

UFAL

INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ELETROQUÍMICO PARA
DETERMINAÇÃO DE GLIFOSATO EM PRESENÇA DE SIMONKOLLEITE E
DOPAMINA**

SARA DOS SANTOS NASCIMENTO

Universidade Federal de Alagoas

**Campus A. C. Simões
Tabuleiro do Martins
57072-970 - Maceió-AL**

SARA DOS SANTOS NASCIMENTO

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ELETROQUÍMICO PARA
DETERMINAÇÃO DE GLIFOSATO EM PRESENÇA DE SIMONKOLLEITE E
DOPAMINA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciências.

Orientadora: Prof^a Dr^a Fabiane Caxico de Abreu Galdino

MACEIÓ – AL

2022

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

N244d Nascimento, Sara dos Santos.
Desenvolvimento de método eletroquímico para determinação de glifosato em presença de simonkolleite e dopamina / Sara dos Santos Nascimento. – 2022.

85 f. : il., grafs., tabs. color.

Orientadora: Fabiane Caxico de Abreu Galdino.
Tese (doutorado em ciências) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2022.

Bibliografia: f. 77-85.

1. Glifosato. 2. Sensor eletroquímico. 3. Dopamina. 4. Simonkolleite.. I.
Título.

CDU: 66.087



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA




BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1144
Email: ppgqb.ufal@gmail.com

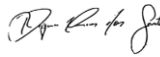
FOLHA DE APROVAÇÃO


Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Tese da Doutoranda **Sara dos Santos Nascimento** intitulada: “Desenvolvimento de método eletroquímico para determinação de glifosato em presença de simonkolleite e dopamina”, apresentada, em sessão aberta, ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas no dia 14 de março de 2022, às 14h, por meio de videoconferência.

Maceió, 14 de março de 2022.


Comissão Examinadora:


Profa. Dra. Fabiane Caxico de Abreu Galdino Rocha
Orientadora (PPGQB/IQB/UFAL)


Prof. Dr. Diógenes Meneses dos Santos
(PPGQB/ UFAL)


Profa. Dra. Fabrícia da Rocha Ferreira
(Externo ao Programa)


Prof. Dr. Johnatan Duarte de Freitas
(IFAL)


Profa. Dra. Andresa Katherinne Albuquerque de Almeida
(Externo ao Programa)

Decico este trabalho aos meus pais Everaldo Lira do Nascimento e Maria Anunciada dos Santos Nascimento, por sempre me incentivarem com amor no caminho a educação para construção de um mundo melhor.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida e por me conceder a graça de chegar até aqui.

Aos meus amados pais Anunciada e Everaldo pelo exemplo de vida, amor, dedicação e alegria com a qual sempre me incentivaram, me ensinaram que a educação é sempre o melhor caminho a ser seguido para tornar-se uma pessoa melhor.

À minha orientadora Fabiane Caxico pela paciência, ensinamentos, compreensão e humanidade que sempre me conduziu durante todo o período de graduação e pós-graduação. Mostrou-me que com a resiliência conseguimos atingir metas, mesmo com dificuldades envolvidas.

À professora Anielle Christine (IF) pela colaboração em ceder as nanopartículas que possibilitaram o desenvolvimento do trabalho e por estar sempre disposta a contribuir.

Aos meus tios Aladel e Ceixa, meus segundos pais, pela acolhida, carinho, incentivo e cuidados, conquistei um novo lar aqui em Maceió.

Aos meus irmãos Hélder, Gláucia, Bento, e a minha prima Natalha pelo carinho e companheirismo de sempre.

Ao meu primo Rafael por ser o melhor guarda-costas que eu poderia ter, por todos os dias que foi me buscar no ponto de ônibus tarde da noite nas voltas da UFAL.

Ao meu doce Everson por sempre me incentivar, compreender, apoiar e tolerar as minhas loucuras.

Aos meus amigos Adriana, Júcila, Jorge, Simone e Talita, pela amizade, confidências e torcida.

Ao meu caro amigo Angladis pela paciência, amizade, pelas discussões e contribuições neste trabalho.

Aos meus queridos Leyllanne e Luis Paulo (Pato) pela amizade, cuidado, carinho e companheirismo na UFAL mesmo em tempos de pandemia.

Aos meus bem-humorados irmãos do LEMAN que sempre estiveram dispostos a ajudar, apoiar, falar mal da vida dos outros e compartilhar sufocos, em especial a Samaysa, Emanuella, Fabricia, Elvis, João Victor, Guimarães, Caio, Edla e Marília e ao nosso melhor agregado Ivis.

Ao técnico Aldyr por sempre estar disposto a ajudar e pelas risadas no laboratório.

Por fim, agradeço aos órgãos de fomento CAPES, CnPq e FAPEAL pelo apoio financeiro possibilitando a realização deste trabalho. Bem como a instituição UFAL

RESUMO

O glifosato (GLI) é um agrotóxico utilizado em todo o mundo que apresenta características como baixo custo, alta eficiência e viabilidade em diferentes culturas. Entretanto, também oferece danos potenciais à saúde, sendo fundamental sua determinação e monitoramento em matrizes ambientais, porém, sua quantificação envolve alto custo. O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de um sensor eletroquímico para GLI que alie baixo custo, fácil preparação e sensibilidade. O GLI não apresenta sinal eletroquímico, visando detecção indireta avaliou-se sua interação com dopamina (DOPA) por espectroscopia UV-vis, no infravermelho (FTIR) e por técnicas eletroquímicas. Nas determinações eletroquímicas foram utilizadas técnicas de voltametria cíclica (VC) e voltametria de pulso diferencia (VPD), eletrodo de carbono vítreo (CV) e este modificado com nanotubo de carbono de paredes múltiplas (CV-NTC), avaliou-se o melhor meio para análise (tampões: acetato pH=4,5; fosfato pH=7; borato pH=10). Visando ganho de sensibilidade ao sistema, analisou-se o uso de nanopartículas de simonkolleite (SK), além de SK contendo Ag: 0,1% e 1%, destas, observou-se que o uso de SK apresentou melhor resultado, deste modo, avaliou-se a melhor proporção entre SK e DOPA para obtenção de sistema mais sensível. O sistema foi avaliado quanto a presença das seguintes espécies interferentes: Ca^{2+} , Mg^{2+} e Cu^{2+} , em concentrações que variaram de 6 a 600 ppb, em GLI (7 ppb), o método também foi utilizado para análise de amostra de solo fortificada com GLI. A utilização de DOPA se mostrou viável, sendo proposto um mecanismo para a interação envolvida. O uso de eletrodo CV apresentou transporte de massa adsorptivo, sendo relevante a modificação com NTC, quanto a utilização de diferentes faixas de pH, a utilização de pH=7, apresentou maior sensibilidade, tornando-se a melhor opção entre as faixas avaliadas. O uso de SK, proporcionou maior sensibilidade ao sistema, enquanto o uso de SK contendo Ag promoveu redução na intensidade do sinal, o uso da proporção 1:1 entre DOPA e SK, possibilitou maior sensibilidade ao sistema, sem interferir na avaliação de GLI. O uso de eletrodo CV-NTC em tampão fosfato pH = 7,00, VPD, DOPA (2 ppm) e SK (2 ppm), proporcionou obtenção de método com faixa linear resposta de GLI de 1 a 7 ppb. O sistema demonstrou repetibilidade e linearidade ($R = 0,9937$), obtendo-se LD e LQ de 0,1971 ppb e 0,6571 ppb, respectivamente. Quanto a avaliação das espécies interferentes, observou-se interferência no sinal analítico de até 13% (Ca^{2+}), 2% (Cu^{2+}) e 4% (Mg^{2+}), revelando resultado satisfatório em relação a outras metodologias eletroquímicas. O método permitiu detecção de GLI em amostra de solo fortificada, observando-se a presença de 6,894 ppb, ele foi validado pela utilização de método que envolve espectroscopia na região do visível, apresentando médias que não diferem estatisticamente (Teste T Student 95%), apresentando-se como uma proposta promissora de baixo custo e fácil preparação na avaliação de GLI em amostras ambientais.

Palavras-chave: glifosato, sensor eletroquímico, dopamina, simonkolleite.

ABSTRACT

Glyphosate (GLI) is a pesticide used around the world that has characteristics such as low cost, high efficiency and viability in different cultures. However, it also offers potential damages to health, being essential its determination and monitoring in environmental matrices, however, its quantification involves high cost. The objective of this work is the development of an electrochemical sensor for GLI that combines low cost, easy preparation and sensitivity. GLI does not present an electrochemical signal, aiming at indirect detection, its interaction with dopamine (DOPA) was evaluated by UV-vis, infrared (FTIR) and electrochemical spectroscopy. Cyclic voltammetry (CV) and differential pulse voltammetry (DPV) techniques were used for electrochemical determinations, glassy carbon electrode (GCE) and this modified with multiwalled carbon nanotube (GCE-MWCN), the best medium was evaluated. for analysis (buffers: acetate pH=4.5; phosphate pH=7; borate pH=10). Aiming to gain sensitivity to the system, the use of simonkolleite nanoparticles (SK) was analyzed, in addition to SK containing Ag: 0.1% and 1%, of which, it was observed that the use of SK presented better results, thus, the best ratio between SK and DOPA was evaluated to obtain a more sensitive system. The system was evaluated for the presence of the following interfering species: Ca^{2+} , Mg^{2+} and Cu^{2+} , in concentrations that varied from 6 to 600 ppb, in GLI (7 ppb), the method was also used for analysis of a soil sample fortified with GLI. The use of DOPA proved to be viable, and a mechanism for the interaction involved was proposed. The use of GCE electrode showed adsorptive mass transport, being relevant the modification with MWCN, regarding the use of different pH ranges, the use of pH=7, presented greater sensitivity, making it the best option among the evaluated ranges. The use of SK provided greater sensitivity to the system, while the use of SK containing Ag promoted a reduction in signal intensity, the use of a 1:1 ratio between DOPA and SK allowed greater sensitivity to the system, without interfering in the assessment of GLI. The use of GCE-MWCN electrode in phosphate buffer pH = 7.00, DPV, DOPA (2 ppm) and SK (2 ppm), provided obtaining a method with linear range of GLI response from 1 to 7 ppb. The system demonstrated repeatability and linearity ($R = 0.9937$), obtaining LD and LQ of 0.1971 ppb and 0.6571 ppb, respectively. As for the evaluation of the interfering species, interference in the analytical signal of up to 13% (Ca^{2+}), 2% (Cu^{2+}) and 4% (Mg^{2+}) was observed, revealing a satisfactory result in relation to other electrochemical methodologies. The method allowed the detection of GLI in a fortified soil sample, observing the presence of 6,894 ppb, it was validated using a method that involves spectroscopy in the visible region, presenting means that do not differ statistically (T Student 95%). presenting itself as a promising proposal of low cost and easy preparation in the evaluation of GLI in environmental samples.

Keywords: glyphosate, electrochemical sensor, dopamine, simonkolleite.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Quantidade de intoxicações por agrotóxicos de uso agrícola no Brasil por unidades da federação de 2012 a 2014.	20
Figura 2 - Estrutura química do glifosato.....	22
Figura 3 - Frações das formas iônicas do glifosato mais comuns de acordo com o pH.....	23
Figura 4 - Fluxograma de ação da enzima EPSPS.	24
Figura 5 - Via Chiquimato biosintética de aminoácidos aromáticos e sua inibição pelo glifosato.	25
Figura 6 - Estrutura química do AMPA.	26
Figura 7 - Estrutura dopamina.....	41
Figura 8 – Representação esquemática de cela eletroquímica de três eletrodos.	44
Figura 9 - Representação esquemática da modificação do eletrodo de carbono vítreo com NTC.	46
Figura 10 - Espectros na região do uv-vis de dopamina na presença de glifosato em tampão fosfato pH = 7,0.	50
Figura 11 - Mecanismo proposto para interação entre DOPA e GLI.....	51
Figura 12 - Espectros FTIR de GLI, DOPA e do produto da reação em meio aquoso DOPA-GLI	52
Figura 13 - a) Voltamogramas cíclicos de DOPA 5 ppm em tampão fosfato pH = 7,00, b) Mecanismo envolvido na oxidação de DOPA.....	55
Figura 14 - a) Voltamogramas de DOPA na presença de diferentes concentrações de GLI, b) Mecanismo proposto para oxidação da espécie DOPA-GLI.....	56
Figura 15 - Voltamogramas cíclicos de DOPA, utilizando CV em tampão fosfato (pH 7,00) em diferentes velocidades de varredura.	57
Figura 16 - Regressão linear I_{pca} vs $v^{1/2}$	58
Figura 17 - Voltamogramas de DOPA em crescentes concentrações de GLI, $v = 0,050 \text{ V s}^{-1}$, em diferentes soluções tampão: a) Tampão acetato pH = 4,50, b) Tampão fosfato pH = 7,00.	59

Figura 18 - Voltamogramas de DOPA em crescentes concentrações de GLI, $v = 0,050 \text{ V s}^{-1}$, em Tampão borato $\text{pH} = 10,00$	60
Figura 19 - Voltamogramas de DOPA e GLI na presença de SK.....	62
Figura 20 - Voltamogramas de SK, na presença de GLI e DOPA, utilizando eletrodo CVNTC.	63
Figura 21 - Voltamogramas de DOPA e GLI na presença de SK, utilizando eletrodo CVNTC.	64
Figura 22 - Voltamogramas cíclicos de DOPA (5 ppm) em diferentes concentrações de SK (1,5 – 10 ppm), $v = 0,050 \text{ V s}^{-1}$, em Tampão fosfato $\text{pH} = 7,00$	65
Figura 23 - Voltamograma cíclico de DOPA (10 ppm) e SK (10 ppm) em diferentes concentrações de GLI (1-3 ppm), $v = 0,050 \text{ V s}^{-1}$, em Tampão fosfato $\text{pH} = 7,00$	66
Figura 24 - Avaliação do sistema DOPA-GLI com uso de diferentes substâncias, em a) e b) SK-0,1% Ag, c) e d) SK-1% Ag.....	67
Figura 25 - Voltamogramas relacionados a oxidação de DOPA na presença de SK, em diferentes concentrações de GLI, utilizando eletrodo CV-NTC, em tampão fosfato $\text{pH} = 7,00$ e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$, regressão linear da corrente de pico versus concentração de GLI.....	68
Figura 26 - Desempenho do sensor desenvolvido para quantificação de GLI (7 ppb), frente a presença de Ca^{2+} , Cu^{2+} e Mg^{2+} em tampão fosfato $\text{pH} = 7,00$	69
Figura 27 – a) Voltamogramas obtidos através da análise de amostra real de solo e adição de padrão de GLI, utilizando CV-NTC, DOPA (2 ppm), SK (2 ppm) em tampão fosfato e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$, b) Regressão linear da intensidade de sinal vs concentração de GLI obtida através da análise de solo e adição de padrão.....	70
Figura 28 - a) Espectros na região do visível, na avaliação de GLI na presença de ninidrina e molibdato de sódio sob aquecimento, b) curva de calibração de GLI.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Total de vendas de Agrotóxicos e afins nas regiões e estados brasileiros 2020.....	18
Tabela 2 - Os 10 ingredientes ativos mais vendidos no Brasil em 2020.	21
Tabela 3 – Uso de diferentes métodos cromatográficos para a quantificação de resíduos de glifosato e respectivos limites de detecção e quantificação.	36
Tabela 4 – Uso de diferentes métodos espectroscópicos para a determinação de resíduos de glifosato e respectivos limites de detecção e quantificação.	38
Tabela 5 – Uso de diferentes métodos eletroquímicos para a quantificação de resíduos de glifosato e respectivos limites de detecção e quantificação.	40
Tabela 6 – Reagentes utilizados e seus respectivos fornecedores.	43
Tabela 7 - Resumo das atribuições dos grupos funcionais observadas através dos espectros de FTIR de GLI, DOPA e DOPA-GLI	54
Tabela 8 – Uso métodos eletroquímicos para a quantificação de glifosato e respectivos limites de detecção e quantificação.	73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

α	Coeficiente de transferência de carga
v	Velocidade de varredura de potencial
ΔI	Diferença entre a corrente da linha base e da de pico no voltamograma
μA	Microampère
A	Ampère
A	Área do eletrodo
Ag AgCl Cl (sat.)	Eletrodo de referência de prata cloreto de prata
AMPA	ácido aminometilfosfônico
C_0^*	Concentração da espécie em solução
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLAE-EM/EM	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplado a espectrômetro de massa em modo tandem
CLAE-FN-APCI-EM/EM	Cromatografia líquida de fase normal com ionização química a pressão atmosférica acoplado a espectrômetro de massa em modo tandem
CV	Carbono vítreo
CVNTC	Carbono vítreo modificado com nanotubo de carbono de paredes múltiplas
D_0	Coeficiente de difusão
DOPA	Dopamina
DrTGA	Derivada térmica diferencial
E	Potencial padrão
EDX	Espectroscopia por dispersão de raios X
ELL	Extração líquido-líquido
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
EFS	Extração em fase sólida
E_{pa}	Potencial de pico anódico
E_{pc}	Potencial de pico catódico

EPSPS	5-enolpiruvatoshikimato-3-fosfato sintase
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy (Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier)
GLI	Glifosato
LD	Limite de detecção
LD ₅₀	Dose letal mediana 50%
LQ	Limite de quantificação
I_{p_a}	Corrente de pico anódica
I_{p_c}	Corrente de pico catódico
MEFS	Microextração em fase sólida
MEFS-HD	Microextração em fase sólida headspace
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MRL	<i>Maximum Residue Level</i> - limite máximo de resíduos
n	número de elétrons
NTC	Nanotubo de carbono de paredes múltiplas
SK	Simonkolleite
SK-0,1% Ag	Simonkolleite contendo 0,1% de prata
SK-1% Ag	Simonkolleite contendo 1% de prata
UV-vis	Ultravioleta-visível
VC	Voltametria Cíclica
VPD	Voltametria de Pulso Diferencial

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	15
2.	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	Agrotóxicos.....	16
2.2	Glifosato.....	22
2.3	Glifosato, riscos à saúde e efeitos ambientais.....	27
2.4	Glifosato, limitações e legislação	30
2.5	Metodologias utilizadas na determinação e quantificação de glifosato.....	33
2.5.1	Métodos cromatográficos.....	34
2.5.2	Métodos espectroscópicos.....	36
2.5.3	Métodos eletroquímicos	38
2.6	Justificativa do trabalho	41
3.	OBJETIVO	42
3.1	Objetivos geral	42
3.2	Objetivos específicos	42
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
4.1	Reagentes e soluções	43
4.2	Estudos eletroquímicos	44
4.2.1	Procedimento de limpeza do eletrodo de carbono vítreo.....	45
4.2.2	Modificação do eletrodo de CV com NTC	45
4.2.3	Estudos de interferência	46
4.2.4	Avaliação em amostra real.....	46
4.3	Uso de técnicas espectroscópicas para caracterização, avaliação de interação e validação	47

4.3.1	Espectroscopia no UV/visível.....	47
4.3.2	Espectroscopia de infravermelho FTIR	48
4.4	Limite de detecção e quantificação.....	48
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1	Sensor eletroquímico para glifosato.....	49
5.1.1	Estudo de interação química entre DOPA e GLI.....	49
5.1.2	Estudo de interação eletroquímica entre DOPA e GLI.....	54
5.1.3	Avaliação eletroquímica de parâmetros para o sensor baseado em DOPA 56	
5.1.4	Estratégias para aumento de sensibilidade do sistema.....	61
5.1.5	Avaliação do sensor eletroquímico para determinação de GLI.....	67
5.1.6	Validação do método	71
6.	CONCLUSÃO.....	74
7.	PERSPECTIVAS	76
8.	REFERÊNCIAS	77

1. INTRODUÇÃO

A expansão agroindustrial no Brasil nos últimos anos potencializou a produção de alimentos em larga escala através da utilização extensiva de agrotóxicos, se destacando a utilização do herbicida glifosato, devido a características como: baixo custo, alta eficiência e viabilidade em diferentes culturas. Entretanto, diversos estudos têm associado a utilização de glifosato a danos à saúde humana como potencial toxicológico a células, cromossomos e DNA, além de constituir risco à saúde dos animais e manutenção dos ecossistemas (BROVINI et al., 2021).

Visando a segurança dos consumidores, vários países têm desenvolvido legislações com determinações máximas de resíduos de glifosato que não causem danos à saúde dos consumidores, essas determinações são chamadas de limite máximo de resíduos (*Maximum Residue Level – MRL*) (LEONG et al., 2020). No Brasil, os valores de MRL para alimentos de origem vegetal podem variar de 0,01 a 10 ppm, a depender do tipo da cultura, em águas, este limite pode variar de 0,04 a 500 ppb, sendo 500 ppb o limite permitido em águas para consumo humano, este valor é 50.000 vezes superior ao permitido na União Europeia e é 1,4 vezes inferior ao permitido nos Estados Unidos (GERBREDERS et al., 2021).

O monitoramento do teor de glifosato é essencial para a proteção dos consumidores, dos ecossistemas e para viabilizar a exportação de produtos de origem vegetal para países com MRL mais rigorosos como a União Europeia. Podendo-se utilizar diversas metodologias para determinação deste composto, a mais utilizada é o uso de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrômetro de massas, esta técnica oferece sensibilidade e rapidez, no entanto, exige etapas como o preparo de amostras, o que encarece a análise, mão-de-obra qualificada, e não é indicada para análise de grande número de amostras (GOWD et al., 2018).

Sabendo que os métodos eletroquímicos apresentam sensibilidade, baixo custo, possibilidade de automação e análise *in situ*, é de fundamental importância o desenvolvimento de um método eletroquímico que possibilite análise em sistema simples e rápido, de modo a atender eficientemente às necessidades do mercado. Tornando-se a proposta deste trabalho, o desenvolvimento de um método eletroquímico não enzimático que facilite a determinação de glifosato em amostras ambientais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Agrotóxicos

O aumento populacional exponencial constitui uma preocupação para o setor alimentício que precisa fornecer alimentos para suprir esta demanda. A projeção de aumento da produção de alimentos necessária para atender a próxima década é pautada em 15%, atingindo 50% em 2050 (LYKOGIANNI et al., 2021). Estima-se que a população mundial atinja cerca de 11 bilhões de pessoas em 2100, sendo fundamental o uso de estratégias que possibilitem aumentar a produção e proteger as culturas de pragas, o que abriu espaço para a larga utilização de agrotóxicos, pautada na produção extensiva de monoculturas e na obtenção de rápidos resultados (PALANISWAMY et al., 2021).

Os agrotóxicos, também chamados de pesticidas ou agroquímicos, incluem um grupo com mais de 1000 substâncias químicas que atuam em diferentes alvos podendo ser chamados de inseticidas, herbicidas e fungicidas (PALANISWAMY et al., 2021). Dependendo do mecanismo de ação e da estrutura destes compostos, podem ser classificados em diversos grupos, os mais comuns são: organofosforados, organoclorados, carbamatos, piretroides e neonicotônóides (ALOIZOU et al., 2020).

A indústria agroquímica é responsável por elevada demanda econômica, com mais de 600 unidades em todo o mundo, ela foi estimada em U\$\$ 50 bilhões em 2018, neste cenário, se destacam os herbicidas com vendas superiores aos inseticidas e fungicidas (LYKOGIANNI et al., 2021). O uso de pesticidas nos EUA está associado a economia de \$ 40 bilhões por ano, em perdas devido a ação de diversas pragas (LYKOGIANNI et al., 2021). O Brasil é atualmente um dos quatro maiores consumidores de pesticidas do mundo, junto aos Estados Unidos (EUA), China e a União Europeia (UE) (PAUMGARTTEN, 2020). Cerca de 90% dos agricultores brasileiros dependem do uso de agrotóxicos em suas lavouras para garantir a produção, representando 20% do consumo global (BROVINI et al., 2021).

As características ambientais brasileiras possibilitam a extensa produção agrícola no país, sendo o segundo maior exportador do mundo, se consolidando como um dos principais exportadores agropecuários, incluindo ampla produção de carne bovina, aves, suínos, cereais, arroz e frutas, também é o maior exportador de suco de laranja, café, açúcar, soja e milho

(BRAGA et al., 2020; DONLEY, 2019; PAUMGARTTEN, 2020). A alta demanda por produção alimentícia potencializou a utilização de agrotóxicos nas lavouras brasileiras, devido a sua eficiência, baixo custo e legislação permissiva (BROVINI et al., 2021).

Estima-se que o uso de agrotóxicos por área de cultivo no Brasil seja de 5,94 kg/hectare, utilização inferior apenas a da China (13,07 kg/hectare) e superior a outros países com área de cultivo similar como os EUA (2,54 kg/hectare), a Rússia (0,62 kg/hectare) e a Índia (0,34 kg/hectare). Com destaque para as três *commodities* com maiores safras brasileiras: a soja com consumo médio de pesticidas de 17,7 L por hectare, o milho (consumo 7,4 L/hectare) e o açúcar (cana-de-açúcar consumo de 4,8 L/hectare) (BROVINI et al., 2021; COELHO et al., 2019).

Na Tabela 1 pode-se observar o total de vendas de agrotóxicos e afins no Brasil por estados da federação e regiões (2020), onde se destacam os estados da região Centro-oeste com um total superior a 214 mil toneladas de ingredientes ativo, essa região corresponde a maior área agrícola do Brasil nas últimas décadas, e os estados das regiões Sul (>154 mil) e Sudeste (>143 mil) que também constituem importantes centros de consumo; as regiões Norte e Nordeste apresentam menor venda e consumo, devido a várias limitações como condições climáticas e falta de infraestrutura, deste modo observa-se a predominância da utilização desses compostos nos estados de Mato Grosso, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul, Goiás e Minas Gerais, os quais apresentam elevadas produções agrícolas de culturas como soja, milho, algodão e a cana-de-açúcar (BROVINI et al., 2021).

Tabela 1 - Total de vendas de Agrotóxicos e afins nas regiões e estados brasileiros 2020.

Região/Estado (UF)	Vendas - 2020
Norte	34.511,30
AC	921,28
AM	181,03
AP	98,97
PA	12.578,75
RO	8.672,35
RR	587,22
TO	11.471,69
Centro-Oeste	237.144,49
DF	1.036,21
GO	58.213,76
MS	44.603,86
MT	133.290,66
Nordeste	64.086,57
AL	1.759,82
BA	34.940,63
CE	1.151,96
MA	11.465,30
PB	1.250,57
PI	4.472,41
RN	586,61
SE	1.353,91
Sudeste	143.655,39
ES	4.261,25
MG	50.201,78
RJ	247,88
SP	88.954,49
Sul	154.552,12
PR	71.025,28
RS	69.744,38
SC	13.782,45
Sem definição (*)	51.785,82
Total	685.745,68

(*) Sem definição: corresponde ao somatório das quantidades comercializadas de agrotóxicos e afins cujas empresas titulares dos registros não conhecem com precisão a distribuição territorial das vendas, por ser uma atividade realizada por terceiros.

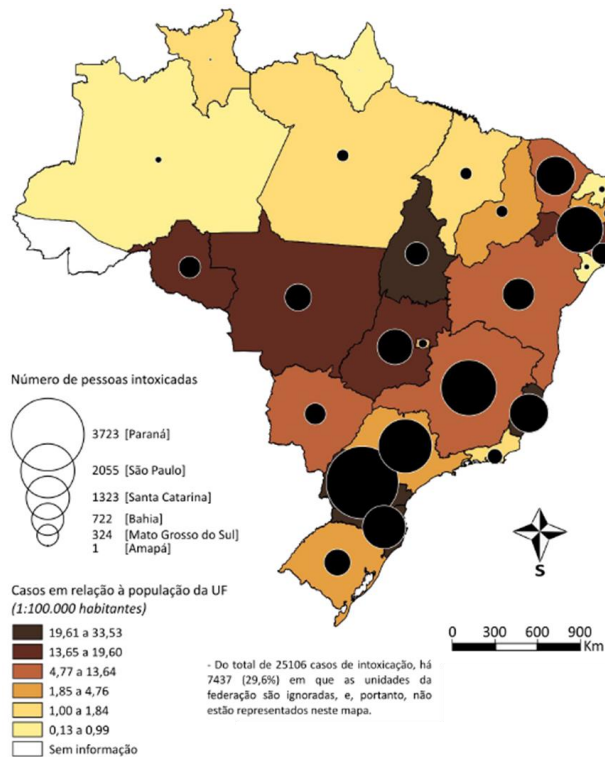
Unidade de medida = tonelada de ingrediente ativo (IA).

Fonte: BRASIL, (2021). Consolidação de dados fornecidos pelas empresas registrantes de produtos técnicos, agrotóxicos e afins, conforme art. 41 do Decreto n° 4.074/2002.

Estima-se que a utilização de agrotóxicos promova a morte de 150 000 pessoas por ano por envenenamento no mundo, ocorrendo geralmente em países rurais de baixa e média renda, onde a utilização desses produtos é de acesso a pequenos produtores (EDDLESTON, 2020). No Brasil, a notificação de intoxicação por agrotóxicos tornou-se compulsória em todos os serviços de saúde, através da Portaria nº 204 do Ministério da Saúde de 17 de fevereiro de 2016. Ocorrendo um aumento significativo de notificações possivelmente devido as melhorias na identificação, diagnóstico e notificação dos casos, além do aumento da comercialização dessas substâncias (MINISTÉRIO DA SAÚDE; TRABALHADOR., 2018).

No mapa da Figura 1, observa-se a estimativa de casos de intoxicação por agrotóxicos de uso agrícola no Brasil por estados da federação, os dados são referentes aos anos de 2012 a 2014, a maioria dos estados apresenta índice de intoxicação compatível com a quantidade de agrotóxicos utilizada (Tabela 1), entretanto, alguns estados com menor taxa de comercialização apresentam elevada quantidade de pessoas intoxicadas como Santa Catarina, Rio de Janeiro e Pernambuco, o que pode indicar manejo inadequado de agrotóxicos, sendo importante ressaltar que estes locais podem apresentar melhor sistema de notificação e diagnóstico em relação as demais localidades (BOMBARDI, 2017; MINISTÉRIO DA SAÚDE; TRABALHADOR., 2018).

Figura 1 - Quantidade de intoxicações por agrotóxicos de uso agrícola no Brasil por unidades da federação de 2012 a 2014.



Fonte: Adaptado de BOMBARDI, 2017.

Estima-se que apenas 5% do conteúdo total de agrotóxicos aplicados atingem seus organismos alvos, enquanto os 95% restante constituem um problema ambiental, atingindo o solo e recursos hídricos; a remediação de agrotóxicos por vias químicas e físicas é desencorajada devido a sua insustentabilidade relativa à dificuldade de aplicação, alto custo e baixa segurança ambiental, alguns estudos utilizando biorremediação ainda estão sendo explorados, especialmente no que se refere a eficiência e aplicações práticas para produtos biológicos (SARKER et al., 2021).

A ampla utilização de agrotóxicos no Brasil tem preocupado ambientalistas e especialistas em saúde pública de todo o mundo, visto que diversos estudos têm associado o consumo destes produtos ao desenvolvimento de doenças como déficits neurológicos, diabetes, doenças respiratórias, câncer, morte fetal, aborto espontâneo e envenenamentos, além de causar diversos prejuízos aos ecossistemas como contaminação e comprometimento da polinização (COELHO et al., 2019; NARENDERAN; MEYYANATHAN; BABU, 2020).

Na contramão de vários países, o governo brasileiro flexibilizou a legislação afim de reduzir a burocracia na concessão de licenciamentos e registros de agrotóxicos no país, alcançando a marca recorde de 562 novas licenças de agroquímicos em 2021, em sua maioria herbicidas, seguidos de fungicidas e inseticidas (BRAGA et al., 2020; COELHO et al., 2019; PAULA SALATI, 2022). Cerca de 30% dos agrotóxicos recentemente aprovados no Brasil são constituídos de substâncias ativas não permitidas na União Europeia (BRAGA et al., 2020). Na Tabela 2 (a seguir), podemos observar os 10 ingredientes ativos de agrotóxicos mais vendidos no Brasil em 2020, onde é possível notar que o glifosato e seus sais representam comercialização significativamente superior aos demais, apresentando venda superior a 246 mil toneladas.

Tabela 2 - Os 10 ingredientes ativos mais vendidos no Brasil em 2020.

Ingrediente Ativo	Vendas (ton. IA)	Ranking
Glifosato e seus		
sais	246.017,51	1°
2,4-D	57.597,57	2°
Mancozebe	50.526,86	3°
Atrazina	33.321,11	4°
Acefato	29.982,50	5°
Clorotalonil	24.191,03	6°
Malationa	15.702,11	7°
Enxofre	11.390,90	8°
Imidacloprido	9.401,65	9°
Clorpirifós	8.864,88	10°

Unidade de medida = tonelada de ingrediente ativo (IA).

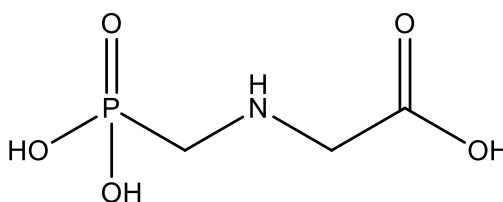
Fonte: BRASIL, (2021). Consolidação de dados fornecidos pelas empresas registrantes de produtos técnicos, agrotóxicos e afins, conforme art. 41 do Decreto n° 4.074/2002.

A ampla utilização de glifosato no país é justificada pela sua alta eficiência e baixo custo, é extensamente aplicado nas plantações de soja, entretanto, sua utilização está associada a diversos danos toxicológicos à saúde das pessoas apresentando risco de dano potencial a células humanas, cromossomos e ao DNA, também constitui uma ameaça a saúde dos animais e aos ecossistemas, tornando-se um dos agrotóxicos mais estudados no mundo (BOMBARDI, 2017; BROVINI et al., 2021).

2.2 Glifosato

O glifosato (*N* - fosfometil glicina) é um derivado fosfometil do aminoácido glicina de fórmula molecular $C_3H_8NO_5P$ (Figura 2), também pode ser encontrado na forma de sal de isopropilamônio quando acrescido do grupo $(CH_3)_2CHNH_3^+$, ele apresenta alta solubilidade em água (12 g/L a 25°C) e alta estabilidade na presença de luz inclusive em temperaturas superiores a 60 °C (AMARANTE JUNIOR et al., 2002).

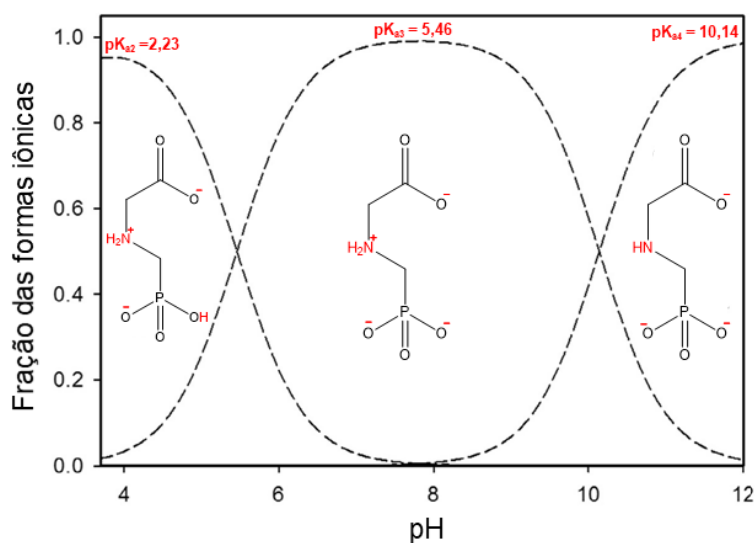
Figura 2 - Estrutura química do glifosato



Fonte: Autora, 2022.

Trata-se de um composto anfótero que apresenta um grupo amino básico no centro da molécula, e em suas extremidades sítios ácidos bibásicos fosfônicos e monobásico-carboxílico, o glifosato apresenta 4 valores de pKa ($pK_{a1} = 0,8$; $pK_{a2} = 2,23$; $pK_{a3} = 5,46$; $pK_{a4} = 10,14$), apresentando os grupos fosfato e carboxílico maior caráter ácido que o grupo amônio, pode-se observar na Figura 3 as espécies mais comuns de glifosato encontradas de acordo com o pH do meio (AMARANTE JUNIOR et al., 2002; CASTILHOS et al., 2020; GANDHI et al., 2021; PADILLA; SELIM, 2020).

Figura 3 - Frações das formas iônicas do glifosato mais comuns de acordo com o pH



Fonte: Adaptado de PADILLA; SELIM, 2020.

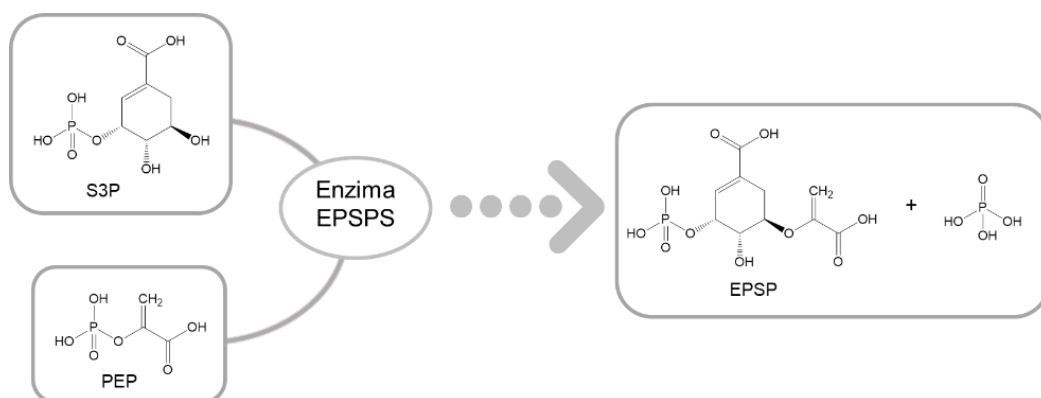
Devido à ligação carbono – fósforo estável, o glifosato apresenta resistência à hidrólise química, decomposição térmica e à fotólise, sua estrutura linear em oposição às estruturas aromáticas da maioria dos herbicidas demonstra menor estabilidade, o que justifica sua menor persistência no meio ambiente (CASTILHOS et al., 2020; HELDT; PIECHULLA, 2021). Sua concentração nas formulações comerciais pode variar de 0,96 a 94% em massa, sendo encontrado na forma de sal solúvel em soluções líquidas e em formato granular junto a aditivos, surfactantes e outros ingredientes inertes (GANDHI et al., 2021).

Comercializado pela primeira vez pela Monsanto na década de 70 (Roundup®), o glifosato logo se destacou no mercado de pesticidas, devido a sua alta eficiência, consolidando-se no mercado como a preferência de muitos agricultores, sendo utilizado no controle de plantas daninhas anuais e perenes em diversas culturas, dentre elas: arroz, cana-de-açúcar, café, citros, maçã, milho, pastagens, soja, fumo, uva, ameixa, banana, cacau, nectarina, pera, pêssego, seringueira e algodão (AMARANTE JUNIOR et al., 2002; GANDHI et al., 2021).

O glifosato é um herbicida de amplo espectro, não seletivo, com aplicação pós-emergência (após a emergência de plantas daninhas e antes da interferência destas no desenvolvimento da cultura), seu mecanismo de ação envolve sua ligação à enzima 5-

enolpiruvatoshikimato-3-fosfato sintase (EPSPS), inibindo sua função, a EPSPS é uma enzima chave na via Chiquimato, atuando no processo catalítico de transferência de enolpiruvil fosfoenolpiruvato (PEP) para 5-hidroxil shikimato-3-fosfato (S3P), produzindo 5-enolpiruvil shikimato 3-fosfato (EPSP) e fosfato inorgânico, conforme Figura 4 (ECK, 2012).

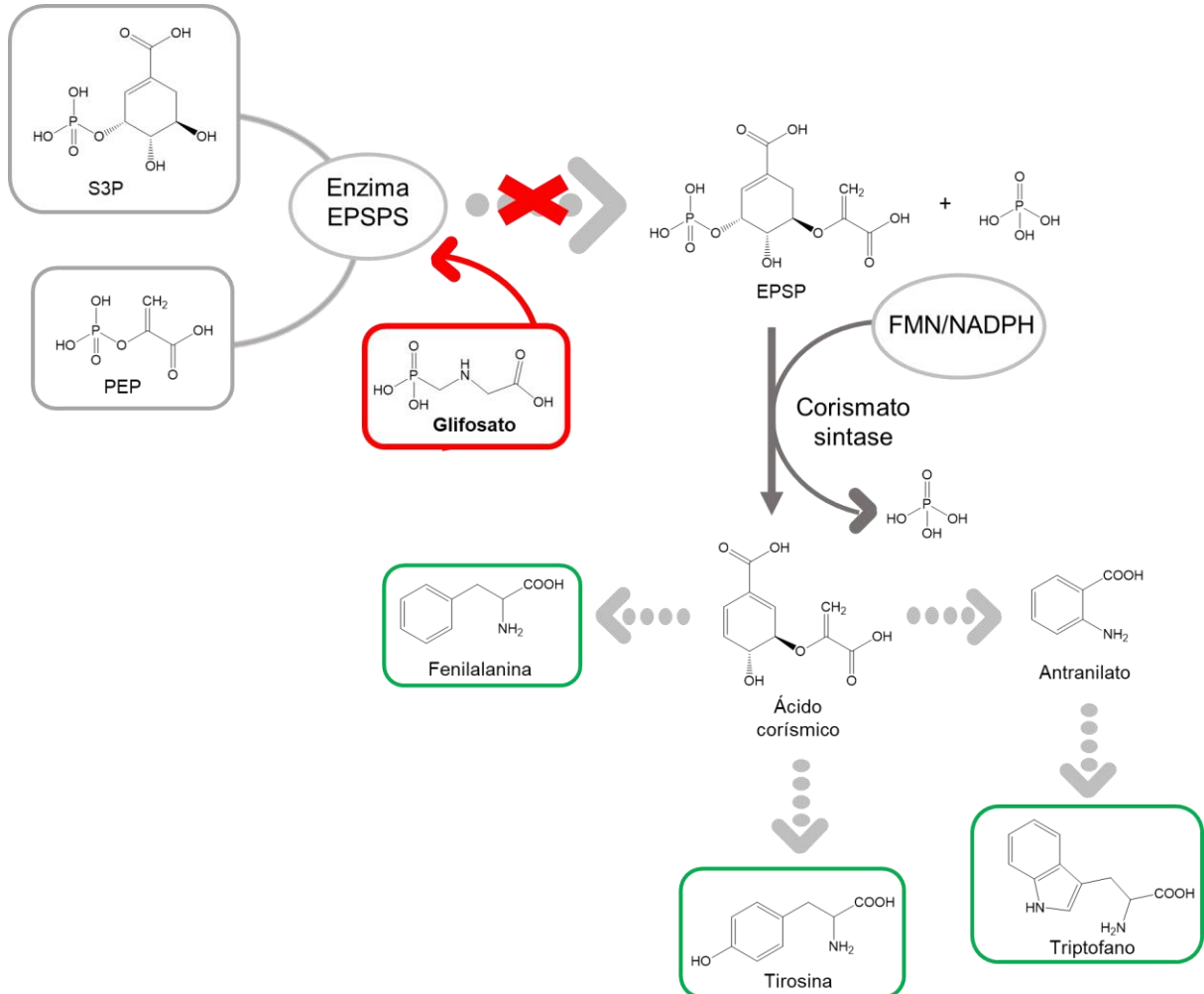
Figura 4 - Fluxograma de ação da enzima EPSPS.



Fonte: Adaptado de ECK, 2012.

A enzima EPSPS atua em algumas bactérias, alguns fungos e em todos os vegetais agindo na síntese de aminoácidos aromáticos que são componentes essenciais na síntese de proteínas, como fenilamina, tirosina e triptofano (Figura 5); com a rota sintética de proteínas inibidas pela ação do glifosato, o desenvolvimento do vegetal é comprometido, ocorrendo desordem celular que leva à morte da planta (GANDHI et al., 2021).

Figura 5 - Via Chiquimato biosintética de aminoácidos aromáticos e sua inibição pelo glifosato.



Fonte: Adaptado de ECK, 2012.

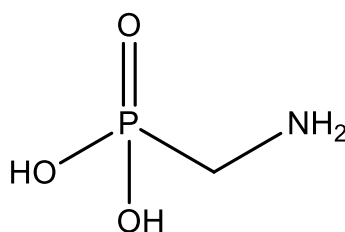
Como o glifosato é um herbicida de amplo espectro, para que a cultura não seja atingida pela sua utilização, é necessário o uso de espécies geneticamente modificadas, resistentes através de mecanismos como: a introdução da enzima EPSPS tolerante ao glifosato e/ou uso de enzima inativadora do glifosato (glifosato oxidoreductase - GOX); tais tecnologias permitem a utilização do glifosato após o surgimento das pragas daninhas resultando em pouco ou nenhum dano à cultura (ECK, 2012). Entretanto, as culturas tolerantes ao glifosato não são capazes de excretá-lo ou metabolizá-lo, contribuindo para o seu acúmulo durante o crescimento vegetal e

permanência após a colheita, constituindo uma porta de entrada deste composto através da alimentação (MESNAGE et al., 2015).

No solo, o glifosato apresenta diferentes valores de meia-vida podendo variar de 4 a 835 dias a depender de fatores como: a afinidade do solo à essa substância e a presença de microrganismos que promovem sua degradação (PADILLA; SELIM, 2020). A degradação biológica ocorre por duas vias metabólicas, que resultam na produção do ácido aminometilfosfônico (AMPA) e sarcosina (GANDHI et al., 2021).

O AMPA (Figura 6) apresenta características similares ao glifosato, entretanto é mais persistente que este, apresentando meia-vida de 119 a 985 dias, ele é considerado onipresente em solos que sofreram aplicação de glifosato, tornando-o seu principal metabolito, sendo juntamente ao glifosato as principais substâncias residuais do uso desse herbicida especialmente em vegetais e águas contaminadas (FENG; SORIC; BOUTIN, 2020). Estima-se que o AMPA apresente potencial ainda mais tóxico que o glifosato, sendo relatadas altas concentrações de glifosato em AMPA como resíduos em alimentos como a soja, de 0,18 a 7,2 mg kg⁻¹ (GERBREDERS et al., 2021).

Figura 6 - Estrutura química do AMPA.



Fonte: Autora, 2022.

Importante ressaltar que os resíduos de glifosato e AMPA não são eliminados durante o processamento e cozimento dos alimentos (ZHANG et al., 2019a). O uso intensivo e em larga escala de glifosato, resultando no acúmulo dele e AMPA no meio ambiente e em produtos comestíveis desperta preocupações a respeito de efeitos colaterais associados ao consumo dessas substâncias, além dos impactos a qualidade da água, solo, demais ecossistemas e a saúde dos animais, tornando de fundamental importância a avaliação a respeito dos danos associados ao uso desse herbicida (VAN BRUGGEN et al., 2018).

2.3 Glifosato, riscos à saúde e efeitos ambientais

A utilização de glifosato pode promover desequilíbrio em vários níveis nos ecossistemas; no solo, ele é capaz de formar complexos com alguns íons metálicos, resultando em menor suprimento de nutrientes; também pode ser utilizado por algumas espécies de microrganismos como fonte nutricional, promovendo aumento populacional de determinadas espécies e gerando desequilíbrios na comunidade, tais espécies em superpopulação desencadeiam danos a saúde dos vegetais, a presença de glifosato também têm sido capaz de desenvolver danos as células e ao DNA de minhocas, alterando o crescimento destes animais (GANDHI et al., 2021).

Inicialmente acreditava-se que devido a forte afinidade do glifosato ao solo, ele permaneceria imóvel, entretanto, já foram encontrados resíduos de glifosato em águas subterrâneas de diferentes profundidades (<4 m a >8 m), evidenciando o escoamento dessa substância e a contaminação para ambientes aquáticos (PADILLA; SELIM, 2020). A permanência e a degradação do glifosato no solo dependem fortemente de fatores como o pH e a arenosidade do solo, devendo-se também considerar a contribuição de chuvas e erosão (PADILLA; SELIM, 2020; VAN BRUGGEN et al., 2018).

Em ecossistemas aquáticos a presença de glifosato prejudica a fotossíntese das algas, atua como desregulador endócrino em microcrustáceos, altera o sistema antioxidante de peixes, induz o crescimento de picocianobacterias, além de se tornar mais uma fonte de fósforo, potencializando a eutrofização de espécies resistentes (BROVINI et al., 2021). Impactos negativos da utilização de glifosato comercial já foram relatados em diversos animais aquáticos, incluindo protozoários, mexilhões, crustáceos, rãs e peixes, através da geração de espécies reativas de oxigênio e promovendo danos ao desenvolvimento dos animais, além de desencadear desequilíbrio entre hospedeiros, patógenos e parasitas, resultando em desequilíbrio em comunidades aquáticas (VAN BRUGGEN et al., 2018).

O glifosato é utilizado nas culturas com o objetivo de inibir os danos causados por ervas daninhas às culturas, entretanto, as ervas daninhas funcionam como alimento para diversos animais como abelhas e pássaros que são responsáveis pela polinização de diversas espécies, causando danos a fauna e flora (GANDHI et al., 2021).

Este composto é tóxico para espécies de monocotiledôneas como gramas, coqueiros e bananeiras e dicotiledôneas como algodão, soja e café; e se acumula em toda a planta, inclusive em sementes e raízes, mesmo em concentrações subletais, glifosato e AMPA são capazes de promover a inibição de enzimas antioxidantes – ocorrendo acúmulo de espécies reativas de oxigênio, disfunção fisiológica e dano celular (VAN BRUGGEN et al., 2018).

Glifosato e AMPA também diminuem a fotossíntese por degradação da clorofila e via perturbação da biossíntese da clorofila resultando em necrose da folhagem, além de inviabilizar a via Chiquimato, os efeitos da aplicação deste herbicida em vegetais também interrompe a síntese de compostos aromáticos secundários, como fitoalexinas antimicrobianas, que são capazes de defender as plantas de patógenos, ocorrendo morte por infecção (VAN BRUGGEN et al., 2018).

A utilização em larga escala resultou em algumas espécies de ervas daninhas resistentes ao glifosato, tendo ocorrido adaptações nestes vegetais conferidas através de mecanismos como translocação de genes transportadores modificados, mutações de ponto único do local alvo, expressão alvo aumentada ou desintoxicação do herbicida (VAN BRUGGEN et al., 2018). Para contornar este problema, agricultores recorrem a utilização de dosagens mais altas, maior frequência de aplicação, e a utilização de glifosato em paralelo a outros herbicidas como o 2,4-D, no entanto, estima-se que novas adaptações possam ser observadas em plantas daninhas no futuro, além de novos efeitos indesejados ao ambiente (VAN BRUGGEN et al., 2018).

A ausência da enzima EPSPS (via Chiquimato) em humanos e demais animais, sustentou por muitos anos que o glifosato seria inofensivo à saúde, entretanto, em 2015, pesquisas realizadas pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (*International Agency for Research on Cancer - IARC*) demonstraram o seu potencial carcinogênico em animais, a agência ressalta que ainda não há evidências concretas da carcinogenicidade do glifosato em humanos, classificando-o como provavelmente carcinogênico para humanos (Grupo 2A) (CASTILHOS et al., 2020).

A toxicidade oral aguda do glifosato para mamíferos é considerada baixa, apresentando dose letal mediana (LD₅₀) de 800 a >5000 mg kg⁻¹ por peso corporal para diferentes espécies de animais – essa dose é calculada avaliando-se a quantidade necessária da substância para

letalidade de 50% de uma população teste –, dados como esses justificam sua classificação de baixo nível toxicológico pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BROVINI et al., 2021; VAN BRUGGEN et al., 2018). Entretanto, diversos estudos indicam o risco associado a exposição de glifosato a longo prazo, mesmo em concentrações baixas (níveis mais baixos que os necessários para efeitos herbicidas), causando efeitos carcinogênicos, genotóxicos, distúrbios endócrinos e de infertilidade (GERBREDERS et al., 2021).

A toxicidade do glifosato pode ainda ser potencializada devido a sua comercialização envolvendo adjuvantes e surfactantes como aminas, alquilpoliglicosídeos e derivados do petróleo com potencial tóxico, que influenciam sua distribuição ambiental e promovem efeitos de misturas imprevisíveis (LEMKE et al., 2021). Outro problema envolvendo surfactantes utilizados em formulações comerciais é que estes podem facilitar a entrada e movimentação do glifosato através da epiderme humana, e dentro do corpo, através das membranas celulares, aumentando o quantitativo de espécies que atingem o interior das células, promovendo danos diretos ao DNA, estresse oxidativo e mecanismos de genotoxicidade, associados ao desenvolvimento de células cancerígenas (BENBROOK, 2020).

Estudos comparativos de toxicidade em células humanas *in vitro* utilizando glifosato e os produtos comerciais: Roundup400® e Roundup450®, demonstraram que a forma comercial apresentou maior toxicidade $0,001 \text{ g L}^{-1}$, enquanto a toxicidade associada ao uso de glifosato de grau técnico (livre de adjuvantes e demais componentes) foi de 2 g L^{-1} , um aumento de 2000 vezes devido a presença de surfactantes e adjuvantes (GERBREDERS et al., 2021).

Avaliações realizadas por CAMACHO; MEJÍA, (2017) associam a aplicação pulverizada de glifosato em fazendas de coca na Colômbia a prejuízos a população rural em curto prazo como doenças dermatológicas, respiratórias e aumento no número de casos de aborto espontâneo. Danos cromossômicos e ao DNA também foram associados a ação de glifosato em camundongos, além de disfunção endócrina e citotoxicidade em fígado, placenta e linhas celulares embrionárias humanas; estudos utilizando AMPA em concentrações de $0,25$ a $2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (*in vitro*) relatam o aumento de espécies reativas de oxigênio em eritrócitos humanos; com efeitos mutagênicos em linfócitos; danos ao DNA, às células epiteliais e à membrana celular (SILVER et al., 2021).

Tanto AMPA como glifosato diminuíram a atividade da acetilcolinesterase em culturas de eritrócitos – a redução da atividade da acetilcolinesterase impede o término da transmissão sináptica – perturbando a neurotransmissão normal e comprometendo o equilíbrio entre a proliferação celular e a morte programada, também foram encontradas correlações da ação de glifosato ao desenvolvimento de condições mentais como casos de depressão, ansiedade, distúrbios neurais, redução da sensibilidade do tato, reflexos anormais, disfunção psicomotora, além de doenças neurodegenerativas como Parkinson e Alzheimer (CAMACHO; MEJÍA, 2017; VAN BRUGGEN et al., 2018).

Resíduos de glifosato e AMPA através de água e produtos vegetais são facilmente absorvidos por animais e humanos atingindo não só agricultores, mas também o público em geral – cerca de 60 a 80% da população dos EUA e 44% da Europa –, encontrando-se resíduos em amostras de urina humana em concentrações relevantes, em indivíduos nos EUA a média foi de 2-3 ppb, na Europa a média foi < 1 ppb e o máximo encontrado foi de 5 ppb (VAN BRUGGEN et al., 2018). Devido às evidências dos possíveis danos associados à exposição de glifosato e seu metabólito à saúde das pessoas e ao meio ambiente, se fez necessário avaliação de sua utilização e o estabelecimento de limites que possam reduzir ou minimizar os impactos causados por sua utilização.

2.4 Glifosato, limitações e legislação

Apesar de diversas evidências científicas em todo o mundo demonstrarem os possíveis riscos provocados à saúde das pessoas e dos animais pela exposição ao glifosato e ao AMPA, avaliações realizadas por várias agências reguladoras a exemplo da ANVISA e da Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA) concluíram que os resíduos de glifosato não apresentam riscos oncogênicos, tais conclusões podem estar associadas às análises conduzidas pelo registrante, concluindo que o subconjunto de aumentos de tumor em animais eram referentes a associações devido ao acaso, outro fator relevante se refere a estudos utilizando glifosato de grau técnico e não formulações comerciais como o Roundup®, além de fatores como: concentrações baixas de resíduos de glifosato em alimentos, dose crônica de referência alta e níveis altos de glifosato na alimentação de animais em bioensaios de câncer em roedores (BENBROOK, 2020; PORTIER, 2020).

Após avaliação e conclusão de que o glifosato não apresenta características mutagênicas, carcinogênicas e não é um desregulador endócrino, a ANVISA publicou em 02 dezembro de 2020, a resolução RDC nº 441, a qual dispõe sobre a manutenção da utilização de glifosato em agrotóxicos no país, entretanto, estabeleceu compulsoriamente a utilização de tecnologia que promova redução de 50% da deriva para doses acima de 1.800 g/ha – a deriva se refere a dispersão das gotas do produto para fora da lavoura no momento da aplicação (MINISTÉRIO DA SAÚDE; AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2020).

O glifosato está atualmente aprovado para comercialização e utilização na União Europeia, essa autorização expira no dia 15 de dezembro de 2022, sendo exigidos novos relatórios avaliativos para manutenção de sua utilização, a serem realizados pela Agência Europeia de Produtos Químicos e pela Autoridade Europeia para Segurança dos Alimentos (EUROPEAN COMMISSION, 2021). Na Alemanha, o governo federal aprovou em fevereiro de 2021, restrições imediatas sobre o uso de produtos contendo glifosato, além de planejamento para eliminação progressiva do herbicida no país até 2023 (MINISTÉRIO FEDERAL ALEMÃO PARA O MEIO AMBIENTE, 2021). A França também apresentou um plano para redução gradual do uso de glifosato no país, se comprometeu a eliminar completamente a utilização do produto até 2022 (JACQUET et al., 2022).

O México também determinou a proibição do uso do glifosato no país a partir de janeiro de 2024, a decisão foi tomada de maneira unilateral, o que gerou diversas críticas associadas a perdas econômicas e as políticas governamentais para substituição do produto, entretanto, o governo mexicano permanece irredutível quanto a decisão (CRUZ et al., 2021).

Nos EUA, a EPA não encontrou nenhuma evidência de riscos associados ao uso de glifosato à humanos, deste modo a comercialização e utilização do produto continua em liberação, entretanto, após perdas judiciais e diversas reivindicações associando o glifosato à incidência de Linfoma Não Hodgkin (LNH), a Bayer® (Monsanto) anunciou que o herbicida não será mais comercializado para jardinagem no país a partir de 2023 (AGENCY, 2021; SUSTAINABLE PULSE, 2021).

Visando a proteção dos consumidores e a comercialização de produtos seguros a Comissão do Codex Alimentarius em conjunto com a Organização Mundial da Saúde (OMS) e a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (*Food and Agriculture Organization – FAO*) definiram termos da concentração máxima tolerada de resíduos de agrotóxicos em alimentos e em rações para animais e plantas, o chamado: limite máximo de resíduos (*Maximum Residue Level – MRL*), o qual é expresso usualmente em mg/kg, este valor é determinado baseado na avaliação quantitativa do ingrediente ativo residual em amostras de alimentos, considerando que o agrotóxico tenha sido utilizado com base nas recomendações do fabricante e de acordo com as boas práticas de fabricação agrícolas (LEONG et al., 2020).

O MRL se trata de um padrão comercial e não consiste necessariamente num nível de segurança toxicológica, visto que são definidos em concentrações muito mais baixas que os níveis que representariam risco à saúde dos consumidores com base na exposição estimada em curto e longo prazo aos consumidores, nos limites de ingestão diária aceitável, e dose aguda de referência, logo, produtos com concentrações acima do MRL não são sinônimos de efeitos adversos à saúde dos consumidores, entretanto, não devem ser comercializadas uma vez que não cumprem os requisitos legais e na maioria dos casos podem indicar deficiências no manejo e uso incorreto dos agrotóxicos (RUSCH; CAMERON; HOHGARDT, 2018).

A União Europeia apresenta um dos MRL mais exigentes do mundo, aplicando-se a concentração máxima permitida de 0,01 mg/kg para todos os tipos de agrotóxicos independente da matriz de avaliação, estrutura ou atividade biológica (RUSCH; CAMERON; HOHGARDT, 2018). Outros países definem os valores de MRL de acordo com o tipo de agrotóxico e a matriz de avaliação, as quais são usualmente classificadas em: águas; alimentos processados; alimentos de origem animal; cultivo; entre outros.

No Brasil, a ANVISA definiu que para cálculo do MRL glifosato deve ser somados os resíduos de glifosato e de AMPA e estabeleceu MRL para alguns alimentos de origem vegetal, os valores variam de 0,01 a 10 mg/kg, para as principais culturas tem-se: algodão 3 mg/kg; café 1 mg/kg; cana-de-açúcar - 1 mg/kg; milho - 1 mg/kg; soja - 10 mg/kg. No que se refere ao MRL glifosato permitido em águas, a classificação e determinação brasileira é realizada pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) através da resolução nº 396 de 3 de abril de 2008, a qual estabelece limites de acordo com a classificação de uso preponderante da água

em: consumo humano - 500 ppb; dessedentação de animais - 280 ppb; irrigação de 0,04 a 0,13 ppb, e recreação – 200 ppb (CONAMA, 2008). No que se refere a taxa tolerável na água potável, importante ressaltar que a diferença do exigido no Brasil para a União Europeia é de 50.000 vezes superior, nos EUA a tolerância é ainda superior – 700 mg/kg, ou seja, 1,4 vezes maior que o exigido no Brasil (GERBREDERS et al., 2021).

A ANVISA também definiu como nível aceitável de exposição ocupacional – quantidade máxima de uma substância ativa à qual o operador pode se expor sem qualquer efeito adverso à sua saúde – o valor de 0,1mg/kg de peso corpóreo por dia, também incluiu a dose de referência aguda de 0,5 mg/kg de peso corpóreo e valores de ingestão diária aceitável (IDA) de 0,5 mg/kg de peso corpóreo (MINISTÉRIO DA SAÚDE; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2020).

Dados os riscos da contaminação de resíduos de glifosato e AMPA à saúde dos consumidores e aos ecossistemas, é de fundamental importância o monitoramento destes resíduos para segurança, controle de qualidade e avaliação de sua persistência, tornando-se necessário a utilização de técnicas analíticas para determinação e quantificação sensível, confiável, que possam aliar baixo custo e alto desempenho.

2.5 Metodologias utilizadas na determinação e quantificação de glifosato

A determinação de resíduos de glifosato (glifosato/AMPA) constitui um desafio para a indústria química, especialmente para finalidades com grande volume de amostras como controle de qualidade e monitoramento ambiental, devido a fatores como: a utilização de diversas matrizes – como água; solo; alimentos; fluidos biológicos; formulações agrícolas –, a presença desses analitos em baixas concentrações, a complexidade de interações com componentes da matriz como metais; nutrientes; matéria orgânica, a dificuldade de análise simultânea com outros produtos utilizando o mesmo ensaio, além das características de sua natureza química como: caráter iônico; alta polaridade; difícil evaporação; baixa solubilidade em solventes orgânicos; comportamento de complexação; a ausência de grupos cromóforos e fluoróforos, tais fatores evidenciam a necessidade de técnicas versáteis, sensíveis e etapas como preparo de amostra, estas podem variar de acordo com a composição da amostra e a técnica utilizada na avaliação (MELLO; BALVEDI; GOULART, 2019).

Apesar dos entraves apresentados, diversas metodologias já foram propostas para análise de glifosato em diferentes matrizes, observando-se metodologias utilizando técnicas cromatográficas, espectroscópicas e eletroquímicas.

2.5.1 Métodos cromatográficos

A utilização de técnicas cromatográficas para determinação de agrotóxicos é comum, sendo as técnicas mais utilizadas no controle de qualidade e por instituições reguladoras governamentais. O uso de cromatografia promove a separação do analito dos demais componentes da amostra através da passagem do mesmo em fase móvel por uma fase estacionária imiscível, a técnica se baseia na interação entre os componentes da amostra com as fases utilizadas de acordo com sua natureza química e permite a utilização de diversos métodos de quantificação do eluato.

Visto que a análise cromatográfica pode ser influenciada por diversos fatores, geralmente essas técnicas são utilizadas aliadas a técnicas de preparo de amostras visando pré-concentração, homogeneização e extração, conferindo ao método obtenção de resultados precisos e sensíveis (LEONG et al., 2020).

No caso do glifosato, que não apresenta grupos cromóforos nem fluoróforos em sua estrutura, se destaca o uso da derivatização (pré e pós-coluna) que é amplamente empregada em separações por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE, bem como Cromatografia Líquida de Ultra-Alta Eficiência (CLUAE), sendo a pré-coluna mais utilizada visto que promove controle mais preciso do processo. Em determinações utilizando CLAE, a derivatização pode ser realizada com diferentes agentes a depender do método de detecção empregado, em detecções via espectrofotometria UV-vis já foram relatadas a utilização dos agentes: cloreto de p-toluenossulfonil, cloreto de o-nitrobenzenossulfonil e cloreto de 2,5-dimetoxilbenzenossulfonil, enquanto para métodos envolvendo detecção por espectrofotometria de fluorescência, os agentes utilizados podem ser cloroformato de 9-fluorenilmetil e o-ftaladéido (ARKAN; I. MOLNÁR-PERL, 2015; MELLO; BALVEDI; GOULART, 2019).

O principal método de detecção de glifosato associado a CLAE é a espectrometria de massa (EM), o método apresenta alta sensibilidade, requerendo extrações como tratamento de amostra, ao longo do tempo, aplicações de extração líquido-líquido (ELL) e extração em fase sólida (EFS) vêm sendo substituídas pelo método QuEChERS que fornece extração em

microescala, tornando o processo mais rápido, com menor uso de reagentes e etapas, além de fornecer alta recuperação (NARENDERAN; MEYYANATHAN; BABU, 2020). O uso de ionização por eletrospray e a combinação de EM-EM *em modo tandem* fornece melhores resultados de sensibilidade utilizando CLAE e CLUAE, reduzindo o sinal de ruídos (MELLO; BALVEDI; GOULART, 2019).

A derivatização também consiste numa peça-chave em separações utilizando cromatografia gasosa (CG), o uso de CG é menos frequente que a CLAE devido a necessidade de converter os resíduos de glifosato em derivados voláteis e termicamente estáveis, sendo necessário recorrer a esterificações e acilações, entre os reagentes utilizados para realizar a derivatização podemos citar o uso de: N-metil-N-terc-butildimetilsilicontrifluoroacetamida, dimetilformamida, anidrido trifluoroacético, 4,4,4-trifluoro-1-butanol, cloroformato de isopropila, diazometano, ácido trifluoroacético, anidrido trifluoroacético, anidrido propionico e metanol; como detectores podem ser empregados: fotometria de chama (CG-FDP), ionização de chama (CG-IDC), captura de elétrons (CG-DCE), detector de fósforo-nitrogênio (CG-DPN) e espectrometria de massas (CG-EM) (MELLO; BALVEDI; GOULART, 2019).

Em razão do glifosato ser um composto iônico ($pK_{a1} = 0,8$; $pK_{a2} = 2,23$; $pK_{a3} = 5,46$; $pK_{a4} = 10,14$) a cromatografia iônica (CI) também pode ser utilizada em sua determinação, a técnica se baseia na retenção de substâncias por atração eletrostática entre íons da amostra e sítios carregados na fase estacionária, este método é passível de interferentes em matrizes complexas como o solo, dada a presença de íons concorrentes e variações ambientais, o detector mais utilizado é o EM (MELLO; BALVEDI; GOULART, 2019; PADILLA; SELIM, 2020). Na Tabela 3 a seguir são mostrados alguns limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) obtidos por diferentes técnicas cromatográficas para determinação de glifosato em diferentes matrizes.

Tabela 3 – Uso de diferentes métodos cromatográficos para a quantificação de resíduos de glifosato e respectivos limites de detecção e quantificação.

Matriz	Resíduo	Preparo da amostra	Técnica	LD (ppb)	LQ (ppb)	Autor
Urina	Glifosato	Diluição isotópica	CI-EM	0,2	-	SCHÜTZE et al., (2021)
Soro humano	Glifosato/ AMPA	Complexação EDTA+ELL	CI-EM-EM	0,6/ 1,2	2,0/ 4,0	ZHANG et al., (2021)
Água/ Solo	Glifosato/ AMPA	EFS	CG-FDP	0,10/ 0,22	0,37 /0,81	ZHANG et al., (2019b)
Água	Glifosato/ AMPA	Complexação	CLAE- Fluorescencia	0,2/ 0,3	0,2/ 0,5	PIRES et al., (2020)
Urina	Glifosato/ AMPA	Derivatização	CLUAE-EM- EM	0,5/ 0,1	1,0/ 0,5	MARTIN-REINA et al., (2021)

Fonte: Autora, 2022.

Como podem ser observados na Tabela 3, a utilização de métodos cromatográficos possibilita resultados sensíveis, com LD e LQ compatíveis com as necessidades de monitoramento de glifosato no mercado, entretanto, a utilização destes métodos apresenta desvantagens consideráveis como: a realização do preparo de amostras, alto custo de instrumentação, mão-de-obra qualificada e não são indicados para análise de grande número de amostras.

2.5.2 Métodos espectroscópicos

As técnicas espectroscópicas relacionam a interação entre a matéria e a radiação eletromagnética, destacando-se métodos espectrofotométricos como absorção molecular no UV-vis e espectrofotometria de fluorescência devido a facilidade de execução, rapidez, menor robustez e custo, que os métodos cromatográficos, entretanto, estes métodos necessitam de reagentes que contenham grupos cromóforos e/ou fluoróforos, devido a ausência desses grupos em resíduos de glifosato, diversas metodologias têm-se utilizado de estratégias como: a derivatização, a formação de complexos com nanopartículas metálicas coloridas, uso de sondas de pontos quânticos (*quantum dots* - *QD*) e/ou pontos de carbono (*carbon dots* - *CD*) nos quais ocorre transferência de energia de ressonância de fluorescência, atuando como fluoróforos doadores (MELLO; BALVEDI; GOULART, 2019).

Outra metodologia alternativa utilizada na determinação de glifosato, é o uso da Espectroscopia Raman Aprimorada de Superfície (ERAS), a técnica é baseada na amplificação da resposta Raman com a adsorção do analito próxima a superfície de plasma de metais como Au, Ag e Cu, utilizando-se também da combinação da contribuição eletromagnética com a química do adsorbato sob o efeito da luz incidente, permitindo ampliar vibrações moleculares de um sistema de forma suficiente a detectar uma única molécula do sistema, apesar da técnica se mostrar promissora, sua utilização envolve alto custo e apresenta dificuldades como baixa homogeneidade e reprodutibilidade, tornando difícil sua utilização para monitoramento ambiental e controle de qualidade (LÓPEZ-CASTAÑOS et al., 2020).

Técnicas baseadas em ressonância também têm sido abordadas como promissoras para a determinação de glifosato, sendo relatado o uso de Ressonância Plasmônica de Superfície (RPS), nesta metodologia é possível o monitoramento do analito através de sua interação com ondas eletromagnéticas do plasma, o plasma de superfície é obtido por meio da interação de uma fonte eletromagnética com elétrons livres de um metal (geralmente Au) e meio dielétrico, dependendo fortemente do índice de refração e da ligação das moléculas na superfície do sensor, a principal desvantagem da técnica é seu alto custo e instrumentação robusta, instrumentações de baixo custo utilizando fibra ótica estão em desenvolvimento, possibilitando em futuro próximo a larga utilização da técnica inclusive em análises de campo (DO et al., 2020).

O uso de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) fornece informações sobre a estrutura molecular de compostos orgânicos, através da exploração das propriedades magnéticas de alguns núcleos atômicos, também é relatada em determinações de resíduos de glifosato, através da integração de ressonâncias de $\text{CH}_2 - \text{P}$, a técnica também é utilizada no estudo do mecanismo de resistência do glifosato em ervas daninhas *in vivo*, auxiliando na compreensão de alterações metabólicas promovidas pelo herbicida nas plantas, constituindo uma técnica rápida na detecção deste analito em fluidos complexos, entretanto, no caso de determinações analíticas uma limitação constitui a possibilidade de sobreposição dos picos de RMN, além do alto custo de manutenção do equipamento (ANDRÉ; GE, 2018; SHUMILINA et al., 2020). Alguns exemplos de métodos utilizando técnicas espectroscópicas para a determinação de glifosato podem ser observadas na Tabela 4, a seguir.

Tabela 4 – Uso de diferentes métodos espectroscópicos para a determinação de resíduos de glifosato e respectivos limites de detecção e quantificação.

Matriz	Resíduo	Preparo da amostra	Separação	Quantificação	LD ppb	LQ ppb	Autor
Solo	Glifosato	QD CdTe/Cds	Eletroforese capilar	Fluorescência	25,7x10 ⁴	77,1x10 ⁴	MUÑOZ et al., (2019)
Água	Glifosato	Complexação β-dicetonato-Európio-Ácido etilenodiaminotetracético	-	Fluorescência	60,87	84,50	JESUS et al., (2020)
Água	Glifosato	Complexação bis 5-fenildipirrinato de níquel (II)	-	Uv-vis	34,98	166,8	II et al., (2019)
Mel	Glifosato	Cloreto de hemina + Si (Ag (Si-AgNPs))	-	Raman (ERAS)	0,001	0,009	LÓPEZ-CASTAÑO S et al., (2020)
Água	Glifosato	Filme de quitosana dopado com nanocompositos de ZnO e óxido de grafeno	-	RPS	1,35	4,56	DO et al., (2020)
Trigo	Glifosato	integração do duplete dos grupos CH ₂ -P	-	¹ H-RMN	300	676	SHUMILIN A et al., (2020)

Fonte: Autora, 2022.

Os dados da Tabela 4 indicam que apesar das técnicas espectroscópicas possibilitarem a determinação de glifosato, estudos avaliando o seu principal derivado AMPA ainda são escassos, além disso, em comparativo as técnicas cromatográficas, por exemplo, a sensibilidade que a maioria das técnicas espectroscópicas conferem não é compatível com a necessidade de monitoramento de amostras ambientais e em demais matrizes, necessitando de mais avanços neste quesito para viabilização da utilização em larga escala.

2.5.3 Métodos eletroquímicos

As técnicas eletroquímicas são amplamente utilizadas em sistemas envolvendo sensores eletroquímicos, estes detectam o objeto de estudo através de interações entre a superfície do sensor (eletrodo principal ou de trabalho) e os analitos, convertendo a informação em sinais elétricos qualitativos e quantitativos, os quais são usualmente baseados em medições de amperometria, voltametria, potenciometria e condutometria (DHINAKARAN et al., 2020).

Sabe-se que o glifosato não apresenta grupos químicos capazes de sofrer redução ou oxidação em potenciais baixos (que possibilitem análise com eletrodos convencionais), deste

modo, diversos autores têm utilizado estratégias envolvendo detecção indireta. Uma delas é a utilização associada a polímeros impressos molecularmente (*Molecularly Imprinted Polymers* - *MIP*) via eletropolimerização, os MIPs possuem locais de impressão específicos que permitem combinar o analito em forma, tamanho e grupos funcionais, obtendo-se reconhecimento específico, entretanto, ainda apresentam alguns entraves quanto a sua utilização em larga escala como dificuldades na confecção em dispositivos comerciais de forma eficiente (ZHANG et al., 2017).

A detecção eletroquímica de glifosato também pode ser realizada utilizando elementos de reconhecimento biológico, obtendo-se biossensores, que conferem alta seletividade combinada a propriedades catalíticas, e traduzem o reconhecimento do analito por meio da formação de produtos na reação bioquímica, inibição via ação de agente que afete a atividade catalítica ou o desenvolvimento de reações imunológicas, para glifosato são relatadas a utilização das enzimas: peroxidase, urease, tirosina, e fosfatase ácida, sendo necessários cuidados como a utilização de potenciais moderados, além de contornar limitações devido ao tamanho das moléculas imobilizadas na superfície do eletrodo viabilizando a interação com o centro catalítico e a transferência de elétrons (ORTIZ-FRADE; TORRES; CAHUANTZIMUN, 2019; ZAMBRANO-INTRIAGO et al., 2021).

Algumas metodologias para determinação de glifosato se baseiam na característica de coordenação por complexação com íons metálicos em estados de oxidação específicos, os íons das espécies ativas podem ser gerados em potenciais receptivos para transferência heterogênea de carga de elétrons na superfície do eletrodo, viabilizando a interação com a matriz de avaliação contendo glifosato, entre os metais podemos citar, os de uso mais frequente: cobre e níquel (ZAMBRANO-INTRIAGO et al., 2021). Alguns exemplos de técnicas eletroquímicas utilizadas para determinação do glifosato podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5 – Uso de diferentes métodos eletroquímicos para a quantificação de resíduos de glifosato e respectivos limites de detecção e quantificação.

Matriz	Resíduo	Eletrodo	Sonda	Técnica	LD (ppb)	LQ (ppb)	Autor
Água/ Pepino	Glifosato	Ouro + PIM - Polipirrol	$K_3[Fe(CN)_6]$	VPD*	0,27	-	ZHANG et al., (2017)
Água/ Solo	Glifosato	Carbono serigrafado + NP Ag + com óxido de grafeno	Enzima fosfatase ácida	CronA*	15	45	BUTMEE et al., (2021)
Água/ Suco de laranja	Glifosato	Pasta de carbono (Biochar)	CuHPc*	VOQ*	3,38	-	WONG et al., (2021)
Cerveja	Glifosato	Carbono	MBs* + Gli- HRP*	CronA*	0,005	0,030	BETTAZZI et al., (2018)
Água/ Solo	Glifosato	Gráfito (Lápis)	Fibra oca + MWCNTs*+ LI*+CuO	VPD*	0,21	0,73	GHOLIVAN D; AKBARI; NOROUZI, (2018)

*CronA – Cronoamperometria

*CuHPc – Cobre (II) 1,2,3,4,8,9,10,11,15,16,17,18,22,23,24,25-hexadecafluoro-29H,31 ftalocianina

*CuO – Nanopartículas de óxido de cobre

*Gli-HRO – Glifosato conjugado com peroxidase de rábano

*LI – Líquido iônico 1-butyl-3-metil imidazólio hexafluoro fosfato ([bmin] [PF₆]))

*MBs – Esferas magnéticas modificadas com IgG anti-glifosato

MWCNTS – Nanotubos de paredes múltiplas

*VPD – Voltametria de Pulso Diferencial

*VOQ – Voltametria de Onda Quadrada

Fonte: Autora, 2022.

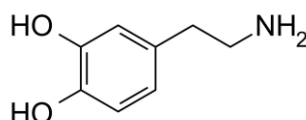
Através dos dados expressos na Tabela 5, é possível verificar que os métodos eletroquímicos apresentam sensibilidade compatível com as necessidades do mercado de verificação dos níveis de glifosato e controle de qualidade, entretanto, apresentam alguns obstáculos para sua utilização de forma ampla, como a complexidade de produção dos eletrodos e possibilidade de interações complexas de glifosato com componentes da matriz, além da ausência de métodos que possibilitem a detecção de glifosato em paralelo ao AMPA, deste modo, visto as vantagens da utilização de métodos eletroquímicos como baixo custo, rapidez, sensibilidade, possibilidade de miniaturização e portabilidade, ainda há espaço para desenvolvimento de novos métodos eletroquímicos para determinação de resíduos de glifosato que atendam de maneira eficiente as necessidades do mercado, tratando-se da proposta deste trabalho (MELLO; BALVEDI; GOULART, 2019).

2.6 Justificativa do trabalho

O desenvolvimento de um sensor eletroquímico para detecção para glifosato torna-se um desafio visto que essa substância não apresenta boas propriedades eletroquímicas utilizando eletrodos não tóxicos como carbono vítreo, sendo necessário a utilização de metodologias que possibilitem sua determinação de forma indireta.

Estudos recentes associam efeito sinérgico da ação antioxidante da dopamina (DOPA) na presença do glifosato, – a dopamina (Figura 7) é um neurotransmissor catecolaminico que está presente abundantemente no cérebro de mamíferos e apresenta comportamento químico amplamente explorado na literatura –, abrindo margem para utilização dessa espécie no monitoramento deste herbicida (FIORI et al., 2018; SMITH et al., 2021).

Figura 7 - Estrutura dopamina



Fonte: Autora, 2022.

Visando agregar mais valor ao trabalho, constituindo um aliado na busca por atividade eletroquímica eficiente e alta sensibilidade, destaca-se o uso de simonkolleite ($Zn_5(OH)_8Cl_2 \cdot H_2O$), trata-se de um monohidrato de hidróxido de cloreto de zinco, obtido por corrosão do zinco em forma de cristais hexagonais, ocorrendo por interperismo natural gerado em minas de zinco na região alemã de Michelsdorf, vem ganhando atenção na literatura devido as suas propriedades físico-química únicas, sendo utilizado em diversas aplicações como suporte de catalisador e no armazenamento de energia, demonstrando-se uma proposta interessante aplicada a este trabalho (SILVA et al., 2021; SPASSOV; TZVETKOV; LYUTOV, 2020).

3. OBJETIVO

3.1 Objetivos geral

Desenvolver um sensor eletroquímico para quantificação de glifosato e AMPA via detecção indireta baseada em dopamina e simonkolleite.

3.2 Objetivos específicos

- Realizar estudo do glifosato e AMPA com agentes que possibilitem sua determinação através de métodos eletroquímicos;
- Investigar os mecanismos das reações eletroquímicas envolvidas no desenvolvimento do sensor;
- Determinar a faixa linear do método desenvolvido;
- Otimizar parâmetros analíticos para obtenção de limite de detecção e quantificação dentro do exigido na legislação e necessidades de avaliação do mercado;
- Verificar a estabilidade e reprodutibilidade do sensor desenvolvido;
- Validar a metodologia desenvolvida utilizando método de referência.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Reagentes e soluções

Nanopartículas atóxicas e estáveis de Simonkolleite ($Zn_5(OH)_8Cl_2(H_2O)$) e Simonkolleite com as seguintes variações de prata: 0,1% e 1%; foram cedidas por colaboração com a Professora Dr^a Anielle Christine Almeida Silva do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas. Os demais reagentes de grau analítico foram adquiridos de seus respectivos fornecedores, conforme (Tabela 6).

Tabela 6 – Reagentes utilizados e seus respectivos fornecedores.

Reagente	Fornecedor	Teor de Pureza
Acetato de sódio ($C_2H_3NaO_2$)	Êxodo científica	99,0 – 101,0%
Ácido acético (CH_3COOH)	Acros Organics	99,0%
Ácido clorídrico (HCl)	Dinâmica	36,5 – 38,0%
Ácido bórico (H_3BO_3)	Vetec	99,5%
Cloreto de cálcio ($CaCl_2$)	Vetec	99,5%
Cloreto de potássio (KCl)	J. T. Baker	99%
Cloridrato de dopamina ($C_8H_{11}NO_2 \cdot HCl$)	Sigma-Aldrich	99%
Dimetilformamida (C_3H_7NO)	Dinâmica	99%
Etanol (C_2H_6O)	Panreac	99,8%
Ferrocianeto de potássio ($C_6N_6FeK_3$)	Êxodo científica	98,5 – 102,0%
Fosfato de sódio dibásico dihidratado ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$)	Vetec	99%
Fosfato de sódio monobásico monohidratado ($Na_2HPO_4 \cdot H_2O$)	Vetec	98,0-102,0%
Glufosinato de amônio ($C_5H_{15}N_2O_4P$)	Sigma-Aldrich	>98%
Molibdato de sódio (Na_2MoO_4)	Vtec	99%
Nanotubo de carbono de paredes múltiplas – NTC	Sigma-Aldrich	>95%
Ninidrina ($C_9H_6O_4$)	Sigma-Aldrich	>98%
Sulfato de cobre ($CuSO_4$)	Dinâmica	99%
Sulfato de magnésio ($MgSO_4$)	Dinâmica	99%

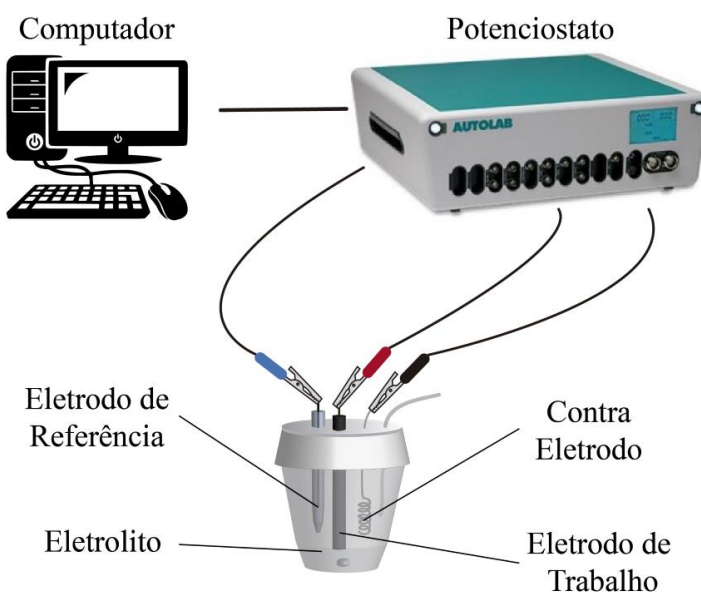
Fonte: Autora, 2022.

As dispersões dos Nanotubos de Carbono (NTC) foram realizadas como descrito no tópico (4.2.2). As demais soluções foram preparadas utilizando água deionizada obtida através do sistema Milli-Q Millipore e os valores de pH da solução tampão foram ajustados utilizando pHmetro modelo Quimis Q400A.

4.2 Estudos eletroquímicos

As técnicas eletroquímicas selecionados nesse estudo foram a voltametria cíclica (VC) e a voltametria de pulso diferencial (VPD). Os parâmetros para utilização de VPD foram: $v = 0,010 \text{ Vs}^{-1}$, modulação de amplitude de 50 mV, tempo de modulação de 0,05 s. As medidas foram realizadas à temperatura de $25 \pm 1^\circ \text{C}$, e os gráficos processados foram tratados utilizando o programa Origin 9.0. As medidas eletroquímicas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato PGSTAT (AUT73222) da Metrohm Autolab® em um sistema constituído por três eletrodos conforme esquema da Figura 8.

Figura 8 – Representação esquemática de cela eletroquímica de três eletrodos.



Fonte: LINS, 2020.

Foram avaliados diferentes eletrodos de trabalho: eletrodo de carbono vítreo – CV (BAS, diâmetro 3,0 mm) e de nanotubos de carbono de paredes múltiplas imobilizados em CV

(CVNTC); como eletrodo auxiliar foi utilizado um fio de platina espiralado e como eletrodo de referência utilizou-se sistema $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{Cl}^-$ (saturado) da BAS.

4.2.1 Procedimento de limpeza do eletrodo de carbono vítreo

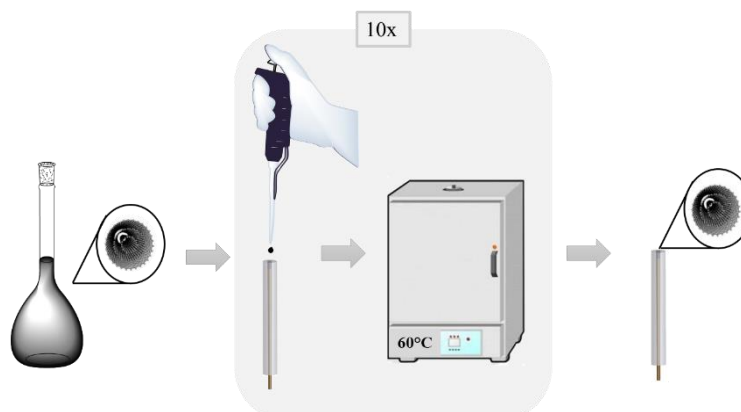
A limpeza de CV foi realizada através de uma etapa mecânica, onde a superfície do eletrodo foi polida em suspensão de alumina ($0,3 \mu\text{m}$) com auxílio de um tecido de veludo até que esta apresentasse aspecto espelhado. Em seguida o eletrodo foi lavado com água deionizada, submetido a agitação em ultrassom durante 30 s em etanol absoluto e novamente lavado com água deionizada.

O perfil de limpeza do eletrodo foi avaliado através de uma etapa eletroquímica pela técnica de VC. Foi realizada uma varredura na faixa de potencial de 0,6 a $-0,3 \text{ V}$ de forma reversível, em solução de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ e $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida, o eletrodo foi lavado com água deionizada e secado a temperatura ambiente.

4.2.2 Modificação do eletrodo de CV com NTC

A suspensão de NTC foi preparada a partir da pesagem de 1 mg de NTC em eppendorf e adição de 1,0 mL de dimetilformamida (DMF) (SILVA, 2017). Esta mistura foi submetida a agitação em ultrassom por 2 h para melhor dispersão (SILVA, 2017). A modificação do eletrodo se deu a partir da adição de uma alíquota de $1 \mu\text{L}$ dessa suspensão à superfície do eletrodo de CV previamente limpo. Para evaporação do DMF, o eletrodo permaneceu em estufa a 60°C durante 10 min (SILVA, 2017). Esse procedimento foi repetido 10 vezes, totalizando $10 \mu\text{L}$ de dispersão na superfície do eletrodo, com cuidado e atenção para que toda a superfície do CV esteja recoberta, conforme esquematizado na Figura 9.

Figura 9 - Representação esquemática da modificação do eletrodo de carbono vítreo com NTC.



Fonte: Autora, 2022.

4.2.3 Estudos de interferência

Para avaliação de interferentes, foram utilizadas soluções estoque de Sulfato de cobre (CuSO_4), Cloreto de cálcio (CaCl_2) e Sulfato de magnésio (MgSO_4), estas foram adicionadas na cela eletroquímica obtendo-se as seguintes concentrações: 6 ppb, 60 ppb e 600 ppb. As avaliações foram realizadas utilizando-se dopamina (2 ppm), SK (2 ppm) e GLI (7 ppb), em tampão fosfato 2,0 mmol L^{-1} pH = 7,00. As intensidades de sinal foram analisadas e comparadas com o controle registrado sem interferência sob as mesmas condições.

4.2.4 Avaliação em amostra real

Para avaliação do método desenvolvido, utilizou-se uma amostra de solo. A amostra de solo de região livre de glifosato foi obtida por colaboração com o professor Dr José Expedito Cavalcante Silva (UFAL – Campus Arapiraca/Unidade de ensino de Penedo) em estudos realizados junto a UFTO, a região de coleta fica localizada na cidade de Araguaina-TO, com a seguinte coordenada geográfica: 07° 05' 46" S e 48° 12' 19" O, e altitude de 243 m, o solo foi classificado como Neossolo Quartzarênico Órtico típico, as amostras foram coletadas em profundidade variável de 0 a 40 cm. O período de coleta ocorreu em janeiro de 2008, as amostras foram secas, peneiradas e homeneizadas, conforme descrito por ARAÚJO et al., (2011). As amostras foram transportadas para o laboratório de eletroquímica e microsistemas de análise (LEMAN - UFAL), onde permaneceram armazenadas a temperatura ambiente.

O método de preparo da amostra foi o proposto por MBOKANA; DEDZO; NGAMENI, (2020) com algumas modificações. A amostra seca foi triturada em almofariz e peneirada para seleção de partículas de menor tamanho, deste material foram preparadas duas amostras, a primeira se deu pela adição de 2 g de amostra de solo dispersos em 10 mL de tampão fosfato 2,0 mmol L⁻¹ pH = 7,00, essa mistura foi submetida a agitação magnética por 1 hora, e o sobrenadante foi recuperado através de centrifugação, utilizou-se aparelho Quimis® versão 1.0, modelo Q-222EM, tempo 15 minutos e rotação até 14.300 rpm. Utilizou-se 3 mL do sobrenadante como eletrólito de análise na cela eletroquímica, onde foram adicionados dopamina (2 ppm) e SK (2 ppm), observando-se intensidade de sinal equivalente a presença de dopamina nas condições analisadas, verificou-se a ausência de glifosato na amostra coletada.

Deste modo, preparou-se outra amostra através do enriquecimento com glifosato, o preparo se deu através do uso de 2 g da amostra, estes foram dispersos em 10 mL de solução de glifosato (10 ppb utilizando tampão fosfato 2,0 mmol L⁻¹ pH = 7,00 como solvente). A mistura foi submetida a agitação magnética por 1 hora, e o sobrenadante foi recuperado via centrifugação. Utilizou-se 3 mL do sobrenadante como eletrólito de análise na cela eletroquímica, com adição de dopamina e SK ambos na concentração 2 ppm, após registro do sinal relativo ao glifosato, uma série de três adições de padrão de solução de glifosato foram adicionadas a cela eletroquímica, as correntes de pico obtidas foram avaliadas em relação as concentrações de padrão adicionadas.

4.3 Uso de técnicas espectroscópicas para caracterização, avaliação de interação e validação

4.3.1 Espectroscopia no UV/visível

Para avaliação de interação os estudos espectroscópicos foram realizados no UV-visível HP 8453 (G1103A) da Agilent® no modo de varredura com comprimento de onda de 190 a 400 nm. Foi utilizada uma cubeta de quartzo com capacidade para 3 mL. Avaliou-se a influência química de diferentes concentrações de glifosato (0,6 a 1,8 ppm) na presença de dopamina (2 ppm) em tampão fosfato pH = 7,00.

Para validação do método também se utilizou espectroscopia no UV-vis, em aparelho HP 8453 (G1103A) da Agilent®, no modo varredura de 300 a 800 nm, utilizando cubeta de

quartzo com capacidade para 3 mL, foi utilizado o método de BHASKARA; NAGARAJA, (2006). O qual é baseado na reação de glifosato com ninidrina (5% m/v) na presença de molibdato de sódio (5% m/v), em meio aquoso e aquecimento a 100 °C por 5 min, obtendo-se um produto roxo de Ruhemann com absorção máxima a 570 nm. Através desta metodologia construiu-se curva de calibração em triplicata. Para validação da concentração de glifosato na amostra real de solo obtida conforme o item 4.2.4, essa amostra foi filtrada e enriquecida com 2 ppm de glifosato (adição de padrão) para obtenção de concentração dentro da faixa linear no método utilizado, o resultado obtido foi comparado com o obtido através da metodologia eletroquímica desenvolvida no presente trabalho.

4.3.2 Espectroscopia de infravermelho FTIR

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro de infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR), IRPrestige (SHIMADZU, 02239), com o uso do acessório para sólidos, ATR. Os espectros foram obtidos a temperatura ambiente. O software utilizado no tratamento dos dados foi o Shimadzu IR Solution 1.50. Utilizando espectro do ar como pano de fundo foram analisadas as seguintes substâncias: dopamina e glifosato. Visando avaliar o produto da reação entre dopamina e glifosato, uma mistura foi preparada utilizando soluções dessas espécies na concentração 20 g L⁻¹, utilizando água como pano de fundo.

4.4 Limite de detecção e quantificação

Para a determinação do limite de detecção (LD) e do limite de quantificação (LQ) foram utilizadas as Equações 9 e 10, a seguir:

$$LD = \frac{3 \times S_b}{b} \quad \text{Equação 1}$$

$$LQ = \frac{10 \times S_b}{b} \quad \text{Equação 2}$$

Onde: S_b é o desvio padrão da média aritmética das correntes obtidas por 10 voltogramas de brancos no mesmo potencial do pico voltamétrico do composto e b é o coeficiente angular da curva analítica (SKOOG, WEST, HOLLER, 2014).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção serão apresentados os resultados obtidos no preparo do sensor eletroquímico para detecção de glifosato, englobando avaliação no UV-vis, avaliação eletroquímica com proposta de mecanismo, definição de parâmetros como pH, a utilização de substâncias que possibilitem maior sensibilidade ao sistema, avaliação do sistema em amostra real e quanto a presença de interferentes.

5.1 Sensor eletroquímico para glifosato

O processo de desenvolvimento de um sensor eletroquímico capaz de detectar glifosato (GLI) é um desafio, pois essa molécula não apresenta boas propriedades eletroquímicas, fazendo com que seu estudo seja inviável por eletrodos convencionais, sendo necessário o uso de estratégias que possibilitam sua detecção de forma indireta. Uma das formas mais comumente utilizadas para detecção indireta é o uso de um derivatizante, onde é adicionado ao sistema uma quantidade conhecida de uma molécula eletroquimicamente ativa que reage facilmente com a molécula alvo dando a possibilidade de rastrear as variações de sinal do derivatizante e/ou o surgimento de um novo sinal atribuído ao produto formado, no presente trabalho avaliou-se a utilização de dopamina (DOPA), como agente derivatizante.

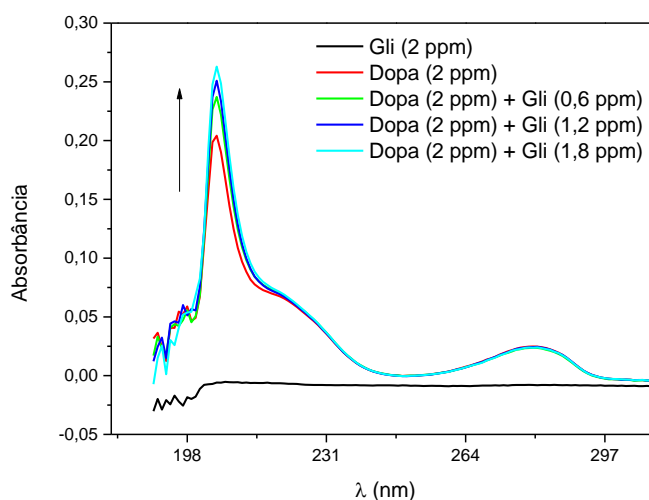
Para avaliação da interação envolvida entre DOPA e GLI, foram realizados estudos utilizando técnicas de espectroscopia na região do ultravioleta, espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e avaliações eletroquímicas utilizando voltametrias, possibilitando proposta de mecanismo, os quais estão descritos nos tópicos a seguir.

5.1.1 Estudo de interação química entre DOPA e GLI

Visando avaliar a interação química entre DOPA e GLI, utilizou-se espectroscopia na região do ultravioleta (200 -280 nm), inicialmente, observou-se o comportamento individual das espécies, GLI linha preta e DOPA linha vermelha, em seguida foi fixado uma concentração de DOPA e realizadas adições de GLI para que seja possível avaliar mudanças no perfil dos espectros, os resultados desses experimentos são apresentados na Figura 10, onde é possível observar a ausência de bandas no espectro de GLI (linha preta), enquanto no espectro da DOPA

(linha vermelha) são observadas duas bandas, em torno de 200 nm e 280 nm, as quais são atribuídas à transição $n \rightarrow \sigma^*$ do grupo amina e à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ dos domínios sp^2 no anel aromático, respectivamente. Quando é adicionado GLI é notável o aumento de absorbância na banda em torno de 200 nm da DOPA (linhas verde, azul e ciano), permitindo-se associar interação de GLI com a extremidade contendo o grupo amina da molécula de DOPA (CUI et al., 2019).

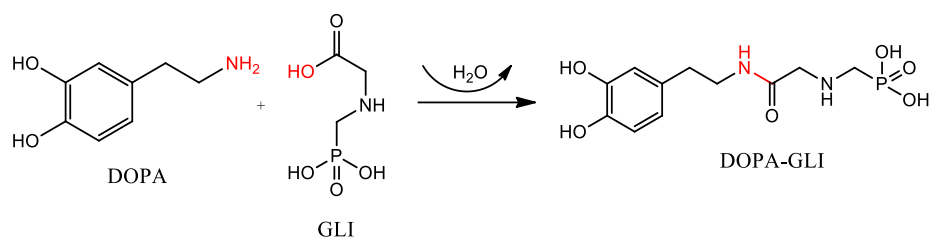
Figura 10 - Espectros na região do uv-vis de dopamina na presença de glifosato em tampão fosfato pH = 7,0.



Fonte: Autora, 2022.

Apesar de alguns estudos evidenciarem a interação química entre GLI e DOPA, ainda não há proposta de mecanismo a dessa interação, desta forma, uma possível via pode ocorrer através da condensação amídica – em interação entre os grupos amina e ácido carboxílico, resultando em uma amida com liberação de água – conforme apresentado na Figura 11.

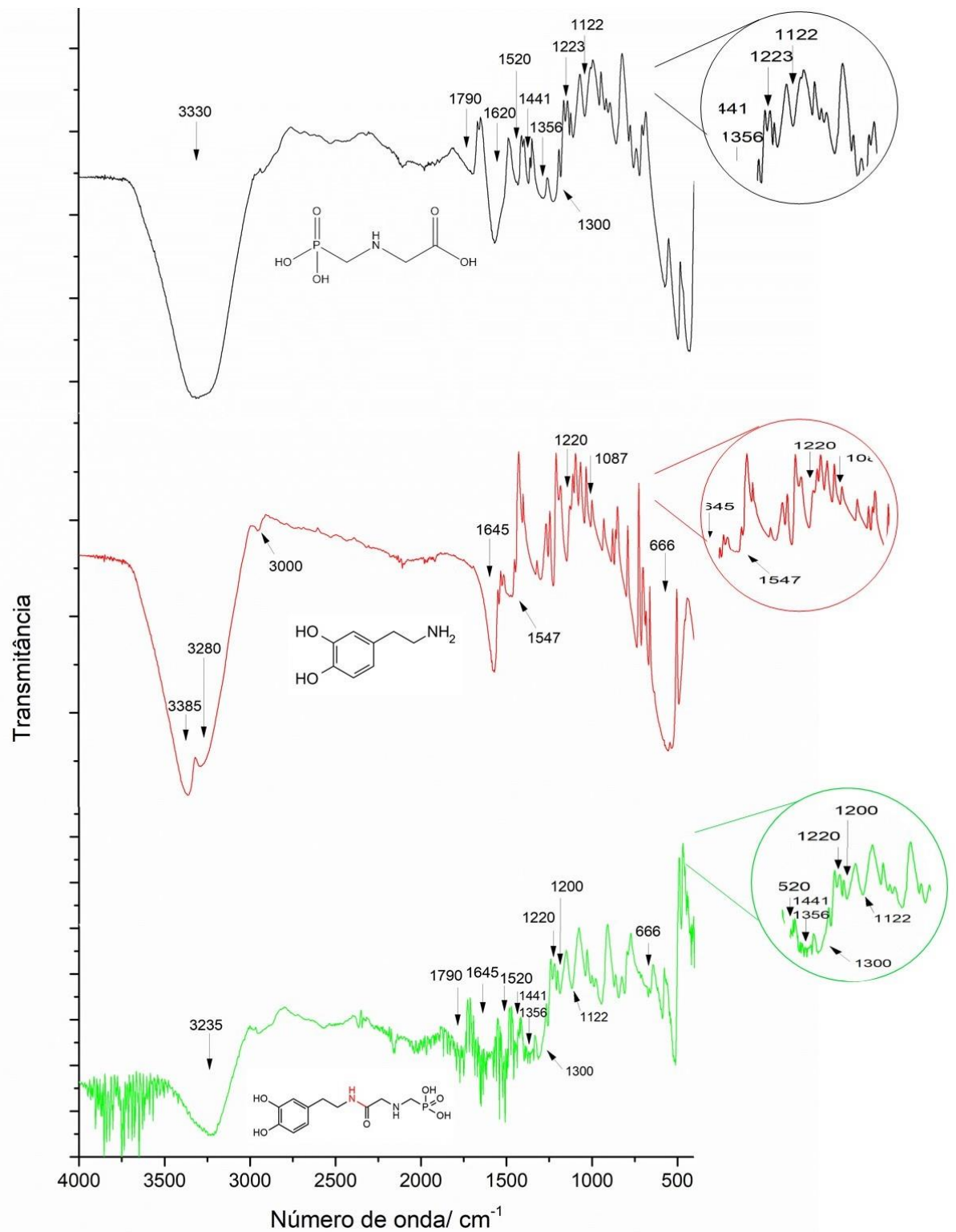
Figura 11 - Mecanismo proposto para interação entre DOPA e GLI.



Fonte: Autora, 2022.

Para melhor avaliação do possível produto dessa reação, foi realizada reação entre DOPA e GLI em meio aquoso, e o produto foi analisado via espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), utilizando como pano de fundo água. Os reagentes também foram avaliados, sendo utilizadas as substâncias obtidas com grau analítico, obtendo-se os espectros da Figura 12.

Figura 12 - Espectros FTIR de GLI, DOPA e do produto da reação em meio aquoso DOPA-GLI



Fonte: Autora, 2022.

No espectro de GLI (Figura 12 – linha preta) é possível observar banda característica de interação de hidrogênio, dada a presença de hidroxila em sua estrutura em 3300 cm^{-1} , em 1790 cm^{-1} vibração assimétrica de ligação C=O, em 1620 cm^{-1} a interação de ligação C=O da carbonila com hidrogênio, em 1520 cm^{-1} devido a deformações de NH, em 1441 cm^{-1} vibração de ligação CO e OH, em 1356 e 1300 cm^{-1} dada a vibrações de deformações de NH, em 1223 e 1122 cm^{-1} vibração de ligação P-OH (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007; VALLE et al., 2021).

Ao analisar o espectro de DOPA (Figura 12 – linha vermelha) algumas bandas características dessa substância também foram identificadas onde podemos observar as interações provenientes de vibrações na região em torno de 3385 e 3280 cm^{-1} característica de amina primária, sendo essa região também característica de ligação de hidrogênio, em 1645 cm^{-1} deformação angular de NH, em 1220 cm^{-1} de deformação axial de ligação CN em aminas, em 1087 cm^{-1} deformação axial de CN, em 666 cm^{-1} deformação angular de fenol, em 1547 cm^{-1} deformação axial de anel aromático, em 3000 cm^{-1} deformação axial de CH (LÓPEZ et al., 2011; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007).

Avaliando o produto da interação entre DOPA e GLI em meio aquoso, e comparando com os reagentes dessa reação, obtemos os espectros da Figura 12 – linha verde, onde observa-se na região em 3200 a 3400 cm^{-1} bandas características de deformação axial de grupos OH e NH que apresentam ligações de hidrogênio características dos dois reagentes, em 1790 cm^{-1} bandas de vibração assimétrica de ligação C=O presente na estrutura de GLI, em 1645 e 1520 cm^{-1} bandas de formação angular de NH presente na estrutura de DOPA, de GLI e que podem estar presentes no produto conforme mecanismo da Figura 11, em 1441 cm^{-1} bandas de vibração de ligação CO e OH livre de ligação de hidrogênio presente na estrutura de GLI, observa-se no destaque da Figura 12 que na faixa de 1220 a 1300 cm^{-1} mudanças de intensidades das bandas que referem-se a vibrações de deformações de NH de GLI e DOPA e que podem estar associadas a vibrações de deformações de grupo CN em amidas no produto, em 1223 e 1122 cm^{-1} bandas de vibração de ligação P-OH de GLI e em 666 cm^{-1} deformação angular de fenol de DOPA (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007). Uma tabela resumo a respeito das interações e atribuições observadas através da análise no FTIR, pode ser observada a seguir.

Tabela 7 - Resumo das atribuições dos grupos funcionais observadas através dos espectros de FTIR de GLI, DOPA e DOPA-GLI

Região (cm ⁻¹)	Gli (cm ⁻¹)	Dopa (cm ⁻¹)	Dopa-GLI (cm ⁻¹)	Atribuições
3385-3280		✓	✓	v de R-NH ₂
3300	✓	✓	✓	v de H-O
3000		✓		v de C-H
1790	✓		✓	v _{as} de C=O
1645		✓	✓	δ de N-H
1620	✓			v de C=O com H-O
1547		✓		δ de anel aromático
1520	✓		✓	δ de N-H
1441	✓		✓	v de C=O/OH
1223	✓			v de N-H
1220-1300		✓	✓	δ de CN/R-C=O-NH ₂
1122	✓		✓	v de P-OH
666		✓	✓	δ de fenol

Nota: δ = Deformação angular, γ = Deformação angular fora do plano, v = Estiramento, v_{as} = Estiramento assimétrico.

Fonte: Autora, 2022.

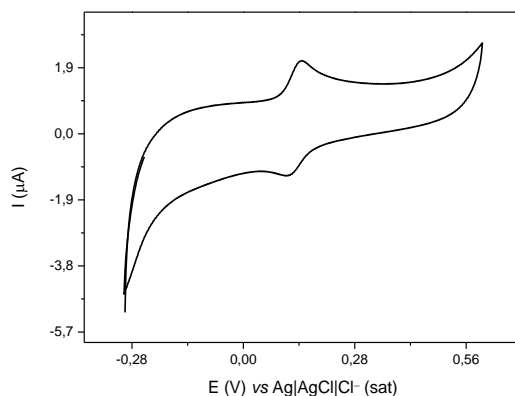
Após as observações realizadas com as análises dos espectros de FTIR, observa-se no espectro do produto a presença de grupos funcionais que estão presentes nos reagentes, devido a utilização de meio aquoso a identificação de bandas que assegurem a formação do produto conforme o mecanismo proposto na Figura 11 foi dificultada, sendo necessário o uso de outras técnicas de identificação para comprovação da obtenção deste composto.

5.1.2 Estudo de interação eletroquímica entre DOPA e GLI

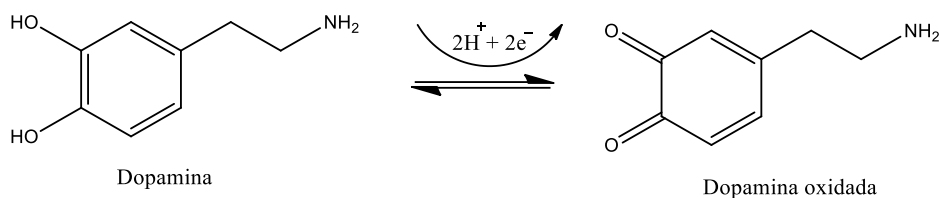
O comportamento eletroquímico de DOPA já é bem definido na literatura, utilizando a concentração de 5 ppm, Voltametria Cíclica – VC (Figura 13 a)), tampão fosfato pH = 7,00, eletrodo de carbono vítreo (CV), $v = 0,050 \text{ V s}^{-1}$ e faixa de potencial de 0 a 0,4 V vs Ag|AgCl|Cl⁻ (sat.), apresenta pico de oxidação em torno de 0,15 V vs Ag|AgCl|Cl⁻ (sat.) e pico de redução em 0,12 V vs Ag|AgCl|Cl⁻ (sat.), em mecanismo reversível envolvendo dois prótons e dois elétrons, através da oxidação do grupo hidroquinona em quinona conforme Figura 13 b).

Figura 13 - a) Voltamogramas cíclicos de DOPA 5 ppm em tampão fosfato pH = 7,00, b) Mecanismo envolvido na oxidação de DOPA.

a)



b)



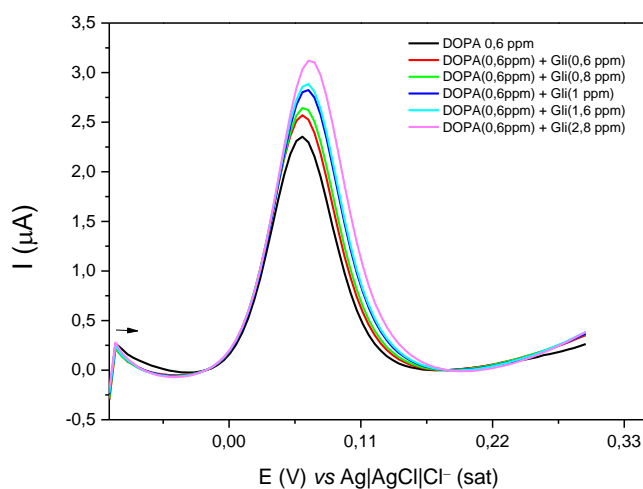
Fonte: Autora, 2022; figura b) - Adaptado de SILVA, 2017.

A interação entre DOPA e GLI também foi avaliada via eletroquímica, utilizando a técnica Voltametria de Pulso Diferencial (VPD); tampão fosfato pH = 7,00; eletrodo de carbono vítreo (CV), este foi limpo após cada varredura conforme a metodologia descrita no tópico 4.2.1; foi utilizada a faixa de potencial de -0,10 a 0,30 V vs Ag|AgCl|Cl⁻ (sat.), obtendo-se a Figura 14 a), onde observa-se que adições sucessivas de GLI ao sistema proporcionaram aumento do pico de oxidação de DOPA, indício de viabilidade deste sistema para detecção indireta de GLI.

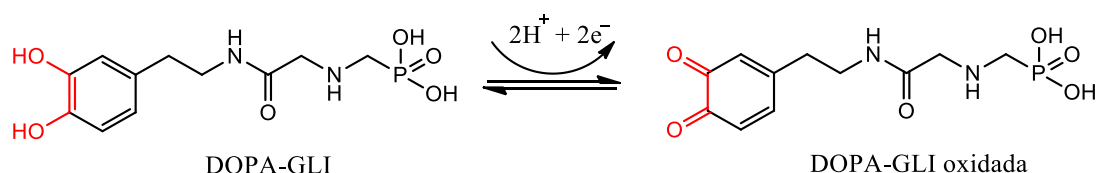
Com base nas Figura 11 e Figura 13 b), uma proposta para o mecanismo envolvido na reação eletroquímica de DOPA-GLI é apresentado na Figura 14 b), onde possivelmente ocorreria oxidação da hidroquinona em quinona da espécie DOPA-GLI, envolvendo dois prótons e dois elétrons, resultando em sinal eletroquímico com ligeiro deslocamento de potencial em relação a DOPA para potenciais mais positivos.

Figura 14 - a) Voltamogramas de DOPA na presença de diferentes concentrações de GLI, b) Mecanismo proposto para oxidação da espécie DOPA-GLI.

a)



b)

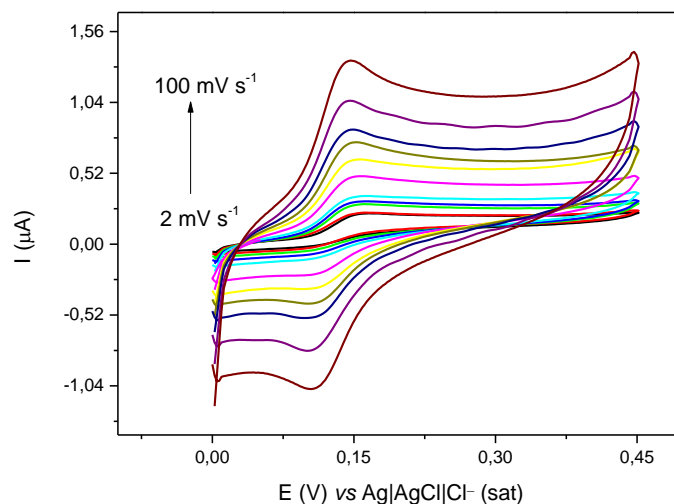


Fonte: Autora, 2022; figura b) - Adaptado de SILVA, 2017.

5.1.3 Avaliação eletroquímica de parâmetros para o sensor baseado em DOPA

O sistema proposto conta com a utilização de DOPA como espécie que proporcione a detecção indireta de GLI, tornando fundamental a avaliação da natureza do processo de transferência de massa de DOPA até a superfície eletródica, deste modo, foi realizado estudo de velocidade da solução de DOPA (5 ppm) em eletrodo de trabalho de CV e tampão fosfato pH = 7,00. As velocidades variaram de 2 mV s⁻¹ a 100 mV s⁻¹ vs Ag|AgCl|Cl⁻ (sat.). (Figura 15), onde não se observa deslocamento significativo dos potenciais de pico anódico e catódico com a variação da velocidade de varredura, um indicativo de processos eletroquímicos reversíveis (LINS, 2020).

Figura 15 - Voltamogramas cíclicos de DOPA, utilizando CV em tampão fosfato (pH 7,00) em diferentes velocidades de varredura.



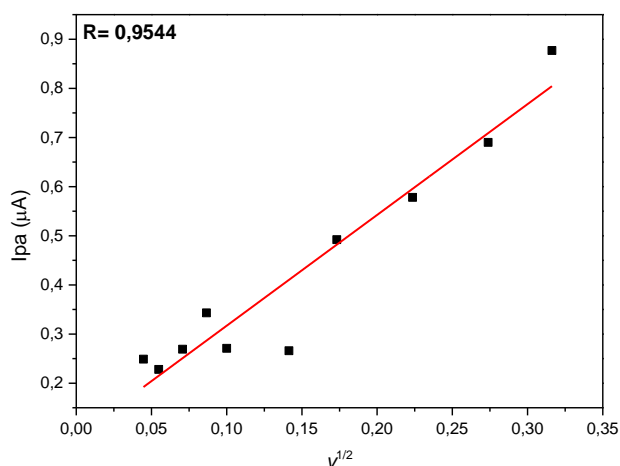
Fonte: Autora, 2022.

O estudo de velocidade permite avaliação através do uso de parâmetros como I_p (Corrente de pico anódico) e $v^{1/2}$ (velocidade ao quadrado), conforme Equação 1, deste modo, foi construído o gráfico da Figura 16, onde se observa tendência à linearidade em velocidades altas, observadas na faixa de 40 a 100 mV s^{-1} vs Ag|AgCl|Cl^- (sat.), enquanto em velocidades baixas não há comportamento linear, o que pode estar associado a formação de espécies eletrogeradas e sua permanência por maior tempo na superfície do eletrodo, dificultando o processo de transferência de massa. A ausência de linearidade no sistema $R = 0,9544$ indica transporte de massa de natureza adsorptiva (BRETT; BRETT, 1996; FERREIRA, 2010; LASCALEA et al., 2007).

$$I_p = (2,99 \times 10^5) \alpha^{1/2} A C_0^* D_0^{1/2} v^{1/2} \quad \text{Equação 3}$$

Onde: I_p é a corrente de pico catódico, α é o coeficiente de transferência de carga, A é a área do eletrodo, C_0^* é a concentração da espécie em solução, D_0 é o coeficiente de difusão e v é a velocidade de varredura.

Figura 16 - Regressão linear I_{pca} vs $v^{1/2}$.



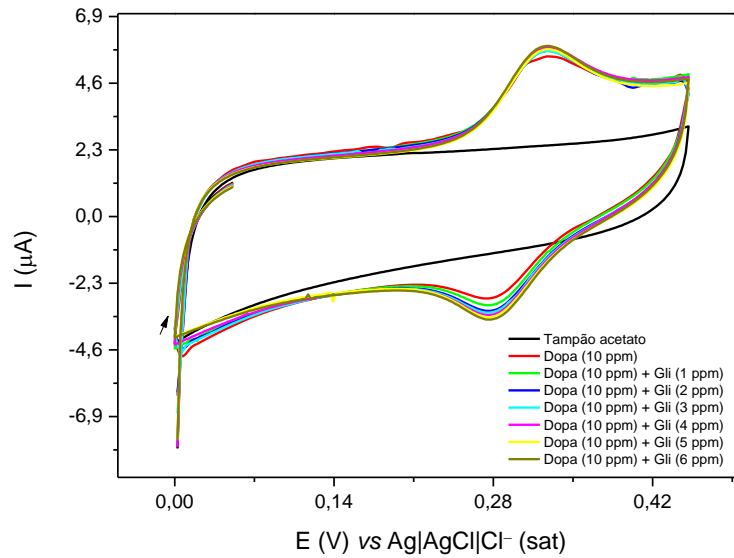
Fonte: Autora, 2022.

Visando obter um sistema onde a transferência de massa seja difusional na superfície do eletrodo, otimizando os estudos eletroquímicos, utilizou-se eletrodo de CV modificado com NTC, em procedimento realizado conforme o tópico 4.2.2. A utilização de NTC é justificada pela versatilidade destes materiais, que apresentam elevada área superficial, alta área de superfície ativa, baixa resistência à transferência de carga, evitam/reduzem o bloqueio da superfície do eletrodo por substâncias orgânicas, promovendo melhoria nas propriedades eletroquímicas de sensores, além de auxiliar na obtenção de métodos sensíveis (GOMES; FILHO, 2007; SILVA, 2017).

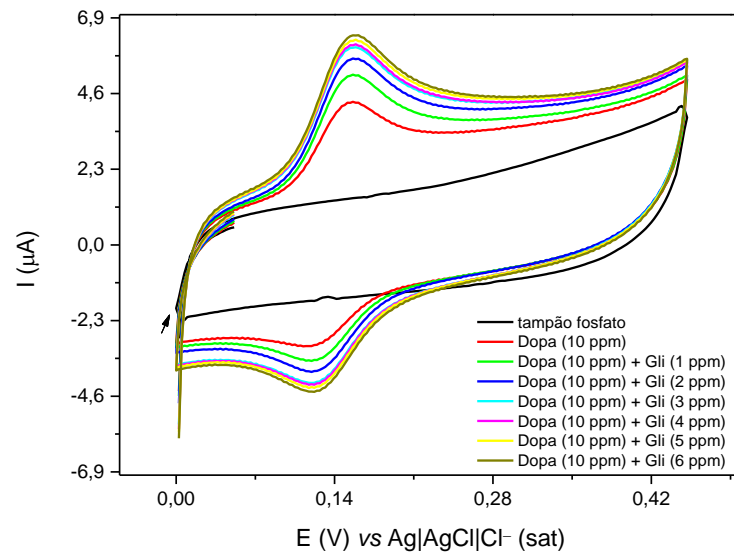
O GLI é um composto que apresenta 4 valores de pK_a ($pK_{a1} = 0,8$; $pK_{a2} = 2,23$; $pK_{a3} = 5,46$; $pK_{a4} = 10,14$), de maneira similar, a DOPA apresenta 3 valores de pK_a ($pK_{a1} = 8,71$; $pK_{a2} = 10,90$; $pK_{a3} = 13,68$), tornando o pH do meio um fator importante em sistemas envolvendo essas espécies, deste modo, para avaliação deste parâmetro realizou-se análise eletroquímica em diferentes faixas de pH (tampão acetato pH = 4,50 (2,0 mmol L⁻¹); tampão fosfato pH = 7,00 (2,0 mmol L⁻¹); tampão borato pH = 10,00 (2,0 mmol L⁻¹)), utilizou-se VC, em diferentes faixas de potencial e eletrodo de CV modificado com NTC (CVNTC), Figura 17 e Figura 18.

Figura 17 - Voltamogramas de DOPA em crescentes concentrações de GLI, $v = 0,050 \text{ V s}^{-1}$, em diferentes soluções tampão: a) Tampão acetato pH = 4,50, b) Tampão fosfato pH = 7,00.

a)



b)

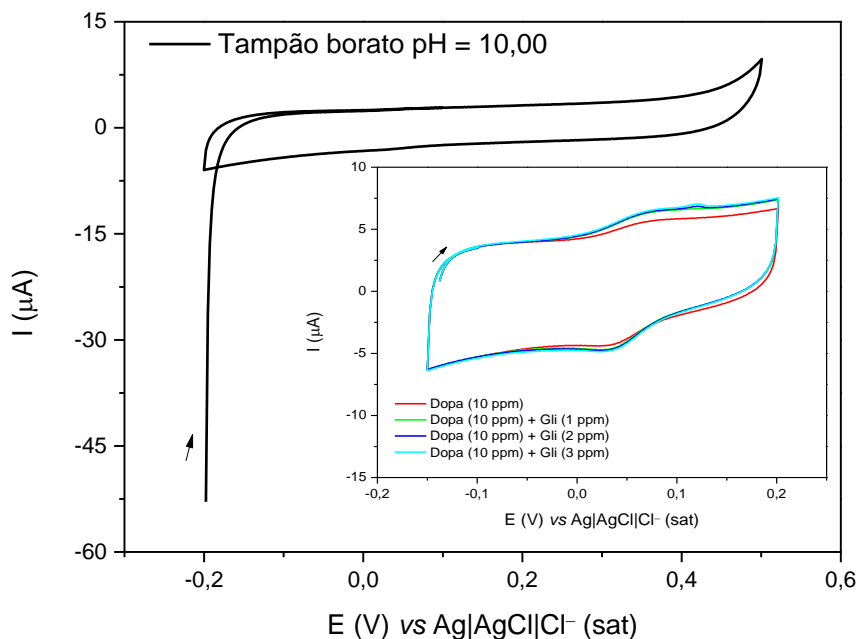


Fonte: Autora, 2022.

Utilizando-se tampão acetato pH = 4,50, Figura 17 a), as análises foram realizadas na faixa de potencial de 0,0 a 0,40 V, com a adição de DOPA (10 ppm) ao sistema observa-se a presença dos picos anódico (0,30 V vs Ag|AgCl|Cl⁻ (sat.)) e catódico (0,28 V vs Ag|AgCl|Cl⁻ (sat.)) bem pronunciados, adições sucessivas de GLI (1-6 ppm) ao sistema produziram um aumento discreto em ambos os picos, indicando possibilidade de utilização deste sistema.

Avaliando o sistema utilizando tampão fosfato pH = 7,00, em mesma faixa de potencial que a utilizada para o tampão acetato, Figura 17 b), observa-se que os sinais eletroquímicos obtidos através de DOPA (10 ppm) apresentaram maior intensidade de sinal, este comportamento se repetiu com as adições de GLI (1-6 ppm), indicando maior sensibilidade utilizando este sistema, também é notável deslocamento dos potenciais dos picos: anódico (0,15 V vs Ag|AgCl|Cl⁻ (sat.)) e catódico (0,12 V vs Ag|AgCl|Cl⁻ (sat.)), indício de que estes processos eletroquímicos foram facilitados utilizando este meio, sendo mais viável que o anterior. Utilizando o sistema em tampão borato pH = 10,00, obteve-se a Figura 18.

Figura 18 - Voltamogramas de DOPA em crescentes concentrações de GLI, $v = 0,050 \text{ V s}^{-1}$, em Tampão borato pH = 10,00.



Fonte: Autora, 2022.

Foi observado que com a redução da acidez do meio, ocorreu deslocamento dos sinais eletroquímicos para potenciais mais próximos de 0,0 V vs Ag|AgCl|Cl⁻ (sat.), para avaliação do tampão borato pH = 10,00, a faixa de potencial analisada foi ampliada para -0,2 a 0,4 V vs Ag|AgCl|Cl⁻ (sat.), Figura 18, entretanto, nessa faixa de potencial os picos de DOPA (10 ppm) apresentaram-se de forma discreta, assim, visando melhor visualização destes, reduziu-se a faixa de potencial para -0,2 a 0,2 V vs Ag|AgCl|Cl⁻ (sat.), onde conforme esperado ocorreu

deslocamento dos sinais eletroquímicos de DOPA para potenciais mais negativos, obtendo-se pico anódico em torno de 0,06 V *vs* Ag|AgCl|Cl⁻ (sat.) e catódico em 0,03 V *vs* Ag|AgCl|Cl⁻ (sat.), entretanto, os sinais foram de baixa intensidade, mesmo após a adição de GLI (1-3 ppm) ao sistema, não ocorrendo melhoria significativa dos sinais, demonstrando que a utilização deste pH não é viável para a proposta do trabalho.

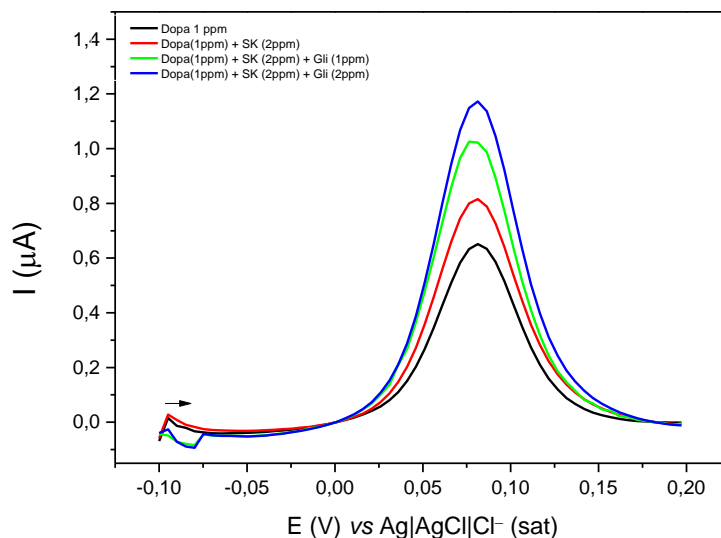
Após as avaliações e inferências realizadas através da Figura 17 e Figura 18, o tampão fosfato pH = 7,00 foi escolhido para as etapas seguintes no desenvolvimento do sensor proposto. Com o meio definido, decidiu-se avaliar a utilização de uma substância eletroativa que fosse capaz de promover maior sensibilidade ao sistema, visando baixar os limites de detecção e quantificação, a fim de atender as necessidades de monitoramento de glifosato em amostras ambientais e controle de qualidade.

5.1.4 Estratégias para aumento de sensibilidade do sistema

Para avaliação de um composto que possibilite maior sensibilidade ao sistema, avaliou-se o simonkolleite ($Zn_5(OH)_8Cl \cdot 2H_2O$), por apresentar em sua estrutura lacunas de oxigênio disponíveis que atuam como doadores do tipo n, conferindo aumento de condutividade aos materiais os quais é associado, possibilitando atividade eletroquímica eficiente (MOMODU et al., 2015). Outro fator relevante, é que na literatura não há relato de sua utilização associada a sensores eletroquímicos, nem de interações com DOPA e/ou GLI.

A avaliação das nanopartículas de simonkolleite (SK) no sistema foi realizada utilizando VPD, eletrodo CV, tampão fosfato pH = 7,00, em faixa de potencial de -0,10 a 0,20 V *vs* Ag|AgCl|Cl⁻ (sat.), obtendo-se a Figura 19, onde observa-se que a adição de SK ao sistema promoveu o aumento do sinal de oxidação de DOPA de forma significativa, aumentando cerca de 30% da área total do pico. Visto que a proposta do sensor é baseada na detecção indireta de GLI por meio da interação deste com DOPA, a utilização de SK promovendo aumento do sinal eletroquímico de DOPA confere maior sensibilidade ao método, além de não causar danos a interação de DOPA com GLI (linhas verde e azul), constituindo uma proposta interessante ao método.

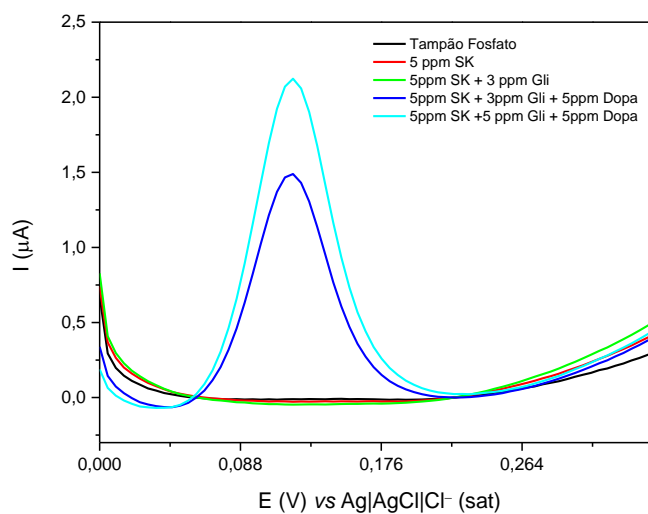
Figura 19 - Voltamogramas de DOPA e GLI na presença de SK.



Fonte: Autora, 2022.

A presença de SK (5 ppm) no sistema foi estudada com mais detalhes utilizando eletrodo CVNTC, mantendo-se as condições da análise anterior, obtendo-se a Figura 20 e Figura 21. Na Figura 20, inicialmente adicionou-se ao sistema SK (linha vermelha), o qual não apresentou sinal eletroquímico na faixa analisada, em seguida, adicionou-se GLI (linha verde), demonstrando que a interação entre GLI e SK não é capaz de promover sinal eletroquímico na faixa de potencial avaliada, em seguida, DOPA (linha azul) foi inserida no sistema, observando-se o sinal eletroquímico com as mesmas características dos estudos anteriores, o qual se deve a presença das espécies de DOPA e de GLI (anteriormente adicionado ao sistema), a última avaliação desta etapa do estudo, se deu com mais uma adição de GLI ao sistema (linha ciano), demonstrando aumento do sinal eletroquímico de DOPA e DOPA-GLI, indicativo de que a presença de SK não comprometeu o sistema DOPA-GLI.

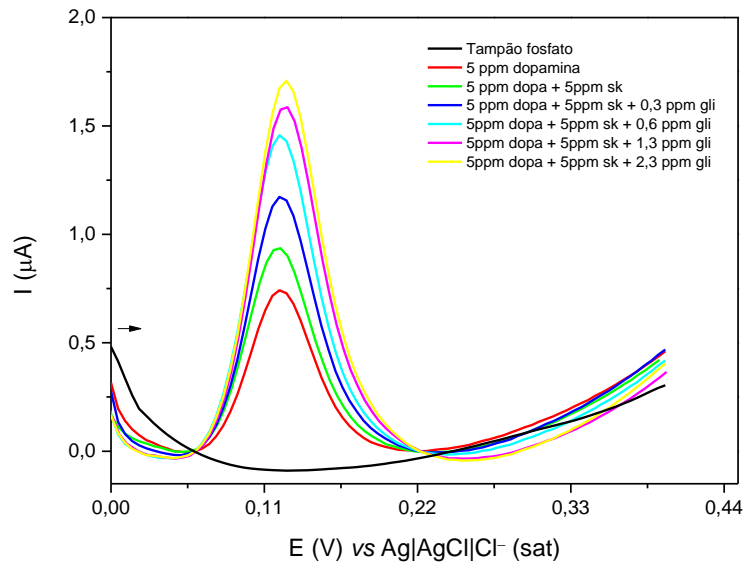
Figura 20 - Voltamogramas de SK, na presença de GLI e DOPA, utilizando eletrodo CVNTC.



Fonte: Autora, 2022.

De maneira similar a Figura 19, na Figura 21, utilizou-se a mesma ordem de inserção das substâncias no sistema, adicionando-se inicialmente DOPA (5 ppm – linha vermelha), a qual teve seu sinal eletroquímico intensificado na presença de SK (5 ppm – linha verde), o qual continuou apresentando maiores valores de corrente com adições sucessivas de GLI (0,3 a 2,3 ppm – linhas azul, ciano, rosa e amarelo), tais evidências demonstram o potencial da utilização de SK no desenvolvimento de sensor para GLI, baseado em DOPA, sendo utilizado nas estratégias posteriores em avaliações do analito em concentrações mais baixas.

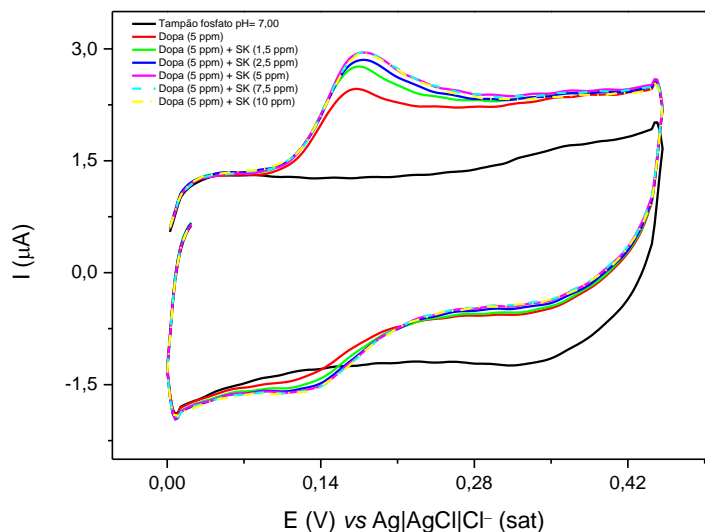
Figura 21 - Voltamogramas de DOPA e GLI na presença de SK, utilizando eletrodo CVNTC.



Fonte: Autora, 2022.

Tendo observado que a adição de SK ao sistema permite aumento da intensidade de sinal de DOPA, foi realizado estudo utilizando VC e eletrodo CV-NTC, para avaliação de qual a melhor proporção de adição entre DOPA e SK, obtendo-se a Figura 22, onde se observa que a adição de SK ao sistema proporcionou melhor intensidade do sinal de DOPA na proporção 1:1, após atingir essa relação estequiométrica, o excesso de SK no sistema não promoveu aumento da intensidade de sinal de DOPA, visto que este permaneceu constante. Deste modo, essa proporção foi utilizada nos estudos seguintes.

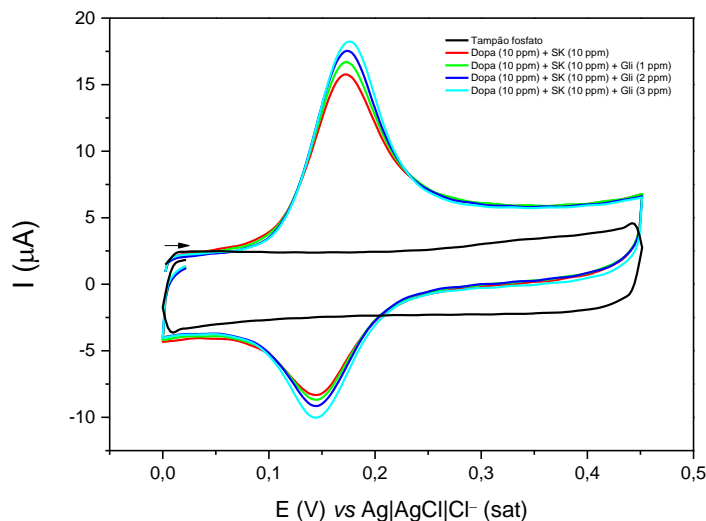
Figura 22 - Voltamogramas cíclicos de DOPA (5 ppm) em diferentes concentrações de SK (1,5 – 10 ppm), $v = 0,050 \text{ V s}^{-1}$, em Tampão fosfato pH = 7,00.



Fonte: Autora, 2022.

Visando avaliar a natureza da interação de SK, no sistema envolvendo DOPA e GLI, realizou-se estudo utilizando VC e eletrodo CV-NTC, obtendo-se a Figura 23, onde observa-se que apesar da presença de SK possibilitar aumento da intensidade do sinal do produto entre DOPA e GLI, não se trata de uma reação eletrocatalítica, visto que com o aumento da concentração de GLI, as correntes de pico catódica e anódicas aumentam de forma proporcional entre si (BARD et al., 2001). Dada a natureza física das nanopartículas de SK, provavelmente trata-se de interação catalítica na superfície de SK, favorecendo o processo de oxidação e redução da DOPA.

Figura 23 - Voltamograma cíclico de DOPA (10 ppm) e SK (10 ppm) em diferentes concentrações de GLI (1-3 ppm), $v = 0,050 \text{ V s}^{-1}$, em Tampão fosfato pH = 7,00.



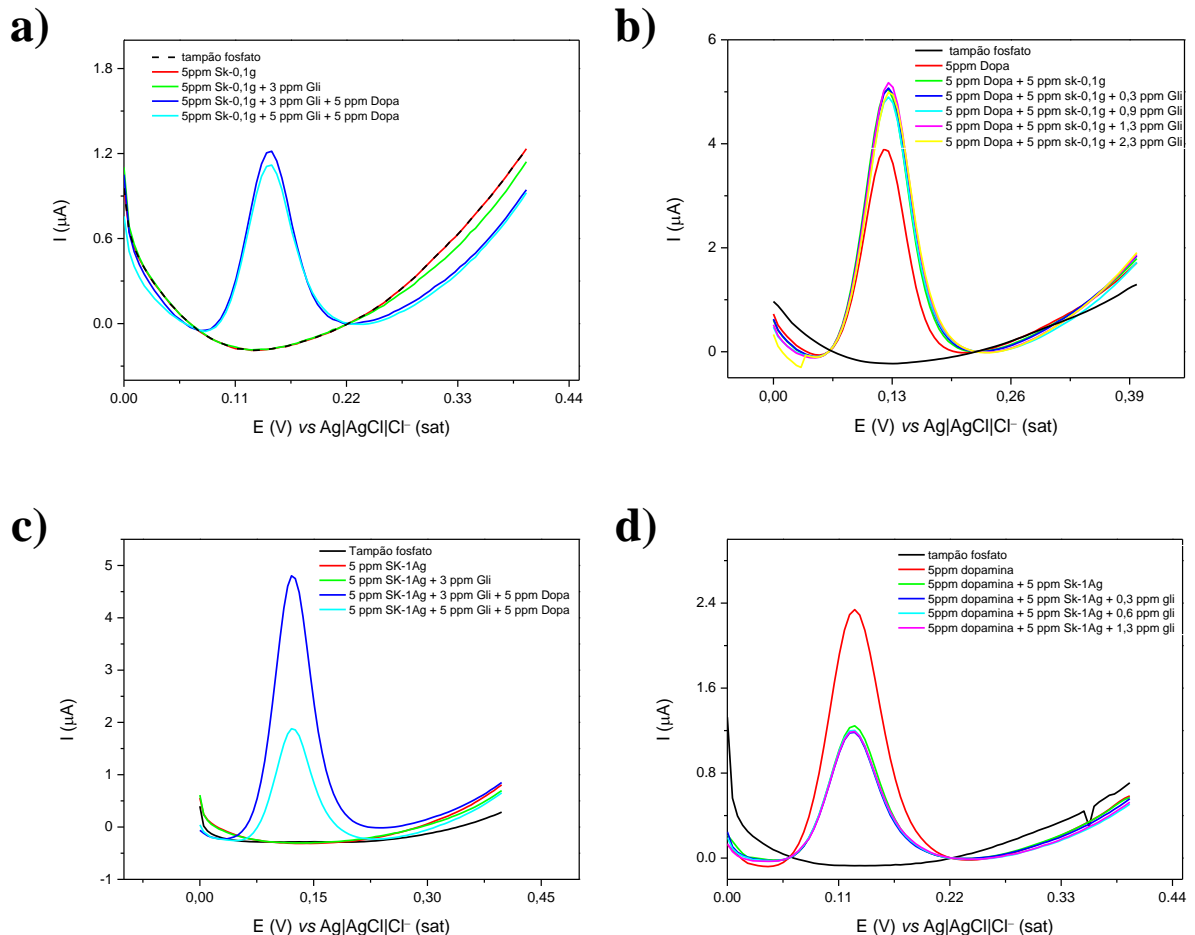
Fonte: Autora, 2022.

Observados os resultados promissores utilizando SK na ampliação do sinal de DOPA, foram avaliadas outras substâncias contendo SK em sua composição, constituído de nanopartículas de simonkolleite contendo as seguintes variações de prata: 0,1% e 1%, as quais serão identificadas como: SK-0,1%Ag, SK-1%Ag, respectivamente. As análises foram realizadas em sistema similar ao utilizado na Figura 20 e Figura 21, obtendo-se a Figura 24.

De acordo com a Figura 24 a); c), nenhuma das substâncias avaliadas apresentou sinal eletroquímico na faixa de potencial analisada (0,00 a 0,40 V *vs* Ag|AgCl|Cl⁻ (sat.)), estas também não apresentaram indicativo de interação com GLI que pudesse possibilitar a detecção direta deste analito, deste modo, a análise prosseguiu inserindo-se DOPA ao sistema, visando detecção indireta conforme já abordado, observa-se que de modo contrário ao observado no sistema da Figura 21, a utilização das substâncias contendo SK-Ag comprometeu a eficiência do sistema envolvendo DOPA-GLI, visto que não foi possível identificar diferença significativa de corrente de pico com a adição de GLI ao meio reacional, além da ausência de linearidade no sistema, inviabilizando sua determinação (Figura 24 b); d)), importante ressaltar que conforme utilizado substâncias com maior porcentagem de prata, maior foi a redução da intensidade do

sinal eletroquímico de DOPA, o que pode estar associado a fatores como interação entre DOPA e Ag na região eletroativa da primeira substância.

Figura 24 - Avaliação do sistema DOPA-GLI com uso de diferentes substâncias, em a) e b) SK-0,1%Ag, c) e d) SK-1%Ag.



Fonte: Autora, 2022.

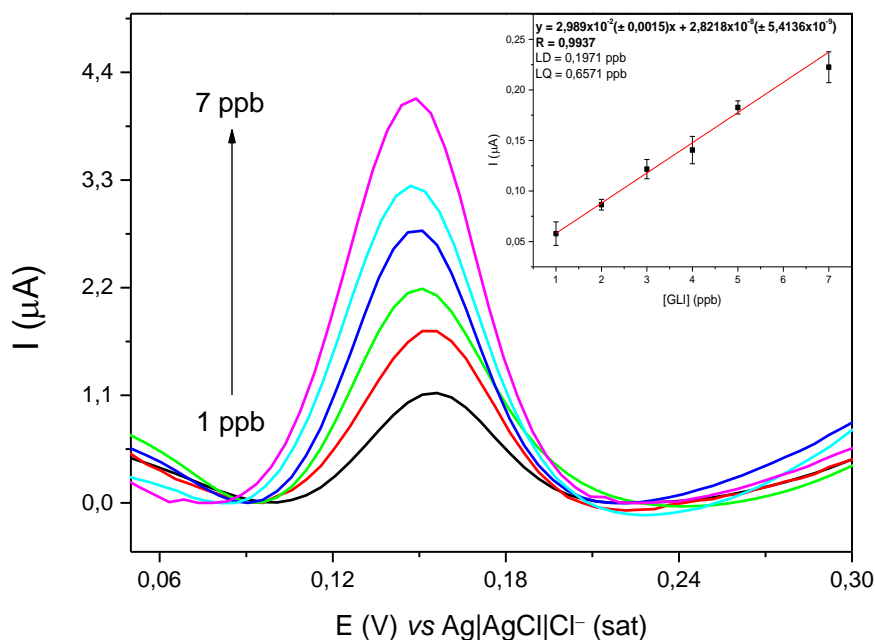
Através das inferências realizadas a partir da Figura 21 e Figura 24, a utilização de SK no sistema se mostra de maior interesse a proposta do sensor.

5.1.5 Avaliação do sensor eletroquímico para determinação de GLI

Após a otimização dos parâmetros abordados nos tópicos anteriores, desenvolveu-se curva analítica do sistema em função da oxidação do produto DOPA-GLI na presença de SK, utilizando-se eletrodo de CV-NTC, VPD, solução tampão fosfato pH = 7,00, as concentrações de DOPA e SK foram fixas em 2 ppm, obtendo-se faixa linear de resposta de GLI de 1 a 7 ppb

(Figura 25). O sistema demonstrou reprodutibilidade e linearidade, obtendo-se os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) de 0,1971 ppb e 0,6571 ppb, respectivamente.

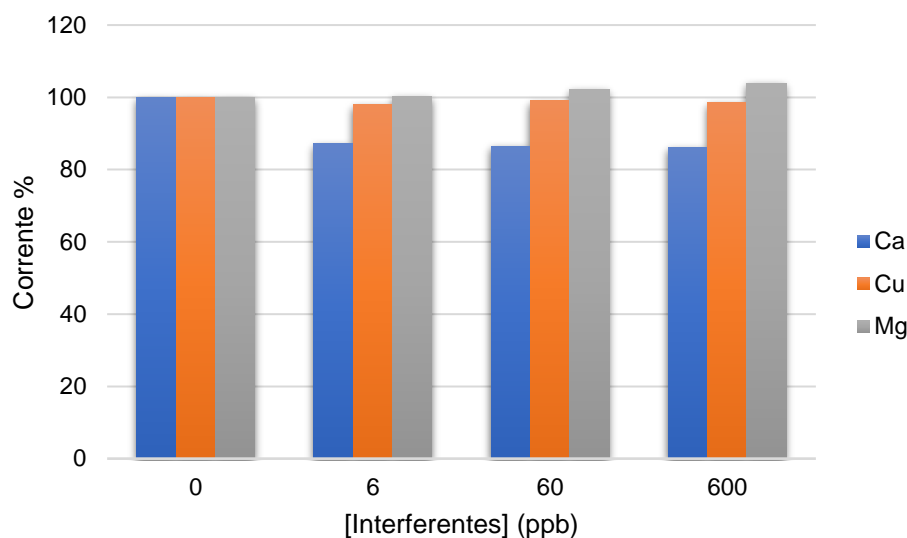
Figura 25 - Voltamogramas relacionados a oxidação de DOPA na presença de SK, em diferentes concentrações de GLI, utilizando eletrodo CV-NTC, em tampão fosfato pH = 7,00 e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$, regressão linear da corrente de pico versus concentração de GLI.



Fonte: Autora, 2022.

A eficiência do método desenvolvido foi avaliada utilizando amostra de GLI em solo, nessa matriz a presença de GLI é amplamente documentada constituindo uma importante fonte de contaminação ambiental. Visando avaliar espécies químicas que costumam estar presentes em amostras de solo e que podem interferir no sinal de oxidação resposta em relação a GLI, foram avaliadas as espécies Ca^{2+} , Mg^{2+} e Cu^{2+} , para esta avaliação utilizou-se concentrações de DOPA e SK fixas em 2 ppm, e GLI (7 ppb), quanto as espécies Ca^{2+} , Mg^{2+} e Cu^{2+} as concentrações avaliadas foram 6 ppb, 60 ppb e 600 ppb (Figura 26).

Figura 26 - Desempenho do sensor desenvolvido para quantificação de GLI (7 ppb), frente a presença de Ca^{2+} , Cu^{2+} e Mg^{2+} em tampão fosfato pH = 7,00.



Fonte: Autora, 2022.

Os íons Ca^{2+} foram os que demonstraram maior interferência na análise de GLI, sendo responsáveis por redução de sinal em torno de 13,17%, vale ressaltar que essa redução se manteve estável apesar do aumento da concentração de Ca^{2+} de 6 a 600 ppb. Diversos estudos têm consolidado a ação antagonista dos íons Ca^{2+} ao glifosato, a qual está relacionada a formação de complexos ou precipitações de baixa solubilidade entre essas espécies, em vegetais estima-se que o uso de GLI reduz severamente a concentração de cálcio nas folhas e sementes, interferindo no transporte de cálcio das raízes a parte superior dos vegetais (CAKMAK et al., 2009).

Quanto a presença de Cu^{2+} , este foi capaz de promover redução da intensidade do sinal de até 2%, o que demonstra um ótimo desempenho desse sistema, em outras metodologias eletroquímicas é relatado que a presença de cobre como interferente inviabiliza a determinação eletroquímica de GLI, sabe-se que o cobre é capaz de promover a formação de complexo estável com GLI, essa via é amplamente explorada como sonda de detecção (MBOKANA; DEDZO; NGAMENI, 2020).

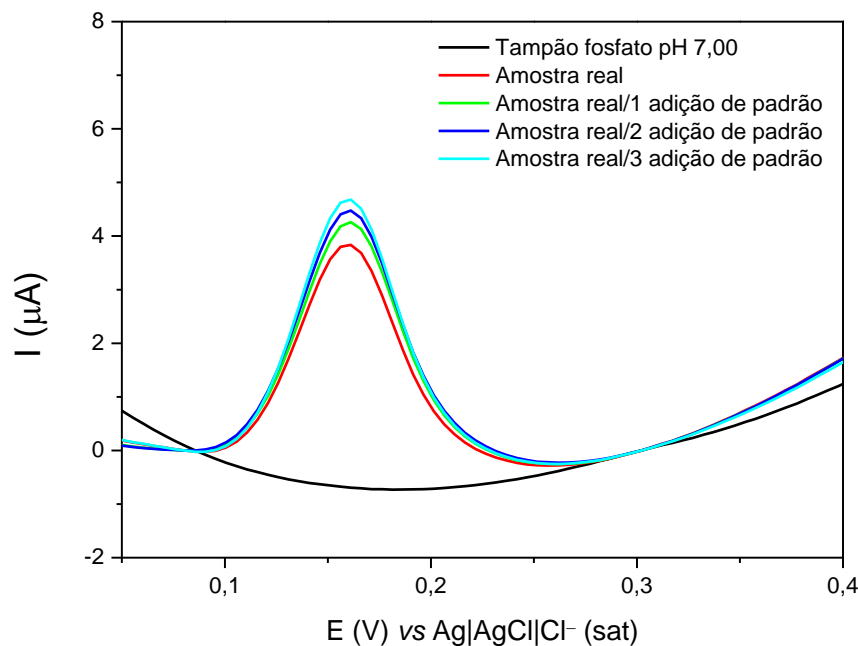
Contrariando o comportamento observado pelas espécies anteriores, a adição de íons Mg^{2+} ao sistema promoveu efeito sinérgico na intensidade do sinal de GLI, observando-se

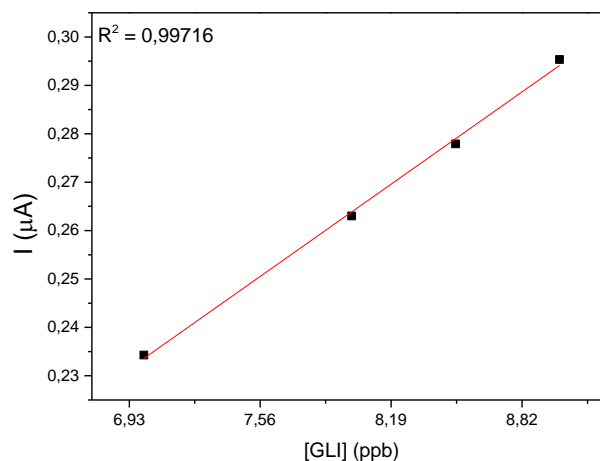
aumento de até 4%, resultado satisfatório em relação ao encontrado no trabalho de MBOKANA; DEDZO; NGAMENI, (2020), onde a adição de Mg^{2+} ao sistema promoveu redução de até 29% da intensidade de sinal do glifosato. O magnésio também apresenta afinidade para formação de complexos de baixa solubilidade junto ao GLI, não encontrando-se evidências do efeito sinérgico na presença desta espécie, o que pode estar relacionada a interação com DOPA e/ou SK no sistema (CAKMAK et al., 2009).

Para avaliação do desempenho do sistema para determinação de GLI, utilizou-se uma amostra de solo para sua determinação. Permitindo avaliar a quantidade deste analito absorvida na amostra através do método de adição de padrão, na Figura 27 é possível observar uma das verificações analisadas, a qual apresentou ótima linearidade ($R^2 = 0,99716$), onde de 10 ppb adicionados à amostra de solo, observou-se a presença de 6,894 ppb no sobrenadante analisado, possivelmente 3,1006 ppb ficaram adsorvidos na amostra de solo. Repetindo-se a análise 3 vezes, observou-se apenas variação de 1,5% da quantidade de glifosato adsorvido nesta amostra de solo.

Figura 27 – a) Voltamogramas obtidos através da análise de amostra real de solo e adição de padrão de GLI, utilizando CV-NTC, DOPA (2 ppm), SK (2 ppm) em tampão fosfato e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$, b) Regressão linear da intensidade de sinal vs concentração de GLI obtida através da análise de solo e adição de padrão.

a)



b)

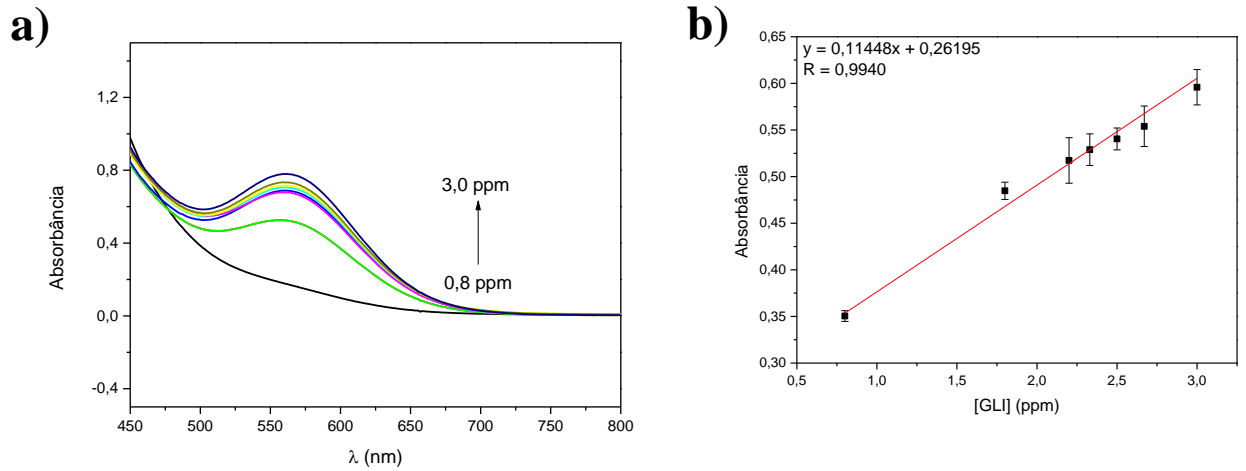
Fonte: Autora, 2022.

Com base na resposta de oxidação e a regressão linear obtida pelas adições de GLI no sistema contendo SK e DOPA, obteve-se um sistema promissor na avaliação de GLI em amostra de solo, possibilitando rastreamento de baixas concentrações desse analito, demonstrando êxito no desenvolvimento do sensor.

5.1.6 Validação do método

Visando avaliar a eficiência do método desenvolvido no presente trabalho, utilizou-se metodologia consolidada na literatura para avaliação da amostra real de solo analisada via eletroquímica, tal procedimento emprega a técnica de espectroscopia na região do visível, através de metodologia de BHASKARA; NAGARAJA, (2006). O qual possibilitou obtenção de curva analítica apresentada na Figura 28, para viabilidade de avaliação da amostra real e compatibilidade com a faixa linear do método utilizado, realizou-se adição de padrão a amostra.

Figura 28 - a) Espectros na região do visível, na avaliação de GLI na presença de ninidrina e molibdato de sódio sob aquecimento, b) curva de calibração de GLI.



Fonte: Autora, 2022.

A avaliação da amostra de solo utilizando o método padrão possibilitou quantificação de GLI, obtendo-se 6,862 ppb, enquanto o método eletroquímico desenvolvido encontrou 6,894 ppb. Os resultados foram comparados estatisticamente através do teste t Student (95%), o qual indicou que os métodos são estatisticamente semelhantes, visto que, o método desenvolvido nesse trabalho apresentou intervalo de confiança de 6,86 a 6,93 ppb, englobando assim o resultado encontrado através da metodologia padrão. Comparando os resultados do sensor desenvolvido, com outros trabalhos publicados utilizando técnicas eletroquímicas obtêm-se a Tabela 8.

Tabela 8 – Uso métodos eletroquímicos para a quantificação de glifosato e respectivos limites de detecção e quantificação.

Matriz	Resíduo	Eletrodo	Sonda	Técnica	LD (ppb)	LQ (ppb)	Autor
Água/ Pepino	GLI	Ouro + PIM - Polipirrol	$K_3[Fe(CN)_6]$	VPD*	0,27	-	ZHANG et al., (2017)
Água/ Solo	GLI	Carbono serigrafado + NP Ag + com oxido de grafeno	Enzima fosfatase ácida	CronA*	15	45	BUTMEE et al., (2021)
Água/ Suco de laranja	GLI	Pasta de carbono (Biochar)	CuHPc*	VOQ*	3,38	-	WONG et al., (2021)
Cerveja	GLI	Carbono	MBs* + Gli-HRP*	CronA*	0,005	0,030	BETTAZZI et al., (2018)
Água/ Solo	GLI	Gráfito (Lápis)	Fibra oca + MWCNTs* +LI*+CuO	VPD*	0,21	0,73	GHOLIVAN D; AKBARI; NOROUZI, (2018)
Solo	GLI	CV- MWCNTS*	Dopamina + SK*	VPD*	0,1971	0,6571	Este trabalho

*CronA – Cronoamperometria

*CuHPc – Cobre (II) 1,2,3,4,8,9,10,11,15,16,17,18,22,23,24,25-hexadecafluoro-29H,31 ftalocianina

*CuO – Nanopartículas de óxido de cobre

*CV – carbono vítreo

*Gli-HRO – Glifosato conjugado com peroxidase de rábano

*LI – Líquido iônico 1-butil-3-metil imidazólio hexafluoro fosfato ([bmin] [PF₆]))

*MBs – Esferas magnéticas modificadas com IgG anti-glifosato

*MWCNTS – Nanotubos de paredes múltiplas

*SK - Simonkollite

*VPD – Voltametria de Pulso Diferencial

*VOQ – Voltametria de Onda Quadrada

Fonte: Autora, 2022.

Podemos observar que este método apresenta sensibilidade compatível com outros trabalhos e com as necessidades de mercado para monitoramento em diversas matrizes, além de apresentar vantagens como fácil preparação, baixo custo e rapidez, tornando-se uma opção interessante no monitoramento de GLI em diversas matrizes. O sistema apresenta ainda perspectivas como possibilidade de portabilidade e miniaturização.

6. CONCLUSÃO

Este trabalho propôs o desenvolvimento de um sensor eletroquímico para análise de GLI em amostras ambientais, este analito não apresentou sinal eletroquímico em faixa de potencial que permita sua determinação por eletrodos não tóxicos, deste modo, avaliou-se o uso de DOPA como agente sonda para determinação indireta. A interação entre GLI e DOPA foi avaliada via espectrofotometria no UV-vis, e espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) e por técnicas eletroquímicas, sendo proposto um mecanismo para a interação envolvida, mostrando-se uma opção viável para determinação eletroquímica do analito.

Observou-se que a utilização de eletrodo de trabalho de CV em sistema envolvendo DOPA apresenta transporte de massa de natureza adsortiva, sendo relevante a modificação do eletrodo com NTC. Avaliou-se a melhor faixa de pH para utilização do sistema DOPA e GLI, através dos meios: tampão acetato pH = 4,50; tampão fosfato pH = 7,00 e tampão borato pH = 10,00, destes, a utilização de tampão fosfato pH = 7,00 apresentou maior intensidade de sinal, possibilitando maior sensibilidade, tornando-se a melhor opção entre as faixas avaliadas.

Analisou-se a utilização de substância que possibilite aumento de sensibilidade através do uso de nanopartículas de SK, o qual se mostrou viável dada ao aumento do sinal eletroquímico de DOPA, apresentando resultados promissores utilizando eletrodo de CV e eletrodo de CV-NTC, também foram avaliados a utilização de SK com diferentes concentrações de Ag: 0,1% e 1%, os quais quando adicionados em solução no sistema contendo DOPA e GLI promoveram redução na intensidade de pico eletroquímico de DOPA, indicando que a utilização de SK se mostra mais interessante ao sistema.

Foi otimizada a proposta para utilização de SK em relação a DOPA, obtendo-se efeito sinérgico eletroquímico ao utilizar proporção 1:1, sendo adotada essa relação como ideal. Observou-se que a utilização de SK no sistema envolvendo DOPA-GLI não é capaz de promover efeito eletrocatalítico, apesar de observado aumento da intensidade de sinal dada a presença dessa substância no sistema.

O uso de eletrodo CV-NTC em tampão fosfato pH = 7,00, VPD, DOPA e SK (2 ppm), proporcionou obtenção de método com faixa linear resposta de GLI de 1 a 7 ppb. O sistema demonstrou repetibilidade e linearidade ($R = 0,9937$), obtendo-se LD e LQ de 0,1971 ppb e

0,6571 ppb, respectivamente. Este sistema foi avaliado quanto a influência das seguintes espécies interferentes: Ca^{2+} , Mg^{2+} e Cu^{2+} , em concentrações que variaram de 6 a 600 ppb, em GLI 7 ppb. Observando-se redução de até 13% (Ca^{2+}), 2% (Cu^{2+}) e 4% (Mg^{2+}), revelando resultado satisfatório em relação a outras metodologias eletroquímicas.

O método permitiu detecção de GLI em amostra de solo fortificada, observando-se a presença de 6,894 ppb, e foi validado pela utilização de método que envolve espectroscopia na região do visível, apresentando médias que não diferem estatisticamente (Teste t Student 95%), apresentando-se como uma proposta promissora de baixo custo e fácil preparação na avaliação de GLI em amostras ambientais.

7. PERSPECTIVAS

- Isolar os produtos das reações eletroquímicas e verificar as propostas de mecanismo através da análise dos produtos obtidos por eletrólise, seguida de identificação em espectrômetro de massas;
- Avaliação do comportamento de AMPA ao mesmo sistema;
- Utilização do método para avaliação de outras matrizes ambientais.

8. REFERÊNCIAS

- AGENCY, U. S. E. P. **Glyphosate**. Disponível em: <<https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/glyphosate>>. Acesso em: 15 ago. 2021.
- ALOIZOU, A. et al. Pesticides , cognitive functions and dementia : A review. **Toxicology letters**, v. 326, n. December 2019, p. 31–51, 2020.
- AMARANTE JUNIOR, O. P. DE et al. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 589–593, 2002.
- ANDRÉ, D.; GE, X. In vivo NMR investigations of glyphosate influences on plant metabolism. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 292, p. 59–72, 2018.
- ARAÚJO, A. S. et al. Produtividade do capim-marandu e alterações químicas do solo submetido a doses de dejetos líquidos de bovinos. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 54, n. 3, p. 235–246, 2011.
- ARKAN, T.; I. MOLNÁR-PERL. The role of derivatization techniques in the analysis of glyphosate and aminomethyl-phosphonic acid by chromatography. **Microchemical Journal**, v. 121, p. 99–106, 2015.
- BARD, A. J. et al. **Electrochemical methods - Fundamentals and Applications**. 2^a edição ed. New York, Chichester, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto.: John Wiley & Sons, INC, 2001.
- BENBROOK, C. Shining a light on glyphosate-based herbicide hazard, exposures and risk: Role of non-hodgkin lymphoma litigation in the USA. **European Journal of Risk Regulation**, v. 11, n. 3, p. 498–519, 2020.
- BETTAZZI, F. et al. Glyphosate Determination by Coupling an Immuno-Magnetic Assay with Electrochemical Sensors. **Sensors**, v. 18, n. 2965, p. 1–12, 2018.

BHASKARA, B. L.; NAGARAJA, P. Direct Sensitive Spectrophotometric Determination of Glyphosate by Using Ninhydrin as a Chromogenic Reagent in Formulations and Environmental Water Samples. **Helvetica Chimica Acta**, v. 89, p. 2686–2693, 2006.

BOMBARDI, L. M. **Geografia do uso de agrotóxicos no Brasil e conexões com a União Europeia**. 1 edição ed. São Paulo: FFLCH - USP, 2017.

BRAGA, A. R. C. et al. Global health risks from pesticide use in Brazil. **Nature Food**, v. 1, n. 6, p. 312–314, 2020.

BRASIL. **Boletim anual de produção, importação, exportação e vendas de agrotóxicos no Brasil**. Brasília : [s.n.]. Disponível em: <http://ibama.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=594&Itemid=54>. Acesso em: 27 fev. 2022.

BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. **Electroquímica - Princípios, métodos e aplicações**. 1ª edição, ed. Coimbra: Livraria Almedina, 1996.

BROVINI, E. M. et al. Three-bestseller pesticides in Brazil: Freshwater concentrations and potential environmental risks. **Science of the Total Environment**, v. 771, 2021.

BUTMEE, P. et al. Enzymatic electrochemical biosensor for glyphosate detection based on acid phosphatase inhibition. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 413, p. 5859–5869, 2021.

CAKMAK, I. et al. Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, manganese, magnesium, and iron in non-glyphosate resistant soybean. **European Journal of Agronomy**, v. 31, n. 3, p. 114–119, out. 2009.

CAMACHO, A.; MEJÍA, D. The health consequences of aerial spraying illicit crops: The case of Colombia. **Journal of Health Economics**, v. 54, p. 147–160, 2017.

CASTILHOS, N. DE et al. Science of the Total Environment Glyphosate and its toxicology : A scientometric review. **Science of the Total Environment**, v. 733, p. 139359, 2020.

COELHO, F. E. A. et al. Brazil unwisely gives pesticides a free pass. **Science**, v. 365, n. 6453, p. 552–553, 2019.

CONAMA, C. N. DO M. AM. RESOLUÇÃO CONAMA no 396, de 3 de abril de 2008. **Diário Oficial da União**, p. 308–318, 2008.

CRUZ, R. A. et al. Glyphosate ban in Mexico: potential impacts on agriculture and weed management. **Society of Chemical Industry**, v. 77, n. March, p. 3820–3831, 2021.

CUI, R. et al. Determination of Fe³⁺ upon Special “ Upconversion Luminescence ” of Dopamine. **American Chemical Society**, v. 4, p. 9918–9924, 2019.

DHINAKARAN, V. et al. Point-of-care applications with graphene in human life. **Comprehensive Analytical Chemistry**, v. 91, p. 235–262, 1 jan. 2020.

DO, M. H. et al. Chitosan-Based Nanocomposites for Glyphosate Detection Using Surface Plasmon Resonance Sensor. **Sensors**, v. 20, n. 5942, p. 1–19, 2020.

DONLEY, N. The USA lags behind other agricultural nations in banning harmful pesticides. **Environmental Health: A Global Access Science Source**, v. 18, n. 1, p. 1–12, 2019.

ECK, P. **Recombinant DNA Technologies in Food**. Third Edit ed. [s.l.] Elsevier, 2012.

EDDLESTON, M. Poisoning by pesticides. **Medicine (United Kingdom)**, v. 48, n. 3, p. 214–217, 2020.

EUROPEAN COMMISSION. **Status of glyphosate in the EU**. Disponível em: <faq: Plan zum Glyphosat-Ausstieg>. Acesso em: 15 ago. 2021.

FENG, D.; SORIC, A.; BOUTIN, O. Treatment technologies and degradation pathways of glyphosate: A critical review. **Science of the Total Environment**, v. 742, p. 140559, 2020.

FERREIRA, C. A. **COMPLEXOS DE DOPAMINA COM ALBUMINA COMO MODELO PARA ETIQUETAGEM ELETROQUÍMICA DE PROTEÍNAS**

DESPROVIDAS DE CENTROS REDOX METÁLICOS. [s.l.] Universidade Federal de Alfenas, 2010.

FIORI, L. M. et al. **Using Epigenetic Tools to Investigate Antidepressant Response.** 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2018. v. 158

GANDHI, K. et al. Exposure risk and environmental impacts of glyphosate : Highlights on the toxicity of herbicide co-formulants. **Environmental Challenges**, v. 4, n. May, p. 100149, 2021.

GERBREDERS, V. et al. Nanostructure-based electrochemical sensor: Glyphosate detection and the analysis of genetic changes in rye DNA. **Surfaces and Interfaces**, v. 26, n. March 2020, p. 101332, 2021.

GHOLIVAND, M.; AKBARI, A.; NOROUZI, L. Sensors and Actuators B: Chemical Development of a novel hollow fiber-pencil graphite modified electrochemical sensor for the ultra-trace analysis of glyphosate. **Sensors & Actuators: B. Chemical**, v. 272, n. January, p. 415–424, 2018.

GOMES, A.; FILHO, D. S. Funcionalização de nanotubos de carbono. **Química Nova**, v. 30, n. 7, p. 1695–1703, 2007.

GOWD, V. et al. Ethyl carbamate: An emerging food and environmental toxicant. **Food Chemistry**, v. 248, n. November 2017, p. 312–321, 2018.

HELDT, H.-W.; PIECHULLA, B. Nitrate Assimilation Is Essential for the Biosynthesis of Organic Matter. **Plant Biochemistry**, p. 255–283, 1 jan. 2021.

II, N. et al. Spectrophotometric Detection of Glyphosate in Water by Complex Formation between Bis. **Water**, v. 11, n. 719, p. 1–14, 2019.

JACQUET, F. et al. The micro-economic impacts of a ban on glyphosate and its replacement with mechanical weeding in French vineyards. **Crop Protection**, v. 150, n. June 2021, p. 105778, 2022.

JESUS, L. T. et al. Experimental and Theoretical Studies of Glyphosate Detection in Water by an Europium Luminescent Complex and Effective Adsorption by HKUST - 1 and IRMOF - 3. 2020.

LA-SCALEA, M. A. et al. Redução voltamétrica de artemisinina e sua interação com grupo heme (hemina). v. 43, 2007.

LEMKE, N. et al. Glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in urine of children and adolescents in Germany – Human biomonitoring results of the German Environmental Survey 2014–2017 (GerES V). **Environment International**, v. 156, 2021.

LEONG, W. H. et al. Application, monitoring and adverse effects in pesticide use: The importance of reinforcement of Good Agricultural Practices (GAPs). **Journal of Environmental Management**, v. 260, n. July 2019, p. 109987, 2020.

LINS, S. DE L. **Síntese de caracterização de lipossomas funcionalizados com LQM168 e Quantum Dots**. [s.l.] Universidade Federal de Alagoas, 2020.

LÓPEZ, T. et al. Treatment of parkinson's disease: Nanostructured sol-gel silica-dopamine reservoirs for controlled drug release in the central nervous system. **International Journal of Nanomedicine**, v. 6, n. 1, p. 19–31, 2011.

LÓPEZ-CASTAÑOS, K. A. et al. Indirect Quantification of Glyphosate by SERS Using an Incubation Process With Hemin as the Reporter Molecule: A Contribution to Signal Amplification Mechanism. **Frontiers in Chemistry**, v. 8, n. December, p. 1–13, 2020.

LYKOGIANNI, M. et al. Science of the Total Environment Do pesticides promote or hinder sustainability in agriculture? The challenge of sustainable use of pesticides in modern agriculture. **Science of the Total Environment**, v. 795, p. 148625, 2021.

MARTIN-REINA, J. et al. Validation of a simple method for the determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in human urine by UPLC-MS/MS. **Microchemical Journal**, v. 170, p. 106760, 2021.

MBOKANA, J. G. Y.; DEDZO, G. K.; NGAMENI, E. Grafting of organophilic silane in the interlayer space of acid-treated smectite: Application to the direct electrochemical detection of glyphosate. **Applied Clay Science**, v. 188, 1 abr. 2020.

MELLO, A. L. V. F. C. C.; BALVEDI, R. P. A.; GOULART, L. P. R. L. R. Glyphosate detection: methods, needs and challenges. **Environmental Chemistry Letters**, v. 17, n. 1, p. 291–317, 2019.

MESNAGE, R. et al. Potential toxic effects of glyphosate and its commercial formulations below regulatory limits. **Food and Chemical Toxicology**, v. 84, p. 133–153, 1 out. 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE;; TRABALHADOR., S. S. DE V. EM D. DE V. EM S. A. E S. DO. **Relatório Nacional de Vigilância em Saúde de Populações Expostas - Agrotóxicos**. 1ª edição ed. Brasília/DF: [s.n.].

MINISTÉRIO DA SAÚDE;AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **RESOLUÇÃO - RDC Nº 441, DE 2 DE DEZEMBRO DE 2020**. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-441-de-2-de-dezembro-de-2020-293190758>>. Acesso em: 14 ago. 2021.

MINISTÉRIO FEDERAL ALEMÃO PARA O MEIO AMBIENTE, C. DA N. E S. N. **FAQ: Plano para eliminar o glifosato**. Disponível em: <<https://www.bmu.de/themen/wasser-ressourcen-abfall/boden-und-altlasten/bodenschutz-und-altlasten-worum-geht-es/faq-plan-zum-glyphosat-ausstieg>>.

MOMODU, D. Y. et al. Simonkolleite-graphene foam composites and their superior electrochemical performance. **Electrochimica Acta**, v. 151, p. 591–598, 2015.

MUÑOZ, R. et al. Determination of glyphosate in soil samples using CdTe / CdS quantum dots in capillary electrophoresis. **Microchemical Journal**, v. 146, n. January, p. 582–587, 2019.

NARENDERAN, S. T.; MEYYANATHAN, S. N.; BABU, B. Review of pesticide residue analysis in fruits and vegetables. Pre-treatment, extraction and detection techniques. **Food Research International**, v. 133, n. November 2019, p. 109141, 2020.

ORTIZ-FRADE, L. A.; TORRES, E.; CAHUANTZI-MUN, S. L. Electrochemical Biosensor for Sensitive Quantification of Glyphosate in Maize Kernels. **Electroanalysis**, v. 31, p. 927–935, 2019.

PADILLA, J. T.; SELIM, H. M. **Environmental behavior of glyphosate in soils**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2020. v. 159

PALANISWAMY, S. et al. Non-occupational exposure to pesticides and health markers in general population in Northern Finland: Differences between sexes. **Environment International**, v. 156, n. July, 2021.

PAULA SALATI. **Após novo recorde, Brasil encerra 2021 com 562 agrotóxicos liberados, sendo 33 inéditos.**

PAUMGARTTEN, F. J. R. Pesticides and public health in Brazil. **Current Opinion in Toxicology**, v. 22, p. 7–11, 2020.

PIRES, N. L. et al. Determination of glyphosate , AMPA and glufosinate by high performance liquid chromatography with fluorescence detection in waters of the Santarém Plateau , Brazilian Amazon. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 0, n. 0, p. 1–9, 2020.

PORTIER, C. J. A comprehensive analysis of the animal carcinogenicity data for glyphosate from chronic exposure rodent carcinogenicity studies. **Environmental Health**, v. 19, n. 18, p. 1–18, 2020.

RUSCH, M.; CAMERON, G.; HOHGARDT, K. **Pesticide mrls and impact on global trade**. [s.l.] Elsevier, 2018. v. 1

SARKER, A. et al. Remediation of chemical pesticides from contaminated sites through potential microorganisms and their functional enzymes: Prospects and challenges. **Environmental Technology and Innovation**, v. 23, p. 101777, 2021.

SCHÜTZE, A. et al. Chemosphere of glyphosate and other organophosphorus compounds in human urine via ion chromatography isotope dilution tandem mass spectrometry. **Chemosphere**, v. 274, p. 129427, 2021.

SHUMILINA, E. et al. Determination of Glyphosate in Dried Wheat by ¹H-NMR Spectroscopy. **Molecules**, v. 25, n. 2014, p. 1–7, 2020.

SILVA, A. C. A. et al. Synergistic effect of simonkolleite with zinc oxide: Physico-chemical properties and cytotoxicity in breast cancer cells. **Materials Chemistry and Physics**, v. 266, 1 jul. 2021.

SILVA, L. V. DA. **Desenvolvimento de sensores eletroquímicos baseados em nanotubos de carbono e polímeros de ácido ferúlico e capsaicina para detecção e quantificação de 3-nitro-L-tirosina, epinefrina e dopamina**. [s.l.] Universidade Federal de Alagoas, 2017.

SILVER, M. K. et al. Prenatal exposure to glyphosate and its environmental degradate, aminomethylphosphonic acid (Ampa), and preterm birth: A nested case-control study in the protect cohort (puerto rico). **Environmental Health Perspectives**, v. 129, n. 5, p. 1–11, 2021.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 7. ed. [s.l.] John Wiley & Sons, INC, 2007.

SKOOG, WEST, HOLLER, C. **Fundamentos de química analítica**. 9^a edição ed. [s.l.] Cengage Learning, 2014.

SMITH, D. F. Q. et al. Glyphosate inhibits melanization and increases susceptibility to infection in insects. **PLoS Biology**, v. 19, n. 5, p. 1–35, 2021.

SPASSOV, T.; TZVETKOV, G.; LYUTOV, L. Novel spherical simonkolleite nanoparticles and their promotional effect on the thermal decomposition of ammonium perchlorate. **Vacuum**, v. 175, 1 maio 2020.

SUSTAINABLE PULSE. **Bayer Confirms End of Sale of Glyphosate-Based Herbicides for US Lawn & Garden Market**. Disponível em: <<https://sustainablepulse.com/2021/07/29/bayer-confirms-end-of-sale-of-glyphosate-based-herbicides-for-us-lawn-garden-market/#.YS-7BY5KjDf>>. Acesso em: 17 ago. 2021.

VALLE, A. L. et al. Application of zno nanocrystals as a surface-enhancer ftir for glyphosate detection. **Nanomaterials**, v. 11, n. 2, p. 1–14, 1 fev. 2021.

VAN BRUGGEN, A. H. C. et al. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. **Science of the Total Environment**, v. 616–617, p. 255–268, 2018.

WONG, A. et al. Voltammetric sensing of glyphosate in different samples using carbon paste electrode modified with biochar and copper (II) hexadecafluoro - 29H , 31 phtalocyanine complex. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 51, n. 5, p. 761–768, 2021.

ZAMBRANO-INTRIAGO, L. A. et al. Challenges in the design of electrochemical sensor for glyphosate-based on new materials and biological recognition. **Science of the Total Environment**, v. 793, p. 148496, 2021.

ZHANG, C. et al. A highly selective electrochemical sensor based on molecularly imprinted polypyrrole-modified gold electrode for the determination of glyphosate in cucumber and tap water. **Anal Bioanal Chem**, v. 409, p. 7133–7144, 2017.

ZHANG, H. et al. An ion chromatography tandem mass spectrometry (IC-MS/MS) method for glyphosate and amino methyl phosphoric acid in serum of occupational workers. **Microchemical Journal**, v. 170, n. July, p. 106614, 2021.

ZHANG, L. et al. Exposure to glyphosate-based herbicides and risk for non-Hodgkin lymphoma: A meta-analysis and supporting evidence. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 781, n. September 2018, p. 186–206, 2019a.

ZHANG, W. et al. A method for determining glyphosate and its metabolite aminomethyl phosphonic acid by gas chromatography-flame photometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1589, p. 116–121, 2019b.