



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Ana Sofia Serra Azul

BIOMONITORIZAÇÃO DE GLIFOSATO EM URINA NUMA  
POPULAÇÃO DO BAIXO MONDEGO

Dissertação no âmbito do Mestrado em Segurança Alimentar orientada  
pela Professora Doutora Angelina Lopes Simões Pena, coorientada  
pela Professora Doutora Sara Cristina da Silva Cunha e apresentada  
à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Outubro de 2021



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Ana Sofia Serra Azul

# **BIOMONITORIZAÇÃO DE GLIFOSATO EM URINA NUMA POPULAÇÃO DO BAIXO MONDEGO**

Dissertação no âmbito do Mestrado em Segurança Alimentar orientada pela Professora Doutora Angelina Lopes Simões Pena, coorientada pela Professora Doutora Sara Cristina da Silva Cunha e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Outubro de 2021



## **Agradecimentos**

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, a todos os docentes envolvidos na transmissão do conhecimento científico e a todo o pessoal não docente que contribuiu para o desenvolvimento do Mestrado em Segurança Alimentar.

À Professora Doutora Angelina Pena, por me ter acolhido neste estudo de investigação, por todas as sugestões e conhecimentos que me transmitiu, e pela disponibilização de todos os recursos necessários para o desenvolvimento deste projeto.

À Professora Doutora Sara Cunha, por ter aceitado ser coorientadora deste projeto e ter contribuído na execução da análise laboratorial, assim como, no fornecimento de sugestões para a elaboração deste trabalho.

À Professora Doutora Liliana Silva e à colega Célia Laranjeiro, pelo apoio, tempo, paciência e perseverança, disponibilizados durante a execução inicial das atividades laboratoriais e em todos os ensinamentos transmitidos.

Ao Professor Doutor André Pereira e à Professora Doutora Sofia Duarte pela colaboração na análise estatística e avaliação de risco dos resultados obtidos nesta investigação.

A todos os colegas que frequentaram este mestrado, pela amizade, entreaajuda e conhecimentos demonstrados.

A todas as pessoas que se prontificaram desde o início, em participar neste estudo de investigação e que me acolheram, mesmo em horários tardios.

À equipa de Saúde Pública do Agrupamento de Centros de Saúde Aveiro Norte, pelo apoio e força prestados ao longo deste percurso.

Por último, mas não menos importante, quero agradecer e dedicar este trabalho à minha família, especialmente aos meus pais, Ana Serra e António Azul e à minha irmã Guidinha, pela amizade, amor e carinho nesta fase da vida académica, sem o qual não teria sido possível concretizar este projeto. Foram o meu “porto de abrigo”, no qual me incentivaram a nunca desistir, mesmo nos momentos de maior fraqueza e ansiedade.

À ti, Coimbra, “cidade do conhecimento e dos estudantes” que me acolheu durante todo o percurso da minha vida académica.

A todos os demais que estiveram presentes ao longo desta “viagem”, o meu sincero agradecimento.

“Coimbra tem mais encanto

Na hora da despedida.

E as lágrimas do meu pranto

São a luz que lhe dá a vida.

Quem me dera estar contente,

Enganar a minha dor,

Mas a saudade não mente,

Se é verdadeiro o amor.”

**(Fernando Machado Soares)**

# ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	7
ÍNDICE DE TABELAS.....	7
ÍNDICE DE EQUAÇÕES.....	8
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	9
RESUMO .....	13
ABSTRACT .....	15
1. INTRODUÇÃO.....	17
2. PESTICIDAS.....	19
2.1. Classificação de pesticidas .....	20
3. O ARROZ NO BAIXO MONDEGO.....	23
3.1. O ciclo vegetativo do arroz .....	24
3.2. As espécies infestantes do arroz.....	25
3.3. Herbicidas utilizados na cultura orizícola .....	26
3.4. Certificação da qualidade do “Arroz Carolino do Baixo Mondego” .....	27
4. A SEGURANÇA ALIMENTAR E A ANÁLISE DO RISCO.....	28
5. UTILIZAÇÃO DE HERBICIDAS À BASE DE GLIFOSATO .....	30
5.1. No Mundo.....	30
5.2. Na Europa .....	31
5.3. Em Portugal .....	33
6. ENQUADRAMENTO LEGAL.....	34
7. HBG: CARACTERÍSTICAS GERAIS.....	36
7.1. Espectro de ação .....	36
7.2. Seletividade.....	36
7.3. Formulações à base de glifosato.....	36
7.4. Época de aplicação.....	36
7.5. Mobilidade na planta .....	36
7.6. Mecanismo de ação .....	37
8. GLIFOSATO: CARACTERÍSTICAS FÍSICO – QUÍMICAS.....	39
9. TOXICOCINÉTICA DO GLIFOSATO NO HOMEM.....	40
9.1. Absorção.....	40
9.1.1. Vias de exposição e indivíduos vulneráveis.....	40
9.1.1.1. Via oral .....	40
9.1.1.2. Via cutânea.....	41
9.1.1.3. Via respiratória .....	42
9.2. Distribuição.....	42
9.3. Biotransformação/Metabolismo .....	42
9.4. Excreção.....	43
10. EFEITOS NA SAÚDE HUMANA: TOXICODINÂMICA .....	44
10.1. Toxicidade aguda.....	45
10.2. Toxicidade crónica .....	46
10.2.1. Hepatotoxicidade e nefrotoxicidade.....	46
10.2.2. Problemas respiratórios.....	46
10.2.3. Problemas cardiovasculares.....	47
10.2.4. Carcinogenicidade e genotoxicidade .....	47
10.2.5. Neurotoxicidade .....	48

10.2.6.	Desregulação endócrina.....	49
10.2.7.	Toxicidade reprodutiva.....	49
10.2.8.	Teratogenicidade .....	50
11.	OCORRÊNCIA DE GLIFOSATO EM ALIMENTOS.....	51
11.1.	Avaliação da exposição.....	54
11.1.1.	Ingestão Diária Aceitável.....	54
12.	COMPORTEAMENTO E DESTINO DO GLIFOSATO NO AMBIENTE.....	56
12.1.	No solo.....	56
12.2.	Na água.....	57
12.3.	No ar .....	57
13.	EFEITOS NO MEIO AMBIENTE.....	57
14.	CUIDADOS NA MANIPULAÇÃO E APLICAÇÃO DE PRODUTOS FITOFARMACÊUTICOS	
	60	
15.	PROCESSO DE RENOVAÇÃO DO GLIFOSATO.....	61
16.	BIOMONITORIZAÇÃO HUMANA .....	62
16.1.	Estudos de Biomonitorização Humana.....	64
17.	A PROTEÇÃO INTEGRADA .....	69
18.	CAMPANHA “AUTARQUIAS SEM GLIFOSATO/HERBICIDAS” .....	71
19.	PARTE EXPERIMENTAL.....	72
19.1.	Objetivos do estudo.....	72
19.2.	Amostragem.....	73
19.3.	Materiais utilizados .....	73
19.3.1.	Padrões e reagentes.....	73
19.3.2.	Material/Equipamentos laboratoriais .....	74
19.4.	Metodologia analítica.....	74
19.4.1.	Preparação das amostras .....	74
19.4.2.	Análise por GC - MS/MS.....	74
19.4.3.	Validação da metodologia analítica .....	75
19.5.	Avaliação de risco.....	76
19.6.	Metodologia estatística .....	77
20.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	77
20.1.	Caracterização da amostra .....	77
20.2.	Parâmetros de validação.....	79
20.2.1.	Linearidade .....	79
20.2.2.	Limites de detecção e quantificação.....	80
20.3.	Deteção e quantificação de glifosato e AMPA nas amostras de urina .....	80
20.4.	Ingestão diária provável (PDI) e avaliação de risco.....	89
21.	CONCLUSÃO.....	91
22.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93
23.	ANEXOS.....	111
	Anexo 1 - Termo de consentimento informado.....	111
	Anexo 2 - Questionário “Biomonitorização de Agroquímicos e Micotoxinas”.....	113

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 - Principais aplicações dos pesticidas <sup>(9)</sup> .....	19
FIGURA 2 - Utilização média de produtos fitofarmacêuticos, por área de cultivo <sup>(2)</sup> .....	19
FIGURA 3- Venda de produtos fitofarmacêuticos, por tipo de função <sup>(6)</sup> .....	20
FIGURA 4 - Produção de arroz em Portugal <sup>(2)</sup> .....	23
FIGURA 5 - Principais etapas fenológicas do arroz e sua duração aproximada (dias) <sup>(3)</sup> .....	24
FIGURA 6 - Espécies infestantes do ecossistema orizícola.....	25
FIGURA 7 - <i>Oryza sativa</i> - Arroz bravo <sup>(1)</sup> .....	26
FIGURA 8 - <i>Cyperus difformis</i> - Negrinha <sup>(1)</sup> .....	26
FIGURA 9 - <i>Heteranthera limosa</i> - falsa-alisma <sup>(1)</sup> .....	26
FIGURA 10 - <i>Alisma plantago-aquatica</i> - orelha - de - mula <sup>(1)</sup> .....	26
FIGURA 11 - <i>Ammannia coccínea</i> - carapau <sup>(1)</sup> .....	26
FIGURA 12 - <i>Polygonum persicária</i> – erva - pessegueira <sup>(1)</sup> .....	26
FIGURA 13 - Marca de certificação do Arroz Carolino do Baixo Mondego <sup>(20)</sup> .....	27
FIGURA 14 - Componentes da análise do risco.....	29
FIGURA 15 - Aplicações dos HBG.....	30
FIGURA 16 - Uso médio estimado de glifosato, por hectare, na agricultura convencional, em 2017 <sup>(52)</sup> .....	32
FIGURA 17 - Legislação aplicável.....	35
FIGURA 18 - Via metabólica do chiquimato <sup>(2)</sup> .....	38
FIGURA 19 - Estrutura química do glifosato <sup>(3)</sup> .....	39
FIGURA 20 - Principais vias de exposição.....	40
FIGURA 21 - Vias metabólicas do glifosato.....	43
FIGURA 22 - Vias de poluição ambiental do glifosato <sup>(2)</sup> .....	58
FIGURA 23 - Monitorização ambiental e BHM.....	63
FIGURA 24 - Mapa das autarquias subscritoras <sup>(1)</sup> .....	71
FIGURA 25 - Curva de calibração do glifosato na matriz.....	79
FIGURA 26 - Curva de calibração do AMPA na matriz.....	79

## ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 - Classificação de pesticidas baseada na natureza química <sup>(23)</sup> .....	22
TABELA 2 - Classificação de pesticidas baseada na espécie-alvo <sup>(24)</sup> .....	22
TABELA 3 - Classificação de pesticidas baseada na toxicidade <sup>(25)</sup> .....	22
TABELA 4 - Exemplos de herbicidas autorizados pela DGAV na cultura do arroz <sup>(33)</sup> .....	27
TABELA 5 - Perigos de origem alimentar <sup>(38)</sup> .....	28
TABELA 6 - Consumo anual de glifosato, entre 1994 e 2014 <sup>(8)</sup> .....	31
TABELA 7 - Vendas de glifosato (toneladas) em alguns países da Europa, entre 2013 e 2017 <sup>(49)</sup> .....	31
TABELA 8 - Uso de glifosato por cultura <sup>(49)</sup> .....	33
TABELA 9 - Quantidades de glifosato aplicadas e áreas tratadas por cultura (2012 e 2013) <sup>(50)</sup> .....	34
TABELA 10 - Propriedades físicas e químicas do glifosato <sup>(69)</sup> .....	39
TABELA 11 - Estudos populacionais para avaliar a associação da aplicação de HBG e os efeitos na saúde.....	50
TABELA 12 - Limites máximos de resíduos referentes ao glifosato em diversos alimentos <sup>(72)</sup> .....	51

TABELA 13 - Ocorrência de glifosato em várias matrizes alimentares. ....	53
TABELA 14 - Avaliação da exposição crônica de adultos e crianças ao glifosato, AMPA e POEA <sup>(39)</sup> ..	55
TABELA 15 - Estudos sobre os efeitos no ambiente <sup>(55)</sup> . ....	59
TABELA 16 - Estudos de biomonitorização humana <sup>(12)</sup> . ....	66
TABELA 17 - Dados antropométricos e sociodemográficos. ....	77
TABELA 18 - Estado de saúde geral. ....	78
TABELA 19 - Aplicação de pesticidas. ....	78
TABELA 20 - Resultados da validação analítica para o glifosato e respectivo metabolito em amostras de urina fortificadas. ....	80
TABELA 21 - Ocorrência de glifosato e AMPA em amostras de urina no inverno e no verão. ....	85
TABELA 22 - Caracterização das amostras positivas (> LOD e > LOQ). ....	87
TABELA 23 - Cálculo do melhor, médio e pior cenário possível para cada categoria de género, estação do ano e tipologia de exposição com base no peso médio de cada categoria. ....	90

## ÍNDICE DE EQUAÇÕES

EQUAÇÃO 1 - Cálculo da ingestão diária provável. ....	76
EQUAÇÃO 2 - Cálculo da % ADI. ....	76

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

**ACN** - Acetonitrilo

**ADI** - Ingestão Diária Aceitável (do inglês, *Acceptable Daily Intake*)

**ADN** - Ácido Desoxirribonucleico (do inglês, *Deoxyribonucleic Acid*)

**AMPA** - Ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4- isoxazolpropiónico

**ATSDR** - Agência para o Registo de Substâncias Tóxicas e Doenças dos Estados Unidos da América

**BfR** - Instituto Federal de Avaliação de Risco Alemão (do inglês, *Federal Institute for Risk Assessment*)

**BHM** - Biomonitorização Humana

**CE** - Comissão Europeia

**CL<sub>50</sub>** - Concentração Letal para 50% da população

**DE** - Desregulador endócrino

**DGAV** - Direção Geral de Alimentação e Veterinária

**DL<sub>50</sub>** - Dose Letal para 50% da população

**ECHA** - European Chemicals Agency (Agência Europeia das Substâncias Químicas)

**EFSA** - European Food Safety Authority (Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar)

**ELISA** - Ensaio de Imunoabsorção Enzimática

**ENDURE** - Rede Europeia para a gestão integrada de pragas e proteção de culturas agrícolas

**EPA** - Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

**EPI** - Equipamento de Proteção Individual

**EPSPS** - 5 - enolpiruvilchiquimato - 3 - fosfato sintase

**EUVG** - Escola Universitária Vasco da Gama

**FAO** - Food and Agriculture Organization (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura)

**FBG** - Formulações à Base de Glifosato

**FI** - Fator de Incerteza

**GAG** - Grupo de Avaliação do Glifosato

**GC** - Cromatografia Gasosa

**GC - MS** - Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massa

**GC - MS - MS** - Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa em *tandem*

**GGT** - Gama Glutamil Transferase

**GRC** - Grupo de Renovação do Glifosato

**HBG** - Herbicida à Base de Glifosato

**HBM4EU** - Iniciativa Europeia de Biomonitorização Humana

**HPLC** - Cromatografia Líquida de Elevada Eficiência

**HPLC - MS** - Cromatografia Líquida de Elevada Eficiência acoplada a Espectrometria de Massa

**HPLC - MS - MS** - Cromatografia Líquida de Elevada Eficiência acoplada a Espectrometria de Massa em *tandem*

**HTA** - Hipertensão arterial

**i.a** - Ingrediente ativo

**IARC** - International Agency for Research on Cancer (Agência Internacional de Pesquisa em Cancro)

**IGP** - Indicação Geográfica Protegida

**INE** - Instituto Nacional de Estatística

**IS** - Intervalo de Segurança

**IUPAC** - União Internacional de Química Pura e Aplicada

**LC** - Cromatografia Líquida

**LC - MS** - Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa

**LC - MS - MS** - Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa

**LMR** - Limite Máximo de Resíduos

**LNH** - Linfoma não-Hodgkin

**LOD** - Limite de deteção

**LOQ** - Limite de quantificação

**MOE** - Margem de exposição

**NOAEL** - Nível Sem Efeitos Adversos Observáveis

**NR** - Não Reportado

**OMS** - Organização Mundial da Saúde

**PDI** - Ingestão Diária Provável

**PNCRPPOV** - Plano Nacional de Controlo de Resíduos de Pesticidas em Produtos de Origem Vegetal

**POEA** - Polioxietilenamida

**QUERQUS** - Associação Nacional de Conservação da Natureza

**R<sup>2</sup>** - Coeficiente de determinação/correlação

**RAC** - Comité de Avaliação de Riscos

**RASFF** - Sistema de Alerta Rápido para Alimentos e Rações

**TDAH** - Transtorno do déficite de atenção/hiperatividade

**TSH** - Hormona Estimuladora da Tiróide

**UE** - União Europeia



## RESUMO

Atualmente o ser humano encontra-se exposto a diversos produtos fitofarmacêuticos. Nas últimas décadas, tem-se verificado um rápido crescimento na utilização de herbicidas a nível mundial, destacando-se o glifosato. Devido à sua frequente utilização, o glifosato é amplamente distribuído no ambiente, tendo surgido algumas preocupações e controvérsias relacionadas com os potenciais efeitos adversos na saúde humana e ambiental.

O objetivo deste estudo foi avaliar a exposição de indivíduos adultos residentes no distrito de Coimbra, designadamente nas zonas de Maiorca, Alhadãs e Montemor - o - Velho, ao glifosato e ao seu metabolito, o ácido aminometilfosfónico (AMPA).

A amostragem abrangeu 74 amostras de urina da população em estudo, 37 obtidas durante o inverno e 37 amostras no verão. Os participantes deste estudo preencheram um questionário sobre as suas características socioeconómicas e alimentares. O glifosato e o seu metabolito foram analisados através do método de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa *tandem* (GC - MS - MS). O limite de deteção (LOD), estimado através das curvas de calibração, foi de 0,079 e 0,197 µg/L para o glifosato e AMPA, respetivamente. O limite de quantificação (LOQ) foi de 0,239 e 0,596 µg/L para o glifosato e AMPA, respetivamente.

Na primeira fase do estudo (inverno), 22 das amostras (59,46%) apresentavam níveis detetáveis de glifosato, 15 amostras continham teores superiores ao LOD ( $0,95 \pm 3,01$  µg/L) e 7 tinham teores acima do LOQ ( $2,72 \pm 3,01$  µg/L). Os valores mínimo e máximo obtidos estavam compreendidos entre 0,12 e 8,74 µg/L, respetivamente. O AMPA foi detetado em 23 das amostras (62,16%), 22 amostras apresentavam níveis superiores ao LOD ( $0,50 \pm 3,01$  µg/L) e apenas 1 amostra possuía uma concentração superior ao LOQ ( $4,83 \pm 3,01$  µg/L). Foram encontradas concentrações mínimas e máximas de 0,30 µg/L e 4,83 µg/L.

No verão, foram identificadas 23 amostras (62,16%) contaminadas com glifosato, 19 com teores acima do LOD ( $0,30 \pm 1,57$  µg/L) e 4 com níveis superiores ao LOQ ( $1,14 \pm 1,57$  µg/L). Os valores obtidos estavam compreendidos entre 0,12 e 3,50 µg/L, respetivamente. Quanto ao seu metabolito, 23 das amostras (62,16%) continham teores superiores ao LOD ( $0,30 \pm 1,57$  µg/L), mas nenhuma amostra se encontrava acima do LOQ. A concentração máxima obtida foi de 0,30 µg/L.

Em suma, conclui-se que a população adulta residente nestas freguesias estava exposta ao glifosato. Todavia, face aos resultados obtidos determinou-se que não existia um risco elevado para a saúde pública destes indivíduos.

**Palavras- chave:** Ambiente; Cromatografia; Glifosato; Pesticidas; Saúde Pública

## ABSTRACT

Nowadays, the human being is exposed to several phytopharmaceutical products. On the last decades, it has been verified a fast growing in using herbicides at a world level, highlighting the glyphosate. Due to its frequent use, glyphosate is wide distributed in the environment, having arisen some worries and controversies related with potencial adverse effects in human and environmental health.

The main goal of this study was to evaluate the exposition of adult individuals resident at Coimbra district, especially in the areas of Maiorca, Alhadas and Montemor - o - Velho, to the glyphosate and to its metabolite, the aminomethylphosphonic acid (AMPA).

The sampling covered 74 samples of urine from the studied population, 37 of them obtained during the winter and 37 of them obtained during the summer. The participants of this study have filled a questionnaire about their socioeconomic and food characteristics. The glyphosate and its metabolite were analysed through the gas chromatography method coupled to the tandem mass spectrometry (GC - MS - MS). The detection limit (LOD), estimated through the calibration curves, was 0.079 and 0.197  $\mu\text{g/L}$  for the glyphosate and AMPA, respectively. The limit of quantification (LOQ) was 0.239 and 0.596  $\mu\text{g/L}$  for the glyphosate and AMPA, respectively.

In the first phase of the study (winter), 22 of the samples (59.46%) showed detectable levels of glyphosate, 15 samples contained higher contents to the LOD ( $0.95 \pm 3.01 \mu\text{g/L}$ ) and 7 had contents above the LOQ ( $2.72 \pm 3.01 \mu\text{g/L}$ ). The minimum and maximum values obtained were comprised between 0.12 and 8.74  $\mu\text{g/L}$ , respectively. The AMPA was detected in 23 of the samples (62.16%), 22 samples had higher levels to the LOD ( $0.50 \pm 3.01 \mu\text{g/L}$ ) and only 1 sample had higher levels to the LOQ ( $4.83 \pm 3.01 \mu\text{g/L}$ ). Minimum and maximum concentrations of 0.30  $\mu\text{g/L}$  and 4.83  $\mu\text{g/L}$  were found.

In the summer, 23 samples were identified (62.16%) contaminated with glyphosate, 19 with contents above the LOD ( $0.30 \pm 1.57 \mu\text{g/L}$ ) and 4 with contents above the LOQ ( $1.14 \pm 1.57 \mu\text{g/L}$ ). The values obtained were comprised between 0.12 e 3.50  $\mu\text{g/L}$ , respectively. Concerning its metabolite, 23 of the samples (62.16%) had contents above the LOD ( $0.30 \pm 1.57 \mu\text{g/L}$ ), but no sample was above the LOQ. The maximum concentration obtained was 0.30  $\mu\text{g/L}$ .

In short, it is concluded that the resident adult population in these areas was exposed to glyphosate. However, face to the results obtained, it was determined that there was no high risk for the public health of these individuals.

**Keywords:** Chromatography; Environment; Glyphosate; Pesticides; Public Health.

## I. INTRODUÇÃO

Atualmente o ser humano encontra-se exposto a diversos produtos fitofarmacêuticos, quer diretamente durante a sua produção e aplicação, quer indiretamente através da contaminação dos diferentes meios abióticos e dos alimentos<sup>(1)</sup>. Estes produtos químicos são intencionalmente aplicados nas culturas com a finalidade de prevenir, controlar ou eliminar diversas pragas e/ou infestantes<sup>(2)</sup>.

Nas últimas décadas, tem-se verificado um rápido crescimento na utilização de herbicidas a nível mundial. Estas substâncias permitem controlar e/ou eliminar várias espécies vegetais não desejáveis, interferindo nas funções metabólicas e na transferência de energia nas células das plantas. Para além da sua ampla utilização no setor agrícola, os herbicidas são usados em atividades domésticas, jardins, silvicultura e em zonas urbanas<sup>(3)</sup>.

O glifosato foi descoberto em 1950, por um químico suíço, Henri Martin, mas foi em 1970, que John Franz, um químico da empresa multinacional Monsanto, constatou que esta substância possuía uma função herbicida. Em 1974, foi licenciado no mercado o primeiro herbicida à base de glifosato (HBG), com o nome comercial de *Roundup*<sup>®(4-6)</sup>.

Devido à sua frequente utilização a nível mundial, sobretudo o *Roundup*<sup>®(7)</sup>, o glifosato encontra-se amplamente distribuído no ambiente, tendo surgido algumas preocupações e controvérsias relacionadas com os potenciais efeitos adversos na saúde humana. Esta contaminação é bastante preocupante, dada a sua toxicidade e ampla aplicação na produção alimentar, constituindo um importante problema de saúde pública<sup>(8)</sup>.

A deteção de resíduos no ambiente, nos géneros alimentícios e nos líquidos biológicos, tem suscitado grande preocupação junto das autoridades competentes a nível internacional. Face ao exposto, foram estabelecidos teores máximos destes contaminantes nos diferentes géneros alimentícios, através de vários regulamentos emanados pela União Europeia (UE), nomeadamente o Regulamento n.º 396/2005, do Parlamento Europeu e do Conselho, que tem sido modificado ao longo dos anos<sup>(9)</sup>.

Com o objetivo primordial de salvaguardar a saúde pública, urge a necessidade de avaliar o risco de exposição ao glifosato na população, através dos resultados de estudos de biomonitorização humana do glifosato e do seu metabolito primário, o AMPA, em fluidos biológicos, como a urina<sup>(10-12)</sup>.

A região do Baixo Mondego é caracterizada pela produção agrícola de arroz carolino, onde são aplicados vários herbicidas<sup>(13)</sup>.

Assim, pretendeu-se avaliar a exposição de indivíduos adultos residentes nesta região, designadamente nas zonas de Maiorca, Alhadas e Montemor - o - Velho, ao glifosato e ao seu metabolito. Esta avaliação foi realizada através da análise da urina da população residente, por GC - MS - MS. Os resultados obtidos foram complementados e analisados com as respostas de um inquérito socioeconómico e alimentar, de modo a inferir os potenciais fatores de risco.

Em suma, esta tese, pretende por um lado, avaliar a exposição da população da região do Baixo Mondego ao glifosato e, por outro, constituir um suporte científico que permita a implementação de medidas de prevenção da exposição ao glifosato e de mitigação dos riscos associados, tendo em vista, a proteção da saúde pública.

## 2. PESTICIDAS

Os pesticidas ou produtos fitofarmacêuticos são substâncias ou mistura de substâncias que têm como principal objetivo, prevenir, destruir ou controlar diferentes pragas (ex.: insetos, fungos, roedores) e infestantes que causem danos numa determinada cultura, promovendo um aumento da disponibilidade de géneros alimentícios a preços acessíveis. Para além da agricultura, os pesticidas podem apresentar outras aplicações (Figura 1), tais como: proteção da saúde pública; manutenção de jardins/paisagismo; proteção de equipamentos/materiais; fins veterinários, entre outros<sup>(14)</sup>.

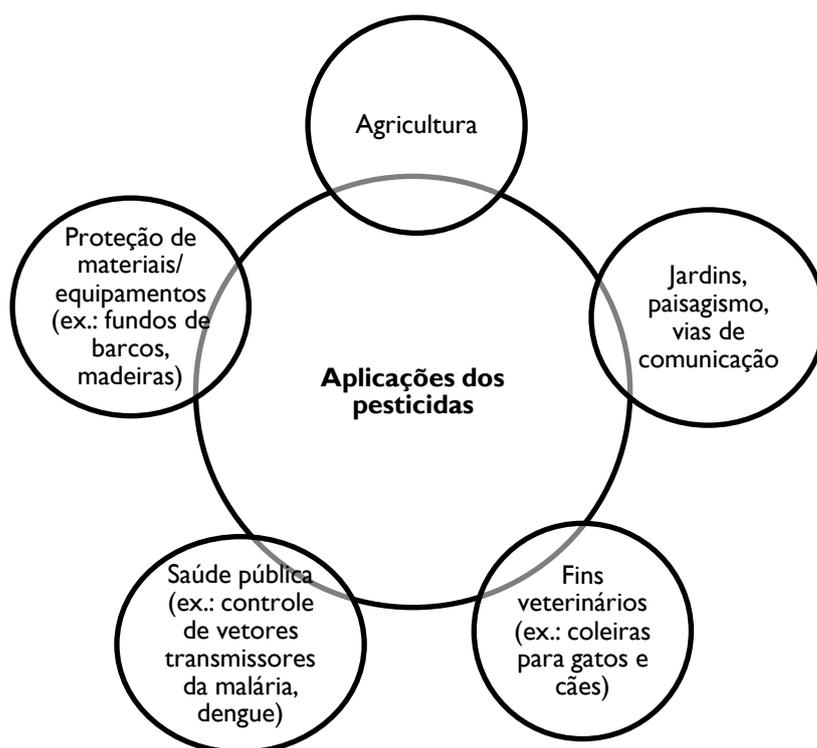


FIGURA 1 - Principais aplicações dos pesticidas<sup>(9)</sup>.

A sua utilização pode oscilar de ano para ano, devido às condições climáticas e aos problemas fitossanitários existentes numa determinada região<sup>(15)</sup>.

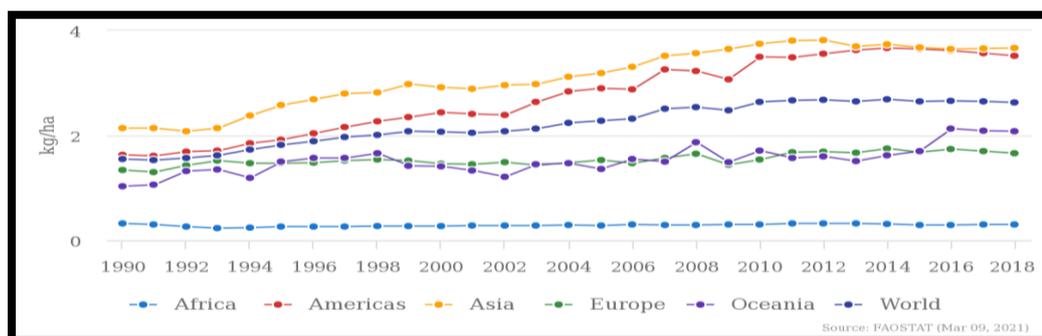
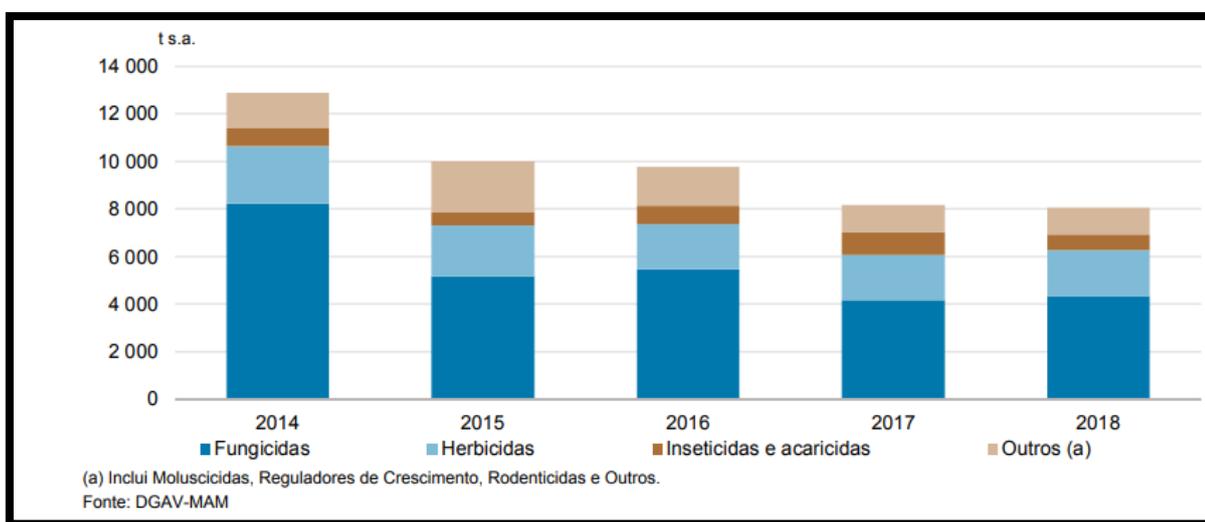


FIGURA 2 - Utilização média de produtos fitofarmacêuticos, por área de cultivo<sup>(2)</sup>.

Desde 1990 até 2018, tem-se verificado de forma geral, que o uso médio de pesticidas por área de cultivo tem aumentando em todos os continentes, à exceção de África, onde a sua aplicação é mais consistente. Neste gráfico, pode-se observar que a Ásia e a América são os continentes onde a utilização destes produtos é superior à média mundial<sup>(16)</sup>.

Em Portugal foram comercializados em 2018, cerca de 8 mil toneladas de pesticidas, menos 1,4% face ao ano de 2017, conforme ilustrado na Figura 3. Esta diferença resultou no decréscimo das vendas de inseticidas e acaricidas, devido ao cancelamento de muitas autorizações de venda de produtos fitofarmacêuticos constituídos por clorpirifos. Contudo, as vendas de fungicidas e de herbicidas apresentaram em 2018, aumentos de 3,7% e 2,1%, respetivamente<sup>(15)</sup>.



**FIGURA 3-** Venda de produtos fitofarmacêuticos, por tipo de função<sup>(6)</sup>.

É de salientar, que a aplicação destes compostos químicos pode ser potencialmente tóxica para o ser humano, para os animais e para o ambiente. Assim, a sua manipulação, aplicação e destino final devem constituir práticas seguras e conscientes<sup>(15, 17)</sup>. Face ao exposto, é essencial promover medidas que permitam um uso sustentável de pesticidas, salvaguardando a qualidade e segurança dos alimentos.

## 2.1. Classificação de pesticidas

Os pesticidas, de forma geral, podem ser classificados segundo vários critérios, tais como: a origem; a natureza química; o modo de ação/finalidade; o espectro de ação; a formulação e a toxicidade<sup>(18)</sup>.

No que diz respeito à sua origem, a maioria das substâncias ativas presentes na constituição dos pesticidas podem ser orgânicas ou inorgânicas<sup>(19, 20)</sup>. Por sua vez, os pesticidas orgânicos

são classificados em naturais e sintéticos, ou seja, podem ser obtidos a partir de fontes naturais ou serem produzidos artificialmente por síntese química, respetivamente. Os pesticidas inorgânicos são extremamente tóxicos para os seres vivos e são constituídos por arsénio, tálio, bário, fósforo, chumbo, etc.<sup>(21)</sup>.

Relativamente à sua natureza química, podem ser organizados em vários grupos, conforme a Tabela I. Quanto ao seu modo de ação/finalidade, os pesticidas são classificados consoante o tipo de praga a ser controlada e/ou eliminada (Tabela 2). Em relação à sua formulação, estes produtos químicos podem ser encontrados sob o estado líquido, granular, pó molhável e concentrados emulsionáveis. Por fim, os pesticidas podem ser classificados consoante a sua toxicidade (Tabela 3) que é medida através da dose letal média ( $DL_{50}$ ), ou seja, a concentração do pesticida que é capaz de matar 50% dos organismos testados. Os efeitos tóxicos podem ser agudos ou crónicos. Note-se que quanto menor for a dose letal de uma determinada substância, maior será a sua toxicidade<sup>(21, 22)</sup>.

**TABELA 1** - Classificação de pesticidas baseada na natureza química<sup>(23)</sup>.

Classe química	Exemplos
Organoclorados	Aldrina, DDT, Dieldrina
Organofosforados	Malatião, Terbufos, Diclorvos
Carbamatos	Carbaril, Propoxur, Pirimicarbe
Triazinas	Atrazina, Simazina, Ametrina
Piretróides	Aletrina, Cipermetrina, Piretrina
Outros	Arseniato de chumbo, Acido cacodílico

**TABELA 2** - Classificação de pesticidas baseada na espécie-alvo<sup>(24)</sup>.

Categoria de pesticidas	Função/espécie-alvo
Algicidas	Controlar ou inibir o crescimento de algas
Inseticidas	Eliminar insetos ou outros artrópodes
Herbicidas	Eliminar ervas daninhas
Rodenticidas	Eliminar ratos ou outros roedores
Fungicidas	Destruir ou inibir a ação de fungos
Formicidas	Eliminar formigas
Acaricidas	Eliminar ácaros
Avicidas	Eliminar pássaros
Piscicida	Eliminar peixes

**TABELA 3** - Classificação de pesticidas baseada na toxicidade<sup>(25)</sup>.

Classe	Nível de toxicidade	DL <sub>50</sub> para ratos (mg/kg de peso corporal)	
		Oral	Dérmico
Classe Ia	Extremamente perigoso	<5	<50
Classe Ib	Altamente perigoso	5-50	50-200
Classe II	Moderadamente perigoso	50-2000	200-2000
Classe III	Ligeiramente perigoso	>2000	>2000
Classe IV	Improvável de causar dano	≥5000	≥5000

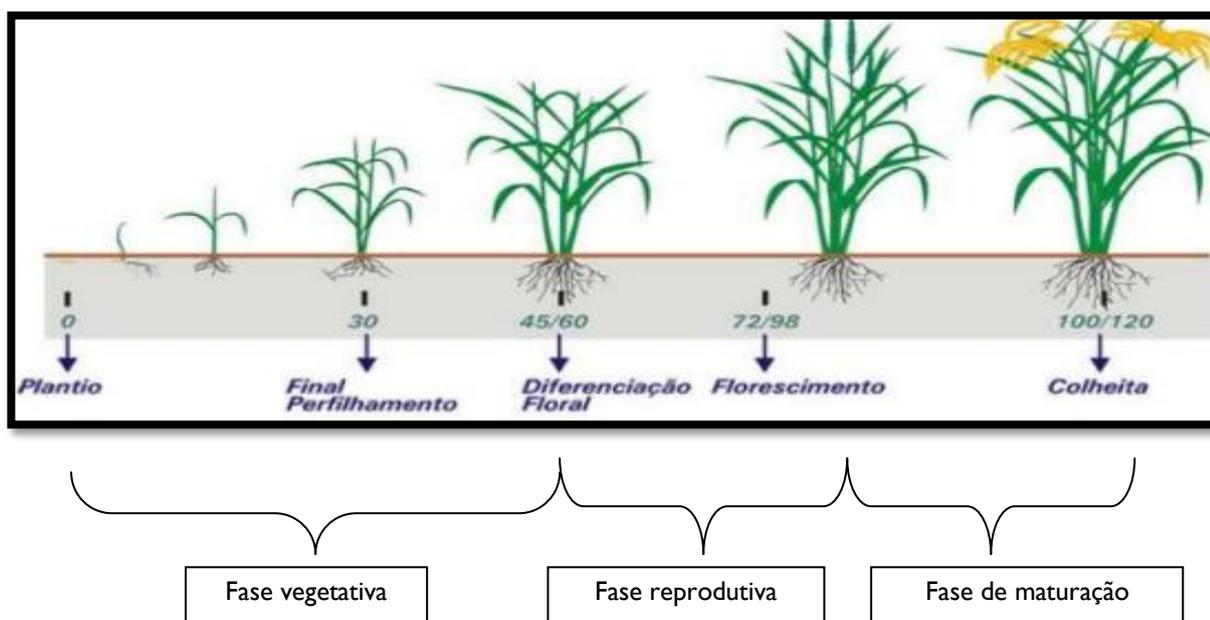


- **Coimbra** (Ameal, Antuzede, Arzila, Ribeira de Frades, São João do Campo, S. Martinho do Bispo e Taveiro);
- **Condeixa - a - Nova** (Anobra);
- **Figueira da Foz** (Alqueidão, Lavos, Paião, Borda do Campo, Maiorca, Ferreira - a - Nova, Santana e Vila Verde);
- **Montemor - o - Velho** (Carapinheira, Montemor - o - Velho, Gatões, Abrunheira, Liceia, Verride, Ereira, Vila Nova da Barca, Pereira e Santo Varão)
- **Pombal** (Louriçal);
- **Soure** (Alfarelos, Brunhós, Gesteira, Granja do Ulmeiro, Samuel, Soure, Vila Nova de Anços e Vinha da Rainha).

### 3.1. O ciclo vegetativo do arroz

O ciclo vegetativo do arroz compreende as seguintes fases de desenvolvimento, de acordo com a figura 5<sup>(30)</sup>:

- Fase vegetativa, que inclui a germinação até ao fim do afilamento e à formação da primeira panícula;
- Fase reprodutiva, que compreende o início da formação da panícula até à floração;
- Fase de maturação, que inclui o desenvolvimento da floração e permanece até à maturação completa dos grãos.



**FIGURA 5** - Principais etapas fenológicas do arroz e sua duração aproximada (dias)<sup>(3)</sup>.

### 3.2. As espécies infestantes do arroz

As culturas agrícolas estão expostas a diferentes espécies infestantes, existindo períodos críticos em que a menor ou maior infestação pode influenciar o desenvolvimento dessas culturas. No decorrer do ciclo vegetativo do arroz, o período crítico corresponde às fases iniciais do desenvolvimento deste cereal, onde as espécies infestantes competem pelo espaço, luz e nutrientes. Nesse contexto, é crucial que o crescimento do arroz esteja num estágio mais avançado relativamente às espécies infestantes<sup>(30, 31)</sup>. É possível encontrar entre 40 a 45 espécies diferentes de infestantes, destacando-se as famílias de gramíneas, ciperáceas e alismatáceas<sup>(31)</sup>.

As espécies infestantes do ecossistema orizícola, dividem-se em dois grupos distintos: monocotiledóneas e dicotiledóneas (Figura 6)<sup>(30)</sup>. As espécies infestantes de folha estreita ou monocotiledóneas caracterizam-se por apresentarem nervação uninérvea, paralelinérvea e, raramente, curvinérvea. Neste grupo incluem-se a família das gramíneas, ciperáceas, ponteridáceas e alismatáceas. É de salientar que as espécies infestantes pertencentes ao grupo das gramíneas são de difícil controlo, nomeadamente o arroz -bravo e as milhãs. As gramíneas são geralmente de crescimento lento, anemófilas (dispersão das sementes pelo vento) e apresentam uma característica morfológica que permite a proteção do meristema apical pelas folhas da base, dificultando a entrada do respetivo herbicida. As espécies infestantes de folha larga ou dicotiledóneas caracterizam-se por apresentarem o limbo largo

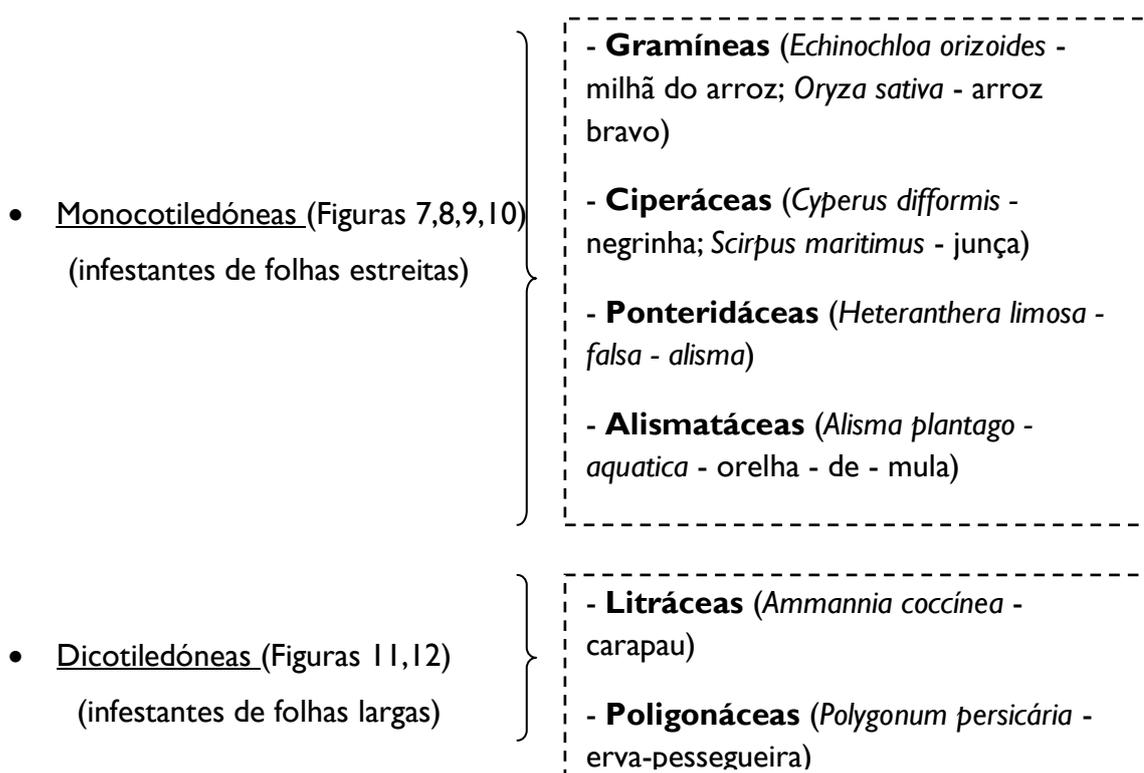


FIGURA 6 - Espécies infestantes do ecossistema orizícola.

De acordo com a duração do seu ciclo biológico, as espécies infestantes podem ser classificadas em anuais, bianuais e perenes ou vivazes. São espécies infestantes anuais as que germinam, desenvolvem, florescem e frutificam durante um período que não ultrapassa um ano. As espécies infestantes bienais ou bianuais vivem mais do que um ano, mas menos de dois. Já as vivazes podem sobreviver mais de dois anos, e renovam total ou parcialmente a parte aérea anualmente, podendo manter-se vivas vários anos<sup>(32)</sup>.



**FIGURA 7** - *Oryza sativa* - Arroz bravo<sup>(1)</sup>.



**FIGURA 8** - *Cyperus difformis* - Negrinha<sup>(1)</sup>.



**FIGURA 9** - *Heteranthera limosa* - falsa-alisma<sup>(1)</sup>.



**FIGURA 10** - *Alisma plantago-aquatica* - orelha - de - mula<sup>(1)</sup>.



**FIGURA 11** - *Polygonum persicaria* – erva - pessegueira<sup>(1)</sup>.



**FIGURA 12** - *Ammannia coccinea* - carapau<sup>(1)</sup>.

### 3.3. Herbicidas utilizados na cultura orizícola

Existem vários produtos herbicidas autorizados pela Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) que são utilizados na cultura do arroz, conforme se exemplifica na tabela seguinte. No entanto, apenas os HBG serão alvo de análise nesta tese.

**TABELA 4** - Exemplos de herbicidas autorizados pela DGAV na cultura do arroz <sup>(33)</sup>.

Produto comercial	Sustância ativa	Tipo de infestante
<b>Aura</b>	Profoxidima	Gramíneas (Arroz bravo)
<b>Basagran</b>	Bentazona	Dicotiledóneas e Ciperáceas
<b>Viper</b>	Penoxsulame	Monocotiledóneas e Dicotiledóneas
<b>Touchdown Premium</b>	Glifosato	Azevém perene
<b>Marqui</b>	Glifosato	Ciperáceas (junça)

### 3.4. Certificação da qualidade do “Arroz Carolino do Baixo Mondego”

Um género alimentício é classificado com Indicação Geográfica Protegida (IGP), tendo em consideração três condições<sup>(34)</sup>:

- Ser oriundo de um local/região ou de um país onde é produzido;
- Apresentar qualidade, reputação ou outras características atribuídas à sua origem;
- Uma das fases de produção ser na área geográfica delimitada.

As características climáticas do Baixo Mondego, como as baixas temperaturas e insolações durante o período de pré-colheita ou de maturação da cultura do arroz, são fatores agro-ecológicos relevantes na formação do Arroz Carolino do Baixo Mondego. Consequentemente, estes fatores irão potenciar mecanismos fisiológicos associados à sua qualidade, nomeadamente na sua composição química e na integridade dos grãos<sup>(29)</sup>.

Face ao exposto, a Comissão Europeia (CE) reconheceu que o “Arroz Carolino do Baixo Mondego” deveria ter a classificação mencionada anteriormente, tendo a mesma sido registada ao abrigo do Regulamento (UE) 2015/888, da Comissão de 29 de maio de 2015.



**FIGURA 13** - Marca de certificação do Arroz Carolino do Baixo Mondego<sup>(20)</sup>.

#### 4. A SEGURANÇA ALIMENTAR E A ANÁLISE DO RISCO

De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), a segurança alimentar “ocorre quando todas as pessoas, em qualquer momento, têm acesso físico, social e económico a alimentos suficientes, seguros e nutricionalmente adequados, e deste modo, satisfazem as suas necessidades nutricionais e as suas preferências alimentares para uma vida ativa e saudável”<sup>(35)</sup>.

Neste contexto, a análise do risco contribui para uma redução na incidência de doenças transmitidas por géneros alimentícios e, desta forma, na promoção da saúde pública. Por sua vez, este processo compreende três componentes essenciais: a avaliação de risco, a gestão de risco e a comunicação de risco, conforme Figura 14<sup>(36)</sup>.

A avaliação de risco é um processo constituído pelas seguintes etapas: identificação do perigo, caracterização do perigo, avaliação da exposição e caracterização do risco<sup>(36)</sup>.

A presença de perigos biológicos, químicos, físicos e nutricionais nos vários alimentos, potencia o surgimento de diferentes efeitos nocivos à saúde. Para tal, torna-se necessário proceder à sua identificação e caracterização, através do desenvolvimento de um perfil completo da natureza e extensão dos efeitos associados ao perigo identificado<sup>(36, 37)</sup>. Na Tabela 5, estão definidos os principais perigos de origem alimentar.

**TABELA 5** - Perigos de origem alimentar<sup>(38)</sup>.

<b>Perigos biológicos</b>	<b>Perigos químicos</b>	<b>Perigos físicos</b>	<b>Perigos nutricionais</b>
Bactérias, vírus, parasitas, priões	Toxinas naturais, poluentes industriais, contaminantes resultantes do processamento alimentar, pesticidas, medicamentos veterinários, aditivos, materiais em contacto com os alimentos	Ossos, espinhas, vidros, metal, pedras	Sal em excesso, gorduras em excesso, açúcar em excesso, alergénios

A utilização de substâncias químicas, como os pesticidas, e a provável ocorrência de resíduos nos alimentos, gera alguma preocupação nos consumidores<sup>(37)</sup>. Exemplo disso é a utilização dos HBG e os seus potenciais efeitos na saúde pública, como será mencionado entretanto, neste trabalho.

Nesse sentido, torna-se imperativo proceder-se à avaliação da exposição, na qual são obtidas informações sobre a prevalência e a concentração de determinadas substâncias nocivas presentes nos alimentos e no ambiente. É um processo que deve envolver outros fatores,

como as vias de exposição, a sua duração e frequência, a absorção corporal e os indivíduos potencialmente expostos<sup>(36)</sup>.

No que diz respeito à caracterização do risco, todas as evidências resultantes nas etapas anteriores são importantes para se obter uma estimativa de risco, ou seja, uma estimativa da probabilidade e da gravidade dos efeitos adversos à saúde, numa determinada população<sup>(39)</sup>.

Contudo, existe uma escassez de dados relativos aos níveis de exposição ao glifosato e dos seus metabolitos em indivíduos potencialmente expostos, sendo crucial o desenvolvimento de mais estudos científicos nesta área, para uma melhor avaliação de exposição e uma caracterização mais precisa dos riscos<sup>(40)</sup>.

Após o desenvolvimento das etapas supra mencionadas, procede-se à gestão do risco, na qual são implementadas várias medidas de prevenção da exposição ou de mitigação dos riscos identificados durante a avaliação do risco. Por fim, é feita a comunicação do risco, através do intercâmbio de informações, opiniões e publicações durante todo o processo de análise do risco, estando envolvidos diferentes elementos, como: os avaliadores de risco, os gestores de risco, os consumidores, as empresas e a comunidade académica<sup>(36, 41)</sup>.



**FIGURA 14** - Componentes da análise do risco.

## 5. UTILIZAÇÃO DE HERBICIDAS À BASE DE GLIFOSATO

O glifosato surgiu no mercado em 1970, sendo um ingrediente ativo presente em mais de 750 herbicidas de largo espectro. É frequentemente utilizado em diferentes situações do nosso cotidiano, nomeadamente na agricultura, silvicultura, zonas urbanas e em aplicações domésticas (Figura 15)<sup>(42)</sup>. Apesar das suas várias utilizações, é no setor agrícola onde se verifica maior consumo deste ingrediente ativo. Assim sendo, é utilizado em culturas anuais (ex.: arroz, milho, colza, leguminosas, beterraba) e culturas perenes (ex.: vinhas, olivais, pomares)<sup>(43)</sup>.



FIGURA 15 - Aplicações dos HBG.

### 5.1. No Mundo

Em 1994, a utilização mundial de glifosato foi aproximadamente de 56 mil toneladas, tendo sido aplicado maioritariamente no setor agrícola<sup>(6)</sup>. Com o desenvolvimento de culturas agrícolas geneticamente modificadas e, conseqüentemente resistentes ao glifosato, verificou-se uma acentuada aplicação desta substância<sup>(4, 42, 44)</sup>. Face ao exposto, no ano de 2014 constatou-se um consumo de cerca de 825 mil toneladas deste ingrediente ativo<sup>(6)</sup> (tabela 6). Por outro lado, tem sido notado o surgimento de infestantes resistentes a HBG, havendo uma maior tendência na sua utilização<sup>(45)</sup>, sendo que em 2020 se prevê que se atinja um milhão de toneladas<sup>(46)</sup>.

A China e os EUA são dos países onde se produz e se utilizam grandes quantidades de glifosato<sup>(47, 48)</sup>.

**TABELA 6** - Consumo anual de glifosato, entre 1994 e 2014<sup>(6)</sup>.

	1994	1995	2000	2005	2010	2012	2014
<b>Uso agrícola</b>	42,868	51,078	193,485	339,790	578,124	648,638	746,580
<b>Uso não agrícola</b>	13,428	16,000	155,367	62,560	74,362	69,962	79,224
<b>Total (toneladas)</b>	56,296	67,078	38,118	402,350	652,486	718,600	825,804

## 5.2. Na Europa

A Rede Europeia para a Gestão Integrada de Pragas e Proteção de Culturas Agrícolas (ENDURE) recolheu dados sobre as vendas de glifosato em alguns países da Europa, no período compreendido entre 2013 e 2017, conforme está demonstrado na Tabela 7.

Constatou-se que durante esse mesmo período, as vendas desta substância foram mais elevadas na França, Polónia, Alemanha, Itália e Espanha.

No nosso país, verificou-se um aumento de vendas de glifosato entre 2013 e 2014, havendo um decréscimo gradual nos dois anos subsequentes. Em 2017, não existe informação disponível relativamente às vendas deste produto fitofarmacêutico.

Contrariamente, países como o Chipre, Eslovénia, Luxemburgo e Malta tiveram um volume de vendas menor, conforme demonstrado na tabela seguinte<sup>(49)</sup>.

**TABELA 7** - Vendas de glifosato (toneladas) em alguns países da Europa, entre 2013 e 2017<sup>(49)</sup>.

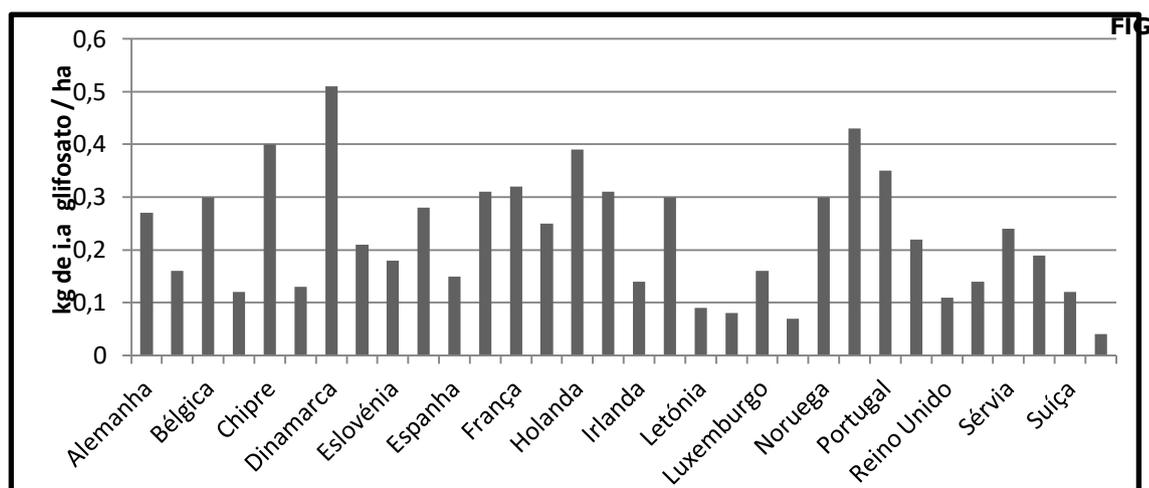
	2013	2014	2015	2016	2017
<b>Alemanha</b>	5065	5426	4797	3780	4694
<b>Áustria</b>	174	338	327	312	329
<b>Bélgica</b>	587	596	512	503	619
<b>Bulgária</b>	261	242	236	744	629
<b>Chipre</b>	57	57	57	58	51
<b>Croácia</b>	231	302	285	268	217
<b>Dinamarca</b>	1371	610	842	1126	1241
<b>Eslováquia</b>	429	450	451	400	409
<b>Eslovénia</b>	51	73	73	92	86
<b>Estónia</b>	nd	277	nd	412	253
<b>Espanha</b>	2879	2883	3120	3787	3633
<b>Finlândia</b>	550	710	860	840	660
<b>França</b>	9370	10070	9110	9110	9324
<b>Grécia</b>	nd	nd	nd	nd	1300

<b>Holanda</b>	nd	nd	nd	nd	742
<b>Hungria</b>	885	1296	1423	1769	1647
<b>Irlanda</b>	742	755	777	831	674
<b>Itália</b>	4566	4504	4460	4225	3699
<b>Letónia</b>	153	178	181	207	168
<b>Lituânia</b>	502	470	502	422	253
<b>Luxemburgo</b>	31	33	31	23	nd
<b>Malta</b>	3	3	2	2	1
<b>Noruega</b>	299	300	355	346	299
<b>Polónia</b>	5056	4992	4397	5392	6665
<b>Portugal</b>	1120	1687	1459	1307	nd
<b>República Checa</b>	935	859	698	751	772
<b>Reino Unido</b>	1494	1911	1927	2240	nd
<b>Roménia</b>	2235	1861	2353	1877	2032
<b>Sérvia</b>	nd	nd	nd	nd	2900
<b>Suécia</b>	632	626	683	657	485
<b>Suíça</b>	308	296	228	204	189
<b>Turquia</b>	1659	1698	1709	1755	1789

nd, dados não disponíveis

No que diz respeito à utilização de glifosato por hectare de área agrícola, os cinco países que aplicaram maior quantidade deste ingrediente ativo em 2017, foram: a Dinamarca, a Polónia, o Chipre, a Holanda e Portugal ( $\geq 0,32$  kg de i.a. por ha). Contudo, a Turquia, a Malta, a Lituânia e a Letónia foram os países onde a sua aplicação foi menor ( $\leq 0,12$  kg de i.a. por ha)

(49)



**FIGURA 16** - Uso médio estimado de glifosato, por hectare, na agricultura convencional, em 2017<sup>(52)</sup>.

A utilização de glifosato em campos de milho é quase inexistente em alguns países, nomeadamente na Bélgica, Croácia, Estónia, Holanda, Hungria, Lituânia e Portugal. Todavia é aplicado em mais de 30% da área de cultivo deste cereal, em países como a França, o Reino

Unido e a Sérvia. Relativamente ao cultivo de colza, foi aplicado uma percentagem inferior a 10% em países como a Alemanha e a Áustria e superior a 60% na Finlândia, Holanda e Turquia. Em campos de trigo, foi usado em menos de 10% na Alemanha e na Noruega, sendo bastante aplicado na Estónia, França, Irlanda, Portugal e Turquia (45% - 90%), de acordo com a tabela infra<sup>(49)</sup>.

**TABELA 8** - Uso de glifosato por cultura<sup>(49)</sup>.

	<b>Milho</b>	<b>Colza</b>	<b>Trigo</b>
<b>Alemanha</b>	28%	3%	5%
<b>Áustria</b>	15%	5%	17%
<b>Bélgica</b>	8%	nd	>20%
<b>Croácia</b>	5%	17%	25%
<b>Estónia</b>	7%	10%	50%
<b>Espanha</b>	nd	35%	20%
<b>Finlândia</b>	nd	72%	31%
<b>França</b>	35%	40-50%	>90%
<b>Holanda</b>	5%	66%	30%
<b>Hungria</b>	1%	22%	25%
<b>Irlanda</b>	22%	50-60%	50-60%
<b>Letónia</b>	10%	nd	16%
<b>Lituânia</b>	<5%	20-40%	20-40%
<b>Noruega</b>	nd	nd	2%
<b>Portugal</b>	1%	nd	40-50%
<b>Reino Unido</b>	36%	nd	27%
<b>Sérvia</b>	40%	nd	>11%
<b>Suécia</b>	nd	25%	14%
<b>Suíça</b>	22%	Nd	nd
<b>Turquia</b>	15%	71%	48%

nd, dados não disponíveis

### **5.3. Em Portugal**

O Instituto Nacional de Estatística (INE) recolheu informação relativamente à quantidade de glifosato aplicado em diferentes culturas, assim como as respetivas áreas tratadas, entre 2012 e 2013, conforme a Tabela 9. Constataram-se que nas culturas de vinha e olival foi utilizada maior quantidade deste ingrediente ativo, com aplicação de 122 369 kg e 206 832 kg, respetivamente. Na cultura do arroz foram aplicadas 8747 kg de glifosato. Todavia, nas culturas da batata e hortícolas foi aplicado menos glifosato<sup>(50)</sup>.

**TABELA 9** - Quantidades de glifosato aplicadas e áreas tratadas por cultura (2012 e 2013)<sup>(50)</sup>.

<b>Tipo de cultura</b>	<b>Quant. aplicada (kg)</b>	<b>Área tratada (ha)</b>
<b>Cereais para grão</b>	30 568	34 323
<b>Trigo</b>	6 323	8 369
<b>Milho</b>	10 327	10 712
<b>Arroz</b>	8 747	6 691
<b>Hortícolas</b>	2 005	2 098
<b>Batata</b>	1 102	669
<b>Macieiras</b>	18 775	8 387
<b>Pereiras</b>	15 258	7 086
<b>Pessegueiro</b>	5 500	1 844
<b>Laranjeiras</b>	26 081	9 658
<b>Cítrinos</b>	4 135	1 522
<b>Vinha</b>	122 369	73 003
<b>Olival</b>	206 832	99 655

## **6. ENQUADRAMENTO LEGAL**

A CE possui uma estratégia de utilização sustentável dos pesticidas, com o intuito de reduzir potenciais efeitos nefastos na saúde pública.

Em 2016, foi discutida a renovação da licença de venda de HBG na UE por um período de 15 anos. Entretanto, em 2017, a CE anulou esta decisão, prolongando a utilização de glifosato por um período de 5 anos. Esta renovação foi feita através do Regulamento de Execução (UE) n.º 2017/2324 da Comissão de 12 de dezembro de 2017, em conformidade com o Regulamento (CE) n.º 1107/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho de 21 de outubro, relativo à colocação dos produtos fitofarmacêuticos no mercado comunitário<sup>(51)</sup>. Em janeiro de 2017, houve necessidade de alterar a Lei n.º 26/2013 de 11 de abril, que regula as atividades de distribuição, venda e aplicação de produtos fitofarmacêuticos para uso profissional e resulta da transposição da Diretiva n.º 2009/128/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 21 de outubro de 2009. Esta Diretiva tem como intuito, estabelecer um quadro de ação a nível comunitário para uma utilização sustentável dos pesticidas, através da redução dos riscos e efeitos da sua utilização na saúde humana e no ambiente, promovendo o recurso à proteção integrada e a técnicas alternativas, designadamente não químicas, aos produtos fitofarmacêuticos. O Decreto-Lei n.º 35/2017 de 24 de março, teve como finalidade, restringir a utilização de fitofármacos em vários espaços públicos, privilegiando o uso de outros meios de controlo de pragas e plantas invasoras, tais como o controlo mecânico, biológico, biotécnico ou cultural.

Por sua vez, a Diretiva n.º 2019/782 da Comissão de 15 de maio de 2019, estabeleceu indicadores de risco harmonizados, a fim de monitorizar as tendências na redução dos riscos associados à utilização de pesticidas.

Em outubro de 2020, foi publicado o Decreto Legislativo Regional n.º 28/2020/A, que proíbe a utilização de produtos fitofarmacêuticos que contenham glifosato, nos espaços públicos existentes na Região Autónoma dos Açores.

Os limites máximos de resíduos de pesticidas no interior e à superfície dos géneros alimentícios e dos alimentos para animais, de origem vegetal ou animal de glifosato e outras substâncias ativas, foram definidos no Regulamento (UE) n.º 293/2013 da Comissão de 20 de março de 2013, que alterou os anexos II e III do Regulamento (CE) n.º 396/2005, do Parlamento Europeu e do Conselho.

<b>Renovação da licença de utilização de HBG</b>	<b>Uso sustentável de produtos fitofarmacêuticos</b>	<b>Segurança alimentar</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Regulamento de Execução (UE) n.º 2017/2324 da Comissão de 12 de dezembro de 2017</li> <li>• Regulamento (CE) n.º 1107/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 21 de outubro</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diretiva n.º 2009/128/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 21 de outubro de 2009</li> <li>• Diretiva n.º 2019/782 da Comissão de 15 de maio de 2019</li> <li>• Lei n.º 26/2013, de 11 de abril</li> <li>• Decreto-Lei n.º 35/2017 de 24 de março.</li> <li>• Decreto Legislativo Regional n.º 28/2020/A</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Regulamento (CE) n.º 396/2005</li> <li>• Regulamento (UE) n.º 293/2013</li> </ul>

**FIGURA 17** - Legislação aplicável.

## **7. HBG: CARACTERÍSTICAS GERAIS**

### **7.1. Espectro de ação**

O glifosato é um ingrediente ativo presente em vários herbicidas de largo espectro. Nesse sentido, os HBG podem ser utilizados para fins domésticos, comerciais e agrícolas<sup>(52)</sup>, sendo capazes de eliminar mais de 160 infestantes<sup>(4, 48)</sup>.

### **7.2. Seletividade**

Relativamente à sua seletividade, o glifosato classifica-se como sendo não- seletivo, ou seja, além de eliminar as infestantes pode causar efeitos deletérios na cultura agrícola<sup>(53)</sup>. Para tal, foi necessário produzir culturas agrícolas geneticamente modificadas (ex.: soja, milho, algodão) que resistissem a esta substância ativa. Assim, quando são pulverizadas com este composto, somente as infestantes serão eliminadas<sup>(4, 5)</sup>.

### **7.3. Formulações à base de glifosato**

As formulações à base de glifosato (FBG) baseiam-se numa mistura aquosa constituída por vários sais (ex.: sal de sódio, amónio, potássio, isopropilamónio e trimetilsulfónio) e por surfactantes, nomeadamente, polioxietilenamida (POEA), solventes e compostos anti-espuma. Por sua vez, a adição de surfactantes, permitirá melhorar a atividade do herbicida, possibilitando a sua penetração e absorção na planta, e, desta forma, potencia a sua toxicidade. Vários estudos têm revelado que estas substâncias apresentam toxicidade superior ao próprio glifosato, em espécies não-alvo<sup>(54-56)</sup>. Os compostos anti-espuma são aditivos que dificultam a formação de espuma no processo de fabrico<sup>(57)</sup>. Para além do conhecido *Rondup*<sup>®</sup>, existem outras formulações comerciais, tais como: *Rodeo*<sup>®</sup>, *Pondmaster*<sup>®</sup>, *WeatherMax*<sup>®</sup>, *UltraMAX*<sup>®</sup>, *Buccaneer*<sup>®</sup>, *Razor Pro*<sup>®</sup>, entre outras<sup>(4, 52, 58, 59)</sup>.

Em Portugal, atualmente, encontram-se autorizadas pela DGAV, cerca de 90 FBG<sup>(60)</sup>.

### **7.4. Época de aplicação**

Os HBG são aplicados após o surgimento das espécies infestantes e da cultura agrícola, sendo designados de pós-emergentes<sup>(61)</sup>.

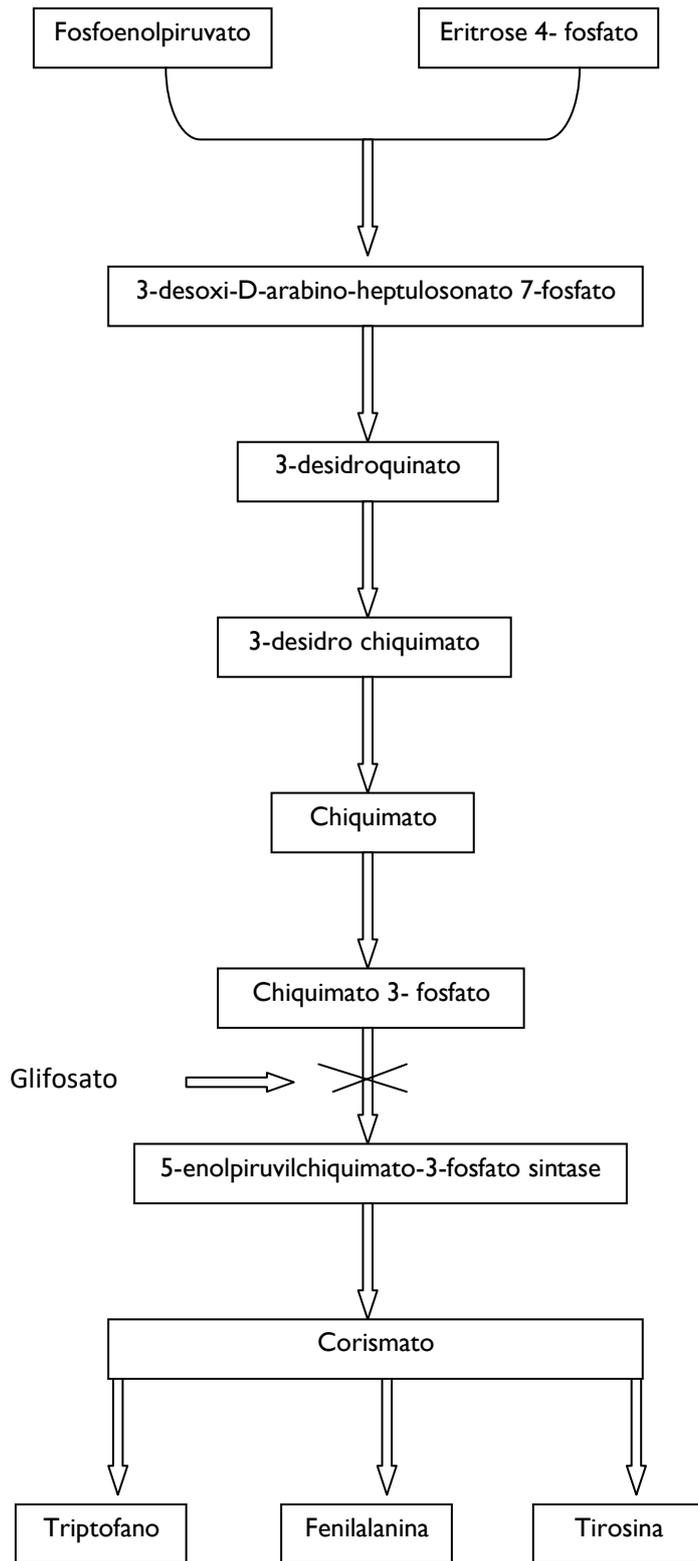
### **7.5. Mobilidade na planta**

O glifosato é um herbicida sistémico. É absorvido pelas folhas e movimenta-se para porções crescentes da planta, via floema, atingindo níveis fitotóxicos ao nível dos meristemas, raízes jovens e folhas, órgãos de reserva e outro tecido ou órgão em crescimento<sup>(5, 62)</sup>.

## 7.6. Mecanismo de ação

A ação herbicida dos HBG interfere na inibição da atividade de uma enzima essencial no ciclo de vida das plantas: a 5 - enolpiruvilchiquimato - 3 - fosfato sintase (EPSPS). Esta enzima é responsável pela biossíntese do corismato, um intermediário essencial na síntese de vários aminoácidos, como a tirosina, o triptofano e a fenilalanina que são essenciais para o desenvolvimento destes seres vivos (Figura 18)<sup>(63, 64)</sup>. Consequentemente, os processos fitoquímicos e fisiológicos das plantas ficam comprometidos, levando à redução das taxas fotossintéticas, degradação da clorofila, assim como, a inibição e oxidação da auxina, que é a hormona vegetal responsável pelo crescimento da planta<sup>(65)</sup>. Por outro lado, o glifosato origina um déficit de produção de alguns compostos aromáticos, como a fitoalexina, que apresenta um papel importante na resistência da planta e funciona como antimicrobiano sobre microrganismos presentes no solo<sup>(66)</sup>.

Passados alguns dias ou semanas, as folhas das espécies infestantes ficam amareladas, descoloradas, seguindo-se o desenvolvimento da cor acastanhada e necrose da folhagem<sup>(67)</sup>.



**FIGURA 18** - Via metabólica do chiquimate<sup>(2)</sup>.

## 8. GLIFOSATO: CARACTERÍSTICAS FÍSICO – QUÍMICAS

No que diz respeito à sua natureza química, o glifosato pertence ao grupo dos compostos organofosforados. A ligação covalente entre os átomos de carbono e fósforo confere-lhe certas propriedades físicas e químicas (Figura 19)<sup>(68)</sup>.

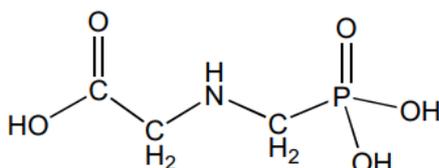


FIGURA 19 - Estrutura química do glifosato<sup>(3)</sup>.

O glifosato caracteriza-se por ser um sólido branco, inodoro e cristalino. É um composto que apresenta baixa volatilidade, dificultando a sua evaporação e, conseqüentemente permanece suspenso no ar durante pouco tempo após a sua aplicação. Por sua vez, possui propriedades quelantes, ou seja, tem a capacidade de se ligar a vários minerais, como o cálcio, o magnésio e o cobre, tornando-os inacessíveis para as várias espécies vegetais<sup>(10)</sup>. É solúvel em água, mas insolúvel em solventes orgânicos, como a acetona, o etanol e o xileno<sup>(4)</sup>. Algumas destas características estão enumeradas na Tabela 10.

TABELA 10 - Propriedades físicas e químicas do glifosato<sup>(69)</sup>.

Características físico- químicas	
Nome IUPAC	N - (Fosfonometil) glicina
Classe química	Organofosforado
Fórmula molecular	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> NO <sub>5</sub> P
Massa molecular	169,1 g/mol
Estado físico	Cristal incolor a 20°C
Odor	Inodoro
Densidade	1,705 g/mL a 20°C
Solubilidade	Água: 10,5 g/L a 20°C Insolúvel em solventes orgânicos
Ponto de fusão	184,5°C
Ponto de ebulição	187°C
Tempo de semi – vida no solo	7 - 60 dias

## 9. TOXICOCINÉTICA DO GLIFOSATO NO HOMEM

A toxicocinética consiste na ação/comportamento do organismo perante um determinado agente tóxico. É constituída pelas seguintes etapas: absorção, distribuição, biotransformação/metabolismo e excreção<sup>(70)</sup>.

### 9.1. Absorção

A absorção é a primeira etapa da toxicocinética. É um processo no qual o agente tóxico atravessa as membranas celulares para alcançar a circulação sanguínea, por meio de distintas vias de exposição<sup>(70)</sup>.

#### 9.1.1. Vias de exposição e indivíduos vulneráveis

O ser humano pode estar exposto aos HBG através da via oral, da via dérmica e da via respiratória (Figura 20)<sup>(10)</sup>.

Os agricultores, jardineiros e as suas famílias podem estar expostos aos HBG de diferentes formas, seja através do contacto durante a preparação da calda, da inadequada armazenagem dos mesmos ou do local onde residam. Também os trabalhadores que estejam envolvidos no processo de fabrico, na armazenagem e no transporte destes produtos químicos são considerados indivíduos vulneráveis<sup>(71)</sup>.

Existem diferentes fatores que podem influenciar a suscetibilidade de cada indivíduo à exposição de uma determinada substância química. Estão incluídos, a composição genética, a idade, o estado de saúde e nutrição e a exposição a outras substâncias tóxicas (ex.: fumo de cigarro)<sup>(52)</sup>.

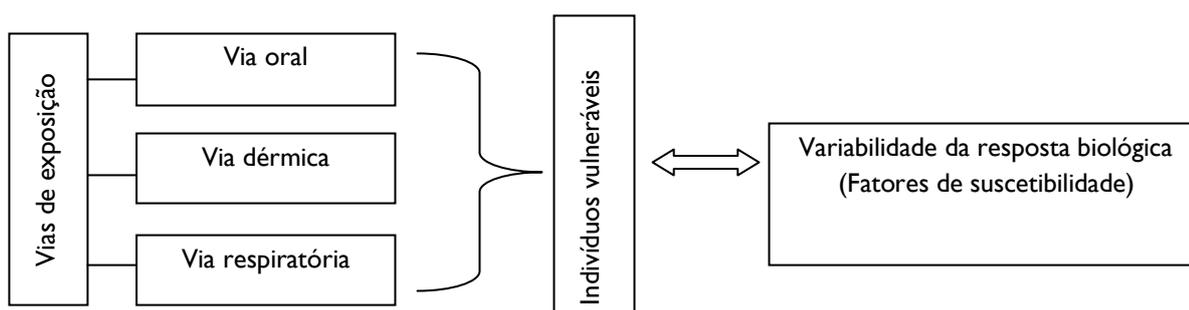


FIGURA 20 - Principais vias de exposição.

#### 9.1.1.1. Via oral

A ingestão de alimentos que contenham resíduos de glifosato é considerada uma importante fonte de exposição da população geral<sup>(52)</sup>.

A exposição oral pode ocorrer indiretamente, através do consumo de alimentos e de água contaminados com resíduos de glifosato e do seu produto de degradação primária<sup>(72, 73)</sup>. Esta contaminação pode resultar da aplicação direta dos HBG nas sementeiras; da sua migração para outras culturas por via aérea; durante a colheita dos alimentos e através do transporte feito por animais, como as abelhas<sup>(74)</sup>. A aplicação dos HBG em lavouras geneticamente modificadas e a sua utilização no tratamento pré - colheita resultou numa maior quantidade destes resíduos em vários géneros alimentícios<sup>(72)</sup>. Os grãos secos e alguns cereais são exemplos de alimentos que podem possuir elevadas quantidades de resíduos de glifosato<sup>(75)</sup>. Face ao exposto, após a aplicação de um produto fitofarmacêutico é necessário aguardar algum tempo antes de ser realizada a colheita. Esse período que decorre entre a última aplicação de um pesticida e a colheita da respetiva cultura denomina-se por Intervalo de Segurança (IS) e encontra-se definido no rótulo da embalagem, garantindo que os possíveis resíduos existentes no produto agrícola se encontram abaixo do Limite Máximo de Resíduos (LMR) exigido<sup>(76)</sup>. Para tal, a UE estabeleceu vários LMR para diferentes géneros alimentícios, conforme está estipulado no Regulamento (UE) n.º 293/2013 da Comissão de 20 de março de 2013<sup>(77)</sup>.

É de salientar, que apenas 20 a 30% de glifosato administrado por via oral é absorvido pelo trato gastrointestinal<sup>(78)</sup>.

Também o ato de fumar durante a manipulação e aplicação destes produtos químicos e a introdução de peças na boca dos equipamentos que estiveram em contacto com os mesmos, são consideradas atitudes que contribuem para a exposição direta aos HBG<sup>(71)</sup>. Por outro lado, a exposição oral pode ser feita de forma direta, através da ingestão acidental devido ao armazenamento inadequado do produto químico ou de forma intencional, por crianças e adultos<sup>(72, 73)</sup>.

### **9.1.1.2. Via cutânea**

A exposição cutânea acontece quando os trabalhadores ou outros indivíduos manipulam os HBG durante o seu transporte, armazenamento e aplicação. O nível e gravidade do risco de exposição podem ser condicionados pela toxicidade da substância ativa, tipo de formulação e parte do corpo exposta, como as mãos, os braços e os olhos<sup>(73)</sup>.

É de salientar, que a presença de lesões na pele permitirá uma entrada facilitada do glifosato no organismo<sup>(71)</sup>. Note-se que apenas 1 a 3% do glifosato é absorvido a nível cutâneo<sup>(79)</sup>. Contudo, estudos de exposição profissional a pesticidas sugerem que a via de exposição dérmica é importante, sendo responsável por até 99% das exposições<sup>(80-83)</sup>.

### 9.1.1.3. Via respiratória

A exposição por inalação pode ocorrer através de partículas de pequenas dimensões (aerossóis, gotículas, pó) que se depositam na mucosa respiratória e advém de tratamentos em locais com pouca ventilação, como as estufas<sup>(71, 73)</sup>.

## 9.2. Distribuição

Após a entrada da substância tóxica na corrente sanguínea, ficará disponível para ser transportada para vários locais do organismo<sup>(70)</sup>.

O glifosato não se acumula no organismo e não sofre circulação enterohepática. Os órgãos onde se detetaram maior quantidade de glifosato foram os ossos, o fígado, o intestino delgado e os rins<sup>(62, 78, 79)</sup>.

## 9.3. Biotransformação/Metabolismo

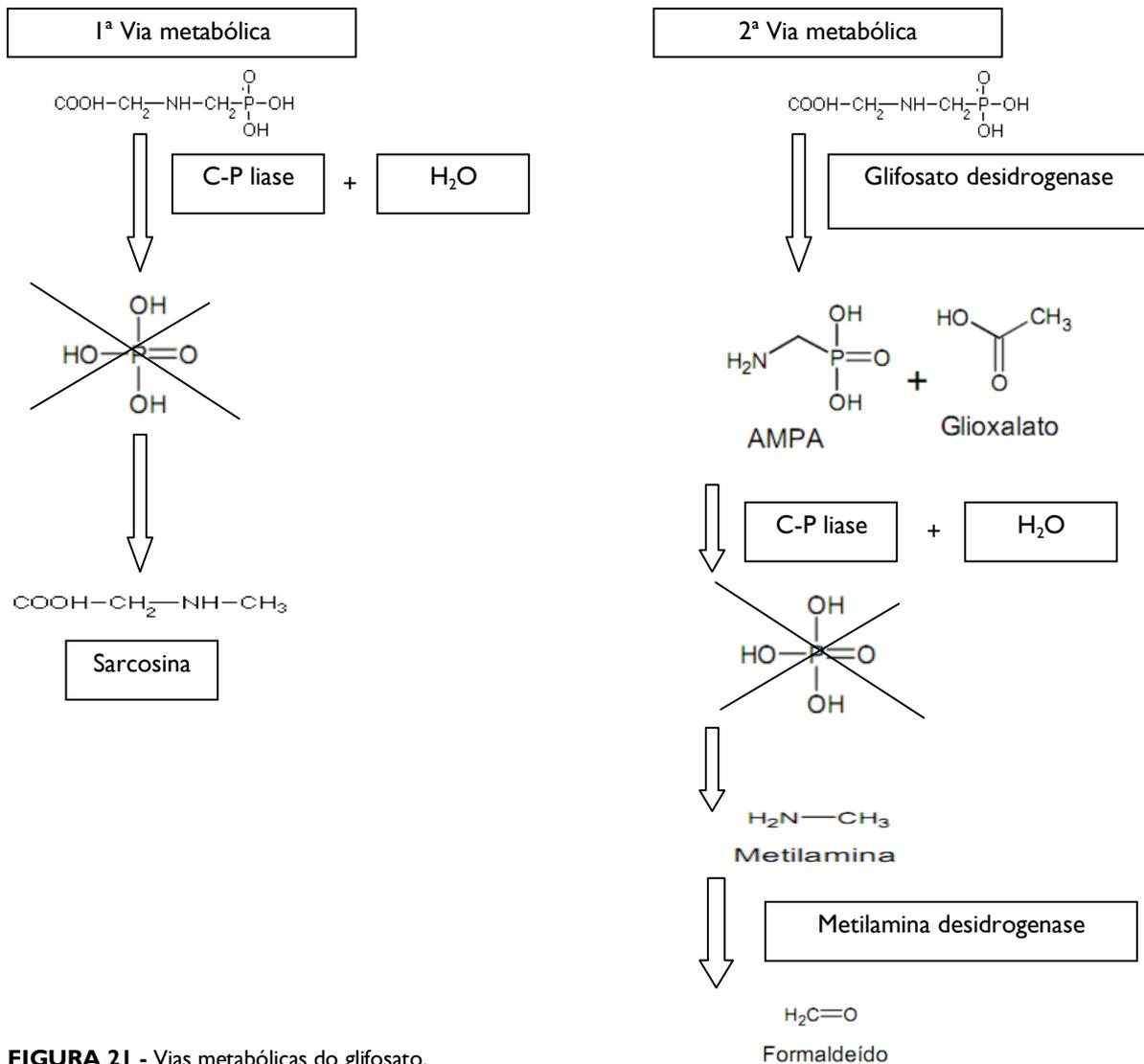
De forma a diminuir a possibilidade de um determinado agente desencadear uma resposta tóxica, o organismo possui mecanismos de defesa com o intuito de diminuir a quantidade e o tempo de permanência da substância no sistema biológico<sup>(70)</sup>.

O glifosato não sofre metabolismo significativo nos mamíferos. No entanto, foram identificadas duas potenciais vias metabólicas desta substância química no nosso organismo, conforme Figura 21. Nesse sentido, são formados dois metabolitos principais: o AMPA e o glioxilato. Apenas 1% é metabolizado a AMPA<sup>(52, 84)</sup>.

Numa primeira etapa, algumas bactérias gram-negativas (ex.: *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp*, *Enterobacter sp*.) utilizam a enzima C - P liase para quebrar a ligação carbono- fosfato. Esta enzima juntamente com água irá quebrar o grupo fosfato do glifosato, originando sarcosina ( $\text{COOHCH}_2 - \text{NH} - \text{CH}_3$ ). O excesso deste aminoácido pode provocar sarcosinemia ou hipersarcosinemia que são doenças metabólicas causadas por uma concentração exagerada de sarcosina no sangue e na urina. Por sua vez, a presença de glifosato irá promover um desequilíbrio microbiano, eliminando algumas bactérias e promovendo o desenvolvimento de outras. Portanto, quanto mais glifosato for consumido, mais bactérias gram-negativas haverá no intestino e, conseqüentemente, mais glifosato será metabolizado<sup>(85)</sup>.

A segunda via metabólica do glifosato é também considerada a principal via de degradação desta substância por microrganismos do solo. As bactérias *Geobacillus caldoxylosilyticus* T20 e *Flavobacterium sp* produzem a enzima glifosato-desidrogenase, responsável pela quebra do grupo carboxilo, formando-se o AMPA e o glioxalato. Entretanto, a enzima C-P liase

juntamente com água irá fragmentar o grupo fosfato do AMPA, formando-se metilamina e formaldeído<sup>(85, 86)</sup>.



**FIGURA 21** - Vias metabólicas do glifosato.

#### 9.4. Excreção

A excreção é a última etapa da toxicocinética e baseia-se na eliminação do xenobiótico presente no organismo<sup>(70)</sup>.

As principais vias de excreção são as fezes e a urina, sendo que a excreção biliar e pulmonar são insignificantes. Ao fim de 48 horas, a grande maioria do glifosato e dos seus metabolitos são excretados e após uma semana verifica-se uma eliminação quase total destas substâncias do organismo<sup>(78, 79)</sup>.

## 10. EFEITOS NA SAÚDE HUMANA: TOXICODINÂMICA

Após a entrada do agente tóxico no organismo e quando este alcança o seu alvo na concentração adequada, desencadeará alterações fisiológicas e bioquímicas. Face ao exposto, é indispensável estudar a ação tóxica exercida por estes agentes sobre o sistema biológico, recorrendo-se à toxicodinâmica<sup>(70)</sup>.

A crescente utilização de glifosato no nosso quotidiano tem gerado alguma preocupação e controvérsia relativamente à possível toxicidade desta substância na saúde humana, tanto a nível ambiental como ocupacional. Isto deve-se à falta de consenso entre os resultados dos estudos científicos e entre as próprias entidades reguladoras e agências internacionais<sup>(87)</sup>. São vários os fatores que apontam para a incerteza quanto à segurança do glifosato, incluindo: a escassez de estudos de toxicologia animal e de carcinogenicidade e a falta de estudos epidemiológicos que correlacionem a saúde com os níveis de glifosato<sup>(88)</sup>. Além disso, enquanto alguns estudos testam produtos formulados à base de glifosato, outros concentram-se apenas no ingrediente ativo<sup>(89, 90)</sup>. Note-se que os HBG possuem outros componentes (ex.: alquilfenóis, sulfonatos de alquilbenzeno, cloreto de dioctadecildimetilamónio) que aumentam a sua toxicidade<sup>(91)</sup>.

Inicialmente foram realizados estudos pela indústria que indicavam que os HBG possuíam baixo risco para as espécies não-alvo<sup>(62, 64)</sup>. Apesar da via metabólica do chiquimato estar ausente em espécies vertebradas, pressupôs-se que o glifosato seria seguro para os mamíferos, incluindo o ser humano<sup>(58)</sup>. Todavia, esta abordagem tem sido alvo de discussão científica, à medida que se desenvolvem estudos que sugerem possíveis efeitos deletérios no ser humano e noutras espécies<sup>(92)</sup>.

A toxicidade é a capacidade de uma determinada substância (ex.: medicamentos, pesticidas), provocar danos biológicos no organismo. Por sua vez, os efeitos tóxicos de um produto fitofarmacêutico dependem de vários fatores, tais como<sup>(71, 73)</sup>:

- Toxicidade da substância ativa, ou seja, o grupo químico a que pertence (ex.: organoclorado < organofosforado < piretiróide);
- Dose da substância;
- Tempo de exposição;
  - **Toxicidade aguda**, que consiste numa única ou várias exposições durante um período de tempo muito curto (ex.: 24 horas);

- **Toxicidade a curto prazo ou subcrónica**, que corresponde a uma exposição repetida durante um período de tempo mais longo (ex.: 1 a 3 meses);

- **Toxicidade crónica**, que se baseia numa exposição repetida diariamente, durante um período de tempo muito longo.

- Condições de manipulação e aplicação;
- Condições ambientais;
- Via de exposição (ex.: ingestão, inalação, dérmica);
- Características individuais (ex.: idade, existência de doenças).

### 10.1. Toxicidade aguda

A toxicidade aguda é determinada através da  $DL_{50}$ , ou seja, a concentração do pesticida que é capaz de matar 50% dos organismos testados. Note-se que quanto menor for a dose letal de uma determinada substância, maior será a sua toxicidade<sup>(22)</sup>.

As intoxicações agudas são frequentemente observadas em situações de suicídio ou de forma acidental. Foram relatados eventos cardiovasculares adversos, tais como: choque cardiogénico, disritmia ventricular ou paragem cardíaca entre pacientes que ingeriram glifosato<sup>(93)</sup>. Vários indivíduos referiram apresentar diferentes distúrbios gastrointestinais, nomeadamente: náuseas/vómitos, dor abdominal, falta de apetite, diarreia e danos no tecido mucoso da boca e esófago<sup>(94)</sup>. Após a ingestão acidental de 100 mL de glifosato, uma mulher apresentou hipoxemia, hipercalemia, hipotensão e hemoconcentração<sup>(95)</sup>. Um homem de 55 anos de idade que ingeriu 200 mL de uma formulação de glifosato apresentou insuficiência renal aguda<sup>(96)</sup>. Numa série de casos relacionados com 1513 exposições oculares ao glifosato, foram observados os seguintes sintomas: lacrimejamento, visão turva, irritação transitória e/ou persistente, dores oculares, queimaduras ou abrasões da córnea de baixo grau<sup>(94)</sup>.

Face ao exposto, a Entidade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA) determinou uma  $DL_{50}$  superior a 2000 mg/kg de peso corporal para exposições oral e cutânea<sup>(78)</sup>, enquanto que a Organização Mundial de Saúde (OMS) e a FAO definiram uma  $DL_{50}$  de 5600 mg/kg para a via oral e superior a 2000 mg/kg de peso corporal para a via cutânea<sup>(79)</sup>.

No que diz respeito à exposição por inalação, utiliza-se a medida de concentração letal média ( $CL_{50}$ ), ou seja, a concentração de uma substância existente no ar, capaz de provocar a morte a 50% da população num determinado período de tempo<sup>(73)</sup>. A EFSA definiu uma

CL<sub>50</sub> superior a 5 mg/L de ar para um período de exposição de 4 horas<sup>(78)</sup> e a FAO determinou uma CL<sub>50</sub> superior a 5,46 mg/L de ar para o mesmo tempo de exposição<sup>(79)</sup>.

## **10.2. Toxicidade crónica**

As exposições crónicas surgem em exposições ambientais continuadas, ocupacionais ou em estudos animais mais prolongados<sup>(58)</sup>.

A toxicidade crónica está associada a vários efeitos adversos na saúde humana, podendo afetar vários órgãos e sistemas do nosso organismo<sup>(97)</sup>. Estão incluídos efeitos no sistema endócrino, renal, respiratório, reprodutivo, desenvolvimento de cancro, entre outros<sup>(40)</sup>.

### **10.2.1. Hepatotoxicidade e nefrotoxicidade**

O fígado e o rim são considerados os principais órgãos responsáveis pelo metabolismo e eliminação de xenobióticos e poluentes ambientais, como é o caso do glifosato, apresentando maior vulnerabilidade aos seus efeitos tóxicos<sup>(98)</sup>.

Num estudo com ratos *Sprague-Dawley*, adicionaram-se várias concentrações de glifosato (*Roundup*®) à sua água de consumo, verificando-se que o fígado e o rim foram os órgãos mais afetados. No fígado foi detetada congestão hepática e necrose, com aumento da enzima GGT (Gama Glutamil Transferase), o que reflete uma disfunção deste órgão. Por outro lado, verificou-se um aumento da atividade de enzimas do citocromo P450 hepático, que são responsáveis pela síntese e metabolismo de xenobióticos (substâncias capazes de induzir efeitos nocivos no organismo). No rim, foi observada um aumento da concentração urinária de sódio e cloro e diminuição de creatinina urinária, evidenciando uma potencial doença renal crónica<sup>(99)</sup>.

Outro estudo verificou uma elevada prevalência de doença renal crónica em agricultores do Sri Lanka, cujos níveis de glifosato na urina eram elevados<sup>(100)</sup>.

### **10.2.2. Problemas respiratórios**

A rinite foi associada à utilização de glifosato entre os aplicadores profissionais e os agricultores<sup>(101)</sup>. Foi encontrada uma associação entre o uso de glifosato e o risco de asma atópica entre as mulheres agricultoras, mas não houve associação com asma não atópica<sup>(102)</sup>.

### **10.2.3. Problemas cardiovasculares**

Alguns estudos demonstraram os efeitos cardiotóxicos do glifosato, nomeadamente o aparecimento de arritmias após exposições repetidas a doses concentradas dos HBG<sup>(103, 104)</sup>.

### **10.2.4. Carcinogenicidade e genotoxicidade**

Existem evidências científicas limitadas e algumas controvérsias quanto à carcinogenicidade e genotoxicidade desta substância química nos seres humanos<sup>(105)</sup>. Estas divergências podem estar relacionadas com o tipo de estudo realizado, o método de colheita de dados e a utilização de informação científica mais ou menos robusta<sup>(106)</sup>.

Em 1985, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA), referiu que o glifosato era um “suspeito carcinogénico humano”, incluindo-o na categoria C. Após seis anos, este mesmo organismo demonstrou que, afinal, esta substância não tinha qualquer potencial carcinogénico (categoria E)<sup>(10)</sup>.

Entretanto, em setembro de 2015, a Agência Internacional de Pesquisa em Cancro (IARC), publicou um relatório em que classificava o glifosato como uma substância pertencente ao grupo 2A, ou seja, como sendo um potencial carcinogénico para o Homem<sup>(42)</sup>.

Diversos estudos confirmaram os efeitos adversos do glifosato na saúde, incluindo os processos envolvidos na génese do cancro. Em estudos *in vitro*, a injeção desta substância em doses elevadas promovia a quebra de cadeias de ADN (ácido desoxirribonucleico) e aumentava as alterações cromossómicas<sup>(107)</sup>.

Outro estudo relatou uma associação positiva entre o uso de glifosato e o linfoma de células B<sup>(94)</sup>.

Uma meta-análise evidenciou que indivíduos com exposição ocupacional a herbicidas que tivessem glifosato na sua formulação apresentariam maior risco de possuírem linfoma não-Hodgkin (LNH)<sup>(108)</sup>. Segundo a Associação Nacional de Conservação da Natureza (Quercus), Portugal apresenta uma taxa de mortalidade superior à média da UE, sendo considerado o sétimo país europeu onde mais se morre de LNH. O LNH é o 9º cancro mais frequente a nível nacional, surgindo 1700 novos casos anualmente<sup>(109)</sup>. Este tipo de exposição também pode aumentar o risco de mieloma múltiplo e leucemia<sup>(110, 111)</sup>.

Não obstante, nesse mesmo ano, a EFSA, após uma exaustiva análise de vários estudos científicos, concluiu que o glifosato não apresenta qualquer potencial genotóxico. Por outro

lado, se for utilizado de forma correta e de acordo com a sua finalidade não se espera que exista um risco carcinogénico, de acordo com o Instituto Federal de Avaliação de Risco Alemão (BfR)<sup>(78, 112)</sup>.

Em maio de 2016, a OMS e a FAO, também concluíram que era improvável que o glifosato fosse cancerígeno para os seres humanos, através da exposição dietética<sup>(105)</sup>.

Em março de 2017, foi adotada e tornada pública, a avaliação final e a opinião do Comité de Avaliação dos Riscos (RAC) da Autoridade Europeia das Substâncias Químicas (ECHA), relativa à classificação harmonizada do glifosato. Assim sendo, aquela entidade considerou que deve ser mantida a classificação atual da substância. No entanto, deve ser tida em consideração, a possibilidade do surgimento de efeitos adversos a nível ocular, assim como, a sua toxicidade crónica nos seres que vivem em ambiente aquático.

Face ao exposto, as evidências científicas disponíveis não sustentam o facto de este produto químico ser classificado como carcinogénico, mutagénico ou tóxico, dissipando assim, as conjeturas mencionadas pela IARC. Consequentemente surgiram várias polémicas em torno desta classificação, tendo sido necessário, a publicação de legislação que restringisse as condições de utilização do glifosato<sup>(113)</sup>.

Todavia, em 2019, a Agência para o Registo de Substâncias Tóxicas e Doenças dos Estados Unidos da América (ATSDR), emitiu um relatório onde mencionou que o glifosato apresenta um potencial risco de cancro. Nesse mesmo ano, a Monsanto pagou uma indemnização de 80 milhões de euros a Edwin Hardeman, um agricultor da Califórnia que desenvolveu o LNH, após décadas de exposição ao glifosato<sup>(94, 114)</sup>.

#### **10.2.5. Neurotoxicidade**

O glifosato pode atravessar a barreira hematoencefálica danificando o sistema nervoso e, consequentemente agravar o autismo e a doença de Alzheimer<sup>(47)</sup>. Além destes efeitos neurotóxicos, pode afetar a diferenciação axonal e o crescimento de neurónios<sup>(115)</sup>. Alguns estudos epidemiológicos relataram associações entre a proximidade residencial de grávidas a plantações pulverizadas com HBG e um aumento da probabilidade de defeitos do tubo neural do feto<sup>(116)</sup>. Por outro lado, filhos de aplicadores de pesticidas do género masculino, apresentam maior risco de possuírem um transtorno do deficit de atenção/hiperatividade (TDAH)<sup>(117)</sup>.

### 10.2.6. Desregulação endócrina

Um desregular endócrino (DE) é definido como sendo “uma substância ou mistura exógena que altera as funções do sistema endócrino e, conseqüentemente, causa efeitos adversos à saúde num organismo intacto, ou na sua descendência, ou (sub) populações”<sup>(118)</sup>. O glifosato não está incluído na listagem de químicos que são considerados disruptores endócrinos<sup>(78)</sup>. Contudo, diversos estudos têm constatado que a exposição a baixas concentrações desta substância poderá estar relacionada com alterações no sistema endócrino<sup>(58)</sup>. Esta substância pode afetar a atividade reprodutiva dos seres vivos, em particular a gravidez, ou pode interferir com a gametogênese<sup>(119)</sup>.

Um estudo realizado em ratos demonstrou que a exposição perinatal ao glifosato provocava alterações a nível do eixo hipotálamo-hipófise-tiróide, com diminuição dos níveis de TSH (Hormona Estimuladora da Tiróide)<sup>(120)</sup>.

Algumas evidências científicas constataram que o glifosato interage com o recetor de estrogénio e induz a atividade estrogénica em células de cancro de mama<sup>(121)</sup>. A exposição pós-natal a HBG originou uma redução na produção de testosterona em homens<sup>(122)</sup>. Em mulheres, a exposição pós-natal a HBG causou mudanças morfológicas e alterações na expressão de proteínas envolvidas no desenvolvimento uterino<sup>(123)</sup> e maior perda de embriões pós-implantação<sup>(124)</sup>. Estas alterações foram também demonstradas em populações da província argentina do Chaco, onde o arroz e a soja são frequentemente pulverizados com HBG<sup>(125)</sup>.

### 10.2.7. Toxicidade reprodutiva

Diversos estudos realizados em agricultores canadenses demonstraram que a exposição durante a gravidez pode causar aborto espontâneo tardio<sup>(47)</sup>.

Após a administração de Roundup® em ratos fêmeas, durante o período perinatal até ao momento da lactação, verificou-se que este HBG não induzia toxicidade materna. Todavia, originava problemas reprodutivos na descendência masculina, nomeadamente alterações na espermatogénese e dos níveis de testosterona em adultos<sup>(126)</sup>.

Um estudo realizado com ratos *in vivo* mostrou que a exposição a HBG promovia alterações no desenvolvimento uterino pós-natal, no período neonatal e pré - puberdade. Por sua vez, estas alterações poderiam afetar a fertilidade feminina e potenciar o desenvolvimento de neoplasias<sup>(127)</sup>.

### 10.2.8. Teratogenicidade

Estudos epidemiológicos realizados em humanos constataram que existe um acréscimo de malformações congénitas, abortos espontâneos, partos pré-termo e defeitos do tubo-neural, em locais onde são aplicadas grandes quantidades de HBG<sup>(128)</sup>.

Na tabela seguinte, encontram-se alguns estudos em seres humanos, que analisaram determinados efeitos provenientes da exposição aos HBG.

**TABELA 11** - Estudos populacionais para avaliar a associação da aplicação de HBG e os efeitos na saúde.

<b>População</b>	<b>Tipo de exposição</b>	<b>Efeitos na saúde</b>	<b>Referência bibliográfica</b>
Indivíduos com intoxicação por glifosato (n=93)	Intoxicação aguda oral	Morte (7/93); Lesões nos intestinos, pulmões, fígado, coração e rim.	(129)
População sueca (n=121)	Crónica	Aumento do risco de leucemia.	(130)
Habitantes rurais dos EUA (mulheres)	Crónica	Aumento do risco de aborto.	(131)
Filhos de aplicadores de pesticidas (n=1532)	Crónica	Associação entre a exposição ao glifosato e maior risco de anomalias congénitas e problemas de neurodesenvolvimento.	(132)
Aplicadores de pesticidas nos EUA (n=54609)	Crónica	Sem associação do enfarte de miocárdio.	(133)
Indivíduos com intoxicação por glifosato (n=13)	Intoxicação aguda oral	Morte (6/13); sintomas gastrointestinais (náuseas, vômitos, ulceração orofaríngea); arritmia cardíaca; insuficiência renal.	(134)
População com autismo (n=2961)	Crónica	Aumento do risco de autismo associado com exposição pré-natal ao glifosato e deficiência intelectual.	(135)

## II. OCORRÊNCIA DE GLIFOSATO EM ALIMENTOS

O ser humano está indiretamente exposto ao glifosato, através da ingestão de diferentes géneros alimentícios que contenham resíduos desta substância<sup>(136)</sup>. São exemplos, os frutos, os produtos hortícolas, as leguminosas, os cereais, os chás, os produtos de origem animal, entre outros<sup>(137)</sup>.

Conforme referido anteriormente, a UE tem estabelecido LMR para o glifosato, de forma a garantir a proteção e a segurança alimentar dos consumidores. Na Tabela 12, podem-se observar exemplos desses limites para alguns grupos de alimentos.

**TABELA 12** - Limites máximos de resíduos referentes ao glifosato em diversos alimentos<sup>(72)</sup>.

Grupo alimentar	Matriz alimentar	LMR glifosato (mg/kg)
Frutos secos ou congelados; frutos de casca rija	Laranjas e tangerinas	0,5
	Limões	0,1
	Nozes	0,1
	Uvas	0,5
	Morangos	0,1
	Azeitonas	1
Produtos hortícolas frescos ou congelados	Batatas	0,5
	Milho doce	3
	Ervilhas	0,1
	Cogumelos silvestres	50
Leguminosas secas	Feijões	2
	Lentilhas	10
	Tremoços	10
Sementes e frutos de oleaginosas	Amendoins	0,1
	Sementes de girassol	20
	Sementes de soja	20
	Frutos de palma	0,5
Cereais	Cevada	20
	Trigo (Espelta)	10
	Milho	1
	Arroz	0,1
Chá, café, infusões de plantas e cacau	Chá	2
	Grãos de café	0,1
	Infusões de plantas	2
Especiarias	Anis	0,1
	Vagens de baunilha	0,1
	Canela	0,1
Plantas açucareiras	Beterraba sacarina	15
	Cana-de-açúcar	0,1
Produtos de origem animal	Carne	0,05
	Leite	0,05
	Ovos	0,05
	Mel	0,05
Bebidas	Água	0,1 µg/L

Nos últimos anos, vários estudos publicados na literatura científica, em diversos países, reportam a ocorrência do glifosato em diferentes matrizes alimentares (Tabela 13).

Zooler *et al.* (2018) procederam à análise do glifosato em diferentes géneros alimentícios disponíveis no mercado suíço.

No que diz respeito às bebidas alcoólicas, nomeadamente na cerveja, verificou-se que duas das amostras analisadas (13%) apresentavam resíduos de glifosato acima do LOQ (0,0005 mg/kg). Por outro lado, todas as amostras de vinho estavam contaminadas com esta substância<sup>(138)</sup>.

Neste mesmo estudo, não foi detetada a presença do glifosato em águas de superfície<sup>(138)</sup>. Contudo, num estudo realizado no México, em 2017 foi possível verificar que as águas (subterrânea e engarrafadas) apresentavam valores não conformes<sup>(139, 140)</sup>.

De acordo com os resultados obtidos no estudo suíço conduzido por Zooler *et al.*, verificou-se que apenas as amostras de leite e ovos possuíam teores inferiores ao LOQ (0,0005 mg/kg). Quinze das dezasseis amostras de mel analisadas apresentavam teores superiores deste limite, mas inferiores ao LMR estabelecido, de 0,05 mg/kg. Relativamente às amostras de carne e peixe, cerca de 23% apresentavam resíduos de glifosato, apesar de nenhuma manifestar valores superiores ao LMR<sup>(77, 138)</sup>.

Quanto aos produtos hortícolas e tubérculos, Zooler *et al.* constataram a presença de resíduos de glifosato em 30% das amostras examinadas, com valores abaixo dos LMR estabelecidos para este tipo de géneros alimentícios, ou seja, 0,1 mg/kg e 0,5 mg/kg, definidos para legumes e batatas, respetivamente<sup>(77, 138)</sup>.

A presença de glifosato em valores superiores aos legalmente permitidos foi detetada em duas amostras de cereais de pequeno-almoço analisadas em França, em 2013<sup>(77, 141)</sup>. Um outro estudo realizado em Itália, em 2019, reportou teores de glifosato superiores ao valor do LMR estipulado (10 mg/kg), numa amostra de sementes de trigo<sup>(77, 142)</sup>.

No estudo suíço mencionado anteriormente, foi detetada a presença de glifosato em vinte e uma amostras de leguminosas, mas em teores inferiores ao legalmente permitidos (10 mg/kg)<sup>(77, 138)</sup>.

Os resultados obtidos em seis amostras de fruta, num estudo realizado em França, em 2017, refletem a ausência de vestígios de glifosato nas amostras analisadas<sup>(141)</sup>.

**TABELA 13** - Ocorrência de glifosato em várias matrizes alimentares.

<b>Matriz alimentar</b>	<b>País</b>	<b>Amostras</b>	<b>Amostras &gt; LOQ</b>	<b>Conc. mínima (mg/kg)</b>	<b>Conc. média (mg/kg)</b>	<b>Conc. máxima (mg/kg)</b>	<b>LOD/LOQ (mg/kg)</b>	<b>Referência bibliográfica</b>
<b>Bebidas</b>	Cerveja	15	2	<0,0005	0,0006	0,0068	LOQ: 0,0005	(138)
	Vinho	21	21	0,0006	0,0048	0,0189		
	Água de superfície	2	0	<0,0005	<0,0005	<0,0005	LOD: 0,05 LOQ: 0,13	(139)
	Água subterrânea	29	26	<0,00005	0,00094	0,0017		
	Água engarrafada	15	13	<0,00005	0,00048	0,00078		
<b>Produtos de origem animal</b>	Leite	3	0	<0,0005	<0,0005	<0,0005	LOQ: 0,0005	(138)
	Ovos	1	0	<0,001	<0,001	<0,001		
	Mel	16	15	<0,001	0,0046	0,0159	LOQ: 0,001	(138)
	Carne e peixe	13	3	<0,001	0,0008	0,0049		
	Batatas e legumes	10	3	<0,001	0,0013	0,0077	LOQ: 0,001	(138)
<b>Cereais e derivados</b>	Cereais de pequeno- almoço	2	2	0,006	0,02	0,034	LOQ: 0,005	(141)
	Sementes de trigo	1	1	243	243	243	LOQ: 0,1	(142)
<b>Leguminosas</b>	Leguminosas	41	21	<0,001	0,1733	2,948	LOQ: 0,001	(138)
<b>Frutos</b>	Frutos	6	0	<0,005	<0,005	<0,005	LOD: 0,0017 LOQ: 0,010	(141)

O Plano Nacional de Controlo de Resíduos de Pesticidas em Produtos de Origem Vegetal (PNCRPPOV) tem como finalidade, a divulgação da situação nacional respeitante aos resíduos de pesticidas nos géneros alimentícios de origem vegetal. Este plano baseou-se no Programa Coordenado Plurianual da UE para o triénio (2019-2021), definido pelo Regulamento de Execução (EU) n.º 2018/555, de 9 de abril. No total das amostras analisadas ocorreram 43 infrações relativas aos LMR (4,41%), mas nenhuma estava relacionada com o glifosato<sup>(143)</sup>.

Segundo o último relatório emitido em 2019 pelo Sistema de Alerta Rápido para Alimentos e Rações (RASFF), foram detetadas 253 amostras de alimentos com resíduos de pesticidas, mas nenhuma continha glifosato. A maioria destas notificações estava relacionada com o grupo “frutas e legumes”. O pesticida mais reportado foi o clorpirifos, um inseticida proibido na UE, devido à sua genotoxicidade e neurotoxicidade. O país que mais notificou foi a Bulgária, sendo que Portugal apenas apresentou 6 notificações relativas a pesticidas<sup>(144)</sup>.

## **11.1. Avaliação da exposição**

### **11.1.1. Ingestão Diária Aceitável**

A ingestão diária aceitável (ADI) é uma estimativa quantitativa de uma substância presente nos géneros alimentícios que pode ser consumida diariamente ao longo da vida, sem apresentar um risco apreciável para a saúde do consumidor. Geralmente é expressa em miligramas da substância por quilograma de peso corporal<sup>(145)</sup>. Esta estimativa deve ser estabelecida com base numa revisão completa da informação disponível, nomeadamente: propriedades bioquímicas, metabólicas e toxicológicas do pesticida<sup>(36)</sup>.

No ano de 2000, foi realizado um estudo no Reino Unido, com a finalidade de avaliar a exposição de crianças (1 a 6 anos) e adultos expostos ocupacionalmente ao glifosato, AMPA (metabolito mais tóxico) e POEA (surfatante mais tóxico) ao longo da sua vida, considerando o pior cenário possível (soma das exposições mais elevadas por via alimentar e outras vias de exposição)<sup>(39)</sup>.

Os aplicadores de HBG estão diretamente envolvidos durante a pulverização, de forma frequente. Todavia, as crianças apresentam uma maior exposição alimentar, uma vez que ingerem mais alimentos por quilograma de peso corporal face a outros grupos etários. Por outro lado, as crianças que habitem nas proximidades de campos agrícolas, apresentam maior probabilidade de estarem expostas a resíduos de pesticidas<sup>(39)</sup>.

Nesse mesmo estudo, a exposição crónica baseou-se na ingestão de géneros alimentícios e água potável que tivessem vestígios de HBG, para além das exposições resultantes da pulverização. A exposição aguda incluiu vias de exposição ocasionais, inadvertidas e involuntárias (ex.: consumo de frutos silvestres e cogumelos pulverizados inadvertidamente, nadar num tanque com resíduos de pesticidas)<sup>(39)</sup>.

Contudo, é expectável que a real exposição da população a estas substâncias químicas seja inferior aos valores obtidos, conforme demonstra a Tabela 14.

**TABELA 14** - Avaliação da exposição crónica de adultos e crianças ao glifosato, AMPA e POEA<sup>(39)</sup>.

Substâncias químicas	NOAEL (mg/kg p.c./dia)	Exposição crónica (mg/kg p.c./dia)		Margem de exposição	
		Adultos	Crianças	Adultos	Crianças
<b>Glifosato</b>	175	0,0323	0,052	5420	3370
	209			-	4020
<b>AMPA</b>	400	0,0048	0,0104	83300	38500
	<2,8			<583	<259
<b>POEA</b>	15	0,0325	0,026	461	577
	36			-	1380

De forma a proceder à avaliação do risco nestes grupos etários, foi calculada a margem de exposição (MOE), através do quociente do Nível Sem Efeitos Adversos Observáveis (NOAEL) pelas estimativas conservadoras alcançadas (pior cenário)<sup>(39)</sup>.

Relativamente ao glifosato, obtiveram-se valores de exposição crónica de 0,0323 mg/kg p.c./dia para os adultos e de 0,052 mg/kg p.c./dia para as crianças. A exposição ao metabolito AMPA oscilou de 0,0048 a 0,0104 mg/kg p.c./dia. A exposição crónica para o POEA foi de 0,0325 mg/kg de peso/dia para os adultos e de 0,026 mg/kg de peso corporal/dia para as crianças<sup>(39)</sup>.

Segundo o estudo citado, as três substâncias analisadas não produziram efeitos adversos na saúde humana, pelo que as mesmas não representaram um risco elevado para a saúde pública<sup>(39)</sup>.

Estimativas através do pior cenário possível requerem o uso dos LMR de glifosato e dos seus metabolitos nos géneros alimentícios, ou seja, a concentração mais elevada de resíduos que é permitida legalmente. Todavia, se fossem considerados os níveis reais de resíduos presentes nos géneros alimentícios ao invés dos LMR, assim como outros fatores (ex.: percentagem de cultura tratada, redução dos resíduos durante o armazenamento,

preparação, processamento e confeção; resíduos em porções comestíveis; padrões de consumo de alimentos), estas estimativas de exposição dietética seriam substancialmente reduzidas<sup>(36, 39)</sup>.

Assim, a previsão da ingestão de resíduos de pesticidas deve refletir os hábitos de consumo de alimentos a longo prazo e não as variações do dia-a-dia<sup>(36)</sup>.

Em 2015, a EFSA determinou que a ADI de glifosato seria de 0,5 mg/kg de peso corporal por dia. Esta estimativa foi calculada com base no NOAEL de 50 mg/kg p.c./dia, através de estudos de toxicidade em coelhos. Como são observadas respostas diferentes entre indivíduos de uma mesma espécie, espera-se que ocorram diferenças importantes nas respostas entre indivíduos de espécies diferentes. Nesse sentido, foi aplicado um fator de incerteza (FI) de 100, tendo em consideração a variabilidade inter e intra- espécies. Esta variabilidade pode ser determinada pelo estado fisiológico ou pela composição genética do organismo<sup>(36, 40, 78)</sup>.

## **12. COMPORTAMENTO E DESTINO DO GLIFOSATO NO AMBIENTE**

A utilização intensiva de HBG tem originado um crescente nível de resíduos no ambiente, designadamente no solo, no ar, no meio aquático (lençóis freáticos, lagos e rios) e nos alimentos. Alguns estudos indicam que o glifosato pode ser disperso no ambiente pela erosão hídrica e eólica do solo. O seu principal produto de biodegradação ambiental é o AMPA. Vários estudos laboratoriais demonstraram que cerca de 45% desta substância química presente no solo, pode ser absorvido pelas plantas. Geralmente, a presença de glifosato no meio ambiente pode persistir de 4 a 180 dias, tornando-o poluente para o solo e para a água<sup>(10, 42, 66, 146-149)</sup>. A degradação do glifosato pode ser feita através da ação de microrganismos, da fotodegradação e da degradação química<sup>(72)</sup>.

### **12.1. No solo**

A permanência de glifosato no solo pode oscilar de dias a meses<sup>(4)</sup>, dependendo da interação estabelecida entre o solo e as condições ambientais existentes (ex.: precipitação, vento, temperatura)<sup>(72)</sup>. As propriedades físico-químicas do solo, designadamente a acidez, a textura e quantidade de matéria orgânica existente são fatores que influenciam amplamente a reação de adsorção do glifosato no solo<sup>(150, 151)</sup>. É fortemente adsorvido pela argila e pela matéria orgânica, ficando relativamente imóvel no solo e inacessível à degradação microbiana, acumulando-se no meio terrestre ao longo do tempo<sup>(152-154)</sup>. Assim, em solos argilosos, o glifosato e o seu principal metabolito podem persistir mais de um ano neste meio e

desaparecer rapidamente em solos arenosos<sup>(153, 154)</sup>. Por outro lado, a capacidade de adsorção desta substância química e do seu metabolito, diminui com o aumento do pH, salinidade e temperatura do solo<sup>(155)</sup>. Relativamente à sua mobilidade no solo, constatou-se que o AMPA é mais móvel, sendo frequentemente detetado tanto em águas superficiais como subterrâneas<sup>(156, 157)</sup>.

## **12.2. Na água**

A precipitação mais intensa e o fenómeno de erosão são responsáveis pelo transporte de glifosato e AMPA para as águas superficiais. Por sua vez, estas substâncias acabam por incorporar-se nos sedimentos do fundo dos lagos/rios, através do processo de lixiviação, onde a sua degradação é mais lenta<sup>(72)</sup>.

## **12.3. No ar**

Devido à sua forte afinidade com as superfícies sólidas, o glifosato pode contaminar as partículas de poeira existentes no ar e ser depositado na neve<sup>(97, 158)</sup>. Também foram detetados vestígios desta substância na poeira de casas “não agrícolas”<sup>(159)</sup>.

## **13. EFEITOS NO MEIO AMBIENTE**

Alguns microrganismos utilizam o glifosato como fonte de nutrientes e energia. Todavia, constatou-se que solos tratados com HBG apresentam um acréscimo populacional de determinadas espécies de bactérias e fungos, alterando as funções do ecossistema terrestre e prejudicando a saúde das espécies vegetais<sup>(55)</sup>. Devido às suas propriedades quelantes, o glifosato pode formar complexos metálicos, dificultando a absorção de nutrientes pelas plantas<sup>(10)</sup>. Nas culturas geneticamente modificadas e tolerantes ao glifosato tem-se verificado que os agricultores aumentam a dose e a frequência da aplicação de HBG. Esta adição tem contribuído para o aparecimento e disseminação generalizada de espécies infestantes resistentes ao glifosato, exigindo que os agricultores pulverizem herbicidas adicionais<sup>(88)</sup>. Nesta figura, podem ser observadas as principais vias de poluição ambiental do glifosato.

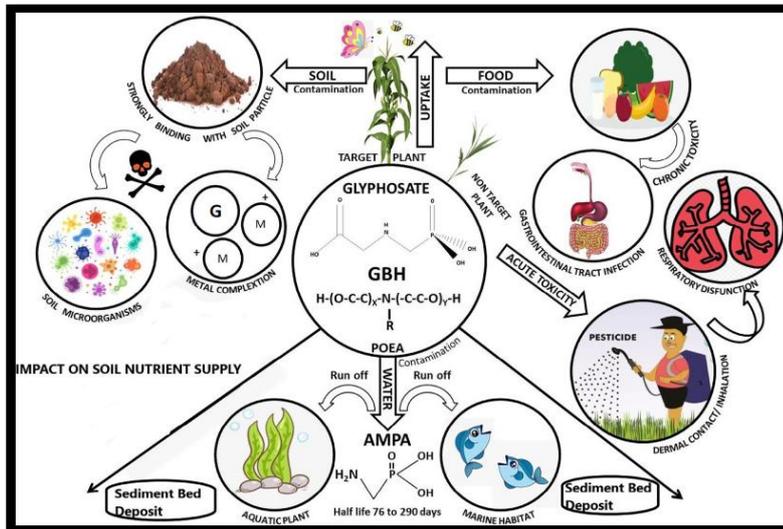


FIGURA 22 - Vias de poluição ambiental do glifosato<sup>(2)</sup>.

Num estudo, foram analisadas várias amostras de água, tendo sido detetados resíduos de glifosato e AMPA em quantidades de 15% e 12%, respetivamente<sup>(160)</sup>. Segundo o Decreto-Lei n.º 306/2007 de 27 de agosto, na sua redação atual, as entidades gestoras devem “controlar os pesticidas cuja presença seja provável numa determinada zona de abastecimento, tendo em conta a localização das suas origens de água”<sup>(161)</sup>. Apesar do glifosato não preencher a totalidade de critérios estabelecidos para a seleção de pesticidas a explorar em águas destinadas a consumo humano (ex.: baixa mobilidade no solo), aconselha-se que a sua pesquisa seja realizada uma vez por ano, em águas destinadas a consumo humano com origem superficial<sup>(162)</sup>.

Esta substância química também pode afetar a comunidade microbiana marinha. A concentração de HBG encontrada nas zonas costeiras pode ser suficiente para causar mudanças notáveis no ecossistema, influenciando a transferência de biomassa para os diferentes níveis tróficos<sup>(163)</sup>. A adição de glifosato em tecidos vegetais de *Lemna minor* (lentilha-d'água comum) originou uma redução da sua produção e do seu crescimento, impedindo a síntese de carotenoides e clorofila<sup>(164)</sup>.

Por outro lado, estas formulações foram consideradas tóxicas para vários seres vivos, como minhocas, peixes, anfíbios, répteis, pássaros, entre outros<sup>(72)</sup>. A existência de solos tratados com HBG pode ser prejudicial para as minhocas, causando danos às células e ao ADN<sup>(165)</sup>. Estudos sugerem que o glifosato apresenta toxicidade cardiovascular e neurotoxicidade em peixes (ex. peixe-zebra). Não obstante, esta substância química pode também afetar a sua

fertilidade, reduzindo a qualidade do esperma e interferindo com o comportamento natatório dos peixes juvenis e adultos<sup>(47)</sup>. Em mexilhões, foi demonstrada que a exposição a glifosato “puro” (1-676 mg/L) suprimiu a atividade da acetilcolinesterase, fomentando o aparecimento de problemas neurológicos<sup>(166)</sup>. Em anfíbios, induziu alterações morfológicas no desenvolvimento do girino, modificando as suas respostas anti predadoras<sup>(167)</sup>. A exposição da enguia europeia a uma concentração de 3,6 mg/L durante 4 horas provocou danos no ADN, brânquias e fígado<sup>(168)</sup>. No México, foi constatado um aumento da mortalidade das abelhas, junto das culturas onde era aplicado HBG<sup>(169)</sup>. Foram correlacionadas situações de infertilidade e malformações fetais com concentrações detetáveis deste xenobiótico no fígado e rins e com resíduos na alimentação, em suínos<sup>(170)</sup>.

Outros estudos relacionados com os impactos do glifosato no meio ambiente estão ilustrados na tabela seguinte.

**TABELA 15** - Estudos sobre os efeitos no ambiente<sup>(55)</sup>.

<b>Ser vivo/fonte de água</b>	<b>Resultados obtidos</b>	<b>Referência bibliográfica</b>
<b>Ratos e murganhos</b>	Não é cancerígeno.	(171)
<b>Ratos</b>	Alterações neurocomportamentais.	(172)
<b>Bovinos e caprinos</b>	Alterações gastrointestinais e neurológicas. Os rins e o trato gastrointestinal foram os órgãos-alvo mais afetados.	(173)
<b>Suínos dinamarqueses</b>	Diminuição da taxa de sobrevivência de leitões. Malformações nos leitões	(173)
<b>Água de superfície (Europa)</b>	O glifosato foi detetado em cerca de 30% das amostras, sendo que 23% estavam acima de 0,1 µg/L. O AMPA foi detectado em cerca de 50% das amostras, sendo que 45% estavam acima de 0,1 µg/L.	(174)
<b>Furos (Dinamarca)</b>	O glifosato e o AMPA foram encontrados em concentrações acima de 0,1 µg /L, com 26,7% e 38,2%, respetivamente.	(175)
<b>Lençóis freáticos</b>	O glifosato foi encontrado em todas as amostras de água subterrânea: 1,42 µg /L.	(176)

#### **14. CUIDADOS NA MANIPULAÇÃO E APLICAÇÃO DE PRODUTOS FITOFARMACÊUTICOS**

Devem ser tomadas algumas medidas de prevenção e proteção, com o intuito de minimizar possíveis riscos provenientes da manipulação e aplicação de produtos fitofarmacêuticos, especialmente dos HBG que são o alvo deste estudo. Dessas medidas, destacam-se as seguintes<sup>(71)</sup>:

- O local de armazenamento deve ser isolado e estar sinalizado. Deve possuir ventilação, piso impermeável e dotado de bacia de retenção;
- Os HBGs devem ser conservados na sua embalagem de origem ou em recipientes hermeticamente fechados e devidamente rotulados;
- O local da sua preparação deve ser feito longe das habitações, animais e sem a presença de crianças;
- Ler atentamente o rótulo, respeitando as suas indicações (dose, modo de preparação da calda, espécie-alvo, intervalo de segurança);
- Não comer, beber ou fumar no momento em que se manipula e/ou se aplica o herbicida;
- Os indivíduos que possuam feridas ou lesões na pele não devem estar expostos;
- Ter atenção às condições meteorológicas no momento da aplicação, uma vez que podem afetar a eficácia e segurança do tratamento (temperatura, humidade, velocidade do vento);
- Utilização de Equipamentos de Proteção Individual (EPI), como óculos, máscara, luvas, fato de proteção e botas;
- Limpar e fazer a manutenção de todo o equipamento utilizado durante a preparação e aplicação;
- Lavar todo o EPI utilizado.

## 15. PROCESSO DE RENOVAÇÃO DO GLIFOSATO

Em 2017, a CE permitiu o uso de glifosato na UE por um período de cinco anos, ou seja, até 15 de dezembro de 2022. Contudo, esta autorização está sujeita a um processo de avaliação de risco deste ingrediente ativo, que será efetuado por várias entidades<sup>(177)</sup>.

Em 10 de maio de 2019, a CE nomeou um Grupo de Avaliação do Glifosato (GAG), constituído por 4 estados membros (França, Hungria, Países Baixos e Suécia)<sup>(178)</sup>. Este grupo de trabalho ficou responsável pela avaliação científica de um conjunto de informações/estudos científicos relevantes, submetidos pelo Grupo de Renovação do Glifosato (GRC), em 8 de junho de 2020<sup>(179)</sup>.

Entretanto, em 15 de junho de 2021, o GAG apresentou à EFSA e à ECHA, um relatório preliminar com as suas avaliações relativamente às informações fornecidas pelo GRC<sup>(178)</sup>. O GAG considerou que as informações que foram disponibilizadas sobre o glifosato cumpriam com os critérios de aprovação estabelecidos no Regulamento (CE) n.º 1107/2009, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 21 de outubro. Por outro lado, este grupo de avaliação manteve a classificação do glifosato que tinha sido adotada pela ECHA: “causa danos oculares graves e é “tóxico para a vida aquática com efeitos duradouros”<sup>(180)</sup>.

A EFSA e a ECHA irão organizar consultas públicas sobre o projeto deste relatório, na primeira semana de setembro. Assim que a ECHA tiver emitido o seu parecer, a EFSA finalizará a sua avaliação com a revisão de pares e publicará as suas conclusões. Por fim, a CE tomará uma decisão sobre a renovação do glifosato, baseando-se na avaliação de risco destas entidades<sup>(178)</sup>.

## 16. BIOMONITORIZAÇÃO HUMANA

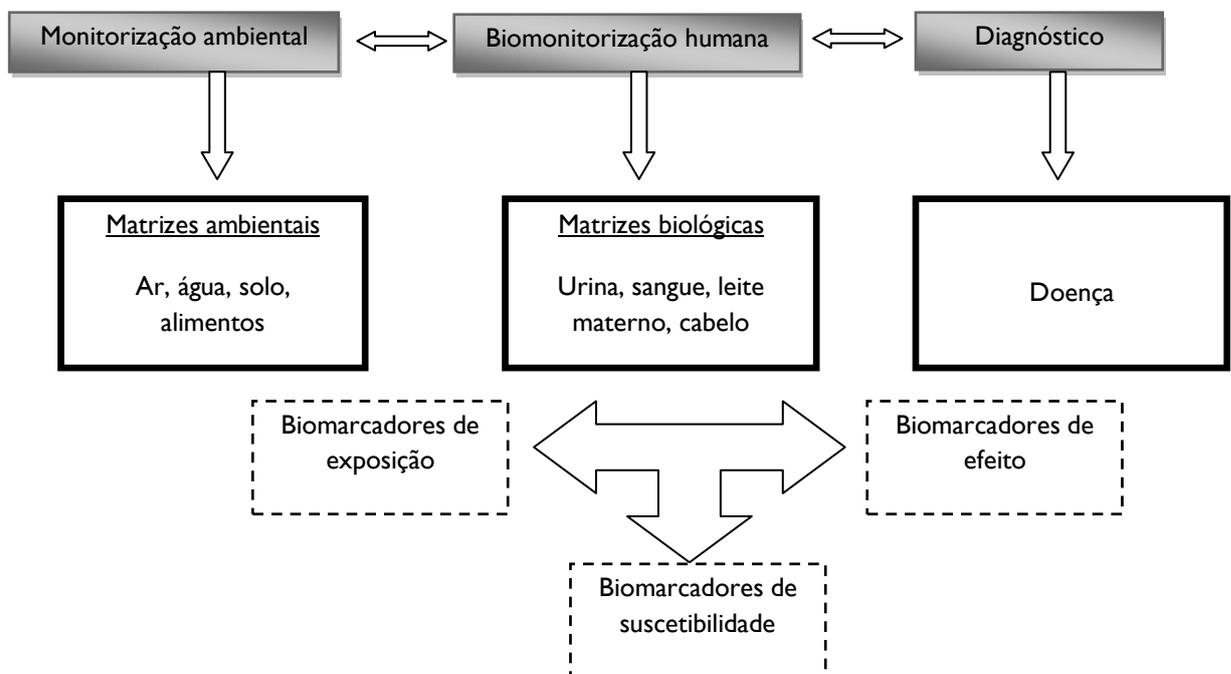
A sociedade está constantemente exposta a diversas substâncias químicas que podem estar presentes na alimentação, nos produtos de consumo, no ambiente e no local de trabalho<sup>(41)</sup>.

Como já foi referido anteriormente, a utilização frequente de HBG tem contribuído para um aumento da exposição ambiental e humana ao glifosato e ao seu principal metabolito, assim como, aos vários adjuvantes usados nesta tipologia de herbicidas, resultando em vários efeitos nocivos no organismo<sup>(181)</sup>. Para tal, deve-se ter em consideração a proteção da saúde relativamente aos riscos decorrentes das várias vias de exposição, com o intuito de prevenir certas doenças já mencionadas neste trabalho. Assim, surgiu a Iniciativa Europeia de Biomonitorização Humana (HBM4EU) financiada pela UE e coordenada pela Agência Federal do Ambiente Alemã. Este projeto tem como principal objetivo, estabelecer evidências sobre a exposição dos cidadãos europeus a substâncias químicas e os seus potenciais efeitos na saúde. Por sua vez, os dados provenientes da biomonitorização humana (BHM) contribuem para apoiar o processo de gestão do risco, fornecendo informações e orientações na tomada de decisões no âmbito da promoção da saúde<sup>(40)</sup>.

Nesse sentido, existem dois tipos de abordagem que podem ser aplicados, como a monitorização ambiental e a BMH (Figura 23). A monitorização ambiental consiste na determinação de substâncias químicas em matrizes ambientais, como a água, o ar, o solo e os alimentos<sup>(182)</sup>. A BHM é uma ferramenta essencial em estudos de diversas áreas científicas, como a epidemiologia, a toxicologia e a química analítica<sup>(183)</sup>. Esta abordagem de avaliação interna é bastante relevante, uma vez que pretende averiguar a exposição humana aos diferentes produtos químicos, tendo em consideração todas as vias de exposição, assim como a população que está mais exposta, identificando os indivíduos mais vulneráveis. Por sua vez, são usadas diferentes matrizes biológicas (urina, sangue, cabelo, leite materno) para que se possa obter uma avaliação das diferentes substâncias envolvidas, dos seus metabolitos ou dos seus produtos de reação, através da análise dos biomarcadores de exposição<sup>(41, 182)</sup>. A seleção destas matrizes é efetuada de acordo com as características do xenobiótico, sendo que o sangue e a urina são as amostras biológicas mais utilizadas. O sangue é uma matriz ideal para a análise da maioria dos produtos químicos, pois o plasma está em contacto com todos os tecidos e órgãos do corpo, sendo útil para a determinação de pesticidas persistentes (ex.: organoclorados). Contudo, a colheita de sangue é um processo invasivo e necessita de pessoal com formação. Para avaliar a exposição a pesticidas não persistentes (ex.: piretróides, organofosforados), ou seja, que têm um tempo de vida curta no organismo e por isso são encontrados em baixas concentrações no sangue, deve-se proceder à colheita

de urina. No entanto, devido à variabilidade da concentração e à rápida eliminação dos compostos químicos através desta matriz, só é possível avaliar exposições a curto prazo. Para colmatar estas limitações, é útil fazer-se a colheita de cabelo, já que é possível detetar diferentes classes químicas de pesticidas nesta matriz, obtendo-se “janelas de deteção” mais longas que podem representar vários meses de exposição. O leite materno é geralmente utilizado na monitorização da mãe e da exposição infantil a pesticidas organoclorados lipofílicos e outros poluentes orgânicos persistentes<sup>(184, 185)</sup>.

Apesar de a BMH compreender essencialmente uma análise da exposição do indivíduo às várias substâncias químicas, são utilizados outros indicadores, como os biomarcadores de suscetibilidade e de efeito, de modo a obter-se uma relação contínua entre a exposição ambiental e a doença. Os biomarcadores de suscetibilidade refletem as características intrínsecas de um organismo que são determinadas essencialmente pela constituição genética de cada indivíduo, tornando-o mais ou menos suscetível aos efeitos adversos de uma determinada substância química. Por outro lado, os biomarcadores de efeito permitem caracterizar os efeitos biológicos no organismo, como lesões no genoma, alterações do metabolismo, resultantes da exposição a substâncias tóxicas. Estas alterações podem ser quantificadas através de parâmetros bioquímicos e fisiológicos (colesterol, glicose, níveis de iões)<sup>(41, 182, 186)</sup>.



**FIGURA 23** - Monitorização ambiental e BHM.

## 16.1. Estudos de Biomonitorização Humana

A detecção e quantificação do glifosato são dispendiosas e lentas, uma vez que esta substância não pode ser detetada através de métodos que analisam simultaneamente diferentes tipos de produtos químicos e seus metabolitos, num único ensaio<sup>(97)</sup>. O desafio em detetar resíduos de glifosato deve-se essencialmente às suas características físico-químicas, como o seu carácter anfotérico, a elevada solubilidade em meio aquoso, a baixa solubilidade em solventes orgânicos, a elevada polaridade e a baixa volatilidade<sup>(187-190)</sup>. Também a ausência de grupos cromóforos que absorvam na região do ultravioleta e visível, não permite a detecção desta substância<sup>(191)</sup>. Nesse sentido, têm sido desenvolvidas diversas metodologias analíticas para detetar e quantificar resíduos de glifosato em diferentes matrizes. Destacam-se as seguintes: cromatografia líquida (LC); cromatografia líquida de elevada eficiência (HPLC), cromatografia gasosa (GC); cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS), cromatografia iónica e o ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA)<sup>(97)</sup>. Existem poucos estudos sobre os níveis de exposição ao glifosato em populações potencialmente expostas a nível ocupacional, ambiental e residencial. De forma a colmatar esta lacuna científica são necessários estudos adicionais para avaliar os níveis desta substância química e os seus metabolitos, e assim, garantir uma caracterização de risco mais precisa<sup>(12)</sup>.

Os níveis médios de glifosato urinário em indivíduos ocupacionalmente expostos podem oscilar entre valores de 0,26 a 73,5 mg/L, enquanto que os níveis urinários devido à exposição ambiental são cerca de 0,16 e 7,6 mg/L<sup>(12)</sup>. Um estudo realizado na China Oriental, em 2020, analisou a urina de 134 trabalhadores que laboravam na zona de produção de pesticidas, em quatro fábricas. A concentração máxima de glifosato urinário foi de 17,2 mg/L, com uma mediana de 0,292 mg/L. A concentração urinária de AMPA foi de 2,730 mg/L com uma mediana de 0,068 mg/L. Os valores médios oscilaram entre 0,262 mg/L e 0,072 mg/L para glifosato e AMPA, respetivamente<sup>(192)</sup>. Em Portugal, os primeiros estudos de biomonitorização humana para a detecção de glifosato, foram realizadas pela Plataforma Transgénicos Fora, em colaboração com o Detox Project. Foi feita uma medição deste ingrediente ativo na urina, em 26 voluntários, sendo que todas as amostras foram positivas para a presença de glifosato. O valor médio de glifosato na urina destes participantes foi de 26,2 ng/mL. Por sua vez, os valores encontrados oscilaram entre 12,5 e 32,5 ng/mL<sup>(193)</sup>. Um estudo analisou de forma retrospectiva, amostras de urina congelada de dez homens e dez estudantes do género feminino colhidas nos anos de 1996 e 2012, na Alemanha. O LOQ do método de ensaio foi de 0,15 µg/L. Foi excedido para o glifosato, em 22 das 40 amostras totais, com um valor máximo de 0,65 µg/L. Para o AMPA, 10 dos 40 resultados foram

superiores ao LOQ, com um valor máximo de 1,31  $\mu\text{g/L}$ <sup>(194)</sup>. Para além da realização destes estudos de biomonitorização humana, foram realizados outros, conforme a tabela seguinte.

66 TABELA 16 - Estudos de biomonitorização humana<sup>(12)</sup>.

Pais/ano	Participantes	Matriz	Método analítico	LOD/LOQ (µg/L)	Resultados obtidos	Referência bibliográfica
Alemanha (2001 - 2015)	399 indivíduos com 20-29 anos	Urina	GC - MS - MS	LOQ <sub>Glifosato</sub> e <sub>AMPA</sub> : 0,1 µg/L	<u>Glifosato</u> 127 amostras (31,8%) > LOQ; homens com níveis mais altos. <u>AMPA</u> 160 amostras (40,1%) > LOQ	(44)
Tailândia (2011)	82 mulheres grávidas entre os 19 e os 35 anos	Leite materno e soro do cordão umbilical	HPLC	LOD <sub>Glifosato</sub> : 0,4 µg/L LOD <sub>AMPA</sub> : NR	<u>Glifosato</u> 46,3% de amostras de soro materno < LOD. 50,7% de amostras do soro do cordão umbilical < LOD AMPA: NR	(195)
EUA (Washington E Idaho -2014 - 2015)	41 mulheres lactantes com idade > 18 anos	Leite materno (41 amostras) e urina (40 amostras)	HPLC - MS	<u>Leite</u> LOD <sub>Glifosato/AMPA</sub> : 1 µg/L LOQ <sub>Glifosato/AMPA</sub> : 10,0 µg/L <u>Urina</u> LOD <sub>Glifosato/AMPA</sub> : 0,02 µg/L/0,03 µg/L LOQ <sub>Glifosato/AMPA</sub> : 0,10 µg/L	<u>Glifosato</u> Leite: < LOD Urina: detetável em 37 amostras (0,28 ± 0,38 µg/L) <u>AMPA</u> Leite: < LOD Urina: (0,30 ± 0,33 µg/L)	(196)
Irlanda (2017)	47 adultos s/ dieta específica e s/ ocupação que envolvesse aplicação de pesticidas	Urina	LC - MS - MS	LOD <sub>Glifosato</sub> : 0,5 µg/L LOD <sub>AMPA</sub> : NR	<u>Glifosato</u> : 10 amostras (21%) > LOD; 6 amostras de mulheres e 3 de homens. Mediana: 0,87 µg/L, com um valor mínimo de 0,80 µg/L e um valor máximo de 1,35 µg/L. AMPA: NR	(197)
EUA (Carolina do Sul,	48 agricultores, 48 cônjuges, 79 filhos (4 - 18 anos	Urina	HPLC	LOD <sub>Glifosato</sub> : 1 µg/L LOD <sub>AMPA</sub> : NR	<u>Glifosato</u> Agricultores:	(198)

Minnesota)	de idade), na véspera, no dia da aplicação e 3 dias mais tarde	Urina			<p>Dia da aplicação: <b>60% &gt; LOD</b>; 3° dia após aplicação: <b>27% &gt; LOD</b></p> <p><u>Cônjuges:</u> Véspera da aplicação: <b>2% &gt; LOD</b>; Dia da aplicação: <b>4% &gt; LOD</b>; 3° dia após aplicação: <b>2% &gt; LOD</b></p> <p><u>Crianças:</u> Véspera da aplicação: <b>7% &gt; LOD</b>; Dia da aplicação: <b>12% &gt; LOD</b>; 3° dia após aplicação: <b>5% &gt; LOD</b></p> <p>AMPA: NR</p>	
México	76 agricultores	Urina	Elisa	<p>LOD<sub>Glifosato</sub>: 0,05 µg/L LOD<sub>AMPA</sub>: NR</p>	<p>O valor médio de glifosato observado na urina dos agricultores foi de <b>0,26 µg/L</b>.</p>	(199)
França	1 agricultor e família (esposa e 3 filhos) que aplicam HBG	Urina	LC-MS	<p>LOD<sub>Glifosato</sub>: 1 µg/L LOD<sub>AMPA</sub>: NR</p>	<p><u>Agricultor:</u> 7h após a aplicação: <b>9,5 µg/L</b> 2 dias após aplicação: <b>2 µg/L</b></p> <p><u>Filho:</u> 2 dias após a aplicação: <b>2 µg/L</b></p> <p>Mãe e os outros 2 filhos não tinham níveis detetáveis de glifosato.</p>	(200)
Irlanda (2015)	Horticultores antes e após aplicação (17 homens e 1 mulher)	Urina	LC-MS-MS	<p>LOD<sub>Glifosato</sub>: 0,5 µg/L LOD<sub>AMPA</sub>: NR</p>	<p><u>Glifosato</u> Pré- aplicação: <b>0,71 ± 0,92 µg/L</b> Pós-aplicação: <b>1,35 ± 2,18 µg/L</b></p>	(201)
Sri Lanka	10 agricultores	Urina	Elisa	<p>LOD<sub>Glifosato</sub>: 0,6 µg/L</p>	<p>AMPA: NR Os níveis médios de glifosato urinário foram de <b>73,5 µg/L</b></p>	(202)

Portugal (2018)	saudáveis de regiões endémicas de doença crónica renal	Urina		LOD <sub>AMPA</sub> : NR	(intervalo: 40,2-80,0 µg/L). AMPA: NR	
	46 adultos (julho) 33 adultos (outubro) Foram excluídos indivíduos com dieta específica (vegetariana ou vegan) e expostos ocupacionalmente		GC-MS-MS HPLC-MS/MS	LOD <sub>Glifosato/AMPA</sub> : 0,03 µg/L LOQ <sub>Glifosato/AMPA</sub> : 0,1 µg/L  LOD <sub>Glifosato</sub> : 0,02 µg/L LOD <sub>AMPA</sub> : 0,013 µg/L  LOQ <sub>Glifosato/AMPA</sub> : 0,05 µg/L	1ª fase (julho) - 28% e 50% tinham níveis detetáveis de glifosato/AMPA: 0,25 e 0,16 µg/L, respetivamente. 2ª fase (outubro) - 73% e 97% possuíam níveis detetáveis de glifosato/AMPA: 0,13 e 0,10 µg/L, respetivamente.	(205)

## 17. A PROTEÇÃO INTEGRADA

De forma a controlar eficazmente o surgimento das várias infestantes torna-se necessário modificar o tipo de agricultura praticado, introduzindo novas técnicas agrícolas ou, em alternativa, substituir esta substância química por outra menos nociva<sup>(105)</sup>.

Nesse contexto, a proteção integrada procura controlar os “inimigos” de uma determinada cultura de forma económica, eficaz e com menores riscos para o Homem e para o ambiente. Deste modo, privilegia o desenvolvimento de “culturas saudáveis” e estimula a adoção racional de meios de luta disponíveis (culturais, biológicos, biotécnicos e químicos), com a finalidade de manter as populações que afetam os ecossistemas agrícolas com níveis que não causem prejuízos<sup>(203)</sup>.

São vários os princípios que podem ser aplicados, tais como<sup>(105, 204)</sup>:

### 1. Medidas de prevenção e/ou controlo dos organismos nocivos

- Rotação de culturas.
- Técnicas adequadas de cultivo (ex.: enrelvamento, sementeira direta e poda).
- Sementes certificadas.
- Utilização equilibrada de práticas de fertilização e de irrigação/drenagem.
- Proteção e reforço de organismos úteis importantes (ex.: infraestruturas ecológicas incluindo bordaduras com vegetação espontânea).

### 2. Métodos e instrumentos de monitorização adequados

- Observações “*in loco*”.
- Aconselhamento técnico.

### 3. Tomada de decisão

- Aplicação ou não de medidas fitossanitárias e em que momento, tendo em consideração os resultados da monitorização e a estimativa do risco.

### 4. Métodos de controlo não químico (luta física; cultural; biológica; biotécnica)

- Luta física (ex.: mobilização e nivelamento do solo; controlo mecânico das infestantes através da monda manual ou com o auxílio de alfaias agrícolas; processos térmicos).

- Luta cultural (ex.: fertilização; enterramento de frutas contaminados com a mosca da fruta; seleção de espécies).
- Luta biológica (ex.: largada de auxiliares que contribuem para a diminuição considerável da população das pragas de determinada cultura - ouriço cacheiro; coruja; sapo; joaninhas...).
- Luta biotécnica (ex.: colocação de difusores/armadilhas que libertam feromonas e promovem a confusão sexual entre os insetos, permitindo a sua captura).

#### 5. Aplicar produtos fitofarmacêuticos mais seletivos

- Seleção do produto fitofarmacêutico para o alvo biológico em causa e que apresente reduzidos efeitos secundários no Homem e no meio ambiente.

#### 6. Reduzir o uso de produtos fitofarmacêuticos

- Aplicar a dose mínima indicada no rótulo, reduzindo o número de aplicações.
- Optar por aplicações parciais ou localizadas.

#### 7. Recorrer a estratégias anti resistência

- Meios de luta culturais.
- Respeitar as indicações mencionadas no rótulo do produto fitofarmacêutico (dose, época e número de aplicações).

#### 8. Verificar o êxito das medidas fitossanitárias aplicadas

- Com base nas informações registadas no “caderno de campo”, deve ser avaliado o sucesso das medidas que foram descritas neste conjunto de princípios.



## **19. PARTE EXPERIMENTAL**

### **19.1. Objetivos do estudo**

Os HBG são frequentemente utilizados a nível mundial, nomeadamente na agricultura, silvicultura e jardinagem. Nesse sentido, toda a população estará potencialmente exposta a esta tipologia de herbicidas, e, conseqüentemente poderão surgir efeitos deletérios na saúde humana. Por outro lado, a utilização intensiva e inadequada de HBG pode ser prejudicial para o meio ambiente (ex.: poluição dos recursos hídricos e solo; alteração dos ecossistemas).

Como já mencionado anteriormente, existe uma certa controvérsia entre algumas entidades, como a IARC e a EFSA, relativamente aos efeitos toxicológicos desta substância ativa. Desta forma, torna-se imperativo o desenvolvimento de estudos científicos, com o intuito de promover uma avaliação de risco harmonizada na população exposta ao glifosato.

A região do Baixo Mondego apresenta uma vasta cultura agrícola (ex.: arroz, milho, etc.), onde são aplicados diferentes pesticidas, incluindo os HBG, pelo que a população residente possui uma maior probabilidade de exposição a estas substâncias químicas.

Face ao exposto, o presente estudo, apresenta os seguintes objetivos:

- Conhecimento das características físico-químicas do glifosato;
- Identificação das principais vias de exposição da população aos HBG;
- Enumeração dos efeitos na saúde humana e ambiental;
- Avaliação do grau de exposição de indivíduos adultos residentes na zona do Baixo Mondego (Alhadas, Maiorca e Montemor - o - Velho), através da análise cromatográfica de amostras de urina e da aplicação de um questionário socioeconómico e alimentar;
- Promoção de sessões de sensibilização e esclarecimento sobre os pesticidas.

## **19.2. Amostragem**

A colheita de amostras de urina foi realizada nos meses de fevereiro e junho de 2020, na região do Baixo Mondego, designadamente nas zonas de Maiorca, Alhadas e Montemor - o - Velho. Estas duas fases de colheita foram escolhidas, tendo em consideração a época de aplicação de pesticidas na cultura orizícola.

Foram colhidas 74 amostras de urina de indivíduos adultos agricultores e não agricultores, em dois momentos distintos: 37 amostras no inverno e 37 amostras no verão. É de salientar que os indivíduos que participaram na primeira fase do estudo também cooperaram na segunda fase. Por outro lado, recorreram-se aos seguintes critérios de inclusão: indivíduos com idade superior a 18 anos (inclusive) e que residissem no Baixo Mondego.

Inicialmente foi feita uma breve abordagem dos vários pressupostos do estudo de investigação, na qual foi solicitado aos participantes, que assinassem um termo de consentimento informado, livre e esclarecido, de acordo com a OMS, a declaração de Helsínquia e a convenção de Oviedo. Este projeto teve a aprovação da Comissão de Ética e Bem-Estar Animal da Escola Universitária Vasco da Gama (EUVG; parecer n.º1/2019).

O questionário subdividiu-se em três partes, onde se pretendiam obter informações relativas aos dados antropométricos e características individuais; dados sociodemográficos e relacionados com o consumo de alimentos nos últimos 7 dias previamente à colheita de urina.

Após o preenchimento do questionário, os participantes foram elucidados dos cuidados a ter no momento da colheita de urina. Foi colhida a primeira urina da manhã, após descarte do primeiro jacto, em frascos pré-etiquetados com códigos numéricos para garantir o anonimato dos participantes. Entretanto, essas amostras foram refrigeradas e entregues na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, onde foram posteriormente congeladas a -20°C.

## **19.3. Materiais utilizados**

### **19.3.1. Padrões e reagentes**

Os padrões (glifosato e AMPA) e o padrão interno (1,2 -  $^{13}\text{C}_2$  -  $^{15}\text{N}$ -glifosato) foram obtidos no Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany). Já o 2,2,2-trifluoroetanol (99%) e o anidrido trifluoroacético (99%) foram adquiridos na Sigma- Aldrich (Seelze, Germany).

### **19.3.2. Material/Equipamentos laboratoriais**

- Viais;
- Marcador permanente;
- Micropipetas;
- Parafilme;
- Bloco de aquecimento com sistema de evaporação de azoto;
- Cromatografo gasoso acoplado ao detetor de massa quadrupolo triplo (GC - MS/MS).

### **19.4. Metodologia analítica**

#### **19.4.1. Preparação das amostras**

Inicialmente identificaram-se os diversos viais com o código interno e a época de colheita (inverno ou verão). Após a sua identificação, pipetou-se 50 µL de urina previamente homogeneizada para os viais e adicionou-se 1 mL de acetonitrilo (ACN) e 25 µL da solução de padrão interno 1,2 -  $^{13}\text{C}_2$  - 15N - glifosato (4 µL/L em acetonitrilo).

Após agitação em vortex, a mistura foi evaporada sob corrente de azoto à temperatura ambiente. Após a evaporação total, foram adicionados cuidadosamente ao resíduo 500 µL de 2,2,2 - trifluoroetanol e 1000 µL de anidrido trifluoroacético (congelado a  $-40^\circ\text{C}$ ). A derivatização dos analitos foi realizada num bloco de aquecimento a  $85^\circ\text{C}$ , durante 1 hora. Posteriormente, após arrefecimento, a mistura foi evaporada até à secura, sob corrente de azoto a  $40^\circ\text{C}$ . Finalmente, o extrato obtido foi dissolvido em 50 µL de metanol e 1 µL foi injetado no sistema GC - MS/MS.

#### **19.4.2. Análise por GC - MS/MS**

Para a determinação do glifosato e do AMPA recorreu-se à GC-MS-MS, conforme condições descritas por *Conrad et al. 2017*<sup>(44)</sup>. Na separação cromatográfica usou-se uma coluna capilar de sílica fundida internamente e revestida com dimetipolisiloxano com 5% de grupo fenilo – DB5MS (J&W, Agilent, CA, Estados Unidos). Esta coluna possuía 30 mm de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de fase estacionária. O hélio foi o gás de arraste, a um fluxo constante de 1 mL/min. A injeção foi efetuada por injetor automático, tendo sido injetados 1 µL em splitless (60 s). A temperatura do injetor foi de  $225^\circ\text{C}$ . A temperatura do forno foi de  $75^\circ\text{C}$  por 0,5 min com um incremento de  $20^\circ\text{C}/\text{min}$  até  $260^\circ\text{C}$  e manutenção durante 5 min. O espectrómetro de massa tandem (Agilent 7000) operou em ionização química negativa com a utilização de metano. Como gás de

colisão foi usado o árgon. A temperatura da linha de transferência foi de 280°C. No glifosato foi usado para quantificação, a transição 370 > 245 com uma energia de colisão de 10. Para a identificação, utilizou-se a transição 351 > 268 com uma energia de colisão de 5. Para a quantificação do AMPA foi usada a transição 351 > 228 e para a identificação, utilizou-se a transição 271 > 188, ambos com energia de colisão de 5. No 1,2 - 13C<sub>2</sub> - 15N - glifosato foi usada a transição 371 > 246 como quantificação de energia de colisão de 5.

#### **19.4.3. Validação da metodologia analítica**

A validação de um método analítico consiste na avaliação de todos os procedimentos de um determinada técnica laboratorial, de forma a identificar e quantificar um composto numa determinada matriz<sup>(206)</sup>.

A metodologia analítica utilizada, baseada no método *Conrad et al. (2017)*, foi validada para a determinação do glifosato e AMPA em amostras de urina. Foram avaliados os seguintes parâmetros de validação: linearidade e limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ), exatidão e precisão.

A linearidade de um método analítico é dada pela capacidade de se estabelecer uma proporcionalidade direta entre a concentração do analito e o sinal emitido<sup>(206)</sup>. Neste trabalho foi construída uma curva de calibração em matriz, com 6 pontos em que se aumentou a concentração dos analitos. Esses pontos foram de 0,2; 0,5; 1; 2,5; 5; e 10 µg/L. A análise foi feita em duplicado, para cada ponto da curva.

O limite de detecção é o valor da menor concentração de analito que é possível detetar, não sendo necessariamente quantificado. Quanto ao limite de quantificação, este é definido como a menor concentração de analito que pode ser quantificada com exatidão e precisão aceitáveis<sup>(206)</sup>. Os limites de detecção e quantificação foram determinados com base na curva de calibração. O LOD foi 3x o sinal/resíduo. No caso do LOQ foi calculado como o correspondente a 10 x a razão sinal ruído.

## 19.5. Avaliação de risco

Os HBG são utilizados em diferentes situações do nosso quotidiano, nomeadamente na agricultura, sendo expectável que o ser humano e os animais ingiram pequenas quantidades desta substância através dos alimentos ou das rações. Nesse sentido, a quantidade de glifosato que é eliminada através da urina pode ser útil para se obter uma estimativa da exposição dietética de um determinado indivíduo. Por sua vez, através da realização do cálculo da ingestão diária provável/dose interna e da sua comparação com o valor da ADI estabelecido pela EFSA, foi possível avaliar o risco para a saúde de cada participante do estudo<sup>(207)</sup>. Para tal, foram determinados os melhores, médios e piores cenários, considerando as seguintes categorias: género, estação do ano e tipo de exposição. Foram utilizados os pesos médios corporais dos participantes e os valores mínimos, médios e máximos de glifosato quantificados na urina (concentrações acima do LOQ), para os vários cenários. Relativamente à excreção média diária de urina por um adulto, teve-se em consideração o volume médio de urina mencionado em estudos anteriores (1,5L-2L). Para tal, optou-se por aplicar um volume de urina de 1,5 L, uma vez que a ingestão de líquidos é variável de indivíduo para indivíduo e a sua perda pode ser feita por outras vias, como o suor e as lágrimas. Assim, o cálculo da PDI foi realizado através da seguinte equação<sup>(207, 208)</sup>:

**EQUAÇÃO 1** - Cálculo da ingestão diária provável.

$$PDI (\mu\text{g}/\text{kg pc}) = \frac{C_{urina} \times V_{urina}}{\text{pc}}$$

$C_{urina}$  = concentração de glifosato na urina ( $\mu\text{g}/\text{L}$ )

$V_{urina}$  = volume médio de urina excretada por dia (1,5 L/dia)

pc = peso corporal médio (kg)

De forma a comparar os valores da PDI obtidos com a ADI estabelecida pela EFSA, procedeu-se ao seguinte cálculo:

**EQUAÇÃO 2** - Cálculo da % ADI.

$$\%ADI = \frac{PDI \times 100 \%}{0,5}$$

## 19.6. Metodologia estatística

Para se efetuar o tratamento estatístico dos dados recolhidos, recorreu-se ao software IBM SPSS 21 e Excel, recorrendo-se a algumas medidas de estatística descritiva, nomeadamente: a análise de medidas de frequência, a média e o desvio padrão.

## 20. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 20.1. Caracterização da amostra

Os participantes tinham idades compreendidas entre os 19 e 74 anos, sendo 51,4% (n=19) do género feminino e 48,6% (n=18) do género masculino.

No que diz respeito ao nível educacional, 32,4% (n=12) dos indivíduos possuíam habilitações primárias, 54,1% (n=20) tinham um grau académico igual ou inferior ao 12º ano de escolaridade e 13,5% (n=5) tinham licenciatura.

Relativamente à distância da residência às zonas industrial, agrícola e vias de comunicação (vias rápidas e auto-estradas), todos os participantes referiram que estavam a mais de 1 km. Na Tabela seguinte, podem ser observadas as informações antropométricas e sociodemográficas.

TABELA 17 - Dados antropométricos e sociodemográficos.

	1ª fase (inverno)/ 2ª fase (verão)
<b>Idade (anos)</b> Média (mínimo - máximo)	56 (19 - 74)
<b>Género [n (%)]</b>	19 (51,4%)
- Feminino	18 (48,6%)
- Masculino	
<b>Peso (kg)</b> Média (mínimo - máximo)	72 (44 - 98)
<b>Altura (cm)</b> Média (mínimo - máximo)	165,16 (154 - 183)
<b>Nível educacional [n (%)]</b>	12 (32,4%)
- Ensino primário	20 (54,1%)
- ≤12ºano	5 (13,5%)
- Licenciatura	0 (0%)
- Mestrado/Doutoramento	
<b>Residência [n (%)]</b>	4 (10,8%)
- Alhadas	31 (83,8%)
- Maiorca	2 (5,4%)
- Montemor - o - Velho	

A maioria dos indivíduos do estudo (70,3%) referiu tomar medicação para o tratamento de algumas doenças crónicas. A hipertensão arterial (45,9%), a dislipidémia (24,3%) e a diabetes mellitus (10,8%) foram as patologias frequentemente mencionadas pelos participantes (Tabela 18).

**TABELA 18** - Estado de saúde geral.

	I <sup>a</sup> fase (inverno) / 2 <sup>a</sup> fase (verão)
<b>Toma da medicação [n (%)]</b>	26 (70,3%)
<b>Hipertensão arterial [n (%)]</b>	17 (45,9%)
<b>Dislipidémia [n (%)]</b>	9 (24,3%)
<b>Patologia cardíaca [n (%)]</b>	1 ( 2,7%)
<b>Patologia circulatória [n (%)]</b>	1 ( 2,7%)
<b>Patologia psiquiátrica [n (%)]</b>	3 (8,1%)
<b>Patologia endócrina [n (%)]</b>	1 ( 2,7%)
<b>Diabetes mellitus [n (%)]</b>	4 (10,8%)
<b>Patologia oncológica [n (%)]</b>	3 (8,1%)
<b>Patologia respiratória [n (%)]</b>	1 ( 2,7%)
<b>Patologia óssea [n (%)]</b>	3 (8,1%)

Quanto à aplicação de pesticidas, constatou-se que na primeira fase do estudo, cerca de 10,8% dos participantes responderam que aplicavam pesticidas no seu quintal/horta, enquanto que na segunda fase, 45,9% utilizavam este tipo de produtos químicos. Os pesticidas mais frequentemente aplicados foram os herbicidas e os fungicidas (Tabela 19). A máscara e as luvas foram os EPI mais usados.

**TABELA 19** - Aplicação de pesticidas.

	I <sup>a</sup> Fase (inverno)	2 <sup>a</sup> Fase (verão)
<b>Aplicação de pesticidas [n (%)]</b>	4 (10,8%)	17 (45,9%)
- Herbicidas	4 (10,8%)	15 (40,5%)
- Fungicidas	3 (8,1%)	10 (27%)
- Inseticidas/acaricidas	3 (8,1%)	4 (10,8%)

De forma geral, os géneros alimentícios mais consumidos durante as duas fases do estudo, foram os seguintes: vegetais (sopa, legumes fruta); pão e cereais (pão branco/integral, arroz e massas) laticínios (leite, iogurte, queijo); ovos, carnes e peixe (aves, porco, peixe) e doces (bolachas).

## 20.2. Parâmetros de validação

### 20.2.1. Linearidade

A linearidade obtida pela análise de correlação linear, nomeadamente pelo valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi de 0,9993 para o glifosato e de 0,9971 para o AMPA, conforme as Figuras 25 e 26, respetivamente. Os resultados obtidos demonstram uma boa linearidade do método, nas gamas de concentrações estudadas. Assim, pode-se afirmar que existe proporcionalidade direta entre a concentração e a razão da área do analito e a área do padrão interno (A/A PI).

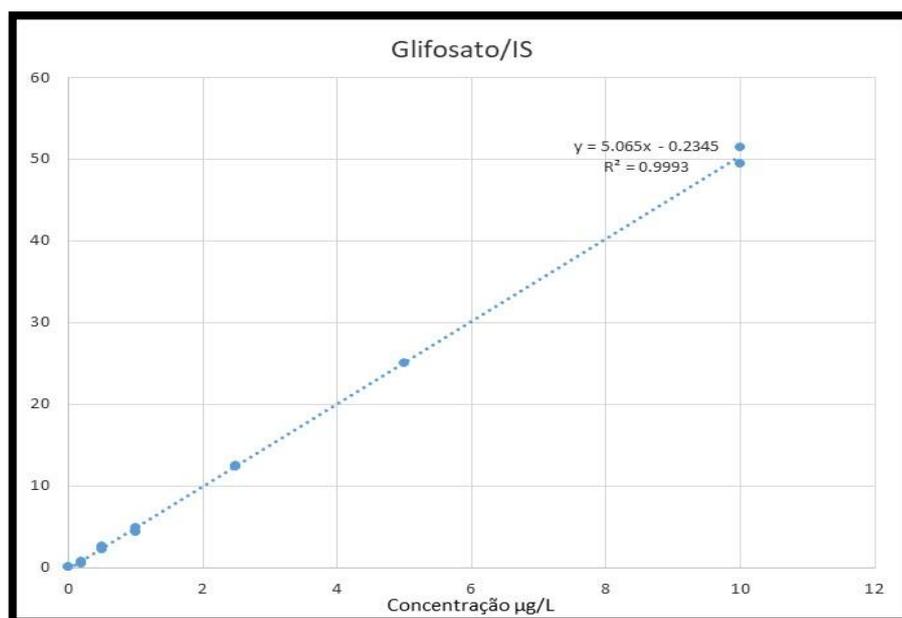


FIGURA 25 - Curva de calibração do glifosato na matriz.

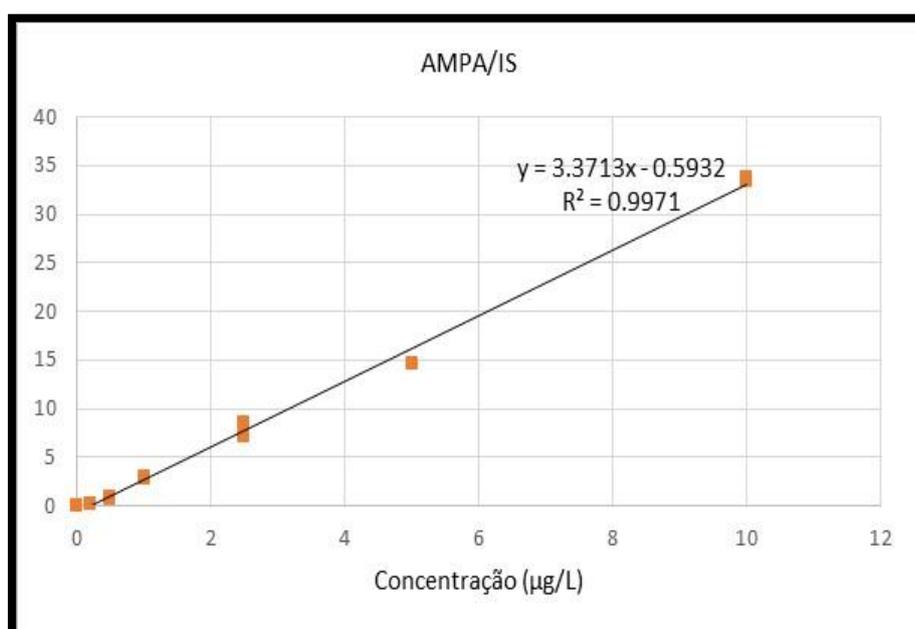


FIGURA 26 - Curva de calibração do AMPA na matriz.

### 20.2.2. Limites de detecção e quantificação

O LOD estimado através das curvas de calibração foi de 0,079 e 0,197 µg/L para o glifosato e AMPA, respetivamente. O LOQ foi de 0,239 e 0,596 µg/L para o glifosato e AMPA, respetivamente. Estes resultados são ligeiramente superiores aos obtidos pelo *Conrad et al.* 2017. Os valores superiores obtidos neste trabalho são justificados pelas condições cromatográficas, nomeadamente a utilização de uma coluna cromatográfica ligeiramente mais apolar e pela ocorrência de interferentes da matriz.

**TABELA 20** - Resultados da validação analítica para o glifosato e respetivo metabolito em amostras de urina fortificadas.

	Linearidade (r <sup>2</sup> )	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)	Recuperação (%)		Precisão intra-dia (%)			Precisão inter-dia (%)			
				1,5 µg/L	7,5 µg/L	15 µg/L	1,5 µg/L	7,5 µg/L	15 µg/L	1,5 µg/L	7,5 µg/L	15 µg/L
Glifosato	1	0,079	0,239	108,43	81,41	109,22	6,81	4,41	3,58	8,02	3,36	3,49
AMPA	0,9998	0,197	0,596	98,73	89,48	85,91	4,11	2,83	6,15	4,74	12,36	11,91

### 20.3. Detecção e quantificação de glifosato e AMPA nas amostras de urina

A medição dos níveis urinários de glifosato e do seu metabolito AMPA é um procedimento interessante e útil para avaliar uma possível exposição ocupacional, ambiental e dietética a esta substância química <sup>(12, 207)</sup>.

Face ao exposto, este estudo pretende descrever a exposição de indivíduos adultos ao agente químico mencionado, fornecendo desta forma, informações importantes para o desenvolvimento deste assunto na comunidade científica.

Após a recolha dos dados auferidos nos questionários e da validação do método analítico foram analisadas 74 amostras de urina (37 no inverno e 37 no verão) de indivíduos que detinham uma exposição ocupacional profissional, doméstica ou que não estavam expostos diretamente aos HBG.

Na Tabela 22, estão detalhadas algumas características (antropométricas, estado de saúde e sociodemográficas) dos participantes que apresentaram concentrações urinárias acima do limite de detecção e quantificação do método analítico. Estas características foram baseadas consoante as informações obtidas no questionário aplicado pela equipa de investigação.

Apesar de não estarem incluídas no inquérito, questões relativas ao “tipo de doenças” e “quais os EPI’S usados”, a equipa de investigação considerou que estas informações poderiam ser úteis para o desenvolvimento deste ou de outros estudos futuros.

Quanto ao estado de saúde geral, constatou-se que 18 dos participantes possuíam certas doenças crónicas, destacando-se a hipertensão arterial (HTA) e a dislipidémia, estando a ser polimedicados. De facto, indivíduos com idade mais avançada apresentam uma maior tendência em desenvolver inúmeras comorbilidades, contribuindo de certa forma, para um possível enviesamento na associação entre as variáveis “exposição” e “doenças”. Por exemplo, a HTA é mais prevalente nos homens do que nas mulheres, afetando mais de 71% dos portugueses no grupo etário dos 65 aos 74 anos. Quanto ao colesterol total, são 63,3% os portugueses (25 - 74 anos) que manifestam níveis mais elevados<sup>(209)</sup>. Apesar de prevalecer alguma controvérsia e incerteza científica, têm surgido questões relacionadas com a possível toxicidade na saúde humana, particularmente com a exposição de indivíduos que manipulem, apliquem ou residam em zonas próximas de culturas agrícolas onde foi feita a pulverização com HBG ou que consumam alimentos contaminados com resíduos desta substância<sup>(40, 88)</sup>. Face ao exposto, vários estudos têm revelado que a exposição ao glifosato está associada a problemas de desenvolvimento neurológico e congénitos (ex.: Alzheimer, Parkinson), efeitos endócrinos (ex.: tiróide, diabetes mellitus), cardiovasculares, nefrotóxicos, imunotóxicos, genotóxicos e carcinogénicos<sup>(125, 210-212)</sup>.

Das 31 amostras positivas, 16 participantes afirmaram ter pulverizado ou ter estado em contacto com pesticidas, principalmente na segunda fase do estudo. No entanto, não existe informação exata quanto à data de aplicação dos HBG. Esta informação foi solicitada posteriormente, na qual os participantes mencionaram que a aplicação foi efetuada no fim de maio e durante o mês de junho. Dos herbicidas utilizados, foi também pedido que informassem a equipa de investigação sobre o nome/composição química de cada herbicida, o método/local de aplicação e o uso de EPI’s. Nesse sentido, os participantes indicaram que recorriam a vários produtos comerciais, como: *Montana*<sup>®</sup>, *RoundUp*<sup>®</sup>, *Aura*<sup>®</sup>, *Basagran*<sup>®</sup>, *Pulsar*<sup>®</sup>, *Viper Max*<sup>®</sup>, *Stam*<sup>®</sup>, *Lumax*<sup>®</sup>, *Oristar*<sup>®</sup>, *Loyant*<sup>®</sup>, *kaos*<sup>®</sup>, entre outros. Contudo, após a consulta do rótulo de cada herbicida, apenas os produtos comerciais *Montana* e *RoundUp* continham glifosato na sua composição. Por sua vez, estes herbicidas eram usados em diferentes culturas agrícolas (arrozais, milheirais, pomares), na silvicultura e em jardins domésticos. A sua aplicação era feita próximo do solo ou à superfície das infestantes, através do uso de pulverizadores (manuais e/ou acoplados a tratores) que têm a capacidade de espalhar uma solução aquosa em gotículas de tamanho variável. É de salientar que alguns

destes tratores possuíam cabine de proteção, sendo uma barreira física importante para a proteção do operador durante a aplicação dos pesticidas. No que diz respeito ao uso de EPI, os agricultores utilizavam essencialmente luvas e máscara, apesar de afirmarem que existia algum “relaxamento” no cumprimento destas medidas de proteção. O manuseamento e aplicação de produtos fitofarmacêuticos requerem o uso de EPI, como luvas, fato-macaco, botas, viseira e máscara. Todos os EPI devem possuir a marcação «CE» e estar acompanhados de declaração de conformidade, emitida pelo fabricante ou fornecedor do equipamento. Após a aplicação do pesticida, devem ser limpos ou substituídos, caso não se encontrem em boas condições ou se forem de utilização descartável<sup>(203)</sup>. Num estudo, foram medidas as concentrações urinárias de 48 agricultores, dos seus cônjuges e de 79 filhos (4-18 anos), que residiam e tinham quintas em Minnesota e na Carolina do Norte. A colheita foi realizada na véspera, no dia e nos três dias após a aplicação de HBG. O método analítico usado foi a HPLC com um LOD de 1 µg/L. No dia da aplicação, 60% dos agricultores tinham níveis detetáveis de glifosato (3,2 µg/L) e o valor máximo atingido foi de 233 µg/L. No estado de Minnesota, verificou-se uma concentração média de 1,4 µg/L e na Carolina do Sul, uma concentração média de 7,9 µg/L. Segundo o autor, esta diferença pode ser explicada pela frequência de utilização de EPI's, ou seja, os agricultores que não usavam luvas de borracha tinham concentrações superiores aos que usavam. O uso de luvas era mais frequente em Minnesota. Para os cônjuges, 4% tinham níveis detetáveis de glifosato na sua urina. O valor máximo obtido foi de 3 µg/L. Nas crianças, 12% testaram positivo, com uma concentração máxima de 29 µg/L. A maioria destas crianças tinham ajudado na preparação da calda, no seu transporte e estavam presentes no momento da aplicação<sup>(198)</sup>.

Um aspeto curioso neste processo de investigação foi o facto de não terem sido detetados quaisquer resíduos deste ingrediente ativo nas amostras de urina de um indivíduo que aplicava HBG em grande escala. Esta situação pode ser explicada, tendo por base, algumas características particulares deste xenobiótico. O glifosato é uma substância pouco volátil, permanecendo pouco tempo em suspensão no ar, pelo que a contaminação atmosférica é diminuta<sup>(10)</sup>. Outro fator que pode explicar tal situação é o carácter hidrossolúvel da molécula<sup>(4)</sup>, que sofre pouca metabolização e é excretada ao fim de 48h, praticamente inalterada<sup>(78, 79)</sup>. Note-se que o dia da aplicação do HBG não foi questionado no momento da colheita de urina, podendo a mesma ter sido efetuada alguns dias antes da colheita de urina e, conseqüentemente não existirem vestígios desta substância neste indivíduo.

Na generalidade, os participantes envolvidos neste estudo referiram que grande parte das refeições eram realizadas em casa e os alimentos consumidos tinham origem caseira e/ou

local. Devido ao surgimento da pandemia por Covid -19 e às medidas impostas pelo estado de emergência, constatou-se que houve uma maior adesão à confecção de refeições caseiras em detrimento das idas aos estabelecimentos de restauração e bebidas. Salienta-se que o seu consumo alimentar não foi totalmente controlado, apenas registado. Os alimentos que ingeriram não foram testados quanto à presença de glifosato, existindo um potencial consumo adicional de pequenas quantidades desta substância, podendo causar uma subestimação da exposição alimentar. Nenhum indivíduo referiu ter qualquer tipo de restrição alimentar, adotando muitas vezes, os princípios inerentes à dieta mediterrânea. Este padrão alimentar promove a prática de atividade física diária, o convívio, a utilização e o consumo de alimentos frescos, sazonais e locais. Não obstante, a dieta mediterrânea privilegia o consumo de alimentos de diversos grupos, dando especial ênfase às proporções e frequência de ingestão. Caracteriza-se pelo consumo de fruta, produtos hortícolas, cereais, oleaginosos e leguminosas, água e pela utilização de azeite como principal fonte de gordura. Já os laticínios, peixe e vinho devem ser consumidos de forma moderada. Por outro lado, deve ser privilegiado o consumo de carnes brancas e ovos, face à carne vermelha, produtos de charcutaria e produtos açucarados<sup>(213)</sup>. Constatou-se que os participantes estavam sensibilizados para a importância deste tipo de dieta, relativamente aos benefícios ao nível da saúde, ambiente e da economia.

Os HBG são amplamente utilizados numa gama de culturas agrícolas, como milho, soja, trigo, cevada, arroz, entre outras<sup>(88)</sup>. Após a sua aplicação, esta substância química pode acumular-se em folhas, grãos ou frutos. Os resíduos deste ingrediente ativo que estiverem presentes num determinado género alimentício podem ser reduzidos através da lavagem, cozedura e remoção da casca. Podem permanecer estáveis nos alimentos durante um ano ou mais, mesmo que os alimentos sejam congelados, secos ou processados<sup>(170)</sup>. Uma análise do glifosato e de AMPA em produtos alimentares na Suíça, identificou os cereais e leguminosas (ex.: feijão, lentilhas, grão-de-bico) como sendo os principais alimentos que contribuem para a exposição dos consumidores<sup>(138)</sup>. Em 2017, a EFSA analisou várias amostras de cereais cultivados no continente europeu. Os resultados obtidos revelaram que 1 amostra de arroz, 4 de pseudocereais e 6 de centeio, excediam os LMR estabelecidos pela UE. Quanto às leguminosas (lentilhas secas, feijão e soja), somente foram encontrados vestígios desta substância química. A EFSA também analisou amostras de diferentes frutas, verificando-se a presença de glifosato num número reduzido de amostras. Apenas uma amostra de pera tinha valores superiores ao legalmente permitido<sup>(214)</sup>. Na França e na China não foram detetados resíduos de glifosato em diversos legumes<sup>(141, 215)</sup>. Já na Suíça foram encontradas amostras

positivas, mas nenhuma estava acima dos LMR. Num estudo europeu foram analisadas amostras de águas. Cerca de 30% das amostras de águas superficiais, continham resíduos de glifosato, sendo que a maioria destas, apresentavam valores muito superiores ao LMR. Nas águas subterrâneas, apenas 1% das amostras estavam positivas. Contudo, mais de metade destas amostras tinha valores que excediam o LMR<sup>(216)</sup>. Perante estes resultados, pode-se afirmar que o glifosato está presente em várias tipologias de alimentos. Neste estudo, importa lembrar que não foi medido qualquer teor desta substância nos alimentos ingeridos pelos participantes. No entanto, pode-se inferir que a exposição dietética terá tido influência nos resultados alcançados.

Os resultados analíticos foram obtidos através de GC-MS-MS e estão expressos em µg/L.

Na primeira fase do estudo (inverno), 22 das amostras (59,46%) apresentavam níveis detetáveis de glifosato, sendo que 15 eram superiores ao LOD ( $0,95 \pm 3,01$  µg/L) e 7 encontravam-se acima do LOQ ( $2,72 \pm 3,01$  µg/L). Os valores mínimo e máximo obtidos estavam compreendidos entre 0,12 e 8,74 µg/L, respetivamente. Relativamente ao AMPA foi detetado em 23 das amostras (62,16%), sendo que 22 eram superiores ao LOD ( $0,50 \pm 3,01$  µg/L) e apenas 1 possuía uma concentração superior ao LOQ ( $4,83 \pm 3,01$  µg/L). Foram encontradas concentrações mínimas e máximas de 0,30 µg/L e 4,83 µg/L.

No verão, foram identificadas 23 amostras (62,16%) que possuíam concentrações de glifosato: 19 estavam acima do LOD ( $0,30 \pm 1,57$  µg/L) e 4 tinham níveis urinários superiores ao LOQ ( $1,14 \pm 1,57$  µg/L). Os valores obtidos estavam compreendidos entre 0,12 e 3,50 µg/L, respetivamente. Quanto ao seu metabolito, 23 das amostras (62,16%) eram superiores ao LOD ( $0,30 \pm 1,57$  µg/L), mas nenhuma amostra se encontrava acima do LOQ. A concentração máxima obtida foi de 0,30 µg/L.

Face aos resultados obtidos (Tabela 21), não se verificaram diferenças significativas entre as duas estações do ano. Porém, era expectável que no inverno se obtivesse um menor número de amostras positivas, uma vez que nesta altura do ano, existe uma reduzida aplicação de produtos fitofarmacêuticos nas culturas agrícolas.

**TABELA 21** - Ocorrência de glifosato e AMPA em amostras de urina no inverno e no verão.

	Inverno		Verão	
	AMPA	Glifosato	AMPA	Glifosato
Média total	0,34	0,58	0,22	0,20
Média positivas > LOQ	4,83	2,72	---	1,14
Desvio-padrão (amostras positivas)	3,01		1,57	
Média positivas > LOD	0,50	0,95	0,30	0,30
Frequência (%)	62,16	59,46	62,16	62,16

Várias investigações científicas também demonstraram que algumas das amostras analisadas estavam contaminadas com glifosato e o seu metabolito.

Na Alemanha, foi realizado um estudo que analisou os níveis de glifosato e AMPA em urina de 24h de adultos jovens entre 2001 e 2015, recorrendo à GC – MS - MS. Das 399 amostras de urina analisadas, 127 (31,8%) e 160 (40,1%) continham concentrações de glifosato e de AMPA, iguais ou superiores ao LOQ de 0,1 µg/L. Os valores máximos de glifosato detetados foram de 2,80 µg/L (ano de 2013) e 1,78 µg/L (ano de 2014). Relativamente ao AMPA, as concentrações máximas obtidas foram de 1,88 µg/L e 1,54 µg/L, em 2013. Os níveis de glifosato urinário e de AMPA foram mais elevados no género masculino<sup>(44)</sup>. Um estudo realizado em 18 países europeus (UE e não UE) avaliou 182 amostras de urina para pesquisa de glifosato e AMPA, através de GC - MS - MS. O LOQ foi de 0,15 µg/L para ambos. Da totalidade das amostras analisadas, cerca de 80 tinham concentrações de glifosato acima do LOQ, enquanto que 65 amostras continham AMPA com níveis superiores a este limite. Foram encontrados valores máximos de 1,82; 1,64 e 1,55 µg/L para o glifosato, em amostras obtidas na Letónia, no Reino Unido e Malta, respetivamente. Para o AMPA, os valores máximos de 2,63; 1,26 e 0,89 µg/L foram medidos em amostras da Croácia, Bélgica, e Malta<sup>(217)</sup>. Na Tailândia, foram analisadas urina de 38 produtores de arroz, de 31 produtores de longan (fruto) e de 17 produtores de vegetais expostos a vários pesticidas, através de HPLC (LOD<sub>glifosato</sub>: 0,5 µg/L). No caso do glifosato, 10% dos produtores de arroz, tinham concentrações urinárias superiores ao LOD (2,01 ± 0,81 µg/L), com um valor máximo de 1,89 µg/L. Foi detetado glifosato em 30% dos produtores de longan (2,88 ± 1,46 µg/L) e em 23,5% nos produtores de vegetais (3,11 ± 1,15 µg/L). Os valores máximos obtidos foram de 2,55 µg/L e 2,92 µg/L, respetivamente. Em 2018, foram analisadas amostras de urina de portugueses adultos que praticavam uma dieta essencialmente à base de alimentos “biológicos”, nos meses de julho e outubro. O método analítico utilizado na 1ª fase (julho) foi a GC - MS - MS com um LOD de 0,03 µg/L e um LOQ de 0,1 µg/L, tanto para o glifosato

como para o AMPA. Na 2ª fase do estudo (outubro) recorreu-se à HPLC - MS/MS com um LOD de 0,02 µg/L para o glifosato e 0,013 µg/L para o AMPA. O LOQ foi de 0,05 µg/L para ambos. Das 46 amostras analisadas na 1ª fase (julho), constatou-se que 28% e 50% dos indivíduos apresentavam níveis detetáveis de glifosato e AMPA, com valores médios de 0,25 e 0,16 µg/L, respetivamente. Das 33 amostras estudadas na 2ª fase (outubro), 73% e 97% possuíam níveis detetáveis de glifosato e AMPA, com valores médios de 0,13 e 0,10 µg/L, respetivamente<sup>(218)</sup>.

A presente investigação desenvolvida na região do Baixo Mondego revelou que os indivíduos apresentam uma exposição frequente e, possivelmente crónica, ao glifosato. De forma geral, as concentrações obtidas nas amostras de urina dos participantes foram superiores aos valores obtidos nos estudos realizados noutros países. Esta diferença pode ser explicada pela diferente tipologia da dieta praticada ou por práticas agrícolas distintas entre países. Todavia, o glifosato nunca é utilizado sozinho, sendo combinado com adjuvantes que possibilitam a penetração e absorção deste ingrediente ativo nas plantas. Muitas vezes, estes adjuvantes apresentam uma toxicidade superior face ao próprio glifosato.

Apesar de ser ainda um estudo preliminar, demonstrou-se que este ingrediente ativo presente na composição de vários herbicidas é amplamente utilizado no nosso quotidiano.

TABELA 22 - Caracterização das amostras positivas ( $\geq$  LOD e  $>$  LOQ).

Código Interno	Gênero	Idade	Nível educacional	Doenças crônicas	Aplicação de pesticidas	Tipologia de pesticida	EPI	Inverno		Verão	
								AMPA	Glifosato	AMPA	Glifosato
4	F	74	Primário	HTA	N	N/A	N/A	0,30	0,12	0,10	0,04
5	F	65	Primário	Patologia psiquiátrica e endócrina	S (1 <sup>a</sup> /2 <sup>a</sup> fase)	Herbicida	N	0,10	0,04	0,30	0,12
6	M	38	$\leq$ 12 ano	N	N	N/A	N/A	0,30	0,12	0,30	0,12
7	F	42	Licenciatura	N	N	N/A	N/A	0,30	0,36	0,30	0,12
8	F	20	$\leq$ 12 ano	N	N	N/A	N/A	0,10	0,04	0,30	0,12
9	M	58	$\leq$ 12 ano	HTA	S (2 <sup>a</sup> fase)	Inseticida	N	0,30	2,29	0,10	0,04
10	F	53	$\leq$ 12 ano	HTA; dislipidemia	N	N/A	N/A	0,30	0,12	0,10	0,04
11	F	68	Primário	HTA; dislipidemia	S (2 <sup>a</sup> fase)	Herbicida, fungicida, inseticida	N	0,30	0,12	0,30	0,12
12	M	73	Primário	HTA; dislipidemia; patologia óssea	S (2 <sup>a</sup> fase)	Herbicida, fungicida, inseticida	N	0,30	0,12	0,30	0,12
14	F	73	Primário	HTA; dislipidemia; patologia psiquiátrica	N	N/A	N/A	0,10	0,04	0,30	0,12
15	M	48	$\leq$ 12 ano	N	N	N/A	N/A	0,30	0,04	0,10	0,12
16	M	74	$\leq$ 12 ano	HTA; patologia cardíaca, oncológica; diabetes	N	N/A	N/A	0,30	1,72	0,30	0,27
17	F	73	Primário	HTA; patologia cardíaca, psiquiátrica, respiratória; diabetes	N	N/A	N/A	0,30	0,48	0,30	0,04

18	M	59	≤ 12 ano	N	S (1 <sup>a</sup> /2 <sup>a</sup> fase)	Herbicida, fungicida, inseticida	S	0,30	4,52	0,30	0,12	0,12
19	F	60	≤ 12 ano	N	N	N/A	N/A	0,30	0,12	0,30	0,12	0,12
20	F	70	Primário	HTA; dislipidemia	S (2 <sup>a</sup> fase)	Herbicida	S	0,30	0,12	0,30	0,12	0,12
21	M	73	Primário	HTA; dislipidemia	S (2 <sup>a</sup> fase)	Herbicida, fungicida	S	0,30	0,12	0,30	0,12	0,12
22	M	66	≤ 12 ano	HTA; dislipidemia	S (1 <sup>a</sup> /2 <sup>a</sup> fase)	Herbicida, fungicida, inseticida	S	0,30	0,12	0,10	0,12	0,04
23	F	63	≤ 12 ano	HTA	N	N/A	N	0,30	0,12	0,10	0,12	0,04
25	M	74	Primário	Dislipidemia; diabetes melititus	S (2 <sup>a</sup> fase)	Herbicida	S	0,10	0,04	0,30	0,04	0,12
26	F	56	Primário	HTA	N	N/A	N	0,10	0,04	0,30	0,04	0,12
27	M	59	≤ 12 ano	N	S (2 <sup>a</sup> fase)	Herbicida, fungicida	S	0,10	0,04	0,30	0,04	3,50
28	F	48	≤ 12 ano	Patologia oncológica; diabetes melititus	N	N/A	N/A	0,30	0,12	0,30	0,12	0,12
29	M	48	≤ 12 ano	HTA	S (2 <sup>a</sup> fase)	Herbicida	S	4,83	8,74	0,10	0,10	0,04
30	F	52	≤ 12 ano	N	S (2 <sup>a</sup> fase)	Herbicida, fungicida	S	0,30	0,12	0,30	0,12	0,12
31	M	49	≤ 12 ano	N	S (2 <sup>a</sup> fase)	Herbicida, fungicida	S	0,30	0,12	0,30	0,12	0,48
32	M	19	≤ 12 ano	N	S (2 <sup>a</sup> fase)	Herbicida, fungicida	S	0,30	0,95	0,30	0,95	0,33
33	F	22	Licenciatura	N	S (2 <sup>a</sup> fase)	Herbicida, fungicida	S	0,30	0,12	0,30	0,12	0,12
35	F	50	≤ 12 ano	N	N	N/A	N/A	0,10	0,04	0,30	0,04	0,12
38	M	42	≤ 12 ano	N	N	N/A	N/A	0,10	0,04	0,30	0,04	0,12
40	M	62	≤ 12 ano	HTA	S (1 <sup>a</sup> /2 <sup>a</sup> fase)	Herbicida, fungicida, inseticida	S	0,30	0,12	0,10	0,12	0,04

#### 20.4. Ingestão diária provável (PDI) e avaliação de risco

As concentrações obtidas no presente estudo, quando comparados com a ADI foram relativamente baixas (Tabela 23).

No pior cenário possível, verificou-se que a PDI foi mais elevada no género masculino, com um valor de 0,01728 mg/kg pc/dia, o que corresponde a cerca de 3,46% da ADI estabelecida pela EFSA. De facto, os homens eram os indivíduos que aplicavam ou estavam mais diretamente expostos aos HBG.

No que diz respeito à estação do ano, constatou-se que foi no inverno que os participantes do estudo possuíam uma maior PDI (0,01741 mg/kg pc/dia), representando 3,48% do valor da ADI. Já no verão, obteve-se uma PDI mais baixa (0,00712 mg/kg pc/dia), correspondendo a 1,42% da ADI. Estes resultados permitem-nos deduzir que a exposição em causa será devida à ingestão de alimentos contaminados com resíduos de glifosato, uma vez que nesta época do ano, nomeadamente no mês de fevereiro, a aplicação de pesticidas é nula ou praticamente diminuta.

Na exposição ocupacional (profissional), verificou-se um valor de PDI (0,01777 mg/kg pc/dia) superior aos outros tipos de exposição (não ocupacional e doméstico), representando 3,55% do valor da ADI. De facto, indivíduos que manipulem ou apliquem HBG terão maior probabilidade de apresentarem resíduos de glifosato na urina, já que estão diretamente em contacto com o herbicida em questão, nomeadamente na preparação da calda.

Face aos resultados obtidos, considerou-se que não houve um risco elevado para a saúde pública, na medida em que as concentrações obtidas no presente estudo, quando comparadas com o valor da ADI preconizado pela EFSA, foram relativamente reduzidas. Contudo, e seguindo o princípio da precaução, caso exista “uma possibilidade de efeitos nocivos para a saúde, mas persistam incertezas a nível científico, podem ser adotadas as medidas provisórias de gestão dos riscos necessárias para assegurar o elevado nível de proteção da saúde...”<sup>(219)</sup>. É fundamental que sejam efetuados novos estudos nesta área de investigação, de forma a obter conclusões mais robustas, através da identificação das fontes de contaminação e das vias de exposição. Desta forma, devem ser implementadas medidas capazes de reduzir a exposição de toda a população, sobretudo os indivíduos vulneráveis (ex.: crianças, grávidas, agricultores, idosos). Só assim, haverá uma avaliação mais exaustiva do risco.

**TABELA 23** - Cálculo do melhor, médio e pior cenário possível para cada categoria de gênero, estação do ano e tipologia de exposição com base no peso médio de cada categoria.

Categoria	Kg (média da categoria)	Melhor cenário				Cenário médio				Pior cenário		
		Concentração mínima de glifosato na urina (µg/L)	PDI (mg/kg pc/dia)	% ADI	Concentração média de glifosato na urina (µg/L)	PDI (mg/kg pc/dia)	% ADI	Concentração máxima de glifosato na urina (µg/L)	PDI (mg/kg pc/dia)	% ADI		
Gênero	Mulher (n=2)	0,358	0,00085	0,16913	0,417	0,00099	0,19701	0,476	0,00112	0,22		
	Homem (n=7)	0,265	0,00052	0,1048	2,533	0,00501	1,00171	8,741	0,01728	3,46		
Estação do ano	Verão (n=4)	0,265	0,00054	0,1078	1,143	0,00232	0,46495	3,499	0,00712	1,42		
	Inverno (n=7)	0,358	0,00071	0,14265	2,723	0,00543	1,085	8,741	0,01741	3,48		
Exposição	Não-ocupacional (n=2)	0,358	0,00085	0,16913	0,417	0,00099	0,19701	0,476	0,00112	0,22		
	Ocupacional (profissional) (n=5)	0,329	0,00067	0,13374	3,086	0,00627	1,25447	8,741	0,01777	3,55		
	Ocupacional (doméstico) (n=2)	0,265	0,00049	0,09815	1,426	0,00264	0,52815	2,292	0,00424	0,85		

## 21. CONCLUSÃO

Os HBG têm sido amplamente utilizados em todo o mundo, sendo que o seu ingrediente ativo já é considerado ubiqüitário no meio ambiente. Embora este grupo de herbicidas seja usado para eliminar a vegetação indesejada, tem-se constatado algumas alterações nefastas nos diferentes ecossistemas. Os impactos na saúde humana dependem essencialmente da presença, duração e exposição aos HBG.

Com este estudo, pode-se concluir que a população adulta residente em 3 freguesias da região do Baixo Mondego estava exposta a HBG, estando envolvidas diferentes vias de exposição (ocupacional, ambiental e dietética).

O glifosato e o seu principal metabolito, AMPA, foram analisados por GC-MS-MS, na urina de indivíduos residentes na área em estudo, no inverno e no verão.

Nesta investigação obtiveram-se concentrações muitas vezes superiores quando comparadas com valores encontrados em estudos similares realizados em indivíduos adultos. Foram detetados valores máximos de 8,74 µg/L (inverno) e de 3,50 µg/L (verão) para o glifosato. Para o seu metabolito, obtiveram-se concentrações máximas de 4,83 µg/L (inverno) e 0,30 µg/L (verão).

De forma a estimar uma possível exposição dietética, foram previstos vários cenários, onde se calcularam valores de ingestão diária provável que foram comparados com a ADI estabelecida pela EFSA (0,5 µg/L). Face ao exposto, constatou-se que não existe um risco elevado para a saúde destes indivíduos, já que estes valores foram inferiores à percentagem de ADI.

Tendo em consideração os efeitos deletérios desta substância química no ser humano e no ambiente, deverá ser adotado o princípio da precaução, adotando medidas restritivas do seu uso.

Apesar de estar prevista a proibição da utilização de HBG na UE, é imperativa a realização de estudos adicionais para a avaliação dos níveis de exposição ao glifosato e ao seu metabolito, da população em geral, como em indivíduos vulneráveis (crianças, agricultores, idosos...) e assim, assegurar uma caracterização e avaliação do risco mais precisa.

Os principais constrangimentos do presente estudo foram: a pequena dimensão da amostra, devido ao custo elevado dos reagentes usados na análise laboratorial e o “desconhecimento”

da(s) data(s) exata da aplicação dos produtos fitofarmacêuticos e do teor de glifosato potencialmente presente nos alimentos ingeridos pelos indivíduos. A atual pandemia por também dificultou o desenvolvimento deste trabalho, na medida que diminuiu o contacto entre a equipa de investigação e os participantes do estudo.

## 22. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. POULSEN, M, *et al.* - **Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe.** BioMed Central. (2008).
2. KRIEGER, R. - **Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology.** Academic Press, San Diego. 2010:2342.
3. COSTA, LG.; ASCHNER M. - **Toxicology of Pesticides.** Elsevier Inc. (2014).
4. KN, Baer; BJ, Marcel. - **Glyphosate.** Elsevier Inc. (2014).
5. ENSLEY, S. - **Pesticides and Herbicides.** Elsevier Ltd. (2016).
6. BENBROOK, CM. - **Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally.** Environmental sciences Europe. (2016); 28:3.
7. AZIZ, ZA. - **Efeitos toxicológicos do glifosato.** (2020).
8. HE-CAI, Zhang; YING SHI, Chang; YU-JUAN, Yang; GUANG WEN, *et al.* - **Biomarkers of Planarian *Dugesia japonica* in Response to Herbicide Glyphosate Exposure.** Bulletin of environmental contamination and toxicology. (2020); 104:804–8.
9. COMISSION, E. - **Glyphosate 2016.** [Consult. 19 de outubro de 2020]. Disponível em:<https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticidesatatabase/public/?event=activesubstance.detail&language=PT&selectedID=1438>
10. ROG, Joanna; WRÓBEL-KNYBEL, P. - **A review of glyphosate application: the health-related effect.** Journal of Education, Health and Sport. (2019); 9:804-15.
11. WHO. - **Human biomonitoring: facts and figures.** (2015).
12. GILLEZEAU, Christina; GERWEN, Maaïke; SHAFFER, Rachel; *et al.* - **The evidence of human exposure to glyphosate: a review.** Environmental Health. (2019);18(1):1-14.
13. CENTRO, DRAP. [Consult. 25 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://www.drapc.gov.pt/>
14. STAMATI, Nicolopoulou, *et al.* - **Chemical Pesticides and Human Health: The Urgent Need for a New Concept in Agriculture.** Frontiers in public health. (2016).
15. INE. - **Estatísticas do Ambiente.** (2019).
16. FAO. - **Pesticides indicators 2021.** [Consult. 11 de março de 2021]. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/EP/visualize>
17. WHO. - **Chemical safety: Pesticides 2021** [Consult. 22 de fevereiro de 2021]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/chemical-safety-pesticides>
18. GARCIA, FP, *et al.* - **Pesticides: classification, uses and toxicity. Measures of exposure and genotoxic risks.** J Res Environ Sci Toxicol (2012);1(11):279-93.

19. DEBOST LEGRAND, A. *et al.* - **Prenatal exposure to persistent organic pollutants and organophosphate pesticides, and markers of glucose metabolism at birth.** Environ Res. (2016);146:207-17.
20. GUNNELL, D, *et al.* **The global distribution of fatal pesticide self-poisoning: systematic review.** BMC public health. (2007); 7:357-71.
21. KIM, KH; KABIR, E; JAHAN, SA. - **Exposure to pesticides and the associated human health effects.** Science of the Total Environment. (2017) 525-35.
22. MELO, R. F. de; BRITO, L. T. de L.; GIONGO, V. *et al.* - **Pesticidas e seus impactos no ambiente.** (2010).
23. JAYARAJ, R; MEGHA, P; SREEDEV, P. - **Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment.** Interdiscip Toxicol. (2016); 9:90-100.
24. AKTAR, MW; SENGUPTA, D; CHOWDHURY, A. - **Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards.** Interdiscip Toxicol. (2009); 2:1-12.
25. WHO. - **The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard.** (2009).
26. GARCIA, I. - **Influência de diferentes variedades de arroz carolino no seu comportamento em cozedura.** (2017).
27. PINTO, AS. - **O Arroz 2015** [Consult. 27 de outubro de 2020]. Disponível em: <http://www.agronegocios.eu/noticias/o-arroz/>
28. **Baixo Mondego 2020** [Consult. 27 de outubro de 2020]. Disponível em: <http://www.itecons.uc.pt/projectos/baixomondego/index.php?module=sec&id=308>
29. DGADR. - **Arroz Carolino do Baixo Mondego IGP** [Consult. 25 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://tradicional.dgadr.gov.pt/pt/cat/horticolos-e-cereais/557-arroz-carolino-do-baixo-mondego-igp>
30. PACHECO, P. - **Gestão das Infestantes do Arroz Orivárzea.** (2015).
31. BARROS GOMES, H; ROCHA, C. - **Métodos de previsão e evolução dos inimigos das culturas - ARROZ.** (2006).
32. NEVES, CSF. - **Controlo de infestantes na cultura de milho biológico na escola superior agrária de coimbra.** (2016).
33. DGAV. - **Produtos Fitofarmacêuticos.** [Consult. 21 de fevereiro de 2021]. Disponível em :<http://www.dgv.minagricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=3666217&generico=3666233&c69boui=3666233>

34. DGADR. - **Glossário de termos aplicáveis aos regimes de qualidade 2020**. [25 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://www.dgadr.gov.pt/images/docs/val/mpb/GLOSSARIO.pdf>
35. DGS. - **Estratégia de Segurança Alimentar e Nutricional 2020**. [Consult. 29 de novembro de 2020]. Disponível em: <https://alimentacaosaudavel.dgs.pt/estrategia-de-seguranca-alimentar-e-nutricional>
36. FAO/WHO. - **Food Safety Risk Analysis**. (2005).
37. ASAE. - **Perigos de Origem Alimentar**. [Consult. 29 de novembro de 2020]. Disponível em: <https://www.asae.gov.pt/cientifico-laboratorial/area-tecnico-cientifica/perigos-de-origem-alimentar.aspx>
38. ASAE. - **Perigos de Origem Alimentar**. [Consult. 21 de dezembro de 2020]. Disponível em: <https://www.asae.gov.pt/cientifico-laboratorial/area-tecnico-cientifica/perigos-de-origem-alimentar.aspx>
39. WILLIAMS, GM; KROES, R; MUNRO, IC. - **Evaluation and Risk Assessment of the Herbicide Roundup and Its Active Ingredient, Glyphosate, for Humans**. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. (2000); 31:117-65.
40. CONNOLLY, A; COGGINS, MA; KOCH, HM. - **Human Biomonitoring of Glyphosate Exposures: State-of-the-Art and Future Research Challenges**. *Toxics*. (2020); 60(8).
41. SILVA, M. - **A biomonitorização humana como suporte das políticas de saúde e ambiente**. *Insa*. (2018).
42. GUYTON, KZ; LOOMIS, D; GROSSE, Y; *et al.* - **Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate**. *Lancet Oncol*. (2015);16:490-1.
43. STEPHENSON, CL; HARRIS, CA. - **An assessment of dietary exposure to glyphosate using refined deterministic and probabilistic methods**. *Food and Chemical Toxicology*. (2016) ;95:28-41.
44. CONRAD, A; SCHRÖTER KERMANI, C; HOPPE, HW, *et al.* - **Glyphosate in German adults – Time trend (2001 to 2015) of human exposure to a widely used herbicide**. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. (2017); 220:8-16.
45. LEDOUX, M.L.; HETTIARACHCHY, N.; YU, X. - **Penetration of glyphosate into the food supply and the incidental impact on the honey supply and bees**. *Food Control*. (2020);109.

46. PHILIP, J.; LANDRIGAN, Belpoggi F. - **The need for independent research on the health effects of glyphosate-based herbicides.** Environmental Health. (2018); 17.
47. ZHANG, W.; FENG, Y.; MA, L., et al. -**A method for determining glyphosate and its metabolite aminomethyl phosphonic acid by gas chromatography-flame photometric detection.** Journal of Chromatography A. (2019):116-21.
48. VALAVANIDIS, A. - **Glyphosate, the Most Widely Used Herbicide. Health and safety issues. Why scientists differ in their evaluation of its adverse health effects.** (2018).
49. C, Antier; R, Andersson; O, Auskalnienė. - **A survey on the uses of glyphosate in European countries.** (2019).
50. INE. - **Estatísticas do Ambiente.** (2014).
51. EUROPEU, P. - **Glifosato: eurodeputados querem proibição do herbicida em 2022 2017.** [Consult. 8 de setembro de 2020]. Disponível em: <https://www.europarl.europa.eu/news/pt/headlines/society/20171124STO88814/glifosato-eurodeputados-querem-proibicao-do-herbicida-em-2022>
52. ATSDR. - **Toxicological Profile for Glyphosate.** (2020).
53. CARVALHO, LBD. - **HERBICIDAS.** 1ª Edição. (2013).
54. BÓKONY, Veá. - **Chronic exposure to a glyphosate-based herbicide makes toad larvae more toxic.** Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. (2017).
55. KAVITA, Gandhi SK; MANSI, Patrikar, AISHWARYA, Markad; et al. **Exposure risk and environmental impacts of glyphosate: Highlights on the toxicity of herbicide co-formulants Environmental Challenges.** (2021); 4.
56. MESNAGE RB, Charles; ANTONIOU, Michael N. - **Insight into the confusion over surfactant co-formulants in glyphosate-based herbicides.** Food and Chemical Toxicology. (2019);128:137-45.
57. OLIVEIRA, E. M. de; SALES, V. H. G.; GUARDA, E. A.; et al. - **Surfactantes De Origem Microbiana Para Aplicações Industriais.** Tópicos Especiais em Biotecnologia e Biodiversidade. (2018); 2.
58. MESNAGE, R.; DEFARGE, N.; SPIROUX DE VENDÔMOIS; et al. - **Potential toxic effects of glyphosate and its commercial formulations below regulatory limits.** Food and Chemical Toxicology. (2015); 84:133-53.
59. PÉREZ, G; VERA, M; MIRANDA, L. - **Effects of Herbicide Glyphosate and Glyphosate-Based Formulations on Aquatic Ecosystems.** Herbicides and Environment. (2011).

60. DGAV. - **Guia dos Produtos Fitofarmacêuticos - Lista dos Produtos com venda autorizada.** (2016).
61. VILLAMAR, C; CEVALLOS, J; Medrano, R. - **Fate, eco-toxicological characteristics, and treatment processes applied to water polluted with glyphosate: A critical review.** *Critical reviews in environmental science and technology.* (2019); 49(16):1476-514.
62. WILLIAMS, GM; KROES, R; MUNRO, IC. - **Evaluation and Risk Assessment of the Herbicide Roundup and Its Active Ingredient, Glyphosate, for Humans.** *Regulatory Toxicology and Pharmacology.* (2000); 31:117-65.
63. **Bradberry, SM; PROUDFOOT, AT; VALE, JA. - Glyphosate Poisoning.** *Toxicol Rev.* (2004); 23:159-67.
64. DUKEN, SO; POWLES, SB. - **Glyphosate: a once-in-a-century herbicide.** *Pest management science.* (2008); 64:319-25.
65. XU, Jingwen; SMITH, Shayna; SMITH, Gordon, *et al.* - **Glyphosate contamination in grains and foods: An overview.** *Food Control* (2019); 106.
66. AHC, Van Bruggen; M. M., HE; K, Shin; *et al.* - **Environmental and health effects of the herbicide glyphosate.** *Science of the Total Environment.* (2018); 616:255-68.
67. ROMAN, Erivelton Scherer; VARGAS, Leandro; RIZZARDI, Mauro António; *et al.* - **Como funcionam os herbicidas: da biologia à aplicação.** (2005).
68. Chiu, J; CORTÉS, A; KUMAR, S; *et al.* - **Biological Limitations on Glyphosate Biodegradation.** *Green Technologies and Environmental Sustainability.* (2017):179-201.
69. KANISSERY, Ramdas; GAIKHE, Biwek; KADYAMPAKENI, Davie, *et al.* - **Glyphosate: Its Environmental Persistence and Impact on Crop Health and Nutrition.** *Plants.* (2019); 8:1-11.
70. FURTADO, BBR. **Toxicocinética, Toxicodinâmica e Medidas de Atendimento ao Paciente Intoxicado.** [Consult. 18 de abril de 2021]. Disponível em: <https://siteantigo.portaleducacao.com.br/conteudo/artigos/farmacia/toxicocinetica-toxicodinamica-e-medidas-de-atendimento-ao-paciente-intoxicado/67812#>
71. TEIXEIRA, F. - **Utilização de Pesticidas Agrícolas.** Lisboa. (2014).
72. MEFTAUL, I; VENKATESWARLU, K; DHARMARAJAN, R; *et al.* - **Controversies over human health and ecological impacts of glyphosate: Is it to be banned in modern agriculture?.** *Environmental pollution.* (2020); 263.
73. AMARO, P. - **A Proteção Integrada.** ISA/Press. (2003).

74. CBERG, CJ; KING, HP; DELENSTARR, G; *et al.* - **Glyphosate residue concentrations in honey attributed through geospatial analysis to proximity of large-scale agriculture and transfer off-site by bees.** PloS one. (2018);13(7).
75. EFSA. - **Review of the existing maximum residue levels for glyphosate according to Article 12 of Regulation (EC) N° 396/2005.** EFSA Journal. (2018);16(5).
76. ANIPLA. - **Manual de Boas Práticas para o uso seguro e sustentável dos produtos fitofarmacêuticos de âmbito profissional.** (2016).
77. CE. - **Regulamento (UE) N° 293/2013 da Comissão de 20 de março de 2013 que altera os anexos II e III do Regulamento (CE) N° 396/2005 do Parlamento Europeu e do Conselho no que se refere aos limites máximos de resíduos de benzoato de emamectina, etofenprox, etoxazol, flutriafol, glifosato, fosmete, piraclostrobina, espinosade e espirotetramato no interior ou à superfície de certos produtos.** (2013).
78. EFSA. - **Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glyphosate.** EFSA Journal. (2015);13(11):4302.
79. FAO/WHO. - **Pesticide residues in food 2016.** [Consult. 21 de dezembro de 2020]. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i5693e.pdf>
80. APREA, C; TARENZONI, B.; DE ANGELIS, V.; *et al.* - **Evaluation of skin and respiratory doses and urinary excretion of alkylphosphates in workers exposed to dimethoate during treatment of olive trees.** Arch Environ Contam Toxicol. (2004); 48:127-34.
81. FLACK, S; GOKTEPE, I.; BALL, L.M.; *et al.* - **Development and application of quantitative methods for monitoring dermal and inhalation exposure to propiconazole.** J Environ Monit. (2008);10:336-44.
82. TUOMAINEN, A; MAKINEN, M.; GLASS, R.; *et al.* Potential exposure to pesticides in Nordic greenhouses. Bull Environ Contam Toxicol. (2002); 69: 342-9.
83. VITALI, M, PROTANO, C.; DEL MONTE, A.; *et al.* - **Operative modalities and exposure to pesticides during open field treatments among a group of agricultural subcontractors.** Arch Environ Contam Toxicol. (2009); 57:193-202.
84. SVIRIDOV, A ST; ERMAKOVA, I; IVANOVA, E; *et al.* - **Microbial degradation of glyphosate herbicides (Review).** Applied Biochemistry and Microbiology. (2013); 51:188-95.
85. NANCY, L. SWANSON, J. - **Evidence that glyphosate is a causative agent in chronic sub-clinical metabolic acidosis and mitochondrial dysfunction.** International Journal of Human Nutrition and Functional Medicine. (2016).

86. CAVALLI, V. - **Alterações bioquímicas induzidas pelo herbicida glifosato-roundup sobre células testiculares de ratos pré-púberes.** (2013).
87. TARAZONA, J; MARQUES, D; TIRAMANI, M; et al. - **Glyphosate toxicity and carcinogenicity: a review of the scientific basis of the European Union assessment and its differences with IARC.** Archives of toxicology. (2017); 91:2723–43.
88. Myers, J; MN, A; Blumberg, B; et al. - **Concerns over use of glyphosate-based herbicides and risks associated with exposures: a consensus statement.** Environmental Health. (2016);15.
89. KIM, Y; HONG, J.; GIL, H.; et al. - **Mixtures of glyphosate and surfactant TN20 accelerate cell death via mitochondrial damage-induced apoptosis and necrosis.** Toxicology in Vitro. (2013); 27(1):191-7.
90. MARIAGER, TP; MADSEN, P.V.; EBBEHØJ, N.E.; et al. - **Severe adverse effects related to dermal exposure to a glyphosate-surfactant herbicide.** Clinical toxicology. (2013); 51:111-3.
91. MESNAGE, R; ANTONIOU, M.N. - **Ignoring Adjuvant Toxicity Falsifies the Safety Profile.** Front Public Health. (2018); 5:1-8.
92. BAI, SH; OGBOURNE, SM. - **Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination.** Environmental science and pollution research international. (2016):1-14.
93. MOON, JM CB, CHO, YS , et al. - **Cardiovascular effects and fatality may differ according to the formulation of glyphosate salt herbicide.** Cardiovascular toxicology. (2018); 18(1):99-107.
94. ATSDR. - **Toxicological Profile for Glyphosate.** (2020).
95. OZAKI, T; KURODA, Y. - **Severe glyphosate-surfactant intoxication successfully treated with continuous hemodiafiltration and direct hemoperfusion: Case report. Therapeutic apheresis and dialysis: official peer-reviewed journal of the International Society for Apheresis, the Japanese Society for Apheresis, the Japanese Society for Dialysis Therapy.** (2017) ;21(3):296-7.
96. PICETTI, E GM; MENSI, F, et al. - **Glyphosate ingestion causing multiple organ failure: A near-fatal case report.** Acta bio-medica : Atenei Parmensis. (2018); 88(4):533-7.
97. VALLE, A. L.; MELLO, F. C.; ALVES BALVEDI, R. P.; et al. - **Glyphosate detection: methods, needs and challenges.** Environmental Chemistry Letters. (2019); 17:291-317.

98. Manfo FPT, Mboe, S. A., Nantia, E. A., Ngoula, F., Telefo, P. B., Moundipa, P. F., & Cho-Ngwa, F. **Evaluation of the Effects of Agro Pesticides Use on Liver and Kidney Function in Farmers from Buea, Cameroon.** Journal of toxicology. (2020).
99. SÉRALINI, G.E.; CLAIR, E.; MESNAGE, R.; *et al.* - **Republished study: long-term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize.** Environmental sciences Europe. (2014); 26 (14).
100. JAYASUMANA, C.; GUNATILAKE, S.; SIRIBADDANA, S. - **Simultaneous exposure to multiple heavy metals and glyphosate may contribute to Sri Lankan agricultural nephropathy.** BMC nephrology. (2015);16(103).
101. SLAGER, R.E.; POOLE, J.A.; LEVAN, T.D.; *et al.* - **Rhinitis associated with pesticide exposure among commercial pesticide applicators in the Agricultural Health Study.** Occupational and environmental medicine. (2009); 66(11):718-24.
102. HOPPIN, J.; UMBACH, D.; , LONDON, S.; *et al.* - **Pesticides and atopic and nonatopic asthma among farm women in the Agricultural Health Study.** American journal of respiratory and critical care medicine. (2008); 177(1):11-8.
103. GRESS, S.L.; SÉRALINI, G.E.; PUDDU, P.E. - **Glyphosate-Based Herbicides Potently Affect Cardiovascular System in Mammals: Review of the Literature.** Cardiovascular toxicology. (2014); 15(2):117-26.
104. BRUNETTI, R. - **Electrocardiographic abnormalities associated with acute glyphosate toxicity.** HeartRhythm case reports. (2020); 6(2):63-6.
105. TORRETTA, V.; KATSOYIANNIS, I.; VIOTTI, P.; *et al.* - **Critical Review of the Effects of Glyphosate Exposure to the Environment and Humans through the Food Supply Chain.** Sustainability. (2018).
106. DESESSO, J.; WILLIAMS, A.; REISS, R. - **Conflicting views on the potential carcinogenicity of glyphosate: how did we get here and what should we do?** Journal of Public Health and Emergency. (2017).
107. WOŹNIAK. E.; SICIŃSKA, P.; MICHAŁOWICZ, J.; *et al.* - **The mechanism of DNA damage induced by Roundup 360 PLUS, glyphosate and AMPA in human peripheral blood mononuclear cells-genotoxic risk assesement.** Food and chemical toxicology. (2018);120: 510-22.
108. SCHINASI L, LEON ME. - **Non-Hodgkin Lymphoma and Occupational Exposure to Agricultural Pesticide Chemical Groups and Active Ingredients: A Systematic Review and Meta-Analysis.** Int J Environ Res Public Health (2014);11:4449-527.

109. QUERCUS. **Glifosato: o herbicida mais vendido em Portugal afinal pode causar cancro em humanos.** [Consult. 20 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://www.quercus.pt/comunicados/2015/marco/4228-glifosato-o-herbicida-mais-vendido-em-portugal-afinal-pode-causar-cancro-em-humanos>
110. SAMSEL A, SENEFF S. - **Glyphosate's Suppression of Cytochrome P450 Enzymes and Amino Acid Biosynthesis by the Gut Microbiome: Pathways to Modern Diseases Entropy.** (2013); 15:1416-63.
111. ANDREOTTI, G.; KOUTRO, S.; HOFMANN, J.; *et al.* -**Glyphosate Use and Cancer Incidence in the Agricultural Health Study.** JNCI J Natl Cancer Inst. (2018 ); 110(5).
112. RISIKOBEWERTUNG, Bf. - **Glyphosate: BfR has reviewed and assessed the original studies of the applicants in depth 2017.** [Consult. 11 de outubro de 2020]. Disponível em: <http://m.bfr-meal-studie.de/cm/349/glyphosate-bfr-has-reviewed-and-assessed-the-original-studies-of-the-applicants-in-depht.pdf>
113. **Classificação harmonizada do glifosato confirmada pela Autoridade Europeia das substâncias químicas.** [Consult. 11 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://agriculturaemar.com/classificacao-harmonizada-do-glifosato-confirmada-pela-autoridade-europeia-das-substancias-quimicas/>
114. HARDEMAN, V. - **MONSANTO.** [Consult. 11 de outubro de 2020]. Disponível em: [https://www.publicjustice.net/case\\_brief/hardeman-v-monsanto/](https://www.publicjustice.net/case_brief/hardeman-v-monsanto/)
115. COULLERY, R.P.; FERRARI, M.E.; ROSSO, S.B. - **Neuronal development and axon growth are altered by glyphosate through a WNT non-canonical signaling pathway.** *Neurotoxicology.* (2016); 52:150 -61.
116. RULL, R.P.; RITZ, B.; G.M., S. - **Neural tube defects and maternal residential proximity to agricultural pesticide applications.** *American journal of epidemiology.* (2006); 163:743-53.
117. GARRY, V.F.; HARKINS, M.E.; ERICKSON, L.L.; *et al.* - **Birth defects, season of conception, and sex of children born to pesticide applicators living in the red river valley of minnesota, USA.** *EnvironHealth Perspect* (2002); 110:441–9.
118. KORTENKAMP, A.; MARTIN, O.; FAUST, M.; *et al.* - **State of the art assessment of endocrine disrupters.** (2012).
119. Beuret, C.; Zirulnik, F.; Gimenez, M.S. - **Effect of the herbicide glyphosate on liver lipoperoxidation in pregnant rats and their fetuses.** *Reprod Toxicol.* (2006);19:501-4.

120. DE SOUZA, J.S.; KIZYS, M.M.; DA CONCEIÇÃO, R.R.; *et al.* - **Perinatal exposure to glyphosate-based herbicide alters the thyrotrophic axis and causes thyroid hormone homeostasis imbalance in male rats.** *Toxicology.* (2017); 377(15):25-37.
121. Thongprakaisang, S.; Thiantanawat, A.; Rangkadilok, N.; *et al.* - **Glyphosate induces human breast cancer cells growth via estrogen receptors.** *Food and Chemical Toxicology* (2013); 59:129–36.
122. ROMANO, R.M.; ROMANO, M.A.; BERNARDI, M.M.; *et al.* - **Prepubertal exposure to commercial formulation of the herbicide glyphosate alters testosterone levels and testicular morphology.** *Archives of toxicology.* (2010); 84:309–17.
123. INGARAMO, P.; VARAYOUD, J.; *et al.* - **Neonatal exposure to a glyphosate based herbicide alters the development of the rat uterus.** *Toxicology.* (2017); 376:2-14.
124. INGARAMO, P.I.; VARAYOUD, J.; MILESI, M.M.; *et al.* - **Effects of neonatal exposure to a glyphosate-based herbicide on female rat reproduction.** *Reproduction.* (2016); 152:403-15.
125. GIGANTE, P.; BERNI, M.; BUSSOLATI, S.; *et al.* - **Glyphosate affects swine ovarian and adipose stromal cell functions.** *Animal reproduction science.* (2018).
126. DALLEGRAVE, E.; MANTESE, F.D.; OLIVEIRA, R.T.; *et al.* - **Pre - and postnatal toxicity of the commercial glyphosate formulation in Wistar rats.** *Archives of toxicology.* (2007); 81:665-73.
127. INGARAMO, P.; VARAYOUD, J.; *et al.* - **Neonatal exposure to a glyphosate based herbicide alters the development of the rat uterus.** *Toxicology.* (2017); 376:2-14.
128. ANTONIOU, M.; HABIB, M.; HOWARD, C.V.; *et al.* - **Teratogenic effects of glyphosate-based herbicides: divergence of regulatory decisions from scientific evidence.** *Environmental & Analytical Toxicology.* (2012).
129. TALBOT, A.R.; SHIAW, M.H.; HUANG, J.S. - **Acute poisoning with a glyphosate-surfactant herbicide ('Roundup'): a review of 93 cases.** *Human & experimental toxicology.* (1991); 10:1-8.
130. NORDSTRÖM, M.; HARDELL, L.; MAGNUSON, A.; *et al.* - **Occupational exposures, animal exposure and smoking as risk factors for hairy cell leukaemia evaluated in a case-control study.** *British journal of cancer.* (1998); 77(11):2048-52.

131. ARBUCKLE, T.E.; LIN, Z.; MERY, L.S. - **An exploratory analysis of the effect of pesticide exposure on the risk of spontaneous abortion in an Ontario farm population.** Environmental health perspectives. (2001); 109(8): 851-7.
132. GARRY, V.; HARKINS, M.; ERICKSON, L.; et al. - **Birth Defects, Season of Conception, and Sex of Children Born to Pesticide Applicators Living in the Red River Valley of Minnesota, USA.** Environmental health perspectives. (2002); 110:441-9.
133. MILLS, K.T.; BLAIR, A; FREEMAN, L.E.; et al. - **Pesticides and myocardial infarction incidence and mortality among male pesticide applicators in the Agricultural Health Study.** American journal of epidemiology. (2009);170(7):892-900.
134. ZOUAOUI, K; DULAURENT, S.; GAULIER, J.M.; et al. - **Determination of glyphosate and AMPA in blood and urine from humans: About 13 cases of acute intoxication.** Forensic science international. (2013); 226:20-5.
135. EHRENSTEIN, O.; LING, C.; CUI, X.; et al. - **Prenatal and infant exposure to ambient pesticides and autism spectrum disorder in children: population based case-control study.** BJM. (2019); 364.
136. AGOSTINI, L.P.; DETTOGNI, R.S.; DOS REIS, R.S.; et al. - **Effects of glyphosate exposure on human health: Insights from epidemiological and in vitro studies.** Science of the Total Environment. (2020); 705.
137. ASAE. - **Sabe o que é o glifosato?** [Consult. 20 de março de 2021]. Disponível em: [https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:Fjm\\_7lx7bwj:https://www.asae.gov.pt/ficheiros-externos-2016/sabe-o-que-e-o-glifosato-maio-pdf.aspx+&cd=1&hl=ptPT&ct=clnk&gl=pt](https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:Fjm_7lx7bwj:https://www.asae.gov.pt/ficheiros-externos-2016/sabe-o-que-e-o-glifosato-maio-pdf.aspx+&cd=1&hl=ptPT&ct=clnk&gl=pt)
138. ZOLLER, O.; RHYN, P; RUPP, H; ZARN, J.A.; GEISER, C. - **Glyphosate residues in Swiss market foods: monitoring and risk evaluation.** Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance. (2018); 11(2):83–91.
139. OSTEN, Rendón-von; DZUL-CAAMAL, R. - **Glyphosate residues in groundwater, drinking water and urine of subsistence farmers from intensive agriculture localities: A survey in Hopelchén, Campeche, Mexico.** International journal of environmental research and public health. (2017); 14(6).
140. **Decreto - Lei nº 152/2017, de 7 de dezembro.** Diário da República n.º 235/2017, Série I de 2017-12-07. [Consult. 9 de julho de 2021]. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/decreto-lei/152-2017-114315242>
141. LIAO, Y.; BERTHION, J.M.; COLET, I.; et al. - **Validation and application of analytical method for glyphosate and glufosinate in foods by liquid**

**chromatography-tandem mass spectrometry.** Journal of Chromatography A. (2018); 1549:31-8.

142. GOTTI, R.; FIORI, J.; BOSI, S.; DINELLI, G. - **Field-amplified sample injection and sweeping micellar electrokinetic chromatography in analysis of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in wheat.** Journal of Chromatography A. (2019); 1601:357–64.

143. DGAV. - **Relatório PNCRPPOV: Plano Nacional de Controlo de Resíduos de Pesticidas em Produtos de Origem Vegetal no ano de 2019.** (2021).

144. COMMISSION, E. - **RASFF- Annual Report 2019.** (2020).

145. EFSA. - **Glossary.** [Consult. 7 de dezembro de 2020]. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/glossary-taxonomy-terms>

146. BORGGAARD, O.K.; GIMSING, A.L. - **Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review.** Pest management science. (2008); 64(4):441-56.

147. SILVA, V.; MONTANARELLA, L.; JONES, A.; et al. - **Distribution of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in agricultural topsoils of the European Union.** SciTotal Environ. (2018); 621:1352-9.

148. BORGGAARD, O.K.; GIMSING, A.L. - **Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: A review.** Pest Manag Sci. (2008); 64:441-56.

149. VERECKEN, H. - **Mobility and leaching of glyphosate: a review.** Pest Manag Sci. (2005); 61(12):1139-51.

150. LAITINEN, P. - **Fate of the organophosphate herbicide glyphosate in arable soils and its relationship phosphorus status.** MTT Agrifood Research Finland. (2009).

151. ORTIZ, A.; OKADA, E.; BEDMAR, F.; et al. - **Sorption and desorption of glyphosate in mollisols and ultisols soils of argentina.** Environmental toxicology and chemistry. (2017).

152. CASSIGNEUL, A.; BENOIT, P.; BERGHEAUD, V.; et al. - **Fate of glyphosate and degradates in cover crop residues and underlying soil: A laboratory study.** Science of the Total Environment. (2016): 582–90.

153. SIDOLI, Pauline; BARAN, Nicole; ANGULO-JARAMILLO, R. - **Glyphosate and AMPA adsorption in soils: laboratory experiments and pedotransfer rules.** Environ Sci Pollut Res (2015).

154. OKADA, Elena; COSTA, José Luis; Francisco, B. - **Glyphosate Dissipation in Different Soils under No-Till and Conventional Tillage.** (2017).

155. SKEFF, Wael; RECKNAGEL, Constantin; DÜWEL, Yvonne; et al. - **Adsorption behaviors of glyphosate, glufosinate, aminomethylphosphonic acid, and 2-aminoethylphosphonic acid on three typical Baltic Sea sediments.** Marine Chemistry. (2018); 198:1-9.
156. Kolpin, D.W.; Thurman, E.M.; Lee, E.A.; et al. - **Urban contributions of glyphosate and its degradate AMPA to streams in the United States.** Science of the Total Environment (2006); 354:191 – 7.
157. SKEFF, W.; NEUMANN, C; SCHULZ BULL, D.E. - **Glyphosate and AMPA in the estuaries of the Baltic Sea method optimization and field study.** Marine pollution bulletin. (2015); 100(1):577-85.
158. CHANG, F.C.; SIMCIK, M.F.; CAPEL, P.D. - **Occurrence and fate of the herbicide glyphosate and its degradate aminomethylphosphonic acid in the atmosphere.** Environmental toxicology and chemistry. (2011);30:548–55.
159. CURWIN, B.D.; HEIN, M.J; SANDERSON, W.T.; et al. - **Pesticide contamination inside farm and nonfarm homes.** J Occup Environ Hyg. (2005); 2(7):357-67.
160. APARICIO, Virginia C.; DE GERÓNIMO, Eduardo; MARINO, Damián; et al. - **Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins.** Chemosphere. (2013); 93(9):1866-73.
161. **Decreto - Lei nº 306/2007, de 27 de agosto.** Diário da República n.º 164/2007, Série I de 2007-08-27. [Consult. 9 de julho de 2021]. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/decreto-lei/306-2007-640931>
162. DGAV. - **Pesticidas a pesquisar em água destinada ao consumo humano: triénio 2019-2021.** (2018).
163. DELORENZO, M.E.; LAUTH, J.; PENNINGTON, P.L.; et al. - **Atrazine effects on the microbial food web in tidal creek mesocosms.** Aquatic toxicology. (1999); 46:241 - 51.
164. SIKORSKI, Ł.; BACIAK, M.; BĘŚ A.; ADOMAS, B. - **The effects of glyphosate-based herbicide formulations on Lemna minor, a non-target species.** Aquat Toxicol. (2019); 209:70-80.
165. PIOLA, L.; FUCHS, J.; ONETO, ML.; et al. - **Comparative toxicity of two glyphosate-based formulations to Eisenia andrei under laboratory conditions.** Chemosphere. (2013); 91(4):545-51.

166. SANDRINI, JZ, ROLA, RC, LOPES, FM; *et al.* - **Effects of glyphosate on cholinesterase activity of the mussel *Perna perna* and the fish *Danio rerio* and *Jenynsia multidentata*: In vitro studies.** *Aquatic Toxicology.* (2013);130-131:171-3.
167. RELYEA, RA. - **New effects of Roundup on amphibians: Predators reduce herbicide mortality; herbicides induce antipredator morphology.** *Ecological Applications.* (2012); 22(2):634-47.
168. GUILHERME, S; GAIVÃO, I; SANTOS, M; *et al.* - **Tissue specific DNA damage in the European eel (*Anguilla anguilla*) following a short-term exposure to a glyphosate-based herbicide.** *Toxicology letters.* (2009);189.
169. VANDÁME, R. - **Uso de plaguicidas y mortalidad de abejas en México: Una creciente urgencia.** *Ecological applications : a publication of the Ecological Society of America.* (2012); 22:634–47.
170. Krueger, M; SCHRÖDL, W; *et al.* - **Detection of glyphosate residues in animals and humans.** *Environmental & Analytical Toxicology.* (2014);4(2).
171. GREIM, H; SALTMIRAS, D; MOSTERT, V; STRUPP, C. - **Evaluation of carcinogenic potential of the herbicide glyphosate, drawing on tumor incidence data from fourteen chronic/carcinogenicity rodent studies.** *Crit Rev Toxicol.* (2015);45(3):185-208.
172. AIT BALI, Y; BA-MHAMED, S; BENNIS M. - **Behavioral and immunohistochemical study of the effects of subchronic and chronic exposure to glyphosate in mice.** *Front Behav Neurosci.* (2017);11:146.
173. EFSA. - **Evaluation of the impact of glyphosate and its residues in feed on animal health.** *EFSA J.* (2018);16(5).
174. H. HORTH, E. - **Monitoring Results for Surface and Groundwater.** (2010).
175. MALAGUERRA, F; ALBRECHTSEN, HJ; THORLING, L; BINNING, PJ. - **Pesticides in water supply wells in Zealand, Denmark: a statistical analysis.** *Sci Total Environ.* (2012); 414:433-44.
176. RENDON-VON OSTEN, J; DZUL-CAAMAL, R. - **Glyphosate residues in groundwater, drinking water and urine of subsistence farmers from intensive agriculture localities: a survey in Hopelchén, Campeche, Mexico.** *Int J Environ Res Public Health.* (2017);14(6):595.
177. EFSA. - **Glyphosate: EU regulators begin review of renewal assessments 2021.** [Consult. 9 de julho de 2021]. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/news/glyphosate-eu-regulators-begin-review-renewal-assessments>

178. EFSA. - **Glyphosate**. [Consult. 9 de julho de 2021]. Disponível em: [https://ec.europa.eu/food/plants/pesticides/approval-active-substances/renewal-approval/glyphosate\\_en](https://ec.europa.eu/food/plants/pesticides/approval-active-substances/renewal-approval/glyphosate_en)
179. EFSA. - **Assessment Group on Glyphosate – AGG**. [Consult. 9 de julho de 2021]. Disponível em: [https://ec.europa.eu/food/plants/pesticides/approval-active-substances/renewal-approval/glyphosate/assessment-group\\_en](https://ec.europa.eu/food/plants/pesticides/approval-active-substances/renewal-approval/glyphosate/assessment-group_en)
180. GAG. - **Procedure and outcome of the draft Renewal Assessment Report on glyphosate 2021**. [Consult. 9 de julho de 2021]. Disponível em: [https://ec.europa.eu/food/system/files/2021-06/pesticides\\_aas\\_agg\\_report\\_202106.pdf](https://ec.europa.eu/food/system/files/2021-06/pesticides_aas_agg_report_202106.pdf)
181. NETWORK PA. - **Glyphosate**. (2016).
182. ANGERER, J; EWERS, U; WILHELM, M. - **Human biomonitoring: state of the art**. *Int J Hyg Environ Health* (2007); 210:201-28.
183. KATSIKANTAMIA, I; KAVVALAKIS, M; TZATZARAQUIS, M; et al. - **Advances on Biomonitoring of Organophosphorus and Organochlorine Pesticides**. *Journal of Siberian Federal University Biology*. (2017); 10:153-70.
184. APPENZELLER, B; HARDY, E; GROVA, N; et al. - **Hair analysis for the biomonitoring of pesticide exposure: comparison with blood and urine in a rat model**. *Archives of toxicology*. (2017): 2813–25.
185. YUSA, V; MILLETE, M; COSCOLA, C; et al. - **Analytical methods for human biomonitoring of pesticides. A review**. *Analytica chimica acta*. (2015):15-31.
186. HMB4EU. **Biomarkers of effect: What you need to know 2020**. [Consult. 5 de dezembro de 2020]. Disponível em: <https://www.hbm4eu.eu/>
187. IBÁÑEZ, M; Sancho, J; et al. - **Re-evaluation of glyphosate determination in water by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry**. *Journal of chromatography A*. (2006);1134:51–5.
188. LLASERA, M; ALMARAZ, L; et al. - **Matrix solid-phase dispersion extraction and determination by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection of residues of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in tomato fruit**. *Journal of chromatography A*. (2005);1093:139–46.
189. KOSKINEN, WC ML; HALL, KE. - **Analysis of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in water, plant materials and soil**. *Pest management science*. (2016);72:423–32.
190. SKEFF, W RC; SCHULZ-BULL, DE. - **The influence of salt matrices on the reversed-phase liquid chromatography behavior and electrospray ionization tandem mass spectrometry detection of glyphosate, glufosinate,**

**aminomethylphosphonic acid and 2-aminoethylphosphonic acid in water.** Journal of chromatography A. (2016);1475:64–73.

191. OLIVEIRA PCM, E.M.; OLIVEIRA, P.A.; CAMARGO, J.S.; *et al.* - **Direct electrochemical detection of glyphosate at carbon paste electrode and its determination in samples of milk, orange juice, and agricultural formulation.** Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes. (2018); 53(12): 817–23.

192. ZHANG FX, Y.; LIU, X.; PAN, L.; *et al.* - **Concentration distribution and analysis of urinary glyphosate and its metabolites in occupationally exposed workers in eastern china .** Int J Environ Res Public Health. (2020), 17, 2943. 2020;17.

193. PTF. - **Glifosato: o herbicida que contamina Portugal.** (2016).

194. MARKARD, C. - **Ergebnisse der Vorstudie HBM von Glyphosate.** Federal Environmental Agency (UBA). (2014).

195. KONGTIP, P; PHUPANCHAROENSUK, R; PALARACH, C; *et al.* - **Glyphosate and Paraquat in maternal and fetal serums in Thai women.** J Agromedicine. (2017); 22(3):282-9.

196. MCGUIRE, MK; MCGUIRE, MA; PRICE, WJ; *et al.* - **Glyphosate and aminomethylphosphonic acid are not detectable in human milk.** Am J Clin Nutr. (2016);103(5):285–90.

197. CONNOLLY, A; JONES, K; GALEA, KS. - **Characterising glyphosate exposures among amenity horticulturists using multiple spot urine samples.** International journal of hygiene and environmental health. (2018b); 221(7):1012-22.

198. ACQUAVELLA, J; ALEXANDER, B; MANDEL, J; *et al.* - **Glyphosate biomonitoring for farmers and their families: results from the farm family exposure study.** Environ Health Perspect. (2004);112(3):321–6.

199. RENDON-VON OSTEN, J; DZUL-CAAMAL, R. - **Glyphosate residues in groundwater, drinking water and urine of subsistence farmers from intensive agriculture localities: a survey in Hopelchén, Campeche, Mexico.** Int J Environ Res Public Health. (2017);14:595.

200. MESNAGE, R; MOESCH, C; GRAND, R.; *et al.* - **Glyphosate exposure in a farmer's family.** J Environ Protect. (2012); 3:1001-3.

201. CONNOLLY, A JK; GALEA, KS, BASINAS, I; *et al.* - **Exposure assessment using human biomonitoring for glyphosate and fluroxypyr users in amenity horticulture.** Int J Hyg Environ Health. (2017); 220(6).

202. JAYASUMANA, C GS; SIRIBADDANA, S. - **Simultaneous exposure to multiple heavy metals and glyphosate may contribute to Sri Lankan agricultural nephropathy.** BMC Nephrol. (2015); 16(103).
203. DGAV. - **CÓDIGO DE CONDUTA NA APLICAÇÃO DE PRODUTOS FITOFARMACÊUTICOS.** (2020).
204. DGAV. - **Potreção Integrada das Culturas: Conceitos e Princípios Gerais.** (2014); 1.
205. QUERCUS. - **Campanha Autarquias sem Glifosato/Herbicidas.** [Consult. 8 de julho de 2021]. Disponível em: <https://www.quercus.pt/campanhas/campanhas/autarquias-sem-glifosato/3947-mapa-de-autarquias-sem-glifosato>
206. BRITO, NM; OZELITO, AJ, POLESE, Luciana; *et al.* - **Validação de Métodos Analíticos: Estratégia E Discussão.** Pesticidas: Ecotoxicol e Meio Ambiente. (2003);13:29-46.
207. NIEMANN, Lars; SIEKE, Christian; PFEIL, Rudolf; *et al.* - **A critical review of glyphosate findings in human urine samples and comparison with the exposure of operators and consumers.** Journal of Consumer Protection and Food Safety. (2015):3-12.
208. ZOLLER, Oea. - **Urine glyphosate level as a quantitative biomarker of oral exposure.** International Journal of Hygiene and Environmental Health. (2020); 228.
209. SAÚDE, MD. - **Retrato da Saúde, Portugal.** (2018).
210. RUEDA-RUZAFÁ, L CF, ROMAN, P, CARDONA, D. - **Gut microbiota and neurological effects of glyphosate.** Neurobehav Toxicol. (2019).
211. SAMSEL, A SS. - **Glyphosate, pathways to modern diseases III: manganese, neurological diseases, and associated pathologies.** Surg Neurol Int. (2015).
212. SENEFF, S OL. - **Is glyphosate a key factor in Mesoamerican nephropathy?.** J Environ Anal Toxicol. (2018).
213. DGS. - **PADRÃO ALIMENTAR MEDITERRÂNICÓ: PROMOTOR DE SAÚDE.** (2016).
214. EFSA. - **European Union report on pesticide residues in food.** EFSA Journal. (2019);17(6).
215. CHEN MXC, Z.Y.; JIANG, Y.; ZHU, Z.W. - **Direct determination of glyphosate and its major metabolite, aminomethylphosphonic acid, In fruits and vegetables by mixed-mode hydrophilic interaction/weak anion-exchange I liquid**

**chromatography coupled with electrospray tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A. (2013):90-9.**

216. HORTH, HB. - **Survey of Glyphosate and AMPA in groundwaters and surface waters in Europe. (2009).**

217. MLHB. - **Determination of glyphosate residues in human urine samples from 18 European countries. Medical Laboratory Bremen. (2013).**

218. NOVA, Paulo; SILVA, Margarida. - **Glyphosate in Portuguese Adults – A Pilot Study. Journal Pre-proof. (2020).**

219. COMMISSION, E. - **Regulamento (CE) n° 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho. (2002).**

## 23. ANEXOS

### Anexo I - Termo de consentimento informado.



U.C. LAQV-requimte euvg escola universitária vasco da gama

LABORATÓRIO ASSOCIADO FARMÁCIA E QUÍMICA VASCO HEALTH & SCIENCE SCHOOL - COIMBRA

**CONSENTIMENTO INFORMADO, LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO INTITULADO**  
**“BIOMONITORIZAÇÃO DE AGROQUÍMICOS E MICOTOXINAS”**  
DE ACORDO COM A ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE<sup>1</sup>, A DECLARAÇÃO DE HELSÍNQUIA<sup>2</sup> E A CONVENÇÃO DE OVIEDO<sup>3</sup>

**Investigador Principal:** Professora Doutora Angelina Pena  
**Organização do I.P.:** Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

**NOTA PRÉVIA:** Leia com atenção a seguinte informação. Se achar que algo está incorreto ou que não está claramente explicado, solicite mais informações ao investigador presente. Antes de decidir, poderá falar com qualquer pessoa com a qual se sinta confortável. Se concordar com a proposta que lhe é apresentada, valide o presente documento assinando o Termo de Consentimento.

**PARTE I: PÁGINA DAS INFORMAÇÕES**

**Introdução**  
O presente estudo é conduzido pelo LAQV-REQUIMTE, Laboratório de Bromatologia e Farmacognosia, na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, e pelo Centro de Investigação Vasco da Gama (CIVG)/ Escola Universitária Vasco da Gama (EUVG), no âmbito da investigação na biomonitorização de pesticidas, bisfenóis, poluentes, micotoxinas e outros contaminantes nas populações.  
É importante conhecer o grau de exposição a alguns contaminantes, de origem natural (como as micotoxinas) ou artificial (como os agro-químicos) da população e, se possível, relacioná-lo com outros fatores de saúde ou doença.

**Objectivo**  
O objetivo do presente projeto é analisar amostras de urina e de cabelo de adultos e quantificar a eventual presença de contaminantes de origem natural e artificial, que reflipam a exposição a estes contaminantes por parte dos participantes.

**Tipo de intervenção**  
Recolha de cabelo e urina e preenchimento de questionário.

**Seleção de participantes**  
Os participantes incluídos no estudo devem cumprir os seguintes critérios: serem saudáveis; com idade superior a 18 anos (inclusive).

**Procedimento**  
A recolha da urina é realizada por micção voluntária, de modo autónomo, conforme o procedimento descrito pelo Profissional de Saúde ou membro da Equipa de Investigação. Deve ser recolhida a primeira urina da manhã, após descartar o primeiro jacto. Após a recolha, a amostra é refrigerada e entregue pelo participante até 24 horas após a colheita, na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra ou na Escola Universitária Vasco da Gama (EUVG).  
Recolha de 3 cm de cabelo.

No dia de recolha da amostra de urina e cabelo é também preenchido pelo participante o questionário composto por 3 partes: I. Dados antropométricos e características individuais; II. Dados sociodemográficos e III. Dados relativos à alimentação. O questionário demora cerca de 3 minutos a preencher.

**Condições de Participação**  
A participação no presente estudo é voluntária e facultativa. A qualquer momento o participante poderá abandonar o estudo, sem qualquer prejuízo.

**Benefícios**  
Não existirá nenhum benefício imediato e direto para o participante, sob a forma de pagamento ou de outras contrapartidas.

**Confidencialidade e partilha dos resultados de investigação**  
A confidencialidade dos participantes é garantida ao abrigo da Lei 58/2019, de 8 de agosto, relativo à proteção das pessoas singulares:  
- O questionário e a amostra serão identificadas por um código, com um número correspondente, que não será do conhecimento de ninguém, para além da equipa de investigação.  
- Será garantida a confidencialidade e anonimato no tratamento dos dados, assegurando que nunca será tornada pública a identificação dos participantes em nenhum momento da investigação ou em nenhuma publicação que eventualmente se venha a produzir.  
Os dados e amostras recolhidos servirão para a elaboração deste trabalho científico, sem prejuízo de poderem vir a ser incluídos em estudos retrospectivos e prospetivos relacionados com o tema. No final dos estudos, serão partilhados os resultados com os participantes (informação individual) e a comunidade científica (informação coletiva, sem identificação dos participantes).

**Quem contactar**  
Em caso de alguma questão adicional, em qualquer momento do desenvolvimento do estudo, deverá ser contactada a Prof. Dr.ª Angelina Pena, através do e-mail [apena@ci.uc.pt](mailto:apena@ci.uc.pt) ou telefone 239 488 400

1 [http://www.who.int/rpc/research\\_ethics/informed\\_consent/en/](http://www.who.int/rpc/research_ethics/informed_consent/en/)  
2 Declaração de Helsínquia <https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki-ethical-principles-for-medical-research-involving-human-subjects/>  
3 Convenção de Oviedo <https://dre.pt/web/guest/pesquisa/-/search/235127/details/maximized>

**PARTE II: Termo de consentimento**

*Fui questionado sobre a possibilidade de participação no estudo de biomonitorização de agroquímicos e micotoxinas. Li a informação anterior ou a informação anterior foi-me lida. Tive a oportunidade de colocar questões e, se eventualmente coloquei questões, foram respondidas satisfatoriamente. Consinto voluntariamente em participar neste estudo.*

**Nome (legível) do participante:** \_\_\_\_\_

**Assinatura do participante:** \_\_\_\_\_

**Data:** \_\_\_\_ / \_\_\_\_ /20\_\_

**Se participante iletrado:**

(será assinado por uma testemunha, letrada, selecionada pelo participante e sem relação com a equipa de investigação)

*Eu testemunhei a leitura exacta do formulário de consentimento ao participante, o qual teve oportunidade de colocar questões. Eu confirmo que o mesmo concedeu o consentimento livremente.*

**Nome (legível) da testemunha:** \_\_\_\_\_

**Assinatura da testemunha:** \_\_\_\_\_

**Data:** \_\_\_\_ / \_\_\_\_ /20\_\_

**Declaração do investigador que obteve consentimento**

*Eu li de forma exacta a página de informações ao potencial participante, e que todas as questões colocadas foram respondidas correctamente. Eu confirmo que o consentimento foi cedido livre e voluntariamente.*

*Uma cópia deste Formulário de Consentimento foi entregue ao participante:  SIM*

**Nome (legível) do investigador que obteve consentimento:** \_\_\_\_\_

A preencher conforme questionário correspondente:

Nome (próprio): \_\_\_\_\_

Código interno: \_\_\_\_\_

1 [http://www.who.int/rpc/research\\_ethics/informed\\_consent/en/](http://www.who.int/rpc/research_ethics/informed_consent/en/)  
2 Declaração de Helsinquia <https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki-ethical-principles-for-medical-research-involving-human-subjects/>  
3 Convenção de Oviedo <https://dre.pt/web/guest/pesquisa/-/search/235127/details/maximized>

## Anexo 2 - Questionário “Biomonitorização de Agroquímicos e Micotoxinas”.

		
	LABORATÓRIO ASSOCIADO PARA A QUÍMICA VERDE	escola universitária vasco da gama HEALTH & SCIENCE SCHOOL - COIMBRA

**Questionário para participantes no estudo intitulado**  
**“BIOMONITORIZAÇÃO DE AGROQUÍMICOS E MICOTOXINAS”**

Nome (próprio): _____	Recolha de urina: Data: ___/___/20__
Código interno: _____	Hora: ___h___

**DADOS ANTROPOMÉTRICOS E SAÚDE**

---

Sexo:  Feminino  Masculino  
Idade: \_\_\_\_\_ anos  
Peso: \_\_\_\_\_ Kg  
Altura: \_\_\_\_\_ cm

Medicação na última semana:  Não  Sim: qual: \_\_\_\_\_  
Exposição a fumo de tabaco:  Não  Sim

**DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS**

---

NÍVEL EDUCACIONAL:

Ensino primário     ≤12ºano     Licenciatura     Mestrado/ Doutoramento

RESIDÊNCIA: Localidade: \_\_\_\_\_ Concelho: \_\_\_\_\_ Distrito: \_\_\_\_\_

Distância da residência à **indústria/ zona industrial** mais próxima:

≤100m     500m     ≥1km

Distância da residência ao **campo agrícola (cultivado)** mais próximo:

≤100m     500m     ≥1km

(v.24.Fev.2020)  
(Adaptado de [http://www.who.int/rpc/research\\_ethics/informed\\_consent/en/](http://www.who.int/rpc/research_ethics/informed_consent/en/))

Distância da residência à **autoestrada/via rápida** mais próxima:

≤100m       500m       ≥1km

Utilização de **agroquímicos** (*quando aplicável*):

Não     Sim

Se sim, no:     Jardim     Quintal/ horta

Se sim, os seguintes agroquímicos:

Pesticidas     Fungicidas     Herbicidas

Outros, quais: \_\_\_\_\_

#### **DADOS ALIMENTAÇÃO**

---

Responder com base na alimentação nos **últimos sete (7) dias**:

ORIGEM dos alimentos consumidos:

<25%    50%    75%    100%   Caseiro/ Produtores locais  
 <25%    50%    75%    100%   Superfícies comerciais/ Supermercado

LOCAL:

Casa: \_\_\_\_\_ número/ semana

Restauração: \_\_\_\_\_ número/ semana

#### **QUESTIONÁRIO ALIMENTAR:**

Este questionário tem como objectivo avaliar uma potencial correlação entre o consumo de determinados alimentos e os níveis de agroquímicos e micotoxinas presentes na urina e cabelo dos participantes.

Procure responder às questões de uma forma sincera, indicando aquilo que realmente a criança comeu e não o que pensa que seria correcto comer.

O questionário pretende identificar o consumo de alimentos da última semana, i.e. dos últimos sete dias previamente à recolha de urina e cabelo. Assim para cada alimento, deve assinalar, preenchendo com um X a respectiva opção, quantas vezes por semana, comeu em média, cada um dos alimentos referidos nesta lista, ao longo da última semana (sete dias). Não se esqueça de assinalar na opção respectiva os alimentos que nunca come, ou come menos de 1 vez por semana.

Não se esqueça de ter em conta as vezes que o alimento é consumido sozinho e aquelas em que é adicionado a outros alimentos ou pratos (exemplo: os ovos das omeletas, etc.).

\_\_\_\_\_

Nos **últimos sete (7) dias** qual foi a **frequência** e a **quantidade** consumida de (assinale com X):

Grupo	Alimento (porção média)	FREQUÊNCIA MÉDIA							
		Nunca ou < 1 semana	1 por semana	2 por semana	3 por semana	4 por semana	5 por semana	6 por semana	≥7 por semana
LACTÍCIOS	LEITE (1 chávena = 250 ml)								
	IOGURTE (Um = 125 g)								
	QUEIJO (Uma fatia=30g)								
	GELADO (Um ou 2 bolas)								

Grupo	Alimento (porção média)	FREQUÊNCIA MÉDIA							
		Nunca ou < 1 semana	1 por semana	2 por semana	3 por semana	4 por semana	5 por semana	6 por semana	≥7 por semana
PÃO E CEREALS	PÃO BRANCO OU TOSTAS (1-2 UNIDADES)								
	PÃO (OU TOSTAS) INTEGRAL OU OUTROS (1-2 UNIDADES)								
	BROA (1 fatia = 80 g)								
	FLOCOS DE CEREALS (1 chávena sem leite)								
	ARROZ e MASSAS (½ prato)								

Grupo	Alimento (porção média)	FREQUÊNCIA MÉDIA							
		Nunca ou < 1 semana	1 por semana	2 por semana	3 por semana	4 por semana	5 por semana	6 por semana	≥7 por semana
OVOS, CARNES E PEIXE	OVOS (1 UNIDADE)								
	AVES (FRANGO E PERÚ) (2 peças ou ¼ frango)								
	VACA (1 porção = 120g)								
	PORCO (1 porção = 120g)								
	OUTRAS CARNES (1 porção = 120g)								
	ENCHIDOS E FUMADOS (e.g. FIAMBRE, CHOURIÇO, SALPICÃO, PRESUNTO, SALSICHAS, TOUCINHO, BACON) (2 fatias ou 3 rodelas)								
	PEIXE ((1 porção = 120g)								

(v.24.Fev.2020)  
(Adaptado de [http://www.who.int/rpc/research\\_ethics/informed\\_consent/en/](http://www.who.int/rpc/research_ethics/informed_consent/en/))

Grupo	Alimento (porção média)	FREQUÊNCIA MÉDIA							
		Nunca ou < 1 semana	1 por semana	2 por semana	3 por semana	4 por semana	5 por semana	6 por semana	≥7 por semana
VEGETAIS	SOPA (1 prato)								
	LEGUMES/SALADAS (1 porção)								
	FRUTA (4 peças)								

Grupo	Alimento (porção média)	FREQUÊNCIA MÉDIA							
		Nunca ou < 1 semana	1 por semana	2 por semana	3 por semana	4 por semana	5 por semana	6 por semana	≥7 por semana
DOÇES	BOLACHAS (3 unidades)								
	CHOCOLATE e DERIVADOS (3 quadrados; 1 colher de sobremesa)								

Grupo	Porção média (porção média)	FREQUÊNCIA MÉDIA							
		Nunca ou < 1 semana	1 por semana	2 por semana	3 por semana	4 por semana	5 por semana	6 por semana	≥7 por semana
FRUTOS SECOS	½ chávena (descascados)								

(v.24.Fev.2020)  
(Adaptado de [http://www.who.int/rpc/research\\_ethics/informed\\_consent/en/](http://www.who.int/rpc/research_ethics/informed_consent/en/))