

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA

Desenvolvimento de plataforma eletroquímica para análise
diferencial de herbicidas comerciais a base de glifosato

João Lucas Cunha Stutz

Monografia apresentada à coordenação do curso
de Ciências Agrárias da Universidade Federal de
Uberlândia para obtenção do grau de Bacharel
em Agronomia.

Uberlândia - MG
Dezembro - 2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA

Desenvolvimento de plataforma eletroquímica para análise diferencial de
herbicidas comerciais a base de glifosato

João Lucas Cunha Stutz

Orientadora: Profa. Dra. Renata Pereira Alves Balvedi
Instituto de Ciências Biomédicas – ICBIM
Laboratório de Nanobiotecnologia - INGEB

Coorientadora: Dra. Aline Teodoro de Paula
Laboratório de Nanobiotecnologia – INGEB

Homologado pela coordenação
do curso de Agronomia em

__/__/__

Coordenador do curso: Prof. Dr. José Magno Queiroz Luz

UBERLÂNDIA - MG
DEZEMBRO - 2016

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à minha família, por proporcionar todo o apoio e preparação; à Profa. Dra. Renata Balvedi, por toda dedicação, paciência e suporte ímpares investidos nos projetos e nos alunos; à Dra. Aline Teodoro de Paula, pelo auxílio final; à Camilla, pelo companheirismo e motivação; ao Laboratório de Nanobiotecnologia - INGEB-UFU, coordenado pelo prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho; ao Laboratório de Física INFIS-UFU coordenado prof. Prof. Dr. Noélcio Oliveira Dantas e Profa. Dra. Anielle Christine Almeida Silva; ao Prof. Dr. Jean Carlos Santos INBIO-UFU; a todos os colegas do grupo “NANOSENSORS”; ao Prof. Dr. Luciano Pereira Rodrigues, por seus conhecimentos em química; agradeço também as contribuições dos doutorandos Anderson Luis Valle (IBAMA) e Francielli C. Mello (ANVISA); à Mariana Stutz pelas amostras de Glifosato e ao Técnico Guilherme (INFIS), por ter realizado análises AFM.

RESUMO

Neste trabalho, foram abordados os estudos eletroquímicos relativos ao desenvolvimento de plataforma eletroquímica para análise diferencial de herbicidas comerciais a base de glifosato. Este estudo proporcionou metodologia eletroanalítica para determinação do herbicida glifosato comercial simulando a sua interação com nanocristais de óxido de zinco dopados com prata. Inicialmente, eletrodos screen-printed de ouro (BT220) foram selecionadas como plataformas e por meio de técnicas eletroanalíticas (voltametria de pulso diferencial) encontrou-se os valores de oxidação inerentes ao glifosato e seu componente comercial. O estudo inicial da interação entre glifosato e o microeletrodo de ouro foi feito em meio de tampão fosfato e em seguida o enriquecimento com NPs, além de imagens de microscopia de força atômica do processo de montagem do sensor. Os equipamentos (software PStTrace 4.1 e minipotenciostato PalmSens3) empenhados neste trabalho foram utilizados com sucesso na determinação de glifosato ($480\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) em amostras de água e análise de superfície o Microscópio de Força Atômica (AFM, Shimadzu) foi utilizado para quantificação e avaliação da rugosidade (R_q). A detecção de glifosato em amostras apresentou algumas vantagens, tais como, análise direta e rápida, ou seja, não são necessárias demoradas reações de derivatização da amostra; sem etapas de extração/limpeza da amostra;; baixo custo das análises, quando comparado aos preços dos reagentes de derivatização e instrumentação simples e de baixo custo.

Palavras-chave: glifosato, nanocristais, biossensores.

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
PPA	Potencial de periculosidade
GLY	Glifosato
CTC	Capacidade de troca de cátions
RR	Roundup Ready®
OMS	Organização Mundial De Saúde
SPR	Ressonância plasmônica de superfície
NMR	Ressonância nuclear magnética
IARC	International Agency for Research On Cancer
VC	Voltametria cíclica
VPD	Voltametria de pulso diferencial
NASS	National Agricultural Statistics Service
NCs	Nanocristais
ZnO	Óxido de Zinco
Ag	Prata
mA	Miliampéres
V	Volts
uL	Microlitros

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Etapas de reavaliação

Figura 2. Progressão em 20 anos da utilização do glifosato em lavouras de milho, algodão e soja

Figura 3. Via esquemática da rota metabólica de aminoácidos na planta e a interferência do glifosato (Fonte: Brasil Escola)

Figura 4. Esquema de diferenciação do herbicida sendo aplicado em pré-emergência e em pós-emergência.

Figura 5. Esquema que sugere técnicas de manejo para ação herbicida pós-emergente.

Figura 6. Glifosato e suas possíveis vias ambientais

Figura 7. A. Potenciostato PalmSens; B: Eletrodo screen-printed de ouro (BT220) com solução de TF; C: correlação do eletrodo de trabalho de 4mm a moeda de R\$1.

Figura 8. Microscópio de Força Atômica, Shimadsu para análises de superfície do eletrodo,.

Figura 9: Voltamograma apresentando as sucessivas oxidações do Glifosato comercial. A: Glifosato sem nanocristais ; B: Glifosato com nanocristais.

Figura 10: Cantilever do AFM sobre o eletrodo de ouro (DS BT220).

Figura 11: Análises de rugosidades em: A. eletrodo de ouro, B: eletrodo com glifosato, C: eletrodo com NCs e D: eletrodos de glifosato com os nanocristais.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificações quanto ao mecanismo de ação.

Tabela 2. Representação dos coeficientes de rugosidade de cada análise em AFM.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. JUSTIFICATIVA.....	08
3. OBJETIVOS.....	08
3.1. Objetivo geral	
3.2. Objetivos específicos	
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	09
4.1. Reagentes	
4.2. Etapas	
4.3. Eletrodos e Equipamentos	
4.4 Nanocristais	
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	11
6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS.....	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15

1. Introdução

O Brasil é o maior importador de agrotóxicos do mundo utilizando 350 mil toneladas/ano. Dentre estes produtos, estão definidas classes com a seguinte divisão: herbicidas, fungicidas, acaricidas, algicidas, larvicidas e inseticidas (INPEV, 2012). Na agricultura, os herbicidas são utilizados por interferirem na atividade biológica da planta e sua ação depende da absorção, translocação, metabolismo e sensibilidade da planta a este herbicida ou metabólitos. Um herbicida pode afetar várias redes metabólicas da planta, porém a primeira delas é a que caracteriza a sua ação. O simples contato do herbicida com as folhas ou no solo não seria o suficiente para iniciar a ação (FERREIRA et al., 2005).

Órgãos reguladores do governo federal realizam avaliações e testes em diversos produtos antes da liberação comercial. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) realiza a avaliação toxicológica, e em seguida o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) realiza avaliações de potencial de periculosidade (PPA), concedendo o registro para os mesmos.

Em 2015, a diretoria colegiada da ANVISA iniciou a reavaliação toxicológica de cinco ingredientes ativos de agrotóxicos utilizados no Brasil: glifosato, lactofen, abamectina, carbofurano e thiran. Esta reavaliação ainda está em andamento, sendo que algumas destas estão sob consulta pública, com exceção do glifosato (ANVISA, 2016).

Em 2013, foi desenvolvido um programa que avaliou mais de 12 mil amostras de alimentos (cereais, leguminosas, frutas, hortaliças e raízes, totalizando 25 tipos de alimentos) produzidos no Brasil. Estes itens foram escolhidos baseados nos itens consumidos pela população brasileira, representando 70% desses alimentos de origem vegetal. Em 2016, houve a liberação deste relatório elaborado pelo Programa de Análises de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), que concluiu que 99% das amostras dos alimentos analisados estão livres de resíduos de agrotóxicos de "risco agudo" para a saúde. O risco agudo está relacionado às intoxicações que podem ocorrer dentro de um período de 24 horas após o consumo do alimento que contenha resíduos. No entanto, as agências reguladoras reconhecem que há dificuldade no controle principalmente de quantidades excedentes aos níveis permitidos de defensivos tóxicos no meio ambiente e na análise residual destes em alimentos que exponha os seres vivos a exposição crônica.

A reavaliação toxicológica realizada de um ingrediente ativo de agrotóxico na saúde humana exige a análise minuciosa e detalhada de uma série de estudos toxicológicos, tanto protocolados na Anvisa pelas empresas registradas, quanto da literatura científica

publicamente disponível sobre o assunto. Além da análise dos resultados dos estudos, há avaliação conjunta das evidências (quantidade e qualidade científica dos estudos disponíveis) que farão parte da Nota Técnica de Reavaliação que é submetida à consulta pública. Neste momento, a sociedade contribui com a apresentação de evidências técnico-científicas adicionais que possam corroborar com a decisão final. Após a consulta pública, há análise e compilação das contribuições recebidas e elaboração de uma nota técnica final. O resultado da reavaliação realizada é discutido com o MAPA e o IBAMA durante a Reunião da Comissão de Reavaliação, prevista na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) e em conjunto a decisão é normatizada (Figura 1).

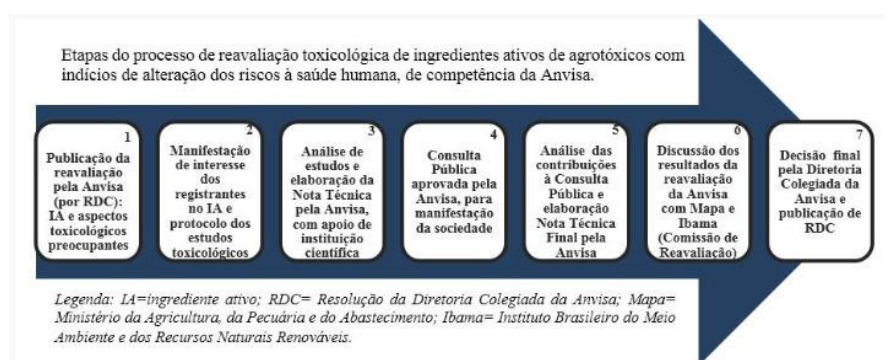


Figura 1. Etapas de reavaliação (Fonte: ANVISA)

Na Tabela 1, temos a classificação dos herbicidas quanto ao mecanismo de ação, sendo estes: herbicidas auxínicos ou mimetizadores de auxina; herbicidas inibidores do fotossistema I e II; herbicidas inibidores da protox; herbicidas inibidores do arranjo dos microtúbulos na mitose; herbicidas inibidores da ALS ou aahs; herbicidas inibidores da EPSPs; herbicidas inibidores da ACCase; herbicidas inibidores de pigmentos (OLIVEIRA JÚNIOR, 2011).

Tabela 1. Classificações quanto ao mecanismo de ação

Classificação quanto ao mecanismo de ação dos herbicidas		
Ação	Ingrediente ativo	Exemplo de culturas alvo
Mimetizadores de auxinas	2,4-D	Café, milho, cana-de-açúcar
Inibidores de fotossistema I e II	Atrazina, Paraquat	Milho, sorgo, cana-de-açúcar
Inibidores da PROTOX	Oxadiazon	Algodão, alho, arroz, citros
Inibidores da ALS	Oxasulfuron	Soja
Inibidores da EPSPs	Glifosato	Diversas culturas
Inibidores da ACCase	Setoxydim	Algodão, feijão, soja
Inibidores da mitose	Trifluralin	Amendoim, girassol, pimentão

Dentre estes, os herbicidas inibidores da EPSPs (glifosato) apresentam progressiva utilização nas últimas décadas (Figura 2).

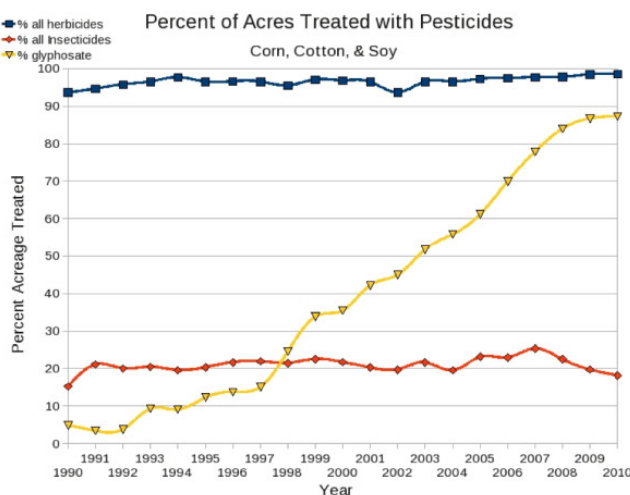


Figura 2. Progressão em 20 anos da utilização do glifosato em lavouras de milho, algodão e soja (Fonte: USDA: NASS, 2012).

O glifosato é absorvido pelo tecido vivo e translocado via floema através da planta para as raízes e rizomas. Sua atuação nos vegetais inibe a ação da enzima específica enolpiruvil shikimato-3-fosfato sintase (EPSP), impedindo a síntese de aminoácidos aromáticos (DANIELE et al., 1997) que são precursores de outras substâncias como alcalóides, flavonóides e lignina (AMARANTE JÚNIOR et. al., 2002). Sabe-se que após a aplicação do glifosato há uma redução acentuada nos níveis dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina (Phe), tirosina (Tyr) e triptofano (Trp), e as plantas tratadas com esses herbicidas param de crescer. Há também aumento acentuado na concentração de shikimato, precursor comum da rota metabólica desses três aminoácidos. O sítio de ação é a enzima EPSPsintase (5 enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintase). Glifosato inibe a EPSPsintase (EPSPS) por competição com o substrato PEP (fosfoenolpiruvato), evitando a transformação do shikimato 3-fosfato em corismato (5-enolpiruvilsikimato 3 -fosfato) (Figura 3).

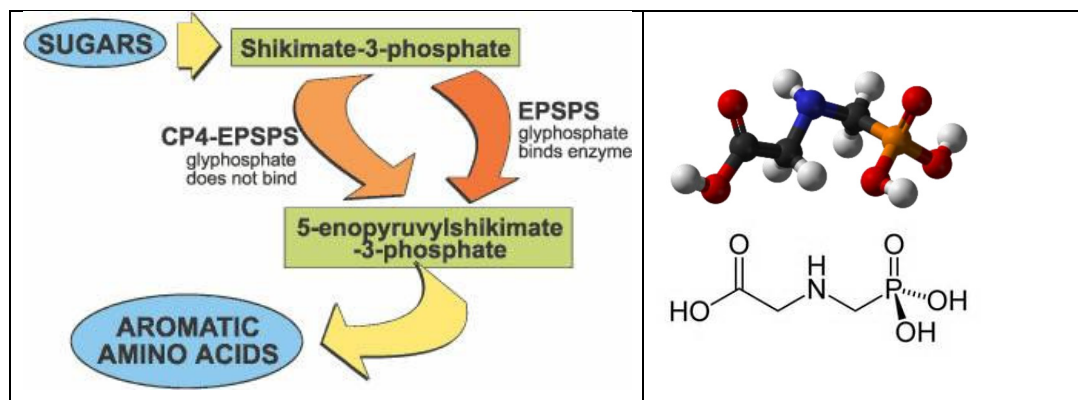


Figura 3. A. Via esquemática da rota metabólica de aminoácidos na planta e a interferência do glifosato **B.** Molécula do glifosato (Fonte: Brasil Escola)

A enzima EPSPsintase é sintetizada no citoplasma e transportada para o cloroplasto onde atua. O glifosato se liga a esta pela carboxila do ácido glutâmico (glutamina) na posição 418 da sequência de aminoácidos. A simples redução de aminoácidos e a acumulação de shikimato não explicam a ação final do herbicida. Acredita-se que a desregulação da rota do ácido shikímico resulta na perda de carbonos disponíveis para outras reações celulares na planta, uma vez que 20% do carbono das plantas é utilizado nessa rota metabólica, pois Phe, Tyr e Trp são precursores da maioria dos compostos aromáticos nas plantas. O glifosato reduz a síntese de fitoalexinas. Ocorre aumento da concentração em níveis tóxicos de nitrato, etileno, ácido cinâmico e outros compostos que aceleram a morte da planta (FERREIRA et al., 2005).

Os herbicidas apresentam diferentes respostas de absorção de acordo com o meio em que se encontram, variando, principalmente, com a CTC (capacidade de troca de cátions) do solo, quantidade de argila e matéria orgânica, atividade da argila presente e pH do meio. Das formas de aplicação do herbicida podemos verificar duas formas de ação a pré-emergente e a pós-emergente (Figura 4)



Figura 4. Esquema de diferenciação do herbicida sendo aplicado em pré-emergência e em pós-emergência. (Fonte: UOL)

O herbicida glifosato [N-(fosfonometil)glicina], é pós-emergente, sistêmico e não seletivo, podendo ser avaliado na árvore de recomendações (Figura 5).

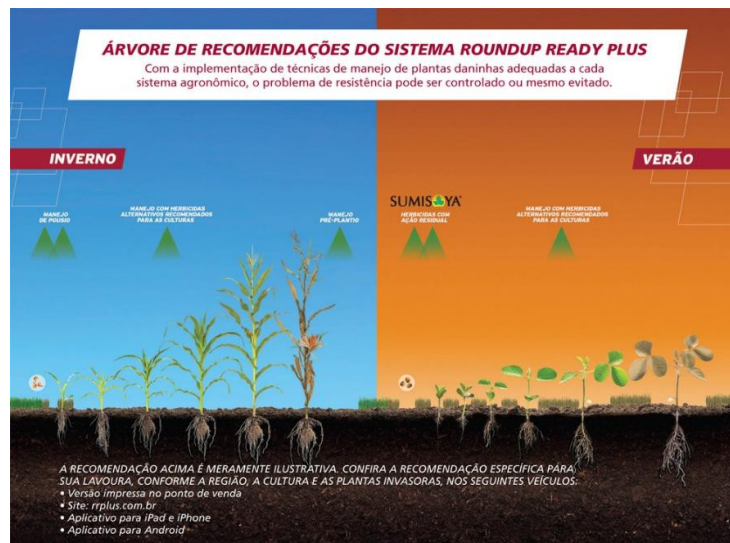


Figura 5. Esquema mostra a técnicas de manejo para ação herbicida pós-emergente. (Fonte: Docplayer)

Vale ressaltar que o glifosato foi descoberto em 1950, e patenteado em 1964 (U.S. 3160632 A) como um possível composto farmacêutico por ser um quelante químico, isto é, uma substância que fixa alguns minerais como o fósforo, o cálcio, o magnésio, o zinco ou o cobre, reduzindo a sua biodisponibilidade ou removendo-os. Sua ação farmacológica não é

definida e a sua eficiência agrícola só foi testada pela Monsanto (U.S. 3455675). (JUNIOR; SANTOS, 2002; SZÉKÁCS e DARVAS, 2012).

A molécula de glifosato está presente em diversas fórmulas comerciais e adquiriu grande popularidade após o lançamento de sementes Roundup Ready© pela multinacional Monsanto. A tecnologia RR torna a planta tolerante ao herbicida possibilitando maior eficiência no combate a ervas daninhas.

De acordo com Santos e colaboradores (2014), em 1998 glifosato era o sétimo pesticida mais comumente utilizado na agricultura nos EUA, o terceiro em áreas comerciais e industriais, e o segundo nas atividades domésticas e de jardinagem. De acordo com o U.S. Environmental Protection Agency (EPA), seu uso estimado é de 17-21 mil toneladas/ano.

O Glifosato poder ser utilizado no controle de ervas daninhas anuais e perenes, monocotiledôneas ou dicotiledôneas, em culturas de arroz irrigado, cana-de-açúcar, café, citros, maçã, milho, pastagens, soja (plantio direto ou indireto), fumo, uva e soqueira em cana-de-açúcar. É indicado também, para as culturas de ameixa, banana, cacau, nectarina, pêra, pêssego, seringueira e plantio direto do algodão. A mistura com outros herbicidas pode reduzir a atividade do produto, ocasionando antagonismo. Além disso, o glifosato pode também ser aplicado na água para o controle de ervas aquáticas (JUNIOR e SANTOS, 2002). O comportamento em água é um fator mais variável do que em solo. Devido à escassez de estudos sobre este contexto, a preocupação com o solo e a conservação de águas tanto superficiais, como subterrâneas é essencial. Apesar de ser uma substância de baixa toxicidade, resíduos do defensivo são encontrados no solo, no organismo de animais que se alimentaram dos produtos que receberam glifosato e uma pequena parte nas águas subterrâneas, com potencial de afetar a água potável utilizada pela população (Figura 6).

É sabido que este herbicida se biodegrada com maior eficiência em solos já com histórico de aplicação, devido adaptação da microbiota presente, além de interagir com micro-organismos (COUTINHO et al., 2005). Como exemplo de interação, pode-se citar os fungos, que degradam o glifosato ao utilizá-lo como fonte nutricional de carbono e fósforo (ARAÚJO, 2002).

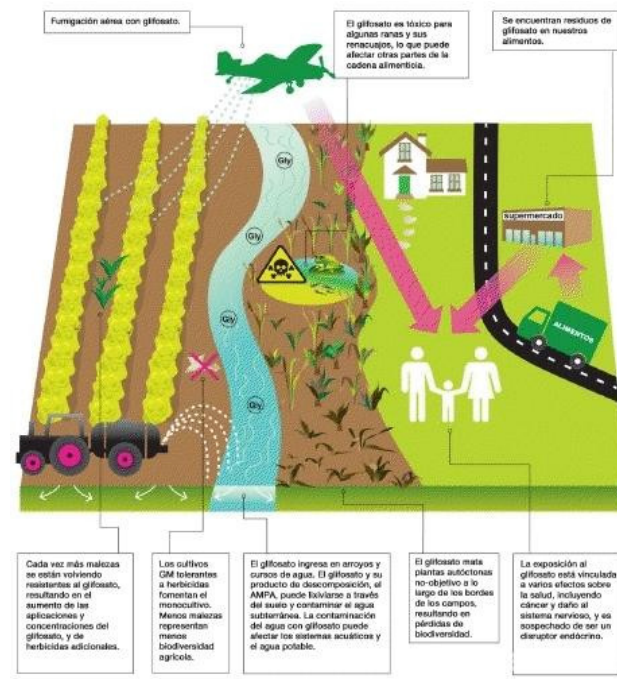


Figura 6. Glifosato e suas possíveis vias ambientais (Fonte: GREENPEACE)

Em 2015, a OMS detectou glifosato em carnes embutidas, classificando o herbicida como grupo 2A (possivelmente carcinogênico), sendo a mesma categoria das carnes vermelhas, fato que aumentou a atenção de pesquisadores, pois estudos relatam que o glifosato teria participação em defeitos de nascimento congênito em crianças nascidas de mães que foram expostas por tempo prolongado (crônico) ou em grande quantidade ao herbicida (aguda), podendo até mesmo acarretar em aborto (PALMA, 2011).

A dose diária aceitável por massa corpórea é de 0,05 mg.Kg/d. Em caso de ingestão, pode ocorrer efeitos colaterais como: hipotensão, hipertermia, elevação de enzimas hepáticas e edema pulmonar não-carcinogênico (JUNIOR e SANTOS, 2002). De forma geral, a população mundial ingere o glifosato e estudos recentes mostram que a molécula está presente até mesmo no leite materno (PALMA, 2011). No entanto, os mais afetados pela ação do herbicida são as pessoas que entram em contato direto com a solução em campo. Nos animais, experimentos mostraram que houve diminuição de quantidade de espermatozoides em ratos e maior frequência de espermatozoides defeituosos (SANTOS et al., 2014).

Dentre as técnicas de detecção do glifosato pode ser utilizado: cromatografia líquida, cromatografia gasosa, cromatografia iônica, espectrometria de massa, RAMAN, ressonância plasmônica de superfície (SPR), ressonância nuclear magnética (NMR), quimioluminescência, eletroforese, ELISA, dentre outras. Estas técnicas são dispendiosas,

demoradas, e em sua maioria precisam de pré-tratamento da amostra (ZELENKOVA, 2008; TORUL et al., 2010; DING et al., 2013 ; DICKSON et al., 1988; ZHAO et al., 2011; LI et al., 2016; MÖRTL et al., 2013). Assim, a problemática está nos testes realizados. De acordo com a empresa AgroSafety®, a avaliação da amostra de solo tem o custo de aproximadamente R\$200, tornando-se inviável a análise do solo para grande maioria dos produtores agrícolas. Assim, as análises eletroquímicas vêm chamando a atenção dos pesquisadores por serem técnicas rápidas, baratas e em sua maioria sem pré-tratamento da amostra. Sabendo da baixa interação do glifosato com o ouro, pesquisadores estão utilizando eletrodos de ouro como plataforma de detecção. Além disso, como o glifosato apresenta forte interação com íons de zinco (Zn) e prata (Ag), utilizaremos nanocristais de óxido de zinco dopados com Ag para amplificar sua detecção. Sendo assim, o estudo teve como objetivo desenvolver um sensor eletroquímico qualitativo e quantitativo para tornar a detecção de glifosato um processo rápido e econômico, visando um modelo portátil, que propicia um resultado imediato.

2. Justificativa

Como o glifosato é considerado pela OMS tóxico e possivelmente carcinogênico, este estudo visa desenvolver um sensor eletroquímico qualitativo e quantitativo para tornar a detecção deste herbicida um processo rápido e econômico visando atender as demandas dos órgãos reguladores brasileiros como também ser uma ferramenta portátil para detecção no campo.

3. Objetivos

3.1. Objetivo geral

Desenvolver um sensor eletroquímico para detecção específica de glifosato.

3.2. Objetivo específico

Desenvolver um biossensor tecnológico enriquecido com nanocristais capaz de reconhecer de forma sensível a presença de moléculas dos componentes desejados.

4. Materiais e métodos

4.1. Reagentes

As soluções de glifosato (480mg. mL^{-1}) das marcas Roundap (Monsanto) e das nanocristais de óxido de zinco dopadas com prata ZnO:01Ag ($0,4\text{ ng mL}^{-1}$) foram feitas em água ultra pura MILI Q e armazenadas a 4°C até o seu uso. A solução de tampão fosfato $0,1\text{ mol L}^{-1}$ foi utilizado como eletrólito suporte na leitura eletroquímica dos eletrodos.

4.2. Etapas

Na primeira fase de testes em microtubo foi colocado 3 microlitros de glifosato comercial diluído e acrescidos outros 3 microlitros de água MILI Q para grupo controle sem NPs. Na segunda foi colocado 3 microlitros de glifosato comercial diluído e acrescidos outros 3 microlitros de água MILI Q para grupo avaliativo com NPs. Do total destas soluções, 2 microlitros de cada foram colocados em eletrodos individualizados em cada eletrodo, exclusivamente na área de trabalho. Após 5 minutos foram adicionados 78 microlitros de Tampão Fosfato para fechamento do circuito e análise em VPD. A imobilização do glifosato ocorreu por adsorção. Lavagens sucessivas serão realizadas para assegurar a remoção do material não imobilizado na superfície do eletrodo.

4.3. Eletrodos e Equipamentos

Eletrodos screen printed de ouro (BR 200, DropSens) foram selecionados para serem as plataformas eletroquímicas. Para desenvolvimento do biossensor, a primeira etapa foi a seleção dos eletrodos de baixa reatividade e afinidade com o glifosato. Potenciostato PalmSens (PalmSens3) foi utilizado para as análises eletroquímicas sendo realizadas voltametrias cíclicas (VC) e de voltametria de pulso diferencial (VPD) a fim de avaliar o perfil voltamétrico (corrente x potencial) da condutividade.

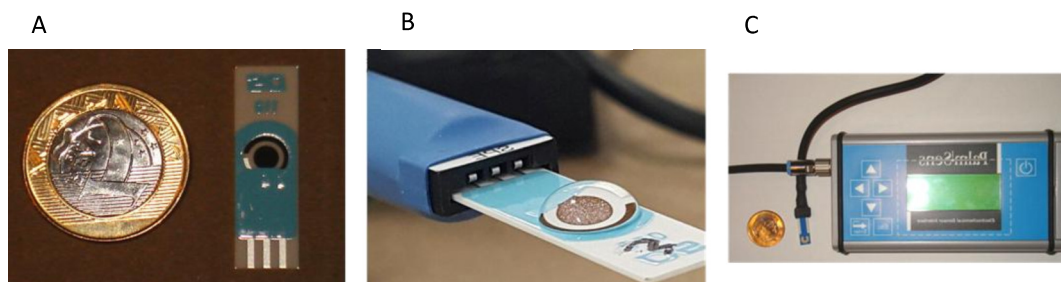


Figura 7. A: Potenciostato PalmSens; B: Eletrodo screen-printed de ouro (BT220) com solução de TF; C: correlação do eletrodo de trabalho de 4mm a moeda de R\$1.

Um microscópio de força atômica (SPM-9600 Shimadzu) foi utilizado para caracterização das alterações da morfologia da superfície do eletrodo, contribuindo para a compreensão dos processos moleculares que ocorrem, bem como fatores que influenciam as interações dos contaminantes.



Figura 8. Microscópio de Força Atômica, Shimadzu para análises morfológicas da superfície do eletrodo.

4.4. Nanocristais

Foram utilizados nanocristais de ZnO dopados com Ag. Os NCs foram sintetizados e processados pela Profa. Dra. Anielle Christine Almeida Silva, no laboratório de Materiais Isolantes e Semicondutores, localizado no Instituto de Física da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), coordenado pelo Prof. Dr. Noelio Oliveira Dantas. O tamanho médio dos nanocristais de ZnO com 0,1% de Ag foi de 20nm.

5. Resultados e discussão

5.1. Detecção de glifosato

A fim de verificar as diferenças de potencial e corrente do glifosato associado ou não aos nanocristais, os ensaios apresentaram os seguintes resultados: na figura 9A mostra um voltamograma com as sucessivas oxidações do Glifosato comercial. A corrente máxima observada de 15 mA em 0,5 V representa a primeira oxidação do glifosato comercial (primeira volta) apresentando segundo pico de corrente em 27 mA em 0,9 V (Linha azul). Voltametrias sucessivas ocorreram e os resultados mostram a oxidação progressiva (seta decrescente) em 0,5V, sendo que em 0,9 V houve aumento de corrente a cada ciclo (seta ascendente), demonstrando que o comportamento eletroquímico do glifosato comercial apresenta situações de resistividade e de condutância distintamente avaliada e registradas.

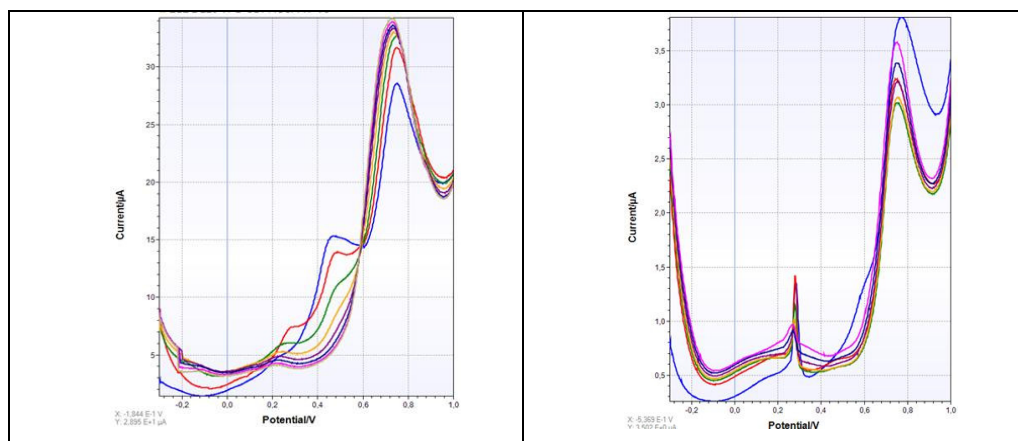


Figura 9: Voltamograma apresentando as sucessivas oxidações do Glifosato comercial. **A:** Glifosato sem nanocristais; **B:** Glifosato com nanocristais.

Para avaliar o sistema da interação do glifosato com nanocristais, foi utilizado 2 microlitros de nanocristais de ZnO dopados com Ag em substituição à água MILI Q. Os resultados apresentaram picos de correntes e potencial inferiores, como apresentado na figura 9B. Assim, acredita-se que a interação do glifosato com a Ag possa estar dificultando a oxidação do glifosato em aproximadamente 10 vezes, pois a corrente máxima na ausência das NPs atingiu pico de 35 µA e na presença das NCs o pico máximo de corrente foi em 3,5 µA.

Esta correlação pode ser influenciada para maior resistividade em NCs que apresentam maior dopagem de Ag, pois o efeito quelante pode aumentar, dificultando mais ainda a oxidação do glifosato.

5.2 AFM

Análises de rugosidade de superfície do eletrodo foram realizadas utilizando Microscopia de força atômica (AFM). Foi possível observar que no eletrodo de ouro, a área de 10 micrometros quadrados foi avaliada, por cantilever segundo mostrado na (Figura 10).



Figura 10: Cantilever do AFM sobre o eletrodo de ouro (DS BT220).

Análises de rugosidades foram feitas em eletrodo de ouro, eletrodo com glifosato, eletrodo com NC e eletrodos de glifosato com os nanocristais, conforme (figura 11). Afim de quantificar as diferenças de rugosidade a partir das imagens de AFM foram realizados cálculos entre os coeficientes de rugosidade.

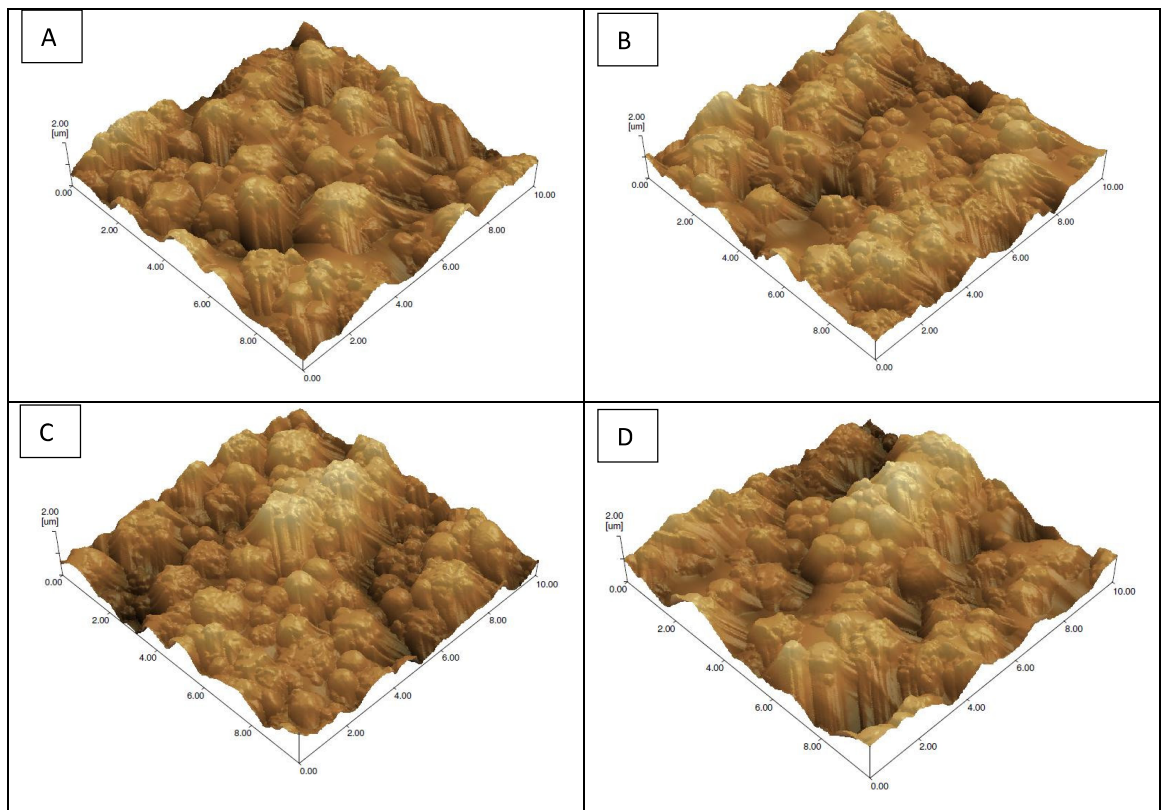


Figura 11: Análises de rugosidades em: **A:** eletrodo de ouro, **B:** eletrodo com glifosato, **C:** eletrodo com NC e **D:** eletrodos de glifosato com os NCs (D).

Tabela 2. Representação dos coeficientes de rugosidade de cada análise em AFM;

Análise	Média e DP (Rq)	Média e DP (Rq)
	Área	Linha
Eletrodo de ouro (branco)	247,77 ± 4,92	232,87 ± 5,01
Glifosato	278,05 ± 12,30	273,53 ± 10,14
NCs (ZnO:01Ag)	348,81 ± 1,55	300,66 ± 0,25
Glifosato + NCs(ZnO:01Ag)	359,64 ± 1,45	370,04 ± 9,34

A progressiva variação na rugosidade demonstra que a interação entre os materiais na superfície do eletrodo de ouro ocorre e que a interação do glifosato com os nanocristais pode ser calculada. Este valor foi calculado pelo valor resultante dos valores de rugosidade (Rq) apresentados na Tabela 2. A subtração do Rq de cada situação em relação ao eletrodo de ouro (branco) foi realizado. Assim, avaliamos o valor individual do valor aproximado de Rq em NCs seria de 100 nm e do glifosato 31nm, apresentando o valor do somatório de 131nm. Quando o Rq foi avaliado do complexo Glifosato + NCs, os resultados apontaram resultado aproximado em 112 nm, sendo 15% inferior quando as análises isoladas e somadas de glifosato e nanocristais.

6. Conclusão e perspectivas

Esta plataforma é um sensor eletroquímico passível de detecção de glifosato comercial livre de metais e na presença exclusiva de NCs de ZnO dopados com Ag. Com base nesses estudos encontramos valores de potencial e picos de corrente específicos do glifosato de uma marca comercial e pode ser ampliado para outros herbicidas comerciais neste equipamento.

Dentre as perspectivas a detecção de glifosato em amostras apresentou algumas vantagens, tais como, análise direta e rápida, ou seja, não são necessárias demoradas reações de derivatização da amostra; sem etapas de extração/limpeza da amostra; baixo custo das análises, quando comparado aos preços dos reagentes de derivatização e instrumentação simples. Também como perspectiva, a utilização de outras dopagens, como ferro e cobre, para simulação em ambiente controlado da interação do glifosato comercial no solo com os mesmos.

Referências Bibliográficas

ARAÚJO, A.S.de F. **Biodegradação, extração e análise de glifosato em dois tipos de solos**. 2002. Dissertação (Mestrado) – ESALQ/USP, 2002.

AMARANTE JÚNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R.; BRITO, N. M.; RIBEIRO, M. L. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Quím. Nova**, v. 25, n.4, p.589-593, 2002.

AMARANTE JUNIOR et al. Métodos de extração e determinação do herbicida glifosato: breve revisão. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 420- 428, 2002.

COUTINHO et al. Pesticidas: mecanismos de ação, degradação e toxidez. **Pesticidas: r.ecotoxicol. e meio ambiente**, v. 15, p. 66 – 70, 2005.

DANIELE, P. G.; STEFANO, C.; PRENESTI, E.; SAMMARTANO, S. Copper(II) complexes of N-(phosphonomethyl)glycine in aqueous solution: a thermodynamic and spectrophotometric study. **Talanta**, v. 45, n. 2, p. 425-431, 1997.

DING, X.; YANG, K.L. Development of an Oligopeptide Functionalized Surface Plasmon Resonance Biosensor for Online Detection of Glyphosate. **Analytical Chemistry**, v.85, n.12, p.5727–5733, 2013.

DICKSON et al. Rapid determination of glyphosate in postmortem specimens using ³¹P NMR. **Jornal of Analytical Toxicology**, v.12, n.5, p. 284-286, 1988.

LI et al. Binding-Induced Internal-Displacement of Signal-on Photoelectrochemical Response: A Glyphosate Detection Platform Based on Graphitic Carbon Nitride. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v.224, p. 798–804, 2016.

PALMA, D.C.de A. **Agrotóxicos em leite humano de mães residentes em Lucas do Rio Verde – MT**. 2011. 104. Dissertação (Mestrado) -Universidade do Mato Grosso, Cuiabá, 2011.

SANTOS et al. Uso do Glifosato pela agricultura familiar em Conceição do Araguaia, Pará. In: CONGRESSO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE DE POÇOS DE CALDAS, 11., 2014, Minas Gerais: Poços de Caldas, 2014.

SILVA, M.D.da.; PERALBA, M.do.C.R.; MATTOS, M.L.T. Determinação de Glifosato e ácido aminometilfosfônico em águas superficiais do arroio Passo do Pilão. **Pesticidas r. ecotoxicol. e meio ambiente**, Curitiba, v. 13, p. 19- 28, jan./dez, 2003.

SOUZA et al. Estudo da recuperação de glifosato e ampa derivados em solo utilizando-se resinas nacionais. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1372- 1376, 2006.

SZÉKÁCS, A.; DARVAS, B. Forty years with glyphosate. In: **Herbicides – properties, synthesis and control of weeds**. Rijeka: Hasaneen, p. 247–284, 2012.

TORUL, H.; BOYACI, I.H.; TAMER, U. Attomole Detection of Glyphosate by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Using Gold Nanorods. **FABAD J. Pharm. Sci**, v.35, p.179–184, 2010.

ZHAO et al. Determination of Glyphosate in Foodstuff by One Novel Chemiluminescence-Molecular Imprinting Sensor. In: *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 78, n. 5, p. 1482–1486, 2011.

ANVISA. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/reavaliacao-de-agrotoxicos>. Acessado em: 06 de dez. 2016.

UOL. Disponível em: [http://brasilecola.uol.com.br/upload/e/acao%20do%20glifosato%20na%20planta\(1\).jpg](http://brasilecola.uol.com.br/upload/e/acao%20do%20glifosato%20na%20planta(1).jpg). Acessado em: 06 de dez. 2016.

DOCPLAYER. Disponível em: <http://docplayer.com.br/docs-images/43/11160265/images/pa>. Acessado em: 06 de dez. 2016.

GREENPEACE. Disponível em: www.greenpeace.org/espana/community_images/97/113297/40109_75147.jpg. Acessado em: 06 de dez. 2016.

MONSANTO: Disponível em: http://roundupreadyplus.com.br/assets/imagens/img_sumisoya.jpg. Acessado em: 06 de dez. 2016