

**Universidade de São Paulo
Centro de Energia Nuclear na Agricultura**

**Ecotoxicologia do agrotóxico fipronil em pacu (*Piaractus mesopotamicus*
Holmerg) e paulistinha (*Danio rerio*) e resíduos de agrotóxicos na bacia
do rio Corumbataí**

ANA LUCIA CELLA

**Piracicaba
2009**

Ana Lucia Cella

**Ecotoxicologia do agrotóxico fipronil em pacu (*Piaractus mesopotamicus*
Holmerg) e paulistinha (*Danio rerio*) e resíduos de agrotóxicos na bacia
do rio Corumbataí**

**Tese apresentada ao Centro de Energia
Nuclear na Agricultura da Universidade
de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências**

**Área de Concentração: Química na
Agricultura e no Ambiente**

**Orientador: Prof. Dr. Valdemar Luiz
Tornisielo**

Piracicaba

2009

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Cella, Ana Lucia

Ecotoxicologia do agrotóxico fipronil em pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmerg) e paulistinha (*Danio rerio*) e resíduos de agrotóxicos na bacia do rio Corumbataí / Ana Lucia Cella; orientador Valdemar Luiz Tornisielo. - - Piracicaba, 2009.

84 p. : il.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Água contaminada 2. Cromatografia a gás 3. Inseticidas organoclorados
4. Monitoramento ambiental 5. Toxicologia ambiental I. Título

CDU 556.5:504.5

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos que contribuíram com um “pedacinho” para que ele se concretizasse. Claro só pelas mãos de DEUS...

Ofereço ao Prof. Valdemar Luiz Tornisielo por sempre acreditar que seria possível, mesmo nos momentos mais difíceis.

“O mais incompreensível sobre o mundo é que ele seja compreensível”

(Albert Einstein, 1927)

AGRADECIMENTOS

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura e a Universidade de São Paulo por proporcionar o desfrute de um curso de tantos méritos. Incluindo a Seção de Pós Graduação, Comissão de Pós Graduação, Seção Técnica de Biblioteca e demais setores que sempre estiveram prontos para me atender.

Ao Prof. Valdemar Luiz Tornisielo pela orientação e paciência, sempre!

A Bioagri Ambiental Ltda por conceder as dependências de seus laboratórios para a execução de parte dos trabalhos. Em especial gostaria de agradecer as pessoas de Valmir David, Gustavo Artiaga, Fábio Segehese, Lizandra Bensabati, José Carlos Moretti, Pedro Zagatto, Marcos Ceccatto, Joseane Bülow, Julio Silva, Eliane Castilho, Débora Silva e Roberta Santos, por me acompanharem durante toda esta jornada e compreenderem muitas vezes as minhas ausências no trabalho.

A colega de trabalho Simone Nascimento por me ajudar do início ao fim com as orientações técnicas e validações analíticas, além das palavras de incentivo e encorajamento.

A todos aqueles que me acompanharam nesta trajetória: meus pais (Eleni e Sérgio) e meus irmãos (Jonathas e João Paulo) por se orgulharem sempre tanto de mim. E é claro não poderia deixar de esquecer: Ana Clara (minha peposa), Raymond, Julinha, Giovana, Edilaine, Alex, Keiko, Thiemy, Daniel, Bruno, Tici, Maria Julia e Valdemar por sempre fazerem-se presentes e torcerem por mim em todas as minhas conquistas.

RESUMO

CELLA, A.L. **Ecotoxicologia do agrotóxico fipronil em pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmerg) e paulistinha (*Danio rerio*) e resíduos de agrotóxicos na bacia do rio Corumbataí**. 2009. 126f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, 2009.

A bacia do Corumbataí apesar de seu estado considerável de preservação, no que diz respeito à quantidade e qualidade das águas, merece grande atenção visto que abastece os municípios de Piracicaba, Santa Gertrudes, Rio Claro, Corumbataí e Analândia e recebe descargas de esgoto doméstico e industrial de 7 municípios a montante (Analândia, Corumbataí, Ipeúna, Itirapina, Santa Gertrudes, Rio Claro e Charqueada). Além do que, é expressivo o uso intensivo dos solos desses municípios para o cultivo de cana-de-açúcar, na qual são utilizados, entre outros insumos, o agrotóxico fipronil. Apesar da grande importância da bacia para a região não há estudos que demonstrem o impacto causado pela agricultura e uso intensivo de agrotóxicos, na qualidade das águas e mesmo para a vida aquática da mesma. Para tanto este trabalho tem como objetivo o monitoramento ambiental na bacia do Corumbataí, determinando a ocorrência, ou melhor, a distribuição temporal e espacial de resíduos do agrotóxico fipronil e de um grupo de organoclorados, sendo eles: lindano, clordano, endossulfan, alaclor, heptacloro e heptacloro epóxido, aldrin, dieldrin, endrin, metalacloro, metoxicloro e dodecacloropentaciclodecano, em águas provenientes de diversos pontos de coleta na bacia do rio Corumbataí, além de validar metodologia de extração e cromatográfica por CG-MS para análise do agrotóxico fipronil e demais organoclorados; correlacionar a contaminação das águas com o uso de agrotóxicos na bacia; Determinar os níveis de toxicidade aguda do agrotóxico fipronil para *Danio rerio* (Paulistinha) e *Piaractus mesopotamicus* Holmerg (Pacu).

Palavras-chave: Rio Corumbataí, Agrotóxicos, Fipronil, Organoclorados, CG-MS, Água.

ABSTRACT

CELLA, A.L. **Ecotoxicologia do agrotóxico fipronil em pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmerg) e paulistinha (*Danio rerio*) e resíduos de agrotóxicos na bacia do rio Corumbataí**. 2009. 126f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, 2009.

The basin of the Corumbataí despite their considerable state of preservation, as regards quantity and quality of water, deserves special attention since supplying the municipalities of Piracicaba, Santa Gertrudes, Rio Claro, Corumbataí and Analândia and receives discharges of domestic and industrial sewage from 7 cities upstream (Analândia, Corumbataí, Ipeúna, Itirapina, Santa Gertrudes, Rio Claro and Charqueadas). Furthermore, it's expressive the intensive use of land of those towns for the cane sugar growing, which are used, among other inputs, the pesticide fipronil. Despite the great importance of the basin for the region there are no studies that demonstrate the impact of agriculture and intensive use of pesticides in water quality and even its aquatic life. Thus this work has as objective the environmental monitoring in the basin of the Corumbataí, determining the occurrence, or rather, the temporal and spatial distribution of residues of the pesticide fipronil and a group of organochlorines, which are: lindane, chlordane, endosulfan, alachlor, heptachlor and heptachlor epoxide, aldrin, dieldrin, endrin, metalachlor, methoxychlor and dodecachlorpentaciclodecano in waters from various collection points in the basin of the river Corumbataí, besides validate methodology for extraction and chromatography by GC-MS for analysis of pesticide fipronil and other Organochlorine; correlate water contamination with the use of pesticides in the basin, determine the levels of acute toxicity of the pesticide fipronil for *Danio rerio* (Paulistinha) and *Piaractus mesopotamicus* Holmerg (Pacu).

Keywords: Rio Corumbataí, Pesticides, Fipronil, organics, GC-MS, Water.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2 . REVISÃO DA LITERATURA.....	11
2.1 Características da sub-bacia do rio Corumbataí.....	11
2.2 Uso e ocupação do solo na bacia do rio Corumbataí.....	15
2.3 Agrotóxicos.....	19
2.4 Ecotoxicologia.....	24
2.5 Cromatografia Gasosa.....	28
3 OBJETIVOS.....	30
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
4.1 Trabalhos de campo e coletas de amostras de água.....	30
4.2 Análises de águas.....	32
4.2.1 Preparo das amostras de águas para as análises laboratoriais.....	32
4.3 Análises de águas.....	32
4.4 Extração do fipronil.....	33
4.5 Extração dos compostos: lindano, clordano, endossulfan, alaclor, heptacloro e heptaclor epóxido, aldrin, dieldrin, endrin, metalacloro, metoxicloro e dodecacloropentaciclodecano.....	34
4.6 Brancos.....	34
4.7 Aplicação do composto <i>surrogate</i> (controle de qualidade analítica).....	35
4.8 Validação metodológica.....	35
4.8.1 Preparo dos padrões.....	36
4.9 Cálculos finais.....	36
5 MATERIAL E MÉTODOS PARA OS ENSAIOS DE TOXICIDADE AGUDA EM PEIXES.....	36
5.1 Tanque e água de cultivo.....	38
5.1.1 Aclimação da espécie pacu e paulistinha.....	39
5.2 Alimentação e limpeza.....	39
5.3 Teste agudo com peixes 96 horas.....	39
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
6.1 Características físico-químicas das amostras monitoradas.....	40
6.2 Agrotóxicos Monitorados.....	43

6.2.1 Tempo de retenção dos compostos monitorados.....	45
6.2.2 Seleção das Massas dos Compostos.....	46
6.2.3 Condições cromatográficas otimizadas para separação, identificação e quantificação do agrotóxico Fipronil.....	47
6.2.4 Condições cromatográficas otimizadas para separação, identificação e quantificação do agrotóxico lindano, clordano, endossulfan, alaclor, heptacloro e heptacloro epóxido, aldrin, dieldrin, edrin, metalacloro, metoxicloro e dodecacloropentaciclodecano.....	47
6.2.5 Curva de calibração para o agrotóxico fipronil.....	48
6.2.6 Curvas de calibração para o agrotóxicos lindano, clordano, endossulfan, alaclor, heptacloro e heptacloro epóxido, aldrin, dieldrin, endrin, metalacloro, metoxicloro e dodecacloropentaciclodecano.....	53
6.2.7 Validação da Metodologia de Extração para os compostos estudados: fipronil, lindano, clordano, endossulfan, alaclor, heptacloro e heptaclor epóxido, aldrin, dieldrin, endrin, metalacloro, metoxicloro e dodecacloropentaciclodecano.....	55
6.2.8 Testes de Recuperação dos compostos estudados.....	55
6.2.9 Brancos.....	57
6.2.10 Aplicação do composto <i>surrogate</i> (controle de qualidade analítica).....	57
6.2.11 Identificação e quantificação dos compostos: fipronil, lindano, clordano, endossulfan, alaclor, heptacloro e heptacloro epóxido, aldrin, dieldrin, endrin, metalacloro, metoxicloro e dodecacloropentaciclodecano.....	58
6.3 Ensaio de toxicidade aguda em peixes.....	70
6.3.1 Teste Preliminar.....	71
6.3.2 Teste definitivo.....	72
6.3.3 Biometria.....	80
7 CONCLUSÃO.....	81
REFERÊNCIAS.....	82

1 INTRODUÇÃO

A população de Piracicaba passou, até o ano de 2000, por problemas quanto ao abastecimento de água devido às condições precárias das águas do Rio Piracicaba, o qual vem sofrendo com constantes descargas de esgoto doméstico e industrial, lixo carregado pelas chuvas, desmatamento ciliar, uso indiscriminado de agrotóxicos, além do mau uso da água (gastos excessivos). Esses são alguns dos fatores que levaram o rio ao assoreamento, com conseqüente diminuição na quantidade de água, desaparecimento de grande parte da fauna local, e muitas espécies de peixes, enfim a perda da qualidade das águas para o consumo humano.

Por conseqüência dos acontecimentos acima mencionados a cidade de Piracicaba passou a ser abastecida pelo Rio Corumbataí, uma sub-bacia do Piracicaba.

A sub bacia do Corumbataí tem grande importância para o abastecimento público, para fins domiciliares e industriais dos municípios de Analândia, Corumbataí, Ipeúna, Itirapina, Santa Gertrudes, Rio Claro, Charqueada e Piracicaba. O comprometimento da qualidade das águas dos mananciais da bacia do rio Piracicaba proporcionou a intensificação do uso da água do rio Corumbataí, que atualmente atende em 100% o abastecimento do município de Piracicaba. Atualmente este é o mais importante rio da região devido à qualidade de sua água, embora tenham sido verificados sérios comprometimentos nos trechos compreendidos entre o município de Rio Claro e a sua foz no rio Piracicaba, crescendo a preocupação com o gerenciamento deste corpo hídrico.

As áreas utilizadas para o cultivo de cana-de-açúcar na bacia estendem-se normalmente muito próximas às margens do rio Corumbataí, ou melhor, a menos de 10 metros do mesmo. Este fator é bastante preocupante visto que todos os produtos aplicados como defensivos em tal cultura, podem ser facilmente carregados pelas águas das chuvas para dentro do rio.

Os agrotóxicos representam os produtos mais amplamente encontrados em corpos hídricos superficiais e subterrâneos do mundo todo, em função do amplo uso em áreas agrícolas e urbanas. Eles compreendem uma variedade de moléculas

com distintas propriedades que lhes conferem diferentes graus de persistência ambiental, mobilidade e potencial tóxico, carcinogênico, mutagênico e teratogênico ou algum efeito endócrino a diversos organismos não alvos, inclusive o ser humano.

A sua classificação pode estar ligada à ação que exercem, sendo assim, tem-se os inseticidas, fungicidas, herbicidas, acaricidas, etc; ou quanto à estrutura química, sendo classificados em clorados, fosforados, carbamatos, piretróides, tiocarbamatos, benzimidazóis, derivados de uréia, etc.

No que se refere aos ambientes aquáticos, o crescente aumento do uso de agrotóxicos tem agravado severamente o problema de contaminação das águas superficiais e subterrâneas, pois constantemente, águas de drenagem de solos com agricultura intensiva, contendo produtos tóxicos como os agrotóxicos, por exemplo, vêm sendo lançados nos corpos de água, provocando mudanças drásticas na composição de populações naturais. Além disso, a deterioração dos recursos hídricos naturais pode vir a impedir seu aproveitamento para o consumo humano.

Para tanto o monitoramento de agrotóxicos em ambientes aquáticos, através de estudos de resíduos destes em águas, bem como testes de toxicidade em peixes, podem ser instrumentos bastantes úteis para o conhecimento e acompanhamento do estado de conservação de uma bacia hidrográfica.

A principal justificativa para a realização deste trabalho é a escassez de estudos objetivos e focados, sobre os impactos causados pelo uso intensivo de agrotóxicos na bacia do Rio Corumbataí, manancial de abastecimento, do qual depende a população da cidade de Piracicaba desde 2001. E ainda, a falta de dados disponíveis à população sobre alguns organoclorados, indicados para monitoramento, conforme a Resolução CONAMA 357 de 2005. Além disso, deve-se procurar entender os efeitos toxicológicos agudos do agrotóxico fipronil em *Danio rerio* (paulistinha) e *Piaractus mesopotamicus* Holmerg (pacu).

Vale ressaltar que em abril de 2006 as Casas de Agricultura dos 8 municípios da Bacia foram consultadas, informalmente, no sentido de colhermos informações sobre os principais agrotóxicos recomendados pelos profissionais da área para a

cultura da cana-de-açúcar e todos eles responderam utilizar-se do fipronil (nome comercial Regent®) como alternativa de controle de pragas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Características da sub-bacia do rio Corumbataí

A Sub-bacia hidrográfica do rio Corumbataí é de grande importância sócio-econômica no estado de São Paulo, cujo rio, de mesmo nome, tornou-se alvo de preocupação ainda maior nos últimos anos, quando passou a atender 100% do abastecimento do município de Piracicaba. Sendo explorada principalmente pela cultura da cana-de-açúcar e composta de solos com características físico-químicas distintas e relevo variando de plano a montanhoso, surge grande preocupação em torno do comportamento ambiental dos agrotóxicos empregados nesta bacia, o qual é desconhecido até o momento (ARMAS, 2006).

Desenvolvida a partir do Cenozóico, localiza-se nas cuestas do arenito Botucatu, no Planalto Ocidental Paulista, na região Centro-Occidental. O rio Corumbataí, tributário do Rio Piracicaba têm como afluentes o Ribeirão Claro, passa Cinco e Ribeirão Cabeça. Essa sub-bacia está inteiramente no Estado de São Paulo entre 22°05'S e 23°30'S de latitude e 47°30'W e 47°50'W de longitude com uma área de drenagem de 1700 km². (SALATI, 1996). Faz parte da Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos dos rios Piracicaba, Capivari e Jundiaí – UGRHI 5 – PCJ, segundo classificação CETESB, 2008a (Figura 1).

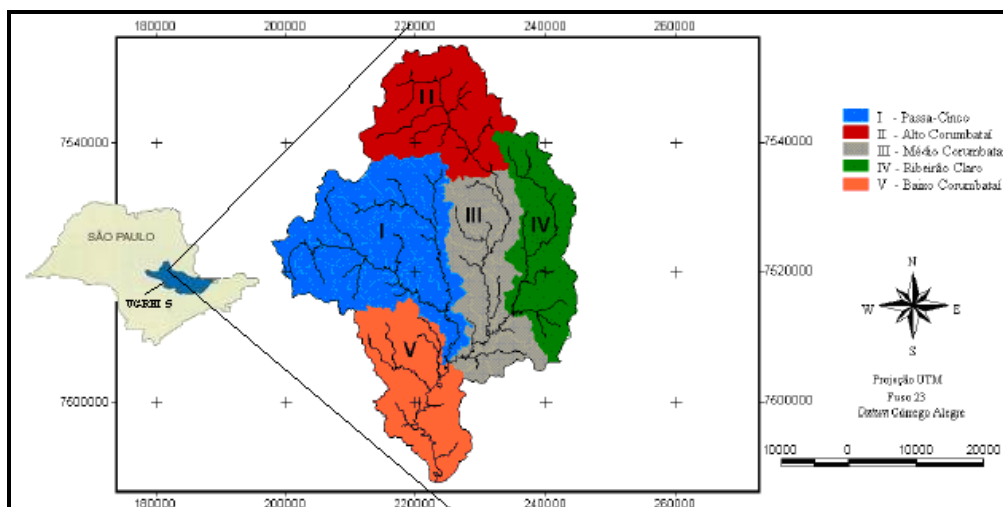


Figura 1 - Mapa de localização e morfologia da sub-bacia do rio Corumbataí
Fonte: Adaptado CETESB, 2008a; Valente (2001)

A bacia localiza-se na porção centro-leste do Estado de São Paulo (Figura 1), possuindo a maior parte de suas terras na Depressão Periférica Paulista, abrange os municípios de: Analândia, Corumbataí, Ipeúna, Itirapina, Santa Gertrudes, que compõem a parte administrativa de Rio Claro e os municípios de Charqueada e Piracicaba (Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais, 2001).

Esta bacia faz parte da primeira zona hidrográfica do Estado de São Paulo que abrange a parte superior do rio Tietê desde suas cabeceiras até a barragem de Barra Bonita, num percurso de 592 km. Esta zona é responsável pela drenagem de 32.710 km² e compreende dez bacias hidrográficas, dentre elas, a bacia do rio Piracicaba que é composta pelas bacias dos rios Jaguari com 4.339 km², Corumbataí com 1.710 km² e Atibaia com 1.030 km² (CETESB, 1984).

De acordo com Palma-Silva (1999) são destinados da água da bacia do rio Corumbataí, 54% para a população urbana, 22% para as indústrias e 14% para a irrigação. A sub-bacia do rio Corumbataí apresenta uma vazão disponível de 7,403 m³s⁻¹, sendo que a vazão média captada entre 2002-2003 foi de 3,996 m³ s⁻¹ e a vazão média lançada novamente no rio de 1,029 m³ s⁻¹, apresentando um balanço hídrico superficial ($Q_{\text{balanço hídrico}} = Q_{\text{disponibilidade hídrica}} - Q_{\text{captado}} + Q_{\text{lançado}}$) de 3,829 m³ s⁻¹, o que corresponde a uma utilização de quase 50% dos seus recursos hídricos, situação crítica e que necessita de cuidados na gestão dos recursos (PLANO DE BACIAS HIDROGRÁFICAS DOS RIOS PIRACICABA, CAPIVARI E JUNIDAÍ – PBHPCJ, 2006).

Segundo a classificação de Koppen, o clima da bacia é do tipo Cwa, sub-tropical, seco no inverno e chuvoso no verão. Considerando a latitude e altitude, verifica-se que as temperaturas médias anuais variam entre 18,1°C (Morro Grande) e 20,9°C (confluência do Ribeirão Passa Cinco com o rio Corumbataí e áreas adjacências de São Pedro). No mês de janeiro, varia entre médias de 20 a 23,7°C, enquanto que em julho as médias distribuem-se entre 14,9 e 17,1°C. Na bacia chove uma média de 1.300 a 1.800 mm apresentando uma estação chuvosa e outra seca. As maiores vazões no rio ocorrem entre setembro e março (UNESP, 2009).

O Potencial hídrico do manancial do Corumbataí torna esta bacia hidrográfica

de extrema importância para o abastecimento regional de água de 8 municípios, tanto para o uso doméstico como para os setores agrícolas e industrial, os quais são: Piracicaba, Charqueada, Ipeúna, Itirapina, Rio Claro, Corumbataí, Analândia e Santa Gertrudes. A bacia do Corumbataí é responsável pelo abastecimento de cidades como Analândia (327Km²), Corumbataí (278 Km²), Rio Claro (498 Km²) e Piracicaba (1370 Km²) (FALQUETO, 2008). Estas cidades apresentam densidades demográficas conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1 – População das cidades abastecidas pelo rio Corumbataí, 2007.

<i>Cidade</i>	<i>População (habitantes)</i>
Analândia	4.166
Charqueada	13.532
Corumbataí	3.935
Ipeúna	4.938
Rio Claro	185.421
Piracicaba	358.108
Santa Gertrudes	19.940

Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2009.

Integrante da bacia do rio Piracicaba, a bacia do Corumbataí é uma alternativa de abastecimento de água para vários municípios, mostrando-se importante regionalmente, não só porque ainda possui águas de boa qualidade, mas também por apresentar ecossistemas pertencentes a fragmentos situados na topografia acidentada da cuesta do arenito Botucatu, com elementos raros na paisagem do interior do Estado de São Paulo (MERLI, 1997). Esta bacia tem sofrido crescente deterioração na qualidade e quantidade de água ofertada para o abastecimento público, além de um empobrecimento da sua diversidade biológica (BALLESTER, 1997).

ZAMBETTA (2006) analisou o IQA da água do rio Corumbataí, obtendo uma classificação boa ao longo do rio, e em todas as épocas de coleta (duas em período de cheia e duas em período de seca, anos de 2004 e 2005), exceção feita aos locais de coleta à jusante do município de Rio Claro e do bairro de Santa Teresinha em Piracicaba, onde, em três épocas distintas, a qualidade piorou sendo pontos classificados como aceitável. No entanto, é necessário considerar que efeitos

induzidos por contaminantes químicos à biota nos sistemas aquáticos, podem apresentar efeitos sinérgicos, ou seja, os organismos podem estar expostos a uma mistura de diferentes substâncias ao mesmo tempo ou quase. Nesses ambientes, o efeito combinado de dois contaminantes é muito maior que o efeito individual do contaminante (ZAGATTO E BERTOLETTI, 2006).

A contribuição do afluente Ribeirão Claro, que transporta efluentes da cidade de Rio Claro e Santa Gertrudes, é provavelmente uma das fontes de contaminação industrial e de elementos químicos no rio Corumbataí. O estado de São Paulo é responsável por 60% da produção de pisos e revestimentos, com indústrias nas cidades de Araras, Cordeirópolis, Ipeúna, Iracemápolis, Limeira, Piracicaba, Rio Claro e Santa Gertrudes sendo que esta última localizada no entorno do Ribeirão Claro, é o maior centro cerâmico das Américas com cerca de 22 indústrias (FUNDAÇÃO DAS INDÚSTRIAS DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2006; MOURA, 2006).

A instalação destas indústrias cerâmicas se deve ao afloramento da Formação Corumbataí com uma abundância de matéria-prima, a argila. A “região dos lagos”, em Santa Gertrudes, foi utilizada para a extração de argila e quando se exauria, a lavra era suspensa e as cavas abandonadas, passando-se a exploração para áreas do entorno. A água do aquífero freático, dos resíduos líquidos e sólidos, gerados pela indústria cerâmica, preencheu estas cavas formando os lagos existentes nesta região até hoje (MOURA, 2006).

À medida que o homem aumenta sua capacidade tecnológica de manipular os elementos da natureza para satisfazer suas necessidades e desejos, surgem conflitos diversos, e, dentre eles, podemos destacar a disposição de resíduos no ambiente. Desde o século XIX, um novo modelo de civilização se impôs, tendo como base a industrialização. Esta nova ordem teve como uma de suas conseqüências a disponibilidade de uma enorme diversidade de novos produtos químicos potencialmente tóxicos, e a geração de resíduos suficiente para prejudicar o funcionamento do ambiente. No entanto, somente na década de 60 a poluição se tornou um fato reconhecido, devido aos problemas causados ao homem e ao próprio ambiente (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006).

Devido ao comprometimento das águas do rio Piracicaba, 100% da água fornecida para a cidade de Piracicaba vem do rio Corumbataí, e a previsão do plano diretor é de que este seja o único manancial por pelo menos mais 20 anos. A sub-bacia do rio Corumbataí abrange os municípios de Analândia, Itirapina, Corumbataí, Rio Claro, Santa Gertrudes, Ipeúna, Charqueada e Piracicaba, drenando uma área de 1690 Km², e servindo como corpo receptor de esgotos de origem doméstica e industrial ao longo de seu curso. Por conta disso, a carga orgânica, assim como a presença de metais e agrotóxicos vêm aumentando gradativamente, aumentando também os custos para o tratamento de água para o abastecimento humano, assim como piorando os seus índices de IQA (Índice de Qualidade das Águas), IVA (Índice de Proteção da Vida Aquática), IET (Índice do estado trófico), e IAP (Índices de Qualidade de Água Bruta para fins de Abastecimento Público), quando se comparam os dados a partir de 2002 (CETESB, 2008b).

O órgão fiscalizador da qualidade das águas na bacia do Corumbataí é a Companhia de Saneamento de Tecnologia Ambiental (CETESB), a qual realiza coletas e análises das águas da referida bacia. De acordo com o relatório anual divulgado pela companhia em 2007 (CETESB, 2008c), dentre os inúmeros parâmetros analisados não são realizadas análises de agrotóxicos em água. Já o CONAMA 357 que estabelece as condições ideais para uma água superficial de boa qualidade prevê o monitoramento de compostos orgânicos de diversas classes químicas, principalmente organoclorados, a maioria de uso banido desde a década de 80.

2.2 Uso e ocupação do solo na bacia do rio Corumbataí

Os solos que mais ocorrem são o Argiloso-Vermelho-Amarelado (21,58%) (OLIVEIRA & PRADO, 1984). Além de solos arenosos ocorrem solos hidromórficos (aluviais) que são encharcados, de espessura reduzida, com matéria orgânica concentrada na camada superficial utilizados para cultivo de cebola, alho, cana e laranja e fonte de matéria-prima para cerâmicas (BORTOLETTO, 1999; ARMAS, 2006).

Segundo dados do IPEF (2001) durante os anos 80 e 90, verificou-se na bacia o aumento substancial das áreas plantadas com cana-de-açúcar e cítricos, em

detrimento as culturas anuais, áreas reflorestadas e pastagens. Além disso, as áreas de florestas nativas também foram diminuindo, principalmente as de preservação permanente. Há uma preocupação quanto à área florestal, tanto em relação à erodibilidade dos solos, questões sócio-ambientais, como quanto aos fluxos de biodiversidade e uso sócio-econômico das florestas e dos rios. A região é tradicionalmente produtora de cana-de-açúcar, sendo que a área plantada dessa cultura praticamente triplicou nos últimos 30 anos. Parte desse crescimento foi incentivado na década de 80, quando recursos do PROÁLCOOL, foram disponibilizados pelo governo federal ao setor sucro-alcooleiro (IPEF, 2001).

Na bacia do Corumbataí é dado destaque a produção de cana-de-açúcar nos municípios de Analândia, Corumbataí, Santa Gertrudes, Itirapina, Ipeúna e Piracicaba, pois a mesma atende a demanda das usinas açucareiras de regiões próximas (IPEF, 2001).

Segundo dados do CEAPLA (2009) até ano de 2006, a vegetação que recobria toda a área da bacia do rio Corumbataí, era constituída por florestas, cerrados e campos cerrados. Na Tabela 2 apresenta-se um resumo sobre o uso e ocupação do solo na sub-bacia do rio Corumbataí, o qual também é ilustrado na Figura 2.

Tabela 2 – Uso e ocupação do solo na sub-bacia do rio Corumbataí.

	Uso e Ocupação do Solo			
	1980	1991	1998	2000
Pastagens	52,0%	47,0%	40,8%	44%
Cana-de-açúcar	20,0%	31,0%	26,4%	26%
Floresta nativa	7,0%	4,9%	9,6%	11%
Cerrado	-	1,2%	-	1,25%
Silvicultura	-	6,9%	16,5%	7,3%
Citrus	6,0%	2,1%	0,8%	3%
Culturas animais	-	0,4%	2,3%	1%
Mineração	-	-	0,13%	0,09%

Fonte: Ballester, 1997; Koffler, 1993; Vetorazzi et al., 2000.

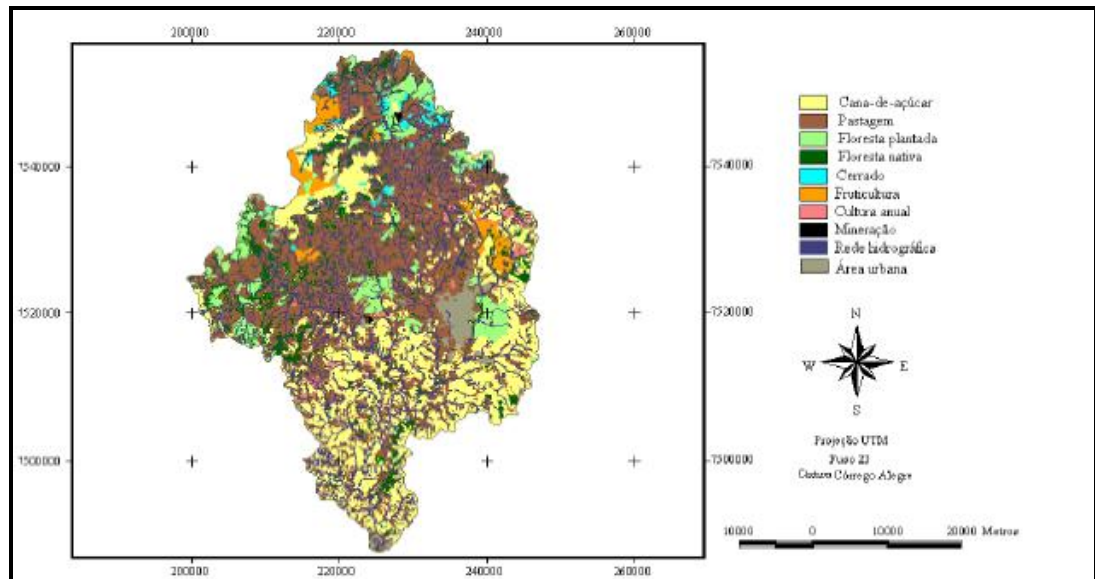


Figura 2 – Mapa de distribuição de uso e ocupação do solo.
Fonte: Valente, 2001.

De acordo com a Coordenadoria de Assistência Técnica Integral – CATI, em 2008 esta porcentagem de uso e ocupação do solo na sub-bacia do Corumbataí apresentou as mesmas características (Tabela 2), de acordo com o Levantamento Censitário de Unidades de Produção Agrícola, realizado pela CATI nas cidades de Analândia, Corumbataí, Rio Claro, Piracicaba e Santa Gertrudes (CATI, 2008).

As atividades industriais se concentram em duas áreas uma próxima a foz, no município de Piracicaba, onde se localiza a Usina Costa Pinto, maior consumidora industrial da bacia, além de outras grandes indústrias químicas e de papel; no município de Rio Claro, nas proximidades da área urbana, com diversas indústrias químicas de bebidas, alimentos, entre outras (BORTOLETTO, 1999).

O aumento populacional desordenado na bacia do Piracicaba também tem causado diversos problemas ambientais, dentre eles a poluição do rio Corumbataí por efluentes domésticos. A captação de água para abastecimento público e industrial devolve para o rio 80% em forma de esgoto.

De acordo com a CETESB (2008c) em estudos realizados na sub-bacia do rio Corumbataí, foi observado que os valores apresentados para os critérios físico-químicos e microbiológicos estavam acima dos limites recomendados para águas-

doce (BRASIL, 2008), o que classificaram o rio como de classe 3 em diversas épocas do ano.

Nos últimos 3 anos, alguns estudos na sub-bacia do rio Corumbataí merecem destaque, visto que somam esforços para o conhecimento e monitoramento deste importante corpo hídrico, dentre eles:

ARMAS (2006), com a avaliação da biogeodinâmica de agrotóxicos utilizados na cultura de cana-de-açúcar na bacia do Corumbataí, dentre eles atrazina, ametrina, glifosato, metribuzim, diurom, entre outros. Para esse estudo foi utilizado um modelo matemático SWAT para simular um prognóstico futuro para estes compostos na bacia.

ZAMBETTA (2006), com a avaliação de metais em sedimentos e materiais em suspensão na bacia do rio Corumbataí, comparando-se três diferentes técnicas de análises, sendo elas: espectrometria de absorção atômica com plasma acoplado indutivamente, análise por ativação neutrônica e espectrometria de fluorescência atômica.

FALQUETO (2008), com a avaliação do índice de qualidade das águas (IQA) e dos elementos químicos nas águas e nos sedimentos do rio Corumbataí. Neste estudo foram avaliadas as concentrações de diversos metais em águas e sedimentos de diversos pontos da bacia, através da técnica de espectrofotometria de massas com fonte de plasma induzido (ICP-MS).

O Relatório de Situação (2008), coordenado pela Agência de Bacias dos rios Piracicaba, Capivari e Jundiaí, a análise da qualidade das águas superficiais nestas bacias foi realizada como base nos relatórios anuais publicados pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental CETESB (2008b) que mantém uma rede de monitoramento em todo o Estado de São Paulo. Em relação a sub-bacia do rio Corumbataí, das amostras analisadas, 35% em média se classificam como boa, 54% como regular e 10% como ruim. Das amostras classificadas como boa, 5% se referem a 2004, 42% a 2005, 50% a 2006 e 25% a 2007, o que demonstra uma melhora dos níveis de qualidade nos anos de 2005 e 2006, em relação ao ano de

2004 e uma queda de 25% dos níveis de qualidade de 2006 para 2007. O ano de 2007 apresentou uma queda considerável nos níveis de qualidade, com uma redução de 50% nas amostras classificadas como Boa e um aumento de 40% nas amostras classificadas como Regular.

2.3 Agrotóxicos

O termo agrotóxico foi definido através do artigo 2º do Decreto nº 98.816, de janeiro de 1990, como sendo “produtos químicos destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de flores nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da fauna e da flora, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como substâncias e produtos, empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento” (BRASIL, 1998).

O termo resíduo também foi definido através do artigo 2º do Decreto nº 98.816, de janeiro de 1990, como sendo “substância ou mistura de substâncias remanescentes ou existentes em alimentos ou no meio ambiente, decorrente do uso ou não de agrotóxicos e afins, inclusive qualquer derivado específico, tais como produtos de conversão e de degradação, metabólito, produtos de reação e impurezas, considerados toxicológica e ambientalmente importantes” (BRASIL, 1998).

O uso de agrotóxicos na agricultura teve início na década de 50, devido a importância no controle de pragas agrícolas, ampliando-se com o desenvolvimento de modelo agro-exportador e agroindustrial eficiente e rentável. Como benefícios do uso de agrotóxicos pode ser citado que são eficazes em pequenas e grandes plantações. Sua relação custo/benefício é positiva e evitam perdas agrícolas da ordem de 30% (INTERNATIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTE DO BRASIL, 1999).

No Brasil, o órgão responsável pela legislação dos agrotóxicos é o Serviço da Inspeção Federal do Ministério da Agricultura, sendo o Ministério da Saúde o órgão

responsável pela legislação de alimentos, incluindo a de resíduos de agrotóxicos (OLIVEIRA, 1993). Cabendo ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis - IBAMA, a responsabilidade pela legislação ambiental dos agrotóxicos.

De acordo com levantamento do Sindicato Nacional da Indústria de Defesa Vegetal – SINDAG), em 2008, as vendas do segmento de agrotóxicos entre Janeiro e Outubro de 2008, comparado ao mesmo período de 2007, apresentaram um crescimento acumulado de 31%, totalizando um mercado de R\$10.246 milhões (SINDAG, 2009).

Um dos grupos de agrotóxicos de maior preocupação ambiental, no que diz respeito a resíduos em águas ou alimentos, são os organoclorados (WHO, 1973).

No Brasil, o uso de agrotóxicos organoclorados foi proibido pelo Ministério da Agricultura através da Portaria nº 329 de 02 de setembro de 1985. No entanto através do artigo 1º da Portaria nº 95 de 21 de novembro de 1985, foram liberados os produtos endosulfan, utilizado hoje nas culturas de café, soja, cana-de-açúcar e algodão e o dicofol, empregado nas culturas de maçã, citrus e algodão (CORRÊA, 1999).

A persistência dos clorados em tecido adiposo animal é explicada pela sua alta solubilidade nas gorduras e baixa reatividade biológica (Almeida, 1974). Os organoclorados possuem baixa biodegradabilidade, tornando-se contaminantes encontrados em ambientes terrestres e aquáticos por muitos anos (ALY & BADAWY, 1984).

Organoclorados são resistentes à hidrólise, entretanto sofrem reações fotoquímicas formando derivados com estabilidade e toxicidade similar, ou até maior, que os compostos de origem. Eles também são pouco solúveis em água e, devido a essa característica, são os que mais sofrem bioacumulação, principalmente em tecidos adiposos dos seres vivos (CHAU and AFGHANM, 1982 & LODI et al., 1991).

O agrotóxico fipronil, um dos objetos de estudo neste trabalho, é um inseticida de nome comercial Regent® produzido no Brasil pela empresa multinacional Basf. Este pode ser transformado na água, no solo, plantas e animais através de hidrólise, redução e oxidação, sendo que altas concentrações do produto podem ser encontradas no tecido gorduroso ROBERTS & HUTSON (1999). Segundo NATIONAL PESTICIDE TELECOMUNICATION NETWORK (2003) este produto é altamente tóxico para peixes e invertebrados aquáticos, apresentou tumores cancerígenos na glândula da tireóide em estudos com camundongos e, ainda, não há estudos de seu metabolismo em humanos.

O fipronil pertence ao grupo químico dos fenil pirazóis e é classificado como de nível toxicológico II, ou seja, altamente tóxico (COMPÊNDIO, 2009; ANVISA, 2009). Tal agrotóxico vem sendo utilizado há 7 anos na região da bacia do rio Corumbataí (GARCIA, V. Cooperativa dos Fornecedores de Cana de Piracicaba SP, Comunicação pessoal, 2003) e ainda, não há estudos na literatura sobre o seu comportamento em ambientes aquáticos. Tal produto pode ser aplicado de maneira pulverizada sobre os toletes de cana, no sulco do plantio, de uma única vez na cana planta em formulações granulada ou pó solúvel.

O fipronil é um composto não-iônico (PIASAROLO, 2008), utilizado como produto de uso caseiro em forma de isca, para o controle de baratas, formigas, grilos e cupins (KIDD e JAMES, 1991). É utilizado também como antiparasitário em animais domésticos, no controle de pulgas e carrapatos. Atualmente é registrado no Brasil para o controle de cupins, besouros, lagartas e brocas nas culturas de algodão, batata, cana-de-açúcar, milho e soja (ANVISA, 2009).

SILVA (2008) em estudo sobre exposição prolongada de ratos ao fipronil revelou ao analisar histologicamente os animais, que o mesmo pode causar hepatotoxicidade, caracterizada por aumento do peso absoluto e relativo do fígado e tumefação celular de hepatócitos. Em conclusão, os resultados mostraram que a exposição de ratos por 28 dias ao fipronil pode causar efeitos comportamentais relacionados a alterações em sistemas centrais de neurotransmissão e também hepatotoxicidade. Vale ressaltar que muitos estudos são conduzidos com ratos por

tratarem-se de espécies animais que possuem o sistema neurológico e digestivo muito semelhante aos humanos.

Já os organoclorados como aldrin, dieldrin, endossulfan, endrin, lindano, dodecacloropentaciclodecano (mirex), clordano, DDT, heptacloro, DDE, metoxiclo e BHC são considerados por ZAMBRONE (1989) como a classe de agrotóxicos mais persistentes no meio ambiente, sendo que alguns estudos demonstram permanência de até três décadas após a aplicação. Na Tabela 3 encontra-se a classificação toxicológica para agrotóxicos, de acordo com o Decreto nº 98.816/90 (COMPÊNDIO, 2009).

Tabela 3 – Classificação toxicológica para agrotóxicos, de acordo com o Decreto nº 98.816/90 (Compêndio, 2009).

<i>Nível toxicológico</i>	<i>Classificação toxicológica</i>	<i>DL₅₀ oral (mg.kg⁻¹)</i>
I	Extremamente Tóxico	5
II	Altamente Tóxico	5-50
III	Mediamente Tóxico	50-500
IV	Pouco Tóxico	500-5000

Fonte: Modificado de Zambroni (1989).

A utilização do DDT, por sua característica de persistência, mesmo tendo seu uso proibido deixou um rastro de devastação, em algumas regiões levou ao extermínio de populações de pássaros, causando desequilíbrio ecológico e extinção de espécies animais e vegetais (RICHARDSON, 1998).

Nas regiões do estado de São Paulo foram bastantes disseminados o uso dos organoclorados, sendo utilizado principalmente o heptacloro nas renovações canavieiras e dodecacloropentaciclodecano no combate à saúvas, por tratarem-se de inseticidas altamente eficientes (ZAMBRONE, 1989).

Na região de Piracicaba estão instaladas muitas usinas de açúcar e álcool. As usinas manipulam grandes quantidades de matéria orgânica, além de agrotóxicos que são aplicados às plantações da cana-de-açúcar, em determinados períodos da safra, sendo por isso fontes potenciais de poluição (CETESB, 2008b).

Na Tabela 4 apresentam-se os agrotóxicos em estudo e suas respectivas classificações toxicológicas, bem como o grupo químico. Alguns organoclorados não apresentam referências na ANVISA (2009) ou no Compêndio de Defensivos Agrícolas (2009) por conta de uso proibido há quase 30 anos.

Tabela 4 - Classificação toxicológica dos agrotóxicos em estudo e algumas de suas características químicas.

Agrotóxico	Nível toxicológico	Grupo Químico
Fipronil	II	Fenilpirazóis
Clordano	-	-
Endossulfan	I	Ciclodienoclorado
Alaclor	II	Acetamidas/Triazinas
Heptacloro e Heptacloro	-	-
Epóxido	-	-
Aldrin	-	-
Dieldrin	-	-
Endrin	-	-
Metalacloro	II	Acetanilida
Metoxicloro	-	-
Dodecacloropentaciclodecano	-	-

Fonte: Compêndio, 2009 & ANVISA, 2009.

O uso de agrotóxicos na cultura da cana-de-açúcar também pode causar contaminação nos rios. ARMAS et al, (2006) realizaram um estudo de biogeodinâmica dos agrotóxicos empregados na cana-de-açúcar e os herbicidas foram os produtos de maior uso detectados na bacia. Por meio de um modelo matemático SWAT (ARMAS et al, 2007) simulou um cenário de expansão da cana-de-açúcar, onde as regiões norte da bacia e as sub-bacias do Ribeirão Claro e rio Passa Cinco seriam as maiores exportadoras de herbicidas aos corpos hídricos, o que torna o cenário bastante preocupante para a sub-bacia do Rio Corumbataí, o qual é afluente do Ribeirão Claro.

Os agrotóxicos representam os produtos mais amplamente encontrados em corpos hídricos superficiais e subterrâneos do mundo todo, em função do amplo uso em áreas agrícolas e urbanas. Eles compreendem uma variedade de moléculas com

distintas propriedades que lhes conferem diferentes graus de persistência ambiental, mobilidade e potencial tóxico, carcinogênico, mutagênico e teratogênico ou algum efeito endócrino a diversos organismos não alvos, inclusive o ser humano (ARMAS, 2006).

O processo de lixiviação é uma das principais formas de transporte no solo das moléculas não voláteis e solúveis em água. Essas moléculas se movimentam no perfil do solo, acompanhando o fluxo de água pela diferença de potencial de água em dois pontos (PRATA et al., 2003). No entanto, esses processos são dependentes do tipo de solo, das condições climáticas e das características dos produtos, e conhecê-los é de fundamental importância para prever o comportamento de herbicidas nas classes de solo e para a seleção de dosagens adequadas, bem como evitar efeitos prejudiciais ao ambiente e às culturas subsequentes (ROSSI et al., 2005).

De modo semelhante ao resto do mundo, a situação brasileira culminou primeiramente, e mesmo antes das recomendações definidas pela ECO-92, na criação de Comitês de Bacias Hidrográficas – CBH como unidade básica do Sistema Integrado de Gerenciamento de Recursos Hídricos – SIGRH do estado de São Paulo, por determinação da Lei Estadual 7.633/91 (COMITÊ, 1999), tendo por base que as atividades desenvolvidas dentro de uma unidade de área, cujos limites são definidos pela divisão de águas, são as principais condicionantes da quantidade e qualidade da água. Posteriormente, o Governo Federal instituiu a Política Nacional de Recursos Hídricos e criou o sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos por meio da Lei 9.433/97 (BRASIL, 2009).

2.4 Ecotoxicologia

O conceito de ecotoxicologia é definido por várias correntes autorais. SUTER (1993) conceitua ecotoxicologia como o estudo dos efeitos tóxicos sobre organismos não humanos, sobretudo sobre populações e comunidades naturais. CONNELL (1997) propõe a ecotoxicologia como a rota ambiental de um agrotóxico, associado a este a toxicidade e seus efeitos sobre o ambiente. Segundo LANDIS & YU (1999), a

ecotoxicologia é composta por três premissas básicas: a interação do agente químico com o meio ambiente, a interação do agente químico com o seu sítio específico de ação e a interação do agente químico com o seu sítio de ação a nível molecular nos níveis hierárquicos mais elevados da organização biológica.

Os estudos ecotoxicológicos constituem importantes ferramentas para o monitoramento da qualidade ambiental, auxiliando o entendimento das relações entre poluição e suas conseqüências biológicas (MELETTI, 1997). Os resíduos liberados no ambiente ou remanescente nas culturas são, no decorrer do tempo, transferidos aos alimentos e ao homem, levando a casos crônicos, mal definidos ou extremamente graves (RÜEGG et al., 1991).

A água é elemento fundamental aos organismos nos ecossistemas. Se ela for contaminada por agrotóxicos, todos os seus componentes bióticos ou abióticos também serão contaminados (BOOK & MACHADO NETO, 2000). As melhores indicações da poluição das águas por agrotóxicos são baseadas em análise de resíduos em peixes. Em muitos casos, a mortandade de peixes em nossos rios ocorre devido à poluição das águas por inseticidas altamente tóxicos (RÜEGG et al., 1991; BRONDI, 2000).

BENNETT (1990) cita que a rota dos agrotóxicos pode ser influenciada por vários fatores ambientais, tais como: natureza do corpo d'água, sedimento, qualidade da água e influências meteorológicas.

A persistência e a degradação de agrotóxicos no ecossistema aquático são influenciadas por diversos fatores como: natureza físico-química da molécula: características físico-químicas da água e do sedimento, conteúdo de matéria orgânica, fisiografia e produtividade natural do corpo d'água (MURTY, 1986).

É importante considerar que efeitos induzidos por contaminantes químicos à biota nos ecossistemas aquáticos podem apresentar efeitos sinérgicos, ou seja, os organismos podem estar expostos a uma mistura de diferentes substâncias quase que ao mesmo tempo. Nestes ambientes o efeito combinado de dois contaminantes

é muito maior que o efeito individual do contaminante (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006)

Os peixes constituem um indicador muito útil do real estado de pureza da água. Nenhum rio pode ser considerado em condições satisfatórias se neles não viverem nem proliferarem peixes. É oportuno enfatizar que não basta o peixe adulto não ser afetado fisiologicamente pela poluição, é preciso que a água tenha condições de alimentá-lo, para proteger seus ovos, para alimentar suas larvas e alevinos. Os peixes constituem os produtos finais de um sistema complexo formado pelo ambiente, plantas e invertebrados (BRANCO, 1983).

Entre os organismos-testes indicados em normas nacionais e internacionais destacam-se os peixes e as daphnias como os mais representativos do ambiente aquático (BRIGANTE e ESPÍNDOLA, 2003). A CL50 é definida como a concentração letal que causa mortalidade em 50% do organismo-teste. Estas concentrações são expressas em μ ou mg.L^{-1} do meio e por períodos de 24 a 96 horas (HELFRICH et al., 2008).

A proposta dos testes de toxicidade é determinar o quanto tóxico um produto é para as espécies teste. Estes testes determinam efeitos como alterações fisiológicas e comportamentais e morte dos indivíduos submetidos a concentrações de produtos tóxicos a curto e em longo prazo (MURTY, 1986).

Deve-se ressaltar que os testes toxicológicos desenvolvidos com peixes para avaliar a potencialidade toxicológica dos produtos para fins de registro, são realizados com peixes ornamentais que suportam com certa estabilidade o *stress* da manipulação. Sendo assim, poucas informações toxicológicas sobre a espécie do *Piaractus mesopotamicus* Holmerg (pacu) estão disponibilizadas.

O organismo teste *Piaractus mesopotamicus* Holmerg (pacu), Figura 3, encontra-se naturalmente distribuído na América do Sul, sendo considerada espécie “moradora habitual de grandes águas”. A espécie possui características, como elevado ganho de peso e adaptabilidade aos ecossistemas aquaculturais, em adição a isso é uma espécie bastante apreciada para a pesca esportiva (JOMORI et al.,

2003). Atinge 40,5 cm e 20 Kg, respectivamente na fase adulta. É considerada uma espécie migratória dentro de bacias hidrográficas de água doce (LOPES, 2005)

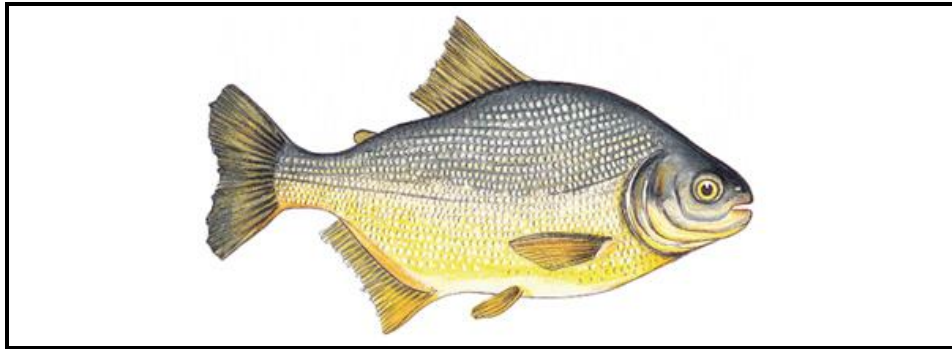


Figura 3 – Ilustração representativa do Pacu, *P. mesopotamicus*
Fonte: IBAMA/PNDPA (<http://www.ibama.gov.br/pesca-amadora/pacus>)

Entretanto o organismo teste *Danio rerio* (paulisitinha), Figura 4, é um peixe ornamental de pequeno porte e de fácil manuseio e muito rústico. Os adultos atingem um comprimento médio de 4,5 cm, são ovíparos e apresentam listas abdominais (CETESB, 1999). Essa espécie tem sido estudada desde os anos 30 devido à sua facilidade de obtenção, baixo custo e fácil manutenção em laboratório. Esses peixes são de grande interesse nos estudos ecotoxicológicos, pois são consumidores secundários da cadeia alimentar. Esses testes são indispensáveis no monitoramento da poluição hídrica, pois se fundamentam na utilização de organismos vivos que são diretamente afetados pelos agrotóxicos (VIANA; MARTINS, 1995).



Figura 4 – Foto ilustrativa de exemplar de *Danio rerio* (paulisitinha)
Fonte: A Era de Aquários (http://www.aquahobby.com/gallery/b_Danio)

2.5 Cromatografia Gasosa

A cromatografia gasosa (CG), estabelecida desde o início dos anos 60, tem sido, sem dúvida, o método analítico mais utilizado para na análise de resíduos de agrotóxicos em inúmeras matrizes (WHEELER; THOMPSON, 1985).

A cromatografia é um método físico de separação, no qual os componentes a serem separados são distribuídos entre duas fases: uma fase fixa de grande área superficial denominada estacionária, e a outra um fluido que percola através dela sendo, por isto, denominada fase móvel. Quando a fase móvel for um gás, a cromatografia é denominada gasosa (Lanças, 1993). A cromatografia gasosa conta com o auxílio de diversos tipos de detectores, como, por exemplo, detector de massas (MS), detector de captura de elétrons (DCE) e detector de ionização de chama (DIC).

No detector de massas a amostra proveniente da coluna entra numa fonte de íons onde, através de um processo de impacto com elétrons de alta energia são gerados íons negativos e positivos. Os íons formados são acelerados em direção ao analisador de massas no caso um quadrupolo (LANÇAS, 1996).

Segundo (FRANCISCO, 1995) o princípio básico da análise cromatográfica consiste em: uma amostra, através de um sistema de injeção, é introduzida em uma coluna contendo a fase estacionária. O uso de temperatura conveniente no local de injeção da amostra e na coluna possibilita a vaporização destas substâncias, que, de acordo com suas propriedades e as da fase estacionária, são retidas por tempos determinados e chegam a saída da coluna em tempos diferentes. O uso de um detector adequado na saída da coluna torna possível a detecção e quantificação destas substâncias.

Na cromatografia gás-líquido a fase estacionária é um líquido pouco volátil, recobrindo um suporte sólido ou as paredes de colunas capilares. A separação baseia-se em mecanismos de partição de substâncias entre a fase líquida e a fase gasosa. A utilização da cromatografia gás-líquido corresponde cerca de 95% do total de aplicações (COLLINS, 1997).

Segundo MENDES (1989) a escolha de um método cromatográfico está baseada na confiabilidade, aplicabilidade e praticidade do mesmo. A análise de resíduos de agrotóxicos exige o cumprimento de várias etapas importantes (amostragem, preparo da amostra, extração, purificação, concentração, identificação e quantificação), exigindo cuidados especiais para que os resultados analíticos possam ser confiáveis.

O uso da espectrometria de massas acoplada ao cromatógrafo gasoso (CG-DEM) permite a identificação positiva de compostos, ao nível de microgramas. A única limitação do equipamento é seu custo que é considerado elevado (COLLINS et al., 1997).

Muitos termos são utilizados em cromatografia, e dentre esses, alguns deles mencionados com frequência, como por exemplo:

Tempo de Retenção: O tempo de retenção engloba todo o tempo em que o componente em questão fica no sistema, ou seja, é o tempo gasto desde o ato da injeção até a saída do componente do sistema (COLLINS et al. 1997)

Limite de Detecção: é definido como a menor concentração do analito que o processo analítico pode *identificar* (GIMENEZ, 1999).

Limite de Quantificação: é a menor concentração do analito que pode ser *quantificada* em uma amostra, com um grau de certeza aceitável, sendo que as recuperações devem variar entre 70 – 120% com o coeficiente de variação menor ou igual a 20% Deve ser expresso como a concentração do analito cuja resposta seja equivalente à resposta de dez vezes o ruído da linha de base dividido pela massa injetada (GORN, 1999 & GIMENEZ, 1999).

Linearidade: A linearidade de um equipamento é conhecida através da faixa de concentração na qual o sinal obtido no detector é proporcional à concentração do analito (GIMENEZ, 1999)

Recuperação: Os testes de recuperação são freqüentemente utilizados para a validação de um método de análise. A recuperação de um analito é determinada adicionando-se quantidades conhecidas de um analito (Fortificação) em uma porção de amostra não tratada (Testemunha). A recuperação é calculada pela diferença de concentrações do analito na amostra fortificada com quantidades conhecidas do composto em comparação à da amostra original (KRULL; SWATZZ, 1997 a,b).

3 OBJETIVOS

- Verificar, a ocorrência e distribuição temporal e espacial de resíduos dos agrotóxicos: fipronil, lindano, clordano, endossulfan, alaclor, heptacloro e heptacloro epóxido, aldrin, dieldrin, endrin, metalacloro, metoxicloro e dodecacloropentaciclodecano, em águas coletadas na bacia do rio Corumbataí, através da cromatografia gasosa, utilizando-se dois métodos de extração distintos;
- Validar metodologia de extração e cromatográfica para análise do agrotóxico fipronil em águas;
- Determinar os níveis de toxicidade aguda, da molécula de Fipronil através de testes de toxicidade em peixes de 2 espécies distintas;
- Correlacionar os resultados encontrados com o uso de agrotóxicos na bacia.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Trabalhos de campo e coletas de amostras de água

Foram estabelecidos 4 pontos de coleta e monitoramento de águas na bacia, sendo esses descritos na Tabela 5.

Tabela 5 - Localização dos pontos de coletas e monitoramento de águas na bacia.

Ponto de Monitoramento	Descrição	Localização Geográfica e Altitude	Frequência de amostragem
Ponto 1	No rio Corumbataí no Município de Analândia, considerado “berço” das nascentes de toda a bacia do Corumbataí	22° 07' 44,9" S; 47° 40' 4,8" O; 649m	Trimestral
Ponto 2	No rio Corumbataí no município de Rio Claro a montante da junção do Ribeirão Claro com o Rio Corumbataí	22° 28' 45,4" S 47° 35' 28,4" O 541m	Mensal
Ponto 3	No rio Corumbataí no município de Rio Claro a jusante do encontro do Ribeirão Claro com o Rio Corumbataí	22° 30' 54,1" S 47° 37' 26,4" O 539m	Mensal
Ponto 4	No rio Corumbataí próximo a foz do rio Piracicaba	22° 41' 4,5" S 47° 40' 37,2" O 495m	Mensal

Durante as coletas foram considerados os seguintes parâmetros de qualidade de água: temperatura, oxigênio dissolvido, turbidez, condutividade, pH, os quais foram determinados através de uso de sonda multiparâmetro marca Horiba®.

As coletas se estenderam por 12 (doze) meses, a fim de se conseguir um resultado do perfil sazonal de tal região, sendo que esta e a preservação das amostras foram realizadas conforme a ABNT (1987), onde as coletas ocorrem a 15 cm de profundidade, por meio de uma caneca de inox. A frequência de coleta nos pontos foi mensal com exceção das coletas no ponto 1, que foi trimestral.

As amostras de água foram acondicionadas em frascos tipo “âmbar” e etiquetados com a respectiva identificação. As mesmas foram preservadas em gelo e transportadas para o Laboratório para extrações (em 7 dias) e análises cromatográficas (14 dias).

4.2 Análises de águas

4.2.1 Preparo das amostras de águas para as análises laboratoriais

As análises laboratoriais foram conduzidas nos laboratórios privados da Bioagri Ambiental Ltda em parceria com Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA/USP - Laboratório de Ecotoxicologia.

4.3 Análises de águas

Para as análises dos compostos de estudo optou-se pela técnica de análise através da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. Nesse sistema cada pico eluído na coluna é bombardeado com uma fonte ionizante, a qual fragmenta o composto em uma diversidade de íons. Os íons são separados em um analisador, sendo neste caso barras denominadas quadrupolo, submetidas a um campo magnético. A interação dos fragmentos iônicos com o campo magnético faz com que apenas íons de determinada relação massa/carga passem intactos sem colidirem com as barras do quadrupolo. Variando-se o campo elétrico, torna-se possível efetuar uma varredura através de ampla faixa do espectro de massas de interesse.

Esta técnica permite a separação e análise de misturas de substâncias voláteis e semi-voláteis, ou seja, bastante utilizada nas análises de agrotóxicos em água, solo, resíduos, efluentes etc. A amostra devidamente preparada é vaporizada ao ser introduzida no injetor do cromatográfico com alta temperatura e fluxo de gás adequado denominado de fase móvel ou gás de arraste e faz com que os compostos sejam introduzidos pela coluna cromatográfica, onde ocorre a separação da mistura associada a sua volatilidade, massa molecular e pela interação dos analitos com a fase estacionária. Os analitos eluídos na coluna capilar são introduzidos no espectrômetro de massa através da interface. A identificação de analitos alvo é realizada comparando seus espectros de massa com os espectros de padrões autênticos. A quantificação é realizada comparando a resposta de um íon principal relativo usando uma curva de calibração.

A identificação dos compostos em estudo é realizada comparando-se os espectros (conjunto de íons formados) com um *software*, o qual funciona como uma “biblioteca” de dados que acompanha o equipamento. O equipamento utilizado neste

estudo possui uma biblioteca (Wiley.275) com 275 mil fragmentações que são usadas para identificar os compostos de interesse.

A cromatografia consiste em uma técnica de análise química, que separa, identifica e quantifica as espécies químicas. A cromatografia baseia-se na distribuição de amostra entre duas fases, uma móvel e uma estacionária (LANÇAS, 2004a).

A identificação e quantificação dos compostos orgânicos estudados foram realizadas em um cromatógrafo gasoso, modelo 6890N acoplado a um espectrômetro de massa da marca Agilent®, modelo 5973N.

As análises foram feitas utilizando-se do modo de identificação SCAN (varredura de espectros) o qual é sensível para limites de quantificação como os estabelecidos pelo CONAMA 357/05 (2005), quando a quantidade de amostra concentrada é considerável. Para os métodos estabelecidos neste trabalho utilizou-se 1 L de amostra concentrado-se a mesma para 100 µL, o que é uma concentração de 10 mil vezes.

4.4 Extração do fipronil

O método para determinação do composto Fipronil em água foi baseado no método de ZAUGG et al., 1995.

Para a extração do Fipronil em água, utilizou-se da técnica SPE (Solid Phase Extraction = Extração em Fase Sólida). O cartucho utilizado na extração foi o Nexus (Varian) com 60 mg de sorbente (copolímero à base de estireno-divinilbenzeno) com capacidade de 3 mL.

A popularidade da SPE se deu devido ao uso de uma variedade de adsorventes sólidos. O principal mecanismo de retenção é a partição, devido às interações apolares entre as ligações C-H do grupo C18 e C-H do analito (JUNKER & WITZENBACHER, 1996).

Inicialmente, passou-se 3 x 1mL de Hexano/Isopropanol 3:1 no cartucho, depois 0,5 mL de metanol e 1 mL de água deionizada para retirar substâncias que eventualmente poderiam estar ligadas à fase estacionária (condicionamento), em seguida aplicou-se 500 mL da amostra em um fluxo de 10 mL/min, depois disso deixou-se secar por cerca de 20 min, em seguida parte-se para a eluição dos analitos aplicando-se 6 x 1ml de hexano/Isopropanol 3:1 num fluxo de 1 mL/min. Todas as extrações foram feitas com cinco repetições. O eluato obtido foi evaporado até a secura com gás inerte e banho-maria a 40 °C e ressuspenso em 1 mL de acetona. Esse extrato foi transferido a um *vial* de 2 mL para posterior injeção de 2 µL no cromatógrafo nas condições otimizadas.

4.5 Extração dos compostos: lindano, clordano, endossulfan, alaclor, heptacloro e heptaclor epóxido, aldrin, dieldrin, endrin, metalacloro, metoxicloro e dodecacloropentaciclodecano

Para a extração destes compostos utilizou-se o método de extração líquido-líquido, segundo EPA (1996) (modificado) onde procedeu-se da seguinte maneira:

Adicionou-se 1 litro de amostra no funil de separação de 2 litros. Procedeu-se a extração com diclorometano (3 vezes com 60 mL de solvente). Agitou-se por 2 minutos. Os extratos foram passados por um funil de lã de vidro e sulfato de sódio. Os extratos foram recolhidos em balão de rotoevaporador de 500 mL. Procedeu-se novamente a extração com diclorometano (3 vezes com 60 mL de solvente), agitou-se por 2 minutos e filtrou-se os extratos no mesmo funil com sulfato de sódio e recolheu-se os extratos no mesmo balão de 500 mL. Concentrou-se os extratos no rotaevaporador até 2 mL, transferiu-se os extratos para tubos graduados de 5 mL e concentrou-se até 0,1 mL com fluxo de gás inerte e transferiu-se para *inserts* dentro de *vial* de 2 mL. Feito isso os extratos foram acondicionados em geladeira para posterior injeção nas condições otimizadas.

4.6 Brancos

Para todas as baterias de amostras analisadas foram feitos brancos de amostras. Os brancos passam pelo mesmo procedimento de extração e injeção das amostras a serem analisadas. Seu objetivo é a verificação de possíveis

contaminações durante todo o processo. Foram utilizadas como “Branco”, água deionizada, conforme recomendações do EPA.

4.7 Aplicação do composto *surrogate* (controle de qualidade analítica)

Compostos *surrogates* são compostos sintéticos deuterados que não são encontrados no meio ambiente, portanto são adicionados nas amostras não ocasionando interferências/erros na análise.

Em todas as amostras injetadas, tais como a curva de calibração, o branco, as amostras coletadas foram adicionados o *surrogate* para checar processo analítico global (extração/ concentração/ equipamento/ análise).

Foram adicionados a uma concentração de 250 µg/L para amostras de água extraídas por SPE, 1,0 µg/L e 5,0 µg/L para amostras de água preparadas por extração líquido-líquido.

Os compostos utilizados como *surrogate* foram o Terfenil d14 e o 2-Fluorbifenil, ambos recomendados pelo método EPA 8270C.

4.8 Validação metodológica

As validações metodológicas foram realizadas após definidas as faixas de trabalho, e após a definição das concentrações da validação, os itens avaliados foram os seguintes:

- Especificidade e seletividade - A especificidade e a seletividade do método foram determinadas através do tempo de retenção de cada composto;
- Faixa de trabalho - A faixa de trabalho foi determinada individualmente para cada composto;
- Linearidade - A linearidade foi determinada pelo desvio padrão (s) dos 5 pontos da curva de calibração e pelo coeficiente de correlação linear R^2 ;
- Limite de detecção do método (LD) - O LD é definido como a concentração mínima do analito medida e declarada com 95% de significância estatística de que a concentração do analito é maior que zero;

- Limite de quantificação do método (LQ) - O LQ é a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível aceitável de precisão e veracidade. Na prática, corresponde normalmente o produto do padrão de calibração de menor concentração (primeiro ponto da curva) ao fator de preparo da amostra.

Portanto os métodos analíticos foram validados perante a checagem da recuperação do analito, a qual pôde ser estimada pela análise de amostras fortificadas com quantidades conhecidas do mesmo. Para cada composto foram realizadas fortificações em 3 níveis, ou melhor, seguindo 3 pontos da curva (o primeiro ponto, o ponto mediano e o último ponto).

4.8.1 Preparo dos padrões

O preparo dos padrões foi realizado em balões volumétricos para cada diluição (concentração) escolhida para ser trabalhada. Para o composto fipronil foi preparado um padrão único, sendo que para os demais compostos houve um preparo de padrão *mix*, ou seja, um padrão contendo todos os demais agrotóxicos. Todos os padrões são de marca registrada e certificada *Accustandard®*, sendo o grau de pureza (%) declarado pelo fabricante os seguintes: Fipronil = 94; Lindano = 99,3; Clordano = 100; Endossulfan = 99,8; Alaclor = 99,4; Heptacloro e Heptacloro Epóxido = 99,8 e 98,4; Aldrin = 97,6; Dieldrin = 100; Endrin = 97; Metacloro = 93,8; Metoxicloro = 97,1; Dodecacloropentaciclodecano = 99,9.

4.9 Cálculos finais

Todos os cálculos finais das quantificações foram realizados pelo *software* de gerenciamento de informações *my Lims*.

5 MATERIAL E MÉTODOS PARA OS ENSAIOS DE TOXICIDADE AGUDA EM PEIXES

O método empregado, segundo SEMA, 1988 consistiu na exposição dos animais a diferentes concentrações do produto químico, em sistema estático, por um período de 96 horas. Este procedimento permite calcular a concentração letal inicial

CL (I)₅₀ em 96 horas. Além disso, permite verificar a concentração letal para períodos de 0,12, 24, 48 e 72 e 96 horas de exposição.

Os testes de toxicidade foram realizados em aquários experimentais de aço inox confeccionados em chapa número 316, respeitando a proporção de 1 grama de peixe por litro de água (Figura 5). A molécula utilizada na solução teste foi a do fipronil, sendo também utilizada nos experimentos subseqüentes.



Figura 5 – Aquários experimentais utilizados nos ensaios de toxicidade aguda.

Fonte: Laboratório de Ecotoxicologia Aquática CENA/USP

Para o ensaio de toxicidade aguda utilizou-se de duas espécies de peixes: pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmerg) e paulistinha (*Danio rerio*).

Os peixes da espécie paulistinha foram provenientes do laboratório de Ecotoxicologia Aquática do CENA/USP (Figura 6).



Figura 6 – Tanque de cultivo dos peixes da espécie *Danio rerio* utilizados nos ensaios de toxicidade aguda

Fonte: Laboratório de Ecotoxicologia Aquática CENA/USP

Os peixes da espécie Pacu foram provenientes do Centro de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA/IBAMA) (Figura 7).



Figura 7 – Foto aérea do CEPTA/IBAMA local de procedência dos peixes da espécie *Piaractus mesopotamicus* Holmerg utilizados nos ensaios de toxicidade aguda.

Fonte: www.icmbio.gov.br/cepta

5.1 Tanque e água de cultivo

Os organismos tanto pacu quanto o paulistinha foram mantidos em tanques de 1 m³, com volume útil de 0,8 m³. A água utilizada para manutenção do cultivo e no período de teste dos peixes foi de nascente de qualidade para a manutenção,

procedente do biotério do Laboratório de Ecotoxicologia. A dureza apresentou-se entre 800 e 1000 mg.L⁻¹ CaCO₃. A temperatura foi mantida a 25 ± 2 °C. O pH esteve na faixa de 7 a 7,5, a condutividade 100 a 130 µS/cm⁻¹, e o tanque mantido em permanente aeração.

5.1.1 Aclimação da espécie pacu e paulistinha

Para a espécie paulistinha não houve a necessidade de aclimação prévia, visto que os peixes são provenientes do próprio biotério do Laboratório de Ecotoxicologia. Para a espécie pacu os peixes, ao chegarem as dependências do laboratório, permaneceram sob aclimação por um período de 10 dias, antes do início do experimento.

5.2 Alimentação e limpeza

Os peixes receberam alimentação duas vezes ao dia, de segunda a sexta-feira e uma nos finais de semana. Foi fornecida uma quantidade de ração que possibilitou um rápido consumo pelos peixes. Um dia antes do início dos experimentos os animais não foram alimentados.

O material de fundo foi sifonado uma vez ao dia e mantido um pequeno fluxo de água que garantiu a sua renovação e circulação (MARANHO, 2006).

5.3 Teste agudo com peixes 96 horas

Nos testes agudo preliminar e definitivo, para as duas espécies de peixes, foi utilizada a molécula do produto técnico fipronil (Regent®) com 5 concentrações preparadas a partir de uma solução estoque. Para o preparo das soluções e de todas as etapas do teste foi utilizado um ambiente isento de vapores, poeiras tóxicas e em temperatura ambiente 23 ± 2°C. Baseadas no resultado do pré-teste foram determinadas as concentrações utilizadas no teste definitivo. Para o paulistinha, foram: 0,01; 0,05; 0,2; 0,5 ; 1,0 mg.L⁻¹ e controle. E para o pacu foram: 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1,0 ; 1,5 mg.L⁻¹ e controle. A solução estoque do fipronil foi preparada em balão volumétrico, com 1000 mg da substância teste e completado para um volume de 1000 mL de água de cultivo, obtendo-se assim uma solução estoque de 1000 mg/L. Em seguida foram pipetadas as concentrações teste e adicionadas ao volume de quatro litros para aquários com capacidade de 20 litros. Foram colocados no teste

peixes que passaram por uma semana de aclimação, livres de contaminantes e que 24 horas antes do início do estudo não foram alimentados. O teste foi conduzido com duas réplicas por concentração e controle, com 5 peixes em cada aquário.

Durante o período dos testes foram medidos pH, condutividade e temperatura nos tempos 0, 48 e 96 horas. Durante o período do teste os aquários permaneceram em constante aeração, sendo que o teste foi avaliado nos períodos de 24, 48, 72 e 96 horas. Ao final do experimento foi obtida uma CL_{50} (Concentração Letal a 50% dos indivíduos em teste) 96 horas para os testes com paulistinha e pacu.

Padrões de comportamento anormais como: hiperatividade, natação errática, natação lenta, natação próxima à superfície, desequilíbrio e batimento opercular acelerado, durante o período experimental foram observados e anotados, como propõe MURTY (1986).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Características físico-químicas das amostras monitoradas

O prejuízo na qualidade das águas do rio Corumbataí deve-se principalmente ao aumento da quantidade de esgoto urbano e as crescentes atividades industriais, extrativistas e agrícolas. A sub-bacia do rio Corumbataí compreende uma região amplamente explorada por atividades agropastoris, compreendendo pequenas áreas de proteção ambiental e grandes áreas de cultivo de cana-de-açúcar, citricultura e pastagens (ARMAS, 2006).

A avaliação dos danos causados por uma atividade agrícola implantada ou previsão de danos de atividades futuras é uma tarefa difícil de ser realizada, principalmente quando o objetivo é estimar a biogeodinâmica dos agrotóxicos e o seu impacto ambiental, frente aos diversos fatores que determinam o seu comportamento e o número de moléculas empregadas. O monitoramento de resíduos de agrotóxicos em corpos hídricos, em bacias hidrográficas, é uma tarefa onerosa e de baixo êxito na real estimativa dos riscos associados ao seu uso, uma vez que a sua ocorrência nos corpos hídricos é observada em picos, associados à

aplicação e a ocorrência de chuvas e fatores pedológicos favoráveis ao seu deslocamento, temporalmente heterogêneos na bacia. Isto reduz a probabilidade de obtenção de amostras em local e tempos certos para avaliar o risco e identificar as áreas críticas da bacia em estudo (ARMAS, 2006).

A sub-bacia do Rio Corumbataí, representada principalmente pelo rio do mesmo nome, é de grande importância para o abastecimento público, para fins domiciliares e industriais. Porém, avaliações espaço-temporais da qualidade de suas águas apontam para uma mudança da qualidade das águas em alguns trechos, variando entre classe 1 e 4, segundo os padrões estabelecidos na Resolução CONAMA 357/05 (SALATI, 1996; PALMA-SILVA, 1999; BRASIL, 2009a).

Neste trabalho um dos intuitos foi monitorar alguns agrotóxicos organoclorados recomendados para análise de acordo com o CONAMA 357/05 (2005), além do fipronil também utilizado na lavoura da cana-de-açúcar na região da bacia. Dentre estas análises, durante o período das coletas foram analisados alguns parâmetros físico-químicos, sendo alguns também recomendados por este órgão ambiental.

Na Tabela 6 apresentam-se os resultados das características físico-químicas das amostras de águas coletadas entre os meses de novembro de 2006 e junho de 2007. Nestes resultados observou-se, em comparação aos Valores Máximos Permitidos (VMP) pelo CONAMA 357/05 (2005), para os parâmetros (pH entre 6 e 9; Turbidez até 100 UNT e oxigênio dissolvido não inferior a $5,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de O_2) nenhum deles excedeu o VMP estabelecido pelo órgão. Sendo assim considera-se que dentro destes padrões as amostras monitoradas durante este período atenderam aos requisitos do órgão ambiental, para estes parâmetros.

Tabela 6 – Características físico-químicas das amostras de águas coletadas entre os meses de novembro de 2006 a junho de 2007.

<i>Parâmetros analisados</i>	<i>mês/ano</i>												
	11/06	12/06	01/07	02/07	03/07	04/07	05/07	06/07	07/07	08/07	09/07	10/07	11/07
Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	206	188	118	125	131	179	138	147	123	162	198	331	296
pH	7,6	6,9	7,4	7,0	7,1	8,1	7,4	7,6	7,2	6,9	6,2	5,5	5,9
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	21	22	21	21	20	19	20	19	19	20	20	21	20
Turbidez (UNT)	11	21	23	39	53	46	4,1	6,5	5,2	3,8	0,78	0,11	0,22
Oxigênio Dissolvido mg/L	7,6	7,9	7,9	8,2	7,9	7,9	8,1	8,0	7,8	8,2	7,9	7,8	7,8

FALQUETO (2008) em monitoramento de alguns pontos da bacia do rio Corumbataí para algumas análises físico-químicas em 2007, encontrou resultados semelhantes, ou seja, pH entre 4,4 e 7,6 e temperatura entre 14 e 23°C. Porém para oxigênio dissolvido os resultados variaram entre 3,8 e 10 mg.L⁻¹, ou seja, distintos dos resultados encontrados nos pontos monitorados neste trabalho, onde os valores de oxigênio dissolvido variaram em 7,6 e 8,2 mg.L⁻¹.

ARMAS (2006) em monitoramento para os parâmetros físico-químicos em amostras de água do rio Corumbataí entre 2004 e 2005 encontrou valores para oxigênio dissolvido variando entre 5,1 e 9,25 mg.L⁻¹, pH entre 6,60 e 7,28 e condutividade entre 29,3 e 330 $\mu\text{S/cm}$.

O relatório CETESB (2008b) mostra a média dos resultados no ano de 2007, nos pontos monitorados pelo órgão na bacia do Corumbataí, para os parâmetros pH, condutividade e oxigênio dissolvido. O relatório apresenta as variações entre os pontos de coleta, sendo que os resultados para condutividade ficaram entre de 24 e 185 $\mu\text{S/cm}$, para turbidez entre 37 e 170 UNT e para oxigênio dissolvido entre 5,4 e 7,5 mg.L⁻¹.

Neste caso para os parâmetros físico-químicos encontrados na bacia, nos pontos monitorados neste trabalho, comparando-se aos trabalhos de FALQUETO (2008); ARMAS (2006) e CETESB (2008b) podem-se perceber uma heterogeneidade de informações. É claro que vale ressaltar que os estudos foram

feitos em ocasiões distintas, apesar de serem na mesma bacia. É conhecido que estes parâmetros podem variar de acordo com a pluviosidade e temperatura no período das coletas, bem como a contribuição por lançamentos de esgotos urbanos e industriais.

6.2 Agrotóxicos Monitorados

Segundo ARMAS et al. (2007) uma adequada caracterização temporal do uso de agrotóxicos é uma etapa imprescindível para definir as épocas de amostragem e moléculas a serem analisadas, de modo a atingir a otimização econômica e técnica de monitoramento, uma vez que levantamentos preliminares não foram eficazes na determinação de resíduos de agrotóxicos nas águas da mesma área de estudo. Este aspecto deveria ser considerado pelas autarquias que detêm a concessão para captação, tratamento e distribuição de água, quando visam avaliar o padrão de potabilidade, atendendo à exigência de monitoramento semestral de agrotóxicos, segundo a Portaria 518 do Ministério da Saúde. Segundo o padrão adotado pela Comunidade Européia, valores mais restritivos que a referida Portaria são empregados, de modo a não ultrapassar $0,1 \mu\text{L}^{-1}$ por agrotóxico e $0,5 \mu\text{L}^{-1}$ para a soma de agrotóxicos.

Embora os programas de monitoramento de águas superficiais estejam bem implementados em países desenvolvidos, em muitas partes do mundo a situação é rudimentar ou inexistente. A necessidade de monitoramento desses produtos é eminente em função do seu grau de periculosidade, mas o alto custo dos processos analíticos exige a definição de parâmetros que permitam estimar o aporte desses produtos aos corpos hídricos sob as mais diferentes situações e que possam ser empregados na tomada de decisões sobre as atividades antrópicas da bacia (ARMAS, 2006).

A presença de agrotóxicos em águas brasileiras passou a ser evidenciada por diversos estudos, sendo os organoclorados as moléculas frequentemente monitoradas (SPAROVEK et al, 2001; CORBI et al, 2006). Os estudos envolvendo estas moléculas, de uso proibido no Brasil, estão associados à verificação de vestígios de sua presença devido à elevada persistência ambiental e ao comércio e

uso ilegais, resultando na exigência de seu monitoramento pela legislação brasileira. Um número restrito de programas de monitoramento ou simples caracterização de ocorrência, constando de um pequeno número de outras moléculas de diferentes classes de agrotóxicos e grupos químicos já foi conduzido em distintas bacias hidrográficas brasileiras, evidenciando problemas até então pouco estudados e com estratégias de mitigação não implantadas (GOMES et al, 2000; PRIMEL et al, 2005).

Dentro do Estado de São Paulo, a bacia hidrográfica do Rio Piracicaba, da qual o rio Corumbataí, objeto de estudo deste trabalho, é um dos principais afluentes, é uma das que apresenta maior grau de comprometimento de qualidade de água, sendo a pioneira no estabelecimento de medidas para contornar a situação. A presença de compostos organoclorados como BHC, aldrin e endossulfan já foi evidenciada em sedimentos desta bacia, bem como gama BHC, heptacloro e DDT no bivalve *Anodontites trapesiales*. Resíduos de PCP, HCB e quatro congêneres de PCBs também foram determinados em água e principalmente em sedimentos, com níveis de HCB excedendo o padrão de potabilidade da Organização Mundial de Saúde, OMS, de 10 ng.L^{-1} nos municípios de Santa Bárbara d'Oeste, Sumaré e Campinas. No entanto há um completo desconhecimento sobre a presença de outras moléculas nos corpos hídricos desta bacia (Del GRANDE et al., 2003).

Infelizmente as legislações brasileiras que tratam da qualidade das águas de mananciais, em partes, podem ser consideradas obsoletas ou ultrapassadas, visto que enfatiza e recomenda análises de compostos de uso proibido pelas legislações vigentes, deixando de lado compostos utilizados com maior frequência, de recente lançamento no mercado de agrotóxicos, como o fipronil, por exemplo. Além do que não há como esquecer que no Brasil não há uma legislação que correlacione à contaminação de sedimentos de água doce com a contaminação de suas águas, com exceção do CONAMA 344 (2004), que estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos mínimos para a avaliação do material a ser dragado em águas jurisdicionais brasileiras, e dá outras providências.

Diante de tanta preocupação com a qualidade das águas estudos demonstram que os processos convencionais de tratamento de água não são suficientes para remover eficientemente resíduos de agrotóxicos, de forma à atingir o padrão de potabilidade europeu e evitar riscos a saúde humana, sendo necessária a adoção de técnicas mais eficientes, como adsorção em carvão ativado granulado após a filtração em areia, osmose reversa ou nanofiltração, o que reverte em acréscimo no custo do tratamento (BEITZ et al., 1994).

Muitos resíduos de agrotóxicos estão presentes em mananciais de águas em nível de traço. Desta forma, o desenvolvimento e aperfeiçoamento das técnicas analíticas para o preparo de amostras têm sido de grande interesse para alcançar baixas concentrações e adequar os volumes da amostra aos sistemas de detecção.

Para as análises cromatográficas alguns processos são inerentes à técnica para que se tenham resultados confiáveis e robustos, dentre eles: a determinação do tempo de retenção de cada composto, a seleção de massa dos íons a serem monitorados, a otimização das condições cromatográficas para as análises, a construção das curvas de calibração do equipamento para os diferentes compostos, dentro da faixa de interesse de cada um. E um é um dos requisitos muito importantes, é a validação metodológica, a qual depõe a favor ou contra todo o seu trabalho previamente preparado. A seguir temos os resultados apresentados para estes requisitos, e adianta-se que felizmente houve êxito em todas as etapas do processo.

A fim de verificar a ocorrência e distribuição dos agrotóxicos em estudo seguem nos próximos itens (6.2.1 a 6.2.11) os resultados obtidos ao longo dos estudos.

6.2.1 Tempo de retenção dos compostos monitorados

O tempo de retenção de um composto é nada mais que o tempo em que o mesmo leva para atingir o detector do equipamento após a injeção da amostra. Na Tabela 7 seguem os tempos de retenção dos diferentes agrotóxicos analisados os

quais se apresentaram distintos, o que permitiu a separação e identificação dos mesmos com mais agilidade e eficácia.

Tabela 7 - Tempo de retenção dos diferentes agrotóxicos monitorados

Composto	Tempo de Retenção (minutos)
Fipronil	8,9
Lindano	15,73
Clordano	18,06
Endossulfan	19,02
Alaclor	16,55
Heptacloro	16,74
Heptacloro Epóxido	17,76
Dieldrin	18,60
Endrin	18,88
Metalacloro	17,08
Metoxicloro	20,12
Dodecacloropentaciclodecano	20,86

6.2.2 Seleção das Massas dos Compostos

Na Tabela 8 estão listados os íons monitorados para a qualificação e quantificação das amostras e construção da curva analítica. Esses íons foram monitorados através da injeção do padrão analítico comparando-o com a “biblioteca” de espectros de massa, *software* este que acompanha o equipamento.

Tabela 8 - Íons monitorados para os agrotóxicos de interesse

Compostos	Íons Monitorados(m/z)
Fipronil	369-367-213
Clordano	375-373-376
Endrin	263-243-280
Heptacloro	272-100-274
Heptacloro epóxido	353-355-350
Alaclor	160-188-146
Endossulfan	241-243-238
Dieldrin	79-81-77
Lindano	183-181-184
Dieldrin	79-81-77
Metolacloro	162-238-163
Aldrin	66-263-91

6.2.3 Condições cromatográficas otimizadas para separação, identificação e quantificação do agrotóxico fipronil

Programação de temperatura: Temperatura inicial - 100 °C por 2 min, 25 °C até 250 °C permanecendo por 2 min, com tempo total de corrida de 10 min;

Injetor: *Split/Splitless* trabalhando em *Splitless* com temperatura de 250 °C, pressão de 12.53 psi, *purge flow* 200 mL/min, volume de injeção 2 µL e o gás de arraste foi o Hélio;

Coluna: Varian CPSIL-8CB 35 metros x 0.25 mm x 0.25µm;

Fluxo: 1 mL/min;

Espectrômetro de massa: *Transfer Line* 300 °C, faixa de massa de 100 a 450, MS Quad 150 °C, e MS *Source* 230 °C.

6.2.4 Condições cromatográficas otimizadas para separação, identificação e quantificação do agrotóxico lindano, clordano, endossulfan, alaclor, heptacloro e heptacloro epóxido, aldrin, dieldrin, edrin, metalacloro, metoxicloro e dodecacloropentaciclodecano

Programação de temperatura: Rampa 1: Temperatura inicial 60 °C por 2 min, 15 °C até 220 °C permanecendo por 12,67 min, com tempo total de corrida de 23,67 min; Rampa 2: 220 °C por 20 min até 300 °C, com tempo total de corrida de 23,67 min.

Injetor: *Split/Splitless* trabalhando em *Splitless* com temperatura de 250 °C, pressão de 24,7 psi, *purge flow* 205 mL/min, volume de injeção 2 µL e o gás de arraste foi o Hélio;

Coluna: L 30 m x ID 0,25 mm x OD 0,39 mm x 0,25 µm;

Fluxo: 1 mL/min;

Espectrômetro de massa: *Transfer Line* 300 °C, faixa de massa de 50 a 450, MS Quad 150 °C, e MS *Source* 230 °C.

6.2.5 Curva de calibração para o agrotóxico fipronil

Para a quantificação do fipronil nas amostras de água foi estabelecida uma curva analítica de calibração, ilustrada na Figura 8. A solução-padrão do composto fipronil foi preparada, por meio de pesagem do padrão, e diluições em metanol para o preparo das 5 (cinco) diferentes concentrações 0,1; 0,25; 0,50; 1,0 e 1,5 mg.L⁻¹, para a escolha das concentrações partiu-se do LQ pré determinado para o composto e considerou-se a média de triplicatas de injeções para cada concentração, além da regressão linear, relacionando-se a área do pico versus a concentração (µg.L⁻¹), calculando-se assim o Coeficiente de Relação Linear (R^2) e estabelecendo a equação da reta. Para o composto Fipronil o R^2 foi de 0,9994 e o tempo de retenção encontrado foi de 8,9 minutos o qual pode ser visualizado na Tabela 8, juntamente com os tempos de retenção determinados para os demais compostos analisados.

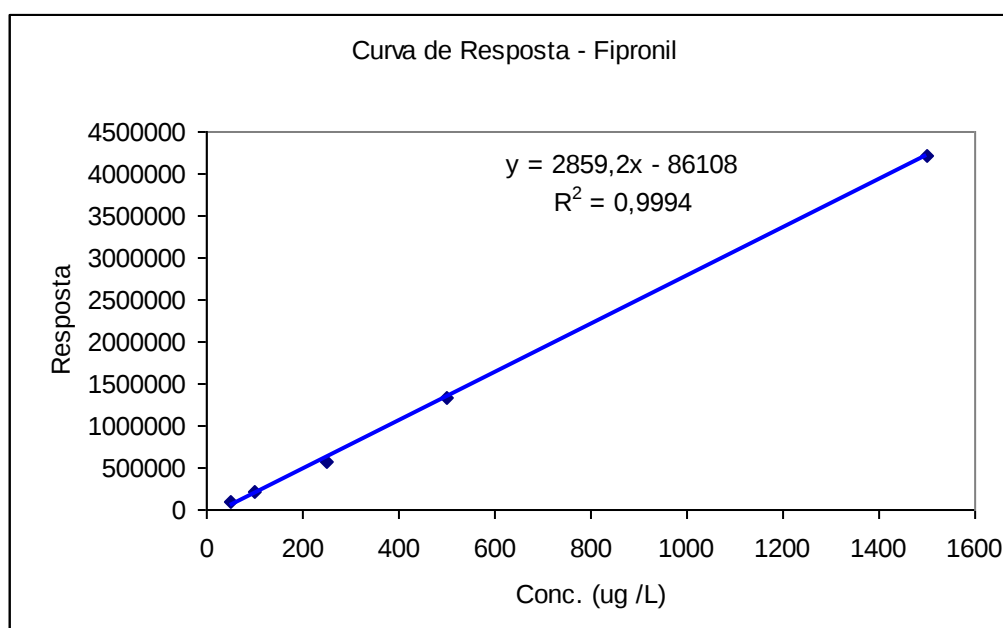


Figura 8 – Curva de Calibração para o composto Fipronil

6.2.6 Curvas de calibração para o agrotóxicos lindano, clordano, endossulfan, alaclor, heptacloro e heptacloro epóxido, aldrin, dieldrin, endrin, metalacloro, metoxicloro e dodecacloropentaciclodecano

Para a quantificação dos compostos acima nas amostras de água foram estabelecidas uma curvas analítica de calibração. Foram preparadas solução-padrão de uma mistura dos compostos, denominada *mix* e separadamente dos compostos alaclor e metalacloro, por meio de pesagem do padrão, e diluições em metanol para o preparo das 6 (seis) diferentes concentrações para cada um dos organoclorados a serem monitorados conforme Tabela 9.

Tabela 9. Concentrações utilizadas para a construção das curvas de calibração para os organoclorados monitorados.

Compostos	Concentrações Preparadas mg.L⁻¹					
Padrão <i>Mix</i> (Lindano, Clordano, Endossulfan, Aldrin, Dieldrin, Endrin, Dodecacloropentaciclodecano, Metoxicloro, Heptacloro, Heptacloro Epóxido)	0,015	0,025	0,10	0,25	0,50	1,0
Alaclor	0,05	0,10	0,250	0,500	1,0	1,5
Metalacloro	0,03	0,05	0,10	0,25	0,50	1,0

Para a escolha das concentrações partiu-se do LQ pré-determinado para o composto considerou-se a média de triplicatas de injeções para cada concentração, além da regressão linear, relacionando-se a área do pico versus a concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$), calculando-se assim o Coeficiente de Relação Linear (R^2) e estabelecendo a equação da reta. Para esses compostos o resultado de R^2 pode ser visualizado em cada uma das Figuras 14 a 24. Coeficientes de correlação superiores a 0,99 indicam boa resposta do detector às concentrações analisadas, sendo um método linear na faixa de concentração estudada, o que é estabelecido pela ANVISA (2009). As curvas de calibração para os compostos organoclorados podem ser visualizadas entre as Figuras 9 e 20.

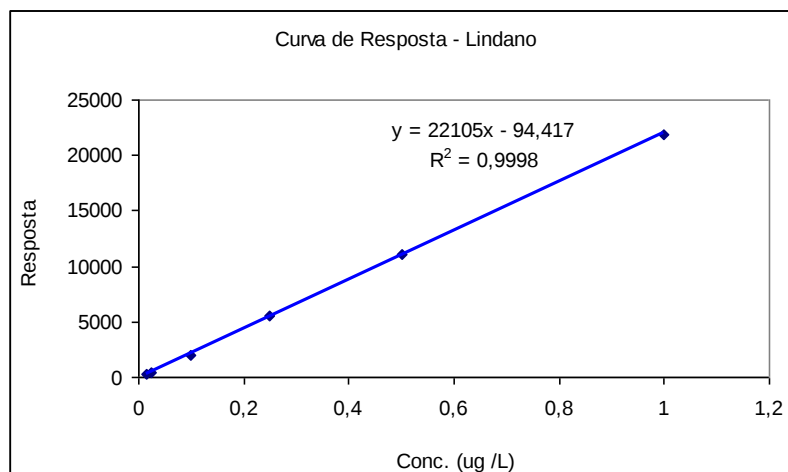


Figura 9 - Curva de Calibração para o composto Lindano

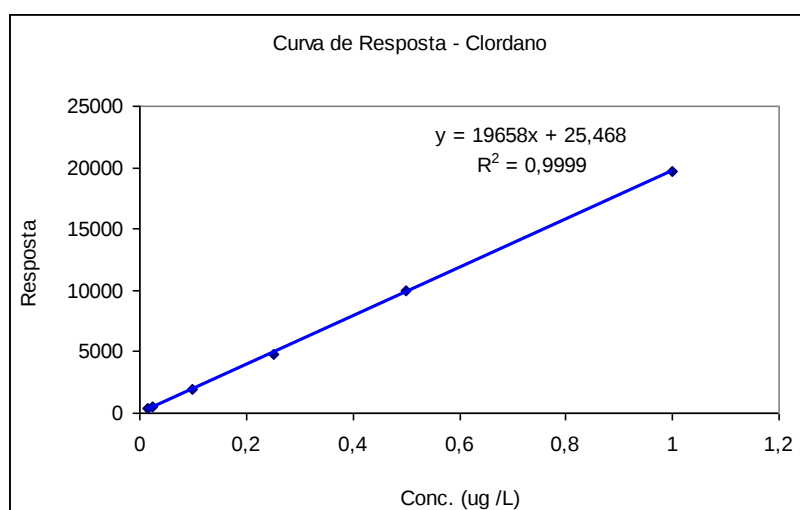


Figura 10 - Curva de Calibração para o composto Clordano

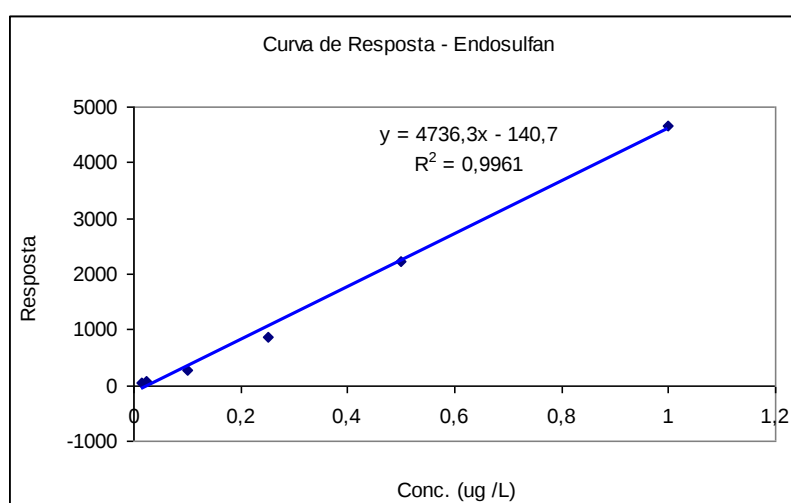


Figura 11 - Curva de Calibração para o composto Endossulfan

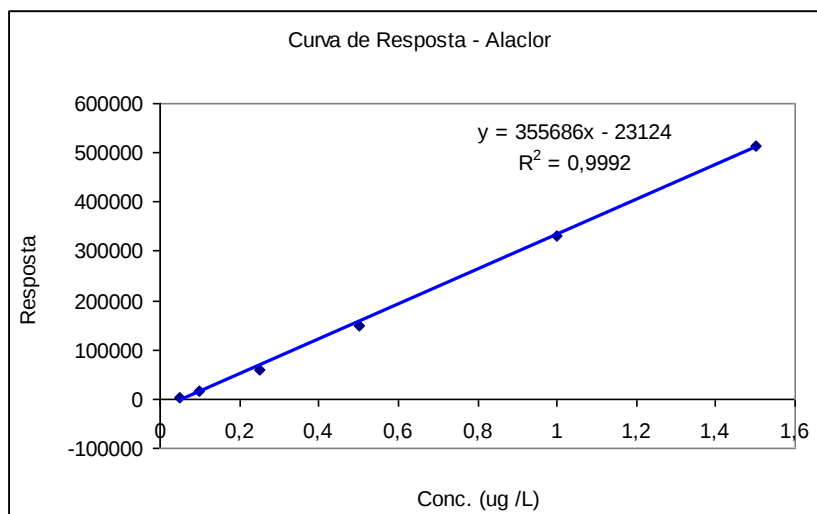


Figura 12 - Curva de Calibração para o composto Alaclor

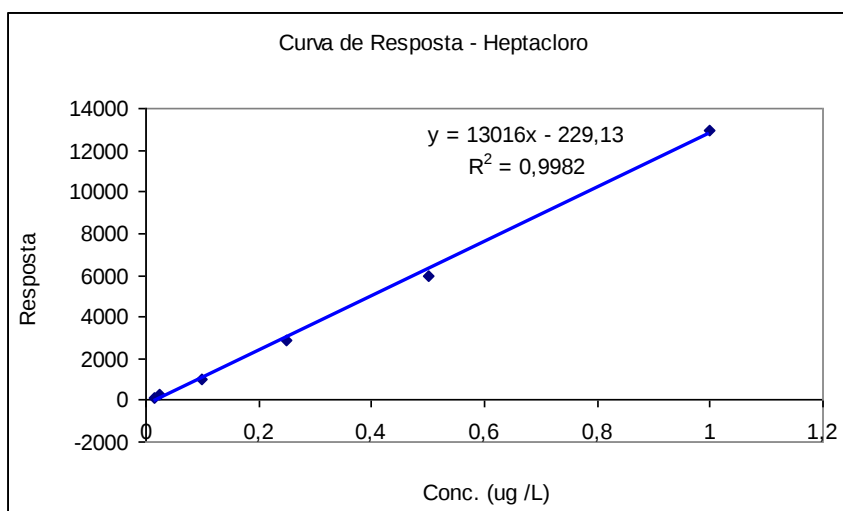


Figura 13 - Curva de Calibração para o composto Heptacloro

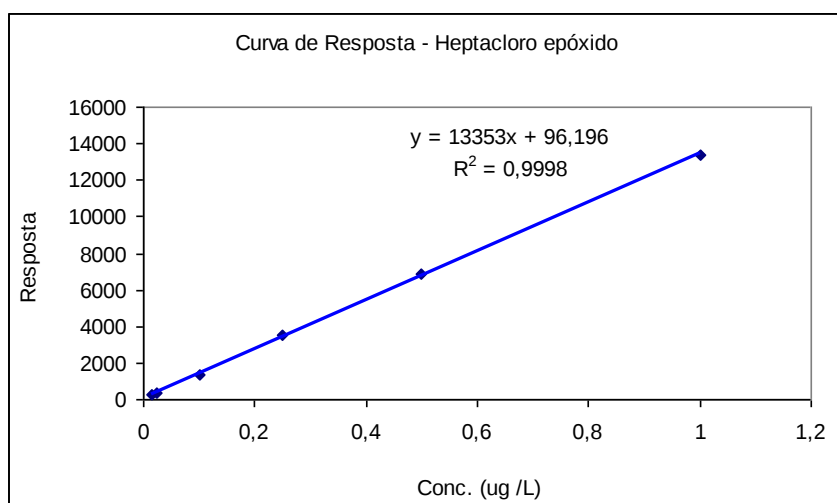


Figura 14 - Curva de Calibração para o composto Heptacloro Epóxido

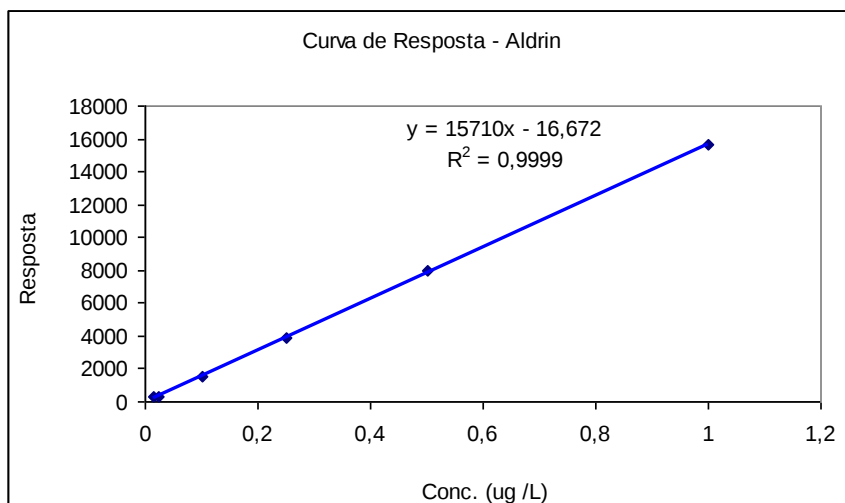


Figura 15 - Curva de Calibração para o composto Aldrin

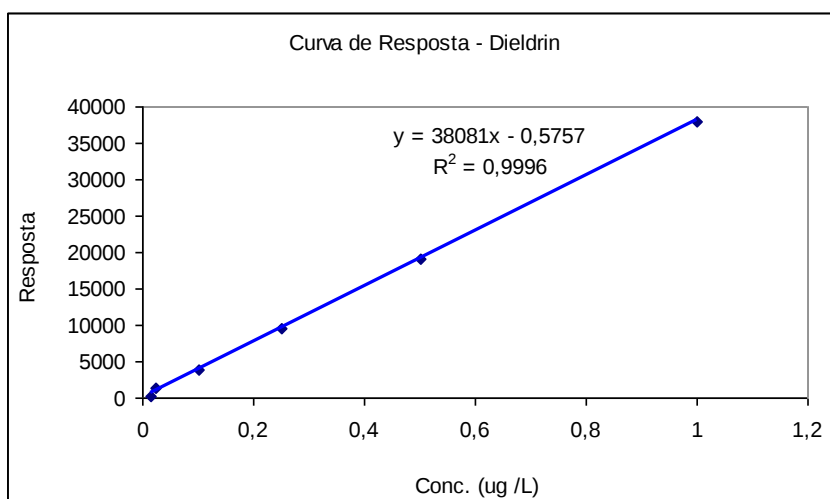


Figura 16 - Curva de Calibração para o composto Dieldrin

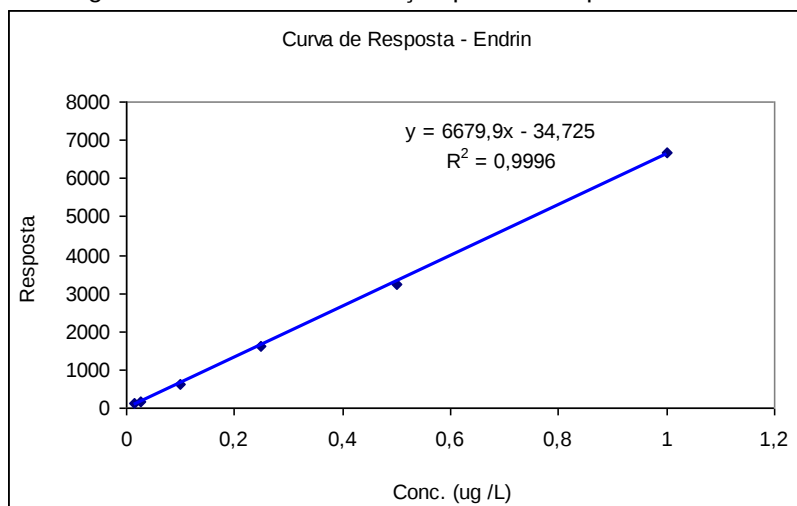


Figura 17 - Curva de Calibração para o composto Endrin

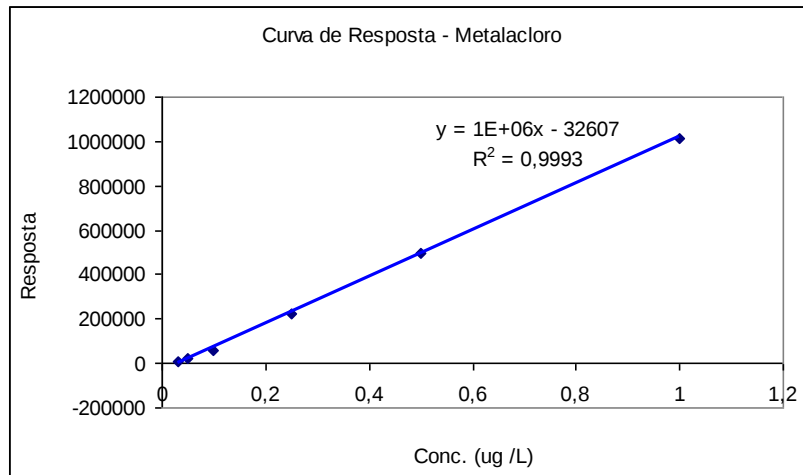


Figura 18 - Curva de Calibração para o composto Metalcloro

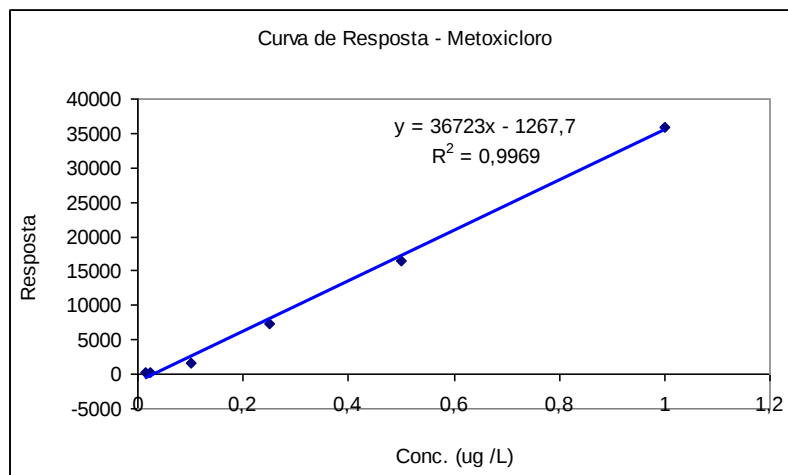


Figura 19 - Curva de Calibração para o composto Metoxicloro

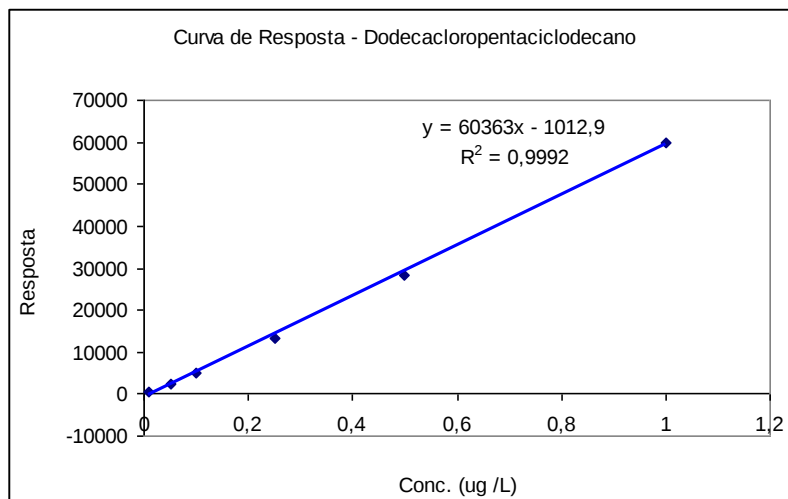


Figura 20 - Curva de Calibração para o composto Dodecacloropentaciclodecano

6.2.7 Validação da Metodologia de Extração para os compostos estudados: fipronil, lindano, clordano, endossulfan, alaclor, heptacloro e heptaclor epóxido, aldrin, dieldrin, endrin, metalcloro, metoxicloro e dodecacloropentaciclodecano

Para a validação do método de extração e para a confecção da curva analítica de calibração foram determinados os limites de detecção e de quantificação dos agrotóxicos em estudo. O limite de detecção (LD) foi calculado multiplicando-se por três o valor do ruído observado no tempo de retenção do analito de interesse (LEITE, 1996). Na prática o LD é definido como a concentração mínima do analito medida e declarada com 95% de significância estatística de que a concentração do analito é maior que zero. O limite de quantificação (LQ) foi calculado multiplicando-se por dez o valor desse ruído (BRONDI et al., 2005) (Tabela 10).

O limite de quantificação (LQ) corresponde à menor concentração do analito que pode ser quantificada com exatidão e com fidelidade (n=10) após a injeção do branco (LANÇAS, 2004b).

Na prática o Limite de Quantificação é a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível aceitável de precisão e veracidade. Na prática, corresponde normalmente o produto do padrão de calibração de menor concentração (primeiro ponto da curva) ao fator de preparo da amostra.

Tabela 10 - Limites de detecção e quantificação do método para os agrotóxicos em estudo.

Compostos	LD ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
Fipronil	0,03	0,1
Alaclor	0,004	0,03
Aldrin	0,02	0,03
Dieldrin	0,03	0,03
Clordano	0,01	0,03
Endossulfan	0,01	0,03
Endrin	0,01	0,03
Heptacloro	0,01	0,03
Heptacloro Epóxido	0,01	0,03
Lindano	0,005	0,03
Metalacloro	0,002	0,03
Metoxicloro	0,003	0,03

6.2.8 Testes de recuperação dos compostos estudados

Procedeu-se a fortificação de água deionizada com os padrões analíticos de interesse. Tal fortificação ocorreu em 3 níveis para cada composto. Para cada nível de fortificação procedeu-se a extração conforme metodologias de extração descritas no item materiais e métodos, sendo que foram realizadas cinco extrações para cada nível de fortificação dos compostos de interesse. O desvio padrão foi calculado com base nas concentrações das recuperações obtidas o qual expressa a precisão de uma medida, o que corresponde à repetibilidade da mesma. Todos estes dados bem como os valores médios de recuperação (%Rec) obtidos para os testes com amostras de água são ilustrados na Tabela 11.

Tabela 11 - Valores médios para a porcentagem de recuperação (%Rec) em amostras de água fortificadas com os agrotóxicos em estudo para diferentes 3 níveis de concentração (mg.L^{-1}).

	Concentração 0,1		Concentração 0,5		Concentração 1,0 mg.L^{-1}	
	%Rec	σ	%Rec	σ	%Rec	σ
Fipronil	112	0,0021	110	0,0020	115	0,0018
Alaclor	Concentração 0,05		Concentração 0,25		Concentração 1,0	
	%Rec	σ	%Rec	σ	%Rec	σ
	117	0,0052	99	0,0155	112	0,0842
Aldrin	Concentração 0,02		Concentração 0,25		Concentração 1,0	
	%Rec	σ	%Rec	σ	%Rec	σ
	101	0,0017	118	0,0064	110	0,0943
Dieldrin	Concentração 0,02		Concentração 0,25		Concentração 1,0	
	%Rec	σ	%Rec	σ	%Rec	σ
	106	0,0019	119	0,0152	98	0,0590
Clordano	Concentração 0,02		Concentração 0,25		Concentração 1,0	
	%Rec	σ	%Rec	σ	%Rec	σ
	138	0,0017	119	0,0073	112	0,0922
Endossulfan	Concentração 0,02		Concentração 0,25		Concentração 1,0	
	%Rec	σ	%Rec	σ	%Rec	σ
	119	0,0012	122	0,0229	102	0,0456
Endrin	Concentração 0,02		Concentração 0,25		Concentração 1,0	
	%Rec	σ	%Rec	σ	%Rec	σ
	121	0,0016	116	0,0108	98	0,0984
Heptacloro	Concentração 0,02		Concentração 0,25		Concentração 1,0	
	%Rec	σ	%Rec	σ	%Rec	σ
	106	0,0018	119	0,0041	117	0,0882
Heptacloro Epóxido	Concentração 0,015		Concentração 0,25		Concentração 1,0	
	%Rec	σ	%Rec	σ	%Rec	σ
	119	0,0017	107	0,0062	102	0,1282
Lindano	Concentração 0,02		Concentração 0,25		Concentração 1,0	
	%Rec	σ	%Rec	σ	%Rec	σ
	106	0,0027	109	0,0099	119	0,0507

Continua...

...Continuação

Tabela 11 - Valores médios para a porcentagem de recuperação (%Rec) em amostras de água fortificadas com os agrotóxicos em estudo para diferentes 3 níveis de concentração (mg.L^{-1}).

<i>Metalacloro</i>	Concentração 0,05		Concentração 0,5		Concentração 1,0	
	%Rec	σ	%Rec	σ	%Rec	σ
	104	0,0053	122	0,0079	111	0,0833
<i>Metoxicloro</i>	Concentração 0,02		Concentração 0,25		Concentração 1,0	
	%Rec	σ	%Rec	σ	%Rec	σ
	109	0,0019	99	0,0039	116	0,1267
<i>Dodecacloropentaciclodecano</i>	Concentração 0,01		Concentração 0,25		Concentração 1,0	
	%Rec	σ	%Rec	σ	%Rec	σ
	119	0,0010	108	0,0142	111	0,1002

Na validação do método (Tabela 11), apresentam-se os resultados das recuperações dos compostos fipronil, lindano, clordano, endossulfan, alaclor, heptacloro e heptacloro epóxido, aldrin, dieldrin, endrin, metalacloro, metoxicloro e dodecacloropentaciclodecano. Pode-se observar que esses são satisfatórios visto que as recuperações apresentam-se dentro do limite aceitável, ou seja, entre 70-120%, conforme GIMENEZ (1999).

6.2.9 Brancos

Em todas as baterias de amostras analisadas para o fipronil, lindano, clordano, endossulfan, alaclor, heptacloro e heptacloro epóxido, aldrin, dieldrin, endrin, metalacloro, metoxicloro e dodecacloropentaciclodecano. foram feitos brancos, os quais não apresentaram interferentes nos tempos de retenção referente aos analitos de interesse neste trabalho.

6.2.10 Aplicação do composto *surrogate* (controle de qualidade analítica)

Nas Tabelas 12 e 13 apresentam-se valores médios para a porcentagem de recuperação (%Rec) dos *Surrogates*: Terfenil d14 e o 2-Fluorbifenil em amostras de água fortificadas com os agrotóxicos em estudo para diferentes níveis de concentração, para extração SPE e Líquido-Líquido.

Tabela 12 – Valores médios e desvio padrão da porcentagem de recuperação (%Rec) dos *Surrogates* Terfenil d14 e o 2-Fluorbifenil em amostras de água para extração com método SPE.

Composto	Concentração 250 $\mu\text{g L}^{-1}$	
	%Rec	σ
Terfenil d14	90,16	1,32
2-Fluorbifenil	94,31	0,99

Tabela 13 – Valores médios e desvio padrão da porcentagem de recuperação (%Rec) do *Surrogates* Terfenil d14 e o 2-Fluorbifenil em amostras de água para extração com método Líquido-Líquido.

Composto	Concentração 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$		Concentração 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	
	%Rec	σ	%Rec	σ
Terfenil d14	99,38	2,15	95,49	2,10
2-Fluorbifenil	95,54	1,85	96,60	2,11

6.2.11 Identificação e quantificação dos compostos: fipronil, lindano, clordano, endossulfan, alaclor, heptacloro e heptacloro epóxido, aldrin, dieldrin, endrin, metalacloro, metoxicloro e dodecacloropentaciclodecano.

Entre as Tabelas 14 a 17, encontram-se os resultados médios da quantificação dos compostos analisados nos diferentes pontos de coleta.

Tabela 14 - Resultados das quantificações dos compostos analisados no ponto 1, no rio Corumbataí no município de Analândia.

Composto	$\mu\text{g.L}^{-1}$	VMP Conama 357 $\mu\text{g.L}^{-1}$
Fipronil	< 0,2	(*)
Lindano	< 0,01	0,02
Clordano	< 0,02	0,04
Endossulfan	< 0,03	0,056
Alaclor	< 1	20
Heptacloro e Heptacloro Epóxido	< 0,01	0,01
Dieldrin	< 0,005	0,005
Endrin	< 0,003	0,004
Metalacloro	< 1	10
Metoxicloro	< 0,01	0,03
Dodecacloropentaciclodecano	< 0,001	0,001

(*) não consta VMP na legislação vigente

Tabela 15 - Resultados das quantificações dos compostos analisados no ponto 2, no rio Corumbataí no município de Rio Claro a montante da junção do Ribeirão Claro com o rio Corumbataí.

Composto	$\mu\text{g.L}^{-1}$	VMP Conama 357 $\mu\text{g.L}^{-1}$
Fipronil	< 0,2	(*)
Lindano	< 0,01	0,02
Clordano	< 0,02	0,04
Endossulfan	< 0,03	0,056
Alaclor	< 1	20
Heptacloro e Heptacloro Epóxido	< 0,01	0,01
Dieldrin	< 0,005	0,005
Endrin	< 0,003	0,004
Metalacloro	< 1	10
Metoxicloro	< 0,01	0,03
Dodecacloropentaciclodecano	< 0,001	0,001

(*) não consta VMP na legislação vigente

Tabela 16 - Resultados das quantificações dos compostos analisados no ponto 3, no rio Corumbataí no município de Rio Claro a jusante do encontro do Ribeirão Claro com o rio Corumbataí.

Composto	$\mu\text{g.L}^{-1}$	VMP Conama 357 $\mu\text{g.L}^{-1}$
Fipronil	< 0,2	(*)
Lindano	< 0,01	0,02
Clordano	< 0,02	0,04
Endossulfan	< 0,03	0,056
Alaclor	< 1	20
Heptacloro e Heptacloro Epóxido	< 0,01	0,01
Dieldrin	< 0,005	0,005
Endrin	< 0,003	0,004
Metalacloro	< 1	10
Metoxicloro	< 0,01	0,03
Dodecacloropentaciclodecano	< 0,001	0,001

(*) não consta VMP na legislação vigente

Tabela 17 - Resultados das quantificações dos compostos analisados no ponto 4, no rio Corumbataí próximo a foz do rio Piracicaba.

Composto	$\mu\text{g.L}^{-1}$	VMP Conama 357 $\mu\text{g.L}^{-1}$
Fipronil	< 0,2	(*)
Lindano	< 0,01	0,02
Clordano	< 0,02	0,04
Endossulfan	< 0,03	0,056
Alaclor	< 1	20
Heptacloro e Heptacloro Epóxido	< 0,01	0,01
Dieldrin	< 0,005	0,005
Endrin	< 0,003	0,004
Metalacloro	< 1	10
Metoxicloro	< 0,01	0,03
Dodecacloropentaciclodecano	< 0,001	0,001

(*) não consta VMP na legislação vigente

O composto fipronil não foi quantificado em nenhuma das amostras de água coletadas ao longo do período de amostragens, que compreendeu os meses de novembro de 2006 a junho de 2007. Em todas as amostras analisadas para o composto fipronil os resultados apresentaram-se menores que o LQ (do método) $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$. Infelizmente não há registros na legislação brasileira sobre os limites aceitáveis de resíduos deste composto em corpos d'água, neste caso o trabalho em questão baseou-se em trabalhos internacionais, dentre eles HAMILTON et al., 2003),

que estabelece o limite de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ para resíduos de Fipronil em águas utilizadas para a cultura de arroz irrigado.

Segundo COUTINHO et al., 2005 o produto Fipronil é aplicado de maneira pulverizada sobre o tolete da cana, no sulco do plantio da cana-de-açúcar, de uma única vez. Este composto sofre degradação lenta em água e sedimentos em condições anaeróbicas, com tempo de meia-vida variando entre 116-130 dias. Em condições aeróbicas degrada-se lentamente mediante oxidação, redução e hidrólise (meio alcalino). Quando exposto à luz, o composto sofre fotodegradação e sua meia-vida é de 3,6 horas em água e 34 dias em solos argilosos. Afirmando ainda que este composto é extremamente tóxico para peixes e invertebrados aquáticos.

ROBERTS & HUTSON (1999) descrevem que quanto à degradação do Fipronil em meio aquático, ocorre a transformação em um subproduto, também tóxico para insetos, denominado fotodegradado de disulfenil. Quando exposto a luz solar o disulfenil apresenta ação neurotóxica aos insetos, semelhante à molécula original do Fipronil. Segundo este autor, a fotólise é o caminho mais importante para a degradação do Fipronil em meio aquoso, entretanto a hidrólise só se tornará importante se o meio apresentar pH básico. O Fipronil é estável a hidrólise em água com pH ligeiramente ácido (pH 5,0 – 6,0) a neutro (pH 7,0) sem a presença de luz.

Segundo RAYTON et al., (2006) o fipronil degrada-se lentamente em água e sedimentos em condições anaeróbicas, com tempo de meia-vida entre 116 e 130 dias. Seus resíduos tendem a permanecer na camada superior do solo e exibem baixo potencial de lixiviação para águas de profundidade, sendo que em ambientes aquáticos, os resíduos de fipronil rapidamente se movem da água para os sedimentos.

Segundo USEPA (1996) a solubilidade do fipronil na água é de $2,4 \text{ mg.L}^{-1}$ em pH 5 e $2,2 \text{ mg.L}^{-1}$ em pH 9. A meia-vida (hidrólise) a 32°C e pH 7,1 e 9,1 é de 15,6 e 11,3 dias, respectivamente; no meio aquático (aeróbio) é de 14,5 dias e a degradação por fotólise no solo é de 34 dias.

Outros autores também discutem o comportamento do fipronil, dentre eles:

BOBÉ et al, (1998) indicou que a degradação no meio aquoso, em ausência de luz a 22 °C e pH ácido (5,5) e neutro (7,0) é estável ao redor de 80% após 100 dias nas duas condições. O aumento de temperatura de 22 a 45°C diminui o tempo de degradação do fipronil de 114 para 18 horas em pH 9,0.

Em estudos de campo e de laboratório, sob diversas condições ambientais, foram estabelecidas as rotas de degradação do fipronil em água e em solo. O composto pode ser metabolizado via redução ao sulfeto, via oxidação a sulfona, e via hidrólise à amida. Em presença de luz solar, o fipronil é fotodegradado e forma o disulfenil fipronil (FENET et al., 2001).

FEUNG e YENNE (1997) em estudo verificaram que o fipronil é adsorvido rapidamente em sedimento com areia contendo 8% de matéria orgânica e pH 5,8. A vida média do composto em condições aquáticas aeróbias é de aproximadamente 14,5 dias. Nesta condição, a maior quantidade de metabólito formado é de sulfeto, que corresponde a 74% do resíduo total depois de 30 dias de experimentação.

CONNELLY (1997) descreveu a transformação do fipronil no meio aquático em disulfenil, subproduto com ação neurotóxica semelhante à molécula original do fipronil, que mantém a ação tóxica aos organismos expostos. Em estudos metabólicos observa-se que há um potencial de bioacumulação do disulfenil em tecidos gordurosos (DEMCHECK e SKROBIALOWSKI, 2003).

LYONS et al. (2008) estudaram a transformação e a adsorção do fipronil em córregos com sedimento sob condições anaeróbias e constataram a persistência de 25 a 91 dias. A esterilização do sedimento diminuiu a dissipação, onde se observa que a atividade microbiana é um importante fator na dissipação do fipronil no sedimento. A estabilidade do fipronil no sedimento depende da disponibilidade do oxigênio para a conversão do fipronil nos metabólitos sulfona e sulfeto.

KURZ (2009) em estudo de métodos para extração de fipronil, entre outros agrotóxicos, em águas utilizadas para o cultivo de arroz irrigado, destacou a

formação de metabólitos do composto, sendo eles: disulfenil fipronil, fipronil sulfeto e fipronil sulfona. Utilizou-se os métodos de extração em fase sólida e análise por HPLC-DAD e GC-ECD. Neste estudo segundo o autor foi possível observar a rápida degradação do inseticida fipronil e conseqüente formação e também degradação dos seus metabólitos. Dos metabólitos o disulfenil fipronil foi o que apresentou as maiores concentrações.

A degradação do fipronil no sedimento ocorre em taxas moderadas. Segundo RAYTON et al. (2006) onde determinaram que os metabólitos predominantes no sedimento foram fipronil sulfeto e fipronil amina. Em contraste, o metabolito fipronil desulfenil, que é originado pela ação da luz, foi apenas detectado. Estes resultados são determinados pela quantidade de matéria orgânica e pela composição físico-química do solo.

No solo, o valor médio do coeficiente de adsorção do fipronil à matéria orgânica do solo (K_{oc}) é 803, que confere ao composto de baixa a moderada adsorção por área de superfície RHÔNE-POULENC AGRICULTURAL LIMITED (1997).

A molécula tem baixa capacidade de dispersão na terra, mas isto não resulta em baixo potencial para a contaminação das águas subterrâneas (USEPA, 1996; BURR, 1997).

É fato que diante de tantas informações encontradas sobre o comportamento do fipronil em relação a condições de pH, quantidade de matéria orgânica no sedimento, atividade microbiana, fotodegradação, meia-vida, no que diz respeito a formação de seus metabólitos, faz-se necessário e imprescindível que os monitoramentos destes metabólitos façam parte de estudos que acompanhem os estudos do fipronil em corpos d'água e mesmo solo e sedimento.

Chegou-se levantar a hipótese de retomar o monitoramento estendendo-o por mais 12 (doze) meses a fim de se monitorar a molécula produto da degradação do fipronil, o disulfenil. Porém haveria necessidade de importação do padrão,

desenvolvimento e validação de novo método, o que ficou impossibilitado por conta do curto prazo para o término dos trabalhos.

Após tomar conhecimento de tantas observações feitas pelos autores acima mencionados, para o composto fipronil, pode-se inferir que as condições ambientais dos locais de coleta, tipo de solo e sedimento arenoso característico da bacia do Corumbataí, intensidade de chuvas, bem como as características físico-químicas das amostras coletadas contribuíram para a não quantificação do composto em questão, pois é fato que características físico-químicas da água como, pH, temperatura e condutividade podem interferir na solubilização de um agrotóxico na água GREEN (1974).

HARMAN-FETCHO et al., 2005, avaliaram no sul da Flórida entre os anos de 2002 e 2004 a presença de agrotóxicos em corpos d'água. Dentre eles destacou-se o fipronil, que esteve presente em 7 das 88 amostras analisadas em concentrações entre 0,6 e 8,6 ng.L⁻¹.

GRÜTZMACHER et al.(2008) em monitoramento de agrotóxicos (dentre eles o fipronil) nas águas do canal de São Gonçalo e rio Piratini no sul do Brasil, próximos a cultura de arroz irrigado, relatou que a quantidade de resíduos de fipronil em águas diminui consideravelmente da semeadura à colheita, ou melhor, das amostras analisadas na primeira campanha, logo após a semeadura do arroz, 16% encontravam-se contaminadas com o fipronil, sendo que na última campanha de amostragem nenhuma amostra apresentou-se contaminada com o composto.

MACEDO et al. (2007) analisaram amostras de águas dos sistemas de irrigação e de drenagem de áreas de cultivo de arroz em Camaquã RS. Dentre os agrotóxicos analisados destaca-se o fipronil. As determinações das concentrações do inseticida foram feitas quinzenalmente, a partir de outubro até 15 de janeiro de 2007, quando passaram a ser mensais. As determinações foram por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção por Arranjo de Diodos (HPLC-DAD) após pré-concentração por extração em fase sólida (SPE). Resíduos do inseticida fipronil, nas primeiras duas amostragens, foram encontrados em todos os pontos de coleta em concentrações muito altas, considerando-se os parâmetros estabelecidos pela

Comunidade Européia. Salienta-se, que nessas coletas, a presença desse princípio ativo na água de irrigação do reservatório provém de usos do produto em outros cultivos implantados à montante do reservatório. Resíduos de fipronil foram detectados em 32% das amostras coletadas até às amostragens realizadas em 20 de novembro de 2006. Dessa data até à coleta em 15 de janeiro, este princípio ativo não foi detectado, sendo inferior ao limite de detecção do método utilizado para fipronil ($0,6 \mu\text{g L}^{-1}$). Após esta data, ele voltou a aparecer, inclusive na água do reservatório, em concentrações superiores a $3 \mu\text{g L}^{-1}$.

MATTOS et al. (2009) monitoraram agrotóxicos utilizados na cultura de arroz irrigado, em água e sedimento, na fronteira oeste do Rio Grande do Sul, sendo que o fipronil foi um dos agrotóxicos detectados com maior frequência nas amostras de água e o 2,4 D foi o único detectado nas amostras de sedimento.

MACEDO et al. (2008) desenvolveu e otimizou um método analítico, para determinação de resíduos de fipronil, atrazina e endossulfan, agrotóxicos esses amplamente aplicados na cultura da cana-de-açúcar, em amostras de água, utilizando a microextração em fase sólida (SPME) como técnica de extração e a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS) como técnica analítica. Os limites de detecção (LD) foram de $0,025 \text{ mg/L}$ para atrazina e fipronil e $0,050 \text{ mg/L}$ para endossulfan, e os limites de quantificação (LQ) foram de $0,080 \text{ mg/L}$ para atrazina e fipronil e $0,150 \text{ mg/L}$ para endossulfan. A metodologia desenvolvida, SPME-GC/MS, mostrou-se apropriada para a determinação de resíduos dos agrotóxicos fipronil, atrazina e endossulfan na matriz água, com valores de limites de detecção inferiores ao limite máximo de resíduos de agrotóxicos estabelecido pelo EEC 80/778, que é de $0,1 \text{ mg/L}$.

DEMOLINER et al, 2008, estudaram a ocorrência de agrotóxicos em um monitoramento durante oito meses na água superficial do Canal São Gonçalo, e para água de consumo da cidade de Rio Grande após o tratamento pela CORSAN (Companhia Riograndense de Saneamento). Os agrotóxicos selecionados foram: fipronil, clomazone, bispiribaque-sódio, diuron, atrazina, simazina, imazetapir, imazapique, metsulfuron-metílico, quinclorac, penoxsulam, 2,4-D, pirazosulfuronetílico, bentazone, propanil, irgarol, tebuconazol e carbofuran. Os

metabólitos foram: 3,4-DCA e 3-hidroxi-carbofuran. Segundo o autor os compostos foram detectados em concentrações em nível de ng L^{-1} , estando abaixo dos limites determinados pelos órgãos reguladores como os da União Européia (98/83/EC) e no Brasil segundo a Portaria Nº 518 (2004).

CABRERA et al. (2008) desenvolveram estudo para diagnosticar os principais agrotóxicos utilizados na região sul do Brasil, especificamente em Santa Vitória do Palmar e Rio Grande, através de uma pesquisa com produtores rurais, o que resultou numa lista de 27 compostos, na qual destacou-se o agrotóxico fipronil. No estudo foi avaliada a possibilidade de contaminação dos recursos hídricos, utilizando suas propriedades físico-químicas. Os critérios utilizados na avaliação foram: critério EPA *screening*, critério de GUS e método de Goss. Segundo resultados obtidos pelos autores, para o critério de Goss o agrotóxico fipronil apresentou Baixo potencial de Transporte Associado ao Sedimento (BPTAS) e Médio Potencial de Transportados Dissolvidos na Água (MPTDA), neste caso é provável que o fipronil seja facilmente transportado na forma dissolvida em água. De acordo com os critérios EPA *screening* e GUS, o produto não sofre lixiviação e atende aos critérios de avaliação com potencial perigoso.

CAPPELINI (2008) analisou fipronil, ametrina, atrazina e diuron em amostras de água do Ribeirão do Feijão – São Carlos SP, utilizando-se o método de extração em fase sólida (SPE) e otimização da técnica de cromatografia líquida com detector de diodos. Foram analisadas amostras de água da nascente, ao longo do rio e próximo à captação de água para tratamento. Os resultados da validação metodológica apresentaram-se de acordo com a legislação brasileira e internacional, com recuperação do método de extração entre 90 e 95%, sendo que, igualmente a este trabalho nenhum dos agrotóxicos monitorados foram encontrados nas amostras analisadas.

O fipronil pode ser considerado um composto recente no mercado quando comparado a outros agrotóxicos. Porém por estar sendo utilizado há pouco tempo no Brasil poucos estudos avaliam sua presença em corpos d'água. Dentre os trabalhos consultados observou-se que o produto é bastante utilizado para a cultura de arroz

irrigado e no Brasil a utilização concentra-se na região sul do país. Observa-se também muita ênfase a diferentes metodologias de análise e de extração para o composto.

A legislação brasileira através do CONAMA 357/05 (2005) que define padrões de qualidade de águas superficiais destinadas ao consumo humano e à proteção da vida aquática define níveis máximos para vários agrotóxicos dentre eles: alaclor, aldrin, dieldrin, clordano, dodecacloropentaciclodecano, endossulfan, endrin heptacloro e heptacloro epóxido, lindano, metolacloro e metoxiclo, sendo que estes foram analisados e apresentaram-se dentro dos padrões permitidos pelo Conama 357 de 2005.

Os agrotóxicos organoclorados são relativamente estáveis e lipossolúveis e sua estabilidade está relacionada às ligações carbono-cloro. Estes compostos são muito estudados devido à alta toxicidade, baixa biodegradabilidade e bioassolubilidade em tecido lipídico (GALASSI et al., 1996). Alguns destes compostos podem persistir por 15 a 20 anos no solo e parte destes serem arrastados pelas chuvas (por lixiviação) para o interior dos cursos de água, que também recebem estes compostos através de efluentes industriais, de esgotos, de sedimentos, da atmosfera e por contaminação direta durante a aplicação. Assim, tanto as águas de mananciais de rios e represas que abastecem as populações, quanto os peixes que se alimentam de materiais retirados do fundo desses locais apresentam concentração de agrotóxicos, mesmo anos após a cessar a aplicação destes em regiões vizinhas (GALASSI et al., 1996).

Neste trabalho todos os organoclorados monitorados não foram passíveis de quantificação, porém alguns estudos semelhantes em corpos d'água ainda relatam a quantificação destes compostos em águas de mananciais ou mesmo sedimentos, dentre eles:

RISSATO et al., 2004 em monitoramento de agrotóxicos organoclorados (Lindano, Dieldrin, Endossulfan, Aldrin, Heptacloro e DDT) em águas tratadas e de mananciais e solo na região de Bauru SP. Os resultados apresentaram maiores

quantidades de BHC e Endosulfan (soma de alfa, beta e sulfato) em águas de mananciais (0,41 e 0,87 $\mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente). Além disso, os resíduos determinados em água potável (tratada) foram inferiores a 0,05 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Nas amostras de solo os 2 compostos mais encontrados foram endosulfan e aldrin com 1,12 e 1,38 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, respectivamente.

Del GRANDE & REZENDE (2003) estudaram a distribuição de compostos organoclorados (PCBs: Bifenilas Policloradas; PCP: Pentaclorofenol e HCB: Hexaclorobenzeno) nas águas e sedimentos da bacia do rio Piracicaba SP em 7 diferentes pontos de coleta. Os resultados obtidos indicaram a presença de dois compostos em Sumaré (PCP e HCB) e apenas um organoclorado em Campinas (PCP). As concentrações obtidas para o PCP variaram de 15,0 a 22,3 ng/L, enquanto que o HCB foi quantificado em 17,1 ng/L. HCB foi detectado em todos os pontos, estando acima do valor recomendado pela OMS em Sumaré, enquanto que o PCP não foi detectado apenas em Limeira e Americana. Todas as bifenilas foram detectadas em um ponto, no mínimo, porém, abaixo dos LQ. Esses valores indicam que, em Sumaré e Campinas, ocorreram as maiores contaminações por PCP e HCB. Os níveis de concentração dos organoclorados nas amostras de sedimentos variaram de 0 a 43,56 $\mu\text{g/kg}$. Os compostos presentes foram detectados em diferentes proporções e concentrações, porém em Americana e Sumaré apresentaram-se as maiores ocorrências, com incidência de 100%. Em Piracicaba (P4) apenas o PCB-154 não foi detectado.

CHAGAS et al., (1999) determinaram resíduos de organoclorados em águas fluviais do município de Viçosa MG, Dos 18 organoclorados estudados foram encontrados no ribeirão São Bartolomeu resíduos de 4 agrotóxicos: aldrin, heptacloro epóxido, endrin e DDT, todos com valores acima dos estabelecidos pela legislação.

Del GRANDE (2003) em estudo sobre a distribuição de compostos organoclorados em sedimentos na bacia do Piracicaba, observou que as concentrações de organoclorados foram mais expressivas nas amostras de sedimentos, ou melhor, comparando-se os compartimentos observou-se no estudo que a concentração é cerca de 170 vezes maior no sedimento do que na água.

CHAGAS et.al. (1999) em estudo para determinação de resíduos de organoclorados em corpos d'água no município de Viçosa MG, verificou a presença de organoclorados aldrin e endrin em níveis acima do permitido pela legislação, o que significa que estes compostos podem estar sendo utilizados por meio da venda clandestina.

BARRIUSO et al. (1996) citam que cerca de 20% das quantidades dos agrotóxicos usadas como tratamento profilático de plantas, podem alcançar as águas superficiais, este número só não é maior porque existem alguns processos que atuam na imobilização de moléculas de agrotóxicos, diminuindo a quantidade de poluentes.

Organoclorados são resistentes à hidrólise, e entretanto sofrem reações fotoquímicas formando derivados com estabilidade e toxicidade similar, ou até maior, que os compostos de origem. Eles também são pouco solúveis em água e sofrem bioacumulação, principalmente em tecidos adiposos dos seres vivos (CHAU & AFGHANM, 1982 & LODI et al., 1991).

A estrutura molecular definida de cada agrotóxico determina, pelo menos parcialmente, o grau com que ele irá interagir no ambiente. A presença de grupos funcionais contendo oxigênio, nitrogênio e enxofre tendem a tornar os compostos orgânicos mais reativos, tanto química quanto biologicamente, mais solúveis em água e menos voláteis quando comparados aos hidrocarbonetos com o mesmo número de carbonos. A presença de halogênios também torna o composto menos solúvel em água, mais volátil e normalmente menos reativo tornando-o mais estável ambientalmente (SILVA, 2004)

A solubilidade em água é uma propriedade importante para os processos ambientais, pois atua no comportamento, transporte e destino desses compostos, indicando a tendência do composto em ser carregado superficialmente no solo atingindo águas superficiais. No entanto, este não é o único parâmetro para prever a percolação, devendo ser analisado em conjunto com outras propriedades (SILVA,

2004).

Na Figura 21, são apresentadas as intensidades e as freqüências das chuvas mensais e anuais, segundo Relatório CETESB (2008b). Embora na maioria dos meses as chuvas tenham sido iguais ou inferiores às médias históricas – com destaque para o mês de setembro, o mais seco dos últimos dez anos de observações – as chuvas intensas de janeiro, novembro e especialmente em julho – o mais chuvoso do período histórico analisado – acabaram por determinar que o ano tenha sido mais chuvoso do que a média, o que, pelos resultados deste trabalho e pelas características do fipronil e demais organoclorados monitorados não contribuiu para o carreamento destes compostos ao corpo receptor.

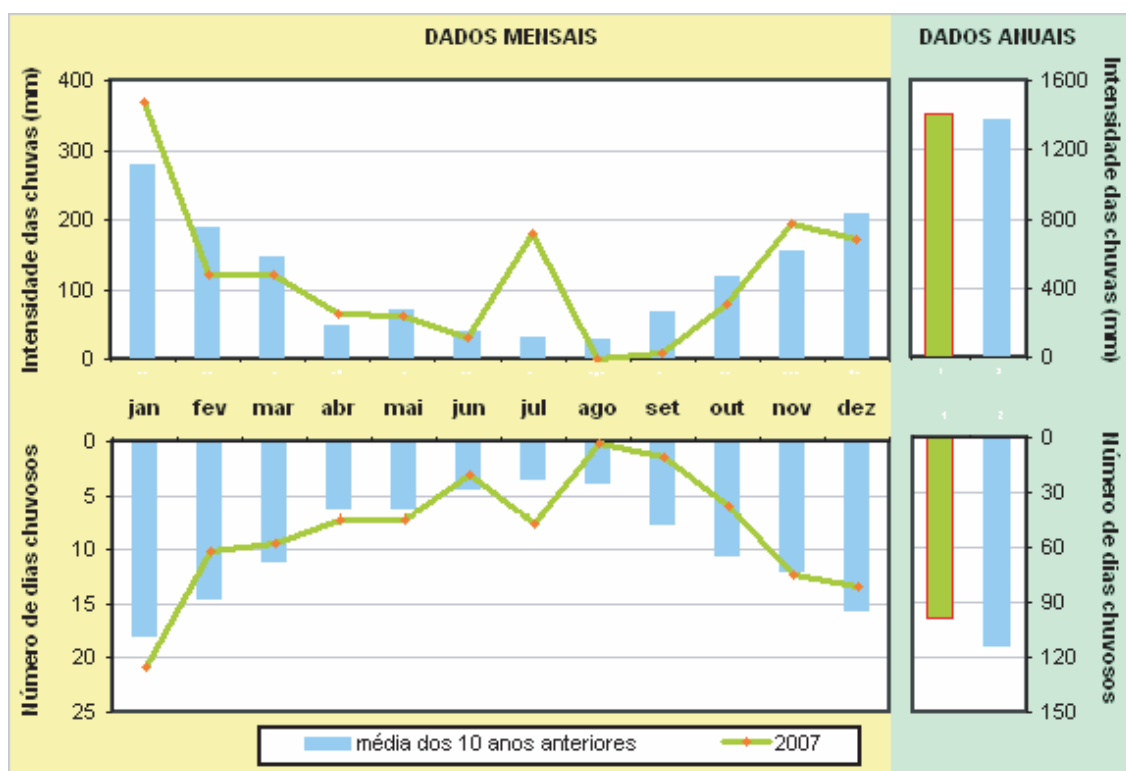


Figura 21 - Intensidades e as freqüências das chuvas mensais e anuais (2007 e médias dos 10 anos anteriores)

Fonte: Relatório CETESB, 2008. Qualidade das Águas Interiores.

6.3 Ensaio de toxicidade aguda em peixes

Na Tabela 18 seguem os resultados das análises da água da “nascente do CENA”, com a qual foram conduzidos os testes preliminar e definitivo para os ensaios de toxicidade aguda com peixes das espécies pacu e paulistinha. As

características físico-químicas (condutividade, pH, amônia, dureza, turbidez, alcalinidade) apresentadas pela amostra, demonstraram que a mesma estava dentro dos padrões recomendados para a realização dos ensaios.

Tabela 18 – Características físico-químicas da amostra de água da “nascente do CENA”, com a qual foram conduzidos os testes de toxicidade, preliminar e definitivo.

Ensaio	Condutividade	pH	Amônia	Dureza	Turbidez	Alcalinidade	Fipronil
Teste Preliminar	113 $\mu\text{S}/\text{cm}$	7,02	0,39 mg.L^{-1}	149 mg.L^{-1}	< 0,1 UNT	60 mg.L^{-1}	< 0,1 $\mu\text{g.L}^{-1}$
Definitivo	119 $\mu\text{S}/\text{cm}$	6,18	0,36 mg.L^{-1}	163 mg.L^{-1}	< 0,1 UNT	52 mg.L^{-1}	< 0,1 $\mu\text{g.L}^{-1}$

6.3.1 Teste Preliminar

Foram conduzidos testes preliminares para as espécies paulistinha e pacu, com 5 (cinco) concentrações do composto fipronil, sem repetições, a fim de selecionar-se as concentrações para o teste definitivo. No preparo das soluções testes, foram utilizados intervalos de concentração na base 10 (escala logarítmica).

Os resultados do teste preliminar são apresentados nas Tabelas 19 e 20, onde se destacam a porcentagem de mortalidade ao longo do experimento (nos tempos 24 e 48 horas) para as diferentes concentrações.

Pode ser observado (Tabelas 19 e 20) que para o teste preliminar com o paulistinha e pacu, a mortalidade foi de 100% nas concentrações 1, 10 e 100 mg.L^{-1} logo nas 24 primeiras horas do experimento. Enquanto que na concentração 0,01 mg.L^{-1} e controle não houve mortalidade e na concentração 0,1 mg.L^{-1} houve mortalidade de 20%, já nas primeiras 24 horas.

Tabela 19 - Porcentagem de organismos mortos (% de mortalidade) para o teste preliminar com o paulistinha nas concentrações de 0,01 a 100 mg.L⁻¹, nos tempos 24 e 48 horas de ensaio.

Concentração (mg.L⁻¹)	24 h	48 h	(%) mortalidade
Controle	0/5	0/5	0
0,01	0/5	0/5	0
0,1	1/5	1/5	20
1	5/5	5/5	100
10	5/5	5/5	100
100	5/5	5/5	100

Tabela 20 – Porcentagem de organismos mortos (%) de mortalidade para o teste preliminar com o pacu nas concentrações de 0,01 a 100 mg.L⁻¹, nos tempos 24 e 48 horas de ensaio.

Concentração (mg.L⁻¹)	24 h	48 h	(%) mortalidade
Controle	0/5	0/5	0
0,01	0/5	0/5	0
0,1	1/5	1/5	20
1	5/5	5/5	100
10	5/5	5/5	100
100	5/5	5/5	100

No teste com o paulistinha foram utilizadas 5 concentrações, visto que no teste preliminar a concentração que causou mortalidade aos organismos foi a de concentração 1 mg.L⁻¹ e o fator de diluição utilizado foi de 2. Já no teste com o pacu a concentração também foi de 1 mg.L⁻¹, contudo quando realizado o teste definitivo a concentração de 1 mg.L⁻¹ não causou mortalidade, logo foi necessário adicionar mais uma concentração.

6.3.2 Teste definitivo

Nas Tabelas 21 e 22 encontram-se os dados obtidos a partir do teste definitivo para avaliação da mortalidade dos organismos.

Tabela 21 - Número de organismos mortos (% mortalidade) para os testes com o pacu durante o período experimental para o controle e as concentrações de 0,01 e 1,5 mg.L⁻¹

Concentrações	% mortalidade	24 h		48 h		72 h		96 h	
		R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
Controle	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
0,01	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
0,05	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
0,1	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
0,5	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
1	40	1/5	2/5	1/5	2/5	1/5	2/5	1/5	2/5
1,5	100	5/5	4/5	5/5	4/5	5/5	5/5	5/5	5/5

Tabela 22 - Número de organismos mortos (% mortalidade) para os testes com o paulistinha durante o período experimental para o controle e as concentrações de 0,01 e 1 mg.L⁻¹

Concentrações	% mortalidade	24 h		48 h		72 h		96 h	
		R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
Controle	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
0,01	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
0,05	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
0,2	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
0,5	100	0/5	5/5	1/5	1/5	1/5	1/5	4/5	5/5
1	100	4/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5

No grupo controle do presente estudo (para os testes com as duas espécies, pacu e paulistinha) não houve nenhum comportamento anormal quanto à presença de movimentos desordenados, agitação e batimento opercular acelerado.

Nas Figuras 22 e 23 apresentam-se fotos ilustrativas sobre o comportamento de ambas as espécies (Pacu e Paulistinha) ao final de 96h de ambos os experimentos.



Figura 22 - Comportamento da espécie Pacu ao final dos experimentos

Fonte: Laboratório de Ecotoxicologia Aquática CENA/USP



Figura 23 - Comportamento da espécie Paulistinha ao final dos experimentos

Fonte: Laboratório de Ecotoxicologia Aquática CENA/USP

Durante o período dos testes foram medidos pH, condutividade e temperatura nos tempos 0, 48 e 96 horas. As médias desses valores encontram-se na Tabela 23. Durante o período do teste os aquários permaneceram em constante aeração, sendo que o teste foi avaliado nos períodos de 24, 48, 72 e 96 horas.

Ao final do experimento foi calculada a CL_{50} 96 horas para os testes com paulistinha e pacu. Para os cálculos da CL_{50} foi utilizado um teste básico a partir do programa Jaspear® o qual relaciona o número de organismos mortos x concentrações testadas (Tabela 23).

Tabela 23. Valores médios de pH, condutividade, temperatura e CL_{50} 96 horas para os testes definitivo com paulistinha e pacu.

<i>Organismo Teste</i>	<i>pH</i>	<i>Condutividade ($\mu S/cm$)</i>	<i>Temperatura °C</i>	<i>$CL_{50} (mg.L^{-1})$</i>
Paulistinha	7,05	250,79	24,8	0,34
Pacu	7,20	233,93	25,2	1,04

Durante o experimento foram observados nos indivíduos padrões de comportamento anormais como: hiperatividade, natação errática, natação lenta, natação próxima à superfície, desequilíbrio e batimento opercular acelerado. Para o teste com o paulistinha observou-se comportamento normal para o controle e concentrações de 0,01 e 0,05 $mg.L^{-1}$, para a concentração 0,2 $mg.L^{-1}$ notou-se hiperatividade e para as concentrações 0,5 e 1 $mg.L^{-1}$ notou-se hiperatividade, natação próxima à superfície, desequilíbrio e batimento opercular acelerado. Para o teste com o pacu foi observado comportamento normal somente para o controle, sendo que para a concentração de 0,01 $mg.L^{-1}$ os indivíduos apresentaram hiperatividade, para as demais concentrações (0,05, 0,1, 0,5, 1,0 e 1,5 $mg.L^{-1}$) foi observada natação errática, natação próxima à superfície, desequilíbrio e batimento opercular acelerado.

A avaliação de efeitos cumulativos de agrotóxicos em ecossistemas aquáticos pode ser realizada através de testes de laboratório, utilizando testes agudos (LC_{50}), como o utilizado neste trabalho, além de testes crônicos de bioconcentração. Pesquisas demonstraram que o fator de bioconcentração para determinados compostos apresentam valores mais elevados em organismos que ocupam níveis tróficos mais elevados, ou melhor, que ocupam o topo da cadeia alimentar, como peixes carnívoros, por exemplo (STEVENS et al., 2003).

É fato que o inseticida fipronil é uma molécula que afeta o SNC (Sistema Nervoso Central) devido principalmente à interferência da passagem de íons de

cloreto através do GABA (Ácido Gama Aminobutírico) o qual é importante transmissor de impulsos nervosos (neurotransmissor) em vertebrados e invertebrados, causando neste último o descontrole do SNC, super excitação e subsequente morte, conforme descreve RHÔNE-POULENC (1995). Esta pode ser a causa da morte de 100% dos organismos durante o experimento, já nas primeiras 24 horas nas concentrações mais elevadas. No entanto STEHR et al. (2006) descrevem o efeito do fipronil no desenvolvimento embrionário do peixe paulistinha (*Danio rerio*) é a degeneração da notocorda com a concentração na água de $0,33 \text{ mg.L}^{-1}$, devido ao encurtamento das fibras musculares na direção rostro-caudal, redução da transmissão interneural na medula espinal, que resulta em morte por tetânia. Este efeito explica a maior excitação com flexão lateral nos peixes expostos às concentrações de 0,1 até $0,15 \text{ mg.L}^{-1}$ de fipronil, também observados durante os ensaios de toxicidade aguda neste trabalho.

Segundo a empresa BioCarb Agroquímica (2009), fabricante do produto comercial Isca Atack Verde (sinônimo = fipronil) o produto apresenta toxicidade aguda: DL50 Oral em ratos: $>2.500 \text{ mg/Kg}$; DL50 Dérmica em ratos: $>1250 \text{ mg/kg}$ e CL50 Inalatória: $> 0,00016 \text{ mg/l}$. Além de efeitos ambientais, comportamentais e impactos do produto:

- Mobilidade: o produto é classificado como imóvel.
- Persistência/Degradabilidade: persistência reduzida. Ainda, o produto tem média de evolução de CO_2 ao longo do experimento. A porcentagem de CO_2 durante os 28 dias de incubação foi de 53.39% do carbono total da substância teste.
- Persistência Bioacumulação: o valor estimado do fator de bioconcentração (FBC) foi de 2126 (± 420) e 1853 (± 141) com uma meia-vida de 174 ($\pm 18,6$) e 105 ($\pm 10,2$) horas para a baixa e alta concentração, respectivamente.
- Ecotoxicidade: Toxicidade para peixes: (*Brachydanio rerio*) CL50 (96hs) = $186,03 \text{ mg/L}$; Toxicidade para aves: Codornas adultas DL50 $>2.000 \text{ mg/kg}$; Toxicidade para minhocas: (*Eisenia foetida*) CL50 (14 dias) $>2.388,89 \text{ mg/kg}$; Toxicidade para algas: (*Selenastrum capricornutum*) CE50 (96 hs) = 201 mg/L ; Toxicidade para microcrustáceos: (*Daphnia similis*) CE50 (48 hs) = $195,78$

mg/L; Toxicidade para abelhas: (*Apis mellifera mellifera*) DL50 (24 hs) >20 ug/abelhas.

Os resultados dos testes de toxicidade declarados pela empresa BioCarb são surpreendentes quando comparados com este estudo onde a CL50 encontrada para o mesmo organismo o Danio rerio (paulistinha) foi de 0,34 mg.L⁻¹, ou seja, muito inferior a declarada pelo fabricante.

Outros organismos também foram testados quanto à toxicidade do composto fipronil, dentre eles:

A ecotoxicidade aguda do fipronil foi avaliada para alguns organismos não-alvos, sendo que CHANDLER et al. (2004) estimaram a CL50;96h de fipronil para o copépode *Amphiascus tenuiremis* em 0,0068 mg.L⁻¹ e determinaram a sobrevivência de 90% expostos a 0,22 mg.L⁻¹; 94 % de inibição da reprodução com 0,42 mg.L⁻¹ e atraso no tempo de expulsão dos ovos pelas fêmeas.

Para o microcrustáceo *Daphnia pulex*, a CL(I)50;96h estimada foi de 0,016 mg.L⁻¹ (STARK et al., 2005). A CL(I)50;96h calculada para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) foi de 0,248 mg.L⁻¹ (USEPA, 1996b).

SCOTT et al. (2008) determinaram o efeito do fipronil nos córregos usados para irrigação da cultura de arroz, por meio da avaliação da comunidade macroinvertebrada. Verificaram que a persistência, após seis meses de uma única aplicação de 0,005 mg.L⁻¹ diminuiu a população dos macroinvertebrados aquáticos estudados. A finalidade dos testes de ecotoxicidade aguda é avaliar a letalidade ou a imobilidade dos organismos submetidos a um curto período de tempo de exposição à substância tóxica e estabelecer um intervalo de concentração dentro da qual se estima o valor da CL50;96h (concentração letal inicial 50% em 96 horas de exposição) (HELFRICH et al., 1996).

Segundo MANRIQUE (2009) O valor médio da CL50; 96h do fipronil estimado para o guarú nos experimentos sem sedimento foi de $0,08 \pm 0,01 \text{ mg.L}^{-1}$; e com sedimento, $0,09 \pm 0,01 \text{ mg.L}^{-1}$.

Para a espécie peixe-guelra-azul (*Lepomis macrochirus*) a CL50;96h do fipronil estimada foi de $0,08 \text{ mg.L}^{-1}$ (USEPA, 1996). Para a tilápia (*Oreochromis niloticus*), a CL50;96h foi de $0,25 \text{ mg.L}^{-1}$ (USEPA, 1996) valor que caracteriza este inseticida como três vezes mais tóxico para tilápia do que para o guarú.

Rodrigues (2007) em estudo sobre o impacto do uso de agrotóxicos utilizados na agricultura (dentre eles o fipronil), sobre peixes da região da nascente do rio Mogi-Guaçu MG, mostraram que a região sofre com o impacto das lavouras em função não apenas da utilização de agrotóxicos, porém os efeitos sobre o crescimento e alterações histopatológicas nas brânquias foram observados nos organismos submetidos aos testes. As alterações histológicas foram, em geral, relacionadas à proliferação celular, dilatação de capilares, deslocamento de epitélio branquial, além de aneurismas e fusão das lamelas.

No entanto a comparação destes trabalhos com os organismos testados neste trabalho tornou-se inviável, visto as peculiaridades apresentadas por cada uma das espécies acima descritas e as diferenças entre elas (como hábitos, níveis tróficos da cadeia alimentar, tamanho, peso, dentre outras).

Na Tabela 24 apresenta-se a classe de toxicidade aguda de um determinado composto para organismos aquáticos. A partir deste referencial podemos definir que para os testes com o organismo pacu, que apresentou CL50 de $1,04 \text{ mg.L}^{-1}$, o composto fipronil pode ser considerado moderadamente tóxico, no entanto para os testes com o organismo paulistinha, que apresentou CL50 de $0,34 \text{ mg.L}^{-1}$ o fipronil pode ser considerado um composto altamente tóxico.

Tabela 24. Classes de toxicidade aguda para organismos aquáticos e sua respectiva CL50 ou CE50 (mg.L⁻¹)

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

Fonte: Zucker (1985)

Alguns órgãos ambientais mundiais definiram esquemas de avaliação de periculosidade, baseados em valores únicos de parâmetros com meia-vida, toxicidade a alguns organismos e propriedades físico-químicas. Segundo DULKA, 1996, isto seria apropriado somente para definir se um perigo existe potencialmente, mas não serviria para ser utilizado em decisões regulamentares por autoridades governamentais.

Em 2005, os testes toxicológicos foram integrados à legislação federal brasileira sobre a qualidade das águas superficiais destinadas ao abastecimento humano e à vida aquática. A Resolução CONAMA 357/05 (BRASIL, 2008a) prevê as possíveis interações entre substâncias e a presença de contaminantes que possam causar danos aos seres vivos.

No que se refere à proteção da vida aquática, pouca informação está disponível para dar suporte à tomada de decisão no que diz respeito a padrões de qualidade das águas. Segundo BEITZ et al. (1994) peixes e moluscos são mais sensíveis, que mamíferos e pássaros para a maioria dos agrotóxicos, devido as diferenças de sensibilidade do receptor ou órgão alvo ou fatores toxicocinéticos, como absorção mais rápida e destoxificação mais lenta.

O sedimento é o resultado de diversos processos físicos, químicos e biológicos que ocorrem nos ecossistemas aquáticos e exerce influência no metabolismo de todo o sistema. Portanto, é um dos mais importantes compartimentos que devem ser estudados durante a avaliação do nível de

contaminação dos ecossistemas aquáticos, dada a sua grande capacidade em acumular compostos orgânicos e inorgânicos, principalmente por processos de decantação (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006).

Quando presentes no sedimento, os contaminantes podem se associar às partículas e ficarem indisponíveis ao ecossistema, sofrer transformações e originar formas mais ou menos tóxicas, assim como migrar para organismos bentônicos na coluna de água. Grandes quantidades de poluentes presentes no sedimento podem ou não ocasionar efeitos sobre os organismos aquáticos; fica na dependência de vários fatores que afetam a disponibilidade e a toxicidade (AZEVEDO e CHASIN, 2003).

6.3.3 Biometria

Ao final do experimento foi realizada a biometria dos peixes, ou seja, foram verificados o tamanho por meio de um ictiômetro e o peso por meio de balança. Foram encontradas as seguintes médias de peso e comprimento: Para o paulistinha 0,42g e 3,6 cm e para o pacu 3,7g e 5,4 cm, respectivamente.

Segundo BARRON (1990) pode ocorrer a correlação entre o potencial bioacumulativo de um determinado composto e os parâmetros biométricos, entretanto neste estudo o efeito bioacumulativo não foi testado, portanto não há como definir se houve tal interferência. Entretanto LOPES (2005) em estudos com a espécie pacu para os ensaios de toxicidade aguda e bioacumulação com o agrotóxico triclorofon, não encontrou correlação entre a bioacumulação e a biometria apresentada pelos peixes ao final dos experimentos.

Vale comentar que no primeiro momento em que foi realizado o teste de toxicidade aguda com o organismo pacu, para o qual os resultados foram descartados, houve um intervalo de tempo muito grande (mais de 20 dias) entre a realização do teste preliminar e o teste definitivo, o que deu margem à um crescimento acentuado dos peixes neste período. O resultado deste primeiro experimento foi a não mortalidade dos peixes, em nenhuma das concentrações, comprovando talvez que o tamanho e peso dos indivíduos podem interferir num

resultado positivo ou negativo para ensaios de toxicidade. Por conta deste fato, o experimento foi repetido sem intervalo de tempo entre o teste preliminar e definitivo.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que:

- As técnicas empregadas (extração, identificação e quantificação) para as determinações dos agrotóxicos monitorados apresentaram-se adequadas, resultados comprovados pelas validações metodológicas;
- Os agrotóxicos monitorados foram quantificados abaixo do limite estabelecido pelo CONAMA 357 de 2005, para organoclorados e dentro dos padrões estabelecidos por órgãos ambientais europeus e americanos, para o fipronil;
- Há possibilidade de que os compostos não tenham sido encontrados nas águas por conta de ficarem aderidos ao solo ou no sedimento ou na matéria orgânica em suspensão. Neste caso faz-se necessária a análise destes demais compartimentos;
- Os metabólitos do fipronil não foram monitorados e a revisão da literatura revelou o quão importante é este monitoramento em paralelo à molécula do fipronil com seus produtos de degradação;
- O teste de toxicidade aguda com o fipronil apresentou resultados para CL50 com valores muito inferiores daquele declarado pelo site de um dos fabricantes (BioCarb Agroquímica) da molécula para o paulistinha;
- O teste de toxicidade aguda com o fipronil mostrou o quão difere a toxicidez de um composto para diferentes espécies de peixes. Demonstrando a espécie pacu muito mais resistente que o paulistinha.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Agrotóxicos e toxicologia. **Monografias de Produtos Agrotóxicos**. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/f43_fipronil.pdf, acesso em 30 jul, 2009.
- ALMEIDA, W. F. Praguicidas em veterinária e os problemas de seus resíduos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. **Resumos...** São Paulo, 1974. p. 14.
- ALY, O.; BADAWY, M. Organochlorine residues in fish from the river Nile, Egypt. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 33, p. 246-256, 1984.
- ARMAS, E. D. **Biogeodinâmica de herbicidas utilizados na cana-de-açúcar (Sacharum spp.) na sub-bacia do rio Corumbataí**. 2006. 186 p. Tese (Doutorado em Ecologia de Agroecossistemas) – Escola Superior de Agricultura, “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.
- ARMAS, E. D.; MONTEIRO, R. T.; ANTUNES, P. M.; SANTOS, M. A. P. F.; CAMARGO, P. B.; ABAKERLI, R. B.; Diagnóstico espaço-temporal da ocorrência de herbicidas nas águas superficiais e sedimentos do rio Corumbataí e principais afluentes. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 1119-1127, 2007.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. **Norma ABNT NBR 9898** – Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores. São Paulo, 1987.
- AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. (Ed.). **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Carlos: RIMA, 2003. 322 p.
- BALLESTER, M. V. R. Projeto Piracena: estudos na bacia do rio Corumbataí. In: NASSIF, A. M. A.; SILVA, E. R.; MERLI, G. L.; MENDES, J. C.; FREIXEDAS, V.; VIANA, V. M. **Recuperação florestal e desenvolvimento sustentável na Bacia do Rio Corumbataí**. Piracicaba: SEMAE, 1997.
- BARRIUSO, E.; CALVET, R.; SCHIAVON, M.; SOULAS, G. Les pesticides et lês polluants organiques dês sols: transformation et dissipation. *Éttude et Gestion dês Sols*, v.3, n.4, p.279-296, 1996.
- BARRON, M.G. Bioconcentration: will water-borne organic chemicals accumulate in aquatic animals? **Environmental Science and technology**, Easton, v. 24, n.11, p.1612-1618, 1990.
- BEITZ, H.; SCHMIDT, H.; HERZEL, F. Occurrence, toxicological and ecotoxicological significance of pesticides in groundwater and surface water. In: BÖRNER, H. (Ed.). **Pesticides in ground and surface water**. Berlin: Springer-Verlag, 1994. p. 1-56.
- BENNETT, D. Evaluation of the pesticides in water and sediments. In: HUSTON, D. H.; ROBERTS, T. R. (Ed.). **Environmental fate of pesticides**. West Sussex: John Wiley & Sons, 1990. v. 7, p. 149-173.

BioCarb Agroquímica. Ficha de Informação e Segurança de Produtos Químicos – **Isca Attack (fipronil)**. FISPQ. <http://www.biocarbagroquímica.com.br>. Acesso em 20/07/2009, 6 p.

BOBÉ, A.; COOPER, J.F.; COSTE, C.M.; MULLER, M. A. Behaviour of fipronil in soil under Sahelian plain field conditions. **Pesticide Science**, London, v. 52, p. 275-281, 1998.

BOOK, M. V.; MACHADO NETO, J. G. Estudos toxicológicos do oxicleto de cobre para tilápia vermelha (*Oreochromis* sp.). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 67, n. 2, p. 215-221, 2000.

BORTOLETTO JUNIOR; M. J. B. **Balanço de alteração e erosão química na bacia hidrográfica do rio Corumbataí, SP**. 1999. 95 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

BRANCO, S. M. **Poluição**: A morte de nossos rios. São Paulo: ACETESB, 1983. p. 90-95.

BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Estabelece a classificação das águas e os níveis de qualidade exigidos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 mar. 2005, Seção 1, páginas 58-63. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>. Acesso em 03 dez. 2008.

BRASIL, Ministério da Saúde. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004, que estabelece padrões de qualidade das águas para consumo humano. Disponível em <http://bvsms.saude.gov.br/bvAcesso> em/publicacoes/portaria_518_2004.pdf. Acesso em mai de 2009.

BRASIL, Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução nº 344 de 25 de março de 2004 que estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos mínimos para a avaliação do material a ser dragado em águas jurisdicionais brasileiras, e dá outras providências. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res04/res34404>. Acesso em 20 abr de 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Departamento de Defesa e Inspeção Vegetal. **Legislação federal de agrotóxicos e afins**. Brasília, DF, 1998. p. 7.

BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G. **Limnologia fluvial**: um estudo no rio Mogi-Guaçu. São Carlos: RIMA, 2003. 255 p.

BRONDI, S. H. G. **Determinação de multiresíduos de agrotóxicos em águas de abastecimento do município de Araraquara**: Ribeirão das Anhumas e Córrego do Paiol. 2000. 133 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000.

BRONDI, S. H. G.; SPOLJARIC, F. C.; LANÇAS, F. M. Ultratrace analysis of organochlorine pesticides in drinking water by solid phase extraction coupled with large volume injection/gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of Separation Science**, Atlanta, v. 28, p. 2243-2246, 2005.

BURR, C. M. **[14c]-M&B 15950**: Adsorption/desorption to and from four soils and one sediment. Essex: Rhône-Poulenc Agricultural Limited, 1997. (Data Package ID n. 169043. DPR n. 5202-241).

CABRERA, L.; COSTA, F. P.; PRIMEL, E. G. Estimativa de risco de contaminação das águas por pesticidas na região sul do estado do RS. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 8, p. 1982-1986, 2008.

CAPPELINI, L. T. T. **Análise dos pesticidas ametrina, atrazina, diuron e fipronil em amostras de água do Ribeirão do Feijão – São Carlos SP**. 2008. 69 p. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

CENTRO DE ANÁLISES E PLANEJAMENTO AMBIENTAL – CEAPLA. Disponível em <http://ceapla.rc.unesp.br/atlas/ceapla/erosao/viewer.htm>. Acesso em 30 ago 2008

CHAGAS, C. M.; QUEIROZ, M. E. L. R.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, J. H.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J. Determinação de resíduos de organoclorados em águas fluviais do município de Viçosa – MG. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 4, p. 506-508, 1999.

CHANDLER, G. T.; CARY, L. T.; VOLZ, C. D.; WALSE, S. S.; FERRY, I. J.; KLOSTERHAUS, I. S. Fipronil effects on estuarine copepod (*Amphiascus tenuiremis*) development, fertility, and reproduction: a rapid life-cycle assay in 96-well microplate format. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 23, n. 1, p. 117–124, 2004.

CHAU, A.S.Y.; AFGHANM, B.K.; **Analysis of pesticides in water**. New York: CRC Press, 1982, 437p.

COLLINS, C.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 7. ed. Campinas: Ed. da Unicamp, 1997. 273 p.

COMITÊ COORDENADOR DO PLANO ESTADUAL DE RECURSOS HÍDRICOS. **Relatório de situação dos recursos hídricos do estado de São Paulo**. São Paulo, 1999. 128 p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB, 1984. 134 p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA E SANEMANETO AMBIENTAL. **Relatório de qualidade das águas interiores no estado de São Paulo de 2006**. São Paulo: Secretaria de Meio Ambiente do Estado, 2007c. v. 2, 1327 p. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br>. Acesso em: 20 out. 2008.

COMPÊNDIO de defensivos agrícolas. 8. ed. São Paulo: ANDREI, 2009. 1378 p.

CONNELLY, D. W. **Basic concepts of environmental chemistry**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1997. 506 p.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA. Resolução N. 357 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, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16

mar. 2005. Seção 1, p. 58. Disponível em: <http://www.bioagriambiental.com.br/legislacao>. Acesso em: 29 set. 2008.

COORDENADORIA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E INTEGRAL – CATI. **Levantamento censitário de unidades de produção agrícola**. Disponível em <http://www.cati.sp.gov.br>. Acesso em 18 mai 2009

CORBI, J. J.; STRIXINO, S. T.; SANTOS, A.; DEL GRANDE, M. Diagnóstico ambiental de metais e organoclorados em córregos adjacentes a áreas de cultivo de cana-de-açúcar (estado de São Paulo, Brasil). **Química Nova**, São Paulo, v. 29, p. 61-65, 2006.

COUTINHO, F. B.; TANIMOTO, S. T.; GALLI, A.; GARBELLINI, G. S.; TAKAYAMA, M.; AMARAL, R. B.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S. Pesticidas: mecanismo de ação, degradação e toxidez. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 15, p. 65-72, 2005.

DEL GRANDE, M.; REZENDE, M. O. O.; ROCHA, O. Distribuição de compostos organoclorados nas águas e sedimentos da bacia do Rio Piracicaba - Brasil. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, p. 678-686, 2003.

DEMOLINER, A.; CABRERA, L. C.; RODRIGUES, S. A.; CALDAS, S. S.; PRIMEL, E. G. Monitoramento de multiclasses de agrotóxicos em águas superficiais e de abastecimento público na região sul do Rio Grande do Sul. In: ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 16., 2008, Blumenau. Blumenau: SBQ, 2008. 1 CD-ROM.

DEMCHECK, D. K.; SKROBIALOWSKI, S. C. **Fipronil and degradation products in the rice-producing areas of the Mermentau River Basin, Louisiana, February-September 2000**. Washington: US Geological Survey, National Water-Quality Assessment Program, 2003. Disponível em: <<http://water.usgs.gov/nawqa>>. Acesso em: 12 set. 2008.

DULKA, J.J.; **Anais Workshop sobre Biodegradação**, Campinas, Brasil, 1996.

Environmental Protection Agency – Method 8270C – **Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC/MS)** – Revision 3 – December 1996.

FALQUETO, M.A. **Avaliação do índice de qualidade da água (IQA) e dos elementos químicos nas águas e sedimentos do rio Corumbataí SP**. 2008. 116p. Dissertação (Mestrado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

FENET, H.; BELTRAN, E.; GADJI, B.; COOPER, J. F.; COSTE, C. M. Fate of a phenilpyrazole in vegetation and soil under tropical field conditions. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 49, p. 1293-1297, 2001.

FEUNG, C. S.; YENNE S. P. Fipronil: Aerobic aquatic metabolism. Essex: Rhône-Poulenc Agricultural Limited, 1997. (Data Package ID No. 169043. DPR Document No. 52062-180).

FRANCISCO, R. C. T. **Análise de multiresíduo de pesticidas em suco de laranja**. 1995. 97 p. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1995.

FUNDAÇÃO DAS INDÚSTRIAS DO ESTADO DE SÃO PAULO – FIESP. **Guia técnico ambiental da indústria de cerâmica branca e de revestimento** – Série P+L. São Paulo, 2006. 89 p. Disponível em: <http://www.crq4.org.br/downloads/ceramica.pdf>. Acesso em: 18 abr. 2008.

GALASSI, S.; VIGANO, L.; SANNA, M. Bioconcentration of organochlorine pesticides in rainbow trout caged in the River Po. **Chemosphere**, Oxford, v. 32, p. 1729-1739, 1996.

GIMENEZ, W. E. M. Avaliação de método analítico para análise de resíduos de pesticidas. In: ASSOCIAÇÃO GRUPO DE ANALISTAS DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS. **Manual de resíduos de pesticidas em alimentos**. São Paulo: GARP, 1999. p. 66-73.

GOMES, M. A. F.; SPADOTTO, C. A.; LANCHOTTE, V. L. Ocorrência do herbicida tebuthiuron na água subterrânea da microbacia do córrego espriado, Ribeirão Preto/SP. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 11, p. 65-77, 2000.

GORNI, R. Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas: Requerimentos básicos e procedimentos gerais. In: ASSOCIAÇÃO GRUPO DE ANALISTAS DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS. **Manual de resíduos de pesticidas em alimentos**. São Paulo: GARP, 1999. p. 37-43.

GREEN, R. E. Pesticide clay-water interactions. In: GUELZI, W.D. (Ed.). **Pesticides in soil & water**. Madison: SSSA, 1974. p. 3-37.

GRÜTZMACHER, D. D.; GRÜTZMACHER, A. D.; AGOSTINETTO, D.; LOECK, A. E.; ROMAN, R.; PEIXOTO, S. C.; ZANELLA, R. Monitoramento de agrotóxicos em dois mananciais hídricos no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 12, n.6, p. 632-637, 2008.

HAMILTON, D. J.; AMBRUS, A.; DIETERLE, R. M.; FELSOT, A. S.; HARRIS, C. A.; HOLLAND, P. T.; KATAYAMA, A.; KURIHARA, N.; LINDERS, J.; UNSWORTH, J.; WONG, S. S. Regulatory limits for pesticide residues in water. **Pure and Applied Chemistry**, Oxford, v. 75, n. 8, p. 1123–1155, 2003.

HARMAN-FETCHO, J. A.; HAPEMAN, C. J.; MCCONNELL, L. L.; POTTER, T. L.; RICE, C. P.; SADEGHI, A. M.; SMITH, R. D.; BIALEK, K.; SEFTON, K. A.; SCHAFFER, B. A.; CURRY, R. Pesticide occurrence in selected South Florida canals and Biscayne Bay during high agricultural activity. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 15, p. 6040-6048, 2005.

HELFRICH, L. A.; WEIGMANN, D. L.; HIPKINS, P.; STINSON, E. R. **Pesticides and aquatic animals: a guide to reducing impacts on aquatic systems**. Blacksburg, Virginia: Virginia Department of Game and Inland Fisheries, 1996. 24 p. Disponível em: <[http://www.ext.vt.edu/pubs/water quality /420-013/420-013.pdf](http://www.ext.vt.edu/pubs/water%20quality/420-013/420-013.pdf)>. Acesso em: 25 set. 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA. **Pacus**. Brasília, Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/pesca-amadora/pacus>. Acesso em: 7 jul.2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em 20 maio 2009.

INSTITUTO DE PESQUISA E ESTUDOS FLORESTAIS. **Plano diretor**. Conservação dos recursos hídricos por meio da recuperação e da conservação da cobertura florestal da bacia do rio Corumbataí. Piracicaba: IPEF, 2001. 1 CD-ROM.

INTERNATIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTE DO BRASIL. **Avaliação de risco de agrotóxicos**: diretrizes e conceitos básicos. São Paulo: ILSI Brasil, 1999. 43 p.

JOMORI, R. K.; CARNEIRO, D. J.; MALHEIROS, E. B.; PORTELLA, M. C. Growth and survival of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. **Aquaculture**. Oxford, v. 222, p. 277-287, 2003.

JUNKER-BUCHHEIT, A.; WITZENBACHER, M. Pesticide monitoring of drinking water with the help of solid-phase extraction and high performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 737, p. 67-74, 1996.

KIDD, H.; JAMES, D. **The agrochemicals handbook**. 3. ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, Information Services, 1991.

KOFFLER, N. F. Uso das terras da bacia do rio Corumbataí em 1990. **Geografia**, Rio claro, v. 18, n.1, p.135-150, 1993.

KRULL, I. SWATTZ, M. Introduction: national and international guidelines. **LC-GC**, Riverton, v. 15, n. 6, p. 534-538, 1997a.

KRULL, I.; SWATTZ, M. Method validation protocol-required data elements, method transfer, and revalidation. **LC-GC**, Riverton, v. 15, n. 9, p. 842-845, 1997b.

KURZ, M. H. S. **Estudo de métodos empregando extração em fase sólida e análise por HPLC-DAD e GC-ECD para a determinação de resíduos de pesticidas em águas de degradação a campo**. 2007. 161 p. Tese (Doutorado em Química) – Centro de ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007. Disponível em: http://coralx.ufsm.br/tede/tde_buasca/arquivo.php?codArquivo=1278; <http://biblioteca.universia.net/ficha.do?id=29198972>. Acesso em: 23 jul. 2009.

LANÇAS, F. M. **Extração em fase sólida (SPE)**. São Carlos: RIMA, 2004a. 93 p.

LANÇAS, F. M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Carlos: RIMA, 2004b. 62 p.

LANDIS, W. G.; YU, M. H. **Introduction to environmental toxicology: impacts of chemicals upon ecological systems**. 2. ed. Boca Raton: Lewis Publishers, 1999. 390 p.

LEITE, F. **Validação em análise química** (Validation procedures in chemical analysis). Campinas: Átomo Ltda., 1996.

LODI, G.; BETTI, A.; KAHIE, Y.D.; MAHAMED, A.M. Multiple-development high-performance thin-layer chromatography of organochlorine pesticides. *Journal of Chromatography*, v.545, p.214-218, 1991.

LOPES, R. B. **Análise ecotoxicológica dos xenobióticos triclorfon e diflubenzuron empregados na aquicultura continental**. 2005. 104 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

LYONS, G. Mixed messages: pesticides that confuse hormones. **Pesticide Action Network UK**, London, n. 2, p.1–6, 2008.

MACEDO, A. N.; BRONDI, S. H. G. Desenvolvimento e otimização de metodologia analítica para determinação de resíduos de agrotóxicos aplicados na cultura da cana-de-açúcar em água. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 16., 2008, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2008. v. 4, p. 982.

MACEDO, V. R. M.; MENEZES, V. G.; MARCOLIN, E.; GENRO JUNIOR, S. A.; JAEGER, R. L.; FONSECA, E. L.; ZANELLA, R. Resíduos de agroquímicos na água dos sistemas de irrigação e de drenagem principal da área cultivada com arroz no perímetro irrigado da Barragem do Arroio Duro, Camaquã, RS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 5., REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 27., 2007, Pelotas. Pelotas: SOSBAI/EMBRAPA, 2007. p. 394-396.

MARANHO, L. A. **Biomagnificação do Heptacloro num modelo de simulação em condições ex-situ**. 2006. 63 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agroecossistemas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

MARINQUE, W. G. **Toxicidade aguda e risco ecotoxicológico do fipronil para guaru (*Poecilia reticulata*) e dissipação no ambiente aquático**. 2009. 56 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2009.

MATTOS, M. L. T.; MARTINS, J. F. S.; NUNES, C. D. M.; MOURA NETO, F. P.; MAGALHÃES JUNIOR, A.; PETRINI, J. A.; SANTOS, I. B. **Monitoramento de agrotóxicos em áreas piloto da produção integrada de arroz irrigado na planície costeira externa e fronteira oeste do Rio Grande do Sul**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. 4p. (Comunicado Técnico, 197). Disponível em: http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/download/comunicados/comunicado_197.pdf. Acesso em: 16 maio 2009.

MELETTI, P. C. **Avaliação da qualidade da água e do sedimento na bacia do rio Piracicaba, SP, através de parâmetros ecotoxicológicos**. 1997. 149 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.

MENDES, M. C. S. Técnicas analíticas para determinação de resíduos de pesticidas. In: SEMINÁRIO DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS, 1., 1989, São Paulo. **Relatório**. São Paulo: ITAL, 1989. p. 81-85.

MERLI, G. L. Situação e perspectivas do abastecimento de água em Piracicaba. In: NASSIF, A. M. A.; SILVA, E. R.; MERLI, G. L.; MENDES, J. C.; FREIXEDAS, V.; VIANA, V. M. **Recuperação florestal e desenvolvimento sustentável na Bacia do Rio Corumbataí**. Piracicaba: SEMAE, 1997.

MOURA, M.C.S.; LOPES, A.N.C.; MOITA, G.C.; MOITA NETO, J.M. Estudo multivariado de solos urbanos da cidade de Teresina. **Química Nova**, Teresina, v. 29, n.3, p.429-435, 2006.

MURTY, A. S. **Toxicity of pesticides to fish**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 1986. v. 1, 178 p.

NATIONAL PESTICIDE TELECOMUNICATION NETWORK. **Fipronil**. London, 2003. Disponível em: <<http://ace.orst.edu/info/nptn/ractsneets/npromi.nun>>. Acesso em: 05 nov. 2003.

OLIVEIRA, J. B.; PRADO, H. **Levantamento pedológico semidetalhado do Estado de São Paulo**: Quadrícula de São Carlos. II. Memorial Descritivo. Campinas: Instituto Agrônômico, 1984. 118 p.

OLIVEIRA, J. **Resíduos de agrotóxicos em morangos e sua redução por lavagem com água e estocagem em geladeira (5º)**. 1993. 130 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1993.

PALMA-SILVA, G. M. **Diagnóstico ambiental, qualidade da água e índice de depuração do rio Corumbataí-SP**. 1999. 155 p. Dissertação (Mestrado em Hidrologia) – Centro de Estudos Ambientais, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro, 1999.

PIASAROLO, L.; DE OLIVEIRA, R. R. L.; GUERREIRO, M. C. Influência da polaridade de pesticidas não-iônicos sobre sua sorção em um latossolo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 6, p. 1802-1809, 2008.

PLANO DE BACIAS HIDROGRÁFICAS DOS RIOS PIRACICABA, CAPIVARI E JUNDIAÍ – PBHPCJ. **Síntese do relatório final 2004-2007**. São Carlos: Suprema Gráfica e Editora; Consultoria e Projetos de Engenharia, 2006. 48 p.

PRATA, F.; CARDINALLI, V. C. B.; LAVORENTI, A.; TORNISIELO, V. L.; REGITANO, J. B.; Glyphosate sorption and desorption in soils with different phosphorus levels. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 1, p. 175-180, 2003.

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

RAYTON, M.; AAJOUD, A.; WILLISON, J. C.; AOUADI, H.; TISSUT, M.; RAYNEL, P. Phototransformation of insecticide fipronil: Identification of novel photoproducts and evidence for an alternative pathway of photodegradation. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 40, n. 13, p. 4151-4157, 2006.

RHÔNE-POULENC ATELIER INTERNATIONAL. **Fipronil/lutte antiacridienne**. Essex: Rhône-Poulenc Agrochimie, 1995.

RICHARDSON, M.; Pesticide – Friends or Froe? **Water Science and Technology**, v.37, n.8, p.19-25, 1998.

RISSATO, S. R.; LIBANIO, M.; GIAFFERIS, G. P.; GERENUTTI, M. Determinação de pesticidas organoclorados em água de manancial, água potável e solo na região de Bauru (SP). **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 739-743, 2004.

ROBERTS, T.; HUTSON, D. H. **Metabolic pathways of agrochemicals**. Part 2: Insecticides and fungicides. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1999. 1475 p.

RODRIGUES, B. K. **Avaliação dos impactos de agrotóxicos na região do Alto Mogi-Guaçu (MG) por meio de ensaios laboratoriais com Danio rerio (Cypriniformes, Cyprinidae)**. 2007. 138 p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

ROSSI, C. V. S.; ALVES, P. L. C. A.; MARQUES JUNIOR, J. Mobilidade do sulfentrazone em latossolo vermelho e em chernossolo. **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 4, p. 701-710, 2005.

RÜEGG, E. F.; PUGA, F. R.; SOUZA, M. C. M. de; ÚNGARO, M. T. S.; FERREIRA, M. da S.; YOKOMIZO, Y.; ALMEIDA, W. F. **Impacto dos agrotóxicos sobre o ambiente, a saúde e a sociedade**. 2. ed. São Paulo: Editora Ícone, 1991. 94 p.

SALATI, E. **Diagnóstico ambiental sintético e qualidade da água como subsídio para o planejamento regional integrado da bacia hidrográfica do rio Corumbataí, SP**. 1996. 199 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1996.

SECRETARIA ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE - SEMA. **Manual de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos**. 1. ed. Brasília, DF: MINTER, 1988. 1 v.

SCOTT, V. M.; STEPHEN, D. P.; DENNIS, K. D. Influence of fipronil compounds and rice-cultivation land-use intensity on macroinvertebrate communities in streams of southwestern Louisiana, USA. **Environmental Pollution**, London, v. 152, p. 497-503, 2008.

SILVA, A. S. **Efeitos neurocomportamentais da exposição prolongada de ratos a fipronil**. 2008. 108 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

SILVA, C. M. M. S.; FAY, E. F. **Agrotóxicos aspectos gerais: agrotóxicos e ambiente**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA A DEFESA AGRÍCOLA. Disponível em: <http://www.sindag.com.br/index.php>. acesso em jul de 2009.

SPAROKEV, G.; ANISIMOVA, M. A.; KOLB, M.; BAHADIR, M.; WEHAGE, H.; SCHNUG, E. Organochlorine compounds in a Brazilian watershed with sugarcane and intense sediment redistribution. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 30, p.2006-2010, 2001.

STEHR, C. M.; LIMBO, T.; INCARDONA, J. P.; SCHOLZ, N. L. The developmental neurotoxicity of fipronil: notochord degeneration and locomotor defects in zebrafish embryos and larvae. **Toxicological Sciences**, Cary, v. 92, n. 1, p. 270-278, 2006.

STEVENS, J. L.; NOTHCOTT, G. L.; STERN, G. A.; TOMY, G. T.; JONES, K. C. PAHs, PCBs, PCNs, organochlorine pesticides, synthetic musks, and polychlorinated n-alkanes in U.K. sewage sludge: Survey results and implications. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 37, p. 462-467, 2003.

SUTER, G. W. II. **Ecological risk assessment**. Boca Raton: Lewis, 1993. 538 p.

UNESP. **Atlas ambiental da bacia do rio Corumbataí**. São Paulo. Disponível em: <http://www.rc.unesp.br/igce/ceapla/atlas>. Acesso em: 20 jan. 2009.

USEPA. **New pesticide fact sheet**. PB96- 181516. EPA737-F-96-005. Washington: Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, 1996a. p. 1-10.

USEPA. **New pesticide fact sheet**. PB96- 181516. EPA737-F-96-005. Washington: Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, 1996b. p. 1-10

VALENTE, R.O.A. **Análise da estrutura da paisagem na bacia do rio Corumbataí SP**. 2001, 144p. Dissertação (Mestrado) – Escola superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

VETTORAZZI, C. A.; VALENTE, R. O. A.; BALLESTER, M. V. R. **Forest fire hazard mapping in a GIS environment for a river basin in the State of São Paulo, Brasil**. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GEOSPATIAL INFORMATION IN AGRICULTURE AND FORESTRY, 2., 2000, Lake Buena Vista. **Proceedings...** Ann Arbor: ERIM International, 2000. v. 1, p. 10-12.

VIANA, A.; MARTINS, A. P. C. Alterações morfológicas em hepatócitos de *Brachydanio rerio* (Hamilton & Buchanan) exposto a ação do endossulfan em dose subletal. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 5, n. 5, p. 83-94, 1995.

WHEELER, W. B.; THOMPSON, N. P. Analysis of chlorinated hydrocarbons. In: MOYE, H. A. (Ed.). **Analysis of pesticide residue**. Melbourne: Krieger Publishing, 1985. cap. 5, p. 199-218. (Monographs on Analytical Chemistry and Its Applications, 58).

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Health hazards of the human environment**. Geneva: WHO, 1973. 387 p.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicología acuática: princípios e aplicações**. São Carlos: RIMA, 2006. 478 p.

ZAMBETTA, P. A. **Elementos metálicos (Al, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb e Sn) no sedimento e nos sólidos em suspensão do rio Corumbataí, SP**. 2006. 59 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

ZAMBRONE, F. A. D. Como (e porque) nos envenenamos. **Casa da Agricultura**, Campinas, v. 11, p. 13-17, 1989.

ZAUGG, D. S.; SANDSTROM, M. W.; SMITH, S. G. Methods of analysis by the U.S. geological survey national water quality laboratory - A method supplement for the determination of fipronil and degradates in water by gas chromatography/mass spectrometry, Denver, Colo.: U.S. Department of the Interior, U.S. Geological Survey, 1995. 49 p. Series U.S. Geological Survey Report, 95-181.