

DETERMINAÇÃO DE GLIFOSATO E ÁCIDO AMINOMETILFOSFÔNICO EM ÁGUAS SUPERFICIAIS DO ARROIO PASSO DO PILÃO

MARCELO DUTRA DA SILVA*
MARIA DO CARMO RUARO PERALBA**
MARIA LAURA TURINO MATTOS***

Para investigar a presença do herbicida Glifosato na microbacia hidrográfica arroio Passo do Pilão foram coletadas amostras de água em 15 distintos pontos no arroio Passo do Pilão, nos períodos de 30 e 60 dias após a aplicação do herbicida (DAAH), as quais foram analisadas por cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE). As análises revelaram a presença do herbicida nas águas superficiais dessa microbacia, tanto nas amostras após 30 dias de aplicação do Glifosato como nas de 60 DAAH. Concentrações elevadas (acima de 100 ppb) foram detectadas, principalmente em pontos próximos às áreas de intenso cultivo. As concentrações detectadas foram menores que 500 e 700 ppb, limites de concentrações máximas permitidas para o Glifosato pela legislação brasileira e pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, respectivamente.

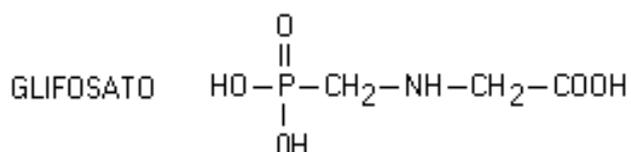
PALVRAS-CHAVE: GLIFOSATO-RESÍDUOS; ÁGUA; CLAE; AMPA-RESÍDUOS.

- * Ecólogo, Aluno do Curso de Mestrado, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.
** Química, Doutora em Química Analítica, Professora do Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.
*** Engenheira Agrônoma, Doutora em Ciência do Solo, Pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS (e-mail: mattos@cpact.embrapa.br).

1 INTRODUÇÃO

O herbicida Glifosato, sal de isopropilamina de N-(fosfonometil)-glicina, $C_3H_8NO_5P$ (Figura 1), é um dessecante sistêmico, pós-emergente, de largo espectro e não-seletivo. Em contato com ervas daninhas indesejadas é rapidamente absorvido pelas folhas, interrompendo a biossíntese de ácidos aminoaromáticos essenciais. Assim, compromete a produção de clorofila e carotenóides, causando danos celulares irreversíveis. Entre os danos mais comumente observados, a ruptura parcial do cloroplasto e a perda de água do retículo endoplasmático rugoso são os mais importantes (KUKLINSK-SOBRAL et al., 2001). No plantio direto, em que o solo não sofre movimentação, o Glifosato é usado nas dessecações de coberturas vegetais e no controle de plantas invasoras.

FIGURA 1 - ESTRUTURA QUÍMICA MOLECULAR DO GLIFOSATO



A microbacia hidrográfica arroio Passo do Pilão, região de caráter agrícola e pecuário de pequena propriedade, está localizada a 20 km do município de Pelotas, no estado do Rio Grande do Sul (RS). A implantação de programa de uso e conservação do solo, em 1995, incentivou o cultivo em semeadura direta, acarretando o uso crescente de pesticidas, em particular do herbicida Glifosato. Tal fato coloca em risco as águas superficiais dessa microbacia, uma vez que sua principal vertente (o arroio Passo do Pilão) deságua no arroio Pelotas, o qual abastece parte da água consumida no município de Pelotas.

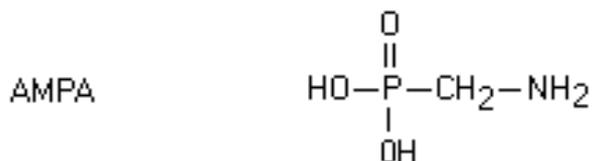
Nas safras de 1995/96 a 2000/01 foi aplicado nas áreas de cultivo em semeadura direta, da microbacia hidrográfica arroio Passo do Pilão, 510 L.ha⁻¹ de Glifosato, com base em recomendação técnica de aplicação (2 a 3 litros desse dessecante por hectare de lavoura).

No solo, o herbicida Glifosato é fortemente adsorvido aos colóides. Classificado como químico de persistência média, permanece no ambiente de 30 a 90 dias dependendo da fração mineral, do teor de argila, do teor de fósforo, do teor de matéria orgânica e da atividade microbiana (MONSANTO, 1980; MATTOS et al., 2002).

Os microrganismos são os principais responsáveis pela degradação do Glifosato. Segundo a literatura, aproximadamente 50% das moléculas originais são metabolizadas em 28 dias, atingindo 90% em 90 dias (MONSANTO, 1980; RODRIGUES e ALMEIDA, 1995). MATTOS et al. (2002) isolaram fungos e bactérias degradadoras de Glifosato em solos cultivados com arroz irrigado em semeadura direta. Por essa razão, vários metabólitos ou produtos da degradação do Glifosato têm sido identificados. O ácido aminometilfosfônico (AMPA) (Figura 2) é o primeiro e o principal produto da degradação do herbicida Glifosato no solo. Glifosato e AMPA são altamente solúveis em água e podem entrar em ambientes aquáticos por meio de escoamento superficial, ou transporte de massa nas áreas em que o herbicida é aplicado (MOGADATI et al., 1996). MATTOS et al. (2002) detectaram a ocorrência de Glifosato em águas de irrigação e drenagem de lavoura de arroz no Rio Grande do Sul.

O comportamento dos herbicidas e a capacidade de persistir e de dispersar-se no ambiente pode ser melhor compreendida pelo emprego de técnicas cromatográficas. A cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE), técnica ideal para analitos termicamente instáveis, tem sido considerada adequada e eficiente para análise de Glifosato e AMPA devido à natureza iônica e baixa volatilidade de ambos (TADEO et al., 2000). A CLAE constitui técnica de quantificação importante, amplamente utilizada em análises de Glifosato e AMPA (BIO-RAD, 1990), sendo adotada como técnica padrão pela Agência de Proteção Ambiental Americana (*Environmental Protection Agency* - EPA) (1990).

FIGURA 2 - ESTRUTURA QUÍMICA MOLECULAR DO PRIMEIRO METABÓLITO DO ÁCIDO AMINOMETILFOSFÔNICO AMPA



O objetivo deste trabalho foi determinar a presença do herbicida Glifosato e do metabólito AMPA nas águas superficiais da microbacia hidrográfica arroio Passo do Pilão e no arroio Passo do Pilão, seu principal corpo d'água

2 MATERIAL E MÉTODOS

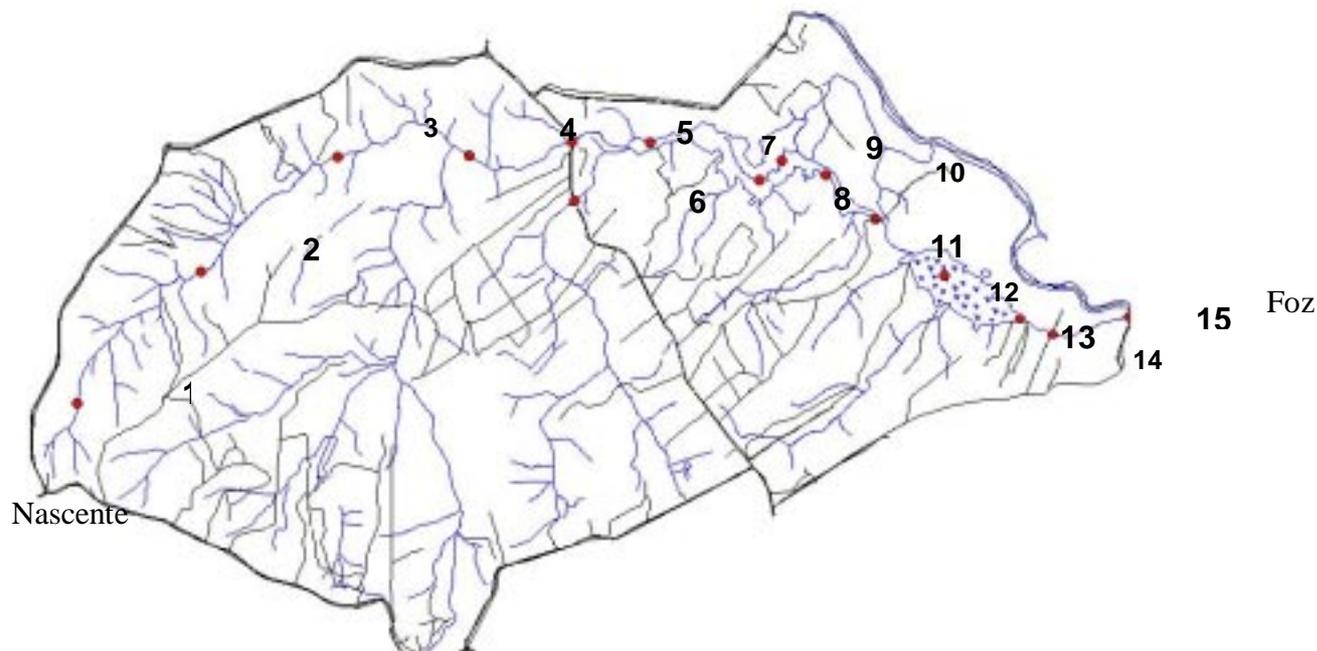
2.1 AMOSTRAGEM

O arroio Passo do Pilão compreende a vertente principal da microbacia hidrográfica arroio Passo do Pilão, sendo a calha de todo o sistema hídrico dendrítico da mesma (Figura 3). As amostras de água foram coletadas em 15 distintos pontos entre a nascente e a foz do referido arroio (Figura 4).

FIGURA 3 – MAPA DE LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO NO MUNICÍPIO DE PELOTAS, RS



FIGURA 4 – DISTRIBUIÇÃO DOS PONTOS DE COLETA NA MICROBACIA HIDROGRÁFICA ARROIO PASSO DO PILÃO, PELOTAS, RS



Os pontos de amostragem foram estrategicamente distribuídos, considerando-se áreas livres de pressões agrícolas e áreas de intensa atividade agrícola. As coletas foram realizadas 30 e 60 dias após aplicação do herbicida (DAAH), nas áreas cultivadas em semeadura direta, correspondente a safra 2001/2002.

As amostras foram armazenadas em frascos de polietileno (1000 mL), acondicionadas em caixas de isolamento térmico e transportadas ao laboratório, sendo armazenadas sob congelamento (-15°C) até o momento da análise.

2.2 INSTRUMENTAÇÃO E PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

2.2.1 Tratamento das amostras

No laboratório, as amostras foram acidificadas a $\text{pH } 2,0 (+/- 0,4)$ com $\text{HCl } 6\text{M}$ e filtradas com membrana de fibra de vidro de 47 mm de diâmetro e $0,45 \mu\text{m}$ de porosidade.

2.2.2 Clean up em coluna de vidro da resina Chelex 100

O volume de 15 mL de resina Chelex 100 na forma férrica (medidos em proveta) foi transferido com o auxílio de bastão de vidro para coluna de vidro (22 cm de altura X 2,2 cm de diâmetro interno e reservatório de 250 mL), com torneira de teflon e leve camada de lã de vidro adicionada, imediatamente, antes do uso. Partículas aderidas na borda foram removidas com água. A amostra foi colocada na coluna e eluída a velocidade de $6,8 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (cerca de 1 gota. seg^{-1}). Após a eluição, as paredes da coluna e o leito da resina foram lavados com 50 mL de água ultrapura e, adicionalmente, lavados com 100 mL de ácido clorídrico 0,2 M com a torneira totalmente aberta. Descartados os eluatos, só então, os analitos retidos na resina foram eluídos com 22 mL de $\text{HCl } 6\text{M}$ na velocidade de aproximadamente $0,4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Os primeiros 7 mL do eluato foram descartados e os últimos 15 mL recebidos em bquer com 10 mL de HCl concentrado e transferidos para a coluna de troca aniônica.

2.2.3 *Clean up* em coluna de vidro da resina AG 1-X8

O volume de 4,3 mL de resina de troca aniônica AG1 – X8 foi transferido para coluna de vidro (22 cm de altura X 1,7 cm de diâmetro interno e reservatório de 30 mL), com torneira de teflon e leve camada de lã de vidro adicionada, imediatamente, antes do uso. Antes de colocar a amostra na coluna, a resina foi lavada com 15 mL de HCl 6 M. O eluato da coluna Chelex 100 foi colocado no topo da coluna com a torneira totalmente aberta. O recipiente foi então lavado com 2 mL de HCl 6M e esses adicionados à coluna. Mais 8 mL de HCl 6 M foram adicionados, sendo o total de 35 mL de eluato recuperado em balão de fundo redondo de 250 mL.

2.2.4 Concentração do analito

O eluato recuperado no balão foi concentrado até a secura em evaporador rotatório, com temperatura de banho de no máximo de 50 °C. Os traços finais foram removidos com leve fluxo de nitrogênio seco. Os resíduos aderidos na parede do balão foram dissolvido em 4 mL de água ultrapura e acondicionados em tubos vedados, sob refrigeração a 4 °C.

As quantificações foram realizadas em cromatógrafo a líquido de alta eficiência (CLAE), modelo Shimadzu série LC-10A, equipado com três módulos para bombeamento isocrático (modelo Shimadzu LC-10AD de fluxo constante), forno de reação pós-coluna e detector de fluorescência, com comprimentos de onda de excitação e emissão em 350 e 440 nm, respectivamente. O limite de detecção (LD) trabalhado foi de 10,0 ppb para Glifosato e 5,0 ppb para AMPA. Abaixo desses valores de concentração, os analitos foram considerados não detectados (ND).

As amostras foram injetadas via válvula Rheodyne com *loop* de 50 µL em coluna cromatográfica analítica Aminex (troca catiônica na forma K⁺) de 250 mm x 4.6 mm, da BioRad, na temperatura constante de 50°C. A temperatura de reação pós-coluna foi de 38°C e os fluxos das fases utilizadas foram: fase móvel 0,5 mL.min⁻¹, solução oxidativa 0,4 mL.min⁻¹ e solução reativa OPA-Metanol 0,4 mL.min⁻¹.

A análise quantitativa foi realizada pela técnica de padronização externa, sendo os dados coletados e analisados em *workstation* da Shimadzu modelo CLASS-LC10.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos revelaram a presença do herbicida Glifosato em 46,7% das amostras de água analisadas (Tabela 1). A maioria das amostras em que foi detectado o Glifosato, em concentrações na ordem de 20 a 30 ppb, foi coletada 30 dias após a aplicação do pesticida. Pode-se verificar que foi detectada na nascente da microbacia arroio Passo do Pilão, aos 30 DAAH, a presença de Glifosato e AMPA na água (Figura 5). Como não há cultivo no entorno dessa nascente, a contaminação do solo ocorreu, provavelmente, por capina química, muito comum na manutenção (limpeza) dos arredores da sede dos estabelecimentos rurais. Pode-se também observar que concentrações acima de 100 ppb foram determinadas nos pontos 5 (30 DAAH) e 9 (60DAAH) (Figuras 6 e 7), localizados em zona de intenso cultivo de milho em semeadura direta, na qual foi utilizado dessecante Glifosato. A elevada concentração nesses pontos pode ser reflexo do momento de maior descarga de Glifosato e de AMPA nas áreas de lavoura e deslocados (possivelmente, por processos de escoamento superficial e transferência de massa) ao corpo do arroio.

A detecção inferior ao limite de quantificação do herbicida Glifosato e seu metabólito AMPA (Figura 8) em várias amostras pode ser justificada pela alta capacidade de sorção dos mesmos pelo solo. Em solos cultivados sob semeadura direta, a molécula de Glifosato pode ficar retida formar resíduo ligado e ser adsorvida aos argilominerais e à matéria orgânica (PRATA et al., 1999). Pode, ainda, ser desorvida para a solução do solo em condições (como o pH e força iônica da solução) favoráveis (LAVORENTI, 1996).

FIGURA 5 – CROMATOGRAMA DE AMOSTRA DE ÁGUA COLETADA NA NASCENTE DO ARROIO PASSO DO PILÃO (PONTO 1), AOS 30 DAAH

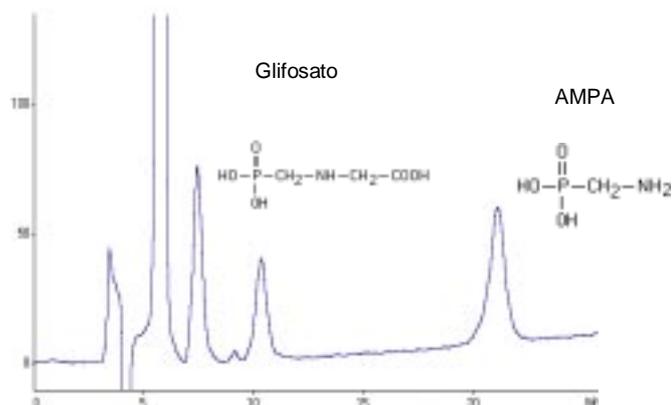
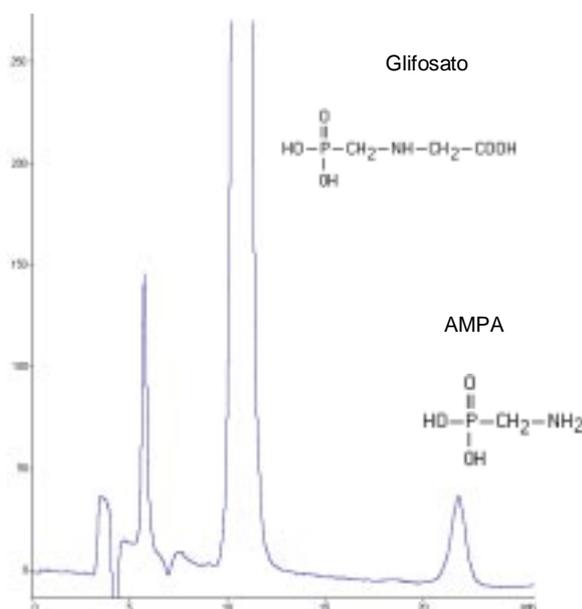


FIGURA 6 – CROMATOGRAMA DE AMOSTRA DE ÁGUA COLETADA PRÓXIMO À LAVOURAS CULTIVADAS EM PLANTIO DIRETO (PONTO 5) AOS 30 DAAH



O pH constitui outro importante aspecto do comportamento ambiental do Glifosato (adsorção), pois a alteração do valor de pH também influencia a natureza da superfície do solo (LAVORENTI, 1996). A importância desse aspecto reside justamente nos ambientes em que o resíduo ligado se forma mais facilmente junto aos colóides de argila e húmus, muito comum em plantio direto (MATTOS et al., 2002).

A ocorrência de resíduos de pesticidas em água não é muito previsível, mas traços dessas substâncias têm sido detectados em águas superficiais. Tal fato chama a atenção para a necessidade de maior vigilância de ecossistemas aquáticos, em especial, os destinados ao abastecimento humano.

O grau de dificuldade envolvido na avaliação dos riscos de contaminação de ambientes aquáticos decorrentes do uso de pesticidas não deve ser entrave para que se desenvolvam estudos nessa área. O aumento das áreas cultivadas com plantio direto deve incrementar o uso do herbicida Glifosato e

também o seu acúmulo na forma de resíduo ligado. Por essa razão, estudos e monitoramento de qualidade de água devem ser intensificados.

FIGURA 7 – CROMATOGRAMA DE AMOSTRA DE ÁGUA COLETADA AO PÉ DE ÁREAS DE INTENSO CULTIVO (PONTO 9), AOS 60 DAAH

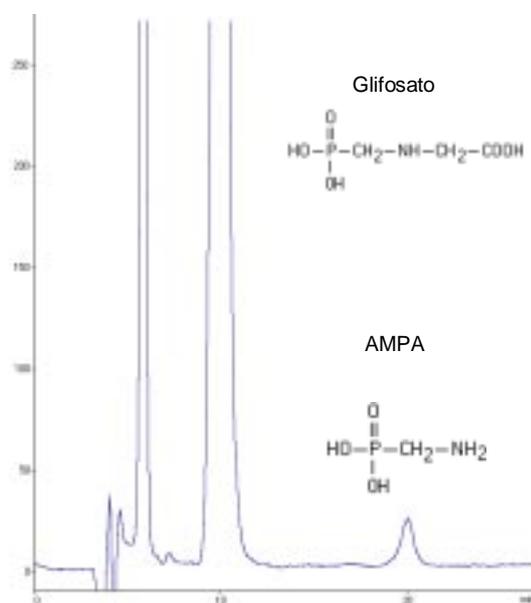
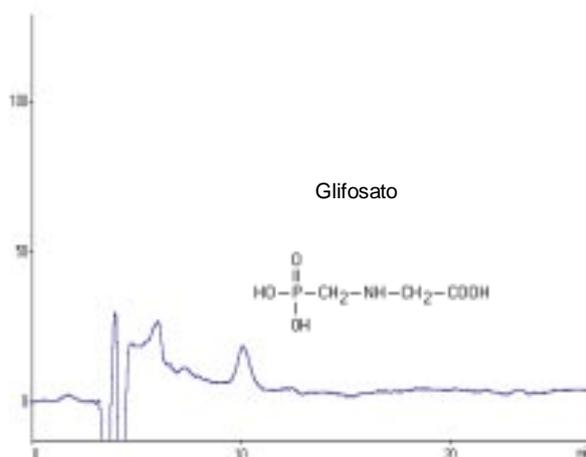


FIGURA 8 – CROMATOGRAMA DE AMOSTRA DE ÁGUA COLETADA PRÓXIMO À LAVOURAS DE CULTIVO EM PLANTIO DIRETO (PONTO 10) AOS 60 DAAH



A presença do herbicida Glifosato no arroio Pilão, dias após sua aplicação, indica que essa substância é capaz de persistir no ambiente por determinado período de tempo. MATTOS et al. (2002) detectaram, em lavoura orizícola no sul do Rio Grande do Sul, a presença de Glifosato e de AMPA em amostras obtidas de águas superficiais. Ambos foram detectados na lâmina de água da lavoura de arroz, no canal mestre de entrada de água da Lagoa Mirim e na saída do Levante Arroio Bretanhas em

concentrações abaixo do limite máximo permitido para água de consumo humano pela legislação brasileira (500 ppb) (BRASIL, 2001) e pela EPA (1990) (700 ppb).

Muitos fatores podem contribuir para a persistência do Glifosato no ambiente, podendo oferecer risco ambiental mesmo quando não detectado. Ao ser metabolizado pelos microrganismos do solo restam os metabólitos, produtos da biodegradação cujo comportamento ambiental e efeitos tóxicos ainda são pouco conhecidos. Estudos nesse sentido são necessários e urgentes no Brasil.

A investigação ambiental exige mais que simplesmente o conhecimento do comportamento das moléculas do produto comercial. É preciso, também investigar o comportamento e a toxicidade de seus metabólitos, sua persistência e risco à vida dos ecossistemas e ao ser humano.

4 CONCLUSÃO

Detectou-se a presença do herbicida Glifosato e do seu metabólito AMPA nas águas superficiais da microbacia arroio Passo do Pilão, principalmente em portos próximos às áreas de intenso cultivo em semeadura direta (do ponto 5 ao 11).

Foi detectada presença de Glifosato em concentrações acima de 100 ppb nas águas do arroio passo do Pilão aos 60 após a aplicação do produto (ponto 11).

As concentrações de Glifosato detectadas foram todas menores que 500 e 700 ppb, limites de concentrações máximas permitidas para o produto pela legislação brasileira e pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, respectivamente.

Medidas de controle e redução na dosagem de aplicação do Glifosato e novas técnicas que venham minimizar a aplicação desse herbicida devem ser desenvolvidas e implementadas no cultivo em semeadura direta na microbacia hidrográfica arroio Passo do Pilão.

ABSTRACT

DETERMINATION OF GLYPHOSATE AND AMINOMETHYLPHOSPHONIC ACID IN SUPERFICIAL WATERS OF ARROIO PASSO DO PILÃO

To investigate the presence of Glyphosate herbicide in Arroio Passo do Pilão watershed, samples of water were collected in 15 distinct points in Arroio Passo do Pilão, in period of 30 and 60 days after herbicide application (DAHA), which were analysed by high performance liquid chromatography (HPLC). The analysis revealed the presence of the herbicide in superficial areas of this watershed, even in the samples after 30 days of Glyphosate application as in 60 DAHA. High concentrations (above 100 ppb) were detected, mainly in points near to intense cultivation areas. The concentrations detected were smaller than 500 and 700 ppb, limits of the maximum concentrations allowed for Glyphosate by the Brazilian legislation and by the Environmental Protection Agency of United States, respectively.

KEY-WORDS: GLYPHOSATE-RESIDUES; WATER; HPLC; AMPA-RESIDUES.

REFERÊNCIAS

- 1 BIO-RAD. **Glyphosate analysis**. California, 1990. 4 p. (Bulletin n. 1591).
- 2 COX, C. Glyphosate. Part 2 – human exposure and ecological effects. **Journal of Pesticide Reforme**, v.15, p.14-20, 1995.
- 3 EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa Produção de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999. 412 p.
- 4 EPA. Environmental Protection Agency. Office of research and development. **Determination of glyphosate in drinking water by direct-aqueous-injection HPLC, post-column derivatization and fluorescence detection (method 547)**. Cincinnati, OH, 1990.
- 5 LASS, R.L. Adsorption of glyphosate by soils and clay minerals. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v.35, p.497-500, 1987.

- 6 LAVORENTI, A. Comportamento dos Herbicidas no Solo. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS, 3, 1999, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, RS: Universidade Federal de Santa Maria, 1999. p.21-34.
- 7 KUKLINSKY-SOBRAL, J.; MENDES, R.; GERALDI, I.O.; ARAUJO, W.L.; AZEVEDO, J.L. Efeito do Glifosato sobre a comunidade endofítica de soja. In: II WORKSHOP SOBRE BIODEGRADAÇÃO, 2001, Campinas. **Anais...** Jaguariúna, SP: Embrapa-CNPMA, 2001. p. 361-364.
- 8 LAVORENTI, A. Comportamento dos herbicidas no meio ambiente. In: WORKSHOP SOBRE BIODEGRADAÇÃO, 1996, Campinas. **Anais...** Jaguariúna, SP: Embrapa-CNPMA, 1996. p. 81-115.
- 9 MATTOS, M.L.T.; PERALBA, M.C.R.; DIAS, S.L.P.; PRATA, F.; OLIVEIRA, E.C. Monitoramento ambiental do Glifosato e de seu metabólito (ácido aminometilfosfônico) em águas de lavouras de arroz irrigado. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v.12, p.145-154, 2002.
- 10 MOGADATI, P.S.; LOUIS, J.B.; ROSEN, J.D. Determination of glyphosate and its metabolite, (aminomethyl)phosphonic acid, in river water. **Journal of AOC International**, v.79, n.1, p.157-162, 1996.
- 11 MONSANTO DO BRASIL. **Herbicida Roundup**: manual técnico. São Paulo, 1980. 16 p.
- 12 PINTO, L.F.S.; FLORES, C.A.; SIQUEIRA, O.J.W.; REICHERT, L.J. Pedologia e manejo dos solos sob plantio direto em propriedade familiar na região da Encosta do Sudeste do Estado do Rio Grande do Sul - Excursão técnica na microbacia do Passo do Pilão (Pelotas-RS). In: REUNIÃO SUL-BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO, 3, Pelotas, 2000. **Resumos...** Pelotas, RS: Sociedade Brasileira da Ciência do Solo, Embrapa Clima Temperado, 2000. p. 847-858.
- 13 BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 1469 de 29 de dez 2000. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2 jan. 2001. p. 1-20.
- 14 PRATA, F.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J.B.; TORNISIELA V.L. Transformações do Glifosato em LATOSSOLO VERMELHO sob Plantio Direto e convencional. CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 28, Londrina, 2001. **Resumos...** Londrina, RS: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2001. p.324.
- 15 RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 3.ed. Londrina: IAPAR, 1995. 696 p.
- 16 SPADOTTO, C.A.; GOMES, M.A.F.; HORNSBY, A.G. **Pesticide leaching potential assessment**. [Jaguariúna, SP: EMBRAPA], 2000. 17 p. (Pesquisa Agropecuária Brasileira).
- 17 TADEO, J.L.; SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; PÉRES, R.A.; FERNANDEZ, M.D. Analysis of herbicide residues in cereals, fruits and vegetables. **Journal of Chromatography**, v.882, p.176, 2000.