



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS

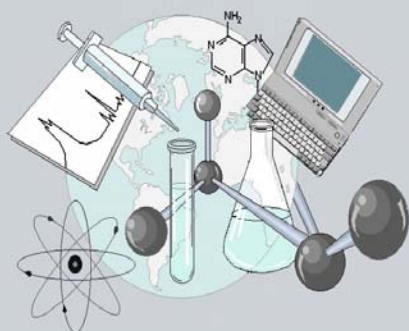
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

“Determinação voltamétrica de resíduos do herbicida Glifosato em águas naturais utilizando eletrodo de cobre”

Dissertação apresentada por
Andresa Fabiana Garcia ao
Programa de Pós-Graduação em
Química do Departamento de
Química do Centro de Ciências
Exatas da Universidade Estadual de
Maringá como parte dos requisitos
para a obtenção do título de Mestre
em Química

CEE



**Centro de
Ciências Exatas**

MARINGÁ, AGOSTO/2006

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

G216d Garcia, Andresa Fabiana
Determinação voltamétrica de resíduos do herbicida Glifosato em águas naturais utilizando eletrodo de cobre / Andresa Fabiana Garcia. - Maringá, PR : [s.n.], 2006.
44 f. : il.

Orientadora : Prof. Dr. Maria do Carmo Ezequiel Rollemberg.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá. Programa de Pós-graduação em Química, 2006.

1. Eletrodo de cobre - Água de superfície - Desenvolvimento. 2. Eletrodo de cobre - Glifosato(herbicida) - Método. 3. Glifosato(herbicida) - Água - Análise. 4. Eletrodo de cobre - Glifosato(herbicida) - Interação. I Universidade Estadual de Maringá. Programa de Pós-graduação em Química. II. Título.

CDD 21.ed.541.3724

Ao meu esposo e sempre companheiro Micael, aos meus pais Antonio e Aparecida, meu irmão Alessandro e, por fim, a minha avó Mariquinha, (*in memoriam*), dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais Antonio e Aparecida pelo amor e apoio incondicional prestados em todos os momentos de minha vida, pelo exemplo de vida que serviu de base para a formação de minha personalidade, pelas mãos protetoras que sempre me guardaram e que me guardam. Hoje me reconheço em vocês.

Ao meu irmão Alessandro agradeço pela cumplicidade que desde criança compartilhamos e pelo carinho, amor e apoio que sempre me dedicou. Agradeço por seu interesse amplo e afetuoso em minha vida, por seu estímulo constante e pelo orgulho de meu êxito.

Agradeço ao meu esposo Micael por sua paciência, confiança e estímulo, pela compreensão, carinho e apoio irrestrito em todos os momentos de minha jornada. Os seus comentários e sugestões espontâneos fornecem um equilíbrio importante e necessário em minha vida; para você, meu amor, todo o meu respeito.

Agradeço a minha orientadora Maria do Carmo, pela vida consagrada e o amor dedicado à pesquisa e, em especial, ao meu projeto, pela sabedoria transmitida ao longo da jornada científica, e antes de tudo isso, pela pessoa maravilhosa que provou ser todo tempo que convivemos juntas; para você, toda a minha admiração.

Agradeço também ao professor Orlando Fatibello Filho por sua contribuição inestimável ao desenvolvimento deste trabalho.

Às amigas e companheiras de laboratório, pelo que compartilhamos, pelos erros, acertos e dúvidas que dividimos e conhecimentos que adquirimos, um grande obrigada.

Aos amigos em geral, pelo calor humano dispensado no decorrer de minha caminhada.

Por último, agradeço a Deus, quem sempre coloquei em primeiro lugar, pois por meio do seu amor e minha dedicação consegui chegar até aqui; agradeço por me ter dado coragem para lutar pelos meus objetivos.

“Ainda que eu distribuísse todos os meus bens aos famintos, ainda que eu entregasse o meu corpo as chamas, se não tivesse o amor, nada disso me adiantaria” 1Cor 13, 3

RESUMO

Com o aumento do seu uso em vários países, a presença do glifosato em águas de superfície tem merecido atenção na última década e, devido ao aumento da consciência ambiental em todo o mundo, o desenvolvimento de métodos confiáveis para a determinação do glifosato tornou-se uma exigência. O glifosato não é eletroativo ao ser usado o eletrodo de Hg e sua determinação exige reações prévias para obter compostos redutíveis no Hg ou o uso de outros tipos de eletrodos. O objetivo deste trabalho foi estudar a resposta do eletrodo de Cu na determinação voltamétrica do glifosato. A resposta é produzida envolvendo a complexação entre glifosato e íons cúpricos na camada porosa externa do eletrodo. As melhores condições analíticas para a determinação voltamétrica são: tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 7,3. Nestas condições, o glifosato pode ser determinado utilizando-se o pico de corrente observado no potencial -187 mV (*vs* Ag/AgCl). O limite de detecção e o limite de quantificação são, respectivamente, $59 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e $196 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, e estes valores indicam a viabilidade do método proposto nas determinações do glifosato em amostras de interesse ambiental. Os valores de concentração em uma amostra de água de rio, determinados pelo método proposto e por voltametria com eletrodo de Hg após reação com nitrito, mostraram-se bastante concordantes (teste t). Desta forma, o método proposto pode ser aplicado à determinação direta do herbicida em amostras de águas naturais, sem a exigência de qualquer reação preliminar, diminuindo o tempo necessário para a análise; além disso, o método enquadra-se no conceito de “química limpa”.

ABSTRACT

Glyphosate has been widely used in different countries, and the presence of this herbicide in surface waters has received great attention in the last decade. With the increase in environmental concern considerable attention has been given to the development of reliable methods for glyphosate determination. Glyphosate is not electroactive with the Hg electrode and its determination with this electrode needs preliminary reactions. Therefore, the aim of this work was to investigate the Copper electrode response in the voltammetric determination of glyphosate. This response is produced by complexation of glyphosate with cupric ions in the outer, porous layer. The best analytical conditions for the voltammetric determination are: phosphate buffer 0.05 mol L^{-1} and pH 7.3. The limit of detection and the limit of quantification are, respectively, $59 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e $196 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, and these values indicate the potential use of the proposed method in the glyphosate determination in natural waters. The method was compared to another voltammetric method with Hg electrode, after reaction with nitrite. The glyphosate concentrations found by the two methods agree very well (t test). Therefore, the proposed method can be applied to direct determinations of the herbicide in waters, decreasing the time of analysis; besides, the method is in agreement with the “green chemistry” concept.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	ix
CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO	1
1.1. O Herbicida Glifosato	1
1.2. Forma de Atuação nas Plantas e Comportamento do Glifosato no Solo	2
1.3. A proibição do uso do Glifosato em Soja Transgênica <i>versus</i> o aumento no uso desse herbicida	3
1.4. Propriedades Físico-Químicas do Glifosato	4
1.5. Glifosato em ambientes aquáticos. Legislação. Toxicidade.	7
1.6. Complexos de Cobre (II) com Glifosato	9
1.7. Técnicas analíticas para o glifosato	10
1.7.1. Técnicas Cromatográficas	11
1.7.2. Técnicas Eletroanalíticas	12
1.8. Objetivo	14
Capítulo 2 - PARTE EXPERIMENTAL	15
2.1. Equipamentos	15
2.2. Reagentes e Soluções	15
2.3. Procedimento	16
2.3.1. Estudo voltamétrico da complexação Cu(II)-glifosato	16
2.3.2. Estudo e otimização das condições para a determinação voltamétrica do glifosato utilizando eletrodo de Cu	17
2.3.3. Validação do método proposto utilizando eletrodo de Hg	18
2.3.3.1 Derivatização do glifosato	18
2.3.3.2 Condições experimentais para a determinação do glifosato por polarografia de pulso diferencial	18
2.4. Determinação do glifosato em águas de superfície	19
2.4.1. Determinação voltamétrica utilizando eletrodo de Cu	19
2.4.2. Determinação voltamétrica utilizando eletrodo de Hg	19

Capítulo 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
3.1. Estudo do sistema Cu^{2+} -glifosato por Voltametria de Redissolução Anódica com Pulso Diferencial	20
3.2. Utilização do eletrodo de Cobre	24
3.2.1. Efeito da natureza do eletrólito suporte e do pH	26
3.2.2. Efeito da concentração do eletrólito suporte	28
3.2.3. Otimização das condições instrumentais	30
Capítulo 4 – CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

LISTA DE FIGURAS

1- Estrutura do glifosato	2
2- Grau de dissociação do glifosato construído a partir dos valores de K_a	5
3- Esquema da especiação química do glifosato em função do pH	6
4- Estrutura molecular do complexo CuL^-	10
5- Derivado nitrosaminado do glifosato	14
6- Voltamogramas para o sistema Cu^{2+} -glifosato por VRAPD	21
7- Curva de titulação voltamétrica do glifosato	22
8- Variação do potencial do pico com a adição de Cu^{2+} na titulação voltamétrica do glifosato	22
9- Distribuição das constantes condicionais de equilíbrio (K) para o sistema Cu^{2+} -glifosato em função da ocupação dos sítios de complexação (Θ)	23
10- Voltamograma cíclico no eletrodo de cobre em $0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$	25
11- Voltamograma cíclico do glifosato com eletrodo de cobre no meio tamponado (tampão fosfato, $pH \sim 7,3$)	28
12- Voltamogramas por Voltametria de Pulso Diferencial utilizando eletrodo de cobre	29
13- Voltamogramas obtidos em diferentes velocidades de varredura	30
14- Voltamogramas obtidos com diferentes tempos de modulação	31
15- Voltamogramas por Voltametria de Pulso Diferencial utilizando eletrodo de Cu na presença de diversas concentrações de glifosato	33
16- Curva analítica para glifosato utilizando eletrodo de Cu	34
17- Voltamogramas por Voltametria de Pulso Diferencial utilizando eletrodo de Cu para uma amostra de água de superfície com e sem adição de glifosato	35
18- Curva pelo método da adição do analito, utilizando eletrodo de Cu para uma amostra de água de superfície	36

19- Voltamogramas por Voltametria de Pulso Diferencial utilizando eletrodo de Hg, para diversas concentrações de glifosato derivatizado	37
20- Curva analítica para derivado N-nitroso do glifosato utilizando eletrodo de Hg	38

LISTA DE TABELAS

1- Parâmetros otimizados para a determinação voltamétrica de glifosato utilizando eletrodo de cobre	32
2- Concentração de glifosato em amostra de água de rio (mg L^{-1}) determinada através da voltametria com eletrodo de Cu e eletrodo de Hg	38

Capítulo 1 - INTRODUÇÃO

1.1. O Herbicida Glifosato

Devido ao acelerado desenvolvimento da agricultura, cada vez mais é necessário o uso de pesticidas para o controle de ervas daninhas, doenças e pragas, entre outros agentes que causam prejuízo ao homem (Amarante Jr. et al, 2002). Embora os pesticidas possam proporcionar benefícios por sua alta eficácia no controle das ervas daninhas (Sanino et al., 1999), em função do uso intensivo desses produtos na agricultura (Forlani, et al., 1999) tem havido uma grande preocupação em conhecer o comportamento e o destino desses compostos químicos liberados no ambiente, o que tem sido objetivo de muitas pesquisas (Souza et al., 1999). Dentre as classes de pesticidas, os herbicidas têm sido os mais utilizados nas lavouras mundiais (Mallat and Barceló, 1998).

Dentre os vários tipos de herbicidas, destaca-se o glifosato [*N*-(*fosfometil*)glicina], pertencente ao grupo químico das glicinas substituídas, e classificado como herbicida de largo espectro de ação, não-seletivo, sistêmico e pós-emergente (Amarante Júnior et al., 2002). O glifosato é muito promissor devido à sua eficácia no controle de ervas daninhas (Forlani et al., 1999) anuais e perenes, de folhas largas e estreitas (Galli e Montezuma, 2005); este herbicida tem sido o mais utilizado mundialmente em diferentes formulações (Amarante Júnior et al., 2002). A estrutura do glifosato está apresentada na Figura 1.

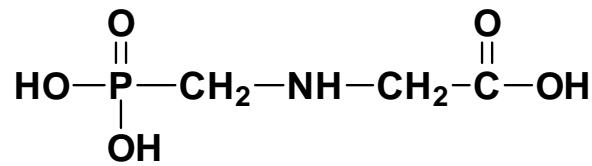


Figura 1. Estrutura do glifosato (Sato et al., 2001).

1.2. Forma de Atuação nas Plantas e Comportamento do Glifosato no Solo

O glifosato é um herbicida utilizado na agricultura e também em áreas não cultivadas; áreas industriais, beiras de estradas, canais de irrigação, áreas recreativas e linhas de ferrovias são alguns dos locais onde o herbicida é usado para destruir e remover plantas (Silva, 2000). O glifosato, absorvido pelas plantas pela região clorofilada e translocado preferencialmente pelo floema, atua nos vegetais inibindo a produção de enzimas específicas, suspendendo a síntese de aminoácidos aromáticos e influenciando também outros processos tais como a inibição da síntese de clorofila (Galli e Montezuma, 2005; Amarante Jr. et al., 2002). Na maioria dos casos, este herbicida não é metabolizado pelas plantas, razão pela qual não apresenta seletividade. Somente sementes geneticamente modificadas são resistentes ao glifosato – sendo este o caso dos transgênicos. Desta forma, praticamente toda a concentração do herbicida ativo aplicado chega ao solo em sua forma original (Prata, 2002) e, em contato com o solo, parte do glifosato é degradada pelos microrganismos, tornando-se indisponível para a absorção pelas plantas e perdendo sua ação herbicida. O principal produto da degradação do glifosato é o ácido aminometilfosfônico (AMPA) (Amarante Jr. et al., 2002; Souza, et al., 1999). Como resultado, a ação herbicida do glifosato ocorre somente quando sua aplicação é realizada em pós-emergência, pois quando aplicado diretamente ao solo a ação herbicida é praticamente nula. Essa baixa atividade do glifosato no solo deve-se às fortes ligações da molécula com outros constituintes do solo (Prata, 2002), as quais ocorrem pela competição com

os fosfatos inorgânicos pelos sítios de ligação do solo, pela formação de complexos glifosato-cátions polivalentes-argila, pela interação com substâncias húmicas e ainda pela formação de complexos metálicos insolúveis na solução do solo (Souza et al., 1999).

1.3. A proibição do uso do Glifosato em Soja Transgênica *versus* o aumento no uso desse herbicida

O glifosato já é amplamente utilizado na cultura tradicional da soja e, caso venha a ser liberada a soja transgênica, o consumo do glifosato na agricultura irá aumentar uma vez que a variedade transgênica Roundup Ready® (RR) da Monsanto é resistente ao herbicida Roundup Ready® - a planta é geneticamente modificada para resistir ao glifosato (e apenas esta variedade comercializada pela Monsanto é resistente ao glifosato) - e este herbicida pode ser usado durante todo o ciclo de vida da soja RR e não somente no pré-plantio, como ocorre com a soja normal. Assim, pode-se esperar o aumento das intoxicações agudas e um maior volume de resíduos da substância no meio ambiente e nos alimentos à base de soja (Consumidor, 2003).

No Brasil, o glifosato é fabricado e comercializado sob diversas marcas, sendo o mais vendido o Roundup® da Monsanto. Segundo o marketing da empresa, com a liberação da soja RR será lançado o herbicida Roundup Ready®, único adequado à sua soja (Consumidor, 2003).

Segundo dispõe a Lei nº 7.802/89 no art. 15, um agrotóxico somente pode ser usado conforme as recomendações contidas no seu registro. O glifosato (Roundup Ready) tem seu registro limitado ao uso pré-emergente, ou seja, anterior ao nascimento da planta, e, portanto, não pode ser usado na fase pós-emergente (depois do nascimento da planta). Sendo assim, o uso do glifosato diretamente na planta transgênica, contrariando as limitações do registro do produto, poderá trazer sérios problemas para os agricultores, na esfera penal (Vaz, 2003).

Um dos principais argumentos dos defensores da transgenia é a alegada redução no uso de herbicidas que a tecnologia proporcionaria. Para a soja transgênica, por exemplo, o agricultor, ao invés de utilizar diversos agrotóxicos para combater as ervas daninhas, aplicaria somente o glifosato Roundup. Ou seja, de fato, uma menor variedade de herbicidas seria aplicada o que, em tese, é algo positivo. Contudo, uma maior quantidade de herbicida pode ser usada sem que a planta morra o que, na realidade, seria a única “vantagem” da soja transgênica.

A Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), considerando o potencial aumento de resíduos do herbicida na soja, determinou o aumento de 50 vezes no LMR (limite máximo residual) do glifosato na variedade transgênica - de 0,2 mg/kg para 10 mg/kg. Assim, a Anvisa demonstra que os argumentos da Monsanto anunciando uma diminuição do uso de herbicida com o advento da soja transgênica não são verificáveis na realidade, o que já estava previsto com a expansão da indústria de Roundup no Brasil. Afinal, se houvesse uma diminuição na aplicação do herbicida com a introdução da soja transgênica, como isso seria compatível com os interesses de expansão das vendas do produto? Por que expandir sua fabricação? E por que aumentar o limite máximo residual do produto na soja comercializada? (Andrioli, 2005).

Ao aumentar o limite máximo residual a Anvisa está autorizando, também, ainda que de forma indireta, o aumento de resíduos dos demais ingredientes da composição do Roundup, mais tóxicos ao ser humano que o glifosato. Os consumidores de produtos à base de soja ou derivados de animais alimentados com soja transgênica têm uma razão concreta para se preocuparem, independente da existência ou não de prejuízos à saúde ocasionados pela modificação genética. Estudos nesse sentido poderiam, inclusive, barrar as exportações de soja transgênica (Andrioli, 2005).

1.4. Propriedades Físico-Químicas do Glifosato

Os estudos relacionados ao glifosato têm sido intensificados devido ao seu crescente uso no mundo, principalmente em relação à exposição do homem e do

meio ambiente ao herbicida. As propriedades físico-químicas do glifosato foram descritas por Amarante Jr. e colaboradores (Amarante Jr. et al., 2002). O glifosato tem fórmula molecular $C_3H_8NO_5P$ (M.M= 169,7 $g\ mol^{-1}$), mas no produto comercial o composto apresenta-se acrescido do grupo $(CH_3)_2CHNH_2$, na forma do sal de isopropilamina do [N-(fosfometil)glicina] (M.M=228,5 $g\ mol^{-1}$) (Aagripec). O glifosato apresenta uma solubilidade em água de 12 $g\ L^{-1}$ a 25 °C e é quase insolúvel em solventes orgânicos tais como acetona e etanol, entre outros. O herbicida apresenta boa estabilidade na presença de luz, inclusive em temperaturas superiores a 60 °C, pressão de vapor praticamente nula e capacidade de atuar como ácido fraco e base fraca ao mesmo tempo, o que o caracteriza como um zwitteriônico (Prata, 2002). Os valores para as constantes de dissociação aparentes (pK) para o glifosato, obtidos à temperatura de 25°C conforme a literatura são: $pK_1 = 0,8$; $pK_2 = 2,16$; $pK_3 = 5,46$; $pK_4 = 10,14$; o diagrama de dissociação proposto e a protonação estão representados na Figura 2 (Amarante Jr. et al., 2002; Morillo et al., 1994).

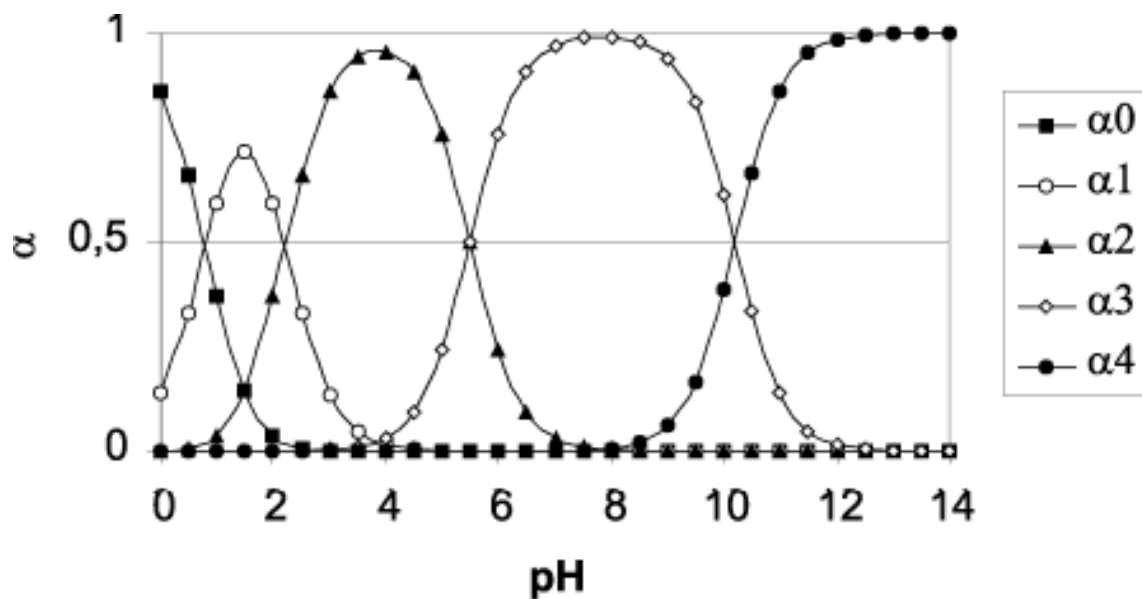


Figura 2. Grau de dissociação do glifosato construído a partir dos valores de K_a (α_0 , composto com uma protonação; α_1 , composto apresentando uma dissociação; α_2 , molécula com duas dissociações; α_3 , molécula com três dissociações; α_4 , composto totalmente dissociado) (Amarante Jr. et al., 2002).

Para valores de pH entre 5,4 e 10,2 têm-se três formas dissociadas (Amarante Jr. et al., 2002); em pH neutro a forma predominante do herbicida apresenta três dissociações - duas no grupo fosfato e uma no grupo carboxílico - e uma protonação no sítio amina ($-\text{NH}_2^+$), como apresentado na Figura 3.

O glifosato mostra uma estrutura zwitteriônica dependente do pH (Morillo et al., 1994). Como os grupos fosfato e carboxílico têm maior caráter ácido que o amônio, a molécula perde primeiramente os hidrogênios ligados a oxigênio, e apenas na última dissociação aquele ligado ao nitrogênio (Amarante Jr. et al., 2002). Desta forma, as etapas de dissociação previstas são as apresentadas na Figura 3.

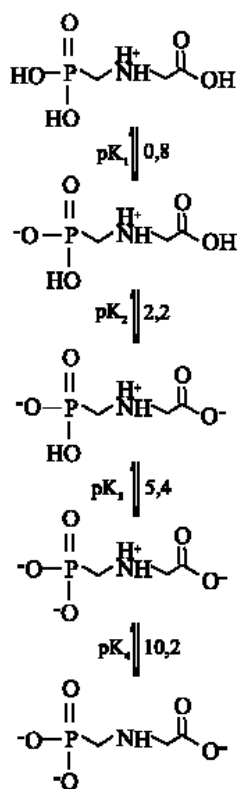


Figura 3. Esquema da especiação química do glifosato em função do pH. (Amarante Jr. et al., 2002).

1.5. Glifosato em ambientes aquáticos. Legislação. Toxicidade.

Desde que foi introduzido no mercado, o uso do glifosato tornou-se prática freqüente. Em geral, o herbicida é vendido na concentração 48% m/v , sendo indicado para o controle de ervas daninhas, em culturas de arroz, cana-de-açúcar, e de soja, entre outras. O glifosato pode ainda ser aplicado na água para o controle de ervas aquáticas (Amarante Jr. et al., 2002).

No ambiente, as concentrações mais altas de glifosato foram encontradas no solo (Amarante Jr. et al., 2002), mas a preocupação com a contaminação dos sistemas aquáticos superficiais e subterrâneos por pesticidas tem crescido no meio científico. Várias regiões do mundo apresentaram baixa porcentagem nos ambientes aquáticos dos produtos utilizados na agricultura, mas a presença de pesticidas persistentes e com grande mobilidade no ambiente tem sido detectada em águas superficiais e subterrâneas (Dores e De-Lamonica-Freire, 2001).

O glifosato não é facilmente lixiviado devido à sua rápida adsorção no solo, disso resultando os baixos níveis do herbicida em águas subterrâneas (Amarante Jr et al., 2002). Isto, no entanto, não exclui a possibilidade de que concentrações elevadas venham a ocorrer após chuvas intensas, especialmente se as áreas ao redor de um pequeno córrego tiverem sido recentemente tratadas com altas doses de pesticidas (Dores e De-Lamonica-Freire, 2001), pois o glifosato pode ser mobilizado superficialmente através da água quando as partículas de solo são carregadas para os rios e riachos. Algumas pesquisas realizadas em solos arenosos e com baixo conteúdo de óxidos de Fe e Al têm demonstrado uma lixiviação significativa do glifosato (Souza et al., 1999). Entretanto, mesmo em concentrações baixas os pesticidas representam riscos para algumas espécies de organismos aquáticos capazes de concentrar estes produtos até 1000 vezes (Dores e De-Lamonica-Freire, 2001), principalmente o glifosato por sua grande solubilidade em água (Galli e Montezuma, 2005; Consumidor, 2003). Nesse contexto todas as atividades e, dentre elas, as de origem agrícola oferecem riscos à qualidade da água subterrânea, principalmente pelo uso de agrotóxicos que,

juntamente com muitos de seus metabólitos podem causar danos à saúde humana.

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA) estabeleceu o limite de 700 $\mu\text{g/L}$ de glifosato em água potável como “limite consultivo de saúde”. Entretanto, a União Européia estabeleceu como “concentração máxima admissível” para pesticidas em água potável, como substâncias individuais, o limite de 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$, desde que a concentração total de pesticidas não ultrapasse 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Amarante Jr. et al., 2002). No Brasil a Portaria do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 518/2004 estabeleceu o limite de 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o teor de glifosato em águas potáveis; a resolução nº 357/2005 deste mesmo Conselho definiu como valor máximo de glifosato em águas de superfície 65 $\mu\text{g L}^{-1}$ (águas de classe 1 ou 2) e 280 $\mu\text{g L}^{-1}$ (águas de classe 3).

No Brasil, o glifosato é o principal herbicida causador de intoxicação, sendo responsável por 11,2% das ocorrências entre 1996 e 2002. Segundo o Centro de Informações Toxicológicas do Rio Grande do Sul, o número oficial de atendimentos de pessoas apresentando intoxicações por glifosato vem aumentando nos últimos anos: em 1999 foram registrados 31 casos e em 2002 as ocorrências já aumentaram para 119. O herbicida passou de 4% em 1999 para 12,6% do total das ocorrências oficiais de intoxicação em 2002, período que corresponde à expansão do cultivo de soja transgênica no Rio Grande do Sul onde, conforme o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, as vendas do produto aumentaram significativamente de 3,85 toneladas para 9,13 toneladas do ingrediente ativo (Andrioli, 2005).

A toxicidade aguda do herbicida glifosato é considerada baixa e, de acordo com a Organização Mundial da Saúde, o DL_{50} oral do glifosato puro em ratos é de 4,23 g Kg^{-1} (Amarante Jr. et al., 2002). No organismo humano, o efeito do glifosato é cumulativo e a intensidade da intoxicação depende do tempo de contato com o produto. Os sintomas de intoxicação incluem irritações na pele e nos olhos, náuseas e tonturas, edema pulmonar, queda da pressão sanguínea, alergias, dor abdominal, perda de líquido gastrointestinal, vômito, desmaios,

destruição de glóbulos vermelhos no sangue e danos no sistema renal. É importante destacar que o herbicida pode continuar presente em alimentos por um período de até dois anos após o contato com o produto, e em alguns tipos de solos por mais de três anos, dependendo do clima (Andrioli, 2005; Consumidor, 2003).

Considerando a classificação toxicológica do produto no Brasil como “faixa verde”, classe IV, na linguagem dos agricultores, o herbicida é caracterizado como “não tóxico”. Por esta razão e por suas propriedades herbicidas de amplo espectro (isto é, não-seletivo e sistêmico) o glifosato tem sido cada vez mais utilizado. Desta forma, é necessário e de grande importância o seu monitoramento em amostras ambientais (Kiyohito Sato et al, 2001), principalmente em ambientes aquáticos onde o glifosato apresenta alto potencial de contaminação (Dores e De-Lamonica-Freire, 2001).

1.6. Complexos de Cobre (II) com Glifosato

O glifosato é um composto muito interessante para ser estudado quanto ao seu comportamento com os metais pesados (Daniele et al., 1997), pois interage fortemente com íons metálicos, particularmente os íons dos metais de transição (Morillo et al, 1994), através dos grupos funcionais fosfonato, amino e carboxilato que podem coordenar-se fortemente com íons metálicos em pH neutro, onde os grupos carboxilato e fosfonato estão desprotonados (Coutinho e Mazo, 2005).

Dentre os íons capazes de formar complexos com glifosato o Cu^{2+} é um dos mais estudados. O processo de formação do complexo Cu^{2+} -glifosato pode ser esquematicamente representado como:



Onde L representa o ponto complexante da molécula de glifosato, M é o íon metálico livre (neste caso Cu^{2+}) e ML o complexo com estequiometria 1:1. Este modelo simplificado implica que se dois ou mais grupos são ligados a um íon metálico, todos esses grupos correspondem a um único ponto de coordenação e,

assim, somente o complexo 1:1 é considerado (Morillo et al., 1994). A representação da estrutura molecular do complexo CuL^- (complexo 1:1) está na Figura 4.

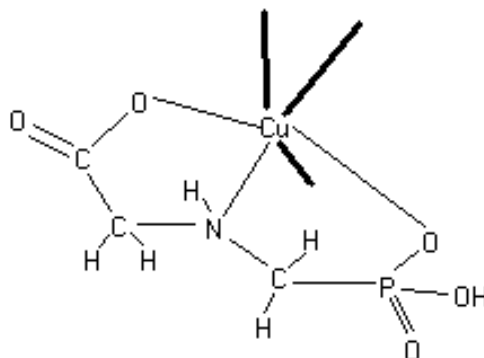


Figura 4. Estrutura molecular do complexo CuL^- (Coutinho e Mazo, 2005).

Os complexos de Cu^{2+} com glifosato têm sido amplamente estudados devido à importância deste íon para plantas e animais, e também porque a concentração do glifosato nos solos e na água tem aumentado devido ao uso intensivo de fungicidas, fertilizantes, etc (Coutinho e Mazo, 2005). Dessa maneira, a presença do glifosato contribui para diminuir ou aumentar a mobilidade dos íons dos metais pesados nos solos ou nos sedimentos. Alguns autores estudaram a influência do glifosato sobre a adsorção de Cu^{2+} no solo, verificando que o processo de adsorção é drasticamente diminuído pela presença do herbicida, devido à formação do complexo Cu^{2+} -glifosato (Coutinho e Mazo, 2005; Morillo, et al., 2000)

1.7. Técnicas analíticas para o glifosato

O desenvolvimento de técnicas confiáveis para a quantificação de resíduos de diferentes pesticidas em águas tornou-se de fundamental importância. Não há dúvida que, no conjunto das técnicas mais utilizadas, a cromatografia tem merecido destaque e poucas alternativas têm sido apresentadas para a determinação de pesticidas em águas naturais.

1.7.1. Técnicas Cromatográficas

As técnicas cromatográficas são as mais utilizadas para analisar o herbicida glifosato. Estas técnicas são muito importantes na análise química em função da facilidade em efetuar separações, identificar e quantificar as espécies presentes nas amostras utilizando detectores específicos.

A maioria das investigações relatadas na literatura para a determinação do glifosato refere-se à cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A quantificação das amostras pode ser realizada com a utilização de detectores convencionais na cromatografia, com detecção por UV, colorimétrica ou de fluorescência, com limites de detecção aproximados de 10 µg/L, 0,03µg/g e 0,05 a 5µg/g, respectivamente (Amarante Jr. et al., 2002). Em geral, essas técnicas fornecem resultados com limites de detecção na faixa de nanogramas a microgramas/L, dependendo do detector utilizado e da técnica de extração. Contudo, são técnicas que apresentam dificuldades na determinação direta do glifosato devido à alta polaridade deste herbicida; portanto, são necessárias adaptações que permitam a detecção. Estas adaptações incluem etapas iniciais morosas para preparação das amostras ou reações de derivatização, além da utilização de resinas de troca iônica, de uma maior quantidade de reagentes e de instrumentação geralmente de maior custo, tornando a técnica trabalhosa e relativamente cara (Amarante Jr., et al., 2002; Pedro Vaz, et al., 1996). A cromatografia gasosa é a segunda técnica mais utilizada para a determinação do glifosato, mas faz-se necessário também recorrer a reações preliminares para a obtenção de um composto volátil; o limite de detecção pode alcançar 0,01µg/g. Outras técnicas para a determinação do glifosato, embora pouco utilizadas são a espectrofotometria e a polarografia (com limite de detecção 0,5 a 1,0µg/g), entre outras, mas também são necessárias reações prévias (Amarante Jr., et al., 2002). Com isto, há necessidade de se desenvolver técnicas mais rápidas e mais baratas.

1.7.2. Técnicas Eletroanalíticas

As técnicas eletroanalíticas relacionam medidas de quantidades elétricas, tais como corrente, potencial e carga, com parâmetros químicos. Estas técnicas apresentam algumas vantagens frente às técnicas cromatográficas. A principal delas é a possibilidade, na maioria das vezes, de uma análise direta da amostra, sem a necessidade da etapa de separação ou de pré-tratamento. Além disto, a aplicação de métodos eletroanalíticos possibilita a análise em materiais coloridos ou com partículas sólidas dispersas. Mesmo quando requerem etapas de separações químicas, estas são mais simplificadas, de menor custo e menor tempo quando comparadas às metodologias de preparação para detecção cromatográfica. Um outro aspecto positivo a ser considerado é que as técnicas eletroanalíticas estão sujeitas a uma menor influência de interferentes (concomitantes), o que tem possibilitado o seu uso na análise de pesticidas (Galli, et al., 2006).

Atualmente, a sensibilidade das técnicas eletroanalíticas pode atingir níveis comparáveis a de qualquer técnica cromatográfica e espectroscópica graças ao desenvolvimento tecnológico, o qual possibilitou um grande avanço da instrumentação eletroanalítica, contribuindo intensamente na melhoria da sensibilidade (Galli, et al., 2006).

Nas técnicas eletroanalíticas, a importância da escolha do material do eletrodo de trabalho também se deve ao fato de que as respostas obtidas são relacionadas às reações redox que ocorrem em sua superfície ou na interface eletrodo-solução. Desta forma, o analito de interesse pode interagir com a superfície eletródica resultando na transferência de elétrons. O eletrodo de trabalho a ser utilizado depende de dois fatores: do comportamento redox do analito e das correntes residuais obtidas no intervalo de potencial avaliado. Também se deve considerar a janela de potencial do eletrodo, a condutividade elétrica, a reprodutibilidade da superfície, as propriedades mecânicas, o custo de fabricação, a disponibilidade e ainda a toxicidade (Galli, et al., 2006).

O eletrodo de mercúrio apresenta muitas vantagens, responsáveis pela sua intensa utilização. Algumas destas vantagens são: renovação da gota a cada potencial aplicado, o que evita problemas de contaminação do eletrodo; reprodutibilidade no tamanho da gota, não havendo assim modificação nas respostas de corrente; e a possibilidade de medidas em vários meios em uma ampla faixa de potencial (Galli, et al., 2006).

Todas estas vantagens tornaram o eletrodo de mercúrio o mais versátil e utilizado para detecção de diversas espécies (inclusive pesticidas) em diferentes matrizes. Entretanto, ele apresenta também limitações, além de ser um metal de elevada toxicidade. Assim, eletrodos sólidos têm encontrado considerável aplicabilidade em diferentes determinações analíticas. Alguns materiais que podem ser utilizados para construção de eletrodos sólidos são: platina, ouro, ferro, cobre, entre outros (Galli, et al., 2006).

As respostas obtidas com a utilização dos eletrodos metálicos são dependentes das condições da superfície eletródica. Assim, o uso de tais eletrodos requer um pré-tratamento eletroquímico e/ou polimento mecânico para obtenção de resultados reprodutíveis. A natureza das etapas de pré-tratamento depende dos tipos de materiais envolvidos na construção dos eletrodos e polimentos mecânicos e ciclagem de potenciais têm sido comumente utilizados para eletrodos metálicos (Galli, et al., 2006). O glifosato não é eletroativo ao ser usado o eletrodo de mercúrio e a determinação do herbicida exige reações prévias para obter compostos redutíveis no eletrodo de mercúrio, ou o uso de outros eletrodos. Alguns autores (Teófilo et al, 2004; Bronstad e Friestad, 1976) propuseram a determinação de glifosato utilizando o eletrodo de Hg. A molécula de glifosato apresenta em sua estrutura um grupo amina secundária que pode ser convertido a grupo N-nitroso (Figura 5) mediante a reação com nitrito em meio fortemente ácido. O grupo N-nitroso pode ser reduzido facilmente, tornando possível a determinação voltamétrica com eletrodo de Hg.

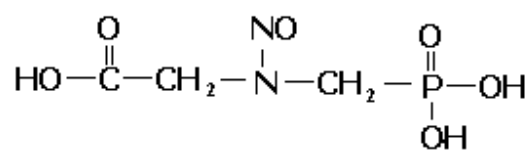


Figura 5. Derivado nitrosaminado do glifosato (Bronstad and Friestad, 1976).

1.8. Objetivo

Considerando o grande uso do glifosato em diversas culturas e os dados que apontam para um crescimento ainda maior na aplicação deste herbicida em vários países, em particular no Brasil, e diante da necessidade de procedimentos mais adequados às determinações de glifosato em amostras ambientais, em especial em águas de superfície, esse estudo tem por finalidade desenvolver um procedimento analítico para a determinação direta do glifosato em águas de superfície utilizando a voltametria com eletrodo de cobre. Esse eletrodo foi escolhido devido à formação de complexos Cu(II)-glifosato, em consequência da forte coordenação entre o glifosato e íons metálicos, particularmente com íons dos metais de transição. A resposta do eletrodo de Cu é resultado da interação da espécie em solução (forma dissociada conforme o pH do meio) com íons Cu^{2+} na camada porosa do filme passivo formado na superfície do eletrodo (Stulik e Pacakova, 1988; Glass et al., 1984).

Capítulo 2 - PARTE EXPERIMENTAL

2.1. EQUIPAMENTOS

Para as medidas voltamétricas - voltametria cíclica, voltametria com pulso diferencial e voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial – utilizou-se um potenciostato-galvanostato PGSTAT-30. No estudo da complexação e para a validação do método proposto utilizando o eletrodo de Cu, um eletrodo de Hg (Metrohm 663 VA) foi empregado, tendo como eletrodos de referência e auxiliar um eletrodo de $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$ e um bastão de grafite, respectivamente. Para a determinação direta do glifosato foi utilizado um eletrodo de cobre (diâmetro da área exposta 0,45 cm) como eletrodo de trabalho; um eletrodo de $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$ foi usado como referência e um eletrodo de Pt foi usado como eletrodo auxiliar. As medidas de pH foram realizadas em pHmetro (Quimis modelo Q-400M, sensibilidade 0,01 unidade de pH) com eletrodo de vidro combinado.

2.2. REAGENTES E SOLUÇÕES

Reagentes de grau analítico, sem qualquer purificação e água destilada-deionizada de pureza Milli-Q foram usados em todos os experimentos. O reagente glifosato - [N-(fosfonometil)glicina], 99,9% – foi cedido pela Monsanto do Brasil e a solução estoque foi preparada por dissolução do reagente em água, resultando na concentração $0,1 \text{ mg L}^{-1}$.

Para o estudo voltamétrico da complexação Cu^{2+} -glifosato foram utilizadas soluções de ácido nítrico (Merck) e de nitrato de sódio (Sigma), ambas de concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e, também, uma solução de Cu^{2+} ($2,0 \text{ mg L}^{-1}$) preparada por diluição em água de pureza Milli-Q de uma solução padrão deste íon (Titrisol, Merck).

Na otimização das condições experimentais para a determinação voltamétrica do glifosato utilizando eletrodo de Cu cinco diferentes soluções foram avaliadas como eletrólito suporte: nitrato de potássio (Sigma), pH 6,83; ácido

fosfórico (Nuclear), pH 7,02; hidróxido de sódio (Biotec), pH 12,28, dihidrogênio fosfato de potássio (Merck), pH 7,3 e pH 11,5; tampão Pipes 0,025 mol L⁻¹, ajustado a pH 7,3. Todas essas soluções apresentavam concentração 0,1 mol L⁻¹, exceto a solução de Pipes, e os valores de pH foram ajustados com soluções de hidróxido de sódio e ácido nítrico, ambas com concentração 0,1 mol L⁻¹.

Na validação do método proposto, utilizando o procedimento desenvolvido por Brönstad e Friestad, utilizou-se brometo de potássio (Synth), ácido clorídrico 37% (Merck) e soluções de sulfamato de amônio (Vetec) de concentração 0,1 g mL⁻¹ e de nitrito de sódio (Synth) 10 g L⁻¹ (preparada a cada dia de trabalho devido à fácil oxidação).

2.3. PROCEDIMENTO

2.3.1. Estudo voltamétrico da complexação Cu(II)-glifosato

Para estudar a complexação do íon cúprico com o glifosato, a voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial foi aplicada à titulação de uma solução de glifosato, em pH = 3,3±0,1 com solução de Cu(NO₃)₂. O eletrólito suporte utilizado foi NaNO₃ 0,10 mol L⁻¹, sendo o pH do meio ajustado com solução de HNO₃ 0,1 mol L⁻¹. Após cada adição do Cu²⁺, a corrente era medida nas condições selecionadas: potencial de deposição, -800mV; tempo de deposição, 60s; tempo de equilíbrio, 10s; velocidade de varredura, 10mV s⁻¹; potencial inicial, -800mV e potencial final, -200mV. A concentração total de glifosato foi mantida constante e em excesso durante toda a titulação (59,52 μmol L⁻¹), variando-se a concentração do Cu²⁺ entre 0,08 e 0,54 nmol L⁻¹, através da adição de alíquotas da solução estoque deste íon. No valor de pH selecionado (ca. 3) a forma predominante do herbicida apresenta duas dissociações (nos grupos fosfato e carboxílico) e uma protonação no sítio amina (-NH₂⁺), conforme apresentado na Figura 2. Essas condições são importantes para avaliar a extensão da formação do complexo Cu(II)-glifosato.

A constante condicional de estabilidade média para o complexo Cu(II)-glifosato, pode ser obtida a partir dos valores dos potenciais dos picos na presença (ML) e na ausência do ligante (M), utilizando a equação DeFord-Hume:

$$\Delta E = E_{p(ML)} - E_{p(M)} = (58,16/2) \log (D_M \bar{D}_M)^{1/2} - (58,16/2) \log ([M]_t^0 / [M]^0)$$

Sendo: $[M]_t^0 = [2,3 (D_M D_M)^{1/2} / \delta r] \cdot (t_d [M]_t)$

Onde D é o coeficiente de difusão, $[M]_t^0$ e $[M]^0$ são a concentração total do metal e a concentração do íon metálico livre na gota de mercúrio durante o tempo de deposição, respectivamente, e $[M]_t$ a concentração do metal total; t_d é o tempo de deposição, δ é a espessura da camada de difusão e r é o raio do eletrodo.

2.3.2. Estudo e otimização das condições para a determinação voltamétrica do glifosato utilizando eletrodo de Cu

O eletrodo de cobre metálico (99,9% de pureza) foi construído introduzindo-se um bastão de Cu (diâmetro de área exposta de 0,45 cm) em um tubo de polietileno (seringa plástica para insulina de 1,0 mL), cuja ponta inferior foi cortada no diâmetro do eletrodo; o bastão metálico foi fixado com cola de silicone (Quilosa – Orbasil). Anteriormente a cada série de medidas o eletrodo de cobre era polido mecanicamente, para que qualquer espécie oxidada fosse removida, com uma lixa d'água 600, e depois foi lavado com água destilada. Antes de iniciar as medidas o eletrodo era pré-tratado a fim de estabilizar sua superfície, realizando-se uma seqüência de 30 ciclos entre os potenciais -0,4V a 0,4V (vs Ag/AgCl), no meio otimizado. Este tratamento é importante, pois sendo a resposta baseada na interação do ligante (glifosato) com íons Cu^{2+} na superfície do eletrodo (Stulik et al., 1988), é fundamental a formação de uma camada porosa passiva de óxido/hidróxido de cobre.

Os voltamogramas na presença de glifosato foram obtidos no meio tampão fosfato (eletrólito suporte) ($0,05 \text{ mol L}^{-1}$) ajustado a pH $7,3 \pm 0,1$, nas seguintes condições instrumentais: velocidade de varredura, 10 mV s^{-1} , tempo de

modulação, 150ms; amplitude de modulação, 150mV; potencial inicial, -500mV e potencial final, 200mV. A concentração da solução de glifosato utilizada na otimização dos parâmetros foi 336 mg L⁻¹. As medidas foram sempre realizadas em temperatura ambiente, e não foi necessário desaerar a solução, pois o pico de corrente para o glifosato permanece idêntico com e sem prévias desaerações.

2.3.3. Avaliação do método proposto utilizando eletrodo de Hg

O método proposto para a determinação de glifosato utilizando eletrodo de Cu foi comparado ao procedimento desenvolvido por Bronstad e Friestad, utilizando a voltametria de pulso diferencial e eletrodo de Hg. Neste procedimento, faz-se necessário, inicialmente, obter o derivado do glifosato através de uma reação com nitrito de sódio.

2.3.3.1 Derivatização do glifosato

O derivado do glifosato foi preparado adicionando-se, em balão volumétrico de 50,0 mL, uma alíquota da solução do herbicida (1000 mg L⁻¹), 10,0 mL de HCl 5,0 mol L⁻¹, 0,25g de KBr e 2,5 mL da solução de NaNO₂. Após 15 minutos, tempo para completar a reação, 2,5 mL da solução de sulfamato de amônio foram adicionados para consumir o excesso de nitrito, e o volume foi completado com água de pureza Milli-Q.

2.3.3.2 Condições experimentais para a determinação do glifosato por voltametria de pulso diferencial

Os voltamogramas foram obtidos na presença de 20,0 mL da solução de HCl 1,25 mol L⁻¹ (eletrólito suporte), nas seguintes condições instrumentais: velocidade de varredura, 10 mV s⁻¹, tempo de modulação, 50ms; amplitude de modulação, 50mV; tempo de equilíbrio, 10s; potencial inicial, -500mV e potencial final, -1000mV. As medidas foram sempre realizadas à temperatura ambiente. Foi

necessário desaerar a solução, borbulhando-se N_2 durante 300s (primeiras medidas) e por 30s nas seguintes; um fluxo constante de N_2 foi mantido sobre a superfície da solução durante todas as medidas.

2.4. DETERMINAÇÃO DO GLIFOSATO EM ÁGUAS DE SUPERFÍCIE

2.4.1. Determinação voltamétrica utilizando eletrodo de Cobre

O método proposto foi avaliado procedendo-se à determinação do glifosato em amostras de águas de superfície; 5,0 mL da amostra (após filtração em filtro de membrana $0,45\mu m$) e 5,0 mL da solução do tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($pH=7,3$) eram adicionados à cela voltamétrica.

Em amostras de águas de mina, utilizadas para abastecimento, não foi detectada a presença do herbicida. A concentração de glifosato em amostra coletada na represa de Taquaruçu, município de Sandovalina, Estado de São Paulo, foi determinada diretamente, através da curva analítica, e também pelo método da adição do analito (três adições sucessivas da solução padrão do glifosato).

2.4.2. Determinação voltamétrica utilizando eletrodo de Mercúrio

A preparação da amostra de água foi realizada conforme descrito anteriormente (2.3.3.1) adicionando-se 25,0 mL da amostra em balão volumétrico de 50,0 mL. Para estas determinações escolheu-se utilizar o método da adição do analito; neste caso, alíquotas da solução padrão do glifosato eram adicionadas aos balões antes da adição dos demais reagentes, procedendo-se como descrito acima. Para a medida voltamétrica, foram adicionados na cela voltamétrica, 10,0 mL da solução da amostra após a reação de derivatização e 10,0 mL de HCl $2,5 \text{ mol L}^{-1}$.

Capítulo 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o objetivo de determinar quantidades-traços de glifosato utilizando métodos voltamétricos procurou-se, primeiramente, avaliar a possibilidade da aplicação da voltametria com pulso diferencial (VPD), com eletrodo de gota pendente de mercúrio. Como, independentemente do meio utilizado, o glifosato não é eletroativo com este eletrodo – o que, conforme mencionado anteriormente impede a determinação direta deste herbicida com este eletrodo – buscou-se obter um produto derivado do glifosato com características de eletroatividade que permitissem a utilização ainda do eletrodo de Hg. Para tal, considerando a estrutura do glifosato, estudou-se a determinação voltamétrica após reação com dissulfeto de carbono, com formação do ácido ditiocarbâmico (Meites, 1963). Entretanto, este procedimento não se mostrou adequado (a resposta voltamétrica independe da concentração do glifosato), havendo inclusive, nas condições utilizadas, uma degradação do produto da reação, verificada através da espectrofotometria de absorção no UV.

3.1. Estudo do sistema Cu^{2+} -glifosato por Voltametria de Redissolução Anódica com Pulso Diferencial

Sendo conhecida a formação do complexo Cu^{2+} -glifosato, procurou-se avaliar uma determinação do herbicida na presença de íons Cu^{2+} . Com este objetivo, inicialmente foram realizadas titulações voltamétricas do glifosato com adições de Cu^{2+} , utilizando o eletrodo de Hg (VRAPD). Os voltamogramas referentes à formação do complexo Cu^{2+} -glifosato, com sucessivas adições do íon metálico estão apresentados na Figura 6.

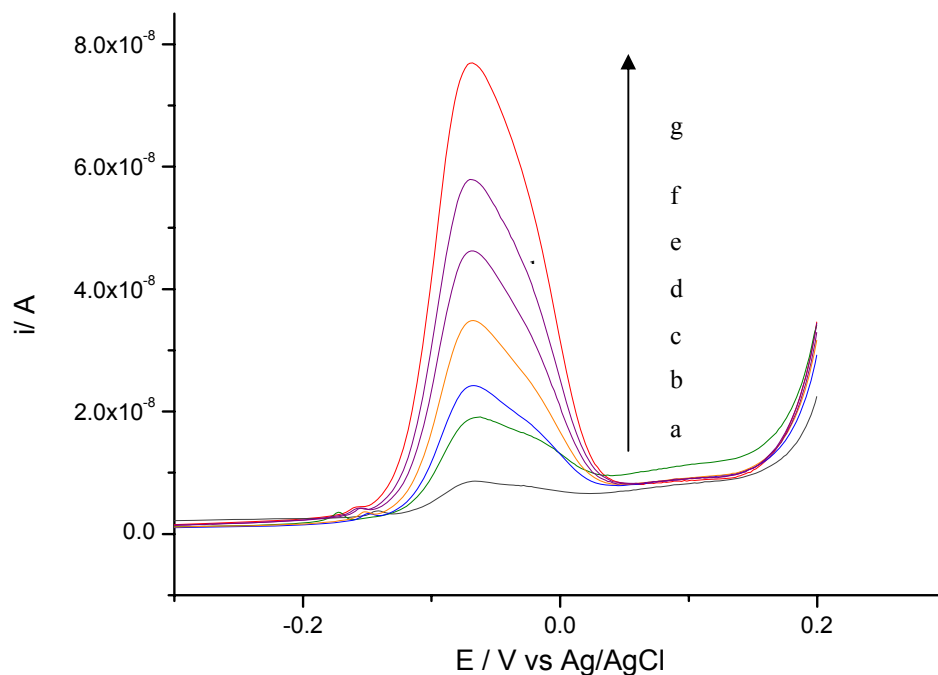


Figura 6. Voltamogramas para o sistema Cu^{2+} -glifosato por VRAPD. Concentração do glifosato $60 \mu\text{mol L}^{-1}$. Concentrações adicionadas de Cu^{2+} (nmol L^{-1}): (a) 0,08; (b) 0,15; (c) 0,23; (d) 0,31; (e) 0,39; (f) 0,46 e (g) 0,54. Eletrólito Suporte: NaNO_3 $0,1 \text{ molL}^{-1}$ $\text{pH}=3,3$; potencial de deposição, -800mV ; tempo de deposição, 60s; velocidade de varredura: 10mV s^{-1} ; E_p : $-68,7 \text{ mV}$.

A análise da curva de titulação para o sistema glifosato- Cu(II) (Figura 7) e os valores dos potenciais do pico do cobre em cada ponto, indicaram a formação de complexos lábeis nas condições de trabalho e para o intervalo de concentração de cobre utilizados, com deslocamentos negativos do potencial do pico do Cu^{2+} na presença do complexante glifosato (Rollemberg et al., 1999), conforme mostrado na Figura 8.

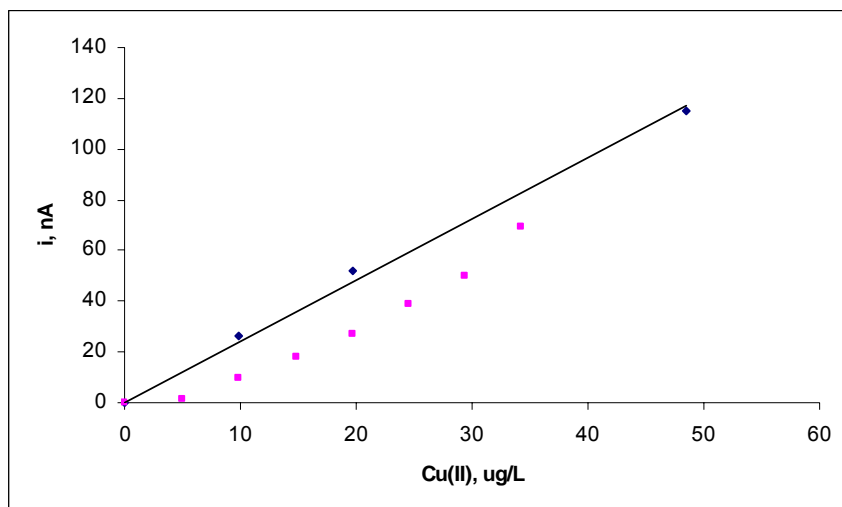


Figura 7. Curva de titulação voltamétrica do glifosato em NaNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH}=3,3$). $C(\text{glifosato})$: $60 \mu\text{mol L}^{-1}$. (----): curva analítica para Cu(II) na ausência de glifosato; (■): pontos experimentais para a titulação voltamétrica

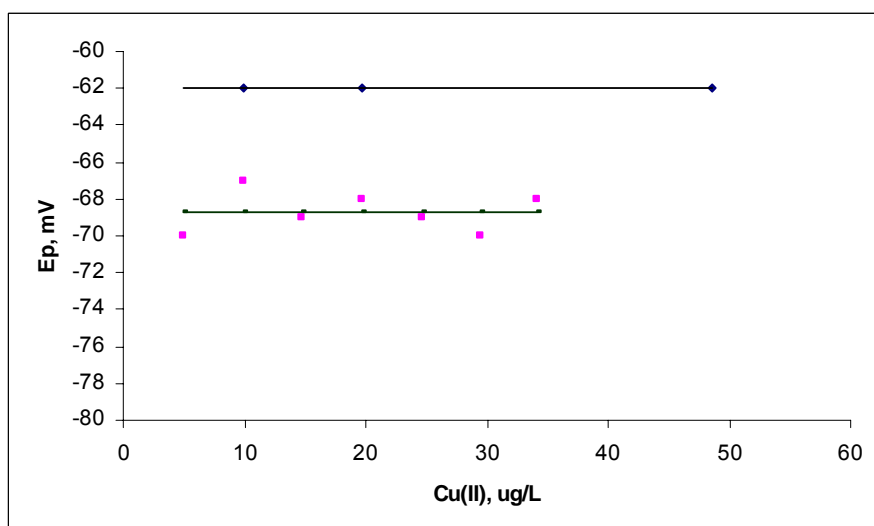


Figura 8. Variação do potencial do pico com a adição de Cu^{2+} na titulação voltamétrica do glifosato ($C=60 \mu\text{mol L}^{-1}$) (■). Potencial de meia onda do Cu(II) na ausência do glifosato (----).

A partir dos dados de intensidade de corrente do pico e da variação do potencial dos picos, após cada adição do titulante Cu^{2+} , foram calculados os valores para a constante condicional de estabilidade média para o complexo Cu^{2+} -glifosato, utilizando a equação DeFord-Hume (Rollemberg, 1999), conforme apresentado na Figura 9. A constante condicional média diminui com o aumento

do grau de ocupação dos sítios de complexação (Θ), indicando ocorrer primeiramente a complexação com os sítios de maior afinidade, tal como se dá a complexação dos íons metálicos com microorganismos ou com moléculas complexas (ácidos húmicos, por exemplo) nos ambientes aquáticos. Também observou-se um pequeno grau de heterogeneidade no ligante (Figura 9), o que pode ser atribuído à presença dos diferentes grupos disponíveis para complexação nas condições experimentais utilizadas.

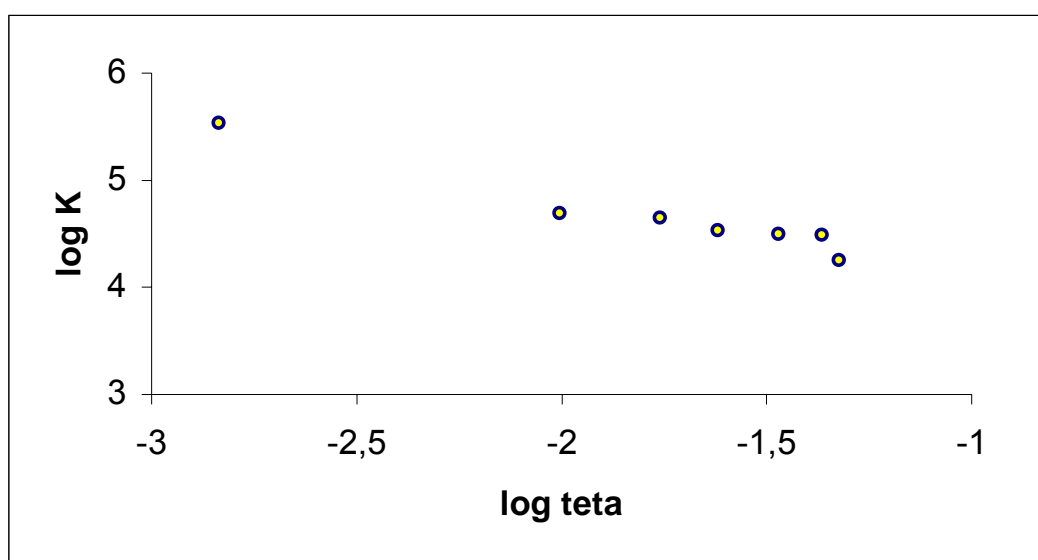


Figura 9. Distribuição das constantes condicionais de equilíbrio (K) para o sistema Cu^{2+} -glifosato em função da ocupação dos sítios de complexação (Θ).

Os valores determinados para a constante condicional média para o sistema Cu^{2+} -glifosato indicam a formação de complexos com estabilidade elevada. Este é um dado importante em estudos ambientais, uma vez que a formação de complexos entre íons metálicos (como o Cu^{2+}) é capaz de interferir fortemente na distribuição das formas destes íons nos solos com aplicação do herbicida e/ou na sua disponibilidade para as plantas.

A partir das informações obtidas neste estudo verificou-se não ser viável uma determinação indireta do glifosato utilizando o eletrodo de Hg através das medidas da intensidade de corrente do íon Cu^{2+} na presença do herbicida, devido às características do complexo formado e à sensibilidade da técnica voltamétrica.

3.2. Utilização do eletrodo de Cobre

Considerando a limitação da faixa de potenciais em que o eletrodo de Hg é útil, procurando uma possibilidade de determinação do glifosato sem etapas de reações prévias e sendo evidente a capacidade de interação Cu(II)-glifosato, procurou-se avaliar o uso do eletrodo de cobre na determinação direta do glifosato. Então, são aqui descritos os estudos referentes à otimização das condições analíticas para a determinação direta do glifosato utilizando eletrodo de Cu.

Muitos autores têm estudado a eletroquímica do Cu em meio básico, onde ocorre a formação de espécies óxido/hidróxido na superfície do eletrodo (Lorimer et al., 2004; Torto et al., 1999). Desta maneira, conforme a proposta do trabalho e a fim de melhor compreender a resposta do eletrodo, realizou-se uma voltametria cíclica no eletrodo de Cu metálico em solução de hidróxido de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

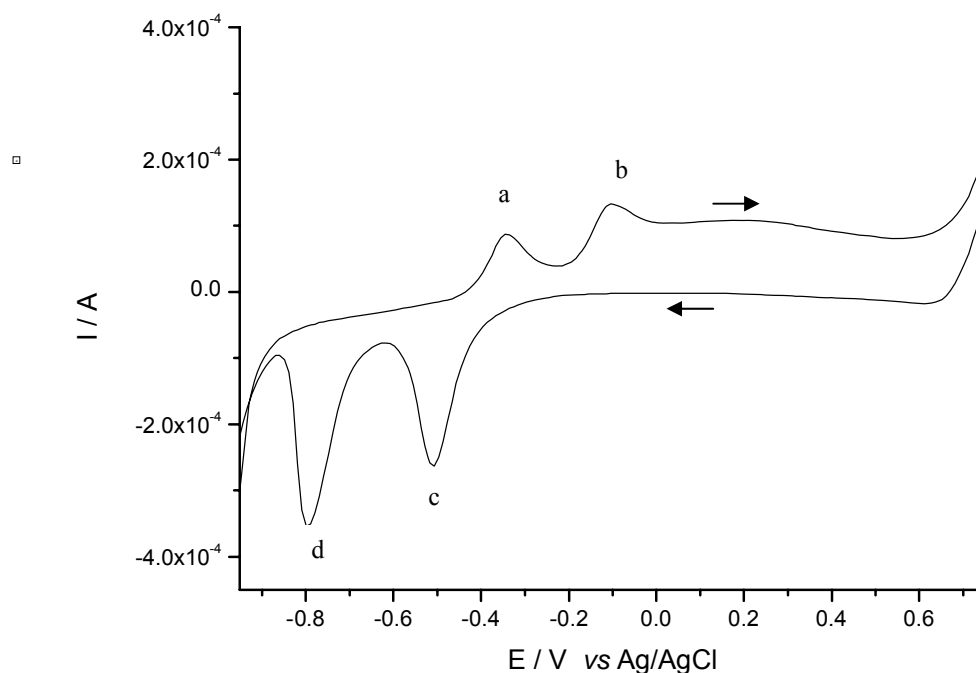


Figura 10. Voltamograma cíclico no eletrodo de cobre em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH (velocidade de varredura 100 mV s^{-1}). As varreduras foram realizadas, primeiramente, do potencial mais negativo para valores mais positivos de potenciais. (a) Cu(0)/Cu(I): $-0,34\text{V}$; (b) Cu(I)/Cu(II): $-0,11\text{V}$; (c) Cu(II)/Cu(I): $-0,50\text{V}$ e (d) Cu(I)/Cu(0): $-0,81\text{V}$.

O voltamograma (Figura 10) apresentou dois picos anódicos e dois picos catódicos bem definidos, os quais correspondem às seguintes reações redox: (a) oxidação de Cu(0)/Cu(I) com potencial em torno de $-0,34 \text{ V}$; (b) oxidação de Cu(I)/Cu(II) com potencial em torno de $-0,11 \text{ V}$; (c) redução de Cu(II)/Cu(I) com potencial em torno de $-0,50 \text{ V}$; e (d) redução de Cu(I)/Cu(0) com potencial em torno de $-0,81 \text{ V}$. Portanto, o primeiro pico anódico ($E_{pa} = -0,34 \text{ V}$) é atribuído à formação do óxido cuproso e o segundo pico anódico ($E_{pa} = -0,11 \text{ V}$) é referente à formação da camada passivadora contendo espécies de Cu(II) e Cu(I) (Lorimer et al., 2004); este comportamento é o mesmo observado anteriormente (Luo e Baldwin, 1995). A camada passivadora formada na superfície do eletrodo é uma mistura de óxidos/hidróxidos de cobre, e tem sido sugerida a presença de Cu/Cu₂O/CuO/Cu(OH)₂ (Lorimer et al., 2004). Segundo Survila e colaboradores (Survila et al., 2005) estes óxidos podem ser formados na superfície do eletrodo

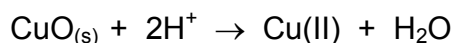
de cobre por vários processos, e um dos mecanismos sugeridos é a simples oxidação de cobre. Íons cuprosos (Cu^+), resultantes da oxidação na superfície do eletrodo, reagem OH^- , resultando na formação Cu_2O .



A formação da camada passivadora é fortemente dependente das condições da superfície do eletrodo, do meio iônico e do pH, e também da concentração de oxigênio (Survila, et al., 2004). Na presença de complexantes de Cu(II) a concentração do íon Cu^{2+} e a velocidade da formação do óxido dependem da natureza e da concentração destes ligantes (Coutinho and Mazo, 2005). Este comportamento sugere que espécies capazes de formar complexos com os íons cúpricos, tais como o glifosato, podem ser determinadas utilizando eletrodos de Cu , explorando o efeito da formação do complexo sobre a intensidade da corrente do pico anódico do Cu .

3.2.1. Efeito da natureza do eletrólito suporte e do pH

O comportamento voltamétrico do glifosato utilizando eletrodo de cobre foi examinado em diferentes eletrólitos suportes ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$): nitrato de potássio, pH 6,83; ácido fosfórico, pH 7,02; hidróxido de sódio, pH 12,28; dihidrogênio fosfato de potássio, ajustado para diferentes valores de pH (6,52; 6,90; 7,30; 7,75, 8,20 e 11,50) e tampão PIPES ($0,025 \text{ mol L}^{-1}$) também em diferentes valores de pH (7,30; 8,53; 9,51 e 10,21). Para valores de pH inferiores a 7 houve oxidação na superfície do eletrodo e a solução adquiriu coloração azul, indicando não ter havido a formação da camada passivadora. Schindler (Billo, 1974) demonstrou que a solubilidade do óxido cúprico é dependente da presença de íons hidrogênio, como ilustrado pela equação a seguir.



O estudo para o glifosato nos diferentes eletrólitos mostrou que o eletrodo de Cu apresenta melhor resposta em soluções com pH próximo a 7, sendo a

resposta também fortemente dependente da natureza dos íons em solução. Uma maior sensibilidade foi observada na presença do tampão fosfato (Stulik and Pacaková, 1988). Em meio fosfato pH 7 há formação da camada passivadora e provavelmente os óxidos e/ou hidróxidos que se formam são estabilizados neste meio, o que é demonstrado também pela reprodutibilidade das correntes anódicas.

Em continuidade nos estudos de pH, no voltamograma (VC) (Figura 11) registrado no meio tamponado (tampão fosfato, pH~7,3) verificou-se a presença de um único pico anódico ($E_{pa} = 0,047$ V) e dois picos catódicos ($E_{pc1} = -0,42$ V; $E_{pc2} = -0,65$ V). O pico anódico indica a oxidação do Cu a óxido cúprico, não sendo observado o pico relativo à formação do óxido cuproso. A análise do voltamograma indica não haver formação da camada passivadora do óxido cuproso na varredura positiva, o que sugere a dissolução do óxido cúprico na solução como principal processo. Entretanto, a presença de espécies de Cu^+ é indicada na varredura negativa, onde são observados dois picos catódicos - redução dos compostos de Cu^{2+} (CuO e $Cu(OH)_2$) a Cu_2O , e posterior redução do óxido cuproso e do óxido cúprico remanescente a cobre metálico. Isto é possível devido à baixa condutividade do óxido cuproso formado primeiramente, que dificulta a redução do óxido cúprico a óxido cuproso e a redução direta do óxido cúprico a cobre (Lorimer et al., 2004). Ocorrendo a formação do óxido cúprico e sua dissolução na solução como principal processo, na presença de ligantes os efeitos da complexação tornam-se importantes e devem ser considerados.

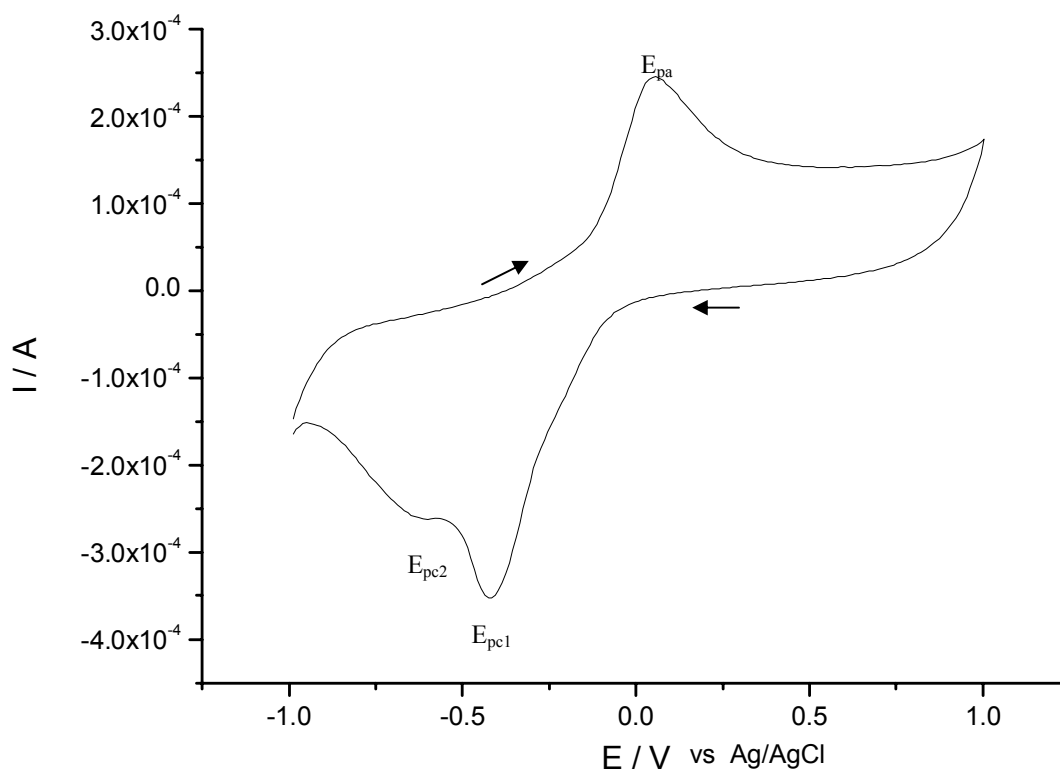


Figura 11. Resposta (voltametria cíclica) do eletrodo de cobre no meio tamponado (tampão fosfato, pH~7,3); velocidade de varredura, 100 mV s^{-1} ; pico anódico: $E_{pa} = 0,047 \text{ V}$; picos catódicos: $E_{pc1} = -0,42 \text{ V}$; $E_{pc2} = -0,65 \text{ V}$.

A partir deste estudo – natureza do meio eletrolítico e pH –, definiu-se o uso do tampão fosfato (pH=7,3) como a condição mais adequada à determinação do glifosato utilizando eletrodo de Cu. Realizou-se, então, uma série de experimentos visando obter um procedimento analítico que permita a determinação de baixas concentrações do glifosato.

3.2.2. Efeito da concentração do eletrólito suporte

Definido o meio – tampão fosfato pH $7,3 \pm 0,1$, a resposta para o glifosato utilizando eletrodo de Cu foi também examinada em soluções com diferentes concentrações do eletrólito selecionado, no intervalo entre 1×10^{-3} e $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. A maior intensidade da corrente do pico anódico do glifosato, com picos de corrente bem definidos, foi observada para valores de concentração do tampão fosfato

próximos a $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 12), valor este escolhido para o desenvolvimento do trabalho.

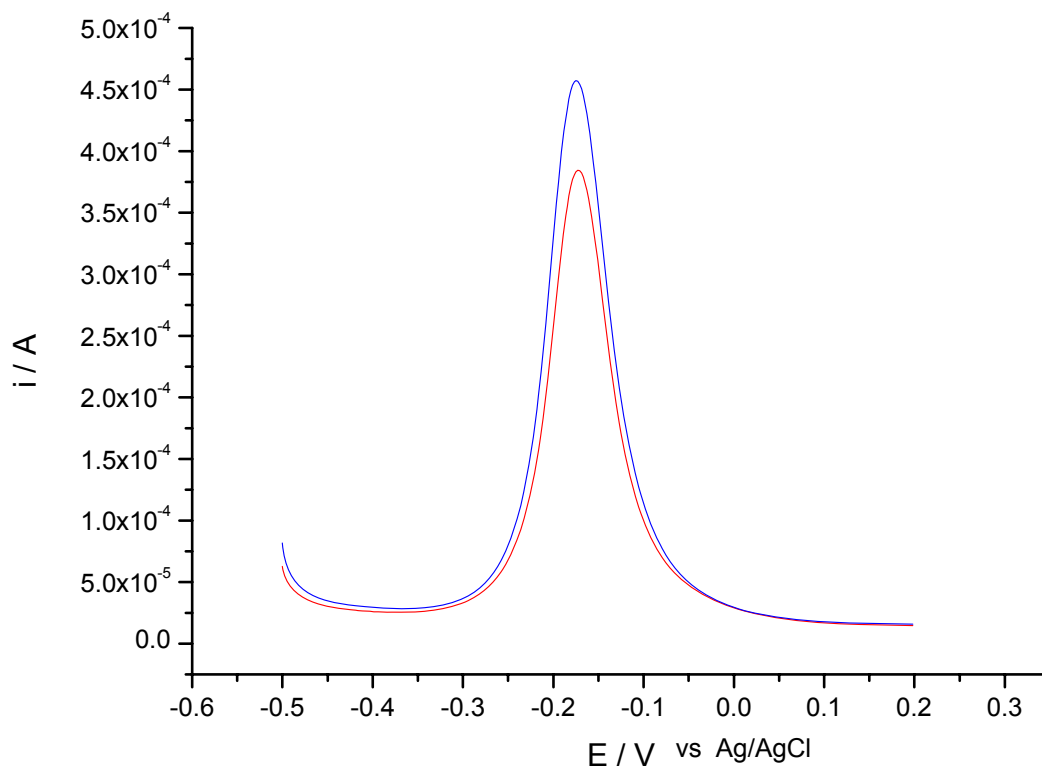


Figura 12. Voltamogramas por Voltametria de Pulso Diferencial utilizando eletrodo de cobre. Curva em vermelho, tampão fosfato pH $7,3 \pm 0,1$, força iônica $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; curva em azul, glifosato: 336 mg L^{-1}

Além das condições do meio, o sucesso das medidas voltamétricas depende ainda de vários outros parâmetros instrumentais, tais como a velocidade de varredura, a duração e a amplitude do pulso de potencial. Como estes parâmetros afetam a intensidade da corrente do pico voltamétrico e, portanto, a sensibilidade, foram também otimizados para a determinação do glifosato com eletrodo de cobre.

3.2.3. Otimização das condições instrumentais

O efeito da velocidade de varredura no comportamento voltamétrico (VPD) do eletrodo de Cu na presença do glifosato foi investigado para valores entre 1 mV s^{-1} e 50 mV s^{-1} . Os voltamogramas apresentados na Figura 13 indicam pequena sensibilidade para as menores velocidades de varredura e alargamento dos picos de corrente para maiores valores de velocidade e, a partir deste conjunto de medidas, definiu-se o valor 10 mV s^{-1} para a determinação do glifosato com o eletrodo de Cu.

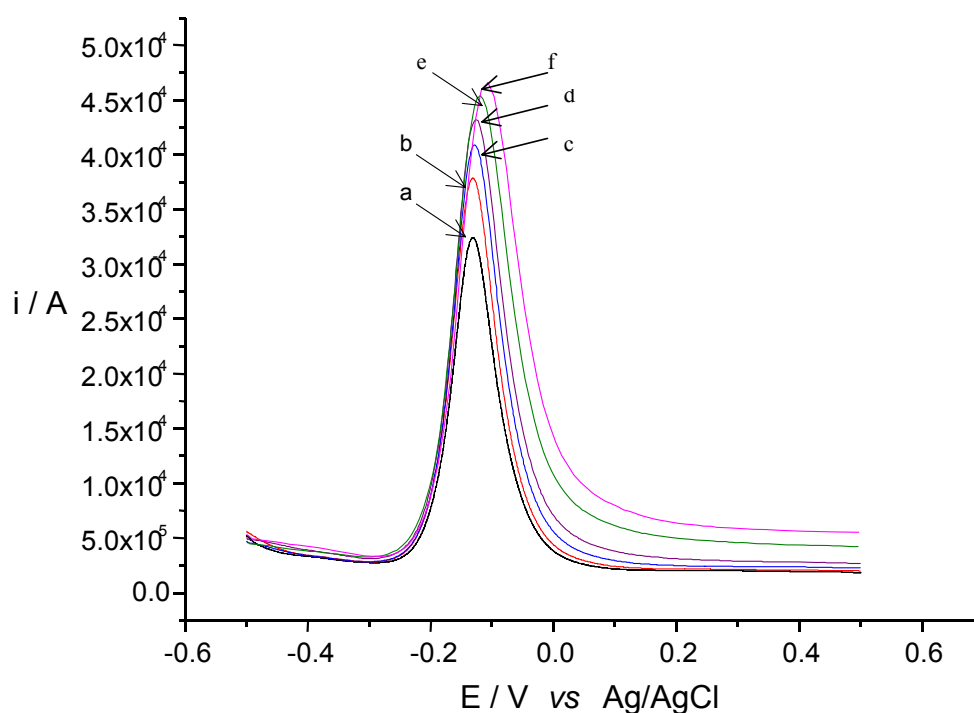


Figura 13. Voltamogramas obtidos em diferentes velocidades de varredura (mV s^{-1}): (a) 1; (b) 2; (c) 5; (d) 10; (e) 25; (f) 50. Meio, $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ tampão fosfato $\text{pH } 7,3 \pm 0,1$; concentração de glifosato: 336 mg L^{-1}

Com o aumento da velocidade de varredura houve um aumento na intensidade da corrente do pico anódico, embora de forma não linear. Entretanto, foi observada uma variação linear da intensidade de corrente com o aumento da

raiz quadrada da velocidade de varredura (I_p (A) = $0,0163 (VV)^{1/2} (V s^{-1})$, $r^2= 0,96$; $n=7$), o que indica um processo controlado por difusão. Isto só é possível se o pico anódico é devido à formação de uma camada espessa de óxido e/ou hidróxido de cobre, através da qual a difusão das espécies é responsável por definir o processo total (Lorimer et al., 2004).

A intensidade da corrente do pico anódico na presença do glifosato diminuiu com o aumento do tempo de modulação no intervalo entre 25 – 200ms. Escolheu-se como tempo de modulação mais adequado 150ms, pois o pico de corrente apresenta-se menos largo e melhor definido (Figura 14).

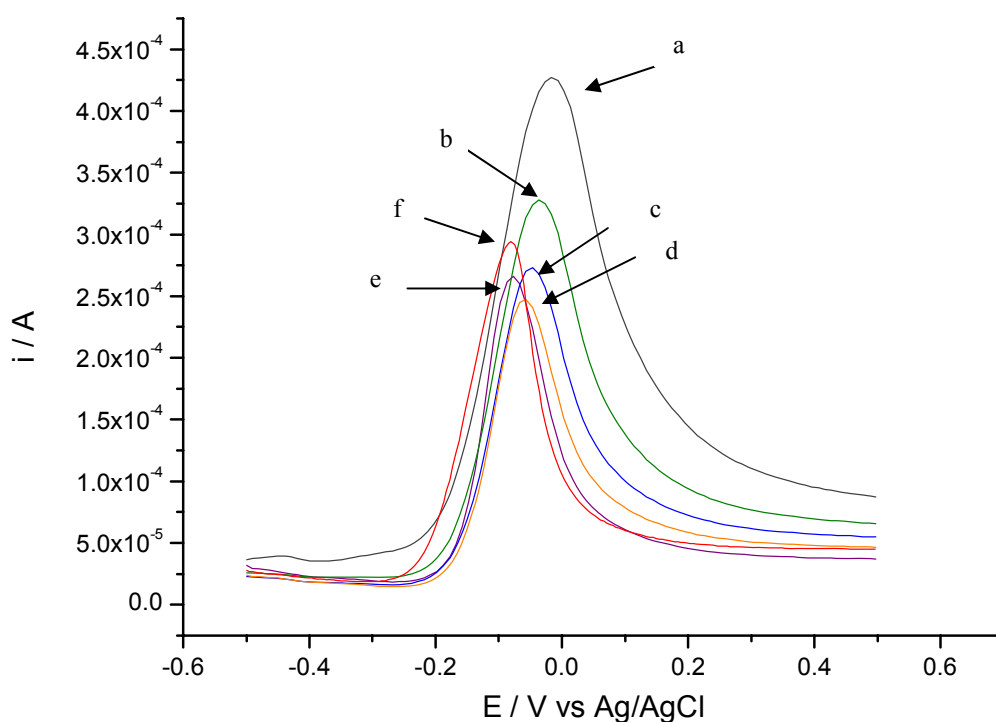


Figura 14. Voltamogramas obtidos com diferentes tempos de modulação (ms): (a) 25; (b) 50; (c) 75; (d) 100; (e) 150; (f) 200. Meio, $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ tampão fosfato pH $7,3 \pm 0,1$; concentração de glifosato: 336 mg L^{-1} ; $VV = 10 \text{ mV s}^{-1}$.

Também o efeito da amplitude da modulação sobre a intensidade da corrente do pico anódico para o glifosato foi avaliado, para valores entre 10 a 200 mV. Escolheu-se a amplitude de modulação de 150 mV como valor mais apropriado, pois não há prejuízo na sensibilidade e o pico de corrente obtido é bem definido.

As condições analíticas otimizadas são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros otimizados para a determinação voltamétrica de glifosato utilizando eletrodo de cobre ($E_p = -187$ mV)

Parâmetro	Condição Otimizada
Eletrólito suporte e pH	0,05mol L ⁻¹ tampão fosfato, pH 7,3 ± 0,1
Velocidade de Varredura	10 mV s ⁻¹
Duração do pulso	150 ms
Amplitude do pulso	150 mV
Intervalo entre pulsos	200 ms
Potencial Inicial	- 500 mV
Potencial Final	200 mV

Uma vez otimizadas as condições analíticas para a determinação voltamétrica do glifosato utilizando eletrodo de cobre, foram determinados os valores característicos do método. Os voltamogramas referentes a diversas concentrações de glifosato, obtidos nas condições anteriormente otimizadas são mostrados na Figura 15.

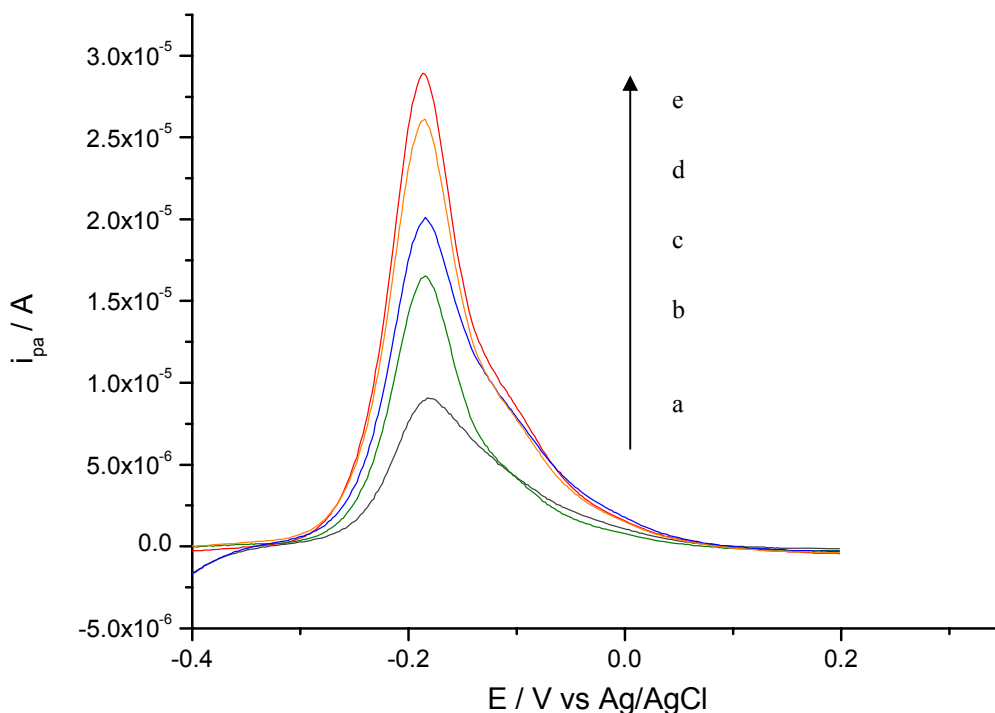


Figura 15. Voltamogramas por Voltametria de Pulso Diferencial utilizando eletrodo de Cu na presença de diversas concentrações de glifosato (mg L^{-1}): (a) 0,10; (b) 0,20; (c) 0,30; (d) 0,40; (e) 0,50. Condições conforme Tabela 1.

A curva analítica, definida a partir dos valores das correntes de pico para concentrações no intervalo 0,1 a 0,4 mg L^{-1} , conforme os voltamogramas apresentados na Figura 15, obedece à relação linear: $I_p (\mu\text{A}) = 76,67 C (\text{mg L}^{-1})$ ($r^2 = 0,9891$) (Figura 16). Os limites de detecção e de quantificação, calculados a partir do desvio padrão σ de um conjunto de 10 medidas do branco ($LD=3\sigma$ /inclinação e $LQ=10\sigma$ /inclinação) (Valcárcel, 2000), foram $59 \mu\text{g L}^{-1}$ e $196 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Estes valores apontam a adequação do procedimento proposto à determinação de glifosato em amostras de águas.

A repetibilidade do método foi determinada através da medida de cinco replicatas de soluções de glifosato ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$); o desvio padrão relativo calculado foi 0,06%. Os resultados obtidos mostraram que o uso do eletrodo de Cu na determinação voltamétrica do glifosato por VPD pode ser uma alternativa simples,

rápida e adequada à determinação de resíduos do herbicida em amostras ambientais.

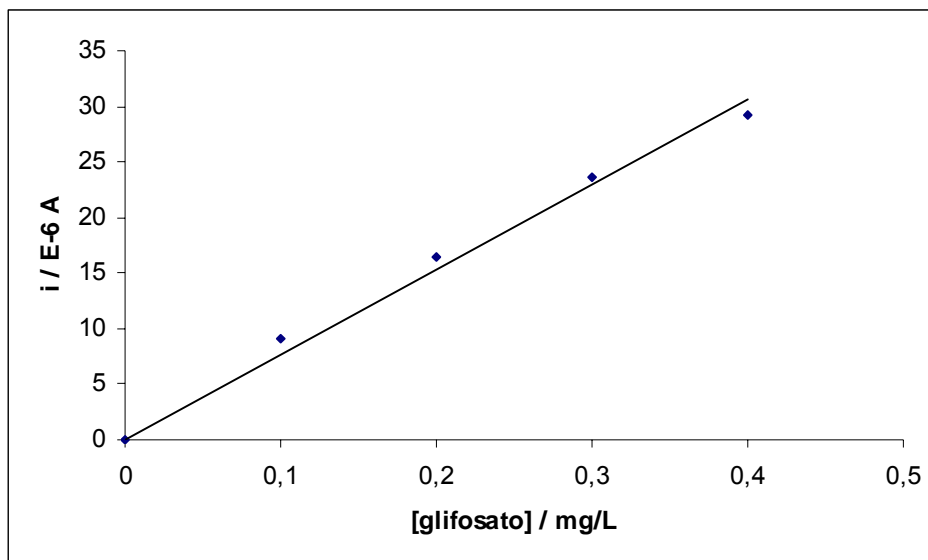


Figura 16. Curva analítica para glifosato utilizando eletrodo de Cu ($r^2 = 0,9891$). Meio, tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,3. Condições experimentais conforme Tabela 1.

Considerando o interesse em técnicas sensíveis para monitorar baixos níveis de glifosato, a aplicação da VPD com eletrodo de Cu foi investigada para determinar resíduos do herbicida em amostras de águas de superfície e de abastecimento. Nas amostras de água de abastecimento (água de mina) não foi detectada a presença do glifosato. A curva i_p vs c traçada para adições de quantidades conhecidas do glifosato a estas amostras mostrou o mesmo comportamento da curva analítica ($i_p (\mu\text{A}) = 76,17 C (\text{mg L}^{-1})$; $r^2 = 0,9871$), o que sugere não haver interferências na determinação direta do glifosato pelo método proposto.

Os voltamogramas obtidos para uma amostra de água coletada na Represa Taquaruçu (município de Sandovalina, Estado de São Paulo) com e sem adição de glifosato são apresentados na Figura 17, onde se observa o aumento do pico anódico com a adição do herbicida, de acordo com a equação: $i_p (\mu\text{A}) = 41,3C (\text{mg L}^{-1}) + 7,58$ ($r^2=0,9986$) (Figura 18). A concentração de glifosato nesta amostra, determinada em triplicatas, pela curva analítica e pelo método da adição do analito, foi $0,18 \text{ mg L}^{-1}$. Esta concordância implica não haver interferências

significativas da matriz, sendo possível a determinação direta do glifosato, sem a necessidade de qualquer pré-tratamento da amostra. Este valor determinado para glifosato na amostra coletada leva à classificação “classe 3” (valor máximo 0,28 mg L⁻¹) – sendo, portanto, necessário um tratamento adequado para consumo humano (Resolução Conama n° 357/2005).

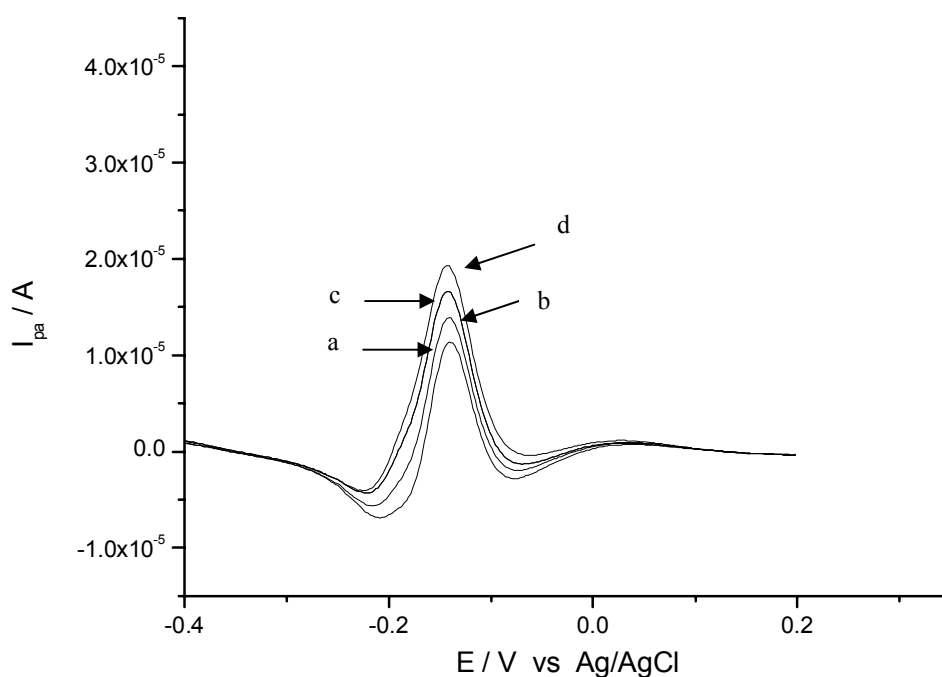


Figura 17. Voltamogramas por Voltametria de Pulso Diferencial utilizando eletrodo de Cu para uma amostra de água de superfície com e sem adição de glifosato. Concentrações adicionadas de glifosato (mg L⁻¹): (a) 0; (b) 0,24; (c) 0,30 e (d) 0,42. Meio: 0,05 mol L⁻¹ tampão fosfato pH 7,3 ± 0,1. Condições conforme Tabela 1.

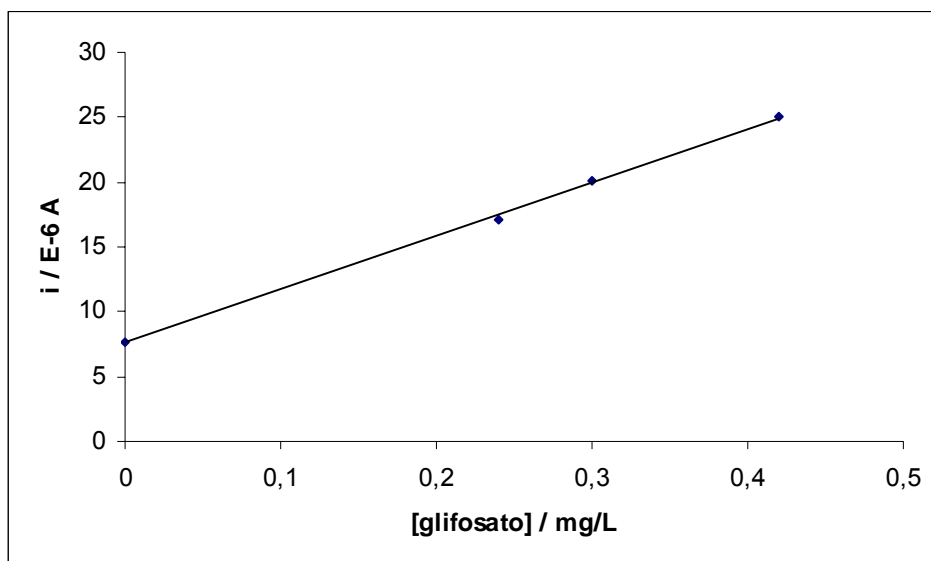


Figura 18. Curva pelo método da adição do analito, utilizando eletrodo de Cu para uma amostra de água de superfície. Condições experimentais conforme Tabela 1.

Para avaliar o método proposto, as amostras de água foram também analisadas segundo o método descrito na literatura utilizando o eletrodo de Hg, após uma reação de derivatização (Bronstad and Friestad, 1976). A molécula do glifosato apresenta em sua estrutura um grupo amina secundária que pode ser convertido ao grupo N-nitroso pela reação com nitrito, e este grupo é reduzido facilmente, tornando possível sua determinação voltamétrica com eletrodo de Hg. Voltamogramas para diferentes concentrações do glifosato derivatizado estão apresentados na Figura 19. Em cada uma das soluções foi também investigada a presença de quantidades residuais de nitrito (teste espectrofotométrico com reagente NitriVer, LD = 0,001), uma vez que esta espécie pode causar interferência nas medidas voltamétricas; não foi detectado nitrito nas soluções utilizadas para a determinação voltamétrica com eletrodo de Hg.

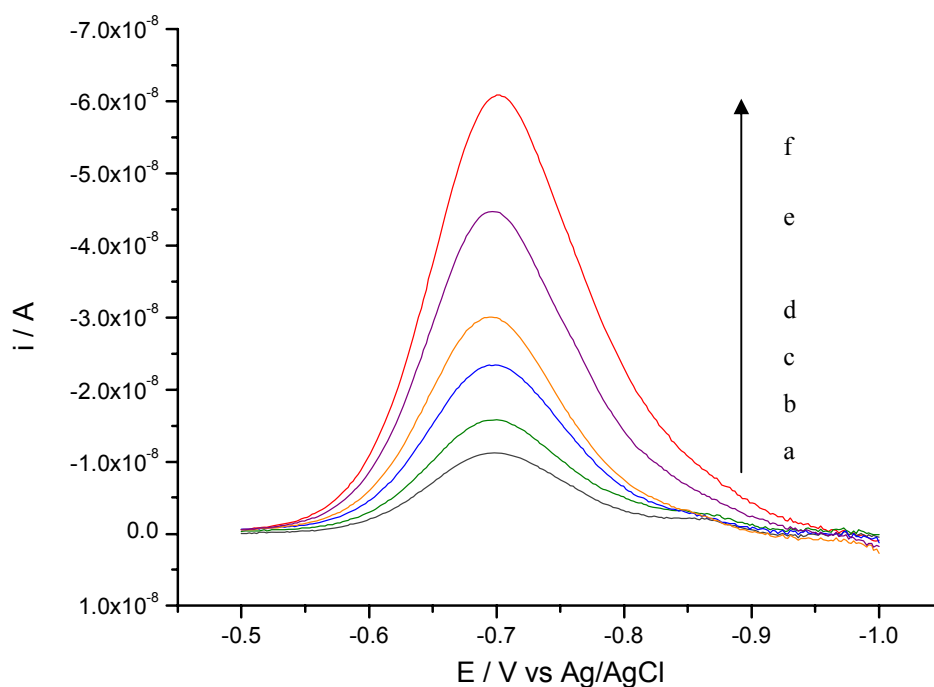


Figura 19. Voltamogramas por Voltametria de Pulso Diferencial utilizando eletrodo de Hg, para diversas concentrações de glifosato derivatizado (mg L^{-1}) (a) 1,50; (b) 2,00; (c) 3,00; (d) 4,00; (e) 6,00 e (f) 8,00. Eletrólito Suporte: $1,25 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$; $VV = 10 \text{ mV s}^{-1}$; $E_p = -700 \text{ mV}$.

A intensidade da corrente do pico catódico apresentou uma variação linear com a concentração de glifosato derivatizado em todo o intervalo investigado ($1,5 - 8 \text{ mg L}^{-1}$) (Figura 20). Os limites de detecção e de quantificação determinados foram, respectivamente, $41 \mu\text{g L}^{-1}$ e $136 \mu\text{g L}^{-1}$, valores estes bastante semelhantes aos encontrados anteriormente (Bronstad and Friestad, 1976). A função linear que descreve a curva analítica é $i_{pa}(A) = 7 \times 10^{-6} C(g \text{ L}^{-1})$ ($r^2 = 0,9994$).

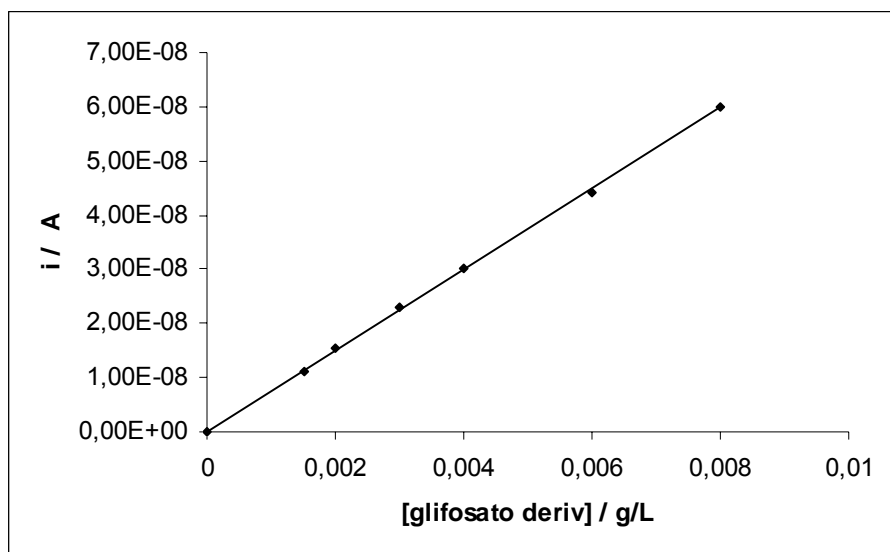


Figura 20. Curva analítica para derivado N-nitroso do glifosato utilizando eletrodo de Hg ($r^2 = 0,9994$). Eletrólito Suporte: $1,25 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$; $VV = 10 \text{ mV s}^{-1}$.

A concentração determinada pelo método da adição do analito para a amostra de água natural analisada (Tabela 2) foi $0,21 \text{ mg L}^{-1}$. Este valor é estatisticamente semelhante aquele determinado conforme o método desenvolvido utilizando o eletrodo de Cu (teste *t*) (Gonçalves, 2001). Portanto, o procedimento aqui proposto pode ser aplicado à determinação direta de glifosato em amostras de água sem necessitar de etapas preliminares à medida voltamétrica.

Tabela 2. Concentração de glifosato em amostra de água de rio (mg L^{-1}) determinada através da voltametria com eletrodo de Cu e eletrodo de Hg

	Método da Curva Analítica	Método da Adição do Analito
Eletrodo de Cu	$0,18 \pm 0,01$	$0,18 \pm 0,01$
Eletrodo de Hg	---x---	$0,21 \pm 0,02$

---X---: não investigado; resultados apresentados como médias \pm desvio padrão

Capítulo 4 - CONCLUSÃO

Muitos trabalhos têm sido realizados – quanto aos efeitos possíveis no ambiente e no homem, às reações em que pode participar e à determinação em amostras ambientais ou de alimentos - em função da ampla utilização do glifosato. Devido às suas propriedades herbicidas de amplo espectro, isto é, por ser não seletivo, sistêmico e pouco tóxico a animais, como discutido, o glifosato tornou-se o mais utilizado no mundo, aumentando a necessidade de monitoramento deste composto, ao nível de traços, principalmente nos sistemas aquáticos, depositários finais de contaminantes ambientais.

Na busca por métodos que aliem características desejáveis para os estudos ambientais, a rapidez, o baixo custo das análises, a facilidade no manuseio da instrumentação e os baixos limites de detecção fazem das técnicas eletroanalíticas uma alternativa extremamente viável às tradicionais técnicas cromatográficas, para detecção de glifosato em águas superficiais. Neste contexto, embora não sejam muitas vezes de uso tão simples como o eletrodo de Hg, os eletrodos metálicos apresentam interesse crescente devido ao mecanismo envolvido nas medidas voltamétricas, que os torna mais seletivos. Entretanto, a essa vantagem pode estar aliada uma menor sensibilidade, e este é um aspecto fundamental nos estudos ambientais.

Este estudo descreve uma nova alternativa para a determinação de glifosato baseada na voltametria com eletrodo de Cu, sem necessitar de reações prévias. As condições analíticas foram otimizadas visando conseguir uma sensibilidade adequada aos níveis máximos permitidos pela legislação existente e os resultados experimentais demonstram que o método proposto pode ser utilizado na análise de amostras ambientais aliando rapidez, sensibilidade, simplicidade, baixo custo e obedecendo ao conceito de “método limpo”.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1- AMARANTE JR., O. P. e SANTOS T. C. R.; “Métodos de extração e determinação do herbicida glifosato: Breve revisão”, Quím. Nova, v.25, No. 3, p. 420-428, 2002.

2- AMARANTE JR., O. P. e SANTOS T. C. R.; “Glifosato: Propriedades, toxicidade, usos e legislação”, Quím. Nova, V.25, No. 4, p. 589-593, 2002.

3- ANDRIOLI, A. I.; www.espacoacademico.com.br/051/51andrioli.htm, acessada em Maio 2006.

4-BILLO, J., Phys. Org. Chem. Lett. 10 (1974) 613.

5- BRONSTAD, J. O. e FRIESTAD, H. O.; “Method for Determination of Glyphosate Residues in Natural Waters Based on Polarography of the N-Nitroso Derivative”, Analyst, v.101, 820, 1976.

6- CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução N° 357/2005, de 17 de março de 2005. Publicação DOU: 18/03/2005. <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiano1.cfm?codlegitipo=3&ano=2005>. Acessada em julho de 2006.

7- CONSUMIDOR, S.A.; www.portalverde.com.br/ecologia/transgenicos/herbicida_so_jatrans.htm, acessada em Março 2006.

8- COUTINHO, C. F. B. e MAZO, L. H., “Complexos Metálicos com o Herbicida Glifosato: Revisão”, Quím. Nova, v.28, No. 6, p. 1038-1045, 2005.

- 9- DANIELE, P. G., STEFANO, C. D., PRENESTI, E., SAMMARTANO, S.; "Copper(II) complexes of N-(phosphonomethyl)glycine in aqueous solution: a thermodynamic and spectrophotometric study", *Talanta*, v. 45, p. 425-431, 1997.
- 10- DORES, E. F. G. C. e DE-LAMONICA-FREIRE, E. M., "Contaminação do Ambiente Aquático por Pesticidas, estudo de caso: Águas Usadas para Consumo Humano em Primavera do Leste, Mato Grosso – Análise Preliminar", *Quím. Nova*, v. 24, No. 1, p. 27-36, 2001.
- 11- EVANGELISTA, R.; [http://www. planeta Porto Alegre-glifosato.html](http://www.planetaPortoAlegre-glifosato.html), acessada em Março de 2006.
- 12- FORLANI G., MANGIAGALLI A., NIELSEN E., SUARDI C.M.; "Degradation of the phosphonate herbicide glyphosate in soil: evidence for a possible involvement of unculturable microorganisms" , *Soil Biology and Biochemistry*, v. 31, n.17, p.991-997, 1999.
- 13- GALLI, A. J. B., "Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura", Ed. Acadcom, 2005.
- 14- GALLI, A., SOUZA, D., GARBELLINI, G. S., COUTINHO, C. F. B., MAZO, L. H., AVACA, L. A. e MACHADO, S. A. S., "Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos", *Quím. Nova*, v. 29, No. 1, p. 105-112, 2006.
- 15- GONÇALVES, S., M. L. S.; "Métodos Instrumentais para Análise de Soluções", 4ª ed., Fundação Calouste Gulbenkian: Lisboa, 2001.
- 16- Handbook Spectrophotometer DR/2000, Hach.
- 17- MEITES, L.; "Handbook of Analytical Chemistry", 1ª Ed., 1963.

18- LORIMER, J. P., MASON, T. J., PLATTES, M. e WALTON, D. J.; "Passivation phenomena during sonovoltammetric studies on copper in strongly alkaline solutions"; J. Electroanalytical Chemistry, v. 568, p. 379-390, 2004.

19- LUO, M. Z. e BALDWIN, R. P.; "Characterization of carbohydrate oxidation at copper electrodes", J. Electroanalytical Chemistry, v. 387, p. 87 – 94, 1995.

20- MALLAT, E. and BARCELO D.; "Analysis and degradation study of glyphosate and of aminomethylphosphonic acid in natural waters by means of polymeric and ion-exchange solid-phase extraction columns followed by ion chromatography post-column derivatization with fluorescence detection", J. Chromatogr. A, v. 823 p. 129–136, 1998.

21- MORILLO, E.; MAQUEDA, C.; BEJARANO, M.; MADRID, L. e UNDABEYTIA, T.; "Cu(II)-Glyphosate system: a study by anodic stripping voltammetry and the influence on Cu adsorption by montmorillonite", Chemosphere, v. 28, No. 12, p. 2185-2196, 1994.

22- MORILLO, E., UNDABEYTIA, T., MAQUEDA, C. e RAMOS, A., "Glyphosate adsorption on soils of different characteristics. Influence of copper addition", Chemosphere, v. 40, p. 103-107, 2000.

23- PEDRO VAZ, C. M., CRESTANA, S., MACHADO, S. A. S., MAZO, L. H. e AVACA, L. A., "Análise de Pesticidas por técnicas eletroanalíticas", Embrapa, n. 7, p. 1-12, 1996.

24- PORTARIA n^o 518/2004; www.cismae.com.br, acessada em julho de 2006.

25- PRATA, F., "Comportamento do Glifosato no Solo e Deslocamento Miscível de Atrazina", Tese de Doutorado, Piracicaba-SP, 2002.

26- ROLLEMBERG, M. C.; GONÇALVES, M. L. S. S.; SANTOS, M. M. C.; BOTELHO, M. J.; “ Thermodynamics of uptake of cadmium by *Chlorella marina*” , *Bioelectrochemistry and bioenergetics*, v. 48, p. 61-68, 1999.

27- SANINO, F., FILAZZOLA, M. T., VIOLANTE, A. e GIANFREDA, L.; “Fate of herbicides influenced by biotic and abiotic interactions” , *Chemosphere*, v.29, n.2, p.333-341, 1999.

28- SATO, K.; JIN, J.; TAKEUCHI, T.; MIWA, T.; SUENAMI, K.; TAKEKOSHI, Y.; KANNO, S.; “*Journal of Chromatography A.*”, v. 919, p. 313-320, 2001.

29- SILVA, R. M. A.; <http://www.fc.up.pt/pessoas/rasilva/her8.html>, acessada em Março de 2005.

30- SOUZA, A. P., PRATES, H. T., FERREIRA, F. A., REIS, E. L. e JORDÃO, C. P.; "LIXIVIAÇÃO DO GLYPHOSATE E DO IMAZAPYR EM SOLOS COM DIFERENTES TEXTURAS E COMPOSIÇÃO QUÍMICA. II. MÉTODO ANALÍTICO"; *Planta Daninha*, v. 17, n. 2, p. 245 - 262, 1999.

31- STULIK, K. e PACAKOVA, V.; “Amperometric flow detection with a copper working electrode – response mechanism and application to various compounds”, *Talanta*, v. 35, No. 6, p. 455-460, 1988.

32- SURVILA, A.; SURVILIENE, A.; KANAPECKAITE, S.; BUDIENE, J. e KALINAUSKAS, P.; “Oxide layers developed on copper electrodes in Cu(II) solutions containing ligands”, *J. Electroanalytical Chemistry*, article in press, 2005.

33- TEÓFILO, R. F., REIS, E. L., REIS, C., SILVA, G. A. e KUBOTA, L. T.; “Experimental Design Employed to Square Wave Voltammetry Response

Optimization for the Glyphosate Determination”, J. Braz. Chem. Soc., v. 15, n. 6, 865-871, 2004.

34- TORTO, N., RUZGAS, T. e GORTON, L.; "Electrochemical oxidation of mono- and disaccharides at fresh as well as oxidized copper electrodes in alkaline media", J. Electroanalytical Chemistry, v. 464, p. 252 - 258, 1999.

35- VALCÁRCEL, M.; "Principles of Analytical Chemistry", 1ª Ed., p. 66-68, 2000.

36- VAZ, P. A. B.; [www.proibicao do glifosato](http://www.proibicao.do.glifosato)\Consultor Jurídico, acessada em Março de 2006.

37- www.agripec.com.br, acessada em Março de 2005.