

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
ENGENHARIA AMBIENTAL

GIOVANA SPINELLI NEGRO

**APLICAÇÃO DE CARVÃO ATIVADO EM PÓ PARA REMEDIAÇÃO DE
ÁGUAS CONTAMINADAS COM OS AGROTÓXICOS FIPRONIL E 2,4-D**

São Carlos

2021

GIOVANA SPINELLI NEGRO

Aplicação de Carvão Ativado em Pó para Remediação de Águas Contaminadas
com os Agrotóxicos Fipronil e 2,4-D

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia Ambiental, da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheira Ambiental.

Orientador: MSc. Allan Pretti Ogura.

Coorientador: Prof. Dr. Evaldo Luiz Gaeta Espindola.

São Carlos

2021

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

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues
Fontes da EESC/USP

N393a Negro, Giovana Spinelli
Aplicação de carvão ativado em pó para remediação de águas contaminadas com os agrotóxicos fipronil e 2,4-D / Giovana Spinelli Negro; orientador Allan Pretti Ogura; Coorientador Evaldo Luiz Gaeta Espindola. -- São Carlos, 2021.

Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2021.

1. Ecotoxicidade. 2. Adsorção. 3. Bioindicadores.
4. Tratamento de efluentes. I. Espindola, Evaldo Luiz Gaeta. II. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato(a): **Giovana Spinelli Negro**

Data da Defesa: 25/11/2021

Comissão Julgadora:

Resultado:

Allan Pretti Ogura (Orientador(a))


Aprovada

Edumar Ramos Cabral Coelho

Aprovada

Juliane Silberschmidt Freitas

Aprovada



Prof. Dr. Marcelo Zaiat

Coordenador da Disciplina 1800091- Trabalho de Graduação

Dedico meu trabalho a todos que defendem uma educação pública e de qualidade.

AGRADECIMENTOS

Ao Allan, que foi e é meu guia nesse universo da ciência, com muitos conselhos e risadas, e que se tornou um amigo muito querido.

A todos os professores e professoras que passaram pela minha vida e me tornaram quem sou hoje. Em especial, ao meu coorientador Evaldo, que me abraçou e me possibilitou conhecer esse universo da Ecotoxicologia.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de iniciação científica concedida (Processo 125604/2019-0) por meio do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica e Tecnológica (PIBIC-USP).

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do Projeto Temático no qual a presente pesquisa esteve inserida, “*Environmental effects of the pasture-sugarcane conversion and pasture intensification*” (Processo 2015/18790-3), com o pesquisador responsável Luiz Antonio Martinelli.

Às professoras Edumar Ramos Cabral Coelho e Juliane Silberschmidt Freitas, pela participação na banca avaliadora deste trabalho e pelas contribuições feitas.

A todos os funcionários da USP (Amândio, Anna, Fernando, Joãozinho, Juliana, Silvana, Rafael e Vania) e todos os outros que sempre socorreram nas horas de crise e com quem compartilhei várias conversas importantes.

Aos meus irmãos de laboratório, Isis, Lívia, Luís Fernando e Vitor, e à toda família NEEA, especialmente aos que me ajudaram nas etapas experimentais da pesquisa, pelo incentivo e apoio durante toda a minha “estada” no laboratório.

Ao Laboratório de Química Ambiental da Universidade Estadual de Campinas (LQA – Unicamp), com destaque à Bianca Veloso Goulart e à Mariana Amaral Dias, sob supervisão da Dra. Cassiana Carolina Montagner.

À Jessica e Jaqueline, que prontamente se dispuseram a ajudar na construção desse Trabalho e tiveram contribuições valiosas.

Ao GEISA, à SEA e à ENGAIJ, grupos de extensão que me abraçaram e me ensinaram tanto nesses anos de graduação.

À 016, minha sala tão amada, que esteve comigo em todos os momentos dessa aventura que foi a graduação.

Ao Guilherme e ao Vitor que viveram os momentos de construção desse Trabalho comigo e que tornaram os momentos mais leves.

Ao João, Kevin, Mário, Tales e Victor, os “meninos do Barracão”, por todos os momentos vividos juntos, os trabalhos elaborados juntos, e as pausas para respirar um pouco nessa jornada.

À Luiza, minha irmã de coração, que foi minha dupla nesse percurso e esteve ali ao meu lado em todos os momentos, crescendo juntas nesses últimos 6 anos.

À minha família, em especial à minha mãe, ao meu pai e ao Giuseppe, que possibilitaram eu estar finalizando o curso de Engenharia Ambiental e que se esforçaram muito para decorar o nome dos organismos que trabalhei. Amo vocês.

Obrigada a todas e todos que fizeram parte dessa jornada e me possibilitaram estar aqui. Minha eterna gratidão a todos vocês.

“- Então você quer mudar o mundo sozinho?

- Não estou sozinho, só estamos espalhados. Mas já começamos a nos reunir!”

Tiras de Armandinho

RESUMO

NEGRO, G. S. **Aplicação de carvão ativado em pó para remediação de águas contaminadas com os agrotóxicos Fipronil e 2,4-D.** 2021. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2021.

A expansão do cultivo de cana-de-açúcar tem como consequência o aumento do uso de agrotóxicos, como o 2,4-D e o fipronil. Esses compostos já foram detectados em corpos hídricos brasileiros e podem gerar impactos em organismos não-alvo. Assim, a presente pesquisa buscou remediar águas contaminadas com fipronil e 2,4-D, isolados e em mistura, utilizando o carvão ativado em pó (CAP) como adsorvente. Para isso, testes em batelada foram feitos variando i) a dosagem de CAP (25 a 3200 mg CAP L⁻¹); ii) tempo de contato entre o CAP e os contaminantes (15 a 60 min); e iii) concentração inicial dos contaminantes (100 a 100 µg L⁻¹ de fipronil e 83,75 a 8375 µg L⁻¹ de 2,4-D). Tratamentos foram feitos com águas contaminadas com os agrotóxicos isoladamente e, posteriormente, com a mistura dos compostos. Análises químicas foram feitas para verificar a ocorrência da remediação, além de testes ecotoxicológicos com organismos bioindicadores. Para as águas com o fipronil isolado, os ensaios foram feitos com o cladóceros neotropical *Ceriodaphnia silvestrii*. Nesse caso, o tratamento mais eficiente, para a concentração inicial de 100 µg L⁻¹ de fipronil, ocorreu com 200 mg CAP L⁻¹, com 60 min de agitação. Para as águas com 2,4-D isolado, a avaliação de ecotoxicidade foi feita com sementes de *Eruca sativa* L., sendo que o tratamento mais eficiente, para concentração inicial de 837,5 µg L⁻¹ de 2,4-D, ocorreu com 200 mg CAP L⁻¹, com 15 min de agitação. Considerando os tratamentos com mistura de fipronil e 2,4-D, testes foram feitos com *C. silvestrii* e *E. sativa* L. e a quantificação química foi feita para as águas tratadas com CAP. O tratamento mais eficiente (200 mg CAP L⁻¹, com 60 min de agitação) obteve remoções superiores a 99% para ambos os agrotóxicos. Além disso, bioensaios foram feitos com o oligoqueta *Enchytraeus crypticus* para avaliar o potencial de contaminação da disposição irregular do CAP em solo. Porém, não foram observados efeitos ecotoxicológicos para a reprodução desses organismos. Portanto, o tratamento com CAP foi eficiente na remoção de fipronil e 2,4-D isolados e em mistura, sendo que os testes ecotoxicológicos se mostraram ferramentas eficientes e acessíveis para complementar as quantificações químicas.

Palavras-chave: Ecotoxicidade. Adsorção. Bioindicadores. Tratamento de efluentes.

ABSTRACT

NEGRO, G. S. **Application of powder activated carbon to remediate contaminated water with Fipronil and 2,4-D Pesticides**: 2021. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2021.

The expansion of sugarcane cultivation has resulted in the increased use of pesticides, such as 2,4-D and fipronil. These compounds have already been detected in Brazilian water bodies and can impact non-target organisms. Thus, this research sought to remedy water contaminated with fipronil and 2,4-D, isolated and mixed, using powdered activated carbon (PAC) as an adsorbent. For this, batch tests were carried out varying i) the dosage of PAC (25 to 3200 mg PAC L⁻¹); ii) contact time between the PAC and the contaminants (15 to 60 min); and iii) initial concentration of contaminants (100 to 100 µg L⁻¹ of fipronil and 83.75 to 8375 µg L⁻¹ of 2,4-D). Treatments were carried out with water contaminated with pesticides alone and, later, with a mixture of compounds. Chemical analyses were performed to verify the occurrence of remediation, and ecotoxicological tests used bioindicator organisms. For waters with isolated fipronil, the tests were carried out with the neotropical cladoceran *Ceriodaphnia silvestrii*. In this case, the most efficient treatment, for the initial concentration of 100 µg L⁻¹ of fipronil, occurred with 200 mg PAC L⁻¹, with 60 min of agitation. For waters with isolated 2,4-D, the ecotoxicity evaluation was carried out with seeds of *Eruca sativa* L., with the most efficient treatment, for an initial concentration of 837.5 µg L⁻¹ of 2,4-D, it occurred with 200 mg PAC L⁻¹, with 15 min of agitation. Considering the treatments with a mixture of fipronil and 2,4-D, tests were carried out with *C. silvestrii* and *E. sativa* L., and chemical quantification was carried out for the waters treated with PAC. The most efficient treatment (200 mg PAC L⁻¹, with 60 min of agitation) obtained removals greater than 99% for both pesticides. Furthermore, bioassays were carried out with the oligochaete *Enchytraeus crypticus* to assess the potential for contamination of the irregular disposition of CAP in soil. However, no ecotoxicological effects were observed for the reproduction of these organisms. Therefore, the treatment with PAC was efficient in removing fipronil and 2,4-D isolated and mixed, and ecotoxicological tests proved to be efficient and accessible tools to complement chemical quantifications.

Keywords: Ecotoxicity. Adsorption. Bioindicators. Wastewater treatment.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Fórmula estrutural Fipronil	32
Figura 2: Fórmula estrutural 2,4-D.....	33
Figura 3: <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> vista em lupa com 40x de aumento.....	36
Figura 4: Fluxograma das etapas a serem desenvolvidas para a avaliação do tratamento físico-químico de águas contaminadas com fipronil e 2,4-D com aplicação de carvão ativado em pó.	44
Figura 5: <i>Erlenmeyers</i> com água contaminada e diferentes dosagens de CAP.....	45
Figura 6: Teste de germinação de <i>Eruca sativa</i> L.	49
Figura 7: Potes plásticos nos quais foram feitos os testes com <i>Enchytraeus crypticus</i>	50
Figura 8: Porcentagem de organismos de <i>C. silvestrii</i> sobreviventes nos testes agudos (48 h) para avaliação dos tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentração nominal de 100 µg L ⁻¹ de fipronil.	53
Figura 9: Média de organismos de <i>C. silvestrii</i> sobreviventes nos testes agudos (48h) para avaliação dos tratamentos com CAP, para os tempos de 60, 45, 30 e 15 min de agitação e concentração nominal de 100 µg L ⁻¹ de fipronil.	56
Figura 10: Média de organismos de <i>C. silvestrii</i> sobreviventes nos testes agudos (48h) para avaliação dos tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentrações nominais de 100, 500 e 1000 µg L ⁻¹ de fipronil.....	57
Figura 11: Imagens de <i>C. silvestrii</i> após teste com água contaminada com diferentes concentrações nominais (aumento de 20x a 40x). A e B: <i>C. silvestrii</i> na amostra controle. C: <i>C. silvestrii</i> da amostra com concentração nominal 500 µg L ⁻¹ de fipronil. D: <i>C. silvestrii</i> da amostra com concentração nominal 1000 µg L ⁻¹ de fipronil.	58
Figura 12: Crescimento médio das partes aéreas e raiz de <i>E. sativa</i> L. nos testes feitos após tratamento com CAP, com 60 min de agitação e concentração nominal de 8375 µg L ⁻¹ de 2,4-D.	59
Figura 13: Placas de Petri com <i>E. sativa</i> L. após 96 h da contaminação das placas com água submetida a tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentração nominal de 8375 µg L ⁻¹ de 2,4-D.	60
Figura 14: <i>E. sativa</i> L. após tratamento com CAP, com tempo de agitação de 60 min e concentração nominal de 8375 µg L ⁻¹ A: Sem contaminação (controle). B: Tratamento com 400mg CAP L ⁻¹ . C: Controle-negativo (0 mg CAP L ⁻¹).	61

Figura 15: Crescimento médio das partes aéreas e raiz de <i>E. sativa</i> L. nos testes feitos após tratamento com CAP, para os tempos de 60, 30 e 15 min de agitação e concentração nominal de 8375 mg L ⁻¹ de 2,4-D.	62
Figura 16: Crescimento médio das partes aéreas e raiz de <i>E. sativa</i> L. nos testes feitos após tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentrações nominais de 83,75; 837,5 e 8375 µg L ⁻¹ de 2,4-D.	64
Figura 17: Média de organismos de <i>C. silvestrii</i> sobreviventes nos testes agudos (48h) para avaliação dos tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentrações nominais de 100 µg L ⁻¹ de fipronil e 837,5 µg L ⁻¹ de 2,4-D. T1 - 400 mg CAP L ⁻¹ , T2 - 200 mg CAP L ⁻¹ ; T3 - 100 mg CAP L ⁻¹	66
Figura 18: Média de neonatos de <i>C. silvestrii</i> nascidos nos testes crônicos (8 dias) para avaliação dos tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentrações nominais de 100 µg L ⁻¹ de fipronil e 837,5 µg L ⁻¹ de 2,4-D.	67
Figura 19: Crescimento médio das partes aéreas e raiz de <i>E. sativa</i> L. nos testes feitos após tratamento com CAP, com 60 min de agitação e concentrações nominais de 100 µg L ⁻¹ de fipronil e 837,5 µg L ⁻¹ de 2,4-D.	68
Figura 20: Valores de juvenis de <i>Enchytraeus crypticus</i> após 28 dias com amostra contaminada com CAP retido do tratamento T1: 400 mg CAP. L ⁻¹ , após contato durante 60 min com água contaminada com 100 µg L ⁻¹ de fipronil e 837,5 µg L ⁻¹ de 2,4-D.	71
Figura 21: Quadro síntese dos resultados da pesquisa.	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Transições precursor-produto e as respectivas energias de colisão (EC) selecionadas para a quantificação dos pesticidas empregando o modo MRM do espectrômetro de massas.	51
Tabela 2: Concentrações de fipronil encontradas em quantificação química para tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentração nominal de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil e as eficiências de remoção estimadas em relação ao controle-negativo (0 mg CAP L^{-1}).	54
Tabela 3: Valores de crescimento médio de <i>E. sativa</i> L. após tratamento com CAP, com 60 min de agitação e concentração nominal de 8375 $\mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D.	59
Tabela 4: Concentrações de 2,4-D encontradas em quantificação química para o tratamento com CAP, com tempo de agitação de 60 min e concentração nominal de 8375 $\mu\text{g L}^{-1}$ e a eficiência de remoção estimada em relação ao controle-negativo (0 mg CAP L^{-1}).	60
Tabela 5: Quantificação química dos compostos 2,4-D e fipronil e valores obtidos para a eficiência de remoção dos compostos e capacidade de adsorção do CAP (q) para o teste com mistura com concentração nominal de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil e de 837,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D e 60 min de agitação. T1 - 400 mg CAP L^{-1} , T2 - 200 mg CAP L^{-1} ; T3 - 100 mg CAP L^{-1} .	65
Tabela 6: Faixa de valores de pH, condutividade, OD encontrados antes e depois do teste com <i>C. silvestrii</i> para tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentração nominal de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil.	85
Tabela 7: Faixa de valores de pH, condutividade, OD encontrados antes e depois do teste com <i>C. silvestrii</i> tratamentos com CAP, para o tempo de 15 min de agitação e concentração nominal de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil.	85
Tabela 8: Faixa de valores de pH, condutividade, OD encontrados antes e depois do teste com <i>C. silvestrii</i> para tratamentos com CAP, para o tempo de 30 min de agitação e concentração nominal de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil.	86
Tabela 9: Faixa de valores de pH, condutividade, OD encontrados antes e depois do teste com <i>C. silvestrii</i> para tratamentos com CAP, para o tempo de 45 min de agitação e concentração nominal de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil.	86
Tabela 10: Faixa de valores de pH, condutividade, OD encontrados antes e depois dos testes com <i>C. silvestrii</i> para os tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentrações nominais de 100, 500 e 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil.	87
Tabela 11: Faixa de valores de pH e condutividade encontrados antes do teste com <i>E. sativa</i> L. para os tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentração nominal de 8375 $\mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D.	87

Tabela 12: Faixa de valores de pH e condutividade encontrados antes do teste com <i>E. sativa</i> L. para tratamento com CAP, para o tempo de 15 min de agitação e concentração nominal de 8375 mg L ⁻¹ de 2,4-D.....	88
Tabela 13: Faixa de valores de pH e condutividade encontrados antes do teste com <i>E. sativa</i> L. para tratamento com CAP, para o tempo de 30 min de agitação e concentração nominal de 8375 mg L ⁻¹ de 2,4-D.....	88
Tabela 14: Faixa de valores de pH e condutividade encontrados antes do teste com <i>E. sativa</i> L. para tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentrações nominais de 83,75; 837,5 e 8375 µg L ⁻¹ de 2,4-D.....	89

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABNT	–	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANVISA	–	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CAP	–	Carvão Ativado em Pó
CE	–	Concentração de Efeito
CENO	–	Concentração de Efeito Não Observado
CETESB	–	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
IBAMA	–	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IBGE	–	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ISO	–	International Organization for Standardization (Organização Internacional de Normalização)
LQA – Unicamp	–	Laboratório de Química Ambiental da Universidade Estadual de Campina
NBR	–	Norma Brasileira
NEEA-USP	–	Núcleo de Ecotoxicologia e Ecologia Aplicada da Universidade de São Paulo
°C	–	graus Celsius
et al	–	do latim “ <i>et alii</i> ”, significa “e outros”.
i.a.	–	Ingrediente Ativo
i.e	–	Isto é
kg	–	Quilograma
K _{oc}	–	Constante de sorção normalizado para o teor de carbono orgânico
g	–	Gramma
mg	–	Miligramma
µg	–	Microgramma
h	–	Hora
ha	–	Hectare
L	–	Litro
m	–	Metro
µm	–	Micrometro
cm ³	–	Centímetro cubico

min	–	Minutos
Nº	–	Número
NaCl -	–	Cloreto de Sódio
NH ₄ OH	–	Hidróxido de Amônio
OD	–	Oxigênio Dissolvido
Rpm	–	Rotação por minuto
µS cm ⁻¹	–	Micro-Siemens por centímetro
Sp	–	Espécie genérica

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	27
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	31
2.1. Agrotóxicos.....	31
2.1.1. Fipronil	31
2.1.2. 2,4-D.....	33
2.2. Mistura de Agrotóxicos	34
2.3. Ensaio ecotoxicológico	35
2.3.1. <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	36
2.3.2. Testes de germinação – <i>Eruca sativa</i> L.....	37
2.3.3. <i>Enchytraeus crypticus</i>	37
2.4. Agrotóxicos e a Legislação Brasileira	38
2.5. Tratamentos para remoção ou degradação de agrotóxicos em água.....	39
3. OBJETIVOS.....	41
4. METODOLOGIA	43
4.1. Tratamento físico-químico.....	43
4.2. Análises Ecotoxicológicas	47
4.2.1. Testes com <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	47
4.2.2. Teste de germinação de <i>Eruca sativa</i> L.....	48
4.2.3. Testes com <i>Enchytraeus crypticus</i>	49
4.3. Análises químicas	50
4.4. Análise dos resultados	51
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1. Fipronil.....	53
5.1.1. Definição da faixa de Carvão Ativado em Pó	53
5.1.2. Definição do tempo de agitação	55

5.1.3.	Variação da concentração nominal de contaminante	56
5.2.	2,4-D.....	58
5.2.1.	Definição da faixa de Carvão Ativado em Pó.....	58
5.2.2.	Definição do tempo de agitação.....	62
5.2.3.	Variação da concentração nominal de contaminante	63
5.3.	Mistura de 2,4-D e Fipronil.....	65
5.4.	Teste com <i>Enchytraeus crypticus</i>	70
5.5.	Considerações finais.....	71
6.	CONCLUSÕES	75

1. INTRODUÇÃO

O cultivo de cana-de-açúcar desempenha papel importante na economia brasileira e, desde a década de 1930, o país passou a investir na produção de etanol como resposta às crises do açúcar e à dependência dos combustíveis fósseis. Em 1975, iniciou-se o programa Proálcool com a intenção de desenvolver tecnologias para a produção de etanol de forma mais eficiente (CORTEZ, 2018; CRUZ *et al.*, 2016). De 1980 a 2018, a área cultivada na região Centro-Sul passou de 1.725.728 a 9.131.832 hectares, de forma que, apenas no estado de São Paulo, 5.555.502 hectares foram utilizados para plantação de cana-de-açúcar em 2018 (UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA DE AÇUCAR - ÚNICA, 2020). O etanol é considerado uma fonte renovável de energia, por ter como matéria-prima a cana-de-açúcar. Além disso, esse biocombustível é considerado uma fonte de energia mais limpa, pois, durante o cultivo, a cana-de-açúcar consome parte dos gases liberados na sua combustão, tornando a produção do etanol uma alternativa ao uso dos combustíveis tradicionais derivados do petróleo (CREMONEZ *et al.*, 2015).

Entretanto, diante da crescente demanda, é necessário pensar em modelos de produção que apresentem menor impacto ou que compensem o impacto gerado no ambiente. Nesse contexto, é necessário estimular o aumento da produção de cana-de-açúcar sem que ocorra desmatamento de áreas destinadas à proteção ambiental. Por exemplo, uma alternativa é a conversão de áreas de pastagens improdutivas em plantações, uma vez que a pecuária no Brasil apresenta áreas subutilizadas (FERREIRA FILHO; HORRIDGE, 2014; HOGARTH, 2017). Essa alternativa ainda prevê a redução das emissões de gases do efeito estufa por parte da pastagem, podendo intervir positivamente no microclima (BORDONAL, 2018). Além disso, também é preciso identificar os impactos gerados pelo uso de agrotóxicos para controle de pragas nas culturas de cana-de-açúcar. Esses contaminantes podem afetar organismos não-alvo e atingir o solo e os recursos hídricos, afetando os serviços ambientais e os relacionados à saúde humana (STEHLE; SCHULZ, 2015).

Segundo os Relatórios de Comercialização de Agrotóxicos do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA, a venda desses produtos cresceu mais de 2,8 vezes entre os anos de 2000 e 2019 (IBAMA, 2019). O consumo nacional de ingredientes ativos de agrotóxicos e afins por área plantada, índice calculado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, cresceu de 3,2 para 6,7 kg ha⁻¹, entre 2000 e 2014, indicando crescimento do consumo acima do aumento da área plantada, o que deve ser

um ponto de atenção quando pensamos em impactos gerados por cultivos agrícolas (IBGE, 2021; VALADARES; ALVES; GALIZA, 2020). Dois agrotóxicos amplamente utilizados no Brasil são o fipronil e o 2,4-D, especialmente no cultivo de cana-de-açúcar. O fipronil é um inseticida, utilizado no combate de pragas como carrapatos, pulgas, cupins, formigas e lagartas (TINGLE *et al.*, 2003). Por outro lado, o 2,4-D é um herbicida que tem ação em plantas de folhas largas, sendo muito utilizado para controle de ervas daninhas no cultivo de cana-de-açúcar (SONG, 2014).

Os agrotóxicos podem ser carregados pela ação do vento ou pelo escoamento superficial até os corpos hídricos e podem afetar ecossistemas adjacentes (BONMATIN, 2015). Para avaliar os efeitos em organismos não-alvo, são utilizados testes ecotoxicológicos padronizados, com organismos indicadores, como *Ceriodaphnia silvestrii* para amostras aquáticas (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT, 2017) ou *Enchytraeus sp.* para amostras de solo (ABNT, 2012). Por outro lado, testes de germinação de sementes também são empregados, como recomendado pela United States Environmental Protection Agency - USEPA (1996) para avaliar efeitos de agrotóxicos em vegetais.

No Brasil, o artigo 3º da Lei nº 7.802, de 11 de junho de 1989, estabelece que é proibido o registro de agrotóxicos para os quais o país não tenha métodos para desativação de seus componentes, de forma que os seus resíduos remanescentes não provoquem riscos ao meio ambiente e à saúde pública (BRASIL, 1989). Portanto, faz-se necessário desenvolver tecnologias capazes de remediar os riscos gerados pelos agrotóxicos que já estão em uso. Nesse caso, a remediação desses compostos pode ser feita por processos físico-químicos, como a adsorção. Por exemplo, o carvão ativado em pó (CAP) ou granular são adsorventes muito utilizados para tratamento de água, especialmente na etapa de filtração (DI BERNARDO; DANTAS; VOLTAN, 2012). O CAP já se mostrou efetivo na adsorção de compostos organoclorados, dentre eles o 2,4-D (AKSU; KABASAKAL, 2005).

Considerando a necessidade de tratamentos eficientes e acessíveis para agrotóxicos, o objetivo da presente pesquisa foi propor a remoção dos agrotóxicos fipronil e 2,4-D, isolados e em mistura, em água utilizando o CAP. Para isso, foram testadas diferentes dosagens de CAP (25 a 3200 mg L⁻¹), tempo de contato entre o adsorvente e os compostos químicos (15 a 60 min) e concentrações nominais dos contaminantes para otimizar os tratamentos para fipronil e 2,4-D individualmente (até 1.000 e 8375 µg L⁻¹, respectivamente). Em seguida, buscou-se pelo melhor tratamento para águas contaminadas com a mistura dos ingredientes ativos (100 e 837,5 µg L⁻¹ para fipronil e 2,4-D, respectivamente). Para validação dos tratamentos, foram propostos testes ecotoxicológicos com organismos indicadores (C.

silvestrii e *E. sativa* L.) e os resultados foram validados por meio de quantificações químicas. Por fim, para avaliar possíveis efeitos da aplicação irregular do CAP utilizado no solo, foi utilizado uma espécie terrestre bioindicadora (*Enchytraeus crypticus*).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

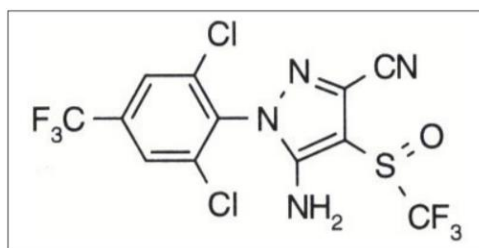
2.1. Agrotóxicos

No Brasil, segundo a Lei nº 7.802, de 11 de junho de 1989, os agrotóxicos são os produtos químicos utilizados com o objetivo de alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de impedir a ação danosa de seres vivos considerados nocivos às atividades desenvolvidas nesses locais, a partir de processos físicos, químicos ou biológicos (BRASIL, 1989). Sua utilização pode ser tanto na produção como nos setores de armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, em pastagens, na proteção de florestas, entre outros ecossistemas e ambientes urbanos. Dentre os compostos incluídos nessa classificação, destacam-se o fipronil e o 2,4-D, dois dos ingredientes ativos mais utilizados nos cultivos de cana-de-açúcar no Brasil (GOULART *et al.* 2020; MOUTINHO *et al.* 2020).

2.1.1. Fipronil

O inseticida fipronil (5-amino-1-[2,6-dichloro-4-(trifluoromethyl)phenyl]-4-(trifluoromethylsulfinyl) pyrazole-3-carbonitrile) (Figura 1), é geralmente encontrado na forma granular e muito utilizado por seu custo-benefício. Mesmo em baixas concentrações, o fipronil é efetivo para o combate de pragas como carrapatos, pulgas, cupins, formigas e lagartas (TINGLE *et al.*, 2003). Esse agrotóxico atinge o sistema nervoso dos organismos-alvo, interage com os receptores GABA podendo gerar paralisia, convulsões e morte (OKUMURA *et al.*, 2016). A solubilidade desse inseticida em água (20 °C) é de 1,9 e 2,4 mg L⁻¹ (considerando pH 5 e 9, respectivamente) e sua densidade está na faixa de 1,477 a 1,626 g cm⁻³ (KIM *et al.*, 2021). Em relação à mobilidade, foram encontrados valores de K_{oc} (i.e., constante de sorção normalizada para o teor de carbono orgânico) entre 825 e 6863, indicando que há uma tendência do composto ser adsorvido por sólidos em suspensão e no sedimento quando encontrado em ambientes aquáticos (KIM *et al.*, 2021).

Figura 1: Fórmula estrutural Fipronil



Fonte: Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (2020)

O registro desse inseticida foi concedido no Brasil no Diário Oficial da União no Ato nº 1, de 09 de janeiro de 2019 e foi considerado como “Classe II – Produto Muito Perigoso ao Meio Ambiente” quanto ao seu potencial de periculosidade ambiental (BRASIL, 2019). Contudo, em alguns países, essa formulação foi proibida, uma vez que estudos identificaram mortalidade de abelhas e de espécies não-alvo decorrentes da aplicação do fipronil, desencadeando consequências ambientais e econômicas (OKUMURA *et al.*, 2016). No Brasil, já foram identificadas concentrações de até 26,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ em rios da região Sul localizados em áreas de cultivo de arroz (MARCHESAN *et al.*, 2010). No estado de São Paulo, foram reportadas concentrações de 465,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ em águas superficiais (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO - CETESB, 2017)

Outro problema relacionado a esse inseticida é a sua degradação por fotólise e hidrólise, que podem gerar compostos igualmente ou mais tóxicos que o fipronil, como os metabólitos sulfona, sulfeto, amida e desulfonil (KIM *et al.*, 2021 OKUMURA *et al.*, 2016). Ademais, Bhatti *et al.* (2019) indicaram que os produtos da degradação desse inseticida foram encontrados em maior concentração em fezes de mamíferos contaminados com fipronil. Esses autores também indicaram que esse inseticida pode inviabilizar indivíduos de *Escherichia coli* a depender da concentração exposta. Em solo e água a meia vida do fipronil é de 25,1 a 91,2 dias em condições aeróbias e esses valores caem para 4,6 a 18,5 dias em condições anaeróbias (KIM *et al.*, 2021). Esse inseticida possui meia-vida de 4,1 h quando submetido à fotólise em ambientes aquáticos; porém, quando submetido à hidrólise, em pH 5,5 a 7,0, o fipronil é estável à degradação (KIM *et al.*, 2021).

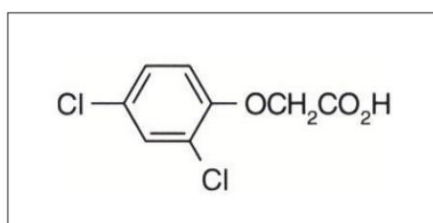
Em relação à saúde humana, foi identificado que a exposição a esse contaminante pode gerar sintomas temporários, como dores de cabeça e tontura, além de irritação nos olhos e pele e nos sistemas gastrointestinal e respiratório (KIM *et al.*, 2021). Também há estudos ecotoxicológicos indicando efeito em larvas do macroinvertebrado *Chironomus dilutus*, com a mortalidade de 50% da população em águas com a concentração de 32,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (WESTON;

LYDY, 2014). Para o cladóceros *Ceriodaphnia dubia*, a concentração de fipronil que causou letalidade de 50% da população encontrada foi de $10,3 \mu\text{g L}^{-1}$ (KONWICK *et al.*, 2005; WILSON *et al.*, 2008) e, para *Ceriodaphnia silvestrii*, foi encontrada a concentração de $3,9 \mu\text{g L}^{-1}$ do ingrediente ativo (SILVA *et al.*, 2020). Em plantas, há estudo indicando que concentrações acima de 2,5 ppm de fipronil podem causar efeitos genotóxicos na cebola *Allium cepa* L. (KARAISSMAILIOGLU, 2017). Foram encontradas concentrações de toxicidade em 96 h para organismos de solo, incluindo o colêmbolo *Folsomia candida*, de $450 \mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil, $430 \mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil sulfona e $160 \mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil sulfide (SAN MIGUEL *et al.*, 2008).

2.1.2. 2,4-D

O herbicida 2,4-D (ácido 2-(2,4-dichlorophenoxy)acético) (Figura 2) é altamente solúvel e usado em plantações de cana-de-açúcar e milho para o controle de ervas daninhas de folhas largas (BURNS; SWAEN, 2012). Esse agrotóxico tem coloração branca para amarelada, com leve odor fenólico (KIM *et al.*, 2021). Dependendo das condições locais, o 2,4-D pode ter meia-vida de 10 a 50 dias na água, período que pode ser maior em águas com pouco nutrientes; em solos, esse composto possui tempo de meia-vida entre 7 e 14 dias (MERINI *et al.*, 2007; ORDAZ-GUILLÉN *et al.*, 2014). No corpo humano, o 2,4-D tem tempo de meia-vida de aproximadamente um dia (KIM *et al.*, 2021). Em relação à mobilidade, a K_{oc} está entre 20 e 136, valores baixos que representam alta a muito alta mobilidade no solo e baixa probabilidade de ser adsorvido em partículas suspensas ou em substrato quando encontrado em ambientes aquáticos (KIM *et al.*, 2021).

Figura 2: Fórmula estrutural 2,4-D



Fonte: ANVISA (2021)

Historicamente, 2,4-D foi um dos componentes do Agente Laranja, utilizado na Guerra do Vietnã e pode estar associado à causa de diversas doenças no ser humano, como câncer, doenças neurológicas e efeitos na reprodução, apresentando alto risco quando

encontrado no ambiente (KIM *et al.*, 2021). Na literatura, foram encontradas concentrações entre 4 e 24 $\mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D em ambientes aquáticos (ISLAM *et al.*, 2018). No estado de São Paulo, foram encontradas concentrações de 366,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D em águas superficiais (CETESB, 2017). Esse herbicida pode ser degradado por ação biológica e, em meio aquoso, está sujeito à degradação por fotólise, assim como outros herbicidas fenólicos (KIM *et al.*, 2021).

Segundo ANVISA (2021), a Ingestão Diária Aceitável (IDA) humana desse ingrediente ativo é de 0,01 mg kg^{-1} de peso corpóreo, e apresenta efeitos agudos em humanos a partir de 0,75 mg kg^{-1} de peso corpóreo por dia. Em relação aos ensaios ecotoxicológicos, Özkul *et al.* (2016) também mostraram os efeitos desse herbicida em *A. cepa*, com concentração de 4,02 mg L^{-1} , incluindo a inibição do crescimento das raízes dos organismos contaminados. Por outro lado, Silva *et al.* (2020) observaram letalidade à 50% da população de *C. silvestrii* com concentração de $169 \pm 18 \text{ mg L}^{-1}$ de 2,4-D. Em testes com *Enchytraeus crypticus*, foram observados efeitos negativos para concentração de 37,6 $\text{mg de 2,4-D kg}^{-1}$ de solo (TRIQUES *et al.*, 2021). Outras espécies aquáticas também estão sujeitas aos efeitos ecotoxicológicos quando expostas ao 2,4-D, como microalgas (Moreira *et al.*, 2020), macroinvertebrados (PINTO *et al.*, 2021b c), girinos (FREITAS *et al.*, 2019) e peixes (MOREIRA *et al.*, 2021).

2.2. Mistura de Agrotóxicos

Existem diferentes estudos que buscam entender como substâncias químicas, como os agrotóxicos, afetam os organismos e os ecossistemas. A partir deles, é possível prever qual o comportamento de um contaminante em determinado meio. Contudo, há indícios de que a combinação de dois agrotóxicos pode resultar em efeitos diferentes da soma dos efeitos dos compostos isolados. Por exemplo, para estudos ecotoxicológicos, é importante observar se há a ocorrência de efeitos sinérgicos, ou seja, quando o resultado for maior que a soma dos efeitos isolados, ou de efeitos antagônicos, quando houver a atenuação dos efeitos, pela mistura de compostos (JONKER *et al.*, 2005).

Na última década, alguns estudos desenvolveram análises empíricas para avaliar a ecotoxicidade combinada, principalmente para misturas binárias, ou seja, com apenas dois compostos. Porém, há poucas informações para efeitos ecotoxicológicos para combinações com concentrações ambientalmente relevantes e para combinações de mais químicos

(MARTIN *et al.*, 2020). Por exemplo, a associação de 2,4-D e glifosato, dois herbicidas amplamente usados no mundo, apresentou efeito sinérgico para fitoplâncton e perifíton (LOZANO *et al.*, 2018). A aplicação do fipronil e do 2,4-D são autorizadas para o estágio pré-emergência do cultivo de cana-de-açúcar e, dessa forma, é possível assumir que esses dois agrotóxicos podem ser encontrados concomitantemente no ambiente (PINTO *et al.*, 2021^a). Pinto *et al.* (2021a) registraram alta toxicidade e sinergismo entre esses compostos para *Hyalella meinerti*. Além disso, Silva *et al.* (2020) observaram sinergismo entre 2,4-D e fipronil para toxicidade aguda de *Ceriodaphnia silvestrii* e antagonismo para a toxicidade crônica da mesma espécie.

2.3. Ensaio ecotoxicológicos

A Ecotoxicologia é a ciência dos contaminantes e seus efeitos nos constituintes da biosfera, incluindo os seres humanos (NEWMAN, 2019). Essa área contempla desde estudos de efeito de contaminantes em células até o estabelecimento de uma previsão para os efeitos a nível ecossistêmicos. Os estudos também englobam diferentes organismos, como humanos, vegetais, animais e microrganismos. Além disso, a forma de transporte e acumulação dos contaminantes também pode fazer parte dos estudos ecotoxicológicos. Existem testes padronizados com organismos indicadores para análise de efeitos ecotoxicológicos de determinadas substâncias ou em determinados meios (e.g., água, sedimento, solo e ar). Porém, normas para espécies de clima temperado são mais consolidadas, de forma que há carência de métodos e guias para estudo do risco ecológico utilizando espécies nativas do Brasil ou de países com clima tropical (CORBI, 2021; DAAM *et al.*, 2019).

Em ensaios ecotoxicológicos de laboratório, é possível encontrar as Concentrações de Efeito (CE) de diferentes contaminantes para determinadas espécies. As CE_x são concentrações de contaminante que causam efeito em uma determinada porcentagem dos organismos testes (X%), quando comparados com o controle (aquele onde não há adição/presença do contaminante). Por exemplo, uma concentração de efeito muito utilizada é a CE_{50} , que representa a concentração de determinado contaminante que gera efeito em 50% da população. Também são utilizadas as concentrações nas quais não foram observados efeitos quando comparado com o controle ($p < 0,05$), representadas geralmente por CENO.

2.3.1. *Ceriodaphnia silvestrii*

Ceriodaphnia silvestrii (Figura 2) é um microcrustáceo pertencente à Ordem Cladocera, Classe Crustacea e à Família Daphniidae, amplamente utilizados em ensaios ecotoxicológicos para avaliação da qualidade de água (ABNT, 2017; CORBI, 2021). Os ensaios com essa espécie nativa do Brasil são orientados pela norma ABNT NBR 13.373:2017, responsável por regulamentar os testes ecotoxicológicos aquáticos. São organismos geralmente transparentes, com carapaça de quitina e, em laboratório, possuem comprimento corporal entre 0,5 e 0,6 mm. Seu ciclo de vida possui quatro estágios: ovo; neonato, durante suas primeiras 24 h de vida; juvenil e adultos, a partir da primeira postura de ovos, totalizando aproximadamente 29 dias de vida (CORBI, 2021).

Figura 3: *Ceriodaphnia silvestrii* vista em lupa com 40x de aumento.



Fonte: Elaboração própria.

O uso dessa espécie para testes ecotoxicológicos é interessante, uma vez que os neonatos são sensíveis a pequenas variações de qualidade do meio e não exigem muito espaço e infraestrutura para seu cultivo. Em laboratório, os organismos se alimentam de algas (e.g., as da espécie *Raphidocelis subcapitata*) e de ração para peixe fermentada. Para essa espécie, é possível observar se houve toxicidade aguda com testes de exposição dos organismos neonatos a uma determinada condição durante 48 h. Ao final desse tempo, é observado se houve sobrevivência ou não dos organismos, representada pela mobilidade deles. Esse teste geralmente apresenta efeitos em maiores concentrações de contaminantes. Por outro lado, em menores concentrações, também há os testes para avaliar a toxicidade crônica, que verificam

se há efeitos deletérios gerados a partir da exposição do organismo durante 8 dias às amostras contaminadas. Por exemplo, um efeito crônico que pode ser observado é a inibição da reprodução de *C. silvestrii*.

2.3.2. Testes de germinação – *Eruca sativa* L.

A USEPA (1996) possui um protocolo para avaliação de efeitos ecológicos em sementes, avaliando a porcentagem de germinação e o crescimento raiz e aéreo do broto. O teste é feito no escuro e encerra com a germinação de 65% das sementes presentes no controle. O protocolo indica testes ecotoxicológicos com *Lycopersicon esculentum* (tomate), *Cucumis sativus* (pepino), *Lactuca sativa* (alface), *Glycine max* (soja), *Brassica oleracea* (repolho), *Avena sativa* (aveia), *Lolium perene* (azevém perene), *Allium cepa* (cebola), *Daucus carota* (cenoura) e *Zea mays* (milho) (USEPA, 1996). Além disso, também podem ser utilizadas outras espécies sensíveis aos compostos-alvo com importância econômica ou ecológica na região de interesse. Por exemplo, a *Eruca sativa* L., popularmente conhecida como rúcula, é uma hortaliça da família *Brassicaceae*, de folhas largas e é considerada a variedade de rúcula mais cultivada no Brasil (FILGUEIRA, 2003¹ *apud* RODRIGUES, 2018). Por outro lado, Ogura *et al.* (2022) observaram que plantas como *E. sativa* L. demonstraram mais sensibilidade ao 2,4-D em relação a outras espécies, como algas e cladóceros (*C. silvestrii*), dentre outros organismos bioindicadores.

2.3.3. *Enchytraeus crypticus*

O uso de *Enchytraeus sp.* para testes ecotoxicológicos é regulamentado no Brasil pela norma ABNT NBR ISO 16.387:2012. Segundo essa norma, a espécie *E. crypticus* é adequada para ser utilizada como organismos-teste, uma vez que esse gênero possuem relevância ecológica, sendo abundante em solos com poucas minhocas. São anelídeos oligoquetas escavadores e são de fácil manuseio para cultivo em laboratório e em estudos em campo (ABNT, 2012).

¹ FILGUEIRA (2003) – FILGUEIRA, F. A. R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2. ed. 412 p. Viçosa: UFV, 2003.

2.4. Agrotóxicos e a Legislação Brasileira

No Brasil, há a Lei nº 7.802, de 11 de junho de 1989, que rege sobre pesquisa, experimentação, produção, embalagem e rotulagem, transporte, armazenamento, comercialização, propaganda comercial, utilização, importação, exportação, destinação final dos resíduos e embalagens, registro, classificação, controle, inspeção e fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins (BRASIL, 1989). Além dessa Lei, há outras legislações que regulam ou dispõem sobre limites de concentração de agrotóxicos, principalmente, para corpos d'água. Segundo a Portaria GM/MS Nº 888, de 04 de maio de 2021, do Ministério da Saúde, a qual dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, o limite de 2,4-D para que a água seja potável é de $30 \mu\text{g L}^{-1}$ e para o fipronil é de $1,2 \mu\text{g L}^{-1}$ (BRASIL, 2021). O limite de $30 \mu\text{g L}^{-1}$ para o herbicida 2,4-D também é definido para rios de Classe III pela Resolução CONAMA nº 357/2005, que dispõem sobre a classificação de corpos d'água superficiais e padrões de lançamento de efluentes (BRASIL, 2005). Para rios de Classe I, a concentração máxima permitida do contaminante no curso d'água é de $4,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Essa Resolução não apresenta valores para fipronil. A Resolução CONAMA nº 396/ 2008, atribui diretrizes para o enquadramento ambiental de águas subterrâneas, também institui padrões limites para concentração de 2,4-D em água subterrâneas, com variações segundo o uso preponderante (BRASIL, 2008). Águas destinadas ao consumo humano devem seguir o limite de $30 \mu\text{g L}^{-1}$, assim como nas legislações anteriores, e águas destinadas a recreação devem estar com concentração de 2,4-D abaixo do limite de $100 \mu\text{g L}^{-1}$. Não apresenta valores para fipronil. Como descrito no item 1, a Lei federal nº 7.802/ 1989 estabelece que é proibido registro de agrotóxicos para os quais o país não possua formas de desativar seus ingredientes ativos e impedir que esses compostos gerem impactos no ambiente (BRASIL, 1989). Contudo, ainda há muitos agrotóxicos, como o fipronil, que carecem de regulamentação e valores norteadores.

2.5. Tratamentos para remoção ou degradação de agrotóxicos em água

Nesse item serão apresentados alguns estudos que propuseram a remediação de águas contaminadas com agrotóxicos, com prioridade para tratamentos com adsorventes, águas contaminadas com fipronil ou 2,4-D e/ou que tenham elaborados testes ecotoxicológicos para comprovação do tratamento.

Aksu e Kabasakal (2005) testaram diferentes situações para otimizar a remoção de 2,4-D com carvão ativado em pó (CAP), destacando-se a temperatura e o pH durante o tratamento. Os autores obtiveram eficiências de remoção de até 91,9% para águas contaminadas com 100 mg L⁻¹ desse contaminante. Nesse estudo, eles também encontraram a capacidade máxima de adsorção de 2,4-D pelo CAP igual a 333,3 mg g⁻¹, a 25 °C e em meio com pH = 2,0. Além disso, temperaturas mais elevadas reduziram a capacidade máxima de adsorção do CAP.

Por outro lado, Coelho e Rozário (2019) utilizaram carvão ativado granular (CAG), em testes rápidos de coluna, para avaliar a remoção de 2,4-D. Os autores utilizaram água ultrapura e água proveniente da estação de tratamento de água (ETA) para os testes e observaram que a remoção foi 67% superior na água ultrapura, indicando que a matéria orgânica natural presente na água advinda da ETA pode competir com o contaminante pelos sítios de adsorção do carvão ativado. As autoras obtiveram capacidade de adsorção de 7,4 mg g⁻¹ de CAG para remoção de 2,4-D, e partindo de uma concentração de 7.089 ± 104 µg L⁻¹, o tratamento foi capaz de atingir dosagens abaixo do limite de potabilidade de 30 µg L⁻¹.

Outro material adsorvente com potencial de áreas contaminadas com agrotóxicos é o biocarvão (i.e., *biochar*), produzido a partir da pirólise de materiais como arroz, milho e trigo; além da capacidade de adsorver agrotóxicos, o biocarvão pode ser aplicado em solos para melhorar suas propriedades, restaurar funções ecológicas do substrato e contribuir para o sequestro de carbono (OGURA *et al.*, 2021).

Vieira *et al.* (1998) desenvolveram estudos avaliando o potencial de adsorção de 2,4-D no solo e concluíram que os processos de adsorção do 2,4-D são mais acentuados na presença de matéria orgânica. Nesse estudo, para o solo com matéria orgânica, foi encontrado constante de Freundlich (K_f), que representa a quantidade de agrotóxico adsorvido quando a concentração no equilíbrio é igual a unidade, de adsorção maior que 4 vezes a mesma

constante para dessorção. Eles também observaram que o herbicida é encontrado na forma aniônica (i.e., com carga negativa) em solução aquosa, e há repulsão com outros materiais com cargas negativas, como argilas.

Cotillas *et al.* (2018) propuseram um tratamento para solos contaminados com 2,4-D em três etapas e obtiveram, ao final, a descontaminação completa de 100 g de solo contaminado com 2 mg do herbicida. A primeira etapa foi a lavagem do solo com água subterrânea, seguida da aplicação de carvão ativado granular para adsorção do contaminante e, ao fim, a aplicação de processos eletroquímicos para remoção total do contaminante do solo e da água utilizada na lavagem.

Para remediação de águas contaminadas com 2,4-D, Forti *et al.* (2020) analisaram a degradação do herbicida a partir de processos oxidativos - oxidação anódica, processo Fenton, processo eletro-Fenton, processo fotoeletro-oxidativo e processo fotoeletro-Fenton. Após o tratamento, os autores utilizaram a água para germinação de sementes de pepino para avaliar a fitotoxicidade da degradação pela oxidação. Esse estudo utilizou o produto comercial para Tordon[®], que tem o 2,4-D como ingrediente ativo. Por fim, houve 100% de remoção do herbicida com a aplicação dos processos eletro-Fenton e fotoeletro-Fenton e o processo não resultou em oxigênio reativo tóxico para as sementes.

Para remoção de fipronil foram encontradas pesquisas com propostas de tratamento que não envolveram adsorventes, como por exemplo, envolvendo nanotubos de carbono (HUA *et al.*, 2017) e processos químicos e eletroquímicos para a remoção de fipronil da água (RAMYA; ANBAZHAGI; MUTHUKUMAR, 2016). Entretanto, a adsorção ainda se mostra como uma alternativa com bom custo-benefício em comparação aos outros processos.

3. OBJETIVOS

O objetivo da pesquisa foi avaliar a eficiência do CAP na remediação da toxicidade de águas contaminadas com os agrotóxicos fipronil e 2,4-D, isolados e em mistura. Para tanto, foram definidos os seguintes objetivos específicos:

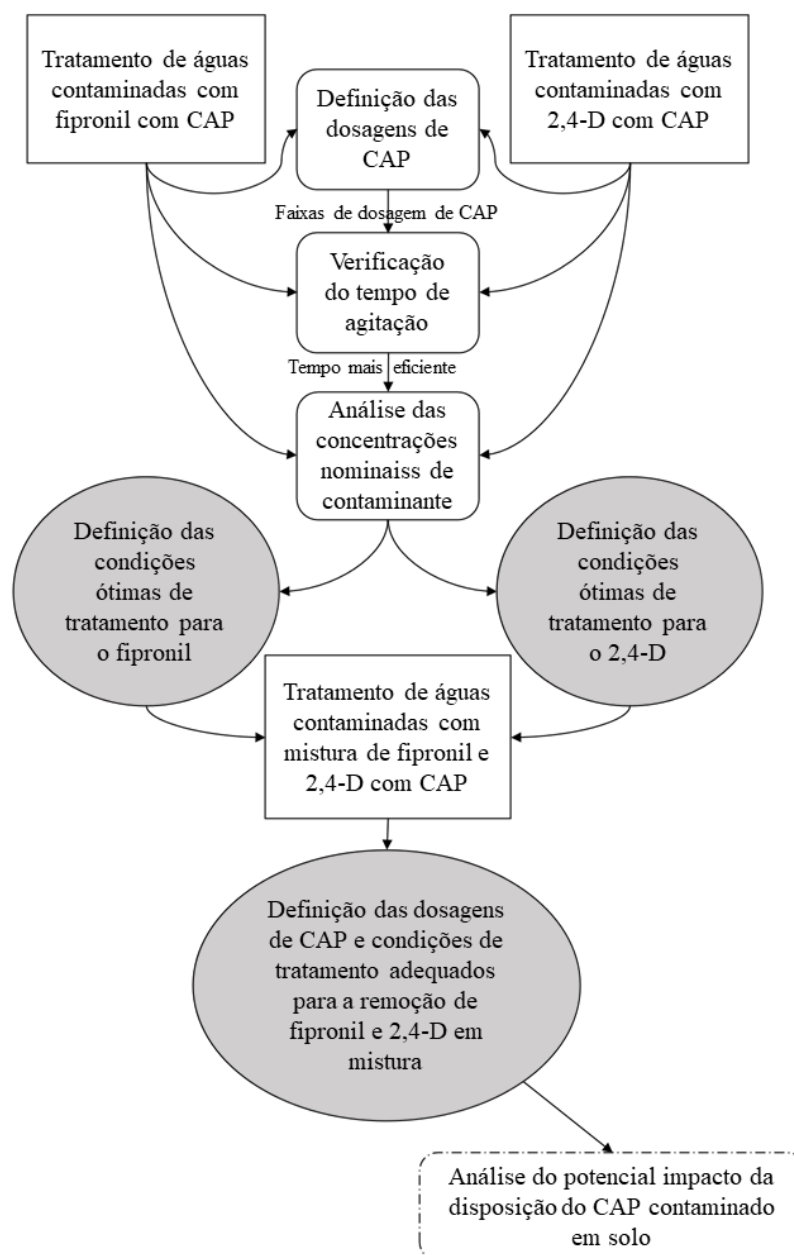
- i) Propor a dosagem de CAP e o tempo de contato mais eficientes para o tratamento da água contaminada com fipronil e com 2,4-D, a fim de otimizar os processos individualmente e em mistura;
- ii) Verificar a ocorrência da redução da ecotoxicidade do fipronil e do 2,4-D, isolados e em mistura, a partir de testes com os organismos bioindicadores *Ceriodaphnia silvestrii* e *Eruca sativa* L.;
- iii) Comparar os resultados ecotoxicológicos com a remoção dos agrotóxicos identificada por meio de quantificações químicas;
- iv) Avaliar os riscos da disposição inadequada do CAP utilizado em solos, utilizando bioensaios com *Enchytraeus crypticus*.

4. METODOLOGIA

4.1. Tratamento físico-químico

Os agrotóxicos estudados foram as formulações comerciais Regent[®] 800WG (ingrediente ativo fipronil) e DMA[®] 806 BR (ingrediente ativo 2,4-D). Para proposição das condições ótimas de remoção dos agrotóxicos, esse estudo foi dividido em quatro etapas (Figura 4). Nas três primeiras etapas, as interferências da dosagem do adsorvente (Itens 5.1.1 e 5.2.1), do tempo de agitação (Itens 5.1.2 e 5.2.2) e das concentrações nominais dos contaminantes (Itens 5.1.3 e 5.2.3) foram avaliadas para a remoção do fipronil e 2,4-D isoladamente. Na quarta etapa, foram estudadas as condições de tratamento para águas contaminadas com os agrotóxicos em mistura (Item 5.3) e a avaliação do risco de disposição inadequada do CAP em solos (Item 5.4).

Figura 4: Fluxograma das etapas a serem desenvolvidas para a avaliação do tratamento físico-químico de águas contaminadas com fipronil e 2,4-D com aplicação de carvão ativado em pó.



Fonte: Elaboração própria.

O tratamento foi feito adaptado de Aksu e Kabasakal (2005), em frascos *Erlenmeyer*, com 100 mL de água contaminada com um dos contaminantes em batelada (Figura 5), sendo que para os testes com fipronil, foi utilizada a água de cultivo de *C. silvestrii* e para os testes com 2,4-D, foi utilizado água destilada. As concentrações nominaiss dos contaminantes foram consideradas como àquelas calculadas a partir das informações dos rótulos dos agrotóxicos. Para o fipronil, foi considerada a concentração de ingrediente ativo (800 g kg^{-1}). Para o 2,4-D

foi considerado o equivalente ácido (607 g L^{-1}). Para a primeira etapa, a concentração nominal dos agrotóxicos definida foi de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ para o ingrediente ativo fipronil e de $8375 \mu\text{g L}^{-1}$ para o ingrediente ativo 2,4-D, escolhidas a partir de testes preliminares. O adsorvente escolhido foi o CAP comercial (Êxodo Científica[®], lote CA26032RA). As concentrações de CAP adicionadas a cada tratamento foram:

- Fipronil: 0; 25; 50; 100; 200; 400 e 800 mg CAP L^{-1} ; e
- 2,4-D: 0; 100; 200; 400; 800; 1600 e 3200 mg CAP L^{-1} .

Esses valores foram definidos após testes preliminares e foram escolhidas as faixas nas quais foi possível observar diferenças nos efeitos ecotoxicológicos gerados pelos tratamentos nos organismos selecionados. Também foram feitas amostras “Controle”, sem contaminação de agrotóxicos e sem adição de CAP, e “0”, sem adição de CAP e com a concentração nominal do contaminante.

Figura 5: Erlenmeyers com água contaminada e diferentes dosagens de CAP.



Fonte: Elaboração própria

Os frascos com mistura do CAP nas águas contaminadas foram agitados em mesa agitadora, a 200 rpm, por 60 min. Ao final do tempo de agitação, a amostra foi filtrada com

membrana de vidro de 0,47 μm (GF/C Whatmann; diâmetro 47 mm; poro 1.2 μm). Para garantir que não houvesse contaminação cruzada pelo filtro, uma vez que o filtro não era de uso exclusivo dessa pesquisa, foram feitos controles filtrados para todas as etapas e não foi notada diferença de efeito nos testes ecotoxicológicos em relação ao controle. A água filtrada dos tratamentos foi submetida à avaliação química e ecotoxicológica para verificação da remoção dos agrotóxicos estudados. Também foram medidos os parâmetros pH (pH - potenciômetro Micronal B374), oxigênio dissolvido (OD - oxímetro YSI) e condutividade elétrica (condutivímetro Orion 145A) das águas após tratamentos com CAP e após testes com *Ceriodaphnia silvestrii*. Os procedimentos foram repetidos três vezes para verificar a replicabilidade experimental.

A partir disso, foram feitos testes seguindo a mesma metodologia, com exceção da quantificação química, para tempos de agitação de 15, 30 e 45 min. Ao final das duas primeiras etapas, foram definidas as faixas de CAP e tempo de agitação mais eficiente. Assim como para o teste com faixas de CAP, os procedimentos foram repetidos três vezes para obtenção de resultados mais confiáveis.

A etapa seguinte, de testes variando a concentração nominal dos contaminantes, foi realizada com as concentrações de CAP de 800, 400 e 200 mg CAP L^{-1} e com 60 min de agitação, definidas nas etapas anteriores. Para o ingrediente ativo fipronil, as variações nominais foram de 100, 500 e 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ e para o ingrediente ativo 2,4-D, as concentrações escolhidas foram 83,75; 837,5 e 8375 $\mu\text{g L}^{-1}$. Novamente, os testes foram repetidos três vezes para redução da variância dos resultados obtidos. Nessa etapa, a escolha das concentrações de contaminante foi feita após testes preliminares e foram escolhidas aquelas que permitiram observação de efeito ecotoxicológico nos organismos testados e valores com relevância ambiental.

A quarta etapa teve como objetivo propor um tratamento para água contaminada com a mistura dos agrotóxicos e para ela foram adotadas as concentrações nominais de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil e 837,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D. Foram reavaliadas as concentrações de CAP e tempo de agitação entre essa etapa e a anterior e optou-se por realizar os testes com 60 min de agitação e com os seguintes tratamentos com CAP:

- Controle: sem contaminantes, 0 mg CAP L^{-1} .
- T1: 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil, 837,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D, 400 mg CAP L^{-1} ;
- T2: 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil, 837,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D, 200 mg CAP L^{-1} ;
- T3: 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil, 837,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D, 100 mg CAP L^{-1} ;

- 0: 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil, 837,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D, 0 mg CAP L^{-1} .

Nessa etapa foram feitas 8 réplicas do tratamento para geração de volume de água suficiente para os experimentos ecotoxicológicos propostos com *Ceriodaphnia silvestrii* e *Eruca sativa* L. Ao final da quarta etapa também foram propostos testes ecotoxicológicos com *Enchytraeus crypticus* para avaliar o potencial impacto gerado pela disposição em solo do CAP utilizado. A etapa de mistura foi repetida três vezes para confirmação dos resultados. As concentrações nominais do contaminante foram escolhidas baseada em Pinto *et al.* (2021a), optando-se pelas concentrações nominais testadas na etapa anterior que estivesse na mesma ordem de grandeza das concentrações baseadas nos manuais de aplicação de ambos os agrotóxicos para pré-emergências em culturas de cana-de-açúcar.

4.2. Análises Ecotoxicológicas

Para avaliação da remoção dos contaminantes foram feitas, simultaneamente, análises ecotoxicológicas com *Ceriodaphnia silvestrii* e *Eruca sativa* L. ao fim de cada tratamento com CAP. Para avaliação de potencial contaminação pela disposição do CAP contaminado em solo, foi proposto testes com *Enchytraeus crypticus*.

4.2.1. Testes com *Ceriodaphnia silvestrii*

Os exemplares de *C. silvestrii* (Figura 3) foram obtidos do cultivo do Núcleo de Ecotoxicologia e Ecologia Aplicada da Universidade de São Paulo (NEEA-USP). O cultivo foi feito em béqueres de 1 L cobertos com vidro de relógio, a 25 °C, fotoperíodo de 12h:12h, em água com pH entre 7,0 e 7,6 (pHmetro B374- Micronal) e dureza de 40 a 48 mg $\text{CaCO}_3 \text{L}^{-1}$, com renovação da água três vezes na semana. A alimentação dos organismos foi feita com uma mistura de alga *Raphidocelis subcapitata* cultivada em meio *L. C. Oligo* com densidade de aproximadamente 6×10^4 células L^{-1} e alimento composto, com leveduras e ração de peixes fermentada, na concentração de 1 mL L^{-1} . A avaliação da sensibilidade dos organismos foi feita com NaCl como substância de referência, com periodicidade mensal, conforme descrito na carta-controle do NEEA-USP.

Os testes para avaliação da toxicidade aguda foram feitos conforme procedimentos descritos na NBR 13373:2017 (ABNT, 2017), em copos plásticos de 50 mL, com 10 mL de amostra e cinco organismos neonatos adicionados. Para cada condição avaliada, em relação

ao tratamento de água contaminada, foram estabelecidas três réplicas. O teste teve duração de 48 h, à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12h:12h, com luminosidade artificial entre 100 e 1000 lx (medida em luxímetro). O *endpoint* do teste foi dado pela imobilidade dos organismos, assumindo mortalidade deles. O ensaio foi considerado válido quando a mortalidade foi inferior a 20% dos organismos presentes nas amostras do controle.

Os testes de avaliação da toxicidade crônica foram propostos apenas para os tratamentos com mistura dos contaminantes. Foram feitos conforme a NBR 13373:2017 (ABNT, 2017), em copos plásticos de 50 mL, com 15 mL de amostra e um organismo neonato adicionado, com dez réplicas para cada condição avaliada. O teste teve duração de 7 dias, à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12h:12h, com luminosidade artificial entre 100 e 1000 lx, com adição de ração fermentada (fermento biológico e ração de peixe Tetramin[®]) e 1×10^5 células mL^{-1} de cultura de alga *R. subcapitata*. O *endpoint* de toxicidade crônica foi dado pela reprodução dos organismos, considerando os neonatos gerados nas ninhadas. O ensaio foi considerado válido quando houve mortalidade inferior a 20% dos organismos presentes nas amostras do controle e número médio de neonatos produzidos por fêmea no controle igual ou maior que quinze (15).

4.2.2. Teste de germinação de *Eruca sativa* L.

O teste de ecotoxicidade com sementes de *E. sativa* L. (Figura 6) foi adaptado de USEPA (1996). As sementes utilizadas nos ensaios apresentavam germinação média de 92% (Isla Sementes[®], lote 108343). Em cada placa de *Petri*, um papel filtro e 10 sementes de *E. sativa* L. foram adicionadas. Em seguida, 1 mL da amostra de água contaminada foi colocado sob as sementes. As amostras foram referentes à água contaminada antes do tratamento e às águas das diferentes condições de tratamento testadas e o teste foi feito em triplicata. A validação do teste ocorreu se houve 70% de germinação das sementes presentes no controle. Os recipientes foram dispostos em câmara escura, à temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$, pelo período de 96 h. Os *endpoints* desse teste foram a porcentagem de germinação das sementes e o comprimento médio da parte aérea e das raízes.

Figura 6: Teste de germinação de *Eruca sativa* L.

Fonte: Elaboração própria.

4.2.3. Testes com *Enchytraeus crypticus*

O teste foi adaptado do ensaio definitivo descrito na NBR 16387:2012, com a observação da reprodução dos indivíduos após 28 dias (ABNT, 2012). Em potes plásticos (Figura 7) foram adicionados 50 g de massa de solo natural (propriedades descritas por Figueirêdo *et al.*, 2020) e regulada a umidade entre 40 e 60% da capacidade de retenção de água do solo. Foi verificado que o pH estivesse igual a $6,0 \pm 0,5$. O CAP retido na filtração do tratamento T1 - $400 \text{ mg CAP L}^{-1}$ foi removido da membrana de vidro e misturado com o substrato, resultando na adição de 40 mg de CAP nas amostras. Em seguida, 25 mg de aveia foram colocados no solo para alimentação e 10 organismos *E. crypticus* foram adicionados com auxílio de pinça.

Figura 7: Potes plásticos nos quais foram feitos os testes com *Enchytraeus crypticus*.



Fonte: Elaboração própria.

Para esse ensaio, foram feitas 3 réplicas e amostra controle, totalizando seis recipientes. Os potes foram tampados e, uma vez por semana, foi feita adição de 25 mg de aveia na superfície do substrato de cada recipiente para alimentação dos indivíduos. Ao final do 21º dia, os adultos foram removidos e foi confirmada a sobrevivência ou não destes. No 28º dia, o teste foi encerrado para contagem dos juvenis. A extração foi realizada seguindo o método “Coloração com rosa de Bengala” (ABNT, 2012). Foram adicionados aproximadamente 5 mL de etanol por réplica e o recipiente foi preenchido com água até atingir profundidade de 1 a 2 cm. Foram adicionadas gotas de solução 1% de rosa de Bengala e misturado cuidadosamente. Após 12 h de contato, os organismos já estavam completamente corados, permitindo a contagem dos juvenis. O teste foi validado se, após as primeiras três semanas, a letalidade média não exceder 20% e se o número médio de juvenis ultrapassar 25 por recipiente-teste. Além disso, é recomendado que o coeficiente de variação, calculado para os dados de reprodução, não seja maior que 50%.

4.3. Análises químicas

Ao final da terceira repetição das etapas de definição da faixa de CAP e de mistura dos agrotóxicos, foram separadas amostras de 15 mL das águas após o tratamento. O volume foi armazenado em tubos Falcon logo após a filtração, devidamente identificados, enrolados em papel alumínio para não haver contato com luz e guardados em geladeira para reduzir a

degradação dos compostos. As amostras de água tratadas foram destinadas ao Laboratório de Química Ambiental da Universidade Estadual de Campinas (LQA – Unicamp, sob a supervisão da Dra. Cassiana Carolina Montagner) para a quantificação dos resíduos de 2,4-D, fipronil e metabolitos do fipronil presentes nas amostras (GOULART *et al.*, 2020). Assim, foi possível mensurar a remoção dos contaminantes pelos tratamentos e indicar as eficiências de remoção.

O preparo das amostras foi feito filtrando-se cada uma delas em filtro de seringa (PTFE 0,22 μm) e transferindo-as para *vial* de 2,0 mL de capacidade munido de tampa com septo (Agilent). A quantificação dos agrotóxicos foi realizada por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem (LC-MS/MS). Foi utilizado um cromatógrafo Agilent modelo 1200, equipado com bomba binária, injetor automático e compartimento de coluna termostatizado. A separação cromatográfica foi realizada com uma coluna Zorbax SB-C18 (2,1 x 30 mm, tamanho de partícula de 3,5 μm) a 30°C. A fase móvel foi constituída de água ultrapura (A) e metanol (B), previamente filtrados em membranas com 0,2 μm de porosidade, contendo 0,01% (v/v) de NH_4OH , aditivo que favorece à formação de íons.

A composição do gradiente, em função da concentração do solvente B, foi a seguinte: início com 30% e aumento para 80% em 5 min, mantendo essa condição por 1 min e retornando para 30% em 11 min. Entre cada corrida cromatográfica o sistema foi mantido a 30% de B por 5 min para recondicionamento da coluna. A identificação e a quantificação dos compostos foram realizadas por espectrometria de massas em um equipamento Agilent com triplo quadrupolo (modelo 6410B). Os compostos foram ionizados em uma fonte de *electrospray* no modo negativo, e foram monitorados pelo modo MRM (*Multiple Reaction Monitoring*), de acordo com os parâmetros utilizados (Tabela 1). As curvas analíticas foram construídas de acordo com a área obtida para cada composto em função de sua concentração na coluna.

Tabela 1: Transições precursor-produto e as respectivas energias de colisão (EC) selecionadas para a quantificação dos pesticidas empregando o modo MRM do espectrômetro de massas.

Composto	Polaridade	Fragmentor (V)	Precursos (m/z)	Quantificação		Confirmação 1		Confirmação 2	
				m/z	EC (V)	m/z	EC (V)	m/z	EC (V)
2,4-D	-	70	218,9	161	14	125	18	163	12
Fipronil	-	100	434,9	330	10	250	15	183	30

Fonte: GOULART *et al.* (2020)

4.4. Análise dos resultados

Para geração dos gráficos, foi utilizado o programa Excel - Microsoft (2019), no qual foram organizados os resultados obtidos nos diferentes testes. Os experimentos foram feitos em triplicatas e repetidos para validação, assim, foi utilizada a ferramenta “Média” para obtenção do valor médio dos dados mensurados pelos testes. Também foi utilizada a ferramenta “Desvio Padrão” para verificar a variação dos dados obtidos e ao final, foram plotados gráficos para melhor visualização e análise dos resultados. Com auxílio do programa *Statistica 7*, a normalidade dos dados foi verificada por Shapiro-Wilk e a homogeneidade por Levene. As comparações estatísticas foram feitas por Kruskal-Wallis, análise de variância (ANOVA) e teste-t de Student, com significância (p) de 5%. O cálculo da eficiência dos tratamentos (Equação 1) foi obtido a partir da comparação de valores encontrados na literatura e os obtidos nos testes ecotoxicológicos ou entre os resultados obtidos pela quantificação química (considerando a amostra sem adição de CAP-0 como referência). Outro valor calculado para a etapa de mistura foi a capacidade de adsorção do CAP, representado pela letra “q”, expresso em $\mu\text{g mg}^{-1}$ (Equação 2).

$$\text{Eficiência (\%)} = \frac{\text{Concetração de contaminante}_{\text{tratamento}} \times 100}{\text{Concetração de contaminante}_0} \quad \text{Equação 1}$$

$$q = \frac{(\text{concentração de contaminante inicial} - \text{concentração de contaminante final}) \times \text{volume da amostra}}{\text{concentração de CAP} \times \text{volume da amostra}} \quad \text{Equação 2}$$

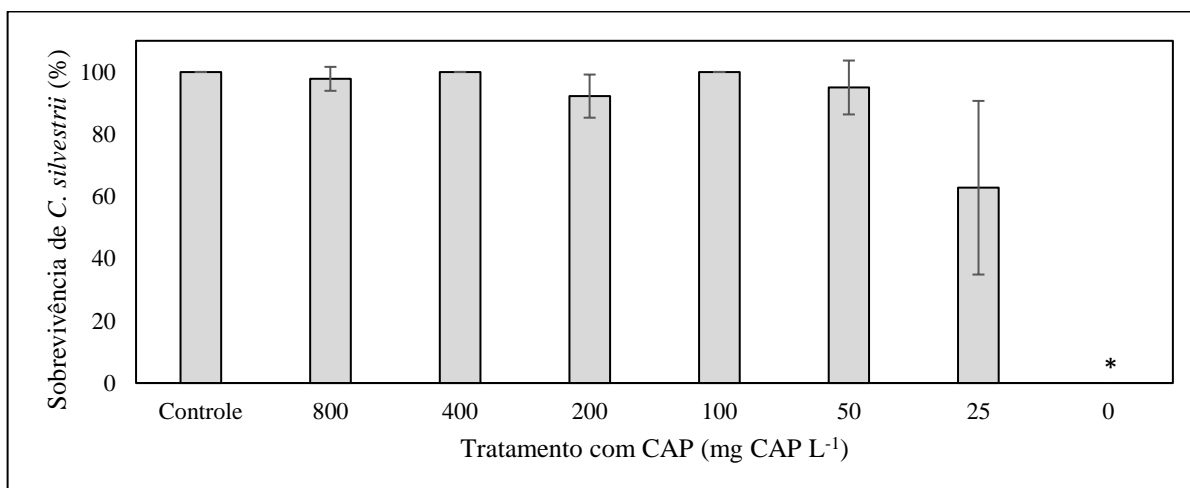
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Fipronil

5.1.1. Definição da faixa de Carvão Ativado em Pó

A primeira etapa da pesquisa buscou definir a faixa de CAP que seria usada nos experimentos. Para as amostras com fipronil, testes agudos foram feitos com *C. silvestrii*, em triplicata, para avaliar a remoção do contaminante. Considerando a concentração nominal de fipronil igual a $100 \mu\text{g L}^{-1}$ e as concentrações de CAP variando de 0 a $800 \text{ mg CAP L}^{-1}$, foram obtidos os resultados de cada tratamento (Figura 8). As dosagens de CAP testadas proporcionaram remoção de fipronil suficiente para não haver diferenças estatísticas ($p < 0,05$) de mortalidade em relação com o controle, ou seja, em relação a amostra sem contaminação e sem CAP. Nos tratamentos com $400 \text{ mg CAP L}^{-1}$ e $100 \text{ mg CAP L}^{-1}$ não foram observados efeitos ecotoxicológicos agudos nos organismos testados, pois não houve mortalidade dos indivíduos. A única amostra com resultados significativamente diferentes do controle foi aquela na qual não houve adição de CAP (i.e., controle negativo), com mortalidade de todos os indivíduos.

Figura 8: Porcentagem de organismos de *C. silvestrii* sobreviventes nos testes agudos (48 h) para avaliação dos tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentração nominal de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil.



* : valores com diferenças estatísticas do controle ($p < 0,05$, teste de Kruskal-Wallis e Dunn)

Fonte: Elaboração própria.

As faixas dos parâmetros oxigênio dissolvido, pH e condutividade foram medidas antes e depois dos testes (Tabela 6 – APÊNDICE A). De acordo com a NBR 13.373:2017, a

faixa de pH ideal para essa espécie é 7,0 a 7,6; assim, os parâmetros obtidos indicaram que os valores de pH estavam adequados para os organismos (ABNT, 2017). Silva *et al.* (2020) obtiveram CE_{50} de $3,9 \pm 0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil para toxicidade aguda em *C. silvestrii* em condições de laboratório similares ao deste estudo. Considerando que a concentração nominal de contaminante era $100 \mu\text{g L}^{-1}$, foi possível estimar que os tratamentos testados atingiram eficiências de remoção do contaminante superiores a 95%, pois em todos houve sobrevivência de mais da metade dos organismos. Para a quantificação química da última (terceira) repetição do teste (Tabela 2), as eficiências de remoção foram estimadas conforme a concentração de fipronil identificada no controle-negativo, ou seja, nas amostras sem adição de CAP (0 mg CAP L^{-1}). O limite de quantificação (LQ) para o fipronil foi de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 2: Concentrações de fipronil encontradas em quantificação química para tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentração nominal de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil e as eficiências de remoção estimadas em relação ao controle-negativo (0 mg CAP L^{-1}).

Tratamento com CAP (mg L^{-1})	Concentração de fipronil ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Eficiência de remoção (%)
Controle	< LQ	-
800	< LQ	> 98,8
400	< LQ	> 98,8
200	< LQ	> 98,8
100	< LQ	> 98,8
50	< LQ	> 98,8
25	1,5	96,6
0	43,4	0

LQ: Limite de Quantificação. Para o fipronil, $LQ = 0,5 \mu\text{g L}^{-1}$.

Fonte: Elaboração própria.

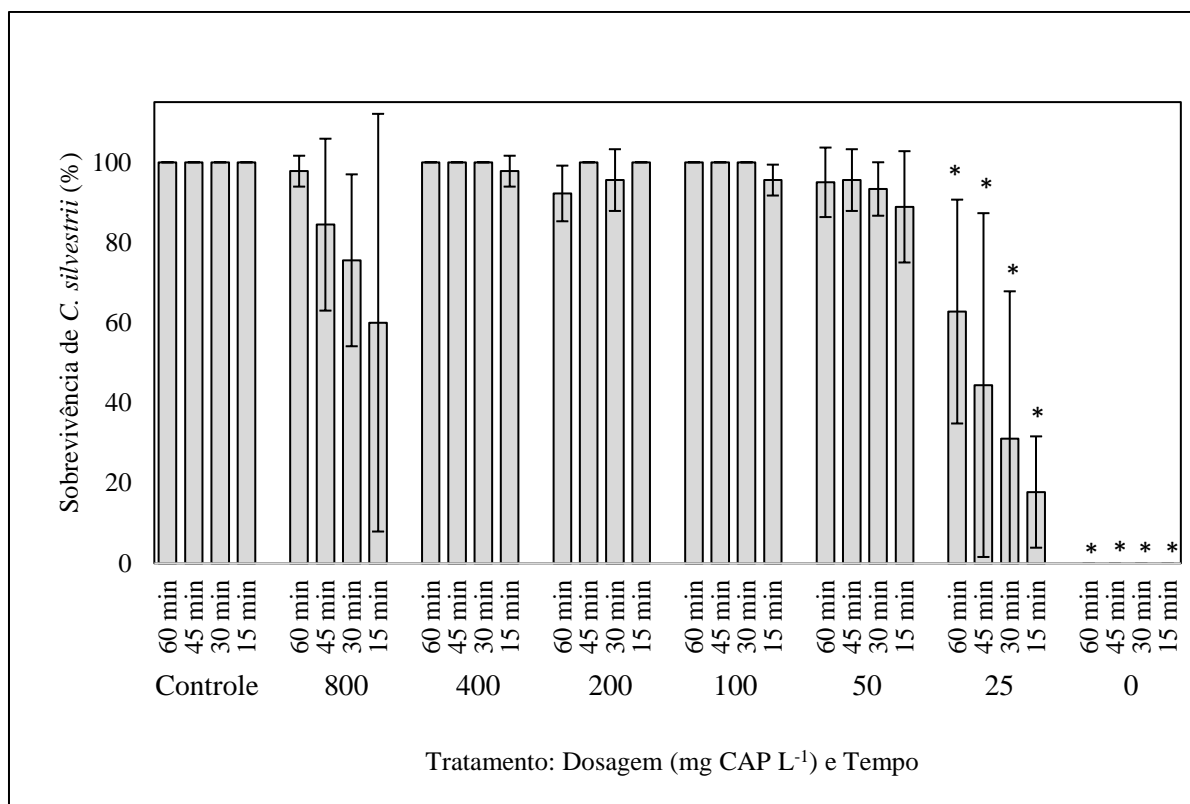
Os valores de fipronil encontrados (Tabela 2) foram inferiores a $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ para as concentrações de 800, 400, 200, 100 e 50 mg CAP L^{-1} , indicando que a eficiência de remoção para esses tratamentos foi superior a 98,8% (considerando a concentração quantificada na amostra 0). Para 25 mg CAP L^{-1} , o tratamento obteve eficiência de 96,6%. Uma observação importante é que os tratamentos com 800, 400, 200, 100 e 50 mg CAP L^{-1} foram suficientes para que a água estivesse dentro do limite de $1,2 \mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil definido na Portaria GM/MS Nº 888/ 2021 para potabilidade da água (BRASIL, 2021). Por fim, a dosagem considerada como mais vantajosa nessa etapa foi a de 50 mg CAP L^{-1} por ser a menor quantidade de adsorvente utilizada a atingir eficiência suficiente de tratamento. A dosagem de

25 mg CAP L⁻¹ não foi escolhida devido à variância nos dados e os resultados de eficiência inferiores notificados na quantificação química.

5.1.2. Definição do tempo de agitação

Após definidas as faixas de dosagens de CAP, os testes de definição do tempo de agitação foram desenvolvidos. Para o fipronil, as concentrações de CAP selecionadas foram de 800; 400; 200; 100; 50; 25 e 0 mg CAP L⁻¹ e os tempos de 60, 45, 30 e 15 min. Após o tratamento, o teste agudo com *C. silvestrii* foi feito e a média das respostas das três repetições dos experimentos foram organizadas em um gráfico (Figura 9). As concentrações de 800, 400, 200, 100 e 50 mg CAP L⁻¹ não apresentaram diferenças consideráveis ($p > 0,05$) nos efeitos agudos para os diferentes tempos (Figura 9). Entretanto, a diferença entre os tratamentos foi observada para 25 mg CAP L⁻¹, sendo que o maior tempo de agitação (60 min) foi responsável pelo melhor tratamento. Por motivos de segurança, o tempo a ser adotado para as fases subsequentes foi de 60 min, mesmo não sendo o mais eficiente economicamente. Comparando com Silva *et al.* (2020), em teste agudo para *C. silvestrii* a CE₅₀ encontrada foi de $3,9 \pm 0,5 \mu\text{g i.a. L}^{-1}$, sendo possível estimar que para todos os tratamentos com 60 min de agitação e para os outros tempos com concentrações de 800, 400, 200, 100 e 50 mg CAP L⁻¹ houve remoção de mais de 95% do contaminante, uma vez que houve sobrevivência de mais da metade dos organismos. Para esses testes foram observados pH, condutividade e oxigênio dissolvido antes e após os testes ecotoxicológicos (Tabela 7 a Tabela 9 – APÊNDICE A). Esses parâmetros foram mensurados para confirmação de que os efeitos observados eram resultados da ação do contaminante e não por outras condições adversas do meio.

Figura 9: Média de organismos de *C. silvestrii* sobreviventes nos testes agudos (48h) para avaliação dos tratamentos com CAP, para os tempos de 60, 45, 30 e 15 min de agitação e concentração nominal de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil.



* : valores com diferenças estatísticas do controle ($p < 0,05$, teste de Kruskal-Wallis e Dunn)

Fonte: Elaboração própria.

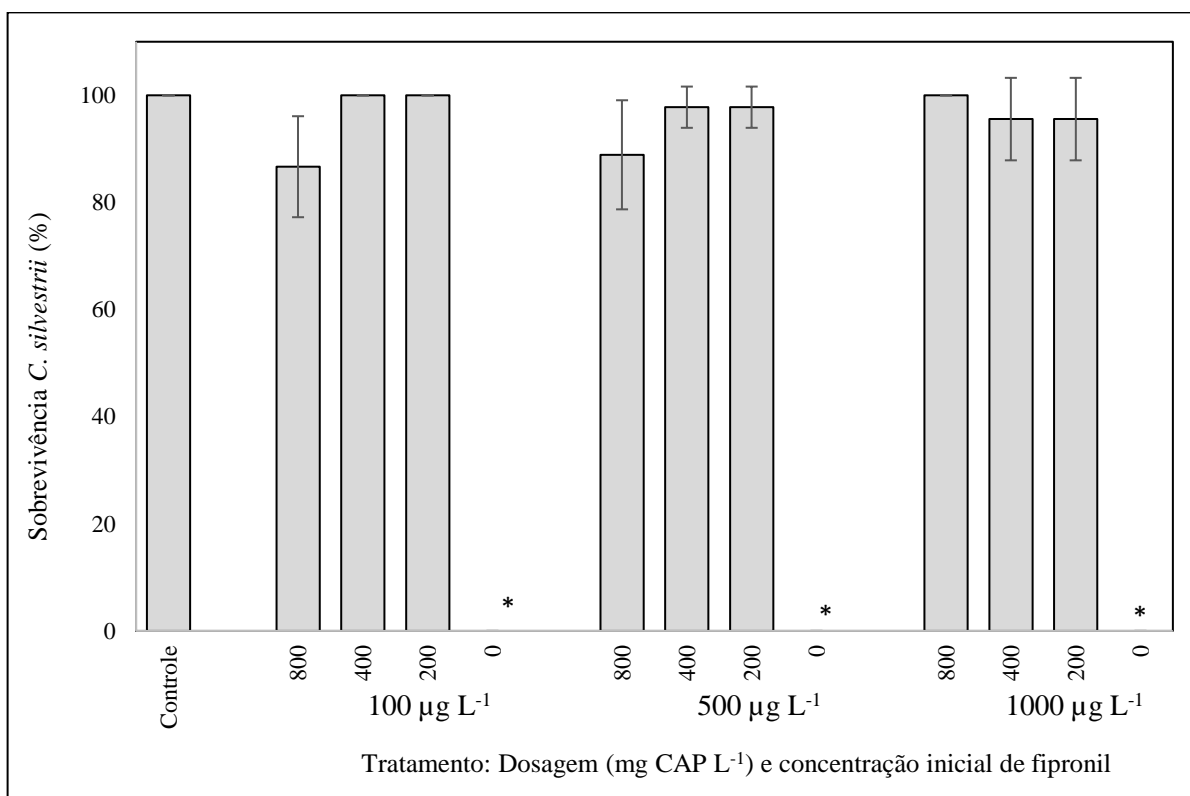
5.1.3. Variação da concentração nominal de contaminante

Nesta etapa, os tratamentos foram testados com condições de tempo de agitação e concentrações de CAP (definidas na etapa anterior para três diferentes concentrações nominais de fipronil: 100 , 500 e $1000 \mu\text{g L}^{-1}$). Após o tratamento, os testes agudos de *C. silvestrii* foram feitos e pelos resultados ecotoxicológicos foi verificada a eficiência dos tratamentos (Figura 10). Durante a realização do experimento, foi observado que para o tratamento com $800 \text{ mg CAP L}^{-1}$ houve redução da sobrevivência dos organismos. Suspeita-se que o excesso de CAP possa ser tóxico para os organismos, com a liberação de substâncias e retirada de nutrientes. Porém, a suspeita não foi comprovada. Portanto, optou-se por não realizar o tratamento com $800 \text{ mg CAP L}^{-1}$ na próxima etapa, uma vez que os resultados para $400 \text{ mg CAP L}^{-1}$ foram igualmente satisfatórios, com menor variância e massa de adsorvente.

Em nenhum dos tratamentos houve mortalidade de mais de metade da população. Portanto, assumiu-se que houve remoção suficiente para que a concentração fosse menor que

a CE_{50} de $3,9 \pm 0,5 \mu\text{g i.a. L}^{-1}$ (SILVA *et al.*, 2020). Assim, as eficiências de remoção estimadas para essa etapa foram maiores que 95% para $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil; e maiores que 99% para $500 \mu\text{g L}^{-1}$ e $1000 \mu\text{g L}^{-1}$. Ao final das 48h, alguns indivíduos foram selecionados aleatoriamente para observação em lupa (Figura 11), e foi possível visualizar a diferença entre aqueles presentes no controle (Figura 11 A e B) e os expostos às amostras contaminadas sem tratamento (Figura 11 C e D). Antes da contaminação e após a finalização do teste foram mensurados os parâmetros pH, OD e Condutividade (Tabela 10 – APÊNDICE A). Esses parâmetros indicaram que os efeitos observados eram resultados da ação do contaminante e não por outras condições do meio. Para as condições testadas, a concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ utilizada nos tratamentos é próxima da concentração ambiental prevista segundo recomendações para aplicação do agrotóxico em situações de pré-emergência para cana-de-açúcar de $64 \mu\text{g L}^{-1}$ (PINTO *et al.*, 2021^a). Assim, considerando a concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ como mais relevante e considerando que não houve grandes variações de comportamento dos testes com a variação da concentração nominal do inseticida, o tratamento mais eficiente para as condições testadas de fipronil foi o tratamento com $200 \text{ mg CAP L}^{-1}$ e 60 min de agitação.

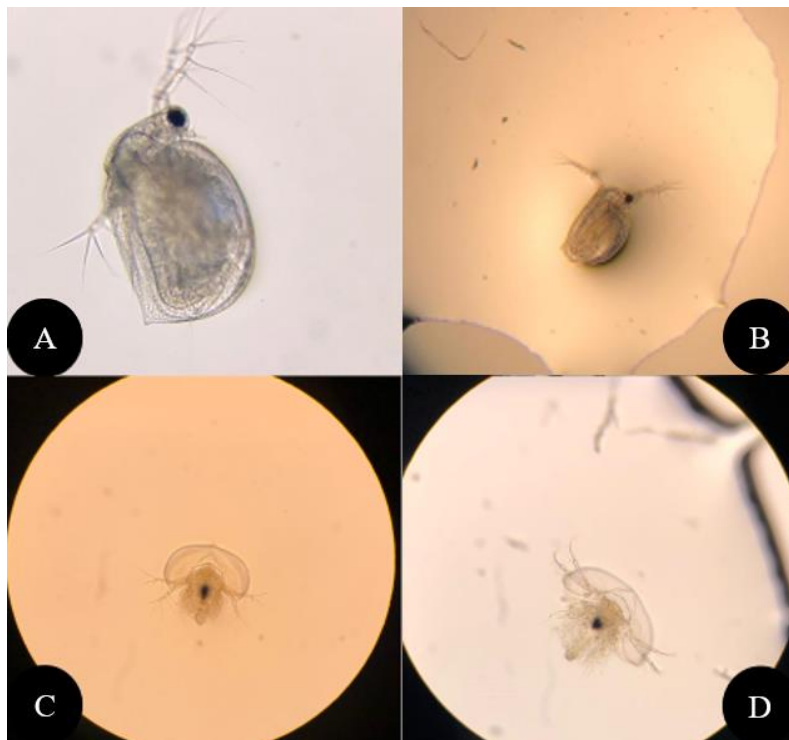
Figura 10: Média de organismos de *C. silvestrii* sobreviventes nos testes agudos (48h) para avaliação dos tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentrações nominais de 100, 500 e 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil.



* : valores com diferenças estatísticas do controle ($p < 0,05$, teste de Kruskal-Wallis e Dunn)

Fonte: Elaboração própria.

Figura 11: Imagens de *C. silvestrii* após teste com água contaminada com diferentes concentrações nominais (aumento de 20x a 40x). **A e B:** *C. silvestrii* na amostra controle. **C:** *C. silvestrii* da amostra com concentração nominal 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil. **D:** *C. silvestrii* da amostra com concentração nominal 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil.



Fonte: Elaboração própria.

5.2. 2,4-D

5.2.1. Definição da faixa de Carvão Ativado em Pó

A primeira etapa dos experimentos com 2,4-D definiu a faixa de CAP que seria usada e foram feitos testes de germinação com *E. sativa* L. Ao fim da terceira reprodução dos procedimentos, foi calculada a média do crescimento aéreo e radicular dos indivíduos (Tabela 3) e os valores foram plotados em gráfico (Figura 12). Nos testes com *E. sativa* L., foi possível observar que o crescimento da planta acompanhou a concentração de CAP, uma vez que crescimentos maiores dos organismos foram observados em tratamentos com maiores dosagens de CAP (Figura 13). Contudo, o crescimento não foi proporcional à dosagem, como foi observado no aumento de crescimento de 400 mg CAP L^{-1} para 800 mg CAP L^{-1} e a proximidade das médias de crescimento para os tratamentos 200, 100 e 0 mg CAP L^{-1} . O principal efeito ecotoxicológico observado no teste com *E. sativa* L. foi a inibição do desenvolvimento da raiz. Essa observação também foi feita por Cenkci *et al.* (2010) para o

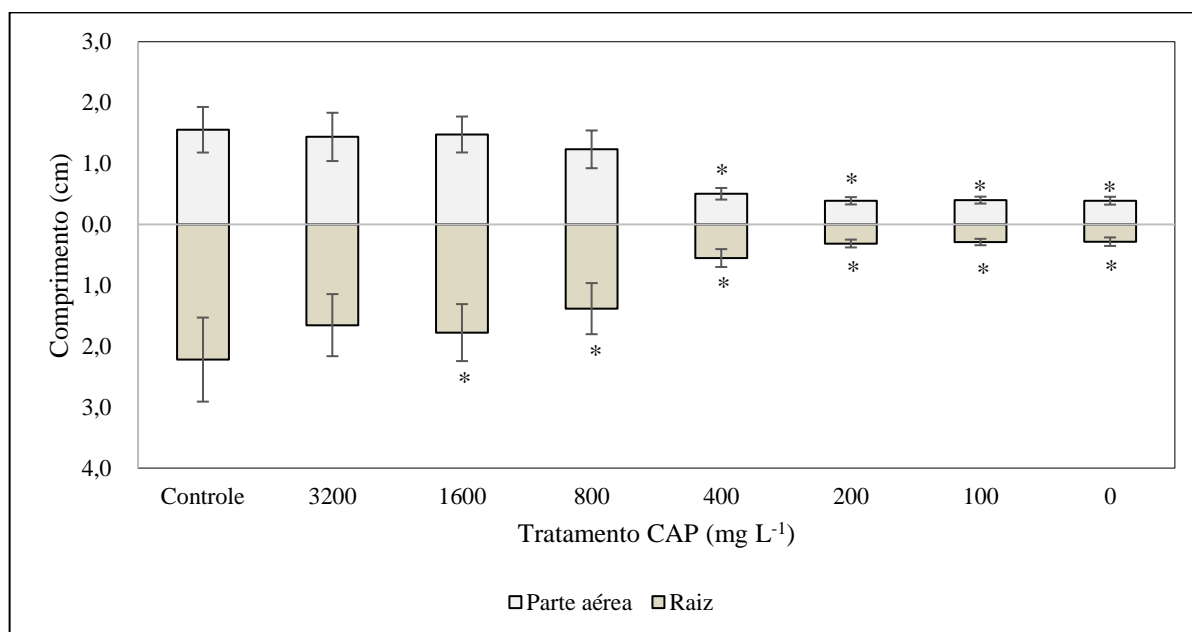
feijão *P. vulgaris* L. em concentrações de 2,4-D de 0,1 a 0,3 $\mu\text{g L}^{-1}$. Apenas o tratamento com 3200 mg CAP L^{-1} não apresentou diferenças de crescimento ($p > 0,05$) em relação ao controle nos dados de crescimento da raiz. Em relação à parte aérea dos vegetais, os tratamentos com 3200, 1600 e 800 mg CAP L^{-1} tiveram crescimento similar ao controle.

Tabela 3: Valores de crescimento médio de *E. sativa* L. após tratamento com CAP, com 60 min de agitação e concentração nominal de 8375 $\mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D.

Tratamento com CAP (mg L^{-1})	Tamanho médio aéreo (cm)	DP	Tamanho médio raiz (cm)	DP
Controle	1,65	0,40	2,34	0,18
3200	1,56	0,75	1,74	0,37
1600	1,49	0,71	1,74	0,41
800	1,32	0,30	1,41	0,19
400	0,53	0,23	0,56	0,16
200	0,38	0,01	0,32	0,02
100	0,40	0,01	0,29	0,01
0	0,38	0,02	0,28	0,02

Fonte: Elaboração própria

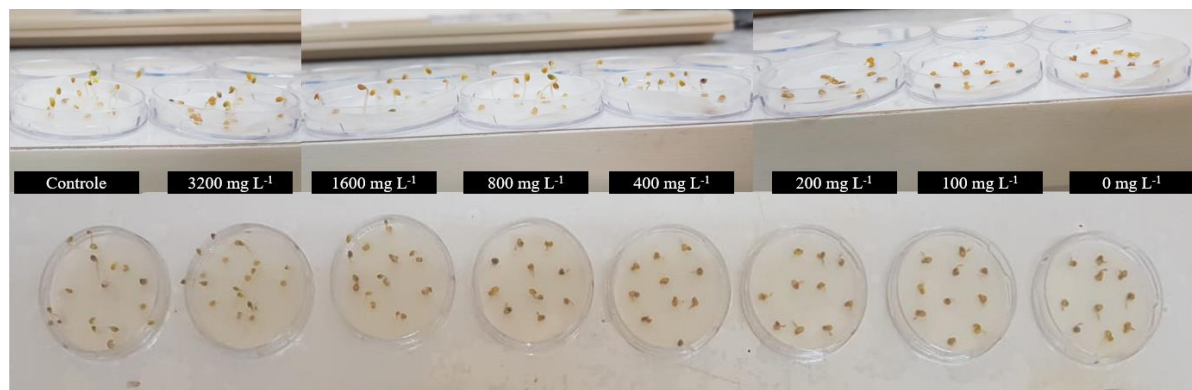
Figura 12: Crescimento médio das partes aéreas e raiz de *E. sativa* L. nos testes feitos após tratamento com CAP, com 60 min de agitação e concentração nominal de 8375 $\mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D.



* : valores com diferenças estatísticas do controle ($p < 0,05$, teste de Kruskal-Wallis e Dunn)

Fonte: Elaboração própria.

Figura 13: Placas de Petri com *E. sativa* L. após 96 h da contaminação das placas com água submetida a tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentração nominal de $8375 \mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D.



Fonte: Elaboração própria.

Os parâmetros pH e condutividade foram medidos antes da contaminação das placas de Petri com *E. sativa* L. (Tabela 11 – APÊNDICE A). Em relação à quantificação química, os resultados foram apresentados (Tabela 4), considerando que o limite de quantificação (LQ) para o 2,4-D é $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$. Pela análise química, também foram observadas remoções superiores de 2,4-D em tratamentos com maior dosagem de CAP. Porém, assim como observado nos testes com *E. sativa* L., não se tratou de uma relação proporcional, uma vez que para dosagens de 3200 e 1600 mg CAP L^{-1} as eficiências de remoção encontradas na análise foram superiores a 99%. Além disso, Aksu e Kabasakal (2005) obtiveram eficiências de remoção com o CAP de até 91,9% para amostras contaminadas com 100 mg L^{-1} de 2,4-D, indicando que o CAP é eficiente mesmo em concentrações mais altas do contaminante.

Tabela 4: Concentrações de 2,4-D encontradas em quantificação química para o tratamento com CAP, com tempo de agitação de 60 min e concentração nominal de $8375 \mu\text{g L}^{-1}$ e a eficiência de remoção estimada em relação ao controle-negativo (0 mg CAP L^{-1}).

Tratamento com CAP (mg L^{-1})	Concentração de 2,4-D ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Eficiência de remoção (%)
Controle	< LQ	-
3200	< LQ	> 99,8
1600	2,8	> 99,1
800	7,7	> 97,4
400	25,1	> 91,6
200	>300 ppb	Não determinada
100	>300 ppb	Não determinada
0	>300 ppb	-

LQ: Limite de Quantificação. Para o 2,4-D, LQ = $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$.

Fonte: Elaboração própria.

Nos testes com *E. sativa* L., foi possível observar que maiores concentrações residuais de 2,4-D ocasionaram deformidades na raiz da planta, especialmente pelas raízes inchadas (Figura 14 B e C). Para plântulas mantidas em meio sem ou com baixa concentração de 2,4-D, a raiz cresceu mais alongada e pouco espessa quando comparada com as demais (Figura 14 A). Os efeitos de inibição de crescimento também foram observados por Freitas *et al.* (2021), que detectaram 2,4-D em águas amostradas em um curso d'água natural no município de São Carlos. Esses autores obtiveram crescimento similar (aproximadamente 1,0 cm para a parte aérea e raiz) ao tratamento 400 mg CAP L⁻¹ para concentrações de 10,3 e 16 µg L⁻¹ de 2,4-D. Além disso, foi notado crescimento similar (aproximadamente 1,5 cm para a parte aérea e raiz) ao tratamento com 800 mg CAP L⁻¹ para concentrações de 8,3 e 7,3 µg L⁻¹ de 2,4-D, concentrações próximas da obtida na quantificação química (7,7 µg L⁻¹).

Figura 14: *E. sativa* L. após tratamento com CAP, com tempo de agitação de 60 min e concentração nominal de 8375 µg L⁻¹. **A:** Sem contaminação (controle). **B:** Tratamento com 400mg CAP L⁻¹. **C:** Controle-negativo (0 mg CAP L⁻¹).



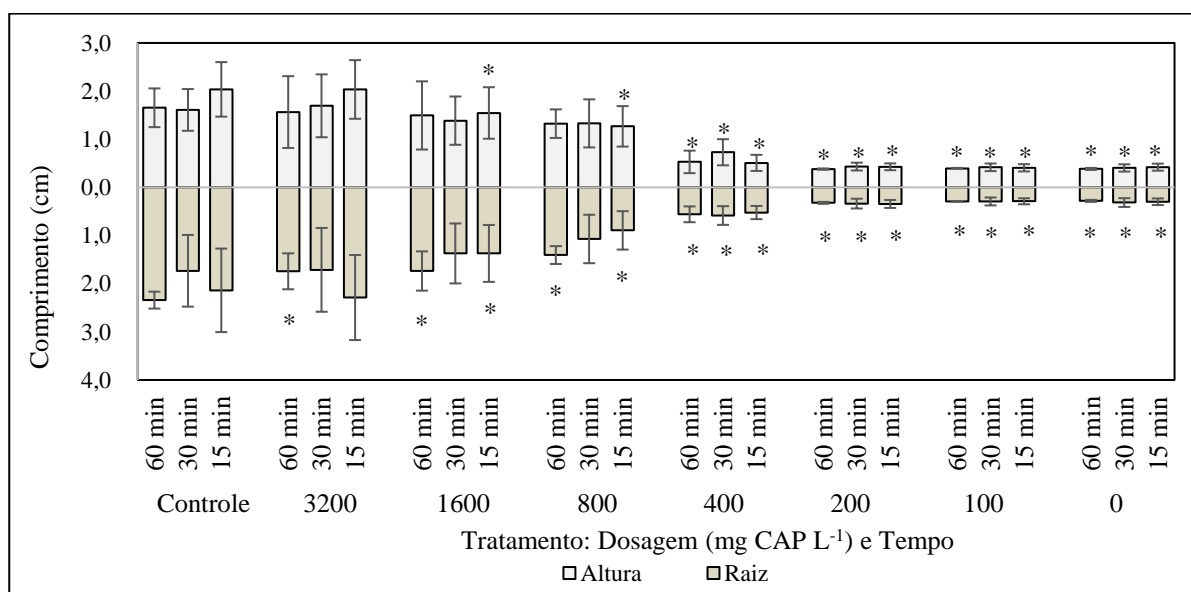
Fonte: Elaboração própria.

Como descrito no item 2.4, as legislações brasileiras adotam o limite de 30 µg L⁻¹ para o herbicida 2,4-D para águas subterrâneas (BRASIL, 2008). Esse valor foi atingido nos tratamentos com 3200, 1600, 800 e 400 mg CAP L⁻¹, atendendo aos requisitos da legislação vigente. Porém, conforme observado na Figura 14B, a qual demonstra um exemplo de *E. sativa* L. na água tratada com 400 mg CAP L⁻¹ (i.e., com concentração residual de 25,1 µg L⁻¹), as plantas apresentaram deformações e inibição no crescimento. Assim, os organismos expostos a concentrações de 2,4-D inferiores aos valores estabelecidos pela legislação brasileira apresentaram efeitos de fitotoxicidade. Dessa forma, a presença do herbicida 2,4-D em águas subterrâneas poderia apresentar riscos às atividades agrícolas como, por exemplo, através da captação dessa água para irrigação. Nessa etapa, o tratamento mais eficiente e que não apresentou efeitos ecotoxicológicos para *E. sativa* L. foi o com 3200 mg CAP L⁻¹.

5.2.2. Definição do tempo de agitação

Assim como para o fipronil, os tratamentos de 2,4-D foram feitos com as concentrações de CAP encontrada na etapa anterior. Os tempos adotados para esses testes foram 60, 30 e 15 min, definidos após análise dos resultados obtidos para o fipronil. Para cada tempo proposto, o experimento foi repetido três vezes e os bioensaios feitos com *E. sativa* L. (Figura 15). A comparação foi feita a partir da diferença de crescimento entre os tratamentos e o controle respectivo ao tempo de agitação. Os valores de pH e condutividade de cada tratamento foram medidos (Tabela 12 e Tabela 13 – APÊNDICE A). Os três tempos possuíram comportamentos semelhantes, com crescimento reduzido a partir de 400 mg CAP L⁻¹, com presença de raízes inchadas. Para os três tempos, o tratamento com 3200 mg CAP L⁻¹ teve plântulas com crescimento similar ao controle ($p > 0,05$). Por conta dessa semelhança nos comportamentos, o tempo de 15 min pode ser considerado o mais eficiente. Como a proposta final é encontrar um tratamento único para águas contaminadas com a mistura dos dois agrotóxicos, optou-se por padronizar o tempo para os dois agrotóxicos e o tempo escolhido foi o de 60 min de agitação para contemplar o tratamento de fipronil. Também foram escolhidas faixas mais restritas de massa de CAP, uma vez que o tratamento de 2,4-D exigiu maiores dosagens de CAP, de forma que a faixa escolhida englobou os tratamentos com 800, 400 e 200 mg CAP L⁻¹.

Figura 15: Crescimento médio das partes aéreas e raiz de *E. sativa* L. nos testes feitos após tratamento com CAP, para os tempos de 60, 30 e 15 min de agitação e concentração nominal de 8375 mg L⁻¹ de 2,4-D.



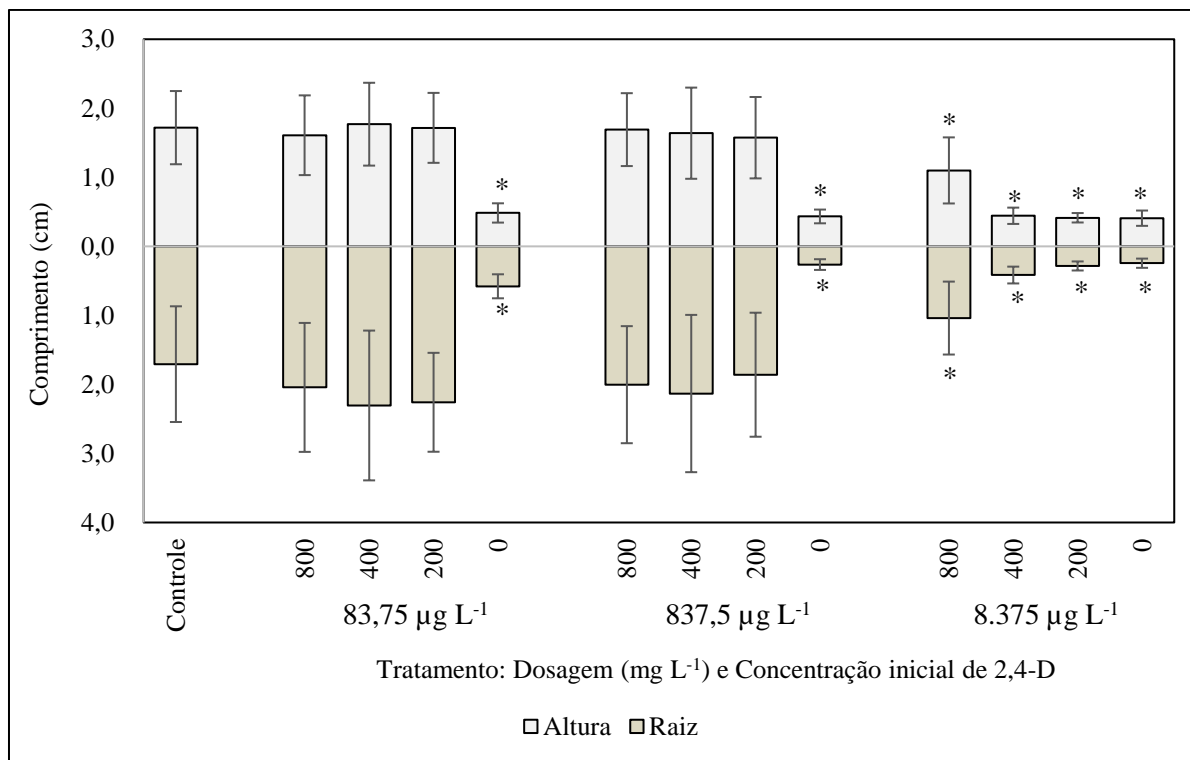
* : valores com diferenças estatísticas do controle ($p < 0,05$, teste de Kruskal-Wallis e Dunn)

Fonte: Elaboração própria.

5.2.3. Variação da concentração nominal de contaminante

No caso do tratamento de 2,4-D, as concentrações nominais propostas foram de 83,75; 837,5 e 8375 $\mu\text{g L}^{-1}$. O tempo de agitação foi de 60 min e os tratamentos foram com 800, 400 e 200 mg CAP L^{-1} . O tratamento foi seguido de testes ecotoxicológicos para observação dos efeitos causados pela água em *E. sativa* L. (Figura 16). Pelo gráfico, foi possível observar o efeito da concentração nominal no tratamento, pois para a concentração nominal de 8375 $\mu\text{g L}^{-1}$ as dosagens de 400 e 200 mg CAP L^{-1} não foram capazes de remover suficientemente o contaminante, de forma que houve a formação de raízes inchadas. Enquanto isso, para as dosagens de 83,75 e 837,5 $\mu\text{g L}^{-1}$, as raízes só incharam nos casos em que não houve tratamento. Assim como nas etapas anteriores, antes da contaminação das sementes de *E. sativa* L. foi feita a leitura de pH e condutividade das amostras (Tabela 14 - APÊNDICE A). Similar aos testes com fipronil, o tratamento com 800 mg CAP L^{-1} apresentou crescimento inferior ao com concentração de 400 mg CAP L^{-1} nos testes com concentração nominal de 2,4-D de 83,75 e 837,5 $\mu\text{g L}^{-1}$. Dessa forma, para a próxima etapa (i.e., com mistura dos agrotóxicos), o tratamento com 800 mg CAP L^{-1} não foi considerado e foi adicionado o tratamento utilizando 100 mg CAP L^{-1} .

Figura 16: Crescimento médio das partes aéreas e raiz de *E. sativa* L. nos testes feitos após tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentrações nominais de 83,75; 837,5 e 8375 $\mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D.



* : valores com diferenças estatísticas do controle ($p < 0,05$, teste de Kruskal-Wallis e Dunn)

Fonte: Elaboração própria.

A concentração nominal de 837,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D foi a concentração testada da mesma ordem de grandeza da concentração encontrada pela CETESB (2017), de 366,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ em águas superficiais no estado de São Paulo. Esse valor também foi próximo à concentração estimada segundo recomendações de aplicação de 2,4-D em cultivos de cana-de-açúcar em período de pré-emergência de 447 $\mu\text{g L}^{-1}$ (PINTO *et al.*, 2021a). Dessa forma, o tratamento escolhido para águas contaminadas com 2,4-D isolado foi feito considerando a concentração nominal 837,5 $\mu\text{g L}^{-1}$. Assim, o tratamento mais eficiente para as condições testadas de 2,4-D isoladamente foi 200 mg CAP L^{-1} , com 15 min de agitação.

5.3.Mistura de 2,4-D e Fipronil

Os testes com mistura dos contaminantes foram feitos com os seguintes tratamentos, anteriormente descritos na metodologia, todos com 60 min de agitação:

- **Controle:** sem contaminantes, 0 mg CAP L⁻¹.
- **T1:** 100 µg L⁻¹ de fipronil, 837,5 µg L⁻¹ de 2,4-D, 400 mg CAP L⁻¹;
- **T2:** 100 µg L⁻¹ de fipronil, 837,5 µg L⁻¹ de 2,4-D, 200 mg CAP L⁻¹;
- **T3:** 100 µg L⁻¹ de fipronil, 837,5 µg L⁻¹ de 2,4-D, 100 mg CAP L⁻¹;
- **0:** 100 µg L⁻¹ de fipronil, 837,5 µg L⁻¹ de 2,4-D, 0 mg CAP L⁻¹.

Para essa etapa, a quantificação química foi feita para as amostras geradas na terceira repetição do experimento (Tabela 5). Os agrotóxicos 2,4-D e fipronil foram quantificados, assim como os compostos gerados a partir da degradação do fipronil, fipronil sulfide e fipronil sulfona. O metabólito sulfide não foi identificado em nenhuma amostra e o fipronil sulfona só foi mensurado para a amostra 0 mg CAP L⁻¹ com concentração de 0,6 µg L⁻¹. A partir dos valores quantificados foram calculadas as eficiências de remoção (Tabela 5) para os dois compostos. A presença de fipronil sulfona na amostra 0 mg CAP L⁻¹ (i.e., controle negativo) indicou que houve degradação do fipronil. Dessa forma, esse resultado reforçou a importância de utilizar o controle negativo como referência para cálculo da eficiência de remoção (Equação 1), para que a remoção dos agrotóxicos não seja superestimada. A quantificação química confirmou que os tratamentos T1 e T2 tiveram as maiores eficiências de remoção, acima de 99% para os dois agrotóxicos. Por outro lado, T3 teve eficiência de remoção superior a 99% para o fipronil e 98,6% para o 2,4-D.

Tabela 5: Quantificação química dos compostos 2,4-D e fipronil e valores obtidos para a eficiência de remoção dos compostos e capacidade de adsorção do CAP (q) para o teste com mistura com concentração nominal de 100 µg L⁻¹ de fipronil e de 837,5 µg L⁻¹ de 2,4-D e 60 min de agitação. T1 - 400 mg CAP L⁻¹, T2 - 200 mg CAP L⁻¹; T3 - 100 mg CAP L⁻¹.

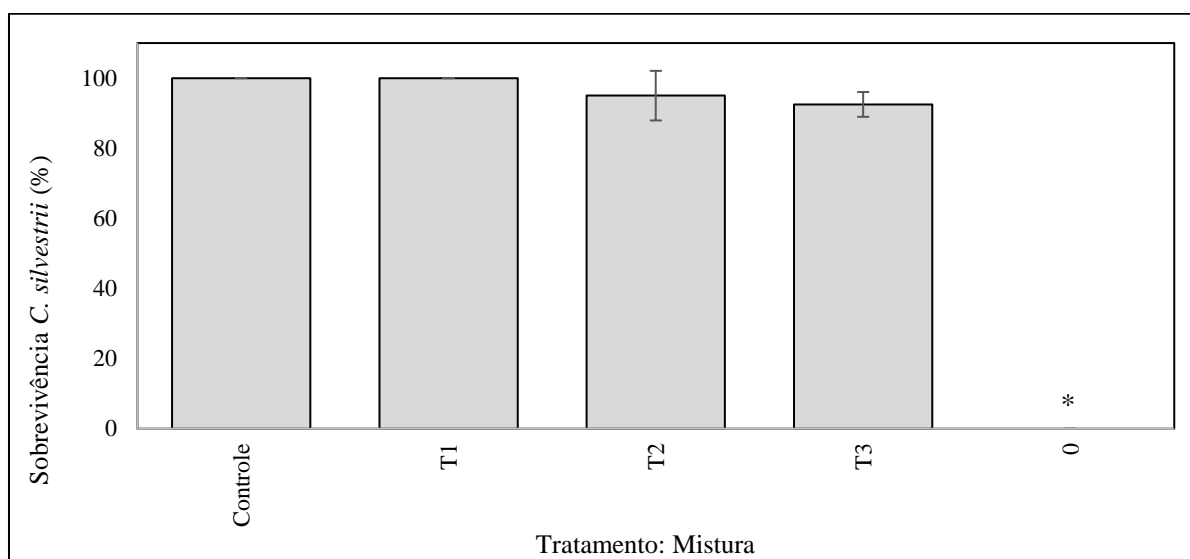
Tratamento concentração CAP	Fipronil (µg L ⁻¹)	Eficiência de remoção fipronil	q _{fipronil} (mg g ⁻¹)	2,4-D (µg L ⁻¹)	Eficiência de remoção 2,4-D	q _{2,4-D} (mg g ⁻¹)
Controle	< LQ	-	-	< LQ	-	-
T1	0,15	> 99%	0,1051	< LQ	> 99%	> 1,3652
T2	0,16	> 99%	0,2102	< LQ	> 99%	> 2,7305
T3	0,28	> 99%	0,4192	7,61	98,6%	5,3899
0	42,2	-	-	546,6	-	-

LQ: Limite de Quantificação. Para o fipronil e 2,4-D, LQ = 0,5 µg L⁻¹. q: capacidade de adsorção do CAP.

Fonte: Elaboração própria.

Após os tratamentos, a água tratada foi distribuída em testes de ecotoxicidade com *E. sativa* L. e em testes agudos e crônicos de *C. silvestrii*. Ao todo, três repetições do experimento foram feitas e os resultados dos testes agudos de *C. silvestrii* foram representados graficamente (Figura 17). Os resultados obtidos nos testes agudos para a mistura de agrotóxicos se comportaram de forma similar ao tratamento de água apenas com fipronil, com os tratamentos de 400, 200 e 100 mg CAP L⁻¹, sem diferenças estatísticas do controle. Assim, foi possível inferir que a mistura dos dois agrotóxicos não interferiu nos efeitos agudos em *C. silvestrii*. Para os testes crônicos com *C. silvestrii* (Figura 18), o comportamento foi diferente dos demais, com o tratamento T3 sendo o único com reprodução similar ao controle ($p < 0,05$). Esse comportamento foi atribuído ao excesso de CAP e possível liberação de compostos tóxicos para os organismos. Por outro lado, o tratamento T3 foi suficiente para mitigação dos efeitos crônicos aos organismos expostos nas amostras de água tratada. Segundo Silva *et al.* (2020), a EC₅₀ de 2,4-D para o teste agudo com *C. silvestrii* é de 169 ± 18 mg L⁻¹ e a concentração que não causou efeito crônico (CENO) para reprodução a mesma espécie foi igual a 50 mg L⁻¹ para o 2,4-D e 0,4 µg L⁻¹ para fipronil. Dessa forma, a concentração nominal de 2,4-D não foi considerada como responsável pelos efeitos observados, mesmo para a amostra 0 mg CAP L⁻¹. Logo, para o fipronil, T3 removeu concentração suficiente do ingrediente ativo para não serem observados efeitos crônicos, obtendo eficiência de remoção estimada superior a 99,6%.

Figura 17: Média de organismos de *C. silvestrii* sobreviventes nos testes agudos (48h) para avaliação dos tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentrações nominais de 100 µg L⁻¹ de fipronil e 837,5 µg L⁻¹ de 2,4-D. T1 - 400 mg CAP L⁻¹, T2 - 200 mg CAP L⁻¹; T3 - 100 mg CAP L⁻¹.

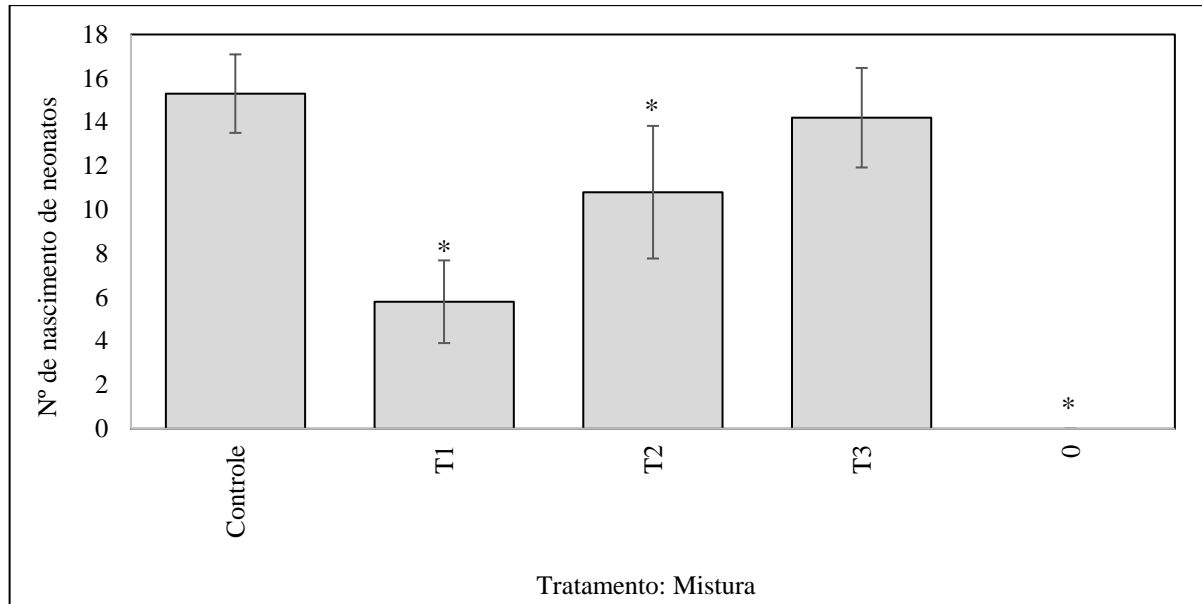


* : valores com diferenças estatísticas do controle ($p < 0,05$, teste de Kruskal-Wallis e Dunn)

Fonte: Elaboração própria.

Figura 18: Média de neonatos de *C. silvestrii* nascidos nos testes crônicos (8 dias) para avaliação dos tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentrações nominais de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil e $837,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D.

T1 - $400 \text{ mg CAP L}^{-1}$, T2 - $200 \text{ mg CAP L}^{-1}$; T3 - $100 \text{ mg CAP L}^{-1}$.



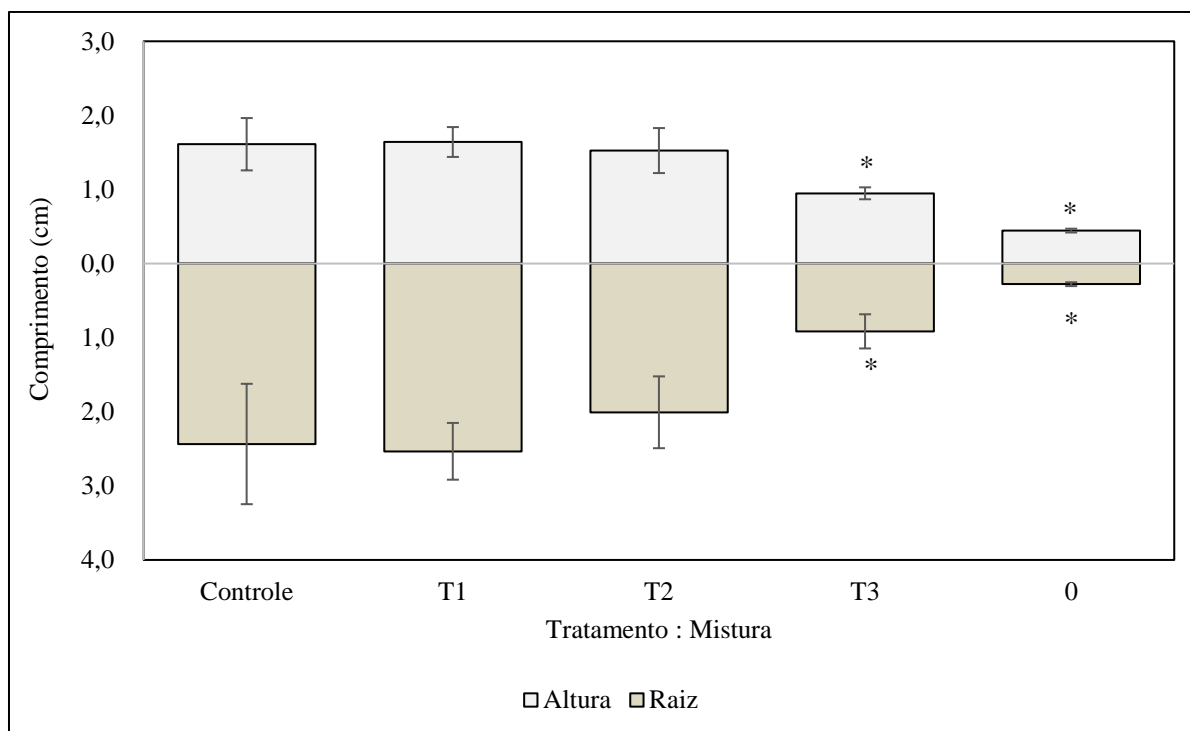
* : valores com diferenças estatísticas do controle ($p < 0,05$, teste de Kruskal-Wallis e Dunn)

Fonte: Elaboração própria.

A água tratada também foi utilizada para o desenvolvimento dos testes com *E. sativa* L. para avaliação da interferência do fipronil na eficiência do tratamento de 2,4-D e os resultados foram organizados na Figura 19. Em relação a esse teste, os tratamentos T1 e T2 permitiram que as plântulas de *E. sativa* L. tivessem o crescimento próximo ao do controle ($p > 0,05$). Os organismos cultivados na água do tratamento T3 apresentaram raízes inchadas (assim como observado na Figura 14 C). Contudo, T3 apresentou diferenças de crescimento quando comparado a amostra sem tratamento (0 mg CAP L^{-1}), o que indica que mesmo para essa dosagem, houve redução da ecotoxicidade. Os parâmetros (pH, condutividade e oxigênio dissolvido) foram quantificados antes da inserção dos organismos e após o encerramento dos testes. O pH manteve-se na faixa de 7,5 a 7,8, a condutividade variou entre 160 e $173 \mu\text{S cm}^{-1}$ e o OD estava na faixa de $7,6$ a $8,3 \text{ mg L}^{-1}$.

Figura 19: Crescimento médio das partes aéreas e raiz de *E. sativa* L. nos testes feitos após tratamento com CAP, com 60 min de agitação e concentrações nominais de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil e $837,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D.

T1 – $400 \text{ mg CAP L}^{-1}$, T2 – $200 \text{ mg CAP L}^{-1}$; T3 – $100 \text{ mg CAP L}^{-1}$.



* : valores com diferenças estatísticas do controle ($p < 0,05$, teste de Kruskal-Wallis e Dunn)

Fonte: Elaboração própria.

Em comparação com os testes desenvolvidos de forma isolada (item 5.1.1), os efeitos ecotoxicológicos para *E. sativa* L. foram atribuídos principalmente à presença do 2,4-D em relação ao fipronil. Esse resultado está de acordo com o que foi observado por Ogura *et al.* (2022), que não identificaram efeitos ecotoxicológicos em *E. sativa* L. para concentrações de até $42,54 \mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil. Esse valor foi próximo ao encontrado no presente estudo, considerando que a concentração de fipronil no controle negativo (i.e., sem tratamento com CAP) de $42,20 \mu\text{g L}^{-1}$ foi próxima desse valor.

Em especial, os testes com *E. sativa* L. se apresentaram como um bom bioindicador do herbicida 2,4-D, uma vez que houve redução no crescimento das plântulas em T3- $100 \text{ mg CAP L}^{-1}$ mesmo com concentração de $7,61 \mu\text{g L}^{-1}$. No estudo de Freitas *et al.* (2021), efeitos de inibição de crescimento de *E. sativa* L. também foram observados em concentrações entre $8,5$ e $16,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Por outro lado, Ogura *et al.* (2022) identificaram efeitos de inibição da germinação e do crescimento das plântulas de *E. sativa* L. em concentrações acima de $303,5 \mu\text{g L}^{-1}$. Particularmente, esses autores indicaram que a vinhaça de cana-de-açúcar foi capaz de estimular a degradação do 2,4-D em experimentos de escala-piloto após 30 dias, sendo que

concentrações de $9,5 \mu\text{g L}^{-1}$ não causaram fitotoxicidade em *E. sativa* L. (i.e., germinação e crescimento similares ao controle). Ademais, Cenkci *et al.* (2010) observaram que concentrações entre $0,1$ a $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D inibiram o crescimento do feijão *Phaseolus vulgaris* L. Adicionalmente, o estudo de Özkul *et al.* (2016) obteve efeitos diferentes para plantas em contato com o 2,4-D, como citotoxicidade para a cebola *Allium cepa* para concentrações de $0,67$ a $4,02 \text{ mg L}^{-1}$ de 2,4-D. Por isso, é importante que uma avaliação ecotoxicológica mais abrangente seja feita com outros *endpoints*.

Os resultados apresentados também permitiram o cálculo da capacidade de adsorção do CAP - q (Tabela 5). Entretanto, valores superiores de q foram encontrados na literatura. Os valores de q para 2,4-D encontrados por Aksu e Kabasakal (2005), para 25°C , foram de $333,3 \text{ mg g}^{-1}$, para testes com concentração inicial de 100 a 600 mg L^{-1} . Todos os valores encontrados foram muito inferiores ao apontado no estudo desses autores, provavelmente por conta das diferenças de concentrações nominais de contaminante, indicando que após os tratamentos ainda há sítios ativos disponíveis no adsorvente e que as concentrações de CAP escolhidas foram suficientes para a remoção dos compostos sem atingir a capacidade máxima do tratamento. Por ser um teste em batelada, em geral, as eficiências são mais elevadas que de outros modelos, pois todos os sítios ativos do sorvente estão em contato com a água contaminada. Assim, essa diferença entre o valor de capacidade máxima de sorção do CAP e da capacidade de sorção do CAP nos tratamentos pode ser um bom indicativo para futuros estudos de tratamentos contínuos com CAP para a mistura de fipronil e 2,4-D.

Da mesma forma, Coelho e Rozário (2019) obtiveram valores similares de capacidade de adsorção ($7,4 \text{ mg g}^{-1}$) que T3 para tratamento de águas com presença de matéria orgânica em sistema de fluxo contínuo com carvão ativado granular para concentrações de 2,4-D de $7.089 \pm 104 \mu\text{g L}^{-1}$. Isso indica que o carvão ativado é capaz de remover agrotóxicos de águas mesmo em diferentes granulometrias. Ademais, Coelho *et al.* (2019) identificaram eficiências acima de 95% para remoção de 2,4-D da água destilada e filtrada através da aplicação de carvão ativado na forma em pó e granular. O carvão ativado granular no estudo de Pirsahab *et al.* (2013) também apresentou eficiência acima de 90% para remoção de 2,4-D em pH 6. Por outro lado, Cotillas *et al.* (2018) utilizaram processos eletroquímicos para remoção completa de 2,4-D em águas e solos. Contudo, os testes propostos na presente pesquisa apenas com CAP foram suficientes para mitigar os efeitos ecotoxicológicos.

Além do CAP, outros compostos podem ser utilizados como adsorventes para o tratamento de águas contaminadas por agrotóxicos. Por exemplo, o biocarvão pode ser produzido a partir de resíduos agrícolas, como palha, cascas e galhos (Ogura *et al.*, 2021). No

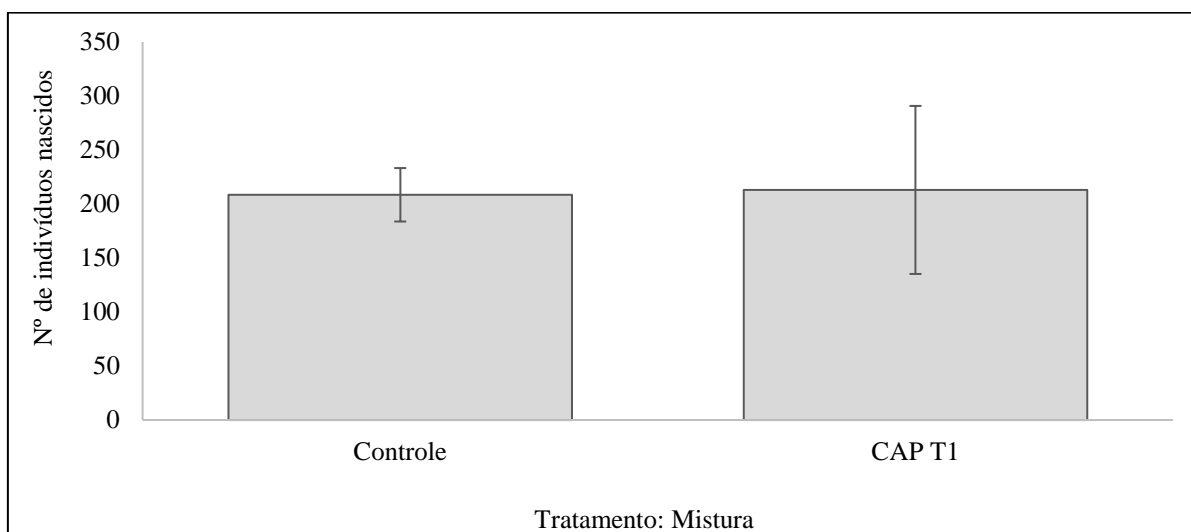
contexto do setor sucroenergético, o bagaço de cana-de-açúcar pode ser uma matriz interessante para produção do biocarvão. Nesse aspecto, Brito *et al.* (2020) indicaram o potencial do biocarvão produzido pelo bagaço de cana-de-açúcar com $547 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ de superfície específica na sorção de 2,4-D (153.9 mg g^{-1}).

Em relação aos valores norteadores definidos pela legislação brasileira, os três tratamentos obtiveram remoção de fipronil suficiente para estar dentro do padrão de potabilidade ($1,2 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil), definido pela Portaria GM/MS N° 888/ 2021. No que tange a remoção do 2,4-D, os três tratamentos também obtiveram eficiências suficientes para que a água se enquadrasse no padrão de potabilidade definido pela Portaria GM/MS N° 888/ 2021 de $30 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D. Os tratamentos T1 e T2 possibilitaram efluentes com concentrações de 2,4-D abaixo de $4,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, limite do contaminante para rios Classe definido na Resolução CONAMA n° 357/2005. Em síntese, o tratamento mais eficiente para remoção dos agrotóxicos fipronil, com concentração nominal de $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, e 2,4-D, com concentração nominal de $837,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, em mistura foi T2 - $200 \text{ mg CAP L}^{-1}$, com tempo de contato de 60 min.

5.4. Teste com *Enchytraeus crypticus*

O bioensaio com *Enchytraeus crypticus* foi feito para investigação de possíveis impactos gerados pela disposição incorreta do CAP contaminado em solo (Figura 20). De acordo com os resultados obtidos, não houve diferenças estatísticas de reprodução entre o controle e a amostra contaminada, indicando que não houve dessorção suficiente do contaminante durante os 28 dias de teste para impactar os organismos expostos. O resultado pode confirmar o valor de K_f encontrado por Vieira *et al.* (1998), que indica que o potencial de adsorção de 2,4-D pelo solo é quatro vezes maior que o potencial de dessorção, de forma que a forma mais estável é a que o agrotóxico está adsorvido ao sorvente. Porém, segundo Triques *et al.* (2021), essa não foi a espécie mais sensível aos agrotóxicos estudados. Esses autores identificaram que o colêmbolo *Folsomia candida* foi mais sensível ao fipronil, enquanto as plantas *Raphanus sativus* e *Allium cepa* foram mais sensíveis ao 2,4-D. Nesse estudo, os autores não observaram efeitos tóxicos significativos para os enquitreídeos até $10,4$ e $47,0 \text{ mg kg}^{-1}$, para fipronil e 2,4-D, respectivamente, utilizando solo artificial tropical. Assim, por motivos de segurança, recomenda-se a disposição final do CAP em aterro Classe I, por ser um resíduo potencialmente contaminado com agrotóxicos.

Figura 20: Valores de juvenis de *Enchytraeus crypticus* após 28 dias com amostra contaminada com CAP retido do tratamento T1: 400 mg CAP. L⁻¹, após contato durante 60 min com água contaminada com 100 µg L⁻¹ de fipronil e 837,5 µg L⁻¹ de 2,4-D.



* : valores com diferenças estatísticas do controle ($p < 0,05$, teste de Kruskal-Wallis e Dunn)

Fonte: Elaboração própria.

5.5.Considerações finais

Para os testes nos quais a quantificação química foi feita, as eficiências de remoção foram superiores a 90% na maioria dos compostos e, em alguns casos, o suficiente para estar abaixo do limite de quantificação. Isso pode sugerir que o tratamento foi satisfatório. Entretanto, quando foram feitos testes com organismos indicadores, houve ocorrência de efeitos ecotoxicológicos. Dessa forma, esses resultados reforçam a importância de estudos ecotoxicológicos para avaliação de impactos gerados por agrotóxicos. Portanto, essas análises podem contribuir para os valores orientadores vigentes na legislação brasileira. Por exemplo, o fipronil só possui valores limites para sua presença em legislações mais recentes (1,2 µg i.a. L⁻¹ pela Portaria GM/MS Nº 888/2021). Para o 2,4-D, os valores encontrados na legislação (30 µg i.a. L⁻¹ pelas Resoluções CONAMA nº 357/2005 396/2008 e pela Portaria GM/MS Nº 888/2021) não se mostraram adequados, pois os testes feitos com a espécie de horticultura (*E. sativa* L.) em águas dentro do padrão de potabilidade apresentaram efeitos no crescimento das plântulas, destacando-se a presença de raízes inchadas. Além disso, não existem padrões de emissão para esses compostos, nem padrões para a presença destes em escoamento superficial, permitindo que as substâncias cheguem aos corpos hídricos sem que haja monitoramento adequado do lançamento desses compostos.

Ao fim desse trabalho, pode-se sugerir propostas para futuras pesquisas, sendo elas:

- Estudos sobre a relação entre fipronil e 2,4-D com CAP e avaliar os processos associados à possível dessorção desses compostos;
- Desenvolvimento de ensaios ecotoxicológicos para avaliar a possível toxicidade do CAP nos organismos testados, dentre outras espécies;
- Determinação das concentrações de efeito para *Eruca sativa* L. e outras espécies de horticultura;
- Estabelecimento de padrões de qualidade dos agrotóxicos que garantam a segurança humana e do meio ambiente;
- Aplicação de tratamentos contínuos e em escala piloto (e.g., em filtros) com CAP para a mistura de fipronil e 2,4-D, dentre outros agrotóxicos.

Em resumo, os resultados obtidos para essa pesquisa sustentaram os tratamentos eficientes para águas contaminadas com fipronil isolado ($100 \mu\text{g L}^{-1}$), para águas contaminadas com 2,4-D isolado ($837,5 \mu\text{g L}^{-1}$) e para águas contaminadas com a mistura dos dois agrotóxicos (Figura 21).

Figura 21: Quadro síntese dos resultados da pesquisa.

Tratamento de águas contaminadas com fipronil com CAP		Tratamento de águas contaminadas com 2,4-D com CAP
0; 25; 50; 100; 200; 400 e 800 mg CAP L ⁻¹	Definição das dosagens de CAP	0; 100; 200; 400; 800; 1600 e 3200 mg CAP L ⁻¹
15, 30, 45 e 60 min	Verificação do tempo de agitação	15, 30 e 60 min
100 µg L ⁻¹ ; 500 µg L ⁻¹ ; 1.000 µg L ⁻¹	Análise das concentrações nominais de contaminante	83,75 µg L ⁻¹ ; 837,5 µg L ⁻¹ ; 8.375 µg L ⁻¹
200 mg CAP L ⁻¹ , 60 min de agitação	Definição das condições ótimas de tratamento isolado	200 mg CAP L ⁻¹ , 15 min de agitação
Tratamento de águas contaminadas com mistura de fipronil e 2,4-D com CAP		
Dosagens de CAP testadas		T1 - 400 mg CAP L ⁻¹ ; T2 - 200 mg CAP L ⁻¹ ; T3 - 100 mg CAP L ⁻¹ .
Tempo de agitação		60 min
Concentrações nominais dos contaminantes		100 µg L ⁻¹ de fipronil e 837,5 µg L ⁻¹ de 2,4-D
Definição das condições ótimas de tratamento em mistura		T2 – 200 mg CAP L ⁻¹ , com 60 min de agitação
Eficiências de remoção no tratamento otimizado		> 99% para fipronil e 2,4-D
Análise do potencial impacto da disposição de CAP contaminado em solo		Não observados efeitos

Fonte: Elaboração própria.

6. CONCLUSÕES

Com a expansão do cultivo de cana-de-açúcar, é necessário desenvolver tratamentos que mitiguem a contaminação de corpos hídricos por agrotóxicos, como o herbicida 2,4-D e o inseticida fipronil. Desse modo, a proposta dessa pesquisa foi encontrar uma forma de remediar águas contaminadas com fipronil e 2,4-D, individualmente e em mistura. Assim, o tratamento sugerido foi com a utilização do CAP como adsorvente, com agitação em mesa agitadora e filtração da água para separação do carvão. Para verificação do tratamento, foram feitos testes com organismos bioindicadores (i.e., *C. silvestrii* e *E. sativa* L.). A partir dos experimentos propostos foi possível encontrar os tratamentos mais eficientes com CAP para fipronil ($100 \mu\text{g L}^{-1}$) e 2,4-D ($837,5 \mu\text{g L}^{-1}$), isolados e em mistura, sendo eles:

- Fipronil isolado: $200 \text{ mg CAP L}^{-1}$, com tempo de agitação de 60 min;
- 2,4-D isolado: $200 \text{ mg CAP L}^{-1}$, com tempo de agitação de 15 min;
- Mistura de fipronil e 2,4-D: T2- $200 \text{ mg CAP L}^{-1}$, com tempo de agitação de 60 min.

Para o tratamento T2 (amostra com mistura) as eficiências de remoção dos ingredientes ativos foram superiores a 99%. Ademais, o presente estudo reforçou a importância das análises ecotoxicológicas para compreensão dos impactos gerados por agrotóxicos, com destaque para espécies nativas e/ou com importância ambiental, social ou econômica para o ecossistema foco do estudo. Também foi notada a ausência de valores de referência para esses contaminantes que garantam a segurança e funcionamento de ecossistemas contaminados por agrotóxicos. Assim, as pesquisas podem fornecer subsídios para a elaboração de políticas públicas e de tecnologias que mitiguem os impactos gerados por agrotóxicos.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 16387**: Qualidade do solo - efeitos de poluentes em *Enchytraeidae* (*Enchytraeus sp.*) – determinação de efeitos sobre reprodução e sobrevivência. Rio de Janeiro, 2012.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. . NBR 13373: Ecotoxicologia aquática — toxicidade crônica — método de ensaio com *Ceriodaphnia spp.* (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro, 2017.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **F43 - Fipronil**. Brasília, 2020a.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **D27 – 2,4-D**. Brasília, 2021b.
- AKSU, Z.; KABASAKAL, E. Adsorption characteristics of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) from aqueous solution on powdered activated carbon. **Journal of Environmental Science and Health**, Part B, v. 40, n. 4, p.545-570, July 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1081/pfc-200061533>.
- BHATTI, S. *et al.* Bioaccumulation, biotransformation and toxic effect of fipronil in *Escherichia coli*. **Chemosphere**, v. 231, p. 207-215, Sept. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.124>.
- BONMATIN, J.M. *et al.* Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 35–67, 2015. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3332-7> .
- BORDONAL, R. O. *et al.* Sustainability of sugarcane production in Brazil. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 38, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13593-018-0490-x> .
- BRASIL. **Lei nº 7802, de 11 de julho de 1989**. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L7802.htm. Acesso em: 07 set. 2021.
- BRASIL. Ato nº 1, de 09 de janeiro de 2019. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 jan. 2019. Seção 1, n. 7, p. 14-16.
- BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução nº 396, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 mar. 2005, n. 053, p. 58-63.

BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução nº 357, de 03 de abril de 2008. Dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 7 abr. 2008. Seção 1, n. 066, p. 64-68.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021. Altera o anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017, para dispor sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 7 maio 2021. Seção 1, n. 85, p. 127.

BRITO, G. M. *et al.* High-performance of activated biocarbon based on agricultural biomass waste applied for 2,4-D herbicide removing from water: adsorption, kinetic and thermodynamic assessments. **Journal of Environmental Science and Health. Part B. Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 55, p. 767 – 782, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1783178>.

BURNS, C. J.; SWAEN, G. M. H. Review of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) biomonitoring and epidemiology. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 42, n. 9, p. 768–786, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3483058/>. Acesso em: 07 set. 2021.

CENKCI, S. *et al.* Evaluation of 2,4-D and Dicamba genotoxicity in bean seedlings using comet and RAPD assays. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 7, p. 1558-1564, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.07.033>.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. Qualidade das águas interiores no Estado de São Paulo. Relatórios. São Paulo, 2017. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/publicacoes-e-relatorios/>. Acesso em: 07 set. 2021.

COELHO, E. R. C. C. *et al.* High-performance of activated biocarbon based on agricultural biomass waste applied for 2,4-D herbicide removing from water: adsorption, kinetic and thermodynamic assessments. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 55, n. 9, p. 767-782, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1783178>.

COELHO, E. R. C.; ROZÁRIO, A. Remoção do 2,4-D em amostras de águas pela adsorção em leitos fixos de carvão ativado granular em escala reduzida. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 24, n. 3, p.453-462, maio/jun. 2019. DOI: 10.1590/S1413-41522019182897.

CORBI, J. J. (Org.). **Indicadores biológicos de qualidade em ambientes aquáticos continentais: métricas e recortes para análises**. Belém: RFB, 2021. DOI: 10.46898/rfb.9786558891321.

CORTEZ, L. A. B. (Org.). **Proálcool 40 anos: universidades e empresas: 40 anos de ciência e tecnologia para o etanol brasileiro**. São Paulo: Blucher, 2018.

COTILLAS, S. *et al.* Removal of 2,4-D herbicide in soils using a combined process based on washing and adsorption electrochemically assisted. **Separation and Purification Technology**, v. 194, p. 19-25, 2018.

CREMONEZ, P. A. *et al.* Biodiesel production in Brazil: current scenario and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 42, p. 415-428, 2015.

CRUZ, C. H. B. *et al.* **Universidades e empresas: 40 anos de ciência e tecnologia para o etanol brasileiro**. São Paulo: Edgard Blucher, 2016.

DAAM, M. A. *et al.* Environmental risk assessment of pesticides in tropical terrestrial ecosystems: test procedures, current status and future perspectives. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 181, p.534-547, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.06.038>.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D. B.; VOLTAN, P. E. N. **Métodos e técnicas de tratamento e disposição dos resíduos gerados em estações de tratamento de água**. São Carlos: LDiBe, 2012.

FERREIRA FILHO, J. B. S.; HORRIDGE, M. Ethanol expansion and indirect land use change in Brazil. **Land Use Policy**, v. 36, p. 595–604, 2014.

FIGUEIRÊDO, L.P. *et al.* Impact of temperature on the toxicity of Kraft 36 EC[®] (a.s. abamectin) and Score 250 EC[®] (a.s. difenoconazole) to soil organisms under realistic environmental exposure scenarios. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 194, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110446>.

FORTI, J. C. *et al.* A Phytotoxicity assessment of the efficiency 2,4-D degradation by different oxidative processes. **Journal of Environmental Management**, v. 266, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110588>.

FREITAS, I. B. F. *et al.* **The Longitudinal profile of a stream contaminated with 2,4-D and its effects on non-target species**. [S.l.: s.n], 2021. Manuscript Draft, Archives of Environmental Contamination and Toxicology.

FREITAS, J. S. *et al.* Effects of 2,4-D-based herbicide (DMA[®] 806) on sensitivity, respiration rates, energy reserves and behavior of tadpoles. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 182, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109446>.

GOULART, B.V. *et al.* Matrix effect challenges to quantify 2,4-D and fipronil in aquatic systems. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08776-3>.

HOGARTH, J. R. Evolutionary models of sustainable economic change in Brazil: no-till agriculture, reduced deforestation and ethanol biofuels. **Environmental Innovation and Societal Transitions**, v. 24, p. 130-141, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eist.2016.08.001>.

HUA, S. *et al.* Remediation of organochlorine pesticides contaminated lake sediment using activated carbon and carbon nanotubes. **Chemosphere**, v. 177, p. 65–76, 2017.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos** – boletim 2019. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>. Acesso em: 6 out. 2021.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Séries históricas e estatísticas**. Uso de agrotóxicos – consumo nacional de agrotóxicos e afins por área plantada. Disponível em: <https://serieestatisticas.ibge.gov.br/series.aspx?vcodigo=IU18&t=uso-agrotoxicos-1-consumo-nacional-agrotoxicos>. Acesso em: 6 out. 2021.

ISLAM, F. *et al*. Potential impact of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on human and ecosystems. **Environment International**, v. 111, p. 332–351, 2018. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412017315313>. Acesso em: 07 set. 2021.

JONKER, M. J. *et al*. Significance testing of synergistic/antagonistic, dose level-dependent, or dose ratio-dependent effects in mixture dose-response analysis. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, n. 10, p. 2701–2713, 2005. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16268173>. Acesso em: 07 set. 2021.

KARAISSMAILOGLU, M. C. Assessments on the potential genotoxic effects of fipronil insecticide on *Allium cepa* somatic cells. **Caryologia**, v. 70, n. 4, p. 378–384, Oct. 2017. DOI: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00087114.2017.1371992> .

KIM, S. *et al*. PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. D1, p. D1388–D1395, Jan. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa971>.

KONWICK, B. J. *et al*. Acute enantioselective toxicity of fipronil and its desulfinyl photoproduct to *ceriodaphnia dubia*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, n. 9, p. 2350, Sept. 2005. DOI: <http://doi.wiley.com/10.1897/04-459R.1> .

LOZANO, V. L. *et al*. Effects of glyphosate and 2,4-D mixture on freshwater phytoplankton and periphyton communities: a microcosms approach. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 148 1010–1019, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2017.12.006> .

MARCHESAN, E. *et al*. Resíduos de agrotóxicos na água de rios da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 40, n. 5, p. 1053–1059, maio 2010. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782010000500009&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 07 set. 2021.

MARTIN, O. *et al*. Ten years of research on synergisms and antagonisms in chemical mixtures: a systematic review and quantitative reappraisal of mixture studies. **Environment International**, v. 146, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106206> .

MERINI, L. J. *et al*. Dissipation of 2,4-D in soils of the Humid Pampa region, Argentina: a microcosm study. **Chemosphere**, v. 68, n. 2, p. 259–265, June 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004565350700094X?via%3Dihub>. Acesso em: 07 set. 2021.

MOREIRA, R. A. *et al.* Exposure to environmental concentrations of fipronil and 2,4-D mixtures causes physiological, morphological and biochemical changes in *Raphidocelis subcapitata*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 206, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111180>.

MOREIRA, R. A. *et al.* Fipronil and 2,4-D effects on tropical fish: could avoidance response be explained by changes in swimming behavior and neurotransmission impairments? **Chemosphere**, v. 263, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127972>.

MOUTINHO, M. F. *et al.* Herbicides employed in sugarcane plantations have lethal and sublethal effects to larval *Boana pardalis* (Amphibia, Hylidae). **Ecotoxicology**, v. 29, p. 1043–1051, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10646-020-02226-z>.

NEWMAN, M.C. Fundamentals of ecotoxicology: the science of pollution. 5th. New York: CRC Press, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1201/9781351133999>.

OGURA, A. P. *et al.* A Review of pesticides sorption in biochar from maize, rice, and wheat residues: current status and challenges for soil application. **Journal of Environmental Management**, v. 300, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113753>.

OGURA, A. P. *et al.* **Effects in plant germination and initial growth due to irrigation with water from simulated contamination by sugarcane pesticides and vinasse**. [S.l.: s.n.]: 2022. Manuscript Draft, Archives of Environmental Contamination and Toxicology.

OKUMURA, F. *et al.* Electrochemical and quantum chemical investigations of the insecticide fipronil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, n. 5, p. 925-932, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20150347>.

ÖZKUL, M. *et al.* Does 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) induce genotoxic effects in tissue cultured *Allium* roots? **Cytotechnology**, v. 68, n. 6, p. 2395–2405, Dec. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10616-016-9956-3>.

ORDAZ-GUILLÉN, Y. *et al.* Evaluating the degradation of the herbicides picloram and 2,4-D in a compartmentalized reactive biobarrier with internal liquid recirculation. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 14, p. 8765-8773, Apr. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-014-2809-8>.

PINTO, T. J. S. *et al.* Functional responses of *Hyalella meinerti* after exposure to environmentally realistic concentrations of 2,4-D, fipronil, and vinasse (individually and in mixture). **Aquatic Toxicology**, v. 231, p. 105712, Feb. 2021a. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105712>.

PINTO, T. J. S. *et al.* Toxicity of fipronil and 2,4-D formulations (alone and in a mixture) to the tropical amphipod *Hyalella meinerti*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 38308–38321, 2021b. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13296-9>.

- PINTO, T. J. S. *et al.* Impact of 2,4-D and fipronil on the tropical midge *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 209, 2021c. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111778>.
- PIRSAHEB, M. *et al.* Removal of diazinon and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) from aqueous solutions by granular-activated carbon. **Desalination and Water Treatment**, v. 52, n.22-24, p. 4350-4355, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1080/19443994.2013.801787>.
- RAMYA, T.; ANBAZHAGI, M.; MUTHUKUMAR, M. Electrochemical oxidation of fipronil contaminated wastewater by RuO₂/IrO₂/TaO₂ coated titanium anodes and sorbent nano hydroxyapatite. **Materials Today: proceedings**, v. 3, n. 6, p. 2509-2517, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matpr.2016.04.169>.
- RODRIGUES, P.E.C. Produção da rúcula (*Eruca sativa L*) submetida a diferentes níveis de depleção e coberturas de solo. 2018. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós Graduação em RS, Santa Maria, 2018. Disponível em: <http://repositorio.ufsm.br/handle/1/15945>. Acesso em: 07 set. 2021.
- SAN MIGUEL, A. *et al.* Phenylpyrazoles impact on *Folsomia candida* (Collembola). **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 9, p. 2351–2357, Sept. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0038071708001697> . Acesso em: 07 set. 2021.
- SILVA, L. C. M. *et al.* Acute and chronic toxicity of 2,4-D and fipronil formulations (individually and in mixture) to the neotropical cladoceran *Ceriodaphnia silvestrii*. **Ecotoxicology**, v. 29, p. 1462-1475, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10646-020-02275-4>.
- SONG, Y. Insight into the mode of action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) as an herbicide. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 56, p. 106–113, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/jipb.12131>.
- STEHLE, S.; SCHULZ, R. Agricultural insecticides threaten surface waters at the global scale. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 18, p. 5750-5755, Apr. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1500232112>.
- TINGLE, C.C.D. *et al.* Fipronil: environmental fate, ecotoxicology, and human health concerns. In: WARE, G.W. (Ed.). **Reviews of environmental contamination and toxicology**. New York: Springer, 2003. v.176. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7283-5_1.
- TRIQUES, M.C. *et al.* Assessing single effects of sugarcane pesticides fipronil and 2,4-D on plants and soil organisms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 208, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111622>.
- UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA DE AÇÚCAR. **Unicadata**. 2020. Disponível em: <http://www.unicadata.com.br/index.php?idioma=1>. Acesso em: 07 set. 2021.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Ecological effects test guidelines, OPPTS 850.4200, seed germination/root elongation toxicity test.** Washington, 1996. (EPA 712-C-96-154).

VALADARES, A.; ALVES, F.; GALIZA, G. O Crescimento do uso de agrotóxicos: uma análise descritiva dos resultados de censo agropecuário 2017. Brasília: IPEA/ DISOC, 2020. (Nota Técnica, 65).

VIEIRA, E. M. *et al.* Estudo da adsorção/dessorção do ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4d) em solo na ausência e presença de matéria orgânica. **Química Nova**, v. 22, n. 3, p. 305-308, 1998. Disponível em: http://quimicanova.sbq.org.br/detalhe_artigo.asp?id=1994. Acesso em: 07 set. 2021.

WESTON, D. P.; LYDY, M. J. Toxicity of the insecticide fipronil and its degradates to benthic macroinvertebrates of urban streams. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 2, p. 1290–1297, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1021/es4045874>.

WILSON, W. A. *et al.* Enantioselective chronic toxicity of fipronil to ceriodaphnia dubia. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 54, n. 1, p. 36–43, Jan. 2008. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00244-007-9003-7>. Acesso em: 07 set. 2021.

APÊNDICE A – Tabelas de parâmetros: Condutividade, pH e OD.

Tabela 6: Faixa de valores de pH, condutividade, OD encontrados antes e depois do teste com *C. silvestrii* para tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentração nominal de 100 µg L⁻¹ de fipronil.

Tratamento com CAP (mg L ⁻¹)	Parâmetros iniciais			Parâmetros finais	
	Condutividade (µS cm ⁻¹)	pH	OD (mg L ⁻¹)	pH	OD (mg L ⁻¹)
Controle	152,9 a 154,8	7,07 a 7,29	7,12 a 7,18	7,14 a 7,68	7,08 a 7,31
800	166,5 a 169,3	7,40 a 7,76	6,98 a 7,20	7,56 a 7,71	7,11 a 7,33
400	160,3 a 169,1	7,37 a 7,80	6,98 a 7,25	7,55 a 7,76	7,09 a 7,35
200	155,2 a 160,3	6,96 a 7,79	6,97 a 7,22	7,52 a 7,78	7,12 a 7,31
100	149,9 a 157,7	6,84 a 7,76	6,95 a 7,28	7,45 a 7,79	7,15 a 7,31
50	144,4 a 157,0	6,57 a 7,72	6,90 a 7,26	7,42 a 7,79	7,14 a 7,34
25	153,0 a 158,8	6,44 a 7,67	6,99 a 7,26	7,35 a 7,78	7,08 a 7,30
0	152,9 a 159,1	7,22 a 7,65	6,99 a 7,28	7,32 a 7,78	7,10 a 7,35

Tabela 7: Faixa de valores de pH, condutividade, OD encontrados antes e depois do teste com *C. silvestrii* tratamentos com CAP, para o tempo de 15 min de agitação e concentração nominal de 100 µg L⁻¹ de fipronil

Tratamento com CAP (mg L ⁻¹)	Parâmetros iniciais			Parâmetros finais	
	Condutividade (µS cm ⁻¹)	pH	OD (mg L ⁻¹)	pH	OD (mg L ⁻¹)
Controle	154,8 a 163,3	7,07 a 7,69	7,18 a 7,93	7,45 a 7,74	7,31 a 7,66
800	166,9 a 171,1	7,60 a 7,86	7,20 a 7,75	7,71 a 7,82	7,33 a 7,71
400	160,3 a 171,1	7,66 a 7,88	7,25 a 7,78	7,76 a 7,82	7,35 a 7,61
200	158,6 a 170,8	7,59 a 7,78	7,22 a 7,76	7,78 a 7,79	7,31 a 7,65
100	156,5 a 163,2	7,51 a 7,79	7,28 a 7,77	7,77 a 7,78	7,31 a 7,59
50	155,3 a 165,0	7,53 a 7,68	7,23 a 7,74	7,76 a 7,79	7,34 a 7,67
25	153,5 a 165,2	7,52 a 7,67	7,26 a 7,75	7,77 a 7,78	7,30 a 7,60
0	157,6 a 165,5	7,32 a 7,67	7, 67a 7,79	7,77 a 7,78	7,29 a 7,65

Tabela 8: Faixa de valores de pH, condutividade, OD encontrados antes e depois do teste com *C. silvestrii* para tratamentos com CAP, para o tempo de 30 min de agitação e concentração nominal de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil

Tratamento com CAP (mg L^{-1})	Parâmetros iniciais			Parâmetros finais	
	Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	pH	OD (mg L^{-1})	pH	OD (mg L^{-1})
Controle	160,8 a 163,3	7,12 a 7,65	7,4 a 7,93	7,74 a 7,71	7,44 a 7,71
800	166,8 a 179,5	7,42 a 7,63	7,3 a 7,87	7,75 a 7,82	7,52 a 7,69
400	163,3 a 171,0	7,55 a 7,78	7,34 a 7,86	7,75 a 7,86	7,45 a 7,68
200	159,8 a 168,2	7,61 a 7,68	7,41 a 7,87	7,71 a 7,83	7,49 a 7,72
100	158,1 a 166,7	7,63 a 7,66	7,42 a 7,82	7,67 a 7,79	7,47 a 7,62
50	157,9 a 166,1	7,62 a 7,65	7,39 a 7,87	7,64 a 7,79	7,52 a 7,64
25	156,8 a 164,7	7,55 a 7,66	7,46 a 7,82	7,65 a 7,76	7,45 a 7,68
0	159,6 a 165,5	7,58 a 7,66	7,53 a 7,87	7,67 7,75	7,5 a 7,64

Tabela 9: Faixa de valores de pH, condutividade, OD encontrados antes e depois do teste com *C. silvestrii* para tratamentos com CAP, para o tempo de 45 min de agitação e concentração nominal de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil.

Tratamento com CAP (mg L^{-1})	Parâmetros iniciais			Parâmetros finais	
	Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	pH	OD (mg L^{-1})	pH	OD (mg L^{-1})
Controle	160,9 a 166,7	7,60 a 7,66	7,46 a 7,66	7,25 a 7,76	7,33 a 7,91
80	167,9 a 176,9	7,23 a 7,84	7,34 a 7,40	7,53 a 7,85	7,33 a 7,89
40	154,7 a 169,8	7,41 a 7,79	7,36 a 7,53	7,62 a 7,82	7,28 a 7,88
20	153,5 a 167,5	7,48 a 7,71	7,34 a 7,59	7,67 a 7,79	7,39 a 7,85
10	153,9 a 165,6	7,5 a 7,68	7,39 a 7,57	7,69 a 7,77	7,38 a 7,83
5	153,4 a 165,3	7,51 a 7,70	7,36 a 7,59	7,71 a 7,76	7,43 a 7,80
2,5	152,00 a 165,3	7,51 a 7,68	7,40 a 7,61	7,70 a 7,71	7,39 a 7,82
0	155,6 a 165,7	7,52 a 7,62	7,38 a 7,79	7,69 a 7,70	7,33 a 7,82

Tabela 10: Faixa de valores de pH, condutividade, OD encontrados antes e depois dos testes com *C. silvestrii* para os tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentrações nominais de 100, 500 e 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de fipronil.

Tratamento com CAP (mg L^{-1})	Concentração nominal de fipronil ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Parâmetros iniciais			Parâmetros finais	
		Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	pH	OD (mg L^{-1})	pH	OD (mg L^{-1})
Controle	0	161,5 a 162,4	6,90 a 7,54	7,26 a 7,82	7,21 a 7,77	7,25 a 7,55
800	100	166,1 a 175,8	7,48 a 7,89	7,06 a 7,72	7,55 a 7,86	7,24 a 8,28
400	100	165,2 a 172,2	7,54 a 7,87	7,03 a 7,67	7,61 a 7,85	7,21 a 7,61
200	100	161,1 a 167,8	7,56 a 7,81	7,17 a 7,78	7,68 a 7,83	7,21 a 8,25
0	100	161,7 a 166,2	7,57 a 7,68	7,12 a 7,83	7,68 a 7,79	7,22 a 8,20
800	500	170,7 a 174,3	7,72 a 7,90	7,09 a 7,67	7,64 a 7,86	7,24 a 8,23
400	500	165,0 a 169,7	7,73 a 7,88	7,07 a 7,65	7,65 a 7,82	7,19 a 8,19
200	500	161,8 a 168,1	7,70 a 7,86	7,10 a 7,65	7,65 a 7,82	7,22 a 8,07
0	500	163,6 a 172,2	7,67 a 7,77	7,43 a 7,80	7,64 a 7,79	7,23 a 8,24
800	1000	166,5 a 169,4	7,67 a 7,81	7,06 a 7,63	7,63 a 7,83	7,20 a 8,13
400	1000	164,4 a 166,8	7,67 a 7,81	7,10 a 7,64	7,65 a 7,83	7,24 a 8,25
200	1000	161,7 a 167,6	7,66 a 7,81	7,11 a 7,64	7,63 a 7,81	7,18 a 8,15
0	1000	165,5 a 165,8	7,59 a 7,73	7,20 a 7,77	7,63 a 7,81	7,18 a 7,55

Tabela 11: Faixa de valores de pH e condutividade encontrados antes do teste com *E. sativa* L. para os tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentração nominal de 8375 $\mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D.

Tratamento com CAP (mg L^{-1})	pH	Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)
Controle	6,12 a 7,00	5,70 a 13,6
3200	7,36 a 9,07	44,8 a 54,8
1600	6,57 a 8,75	31,40 a 36,00
800	3,17 a 7,80	20,60 a 82,80
400	5,20 a 7,08	14,00 a 17,50
200	2,83 a 6,68	10,40 a 35,40
100	3,30 a 6,41	6,60 a 17,90
0	3,79 a 5,18	5,40 a 6,00

Tabela 12: Faixa de valores de pH e condutividade encontrados antes do teste com *E. sativa* L. para tratamento com CAP, para o tempo de 15 min de agitação e concentração nominal de 8375 mg L⁻¹ de 2,4-D.

Tratamento com CAP (mg L⁻¹)	pH	Condutividade (µS cm⁻¹)
Controle	6,18 a 7,00	7,83 a 13,60
3200	8,19 a 9,30	47,00 a 51,80
1600	8,37 a 9,00	29,50 a 33,00
800	8,03 a 8,48	18,90 a 20,50
400	7,27 a 8,06	10,20 a 14,40
200	6,72 a 7,81	9,00 a 9,90
100	6,64 a 7,66	6,10 a 7,70
0	5,55 a 7,08	4,90 a 6,10

Tabela 13: Faixa de valores de pH e condutividade encontrados antes do teste com *E. sativa* L. para tratamento com CAP, para o tempo de 30 min de agitação e concentração nominal de 8375 mg L⁻¹ de 2,4-D.

Tratamento com CAP (mg L⁻¹)	pH	Condutividade (µS cm⁻¹)
Controle	6,12 a 6,89	5,7 a 10,4
3200	8,88 a 9,4	32,2 a 51,8
1600	8,10 a 8,96	30,7 a 51,0
800	7,74 a 7,79	21,1 a 22,0
400	6,94 a 7,28	13,5 a 14,3
200	6,50 a 6,96	9,6 a 13,0
100	5,36 a 6,85	9,4 a 9,8
0	5,27 a 5,47	5,0 a 5,9

Tabela 14: Faixa de valores de pH e condutividade encontrados antes do teste com *E. sativa* L. para tratamentos com CAP, com 60 min de agitação e concentrações nominais de 83,75; 837,5 e 8375 $\mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D.

Tratamento com CAP (mg L⁻¹)	Concentração nominal de 2,4-D ($\mu\text{g L}^{-1}$)	pH	Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)
Controle	0	6,43 a 7,28	6,0 a 8,1
800	83,75	6,26 a 7,54	17,3 a 28,1
400	83,75	6,33 a 7,28	11,8 a 15,6
200	83,75	6,65 a 7,08	6,7 a 10,9
0	83,75	6,42 a 6,51	1,7 a 4,3
800	837,5	6,5 a 7,35	18,3 a 24,9
400	837,5	6,81 a 7,15	11,3 a 16,3
200	837,5	6,86 a 6,96	7,5 a 12,0
0	837,5	6,87 a 6,90	2,4 a 3,4
800	8375	7,07 a 7,72	21,4 a 24,0
400	8375	7,27 a 7,37	13,8 a 17,4
200	8375	7,35 a 7,18	10,1 a 13,9
0	8375	6,51 a 6,93	3,1 a 5,6

Fonte: Elaboração própria.