MACHADO, A. A.; MACHADO-NETO, J. G. **Ecotoxicity and environmental risk assessment of larvicides used in the control of *Aedes aegypti* to *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera).** Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A, 77, p. 37–45, 2014.

ABNT- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Limpeza de vidrarias para uso de ensaios de produtos agrotóxicos e afins.** NBR 13073, 3p., 2003.

ABNT- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Agrotóxico e afins – Validação de métodos analíticos.** NBR14029. 19p. 2005.

ABNT- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Ecotoxicologia Terrestre- Ecotoxicidade Aguda- Método de ensaio com minhocas.** Primeira Edição, 11 p., 2007.

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia* spp (Crustacea, Cladocera).** 2009.

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Ecotoxicologia Aquática - Toxicidade Aguda – Método de ensaio com peixes.** 2011.

ABU-QARE, A. W.; ABOU-DONIA, M. B. **Simultaneous determination of malathion, permethrin, DEET (N,N-diethyl-m toluamide), and their metabolites in rat plasma and urine using high performance liquid chromatography.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 26, n. 2, p. 291-299, 2001.

ADAMS, M. M. **Estudo de diferentes métodos de extração por ultra-som de pesticidas em latossolo utilizando técnicas cromatográficas.** 2002. 82 p. Dissertação (Mestrado em Química) Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre.

ALVES, S. R; OLIVEIRA-SILVA, J. J. **Avaliação de ambientes contaminados por agrotóxicos.** In: Peres F, Moreira JC, organizadores. **É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente.** Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p. 137-56, 2003.

ANDREA, M.M.; MATALLO, M.B.; TOMITA, R.Y.; LUCHINI, L.C. Effect of temperature on dissipation of [14C]-atrazine in a Brazilian soil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.1, p.95-100, jan. 1996.

ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas**. São Paulo, 1996, 506p.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consulta Pública nº 24, de 22 de março de 2012. D.O.U de 28/03/2012**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/458233804aad88f8a2cce64600696f00/Consulta+P%C3%BAblica+n%C2%B0+24+GGTOX.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em 21 de out. de 2013.

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Peer verified method program**: manual on polices and procedures. Arlington, VA, 1993.

ARAUCO, L. R. R.; CRUZ, C.; MACHADO-NETO, J. G.; **Efeito da presença de sedimento na toxicidade aguda do sulfato de cobre e do triclorfon para três espécies de daphnia**. Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente, Curitiba, v. 15, p. 55-64, jan./dez. 2005.

ATSDR. AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Toxicological profile for malathion**. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, 2003. Disponível em: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp154.pdf>. Acesso em 11 de fev. de 2012.

BAERG, R. J.; BARRETT, M.; POLGE, N. D. **Insecticide and insecticide metabolite interactions with cytochrome P450 mediated activities in maize**. Pestic Biochem Physiol, v. 55, p. 10–20, 1996.

BALDAN, L. T. **Macroinvertebrados em cavas adjacentes ao rio Iguaçu e uso de *Chironomus xanthus rempel*, 1939 como potencial bioindicador ambiental**. 2012. 97p. Tese (Doutorado em Zoologia). Universidade Federal do Paraná.

BARATA, C.; SOLAYAN, A.; PORTE, C. **Role of B-esterases in assessing toxicity of organophosphorus (chlorpyrifos, malathion) and carbamate (carbofuran) pesticides to *Daphnia magna***. Aquatic Toxicology, 66, p. 125–139, 2004.

BARRETO, C. F. ***Aedes aegypti* - resistência aos inseticidas químicos e as novas alternativas de controle**. Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos, Goiás, ISSN 1808-8597, v.1, n.2, p. 62-73, 2005.

BARRETO, M. L.; TEIXEIRA, M. G. **Dengue no Brasil: situação epidemiológica e contribuições para uma agenda de pesquisa**. Estudos Avançados, 22 (64), 2008.

BERNAL, J. L.; NOZAL, M. J.; MARTIN, M. T.; JIMÉNEZ, J. J. **Possibilities of gas chromatography-atomic emission detection in pesticide multiresidue analysis Application to herbicide analysis in soils.** Journal of Chromatography A, 754, p. 245-256, 1996.

BIEDIGER, D. L.; BAUMANN, P. A.; WEAVER, D. N.; CHANDLER, J. M.; MERKLE, M. G. **Interactions between primisulfuron and selected soil-applied insecticides in corn (Zea-mays).** Weed Technol., v. 6, p. 807–812, 1992.

BISSACOT, D. Z.; VASSILIEFF, I. **HPLC determination of flumethrin, deltamethrin, cypermethrin and cyhalothrin residues in the milk and blood of lactating dairy cows.** J. Anal. Toxicol., v.21, n.5, p.397-402, 1997.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. **Aedes aegypti: inseticidas, mecanismos de ação e resistência.** Epidemiol. Serv. Saúde, v.16, n.4, p. 279-293, 2007.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. 2000. **Parâmetros ambientais e qualidade da água na piscicultura.** Recomendações técnicas n°8, 2000. Disponível em <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/377896/1/ParametrosAmbientaisQualidadeAgua.pdf>. Acesso em 13 de jan. de 2014.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução – RE N° 899, de 29 de março de 2003**, DOU de 02 de junho de 2003. Brasília, 2003.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Diretrizes nacionais para prevenção e controle de epidemias de dengue - Serie A. Normas e Manuais Técnicos.** Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2009.160 p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010. **NOTA TÉCNICA N.º 109/ 2010 CGPNCD/DEVEP/SVS/MS.** Disponível em http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nt_inseticida_na_dengue_9_9_10.pdf >. Acesso em 20 de maio de 2012.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012a. **Estudo internacional inova no combate à dengue.** Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/noticia/7349/162/estudo-internacional-inova-%3Cbr%3Eno-combate-a-dengue.html>. Acesso em 02 de fev. de 2013.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012b. **Programa Nacional de Controle da Dengue.** Disponível em http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=23614>. Acesso em 08 de abril de 2012.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012c. **Dengue no Brasil**. Disponível em <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/flash/cartilha_dengue.html>. Acesso em 21 de maio de 2012.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012d. **Resumo executivo do II seminário internacional para avaliação de ações de controle químico de *Aedes aegypti* no Brasil**. Disponível em <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=40134>. Acesso em 21 de maio de 2012.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. 2013. **Saúde libera mais de R\$ 360 mi para combate à dengue**. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/saude/2013/11/saude-libera-mais-de-r-360-mi-para-combate-a-dengue>. Acesso em 30 de dez. de 2013.

BRITO, N. M.; AMARANTE JR, O. P.; ABAKERLI, R.; SANTOS, T. C. R.; RIBEIRO, M. L. **Risco de contaminação de águas por pesticidas aplicados em plantações de eucaliptos e coqueiros: análise preliminar**. Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente, Curitiba, v. 11, p. 93-104, 2001.

BRITO, N. M. **Avaliação da exatidão e da precisão de métodos de análise de pesticidas mediante ensaios de recuperação**. Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente, v. 12, n. 1, p. 155-168, 2002.

BUTLER, D. W.; VERREL, P. A. **Inhibitory effect of a herbivide formulation on toxicity of malathion to the worm *Eisenia foetida***. Environmental Contamination and Toxicology, v. 75, p. 421-428, 2005.

CABELLO, G; VALENZUELA, M.; VILAXA, A.; DURÁN, V.; RUDOLPH, I.; HREPIC, N.; CALAF, G. **A Rat Mammary Tumor Model Induced by the Organophosphorous Pesticides Parathion and Malathion, Possibly through Acetylcholinesterase Inhibition**. Environmental Health Perspectives. V. 109, n. 5, 2001.

CARVALHO, S. P. L. **Resíduos de deltametrina e de carbaril em dois sistemas de condução de cultura de tomate estaqueado (*Lycopersicon esculentum* Mill) e sua eficiência no controle da broca-pequena-do fruto *Neoleucinodes elegantalis* (Guenés, 1854) (Lepidoptera: Crambidae)**. 2003. Dissertação (Mestrado em Entomologia). Universidade de São Paulo. Piracicaba.

CARVALHO, M. S. L.; CALDAS, E. D.; DEGALLIER, N.; VILARINHOS P. T. R.; SOUZA, L. C. K., YOSHIZAWA, M. A. C.; KNOX, M. B.; OLIVEIRA, C.. 2004. **Susceptibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal**. Rev. Saúde Públ., v.38, p. 623-629, 2004.

CHAIM, A. **Processos de aplicação de produtos fitossanitários e contaminação ambiental**. EMBRAPA, CNPDA, 24 p., 1989.

CHAPMAN, R. A.; COLE, C. M. **Observations on the influence of water and soil pH on the persistence of insecticides.** J Environ Sci Health B, 17(5), p. 487-504, 1982.

CHASTINET, C. B. A.; SILVA, E. M. **Comparação da sensibilidade de duas linhagens de *Lemna minor* ao cloreto de sódio (NaCl) como substância de referência.** In: Ecotoxicologia: Perspectivas para o século XXI. p. 557-566, 2000.

CETESB. COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo. Significado ambiental e sanitário das variáveis de qualidade das águas e dos sedimentos e metodologias analíticas e de amostragem.** 43 p. 2009. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/agua/aguas-superficiais/variaveis.pdf>. Acesso em 14 de jan. de 2014.

CETESB. COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos.** Companhia Ambiental do Estado de São Paulo; Organizadores: Carlos Jesus Brandão et al. São Paulo: CETESB; Brasília: ANA, 2011.

CHUKWUDEBE, A.; MARCH, R. B.; OTHMAN, M.; et al. **Formation of trialkyl phosphorothioate esters from organophosphorus insecticides after exposure to either ultraviolet light or sunlight.** J Agric Food Chem., 37, p. 539-545, 1989.

CORDENUNZZI, A. D. **Avaliação toxicológica do inseticida metil paration e extrato de cinamomo (*Melia azedarach* L.) em uma espécie de peixe.** 2011. 62 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais). Universidade Comunitária da Região de Chapecó, Chapecó.

COTHAM, W. E.; BIDDLEMAN, T. F. **Degradation of malathion, endosulfan and fenvalerate in seawater and seawater/sediment microcosms.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, 37, p. 824-828, 1989.

COX, L.; KOSKINEN, W.C.; CELIS, R.; YEN, P.Y.; HERMOSIN, M.C.; CORNEJO, J. **Sorption of imidacloprid on soil clay mineral and organic components.** Soil Science Soc. American Journal, v.62, p.911-915, 1998.

COX, C. **Journal Of Pesticide Reform.** v. 23, n. 4, 2003.

CURRIE, L. A. **Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995).** Analytica Chimica Acta, v. 391, n. 1, p. 105-126, 1999.

CRUZ I. **Manejo da resistência de insetos-praga a inseticidas, com ênfase em *Spodoptera frugiperda* (Smith).** Embrapa Milho e Sorgo. Documentos 21, 2002, 15p.

DANCEY, C.; REIDY, J. **Estatística Sem Matemática para Psicologia: Usando SPSS para Windows**. Porto Alegre, Artmed., 3. ed., 2006.

DECKER, C. J.; DOERGE, D. R. **Covalent binding of 14C- and 35S-labeled thiocarbamides in rat hepatic microsomes**. *Biochemical Pharmacology*, v. 43, p. 881-888. 1992.

DELLAMATRICE, P. M.; COSTA, L. S.; MARQUES, A. S.; VIANA, M. S.; ARAUJO, R. S. **Degradação de agrotóxicos por fungos basidiomicetos em solo agrícola contendo altos níveis de três produtos diferentes**. *Pesticidas: r. ecotoxicol. e meio ambiente*, Curitiba, v. 22, p. 7-16, jan./dez. 2012.

DORES, E. F. G. C.; FREIRE, E. M. L. **Contaminação do ambiente aquático por pesticidas. Estudo de caso: águas usadas para consumo humano em Primavera do Leste, Mato Grosso - análise preliminar**. *Quím. Nova*, v.24, n. 1. São Paulo, p. 27-36, 2001.

EC (EUROPEAN COMMUNITIES). **Technical guidance document in support of Commission Directive 1488/94 EEC on risk assessment for existing substances. Part II, environmental risk assessment**. Luxembourg: Office for official publication of the European Communities, p. 337, 2003.

ESTEVEZ, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. 2 ed., Rio de Janeiro: Interciência, 1998.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Reregistration Eligibility Decision (RED) for Malathion**; EPA 738-R-06-030; U.S, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, Office of Pesticide Programs, U.S. Government Printing Office: Washington,DC, 2006.

FELSOT, A. S.; SHELTON, D. R. **Enhanced biodegradation of soil pesticides: interaction between physicochemical processes and microbial ecology**. IN: *Sorption and Degradation of Pesticides and Organic Chemicals in Soil*, Wisconsin, USA, SSSA, Inc., A. S of Agronomy, Inc, n. 32, p. 227-252, 1993.

FIGUEIREDO FILHO, D. B.; SILVA JÚNIOR, J. A.. **Revista Política Hoje**, vol. 18, n. 1, 2009.

FONTOURA, N. G. **Efeito do Novaluron – um inibidor da síntese de quitina – sobre Aedes aegypti em laboratório e simulado de campo**. Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz para obtenção do título de mestre. Rio de Janeiro, 2008. 90 p.

FREED, V. H.; CHIOU, C.; SCHMEDDING, D. W. **Degradation of selected organophosphate pesticides in water and soil**. *J. Agric. Food Chem.*, 27(4), p. 706-708. 1979.

FERRACINI, V. L.; PESSOA, M. C. Y.; SILVA, A. S.; SPADOTTO, C. A. **Análise de risco de contaminação das águas subterrâneas e superficiais da região de Petrolina (PE) e Juazeiro (BA).** Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente, Curitiba, v. 11, jan./dez. 2001.

GALLI, A.; SOUZA, D.; GARBELLINI, G. S.; COUTINHO, C. F. B.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S. **Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos.** Quím. Nova, v. 29, n. 1, São Paulo, 2006.

GARDIN, J. R.; MILORI, D. M. B. P.; MARTIN-NETO, L.; BAGNATO, V. S. **Análise da fotólise de pesticidas orgânicos através de técnicas espectrocópicas.** IN: ENCONTRO NACIONAL DE FÍSICA DA MATÉRIA CONDENSADA, 25, 2002.

GEBLER, L.; ESPANHOL, G. L.; FIRTA, I. N.; SPADOTTO, C. A. **Dispersão de poluentes e seu monitoramento na agropecuária.** In: Gebler, L.; Palhares, J. C. P.: Editores Técnicos Gestão ambiental na agropecuária. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 107-166, 2007.

GETENGA, Z. M.; JONDIKO, J. I. O.; WANDIGA, S. O.; BECK, E. **Dissipation Behavior of Malathion and Dimethoate Residues from the Soil and Their Uptake by Garden Pea (*Pisum sativum*).** Bull. Environ. Contam. Toxicol. v. 64, p. 359-367, 2000.

GOKTEPE, I.; PORTIER, R.; AHMEDNA, M. **Ecological risk assessment of Neem-based pesticides.** Journal of Environmental Science Health Part B. Pestic. Food Contam. Agric. Wastes B. v. 39, n. 2, p. 311-320, 2004.

GOSS, D. W. **Screening procedure for soils and pesticides for potential water quality impacts.** Weed Technology, Champaign, v. 6, n. 4, 1992, p. 701-708.

GRISOLIA, C. K. **Agrotóxicos: mutações, câncer e reprodução.** Brasília: Editora Universidade de Brasília. 392p. 2005.

GUILLARD, R. R. L. Division rates. In: **Handbook of phycological methodos. Culture methodos and Growth measurements.** STEIM, J.R (ed.) Cambridge University Press, Cambridge, p. 345-358, 1979.

GUILHERME, L. R. G. **Fundamentos da análise de risco: conceitos em análise de risco ecológica e para saúde humana.** Biotecnologia cienc. desenvolv., 34, p. 44-55, 2005.

GUSTAFSON, D. I. **Groundwater ubiquity score: a simple method for assessing pesticide leachability.** Environmental Toxicology and Chemistry, United States, v. 8, n. 4, p. 339- 357, 1989.

HAMILTON, M. A. RUSSO, R.C. THURSTON, V. **Trimed Sperman-Karber method for estimating medial lethal concentrations in toxicology bioassays.** Environmental Science and Technology. v. 7, p. 714-719, 1977.

HELFRICH, L. A.; WEIGMAN, D. L.; HIPKINS, P.; STINSON, E. **Pesticides and aquatic animals: a guide to reducing impacts on aquatic systems.** 1996. Disponível em: www.ext.vt.edu/pubs/waterquality/420-013/420-013.pdf. Acesso em 10 de mar. de 2013.

HOLVOET, K. M. A.; SEUNTJENS, P.; VANROLLEGHEM, P. A. **Monitoring and modeling pesticide fate in surface waters at the catchment scale.** Ecological Modelling, v. 209, p. 53-64, 2007.

IBAMA. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. BRASIL. **Avaliação da toxicidade aguda para peixes. In: Manual de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos.** Brasília, p. 20-32, 1987.

IBAMA. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Portaria normativa n°84/1996. 1996. **Sistema de classificação quanto ao potencial de periculosidade ambiental – PPA.** Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/qualidade-ambiental/avaliacao-do-potencial-de-periculosidade-ambiental-ppa/pagina-4>. Acesso em 2 de jan. de 2013.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY (IUPAC). 2013. **Global availability of information on agrochemicals.** Disponível em <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/421.htm>. Acesso em 11 de de jan. de 2014.

KAPUSTA G.; KRAUSZ, R. F. **Interaction of Terbufos and Nicosulfuron on Corn (Zea mays).** Weed Technol 6, p. 999–1003, 1992.

KHAN, SHAHAMAT U. **Pesticides in the soil environment.** Amsterdam: Elsevier Scientific. 240 p. 1980

KOSKINEN, W. C.; HARPER, S. S. The retention process: mechanisms. In: CHENG, H.H. (Ed.). **Pesticides in the soil environment: processes, impacts and modelling.** Madison: Soil Science Society of America (Book Series, 2), p.51-57. 1990.

KYLE, P. B. **Inactivation of cytochrome P450 3^a during the oxidative desulfuration of methyl parathion.** 2005. 127 p. Dissertação (Doctor of Philosophy), University of Mississippi Medical Center, Mississippi.

KOKTA, C.; ROTHERT., H. **A Hazard and risk assessment scheme for evaluating effects of pesticides on earthworms: the approach in the Federal Republic of Germany.** IN: GREIG-SMITH, P. W.; BECKER, H.; EDWARDS, P. J.; HEIMBACH. *Ecotoxicology of earthworms*. Intercept Ltd, Hants, UK, 1992.

KULLURU, P.P.; DAS, B. S.; PANDA, R. K. **Evaluation of Sorption and Leaching Potential of Malathion and Atrazine in Agricultural Soils of India.** *Int. J. Environ. Res.*, 4(1), p.75-90, 2010.

LARTIGES, S. B; GARRIUES, P. P. **Degradation kinetics of organophosphorus and organonitrogen pesticides in different waters under various environmental conditions.** *Environ Sci Technol* 29, p. 1246-1254, 1995.

LAVORENTI, A. **Comportamento dos herbicidas no meio ambiente.** In: WORKSHOP SOBRE BIODEGRADAÇÃO, 1996, Campinas. *Anais...Jaguariúna: Embrapa-CNPMA*, p. 81-115, 1996.

LINNAEUS, C. (1753). **Species Plantarum**, Common Duckweed. Tomus II: p. 1:970; 1753.

LOMBARDI, J. V. **Fundamentos de toxicologia aquática.** In: Ranzani-Paiva, M.J.T.;Takemoto, R.M.; Lizama, M. de los A.P. **Sanidade de organismos aquáticos.** SãoPaulo: Varela Ed., cap. 11, p. 263-272, 2004.

MACKAY, D.; SHIU, W.; MA, K. **Illustrated handbook of physical-chemical and environmental fate for organic chemicals.** Boca Raton: Lewis, v. 5, 812 p., 1997.

MANGAS-RAMÍREZ, E.; SARMA, S. S. S.; NANDINI, S. **Combined effects of algal (*Chlorella vulgaris*) density and ammonia concentration on the population dynamics of *Ceriodaphnia dubia* and *Moina macrocopa* (Cladocera).** *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 51, p. 216-222, 2004.

MARCORIS, M. L. G.; ANDRIGHETTI, M. T. M.; TAKAKU, L.; GLASSER, C. M; GARBELOTO, V. C.; CIRINO, V. C. B. **Alteração da resposta de susceptibilidade de *Aedes aegypti* a inseticidas organofosforados em municípios do Estado de São Paulo, Brasil.** *Rev Saúde Pública*, v. 33, p. 521-2, 1999.

MARTINI, L. F. D. **Transporte de agrotóxicos e uso de água em diferentes manejos de irrigação de arroz.** 2010. 108p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

McBRIDE, M. B. **Environmental chemistry of soils.** New York: Oxford University Press, p.31-62, 1994.

MEDEIROS, L. S. **Toxicidade aguda e risco ambiental do inseticida teflubenzuron para *Daphnia magna*, *Lemna minor* e *Poecilia reticulata***. 2008. 66p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Universidade Estadual Paulista – UNESP, Jaboticabal.

MESQUITA, N. M. C. P. M. **Efeitos de dois pesticidas organofosforados em *Daphnia* spp.** 2005, 90 p. Dissertação (Mestrado em Métodos Biomoleculares Avançados). Universidade de Aveiro, Aveiro.

MILES, C. J.; TAKASHIMA, S. **Fate of malathion and *O,O,S*-Trimethyl phosphorothioate by-product in Hawaiian soil and water.** Arch Environ Contam Toxicol., 20, p. 325-329, 1991.

MILHOME, M. A. L.; SOUSA, D. O. B.; LIMA, F. A. F.; NASCIMENTO, R.F. **Avaliação do potencial de contaminação de águas superficiais e subterrâneas por pesticidas aplicados na agricultura do Baixo Jaguaribe, CE.** Eng Sanit Ambient., v.14, n.3, jul/set, p. 363-372, 2009.

MONTANHA, F. P.; PIMPÃO, C. T. **Efeitos toxicológicos de piretróides (cipermetrina e deltametrina) em peixes – revisão.** Revista científica eletrônica de Medicina Veterinária, ano IX, n. 18, 2012.

MONTEIRO, R. T. R. **Biodegradação de herbicidas.** In: EMBRAPA – CNPMA. Workshop sobre biodegradação. **Anais...** Campinas, SP, p.120-128, 1996.

MOORE, M.T.; LIZOTTE JR., R.E.; KNIGHT, S.S.; SMITH JR., S.; COOPER, C.M. **Assessment of pesticide contamination in three Mississippi Delta oxbow lakes using *Hyalella azteca*.** Chemosphere. v.67, p. 2184–2191, 2007.

MOURA, E. E. S. **Determinação da toxicidade aguda e caracterização de risco ambiental do herbicida Roundup (glifosato) sobre três espécies de peixes.** 2009. 58 p. Dissertação (Mestrado em Bioecologia Aquática). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

MULLA, M. S., MIAN, L. S, KAWECKI, J. A. **Distribution, transport, and fate of the insecticides malathion and parathion in the environment.** Residue Rev 81:1-172, 1981

MUNKEGAARD, M.; ABBASPOOR, M.; CEDERGREEN, N. **Organophosphorous insecticides as herbicide synergists on the green algae *Pseudokirchneriella subcapitata* and the aquatic plant *Lemna minor*.** Ecotoxicology, v. 17, p. 29–35, 2008.

NAKANO, Y. et al. **A study on pesticide runoff from paddy fields to a river in rural region-1: field survey of pesticide runoff in the Kozakura river.** Japan Water Research, v. 38, n. 13, p. 3017-3022. 2004.

NAVARRO, O. E.; OBREGÓN, E. B. **Effect of malathion on the male reproductive organs of earthworms, *Eisenia foetida***. Asian J. Androl., 7 (1), p. 97–101, 2005.

NEWHART, K. **Environmental Fate of Malathion**. Department of Pesticide Regulation Environmental Monitoring Branch. 20 p. 2006.

OECD. **Organization for Economic Cooperation and Development. *Lemna sp.* Growth Inhibition Test**. In: GUIDELINE for testing of chemicals, 2002.

PAGANINI, W. S. **A identidade de um rio de contrastes: o Tietê e seus múltiplos usos**. 1 ed. São Paulo: Imprensa Oficial do estado de São Paulo, 2007.

PATHIRATNE, A.; GEORGE, S. G. **Toxicity of malathion to nile tilapia, *Oreochromis niloticus* and modulation by other environmental contaminants**. Aquatic. Toxicol, Amsterdam, v. 43, p. 261-271, 1998.

PAVÃO, A. C., LEÃO, M. B. C. **Riscos de carcinogênese química no controle do Aedes**. In: AUGUSTO, L.G.S; CARNEIRO, R.M; MARTINS, P. H. (Org.). **Abordagem Ecológica Ensaios para o Controle da Dengue**. 1 ed. Recife: Editora Universitária da UFPE, , v. 1, p. 213-226, 2005.

PEREIRA, M. A. S.; CAMARGO, F. C. F.; CARVALHO, J. B.; KNUPP, V. F. **Estudo da degradação de agrotóxicos em frutas e verduras frente a reagentes químicos de uso comum**. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2008. Disponível em < <http://sec.sbq.org.br/cdrom/31ra/resumos/T0557-1.pdf>>. Acesso em 07 de abril de 2012.

PRIMEL, E. G.; ZANELLA R.; KURZ, M. H. S.; GONÇALVES, F. F.; MACHADO, S. O.; MARCHESAN, E. **Poluição das águas por herbicidas utilizados no cultivo do arroz irrigado na região central do estado do Rio Grande do Sul, Brasil: predição teórica e monitoramento**. Quim. Nova, v.. 28, n. 4, p. 605-609, 2005.

PROCÓPIO, S. O.; et al. **Sorção do herbicida atrazine em constituintes organominerais**. Planta Daninha, v.19, n.3, p.391-400, 2001.

QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. **Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica**. Quim. Nova, v.24, n.1, p.68-76, 2001.

RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. **Fundamentals of Aquatic Toxicology**. Washington: G.M. Rand S.R. Petrocelli eds., 665 p. 1985.

RAVELLI, A., PANTANI, O., CALAMAI, L., FUSI, P. **Rates of chlorsulfuron degradation in three Brazilian soils**. Weed Res., v.37, p.51-59, 1997.

REBELO, R. M. **Desenvolvimento de uma plataforma de dados para avaliação de risco ambiental a agrotóxicos no Brasil usando o Pesticide Root Zone Model (PRZM)**. 2013. 124 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade de Brasília, Brasília.

REHWOLDT, R.E.; KELLEY, E.; MAHONEY, M. **Investigations into the acute toxicity and some chronic effects of selected herbicides and pesticides on several fresh water fish species**. Bull. environ. Contam.Toxicol., 18(3): 361-365, 1977.

RÉUS, G. Z.; VALVASSORI, S.S.; NUERNBERG, H.; COMIM, C. M.; STRINGARI, R. B.; PADILHA, P. T.; LEFFA, D. D.; TAVARES, P.; DAGOSTIM, G.; PAULA, M. M.; ANDRADE, V. M.; QUEVEDO, J. **DNA damage after acute and chronic treatment with malathion in rats**. J Agric Food Chem, 27;56(16), p. 7560-5, 2008.

RIBEIRO, C. D. M. **Avaliação de aspectos da capacidade etorial de população de Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) mantida no laboratório na ausência ou na presença de piretroide**. 2008. 104 p. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia). Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

RIBEIRO, D. H. B.; VIANA, E. **Avaliação do potencial de impacto dos agrotóxicos no meio ambiente**. Comunicados técnicos, n. 124, 2010. Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=124. Acesso em 03 de agosto de 2013.

RIEDER, A. **Aspecto da interação do homem com pesticidas no ambiente: focando a cotonicultura e com ênfase às bordas do alto pantanal, Mato Grosso, Brasil**. 2005. 204 p. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal de São Carlos – São Carlos.

ROBERTS, B. L.; DOROUGH, H. I. **Relative toxicity of chemicals to the earthworm Eisenia foetida**. Environ. Toxicol. Chem, v. 3, p. 67-68, 1984.

ROCHA, A. A. **Monitoramento de agrotóxicos em áreas irrigadas por pivô central na microbacia do Tijunheiro, município de Morrinhos, Goiás**. 2011. Tese (Doutorado em Química). Universidade de São Paulo, Piracicaba.

ROSE, R. I. **Pesticides and public health: integrated methods of mosquito management**. Emerging Infectious Diseases, v. 7, n. 1, p.17-23, 2001.

ROZENDAAL, J. A. **Vector control. Methods for use by individuals and communities**. Geneve: World Health Organization; 1997.

SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. **Piretroides – uma visão geral**. Alim. Nutr. v.18, n.3, p. 339-349, 2007 a.

SANTOS, V. M. R.; DONNICI, C. L.; DaCOSTA, J. B. N.; CAIXEIRO, J. M. R. **Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais.** Quim. Nova, v. 30, n. 1, p.159-170, 2007 b.

SAS Institute Inc. SAS® 9.0 Language reference: Concepts. Cary, NC: **SAS Institute Inc**, 2001.

SAVIGNY, J. C. **Analyse d'un memoire sur les Lombrics par Cuvier.** Mem. Acad. Sci. Inst. France 5, p. 176-184, 1826.

SELVI, M.; SARIKAYA, R.; ERKOÇ, F.; KOÇAK, O. **Investigation of acute toxicity of chlorpyrifos-methyl on guppy Poecilia reticulata.** Chemosphere, v. 60, p. 93-96, 2005.

SHAO-NAN, L.; DE-FANG, F. **Correlation between biochemical parameters and susceptibility of freshwater fish to malathion.** J. Toxicol. Environ. Heath, Washington, v. 48, p. 413-418, 1996.

SILVA, F. S. **Otimização e validação de método para a análise de HPAs em rapadura.** 2006. 107 p. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Estadual Paulista – UNESP, Araraquara.

SILVA, A. A.; SILVA, J. F.; editores. **Tópicos em manejo de plantas daninhas.** Viçosa: Ed. UFV, 367p., 2007.

SILVA, S. R. C. M. **Efeito dos inseticidas organofosforados e latossolo vermelho escuro em Campo Novo do Parecis – MT e degradação dos organofosforados por processo oxidativo avançado.** 2008. 134 p. Tese (Doutorado em Geoquímica Ambiental). Universidade Federal Fluminense, Niterói.

SILVA, J. M. **Desenvolvimento e validação de método para determinação de agrotóxicos em sedimento por cromatografia gasosa monodimensional e bidimensional abrangente com micro detector por captura de elétrons.** 2009. 147 p. Dissertação (Mestrado em química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre

SILVA, A. A.; VIVIAN, R.; ANTONINO, L. **DINÂMICA DE HERBICIDAS NO SOLO.** 2012. Disponível em: [http://apostilas.cena.usp.br/Valdemar/CEN0119%20-%20Qu%C3%ADmica%20Org%C3%A2nica%20Ambiental/15a%20semana%20\(4%20Junho\)/3%20-%20Dinamica_herbicidas_solo.pdf](http://apostilas.cena.usp.br/Valdemar/CEN0119%20-%20Qu%C3%ADmica%20Org%C3%A2nica%20Ambiental/15a%20semana%20(4%20Junho)/3%20-%20Dinamica_herbicidas_solo.pdf). Acesso em 20 de nov. de 2013.

SOARES, A. F. S. **Uso de agrotóxicos, contaminação de mananciais e análise da legislação pertinente: um estudo na região de Manhuaçu-MG.** 2011. 300 p. Tese (doutorado em saneamento, meio ambiente e recursos hídricos). Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais.

SOLOMON, K.R. **Ecotoxicological risk assessment of pesticides**. Guelph:University of Guelph, 1996. 76p.

SOUZA, J. P. 2008.144 p. **Toxicidade aguda e risco ambiental do diflubenzuron para *Daphnia magna*, *Poecilia reticulata* e *Lemna minor* na ausência e presença de sedimento**. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

SOUZA, W. **Doenças negligenciadas** Ciência e tecnologia para o desenvolvimento nacional. Estudos estratégicos. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, 2010. 56 p.

STARNER, K; KUIVILA, K. M.; JENNINGS, B.; MOON E. **Degradation Rates of Six Pesticides in Water from the Sacramento River, California**. U.S. Geological Survey Toxic Substances Hydrology Program--Proceedings of the Technical Meeting, Charleston, South Carolina, March 8-12, v. 2, 1999.

STEINDACHNER, F. **Anzeiger der Akademie der Wissenschaften in Wien**. Mathematisch Naturwissenschaftliche Classe, Beiträge zur Kenntniss der Flussfische Südamerika's (IV), v. 19, n. 19, p. 175-180, 1882.

TARDIF, F. J.; POWLES, S. B.; **Effect of malathion on resistance to soil-applied herbicides in a population of rigid ryegrass (*Lolium rigidum*)**. Weed Science, v. 47, p. 258-261, 1999.

TARIK, M. I.; AFZAL, S.; HUSSAIN, I. **Degradation and persistence of cotton pesticides in sandy loam soils from Punjab, Pakistan**. Environmental Research, 100, p. 184–196, 2006.

TAUIL, P. L. **Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil**. Cad. Saúde Pública, v. 18, p. 867-871, 2002.

TAYLOR, A. W.; SPENCER, W. F. Volatilization and vapor transport process. IN: CHENG, H. H. (Editor). **Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts and Modeling**. Madison, Wisconsin, USA, Soil Science Society of America, Inc. p. 213-272, 1990.

TUCCI, C. E. M.; CABRAL, J. J. S. P. **Qualidade da água subterrânea**. Centro de gestão e estudos estratégicos, anexo II-b. 2003. 53 p.

TOMLIN, C. **The Pesticide Manual**. Surrey: The Royal Society of Chemistry, 1995, 1341 p.

VENTURINI, F. P. **Toxicidade aguda e respostas metabólicas e hematológicas do pacu (*Piaractus mesopotamicus*, HOLMBERG, 1887) exposto a concentração sub-letal de triclofon e recuperação.** 2010. 90 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Evolução). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

VILLA, R. D.; OLIVEIRA, A. P.; NOGUEIRA, R. F. P. **Avaliação dos parâmetros de solubilidade de hildebrand/hansen na seleção de solventes para a extração de pesticidas organoclorados do solo.** *Quim. Nova*, Vol. 34, No. 9, 1501-1506, 2011.

UH. UNIVERSITY of HERTFORDSHIRE. 2013. **The University of Hertfordshire Agricultural Substances Database Background and Support Information.** Disponível em http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/docs/Background_and_Support.pdf. Acesso em 31 de dez. 2014.

URBAN, D. J.; COOK, N. J. **Hazard Evaluation Division - Standard Evaluation Procedure** Ecological Risk Assessment, U. S. EPA Publication 540/9-86-001, 1986.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações.** Editora Rima, São Carlos, 2006, 478 p.

ZUCKER, E. **Hazard Evaluation Division - Standard Evaluation Procedure – Acute toxicity test for freshwater fish.** 1985. (USEPA Publication 540/9-85-006).

WANG, T. C.; HOFFMAN, M. E. **Degradation of organophosphorus pesticides in coastal water.** *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*. v. 74, no. 5, p. 883-886, 1991.

WANG, Y. H.; CANG, T.; ZHAO, X. P.; YU, R. X.; CHEN, L. P.; WU, C. X., WANG, Q. **Comparative acute toxicity of twenty-four insecticides to earthworm, *Eisenia fetida*.** *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 79, p. 122-128. 2012.

WARE, G. W.; WHITACRE, D. M. **An Introduction to insecticides (4th edition). Extracted from The Pesticide Book, 6th ed.** (2004), Published by Meister Pro Information Resources, A division of Meister Media Worldwide, Willoughby, Ohio, 2004. Disponível em <<http://ipmworld.umn.edu/chapters/ware.htm>>. Acesso em 08/04/2012.

WOLFE, N. L.; ZEPP, R. G.; BAUGHMAN, G. L.; GORDON, J. A. **Kinetic investigation of malathion degradation in water.** *Bull Environ Contam Toxicol* 13(6), p. 707-713, 1975.

WOLFE, N. L.; ZEPP, R. G.; GORDON, J. A., BAUGHMAN, G. L.; CLINE, D. M. **Kinetics of chemical degradation of malathion in water.** *Environ Sci Technol* 11:88-93, 1977.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO Specifications and evaluations for public health pesticides. MALATHION.** Geneva, 2003.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Malathion in Drinking-water.** Background document for development of WHO *Guidelines for Drinking-water Quality*. 2004

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control.** 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Map production: Public Health Information and Geographic Information Systems (GIS).** 2012.

8. ANEXOS

Anexo 1. Mortalidade/imobilidade de *Daphnia magna* obtida nos testes de toxicidade aguda.

Concentração (mg.L ⁻¹)	Nº de animais mortos/imóveis			
	Réplicas			
	A	B	C	D
0	0	0	0	0
0,0001	0	0	0	0
0,00025	1	3	3	3
0,0005	3	5	3	3
0,001	5	10	2	6
0,0025	14	11	15	13
0,005	17	14	17	16
0,01	20	17	20	19
0,05	20	20	20	20

Anexo 2. CE(1)48h (mg.L⁻¹), limite inferior (LI) e limite superior (LS) obtidos nos testes de toxicidade aguda com *D. magna*.

	Réplicas			
	A	B	C	D
CE(1)50 48h (mg.L ⁻¹)	0,0016	0,0017	0,0016	0,0016
LI	0,0012	0,0011	0,0012	0,0011
LS	0,0021	0,0024	0,0021	0,0022

Anexo 3. Valores das características físico-químicas da água ao longo das concentrações de malation nos dias de avaliação dos testes de toxicidade aguda com *D. magna*.

Concentração (mg.L ⁻¹)	Teste	Média							
		Temperatura (°C)		pH		Condutividade (uS.cm ⁻¹)		Oxigênio dissolvido (mg.L ⁻¹)	
		0h	48h	0h	48h	0h	48h	0h	48h
0	1	22,6	23,8	7,1	7,1	867	840	7,2	5,7
	2	21,2	20,3	7,1	7,3	858	838	6,8	6,7
	3	20,7	24,0	7,2	7,6	860	862	6,9	6,6
0,0001	1	22,5	23,6	7,1	7,1	865	829	7,1	5,6
	2	21,5	20,6	7,1	7,5	860	831	7,0	6,5
	3	20,8	22,1	7,2	7,5	862	849	6,9	5,6
0,00025	1	22,7	23,6	7,2	7,2	867	827	7,1	5,5
	2	21,3	20,6	7,1	7,5	850	830	6,8	6,2
	3	20,5	22,1	7,2	7,5	865	849	6,7	5,6
0,0005	1	22,4	23,5	7,2	7,2	864	826	7,2	5,5
	2	21,4	20,6	7,1	7,5	856	828	6,6	6,1
	3	20,6	22,0	7,1	7,5	866	847	6,9	5,6
0,001	1	22,5	23,5	7,2	7,3	866	821	7,0	5,4
	2	21,3	20,6	7,1	7,5	855	825	7,0	6,4
	3	20,8	22,0	7,1	7,5	864	844	6,9	5,6
0,0025	1	22,3	23,2	7,2	7,3	870	807	7,2	5,4
	2	21,7	20,7	7,1	7,5	856	812	6,5	6,3
	3	20,9	21,9	7,1	7,5	867	828	6,9	5,6
0,005	1	22,5	23,1	7,2	7,3	871	800	6,3	5,5
	2	21,0	20,8	7,1	7,4	857	819	7,0	6,1
	3	20,7	21,8	7,2	7,5	861	812	6,8	5,4
0,01	1	22,0	23,1	7,1	7,3	868	840	7,1	5,4
	2	21,8	20,8	7,1	7,3	859	832	7,0	6,2
	3	20,8	21,8	7,2	7,5	863	842	6,5	5,4
0,05	1	22,5	23,0	7,2	7,2	871	827	6,7	5,4
	2	21,5	20,8	7,1	7,3	856	829	7,0	6,0
	3	20,9	21,8	7,1	7,5	864	813	6,9	5,1

Anexo 4. Mortalidade de *Hyphessobrycon eques* obtida nos testes de toxicidade aguda.

Concentração (mg.L ⁻¹)	Nº de animais mortos			
	Réplicas			
	A	B	C	D
0	0	0	0	0
0,5	0	0	0	0
1	2	1	2	2
2	3	2	4	4
3	4	2	5	4
4	7	7	8	7
5	8	9	9	9
10	12	12	12	12

Anexo 5. CL(l)48h (mg.L⁻¹), limite inferior (LI) e limite superior (LS) obtidos nos testes de toxicidade aguda com *H.ecques*.

	Réplicas			
	A	B	C	D
CL(l)50 48h (mg.L ⁻¹)	3,11	3,51	2,72	2,86
LI	2,38	2,81	2,08	2,18
LS	4,05	4,49	3,55	3,73

Anexo 6. Valores das características físico-químicas da água ao longo das concentrações de malation nos dias de avaliação dos testes de toxicidade aguda com *H. ecques*.

Concentração (mg.L ⁻¹)	Teste	Média											
		Temperatura (°C)			Condutividade (uS.cm ⁻¹)			pH			Oxigênio dissolvido (mg.L ⁻¹)		
		0h	24h	48h	0h	24h	48h	0h	24h	48h	0h	24h	48h
0	1	23,10	23,87	22,92	157	162	157	8,05	7,85	7,52	5,72	4,13	6,52
	2	23,30	23,93	22,91	158	161	159	8,04	7,80	7,53	5,57	3,98	5,71
	3	23,27	23,85	23,43	158	160	159	8,23	8,00	8,14	7,04	5,74	5,87
0,5	1	23,87	23,96	22,93	159	160	156	8,01	7,75	7,39	5,6	4,41	5,76
	2	23,95	23,89	22,97	159	160	156	8,01	7,72	7,36	5,48	4,94	6,10
	3	24,01	24,22	24,10	157	161	158	8,07	7,98	8,03	6,49	5,54	5,89
1	1	24,17	23,99	22,88	160	159	155	7,95	7,66	7,34	5,27	3,49	6,51
	2	24,54	23,88	22,95	161	159	156	7,97	7,69	7,34	5,35	4,14	5,51
	3	24,41	23,88	22,95	161	160	156	7,97	7,67	7,35	5,44	4,01	6,07
	4	23,84	23,99	23,77	158	160	159	8,07	8,05	8,12	6,52	5,86	5,75
	5	23,79	23,65	23,58	157	157	158	8,13	7,92	7,91	6,59	5,28	6,18
	6	23,75	23,65	23,62	159	159	159	8,09	8,05	7,97	6,64	6,25	5,20
2	1	24,05	23,49	23,59	160	158	158	8,12	8,19	8,11	6,61	6,44	6,46
	2	23,98	23,14	23,36	160	157	157	8,02	8,33	8,16	6,19	6,92	6,70
	3	24,07	23,78	23,65	160	156	158	8,09	7,78	7,87	6,78	3,48	4,10
3	1	24,36	23,38	23,38	150	157	158	8,06	8,15	8,03	6,4	6,63	6,35
	2	24,29	23,13	23,13	159	155	156	8,88	8,22	8,18	6,73	6,79	6,93
	3	24,39	23,72	23,72	158	158	158	8,14	7,96	8,02	6,61	5,96	6,24
4	1	24,47	23,47	23,47	159	158	158	8,19	8,13	7,92	6,72	6,45	6,01
	2	24,45	23,42	23,42	160	157	158	8,07	8,03	7,82	6,44	6,14	5,74
	3	24,25	23,62	23,62	160	158	158	8,09	7,95	7,95	6,54	5,75	6,23
5	1	24,72	23,87	22,84	161	158	155	7,97	7,51	7,31	5,26	3,02	6,11
	2	24,76	23,85	22,89	160	158	155	7,98	7,56	7,30	5,54	3,61	5,55
	3	24,83	24,01	22,89	160	159	159	7,97	7,61	7,26	5,60	4,33	5,60
	4	24,56	23,62	23,41	160	157	157	8,10	7,81	7,90	6,47	4,03	6,05
	5	24,52	23,65	23,43	160	158	157	8,10	7,88	7,60	6,38	5,59	5,61
	6	24,4	23,57	23,50	153	156	159	7,60	7,6	7,10	4,30	5,60	5,30
10	1	24,66	23,98	23,50	161	160	167	7,98	7,62	7,10	5,53	4,05	5,05
	2	24,56	23,93	23,50	160	161	174	7,96	7,62	7,20	5,36	4,06	4,99
	3	24,74	23,88	23,40	162	157	164	7,96	8,03	7,15	5,46	6,47	6,01

Anexo 7. Inibição de crescimento de *Lemna minor* obtida nos testes de toxicidade aguda.

Concentração (mg.L ⁻¹)	Inibição de crescimento (%)			
	Réplicas			
	A	B	C	D
0	0,0	0,0	0,0	0,0
1	0,0	0,0	0,0	0,0
2	12,0	15,2	15,1	12,0
4	19,4	28,8	26,1	22,1
8	26,9	36,4	32,8	30,4
16	50,9	47,0	49,8	48,1
32	66,7	65,2	67,0	64,8
64	81,5	87,9	85,7	83,7
128	90,7	98,5	91,2	98,0

Anexo 8. CI(1)7d (mg.L⁻¹), limite inferior (LI) e limite superior (LS) obtidos nos testes de toxicidade aguda com *L.minor*

	Réplicas			
	A	B	C	D
CI(1)50 (mg.L⁻¹)	13,09	16,40	15,01	14,50
LI	10,04	13,87	12,20	11,72
LS	15,81	19,40	17,87	17,38

Anexo 9. Valores das características físico-químicas da água ao longo das concentrações de malation nos dias de avaliação dos testes de toxicidade aguda com *L.minor*.

Concentração (mg.L ⁻¹)	Teste	Média															
		Temperatura (°C)				pH				Condutividade (uS.cm ⁻¹)				Oxigênio dissolvido (mg.L ⁻¹)			
		0d	3d	5d	7d	0d	3d	5d	7d	0d	3d	5d	7d	0d	3d	5d	7d
0	1	23,4	27,6	26,9	26,3	6,6	8,2	9,7	10,2	901	907	886	909	7,1	11,1	11,2	13,6
	2	23,5	27,6	27,0	26,1	6,6	8,3	9,6	10,1	907	913	897	919	7,2	11,0	10,9	14,7
	3	23,4	27,3	26,6	25,9	6,6	8,5	9,5	9,9	902	913	883	900	7,2	11,5	10,7	12,7
1	1	23,1	27,0	26,5	26,1	6,5	7,9	8,4	8,8	894	943	951	948	7,2	8,9	8,5	9,8
	2	23,2	26,8	25,9	26,1	6,5	7,9	8,2	8,7	897	942	954	919	7,2	9,1	8,6	9,9
	3	23,2	26,5	25,9	25,9	6,6	7,9	8,2	8,5	897	939	946	900	7,2	9,3	7,5	9,8
2	1	23,1	26,7	25,8	26,1	6,5	8,1	8,6	8,3	894	930	903	916	7,3	9,9	9,0	9,0
	2	23,5	27,0	26,1	26,0	6,7	8,2	8,7	8,9	910	936	912	924	7,2	10,2	8,8	9,4
	3	23,6	26,6	25,8	25,5	6,7	8,4	8,7	8,9	912	936	911	920	7,2	10,7	8,8	9,8
4	1	23,7	26,9	26,3	25,7	6,5	7,5	8,0	8,3	909	957	966	961	7,3	8,0	7,3	9,2
	2	23,2	26,3	25,8	25,8	6,6	7,7	7,8	8,2	900	960	977	980	7,4	8,3	8,3	9,8
	3	23,0	26,3	25,6	25,8	6,5	7,6	7,8	8,1	892	949	960	969	7,4	8,0	8,1	9,3
8	1	23,1	25,7	24,9	25,2	6,9	7,9	8,0	8,1	910	973	986	1001	7,4	8,6	8,5	9,2
	2	23,5	26,2	25,3	25,3	6,5	7,9	7,8	8,0	902	957	973	991	7,3	8,4	8,3	8,6
	3	23,8	26,0	25,1	25,1	6,5	7,9	7,9	7,9	908	958	978	994	7,3	8,6	8,5	9,0
16	1	23,7	26,2	24,5	25,3	6,5	8,2	8,1	8,1	903	944	923	940	7,3	9,6	8,9	8,7
	2	23,3	25,3	23,8	25,1	6,5	8,2	8,1	8,1	910	1003	1002	1022	7,4	8,5	8,9	9,0
	3	22,8	25,1	23,7	24,3	6,9	8,1	8,1	8,1	903	965	940	956	7,6	8,2	8,4	9,4
32	1	23,4	26,0	24,4	25,3	6,7	8,2	8,6	9,1	907	961	925	914	7,4	8,2	10,1	11,0
	2	23,5	25,8	24,8	25,2	6,7	8,2	8,3	8,7	905	958	945	931	7,5	7,0	8,9	10,3
	3	23,2	25,4	24,7	25,1	6,5	8,1	8,4	8,4	908	981	986	993	7,4	6,8	8,4	9,0
64	1	23,4	26,2	25,6	25,4	6,6	7,8	7,9	7,9	909	968	988	1010	7,4	7,4	8,1	7,7
	2	23,2	25,6	24,6	24,8	6,4	7,7	7,7	7,7	898	959	975	994	7,5	6,9	7,6	7,6
	3	23,3	25,3	24,6	25,0	6,3	7,7	7,7	7,7	898	961	976	990	7,5	6,9	7,6	8,0
128	1	23,2	25,2	24,7	25,0	6,3	7,6	7,7	7,7	896	953	971	984	7,5	6,2	7,2	7,1
	2	23,2	25,2	24,5	24,9	6,9	7,7	7,8	7,7	894	954	971	985	7,5	6,1	7,3	7,2
	3	23,3	24,4	23,5	24,1	6,7	7,7	7,8	7,6	903	967	989	1009	7,6	6,2	7,3	6,3

Anexo 10. Mortalidade de *Eisenia foetida* obtida nos testes de toxicidade aguda com areia.

Concentração (mg.kg ⁻¹)	Nº de animais mortos			
	Réplicas			
	A	B	C	D
0	0	0	0	0
3	0	0	0	0
6	19	12	14	17
9	25	28	24	24
12	27	30	26	28
16	30	30	30	30

Anexo 11. CL(l)14 d (mg.kg⁻¹), limite inferior (LI) e limite superior (LS) obtidos nos testes de toxicidade aguda com *E. foetida* para areia.

	Réplicas			
	A	B	C	D
Cl(l)50 (mg.kg ⁻¹)	5,66	6,04	6,33	5,88
LI	5,06	5,44	5,63	5,24
LS	6,33	6,69	7,12	6,59

Anexo 12. Mortalidade de *E. foetida* obtida nos testes de toxicidade aguda com solo argiloso.

Concentração (mg.kg ⁻¹)	Nº de animais mortos			
	Réplicas			
	A	B	C	D
0	0	0	0	0
25	0	0	0	0
30	12	8	10	15
35	15	13	14	16
40	18	15	20	20
45	27	20	25	26
50	27	28	28	28
55	30	30	30	30

Anexo 13. CL(l)14d (mg.kg^{-1}), limite inferior (LI) e limite superior (LS) obtidos nos testes de toxicidade aguda com *E. foetida* para solo argiloso.

	Réplicas			
	A	B	C	D
CL(l)50 (mg.kg^{-1})	34,97	37,40	35,38	33,94
LI	33,30	35,61	33,72	32,33
LS	36,71	39,27	37,12	35,64

9. CURRÍCULO LATTES – Ana Carla Coleone

20/02/2014

Currículo do Sistema de Currículos Lattes (Ana Carla Coleone)

Ana Carla Coleone

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/1130538604495033>
Última atualização do currículo em 20/03/2014

Bacharel e licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual Paulista (UNESP) e especialista em Química pela Universidade Federal de Lavras (UFLA). Atualmente é assistente de Suporte Acadêmico II na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP - campus de Jaboticabal e mestranda em Saúde Pública pela Faculdade de Saúde Pública - USP. Tem experiência na área de Ecotoxicologia e Saúde Ocupacional, com ênfase em agrotóxicos. (Texto informado pelo autor)

Identificação

Nome Ana Carla Coleone
Nome em citações bibliográficas COLEONE, A. C.; Coleone, A. C.

Endereço

Endereço Profissional Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP - campus Jaboticabal,
Departamento de Fitossanidade.
Via de Acesso Prof. Paulo D. Castellani
Rural
14884-900 - Jaboticabal, SP - Brasil
Telefone: (16) 32092621

Formação acadêmica/titulação

2012 Mestrado em andamento em Saúde Pública (Conceito CAPES 5).
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Título: Avaliação da dissipação do inseticida malation utilizado em nebulização a ultra baixo volume no controle da dengue: avaliação ecotoxicológica e de risco ambiental, Orientador: Wanderley da Silva Paganini.

2010 - 2011 Especialização em Química. (Carga Horária: 450h).
Universidade Federal de Lavras, UFLA, Brasil.
Título: Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) e Saúde Pública.
Orientador: Adelar Aparecida Saczki.

2004 - 2008 Graduação em Ciências Biológicas - Bacharelado.
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP - campus Jaboticabal.
Título: "Participação do óxido nítrico encefálico na manutenção da temperatura corporal de pintainhos".
Orientador: Kênia Cardoso Biego.
Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil.

2004 - 2007 Graduação em Ciências Biológicas - Licenciatura.
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP - campus Jaboticabal.
Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil.

Formação Complementar

2013 - 2013 Treinamento - Programa SS. (Carga horária: 12h).
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP - campus Jaboticabal.

<http://lattes.cnpq.br/1130538604495033>

1/4

10. CURRÍCULO LATTES – Wanderley da Silva Paganini

20932014

Currículo do Sistema de Currículos Lattes (Wanderley da Silva Paganini)

Wanderley da Silva Paganini

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/5175772273020198>
Última atualização do currículo em 05/03/2014

possui graduação em Engenharia Civil pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (1978), mestrado em Saúde Pública pela Faculdade de Saúde Pública Universidade de São Paulo (1997), doutorado em Saúde Pública pela Faculdade de Saúde Pública Universidade de São Paulo (2001) e livre-docência em saneamento básico e ambiental pela Faculdade de Saúde Pública Universidade de São Paulo (2006). Atualmente é professor associado da Universidade de São Paulo e Superintendente de Gestão Ambiental da Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo. Tem experiência na área de Engenharia Sanitária, com ênfase em Tratamento de Esgotos, atuando principalmente nos seguintes temas: tratamento de esgotos para pequenas comunidades, disposição de esgotos no solo, saneamento básico, tecnologias de baixo custo, tratamento de águas e gestão ambiental. (Texto informado pelo autor)

Identificação

Nome Wanderley da Silva Paganini
Nome em citações bibliográficas PAGANINI, W. S.; Paganini, Wanderley da Silva

Endereço

Endereço Profissional Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo, Superintendência de Gestão Ambiental.
Rua Costa Carvalho, 300
Pinheiros
05429-000 - São Paulo, SP - Brasil
Telefone: (11) 33888312
Fax: (11) 33889617
URL da Homepage: <http://www.sabesp.com.br>

Formação acadêmica/titulação

2006 Livre-docência.
Faculdade de Saúde Pública Universidade de São Paulo.
Título: A HISTÓRIA DE UM RIO DE CONTRASTES: O TIETÊ E SEUS MÚLTIPLOS USOS. Ano de obtenção: 2006.
Palavras-chave: Rio Tietê; Condições sanitárias.
Grande área: Engenharias

1997 - 2001 Doutorado em Saúde Pública.
Faculdade de Saúde Pública Universidade de São Paulo.
Título: Efeitos da disposição de esgotos no solo. Ano de obtenção: 2001.
Orientador: Pedro Caetano Sanches Mancuso.
Palavras-chave: esgotos disposição à superfície solo.
Grande área: Engenharias / Área: Engenharia Sanitária / Subárea: Saneamento Ambiental / Especialidade: Microbiologia Aplicada e Engenharia Sanitária.
Grande área: Engenharias / Área: Engenharia Sanitária / Subárea: Saneamento Ambiental / Especialidade: Ecologia Aplicada a Engenharia Sanitária.
Grande área: Engenharias / Área: Engenharia Sanitária / Subárea: Saneamento Ambiental / Especialidade: Qualidade do Ar, das Águas e do Solo.
Setores de atividade: Produtos e Serviços Voltados Para A Defesa e Proteção do Meio Ambiente, Incluindo O Desenvolvimento Sustentado; Captação, Tratamento e Distribuição de Água, Limpeza Urbana, Esgoto e Atividades

<http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.do?metodo=apresentar&id=K4708452P0>

187