

DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA POR INJEÇÃO EM FLUXO DE GLIFOSATO EM FORMULAÇÕES COMERCIAIS DE HERBICIDAS

Aline Santana da Silva, Leonardo Pezza e Helena Redigolo Pezza*

Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, CP 355, 14801-970 Araraquara - SP, Brasil

Recebido em 21/2/11; aceito em 8/6/11; publicado na web em 22/7/11

FLOW-INJECTION SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF GLYPHOSATE IN COMMERCIAL FORMULATIONS OF HERBICIDES. A flow injection spectrophotometric procedure for the determination of glyphosate in commercial formulations of herbicides is proposed. The determination is based on the reaction of glyphosate and *p*-dimethylaminocinnamaldehyde, in acid medium, yielding a colored compound ($\lambda_{\text{max}} = 495 \text{ nm}$). Under optimal conditions, Beer's law is obeyed in a concentration range 40-640 $\mu\text{g mL}^{-1}$ with a correlation coefficient of 0.9996. The detection limit was 8.60 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for glyphosate. The method was successfully applied for the determination of glyphosate in commercial formulations of herbicides. Recovery of glyphosate from various commercial samples of herbicides range from 91.0 to 110%.

Keywords: glyphosate; herbicides; flow injection analysis.

INTRODUÇÃO

O glifosato [N-(fosfonometil)glicina, $\text{C}_3\text{H}_8\text{NO}_5\text{P}$] é um herbicida (agrotóxico) pós-emergente, pertence ao grupo químico glicina substituída e é tóxico para organismos aquáticos, pouco tóxico para organismos do solo, aves e abelhas, e pouco bioacumulável.¹ Os produtos técnicos à base do ingrediente ativo glifosato, em geral, são classificados na classe III (produto perigoso).²

É um dos herbicidas mais comumente utilizado no mundo, no controle de plantas daninhas e em diversos tipos de culturas,³ sendo metabolizado a ácido aminometilfosfônico (AMPA) em plantas e solos através da degradação via sarcosina e glicina.⁴

No Brasil constata-se o crescente aumento no consumo de agrotóxicos em razão, principalmente, da expansão da fronteira agrícola e do aumento de terras onde é praticado o plantio direto. Dentre os agrotóxicos consumidos, o glifosato é o ingrediente ativo situado em primeiro lugar no *ranking* de comercialização no país, representando 76% da comercialização da classe de uso de herbicidas, sendo reportada a comercialização de 71 marcas comerciais de produtos formulados à base de glifosato, por 20 diferentes empresas registrantes.¹

Embora o glifosato não seja considerado um sério contaminante para o homem, os efeitos deste herbicida no meio ambiente ainda não foram completamente elucidados.⁵ O glifosato é utilizado nas formulações comerciais usualmente associado com o surfactante polioxi-etilenoamina (POEA), para o qual nenhum limite específico de exposição ocupacional foi estabelecido. Alguns dos efeitos tóxicos das formulações são atribuídos à presença desse ingrediente nas formulações comerciais.^{4,6}

A forte retenção do glifosato pelo solo, sua alta solubilidade em água e permanência no meio ambiente⁷⁻⁹ podem favorecer o aumento da concentração deste herbicida na natureza e causar significativo impacto ambiental,^{10,11} especialmente em efluentes de fábricas produtoras de glifosato, representando sérios riscos a ambientes agrícolas e aquáticos.¹²

Há relatos de diversos métodos para a determinação de glifosato em matrizes diversas, incluindo as técnicas de cromatografia em camada delgada (TLC),¹³ cromatografia de interação hidrofílica (HILIC),¹⁴ cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC),^{10,15} cromatografia líquida com detecção por massas (LC-MS),¹⁶ cromatografia gasosa (GC),¹⁷ eletroforese capilar (CE),⁷ espectrofotometria na região visível,^{18,19} dentre outros.²⁰⁻²² Entretanto, nota-se a inexistência de descrição de trabalhos envolvendo a determinação de glifosato utilizando análise em fluxo.

Dentre os métodos propostos para a determinação de glifosato, as técnicas cromatográficas são frequentemente empregadas por apresentarem seletividade e sensibilidade.^{15,16} A ausência de grupos cromóforos que absorvem no UV-Vis ou fluoróforos em sua estrutura dificulta a quantificação deste analito, havendo, portanto, a necessidade de aplicação de técnicas de derivatizações (pré- ou pós-coluna), nas determinações cromatográficas.²³⁻²⁵ Em geral, as técnicas de derivatização requerem várias etapas para melhorar a resolução e a seletividade do método. Além disso, estas apresentam baixa precisão, requerem longo tempo de extração e análise, a utilização de solventes tóxicos, além de possibilitar a formação de produtos instáveis.^{23,24}

Atualmente, o uso de metodologias analíticas que não necessitam de derivatização, empregando sistemas simples, de baixo custo e com resultados satisfatórios e rápidos é uma das áreas que tem despertado grande interesse, principalmente quando precisam ser tomadas decisões rápidas.

Os métodos de análise envolvendo procedimentos em fluxo para a determinação de glifosato representam uma alternativa atrativa em relação aos métodos analíticos atualmente existentes para a sua determinação. A análise por injeção em fluxo (FIA) foi proposta em 1975 e, desde então, alcançou grandes proporções no ramo da pesquisa, abrangendo várias áreas da química analítica.²⁶⁻²⁸ Essa aceitação foi devida à possibilidade deste procedimento propiciar o desenvolvimento de métodos analíticos de melhor precisão empregando equipamentos de baixo custo, bem como a possibilidade do pesquisador desenvolver seu próprio módulo de análise.²⁹⁻³¹

Outras vantagens na aplicação dos sistemas em fluxo em relação aos procedimentos existentes na literatura são o pouco uso de vidrarias, a utilização de um sistema fechado, o que minimiza os riscos de contaminação, e o baixo consumo de reagentes, o que o torna um procedimento mais limpo.^{32,33}

Considerando que o glifosato vem sendo utilizado no Brasil desde 1978, em numerosas condições de agricultura, áreas urbanas, manutenção de estradas e ferrovias, envolvendo inúmeras formulações comerciais, produzidas por empresas com diferentes níveis tecnológicos,

*e-mail: hrpezza@iq.unesp.br

o desenvolvimento de métodos rápidos e ambientalmente mais benignos para o controle de qualidade das formulações comerciais deste herbicida é de suma importância para o setor industrial, bem como para o controle de adulterações e/ou falsificações desses produtos.

No presente trabalho, é proposto um procedimento em fluxo com detecção espectrofotométrica para a determinação direta de glifosato, o qual é baseado na reação entre glifosato e *p*-dimetilaminocinamaldeído (*p*-DAC) em meio ácido, produzindo um composto colorido que apresenta máximo de absorção em 495 nm. O método proposto foi validado e aplicado na análise de glifosato em formulações comerciais de herbicidas.

PARTE EXPERIMENTAL

Equipamentos

No sistema em fluxo foi empregada uma bomba peristáltica da marca Gilson, de 8 canais, com rotação variável (1-50 rpm) para a propulsão dos fluidos. Um injetor comutador manual de acrílico com barra deslizante, tubos de Tygon (1,42 mm d.i.), tubos de polietileno (0,8 mm d.i.) e conectores foram utilizados para o transporte e inserção das soluções (amostra e reagente) no sistema em fluxo por linha única.

Para controle e aquisição dos dados, foi utilizado um microcomputador equipado com uma interface eletrônica (OOIBase32-Ocean Optics). Para medida dos sinais transientes, utilizou-se uma lâmpada de tungstênio e um espectrofotômetro da marca Ocean Optics UBS 2000, equipado com cela de fluxo de 80 μL e caminho óptico de 1 cm.

Os volumes das alíquotas de padrão e amostra para preparo das soluções foram medidos com auxílio de buretas automáticas Metrohm modelo 665 (com precisão de $\pm 0,001$ mL).

Reagentes e soluções

Todos os reagentes empregados foram de grau analítico e usados sem purificação prévia. No preparo das soluções foi utilizada água de alta pureza (resistividade ≥ 18 M Ω cm) obtida em sistema de purificação Milli-Q (Millipore Corp., Bedford, MA, USA).

Solução padrão 2000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de glifosato foi preparada a partir de glifosato de alta pureza (Sigma Aldrich, 96%). A curva analítica empregada para determinação de glifosato foi construída mediante diluições adequadas da solução estoque de glifosato para as concentrações finais de 40, 80, 160, 240, 320, 400, 480, 560 e 640 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

No preparo da solução de reagente cromogênico, foram pesados 0,0751 g de *p*-dimetilaminocinamaldeído (*p*-DAC), que foram dissolvidos em 2,50 mL de HCl 1,00 mol L⁻¹, e em seguida diluído com água desionizada para o volume de 50,00 mL, obtendo uma solução de concentração final de 0,15% (m/v) de *p*-DAC em HCl 0,05 mol L⁻¹. Esta solução é estável por uma semana quando mantida sob refrigeração a 4 °C.

Aquisição e preparo das amostras

Para a aplicação do método proposto, 4 amostras de herbicidas comerciais de diferentes marcas (A, B, C, D), com conteúdo nominal de 360 g L⁻¹ de glifosato na sua forma ácida, foram adquiridas em estabelecimentos agropecuários da cidade de Araraquara – SP (Brasil). A amostra D foi diluída a 25% (m/v) em nosso laboratório.

No preparo das soluções para análise, duas diluições sucessivas foram estabelecidas. Inicialmente, preparou-se uma solução com concentração final de 5,0 g L⁻¹ de glifosato por diluição adequada da solução de herbicida original. Na sequência, 1,00 mL desta solução foi transferida para balão de 50,00 mL, após correção do pH para aproximadamente 2,0; com solução de HCl diluído (1,00 mol L⁻¹).

Procedimento

O módulo de análise empregado foi o sistema em linha única, similar ao descrito anteriormente na literatura³⁴ (Figura 1). Nessa Figura, o injetor está na posição de amostragem, sendo a amostra bombeada através da alça de amostragem. Quando o injetor é comutado para a posição de inserção (sentido da seta), insere-se o volume da alça de amostragem no caminho do fluido carregador e este transporta a amostra em direção ao detector, sendo que durante o transporte a amostra se dispersa continuamente no fluido carregador, gerando um gradiente de concentração no percurso analítico.²⁷ Um fluxo através do detector, posicionado após a reação ter ocorrido, registra o sinal transiente por meio da absorbância ($\lambda_{\text{máx}}$ 495 nm) cuja magnitude é proporcional à concentração de glifosato. Após o registro do valor máximo de absorbância, o injetor comutador retorna à posição inicial (posição de amostragem) iniciando outro ciclo de medida.

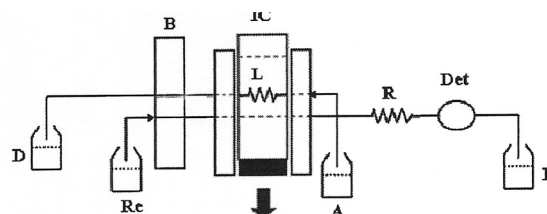


Figura 1. Diagrama de fluxo do sistema FIA usado na determinação de glifosato. IC: injetor comutador; L: alça de amostragem (50 cm); A: solução padrão de glifosato ou amostra (0,6 mL min⁻¹); Re: solução de *p*-DAC 0,15% (m/v) (0,7 mL min⁻¹); R: reator (100 cm x 0,8 mm d.i.); B: bomba peristáltica; D: descarte e Det: detector. A seta indica a direção do fluxo

Otimização das variáveis

A otimização das condições experimentais para o emprego do sistema FIA proposto para a determinação de glifosato foi feita por meio de análise quimiométrica.³⁵ O estudo das variáveis envolvidas na reação foi feito por meio de planejamento fatorial fracionário (2^{5-1}) e planejamento fatorial completo (2^3).

Todos os ensaios realizados foram feitos em triplicata e os resultados foram analisados utilizando o software *Statistics*, versão 6.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em artigo de revisão,³⁶ os autores apresentam os valores das constantes de dissociação encontradas na literatura para o glifosato ($\text{p}K_1 = 0,8$; $\text{p}K_2 = 2,16$; $\text{p}K_3 = 5,46$; $\text{p}K_4 = 10,14$) as quais fornecem informações sobre o grau de dissociação do herbicida em função do pH. Desta forma, a amina secundária na molécula de glifosato pode reagir com *p*-DAC em meio ácido, uma vez que a maior parte do glifosato se encontra protonado no sítio do grupo amina.

A reação entre aminas primária ou secundária e *p*-DAC ocorre via condensação do grupo amino protonado com o grupo carbonila do reagente, para produzir um sal imínio.³⁷ O mecanismo provável desta reação está apresentado na Figura 2, o qual se baseia em modelos de reações sugeridas na literatura.^{37,38}

Devido à inexistência de procedimentos de análise em fluxo para o analito em estudo, optou-se por um sistema em linha única para evitar uma maior diluição das soluções, em decorrência da reação empregada ser lenta e, também, pela vantagem de ser mais simples de ser executado por um técnico na análise de formulações comerciais. Processos de fluxos intermitentes³⁴ são melhoramentos no sistema de injeção-comutação que acarretariam menor consumo de reagentes e amostra com menor geração de resíduos, entretanto,

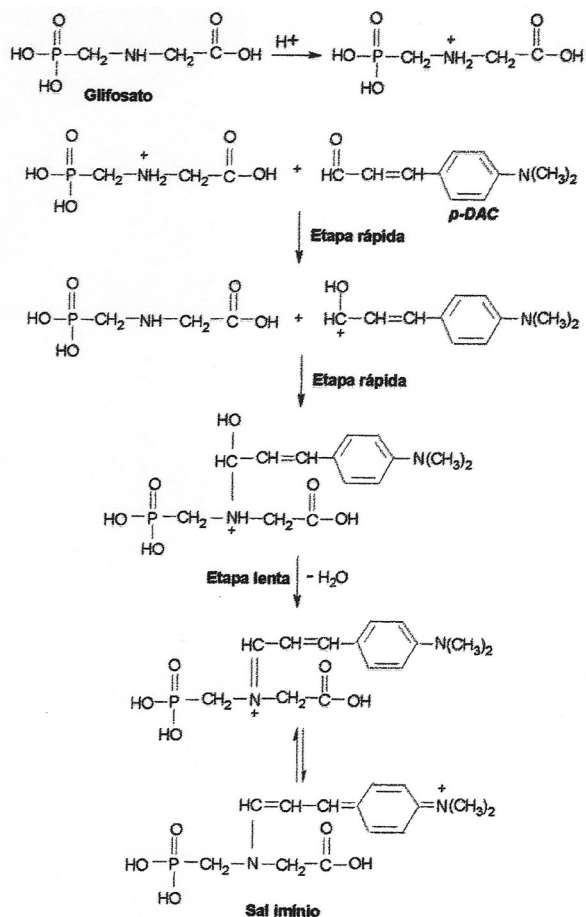


Figura 2. Esquema do mecanismo da reação entre glifosato e *p*-DAC

quando dispositivos automáticos são disponíveis para injeção, um procedimento com parada de fluxo é uma opção melhor do que a adição por fluxos intermitentes.³⁹

Otimização das variáveis

Experimentos preliminares realizados em nosso laboratório com a utilização dos ácidos clorídrico, sulfúrico, nítrico, perclórico e acético para o processamento da reação revelaram um sinal analítico superior para o ácido clorídrico, sendo este o selecionado para os experimentos de triagem descritos na sequência.

Para a obtenção de uma melhor resposta analítica do sistema proposto, a triagem das variáveis envolvidas na reação foi feita a partir de um planejamento 2^{5-1} (fatorial fracionário) e, em seguida, 2^3 (fatorial completo) com o intuito de determinar a influência dos efeitos de cada variável.³⁵

As variáveis de interesse foram: concentração de *p*-DAC, concentração de HCl, alça de amostragem, reator e vazão. Neste planejamento, 16 ensaios ($n = 3$) foram realizados, em condições experimentais definidas, preliminarmente, em dois níveis: alto (+1) e baixo (-1). Os resultados encontrados estão apresentados na Figura 3.

O gráfico de Pareto (Figura 3) representa a visualização dos principais efeitos das variáveis consideradas. Este gráfico mostra que o sinal positivo indica que o melhor sinal analítico é obtido quando há um aumento do valor da respectiva variável, enquanto o sinal negativo indica que o melhor sinal é favorecido quando há diminuição desta variável, na faixa pré-estabelecida.³⁰ Neste sentido, a concentração de HCl e alça de amostragem foram as variáveis que menos influen-

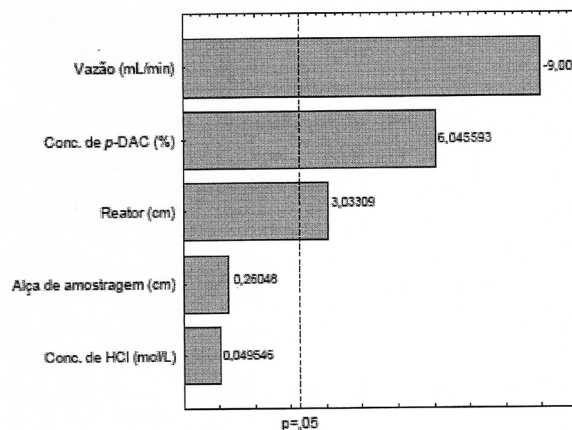


Figura 3. Gráfico de Pareto para a visualização dos efeitos do sistema FIA e das variáveis químicas usando planejamento fatorial fracionário

ciaram na reação entre *p*-DAC e glifosato, por apresentarem efeitos menores que 5%. Desta forma, as mesmas foram fixadas nos níveis mais baixos (-1).

Alterando as condições experimentais, realizou-se o planejamento fatorial completo para as variáveis: concentração de *p*-DAC, reator e vazão. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 4.

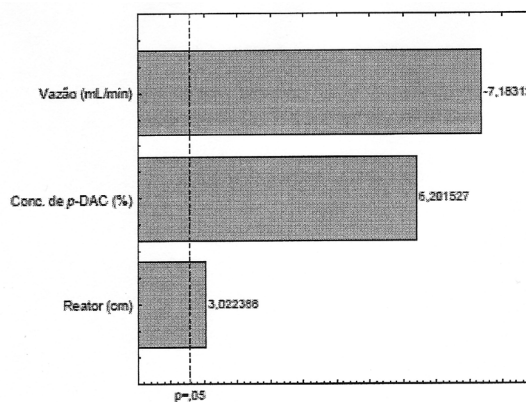


Figura 4. Gráfico de Pareto para a visualização dos efeitos do sistema FIA e das variáveis químicas usando planejamento fatorial completo

Neste ensaio, o gráfico de Pareto obtido (Figura 4) mostra que sob esta condição de análise, o reator é a variável que menos influencia na reação, sendo, portanto, fixada no nível mais baixo (-1). Para a concentração de *p*-DAC, maior resposta analítica seria obtida aumentando a concentração desta solução e, por questões de solubilidade, esta foi fixada no nível mais alto (+1), uma vez que esta é a concentração máxima de *p*-DAC que a solução de HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ consegue dissolver. Para a variável vazão, apesar do gráfico de Pareto mostrar que diminuindo a vazão aumentaria a resposta analítica, esta foi mantida em 5 rpm, devido às vazões de 0,7 e $0,6 \text{ mL min}^{-1}$ obtidas para as soluções de reagente e de amostra, respectivamente.

A Tabela 1 apresenta as variáveis ensaiadas e as condições otimizadas empregadas, de acordo com o planejamento experimental adotado.

Validação e aplicação do método

O método analítico foi validado em termos de faixa linear dinâmica, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), estudo de interferentes, precisão e ensaios de recuperação.⁴⁰ A repetibilidade foi avaliada empregando medidas de 10 replicatas interdia e intradia

Tabela 1. Variáveis estudadas com suas respectivas condições experimentais otimizadas

Variável	Planejamento fatorial fracionário			Planejamento fatorial completo		
	Nível (-1)	Nível (+1)	Condição adotada	Nível (-1)	Nível (+1)	Condição adotada
[p-DAC] (% m/v)	0,1	0,18	-	0,1	0,15	0,15
[HCl] (mol L ⁻¹)	0,05	0,08	0,05	-	-	-
Alça de amostragem (cm)	50	100	50	-	-	-
Reator (cm)	60	100	-	100	150	100
Vazão (mL min ⁻¹)	0,4	1,0	-	0,7	1,4	0,7

de solução padrão de 300 µg mL⁻¹, as quais apresentaram coeficiente de variação de 0,54 e 2,46%, respectivamente. Esses resultados de precisão podem ser considerados aceitáveis, devido à baixa porcentagem obtida para os respectivos coeficientes de variação.¹²

Curva analítica, LD e LQ

A curva analítica foi obtida por injeções sucessivas em triplicata de volumes de soluções padrão na faixa de concentração de 40 a 640 µg mL⁻¹ (2,37 x 10⁻⁴ a 3,78 x 10⁻³ mol L⁻¹). A frequência analítica obtida neste sistema foi de 24 medidas h⁻¹ e os sinais transientes estão apresentados na Figura 5. O tratamento dos dados (n = 3) pelo método dos mínimos quadrados forneceu a equação da reta: A = -0,00627 + 7,204x10⁻⁴ x C (R = 0.9996), onde A é a absorbância e C a concentração do glifosato em µg mL⁻¹.

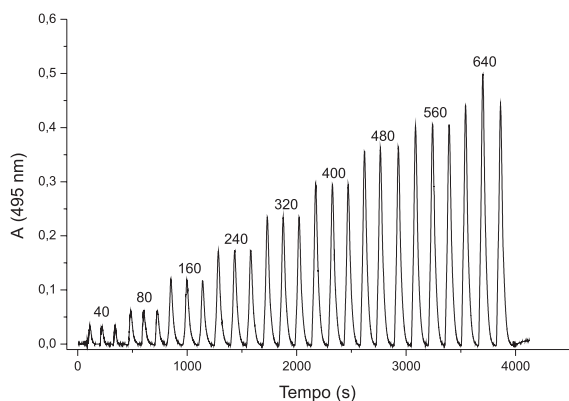


Figura 5. Sinais transientes obtidos em triplicata para soluções padrão de glifosato nas concentrações de 40 a 640 µg mL⁻¹. As condições do sistema de injeção em fluxo são as mesmas especificadas na legenda da Figura 1

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram determinados segundo a recomendação da IUPAC:⁴¹ LD = 3 x (s/S) e LQ = 10 x (s/S), onde “s” é o desvio padrão das medidas referente ao branco (n = 10) e “S” é a inclinação da curva analítica. Os limites de detecção e quantificação foram 8,6 e 28,7 µg mL⁻¹, respectivamente.

Estudo de interferentes

A possível interferência de alguns ingredientes, coprodutos de síntese ou adulterantes, que podem estar presentes nas formulações comerciais foi estudada. Mesmo havendo regulamentos para a comercialização dessas formulações, os produtores não são obrigados a especificar no rótulo do produto a lista de ingredientes inertes.

Dentre os interferentes, estudou-se a influência de nitrosoglifosato, isopropilamina, formaldeído, polioxietileno de alquilamina, glufosinato, e 2,4-D. Foi considerado efeito de interferência quando o sinal mostrou um erro maior do que 3% na determinação do glifosato. Nenhuma interferência foi observada na presença dessas substâncias quando em concentrações iguais ou o dobro da concentração de glifosato.

Estudos adição de padrão e recuperação

Para verificar a eficiência e exatidão do método proposto, as amostras de herbicidas foram fortificadas para avaliar as possíveis interferências da matriz. As amostras de herbicidas foram fortificadas com concentrações de 50, 100 e 150 µg mL⁻¹ de solução padrão de glifosato. Cada amostra foi analisada em replicata (n = 3). Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados de recuperação de glifosato em formulações comerciais de herbicidas. Concentração de glifosato adicionada em cada amostra: 50, 100 e 150 µg mL⁻¹

Amostras	Concentração encontrada (µg mL ⁻¹)	Recuperação (%)
A	51,3	103
	107,0	107
	150,8	101
		μ ^a = 104 ± 3
B	55,2	110
	105,5	106
	163,9	109
		μ ^a = 108 ± 2
C	45,5	91,0
	91,4	91,4
	145,4	96,9
		μ ^a = 93,1 ± 3,3
D	49,2	98,4
	97,8	97,8
	144,9	96,6
		μ ^a = 97,6 ± 0,9

μ^a Média ± D.P.R. de três determinações.

A média de recuperação obtida foi na faixa de 91,0 a 110%, com coeficiente de variação menor que 8%. Estes dados indicam que apesar da presença de surfactante (polietoxietileno amina) nas amostras de herbicidas comerciais, a diluição estabelecida e as análises realizadas em pH aproximadamente 2 promoveram resultados de recuperação com boa precisão, devido ao efeito da matriz não ser significativo.³⁹

Aplicação do método proposto

Muitas formulações de herbicidas além da presença do ingrediente ativo glifosato contêm em sua composição aditivos, tais como solventes, surfactantes, etc. O principal aditivo das amostras de herbicidas contendo glifosato é, em geral, o surfactante POEA, polioxietileno de alquilaminas de cadeias longas.⁴² A presença deste surfactante é de grande importância, uma vez que garante a sua eficiência de aplicação nas culturas, por possibilitar melhor aderência nas folhas e, com isso, maior permanência no tecido vegetal.

Devido a esse fato, alguns produtos de herbicidas comerciais de diferentes marcas foram selecionados para se avaliar a aplicação do método proposto e os resultados obtidos encontram-se sumarizados na Tabela 3.

Tabela 3. Determinação de glifosato em formulações comerciais de herbicidas

Amostras	Teor rotulado de glifosato ¹ (g L ⁻¹)	Teor de glifosato encontrado ² (g L ⁻¹)	D.P.R. ³ (%)
A	360	378,8	3,2
B		392,4	4,3
C		330,6	3,2
D ⁴		274,6	1,2

¹ Teor de glifosato fornecido pelo fabricante. ² Média dos teores encontrado (n = 3). ³ Desvio padrão relativo. ⁴ Amostra diluída.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostram um bom desempenho do método proposto para a análise de glifosato em formulações comerciais de herbicidas. O método proposto é simples, de baixo custo relativo, rápido, apresenta frequência analítica de aproximadamente 24 medidas por hora sendo, portanto, uma alternativa vantajosa em relação a outros métodos descritos na literatura. Além disso, não há necessidade de etapas de pré-tratamento das amostras, requer baixo consumo de amostra e gera uma quantidade de resíduo de aproximadamente 2,83 mg por análise, o que implica em uma menor geração de resíduos quando comparado com os métodos descritos na literatura, atendendo à filosofia da Química Verde. O método proposto apresenta absorvidade molar (121,9 L mol⁻¹ cm⁻¹) inferior a dos métodos espectrofotométricos descritos na literatura.^{18,19} Entretanto, nas amostras analisadas (formulações comerciais) a sensibilidade não é fator preponderante haja vista que o glifosato está presente em grandes quantidades, exigindo diluições para a sua análise. Adicionalmente, os métodos espectrofotométricos reportados na literatura apresentam como desvantagens a utilização de reagentes e solventes tóxicos, como dissulfeto de carbono em meio de clorofórmio,¹⁸ a necessidade de aquecimento a 100 °C para a promoção da reação¹⁹ aliado à falta de reprodutibilidade.

Desta forma, este estudo mostra a potencialidade do sistema de análise por injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica para ser aplicado como um método alternativo atrativo na determinação direta de glifosato em amostras de herbicidas comerciais.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, ao CNPq e CNPq/MAPA/SDA edital 64/2008 pelo apoio financeiro concedido.

REFERÊNCIAS

- Rebelo, R. M.; Vasconcelos, R. A.; Buys, B. D. M. C.; Rezende, J. A.; Moraes, K. O. C.; Oliveira, R. P.; *Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil: uma abordagem ambiental*, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – Brasília: IBAMA, 2010.
- IBAMA; *Manual para requerimento de avaliação ambiental: agrotóxicos e afins*, Brasília: DIQUA/CGASQ, 2009. Disponível em <http://www.ibama.gov.br/qualidade-ambiental/manualdeprocedimento-para-registro-de-agrotoxicos/>, acessada em Fevereiro 2011.
- Abreu, A. B. G.; Matta, M. H. R.; Montagner, E.; *Quim. Nova* **2008**, *31*, 5.
- Powell, H. A.; Kerby, N. W.; Rowell, P.; *J. Chromatogr.* **1990**, *502*, 201.
- Vreeken, R. J.; Speksnijder, P.; Bobeldijk-Pastorova, I.; Noij, Th. H. M.; *J. Chromatogr. A* **1998**, *794*, 187.
- Souza, T. A.; Matta, M. H. R.; Montagner, E.; Abreu, A. B. G.; *Quim. Nova* **2006**, *29*, 1372.
- Jiang, J.; Lucy, C. A.; *Talanta* **2007**, *72*, 113.
- http://www.foe.co.uk/resource/reports/impacts_glyphosate.pdf, acessada em Novembro 2009.
- Powles, S. B.; Lorraine-Colwill, D. F.; Dellow, J. J.; Preston, C.; *Weed Sci.* **1998**, *46*, 604.
- Khrolenko, M. V.; Wieczorek, P. P.; *J. Chromatogr. A* **2005**, *1093*, 111.
- Skark, C.; Zullei-Seibert, N.; Schöttler, U.; Schlett, C.; *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **1998**, *70*, 93.
- González-Martinez, M. A.; Brun, E. M.; Puchades, R.; Maquieira, A.; Ramsey, K.; Rubio, F.; *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 4219.
- Bunyatyán, Y. A.; Gevorgyan, A. A.; *Gig. Sanit.* **1984**, *5*, 43.
- Coutinho, C. F. B.; Coutinho, L. F. M.; Mazo, L. H.; Nixdorf, S. L.; Camara, C. A. P.; Lanças, F. M.; *Anal. Chim. Acta* **2007**, *592*, 30.
- Qian, K.; Tang, T.; Shi, T.; Wang, F.; Li, J.; Cao, Y.; *Anal. Chim. Acta* **2009**, *635*, 222.
- Hanke, I.; Singer, H.; Hollender, J.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2008**, *391*, 2265.
- Hu, J.-Y.; Chen, C.-L.; Li, J.-Z.; *J. Anal. Chem.* **2008**, *63*, 371.
- Jan, M. R.; Shah, J.; Muhammad, M.; Ara, B.; *J. Hazard. Mater.* **2009**, *169*, 742.
- Bhaskara, B. L.; Nagaraja, P.; *Helv. Chim. Acta* **2006**, *89*, 2686.
- Xiao, J.; Zhou, Q.; Yang, B.; Wang, Z.; *Anal. Sci.* **2004**, *20*, 1415.
- Songa, E. A.; Arotiba, O. A.; Owino, J. H. O.; Jahed, N.; Baker, P. G. L.; Iwuoha, E. I.; *Bioelectrochemistry* **2009**, *75*, 117.
- Simões, F. R.; Mattoso, L. H. C.; Vaz, C. M. P.; *Sens. Lett.* **2006**, *4*, 319.
- Chiu, H.-Y.; Lin, Z.-Y.; Tu, H.-L.; Whang, C.-W.; *J. Chromatogr. A* **2008**, *1177*, 195.
- You, J.; Kaljurand, M.; Koropchak, J. A.; *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **2003**, *83*, 797.
- Horwitz, W.; Latimer Júnior, G. W.; *Official methods of analyzes of AOAC international*, 18ª ed., AOAC International: Gaithersburg, 2005, p. 60-100.
- Ribeiro, P. R. S.; Gomes Neto, J. A.; Pezza, L.; Pezza, H. R.; *Talanta* **2005**, *67*, 240.
- Reis, B. F.; Giné, M. F.; Kronka, E. A. M.; *Quim. Nova* **1989**, *12*, 82.
- Ruzicka, J.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *308*, 14.
- Fernández-Ramos, J. M.; García-Campaña, A. M.; Alés-Barrero, F.; Bosque-Sendra, J. M.; *Talanta* **2006**, *69*, 763.
- Rufino, J. L.; Pezza, H. R.; Pezza, L.; *Anal. Sci.* **2008**, *24*, 871.
- Oliveira, A. F.; Fatibello-Filho, O.; *Talanta* **1999**, *50*, 899.
- Rocha, F. R. P.; Nóbrega, J. A.; Fatibello-Filho, O.; *Green Chem.* **2001**, *3*, 216.
- Anastas, P. T.; *Crit. Rev. Anal. Chem.* **1999**, *29*, 167.
- Reis, B. F.; *Quim. Nova* **1996**, *19*, 51.
- Barros Neto, B.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E.; *Como fazer experimentos*, 3ª ed.; Ed. da UNICAMP: Campinas, 2007, cap. 6, p. 305-339.
- Amarante Jr., O. P.; Santos, T. C. R.; Brito, N. M.; Ribeiro, M. L.; *Quim. Nova* **2002**, *25*, 589.
- Feigl, F.; *Spot Tests in Organic Analysis*, 5ª ed.; Elsevier, Amsterdam, 1966, p. 243.
- Zawilla, N. H.; Mohammad, M. A. A.; Kousy, N. M. E.; Aly, S. M. E.-M.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2002**, *27*, 243.
- Zagatto, E. A. G.; Jacintho, A. O.; Mortatti, J.; Bergamin-Filho, H.; *Anal. Chim. Acta* **1980**, *120*, 399.
- Lanças, F. M.; *Validação de métodos cromatográficos de análise*, Editora RiMa: São Carlos, 2004, cap. 2, p. 9-28.
- Long, L. G.; Winefordner, J. D.; *Anal. Chem.* **1983**, *55*, 712A.
- Williams, G. M.; Kroes, R.; Munro, I. C.; *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **2000**, *31*, 117.