



Eclética Química

ISSN: 0100-4670

atadorno@iq.unesp.br

Universidade Estadual Paulista Júlio de  
Mesquita Filho  
Brasil

Molero da Silva, Bruno; das Dores da Silva, Paulo Roberto; Oliveira Rezende, Maria  
Olímpia

Desenvolvimento de metodologia verde por HPLC/UV para determinação de glifosato em  
amostras ambientais de solo

Eclética Química, vol. 40, 2015, pp. 106-116

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho  
Araraquara, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42955129011>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal

Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

## Desenvolvimento de metodologia verde por HPLC/UV para determinação de glifosato em amostras ambientais de solo

Bruno Molero da Silva<sup>1</sup>, Paulo Roberto das Dores da Silva<sup>1</sup>, Maria Olímpia Oliveira Rezende<sup>2</sup>

**Resumo:** O glifosato, N-Fosfonometil-glicina, é um herbicida sistêmico e pós-emergente com grande eficiência na remoção de ervas daninhas, apresentando baixo custo, que é refletido na sua vasta aplicação. Assim, os cuidados relacionados com a possibilidade de contaminação ambiental com esta molécula devem ser estudados cautelosamente, devido a efeitos deletérios no ambiente. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver uma metodologia analítica verde adequada para a determinação do glifosato em amostras de solo utilizando a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC). O método proposto descreveu uma alternativa eficaz para a determinação de glifosato em amostras ambientais de solo eliminando a etapa de clean-up. Os limites de detecção e quantificação relacionados ao método foram 9,93 e 30,1  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Nas amostras de solo, os resultados de recuperação variaram de 78,1 a 113,2 % de glifosato conforme a porcentagem da fração orgânica, inorgânica, entre outros fatores.

**Palavras-chave:** glifosato, amostras de solo, HPLC-UV, metodologia verde

**Abstract:** Glyphosate, N-(phosphonomethyl)glycine, is a systemic herbicide and post-emergent with great efficiency in the removal of weeds, featuring low cost, which is reflected on its wide application. Due to this fact, special care in order to not contaminate the environment has to be attended, since there is evidence of deleterious effects on the environment. Therefore, the aim of this study was to develop an analytical green methodology for the determination of glyphosate in soil samples using the technique of high performance liquid chromatography. The proposed method describes an efficient alternative for the determination of glyphosate in soil samples by eliminating the step of clean-up. The limits of detection and quantification related to the method were 9.93 and 30.1  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Samples of soil results in recovery of glyphosate ranged from 78.1 to 113.2% due to the percentage fraction of organic, inorganic, among other factors.

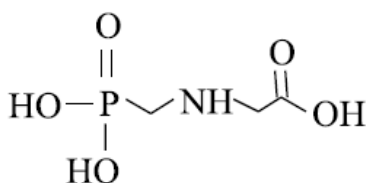
**Keywords:** glyphosate, no clean-up step, soil environmental samples, HPLC-UV, green methodology

<sup>1</sup> Centro Universitário Pe. Anchieta. Av. Dr. Adoniro Ladeira, km 94, Via Anhanguera, Jundiaí, SP. CEP 13210-800.

<sup>2</sup> Instituto de Química de São Carlos – Universidade de São Paulo. Av. Trabalhador São-carlense, 400, CP 780, São Carlos, SP. CEP 13560-970.

## INTRODUÇÃO

O glifosato, N-(fosfonometil)-glicina (GLI) (Figura 1), pertencente ao grupo químico das glicinas substituídas, é um herbicida pós-emergente, classificado como não seletivo, de ação sistêmica, representando cerca de 60% do mercado de herbicidas não seletivos [1 - 2]. Na forma de sal de isopropilamônio, apresenta-se com a adição do grupo  $(\text{CH}_3)_2\text{CHNH}_3^+$  ( $228,2 \text{ g mol}^{-1}$ ).



**Figura 1** – Estrutura química do glifosato.

Ao longo das últimas décadas houve um aumento acentuado no número de formulações de glifosato, conferindo-lhe o título de um dos mais utilizados em todo o mundo [2].

De todos os componentes do solo, a matéria orgânica é um dos principais constituintes. A matéria orgânica é constituída principalmente de substâncias húmicas, as quais, dependendo da solubilidade em solução aquosa, podem subdividir-se em ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e humina. Estas substâncias apresentam dois importantes grupos funcionais em sua estrutura: fenólicos e carboxílicos que possuem o hidrogênio ionizável em comum, podendo ou não estar na forma dissociada de acordo com o pH do meio [3].

Os grupos funcionais ácidos carboxílicos e fenólicos são os principais responsáveis pelas interações que ocorrem entre os ácidos húmicos e moléculas orgânicas, tais como os pesticidas. As quantidades desses grupos nos ácidos húmicos variam de acordo com a natureza do material.

O solo é ainda constituído de fração inorgânica, podendo estar dividido entre os grânulos de silte, argila, areia e material grosso (pedregulho fino, pedregulho médio e grosso).

A grande utilização de GLI pode levar a efeitos deletérios no ambiente após seu uso prolongado. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver metodologia analítica ambientalmente correta, comumente denominada de metodologia verde, como uma alternativa eficaz para determinação de GLI em amostras ambientais de solo.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### I- Reagentes

O padrão GLI foi adquirido da Sigma-Aldrich, Catálogo: 45521, lote: 8014X, validade: 14/10/2015. Foi preparada uma solução padrão estoque de  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de GLI em água purificada pelo sistema milli-Q. A partir dessa solução estoque foram feitas as devidas diluições para  $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $300 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $150 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $75 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  e  $50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ .

O estudo foi realizado na parte superior da bacia do Rio Jacaré-Guaçu, importante afluente da margem direita do rio Tietê, localizado na região centro-oriental do estado de São Paulo, com uma extensão aproximada de  $1.100 \text{ km}^2$ , definida pelas seguintes coordenadas geográficas:  $21^\circ 57' 30''$  e  $22^\circ 22' 30''$  de latitude sul e  $47^\circ 42' 30''$  e  $48^\circ 05' 30''$  de longitude oeste [4].

A amostragem foi feita nos rios Ribeirão do Feijão e no rio Jacaré-Guaçu na cidade de São Carlos-SP. Outras amostras de solo foram coletadas no campus 2 da USP, em São Carlos, e em uma fazenda na região periférica de São Carlos.

Analisaram-se solos de diferentes procedências, com o objetivo de obter as porcentagens de recuperação do GLI.

Entre o Ribeirão do Feijão e o Rio Jacaré-Guaçu, o principal uso da terra é para pastagens, com técnicas de criação de gado bovino semi-intensiva e extensiva. Na agricultura destacam-se as culturas de café, cana-de-açúcar, citrus e milho, com predomínio de pequenos e médios agricultores.

Na Tabela 1 apresentam-se os pontos de coleta com sua localização e amostragem.

**Tabela 1** – Pontos de coleta com sua exata localização

| Pontos de coleta | Localização  |
|------------------|--|
| 1                | Ribeirão do Feijão na ponte sobre a estrada, aproximadamente a 3,5 km das nascentes.       |
| 2                | Ribeirão do Feijão, dentro da Fazenda Yolanda, a montante da casa principal.               |
| 3                | Córrego do São José (formador do Córrego do Laranja Azeda, afluente do Ribeirão do Feijão) |
| 4                | Córrego do Laranja Azeda, na Fazenda Yolanda.  |
| 5                | Ribeirão do Feijão, a montante da captação do SAAE.  |
| 6                | Rio Jacaré-Guaçu, após a confluência dos Ribeirões do Feijão e Lobo.                       |
| 7                | Rio Jacaré-Guaçu, após o ponto a ponte a jusante da Represa de Santa Ana.                  |
| 8                | Rio Jacaré-Guaçu, antes da confluência com o Rio do Monjolinho.                            |
| 9                | Rio Jacaré-Guaçu, aproximadamente 500 m após da confluência com o Rio do Monjolinho.       |

As amostras de solo foram coletadas com o auxílio de uma cavadeira, armazenadas em potes plásticos e transportadas em caixas de isopor com gelo até sua chegada ao laboratório, onde foram mantidas sob-refrigeração no freezer a - 10 °C.

#### Caracterização das amostras de solo

Foi realizada a caracterização química dos solos, segundo as seguintes variáveis: pH em CaCl<sub>2</sub>, carbono total via TOC-V COH Shimadzu, capacidade de troca catiônica (CTC), através de ocupação dos sítios ativos de troca com íons de hidrogênio em solução 1 mol L<sup>-1</sup> de ácido acético glacial, teor de matéria orgânica (MO) e umidade (U), via gravimetria [5].

A extração e quantificação dos ácidos húmicos e ácidos fúlvicos foram realizadas de acordo com a metodologia convencional sugerida pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) [6]. A soma dos ácidos húmicos e ácidos fúlvicos foi considerada como matéria húmica total (MHT).

#### Tratamento estatístico dos resultados

Todas as determinações foram executadas em quintuplicata, com as amostras secas a 60-65°C, determinando-se a média aritmética e posteriormente o desvio padrão amostral. Foi realizado também o tratamento estatístico de Student, para um nível de confiança de 95% e o erro da medida foi calculado pela equação 1:

$$e = \pm (tx\sigma)/\sqrt{n} \quad \text{equação 1}$$

onde,

e = erro da medida;

t = coeficiente de Student tabelado para um limite de confiança de 95%;

σ = desvio-padrão

n = número de repetições.

#### Preparo das amostras de solo para a determinação em HPLC/UV

O estudo de recuperação foi realizado utilizando três níveis de concentrações, baixo (1 mg L<sup>-1</sup>), médio (2 mg L<sup>-1</sup>) e alto (3 mg L<sup>-1</sup>). Foram realizadas extrações sólido-líquidas, utilizando-se uma mistura extratora proveniente de um sal de 0,1 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> mol L<sup>-1</sup> em água. Em seguida, as amostras de solo foram injetadas no HPLC sem a etapa de “clean-up”.

Para a construção das curvas analíticas, utilizou-se o método de padronização externa em ordem crescente de concentração de solução de GLI: 50 µg L<sup>-1</sup>, 75 µg L<sup>-1</sup>, 150 µg L<sup>-1</sup>, 300 µg L<sup>-1</sup> e 500 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Cada amostra foi injetada sete vezes, obtendo-se assim um desvio padrão desejável das injeções [7].

As determinações foram realizadas em um HPLC modelo LC-10AVP equipado com detector de UV-Vis SPD-10VP da Shimadzu, com coluna de troca aniônica, Partisil 10 SAX com 25 cm de comprimento

por 4,6 mm de diâmetro interno. A fase móvel utilizada foi um tampão preparado usando 0,68 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  com adição de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (85%) até  $\text{pH}=2$ , completando-se o volume para um litro de água ultra-purificada (Milli-Q) em sistema isocrático de eluição com uma vazão de  $2,3 \text{ mL min}^{-1}$ . A temperatura da coluna foi mantida a  $25^\circ\text{C}$  e o comprimento de onda de detecção em 195 nm. O volume de injeção permaneceu constante em  $20 \mu\text{L}$ .

Foram pesados 5 g das amostras de solo seco para todos os pontos de coleta e, em seguida, as amostras foram fortificadas em três níveis de concentração, adicionando  $5 \text{ mL}$  de GLI a  $1 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $2 \text{ mg L}^{-1}$  e  $3 \text{ mg L}^{-1}$  para cada ponto de amostragem, permanecendo em repouso por 1 hora.

As amostras foram submetidas ao processo de extração (sólido-líquido) com a adição de  $20 \text{ mL}$  de solução de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . Em seguida, agitaram-se as amostras na mesa agitadora por 45 minutos entre 100-200 agitações por minuto. Finalmente, o sobrenadante foi separado e uma alíquota do mesmo sobrenadante foi filtrada usando um filtro de seringa com membrana de  $0,45 \mu\text{m}$  de diâmetro.

Os resíduos gerados foram encaminhados ao Laboratório de Resíduos Químicos para tratamento adequado [8].

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Determinação cromatográfica de glifosato nas amostras de solo

Devido a sua alta polaridade e por não ser uma molécula volátil, o GLI é analisado pelo método proposto em HPLC/UV. Alguns autores consideram esse tipo de análise inapropriada, já que o herbicida não possui agentes cromóforos em sua molécula, tornando-se necessário, portanto, o uso de reações de derivatização, geralmente em pós-coluna. No entanto, a detecção por UV pode ser eficiente com o uso de uma coluna de troca iônica, já que a molécula do glifosato apresenta quatro grupos ionizáveis que podem estar na forma protonada ou dissociada de acordo com o pH do meio.

Assim, é possível a utilização do sistema HPLC/UV para análise de glifosato em amostras ambientais de solo, tornando-se desnecessária uma prévia derivatização da molécula. Essa prévia derivatização gera problemas em demanda de tempo e alto custo em análises.

No presente estudo foi realizado o procedimento de validação da metodologia incluindo os seguintes parâmetros de desempenho: seletividade, linearidade, sensibilidade, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão, precisão e robustez, no qual todos os testes estiveram dentro dos limites aceitáveis [9].

O método utilizado apresentou-se linear com coeficientes de correlação significativos dentro da faixa de concentração de 50 a  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ . Os coeficientes de correlação ( $r$ ) e determinação ( $r^2$ ) calculados para a curva analítica foram:  $r = 0,9982835$  e  $r^2 = 0,99657$ , respectivamente.

Os valores de LD e LQ, relativos ao equipamento nas condições analíticas utilizadas, foram 3,3 e  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. Já os valores de LD e LQ, relativos ao método foram, respectivamente, de 9,93 e  $30,1 \mu\text{g L}^{-1}$ . Isso indica que o método está adequado para detectar e quantificar o herbicida em baixos níveis de concentração.

Para melhor compreender as diferenças nos resultados de recuperação do GLI, determinaram-se as características químicas das amostras de solo. Os resultados da determinação de pH, teor de matéria orgânica, umidade, CTCefetiva, porcentagem de MHT e carbono total das amostras de solo são mostrados na Tabela 2.

**Tabela 2** – Resultados de pH, teor de matéria orgânica, umidade, CTC<sub>efetiva</sub>, MHT e carbono total nas amostras de solo avaliadas.

| Ponto de amostragem | pH              | Teor de MO (%)  | Umidade (%)     | CTC Efetiva (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> ) | (%) Matéria Húmica Total da MO | Carbono Total (g kg <sup>-1</sup> ) |
|---------------------|-----------------|-----------------|-----------------|---|--------------------------------|-------------------------------------|
| 1                   | 3,89<br>(0,01)* | 3,54<br>(0,04)  | 45,03<br>(1,12) | 3,74<br>(0,80)                                    | 24,98<br>(1,25)                | 17,49<br>(0,60)                     |
| 2                   | 5,0<br>(0,01)   | 4,56<br>(0,05)  | 33,11<br>(0,80) | 6,82<br>(0,90)                                    | 31,51<br>(1,40)                | 55,84<br>(0,76)                     |
| 3                   | 5,48<br>(0,02)  | 10,82<br>(0,07) | 37,87<br>(0,06) | 5,94<br>(0,95)                                    | 39,54<br>(1,79)                | 36,99<br>(0,58)                     |
| 4                   | 5,93<br>(0,02)  | 4,50<br>(0,05)  | 23,56<br>(0,98) | 0,88<br>(0,01)                                    | 4,40<br>(1,48)                 | 3,73<br>(0,80)                      |
| 5                   | 4,97<br>(0,02)  | 2,65<br>(0,03)  | 18,27<br>(0,60) | 5,06<br>(0,36)                                    | 18,15<br>(0,90)                | 38,17<br>(0,68)                     |
| 6                   | 4,12<br>(0,01)  | 2,80<br>(0,04)  | 32,55<br>(1,15) | 2,42<br>(0,45)                                    | 6,57<br>(1,00)                 | 8,25<br>(0,90)                      |
| 7                   | 5,73<br>(0,01)  | 2,77<br>(0,03)  | 12,64<br>(0,80) | 1,98<br>(0,58)                                    | 5,94<br>(0,90)                 | 2,87<br>(0,75)                      |
| 8                   | 5,08<br>(0,01)  | 5,31<br>(0,03)  | 14,56<br>(0,75) | 1,81<br>(0,48)                                    | 20,74<br>(0,50)                | 31,64<br>(0,68)                     |
| 9                   | 4,75<br>(0,01)  | 3,09<br>(0,02)  | 26,33<br>(0,45) | 5,28<br>(0,50)                                    | 14,49<br>(0,70)                | 35,26<br>(0,90)                     |

\*Entre parêntesis está o erro

De maneira geral, as porcentagens de matéria orgânica foram altas para todas as amostras de solo. O ponto 3 apresentou a maior porcentagem de matéria orgânica.

Nos solos podem ser encontrados valores de pH variando de 3,0 a 10, com variação mais comum nos solos brasileiros entre 4,0 e 7,5, devido à grande atividade microbiana. Desta forma, com exceção do ponto 1, pode-se ver que os valores normalmente encontrados coincidem com os valores encontrados para solos brasileiros [10].

Os valores mais elevados para a CTC<sub>efetiva</sub> das amostras de solo foram observados nos pontos de amostragem 2 e 3 e os menores no ponto 4.

A CTC é definida como a quantidade de cátions que um solo (ou constituintes do solo) pode reter nas suas cargas negativas [10]. As cargas negativas existentes nos ácidos húmicos e fúlvicos são originárias principalmente dos grupos carboxílicos e fenólicos, devido à presença de hidrogênios dissociáveis. A dissociação do hidrogênio deixa sítios negativos nas substâncias húmicas, os quais podem

atrair outros cátions como Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup> e K<sup>+</sup>. O grau de dissociação depende do pH do meio [11].

Os grupos funcionais ácidos - carboxílicos e fenólicos - são os principais responsáveis pelas interações que ocorrem entre os ácidos húmicos e moléculas orgânicas, tais como os pesticidas. As quantidades desses grupos nos ácidos húmicos variam de acordo com a natureza do material.

Vários modelos foram propostos para os mecanismos de adsorção de pesticidas no solo. A interação pode ser de natureza física ou química, conforme o pesticida adsorvido e as condições do meio, sendo que pode ocorrer, simultaneamente, mais de um mecanismo. O modo de dissipação de pesticidas pode ser através da proposição de mecanismos de interação com as substâncias húmicas da fração orgânica do solo.

Segundo Senesi (1992), aqueles pesticidas que em solução estão na forma catiônica ou aqueles que se podem protonar sofrem adsorção via ligação ou troca iônica. Esse mecanismo envolve grupos ionizáveis ou facilmente ionizáveis como os grupos carboxílicos e ou fenólicos das substâncias húmicas [12].

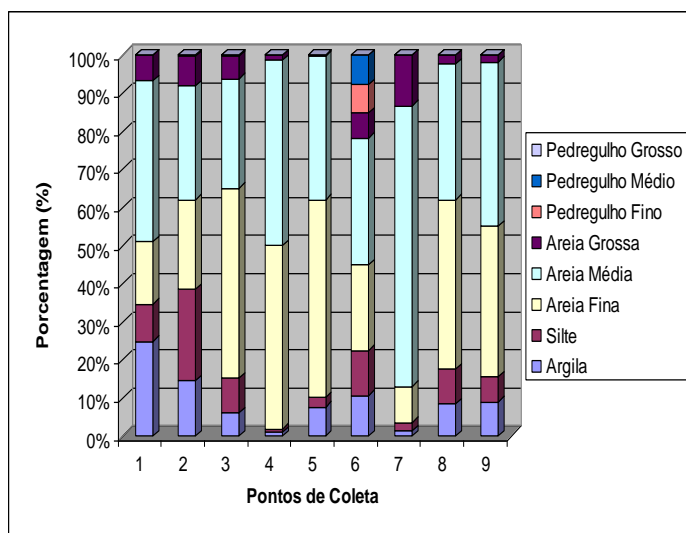


As maiores porcentagens de MHT foram encontradas nos pontos 3 e 2 e a menor porcentagem foi encontrada no ponto 4. Isso pode ser observado na Tabela 2.

A concentração de carbono total variou de 2,87 g kg<sup>-1</sup> (ponto 7) a 55,84 g kg<sup>-1</sup> (ponto 2).

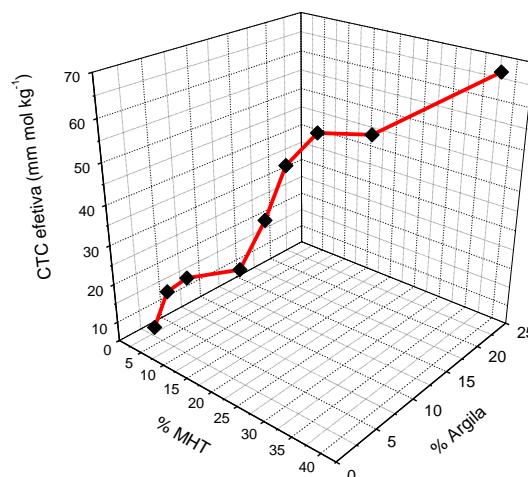
Na avaliação das características químicas dos solos devem ser considerados os grânulos de argila, silte, areia e material grosso. A análise granulométrica revelou que a fração areia predominou em todos os pontos e as outras frações ficaram divididas entre silte e argila. Apenas o ponto 6 apresentou pedregulhos de tamanho médio e os pontos 2, 3 e 6 apresentaram pedregulhos finos em comum.

Os resultados das determinações granulométricas nos solos dos 9 pontos de coleta podem ser vistos na Figura 2.



**Figura 2** – Porcentagem granulométrica das amostras de solo avaliadas.

A tendência de aumento da CTC efetiva está relacionada ao teor de argila e silte (embora menor neste último devido à área superficial) e ao teor de MHT. Assim, verificou-se que um aumento no teor de argila associado a um aumento no teor de MHT atua sinergeticamente na CTC, como pode ser observado na Figura 3.



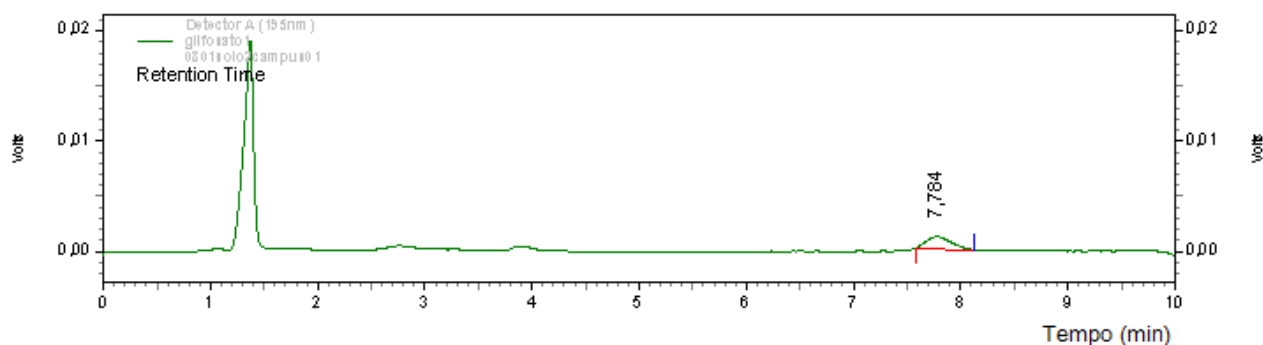
**Figura 3** – Influência da fração argila e do teor de matéria húmica total na CTC das amostras de solo avaliadas.

Vale ressaltar que se trata de uma correlação grosseira, pois não foi feita uma classificação quanto ao tipo de argila, nem tampouco quanto ao teor de grupos carboxílicos e fenólicos presentes nos ácidos húmicos e fúlvicos. No entanto, essa tendência no comportamento da CTCefetiva é também observada na adsorção do herbicida no solo. Onde há maior teor de argila e maior conteúdo de MHT, há maior tendência em reter o herbicida, diminuindo sua disponibilidade no meio e, conseqüentemente, a probabilidade de lixiviação ou percolação até um corpo d'água fica minimizada.

### Recuperação de glifosato no solo

Nas amostras de solo previamente calcinadas do campus 2 da Universidade de São Paulo, em São Carlos – SP, foi adicionada uma solução preparada com hexametáfosfato de sódio em água para remoção de silte e argila. Esse teste foi realizado já que o teor de silte e argila interferem na adsorção do herbicida. Da mesma forma o teor de matéria orgânica também pode afetar no processo de adsorção [13]. O teste foi realizado nessas condições, buscando uma recuperação máxima do herbicida, já que provavelmente pela eliminação da fração argila e silte, haveria pouca adsorção do GLI na amostra.

Na Figura 4, como ilustração, apresenta-se o cromatograma da amostra de solo calcinado do campus 2 com adição de 5 mL de GLI a 1 mg L<sup>-1</sup>.



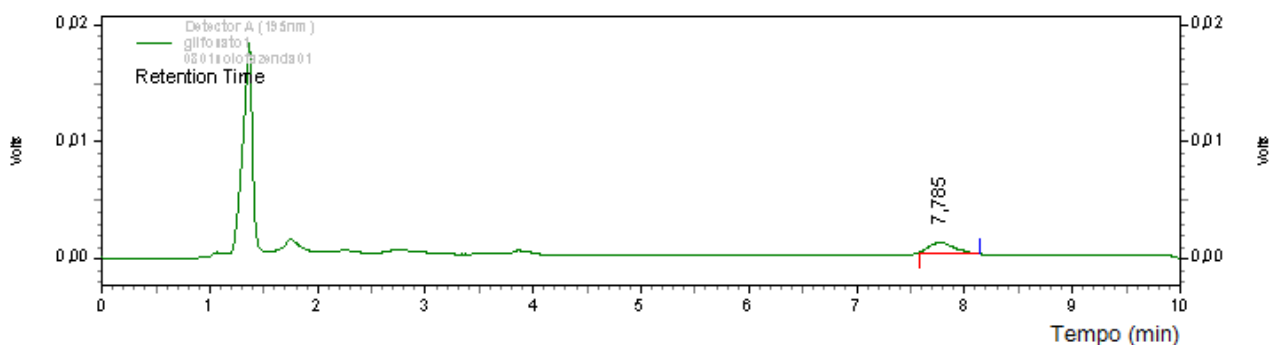
**Figura 4** - Cromatograma de uma amostra de solo calcinado do *campus* 2 da Universidade de São Paulo com 737,6  $\mu\text{g L}^{-1}$  de GLI.

A recuperação do GLI foi de 119,17% e o coeficiente de variação de 0,14%.

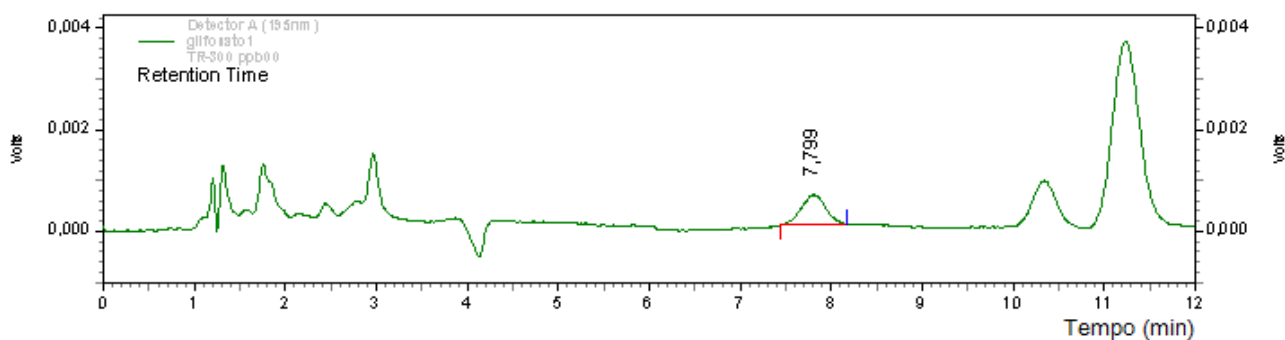
Para a amostra de solo arenoso da fazenda, a recuperação diminuiu ligeiramente dentro dos limites de aceitação, já que as concentrações da fração inorgânica e orgânica interferiram no processo de adsorção.

Assim, a recuperação do GLI para a amostra de solo arenoso foi de 102,25 % e o coeficiente de variação de 4,40%.

Na Figura 5a apresenta-se o cromatograma da amostra de solo arenoso da fazenda com adição de 5 mL de GLI a 1 mg  $\text{L}^{-1}$  e na Figura 5b o cromatograma do padrão de GLI.



**Figura 5a** - Cromatograma de uma amostra de solo arenoso de uma fazenda na região periférica de São Carlos com 613,5  $\mu\text{g L}^{-1}$  de GLI.



**Figura 5b** – Solução- padrão de GLI com 300  $\mu\text{g L}^{-1}$ .



### Estudo de adsorção de GLI nas amostras de solo

Todas as amostras foram submetidas aos testes de adsorção. Adicionaram-se 5 mL de solução-padrão de GLI a 1 mg L<sup>-1</sup> às amostras. A suspensão assim formada permaneceu em repouso por 1 hora. O mesmo procedimento foi adotado usando a solução-padrão nas concentrações de 2 mg L<sup>-1</sup> e 3 mg L<sup>-1</sup>. Uma alíquota da suspensão previamente filtrada via filtro de seringa com membrana de 0,45 µm de diâmetro foi injetada no sistema HPLC/UV. A

adsorção foi calculada a partir da subtração da concentração obtida no preparo da solução padrão pela concentração encontrada após a suspensão ficar em repouso por 1 hora.

A Tabela 3 apresenta os valores de adsorção, fortificação, recuperação e coeficiente de variação.

**Tabela 3** - Valores de adsorção, fortificação, recuperação e coeficiente de variação (CV) de GLI nas amostras de solo avaliadas

| Ponto de Coleta | Adsorção (µg L <sup>-1</sup> ) | Fortificação (mg L <sup>-1</sup> ) | Recuperação (%) | CV (%) |
|-----------------|--------------------------------|------------------------------------|-----------------|--------|
| 1               | 361                            | 1                                  | 98,59           | 14,28  |
|                 |                                | 2                                  | 83,7            | 19,15  |
|                 |                                | 3                                  | 99,45           | 7,34   |
| 2               | 416                            | 1                                  | 94,2            | 2,7    |
|                 |                                | 2                                  | 85,0            | 10,0   |
|                 |                                | 3                                  | 112,67          | 7,08   |
| 3               | 235                            | 1                                  | 84,05           | 14,7   |
|                 |                                | 2                                  | 81,69           | 5,6    |
|                 |                                | 3                                  | 92,37           | 3,30   |
| 4               | 14                             | 1                                  | 113,4           | 1,34   |
|                 |                                | 2                                  | 87,98           | 8,35   |
|                 |                                | 3                                  | 112,5           | 1,35   |
| 5               | 332                            | 1                                  | 87,6            | 5,13   |
|                 |                                | 2                                  | 101,2           | 7,03   |
|                 |                                | 3                                  | 106,4           | 7,74   |
| 6               | 88                             | 1                                  | 85,53           | 18,6   |
|                 |                                | 2                                  | 94,35           | 17,72  |
|                 |                                | 3                                  | 97,77           | 13,08  |
| 7               | 44                             | 1                                  | 105,54          | 4,46   |
|                 |                                | 2                                  | 113,2           | 17,09  |
|                 |                                | 3                                  | 92,74           | 4,51   |
| 8               | 297                            | 1                                  | 105,9           | 9,40   |
|                 |                                | 2                                  | 108,5           | 3,27   |
|                 |                                | 3                                  | 106,93          | 11,97  |
| 9               | 258                            | 1                                  | 78,1            | 9,48   |
|                 |                                | 2                                  | 96,36           | 2,79   |
|                 |                                | 3                                  | 110,06          | 5,10   |

As frações granulométricas mais importantes na recuperação do herbicida são silte e argila. Essas partículas, de menor tamanho, apresentam maior potencial de adsorção do GLI. Segundo Miles e Moye (1988), a porcentagem de recuperação do GLI diminui com o aumento da porcentagem de argila e matéria orgânica no solo. Tal fato foi confirmado usando a técnica de HPLC com detecção fluorimétrica [14].

Sendo assim, é evidente que os valores de porcentagem de recuperação do GLI estão relacionados à sua adsorção no solo. Por se tratar de uma matriz heterogênea, o solo pode apresentar diferenças nas porcentagens de recuperação e, consequentemente, nos coeficientes de variação.

Para efetuar os cálculos das porcentagens de recuperação do GLI nos três níveis de fortificação, foram descontados os valores de adsorção, pois a maioria dos pontos de amostragem apresentou valores significantes.

A recuperação nas nove amostras de solo variou de 78,1 a 113,2% para o GLI, sendo considerados em concordância com a faixa recomendada pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) [15]. Além disso, observa-se que o método empregado possui boa precisão, porque o coeficiente de variação percentual (CV) foi inferior a 20 % em todos os níveis de fortificação [16].

Outro aspecto favorável do método proposto foi o desenvolvimento de uma metodologia analítica verde para determinação do GLI em amostras ambientais de solo sem a etapa de “clean-up”, já que esta etapa pode diminuir a recuperação do GLI, pois alguns autores utilizam técnicas como destilação, centrifugação e cromatografia preparativa em coluna aberta que são geralmente tediosas, requerendo grandes volumes de solventes orgânicos e apresentando pequena repetibilidade/reprodutibilidade em decorrência das várias etapas envolvendo o analito [15].

O presente trabalho sugeriu a determinação de GLI no solo via uma metodologia analítica verde eliminando as etapas de “clean up”, que geralmente são inviáveis devido ao uso de grandes quantidades de solventes orgânicos nas mais variadas formas de extração. Outra vantagem deste método foi o uso de um tampão fosfato como fase móvel utilizada nas condições cromatográficas que após um simples

tratamento pode ser facilmente descartado, ao contrário da maioria dos solventes orgânicos que, devido a sua toxicidade, podem causar danos à saúde humana e ao ambiente.

Assim, no método ora proposto, contemplaram-se diretamente os princípios 3, 4, 5, 8 e 10 da Química Verde que estão relacionados com (3) reações com compostos de menor toxicidade; (4) desenvolvimento de compostos seguros; (5) diminuição do uso de solventes e auxiliares; (8) prevenção da formação de derivados e (10) desenvolvimento de compostos degradáveis [17].

Por se tratar de uma matriz heterogênea, o solo pode apresentar diferenças nas porcentagens de recuperação e consequentemente nos coeficientes de variação. Portanto, torna-se necessário um estudo elaborado da adsorção do GLI no solo para avaliar a influência da fração inorgânica, matéria orgânica e de outros fatores tais como: umidade, pH do solo e quantidade de substâncias húmicas que interferem na recuperação do GLI.

## CONCLUSÕES

O presente trabalho sugere a determinação de glifosato em solos eliminando as etapas de extração e “clean up”, que geralmente são inviáveis devido ao uso de grandes quantidades de solventes orgânicos nas mais variadas formas de extração. Outra vantagem deste método foi o uso de um tampão fosfato como fase móvel utilizada nas condições cromatográficas que, após um simples tratamento, pode ser facilmente descartado, ao contrário da maioria dos solventes orgânicos que devido a sua toxicidade podem causar danos à saúde humana e ao ambiente.

O glifosato pode ser adsorvido tanto às argilas como à matéria orgânica do solo, devido a fatores como: troca de ligantes com os óxidos de ferro e alumínio e ligações de hidrogênio formadas entre o glifosato e as substâncias húmicas presentes no solo, sendo sua recuperação normalmente baixa.

A recuperação nas amostras coletadas nos nove pontos variou de 78,1 a 113,2%, sendo estes resultados considerados de acordo com os que se encontram na faixa de recuperação, recomendados pela EPA. Observou-se que o método empregado

possui boa precisão, porque o coeficiente de variação é inferior a 15 % em quase todos os níveis de fortificação, não sendo apenas nos pontos 1, 6 e 7 em um único nível de fortificação.

Por se tratar de uma matriz heterogênea, o solo pode apresentar diferenças nas porcentagens de recuperação e, conseqüentemente, nos coeficientes de variação.

Os valores de LD e LQ, relativos ao equipamento nas condições analíticas utilizadas foram 3,3 e 10 µg L-1, respectivamente. Já os valores de LD e LQ

relativos ao método foram, respectivamente, de 9,93 e 30,1 µg L-1. Isso indica que o método está adequado para detectar e quantificar o herbicida em baixos níveis de concentração.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao engenheiro Ms. Oscar dos Santos Neto, do Laboratório de Mecânica dos Solos, do Departamento de Geotecnia da EESC-USP, por ajudar nos ensaios granulométricos.

#### REFERÊNCIAS

- [1] O. P. Amarante Junior, T. C. R. Santos, N. M. Brito, and M. L. Ribeiro, “Glifosato: Propriedades, Toxicidade, Usos e Legislação,” *Química Nova*, vol. 25, no. 4, pp. 589–593, 2002.
- [2] A. J. B. Galli and M. C. Montezuma, *Glifosato - Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura*. São Paulo: ACADCOM Gráfica e Editora Ltda, 2005, p. 66.
- [3] A. Kabata-Pendias, *Trace Elements in Soils and Plants, Third Edition*, 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2011, p. 315.
- [4] M. P. Rodríguez, “Análise da dinâmica e produção das espécies dominantes de Rotifera da Represa do Ribeirão do Lobo (Broa), SP no período seco (inverno),” Universidade de São Paulo, 1997.
- [5] MAPA, “Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Fertilizantes Minerais, Orgânicos, Organominerais e Corretivos.” pp. 1–141, 2007.
- [6] D. L. Sparks, A. L. Page, P. A. Helmke, R. H. Loeppert, P. N. Soltanpour, M. A. Tabatabai, C. T. Johnston, and M. E. Sumner, *Methods of Soil Analysis - Part 3: Chemical Methods*, vol. 100, no. 5. Madison, Wis.: Soil Science Society of America: American Society of Agronomy, 1996, p. 1264.
- [7] INMETRO, “DOQ-CGCRE-008 - Orientação sobre validação de métodos analíticos.” p. 20, 2010.
- [8] L. B. A. Alberguini, L. C. Silva, and M. O. de O. Rezende, “LABORATÓRIO DE RESÍDUOS QUÍMICOS DO CAMPUS USP-SÃO CARLOS – RESULTADOS DA EXPERIÊNCIA PIONEIRA EM GESTÃO E GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS QUÍMICOS EM UM CAMPUS UNIVERSITÁRIO,” *Química Nova*, vol. 26, no. 2, pp. 291–295, 2003.
- [9] B. M. da Silva, P. R. Dores-Silva, M. D. Landgraf, and M. O. de O. Rezende, “Desenvolvimento de metodologia verde para determinação de glifosato em amostras ambientais de água via injeção direta no sistema ‘hplc/uv’,” *Revista Engenho*, vol. 3, pp. 1–15, 2011.
- [10] B. V. RAIJ, H. CANTARELA, J. A. QUAGGIO, and A. M. C. FURLANI, *Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo*. Campinas: Instituto Agrônomo & Fundação IAC, 1996, p. 285.

- [11] L. R. M. Toni, H. S. Santana, and A. M. Zaia, “Adsorção de glifosato sobre solos e minerais,” *Química Nova*, vol. 29, no. 4, pp. 829–833, 2006.
- [12] N. Senesi, “Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances,” *The Science of the total environment*, vol. 123–124, pp. 63–76, Aug. 1992.
- [13] E. M. Vieira, A. G. S. do Prado, M. D. Landgraf, and M. O. de O. Rezende, “ESTUDO DA ADSORÇÃO/DESSORÇÃO DO ÁCIDO 2,4 DICLOROFENOXIACÉTICO (2,4D) EM SOLO NA AUSÊNCIA E PRESENÇA DE MATÉRIA ORGÂNICA,” *Química Nova*, vol. 22, no. 3, pp. 305–308, 1999.
- [14] C. J. Miles and H. A. Moye, “Extraction of Glyphosate Herbicide from Soil and Clay Minerals and Determination of Residues in Soils,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 36, no. 3, pp. 486–491, May 1988.
- [15] EPA, “Soil Screening Guidance: Technical Background Document Table of Contents.” .
- [16] M. Ribani, C. B. G. Bottoli, C. H. Collins, and I. C. S. F. Jardim, “Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos,” *Química Nova*, vol. 27, no. 5, pp. 771–780, 2004.
- [17] A. G. Corrêa and V. G. Zuin, *Química Verde - Fundamentos e Aplicações*. São Carlos: EduFScar, 2009, p. 171.