

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**PATRICIA ALINE BRESSIANI**

**TRATAMENTO DA ÁGUA E ANÁLISE DA MUTAGENICIDADE DA POPULAÇÃO  
DA VILA RURAL ÁGUA VIVA-FRANCISCO BELTRÃO-PR, AMBIENTALMENTE  
EXPOSTA A AGROQUÍMICOS**

**FRANCISCO BELTRÃO**

**2021**

**PATRICIA ALINE BRESSIANI**

**TRATAMENTO DA ÁGUA E ANÁLISE DA MUTAGENICIDADE DA POPULAÇÃO  
DA VILA RURAL ÁGUA VIVA-FRANCISCO BELTRÃO-PR, AMBIENTALMENTE  
EXPOSTA A AGROQUÍMICOS**

**Water treatment and mutagenicity analysis of the population of the Vila Rural Água  
Viva-Francisco Beltrão-PR, environmentally exposed to agrochemicals**

Trabalho de conclusão de curso de graduação, apresentado como requisito para obtenção de Bacharel em Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Profa. Dra. Elisângela Düsman

Coorientadoras: Profa. Dra. Ana Paula de Oliveira Schmitz e Prof. Dr. Eduardo Michel Vieira Gomes.

**FRANCISCO BELTRÃO**

**2021**

**PATRICIA ALINE BRESSIANI**

**TRATAMENTO DA ÁGUA E ANÁLISE DA MUTAGENICIDADE DA POPULAÇÃO  
DA VILA RURAL ÁGUA VIVA-FRANCISCO BELTRÃO-PR, AMBIENTALMENTE  
EXPOSTA A AGROQUÍMICOS**

Trabalho de conclusão de curso de graduação, apresentado como requisito para obtenção de Bacharel em Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 20 de maio de 2021

---

Elisângela Düsman  
Doutorado  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Ana Paula de Oliveira Schmitz  
Doutorado  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Ticiane Sauer Pokrywiecki  
Doutorado  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

“A folha de aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso”

**FRANCISCO BELTRÃO**

**2021**

Dedico este trabalho à minha família e amigos,  
pelos momentos de ausência.

## AGRADECIMENTO

Gostaria de começar agradecendo a Deus, por toda a força e coragem que Ele me forneceu e me ajudou a não desistir nos momentos mais difíceis. A fé e as orações sempre me auxiliaram para manter concentração e disciplina necessária.

Quero agradecer a minha família. Meus pais, por me ensinaram a ser uma mulher com responsabilidades, respeito e valores que levarei por toda minha vida. A minha avó, Erci, que sempre está orando por mim e me trata com muito amor e carinho. A meu irmão, Vagner, agradeço pelos conselhos, conversas, por cuidar de mim e sempre me motivando a ser uma pessoa melhor. A minha cunhada, Luciane, pelos conselhos e conversas. A minha prima, Larissa, por sempre estar ao meu lado em qualquer situação e nunca mediu esforços para me ajudar. A minha madrinha, Michele, que sempre acreditou em mim. Ao meu namorado, Kristian, que sempre me motivou e acreditou em mim. Gratidão à todos.

Especialmente, quero agradecer a minha grande amiga Ana Flávia e meu grande amigo Israel, que sempre me ajudaram nos momentos mais difíceis e complicados. Pelas inúmeras conversas e conselhos que me ajudaram demais a não desistir e continuar firme neste caminho. Gratidão por tudo. Quero agradecer aos meus colegas e amigos da graduação, Bruna, Flávia, Geiciane, Guilherme, Inara, Isabela, Kauany, Larissa, Mariana, Marina e Sabrina, que sempre estiveram comigo durante a graduação e na realização deste projeto. Gratidão por todas as conversas e conselhos.

Quero agradecer também ao Ministério Público, por todo o apoio e incentivo fornecido para a realização deste projeto.

Não posso deixar de agradecer, principalmente, a minha orientadora Elisângela, que nunca mediu esforços em me ajudar, sempre me incentivou, apoiou e teve toda paciência para me ajudar a realizar este trabalho. Gratidão também por todo auxiliou nesta pandemia e não poupou seu tempo para me orientar nas horas que eu mais precisei. Também a minha coorientadora, Ana Paula, por todo apoio e por aceitar a causa deste projeto e me fornecer todos os conhecimentos de engenharia necessários. O meu coorientador, Eduardo, por todo apoio e conhecimentos fornecido de estatística. E também quero agradecer a professora Maria Helene, por todo apoio ao longo do projeto.

Quero agradecer a professora, Ticiane, por ter aceito o convite para participar da minha banca e pelos conhecimentos compartilhados. Quero agradecer também, aos técnicos dos laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – FB, que ajudaram de alguma forma para realização deste trabalho, em especial, o João Paulo.

“A vida não é fácil para ninguém. Mas... O que importa? É necessário preservar e, acima de tudo, confiar em nós próprios. Temos de sentir que somos dotados para realizar uma determinada coisa e que temos de a alcançá-la, custe o que custar!” (Marie Curie)

## RESUMO

O uso excessivo de agroquímicos mediante exposição ocupacional dos agricultores e exposição ambiental da população em geral, em especial das que residem em regiões próximas às áreas agricultáveis, começou a receber atenção, devido aos seus efeitos nocivos à saúde humana. Assim, o objetivo desse estudo foi analisar a mutagenicidade das células da mucosa bucal da população da Vila Rural Água Viva (Francisco Beltrão-Paraná-Brasil), ambientalmente exposta a agroquímicos, e avaliar a remoção do 2,4-D de águas contaminadas por adsorção com carvão ativado. Os dados mostram que houve diferenças estatisticamente significativas do grupo controle (não exposto) e da população da Vila Rural com relação aos dados de citotoxicidade (pela análise das células que conduziram a morte celular - cromatina condensada, cariorréticas, cariolíticas ou picnóticas) e mutagenicidade (pela análise das células que causaram lesões clastogênicas e aneugênicas - micronúcleo, *nuclear buds* ou binucleadas). Não houve diferenças significativa a nível estatístico entre as frequências relativas médias dos dados de citotoxicidade e mutagenicidade da comunidade se divididos entre os fumantes e não-fumantes ou os praticantes de atividades físicas ou não. Também foi observado que a idade ou o tempo de exposição aos agroquímicos não apresentaram relação linear com as frequências relativas médias dos dados de citotoxicidade (idade - p valor = 0,08,  $r^2 = 0,221$ ; tempo de contato aos agroquímicos - p valor = 0,231,  $r^2 = 0,117$ ) e mutagenicidade (idade - p valor = 0,613,  $r^2 = 0,02$ ; tempo de contato aos agroquímicos - p valor = 0,103,  $r^2 = 0,205$ ), indicando que a citotoxicidade e mutagenicidade da mucosa bucal da população da Vila Rural possui relação com a exposição ambiental aos agroquímicos. Inclusive, a análise das amostras de água da comunidade mostrou que estas continham, além de alto teor de coliformes totais, turbidez e carga orgânica, a presença do agroquímico 2,4-D, determinado por cromatografia líquida de alta eficiência. O método cromatográfico demonstrou-se linear ( $r^2 = 0,9952$ ), preciso (com valor máximo do coeficiente de variação de 1,80%) e exato (ficando entre a faixa de 80 - 120%). Os ensaios preliminares de adsorção, para remoção do 2,4-D de amostras de água, mostraram que as condições que favorecem este processo foram: pH 2. Nos testes de equilíbrio e cinético verificou-se que o modelo cinético de Elovich ( $r^2 = 0,974$ ) foi o melhor modelo que descreveu a adsorção do 2,4-D e, que as isotermas de Redlich Peterson ( $r^2 = 0,986$ ), Temkin ( $r^2 = 0,986$ ) e Toth ( $r^2 = 0,988$ ) obtiveram o coeficiente de variação bem próximos, sendo adequadas para descrever os dados experimentais de equilíbrio da adsorção do 2,4-D com carvão ativado, com capacidade máxima de adsorção de 252,758 mg g<sup>-1</sup>. Espera-se que os resultados do presente estudo auxiliem na orientação sobre os perigos e danos à saúde e meio ambiente advindos do uso e exposição aos agroquímicos, bem como, da importância do tratamento das águas de consumo.

**Palavras-chave:** agroquímicos; 2,4-D; teste do micronúcleo buccal; CLAE; adsorção.

## ABSTRACT

The excessive use of agrochemicals through occupational exposure of farmers and environmental exposure of the general population, especially those residing in regions close to agricultural areas, began to receive attention due to their harmful effects on human health. Thus, the aim of this study was to analyze the mutagenicity of the cells of the oral mucosa of the population of Vila Rural Água Viva (Francisco Beltrão-Paraná-Brazil), environmentally exposed to agrochemicals, and to evaluate the removal of 2,4-D from water contaminated by adsorption with activated carbon. The data show that there were statistically significant differences between the control group (not exposed) and the population of Vila Rural regarding the cytotoxicity data (by analyzing the cells that led to cell death - condensed chromatin, karyorrhexis, karyolytic or pyknotic) and mutagenicity (by analyzing the cells that caused clastogenic and aneugenic lesions - micronucleus, *nuclear buds* or binucleated). There was no significant change at a statistical level between the average relative frequencies of the community's cytotoxicity and mutagenicity data whether divided between persistent and non-persistent or practitioners of physical activities or not. It was also observed that age or time of exposure to agrochemicals did not show a linear relationship with the average relative frequencies of cytotoxicity data (age - p value = 0.08,  $r^2 = 0.221$ ; time of contact with agrochemicals - p value = 0.221,  $r^2 = 0.117$ ) and mutagenicity (age - p value = 0.613,  $r^2 = 0.02$ ; time of contact with agrochemicals - p value = 0.103,  $r^2 = 0.205$ ), indicating that the cytotoxicity and mutagenicity of the oral mucosa of the population of Vila Rural it is related to the environmental exposure to agrochemicals. In fact, the analysis of the water samples from the community showed that these contained, in addition to a high content of total coliforms, turbidity and organic load, the presence of the 2,4-D agrochemical, determined by high-performance liquid chromatography. The chromatographic method was shown to be linear ( $r^2 = 0.9952$ ), precise (with maximum value of the variation coefficient of 1.80%) and exact (between 80 - 120%). Preliminary adsorption tests, to remove 2,4-D from water samples, showed that the conditions that favor this process were: pH 2. In the equilibrium and kinetic tests, it was found that the Elovich kinetic model ( $r^2 = 0.974$ ) was the best model that described the adsorption of 2,4-D and that the isotherms of Redlich Peterson ( $r^2 = 0.986$ ), Temkin ( $r^2 = 0.986$ ) and Toth ( $r^2 = 0.988$ ) obtained the coefficient of variation very close, being adequate to describe the experimental data of equilibrium of the adsorption of 2,4-D with activated carbon, with maximum adsorption capacity of 252,758 mg g<sup>-1</sup>. It is hoped that the results of the present study will assist in guiding the dangers and damages to health and the environment arising from the use and exposure to agrochemicals, as well as the importance of the treatment of drinking water.

**Keywords:** agrochemicals; 2,4-D; oral micronucleus test; HPLC; adsorption;



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Produção agrícola do município de Francisco Beltrão-Paraná no ano de 2017.....	19
Figura 2 – Esquema dos possíveis efeitos nocivos dos agroquímicos sobre as células.....	22
Figura 3 – Mucosa bucal, diferentes camadas celulares e as possíveis relações espaciais dos diferentes tipos de células.....	25
Figura 4 – Diferentes tipos celulares e mecanismos de anomalia nuclear.....	25
Figura 5 – Etapas envolvidas na SPE.....	28
Figura 6 – Localização geográfica da Vila Rural Água Viva.....	34
Figura 7 – Localização da Vila Rural Água Viva e as áreas agricultáveis rodeando a mesma.....	35
Figura 8 – Etapas da extração em fase sólida do 2,4-D.....	47
Figura 9 – Imagens dos diferentes tipos de células identificadas no ensaio do micronúcleo bucal.....	46
Figura 10 – Frequência relativa média e desvio-padrão dos diferentes tipos celulares obtidos pelo teste do micronúcleo bucal do grupo controle e da população da Vila Rural.....	48
Figura 11 – Análise cromatográfica da amostra 1.....	49
Figura 12 – Análise cromatográfica da amostra 2.....	49
Figura 13 – Curva de linearidade do herbicida 2,4-D obtida por cromatografia líquida de alta performance.....	50
Figura 14 – Comportamento cinético da adsorção do 2,4-D nas melhores condições (pH 2, temperatura de 25 °C, agitação de 100 rpm, 100 mg de 2,4-D L <sup>-1</sup> ) e ajuste dos modelos cinéticos.....	56
Figura 15 – Dados de equilíbrio de adsorção do 2,4-D e ajuste das isotermas de adsorção.....	58

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação dos agroquímicos pela Anvisa.....	17
Tabela 2 – Frequência relativa média e desvio-padrão (%) dos dados de citotoxicidade, mutagenicidade e do número total de alterações obtidos pelo teste do micronúcleo bucal do grupo controle e da população da Vila Rural.....	42
Tabela 3 – Características epidemiológicas da população do estudo, no teste do MN bucal.....	43
Tabela 4 – Comparação da frequência relativa média e desvio-padrão dos dados de citotoxicidade, mutagenicidade e do número total de alterações da população da Vila Rural de acordo com os hábitos de vida.....	45
Tabela 5 – Concentrações do 2,4-D encontradas na Vila Rural Água Viva .....	50
Tabela 6 – Tempo de retenção do 2,4-D e dados da linearidade.....	52
Tabela 7 – Valores do coeficiente de variação e exatidão calculados para o método de quantificação do 2,4-D.....	52
Tabela 8 – Valores das análises físico-químicas das amostras de água da Vila Rural Água Viva.....	53
Tabela 9 – Efeito do pH na adsorção de 2,4-D com carvão ativado.....	54
Tabela 10 – Parâmetros ajustados pelos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem e Elovich aos dados experimentais de adsorção.....	55
Tabela 11 – Parâmetros ajustados pelas isotermas de Langmuir, Freundlich, Redlich Peterson, Temkin e Toth aos dados experimentais de adsorção.....	57

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

DNA	Ácido desoxirribonucleico
2,4-D	2,4-diclorofenoxiacético
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
GHS	<i>Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
ROS	Espécies reativas de oxigênio
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Performance
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
EFS	Extração em fase sólida

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
1.1	OBJETIVOS.....	15
1.1.1	Objetivo Geral.....	15
1.1.2	Objetivos Específicos.....	15
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>16</b>
2.1	CARACTERIZAÇÃO DOS AGROQUÍMICOS.....	16
2.2	USO DOS AGROQUÍMICOS NO BRASIL.....	18
2.3	CONTAMINAÇÃO DA ÁGUA DE CONSUMO POR AGROQUÍMICO.....	19
2.4	LEGISLAÇÕES SOBRE A QUALIDADE DA ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO.....	20
2.5	AGROQUÍMICOS E SEUS RISCOS À SAÚDE HUMANA.....	21
2.6	TESTE DE GENOTOXICIDADE E BIOMONITORAMENTO HUMANO.....	23
2.7	CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.....	26
2.7.1	Validação do método analítico.....	26
2.8	EXTRAÇÃO EM FASE SOLIDA (EFS).....	27
2.9	ADSORÇÃO COM CARVÃO ATIVADO.....	28
2.9.1	Modelos Cinéticos de Adsorção.....	29
2.9.1.1	Modelo cinético de pseudoprimeira ordem.....	29
2.9.1.2	Modelo cinético de pseudossegunda ordem.....	30
2.9.1.3	Modelo cinético de Elovich.....	30
2.9.2	Isotermas de Adsorção.....	31
2.9.2.1	Isoterma de Langmuir.....	31
2.9.2.1	Isoterma de Freundlich.....	31
2.9.2.3	Isoterma de Redlich-Peterson.....	32
2.9.2.4	Isoterma de Temkin.....	32
2.9.2.5	Isoterma de Toth.....	32
<b>3</b>	<b>PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS.....</b>	<b>34</b>
3.1	VILA RURAL ÁGUA VIVA.....	34
3.2	POPULAÇÃO ESTUDO.....	35
3.3	POPULAÇÃO CONTROLE.....	36
3.4	TESTE DO MICRONÚCLEO DA MUCOSA BUCAL.....	36
3.5	ANÁLISE DOS DADOS.....	37
3.6	ANÁLISE DA ÁGUA DA VILA RURAL ÁGUA VIVA.....	37
3.6.1	Coleta das Amostras de Água.....	37
3.6.2	Análises Físico-químicas.....	38
3.6.3	Concentração do Herbicida 2,4-D.....	38
3.6.3.1	Extração em fase sólida (EFS).....	38
3.6.3.2	Cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE.....	39
3.7	ENSAIOS DE ADSORÇÃO.....	40

3.7.1	Ensaio Preliminares de Adsorção.....	40
3.7.2	Ensaio Cinéticos.....	41
3.7.3	Ensaio de Equilíbrio.....	41
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>42</b>
4.1	TESTE DO MICRONÚCLEO BUCAL.....	42
4.2	ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE ÁGUA DA VILA RURAL ÁGUA VIVA.....	49
4.3	ENSAIOS DE ADSORÇÃO PARA REMOÇÃO DO 2,4-D.....	54
4.3.1	Ensaio Preliminares de Adsorção.....	54
4.3.2	Ensaio Cinéticos de Adsorção.....	55
4.3.3	Ensaio de Equilíbrio de Adsorção.....	56
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>60</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>61</b>
	<b>APÊNDICE.....</b>	<b>75</b>
	<b>ANEXO.....</b>	<b>76</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A agricultura é realizada pela humanidade há mais de dez mil anos. Entretanto, a ampliação no uso de agroquímicos se deu após as grandes guerras mundiais, quando a indústria química fabricante de venenos utilizados como armas químicas descobriram na agricultura um novo mercado para os seus produtos (LONDRES, 2011).

Entretanto, as políticas públicas da utilização de agroquímicos no Brasil não se desenvolveram à proporção dos avanços tecnológicos que envolvem a agricultura, o que transformou a agricultura brasileira em um dos principais destinos de substâncias proibidas em outros países (ROCHA, 2014).

O Brasil é considerado o segundo maior exportador agrícola do mundo (PIGNATI et al., 2017) e, visto que o aumento da produtividade está relacionado com o aumento do uso de agroquímicos, o país está posicionado como um dos maiores consumidores mundiais de agroquímicos (LOPES; ALBUQUERQUE, 2018; PORTO; SOARES, 2012).

Os agroquímicos são substâncias empregadas para precaver, controlar ou eliminar seres vivos nocivos. Eles podem estar presentes em vários compartimentos da natureza, até mesmo em alimentos e água portátil, sendo motivo de preocupação, pois sua utilização extensiva na agricultura resulta em poluição ambiental, trazendo possíveis riscos à saúde humana (SHARMA et al., 2015).

Essas substâncias podem provocar doenças, como diferentes tipos de câncer, distúrbios endócrinos, doença de Hodgkin, linfoma não Hodgkin, doença de Parkinson, doença de Alzheimer, doenças respiratórias, neurológicas, hepáticas, renais e efeitos na reprodução, como infertilidade, malformações congênitas e abortos (BROUWER et al., 2017; FAREED et al., 2013; LONDRES, 2011; LUO et al., 2016; MAZUR; MARCHITTI; ZASTRE, 2015; SABARWAL; KUMAR; SINGH, 2018).

Os agroquímicos podem ser considerados agentes mutagênicos, pois afetam direta e indiretamente o material genético, sendo capazes de induzir a quebra das fitas do ácido desoxirribonucleico (DNA), alterações cromossômicas, troca de cromátides irmãs e formação de micronúcleos (BOLOGNESI; HOLLAND, 2016; GUNDOGAN et al., 2018). As mutações podem ser neutras, passando despercebidas, ou podem ter um efeito grave, mudando a atividade metabólica da célula ou do organismo, podendo provocar ainda a morte celular (BROWN, 1999; RIBEIRO; MARQUES, 2003).

Dentre os agroquímicos que são considerados possíveis agentes mutagênicos encontra-se o herbicida ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). Este é utilizado no mundo inteiro para prevenir o crescimento de ervas daninhas e pragas de folhas largas indesejadas na agricultura, com o objetivo de elevar o rendimento das culturas (SONG, 2014). Foi classificado pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (*International Agency for Research on Cancer* – IARC) como grupo 2B, ou seja, possivelmente carcinogênico para humanos e classificado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) como Extremamente Tóxico (Classe I).

Contudo, sua ampla aplicação na agricultura traz sérias preocupações ambientais, como a poluição da água, devido a sua alta persistência aquática e, dessa maneira, podendo ameaçar à saúde dos seres humanos, animais e plantas (SALMAN; HAMEED, 2010). Tendo em vista a necessidade de remoção deste tipo de poluente da água de consumo, e que os processos de tratamento de água empregados pelas empresas de saneamento não são efetivos na remoção deste tipo de substância específica, torna-se relevante a investigação de métodos que sejam apropriados. Até o momento, um dos métodos alternativos desenvolvidos para remover poluentes em água é a adsorção com carvão ativado, que apresenta potencialidade na remoção de poluentes de ambientes aquáticos, em virtude da sua alta área superficial e porosidade (VARGAS et al., 2012).

Assim, a determinação e tratamento de agroquímicos, em especial o herbicida 2,4-D na água é fundamental, para garantir a segurança da saúde humana e do meio ambiente. Além disso, a avaliação das condições de saúde dos trabalhadores agrícolas e moradores próximos a regiões agricultáveis se torna importante e necessária, como forma de análise de marcadores que podem ser eficazes para determinar a saúde dos mesmos. Dentre os métodos largamente utilizados para a análise de populações ambientalmente e ocupacionalmente expostas a agentes mutagênicos e carcinogênicos podemos citar o teste do micronúcleo (SILVA, 2016). Este teste possibilita o monitoramento dos danos genéticos, a proliferação e a morte celular (ÇELIK et al., 2013). É um teste de mutação cromossômica de origem clastogênica (fragmentos cromossômicos resultantes de quebras) e aneugênica (cromossomos inteiros devido a erros ou danos na maquinaria de divisão celular) (MALUF; ERDTMANN, 2003; VILLELA et al., 2003).

Portanto, o objetivo do presente estudo foi realizar a análise da mutagenicidade das células da mucosa bucal da população da Vila Rural Água Viva, localizada no distrito de Nova Concórdia, Francisco Beltrão-Paraná-Brasil, que estão ambientalmente expostos à

agroquímicos, e avaliar a remoção do 2,4-D de águas contaminadas por adsorção em carvão ativado.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Analisar a mutagenicidade das células da mucosa bucal da população da Vila Rural Água Viva (Francisco Beltrão-Paraná-Brasil), ambientalmente exposta a agroquímicos, e avaliar a remoção do 2,4-D de águas contaminadas por adsorção em carvão ativado.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- a) Avaliar os hábitos de vida da comunidade da Vila Rural Água Viva;
- b) Utilizar o teste do micronúcleo da mucosa bucal para determinar a frequência dos tipos celulares, anormalidades e danos nucleares na comunidade da Vila Rural Água Viva;
- c) Correlacionar a frequência dos tipos celulares, anormalidades e danos nucleares das células da mucosa bucal da população da Vila Rural com os hábitos de vida da comunidade;
- d) Determinar a presença do agroquímico 2,4-D na água consumida pela comunidade por cromatografia líquida de alta eficiência;
- e) Avaliar a remoção do 2,4-D de água por adsorção em carvão ativado de casca de coco de dendê.



## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 CARACTERIZAÇÃO DOS AGROQUÍMICOS

Segundo a definição descrita na Lei N° 7802, de 11 de julho de 1989, os agroquímicos são produtos e/ou agentes cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos. São também substâncias e produtos, empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento.

As principais classificações dos agroquímicos conforme o organismo alvo e grupos químicos são definidos como: herbicidas, fungicidas e inseticidas. Os herbicidas são fundamentais para as práticas agrícolas, realizando o controle de plantas daninhas, e seus principais representantes são: paraquat, glifosato, pentaclorofenol, dinitrofenóis e 2,4-D. Os fungicidas agem especialmente no controle e prevenção da ocorrência de fungos nas culturas agrícolas, e seu principais grupos químicos são: etileno-bis-ditiocarbamatos, trifenilestânico, captan e hexaclorobenzeno. Os inseticidas apresentam combate a insetos, larvas e formigas, e pertencem a quatro grupos químicos distintos: organofosforados, carbamatos, organoclorados e piretróides (SOUZA, 2015).

A classificação conforme a periculosidade ambiental é de responsabilidade do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama), que analisa os agroquímicos quanto a periculosidade ambiental através de dados físico-químicos e dados de toxicidade a organismos não alvos. São classificadas como: classe I – produto altamente perigoso, classe II – produto muito perigoso, classe III – produto perigoso (mediamente) e classe IV – produto pouco perigoso (IBAMA, 2020; KARAM et al., 2017). Os agroquímicos são classificados pela Anvisa conforme a toxicidade, segundo os seus efeitos agudos. Os produtos são classificados como: classe I – altamente tóxico, classe II – mediantemente tóxico, classe III – pouco tóxico e classe IV – praticamente não tóxico (ANVISA, 2019; 2020; KARAM et al., 2017).

A rotulação de agroquímicos precisa ser realizada com cuidado, a fim de que todas as informações relacionadas aquele produto cheguem ao consumidor final, sejam orientações de uso apropriado ou prevenção a serem tomadas (GOULART, 2016). A legislação a respeito de agroquímicos está no Decreto N° 4047/2002, que regulamenta a Lei n° 7082, e no Anexo VIII, que se relaciona à rotulagem, o primeiro parágrafo destaca que o “rótulo deverá ser

confeccionado com materiais cuja qualidade assegure a devida resistência à ação dos agentes atmosféricos, bem como às manipulações usuais”.

O novo marco regulatório para agroquímicos (Tabela 1) determina os critérios de avaliação e de classificação toxicológica dos produtos no Brasil. Além disso, estabelece mudanças importantes na rotulagem, como a adoção do uso, palavras de alerta e imagens (pictogramas) que permitem a identificação de perigos à saúde humana. A proposta é seguir esse sistema de classificação harmonizado globalmente (*Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals – GHS*) e determinar parâmetros científicos para comparar a toxicidade entre os produtos com base na mortalidade.

**Tabela 1 – Classificação dos agroquímicos pela Anvisa.**

	<b>Categoria 1</b>	<b>Categoria 2</b>	<b>Categoria 3</b>	<b>Categoria 4</b>	<b>Categoria 5</b>	<b>Não Classificado</b>
	Extremamente Tóxico	Altamente Tóxico	Moderadamente Tóxico	Pouco Tóxico	Improvável de causar dano agudo	Não Classificado
<b>Pictograma</b>					Sem símbolo	Sem símbolo
<b>Palavra de Advertência</b>	PERIGO	PERIGO	PERIGO	CUIDADO	CUIDADO	Sem Advertência
<b>CLASSE DE PERIGO</b>						
<b>Oral</b>	Fatal se ingerido	Fatal se ingerido	Tóxico se ingerido	Nocivo se ingerido	Pode ser perigoso se ingerido	-
<b>Dérmica</b>	Fatal em contato com a pele	Fatal em contato com a pele	Tóxico em contato com a pele	Nocivo em contato com a pele	Pode ser perigoso em contato com a pele	-
<b>Inalatória</b>	Fatal se inalado	Fatal se inalado	Tóxico se inalado	Nocivo se inalado	Pode ser perigoso se inalado	-
<b>Cor da Faixa</b>	Vermelha	Vermelho	Amarelo	Azul	Azul	Verde

Fonte: Adaptada de Anvisa (2019).

De acordo com a Anvisa, mais importante que defender ou não a aprovação de novos agroquímicos, é verificar os já presentes no mercado, para comprovar se estes continuam

seguros (ANVISA, 2020; MELO, 2019). O Art. 3º da Lei 7802, de 11 de julho de 1989, estabelece que os agroquímicos e seus componentes somente poderão ser produzidos, exportados, importados, comercializados e utilizados, se previamente registrados em órgão federal, de acordo com as diretrizes e exigências dos órgãos federais responsáveis pelos setores da saúde, do meio ambiente e da agricultura.

A Lei 7802, de 1989, e o Decreto 4074, de 04 de janeiro de 2002, definem as características proibitivas de registro de agroquímicos no Brasil e determinam que os ingredientes ativos de agroquímicos poderão ter seus registros cancelados quando se enquadrarem nas seguintes condições relacionadas à saúde humana: quando não possuírem antídoto ou tratamento eficaz no Brasil, se forem considerados teratogênicos, carcinogênicos ou mutagênicos, se provocarem distúrbios hormonais e danos ao aparelho reprodutor ou se forem mais perigosos para o homem do que demonstrado em testes com animais de laboratório.

Diferentemente de outros produtos regulados pela Anvisa, o registro de agroquímicos no Brasil não possui previsão legal para renovação ou revalidação. Em 2019, o Brasil aprovou o registro de 474 agroquímicos. Portanto, uma vez concedido, o registro de agroquímicos possui validade indeterminada. No entanto, o conhecimento técnico-científico sobre esses produtos está em permanente evolução e, mesmo após o registro, novos aspectos e riscos podem ser identificados (ANVISA, 2020; OLIVEIRA; TOOGE, 2019).

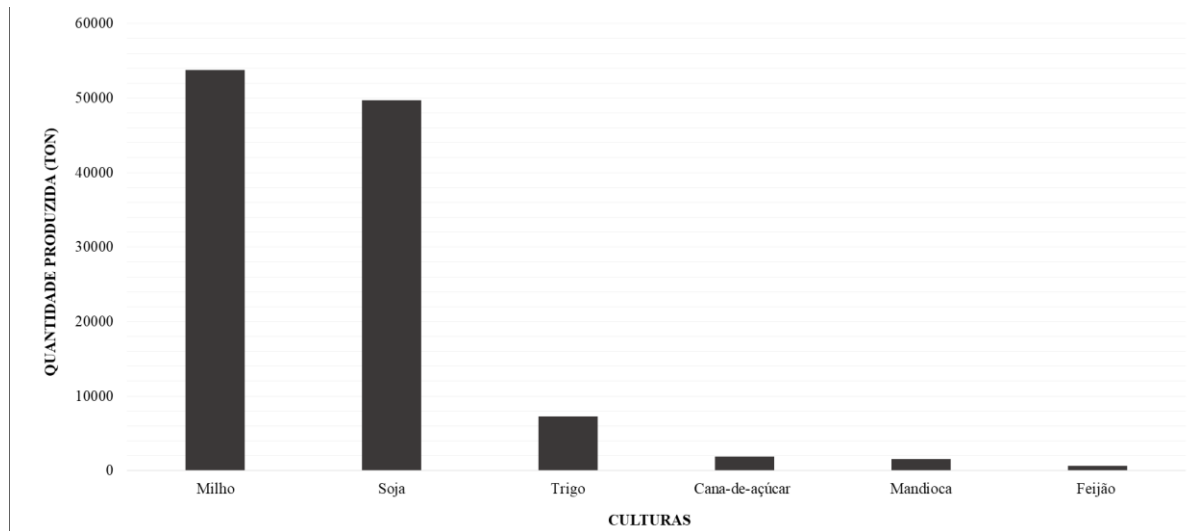
## 2.2 USO DOS AGROQUÍMICOS NO BRASIL

Segundo Lopes e Albuquerque (2018) o Brasil é o maior consumidor de agroquímicos do mundo, e a região Sul do país é responsável por cerca de 30% desse consumo (CREMONESE et al., 2012). Segundo Pignati et al. (2017), no ano de 2015, um total de 899 milhões de litros de agroquímicos foram utilizados em diferentes culturas no Brasil. A cultura de soja foi a que mais utilizou agroquímicos, representando 63% do total, seguido do milho (13%) e cana-de-açúcar (5%).

O Estado do Paraná, em 2015, utilizou uma área de cultivo de aproximadamente 10,2 milhões de hectares e consumiu 135 milhões de litros de agroquímicos (PIGNATI et al. 2017). Vale ressaltar que, o Paraná se destaca no uso de agroquímicos entre os estados brasileiros, com uso de 12 quilos/hectare/ano, diante de uma média brasileira de 4 quilos/hectare/ano (NEVES; BELLINI, 2013).

As principais culturas no município de Francisco Beltrão-Paraná são de milho e soja (Figura 1), que resultam em elevado consumo de agroquímicos.

**Figura 1 - Produção agrícola do município de Francisco Beltrão-Paraná no ano de 2017.**



Fonte: IBGE (2017).

De acordo com os dados mais recentes de comercialização do Ibama (2020), o 2,4-D (52426,92 ton de ingrediente ativo (IA)) foi o segundo ingrediente ativo mais vendido no Brasil em 2019, ficando atrás apenas do glifosato (217592,24 ton de IA). Conforme a ANVISA (2015), o 2,4-D está autorizado para aplicação em pré e pós-emergência das plantas infestantes nas culturas de arroz, aveia, café, cana-de-açúcar, centeio, cevada, milho, pastagem, soja, sorgo e trigo. Foi classificado pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (*International Agency for Research on Cancer – IARC*) como grupo 2B, ou seja, possivelmente carcinogênico para humanos e classificado pela Anvisa como Extremamente Tóxico (Classe I). O glifosato foi classificado pela Anvisa como Pouco Tóxico (Classe IV) e pela IARC como grupo 2A, ou seja, provável carcinógeno para humanos.

O 2,4-D foi inserido na agricultura na década de 1940 e observou-se seu uso crescente nas décadas seguintes. Na década de 1960, este era o herbicida mais utilizado e, atualmente, foram aprovadas misturas de 2,4-D a outros ingredientes ativos, incluindo o glifosato, para combater ervas daninhas resistentes a outros herbicidas (IARC, 2018).

### 2.3 CONTAMINAÇÃO DA ÁGUA DE CONSUMO POR AGROQUÍMICO

Os agroquímicos podem ficar perpetrados no solo e com as chuvas escoam para os lençóis freáticos ou para as águas superficiais. Dessa forma, afetam a qualidade desta água,

causando risco a vida dos seres vivos que dela necessitam (SILVA, 2014). Assim, a agricultura está entre as principais causas da poluição da água em todo o mundo (EVANS et al., 2019).

Os impactos causados pelos agroquímicos podem ser devido ao fato dessas substâncias interferirem na transmissão da luz através da água, atrasarem as atividades fotossintéticas, inibirem o crescimento dos ecossistemas da biota terrestre, afetarem o processo simbiótico e danificarem a qualidade dos canais de irrigação (CASIDA, 2009; NEVE, 2007).

Uma vez que os agroquímicos chegam aos corpos d'água, eles são capazes de impactar toda a cadeia alimentar (SOUZA et al., 2020). Além disso, a toxicidade causada pelos agroquímicos pode ser pelo consumo dessas águas ou suas reutilizações na agricultura, podendo assim resultar em riscos à saúde pública (SILVÉRIO et al., 2012).

Desse modo, uma vez que os recursos hídricos estão contaminados por agroquímicos, e não recebem tratamento adequado para sua remoção, eles ainda estarão presentes na água fornecida à população. Assim, é extremamente importante que a água potável seja tratada para a remoção dos contaminantes antecipadamente da distribuição para a população (SOUZA et al., 2020).

O agroquímico 2,4-D possui alta solubilidade e persistência em meios aquosos (NJOKU et al., 2013), sendo que foi encontrado em águas superficiais e subterrâneas em todo o mundo (SALMAN; HAMEED, 2010). A aplicação direta do 2,4-D no solo ou pulverizado nas lavouras, causa prejuízos aos corpos hídricos (CHINALIA; KILLHAM, 2006), podendo atingir os corpos hídricos por escoamento superficial, lixiviação, infiltração e percolação do solo, resultando em um problema de saúde ambiental e humana (GAULTIER et al., 2008; KEARNS et al., 2014; SHAREEF; SHAW, 2008). Devido a molécula do 2,4-D ser apolar e seus ésteres e aminas serem muito móveis em sistemas aquosos e possuírem baixa adsorção no solo, eleva-se a ocorrência de problemas no meio ambiente (ISLAM et al., 2018).

## 2.4 LEGISLAÇÕES SOBRE A QUALIDADE DA ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO

No Brasil, a Portaria Ministério da Saúde nº 2914, de 12 de dezembro de 2011, dispõe sobre os procedimentos de controle da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. E, a Resolução CONAMA N° 357, de 17 de março de 2005, dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Entretanto, apesar de nem todos os limites ou tipos de agroquímicos estarem contemplados nas legislações, destaca-se que “as

possíveis interações entre as substâncias e a presença de contaminantes não listados nesta Resolução, passíveis de causar danos aos seres vivos, deverão ser investigadas utilizando-se ensaios ecotoxicológicos, toxicológicos, ou outros métodos cientificamente reconhecidos”.

## 2.5 AGROQUÍMICOS E SEUS RISCOS À SAÚDE HUMANA

O uso prolongado de agroquímicos no setor agrícola pode provocar contaminação ambiental e, dessa maneira, a proximidade residencial de terras agrícolas tratadas com estes produtos pode ser considerado um caminho significativo de exposição (PARRÓN et al., 2014).

Segundo Londres (2011) não existe uso de agroquímicos sem contaminação de alimentos, solos, águas e ar, e conseqüentemente, sem afetar as pessoas que trabalham ou vivem neste entorno. Portanto, a exposição a agroquímicos é inevitável, sendo que existem muitas maneiras pelas quais os seres humanos são expostos e, compreender essas maneiras é um aspecto importante, pois pode-se buscar atuar na minimização de exposição a essas substâncias (SABARWAL; KUMAR; SINGH, 2018). As exposições ocupacionais ao 2,4-D podem ocorrer pela fabricação e aplicação, enquanto a população em geral pode ser exposta através de alimentos, água, poeira, aplicação residencial e durante a pulverização em áreas agrícolas (LOOMIS et al., 2015).

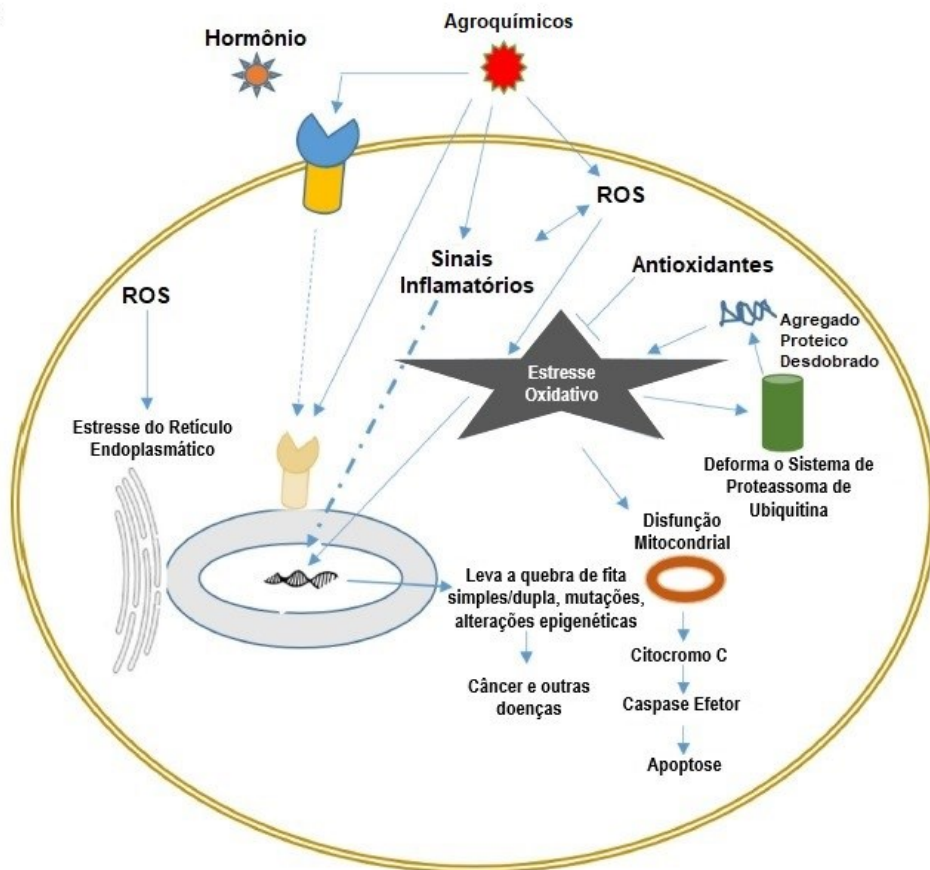
Os trabalhadores rurais, em especial, possuem um risco mais elevado de desenvolvimento de doenças, já que possuem exposições cumulativas mais altas do que a população em geral, e além dos agroquímicos, são expostos a outros produtos químicos (solventes orgânicos), estressores físicos (radiação ultravioleta da luz do sol) e agentes biológicos (vírus e bactérias) (PARRÓN et al., 2014).

Há fortes evidências epidemiológicas da ligação entre exposição a agroquímicos e o desenvolvimento de câncer (ALAVANJA; BONNER, 2012; ALAVANJA; ROSS; BONNER, 2013; KUMAR et al., 2014; PARRÓN et al., 2014). Segundo Parrón et al. (2014) o índice de prevalência de cânceres, como de estômago, colorretal, fígado, pele, bexiga e cerebral foram maiores em áreas com elevada exposição a agroquímicos comparados com a de baixa exposição. Em especial, estes autores observaram um risco 36% maior de câncer de mama entre as mulheres que residem em áreas com alta exposição a estes produtos químicos.

Os agroquímicos podem desempenhar seus efeitos nocivos por diferentes mecanismos (Figura 2), como alterar os padrões de metilação do DNA, induzir alterações desestabilizantes na expressão gênica, ocasionando a transformação celular e a tumorigênese. Podem provocar

danos ao DNA, como aberrações cromossômicas, trocas cromáticas irmãs e micronúcleos. São capazes de gerar espécies reativas de oxigênio (ROS) e causar estresse oxidativo, e a sua toxicidade pode perturbar as funções celulares levando ao mau funcionamento das mitocôndrias e retículo endoplasmático (BOLOGNESI; HOLLAND, 2016; COLLOTTA et al., 2013; GUNDOGAN et al., 2018; KAPKA-SKRZYPCZAK et al., 2011; SABARWAL; KUMAR; SINGH, 2018; TABREZ et al., 2014). De acordo com Lyons e Watterson (2010), os agroquímicos, mesmo em baixas exposições, podem ativar ou desativar genes específicos que alteram a sensibilidade de uma pessoa a agentes genotóxicos, tornando os mesmos mais suscetíveis a eventos mutacionais que podem desencadear a formação de tumores.

**Figura 2 - Esquema dos possíveis efeitos nocivos dos agroquímicos sobre as células.**



**Fonte: Adaptada de Sabarwal; Kumar; Singh (2018).**

Laborde, Larramendy e Soloneski (2020) demonstram a citotoxicidade do herbicida 2,4-D em células humanas, e revelam também que pode ser devido uma maior sensibilidade na funcionalidade mitocondrial e pela diminuição da atividade lisossômica. Os estudos mecanísticos contribuem com fortes evidência de que o 2,4-D estimula o estresse oxidativo e

moderada evidência de que o 2,4-D causa imunossupressão, com base em estudos *in vivo* e *in vitro* (LOOMIS et al., 2015).

Devido a sua característica de persistência, os agroquímicos organoclorados, por exemplo, se concentram na cadeia alimentar e podem provocar efeitos nocivos à saúde, especialmente inúmeros distúrbios mediados por hormônios ou como desreguladores endócrinos. O câncer de ovário é um dos cânceres relacionado ao hormônio, assim como saúde reprodutiva, incluindo parto prematuro, restrição de crescimento intra-uterino, defeitos congênitos como hipospádia, se inicia com a modificação de células que envolve os ovários (KUMAR et al., 2014; MUSTAFA et al., 2013; SHARMA et al., 2012; SHARMA et al., 2015; YADAV et al., 2011).

Esses efeitos adversos dos agroquímicos podem comprometer a qualidade de vida dos indivíduos e provocar doenças com risco de vida, como diferentes tipos de câncer, distúrbios endócrinos, doença de Hodgkin, linfoma não Hodgkin, doença de Parkinson, doença de Alzheimer, doenças respiratórias, neurológicas, hepáticas, renais e provocar efeitos na reprodução, como infertilidade, malformações congênitas e abortos (BROUWER et al., 2017; FAREED et al., 2013; LONDRES, 2011; LUO et al., 2016; MAZUR; MARCHITTI; ZASTRE, 2015; SABARWAL; KUMAR; SINGH, 2018). De acordo com Lyons e Watterson (2010), os agroquímicos podem elevar o risco de câncer por meio de vários mecanismos, como genotoxicidade, promoção de tumores, efeitos epigenéticos, ação hormonal e imunotoxicidade. E, a determinação do perfil genotóxico dos agroquímicos é fundamental para estimar o potencial carcinogênico e mutagênico nos organismos expostos (LABORDE et al., 2020).

## 2.6 TESTE DE GENOTOXICIDADE E BIOMONITORAMENTO HUMANO

Alterações genéticas em células germinativas e somáticas estão relacionadas a efeitos graves na saúde humana. Mutações em células somáticas podem provocar câncer, caso ocorram em proto-oncogenes, genes supressores de tumor ou em genes de reparo de danos ao DNA (ERICKSON, 2010). O acúmulo de dano ao DNA em células somáticas também pode estar associado ao desenvolvimento de condições degenerativas, como aceleração do envelhecimento, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas (FRANK, 2010; HOEIJMAKERS, 2009; SLATTER; GENNERY, 2010). Por outro lado, mutações nas células germinativas podem levar a abortos espontâneos e infertilidade (EFSA, 2011).



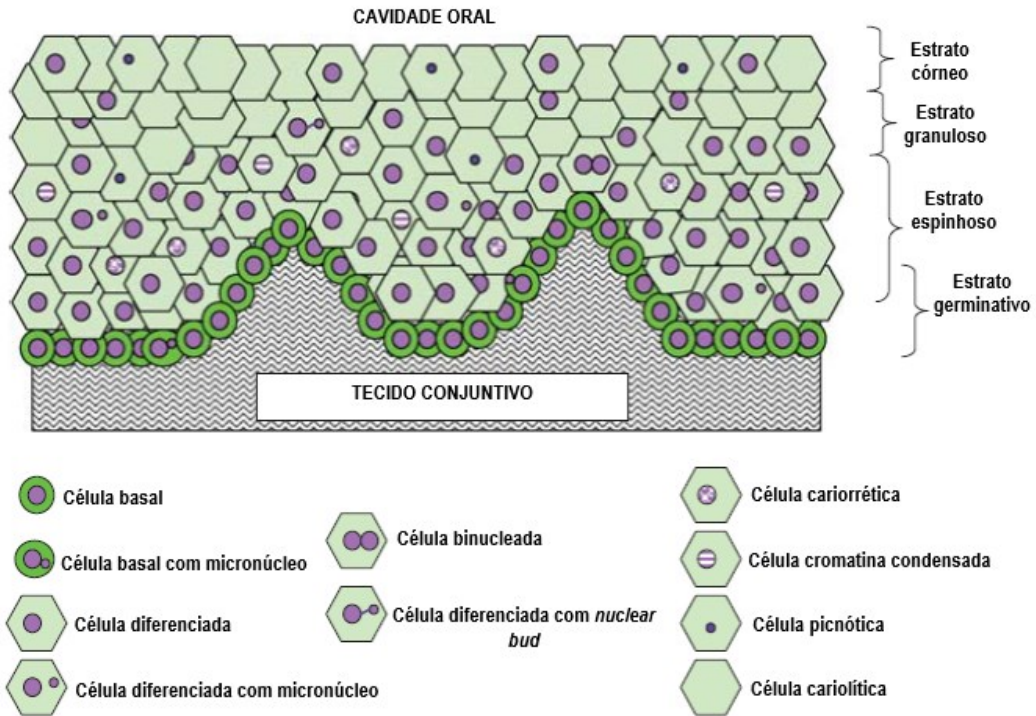
O teste de micronúcleo, por exemplo, é um ensaio eficiente para identificar danos ao DNA, instabilidade cromossômica, anormalidades mitóticas, morte celular e citostase, possibilitando a medição direta e indireta de muitos aspectos da disfunção celular e nuclear, como quebras cromossômicas não reparadas, falha no DNA, fragmentos cromossômicos e rearranjo assimétrico de cromossomos (THOMAS et al., 2009). Segundo Bolognesi et al. (2013) e Bonassi et al. (2011) a frequência de micronúcleo está relacionado ao aumento do risco de câncer, doenças neurodegenerativas e envelhecimento acelerado.

Estudos genotóxicos revelaram que o herbicida 2,4-D induziu a formação de micronúcleos e trocas cromáticas irmãs em linfócitos humanos *in vitro* (HOLLAND et al., 2002; ZELJEZIC; GARAJ-VRHOVAC, 2004;). Além disso, em linfócitos humanos de trabalhadores expostos a mistura de pesticidas, incluindo 2,4-D, foram encontradas indução de aberrações cromossômicas, formação de micronúcleos, trocas cromáticas irmãs e quebras de cadeia simples de DNA (IARC, 2018).

O uso de células esfoliadas da mucosa bucal para ensaios de micronúcleos é bem estabelecido em estudos epidemiológicos com o propósito de determinar efeitos genotóxicos após exposição crônica a agentes genotóxicos e citotóxicos (CHAKRABORTY et al., 2006). A mucosa bucal é um epitélio escamoso estratificado, constituído por quatro camadas distintas (Figura 3). O estrato córneo, reveste a cavidade oral, contendo células que são frequentemente eliminadas como consequência do desgaste do tecido da superfície. Após essa camada, há o estrato granuloso e o estrato espinhoso, contendo células diferenciadas, apoptóticas e necróticas. Posteriormente a essas camadas, encontra-se o estrato germinativo contendo células basais ativas e células-tronco basais, que formam progênies (HOLLAND et al., 2008).

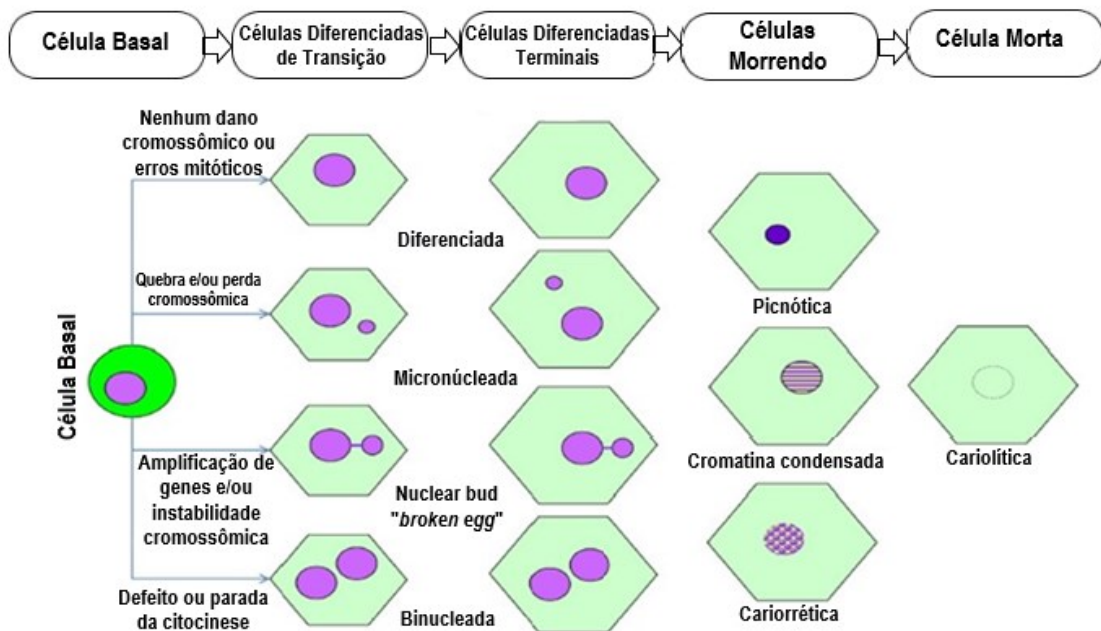
O teste do micronúcleo bucal é considerado não invasivo, sendo largamente usado em estudos de biomonitoramento (BONASSI et al., 2011; THOMAS et al., 2009), podendo medir diferentes biomarcadores (Figura 4), como o potencial proliferativo (células basais), quebra e/ou perda cromossômica (micronúcleos), amplificação de genes e/ou instabilidade cromossômica (*nuclear bud*, “*broken egg*”), defeito ou parada da citocinese (binucleadas) e muitas formas de morte celular (cromatina condensada, picnótica, cariorrética e cariolítica) (BOLOGNESI et al., 2013; BONASSI et al., 2011). Os micronúcleos, por exemplo, podem ser de origem clastogênica (fragmentos cromossômicos resultantes de quebras) ou aneugênica (cromossomos inteiros devido a erros ou danos na maquinaria de divisão celular) (MALUF; ERDTMANN, 2003; VILLELA et al., 2003).

Figura 3 - Mucosa bucal, diferentes camadas celulares e as possíveis relações espaciais dos diferentes tipos de células.



Fonte: Adaptada de Thomas et al. (2009).

Figura 4 – Diferentes tipos celulares e mecanismos de anomalia nuclear.



Fonte: Adaptada de Bolognesi et al. (2013).

## 2.7 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

A cromatografia líquida de alta eficiência é a técnica analítica mais frequentemente utilizada para análises qualitativas e quantitativas de substâncias orgânicas e, se tornou o instrumento analítico mais largamente usado desde o final dos anos 1960 (MORENO-ARRIBAS; POLO, 2003).

O mecanismo de separação da cromatografia líquida é baseado na transferência de massa das moléculas do analito entre a fase estacionária e a fase móvel líquida. Essa transferência de massa é rápida e cria uma condição de quase equilíbrio para uma separação eficiente (GUIOCHON, 2007). Ela consiste em um sistema de fornecimento de solvente, uma bomba de alta pressão, um injetor de amostra, uma coluna de partículas cromatográficas e um detector. A fase móvel vai entregar a amostra e carregá-la por todo o comprimento da fase estacionária da coluna cromatográfica para separação. Os analitos eluídos então entrarão no detector, gerando um sinal que geralmente é proporcional à concentração do analito (LaCOURSE; LaCOURSE, 2017).

A cromatografia líquida de alta eficiência tem sido amplamente utilizada para determinar agroquímicos e seus metabolitos em água, solo e sedimentos, por ser um método que apresenta alta eficiência de separação, sensibilidade e seletividade (AULAKH et al., 2005). Determinar e quantificar agroquímicos na água potável é fundamental para compreender sua liberação no ambiente e garantir sua remoção durante o processo de tratamento de água (ZWART et al., 2018).

### 2.7.1 Validação do Método Analítico

Segundo a ANVISA (2003) a validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. O Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) define validação como a comprovação, através do fornecimento de evidência objetiva, de que os requisitos para uma aplicação ou uso específico foram atendidos (INMETRO, 2017).

A linearidade é a capacidade de um método analítico que comprova que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado. Portanto, é necessário que a linearidade seja definida pela análise de, no

mínimo, 5 concentrações distintas, que irão constituir uma equação linear denominada de curva analítica (GABARDO, 2015). O critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação da reta ( $r^2$ ) pela Anvisa (2003) deve ser igual a 0,99 e pelo Inmetro (2016) deve ser superior a 0,9.

A precisão mede a capacidade dos resultados obtidos se aproximam entre si e apresenta a dispersão de resultados para uma mesma amostra. Ela pode ser analisada por meio da reprodutibilidade, a qual é definida como coeficiente de variação. O coeficiente de variação é calculado de acordo com a Equação 1 (ANVISA, 2003; RIBANI et al., 2004).

$$\text{Coeficiente de variação} = \frac{\text{desvio padrão}}{\text{concentração média calculada}} \times 100 \quad (1)$$

A exatidão representa o grau de concordância entre o valor encontrado experimentalmente com concentração teórica (valor esperado) (Equação 2) (ANVISA, 2003; RIBANI et al., 2004).

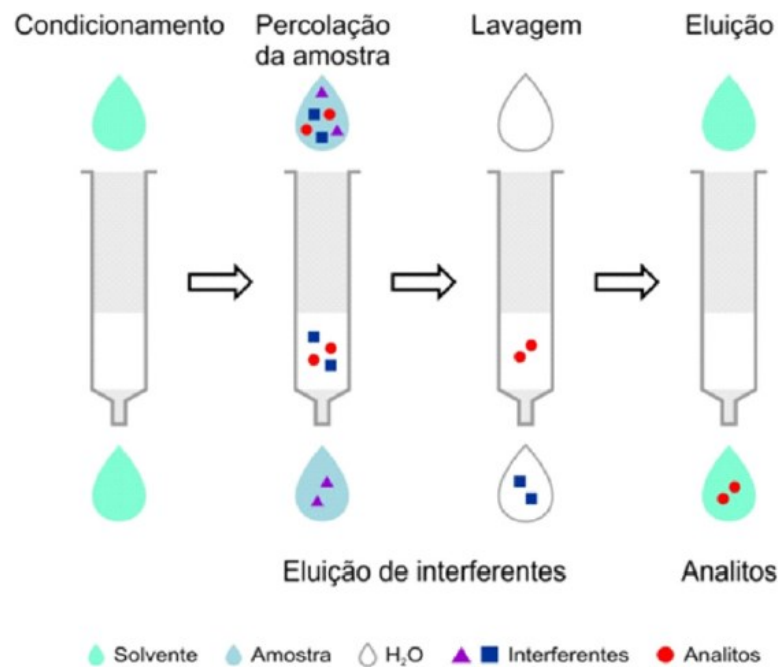
$$\text{Exatidão} = \frac{\text{concentração média experimental}}{\text{concentração teórica}} \times 100 \quad (2)$$

## 2.8 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (EFS)

A Extração em Fase Sólida é um método de separação sólido-líquido muito utilizado para extrair analitos semi voláteis e não voláteis de amostras líquidas. Na EFS, as fases sólidas são denominadas de sorventes em cartuchos, principalmente na forma de seringa, e os mecanismos de retenção são semelhantes àqueles envolvidos em cromatografia líquida em coluna. Um cartucho é constituído por um tubo de polipropileno contendo cerca de 50 a 500 mg de sorvente, com 40 a 60  $\mu\text{m}$  de tamanho de partícula, fixado no tubo por meio de dois filtros de tamanho de poros de 20  $\mu\text{m}$  (JARDIM, 2010).

O processo de extração ocorre em quatro etapas (Figura 5): (1) Condicionamento da fase sorvente com o objetivo de ativar o sorvente por meio da passagem de um solvente com características semelhantes ao analito de interesse. (2) Passagem da amostra no cartucho, onde a amostra é eluída pela fase extratora com o auxílio de uma bomba a vácuo. (3) Limpeza do cartucho (*clean up*), para isso é usado um solvente com menor afinidade pelo analito e maior afinidade pelos interferentes, assim os interferentes são extraídos da fase extratora e mantêm-se apenas os analitos. (4) Eluição dos analitos, nesta fase escolhe-se um solvente com maior afinidade pelos analitos (JARDIM 2010; LANÇAS, 2008; NASCIMENTO et al., 2018).

Figura 5 - Etapas envolvidas na SPE.



Fonte: Caldas et al. (2011).

Em análises ambientais, especialmente, no isolamento e pré-concentração de agroquímicos em águas, faz-se uso de sorventes hidrofóbicos não seletivos, como C18 é um dos mais utilizados. Estas fases podem diferenciar e isolar o analito de interesse de compostos interferentes presentes nas amostras, sendo comum a remoção de compostos interferentes na matriz antes das análises cromatográficas. Além disso, esse procedimento também contribui para o aumento da concentração da amostra, para que seja passível de detecção ao ser analisada por HPLC, visto que geralmente os agroquímicos encontram-se em baixas concentrações em amostras ambientais (TRAN; HYNE; DOBLE, 2007).

## 2.9 ADSORÇÃO EM CARVÃO ATIVADO

O processo de adsorção é considerado um método eficaz no tratamento de água por ser de fácil operação, baixo custo e sem produção de outras substâncias nocivas (SHU et al., 2017; SOUZA et al., 2021). É muito usado para remover contaminantes que estão em baixas concentrações em fase líquida. Esta operação unitária envolve um fenômeno de transferência de massa, que se define pela capacidade da ligação de moléculas de um fluido, o adsorbato (substância que está sendo removida), a uma superfície sólida, o adsorvente, a partir de interações físicas ou químicas (GUELFY; SCHEER, 2007).

A adsorção é um dos métodos desenvolvidos para remover os poluentes específicos e persistentes, com capacidade e aplicabilidade em larga escala (DANESHVAR et al., 2007; SOTELO et al., 2002). É indicado que um bom adsorvente apresente elevada área superficial, que determina a quantidade de material que pode ser adsorvido e elevado volume dos poros (BORBA et al., 2006).

Um dos materiais economicamente viáveis para aplicações de adsorção é o carvão ativado, pois, possui distribuição de tamanho de poros uniforme, grupos funcionais de superfície altamente reativos e sítios ativos de ligação abundantes devido à sua grande área de superfície (SAYĞILI; GÜZEL; ÖNAL, 2015). Sua estrutura porosa consiste em uma rede de macroporos, mesoporos e microporos interconectados que contribuem para a sua boa propriedade de adsorção de moléculas orgânicas e inorgânicas (AKSU; KABASAKAL, 2004).

O carvão ativado pode ser produzido a partir da biomassa residual local (CHAIRUNNISA et al., 2020). Estes tem chamado a atenção devido sua abundância e baixo custo, além de atender às necessidades ambientais atuais (TORRES et al., 2017). Muitos resíduos agrícolas têm sido utilizados como materiais de base para carvão ativado para o tratamento de águas residuais, como casca de coco (FREITAS; NOGUEIRA; FARINAS, 2019; JAWAD; ABDULHAMEED; MASTULI, 2020), fibra de dendê (TOBI et al., 2020), casca de semente de girassol (TUPKANJANA; PHALAKORNKULE, 2007), bambu (JAWA; ABDULHAMEED, 2020) e casca de café (OLIVEIRA et al., 2009).

### 2.9.1 Modelos Cinéticos de Adsorção

A cinética de adsorção propicia avaliação do tempo requerido para que ocorra o processo de adsorção. É determinada pela porcentagem com que o adsorbato é adsorvido pelo adsorvente até atingir o equilíbrio, ou seja, não haver mais remoção do adsorbato ou a taxa for muito próxima a zero (BERTOLINI; FUNGARO, 2011).

#### 2.9.1.1 Modelo cinético de pseudoprimeira ordem

Segundo Lagergren (1898), o modelo de pseudoprimeira ordem (Equação 3) consiste no pressuposto de que a taxa de variação do soluto adsorvido com o tempo é equivalente à diferença na capacidade de equilíbrio de adsorção e a quantidade adsorvida. Este modelo

considera que a velocidade de adsorção é equivalente ao número de sítios livres (MIMURA, et al., 2010).

$$q_t(t) = q_e(1 - e^{-k_1 t}) \quad (3)$$

em que  $k_1$  ( $\text{h}^{-1}$ ) é a constante de velocidade de pseudoprimeira ordem,  $q_e$  e  $q_t$  são as quantidades do adsorbato adsorvido no equilíbrio e em um tempo  $t$  ( $\text{mg g}^{-1}$ ).

### 2.9.1.2 Modelo cinético de pseudosegunda ordem

O modelo de pseudosegunda ordem (Equação 4) consiste no pressuposto de que a etapa limitante da velocidade da adsorção envolve o processo de quimissorção (HO; McKAY, 1998).

$$q_t(t) = q_e \frac{q_e k_2 t}{q_e(k_2 t) + 1} \quad (4)$$

em que  $q_t$  e  $q_e$  são a quantidade de adsorbato adsorvidos no tempo  $t$  e no equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ ) e  $k_2$  ( $\text{g mg}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) a constante da taxa de pseudosegunda ordem para o processo de adsorção.

### 2.9.1.3 Modelo cinético de Elovich

O modelo de Elovich (Equação 5), descreve processos de quimissorção, sendo adequado para sistemas com superfícies adsorventes heterogêneas (CHIEN; CLAYTON, 1980; TURNER, 1975).

$$q_t(t) = b \ln(\alpha b) + b \ln t \quad (5)$$

em que  $\alpha$  é a taxa de adsorção inicial ( $\text{mg g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) e  $b$  um parâmetro relacionado a energia de ativação envolvida na quimissorção ( $\text{g mg}^{-1}$ ).

## 2.9.2 Isotermas de Adsorção

As isotermas apresentam o estado de equilíbrio de fase de um sistema de adsorção. São utilizadas como a primeira informação experimental medindo a eficiência da adsorção a partir de informações sobre o adsorvente, o adsorbato e o processo de adsorção (BANSAL; GOYAL, 2005).

### 2.9.2.1 Isoterma Langmuir

O modelo de Langmuir (Equação 6) descreve uma das isotermas de adsorção não linear e recomenda que a captação ocorre em uma superfície homogênea por adsorção em monocamada sem interação entre as moléculas adsorvidas (RANGABHASHIYAM et al., 2014). Além disso, segundo Langmuir (1918) o modelo considera que a energia da espécie adsorvida não possui dependência com outras espécies presentes no material, sendo a mesma para todos os sítios ativos.

$$q_t = \frac{q_{max}bC_e}{1 + bC_e} \quad (6)$$

em que  $q_{max}$  e  $q_e$  representam a capacidade de adsorção máxima e no equilíbrio, respectivamente ( $mg\ g^{-1}$ ),  $C_e$  concentração de equilíbrio ( $mg\ L^{-1}$ ),  $b$  a constante de adsorção que expressa a afinidade entre adsorvente e adsorbato ( $L\ mg^{-1}$ ).

### 2.9.2.2 Isoterma de Freundlich

O modelo de adsorção de Freundlich (Equação 7) é uma equação empírica utilizada para representar a adsorção multicamada com interação entre as moléculas adsorvidas (RANGABHASHIYAM et al., 2014).

$$q_e = kC_e^{1/n} \quad (7)$$



sendo  $q_e$  a quantidade de soluto adsorvido por unidade de massa de adsorvente,  $C_e$  concentração de soluto de equilíbrio,  $k$  e  $(1/n)$  são as constantes de Freundlich relacionadas com a capacidade de adsorção e a heterogeneidade, respectivamente (HE; CHEN, 2014).

### 2.9.2.3 Isoterma de Redlich-Peterson

A isoterma de Redlich-Peterson (Equação 8) é constituída pela união dos modelos de Langmuir e Freundlich, sendo amplo para o modelo de Freundlich em altas concentrações e baixas concentrações para o modelo de Langmuir (REDLICH; PETERSON, 1959).

$$q_e = \frac{k_{rp} C_e}{1 + a_{rp} C_e^\beta} \quad (8)$$

em que  $k_{rp}$  é a constante da isoterma de Redlich-Peterson ( $L g^{-1}$ ),  $a_{rp}$ , uma constante da isoterma de Redlich-Peterson ( $L mg^{-1}$ ) e  $\beta$  o expoente que existe entre 0 e 1.

### 2.9.2.4 Isoterma de Temkin

Na isoterma de Temkin (Equação 9), considera os efeitos das interações indiretas entre adsorvato-adsorvato e propôs que, em razão das interações, o calor de adsorção de todas as moléculas na camada diminuiria linearmente (BASTOS, 2015).

$$q_e = B \ln(k_t) + B \ln(C_e) \quad (9)$$

em que  $k_T$  a constante de Temkin e  $B$  a constante definida pela relação  $R T A_T^{-1}$ , com  $A_T$  representando a variação da energia de adsorção Temkin entre dois sítios vizinhos adsorção ( $J mol^{-1}$ ),  $T$  a temperatura de adsorção (K) e  $R$  a constante de universal dos gases ( $kJ mol^{-1} K^{-1}$ ).

### 2.9.2.5 Isoterma de Toth

Segunda Rangabhashiyam et al. (2014) a isoterma de Toth (Equação 10) foi elaborada como uma transformação do modelo de Langmuir, de forma a diminuir os erros entre os valores

experimentais e os valores referidos pelo modelo. Nesta isoterma considera-se adsorção em multicamadas em superfície heterogênea (TOTH, 1971).

$$q_e = \frac{q_{maxT} b_T C_e}{[1 + (b_T C_e)^{n_T}]^{1/n_T}} \quad (10)$$

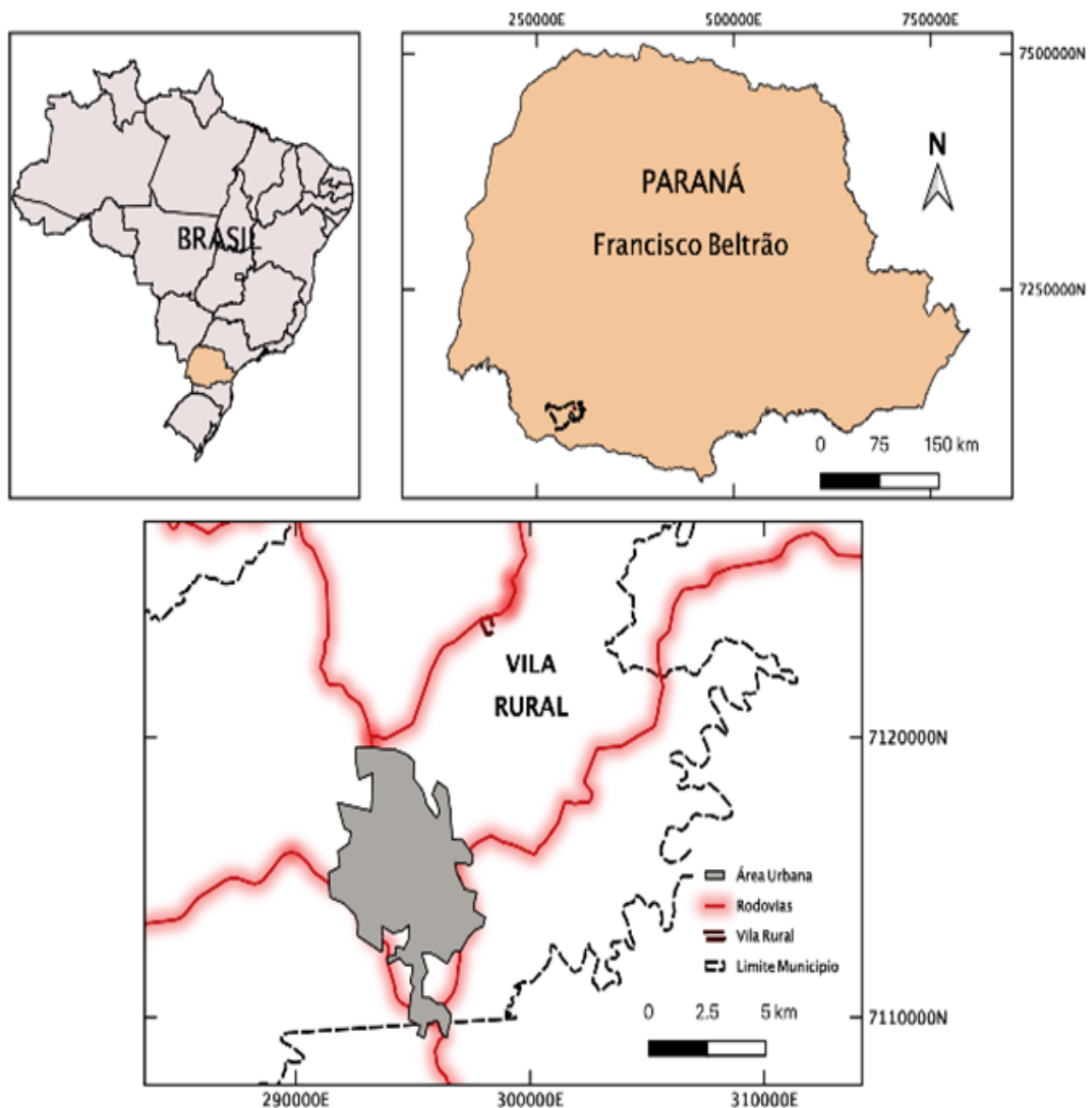
em que  $b_T$  e  $n_T$  são parâmetros característicos do modelo, representando a constante de Toth e heterogeneidade da superfície, respectivamente.

### 3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

#### 3.1 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO

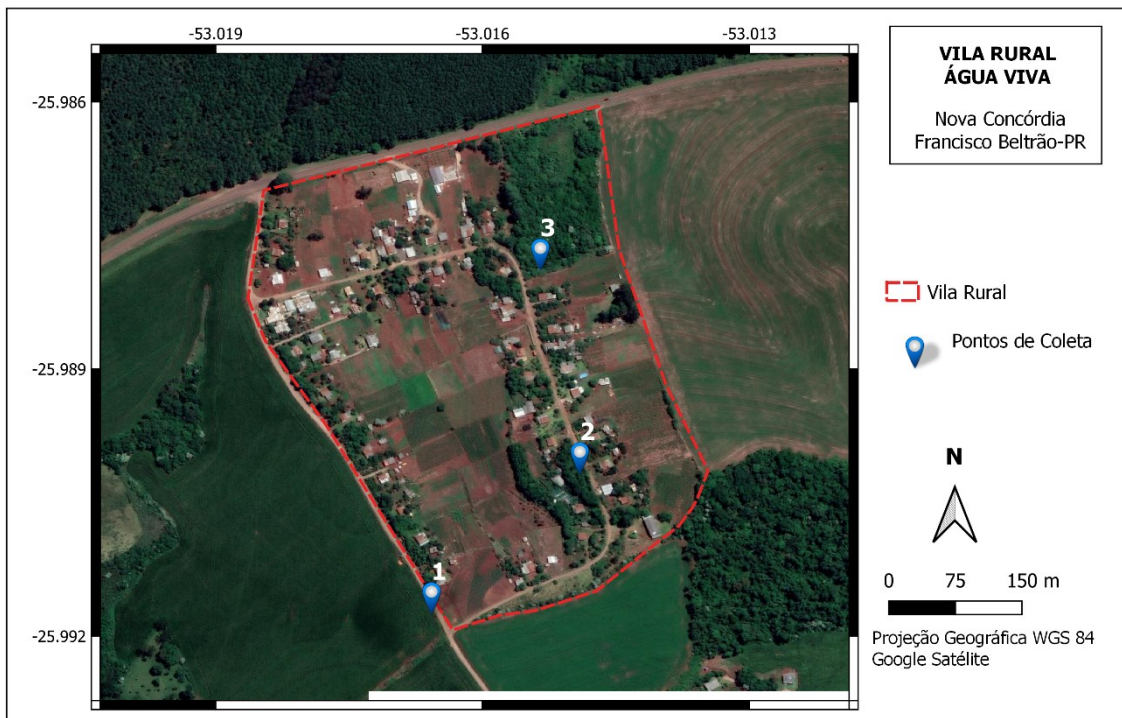
A Vila Rural Água Viva ( $25^{\circ}59'21.2''S$   $53^{\circ}00'57.2''W$ ) é localizada no distrito de Nova Concórdia (Figura 6), no município brasileiro de Francisco Beltrão-Paraná. Sua área é equivalente a  $711632,20\text{ m}^2$  e seu perímetro de  $4037,56\text{ m}$ . De acordo com a Figura 7, é possível perceber que a Vila Rural está rodeada de áreas agricultáveis.

**Figura 6 - Localização geográfica da Vila Rural Água Viva.**



Fonte: Autoria Própria (2021).

**Figura 7 – Localização da Vila Rural Água Viva e as áreas agricultáveis rodeando a mesma.**



**1: Rede de abastecimento de água proveniente de um poço artesiano, na torneira de uma casa da Vila Rural Água Viva (Amostra 1). 2: Amostragem de água de uma nascente presente na Vila Rural, utilizada para dessedentação de animais e irrigação, sendo este localizado na propriedade em que a água da nascente era bombeada e armazenada em uma caixa d'água para distribuição (Amostra 2). 3: Nascente.**  
**Fonte: Autoria Própria (2021).**

### 3.2 POPULAÇÃO EM ESTUDO

Estima-se, de acordo com a associação de moradores da Vila Rural Água Viva, que residem nesta comunidade cerca de 140 pessoas, no total de 52 famílias. A pesquisa de campo realizada na comunidade ocorreu no dia 21 de novembro de 2020, e após visitas à todas as casas, foi possível realizar a pesquisa com 39 moradores desta Vila, do sexo masculino e feminino, que não haviam realizado exame de raio-X nos últimos 6 meses. Entretanto, devido a pandemia de Covid-19 e as precauções sanitárias que precisaram ser tomadas durante a realização do estudo, após as análises pode-se utilizar os dados de 14 indivíduos, correspondendo a 10% da população da comunidade.

Todos os sujeitos que livremente se dispuseram a participar desta pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e responderam a um questionário. Este incluía perguntas sobre dados demográficos (idade, sexo, entre outros), questões médicas (medicação, entre outros), estilo de vida (tabagismo, atividades físicas entre outros) e ocupação (profissão, entre outros) [versão em português de um questionário adaptado, recomendado pela *International Commission for Protection Against Environmental Mutagens and Carcinogens*

(Carrano e Natarajan, 1988) (em anexo)], em uma entrevista realizada presencialmente, que contribui para a análise epidemiológica dos resultados.

O projeto está aprovado na Plataforma Brasil, pelo Comitê de Ética da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, sob o número CAAE 26615019.3.0000.5547.

### 3.3. POPULAÇÃO CONTROLE

O grupo de indivíduos controle foi composto por 15 pessoas, que não possuíam contato ambiental direto com agroquímicos, também sendo excluídas pessoas que realizaram exames de raios-X nos últimos 6 meses.

### 3.4 TESTE DO MICRONÚCLEO DA MUCOSA BUCAL

Devido a pandemia de Covid-19, a coleta da mucosa bucal foi realizada pelo próprio indivíduo, após a explicação fornecida pelo corpo técnico. As amostras da mucosa oral foram obtidas com uma leve fricção de escovas estéreis tipo *cytobrush*, em ambos os lados internos das bochechas (direito e esquerdo). As amostras foram colocadas em fixador Sacomanno (50% etanol + 2% polietilenoglicol) e mantidas à 8°C até serem transportadas ao laboratório de Biologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Francisco Beltrão, e mantidas a 4°C por 4 dias até o processamento.

O teste seguiu a metodologia proposta por Thomas et al. (2009), com modificações, no qual as amostras foram homogeneizadas em agitador de tubos por 30 segundos, posteriormente centrifugadas por 10 minutos a 1500 rpm. Após, o sobrenadante foi removido e adicionado ao sedimento 5 mL de tampão de mucosa [1,6 g Tris-HCl, 1,2 g EDTA, 37,2 g NaCl, água MilliQ (q.s.p. 1 L), pH 7,0], para a ressuspensão celular.

Em seguida as células foram fixadas, adicionando-se em 4 mL etanol/ácido acético (3:1) em cada tubo por 10 minutos.

Para o preparo das lâminas, o material foi novamente centrifugado, o sobrenadante retirado, sendo confeccionadas 5 lâminas/indivíduo, utilizando o método de gotejamento com auxílio de uma pipeta Pasteur. As lâminas foram coradas pelo método de *Feulgen-Fast Green* e analisadas sob microscópio de luz com aumento de 1000x, sendo contabilizadas 2000 células por indivíduo, seguindo os padrões e critérios para identificação e análise de células esfoliadas da mucosa bucal, recomendados por Bolognesi et al. (2013) e Thomas et al. (2009).

### 3.5 ANÁLISE DOS DADOS

Os parâmetros básicos obtidos pela análise da resposta do questionário foram apresentados usando a estatística descritiva.

Para os dados do teste do micronúcleo bucal, foram calculadas as frequências relativas de cada tipo celular analisado (célula basal, diferenciada, micronucleada, binucleada, *nuclear buds*, cromatina condensada, cariorrética, cariолítica ou picnótica), do parâmetro citotoxicidade (cromatina condensada, cariorrética, cariолítica ou picnótica) e mutagenicidade (micronucleada, binucleada, *nuclear buds*) e do total de alterações (micronucleada, binucleada, *nuclear buds*, cromatina condensada, cariorrética, cariолítica ou picnótica). Foi realizado teste de normalidade de Anderson-Darling, Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk e Ryan-Joiner. Os testes de variância utilizados foram os de Levene e Bartlett. Após, para a comparação das frequências do grupo controle e do grupo de moradores da Vila Rural de dados com normalidade e homoscedasticidade foi utilizado o teste de Dunnett, com normalidade e sem homoscedasticidade o teste de Welch e, sem normalidade e sem homoscedasticidade o teste de Kruskal-Wallis, utilizando o *software Action Stat*. Em todos os testes foi considerado  $p < 0,05$  para os resultados estatisticamente significativos.

Para a avaliação dos efeitos de algumas características da comunidade, obtidas pela análise dos questionários, os resultados das frequências relativas médias de citotoxicidade e mutagenicidade da comunidade foram comparadas com o hábito de fumar e a realização de atividades físicas. Esta comparação foi realizada após a avaliação da normalidade e homoscedasticidade dos dados da comunidade divididos nestes grupos, seguido do teste de comparação de médias de Tukey ( $p < 0,05$ ). Também foi analisado o grau de correlação entre as frequências relativas médias de citotoxicidade e mutagenicidade com a idade e o tempo de exposição aos agroquímicos, no programa *Action Stat*.

### 3.6 ANÁLISE DA ÁGUA DA VILA RURAL ÁGUA VIVA

#### 3.6.1 Coleta das Amostras de Água

A coleta de água foi realizada em dois pontos da Vila Rural Água Viva (Figura 7). O primeiro local (Amostra 1) foi definido como um ponto da rede de abastecimento de água proveniente de um poço artesiano, na torneira de uma casa da Vila Rural Água Viva localizada

no início da rede. O segundo ponto de coleta (Amostra 2) propiciou a amostragem de água de uma nascente presente na Vila Rural, utilizada para dessedentação de animais e irrigação, sendo este localizado na propriedade em que a água da nascente era bombeada e armazenada em uma caixa d'água para distribuição.

A amostragem foi realizada em recipiente de vidro âmbar, limpo e esterilizado, para evitar contaminações. Foram coletados 10 L de cada amostra de água e o armazenamento foi realizado em temperatura de 4 °C +/- 2 por até 7 dias.

### 3.6.2 Análises Físico-químicas

As análises físico-químicas das amostras de água foram realizadas no laboratório LGQ de Francisco Beltrão-Paraná, seguindo metodologias descritas no “*Standard Methods*” (APHA, AWWA e WEF, 1998), e avaliando os seguintes parâmetros: demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e coliformes totais.

### 3.6.3 Determinação da Concentração do Herbicida 2,4-D por CLAE

#### 3.6.3.1 Extração em fase sólida (EFS)

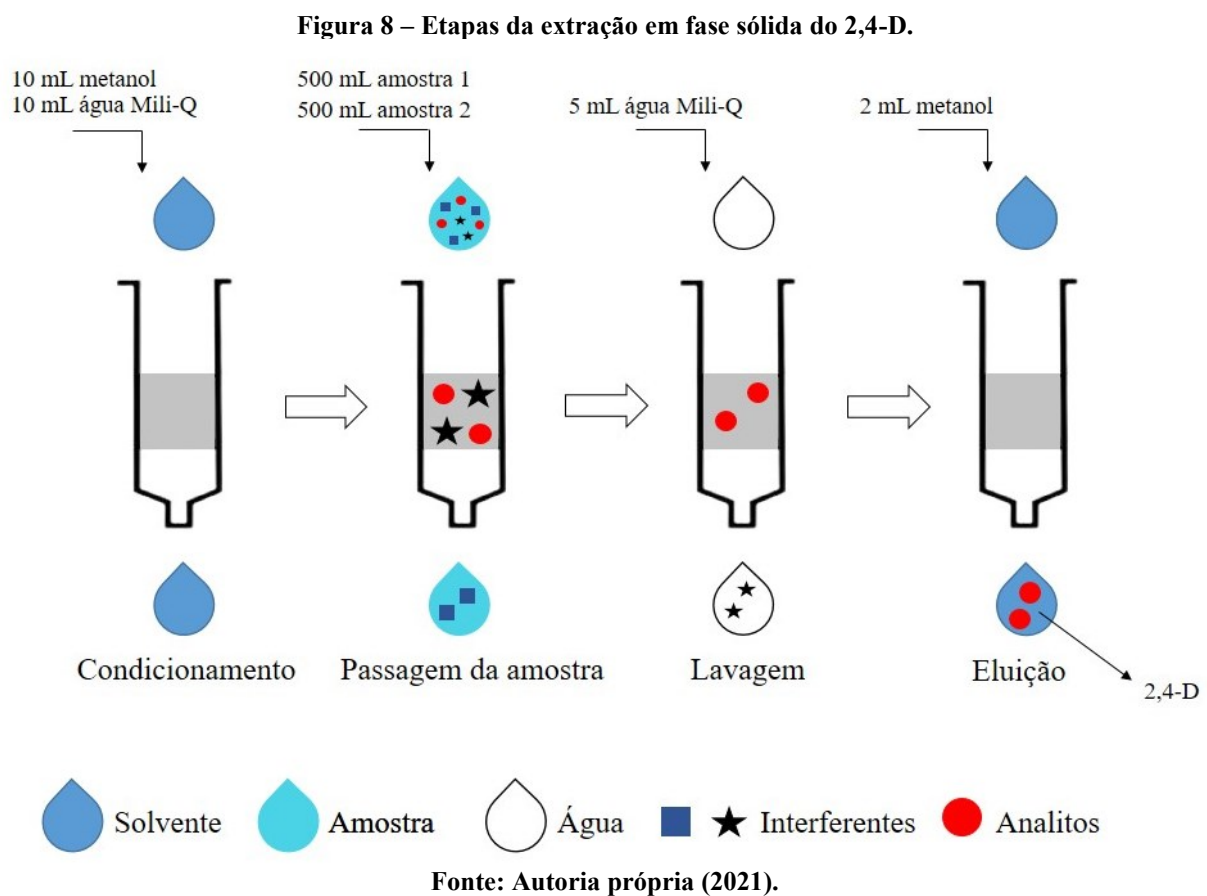
Antes da análise cromatográfica, foi necessário realizar a extração em fase sólida das amostras de água coletada na Vila Rural Água Viva, para assim, determinar a concentração do herbicida 2,4-D, possibilitando a quantificação de baixas concentrações do analito estudado.

Foram utilizados cartuchos C18 (*Bekerbond Spe Octadecyl* – 500 mg 6 mL<sup>-1</sup>) em sistema de extração a vácuo. As amostras de água foram filtradas a vácuo com membrana PVDF de 0,22 µm. As etapas do procedimento da EFS são descritas a seguir (Figura 8):

- 1) Condicionamento dos cartuchos: foram utilizados cartuchos C-18. Os cartuchos foram ativados pela passagem de 10 mL de metanol previamente filtrado em membrana de porosidade 0,22 µm. Em seguida, o equilíbrio dos cartuchos foi realizado pela passagem de 10 mL de água Mili-Q filtrada em membrana de porosidade 0,22 µm;
- 2) Adição da amostra: foi realizada a passagem da amostra (500 mL) pelo cartucho, com auxílio de uma bomba de vácuo com vazão entre 2 a 5 mL min<sup>-1</sup>;

- 3) Lavagem do cartucho: os cartuchos foram lavados com a passagem de 5 mL de água Mili-Q filtrada em membrana de porosidade 0,22  $\mu\text{m}$ . O eluato foi descartado e foi realizada a secagem do leito sorvente pela passagem de ar durante 5 minutos;
- 4) Eluição do analito: o analito foi eluído com 2 mL de metanol filtrado em membrana de porosidade 0,22  $\mu\text{m}$ . A este volume foi adicionado 2 mL de água Mili-Q filtrada em membrana de porosidade 0,22  $\mu\text{m}$ .

Após a EFS, as amostras foram guardadas em um recipiente de vidro, enrolados no papel alumínio e posteriormente foi realizado a análise cromatográfica das mesmas.



### 3.6.3.2 Cromatografia líquida de alta eficiência

O princípio ativo (2,4-D) foi cedido por produtores rurais da cidade de Marmeleiro – PR, apresentando este a concentração de 806 g L<sup>-1</sup>. A solução estoque do analito 2,4-D foi preparada individualmente em água Mili-Q na concentração 250 mg L<sup>-1</sup>. A partir dessa solução foram preparadas as soluções em água Mili-Q, nas concentrações 5, 15, 25, 35, 45, 55, 65, 75, 115 e 125 mg L<sup>-1</sup> para a validação do método linearidade.



As análises para detecção do 2,4-D foram determinadas pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência com detector UV-Vis (*UltiMate 3000 da Thermo Scientific*) e coluna C18 (4,6 x 250mm, 5  $\mu\text{m}$ ).

A fase móvel foi composta por uma solução de metanol e água acidificada (pH = 2,5) com 0,10% de ácido fosfórico (70:30), com eluição isocrática e no fluxo de 1,2 mL  $\text{min}^{-1}$ . O volume de injeção da amostra foi de 20  $\mu\text{L}$  e comprimento de onda de 230 nm.

### 3.7 ENSAIOS DE ADSORÇÃO

Foi utilizado como adsorvente o carvão ativado granular de casca de coco de dendê (marca: Bahia Carbon). Após os ensaios de adsorção, a fase sólida (adsorvente) foi separada da fase líquida (adsorbato), por meio de filtração a vácuo com membrana PVDF de 0,22  $\mu\text{m}$ . Todos os ensaios de adsorção foram realizados em duplicata.

Tendo em vista o elevado custo de realização de análises por cromatografia, aliado ao grande número de amostras provenientes dos ensaios de adsorção, foi empregada a análise por espectroscopia no ultravioleta-vísivel (UV-Vis) para quantificação da concentração de 2,4D. A utilização desta outra técnica se deu mediante maiores valores de concentração do agroquímico nos ensaios de adsorção, que possibilitam esta análise por uma técnica mais robusta e de menor custo com garantia de precisão dos dados, conforme trabalhos apresentados na literatura (NJOKU et al., 2015; SALMAN; HAMEED, 2010). De qualquer forma, fez-se a comparação entre os valores de concentração para a curva de calibração obtidos por CLAE e em espectrofotômetro UV-Vis.

#### 3.7.1 Ensaios Preliminares se Adsorção

Foram realizados ensaios preliminares a fim de determinar-se o valor de pH que favorece a adsorção do 2,4-D a ser utilizado nos testes de equilíbrio e cinético. Para isso foram feitos testes com pH inicial 2, 3, 5 e 7.

Os ensaios de adsorção em batelada foram conduzidos em erlenmeyers de 125 mL contendo aproximadamente 0,10 g de adsorvente e 50 mL da solução de 2,4-D com concentração inicial de 100 mg  $\text{L}^{-1}$ .

A mistura foi mantida em agitação de 100 rpm por 8 horas e temperatura ambiente (25  $^{\circ}\text{C}$ ). Em seguida, as amostras foram filtradas e analisadas em espectrofotômetro UV-Vis (283

nm), conforme descrito anteriormente. A quantidade de 2,4-D adsorvida foi calculada por meio do balanço de massa presente na equação (11), em que  $q$  é quantidade de 2,4-D adsorvida em  $\text{mg g}^{-1}$ ,  $C_0$  e  $C$  as concentrações iniciais e finais, respectivamente em  $\text{mg L}^{-1}$ ,  $V$  é o volume da solução em L e  $m$  é a massa do adsorvente em g.

$$q = \frac{(C_0 - C)v}{m} \quad (11)$$

Após os testes preliminares para definição de condições adequadas de pH, foram realizados ensaios de equilíbrio, para determinação da capacidade máxima de adsorção, bem como ensaios cinéticos visando a determinação do tempo de equilíbrio do processo em estudo

#### 4.7.3 Ensaios Cinéticos

No estudo cinético, foram realizados ensaios de adsorção em batelada, com solução de 2,4-D na concentração inicial de  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , com a proporção de 0,10 g para 50 mL de solução. A mistura foi mantida sob agitação de 100 rpm e temperatura ambiente ( $25^\circ\text{C}$ ), durante os tempos de contato de 0, 3, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 180, 240, 360, 480 e 1440 min.

Após cada tempo de contato, as amostras foram filtradas e realizada a determinação da absorbância (283 nm), como descrito anteriormente.

#### 3.7.2 Ensaios de Equilíbrio

Para o teste de equilíbrio, foram preparadas soluções de 2,4-D diluído em água mili-Q nas concentrações de 10, 25, 50, 100, 150, 200, 300, 500 e  $800 \text{ mg L}^{-1}$ . Os ensaios de adsorção novamente foram conduzidos em sistema batelada com 0,10 g de carvão ativado e 50 mL de solução de 2,4-D, sendo a mistura mantida sob agitação de 100 rpm e temperatura ambiente ( $25^\circ\text{C}$ ), por 8 horas.

Para cada ensaio, realizou-se a filtração das amostras e análise em espectrofotômetro UV-Vis (283 nm).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 TESTE DO MICRONÚCLEO BUCAL

Os resultados (Tabela 2) do teste do micronúcleo bucal indicam efeito citotóxico e mutagênico das células da mucosa bucal da população da Vila Rural Água Viva. Os dados mostram que houve diferenças estatisticamente significativas do grupo controle e da população da Vila Rural com relação aos dados de citotoxicidade (pela análise das células que conduziram a morte celular - cromatina condensada, cariorréticas, cariolíticas ou picnóticas), mutagenicidade (pela análise das células que causaram lesões clastogênicas e aneugênicas - micronúcleo, *nuclear buds* ou binucleadas) e do total de alterações celulares (Tabela 2).

**Tabela 2 - Frequência relativa média e desvio-padrão (%) dos dados de citotoxicidade, mutagenicidade e do número total de alterações obtidos pelo teste do micronúcleo bucal do grupo controle e da população da Vila Rural.**

Parâmetro	Controle (n=15)	Vila Rural (n=14)
<b>Citotoxicidade</b>	0,58 ± 0,44	1,52 ± 0,79*
<b>Mutagenicidade</b>	10,66 ± 7,72	17,88 ± 9,64*
<b>Total de Alterações</b>	12,24 ± 8,30	18,66 ± 9,82*

\*Diferença estatisticamente significativa em relação ao controle ( $p < 0,05$ ).

Fonte: Autoria própria (2021).

De acordo com as características epidemiológicas da população em estudo (Tabela 3), pode-se notar que 85,71% da Vila Rural está exposta à agroquímicos de diferentes maneiras (ambientalmente, agricultura, serviço público/agente de saúde e serviço de desinsetização) e no controle negativo ninguém alegou este tipo de exposição. Pode-se notar também que 50% da população da Vila Rural considera-se ambientalmente exposta a agroquímicos, situação evidenciada pela localização geográfica da Vila Rural Água Viva (Figura 7), com plantações ao redor da mesma em todas as direções.

Diversos estudos já evidenciaram que os agroquímicos são capazes causar estresse oxidativo e gerar espécies reativas de oxigênio (BOLOGNESI; HOLLAND, 2016; COLLOTTA et al., 2013; GUNDOGAN et al., 2018; KAPKA-SKRZYPCZAK et al., 2011; SABARWAL; KUMAR; SINGH, 2018; TABREZ et al., 2014), que podem interagir com o DNA e ocasionar a quebra simples e dupla no DNA (ARCAUTE; LARRAMENDY; SOLONESKI, 2018). Além disso, podem induzir alterações na expressão gênica e alterar a sensibilidade a agentes genotóxicos, tornando as pessoas mais suscetíveis a eventos

mutacionais (LYONS; WATTERSON, 2010) e provocar danos ao DNA. Estes eventos podem ter ocorrido no presente estudo e resultado no efeito mutagênico obtido para as células da mucosa bucal da população da Vila Rural Água Viva.

**Tabela 3 - Características epidemiológicas da população da Vila Rural Água Viva e da população controle.**

(continua)

<b>Características do estilo de vida</b>	<b>Controle (n=15)</b>	<b>Vila Rural (n=14)</b>
<b>Idade</b>	23 ± 2,09	59,5 ± 13,49
<b>Jornada de Trabalho</b>		
< 40 horas	12 (80%)	7 (50%)
≥ 40 horas	3 (20%)	3 (21,43%)
Aposentado (a)		4 (28,57%)
<b>Contato com agroquímicos</b>		
Sim		12 (85,71%)
Não	15 (100%)	2 (14,29%)
<b>Forma de contato</b>		
Ambientalmente		7 (50%)
Agricultura		3 (21,43%)
Serviço público/Agente de saúde		1 (7,14%)
Serviço de desinsetização		1 (7,14%)
Sem contato	15 (100%)	2 (14,29%)
<b>Tempo de exposição</b>		
< 5 anos		4 (28,57%)
≥ 5 anos		6 (57,14%)
Não expostos	15 (100%)	4 (28,57%)
<b>Exercício físico</b>		
Não	4 (26,67%)	9 (64,29%)
1x por semana	2 (13,33%)	1 (7,14%)
2x por semana	3 (20%)	1 (7,14%)
3x por semana	2 (13,33%)	3 (21,43%)
4x por semana ou mais	4 (26,67%)	
<b>Consumo de frutas e vegetais</b>		
Não		
1 – 2x por semana	1 (6,67%)	1 (7,14%)
3 – 4x por semana	2 (13,33%)	1 (7,14%)
5 – 6x por semana	2 (13,33%)	
Todos os dias	10 (66,67%)	12 (85,71%)

**Tabela 3 - Características epidemiológicas da população da Vila Rural Água Viva e da população controle.**

Características do estilo de vida	Controle (n=15)	Vila Rural (n=14)
(conclusão)		
<b>Fumante</b>		
<i>Sim</i>	2 (14,29%)	7 (50%)
<i>Não</i>	13 (85,71%)	7 (50%)
<b>Casos de câncer na família</b>		
<i>Não</i>	10 (66,67%)	9 (64,29%)
<i>Próstata</i>		2 (14,29%)
<i>Intestino</i>	2 (13,33%)	1 (7,14%)
<i>Estômago</i>		1 (7,14%)
<i>Leucemia</i>	1 (6,67%)	1 (7,14%)
<i>Pulmão</i>	1 (6,67%)	
<i>Fígado</i>	1 (6,67%)	

**Fonte: Autoria própria (2021).**

Além disso, o efeito citotóxico pode ter sido, assim como destacado por Laborde et al. (2020), avaliando a citotoxicidade do 2,4-D, devido uma maior sensibilidade na funcionalidade mitocondrial celular e pela diminuição da atividade lisossômica, assim como devido ao fato de o agroquímico estimular o estresse oxidativo e causar imunossupressão (LOOMIS et al., 2015).

Vários estudos epidemiológicos tem apresentado que as exposições a vários poluentes ambientais, incluindo agroquímicos, estão relacionadas ao aumento de cânceres (ALAVANJA; BONNER, 2012; ALAVANJA; ROSS; BONNER, 2013; KUMAR et al., 2014; LAUBY-SECRETAN et al., 2016; LERRO et al., 2015; MARTIN, et al., 2018; PARRÓN et al., 2014; RIVERO, et al., 2015; SHARMA et al., 2015). No entanto, no presente estudo, o percentual de cânceres na família foi similar entre a população da Vila Rural Água Viva e o grupo controle (Tabela 3).

Por outro lado, segundo Garcia et al. (2017), mulheres grávidas e crianças do sexo masculino que vivem em áreas de elevada exposição a agroquímicos apresentam maiores taxas de prevalência e risco de aborto espontâneo, menor peso ao nascimento, hipospadias, criptorquidia e micropênis. Vale destacar que, na Vila Rural Água Viva também foi relatado por alguns moradores a ocorrência de aborto espontâneo. Assim, os efeitos toxicológicos dos agroquímicos podem desempenhar um papel importante na etiologia de várias doenças em seres humanos (TABREZ et al., 2014).

Buscou-se identificar outras características da comunidade que pudessem ter contribuído para os resultados de citotoxicidade e mutagenicidade observados, pois outros estudos demonstraram a influência da idade (FENECH; BONASSI, 2011; GENTILE et al., 2012, MOSHOU et al., 2020; RUIZ-GUZMÁN et al., 2017), tempo de exposição aos agroquímicos (FENECH; BONASSI, 2011; MOSHOU et al., 2020) entre outros fatores de estilo de vida (FENECH; BONASSI, 2011).

Os dados da Tabela 4 mostram que não houve diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% de significância entre as frequências relativas médias dos dados de citotoxicidade e mutagenicidade da comunidade se divididos entre os fumantes e não-fumantes ou os praticantes de atividades físicas ou não.

**Tabela 4 - Comparação da frequência relativa média e desvio-padrão dos dados de citotoxicidade, mutagenicidade e do número total de alterações da população da Vila Rural de acordo com os hábitos de vida.**

Parâmetro	Hábito de Vida	
	<i>Não-Fumantes (n=7)</i>	<i>Fumantes (n=7)</i>
<b>Citotoxicidade</b>	14,47 ± 5,92	21,29 ± 11,79
<b>Mutagenicidade</b>	1,42 ± 0,66	1,61 ± 0,94
	<i>Praticante Atividade Física (n=5)</i>	<i>Não-Praticante Atividade Física (n=9)</i>
<b>Citotoxicidade</b>	24,34 ± 11,49	14,29 ± 6,65
<b>Mutagenicidade</b>	1,64 ± 0,95	1,44 ± 0,73

\*Diferença estatisticamente significativa em relação ao controle ( $p < 0,05$ ).

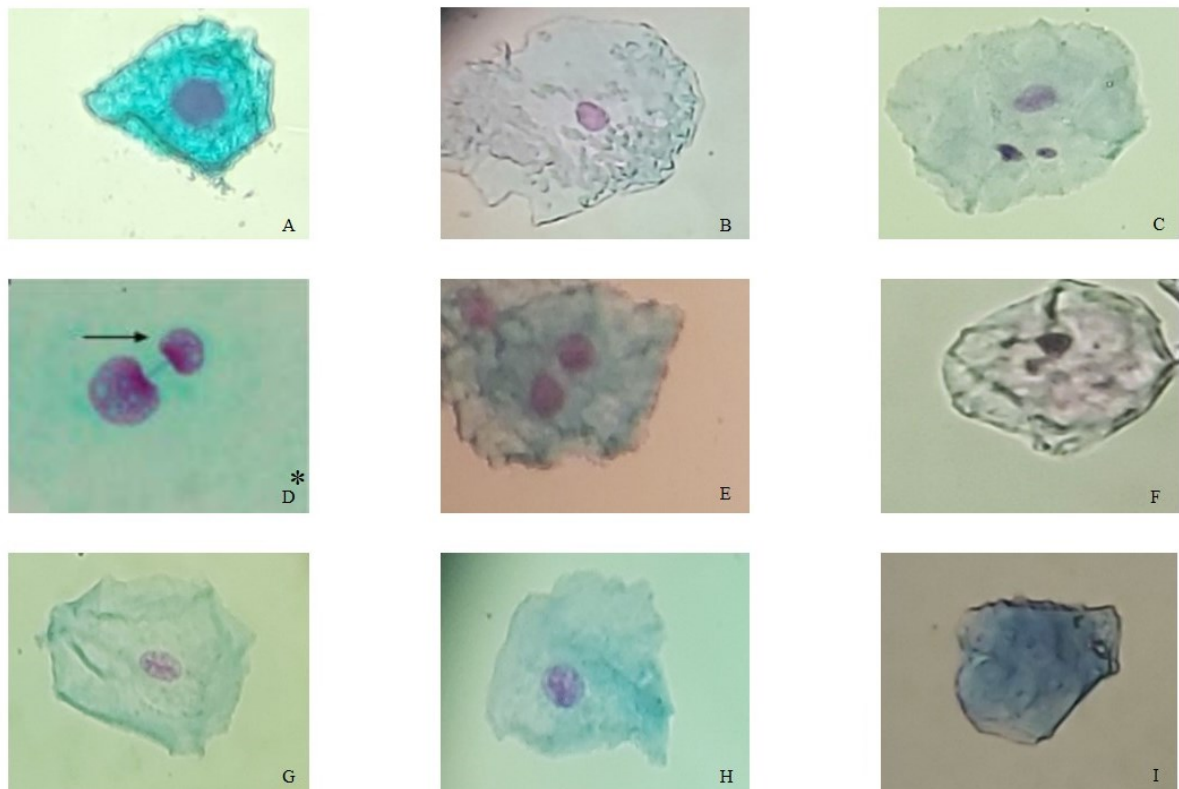
Fonte: Autoria própria (2021).

Também foi observado que a idade ou o tempo de exposição aos agroquímicos não apresentaram relação linear com as frequências relativas médias dos dados de citotoxicidade (idade – p valor=0,08,  $r^2 = 0,221$ ; tempo de contato aos agroquímicos - p valor=0,231,  $r^2=0,117$ ) e mutagenicidade (idade – p valor = 0,613,  $r^2 = 0,02$ ; tempo de contato aos agroquímicos - p valor = 0,103  $r^2 = 0,205$ ) da comunidade. Resultados semelhantes foram obtidos por Benedetti et al. (2013), avaliando trabalhadores de lavouras de soja expostos a agroquímicos, e que também não revelaram nenhuma correlação entre a idade e o tempo de exposição a agroquímicos com o resultado do ensaio do micronúcleo bucal. Moshou et al. (2020), não demonstraram diferença significativa nas frequências de micronúcleos entre fumantes e não fumantes.

Para a verificação de qual tipo celular (Figura 9) influenciou na citotoxicidade e mutagenicidade das células da mucosa bucal da Vila Rural Água Viva foi realizada a comparação entre todas as diferentes morfologias celulares individualmente (Figura 10). A

análise estatística mostrou que somente as células micronucleadas, binucleadas e picnóticas foram estatisticamente diferentes do controle negativo. Inclusive, pode-se destacar que as frequências destes tipos celulares (micronucleadas, binucleadas e picnóticas) foram maiores, para a faixa etária dos 40 a 60 anos de idade (média de idade da comunidade = 57 anos), que as identificadas no estudo de Rohr et al. (2020), que analisou as diferentes morfologias celulares da população brasileira. Para a frequência de micronúcleos, a média da comunidade foi o dobro maior que a média brasileira (Vila Rural = 0,29%, População Brasileira (40-60 anos) = 0,14%), para as células binucleadas foi seis vezes maior (Vila Rural = 1,22%, População Brasileira (40-60 anos) = 0,19%), para as células picnóticas quinze vezes maior (Vila Rural = 6,02%, População Brasileira (40-60 anos) = 0,39%) e, ainda, para as células cariолíticas, a comunidade apresentou o dobro que a média brasileira (Vila Rural = 10,51%, População Brasileira (40-60 anos) = 3,9%).

**Figura 9 – Imagens dos diferentes tipos de células identificadas no ensaio do micronúcleo bucal.**



(a) célula basal; (b) célula diferenciada; (c) célula micronucleada (d) célula nuclear *bud*; (e) célula binucleada; (f) célula picnótica; (g) célula de cromatina condensada; (h) célula cariorrética; (i) célula cariолítica.

\*Imagem retirada de Thomas et al. (2009). Fonte: Autoria Própria (2021).

Com relação a estes tipos de alterações, as células com micronúcleo se originam da quebra cromossômica (clastogênese), sendo formado pelos cromossomos acêntricos ou

fragmentos cromatídicos, e disfunção do aparelho mitótico (aneugênese), sendo formado pelos cromossomos inteiros ou cromátides que se atrasam na anáfase e são excluídos do núcleo-filho na telófase (FENECH, 2007; KRISHNA; HAYASHI, 2000; OECD, 2010). Assim, os dados indicam que a população da Vila Rural está exposta a algum agente aneugênico e/ou clastogênico, possivelmente a exposição ambiental aos agroquímicos. Estes resultados corroboram com os demonstrados por outros estudos, que verificaram um aumento significativo na formação de micronúcleo em grupos expostos a agroquímicos (BOLOGNESI et al., 2013; CARBAJAL-LÓPEZ et al., 2016; CHAVES et al., 2017; KAPKA-SKRZYPCZAK et al., 2011).

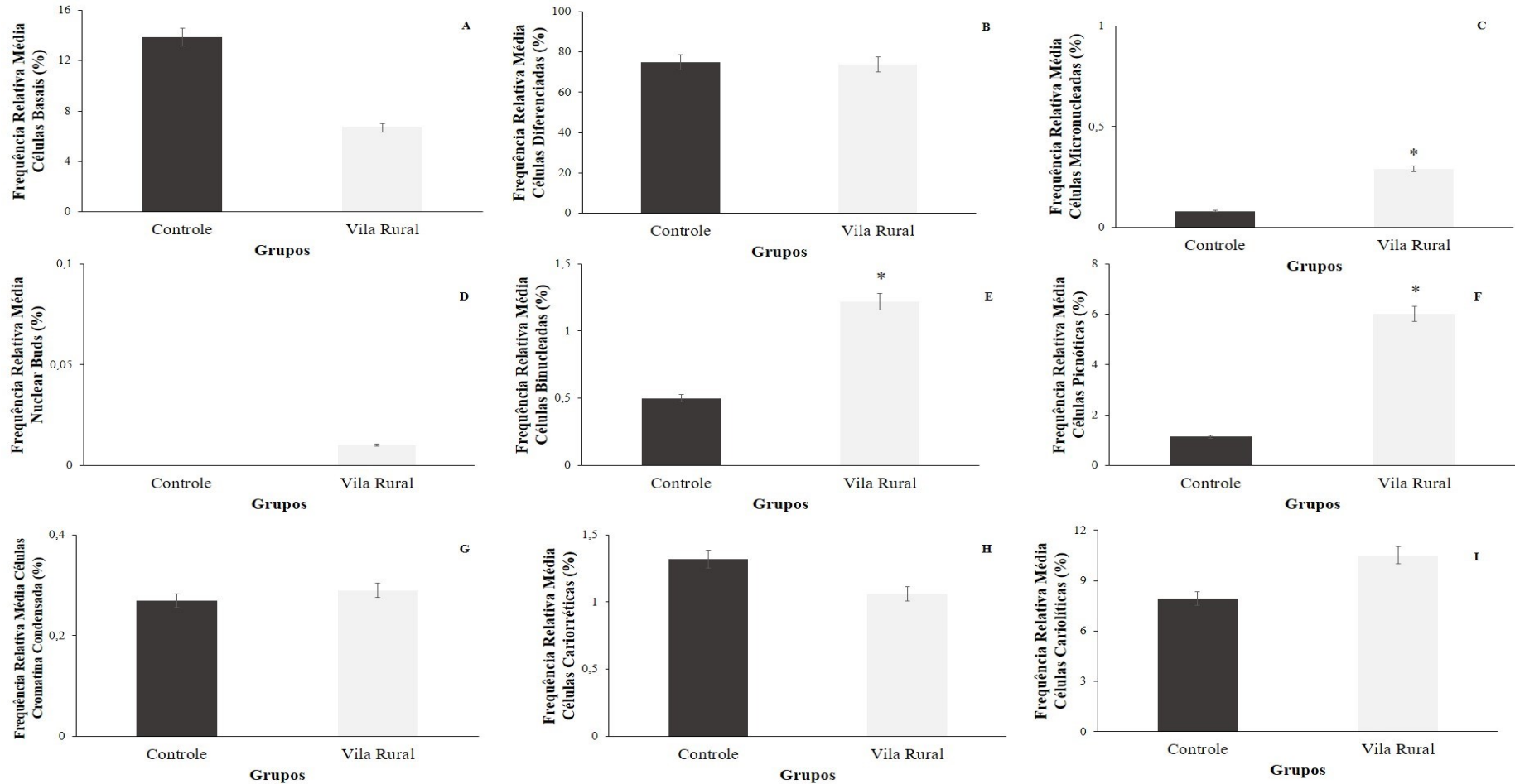
Estudos genotóxicos revelaram que o herbicida 2,4-D induziu a formação de micronúcleos e trocas cromáticas irmãs em linfócitos humanos *in vitro* (HOLLAND et al., 2002; ZELJEZIC; GARAJ-VRHOVAC, 2004). Além disso, em linfócitos humanos de trabalhadores expostos a mistura de pesticidas, incluindo 2,4-D, foram encontradas indução de aberrações cromossômicas, formação de micronúcleos, trocas cromáticas irmãs e quebras de cadeia simples de DNA (IARC, 2018).

Com relação às células binucleadas, elas possuem dois núcleos com morfologia semelhante às células normais, sendo que o significado dessas células é desconhecido, mas elas podem ser indicativas de citocinese com falha após a última divisão nuclear (KAUSAR et al., 2014; THOMAS et al., 2009). Benedetti et al. (2013) também revelaram que trabalhadores expostos a agroquímicos apresentaram maiores danos ao DNA, como células com micronúcleos e binucleadas, resultado semelhante ao do presente estudo.

As células picnóticas são caracterizadas por um encolhimento do núcleo, ficando visivelmente mais corado. O elevado número deste tipo de célula indica que as mesmas sofreram a ação de algum agente que está conduzindo as mesmas a morte celular (THOMAS et al., 2009). Segundo Kausar et al. (2014) as células picnóticas também foram encontradas em maior quantidade em trabalhadores expostos a agroquímicos.



**Figura 10 – Frequência relativa média e desvio-padrão dos diferentes tipos celulares obtidos pelo teste do micronúcleo bucal do grupo controle e da população da Vila Rural.**



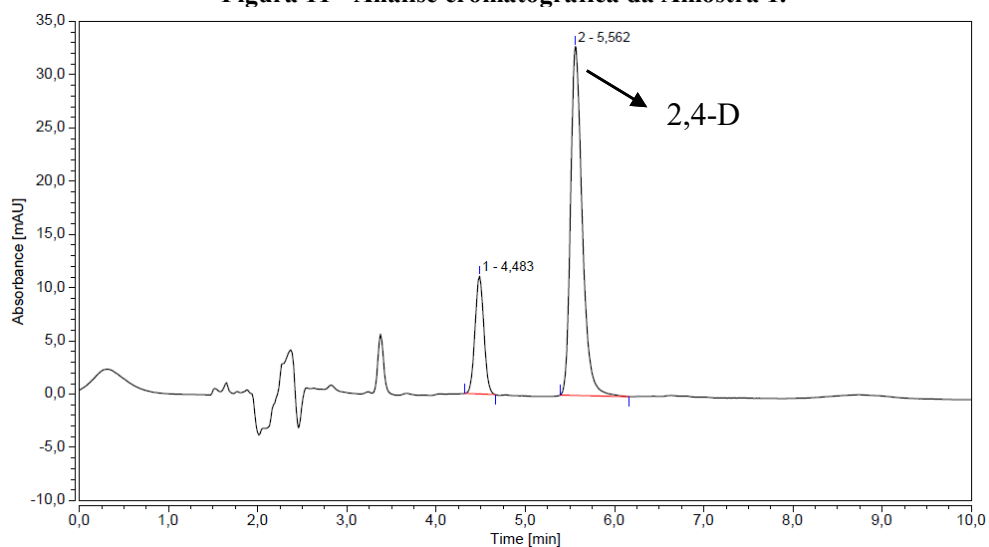
\* Diferença estatisticamente significativa em relação ao controle ( $p < 0,05$ ).

Fonte: Autoria Própria (2021).

## 4.2 ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE ÁGUA DA VILA RURAL ÁGUA VIVA

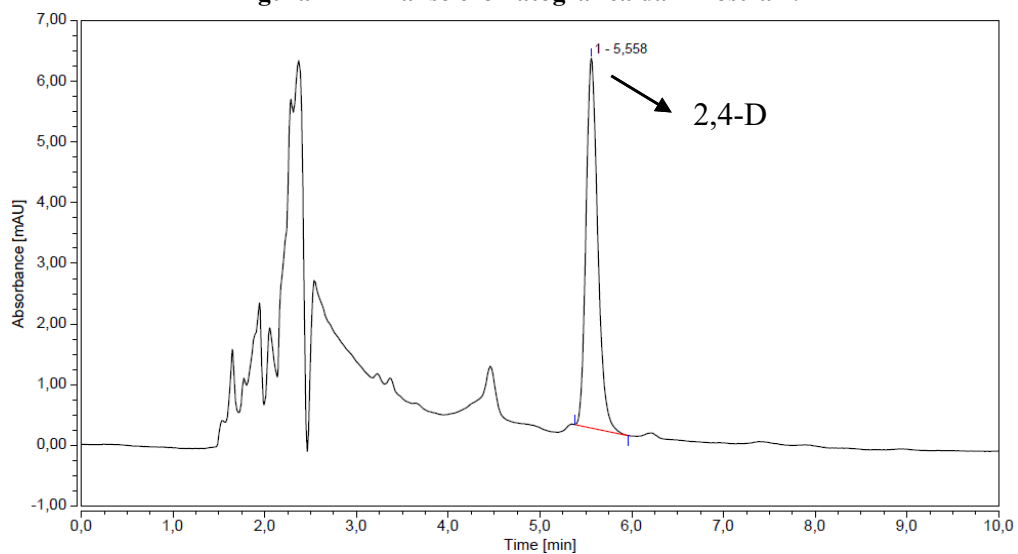
As análises cromatográficas do teor do agroquímico 2,4-D das amostras de água da Vila Rural estão plotadas nas Figuras 11 e 12. Com base na curva de calibração (Figura 13) foi possível calcular os teores de 2,4-D em cada amostra (Tabela 5). Os dados mostram que ambas as amostras podem contaminadas com este agroquímico, bem acima do limite estabelecido pela Portaria N° 2914/2011 do Ministério da Saúde (LMP 30  $\mu\text{g L}^{-1}$ ).

**Figura 11 - Análise cromatográfica da Amostra 1.**



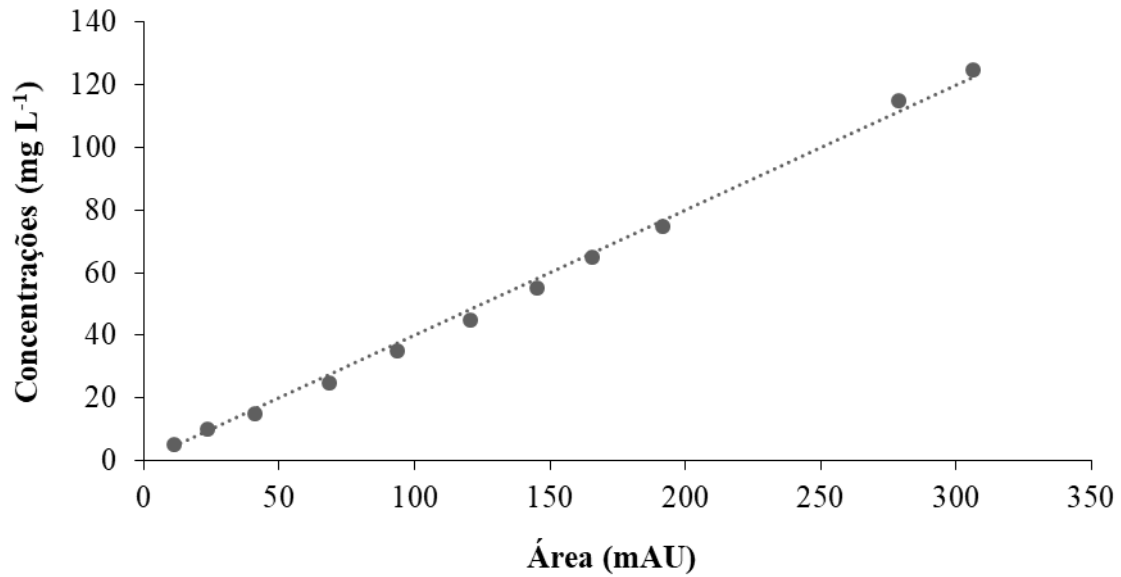
**Amostra 1: Rede de abastecimento de água proveniente de um poço artesiano, na torneira de uma casa da Vila Rural Água Viva.**

**Figura 12 - Análise cromatográfica da Amostra 2.**



**Amostra 2: Propiciou a amostragem de água de uma nascente presente na Vila Rural, utilizada para dessedentação de animais e irrigação.**

Figura 13 – Curva de linearidade do herbicida 2,4-D obtida por cromatografia líquida de alta eficiência.



Fonte: Autoria própria (2021).

Tabela 5 - Concentrações do 2,4-D encontradas na Vila Rural Água Viva.

Amostra	Tempo de Retenção Médio (min)	Área do pico Médio (mAU)	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )
1	5,573	32,483	12,988
2	5,558	5,560	2,223

Fonte: Autoria própria (2021).

Como já apresentado anteriormente, elevado uso de agroquímicos na agricultura, em especial, dos herbicidas, causam contaminação no solo, lençóis freáticos, rios, lagos, águas potáveis e ar (ELAHI et al., 2019). Segundo Bhat et al. (2015), Islam et al. (2017, 2018), Kurenbach et al. (2015) os níveis de concentração de agroquímicos em águas residuais agrícolas podem chegar a 500 mg L<sup>-1</sup>, apresentando risco para saúde humana e meio ambiente e encontrando-se bem acima do valor permitido pela legislação. O herbicida 2,4-D, por exemplo, é um produto químico moderadamente persistente, com tempo de meia-vida aquático entre 20 e 312 dias dependendo das condições ambientais (ORDAZ-GUILLÉN et al., 2014; WALTERS, 2011).

A sua ampla ocorrência no meio ambiente é devido ao seu grupo carboxila ácido (pKa = 2,8) e baixa adsorção no solo, pois o 2,4-D é predominantemente encontrado como um ânion, e os solos geralmente apresentam pH entre 5 e 8, sendo assim, os ânions são fracamente absorvidos (ISLAM et al., 2018).

Segundo Nejati et al. (2013) e Ouyang et al. (2016), níveis elevados de 2,4-D foram detectados em águas subterrâneas em áreas com solos rasos. Portanto, a interação entre o 2,4-D e o solo desempenha um papel importante na distribuição do herbicida. Pois, o solo é um

ecossistema dinâmico em que os agroquímicos podem se degradar ou mover-se de um compartimento a outro (KONG et al., 2005; SHENG et al., 2001).

Segundo Mountassif et al. (2008), cerca de 91,7% do 2,4-D acabam se deslocando e chegando na água. Sendo assim, ele pode estar presente em águas superficiais e por ser uma molécula polar, o 2,4-D e seus ésteres e aminas são bastante móveis em sistemas aquosos (ISLAM et al., 2018). Dessa maneira, a contaminação ambiental de agroquímicos, em especial, na água, resulta em grandes preocupações em relação a saúde humana e do ecossistema (GAULTIER et al., 2008; KEARNS et al., 2014; SHAREEF; SHAW, 2008).

De acordo com Ismail, Prayitno e Tayeb (2015), as concentrações de 2,4-D encontradas em água foram relativamente maiores em comparação com os outros herbicidas. A água potável, ar e alimentos contaminados são as principais vias de exposição dos seres humanos ao 2,4-D. O ar contaminado pode causar irritação, coceira, sensação de queimação na pele e falta de ar e, sua ingestão, pode resultar em vômitos, diarreia, dor de cabeça, hipertensão, entre outros (GANGULI et al., 2014). Segundo relatos de alguns indivíduos da Vila Rural Água Viva, estes apresentam efeitos semelhantes, como, dor de cabeça, tosse, tontura, dor de estômago, taquicardia, falta de ar e hipertensão, principalmente após o uso de agroquímicos na região do entorno da Vila.

E, segundo Oruc et al. (2004), o 2,4-D colabora para a geração de espécies reativas de oxigênio e leva a danos oxidativos em diferentes organismos, sendo que o estresse oxidativo está associado ao risco de câncer (SABARWAL; KUMAR; SINGH, 2018) e à patogênese de muitas doenças neurodegenerativas, como a doença de Parkinson e a doença de Alzheimer (REUTER et al., 2010). Os desequilíbrios de ROS também podem recrutar proteínas aberrantes que, pode resultar em desequilíbrio da via de sinalização e levar a processos tumorigênicos (WANG, 2008; COLLOTTA et al., 2013).

Vale destacar que as técnicas aplicadas para validar o método cromatográfico de determinação do 2,4-D em amostras líquidas na UTFPR-FB foram muito bons e atenderam aos requisitos exigidos pela ANVISA e pelo INMETRO (ANVISA, 2003; INMETRO, 2016).

Porém, o laboratório não possui certificação para realização deste tipo de análise, sendo relevante a análise em um laboratório certificado para garantia de representatividade destes resultados, mediante a grande importância destes para os moradores da comunidade.

Com relação a linearidade do método cromatográfico foi determinada em água mili-Q com concentrações entre 5 a 125 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D, utilizando nove pontos para construção da curva de calibração. A curva de linearidade do 2,4-D é apresentada na Figura 12 e os dados obtidos para o analito 2,4-D estão na Tabela 6. Os resultados apresentaram boa resposta linear

do método, com a obtenção do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) superior a 0,99, atendendo, portanto, ao requisito de linearidade exigido pela ANVISA e pelo INMETRO (ANVISA, 2003; INMETRO, 2016).

**Tabela 6 - Tempo de retenção do 2,4-D e dados da linearidade.**

Tempo de Retenção Média ± Desvio-Padrão (min)	Equação da Reta	$R^2$
5,954 ± 0,251	C = 0,3998 área	0,9966

Fonte: Autoria própria (2021).

A precisão e exatidão do método cromatográfico foram determinados utilizando as concentrações variando de 5 a 125 mg L<sup>-1</sup> do analito 2,4-D. Foram realizadas leituras em duplicatas das amostras e calculado o coeficiente de variação do método e exatidão. Os resultados estão apresentados na Tabela 7.

**Tabela 7 – Valores do coeficiente de variação e exatidão calculados para o método de quantificação do 2,4-D por CLAE.**

Concentração teórica (mg L <sup>-1</sup> )	Concentração média (obtida) (mg L <sup>-1</sup> )	CV (%)	Exatidão (%)
5	4,39	1,94	87,83
10	9,46	3,74	94,63
15	16,36	1,80	109,05
25	27,47	1,10	109,88
35	37,45	0,65	107,00
45	48,16	0,10	107,03
55	58,03	0,05	105,51
65	66,13	0,12	101,73
75	76,55	0,09	102,10
115	111,44	0,22	96,93
125	122,49	1,12	98,01

Fonte: Autoria própria (2021).

Segundo a ANVISA (2003), não se admitindo valores superiores a 5% do coeficiente de variação, sendo o valor máximo obtido no presente estudo de 3,74%, comprovando assim, que o método é preciso. O método demonstrou-se exato, uma vez que ficou na faixa (80 – 120%) exigida pela ANVISA (ANVISA, 2003).

Kashyap et al. (2005), Primel et al. (2005) e Pinheiro et al. (2009) também utilizaram a coluna C18 (250 x 4,6, 5 µm) para análise cromatográfica do 2,4-D. Segundo Ribeiro et al.

(2013), Gabardo (2015) e Chaves et al. (2018) o comprimento de onda (230 nm) foi o melhor para detecção do 2,4-D, como também observado pelo presente estudo.

A fase móvel é uma das condições cromatográfica mais importante, pois, segundo Bicudo (2007), a fase móvel tem a função de realizar o processo de separação dos analitos. Assim, pode-se considerar que a fase móvel (metanol:água acidificada 70:30) do presente estudo foi seletiva (Apêndice), proporcionando uma boa separação do analito para possível detecção. De acordo Primel et al., (2005) e Gabardo (2015), o metanol com água acidificada foram solventes adequados da fase móvel para detecção do herbicida 2,4-D, corroborando assim com o presente estudo.

Além da presença do 2,4-D, as análises físico-químicas (Tabela 8) das amostras de água da Vila Rural Água Viva mostram que elas apresentavam valores acima dos permitidos pela Portaria N° 2914/2011 do Ministério da Saúde para turbidez e pH (Amostra 2) e coliformes totais (Amostras 1 e 2). Além disso, apresentaram elevada demanda bioquímica de oxigênio, enquadrando-se nos limites permitidos para água doce classe 2 (Amostra 1) e classe 3 (Amostra 2) (BRASIL, 2005). A amostra 1 é a água de abastecimento da comunidade proveniente de poço artesiano. Já a amostra 2 é a água da nascente, utilizada para dessedentação de animais e irrigação.

**Tabela 8 - Valores das análises físico-químicas das amostras de água da Vila Rural Água Viva.**

<b>Parâmetros</b>	<b>Amostra 1</b>	<b>Amostra 2</b>	<b>Portaria N° 2914/2011</b>
Turbidez	0,02 NTU	13,9 NTU*	1,0 NTU
DQO	2,00 mg de O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	3,00 mg de O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	-
DBO	3,12 mg de O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	5,37 mg de O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	-
pH	7,27	5,98*	6,0-9,5
Coliformes totais	3,5 x 10 <sup>2</sup> UFC/100 mL*	3,3 x 10 <sup>1</sup> UFC/100 mL*	Ausente

**\*Diferente do valor permitido pela legislação vigente.**

**Fonte: Autoria própria (2021).**

De acordo com a Portaria n° 2914 de 2011 do Ministério da Saúde, a água é considerada potável, sob o ponto de vista microbiológico, quando está de acordo com a seguinte conformidade: ausência de coliformes totais e termotolerantes em 100 mL de amostra de água para consumo. O consumo de água contaminada por agentes biológicos ou físico-químicos está relacionado a inúmeros problemas de saúde. Doenças gastrointestinais, por exemplo, apresentam como fonte de infecção a água contaminada. Essas infecções podem elevar a taxa de mortalidade em indivíduos com baixa resistência, atingindo especialmente idosos e crianças menores de cinco anos (MORAES; JORDÃO, 2002).

A matéria orgânica é um dos principais problema de poluição da águas. O consumo de oxigênio dissolvido pelos microrganismos se dá nos seus processos metabólicos de utilização e estabilização da matéria orgânica. Altos valores de DBO e DQO implicam em águas com altas taxas de material orgânico (PROCÓPIO, 2014). A DQO não é legalizado, sendo assim não apresenta valor para possível comparação. Desse modo, uma vez que os recursos hídricos estão contaminados, em especial por agroquímicos, e não recebem tratamento adequado para sua remoção, eles ainda estarão presentes na água fornecida à população, visto que esta não recebe nenhum tratamento específico, apenas cloração. Assim, é extremamente importante que a água potável seja tratada para a remoção dos contaminantes antecipadamente da distribuição para a população (SOUZA et al., 2020).

### 4.3 ENSAIOS DE ADSORÇÃO PARA REMOÇÃO DO 2,4-D

#### 4.3.1 Ensaios Preliminares de Adsorção

No presente estudo, inicialmente foi verificado o efeito do pH na adsorção do 2,4-D. De acordo com Njoku et al. (2013), o pH da solução é um fator importante e que influencia no processo de adsorção em solução aquosa. Segundo os dados da Tabela 9 não foi possível observar diferença significativa para os valores de capacidade de remoção do 2,4-D nos ensaios realizados com pH inicial da solução sendo 2 e 3. Dessa forma, optou-se por trabalhar com pH 2, visto que conforme observa-se aumento do pH, tem-se a redução da capacidade de remoção, sendo o processo favorecido em pHs ácidos.

**Tabela 9 - Efeito do pH na adsorção de 2,4-D com carvão ativado.**

pH inicial	Concentração inicial (mg L <sup>-1</sup> )	Concentração final (mg L <sup>-1</sup> )	q (mg g <sup>-1</sup> )
2	82,735 ± 1,029	11,111 ± 1,122	35,617 ± 0,633
3	89,745 ± 1,216	16,071 ± 0,467	36,509 ± 0,232
5	94,375 ± 2,151	37,234 ± 6,453	28,422 ± 3,091
7	95,168 ± 1,216	40,740 ± 0,374	27,093 ± 0,205

**Fonte: Autoria própria (2021).**

Segundo Aksu e Kabasakal (2004), Njoku et al. (2013) e Salman e Hameed (2010), o pH 2 também favoreceu a adsorção do 2,4-D. Em soluções de pH mais altos, o 2,4-D se dissocia em uma proporção maior, ficando na forma ionizada (ion 2,4 diclorofenoxiacetato). Este apresenta repulsão ou dispersão entre os íons 2,4-D e a superfície do adsorvente diminuindo a

adsorção do 2,4-D. Além disso, em pH elevados, a alta mobilidade dos íons hidroxila, que podem disputar com o ânion 2,4-diclorofenoxiacetato pelos sítios ativos de adsorção (FLORES et al., 2006). Salman e Hameed (2010) sugerem que o aumento da adsorção depende das propriedades da superfície do adsorvente e da estrutura dos agroquímicos, sendo assim, no meio ácido, a adsorção do herbicida 2,4-D aumenta mais rapidamente do que no meio básico.

#### 4.3.2 Ensaio Cinéticos de Adsorção

Após, os ensaios de cinética de adsorção foram realizados nas melhores condições operacionais obtidas no teste preliminar de pH (pH 2), mantendo-se constantes a temperatura de 25 °C e velocidade de agitação de 100 rpm. A partir dos dados cinéticos, foi observado que o equilíbrio é estabelecido a partir de cerca de 480 min de contato entre o adsorvente e o adsorbato (Figura 14), sendo este o tempo utilizado para os demais ensaios. Dentre os inúmeros de modelos cinéticos, os dados cinéticos do presente estudo foram avaliados pelos modelos de pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem e Elovich, pois são os modelos mais comumente utilizados. Os parâmetros estimados dos modelos cinéticos e o ajuste dos modelos aos dados experimentais são apresentados na Tabela 10 e na Figura 14.

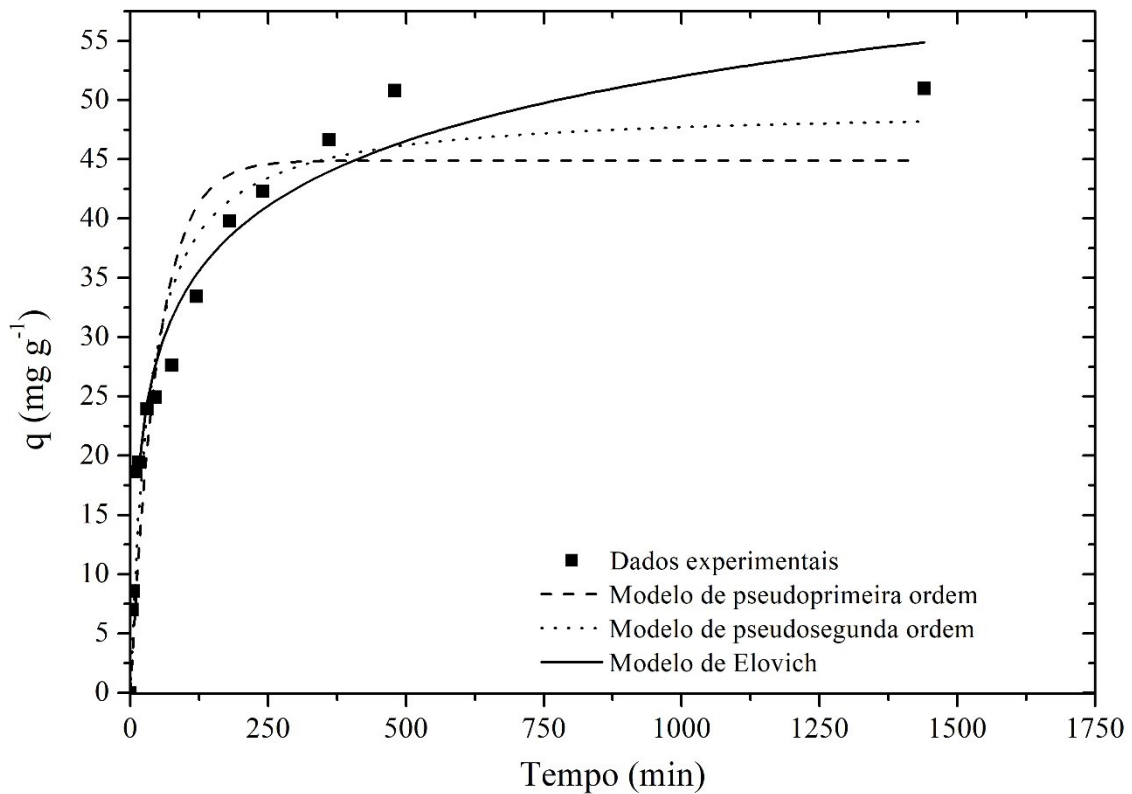
**Tabela 10 - Parâmetros ajustados pelos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem e Elovich aos dados experimentais de adsorção.**

Modelos Cinéticos	Parâmetros	Valor do ajuste
Pseudoprimeira ordem	$q_e$ (mg g <sup>-1</sup> )	44,887 ± 2,722
	$k_1$ (h <sup>-1</sup> )	0,0203 ± 0,005
	$r^2$	0,877
Pseudosegunda ordem	$q_e$ (mg g <sup>-1</sup> )	49,323 ± 2,444
	$k_2$ (g mg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	6,006 10 <sup>-4</sup> ± 1,495 10 <sup>-4</sup>
	$r^2$	0,939
Elovich	A	0,093 ± 0,025
	B	7,884 ± 0,412
	$r^2$	0,974

Fonte: Autoria própria (2021).



Figura 14 - Comportamento cinético da adsorção do 2,4-D (pH 2, temperatura de 25 °C, agitação de 100 rpm, 100 mg de 2,4-D L<sup>-1</sup>) e ajuste dos modelos cinéticos.



Ao avaliar o coeficiente de variação ( $r^2$ ), verificou-se que, o modelo cinético de Elovich ( $r^2 = 0,974$ ) foi o melhor modelo que descreveu a adsorção do 2,4-D em carvão ativado em estudo. O modelo cinético Elovich é válido para sistemas em que ocorra adsorção química (quimiossorção), sendo adequado para sistemas com superfícies adsorventes heterogêneas, com uma taxa de adsorção que decresce exponencialmente com o aumento do adsorbato adsorvido sobre a superfície do sólido (QIU et al., 2009). Segundo Ruthven (1984) na quimiossorção a ligação formada é mais forte, entre a molécula de adsorbato e a superfície do material adsorvente. Esta pode ser causada por forças eletrostáticas e ligações covalentes, podendo ser irreversível.

#### 4.3.3 Ensaios Equilíbrio de Adsorção

Os ensaios de equilíbrio foram realizados nas melhores condições operacionais obtidas no teste preliminar de pH (pH 2), mantendo-se constante a temperatura (25 °C) e velocidade de agitação (100 rpm). Dentre as inúmeras isotermas de adsorção, as isotermas de Langmuir, Freundlich, Redlich Peterson, Temkin e Toth foram escolhidas para ajustar os resultados experimentais de equilíbrio do 2,4-D, pois são as mais comumente utilizadas. Os parâmetros

estimados dos modelos e o ajuste dos modelos aos dados experimentais são apresentados na Tabela 11 e na Figura 15.

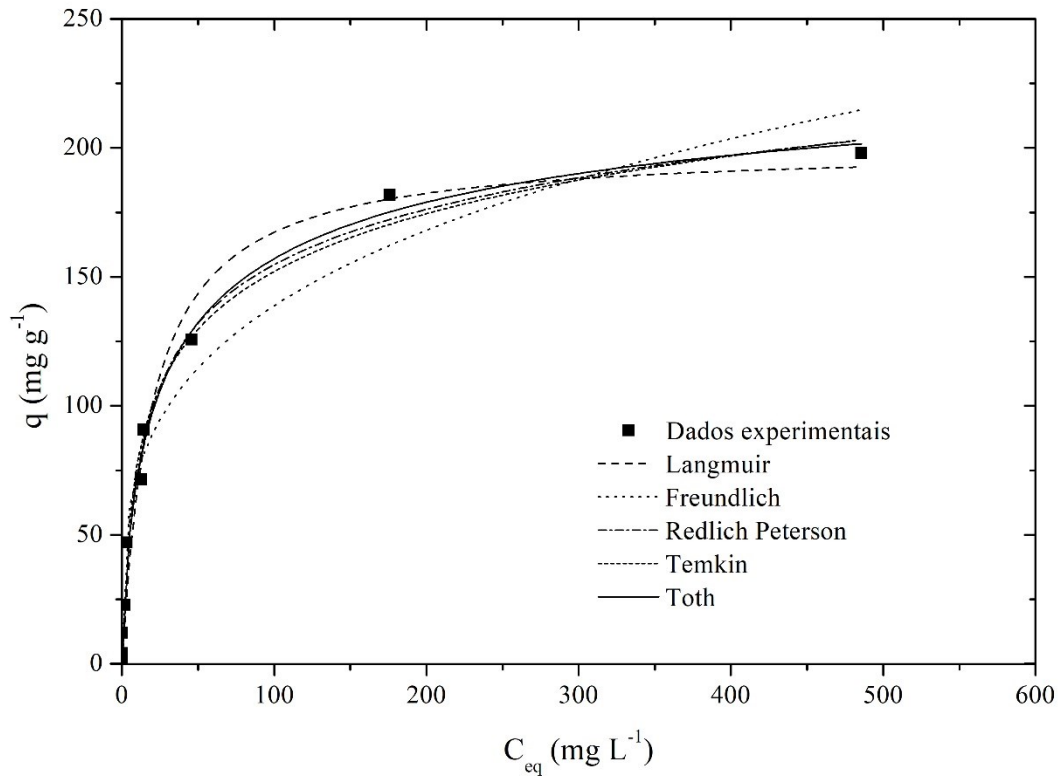
Ao avaliar o coeficiente de variação ( $r^2$ ), verificou-se que, as isotermas de Redlich Peterson ( $r^2 = 0,986$ ), Temkin ( $r^2 = 0,986$ ) e Toth ( $r^2 = 0,988$ ) obtiveram o coeficiente de variação bem próximos, sendo assim, as três isotermas foram adequadas para representar os dados experimentais da adsorção do 2,4-D em carvão ativado.

**Tabela 11 - Parâmetros ajustados pelas isotermas de Langmuir, Freundlich, Redlich Peterson, Temkin e Toth aos dados experimentais de adsorção.**

Isotermas	Parâmetros	Valor de ajuste
Langmuir	$q_{\max}$ (mg g <sup>-1</sup> )	200,406 ± 9,159
	b (L mg <sup>-1</sup> )	0,051 ± 0,008
	$r^2$	0,978
Freundlich	k (L g <sup>-1</sup> )	38,955 ± 6,054
	n	3,624 ± 0,398
	$r^2$	0,959
Redlich Peterson	$k_{rp}$ (mg g <sup>-1</sup> )	17,784 ± 5,528
	$a_{rp}$ (mg <sup>-1</sup> )	0,190 ± 0,108
	B	0,871 ± 0,048
	$r^2$	0,986
Temkin	B	1,110 ± 0,220
	$k_T$ (L mg <sup>-1</sup> )	32,291 ± 1,689
	$r^2$	0,986
Toth	$q_{\max T}$ (mg g <sup>-1</sup> )	252,758 ± 38,522
	$B_T$ (L mg <sup>-1</sup> )	0,124 ± 0,065
	$n_T$	0,511 ± 0,138
	$r^2$	0,988

**Fonte: Autoria Própria (2021).**

**Figura 15 - Dados de equilíbrio de adsorção do 2,4-D (pH 2, temperatura de 25 °C, agitação de 100 rpm) e os ajustes das isotermas.**



O modelo de Redlich-Peterson (REDLICH; PETERSON, 1959) leva em consideração as características dos modelos da Langmuir e Freundlich, sendo possível aplicar este modelo a sistemas tanto homogêneos como heterogêneos (AKPA; UNUABONAH, 2011; QIAO et al., 2009). Um dos parâmetros analisado do modelo de Redlich-Peterson foi o  $\beta$  (0,871), pois, segundo Aksu e Kabasakal (2004) quando  $\beta$  estiver entre 0 e 1, indica uma adsorção favorável, ou seja, ouve a remoção do 2,4-D, chegando no equilíbrio.

O modelo de Temkin leva em consideração as interações indiretas que ocorrem entre as moléculas do adsorbato e a redução dos valores referentes ao calor de adsorção durante um aumento na taxa de remoção do adsorbato (GARCIA, 2014). Além disso, este modelo implica que a adsorção seja definida por uma distribuição uniforme das energias de ligação (DANESHVAR et al., 2012; BONETTO, 2016).

O modelo de Toth é uma modificação do modelo de Langmuir com o intuito de diminuir os erros entre os valores experimentais, sendo que o modelo de Toth considera a adsorção em superfície heterogênea (RANGABHASHIYAM et al., 2014).

Um dos parâmetros definidos por ambas isotermas Toth e Langmuir é a capacidade máxima de adsorção ( $q_{max}$ ), em que segundo Pietrobelli (2012), a capacidade máxima de adsorção indica a quantidade de sítios disponíveis no adsorvente, ou seja, a completa saturação

da superfície do adsorvente. De acordo com o ajuste da isoterma de adsorção de Toth aos dados experimentais, a capacidade máxima de adsorção do 2,4-D foi de 252,758 mg g<sup>-1</sup> e para a isoterma de Langmuir, a capacidade máxima de adsorção foi de 200,406 mg g<sup>-1</sup>.

O segundo parâmetro encontrado por meio da isoterma de Toth e Langmuir é o coeficiente de afinidade entre o adsorvente e o adsorvato (*b*) e quanto maior o valor de (*b*), maior a afinidade (SATHISHKUMAR et al., 2008). O valor obtido para a isoterma de Toth e Langmuir foi de 0,124 e 0,051 L mg<sup>-1</sup>, respectivamente.

De maneira geral, a partir dos resultados obtidos neste estudo, observou-se a necessidade do desenvolvimento de métodos de tratamento de água que sejam de baixo custo e fácil operacionalidade para aplicação por exemplo no tratamento de água de comunidades rurais, como é o caso da Vila Rural Água Viva. Frente a isso, os resultados obtidos para a remoção do agroquímico 2,4D utilizando carvão ativado mostraram-se promissores, com remoção de cerca de 250 mg g<sup>-1</sup>, conforme modelo de Toth (R<sup>2</sup> 0,988), indicando-se tempo de equilíbrio a partir de 8 horas de contato.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados obtidos neste estudo apontam para o risco genético, associado à exposição ambiental aos agroquímicos, da população da Vila Rural Água Viva. Foi possível observar alterações mutagênicas (células binucleadas e com micronúcleo) e citotóxicas (célula picnótica) no teste do micronúcleo bucal, correlacionadas, possivelmente, a exposição ambiental às misturas de agroquímicos e, em especial, ao herbicida 2,4-D.

Os agroquímicos podem estar presentes em vários compartimentos da natureza, até mesmo em alimentos e água potável, pois quando os agroquímicos chegam aos corpos d'água, eles são capazes de causar impacto em toda a cadeia alimentar ecológica, trazendo possíveis riscos à saúde humana.

Foi possível detectar o herbicida 2,4-D na água de consumo da população e dos animais da comunidade, com valores acima do permitido pela legislação. O método cromatográfico, utilizado para detecção do 2,4-D demonstrou-se linear ( $r^2=0,9952$ ), preciso (valor máximo do coeficiente de variação de 1,80%) e exato (ficando entre a faixa de 80 – 120%).

O tratamento de água através do processo de adsorção demonstrou ser eficiente, pois, ao avaliar o coeficiente de variação ( $r^2$ ) verificou-se que o modelo cinético de Elovich ( $r^2 = 0,974$ ) foi o melhor modelo que descreveu a adsorção do 2,4-D com tempo de equilíbrio de aproximadamente 480 min. As isotermas de Redlich Peterson ( $r^2 = 0,986$ ), Temkin ( $r^2 = 0,986$ ) e Toth ( $r^2 = 0,988$ ) apresentaram-se adequadas para representatividade dos dados experimentais da adsorção do 2,4-D com carvão ativado, sendo obtida uma capacidade máxima de adsorção indicada pelo modelo de Toth de 252,758 mg g<sup>-1</sup>.

Espera-se que os resultados do presente estudo auxiliem na orientação sobre os perigos e danos à saúde e meio ambiente advindos do uso e exposição aos agroquímicos, bem como, da importância do tratamento das águas de consumo, sugerindo-se a possibilidade de emprego de um método de baixo custo e facilidade operacional.

## REFERÊNCIAS

AKPA, O. M.; UNUABONAH, E. I. Small-Sample Corrected Akaike Information Criterion: an appropriate statistical tool for ranking of adsorption isotherm models. **Desalination**, v. 272, n. 1-3, p. 20-26, 2011.

AKSU, Z.; KABASAKAL, E. Batch adsorption of 2,4-dichlorophenoxy-acetic acid (2,4-D) from aqueous solution by granular activated carbon. **Separation and Purification Technology**, v. 35, n. 3, p. 223–240, 2004.

ALAVANJA, M.C.R.; BONNER, M.R. Occupational pesticide exposures and cancer risk. A review. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 15, n. 4, p. 238-263, 2012.

ALAVANJA, M.C.R.; ROSS, M.K.; BONNER, M.R. Increased cancer burden among pesticide applicators and others due to pesticide exposure. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 63, n. 2, p. 120–142, 2013.

ANVISA. **RESOLUÇÃO-RE Nº 899, DE 29 DE MAIO DE 2003**. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2003/res0899\\_29\\_05\\_2003.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2003/res0899_29_05_2003.html). Acesso em: 24 mar 2021.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **PARECER TÉCNICO DE REAVALIAÇÃO Nº 07, de 2015/GGTOX/ANVISA**: Reavalia os riscos à saúde humana do ingrediente ativo ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), 2015.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Anvisa aprova novo marco regulatório para agrotóxicos**. 2019. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset\\_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/anvisa-aprova-novo-marco-regulatorio-para-agrotoxicos/219201](http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/anvisa-aprova-novo-marco-regulatorio-para-agrotoxicos/219201). Acesso em: 14 mai. 2020.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Agrotóxicos em alimentos**. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acesoainformacao/perguntasfrequentees/agrotoxicos/agrotoxicos-em-alimentos#:~:text=A%20avalia%C3%A7%C3%A3o%20do%20risco%20%C3%A0,risco%20%C3%A0%20sa%C3%BAde%20da%20popula%C3%A7%C3%A3o>. Acesso em: 14 março. 2021.

APHA (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION), AWWA (AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION) AND WEF (WATER ENVIRONMENT FEDERATION). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20 ed. Washington: American Public Health Association, 1998.

ARCAUTE, C. R.; LARRAMENDY, M. L.; SOLONESKI, S. Genotoxicity by long-term exposure to the auxinic herbicides 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and dicamba on *Cnesterodon decemmaculatus* (Pisces: poeciliidae). **Environmental Pollution**, v. 243, p. 670-678, dez. 2018

AULAKH, J.S. et al. A review on solid phase micro extraction - High performance liquid chromatography (SPME-HPLC) analysis of pesticides. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 35, n. 1, p. 71–85, 2005.

BANSAL, R. C. GOYAL, M. **Activated carbon adsorption**. 1 ed. Taylor & Francis Group, 2005.

BASTOS, L.C. **Adsorção de metais em solução aquosa pelos processos de batelada e coluna de leito fixo utilizando silsesquioxano funcionalizado com 5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-tiol**. 2015. Tese (Doutor em Ciência dos Materiais). Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira.

BENEDETTI, D. et al. Genetic damage in soybean workers exposed to pesticides: evaluation with the comet and buccal micronucleus cytome assays. **Mutation Research/Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis**, v. 752, n. 1-2, p. 28-33, 2013.

BERTOLINI, T. C. R.; FUNGARO, D. A.. **Estudos de Equilíbrio e Modelagem Cinética da Adsorção do Corante Cristal Violeta sobre Zeólitas de Cinzas Leve e Pesada de Carvão**. 3<sup>o</sup> *International workshop advances in cleaner production*. São Paulo, 2011.

Disponível em

<[http://www.advancesincleanerproduction.net/third/files/sessoes/4B/7/Bertolini\\_TCR%20-%20Paper%20-%204B7.pdf](http://www.advancesincleanerproduction.net/third/files/sessoes/4B/7/Bertolini_TCR%20-%20Paper%20-%204B7.pdf)>. Acesso em: 14 março. 2021.

BHAT, S. V. et al. Oxidative stress and metabolic perturbations in Escherichia coli exposed to sublethal levels of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. **Chemosphere**, v. 135, p. 453-461, 2015

BICUDO, R. C. **Avaliação de sistemas de cromatografia líquida uni e bidimensional acoplados a espectrometria de massas na análise do proteoma dos corpos protéicos de milho**. 2007. Tese (doutorado em Química Analítica). Instituto de Química de São Carlos, São Carlos.

BOLOGNESI, C. et al. The HUMNxl scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay - An update and expanded photogallery. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 753, n. 2, p. 100–113, 2013.

BOLOGNESI, C.; HOLLAND, N. The use of the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus assay for monitoring pesticide-exposed populations. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 770, p. 183–203, 2016.

BONASSI, S. et al. The HUman MicroNucleus project on eXfoLiated buccal cells (HUMN XL): The role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 728, n. 3, p. 88–97, 2011.

BONETTO, L. R. **Estudo da adsorção do corante azul de metileno por um resíduo sólido da indústria do suco de maçã**. 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais). Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul.

BORBA, C. E. et al. Removal of nickel(II) ions from aqueous solution by biosorption in a fixed bed column: experimental and theoretical breakthrough curves. **Biochemical Engineering Journal**, v. 30, n. 2, p. 184-191, 2006.

BRASIL. **LEI Nº 7.802, DE 11 DE JULHO DE 1989**. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento [...] Disponível em: <[www.planalto.gov.br](http://www.planalto.gov.br)>. Acesso em: 28 maio 2020.

BRASIL. **DECRETO Nº 4.074, DE 4 DE JANEIRO DE 2002**. Regulamenta a Lei no 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte [...] Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/2002/d4074.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074.htm)>. Acesso em: 19 março 2021.

BRASIL. **RESOLUÇÃO Nº 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água [...] Disponível em: <<http://www.mpf.mp.br/atuacao-tematica/ccr4/dados-da-atuacao/projetos/qualidade-da-agua/legislacao/resolucoes/resolucao-conama-no-357-de-17-de-marco-de-2005/view>>. Acesso em: 19 maio 2020.

BRASIL. **PORTARIA Nº 2.914, DE 12 DE DEZEMBRO DE 2011**. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água [...] Disponível em: <[https://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914\\_12\\_12\\_2011.html](https://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html)>. Acesso em: 19 maio 2020.

BROUWER, M. et al. Environmental exposure to pesticides and the risk of Parkinson's disease in the Netherlands. **Environment International**, v. 107, n. January, p. 100–110, 2017.

BROWN, T.A. **Genética um enfoque molecular**. 3ª Ed. Editora: Guanabara Koogan, 1999. p. 117-118, 135-152.

CALDAS, S. S. et al. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1604-1617, 2011.

CARBAJAL-LÓPEZ, Y. et al. Biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticide mixtures in Guerrero state, Mexico, with comet assay and micronucleus test. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 3, p. 2513-2520, 2015.

CARRANO, A.V.; NATARAJAN, A.T. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. **Mutation Research**, v. 204, p. 379–406, 1988.

CASIDA, J.E. Pest Toxicology: the primary mechanisms of pesticide action. **Chemical Research In Toxicology**, v. 22, n. 4, p. 609-619, 2009.

ÇELIK, A. et al. Bio-monitoring for the genotoxic assessment in road construction workers as determined by the buccal micronucleus cytome assay. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 92, p. 265–270, 2013.

CHAIRUNNISA, et al. Enhancing water adsorption capacity of acorn nutshell based activated carbon for adsorption thermal energy storage application. **Energy Reports**, v. 6, p. 255-263, 2020.

CHAKRABORTY, T. et al. Micronuclei and chromosomal aberrations as biomarkers: A



study in an arsenic exposed population in West Bengal, India. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 76, n. 6, p. 970–976, 2006.

CHAVES, T. V. S. et al. Occupational and life-style factors-acquired mutagenicity in agric-workers of northeastern Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, p. 15454-15461, 2017.

CHAVES, M. J. S. et al. Eficiência e robustez na determinação do herbicida 2,4-D em águas superficiais. **Revista Virtual de Química**, v. 24, n. 5, p. 1-11, 2018.

CHIEN, S. H.; CLAYTON, W. R.; Application of Elovich equation to the kinetics of phosphate release and sorption in soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 44, p. 265–268, 1980.

COLLOTTA, M.; BERTAZZI, P.A.; BOLLATI, V. Epigenetics and pesticides. **Toxicology**, v. 307, p. 35–41, 2013.

CREMONESE, C. et al. Exposição a agrotóxicos e eventos adversos na gravidez no Sul do Brasil, 1996-2000. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 28, n. 7, p. 1263-1272, 2012.

DANESHVAR, N. et al. Investigation of adsorption kinetics and isotherms of imidacloprid as a pollutant from aqueous solution by adsorption onto industrial granular activated carbon. **Journal of Food, Agriculture and Environment**, v. 5, n. 3–4, p. 425–429, 2007.

DANESHVAR, E. et al. Biosorption of three acid dyes by the brown macroalga *Stoechospermum marginatum*: isotherm, kinetic and thermodynamic studies. **Chemical Engineering Journal**, v. 195-196, p. 297-306, 2012.

European Food Safety Authority (EFSA). 2011. Scientific opinion on genotoxicity testing strategies applicable to food and feed safety assessment. **Journal**. v. 9, n. 9, p. 2379.

ELAHI, E. et al. Agricultural intensification and damages to human health in relation to agrochemicals: application of artificial intelligence. **Land Use Policy**, v. 83, p. 461-474, 2019.

ERICKSON, R. P. Somatic gene mutation and human disease other than cancer: An update. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 705, n. 2, p. 96–106, 2010.

EVANS, A.E. et al. Agricultural water pollution: key knowledge gaps and research needs. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v. 36, p. 20-27, 2019.

FAREED, M. et al. Adverse Respiratory Health and Hematological Alterations among Agricultural Workers Occupationally Exposed to Organophosphate Pesticides: A Cross-Sectional Study in North India. **Plos One**, v. 8, n. 7, p. 1–10, 2013.

FENECH, M.; BONASSI, S. The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes. **Mutagenesis**, v. 26, n. 1, p. 43-49, 2011.

FLORES, P.E.D. et al. Adsorption of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid from aqueous solution

on activated carbon cloth, **Environmental Engineering and Management Journal**, v. 16, p. 249–257, 2016.

FRANK, S.A. Somatic evolutionary genomics: Mutations during development cause highly variable genetic mosaicism with risk of cancer and neurodegeneration. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. SUPPL. 1, p. 1725–1730, 2010.

FREITAS, J. V.; NOGUEIRA, F. G.; FARINAS, C. S. Coconut shell activated carbon as an alternative adsorbent of inhibitors from lignocellulosic biomass pretreatment. **Industrial Crops and Products**, v. 137, p. 16-23, 2019.

FREUNDLICH, H; Over the adsorption in solution (Über die adsorption in Lösungen), **Journal of Physical Chemistry (Zeitschrift für Physikalische Chemie)**, v.57, p.385-470, 1906.

GABARDO, R. P. **Estudo para determinação de herbicida 2,4-D em água através de CLAE-DAD**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba.

GALVÃO, M. F. O. et al. Characterization of the particulate matter and relationship between buccal micronucleus and urinary 1-hydroxypyrene levels among cashew nut roasting workers. **Environmental Pollution**, v. 220, p. 659-671, 2017.

GANGULI, A.; CHOUDHURY, D.; CHAKRABARTI, G. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid induced toxicity in lung cells by disruption of the tubulin-microtubule network. **Toxicology Research**, v. 3, n. 2, p. 118, 2014

GARCIA, E. F. **Estudo sobre disruptores endócrinos em sistemas aquáticos: detecção e perspectivas de tratamento das águas do rio aporé-ms/go, utilizando-se adsorventes sólidos**. 2014. Doutorado em Ciências dos Materiais. Faculdade de Engenharia do Campus de Ilha Solteira, Ilha Solteira.

GARCÍA, J. et al. Association of reproductive disorders and male congenital anomalies with environmental exposure to endocrine active pesticides. **Reproductive Toxicology**, v. 71, p. 95-100, 2017.

GAULTIER, J. et al. Degradation of [carboxyl-14C] 2,4-D and [ring-U-14C] 2,4-D in 114 agricultural soils as affected by soil organic carbon content. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 217-227, 2008.

GENTILE, N. et al. Micronucleus Assay as a Biomarker of Genotoxicity in the Occupational Exposure to Agrochemicals in Rural Workers. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 88, n. 6, p. 816-822, 2012.

GONZÁLEZ BERMÚDEZ, Y. et al. Biosorption of hexavalent chromium from aqueous solution by *Sargassum muticum* brown alga. Application of statistical design for process optimization, **Chemical Engineering Journal**, v.183, p.68– 76, 2012.

GOULART, L. J. **Rótulos para Agrotóxicos**. 2016. Promatec: Equipamentos e Rótulos.

Disponível em: <<https://www.promtec.com.br/rotulos-para-agrotoxicos/>> Acessado em: 29 ago 2020.

GUELFY, L. R.; SCHEER, A. P. **Estudo de adsorção para purificação e separação de misturas na indústria petrolífera.** Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

GUIOCHON, G. Monolithic columns in high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1168, n. 1-2, p. 101-168, 2007.

GUNDOGAN, K. et al. Evaluation of chromosomal DNA damage, cytotoxicity, cytostasis, oxidative DNA damage and their relationship with endocrine hormones in patients with acute organophosphate poisoning. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 825, p. 1-7, 2018.

HASSAN, H.Z. et al. A review on the equations of state for the working pairs used in adsorption cooling systems, **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 45, p. 600–609, 2015.

HO, Y.S.; McKAY, G.; Sorption of dye from aqueous solution by peat, **Chemical Engineering Journal**, v. 70, p. 115-124, 1998.

HOEIJMAKERS, J.H.J. DNA Damage, Aging, and Cancer. **The New England Journal of Medicine**, v. 361, p. 1475–1485, 2009.

HOLLAND, N.T. et al. Micronucleus frequency and proliferation in human lymphocytes after exposure to herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in vitro and in vivo. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 521, n. 1–2, p. 165–178, 2002.

International Agency for Research on Cancer. **Volume 113: DDT, lindane and 2,4-D.** IARC Working Group. Lyon; 2–9 June 2015. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 2018.

PORTAL DE DADOS ABERTOS SOBRE AGROTÓXICOS. **Comercialização IBAMA 2020.** Disponível em: <<https://dados.contraosagrotoxicos.org/dataset/comercializacao-ibama-2020>>. Acesso em: 20 março 21.

IBGE. **Censo Agro 2017.** Disponível em: <[https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/templates/censo\\_agro/resultadosagro/index.html](https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/templates/censo_agro/resultadosagro/index.html)>. Acesso em: 5 jun. 2020.

INMETRO. **Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos.** 2017. Disponível em: [http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8\\_05.pdf](http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_05.pdf). Acesso em: 24 mar 2021.

ISLAM, F. et al. Butachlor-Induced Alterations in Ultrastructure, Antioxidant, and Stress-Responsive Gene Regulations in Rice Cultivars. **Clean - Soil, Air, Water**, v. 45, n. 3, p. 1500851, 2017.

ISLAM, F. et al. Potential impact of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on human

and ecosystems. **Environment International**, v. 111, p. 332–351, 2018.

ISMAIL, B. S.; PRAYITNO, S.; TAYEB, M. A. Contamination of rice field water with sulfonylurea and phenoxy herbicides in the Muda Irrigation Scheme, Kedah, Malaysia. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, n. 7, p. 1-13, 2015.

JARDIM, I. C. S. F. Extração em fase sólida: fundamentos teóricos e novas estratégias para preparação de fases sólidas, **Scientia Chromatographica**, V, 2, n. 1, p. 13-25, 2010.

JAWAD, A. H.; ABDULHAMEED, A. S. Statistical modeling of methylene blue dye adsorption by high surface area mesoporous activated carbon from bamboo chip using KOH-assisted thermal activation. **Energy, Ecology and Environment**, v. 5, n. 6, p. 456-469, 2020.

JAWAD, A. H.; ABDULHAMEED, A. S.; MASTULI, M. S Acid-fractionalized biomass material for methylene blue dye removal: a comprehensive adsorption and mechanism study. **Journal of Taibah University for Science**, v. 14, n. 1, p. 305-313, 2020.

KAPKA-SKRZYPCZAK, L. et al. Biomonitoring and biomarkers of organophosphate pesticides exposure - state of the art. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 18, n. 2, p. 294–303, 2011.

KARAM, D.; RIOS, J. N. G.; FERNANDES, R. C. Agrotóxicos. Belo Horizonte. Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais, 2017

KASHYAP, S. M. Rapid analysis of 2,4-D in soil samples by modified soxhlet apparatus using HPLC with UV detection. **Journal of Chromatographic Science**, V. 43, p. 81-86, 2005

KAUSAR, A. et al. Changes in buccal micronucleus cytome parameters associated with smokeless tobacco and pesticide exposure among female tea garden workers of Assam, India. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 217, n. 2-3, p. 169-175, 2014

KEARNS, J.P. et al. 2,4-D adsorption to biochars: effect of preparation conditions on equilibrium adsorption capacity and comparison with commercial activated carbon literature data. **Water Research**, v. 62, p. 20-28, 2014.

KONG, K. Y. et al. The residual dynamic of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in fishponds of the Pearl River delta, South China. **Water Research**, v. 39, n. 9, p. 1831-1843, 2005.

KRISHNA, G.; HAYASHI, M. In vivo rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation. **Mutation Research**. v. 455, n. 1-2, p. 155-166, 2000.

KUMAR, V. et al. Association of CYP1A1, CYP1B1 and CYP17 gene polymorphisms and organochlorine pesticides with benign prostatic hyperplasia. **Chemosphere**, v. 108, p. 40–45, 2014.

KURENBACH, B. et al. Sublethal Exposure to Commercial Formulations of the Herbicides Dicamba, 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid, and Glyphosate Cause Changes in Antibiotic Susceptibility in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. **Mbio**, v. 6,

n. 2, p. 00009-15, 2015.

LABORDE, M.R.R.; LARRAMENDY, M.L.; SOLONESKI, S. Cytotoxic and genotoxic assessments of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in in vitro mammalian cells. **Toxicology in Vitro**, p. 104783, 2020.

LACOURSE, M. E.; LACOURSE, W. R. General instrumentation in HPLC \*. **Liquid Chromatography**, p. 417-429, 2017.

LAGERGREN, S. About the theory of so-called adsorption of soluble substances, *Kungl, Svenska vetenskapsakademiens handlingar*, v. 24; p.1–39; 1898.

LANÇAS, F. E. Scientia Chromatographica, **Revista Trimestral do Instituto Internacional de Cromatografia**, 2008.

LANGMUIR, I. The adsorption of gases on plane surfaces of Glass, mica and platinum; The constitution and fundamental properties of solid and liquids – part 1. Solids, **Journal of the American Chemical Society**, v. 40, p.1361–1403, 1918.

LAUBY-SECRETAN, B. et al. Use of mechanistic data in the IARC evaluations of the carcinogenicity of polychlorinated biphenyls and related compounds. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 3, p. 2220-2229, 2016.

LERRO, C. C. et al. Organophosphate insecticide use and cancer incidence among spouses of pesticide applicators in the Agricultural Health Study. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 72, n. 10, p. 736-744, 2015.

LONDRES, F. **AGROTÓXICOS NO BRASIL: um guia para ação em defesa da vida**. 1. ed. Rio de Janeiro: Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011. p. 1-188.

LOOMIS, D. et al. Carcinogenicity of lindane, DDT, and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. **The Lancet Oncology**, p. 891–892, 2015.

LOPES, C.V.A.; ALBUQUERQUE, G.S.C. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em Debate**, v. 42, n. 117, p. 518-534, 2018.

LUO, D. et al. Exposure to organochlorine pesticides and non-Hodgkin lymphoma: A meta-analysis of observational studies. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1–11, 2016.

LYONS, G.; WATTERSON, A. A review of the role pesticides play in some cancers: children, farmers, and pesticide users at risk? **Chem Trust**. p. 1–48, 2010.

MALUF, S.W.; ANDERDTMANN, B. Biomonitoramento do Dano Genético em Humanos. In: SILVA, J.; ERDTMAN, B.; HENRIQUES, J.A.P. **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 2003. p. 307-321.

MARTIN, F. L. et al. Increased exposure to pesticides and colon cancer: early evidence in Brazil. **Chemosphere**, v. 209, p. 623-631, 2018.

MARTÍNEZ, M.L.; TORRES, M.M.; GUZMÁN, C.A.; MAESTRI, D.M. Preparation and

characteristics of activated carbon from olive stones and walnut shells. **Industrial Crops and Products**, v. 23, n. 1, p. 23–28, 2006.

MAZUR, C.S.; MARCHITTI, S.A.; ZASTRE, J. P-glycoprotein inhibition by the agricultural pesticide propiconazole and its hydroxylated metabolites: Implications for pesticide-drug interactions. **Toxicology Letters**, v. 232, n. 1, p. 37–45, 2015.

MELO, Luísa. Ritmo de liberação de agrotóxicos em 2019 é o maior já registrado. **Jornal da Globo – G1**. 26/05/2019. Disponível em:

<<https://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2019/05/26/ritmo-de-liberacao-de-agrotoxicos-em-2019-e-o-maior-ja-registrado.ghtml>>. Acesso em: 18 set. 2020.

MIMURA, A. M. S. et al. Aplicação da casca de arroz na adsorção dos íons  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$ . **Química Nova**, v. 33, n. 6, p.1279-1284, 2010.

MORAES, D. S. L.; JORDÃO, B. Q. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana: water resources deterioration and its impact on human health, **Revista Saúde Pública**, v. 36, n.3, p. 370-374, 2002.

MORENO-ARRIBAS, M. V. ; POLO, M. C. High-performance Liquid Chromatography. Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC), p. 1274-1280, 2003.

MOSHOU, H. et al. Assessment of genetic effects and pesticide exposure of farmers in NW Greece. **Environmental Research**, v. 186, p. 109558, 2020.

MOUNTASSIF, D. Biochemical and histological alterations of cellular metabolism from jerboa (*Jaculus orientalis*) by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid: effects on d-3-hydroxybutyrate dehydrogenase. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 90, n. 2, p. 87-96, 2008.

MUSTAFA, M. D. et al. Gene-environment interaction in preterm delivery with special reference to organochlorine pesticides. **Molecular Human Reproduction**, v. 19, n. 1, p. 35-42, 2012

NASCIMENTO, R. F. et al. **CROMATOGRAFIA GASOSA: Aspectos teóricos e práticos**. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2018.

NEJATI, K. et al. Study of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) removal by Cu-Fe-layered double hydroxide from aqueous solution. **Applied Surface Science**, v. 280, p. 67-73, 2013.

NEVE, P. Challenges for herbicide resistance evolution and management: 50 years after Harper. **Weed Research**, v. 47, n. 5, p. 365-369, 2007.

NEVES, P.D.M.; BELLINI, M. Intoxicações por agrotóxicos na mesorregião norte central paraense, Brasil - 2002 a 2011. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 18, n. 11, p. 3147-3156, 2013.

NJOKU, V. O.; FOO, K.Y.; HAMEED, B.H. Microwave-assisted preparation of pumpkin seed hull activated carbon and its application for the adsorptive removal of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. **Chemical Engineering Journal**, v. 215–216, p. 383–388, 2013.

NJOKU, V. O. et al. Adsorption of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by mesoporous activated carbon prepared from H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>-activated langsat empty fruit bunch. **Journal of Environmental Management**, v. 154, p. 138-144, 2015.

OECD - Guideline for the Testing of Chemicals – *In Vitro* Mammalian Cell Micronucleus Test. 23 p., 2010. Disponível em: [www.oecd.org](http://www.oecd.org). Acesso em: 07 de fevereiro de 2014.

OLIVEIRA, L. C.A. et al. Preparation of activated carbons from coffee husks utilizing FeCl<sub>3</sub> and ZnCl<sub>2</sub> as activating agents. *Journal Of Hazardous Materials*, [S.L.], v. 165, n. 1-3, p. 87-94, 15 jun. 2009.

OLIVEIRA, L.; TOOGE, R. Número de agrotóxicos registrados em 2019 é o maior da série histórica; 94,5% são genéricos, diz governo. **Jornal da Globo – G1**. 28/12/2019. Disponível em: <<https://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2019/12/28/numero-de-agrotoxicos-registrados-em-2019-e-o-maior-da-serie-historica-945percent-sao-genericos-diz-governo.ghtml>>. Acesso em: 18 set. 2020.

ORDAZ-GUILLÉN, Y. et al. Evaluating the degradation of the herbicides picloram and 2,4-D in a compartmentalized reactive biobarrier with internal liquid recirculation. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 14, p. 8765-8773, 2014.

OUYANG, W. et al. Optimization of typical diffuse herbicide pollution control by soil amendment configurations under four levels of rainfall intensities. **Journal of Environmental Management**, v. 175, p. 1-8, jun. 2016.

PARRÓN, T. et al. Environmental exposure to pesticides and cancer risk in multiple human organ systems. **Toxicology Letters**, v. 230, n. 2, p. 157–165, 2014.

PIETROBELLI, J. M. T. A. **Remoção dos íons Cádmio, Cobre e Zinco utilizando Macrófita Egeria Densa**. 2012. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

PIGNATI, W.A.; LIMA, F.A.N.S.; LARA, S.S.; CORREA, M.L.M.; BARBOSA, J.R.; LEÃO, L.H.C.; PIGNATTI, M.G. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: Uma ferramenta para a vigilância em saúde. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 22, n. 10, p. 3281–3293, 2017.

PINHEIRO, A. et al. Estudo da Presença de Pesticidas no Perfil do Solo, sob Diferentes Tipos de Culturas. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 14, n.3, p. 51-59, 2009.

PORTO, M.F.; SOARES, W.L. Modelo de desenvolvimento, agrotóxicos e saúde: um panorama da realidade agrícola brasileira e propostas para uma agenda de pesquisa inovadora. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 37, n. 125, p. 17–50, 2012.

PRIMEL, E. G. et al. 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. *Química Nova*, v. 28, n. 4, p. 605-609, 2005.

PROCÓPIO, A. S. Avaliação da eficiência do sistema de tratamento de efluentes tipo mizumo business em canteiro de obras em Sabará-MG. 2014. Trabalho de Conclusão de

Curso. Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte.

QIAO, S. et al. An investigation on the adsorption of acid dyes on bentonite based composite adsorbent. **Separation and Purification Technology**, v. 67, n. 2, p. 218-225, 2009.

QIU, H. et al. Critical review in adsorption kinetic models. **Journal of Zhejiang University-Science A**, v. 10, n. 5, p. 716-724, 2009.

RAJURKAR, N. S.; GOKARN, A. N.; DIMYA, K.; Adsorption of Chromium (III), Nickel(II), and Copper(II) from Aqueous Solution by Activated Alumina. **Clean – Soil, Air, Water**, v. 39, n. 8, p. 767–773, 2011.

RANGABHASHIYAM, S. et al. Relevance of isotherm models in biosorption of pollutants by agricultural byproducts. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, n. 1, p. 398-414, 2014.

REDLICH, O.; PETERSON, D.L.; A useful adsorption isotherm, **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 63, p. 1024-1026, 1959.

REUTER, S. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 11, p. 1603-1616, 2010.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-778, 2004.

RIBEIRO, L.R.; MARQUES, E.K. A importância da mutagênese ambiental na carcinogênese humana. In: RIBEIRO, L.R.; SALVADORI, D.M.F.; MARQUES, E.K. **Mutagênese Ambiental**. Canoas: Ed. ULBRA, 2003. p. 21-27.

RIBEIRO, A. C. A. et al. Resíduos de pesticidas em águas superficiais de área de nascente do Rio São Lourenço-MT: validação de método por extração em fase sólida e cromatografia líquida. **Química Nova**, v. 36, n. 2, p. 284-290, 2013

RIVERO, J. et al. In vitro evaluation of oestrogenic/androgenic activity of the serum organochlorine pesticide mixtures previously described in a breast cancer case-control study. **Science of The Total Environment**, v. 537, p. 197-202, 2015.

ROCHA, A.D.C. Agrotóxicos: uma análise comparativa da legislação entre Brasil, União Europeia e Estados Unidos da América. **Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2014.

ROHR, P. et al. Buccal micronucleus cytome assay: inter-laboratory scoring exercise and micronucleus and nuclear abnormalities frequencies in different populations from Brazil. **Toxicology Letters**, v. 333, p. 242-250, 2020.

RUIZ-GUZMÁN, J. A. et al. Cytogenetic damage in peripheral blood lymphocytes of children exposed to pesticides in agricultural areas of the department of Córdoba, Colombia. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 824, p. 25-31, 2017.



RUTHVEN, D. M. **Principles of adsorption and adsorption process**. John Wiley & Sons, New York, 1984.

SABARWAL, A.; KUMAR, K.; SINGH, R.P. Hazardous effects of chemical pesticides on human health—Cancer and other associated disorders. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 63, n. August, p. 103–114, 2018.

SALMAN, J.M.; HAMEED, B.H. Adsorption of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and carbofuran pesticides onto granular activated carbon. **Desalination**, v. 256, n. 1–3, p. 129–135, 2010.

SATHISHKUMAR, M. Porogen effect on characteristics of banana pith carbon and the sorption of dichlorophenols. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 320, n. 1, p. 22–29, 2008.

SAYĞILI, H.; GÜZEL, F.; ÖNAL, Y. Conversion of grape industrial processing waste to activated carbon sorbent and its performance in cationic and anionic dyes adsorption. **Journal of Cleaner Production**, v. 93, p. 84–93, 2015.

SHAREEF, K; SHAW, G. Sorption kinetics of 2,4-D and carbaryl in selected agricultural soils of northern Iraq: application of a dual-rate model. **Chemosphere**, v. 72, n. 1, p. 8–15, 2008.

SHARMA, E. et al. A case control study of gene environmental interaction in fetal growth restriction with special reference to organochlorine pesticides. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 161, n. 2, p. 163–169, 2012.

SHARMA, T. et al. Association of organochlorine pesticides and risk of epithelial ovarian cancer: A case control study. **Journal of Reproductive Health and Medicine**, v. 1, n. 2, p. 76–82, 2015.

SHENG, G. et al. Potential contributions of smectite clays and organic matter to pesticide retention in soils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 2899–2907, 2001.

SHU, D. et al. Prominent adsorption performance of amino-functionalized ultra-light graphene aerogel for methyl orange and amaranth. **Chemical Engineering Journal**, v. 324, p. 1–9, 2017.

SILVA, E.B. A contaminação dos lençóis freáticos provenientes do uso de agrotóxicos. **Faculdade de Ciências Contábeis e de Administração**, 2014.

SILVA, J. DNA damage induced by occupational and environmental exposure to miscellaneous chemicals. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 770, p. 170–182, 2016.

SILVÉRIO, F.O.; SILVA, J.G.S.; AGUIAR, M.C.S.; CACIQUE, A.P.; PINHO, G.P. Análise de agrotóxicos em água usando extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 35, n. 10, p. 2052–2056, 2012.

SLATTER, M.A.; GENNERY, A.R. Primary immunodeficiencies associated with DNA-repair disorders. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, v. 12, p. 1–26, 2010.

SONG, Y. Insight into the mode of action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) as an herbicide. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 56, n. 2, p. 106–113, 2014.

SOTELO, J.L.; OVEJERO, G.; DELGADO, J.A.; MARTÍNEZ, I. Comparison of adsorption equilibrium and kinetics of four chlorinated organics from water onto GAC. **Water Research**, v. 36, n. 3, p. 599–608, 2002.

SOUZA, L.C. **Uma análise crítica da qualidade de águas destinadas ao consumo humano no município de Francisco Beltrão-PR**. 2015. Dissertação (Mestrado em Geografia). Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Francisco Beltrão.

SOUZA, R. M. et al. Occurrence, impacts and general aspects of pesticides in surface water: a review. **Process Safety And Environmental Protection**, v. 135, p. 22-37, 2020.

SOUZA, R. M. et al. Adsorption of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) by agro-industrial by-product with chemical and thermal modification: adsorption studies and mechanism. **Industrial Crops and Products**, v. 161, p. 113200, 2021.

TABREZ, S.; PRIYADARSHINI, M.; PRIYAMVADA, S.; KHAN, M.S.; NA, A.; ZAIDI, S.K. Gene-environment interactions in heavy metal and pesticide carcinogenesis. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 760, p. 1–9, 2014.

THOMAS, P. et al. Buccal micronucleus cytome assay. **Nature Protocols**, v. 4, n. 6, p. 825-837, 2009.

TOBI, A. R. et al. Comparative analysis of physiochemical properties of physically activated carbon from palm bio-waste. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 8, n. 5, p. 3688-3695, 2019.

TORRES, J. A. et al. Novel eco-friendly biocatalyst: soybean peroxidase immobilized onto activated carbon obtained from agricultural waste. **Rsc Advances**, v. 7, n. 27, p. 16460-16466, 2017.

TOTH, J. State equations of the solid gas interface layer. **Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae**, v. 69, p. 311–317, 1971.

TRAN, A. T. K.; HYNE, R. V.; DOBLE, P. Determination of commonly used polar herbicides in agricultural drainage waters in Australia by HPLC. **Chemosphere**, v. 67, n. 5, p. 944-953, 2007

TUPKANJANA, P. ; PHALAKORNKULE, C. Development of Activated Carbons from Sunflower Seed Husk for Metal Adsorption. **Journal of Chemical Engineering of Japan**, v. 40, n. 3 p. 222-227, 2007.

TURNER, N. H. Kinetics of Chemisorption: An Examination of the Elovich Equation. **Journal of catalysis**. v. 36, p. 262-265, 1975.

VARGAS, A. M. M. et al. Kinetic and equilibrium studies: adsorption of food dyes acid yellow 6, acid yellow 23, and acid red 18 on activated carbon from flamboyant pods. **Chemical Engineering Journal**, v. 181-182, p. 243-250, 2012.

VILLELA, I.V. et al. Reparação de DNA em células Eucarióticas. In: Silva, J.; Erdtmann, B.; Henriques, J.A. **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 2003. p. 140-163.

YADAV, C. S. et al. Polymorphism in CYP1A1, GSTM1, GSTT1 genes and organochlorine pesticides in the etiology of hypospadias. **Human & Experimental Toxicology**, v. 30, n. 10, p. 1464-1474, 2011.

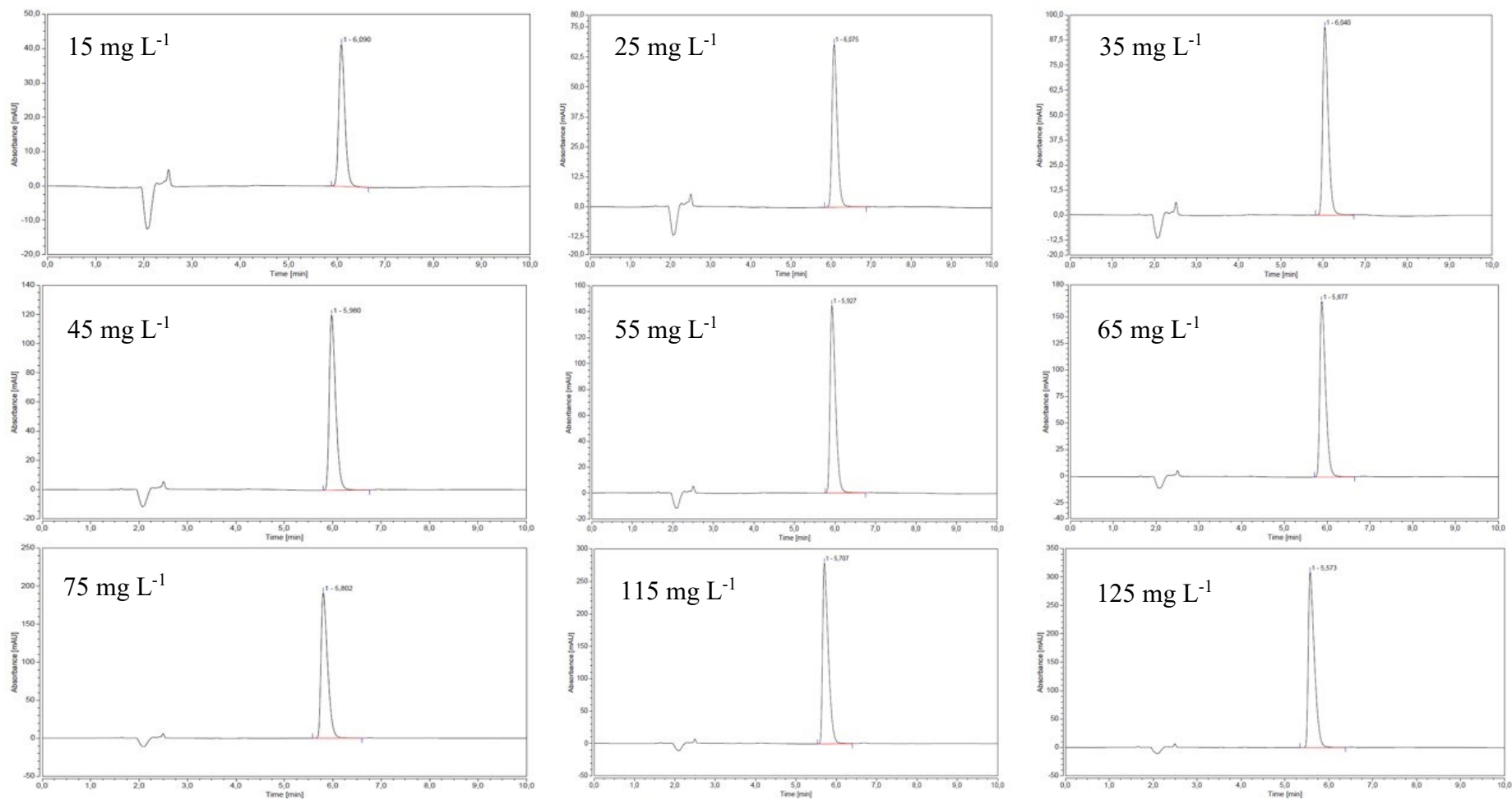
WALTERS, J. Environmental Fate of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid. **Environmental Monitoring and Pest Management**. 2011.

ZELJEZIC, D.; GARAJ-VRHOVAC, V. Chromosomal aberrations, micronuclei and nuclear buds induced in human lymphocytes by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid pesticide formulation. **Toxicology**, v. 200, n. 1, p. 39-47, 2004.

ZWART, N. et al. Development of a luminescent mutagenicity test for high-throughput screening of aquatic samples. **Toxicology in Vitro**, v. 46, p. 350-360, 2018.

## APENDICÊ

Análises cromatográficas do herbicida 2,4-D das concentrações: 15, 25, 35, 45, 55, 65, 75, 115 e 125



## ANEXO

Questionário adaptado, recomendado pela *International Commission for Protection Against Environmental Mutagens and Carcinogens* (Carrano e Natarajan, 1988).

### INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

**Código no projeto:** 26615019.3.0000.5547

#### HISTÓRIA PESSOAL

1. Nome:

2. Idade:

4. Sexo:  Masculino  Feminino

5. Cidade onde nasceu e onde vive:

6. Grupo étnico:  branco;  pardo;  negro;  amarelo;  indígena

7. Qual a sua situação conjugal?

casado/companheiro  separado/divorciado  solteiro  viúvo

8. Número de filhos naturais:

Formação escolar:

1º grau incompleto  1º grau completo

2º grau incompleto  2º grau completo

superior incompleto  superior completo

pós-graduação

#### HISTÓRIA OCUPACIONAL

9. Qual o seu trabalho atual?

10. Há quanto tempo você trabalha nesse local?

11. Onde você trabalhou antes e por quanto tempo?
12. Qual a sua carga horária de trabalho semanal atual?

### EXPOSIÇÃO

13. No seu trabalho atual já se expôs a alguma dessas substâncias? Assinale e **Indique quantas vezes por mês no \_\_\_ (espaço sublinhado)**

**derivados do petróleo**

Nos últimos 12 meses- \_\_\_  Nos últimos 10 anos \_\_\_

**tintas/corantes**

Nos últimos 12 meses- \_\_\_  Nos últimos 10 anos \_\_\_

**solventes**

Nos últimos 12 meses- \_\_\_  Nos últimos 10 anos \_\_\_

**Radiação**

Nos últimos 12 meses- \_\_\_  Nos últimos 10 anos \_\_\_

\*\*\***Quail(is)** (Cite o mais frequentes) \_\_\_\_\_ ?

**outras substâncias químicas** – quais? \_\_\_\_\_

14. Você utiliza **equipamento de segurança em** seu trabalho? Com qual frequência?

sim  não  ///  sempre  quase sempre  pouco  não manipulo

Se sim. Quais? (ex: Luva, Bota, óculos, máscara,...) \_\_\_\_\_

### EXPOSIÇÃO DIRETA A AGROTÓXICOS

*Caso você não tenha exposição direta a agrotóxicos vá para a questão 24*

15. Tem contato com agrotóxico?  Sim  Não

16. Situação em que se dá o contato:

- Agricultura  Pecuária  Serviço de desinsetização  
 Serviço público/Agente de saúde  Uso doméstico  ambiental – morar perto  
 Outros setores: \_\_\_\_\_

17. Formas de contato:

- Preparo do produto  
 Aplicação do produto (pulverização)  
 Supervisão na aplicação  
 Armazenamento dos produtos  
 Descarte da embalagem  
 Limpeza/Manutenção do equipamento  
 Limpeza da roupa  
 Carga/Descarga  
 Transporte  
 Controle/Expedição  
 Presença no ambiente  
 Outras formas: \_\_\_\_\_

18. Tempo de exposição à agrotóxicos: 5 anos

19. Uso de Equipamento de proteção individual (EPI's):

- Luvas  Botas  Máscara  Óculos  Nenhuma proteção  
 Outras: \_\_\_\_\_

20. Medidas de proteção gerais:

- Observação de ventos  Higiene após o contato  Nenhuma proteção  
 Outras: \_\_\_\_\_

21. Data do último contato com agrotóxico:

22. Produtos utilizados no último contato:

1- \_\_\_\_\_

2- \_\_\_\_\_

3- \_\_\_\_\_

4- \_\_\_\_\_

23. Desde a sua última exposição a agrotóxicos você teve algum desses sintomas:

- Dor de cabeça  Tontura  Alterações de memória
- Irritabilidade  Alteração de sono  Formigamento no corpo
- Visão turva  Confusão mental  Fobia de Luz
- Fraqueza muscular  Salivação  Cansaço fácil nas pernas
- Náusea/Vômito  Falta de apetite  Incontinência urinária
- Diarréia constante  Dor no estômago  Sangramentos
- Irritação da pele  Taquicardia  Suor intenso
- Falta de ar  Tosse  Alteração na vida sexual
- Outros:

### HISTÓRIA DE FUMO

24. Você **fuma ou já fumou**?  sim  não – *Se não, vá para a questão 28*

\*Não fuma mais

25. Se sim, quantos cigarros fuma por dia e há quanto tempo?

(número de cigarros); \_\_\_\_\_  meses /  anos

26. Se parou, durante quanto tempo você fumou?  meses /  anos

27. Quantos cigarros fumava por dia?

### MEDICAMENTOS, DOENÇAS E EXERCÍCIOS

28. **Medicamentos utilizados no dia-a-dia** (indicar, qual e a frequência em vezes/dia):

a() hormônios \_\_\_\_\_



b() vitaminas e/ou suplementos: \_\_\_\_\_

c() comprimidos para pressão \_\_\_\_\_

d() antibióticos \_\_\_\_\_

e() insulina \_\_\_\_\_

f() tranquilizantes \_\_\_\_\_

g() relaxantes musculares \_\_\_\_\_

h() outros – quais? \_\_\_\_\_

29. Está fazendo algum tratamento de saúde? (por ex: coluna, gripe, alergia, dores, etc...)

sim  não

Qual? \_\_\_\_\_ Tempo do tratamento: \_\_\_\_\_

30. Fez algum raio-X, Tomografia ou outro exame de imagem nos últimos 6 meses?

sim. Qual (is) \_\_\_\_\_  não

31. Você pratica algum **exercício físico**?  sim  não

32. Se sim, qual?

33. Qual a frequência?

1 vez /semana  2 vezes/semana  três vezes/semana  4 vezes/ semana ou  
mais

34. Você já teve/tem alguma dessas doenças?

Hepatite. Qual ? \_\_\_\_\_

AIDS

Anemias

Mononucleose

Herpes

Infecção Bacteriana ou viral

diabetes

doenças cardíacas

Doença Crônica Renal

outras – quais? \_\_\_\_\_

35. Casos de câncer na família:  não  sim

36.  câncer – Qual? \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Fez quimioterapia/Radioterapia

sim  não

37. Quais os tipos de câncer?

pele:  leucemia  esôfago ( . ) próstata  pulmão

outros: \_\_\_\_\_

38. Alguma outra doença que quer destacar que a família teve ou tem?

não  sim

Qual?

### **DIETA**

38. Quantas refeições por dia?

39. Você come frutas e vegetais?  Sim  Não

40. Você come **Carne**?  Sim  Não

41. Se sim, com que frequência você come (marque X):

Dias por semana

1 a 2

3 a 4

5 a 6

Todos os dias