

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA VERDE PARA DETERMINAÇÃO DE GLIFOSATO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS DE ÁGUA VIA INJEÇÃO DIRETA NO SISTEMA “HPLC/UV”

Bruno Molero da Silva¹, Maria Olímpia Oliveira Rezende², Maria Diva Landgraf³.

¹Professor no curso de Engenharia Química do Centro Universitário Padre Anchieta.

²Professora da Universidade de São Paulo- IQSC- USP. Instituto de Química de São Carlos.

³Química responsável do grupo de Química Ambiental- IQSC- USP. Instituto de Química de São Carlos.

Resumo

Glifosato, N-(fosfonometil) glicina, é um herbicida sistêmico pós-emergente e com grande eficiência na remoção de ervas daninhas, com baixo custo, que é refletida em sua ampla aplicação. Há evidências de efeitos deletérios sobre o meio ambiente após seu uso prolongado. Portanto, o objetivo deste estudo foi desenvolver uma metodologia adequada para a determinação de glifosato em amostras de água utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência ou “HPLC”; termo usado em inglês. O método proposto descreve uma alternativa eficiente para a determinação de glifosato em amostras de água, eliminando as etapas de extração e clean-up. Além disso, o método proposto demonstrou ser seletivo, com boa linearidade, reprodutibilidade e robustez.

Palavras-chave: injeção direta, amostras ambientais de água, “HPLC/UV”

Abstract

Glyphosate, N-(phosphonomethyl)glycine, is a systemic herbicide and post-emergent with great efficiency in the removal of weeds, featuring low cost, which is reflected on its wide application. There is evidence of deleterious effects on the environment after its prolonged use. Therefore, the aim of this study was to develop an adequate methodology for the determination of glyphosate in water samples using the technique of “HPLC”. The proposed method describes an efficient alternative for the determination of glyphosate in water samples by eliminating the steps of extraction and clean-up. Moreover, the proposed method proved to be selective, with good linearity, repeatability and robustness.

Key words: direct injection, water environmental samples, “HPLC/UV”

Introdução

O glifosato, N-(fosfonometil)-glicina, (GLI), é um herbicida não seletivo, sistêmico, pós-emergente com grande eficiência na eliminação de plantas invasoras, apresentando baixa toxicidade aos que o manipulam. De modo geral, apenas as plantas geneticamente alteradas, com alta resistência, apresentam seletividade ao GLI, que atualmente é o herbicida mais utilizado no mundo, representando cerca de 60 % do total de herbicidas não seletivos comercializados (ABREU, et al., 2008).

O GLI é classificado como uma glicina substituída de caráter polar que possui fórmula molecular $C_3H_8NO_5P$ ($MM = 169,1 \text{ g mol}^{-1}$) e, na forma de sal de isopropilamônio, apresenta-se com a adição do grupo $(CH_3)_2CHNH_3^+$ ($MM = 228,2 \text{ g mol}^{-1}$). Nas condições ambientes, tanto o glifosato, quanto seus sais são sólidos cristalinos muito solúveis em água e quase insolúveis em solventes orgânicos (TONI, et al., 2006).

O modo primário de ação do GLI é a inibição competitiva da 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase, que interfere na produção de aminoácidos e outros compostos aromáticos em plantas, as quais, quando tratadas com aquele herbicida, não conseguem produzir os aminoácidos necessários para sua sobrevivência (SOUZA, et al., 2006)

O GLI apresenta relativamente baixo custo e excelente eficiência agrônômica; o que implica na grande aplicação desse herbicida. Quando aplicado no solo, parte desse herbicida pode ser lixiviado e, assim, atingir ambientes aquáticos.

O GLI também pode atingir os corpos d'água por aplicação direta, quando do combate a plantas invasoras aquáticas.

Assim, os cuidados relacionados à possibilidade de contaminação do ambiente com esta molécula devem ser estudados cautelosamente porque já há evidência de efeitos deletérios no ambiente após seu uso prolongado, já que sua formulação mais comercializada no país possui um surfactante com ação irritante dermatológica (TEÓFILO, 2003).

O ácido aminometilfosfônico (AMPA) é o seu principal produto de degradação (Figura 1).

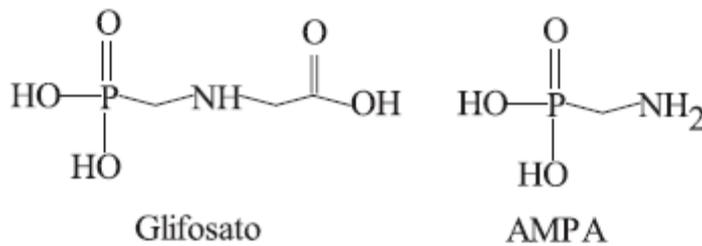


Figura 1: Estrutura química da molécula de glifosato: N-(fosfonometil)-glicina e do ácido aminometilfosfônico (AMPA); (AMARANTE JUNIOR, et al., 2002 A).

Embora tenha baixa toxicidade, sua DL_{50} é de 8300 mg kg^{-1} , é muito mais persistente que o GLI. No ambiente, a presença de AMPA é um indicativo da aplicação de GLI. Portanto, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos de extração e de determinação para sua correta quantificação.

Dentre os métodos de determinação e quantificação de GLI encontrados na literatura, a determinação por cromatografia líquida é a mais empregada, sendo os detectores mais utilizados para esse tipo de análise os de UV, fluorescência, colorimetria e por espectrometria de massas.

Além da cromatografia líquida, o GLI pode ser determinado por cromatografia gasosa. Para essa técnica cromatográfica, faz-se necessária a etapa preliminar de derivatização da molécula de GLI.

Apesar do glifosato não ser persistente, o conhecimento detalhado sobre a sua biodegradação em solos brasileiros é relativamente pequeno. Além disso, o aparecimento da soja transgênica, resistente ao glifosato, tem aumentado a preocupação ambiental devido, principalmente, à maior dosagem na aplicação do herbicida nos campos cultivados (ARAÚJO, 2002).

Em paralelo às técnicas cromatográficas, existem outras técnicas que vêm sendo desenvolvidas tais como: Ressonância Magnética Nuclear de P-31 (RMN 31P), Espectrofotometria, Polarografia e Eletroforese Capilar. Tais técnicas, ainda pouco utilizadas, foram descritas por Amarante Júnior e colaboradores (AMARANTE JUNIOR, et al., 2002 A).

A determinação de GLI por cromatografia necessita de adaptações que permitam sua detecção. Tais adaptações incluem basicamente reações de derivatização ou alteração de alguma propriedade física que possa ser relacionada à quantidade de GLI na amostra. Alguns

métodos utilizados, no entanto, apresentam o inconveniente do grande volume de descarte de solvente, que além do elevado custo, ainda causa problemas ao meio ambiente. Alguns destes solventes como triclorometano, diclorometano e hipoclorito de aminas em hexano foram utilizados na fase de extração demonstrados por Amarante Junior e colaboradores num trabalho de revisão publicado em 2002.

Devido a sua elevada polaridade e baixa volatilidade, o herbicida GLI pode ser determinado por cromatografia líquida de alta eficiência. Alguns autores consideram esse tipo de análise inapropriada, já que o herbicida não possui agentes cromóforos em sua molécula, tornando-se necessário, portanto, o uso de reações de derivatização, geralmente em pós-coluna. A literatura reporta um método robusto e sensível por “HPLC” (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) para determinação de glifosato em águas e em plantas usando uma derivatização pós-coluna (CORRÊA; ZUIN, 2009).

O glifosato possui um comportamento zwitteriônico que pode ser visto na Figura 2.

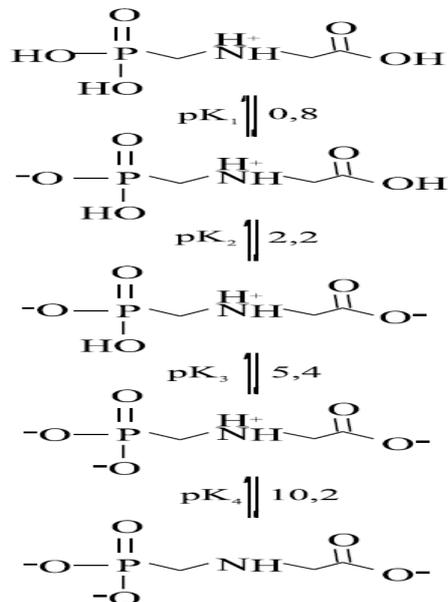


Figura 2: Dissociação do glifosato de acordo com seu comportamento zwitteriônico (AMARANTE JUNIOR et al., 2002 B).

Os valores de pK encontrados na literatura para o glifosato são: $\text{pK}_1 = 0,8$; $\text{pK}_2 = 2,16$; $\text{pK}_3 = 5,46$; $\text{pK}_4 = 10,14$ (AMARANTE JUNIOR et al., 2002 B).

É possível a utilização do sistema “HPLC”/UV para determinação de GLI em águas sem uma etapa prévia de derivatização da molécula. A etapa de derivatização aumenta a demanda de tempo e reagentes, aumentando, conseqüentemente, o custo das análises.

A minimização do uso de solventes, com redução da geração de resíduos condiz com os conceitos da Química Verde. Essa filosofia visa à criação, ao desenvolvimento e à aplicação de produtos e processos químicos para reduzir ou eliminar o uso e a geração de substâncias nocivas à saúde humana e ao ambiente. Os doze princípios da Química Verde podem ser sintetizados por: (1) prevenção; (2) economia de átomos; (3) reações com compostos de menor toxicidade; (4) desenvolvimento de compostos seguros; (5) diminuição do uso de solventes e auxiliares; (6) eficiência energética; (7) uso de substâncias renováveis; (8) evitar a formação de derivados; (9) catálise; (10) desenvolvimento de compostos degradáveis; (11) análise em tempo real para prevenção da poluição; (12) química segura para prevenção de acidentes (CORRÊA; ZUIN, 2009).

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi desenvolver uma metodologia analítica verde, que fosse ambientalmente correta, para determinação de GLI em amostras ambientais de água, de maneira simples e robusta, eliminando as etapas de extração e “clean-up” através da injeção direta das amostras em “HPLC”. A metodologia aqui proposta apresentou um bom limite de detecção e quantificação, tornando desnecessária uma prévia derivatização específica.

Parte Experimental

O padrão GLI, N-(fosfonometil) glicina (99,7%) foi adquirido da Sigma-Aldrich, Catálogo: 45521, lote: 8014X, validade: 14/10/2015.

Foi preparada uma solução padrão estoque de 100 mg L⁻¹ de glifosato em água purificada pelo sistema milli-Q. A partir dessa solução estoque foram feitas as devidas diluições para 500 µg L⁻¹, 300 µg L⁻¹, 150 µg L⁻¹, 75 µg L⁻¹ e 50 µg L⁻¹.

As amostras de água foram coletadas no Rio Monjolinho, Ribeirão do Feijão e Jacaré Guaçu na cidade de São Carlos - SP. É importante enfatizar a presença de interferentes na amostra em decorrência da contaminação do rio com descarte de esgoto.

No momento da coleta, foram determinados os parâmetros físico-químicos da água tais como: pH, temperatura, cor e turbidez por meio do uso de pHmetro, termômetro e turbidímetro.

Na Tabela 1, são apresentados os valores dos parâmetros físico-químicos das amostras de água.

Tabela 1: Valores dos parâmetros físico-químicos da amostra de água do Ribeirão do Feijão (pontos de 1 a 6) e do Rio Jacaré-Guaçu (pontos 7 a 9).

Pontos de amostragem	Carbono Total (mg L ⁻¹)	pH	Temperatura (°C)	Cor (uH)	Turbidez (NTU)
1	12,24	6,53	15	161	20,4
2	10,13	6,13	14	108	8,09
3	20,36	5,81	15	130	9,71
4	12,35	6,33	15	179	16,5
5	11,23	6,34	16	147	13,5
6	15,44	5,98	17	139	19,2
7	17,20	6,72	16	142	16,3
8	17,17	6,91	17	173	19,4
9	22,81	5,84	15	151	9,07

Amostragem e preparo de amostras

As amostras de água foram coletadas em frascos âmbar de 1 L, transportadas em caixas de isopor com gelo até sua chegada ao laboratório onde foram armazenadas em geladeira a 4 °C. Foram filtradas em papel de filtro comum e acidificadas com ácido fosfórico 85% até pH 2,0. As determinações ocorreram em até 5 dias após as coletas. A seguir, as amostras foram filtradas novamente, agora em filtro de seringa, com membrana de 0,45 µm.

Condições cromatográficas

As amostras de água, preparadas conforme descrito no item anterior, foram injetadas diretamente no “HPLC” sem a etapa de extração e “clean-up”.

Para a construção das curvas analíticas, utilizou-se o método de padronização externa em ordem crescente de concentração de solução de GLI: $50 \mu\text{g L}^{-1}$, $75 \mu\text{g L}^{-1}$, $150 \mu\text{g L}^{-1}$, $300 \mu\text{g L}^{-1}$ e $500 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Cada amostra foi injetada 5 vezes, obtendo-se assim um desvio padrão desejável das injeções.

Equipamento

As determinações foram realizadas em um “HPLC” modelo LC-10AVP equipado com detector de UV-Vis SPD-10VP da Shimadzu.

A fase móvel utilizada foi um tampão preparado usando 0,68 g de KH_2PO_4 com adição de H_3PO_4 (85%) até $\text{pH}=2$, completando o volume para um litro de água ultra-purificada (Milli-Q) em sistema isocrático de eluição com uma vazão de $2,3 \text{ mL min}^{-1}$.

Devido a sua alta polaridade e por não ser uma molécula volátil, GLI foi determinado por “HPLC” com coluna de troca aniônica, Partisil 10 SAX com 25 cm de comprimento por 4,6 mm de diâmetro interno.

A temperatura da coluna foi mantida a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ e o comprimento de onda de detecção em 195 nm. O volume de injeção permaneceu constante em $20 \mu\text{L}$.

Resultados e Discussão

Devido a sua alta polaridade e por não ser uma molécula volátil, o GLI é analisado pelo método proposto em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção de UV-visível, “HPLC”-UV-Vis. Alguns autores consideram esse tipo de análise inapropriada, já que o herbicida não possui agentes cromóforos em sua molécula, tornando-se necessário, portanto, o uso de reações de derivatização, geralmente em pós-coluna. No entanto, a detecção por UV-vis pode ser eficiente com o uso de uma coluna de troca iônica, já que a molécula do glifosato apresenta 4 grupos ionizáveis que podem estar na forma protonada ou dissociada de acordo

com valor do pH do meio. Tal fato já foi demonstrado por Audino e colaboradores (1983) que desenvolveram uma metodologia por “HPLC” com coluna de troca aniônica e fase móvel composta por água e metanol (96+4) usando $0,0062 \text{ mol L}^{-1}$ de KH_2PO_4 e pH ajustado para 1,9 com H_3PO_4 85% e a detecção com comprimento de onda fixo em 195 nm com detector de UV (AUDINO, et al., 1983).

Um método por cromatografia líquida para a determinação de glifosato foi testado por 28 laboratórios. As amostras foram dissolvidas na mesma fase móvel anteriormente descrita, mas sem o uso do ácido fosfórico até pH= 1,9 (MORLIER; TOMKINS, 1997).

Assim, é possível a utilização do sistema “HPLC”/UV para análise de glifosato em águas tornando-se desnecessário uma prévia derivatização da molécula, que gera problemas em demanda de tempo e alto custo em análises.

Para escolha do melhor comprimento de onda de absorção do analito, registrou-se o espectro de uma solução padrão aquosa de glifosato $500 \mu\text{g L}^{-1}$ diluída em água, em um espectrofotômetro UV-Vis-JASCO V-630. A Figura 3 apresenta esse espectro.

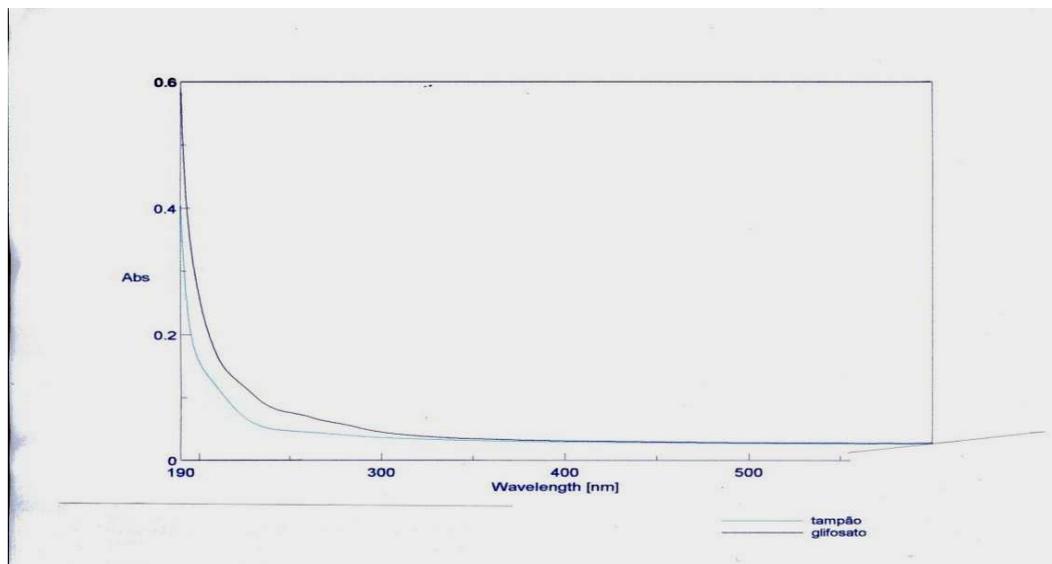


Figura 3: Espectro de absorção de luz UV/Vis para o glifosato em estudo ($500 \mu\text{g L}^{-1}$).

Além das vantagens já apontadas pelo método aqui proposto, é importante enfatizar que a fase móvel utilizada no sistema cromatográfico é uma solução aquosa que não oferece efeitos deletérios ao ambiente. Esse fator deve ser levado em consideração, já que evitamos o uso de solventes orgânicos que além do inconveniente do descarte são geralmente tóxicos e causam problemas ambientais.

Avaliação do método

A seletividade do método foi avaliada pela adição da substância padrão à matriz, nesse caso água. Nenhum interferente eluiu no mesmo tempo de retenção do glifosato.

A determinação cromatográfica por “HPLC”/UV apresentou boa seletividade, como pode ser observado na Figura 4.

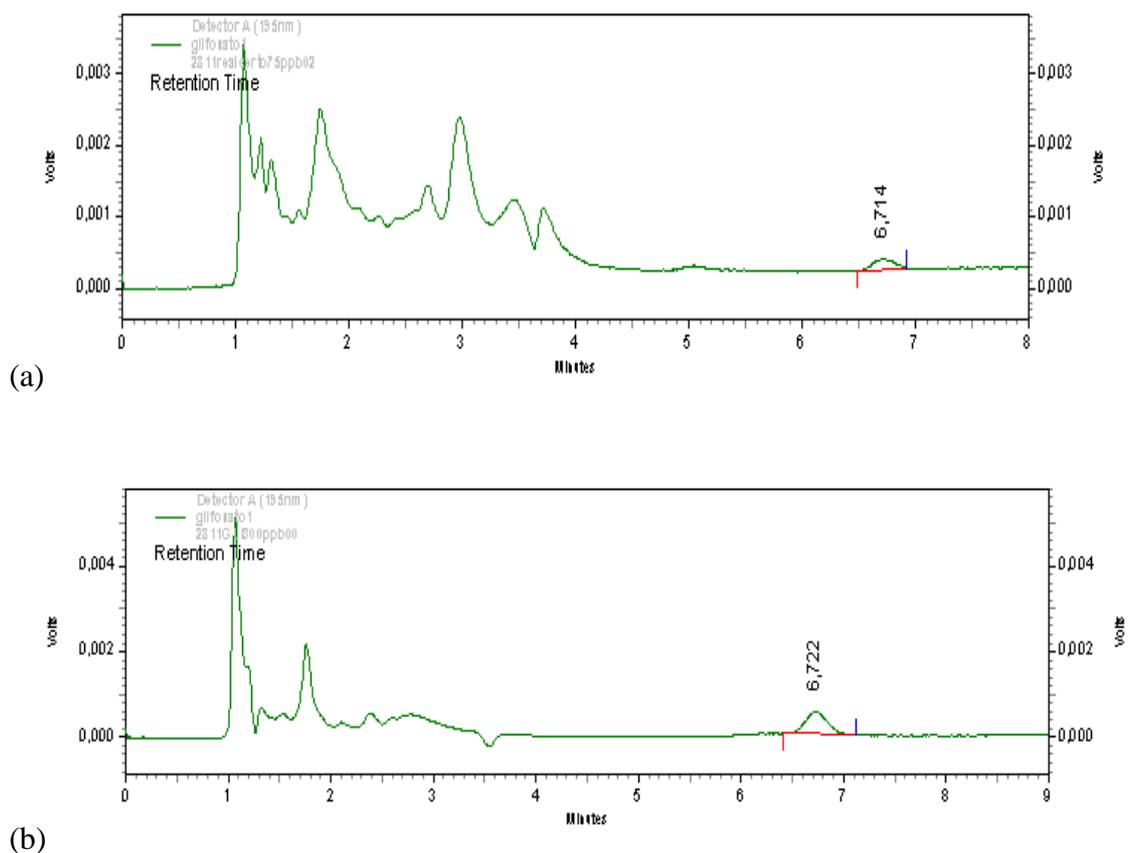


Figura 4: Cromatograma da amostra de água do Rio Monjolinho fortificada com $75 \mu\text{g L}^{-1}$ de GLI (a) e da solução padrão (b).

Vale salientar que na Figura 4a é apresentado um cromatograma de uma amostra real do Rio Monjolinho.

No branco do método, não foi identificado nenhum pico interferente proveniente da fase móvel, ou das amostras de água que podem coeluir com o composto de interesse. Na figura 5 apresenta-se o cromatograma do branco.

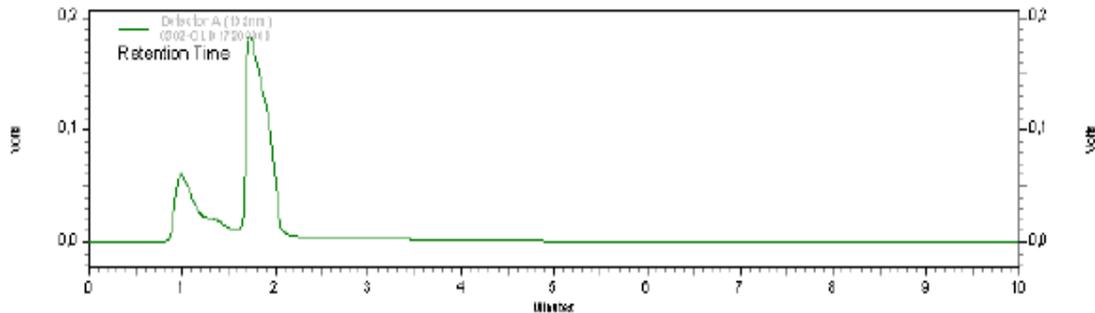


Figura 5: Cromatograma do branco de um amostra de água.

O método utilizado apresentou-se linear com coeficientes de correlação significativos dentro da faixa de concentração de 50 a 500 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Os coeficientes de correlação (r) e determinação (r^2) calculados para esta curva foram: $r = 0,9982835$ e $r^2 = 0,99657$, respectivamente.

Os valores de LD e LQ, relativos ao equipamento nas condições analíticas utilizadas, foram 3,3 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (IUPAC, 1998). Já os valores de LD e LQ, relativos ao método foram, respectivamente, de 9,93 e 30,1 $\mu\text{g L}^{-1}$. Isso indica que o método está adequado para detectar e quantificar o herbicida em baixos níveis de concentração, mesmo em concentrações abaixo do valor máximo permitido para GLI em água potável, que é 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ e em águas naturais de classe 1 e classe 3, que é de 65 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 280 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004) ; (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE, 2005).

A recuperação variou de 84 a 95 % para o GLI, sendo considerados resultados excelentes, visto que se encontram na faixa de recuperação, entre 70-120%, aceita pela EPA (2008). O método apresentou boas recuperações, mesmo com a amostra de água real apresentando interferentes como mostrado na Figura 4.

Além disso, observa-se pela Tabela 2 que o método empregado possui boa precisão, já que o coeficiente de variação porcentual (C.V.) é inferior a 20 % em todos os níveis de fortificação.

Tabela 2: Eficiência da recuperação obtida para GLI

Nível de Fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)	C.V. (%)
50	86,0	18,6
300	103,66	4,18
500	114,8	2,43

A recuperação dos níveis de fortificação foi calculada por comparação a partir da injeção em triplicata da solução padrão diluída em água de $500 \mu\text{g L}^{-1}$ de glifosato. Outras soluções padrão preparadas com a mesma solução estoque diluída em água nas concentrações de 50, 300 e $500 \mu\text{g L}^{-1}$ de glifosato foram determinados por “HPLC”/UV. Seus valores de área foram comparados com os valores de área da solução estoque para o cálculo da recuperação.

De acordo com o INMETRO, a robustez de um método mede a sensibilidade que este apresenta frente a pequenas variações. Em “HPLC”, a robustez pode ser avaliada, por exemplo, variando-se o conteúdo de um solvente orgânico. Neste caso, para a avaliação da robustez, utilizou-se metanol na fase móvel em $\pm 2\%$, o pH da fase móvel em 0,1 unidades de pH, a temperatura da coluna em $\pm 5^{\circ}\text{C}$ e o comprimento de onda de detecção em $\pm 2\%$. Se estas mudanças estiverem dentro dos limites de exatidão, precisão e seletividade aceitáveis, então o método possui robustez (RIBANI, et al, 2004).

Para tanto, foram realizados testes com a adição de metanol até 20 mL no preparo de uma solução tampão fosfato de 1 L. O pH foi alterado em ordem crescente de 1,9 até 2,1. A temperatura da coluna foi modificada progressivamente de 20°C a 30°C e o comprimento de onda de detecção manteve-se fixo em 191 nm e depois em 199 nm. As modificações dos parâmetros estudados em cromatografia foram avaliadas sob condições variadas, tais como mudança de operador e análises em dias diferentes. Mesmo com estas alterações, os resultados mostraram-se dentro dos limites aceitáveis de precisão, exatidão e seletividade, o que atesta a robustez do método.

A figura 6 mostra o cromatograma sem a variação em seus parâmetros.

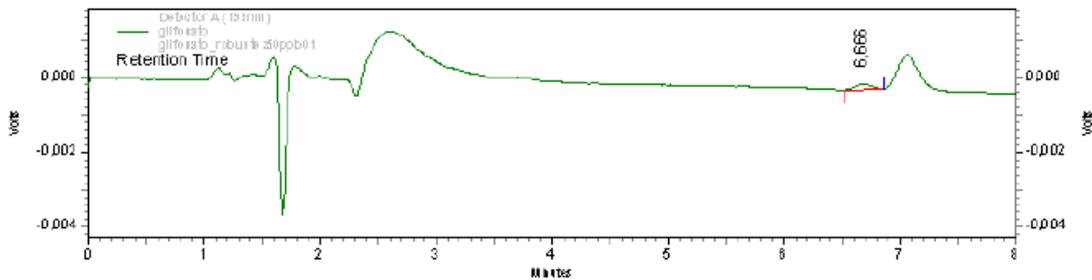


Figura 6: Cromatograma de $55 \mu\text{g L}^{-1}$ de GLI sob as condições descritas no item Equipamento.

Já a figura 7 apresenta o cromatograma com a variação máxima dos parâmetros citados anteriormente.

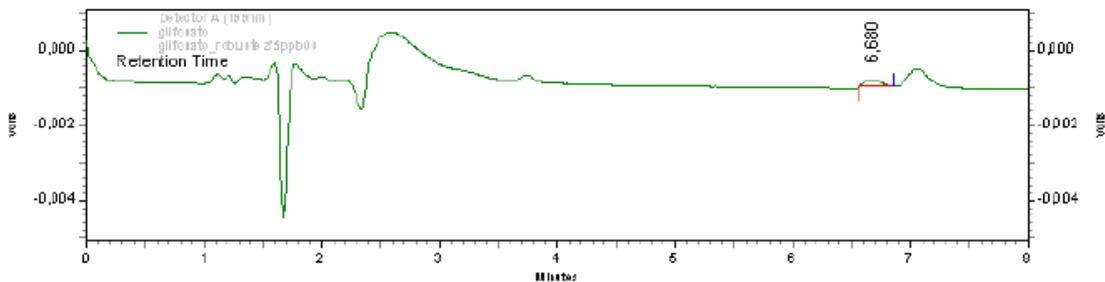


Figura 7: Cromatograma de $73 \mu\text{g L}^{-1}$ de GLI sujeito a grandes modificações em seus parâmetros.

Assim, os resultados gerados das medições do glifosato, efetuadas sob condições variadas (mudança de operador e análises realizadas em dias diferentes) não foram afetados por modificações pequenas e deliberadas em seus parâmetros.

Além da robustez, a repetitividade que representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo método, efetuadas sob as mesmas condições; mesmo procedimento; mesmo local; repetições em curto intervalo de tempo, foi testada apresentando resultados satisfatórios.

Os resíduos gerados, metanol para limpeza da coluna cromatográfica e a fase móvel $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$, foram encaminhados ao Laboratório de Resíduos Químicos para tratamento adequado (ALBERGUINI, et al., 2005).

Conclusões

A grande utilização de glifosato pode levar a efeitos deletérios no ambiente após seu uso prolongado. Portanto, torna-se necessário desenvolver metodologia adequada para sua determinação. Nesse contexto, o método proposto pelo Laboratório de Química Ambiental descreve uma alternativa eficaz para a determinação de glifosato em águas a partir de uma metodologia analítica verde, ambientalmente correta. Assim, no método ora proposto, contemplaram-se diretamente os princípios 3, 4, 5, 8 e 10 da Química Verde.

Um método cromatográfico pode ser considerado robusto se ele continua apresentando resultados aceitáveis quando são feitas pequenas variações na composição da fase móvel, pH, concentração do tampão, na temperatura da coluna e no comprimento de onda de detecção. Neste caso, foram realizadas as alterações nas variáveis citadas e o método continuou apresentando uma robustez satisfatória.

O método proposto para determinação de GLI em águas mostrou-se bastante eficiente, com boa linearidade, precisão, reprodutibilidade e repetibilidade, já que os testes referentes à validação analítica como seletividade, fortificação, linearidade e robustez foram realizados com amostras reais.

Os valores de LD e LQ, relativos ao método foram, respectivamente, de 9,93 e 30,1 $\mu\text{g L}^{-1}$. Isso indica que o método está adequado para detectar e quantificar o herbicida em baixos níveis de concentração.

O presente trabalho sugere a determinação de glifosato em águas eliminando as etapas de extração e clean-up, que geralmente são muito custosas devido ao uso de grandes quantidades de solventes orgânicos nas mais variadas formas de extração. Outra vantagem deste método foi o uso de um tampão fosfato como fase móvel utilizada nas condições cromatográficas que após um simples tratamento pode ser facilmente descartado, ao contrário da maioria dos solventes orgânicos que devido a sua toxicidade podem causar danos à saúde humana e ao ambiente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, A. B. G.; MATTA, M. H. R.; MONTAGNER, E. Desenvolvimento e validação de método de análise de glifosato em grãos de soja. *Química Nova*, v. 31, n. 5, p. 2228-2235, 2008.

ALBERGUINI, L. B. A.; SILVA, L. C.; REZENDE, M. O. O. Tratamento de resíduos químicos: guia prático para a solução dos resíduos químicos em Instituições de ensino superior, São Carlos, Rima, 2005, cap. 2, 102p.

AMARANTE JUNIOR, O. P.; Santos, T. C. R.; Brito, N. M; RIBEIRO, M. L. Métodos de extração e determinação do herbicida glifosato: breve revisão. *Química Nova*, v. 25, n. 3, p. 420- 428, 2002 .

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

ARAÚJO, A. S. F. Biodegradação, extração e análise de glifosato em dois tipos de solos. 2002. 63 f. Dissertação de Mestrado, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2002.

AUDINO, J. B.; BENNETT, O. O.; GALE, G. T.; GLINSK, R.; OWENS, M. E.; PARKER, J. J; PEAKE, A.; NOWE, N.; SORENSEN, E. V.; TORMA, L.; VALANGE, B. M. Liquid-Chromatographic determination of glyphosate technical and its formulation- collaborative study. *Journal of the association of official analytical chemists*, v. 66, n. 5, p.1214-1219, 1983.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE: Resolução nº 357, de 17 de Março de 2005.

CORRÊA, A. G.; ZUIN, V. G.; Química Verde: fundamentos e aplicações: São Carlos, EdUFSCar, 2009, cap. 6, 171p.

ENVIRONMENTAL POLLUTION AGENCY (EPA). *Chemical- Specific Parameters*. Disponível em: <http://www.epa.gov/oerrpages/superfund/health/conmedia/soil/toc.htm>, Acesso em Agosto 2008.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO e QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO). *Vocabulário internacional de termos fundamentais e gerais de metrologia*. Disponível em <http://www.inmetro.gov.br/kits/doqcgcre008r01.pdf>. Acesso em Maio de 2008.

IUPAC. KRULL, I.;SWARTZ, M. Determining limits of detection and quantification. *LC-GC*, v. 16, n.10, p.922-924, 1998.

KRULL, I. ; SWARTZ, M. Determining limits of detection and quantification. LC-GC, v.16, n. 10, p. 922-924, 1998.

MINISTÉRIO DA SAÚDE: *Portaria nº 518*, de 25 de Março de 2004.

MORLIER, L.W.; TOMKINS, D. F. Liquid chromatographic determination of glyphosate in water-soluble granular formulations: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, v. 80, p. 464-473, 1997.

NEDELKOSKA, T.V.; LOW, G. K. C. High-performance liquid chromatographic determination of glyphosate in water and plant material after pre-column derivatisation with 9-fluorenylmethyl chloroformate *Analytica Chimica Acta*. v. 511, n. 1, p.145-153, 2004.

RIBANI, M.; BOTOLLI, C.B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Validação e métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova*, v. 25, n. 5, p. 771- 780, 2004.

SOUZA, T. A.; MATTA, M. H. R.; MONTAGNER, E.; Abreu, A. B. G. Estudo da recuperação de glifosato e AMPA derivados em solo utilizando-se resinas nacionais. *Química Nova*, v. 29, n. 6, p. 1372- 1376, 2006.

TEÓFILO, R. F. Planejamentos experimentais para a otimização da resposta voltamétrica na determinação do herbicida glifosato em solo, água e vegetais. 2003. 96 f. Dissertação de Mestrado- Programa de pós-graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, 2003.

TONI, L. R. M.; SATANA, H.; ZAIA, D. A. M. Adsorção de glifosato sobre solos e minerais. *Química Nova*, v. 29, n. 4, p. 829-833, 2006.