

MATERIAIS MONOLÍTICOS POROSOS PARA EXTRAÇÃO E SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA VISANDO A DETERMINAÇÃO DE GLIFOSATO E ÁCIDO AMINOMETILFOSFÔNICO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS

Caryna Moraes Velasques

Prof. Dr. Jorge Cesar Masini

Instituto de Química - Universidade de São Paulo

carynavelasques@usp.br

Objetivos

Desenvolvimento de métodos analíticos para detecção de glifosato, bem como seu produto de degradação ácido aminometilfosfônico (AMPA).

Métodos e Procedimentos

As colunas foram produzidas baseadas no copolímero entre metacrilato de laurila e metacrilato de etileno glicol, poli(LMA-co-EDMA). A proporção seguida foi de 24% LMA, 16% EDMA, 45,5% 1-propanol e 14,5% 1,4-butanodiol e a polimerização foi realizada em forno 70°C por 24h.^{[1][2]}

A derivatização de glifosato e AMPA foi realizada adicionando-se solução 1mg.mL⁻¹ de FMOC-Cl em acetonitrila à diferentes concentrações de glifosato e AMPA em tampão borato 0,05M pH 9. A extração foi feita com adição de 4mL de diclorometano em cada solução, seguida por agitação e centrifugação.^{[3][4]}

Os cromatogramas foram obtidos utilizando um sistema de cromatógrafo acoplado a um detector de fluorescência, e para as separações a coluna monolítica de poli(LMA-co-EDMA) sintetizada em laboratório e uma coluna C18, para efeitos de comparação.

Para a coluna C18 o sistema de eluição foi de gradiente: 0 - 6 min: gradiente linear de 30 a 100% de B, 6 - 6,5 min: isocrático 100% de B, 6,5 - 7 min gradiente linear de 100 a 30% de B e 7 - 10 min isocrático 30% de B, onde o solvente A corresponde ao tampão de acetato de amônio

5mM pH 6,5 e o solvente B 95% metanol 5% tampão acetato de amônio 5mM, enquanto para a coluna de LMA-co-EDMA foi isocrático 90:10, onde o solvente A corresponde ao tampão de acetato de amônio 5mM pH 9 e o solvente B metanol.^[5]

Inicialmente foram estudados parâmetros de detecção do glifosato e AMPA individualmente e posteriormente juntos para assegurar que não haveria interferência nos tempos de eluição.

Resultados

A eluição do glifosato deu-se em cerca de 4,3 minutos, enquanto do AMPA cerca de 5,2 minutos. Assim seguiu-se para o procedimento envolvendo ambos compostos, podendo ser identificados em seus respectivos tempos (Fig. 1). Os picos em 6,2 e 8,2 minutos podem ser resultado da presença do FMOC-Cl residual da derivatização ou alguma outra impureza proveniente da derivatização e extração.

Os cromatogramas da Figura 1 na concentração de 0,01 - 0,050 mg.L⁻¹ demonstram que a metodologia de derivatização e a separação cromatográfica fornecem seletividade e sensibilidade adequadas para monitorar resíduos de Glifosato e AMPA em águas potáveis e de recreação, para as quais as concentrações máximas definidas pelo CONAMA (Resolução 396) são 0,50 e 0,20 mg.L⁻¹, respectivamente.

As separações realizadas pela coluna de poli(LMA-co-EDMA) (Fig. 2) não foram efetivas, porém pode-se notar que houve retenção e

liberação dos compostos em tempos específicos, glifosato entre 2 e 4,5min e AMPA entre 6 e 8 minutos. Pelo formato dos picos pode-se especular que haja outra interação além da retenção pela fase reversa, já que estes são duplos e deformados.

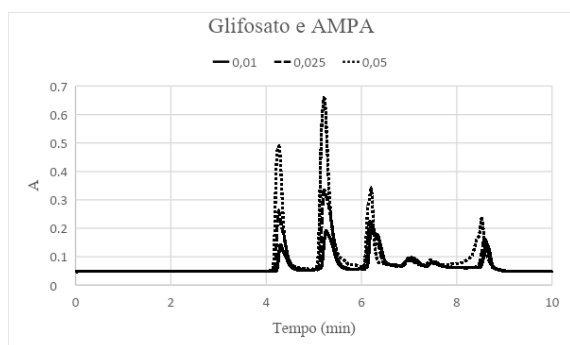


Figura 1: Cromatograma glifosato e AMPA em coluna C18, gradiente 0-360s 70:30(A/B) a 0:100, 360-390s 0:100, 390-420s 0:100 à 70:30, 420-600s 70:30. Concentrações 0,01mg.L-1, 0,025 mg.L-1 e 0,05 mg.L-1.

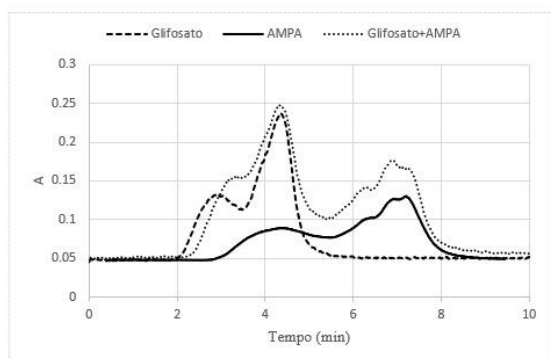


Figura 2: Cromatograma em coluna monolítica polimérica poli(LMA-co-EDMA) mostrando a separação de glifosato, AMPA e glifosato e AMPA, isocrático 90:10

Conclusões

A coluna monolítica comercial à base de sílica C18 reteve as moléculas derivatizadas de FMOc de glifosato e AMPA e forneceu uma separação cromatográfica eficiente pelo modo de fase reversa com resolução de pico > 1,5. Subprodutos de derivatização e FMOc-Cl residual também foram bem separados dos analitos, proporcionando seletividade e sensibilidade ao método analítico.

Com base nos resultados para a coluna poli(LMA-co-EDMA) chegou-se à conclusão de que ela não funciona para separação, porém pode ser utilizada para extração de fase sólida por ter boa capacidade de retenção.

Referências Bibliográficas

- [1] L.F. Ribeiro, J.C. Masini, Complexing porous polymer monoliths for online solid-phase extraction of metals in sequential injection analysis with electrochemical detection, *Talanta*.185 (2018) 387 - 395. doi:10.1016/j.talanta.2018.03.099.
- [2] J.C. Masini, Semi-micro reversed-phase liquid chromatography for the separation of alkyl benzenes and proteins exploiting methacrylate- and polystyrene-based monolithic columns, *J. Sep. Sci.* 39 (2016) 1648–1655. doi:10.1002/jssc.201600049.
- [3] W. Skeff, C. Recknagel, D.E. Schulz-bull, The influence of salt matrices on the reversed-phase liquid chromatography behavior and electrospray ionization tandem mass spectrometry detection of glyphosate, glufosinate, aminomethylphosphonic acid and 2-aminoethylphosphonic acid in water, *J. Chromatogr. A*. 1475 (2016) 64–73. doi:10.1016/j.chroma.2016.11.007.
- [4] E. Le Fur, R. Colin, C. Charrêteur, C. Dufau, J.-J. Péron Determination of glyphosate herbicide and aminomethylphosphonic acid in natural waters by liquid chromatography using pre-column fluorogenic labeling. Part I: Direct determination at the 0.1 µg/L level using FMOc Analysis 28 (9) 813-818 (2000) DOI: 10.1051/analysis:2000148
- [5] Hanke I, Singer H, Hollender J. Ultratrace-level determination of glyphosate, aminomethylphosphonic acid and glufosinate in natural waters by solid-phase extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: performance tuning of derivatization, enrichment and detection. *Anal Bioanal Chem.* 2008;391(6):2265-2276. doi:10.1007/s00216-008-2134-5