

APLICAÇÃO DA QUIMIOMETRIA PARA TRATAMENTO DE DADOS ESPECTRAIS GERADOS POR FTIR REFERENTES AO HERBICIDA GLIFOSATO EM SOLOS.

Danillo Barbosa de Moura¹, Alfredo Borges de Campos^{2*}, Mariana Silva Godinho¹, Aparecido Ribeiro de Souza¹, Danielle Silva Beltrão², Anselmo Elcana de Oliveira¹

¹IQ, Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO 7400-970, Brasil

²IESA, Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO 7400-970, Brasil

e-mail: danillo.chemistry@hotmail.com, alfredo@iesa.ufg.br

PALAVRAS-CHAVE: solos, glifosato, NIR, quimiometria, calibração multivariada.

1 INTRODUÇÃO

Diversas técnicas analíticas são utilizadas para a identificação e quantificação dos teores de glifosato no solo, sendo as técnicas cromatográficas as mais utilizadas nesse tipo de estudo (AMARANTE JÚNIOR *et al.*, 2002). Entretanto, essas técnicas são de alto custo e necessitam de procedimentos demorados de extração do herbicida do solo. Uma alternativa para a determinação e quantificação de glifosato em solos é o uso de técnicas espectroscópicas que são de baixo custo, não necessita de pré-tratamento de amostra além de ser uma técnica não destrutiva. Embora com grande potencial de utilização, a técnica FTIR tem sido pouco usada nesse tipo de estudo (MIANO *et al.*, 1992; AMARANTE JÚNIOR *et al.*, 2002), principalmente em decorrência da falta de estudos científicos básicos sobre sua aplicação nessa temática.

O glifosato [N-(fosfonometil)glicina] é classificado como herbicida não-seletivo e pós-emergente, citado como o mais vendido no mundo, e , produzido por distintas companhias de pesticidas em diferentes formulações (AMARANTE JR *et al.*, 2002; CARLISLE *et al.*, 1988). Devido ao seu grande emprego na agricultura em todo o mundo, seu estudo é de grande importância, principalmente no desenvolvimento de novas técnicas de análises, como a aplicação da espectroscopia de infravermelho para sua identificação e quantificação.

**Revisado pelo orientador. Danillo B. Moura (orientando), Alfredo B. Campos (orientador) e Mariana S. Godinho, Aparecido R. de Souza, Anselmo E. Oliveira, Danielle S. Beltrão (colaboradores).*

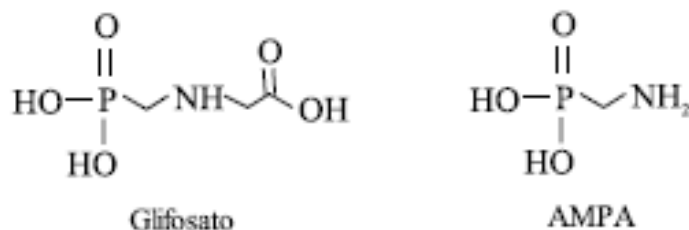


Figura 1. Fórmula estrutural do herbicida glifosato e do metabólito AMPA.

Em geral, como o solo é uma matriz complexa, surge muitos picos nos espectros de infravermelho que ocasionam muita imprecisão nas análises qualitativas dos mesmos, além da própria sensibilidade da técnica do FTIR estar direcionada a compostos com concentração superior a 1% nas amostras. Essas interferências espectrais geram dificuldades, ou imprecisões, na discriminação e análise dos espectros referentes aos compostos de interesse, sendo então necessário um tratamento matemático e estatístico para discriminar e otimizar a análise desses resultados, visando a quantificação desses compostos. Assim, surge a necessidade do tratamento espectral com a utilização da quimiometria. A quimiometria serve a essa finalidade, pois essa técnica emprega métodos matemáticos e estatísticos para planejar, ou selecionar, experimentos com o objetivo de otimizar a coleta de informações químicas por meio de análise multivariada (FERREIRA *et al.*, 1999). Dessa forma, o emprego da metodologia quimiométrica pode auxiliar sobremaneira na discriminação e quantificação de espectros de compostos orgânicos gerados por FTIR que estão presentes em baixas concentrações nas amostras de solos (SENA E POPPI, 2000), tais como glifosato.

O infravermelho próximo é a região espectral compreendida no intervalo de 770 a 3000 nm, onde as ligações C-H, O-H e N-H possuem comprimentos de onda de absorção característicos. Estas absorções (MORRA *et al.*, 1991) não são muito fortes, e muitas vezes são sobrepostas, havendo assim a necessidade da aplicação de métodos de calibração multivariada para as determinações quantitativas. Dentre os métodos de calibração multivariada, os mais utilizados são a Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês “Principal Component Analysis”) e o método dos Mínimos Quadrados Parciais (PLS, do inglês “Partial Least Square”) (MARTENS *et al.*, 1981) aqui apresentados como proposta ao

tratamento dos dados. No método do PLS as informações espectrais e as informações das concentrações são usadas ao mesmo tempo na fase de calibração. A matriz de espectros é decomposta em matrizes de variações de espectros (loadings ou pesos) e a posição das amostras (scores). Os espectros originais podem ser considerados como combinações lineares das variações dos espectros (pesos) onde os scores representam suas contribuições (GELADI et al., 1986).

Para a análise de dados os métodos multivariados são os mais adequados, porque permitem um estudo com várias espécies presentes ao mesmo tempo, não importando a existência ou ausência de diferenças espectrais marcantes entre elas nem a existência de alta correlação nos dados. É possível, também, a identificação de problemas eventuais com linha base ou interferentes nas amostras usadas na calibração e nas novas amostras, de previsão.

No caso do FTIR, a região que foi escolhida para análise da amostragem do solo com glifosato, são a espectroscopia na região do infravermelho próximo (NIR, *Near Infrared*) (WILLIAMS et al., 1998) tem encontrado um amplo campo de aplicação, obtendo sucesso para propósitos qualitativos e quantitativos. Alguns desses setores são: a agricultura e alimentos, polímeros, indústria de petróleo e combustível, meio ambiente e etc. A área da agricultura foi a primeira a realizar o uso intensivo da espectroscopia no infravermelho próximo. Esta área foi responsável pelo aparecimento da tecnologia no mercado e o seu desenvolvimento até aos padrões conhecidos atuais. O mais recente uso da técnica NIR é no setor de suporte à precisão na agricultura. A possibilidade do uso de instrumentos NIR em campos de colheita, coletar dados em tempo real e correlacionar com a composição do solo, é essencial para produzir dados refinados necessários para a precisão na agricultura. Seguindo as aplicações na agricultura, muitas outras áreas estão experimentando um intenso uso da tecnologia NIR (M. BLANCO, 2002). Além de seu baixo custo operacional, outra grande vantagem desta técnica reside no fato da amostra poder ser analisada sem necessidade de pré-tratamento principal e procedimentos de extração (KÖGEL-KNABNER et al., 2000).

A proposta da presente pesquisa é utilizar o FTIR em conjunto com a quimiometria para fins de determinação e quantificação do glifosato em solos, especialmente quando o herbicida está presente em baixas concentrações. Ressalta-se que a pesquisa proposta é inédita, e que dado ao largo uso do glifosato na agricultura, se torna importante sua quantificação em solos para fins de subsidiar práticas adequadas de manejo do solo sob uso desse herbicida.

2 OBJETIVOS

Avaliar o potencial de utilização da técnica analítica espectrometria de infra-vermelho na identificação e quantificação do herbicida glifosato em solos. Utilizar a quimiometria para tratamento matemático e estatístico de espectros FTIR com vistas a quantificar glifosato em solos e testar e comparar diferentes regiões espectrais do infravermelho (próximo) para fins de identificação e quantificação do herbicida glifosato em solos.

3 METODOLOGIA

3.1 Coleta do solo

As amostras de solos foram retiradas de uma vereda preservada localizada no município de Bela Vista de Goiás situada nas coordenadas S170059.7 e W484707.2. Sendo as mesmas coletadas à uma profundidade 0-10 cm nos terços superior e inferior da vereda. Os terços (seções) da vereda foram divididos no sentido transversal à drenagem.

3.2 Preparo de amostras

As amostras foram preparadas no Laboratório de Geologia e Geografia Física (Labogef) do Instituto de Estudos Sócio-Ambientais da Universidade Federal de Goiás (IESA). O solo utilizado no preparo das amostras, foi seco ao ar e posteriormente foi peneirado (0,43mm). Foram separadas 5g de solo peneirado e a estas foi adicionado 2,5 mL de solução de glifosato preparadas em diferentes concentrações, conforme a tabela 1.

Tabela 1. Concentração de glifosato das 15 amostras de solo.

Amostras	Concentração (g/L)	Amostras	Concentração (g/L)
1	480	9	20
2	240	10	15
3	200	11	10
4	150	12	0.9
5	100	13	0.8
6	50	14	0.7
7	40	15	0.6
8	30		

Após duas horas sob saturação as amostras foram congeladas e posteriormente liofilizadas para obtenção dos espectros.

3.3 Obtenção dos espectros

Os espectros foram obtidos em um espectrofotômetro Perkim Elmer Spectrum 100N FTIR na região do NIR de 4000 a 12000 cm^{-1} (833 a 2500 nm), com uma resolução de 4 cm^{-1} e 32 *scans* de varreduras. Os espectros foram gerados por transmissão através de pastilhas preparadas com solo puro, somente diferenciando nas concentrações de glifosato adicionado ao solo. O espectrofotômetro utilizado no processo de obtenção dos espectros é mostrado na Figura 1.

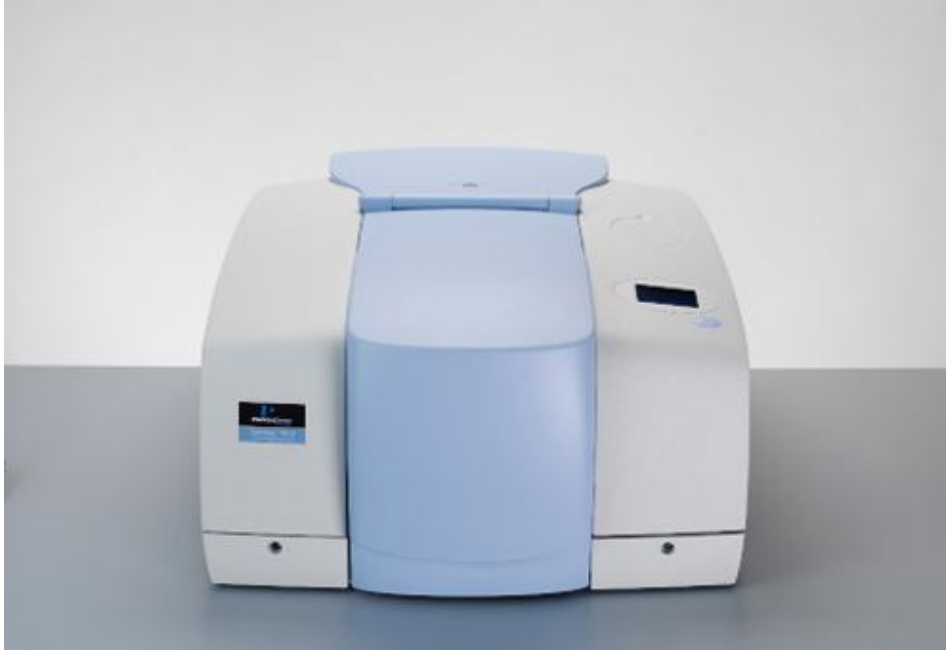


Figura 2. Espectrofotômetro utilizado para a obtenção dos espectros das amostras de solo.

3.4 Tratamento dos dados

Os dados espectrais foram tratados no programa *MATLAB*, versão 7.1, usando o pacote *PLS Toolbox*, versão 6.0.1. Os espectros foram pré-tratados usando correção de linha de base, alisamento *Savitsky-Golay* com janela de 27 pontos com ajuste quadrático.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o pré-tratamento dos espectros foi feita uma Análise de Componentes Principais (PCA) em que as duas primeiras componentes principais explicaram 78,33% da variância dos dados, conforme o gráfico da figura 3. Neste gráfico é possível observar que as amostras 1 e 2 encontram-se separadas das demais. Esse fato é decorrente destas amostras apresentarem concentrações 480 e 240 g/L, respectivamente, bem mais elevadas que as concentrações das demais amostras.

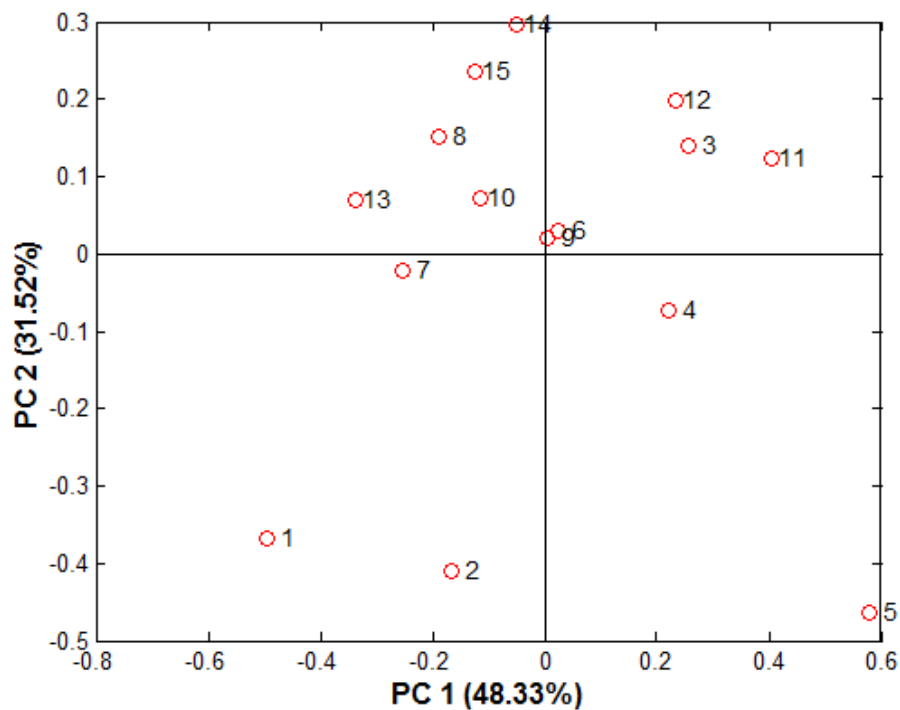


Figura 3. Gráfico de PCA das 15 amostras de solo.

4.1 Construção do modelo PLS

Foram construídos modelos PLS em várias regiões espectrais para correlacionar espectros de amostras de solo com a concentração de glifosato adicionada em cada amostra. O modelo foi construído com 11 amostras para o conjunto de calibração e 4 amostras para o conjunto de validação. O melhor modelo foi obtido na faixa de 2033 a 2433 nm, conforme a figura 4. Essa região corresponde às bandas de combinação C-H e N-H da molécula de glifosato.

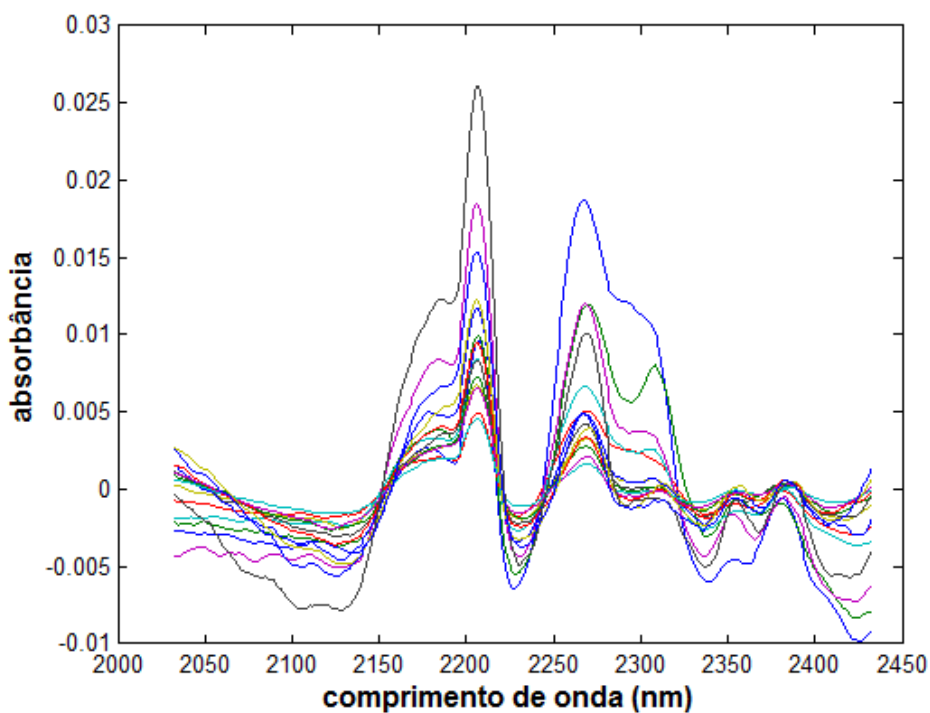


Figura 4. Espectros das 15 amostras de solos na faixa de 2033 a 2433 nm.

O modelo foi obtido com 4 variáveis latentes explicando 99,56% de variância acumulada do dados de X (dados espectrais) e 96,52 % dos dados de Y (concentração de glifosato adicionada no solo). O erro médio quadrático de previsão (RMSEP) foi de 15,63 g/L e o coeficiente de correlação entre os dados previstos e experimentais foi de 0.9720. No gráfico da Figura 5 é mostrada a correlação entre os valores de concentração experimental e os valores previstos pelo modelo PLS.

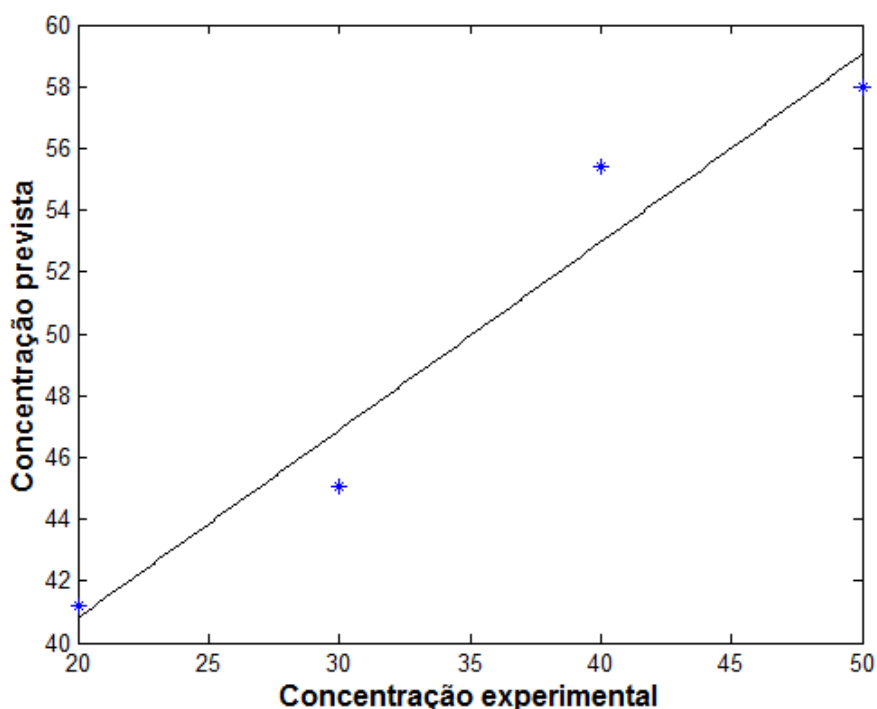


Figura 5. Valores experimentais versus valores previstos pelo modelo PLS.

Através dos resultados obtidos pelo modelo PLS foi possível observar que embora o RMSEP seja relativamente alto, há uma boa correlação entre os valores previstos e experimentais, evidenciando a possibilidade de determinação do glifosato em solo com erro menor ao incluir um número maior de amostras no conjunto de calibração. O RMSEP foi alto devido o número de amostras serem muito pequeno.

5 CONCLUSÕES

A espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) se mostrou eficiente para fazer uma curva de calibração para amostras de glifosato em solos, ou seja, é possível quantificar diferentes concentrações de glifosato no solo desde que este esteja em altas concentrações. No entanto, para concentrações aplicadas em campo, que são baixas concentrações, a técnica se mostra inadequada, pois, a concentração das amostras ficam abaixo da sensibilidade da técnica de infravermelho. Uma alternativa para complementação de tais estudos, seria a ampliação do número de amostras, onde-se teria um modelo mais robusto, no qual poderia ser utilizado outros métodos quimiométricos, podendo-se assim obter mais resultados.

AGRADECIMENTOS

A Doutoranda Mariana Silva Godinho, pela grande contribuição na análise dos espectros e tratamento dos mesmos por quimiometria, ao professor Aparecido Ribeiro de Souza pela co-orientação neste trabalho, e a Central Analítica por possibilitarem a realização das análises de todas as análises por FTIR, todos pertencentes ao Instituto de Química da UFG.

REFERÊNCIAS

AMARANTE JR.; O.P.; SANTOS, T.C.R. ; BRITO, N.M. e RIBEIRO, M.L. Métodos de extração e determinação do herbicida glifosato: Breve revisão. **Quím. Nova**, 25:3: p.420-428, 2002.

CARLISLE, S.M.; TREVORS, J.T. **Water,Air,Soil Pollut.** p.39, 409, 1988.

COUTINHO, C.F.B.; MAZO, L.H. Complexos Matálicos com o Herbicida Glifosato: Revisão. **Quím. Nova**, 28:6: p.1038-1042, 2005.

FERREIRA, MÁRCIA M. C. et al . Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Quím. Nova**, São Paulo, 22:5: 12-15, 1999.

FERREIRA, M.M.C.; ANTUNES, A.M.; MELGO, M.S. E VOLPE, P.L. Quimiometria I: Calibração multivariada, um tutorial. **Quím. Nova**, 22:5:724-731, 1999.

GELADI, P., KOWALSKI, B.R. Partial Least Square Regression: a tutorial, **Anal.**

Chim.Acta. 185, p.1-17, 1986.

HABERHAUER, G., FEIGH, B., GERZABECK, M.H., and CERRI, C. FT-IR spectroscopy of organic matter in tropical soils: changes induced through deforestation. **Appl. Spectrosc.** 54, 221– 224, 2000.

KÖGEL-KNAUBNER, I. Analytical approaches for characterizing soil organic matter. **Organic Geochemistry.**, p. 613-615, 2000.

MARTENS, H.; NAES, T.; em "*Multivariate Calibration*"; John Wiley & Sons., p-213-216, 1989.

MIANO T.; PICCOLO A.; CELANO G., SENESI N. Infrared and fluorescence spectroscopy of Glyphosate-humic acid complexes. **Sci Total Environ**, p.123-124, 1992.

M. BLANCO, I. VILLARROYA, **Trends Anal. Chem.**, 21:240-250, 2002.

MORRA, M. J.; HALL, M. H.; FREEBORN, L. L.; **Soil Sci. Soc. Am. J.**, 55: 288, 1991.

P. WILLIAMS, K. NORRIS, *Near-Infrared technology in the agriculture and food industries*, **AACC**, 1998.

SCHNITZER, M., KHAN, S.U, Humic Substances in the Environment. **Marcel Dekker**, New York, 8:210-222, 1992.

SENA, M.M. ; POPPI, R.J. Avaliação do uso de métodos quimiométricos em análise de solos. **Quím. Nova**, 23:4:547-556, 2000.

STALIKAS, C.D.; KONIDARI, C.N. Analytical methods to determine phosphonic and amino acid group-containing pesticides. **Journal of Chromatography A.**, p. 23, 2001.

OLCK, D.C., BRUNETTI, G., SENESI, N. Organic matter in doublecropped lowland rice soils: chemical and spectroscopical properties. **Soil Sci.** 164, 649– 663, 1999.

