

## OTIMIZAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA ANÁLISE DE N-(FOSFONOMETIL) GLICINA E ÁCIDO AMINOMETILFOSFÔNICO EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS

João Lucas Frabetti Cabral (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Juliana Cristina Castro (Coorientador), Simone Aparecida Galerani Mossini (Orientadora). E-mail: [sagmossini@uem.br](mailto:sagmossini@uem.br)

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

### Farmacologia, Toxicologia

**Palavras-chave:** saúde do trabalhador; agrotóxicos; glifosato

### RESUMO

O Brasil é um dos países com maior consumo de agrotóxicos. Quando usados em excesso e de forma insegura pelo manipulador, podem acarretar problemas à saúde. O glifosato (N-(fosfometil)glicina), um dos herbicidas mais utilizados no Brasil, é rapidamente absorvido pelos tratos respiratório e gastrointestinal, e é pouco metabolizado em ácido aminometilfosfônico (AMPA). O estudo objetivou otimizar metodologia para análise de glifosato e AMPA em urina. O preparo das amostras se deu por meio de pré-concentração, a partir da secagem em banho de água, e reconstituição com metanol. As amostras foram derivatizadas com o FMOC-Cl e analisadas posteriormente por UPLC-MS/MS, que foi eficiente na detecção dos padrões de glifosato e AMPA, entretanto o processo de extração dos analitos adicionados à amostra não foi eficiente para detecção.

### INTRODUÇÃO

O Brasil, mesmo não sendo o principal produtor agrícola mundial, é o maior consumidor de agrotóxicos. O uso exacerbado dessas substâncias pode trazer efeitos nocivos à saúde do trabalhador, que possui contato direto ao manipular esses produtos (Siqueira e Bressiani, 2023). Na classe dos herbicidas encontra-se o [N-(fosfometil)glicina], também conhecido como glifosato ou Roundup®, um dos herbicidas mais utilizados no Brasil (Bressán *et al.*, 2021; Siqueira e Bressiani, 2023). No organismo, sua absorção ocorre rapidamente pelos tratos respiratório e

gastrointestinal, e pequena parte é absorvida pela pele. Esse herbicida não sofre metabolização significativa, a porção que é metabolizada converte-se em ácido aminometilfosfônico, conhecido como AMPA (Bressán *et al.*, 2021). Considerando a vasta utilização do glifosato, como um dos principais herbicidas escolhidos pelos produtores rurais, é notória a necessidade de monitorar os trabalhadores que são expostos diariamente a esse produto, a fim de prevenir a intoxicação e desenvolvimento de doenças crônicas. Por isso, esse projeto teve por objetivo otimizar metodologia para análise de (N-(fosfonometil)glicina) e ácido aminometilfosfônico em amostras biológicas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### *Preparo da amostra*

As amostras (urina) foram pré-concentradas em banho de água, por 30 min/45°C, até secar. Após, foram reconstituídas com metanol e filtradas. As amostras foram derivatizadas com adição de 400 µL de tampão fosfato e 400 µL do derivatizador 9-fluorenilmetoxicarbonil (FMOC-Cl), previamente diluído em 10 mL de acetonitrila, e posteriormente acondicionadas para análise.

### *Análises cromatográficas*

Inicialmente foi utilizada a cromatografia em fase líquida com detector UV/VIS (CLAE-UV), entretanto devido a problemas com o equipamento foi direcionado a otimização para o cromatógrafo líquido de ultra-eficiência acoplado ao espectrômetro de massas (UPLC-MS/MS).

### *Análise cromatográfica (UPLC-MS/MS)*

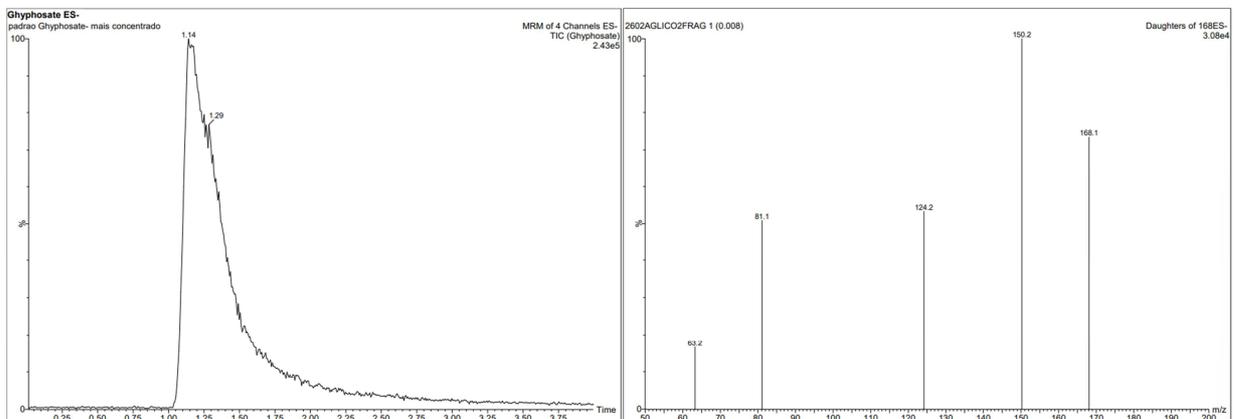
A identificação dos compostos foi realizada em um cromatógrafo líquido de ultra-eficiência (ACQUITY UPLC H-Class) acoplado a um espectrômetro de massas triplo quadrupolo com fonte de ionização *electrospray* (Xevo™ TQD) da marca Waters (Milford, EUA). Para realização dessa análise, foi utilizada coluna *Waters Symmetry® C18* (50 mm x 4,6 mm x 3,0 µm). Condições cromatográficas: para o glifosato foi utilizado voltagem no capilar de 2,50 (kV), voltagem no cone de 25 (V), temperatura de dissolução de 400°C, fluxo de gás para dissolução de 450 (L/Hr) e para o cone de 25 (L/Hr); para o AMPA, uma voltagem no capilar de 3,50 (kV),

voltagem no cone de 30 (V), temperatura de dissolução de 450°C, fluxo de gás para dissolução de 500 (L/Hr) e para o cone de 30 (L/Hr).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises realizadas no UHPLC-MS/MS resultaram na detecção do padrão de glifosato e do seu principal metabólito AMPA, juntamente com os seus fragmentos, como ilustrado nas Figuras 1 e 2.

Os extratos das amostras branco e fortificadas com os padrões foram analisadas no UPLC-MS/MS, sendo duas amostras (urina) de trabalhadores distintos (A e B) expostos ao hwerbicida, dois brancos (somente urina) e 4 amostras fortificadas (urina + padrão) para avaliar o processo de extração e analisar a interferência da matriz (urina). Entretanto, não foi possível a identificação dos analitos nas amostras pela metodologia de extração utilizada. Modificações no processo de extração estão sendo realizadas e serão tema do próximo projeto de IC.



**Figura 1:** Sinal e espectros de fragmentação do glifosato (modo positivo, UPLC-MS/MS).

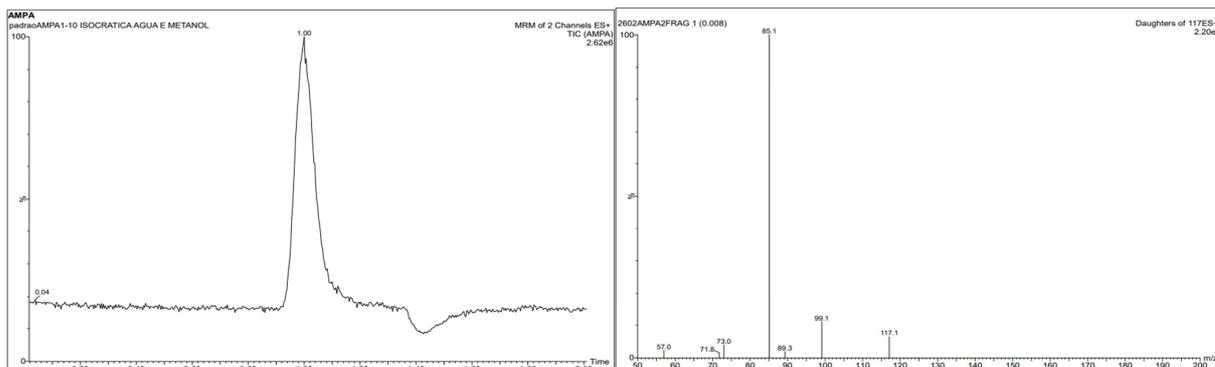


Figura 2: Sinal e espectros de fragmentação do AMPA (modo positivo, UPLC-MS/MS).

## CONCLUSÃO

O cromatógrafo UHPLC-MS/MS foi eficiente na detecção dos padrões de glifosato e AMPA, entretanto, o processo de extração dos analitos adicionados à amostra não foi eficiente para detecção. Experimentos relacionados ao processo de extração estão em andamento e são foco do próximo projeto de IC.

## AGRADECIMENTOS

PIBIC/CNPq-FUNDAÇÃO ARAUCÁRIA-UEM e LATOX-UEM.

## REFERÊNCIAS

SIQUEIRA, B. B.; BRESSIANI, T. S. C. O uso de agrotóxicos e os impactos na saúde do trabalhador rural: uma revisão sobre o herbicida glifosato. **Revista Vértices**, v. 25, n. 2, pág. e25218576, 2023.

BRESSÁN, I. G. *et al.* Optimization and validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of glyphosate in human urine after pre-column derivatization with 9-fluorenylmethoxycarbonyl chloride. **Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences**, v. 1171, n. 122616, p. 122616, 2021.