



# XXV Congresso de Iniciação Científica da Unicamp

18 a 20 Outubro Campinas | Brasil



## Método analítico para a determinação de glifosato e AMPA em amostras ambientais

Giovanna Amaro Gireli\*, Cassiana Carolina Montagner Raimundo

### Resumo

O glifosato (N-(fosfonometil)glicina) é um dos pesticidas mais utilizados no Brasil e ainda assim, pouco se conhece sobre a presença dele nas águas superficiais brasileiras. Diante disto, o objetivo deste projeto é otimizar um método analítico para a determinação do glifosato, empregando extração em fase sólida, uma etapa de derivatização e posterior análise por cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas (LCMS/MS), de forma a obter uma ferramenta sensível para a determinação em amostras ambientais.

**Palavras-chave:** glifosato, cromatografia líquida (LCMS/MS), SPE

### Introdução

A comercialização de pesticidas cresce a cada ano em muitos países, sendo o Brasil o maior consumidor desses produtos.<sup>1</sup> De acordo com o último Boletim de Comercialização de Agrotóxicos e Afins publicado pelo Ministério do Meio Ambiente (MMA) através do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) o glifosato e seus sais foram considerados o ingrediente ativo mais comercializado, atingindo 186 mil toneladas vendidas em 2012.<sup>1</sup> O tipo de aplicação mais comum do glifosato é por pulverização, podendo contaminar águas superficiais próximas de forma direta ou indireta, via lixiviação do solo. Estudos indicam que o glifosato pode apresentar efeitos adversos a biota e apresenta potencial carcinogênico para os seres humanos.<sup>2</sup> No ambiente, o glifosato pode ser convertido rapidamente em ácido aminometilfosfônico (AMPA), e, portanto, o estudo deste produto de degradação se torna importante quando se pretende avaliar os impactos da contaminação pelo glifosato.<sup>3</sup>

A determinação de glifosato por LC-MS/MS requer uma etapa prévia de derivatização<sup>4</sup> que está sendo estudada em detalhes para que seja possível obter um método analítico com detectabilidade em níveis de nanograma a microgramas por litro, o que viabilizaria diversos estudos de gestão dos recursos hídricos.

### Resultados e Discussão

A primeira etapa para a determinação do glifosato é a reação de derivatização, utilizando um reagente derivatizante FMOC-Cl, por isso, estes foram os primeiros testes realizados e aperfeiçoados.

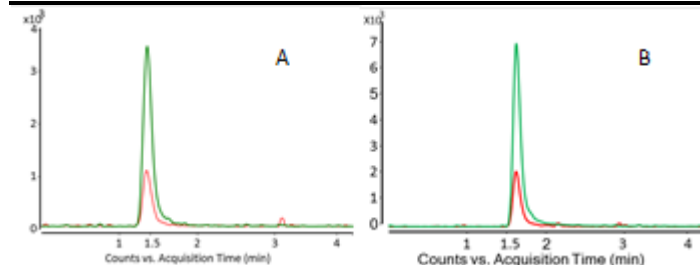
Sabe-se que a reação entre o FMOC-Cl e o glifosato/AMPA é uma reação típica de proteção de amina, fazendo-a com o objetivo de conseguir separar os compostos de interesse da matriz complexa. Dessa forma, vários ensaios foram realizados variando as possíveis fontes de interferência da reação, tanto no aspecto cinético como termodinâmico. Foram estudadas as alterações no pH do meio, na temperatura, na concentração do reagente derivatizante e no tempo de reação. Todos os testes foram feitos para o padrão de glifosato, AMPA e um mix dos dois compostos para analisar se havia interferência quando os dois estavam juntos. Pesquisando mais sobre a reação, observou-se que a acidificação foi eficiente para cessar a reação de derivatização seguida de repouso pernoite.

Em umas das otimizações conseguiu-se identificar o glifosato-FMOC, indicando ser o produto cinético da reação, pois foi obtido com o menor tempo de reação e com o menor estímulo de temperatura. Após seu

reconhecimento foi realizado outro experimento com o objetivo de pré-concentrar a amostra, usando a técnica de extração em fase sólida, fazendo uso do cartucho Strata-X. Também se obteve sucesso nessas tentativas e esses resultados podem ser observados abaixo.

**Tabela 1.** Valores de (m/z) nos dois ensaios para o Glifosato

Ensaio	Ensaio 01	Ensaio 02
Íon Precursor	389,6	390,2
Íon Produto	167,6	167,6
Íon de Quantificação	149,2	149,6



**Figura 1.** MRM do Glifosato (1 ppm) após a derivatização (A) e após a extração – SPE (B)

### Conclusões

A reação de derivatização com FMOC deve ser estudada do ponto de vista cinético e termodinâmico. O AMPA-FMOC, não foi visualizado em nenhuma das otimizações, sendo o possível produto termodinâmico. O glifosato-FMOC, portanto, foi identificado após a reação de derivatização e também após o SPE, como sendo o produto cinético da reação.

1. IBAMA “Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil: uma abordagem ambiental.” Brasília: 2010.

2. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *The Lancet Oncology*. 20 de Março de 2014. [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)70134-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(15)70134-8).

3. Hanke, Irene, Heinz Singer, e Juliane Hollender. “Ultratrace-level determination of glyphosate, aminomethylphosphonic acid and glufosinate in natural waters by solid-phase extraction followed by liquid chromatography–tandem mass spectrometry: performance tuning of derivatization, enrichment and detection.” *Anal Bioanal Chem*, 2008: 2265-2276.

4. Cullum Neil, Schuhn Bettina. “Analysis of Glyphosate and AMPA in Drinking Water with the Agilent 1200 Infinity Series Online SPE Solution”. Agilent Technologies Application Note, Publication Number 5991-3208EN (2013).