



I-202 - ESTUDO DA REMOÇÃO DO HERBICIDA GLIFOSATO E O PRINCIPAL METABÓLITO AMPA ATRAVÉS DA ETAPA DE PRÉ-OXIDAÇÃO UTILIZANDO CLORO ATIVO EM ESCALA DE LABORATÓRIO

Sabrina Firme Rosalém⁽¹⁾

Químico pela Universidade Federal do Espírito Santo. Mestre em Hidráulica e Saneamento pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

Edumar Ramos Cabral Coelho

Engenheira Civil pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Mestre em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP). Doutora em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

Márcia Cristina Martins Campos Cardoso

Química Industrial pela Universidade Vale do Rio Doce. Mestre em Engenharia Ambiental pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

Fernando Toscano Furlan

Licenciado em Química pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

Endereço⁽¹⁾: Av. Fernando Ferrari, Nº 514, Campus Universitário Alaor Queiroz de Araújo, Goiabeiras, Vitória, Espírito Santo - Brasil - CEP: 29075-910 - Brasil – Tel: +55 (27) 30826306 - e-mail: binarosa@yahoo.com.br

RESUMO

O trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da etapa de pré-oxidação utilizando cloro ativo em um tratamento de água na remoção do herbicida glifosato e seu principal metabólito AMPA, em escala de laboratório. Nesse trabalho os ensaios foram realizados em água destilada com o objetivo de evitar possíveis interferências da água bruta nas análises. Para a detecção do herbicida e seu metabólito foi necessário realizar a reação de derivatização em bancada com posterior injeção no cromatógrafo a líquido de alta eficiência (CLAE) utilizando-se detector de fluorescência. Os ensaios foram realizados em reatores estáticos (jarteste). O oxidante hipoclorito de cálcio possui alto poder de oxidação em relação ao glifosato e AMPA.

PALAVRAS-CHAVE: Glifosato, AMPA, oxidação, hipoclorito de cálcio, cromatografia líquida.

INTRODUÇÃO

Os agroquímicos (também chamados de micropoluentes), sempre encontrados em pequenas quantidades (frequentemente da ordem de microgramas por litro), são relativamente persistentes na natureza e no organismo humano, tornando-se um sério problema para a saúde. O Brasil é um dos maiores consumidores de agroquímicos do mundo. Segundo estimativa realizada pelo IDAF em 2001 no Espírito Santo, os ingredientes ativos de agrotóxicos mais utilizados foram o glifosato (que correspondeu a 37 % da quantidade total) e 2,4 D (que correspondeu a 10 % da quantidade total).

Devido a larga utilização do glifosato no Espírito Santo, existe a possibilidade de presença destes contaminantes em água de abastecimento e a conseqüente necessidade de avaliar a remoção destes compostos nos sistemas de tratamento existentes. Para que não haja comprometimento da saúde humana, é importante a realização de pesquisas de processos que reduzam a concentração desses contaminantes a valores aceitáveis determinados pelas legislações. A maior dificuldade na identificação de micropoluentes é a metodologia que exige a utilização de equipamentos com sensibilidade para detecção em concentrações de µg/L, pois a Portaria 518/2004 do Ministério da Saúde, limita o valor máximo do glifosato em água de abastecimento em 500 µg/L.

A cromatografia gasosa e líquida têm sido ferramentas importantes para a detecção de herbicidas. O desenvolvimento de metodologias de extração, análise e quantificação de microcontaminantes no estado do Espírito Santo, é de suma importância, uma vez que atualmente estas análises são realizadas fora do Estado e o estabelecimento destas metodologias é um dos fatores limitantes na adequação da água de consumo aos padrões de potabilidade no que diz respeito às substâncias químicas que apresentam risco à saúde.



A identificação do glifosato e AMPA baseia-se na dificuldade da análise direta dos detectores UV e fluorescência. Portanto, realiza-se uma reação de derivatização do glifosato e AMPA. A metodologia utilizada para identificação e quantificação do glifosato e AMPA nesse trabalho foi de acordo com Le Fur et al, 2000. Essa metodologia propõe a derivatização do glifosato e AMPA com FMOC-Cl (9-fluorenilmethilcloroformato) através de uma reação realizada antes da injeção no cromatógrafo (pré-coluna de derivatização). Este composto reage com o glifosato formando um complexo possível de ser detectado no fluorescência.

Esse trabalho propõe a avaliação na remoção do herbicida glifosato e seu principal metabólito em água destilada para evitar possíveis interferências encontradas em água bruta. A partir dos resultados obtidos será possível realizar um estudo em água de manancial de abastecimento considerando os resultados aqui expostos.

O desenvolvimento desse trabalho contou com o financiamento da FINEP e do CNPQ nas pesquisas da rede PROSAB 5. O projeto também contou com o apoio da Companhia Espírito Santense de Saneamento (CESAN) no desenvolvimento da pesquisa.

MATERIAIS E MÉTODOS

Esse trabalho foi realizado em laboratório utilizando-se reatores estáticos (jarteste). As amostras foram preparadas com padrão de glifosato e AMPA (Sigma-Aldrich) em água destilada e deionizada.

A parte experimental deste trabalho foi dividida em 3 etapas:

1. Reação de pré-derivatização do herbicida, seguida de extração líquido-líquido;
2. Detecção e quantificação do glifosato e do AMPA por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência;
3. Avaliação da pré-oxidação utilizando-se cloro ativo na remoção do glifosato e do AMPA.

PRÉ-OXIDAÇÃO

Os ensaios de pré-oxidação foram realizados em bancada com regime hidráulico descontínuo utilizando reatores estáticos (jarteste). Foi utilizada água destilada nos ensaios para avaliar a eficiência dos oxidantes sem a presença de possíveis interferentes presentes na água bruta. A concentração do herbicida e de seu metabólito utilizada foi de 500 $\mu\text{g. L}^{-1}$ e a concentração do oxidante foi de 1,50 mg. L^{-1} para o cloro ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$). A metodologia usada para os ensaios foi de acordo com as recomendações de Di Bernardo: a água foi adicionada em porções simultâneas nos jarros; os agitadores mecânicos foram programados para uma velocidade de rotação constante 90 rpm (100 s^{-1}); a solução de oxidante foi colocada em frascos, de forma a obter a concentração desejada e colocados simultaneamente nos jarros. Optou-se em coletar as amostras em tempos de contato diferentes: 10 e 90 minutos, para observar a influência do tempo de contato na oxidação do herbicida e seu metabólito. Em seguida realizou-se análises de residual do oxidante no espectrofotômetro e do herbicida no cromatógrafo líquido. A cronologia dos ensaios está representada na Figura 1.

• HIPOCLORITO DE CÁLCIO

Para as análises de demanda de cloro livre foi utilizada uma solução de hipoclorito de cálcio. A determinação de cloro ativo em uma amostra, assim como a preparação da curva de calibração, foram feitas através do método espectrofotométrico com DPD de acordo com o método 4500 do Standard Methods (55).

A solução foi preparada pesando 1,0 g de hipoclorito de cálcio e diluído para 1000 mL de solução. A determinação da concentração de cloro ativo nas soluções de hipoclorito foi realizada pelo método indireto iodométrico. O titulante escolhido foi o tiosulfato de sódio 0,1N, o qual foi padronizado com o padrão primário iodato de potássio, iodeto de potássio e ácido sulfúrico 20%, de acordo com a metodologia do Vogel (56). A concentração foi determinada em um espectrofotômetro no comprimento de onda de 515 nm com uma solução de tampão fosfato e DPD.

A curva de calibração externa foi utilizada para o cálculo da concentração de cloro residual nos ensaios com hipoclorito de cálcio. O ensaio para a construção da curva foi realizado com DPD, solução tampão de fosfato



e oito concentrações de permanganato de potássio diferentes que variaram de 0,0 a 3,5 mg.L⁻¹. A Figura 2 representa a curva de calibração do cloro feita no espectrofotômetro da HACH modelo DR-2000 em comprimento de onda 515 nm.

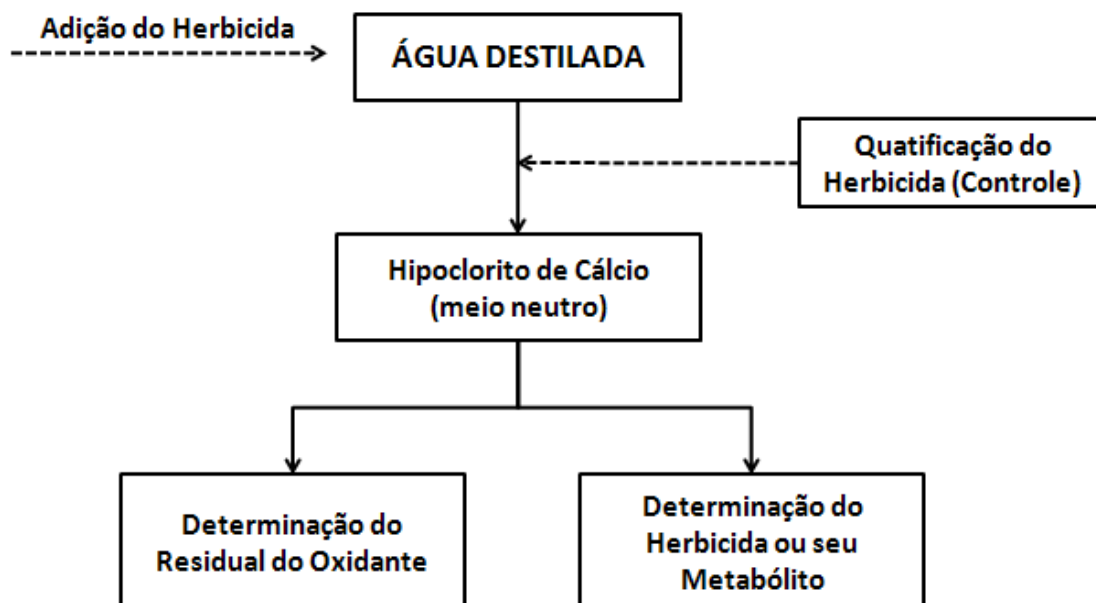


Figura 1: Fluxograma da Avaliação da pré-oxidação utilizando água destilada.

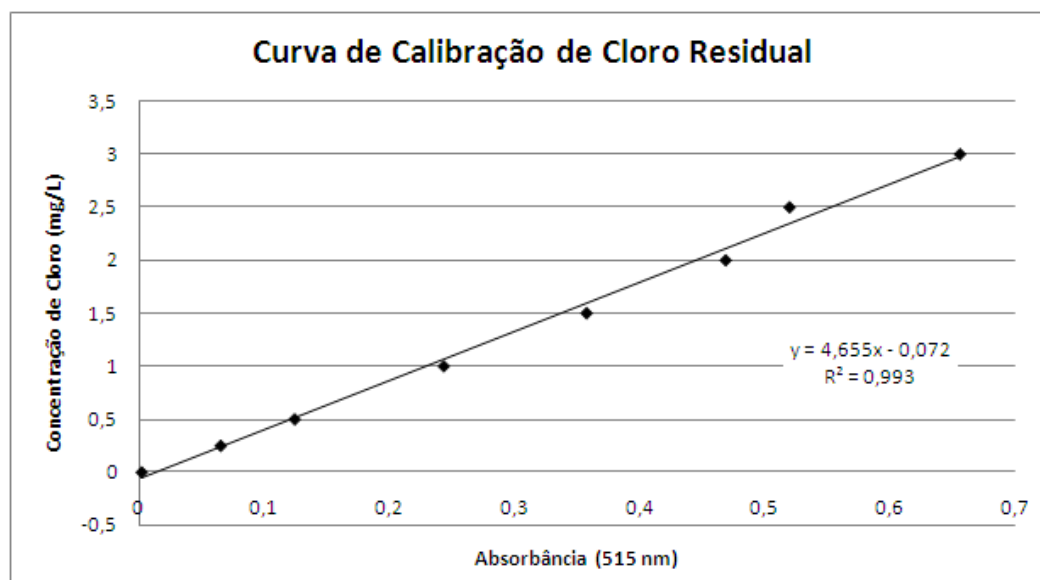


Figura 2: Curva de calibração cloro obtida em um espectrofotômetro DR-2000 da HACH.

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

Para ser possível a detecção do glifosato e do AMPA na análise cromatográfica foi realizado uma reação de derivatização. A reação foi realizada adicionando-se 1,0 mL de tampão tetraborato (pH 10,2) e 1,0 mL de solução de FMOC-Cl 1g/L, a 6 mL de solução 30µg/L dos padrões glifosato e AMPA, respectivamente (em frascos separados). Para a detecção e quantificação do glifosato e do AMPA foram feitas as curvas analíticas nas concentrações 50; 100; 200; 400; 600; 800 e 1000 µg L⁻¹. Para a obtenção das curvas analíticas e leitura

das amostras, foi utilizado um cromatógrafo da Shimadzu LC -20AT com uma amino coluna da marca Merck (250 mm x 4,6 mm x 12 μ m) e pré-coluna NH2 da Merck. As condições de trabalho foram: detector de fluorescência; fase móvel = tampão fosfato:ACN (45:55); fluxo da fase móvel = 0,8 mL/min; λ_{exc} = 260 nm; λ_{ems} = 310 nm; volume de injeção 4,0 μ L; tempo de corrida = 7,5 minutos; temperatura do forno = 30°C. Após 30 minutos de reação em temperatura ambiente, foi realizada a extração líquido-líquido, em que as soluções foram lavadas uma vez com éter dietílico (50:50 v/v). Depois de 1 hora de decantação, a fase aquosa foi transferida para os vials para as análises no CLAE. Essa metodologia foi descrita por Le Fur et al, 2000.

Para a detecção e quantificação do glifosato e do AMPA foram feitas as curvas analíticas nas concentrações 50; 100; 200; 400; 600; 800 e 1000 μ g L⁻¹. As curvas de calibração obtidas do glifosato e do AMPA estão representadas na figura 3.

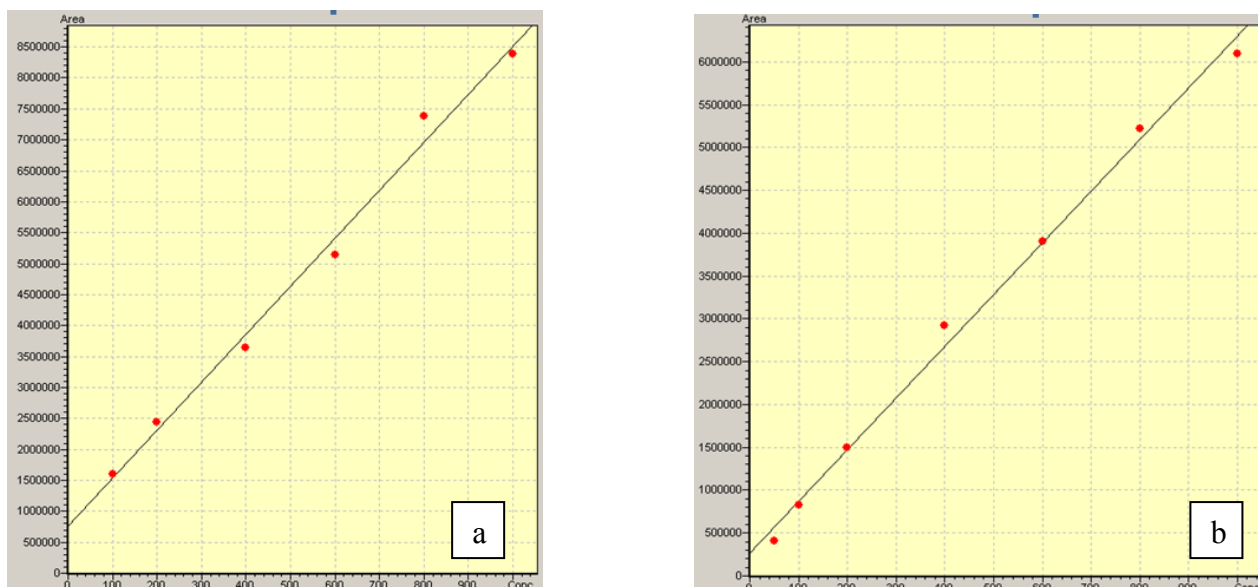


Figura 3 – Na figura a está representada a curva de calibração do glifosato, onde o $r^2 = 0,997$. Na figura b está representada a curva de calibração do AMPA, onde o $r^2 = 0,977$

AVALIAÇÃO DA PRÉ-OXIDAÇÃO NA REMOÇÃO DE GLIFOSATO E AMPA

Esta etapa consiste em avaliar a remoção do glifosato e AMPA através da pré-oxidação utilizando uma dosagem e tempo de contato (10 e 90 minutos) pré-definidos do cloro ativo, em reatores estáticos (teste de jarros) em bancada de laboratório.

Tabela 1 – testes de oxidação do glifosato.

AMOSTRAS	COMPOSIÇÃO
Amostra 1	Água destilada e deionizada + glifosato ou AMPA (500 μ g L ⁻¹)
Amostra 2	Água destilada e deionizada + cloro ativo (1,5 mg L ⁻¹)
Amostra 3	Água destilada e deionizada + glifosato ou AMPA (500 μ g L ⁻¹) + cloro ativo (1,5 mg L ⁻¹)

A concentração do oxidante foi escolhida baseado em ensaios preliminares em que o critério adotado foi que ao término da etapa de oxidação houvesse residual de cloro ativo.

Os testes foram realizados em regime hidráulico descontínuo utilizando reatores estáticos (jarteste) da marca Nova Ética. O equipamento usado possui 06 (seis) jarros de capacidade igual a 02 (dois) litros, o gradiente de velocidade varia de 10 a 2000 s⁻¹. Os tempos de contato definidos para a coleta das amostras foram de 10, 20,



30 e 120 min. Os agitadores mecânicos foram programados para uma velocidade de rotação constante 90 rpm (100s⁻¹). Todas as amostras foram filtradas com membrana de fibra de vidro em um sistema de filtração à vácuo. A metodologia usada para os ensaios de pré-oxidação foram de acordo com as recomendações de Rosalém apud Di Bernardo, (2007).

Avaliação da Pré-Oxidação na Remoção do glifosato

Na tabela 2 pode-se observar os ensaios de oxidação do glifosato e AMPA utilizando-se cloro ativo no tempo de contato de 10 minutos.

Tabela 2 – resultados obtidos dos testes de oxidação do glifosato e AMPA em 10 minutos de reação.

AMOSTRAS	COMPOSIÇÃO	Resultados (µg.L ⁻¹)
Amostra 1	Água destilada e deionizada + glifosato (500 µg L ⁻¹)	459,3
Amostra 2	Água destilada e deionizada + cloro ativo (1,5 mg L ⁻¹)	53,9
Amostra 3	Água destilada e deionizada + glifosato (500 µg L ⁻¹) + cloro ativo (1,5 mg L ⁻¹)	57,0
Amostra 4	Água destilada e deionizada + AMPA (500 µg L ⁻¹)	533,8
Amostra 5	Água destilada e deionizada + cloro ativo (1,5 mg L ⁻¹)	ALD
Amostra 6	Água destilada e deionizada + AMPA (500 µg L ⁻¹) + cloro ativo (1,5 mg L ⁻¹)	ALD

Onde:

ALD = abaixo do limite de detecção.

Na tabela 3 pode-se observar os ensaios de oxidação do glifosato e AMPA utilizando-se cloro ativo no tempo de contato de 90 minutos.

Tabela 3 – resultados obtidos dos testes de oxidação do glifosato e AMPA em 90 minutos de reação.

AMOSTRAS	COMPOSIÇÃO	Resultados (µg.L ⁻¹)
Amostra 1	Água destilada e deionizada + glifosato (500 µg L ⁻¹)	404,4
Amostra 2	Água destilada e deionizada + cloro ativo (1,5 mg L ⁻¹)	53,4
Amostra 3	Água destilada e deionizada + glifosato (500 µg L ⁻¹) + cloro ativo (1,5 mg L ⁻¹)	56,8
Amostra 4	Água destilada e deionizada + AMPA (500 µg L ⁻¹)	533,7
Amostra 5	Água destilada e deionizada + cloro ativo (1,5 mg L ⁻¹)	ALD
Amostra 6	Água destilada e deionizada + AMPA (500 µg L ⁻¹) + cloro ativo (1,5 mg L ⁻¹)	ALD

Onde:

ALD = abaixo do limite de detecção.

Os resultados observados na tabela 2 e 3 demonstraram que o cloro ativo gera um efeito de matriz, obtendo-se uma curva de intensidade de aproximadamente 53 µg.L⁻¹. Ao analisar o cromatograma da amostra com glifosato após a oxidação nos tempos de 10 e 90 minutos, observou-se que a concentração obtida no comprimento de onda estudado, foi maior do que o residual do cloro. Nos dois tempos de contato do glifosato com o cloro ativo estudado, a diferença na concentração do momento após a oxidação com a concentração do cloro ativo foi em média 3,25 µg.L⁻¹. A concentração obtida a partir do cálculo é, provavelmente, o residual



do glifosato. A oxidação do herbicida foi eficiente, pois 99,3% da concentração inicial foi oxidada. Esses resultados demonstram que o tratamento proposto para o herbicida glifosato encontram-se abaixo do valor máximo permitido pela Portaria 518/2004 MS que define o limite em $500 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Os testes de oxidação do metabólito AMPA demonstraram que após a oxidação com 10 minutos todo o metabólito foi oxidado, obtendo-se uma eficiência de aproximadamente 100% no tratamento do metabólito com cloro ativo.

CONCLUSÕES

A avaliação de remoção do glifosato realizada em laboratório utilizando reatores jarteste em água destilada demonstraram que o a pré-oxidação utilizando-se cloro ativo ($1,5 \text{ mg/L}$), foi eficiente na remoção do glifosato. A etapa de pré-oxidação contribuiu com 99,3% de remoção do herbicida nos 10 primeiros minutos de reação em relação à concentração inicial do glifosato ($459,3 \mu\text{g.L}^{-1}$). Para a concentração inicial do herbicida, o tratamento foi eficiente pois o residual gerado encontra-se abaixo do limite estabelecido pela Portaria 518/2004 MS.

Nesse estudo, observou-se o efeito de matriz do cloro nos cromatogramas obtidos através da metodologia proposta no comprimento de onda proposto. O valor dessa interferência foi constante em todos os ensaios, o que pode-se afirmar que a diferença entre a concentração obtida na amostra de glifosato após a oxidação e o efeito de matriz irá fornecer a concentração do herbicida ao final do tratamento.

O cloro ativo é um excelente oxidante para o metabólito AMPA, pois para a concentração de $533 \mu\text{g.L}^{-1}$ a quantidade de $1,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de cloro ativo foi o suficiente para que aproximadamente toda a concentração do AMPA fosse oxidada nos primeiros 10 minutos de reação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMARANTE JUNIOR, O. P., SANTOS, T. C. R., BRITO, N. M., RIBEIRO M. L. Método de Extração e Determinação do Herbicida Glifosato: Breve Revisão. *Quim. Nova*, Vol. 25, No. 3, 420-428, 2002.
2. APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater. 20th. ed. [S.l.]: New York: American Public Health Association, 2000.
3. BRASIL (2004). Leis Decretos,etc. Ministério da Saúde. Portaria 518/MS. 25 de março de 2004, Brasília, Brasil.
4. DI BERNARDO, L., DI BERNARDO, A., CENTURIONE, P. Ensaio de Tratabilidade de Água dos Resíduos Gerados em Estações de Tratamento de Água. *RiMa*, 2002.
5. LE FUR, E.; Colin, R.; Charrêteur, C.; Dufau, C.; Péron, J.-J., Determination of glyphosate herbicide and aminomethylphosphonic acid in natural waters by liquid chromatography using pre-column fluorogenic labeling. Part I: Direct determination at the 0.1 mg/L level using FMOC. *EDP Sciences* - 28, 813-818, França, 2000.
6. MATTOS, M. L. T.; Peralba, M. C. R.; Dias, S. L. P.; Prata, F.; Camargo L., Monitoramento ambiental do glifosato e do seu metabólito (ácido aminometilfosfônico) na água de lavoura de arroz irrigado. *Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente*, Curitiba, v. 12, p. 145-154, 2002.
7. MEHRSHEIKH A.; Bleeke M.; Brosillon, S.; Laplanche A.; Roche, P., Investigation of the mechanism of chlorination of glyphosate and glycine in water. *Elsevier*, França, V. 40, p. 3003-3014, 2006.
8. ROSALÉM, S.F. Estudo de Identificação e Quantificação de Trihalometanos em Água de Abastecimento. Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do Espírito Santo/UFES, 2007.
9. VOGUEL, A. I. Análise Química Quantitativa. 5th. ed. [S.l.]: LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 1989.