UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional
Tecnologia em Química e Bioquímica

TATIANA CARDOSO D'AMATO

**Estudo das formulações de herbicida: Interação da
superfície das folhas de soja e de daninha com
tensoativos presentes em formulações e avaliação da
adsorção de glifosato sobre CaCO_3 .**

Versão corrigida da dissertação defendida

A original se encontra disponível na Secretaria de Pós-Graduação do IQ-USP

São Paulo

Data do Depósito na SPG:
13/01/2017

TATIANA CARDOSO D'AMATO

Estudo das formulações de herbicida: Interação da superfície das folhas de soja e de daninha com tensoativos presentes em formulações e avaliação da adsorção de glifosato sobre CaCO_3 .

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências, Área de Concentração Tecnologia em Química e Bioquímica

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Denise Freitas Siqueira Petri

São Paulo

2017

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

D'Amato, Tatiana Cardoso

D155e Estudo das formulações de herbicida: interação da superfície das folhas de soja e de daninha com tensoativos presentes em formulações e avaliação da adsorção de glifosato sobre CaCO_3 / Tatiana Cardoso D'Amato. -- São Paulo, 2016.
102p.

Dissertação (mestrado profissional) – Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Pós-Graduação “Tecnologia em Química e Bioquímica”

Orientador : Petri, Denise Freitas Siqueira

1. Química de superfície I. T. II. Petri, Denise Freitas Siqueira, orientador.

541.3453 CDD

Dedico este trabalho a todos que me incentivaram e se
orgulham de mim por esta conquista!

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente à minha família por todo o amor, carinho e confiança em mim e pelo suporte infinito que me deram até hoje, em todos os sentidos.

Às minhas grandes e melhores amigas por todo o incentivo e pelos momentos de alegria que me proporcionam.

Ao meu namorado por todas as caronas, ajudas, conselhos, broncas, e todo o amor que tem por mim.

À professora Dra. Ana Maria Carmona-Ribeiro e todos os alunos do seu laboratório, em especial à Letícia, que sempre esteve disposta a me ajudar com muito carinho. Agradeço também ao Rodrigo pela paciência e boa vontade.

À professora Dra. Denise Petri por toda a dedicação aos alunos e à sua profissão e por estar sempre disposta a ensinar e transmitir seu conhecimento da melhor forma possível.

À Georgia por todos os favores e por sua enorme simpatia.

Ao Ricardo Vagner Luiz pela disponibilidade em me orientar e aconselhar ao longo desse caminho.

A todos os meus colegas de turma e de laboratório, a quem ajudei e que me ajudaram de alguma forma durante esses meses. Todos me ensinaram muita coisa.

À Dow e ao Instituto de Química da USP, pela possibilidade de participar de um programa tão interessante e importante como este!

“A journey of a thousand miles must begin with a single step.”

Lao Tzu

RESUMO

D'Amato, T. C. **Estudo das formulações de herbicida: Interação da superfície das folhas de soja e de daninha com tensoativos presentes em formulações e avaliação da adsorção de glifosato sobre CaCO_3 .** 2016. 102p. Dissertação (Mestrado Profissional) - Programa de Pós-Graduação de Tecnologia em Química e Bioquímica. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

A soja é a principal cultura do agronegócio brasileiro, setor responsável por cerca de 30% do PIB e por aproximadamente 40% das exportações totais do país. Do ponto de vista dos agroquímicos a soja é a cultura de maior mercado para os defensivos agrícolas, tendo sido, em 2007, responsável por 42,6% das receitas totais do segmento. O glifosato é o ativo herbicida mais utilizado nas plantações de soja e leva em sua formulação grande quantidade de tensoativos, os quais servem para aumentar a molhabilidade sobre as folhas e facilitar a aplicação. Realizada sob a forma de pulverização, a aplicação normalmente é feita antes do plantio da cultura e quando as plantas atingem o estágio V2 de crescimento, pois é quando ocorre competição da cultura com a daninha. A pulverização torna inevitável o contato da formulação com a soja, bem como com o aplicador. Medidas de ângulo de contato foram feitas sobre folha de soja e de uma gramínea que tipicamente acomete esta cultura. Foram testadas soluções de tensoativos comuns (aniônico, catiônico e neutro), de um tensoativo utilizado em formulações de herbicida e de uma formulação, a qual consiste numa mistura de tensoativos. Gotas dessas soluções foram mantidas em contato com a folha de soja e de gramínea até total evaporação e foi avaliada a mudança na morfologia das mesmas após esse contato através de microscopia eletrônica de varredura, comparando com as folhas analisadas logo após colheita. A cera da soja foi extraída com clorofórmio e analisada por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas. A cera extraída foi testada contra bactérias Gram-positiva e Gram-negativa a fim de avaliar sua atividade antimicrobiana. Carbonato de cálcio foi utilizado como adsorvente para o glifosato como proposta de uma formulação de herbicida sólida a qual libere o ativo no solo ao longo do tempo,

minimizando o contato com o aplicador e contaminação de solos e águas. O método colorimétrico para quantificação de fosfato foi utilizado para avaliar a eficiência de adsorção e dessorção do glifosato sobre carbonato. A caracterização do sólido formado após adsorção foi feita através de microscopia eletrônica de varredura e difração de raios-X.

Os tensoativos mostraram afinidade pela cera epicuticular da folha de soja, solubilizando-a e causando perda de sua estrutura. Tensoativos com maior cmc, tipicamente os carregados e de cadeia mais curta, mostraram maior potencial de solubilização. A cera, composta por hidrocarbonetos, éster e amida de cadeia longa, não mostrou atividade biocida frente às bactérias, evidenciando que a morfologia é a responsável pela má adesão física de patógenos sobre a superfície da folha e consequente proteção da mesma. O glifosato mostrou ter grande afinidade pelo carbonato de cálcio, promovendo mudança na sua estrutura cristalina e tornando inviável sua utilização como formulação de herbicida. Entretanto, a forte interação entre os dois coloca o carbonato como um possível pré-concentrador de glifosato no tratamento de águas contaminadas.

Palavras-chave: soja, molhabilidade, tensoativos, surfactantes, glifosato, defensivos agrícolas.

ABSTRACT

D'Amato, T. C. **Study on herbicide formulations: Interaction between soybean or weed leaves and surfactants present in formulations and evaluation of glyphosate adsorption on CaCO_3 .** 2016. 102p. Professional Master Thesis - Graduate Program Technology in Chemistry and Biochemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Soybean is the main culture of Brazilian agribusiness, sector responsible for about 30% of the Gross Domestic Product and 40% of the country's exportation. In relation to agrochemicals, soybean has the biggest market for agricultural defensives. In 2007 it was responsible for 42.6% of the incomes in the segment. Glyphosate is the most widely used herbicide active on soy crops; its formulation contains surfactants, which serve to increase the wettability on the leaves and to make its application easier. The application, in the form of spraying, is usually done before planting the crop and when the plants reach the growth stage V2, when there is competition between the culture and the weed. Spraying makes inevitable the contact of the formulation with soybeans, as well as with the applicator. Contact angle measurements were made on soybean leaf and a grass that typically afflicts this culture. Solutions of common surfactants (anionic, cationic and neutral), a surfactant used in herbicide formulations and a formulation, which is a mixture of surfactants, were tested. Drops of these solutions were kept in contact with soy and grass leaves until total evaporation and their change in morphology was evaluated after this contact through scanning electronic microscopy, comparing with the leaves analyzed right after harvest. Soy wax was extracted with chloroform and analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometer. The wax extracted was tested against Gram-positive and Gram-negative bacteria in order to evaluate its antimicrobial activity.

Calcium carbonate was used as adsorbent for glyphosate as a proposition of a solid herbicide formulation which releases the active in the soil over time, minimizing the contact with the applicator and contamination of soils and waters. The colorimetric method for quantification

of phosphate was used to evaluate the efficiency of absorption and desorption of glyphosate on carbonate. The characterization of the solid formed after adsorption was made using scanning electron microscopy and X-ray diffraction.

Surfactants showed affinity for epicuticular wax of soybean leaves, solubilizing it and causing loss of its structure. Surfactants with greater cmc, typically those with charged head and shorter chain, showed the greatest potential of solubilization. Wax, composed of hydrocarbons, ester and long-chain amide, showed no biocidal activity against bacteria, showing that the morphology is responsible for weak adhesion of pathogens on the leaf surface and subsequent protection of the same. Glyphosate showed great affinity for calcium carbonate, promoting change in its crystalline structure and making it impossible to be used as an herbicide formulation. However, the strong interaction between them enables the pre-concentration of glyphosate in the treatment of contaminated water.

Keywords: soybean, wettability, surfactants, surfactants, glyphosate, agricultural defensives

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>Ad</i>	Concentração de glifosato adsorvido
ATCC	American Type Culture Collection
<i>Bc</i>	Concentração de glifosato detectada na solução controle
cmc	Concentração micelar crítica
CTAB	Brometo de cetiltrimetilamônio
<i>D</i>	Concentração de glifosato em solução após dessorção ácida
DMSO	Dimetilsulfóxido
EPI	Equipamento de proteção individual
EPSP	5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato
EPSPS	5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase
FC	Formulação comercial
L	Ligante
<i>L</i>	Concentração de glifosato em solução após lavagem
MHA	Ágar Mueller–Hinton
PS20	Monolaurato de polioxietileno 20 sorbitan (Polissorbato 20)
SDS	Dodecil sulfato de sódio
TF	Tensoativo utilizado em formulação de herbicida
UFC	Unidades formadoras de colônia

LISTA DE SÍMBOLOS

θ	Ângulo de contato
γ	Tensão superficial
γ_{LV}	Tensão superficial do líquido
γ_{SL}	Tensão interfacial entre sólido e líquido
γ_{SV}	Energia superficial do sólido
γ_{S_p}	Componente polar da energia superficial do sólido
γ_{S_d}	Componente dispersiva da energia superficial do sólido
γ_{L_p}	Componente polar da tensão superficial do líquido
γ_{L_d}	Componente dispersiva da tensão superficial do líquido
W_{SL}	Trabalho de adesão sólido-líquido
θ_{ap}	Ângulo de contato aparente
θ_a	Ângulo de avanço
θ_r	Ângulo de recesso
$\Delta\theta$	Histerese do ângulo de contato
r	Fator de rugosidade
f_{ar}	Fração de área ocupada pelo ar
$f_{sólido}$	Fração de área ocupada pelo sólido
θ_{ar}	Ângulo de contato da água com o ar
$\theta_{sólido}$	Ângulo de contato da água com o sólido
$\Delta\tau$	Diminuição da turbidez relativa
M	Massa de CaCO_3
C_a	Concentração de glifosato adsorvido
C_e	Concentração de glifosato no equilíbrio
q_B	Capacidade de adsorção de glifosato em CaCO_3
qB^∞	Quantidade de adsorbato na superfície quando ocorre a saturação
K_L	Constante de adsorção de Langmuir
K_F	Constante de Freundlich
n	Fator de heterogeneidade da superfície.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Moléculas de água e suas interações em uma gota	19
Figura 2: Ângulo de contato (θ) entre um líquido e um sólido em três possíveis situações	19
Figura 3: Ângulo de contato sobre uma superfície (a) lisa e (b) rugosa.....	21
Figura 4: Medida do ângulo de (a) avanço e (b) recesso.....	21
Figura 5: Representação da gota no modelo de (a) Wenzel e (b) Cassie-Baxter.	22
Figura 6: Propriedade auto-limpante da folha de Lótus	24
Figura 7: Processo de acomodação da gota em uma superfície superhidrofílica	25
Figura 8: Evolução da área plantada e da produção de grãos no Brasil ao longo dos anos	27
Figura 9: Momentos possíveis para aplicação dos herbicidas e seus critérios.	30
Figura 10: Estrutura química da molécula de glifosato	36
Figura 11: Sal de isopropilamina de N - (fosfonometil) glicina.....	37
Figura 12: Representação simplificada da rota do shiquimato.....	37
Figura 13: Tipos de pulverização de herbicidas	38
Figura 14: Evolução da área plantada e da produção de soja no Brasil ao longo dos anos.....	40
Figura 15: Destinos e usos da soja no Brasil	41
Figura 16: Produção de grãos – previsão da safra 2015/2016.....	42
Figura 17: Representação esquemática da cutícula das folhas vegetais.....	43
Figura 18: Representação do ciclo de vida da soja. O estágio V2, em destaque, foi aquele no qual as folhas foram colhidas para análises.....	46
Figura 19: Tensiômetro Krüss K100 no qual foram realizadas as medidas de tensão superficial	48
Figura 20: Folha de soja. Os quadrados representam os fragmentos de folha (1cm ²) nos quais as medidas de ângulo de contato foram feitas.	57
Figura 21: Ângulos de avanço e recesso da água e das soluções de SDS, CTAB, PS20, TF e FC, sobre as folhas de soja.	59
Figura 22: Representação esquemática de como as componentes polar e dispersiva de cada parte interferem na tensão interfacial entre elas.	61
Figura 23: Gramínea. (a) Amostra e (b) pedaço de folha.....	62
Figura 24: Ângulos de avanço e recesso da água e das soluções de SDS, CTAB, PS20, TF e FC, sobre as folhas de gramínea.....	64
Figura 25: Imagem MEV da superfície de Parafilm M [®] . A barra de escala corresponde a 1µm..	65

Figura 26: Imagens de MEV da superfície adaxial da folha de soja. As barras de escala correspondem a 1µm.	66
Figura 27: Imagens de MEV da superfície abaxial da folha de soja. As barras de escala correspondem a 1µm.	66
Figura 28: Imagens de MEV da superfície adaxial da folha de soja após contato com (a) água, (b) SDS (9mM), (c) CTAB (1mM), (d) PS20 (0,07mM), (e) TF (0,2% v/v) e (f) FC (0,2% v/v). As barras de escala correspondem a 1µm.	68
Figura 29: Imagens de MEV da superfície da folha de gramínea. As barras de escala correspondem a 1µm	69
Figura 30: Imagens de MEV da superfície adaxial da folha de gramínea após contato com (a) SDS (9mM), (b) CTAB (1mM), (c) PS20 (0,07mM), (d) TF (0,2% v/v) e (e) FC (0,2% v/v). As barras de escala correspondem a 1µm.	70
Figura 31: Fotografias da folha de soja (a) antes e (b) depois da extração da cera com clorofórmio.	70
Figura 32: Cromatograma obtido para cera de soja.....	71
Figura 33: Imagem MEV do filme de cera depositado sobre a placa de Si após 24 horas de interação com a dispersão de <i>Micrococcus luteus</i> (indicado pelas setas). A barra de escala corresponde a 1 µm.	72
Figura 34: Capacidade de adsorção (q_B) de glifosato por CaCO_3 em função da concentração de glifosato na solução inicial obtidos após 18 h de adsorção a 24 ± 1 °C.	75
Figura 35: Porcentagem de remoção de glifosato da solução em função da concentração inicial do glifosato determinada após 18 h de contato a 24 ± 1 °C.....	75
Figura 36: Dados experimentais calculados para o modelo de isoterma de adsorção de Langmuir.	77
Figura 37: Dados experimentais ajustados para o modelo de isoterma de adsorção de Freundlich ($R^2 = 0,958$).	79
Figura 38: Concentração de glifosato adsorvido em função do tempo de reação para a adsorção utilizando solução de glifosato 17 g/L.....	83
Figura 39: Imagens de MEV de partículas de CaCO_3 (a) puro e (b) após contato com água por 18 horas. A barra de escala corresponde a 10µm.	84

Figura 40: Imagem MEV de partículas de CaCO_3 após contato com solução de glifosato 1 g/L por (a) 1 hora, (b) 4 horas, (c) 24 horas e solução de glifosato 17 g/L por (d) 1 hora, (e) 4 horas e (f) 24 horas. As barras de escala correspondem a 10 μm	85
Figura 41: Difractogramas obtidos para partículas de carbonato de cálcio após 18 horas de agitação em água e após 1, 4 e 24 horas de interação com solução de glifosato 1 g/L.	86
Figura 42: Difractogramas obtidos para partículas de carbonato de cálcio após 18 horas de agitação em água, após 1, 4 e 24 horas de interação com solução de glifosato 17 g/L e difratograma padrão de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	87
Figura 43: Equilíbrios e constantes de dissociação da molécula de glifosato	88
Figura 44: Variação da tensão superficial das soluções de TF em função da concentração.	97
Figura 45: Difractograma padrão calcita JCPDS 47-1743	99
Figura 46: Difractograma padrão do fosfato de cálcio JCPDS 29-359	101

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Tipos de mecanismo de ação de herbicidas.....	31
Tabela 2: Principais tipos de formulação	33
Tabela 3: Composição dos tipos de formulação mais comuns para diluição em água.....	34
Tabela 4: Soluções utilizadas nas medidas de ângulo de contato, suas concentrações e superfície em que foram medidas.....	49
Tabela 5: Soluções utilizadas, suas concentrações e superfície em que foram depositadas para posterior avaliação morfológica.	49
Tabela 6: Ângulos de avanço e recesso, histerese do ângulo de contato e trabalho de adesão da água e das soluções de SDS, CTAB, PS20, TF e FC, sobre as folhas de soja.	58
Tabela 7: Comparação do ângulo de contato da água e das soluções de tensoativos comuns sobre Parafilm M [®] e folha de soja.....	59
Tabela 8: Ângulo de avanço sobre a folha de soja referente à água e diiodometano e seus respectivos valores de tensão superficial, componente dispersiva e polar.	60
Tabela 9: Ângulos de avanço e recesso, histerese do ângulo de contato e trabalho de adesão da água e das soluções de SDS, CTAB, PS20, TF e FC, sobre as folhas de gramínea.....	63
Tabela 10: Resultados da ANOVA realizada com os dados de θ_a obtidos para diferentes soluções em contato com a folha de soja e de gramínea.	64
Tabela 11: Concentração de glifosato no equilíbrio (g/L) e capacidade de adsorção (q_B) de glifosato pelo CaCO_3 (g/g.L) obtidos após 18 h de adsorção a 24 ± 1 °C utilizando diferentes concentrações de glifosato inicial e mantendo fixa a massa de CaCO_3 (mg).....	74
Tabela 12: Concentração de glifosato no equilíbrio (g/L) e concentração de glifosato no equilíbrio/ capacidade de adsorção de glifosato pelo CaCO_3 (g) referentes as adsorções apresentadas na Tabela 11.	76
Tabela 13: Logaritmos neperianos da concentração de glifosato no equilíbrio e da capacidade de adsorção de glifosato pelo CaCO_3	78
Tabela 14: Concentração de glifosato adsorvido calculada por diferença utilizando o método colorimétrico.....	81
Tabela 15: Concentração de glifosato detectada em solução pelo método colorimétrico após lavagem (L), após dessorção ácida (D) e após reação de CaCO_3 puro com solução de HCl 0,1M (Bc).	81

Tabela 16: Concentração de glifosato inicial, concentração de glifosato adsorvido após a reação de adsorção e concentração de glifosato dessorvido após determinado tempo em banho de ultrassom para três diferentes replicatas.....	82
Tabela 17: Valores de tensão superficial (10^{-3} J m^{-2}) das soluções de TF em diferentes concentrações.....	97

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
1.1. Propriedades dos líquidos em superfícies.....	18
1.1.1. Molhabilidade.....	18
1.1.2. Tensão Superficial	18
1.1.3. Ângulo de contato.....	19
1.1.4. Trabalho de Adesão	20
1.1.5. Histerese do ângulo de contato	20
1.1.6. Modelos de Wenzel e Cassie-Baxter	22
1.1.7. Superfícies superhidrofóbicas e superhidrofílicas	24
1.2. Defensivos agrícolas.....	25
1.2.1. História	25
1.2.2. Classificação	27
1.2.3. Herbicidas	29
1.2.4. Formulação	32
1.2.4.1. Tipos de formulação	32
1.2.4.2. Aplicação	35
1.2.5. Glifosato	36
1.2.5.1. Mecanismo de ação	37
1.2.5.2. Seletividade	38
1.2.5.3. Aplicação do glifosato e problemas relacionados a ela	38
1.3. Soja.....	39
1.3.1. História	39
1.3.2. Importância econômica.....	40
1.3.3. Características.....	42
1.3.3.1. Proteção contra patógenos	44
2. OBJETIVOS	45
2.1. Objetivos gerais	45
2.2. Objetivos específicos.....	45
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
3.1. Análise da interação de folhas vegetais com tensoativos e formulações.....	46
3.1.1. Cultivo da soja.....	46
3.1.2. Colheita da gramínea	46
3.1.3. Determinação do ângulo de contato	47
3.1.4. Avaliação morfológica das folhas	49
3.1.5. Extração e análise da cera das folhas de soja	50

3.2. Avaliação da atividade antimicrobiana	50
3.3. Adsorção e dessorção de glifosato	51
3.3.1. Procedimento de adsorção	51
3.3.2. Procedimento de dessorção ácida	53
3.3.3. Procedimento de dessorção por ultrassom	53
3.3.4. Cinética de adsorção	54
3.3.5. Caracterização do CaCO_3 antes e após adsorção do glifosato.....	54
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
4.1. Medidas de ângulo de contato	56
4.1.1. Soja	56
4.1.2. Gramínea	61
4.2. Microscopia eletrônica de varredura.....	65
4.2.1. Soja	65
4.2.2. Gramínea	68
4.3. Composição da cera de soja.....	70
4.4. Atividade antimicrobiana da cera de soja	71
4.5. Adsorção de glifosato em CaCO_3	73
4.5.1. Modelo de Langmuir	76
4.5.2. Modelo de Freundlich.....	77
4.5.4. Dessorção por ultrassom.....	81
4.5.5. Cinética de adsorção.....	83
4.5.6. Caracterização do CaCO_3 antes e depois da adsorção do glifosato.....	84
4.5.6.1. Microscopia eletrônica de varredura	84
4.5.6.2. Difração de raios-X	86
5. CONCLUSÕES.....	90
REFERÊNCIAS	92
APÊNDICE A – DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MICELAR CRÍTICA DO TENSOATIVO USADO EM FORMULAÇÕES COMERCIAIS.....	96
APÊNDICE B – DIFRATOGRAMA PADRÃO CALCITA JCPDS 47-1743	98
APÊNDICE C - DIFRATOGRAMA PADRÃO DO FOSFATO DE CÁLCIO JCPDS 29-359	100

1. INTRODUÇÃO

1.1. Propriedades dos líquidos em superfícies

1.1.1. Molhabilidade

Quando uma gota de um líquido entra em contato com uma superfície sólida ocorre uma interação entre esses dois componentes. Dependendo da afinidade do líquido por ele mesmo, do sólido por ele mesmo e do líquido pelo sólido, será observado um comportamento diferente desse sistema. A gota de um líquido que interage bem com o sólido tende a se espalhar e molhar mais a superfície. Já um líquido que não possui afinidade com o sólido tende a se manter coeso.

A habilidade de um líquido em manter contato com a superfície sólida é chamada de molhabilidade, ou grau de umectação, e depende do balanço entre as forças coesivas do líquido, do sólido e as forças adesivas entre eles. Isso significa que, se as forças adesivas forem maiores do que as coesivas, o líquido tenderá a molhar bem o sólido e, se as forças coesivas forem maiores que as adesivas, líquido e sólido não interagem bem, mantendo a menor área de contato possível entre os dois.

1.1.2. Tensão Superficial

Numa gota de um líquido puro as moléculas expostas à superfície tendem a se contrair, pois, diferentemente das moléculas do interior que interagem umas com as outras em todas as direções, as moléculas da superfície somente possuem moléculas vizinhas no interior. Portanto, sentem forças coesivas que tendem a puxá-las para dentro provocando uma contração espontânea na superfície, gerando uma camada externa com maior empacotamento de moléculas. Como as moléculas da superfície possuem energia maior do que as do interior do líquido, a gota tende a assumir a forma com menor área superficial possível, tornando-se esférica. Tensão superficial (γ)

é a força que deve ser realizada para quebrar a estrutura coesa do líquido e, portanto, aumentar a área da superfície.

Figura 1: Moléculas de água e suas interações em uma gota

1.1.3. Ângulo de contato

Quando a gota do líquido entra em contato com a superfície sólida forma-se um ângulo na intersecção da interface sólido-líquido com a interface líquido-ar, chamado ângulo de contato (θ) (Figura 2).

Figura 2: Ângulo de contato (θ) entre um líquido e um sólido em três possíveis situações

Esse ângulo é resultado do equilíbrio entre as três forças que atuam no sistema e está expresso na equação de Young (Eq.1):

$$\gamma_{LV}(\cos\theta) + \gamma_{SL} = \gamma_{SV} \quad (1)$$

Onde γ_{LV} , γ_{SL} , e γ_{SV} representam a tensão superficial do líquido, a tensão interfacial entre sólido e líquido, e a energia superficial do sólido, respectivamente.

O ângulo de contato (θ) e a molhabilidade se relacionam, pois quando o líquido se espalha sobre uma grande área, θ é menor que 90° . Caso contrário, o fluido tende a minimizar o seu

contato com a superfície, o resultado é uma gota compacta e o ângulo observado será maior que 90° . Para a água, ângulos de contato menores que 90° significam que a superfície é hidrofílica, e ângulos maiores que 90° denotam uma superfície hidrofóbica. Ângulos de contato maiores que 150° e menores que 5° ocorrem em superfícies superhidrofóbicas e superhidrofílicas, respectivamente (YUAN & LEE, 2013).

1.1.4. Trabalho de Adesão

O trabalho realizado para separar duas substâncias ou materiais diferentes que estão em contato é chamado de trabalho de adesão (W_{SL}) (Eq. 2). Seu valor depende das forças intermoleculares de cada uma das partes separadamente e das forças intermoleculares entre elas:

$$W_{SL} = \gamma_{LV} + \gamma_{SV} - \gamma_{SL} \quad (2)$$

onde γ_{LV} e γ_{SV} correspondem às tensões superficiais do líquido e do sólido puros e γ_{SL} corresponde a tensão interfacial entre eles. Quanto maior for a afinidade entre as substâncias, menor será γ_{SL} , e maior será o trabalho necessário para separá-las.

Juntando a equação 1 com a equação 2 chegamos à equação de Young-Dupré (3), que permite relacionar diretamente o ângulo de contato de um líquido sobre uma superfície com o trabalho de adesão entre eles:

$$W_{SL} = \gamma_{LV}(\cos\theta + 1) \quad (3)$$

1.1.5. Histerese do ângulo de contato

A equação de Young (1) indica o valor de θ como sendo o resultado do equilíbrio de forças envolvendo uma superfície ideal, totalmente lisa e de composição química homogênea. Superfícies reais possuem rugosidades que afetam a acomodação da gota gerando, como

mostrado na Figura 3, um ângulo aparente (θ_{ap}) formado na intersecção da gota com a rugosidade na escala micrométrica que é diferente do ângulo observado macroscopicamente.

Figura 3: Ângulo de contato sobre uma superfície (a) lisa e (b) rugosa

A rugosidade e a composição heterogênea de uma superfície fazem com que não exista um único valor para o ângulo de contato, mas sim uma faixa entre os chamados ângulo de avanço (θ_a) e ângulo de recesso (θ_r). O ângulo de avanço é observado quando o líquido é adicionado e o de recesso quando o líquido é removido.

Figura 4: Medida do ângulo de (a) avanço e (b) recesso.

Tipicamente o ângulo de avanço não depende do volume da gota para gotas de até 10 μL e o de recesso é medido após retirar-se metade do volume inicial da gota adicionada. A diferença entre esses dois valores é chamada de histerese do ângulo de contato ($\Delta\theta$) (Eq. 4):

$$\Delta\theta = \theta_a - \theta_r \quad (4)$$

O valor de $\Delta\theta$ nos mostra o quão distante da idealidade está a superfície sólida: Quanto maior o valor de $\Delta\theta$ menos ideal é a superfície. Tipicamente considera-se que se $\Delta\theta < 10^\circ$ a superfície aproxima-se da idealidade. Se a superfície fosse ideal os ângulos de avanço e recuo seriam iguais, pois a interação do líquido com a superfície seria a mesma nos dois momentos. A histerese no ângulo de contato também reflete assimetria no processo de umidificação e desumidificação, evidenciando que a superfície após contato com o líquido não é igual àquela de antes do contato (NOSONOVSKY & BHUSHAN, 2009).

1.1.6. Modelos de Wenzel e Cassie-Baxter

Genericamente, podem-se considerar hidrofóbicas as superfícies com baixa energia superficial e hidrofílicas as com alta energia, sendo que a presença de rugosidades na superfície pode intensificar a hidrofobicidade ou hidrofiliabilidade da mesma. A gota, quando entra em contato com uma superfície rugosa, pode acomodar-se de forma a preencher as reentrâncias, aderindo bem à superfície, ou pode manter-se coesa provocando o aprisionamento de bolhas de ar abaixo dela. Essas duas situações correspondem aos estados de Wenzel e Cassie-Baxter, respectivamente.

Figura 5: Representação da gota no modelo de (a) Wenzel e (b) Cassie-Baxter.

No modelo de Wenzel a rugosidade da superfície é quantificada por um fator de rugosidade r :

$$r = \frac{\text{área superficial real}}{\text{área superficial projetada}} \quad (5)$$

E o ângulo de contato aparente se relaciona com o ângulo ideal de Young através da equação 6:

$$\cos\theta_{ap} = r \cos\theta \quad (6)$$

Considerando $r > 1$, porque a rugosidade sempre leva a um aumento de área, conclui-se que $\cos\theta_{ap} > \cos\theta$. Para satisfazer essa condição, superfícies hidrofóbicas, cujo $\theta > 90^\circ$, apresentarão $\theta_{ap} > \theta$, ou seja, o ângulo aparente será ainda maior do que o ângulo de equilíbrio de Young. O mesmo vale para superfícies hidrofílicas, cujo $\theta < 90^\circ$, que apresentarão $\theta_{ap} < \theta$, ou seja, um valor subestimado.

Estas relações mostram que a rugosidade tem a capacidade de aumentar a hidrofobicidade e hidrofiliidade de uma superfície, dependendo da natureza da mesma, gerando os efeitos de superhidrofobicidade e superhidrofiliidade.

O modelo de Cassie-Baxter descreve o comportamento da gota numa superfície em que bolhas de ar ficam aprisionadas nos vales da superfície rugosa, gerando uma superfície heterogênea composta de sólido e ar. O valor de θ_{ap} vai depender da interação da água com cada um desses componentes:

$$\cos\theta_{ap} = f_{ar}\cos\theta_{ar} + f_{sólido}\cos\theta_{sólido} \quad (7)$$

Sendo f_{ar} e $f_{sólido}$ a fração de área ocupada pelo ar e pelo sólido, respectivamente, e θ_{ar} e $\theta_{sólido}$ os valores de ângulo de contato da água com ambos componentes. Como $\theta_{ar} = 180^\circ$, quanto maior f_{ar} maior θ_{ap} e, portanto, mais hidrofóbica a superfície.

1.1.7. Superfícies superhidrofóbicas e superhidrofílicas

A propriedade auto-limpante da folha de Lótus é um exemplo de superhidrofobicidade que tem sido mimetizada pelo homem. A superfície superhidrofóbica da folha é composta por micro e nanoestruturas de cera. A presença de elementos de dimensão micrométrica recobertos por elementos de dimensão nanométrica é o que se chama de hierarquia estrutural, que provoca o aprisionamento de bolhas de ar nos interstícios. Além disso, a própria cera já é um componente naturalmente hidrofóbico e essa junção de propriedades faz com que as gotas de água não tenham boa adesão à folha, como no modelo de Cassie-Baxter, e escorram arrastando consigo partículas de sujeira. Alguns produtos que têm sido desenvolvidos para aplicação em diversos objetos visam criar uma película superhidrofóbica na superfície dos mesmos, tornando-os impermeáveis e auto-limpantes.

Figura 6: Propriedade auto-limpante da folha de Lótus

O efeito de superhidrofilicidade é utilizado em vidros e espelhos, os quais são revestidos com nanopartículas hidrofílicas (TiO_2 , por exemplo), criando uma película hidrofílica nanoestruturada. Da mesma forma que na folha de Lotus, a presença de nanoestruturas aumenta a área superficial que, nesse caso, é hidrofílica. Portanto, os vapores de água condensados na superfície são fortemente aderidos, como no modelo de Wenzel, e se espalham completamente, formando um filme fino.

Figura 7: Processo de acomodação da gota em uma superfície superhidrofílica

1.2. Defensivos agrícolas

1.2.1. História

A partir da primeira metade do século 20, com o surgimento da síntese industrial de amônia pelo processo Haber-Bosch, o uso de fertilizantes nitrogenados permitiu grande aumento na produtividade agrícola, possibilitando alimentar um mundo cuja população começava a crescer mais rapidamente (SMIL, 2004). De 1960 a 2000 a população mundial dobrou de tamanho, de três para seis bilhões de pessoas e, de acordo com a ONU, em 2050 haverá cerca de nove bilhões de habitantes na Terra. (UNITED NATIONS, 2004). Nesse cenário torna-se necessário o aprimoramento constante das técnicas de plantio, de forma a garantir que não falte alimento para essa crescente população.

Desde o início da agricultura o homem procurou utilizar produtos químicos que o auxiliassem no combate a diversas pragas que prejudicavam suas plantações, como os sumérios que utilizavam compostos de enxofre para controle de insetos e ácaros há cerca de 4500 anos. Alguns compostos de arsênio também foram amplamente utilizados por gregos e romanos há mais de 3000 anos e perduraram por muitos séculos. Compostos de cobre, enxofre e mercúrio eram empregados na Europa do século 19 no combate a fungos (ALVES FILHO, 2002).

No início do século 20 os primeiros compostos químicos orgânicos específicos para aplicação na agricultura começaram a serem sintetizados, os chamados agroquímicos ou defensivos agrícolas. A descoberta das propriedades inseticidas do DDT (diclorodifeniltricloreto) em 1939 foi um marco no desenvolvimento tecnológico do combate

às pragas, que se tornou mais intenso durante a Segunda Guerra Mundial (ALVES FILHO, 2002).

No Brasil, foi a partir de 1946 que começaram a surgir os compostos organoclorados e inseticidas sistêmicos e durante os anos 1970 a indústria de agroquímicos se consolidou no país. Entre 1977 e 2006 o consumo de agroquímicos expandiu-se, em média, 10% ao ano, deixando o Brasil por quase 40 anos entre os seis maiores consumidores de defensivos do mundo (TERRA, 2008). Do ponto de vista regulatório, a falta de uma legislação específica e rígida facilitou o rápido registro de produtos e substâncias, inclusive quando muitas delas, como os organoclorados, já estavam banidas pelas legislações de países desenvolvidos. Somente em 1989 foi criada a chamada “Lei de Agrotóxicos” para regulamentar a fabricação, registro e o uso dos agroquímicos no país (PELAEZ et al, 2010).

O Decreto 4.074, de 4 de janeiro de 2002, que regulamenta a Lei 7.802/1989, em seu artigo 1º, inciso IV, define os agroquímicos como:

“Produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento.” (VALESCO & CAPANEMA, 2006)

Protegendo a espécie agrícola de interesse o uso de defensivos permite maior produtividade da plantação, sendo altamente necessário para suprir as demandas atuais de

quantidade e qualidade das safras sem que haja necessariamente um aumento na área destinada ao cultivo. A Figura 8 mostra a evolução da área plantada e da produção de grãos no Brasil ao longo dos anos. Nos últimos 15 anos (safras de 2000 a 2015) a produção aumentou 96% enquanto a área aumentou 54%, evidenciando ganho na produtividade.

Fonte: Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB

Figura 8: Evolução da área plantada e da produção de grãos no Brasil ao longo dos anos

É a necessidade de produzir cada vez mais em menos espaço utilizando a menor quantidade possível de defensivos que vem estimulando a pesquisa e o desenvolvimento de novos compostos e formulações, cada vez mais específicos e eficazes.

1.2.2. Classificação

A classificação mais importante dos defensivos agrícolas é feita com base no ser vivo nocivo a que são destinados:

- Inseticida - insetos
- Herbicida - plantas
- Fungicida - fungos

- Acaricida - ácaros
- Moluscicida - moluscos
- Nematicida – nematóides

De acordo com o IBAMA (2012) em 2012 a venda ingredientes ativos com ação herbicida no Brasil correspondeu a 58% do total de ingredientes ativos vendidos.

Em relação à natureza química a maioria dos agroquímicos pode ser dividida nas seguintes categorias (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2006):

- Organofosforados
- Carbamatos
- Organoclorados
- Piretróides
- Ditiocarbamatos
- Dicarboximidas
- Bipiridílios
- Glicina substituída
- Derivados do ácido fenoxiacético
- Dinitrofenóis
- Pentaclorofeno

Essa classificação diz respeito ao princípio ativo do defensivo, tópico que será abordado mais adiante neste trabalho.

1.2.3. Herbicidas

Herbicida é a classe de defensivos agrícolas que visa eliminar ou impedir o crescimento de plantas daninhas. Por daninhas entende-se todas as plantas que competem por água, sol e nutrientes com os cultivos de interesse, comprometendo seu crescimento (SILVA & DA COSTA, 2012).

É possível classificar os herbicidas quanto à seletividade, época de aplicação, translocação e mecanismo de ação (WELLER, 2003).

Quanto à seletividade tem-se os herbicidas seletivos e os não-seletivos. Os seletivos atacam as daninhas sem afetar a cultura de interesse enquanto os não-seletivos atuam indiscriminadamente sobre todas as plantas. Modificações genéticas permitem tornar um herbicida não-seletivo em seletivo para uma determinada cultura (SILVA et al, 2007).

Os herbicidas podem ser aplicados pré e/ou pós-plantio da cultura e pré e/ou pós-emergência da cultura e/ou da daninha dependendo do tipo de absorção (folhas ou raízes), das propriedades físico-químicas e da seletividade.

A aplicação pré-plantio da cultura ocorre (i) quando o herbicida é muito volátil e/ou fotodegradável, pois deve ser incorporado ao solo após a aplicação e (ii) quando a aplicação é feita para “limpar” a terra para o plantio da cultura, atuando na dessecação de comunidades infestantes ou coberturas vegetais, facilitando o plantio. No primeiro caso é realizado em pré-emergência da daninha e no segundo em pós.

Quando a aplicação é feita pós-plantio o que define se ela será em pré ou em pós-emergência das culturas ou das plantas daninhas é a absorção e a seletividade. Se a absorção ocorre somente pelas folhas, a aplicação deve ser em pós-emergência das plantas daninhas para que haja o contato direto com a planta. Se a absorção também ocorrer pelas raízes, a escolha entre aplicação em pré ou pós-emergência vai depender da tolerância da cultura.

Se o herbicida for não-seletivo para a cultura a aplicação deve ser em pré-emergência desta ou de forma dirigida para evitar o contato com a planta e seus efeitos deletérios. Entretanto, se o herbicida é seletivo para a cultura, ele pode ser aplicado em pós-emergência desta (CARVALHO, 2013)

A Figura 9 resume os possíveis momentos de aplicação do herbicida e as razões para cada um:

Figura 9: Momentos possíveis para aplicação dos herbicidas e seus critérios.

Para que seja eficaz o herbicida que entra em contato com a planta deve penetrar no tecido e atingir o local de atuação. Quando a atuação ocorre próxima ou no local onde ele penetra na planta o herbicida é considerado de contato. Quando ele é translocado pela planta através do xilema ou floema para chegar ao local de atuação ele é considerado sistêmico (SILVA et al, 2007).

O mecanismo de ação de um herbicida é considerado o primeiro de uma série de eventos metabólicos das plantas que resulta na ação esperada do herbicida. Mesmo que um herbicida possa influenciar vários processos metabólicos na planta, a primeira lesão que ele causa caracteriza o seu mecanismo de ação (SILVA et al, 2007). Já o modo de ação do herbicida refere-se ao conjunto de eventos desde o contato do produto com a planta até a sua morte ou ação final do produto.

Tabela 1: Tipos de mecanismo de ação de herbicidas

ACCase	Inibidores da enzima acetil-coenzima-A-Carboxilase
ALS	Inibidores da enzima acetolactato sintase
Auxina	Hormonais – Mimetizadores da Auxina
Caroteno	Inibidores da síntese do caroteno
Divisão Celular	Inibidores da divisão celular
EPSPs	Inibidores da enzima 5- enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase
Fotossíntese	Inibidores da fotossíntese (FSI e FSII)
Glutamina	Inibidores da enzima glutamina sintetase
Protox	Inibidores da enzima protoporfirinogenio oxidase

1.2.4. Formulação

Um herbicida é uma formulação composta por um princípio ativo, adjuvantes e um diluente. O diluente é o meio no qual a formulação é diluída para aplicação. O princípio ativo ou ingrediente ativo (IA) é o componente que confere à formulação fitotoxicidade ou habilidade de controlar a espécie-alvo e são suas características físico-químicas que definem quais adjuvantes devem ser utilizados. Os adjuvantes são substâncias que modificam determinadas propriedades da solução, visando aumentar a eficiência do produto na medida em que facilitam a mistura, a aplicação, maximizam a eficácia ou minimizam possíveis problemas (VARGAS, 2006).

Os adjuvantes mais utilizados são os surfactantes ou tensoativos, que modificam as propriedades de superfície dos líquidos. Nas formulações eles atuam como umectantes, detergentes, dispersantes e emulsificantes, portanto são largamente utilizados.

1.2.4.1. Tipos de formulação

A escolha correta do tipo de formulação a ser utilizado é essencial para a eficiência do herbicida. O ingrediente ativo deve ser formulado de forma a promover a proteção da cultura de interesse de forma segura para quem aplica, para as espécies não-alvo e para o meio ambiente de forma geral. Em suma, a formulação deve ser segura, durável e capaz de extrair a máxima atividade do ingrediente ativo (KNOWELS, 1998). Para tanto, alguns fatores que devem ser levados em conta são:

- Propriedades físico-químicas do ativo
- Atividade biológica e modo de ação do herbicida
- Método de aplicação da formulação
- Segurança no uso

A existência de uma grande quantidade de ativos com diferentes características demanda a existência de diferentes tipos de formulação. A Tabela 2 mostra os principais tipos:

Tabela 2: Principais tipos de formulação

Código	Tipo de Formulação
GR	Granulado
CS	Suspensão de encapsulado
EC	Concentrado emulsionável
EW	Emulsão de óleo em água
ME	Microemulsão
SC	Suspensão concentrada
SE	Suspo-emulsão
SL	Concentrado solúvel
WG	Granulado dispersível
WP	Pó molhável
DS	Pó para tratamento a seco de sementes
WS	Pó para preparação de pasta em água
FS	Suspensão concentrada para tratamento de sementes
LS	Solução para tratamento de sementes

As formulações podem ser diluídas em água, óleos ou solventes orgânicos ou aplicadas diretamente, sendo a primeira a mais comumente utilizada. Nesse caso a escolha dos adjuvantes é importante para garantir diluição, mistura, suspensão e estabilidade adequadas (KNOWELS, 1998).

A Tabela 3 mostra os três tipos de formulação para diluição em água mais comuns e suas composições.

Tabela 3: Composição dos tipos de formulação mais comuns para diluição em água

Código	Tipo de Formulação	Tipo de Ativo	Composição Geral
SL	Concentrado Solúvel	Solúvel em água	<ul style="list-style-type: none"> • Princípio ativo • Surfactante • Água
EC	Concentrado Emulsionável	Solúvel em óleo	<ul style="list-style-type: none"> • Princípio ativo • Blenda de emulsificantes • Solvente • Co-solvente
WP	Pó Molhável	Sólido Insolúvel	<ul style="list-style-type: none"> • Princípio ativo • Agente molhante • Agente dispersante • Enchedor/carreador inerte

Cada tipo de ativo exige um tipo de formulação diferente, que em sua composição possui tensoativos atuando com funções diferentes:

- Quando o ativo é solúvel em água a função do tensoativo é diminuir a tensão superficial da formulação e a tensão interfacial entre ela e a superfície da folha, aumentando a molhabilidade.
- Quando o ativo é insolúvel em água os tensoativos agem como emulsificantes, reduzindo a tensão interfacial entre os dois líquidos imiscíveis, proporcionando a formação de uma emulsão óleo em água.
- Quando o ativo é um sólido insolúvel os tensoativos atuam como molhantes e dispersantes, diminuindo a tensão interfacial do sólido com o líquido de forma a melhorar a dispersão e evitar a aglomeração e precipitação das partículas do sólido.

Existem ainda outros possíveis adjuvantes, como os penetrantes e espessantes. Os penetrantes dissolvem ou penetram as camadas de cera permitindo mais facilmente a entrada do

ativo nas células da planta, e em geral são derivados de petróleo e outros hidrocarbonetos. Os espessantes são utilizados para reduzir a deriva de sprays. Eles atuam diminuindo a volatilidade e aumentando a viscosidade de formulações e são derivados de óleos vegetais e de açúcares de cadeia longa (CZARNOTA & THOMAS, 2013).

1.2.4.2. Aplicação

A aplicação do defensivo agrícola deve levar em conta os alvos químico e biológico. O alvo biológico é considerado a praga, o fitopatógeno ou planta daninha o qual de fato deseja-se atingir direta ou indiretamente, pelo processo de aplicação, resultando na eliminação. Já o alvo químico é o local de contato do produto com o alvo biológico que resulta na execução adequada do controle do alvo biológico (AZEVEDO & FREIRE, 2006).

A aplicação de formulações líquidas é feita através de pulverizadores. A presença de tensoativos nas formulações ajuda na obtenção gotas menores, facilita a aplicação e garante melhor cobertura da formulação sobre as folhas.

Os pulverizadores mais comuns são os hidráulicos, que bombeiam o líquido sob pressão para o bico. Quando o líquido passa ao exterior através de um orifício rompe-se em pequenas gotas por decompressão. A aplicação pode ser manual com pulverizador costal (equipamento transportado no dorso do operador, também chamado de mochila), através de tratores ou avião.

A aplicação de formulações sólidas é feita por polvilhamento, quando o ativo se encontra na forma de pó, ou através da aplicação de grânulos. São utilizadas polvilhadeiras ou granuladeiras manuais, aplicador costal, tratores ou avião (AZEVEDO & FREIRE, 2006).

A aplicação do herbicida sempre visa atingir o alvo químico e eliminar o alvo biológico. Porém, muitas vezes, quando a aplicação é feita pós-emergência da cultura, esta também acaba sendo atingida de forma secundária e, mesmo que o herbicida seja seletivo, pode causar efeitos

indesejados. É possível minimizar esse problema fazendo a aplicação dirigida, ou seja, direcionando o jato para a daninha através do uso de bicos de pulverização específicos.

1.2.5. Glifosato

Glifosato é o nome comum de um ingrediente ativo largamente utilizado na formulação de herbicidas, sobretudo no controle das daninhas que acometem o cultivo de soja. A molécula de N-(fosfonometil) glicina é responsável pela atividade herbicida de muitas formulações. A atividade herbicida se refere à habilidade do herbicida efetivamente se ligar ao seu sítio ativo no interior da planta e exercer algum tipo de efeito letal.

Figura 10: Estrutura química da molécula de glifosato

O glifosato possui ação sistêmica, pois é absorvido basicamente pelas folhas e tecidos verdes das plantas e translocado aos tecidos meristemáticos através do xilema e floema (GALLI & MONTEZUMA, 2005). Na forma de N-(fosfonometil) glicina o glifosato é pouco solúvel em água, portanto é formulado na forma de sal, sendo a isopropilamina (Figura 11) um dos contra íons utilizados. O sal não possui atividade herbicida, mas após entrar em contato e ser absorvido pela folha é convertido à forma ácida através de reações enzimáticas dentro da planta. Formulado dessa forma o teor de glifosato é expresso em quantidade do sal e em equivalente ácido. O sal representa a quantidade de ativo total e o equivalente ácido é o quanto do sal formulado que pode efetivamente ser convertido de volta à forma ácida, que é a molécula com atividade herbicida.

Figura 11: Sal de isopropilamina de N - (fosfonometil) glicina

1.2.5.1. Mecanismo de ação

O glifosato age na rota do shiquimato por meio da inibição da enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), responsável por catalisar a síntese do 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato (EPSP), um precursor dos aminoácidos tirosina, triptofano e fenilalanina. Sem esses aminoácidos a planta não consegue sintetizar determinadas proteínas essenciais à sua sobrevivência. A molécula do glifosato é capaz de se ligar a enzima por possuírem formatos complementares. Essa ligação provoca uma mudança na forma da enzima, inativando-a (PTEIFFER, 2009).

A rota do shiquimato está presente no metabolismo de plantas, fungos e bactérias e ausente no metabolismo dos animais, tornando a toxicidade do herbicida mais baixa perante estes (PTEIFFER, 2009).

Figura 12: Representação simplificada da rota do shiquimato

1.2.5.2. Seletividade

O glifosato é um ativo não-seletivo, portanto atua indiscriminadamente sobre todas as plantas. Devido ao seu extenso uso na proteção ao cultivo de soja foi desenvolvido uma nova cultivar a partir de modificações genéticas de forma a tornar o glifosato seletivo a ela. A bactéria *Agrobacterium* possui enzima EPSPS com formato ligeiramente diferente daquele encontrado na maioria das plantas. A modificação consistiu na introdução da informação genética responsável pela produção da enzima dessa bactéria no genoma da soja. Por possuir um formato diferente, a ligação do glifosato com essa enzima ocorre bem mais fracamente do que ocorre com a enzima naturalmente presente nas plantas, mantendo ativa a função da mesma (PTEIFFER, 2009).

1.2.5.3. Aplicação do glifosato e problemas relacionados a ela

O glifosato em geral é aplicado em dois momentos: em pré-plantio da cultura e em pós-emergência da cultura e da daninha. No pré-plantio ocorre de forma a limpar o solo de possíveis daninhas já existentes e na pós-emergência visa eliminar as daninhas que estão competindo com a cultura num momento crucial de seu desenvolvimento.

As formulações de glifosato em geral são líquidas, portanto a aplicação ocorre por pulverização manual, tratorizada ou por avião.

Figura 13: Tipos de pulverização de herbicidas

Apesar da obrigatoriedade do uso de EPIs (Equipamento de Proteção Individual) na aplicação das formulações de glifosato, o contato do aplicador com a formulação, especialmente

na aplicação manual, pode ser prejudicial à saúde. Além disso, quando a pulverização do glifosato não é dirigida pode proporcionar não só o contato indesejado do herbicida com a cultura de interesse, mas também deriva de gota e desperdício.

De acordo com a CETESB (ROQUETTI et al, 2010) o potencial de transporte do glifosato para águas superficiais e subterrâneas é alto. O valor orientador e padrão de glifosato na água para consumo humano é de 500 µg/L.

1.3. Soja

1.3.1. História

A soja (*Glycine max*) surgiu no Brasil no início do século 20, mas somente nos anos 40 ela começou a adquirir importância econômica. Nessa década instalou-se a primeira indústria processadora de soja do País (Santa Rosa, RS). Já na década de 1960 a produção multiplicou-se por cinco, passando de 206 mil toneladas, em 1960, para 1,056 milhão de toneladas, em 1969. Na década de 70 a soja se consolidou como a principal cultura do agronegócio brasileiro, passando de 1,5 milhões de toneladas (1970) para mais de 15 milhões de toneladas (1979), fato que se deveu em parte ao grande desenvolvimento dos agroquímicos nessa época. A soja permanece sendo principal cultura agrícola brasileira em termos de volume de produção, área cultivada e exportação agrícola. A Figura 14 mostra a evolução da área plantada e da produção de soja no Brasil ao longo dos anos.

Figura 14: Evolução da área plantada e da produção de soja no Brasil ao longo dos anos

Fonte: Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB.

1.3.2. Importância econômica

Desde sua consolidação como a principal cultura do agronegócio brasileiro a soja tem tido um crescimento expressivo na sua área cultivada, sendo a única cultura a ter tido crescimento ao longo das últimas três décadas. A soja tem grande importância econômica, pois é utilizada para diversas finalidades. A Figura 15 mostra os destinos e usos da soja no Brasil.

Figura 15: Destinos e usos da soja no Brasil

Fonte: Aprosoja. Disponível em < <http://aprosojabrasil.com.br/2014/sobre-a-soja/uso-da-soja/> > Acesso em 04/11/2016

Atualmente o setor agroindustrial responde por cerca de 30% do PIB e por aproximadamente 40% das exportações totais do país. A Figura 16 mostra a divisão da produção brasileira de grãos em mil toneladas prevista para a safra de 2015/2016. É possível notar que a soja compõe 50% do total de grãos produzidos no país.

Figura 16: Produção de grãos – previsão da safra 2015/2016

Fonte: Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB

O valor da produção de soja em 2009, segundo o IBGE, foi de R\$ 37 bilhões, o equivalente a quase 33% de todas as culturas temporárias do país (CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA, 2012). Do ponto de vista dos agroquímicos a soja é a cultura de maior mercado para os defensivos agrícolas. Em 2007 foi responsável por 42,6% das receitas totais do segmento (COSTA et al, 2008).

1.3.3. Características

A soja é uma planta leguminosa cuja vagem contém grãos altamente proteicos. As folhas de soja, como as de outras plantas, desenvolveram ao longo da evolução uma membrana exterior hidrofóbica chamada cutícula, a qual foi uma adaptação essencial para permitir que elas deixassem o habitat aquático e sobrevivessem no meio ambiente terrestre. A água é um pré-requisito crucial para a vida vegetal e a cutícula funciona como principal barreira contra a perda de água descontrolada através das folhas, as quais possuem grande área superficial. A cutícula ainda possui outras funções como: controle de temperatura, estabilização da célula, resistência mecânica, proteção contra radiação prejudicial e contra patógenos (KOCH et al, 2008).

Figura 17: Representação esquemática da cutícula das folhas vegetais

A cutícula é uma membrana extracelular fina constituída por uma matriz polimérica chamada cutina e por uma mistura complexa de diversos componentes, incluindo alcanos, álcoois, aldeídos e ácidos graxos, também chamada de cera cuticular (RIEDERER & SCHREIBER, 2001). Esses dois componentes da cutícula se diferenciam pela solubilidade em solventes orgânicos: os compostos lipofílicos que podem ser extraídos por solvente são denominados ceras cuticulares, e o que não é extraído devido à sua estrutura polimérica é chamado de cutina.

A cera é um componente hidrofóbico e pode servir tanto como material de enchimento incorporado na matriz da cutina tornando a membrana impermeável (cera intracuticular), como pode estar depositada sobre a superfície (cera epicuticular), onde muitas vezes se formam estruturas cristalinas tridimensionais complexas (RIEDERER & SCHREIBER, 2001). As ceras tridimensionais são cristais que se originam por auto-associação e são responsáveis pela manutenção da molhabilidade, pelas propriedades auto-limpantes, pela reflexão da luz visível e pela absorção de radiação ultravioleta (KOCH et al, 2008).

1.3.3.1. *Proteção contra patógenos*

As plantas são suscetíveis a infecções causadas por inúmeros microorganismos. Para se defenderem dos patógenos, evitando que penetrem seus tecidos e retirem nutrientes necessários à sua sobrevivência, as plantas possuem mecanismos de defesa, que visam evitar ou atrasar a entrada do microrganismo no interior da planta. Esses mecanismos são subdivididos em pré e pós-formados, ou seja, que existem antes da chegada do patógeno ou que são ativados após a chegada do mesmo. Fatores estruturais, como a cutícula, tricomas, estômatos e vasos condutores são pré-formados, enquanto a lignificação e outros fenômenos estruturais são considerados pós-formados. Fatores bioquímicos, os quais envolvem a presença de biomoléculas, também podem ser tanto pré como pós-formados, dependendo se a molécula já existe ou se foi produzida em resposta a uma invasão.

1.3.4. *Daninhas*

Uma planta daninha pode ser qualquer espécie vegetal que se desenvolve onde não é desejada, causando prejuízos no crescimento ou mesmo morte da cultura de interesse. As plantas que mais provocam danos são aquelas que possuem rápida germinação e crescimento inicial, sistema radicular abundante, grande capacidade de absorver nutrientes e água do solo, elevada eficiência no uso da água e grande produtividade e disseminação de propágulos (VARGAS & ROMAN, 2006). Portanto, diversas famílias de plantas podem interferir no crescimento da soja e ser consideradas daninhas. O milho é considerado uma daninha da soja quando contamina a plantação e compete com a mesma. O milho é uma gramínea pertencente à família *Poaceae*, da qual várias espécies são daninhas que acometem as plantações de soja.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos gerais

Aperfeiçoar a utilização de tensoativos em formulações de herbicidas, a fim de minimizar o desperdício e aumentar a eficiência destas formulações, através do entendimento da interação entre a superfície das folhas de soja e de ervas daninhas com estes tensoativos.

Propor e testar uma alternativa para a aplicação do herbicida glifosato que minimize o contato humano com a substância e as contaminações indiretas.

2.2. Objetivos específicos

Caracterizar a cera epicuticular das folhas de soja por meio das técnicas de microscopia eletrônica de varredura, medidas de ângulo de contato e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Avaliar a atividade antimicrobiana da cera da soja através da realização de testes biocidas. Caracterizar a cera epicuticular das folhas de erva daninha por meio das técnicas de microscopia eletrônica de varredura e medidas de ângulo de contato.

Avaliar a capacidade de adsorção de glifosato em CaCO_3 através da construção de isotermas e da realização da cinética de adsorção. Caracterizar o sólido obtido através de difração de raios-X e microscopia eletrônica de varredura. Testar a dessorção do glifosato em CaCO_3 através de ultrassom e digestão ácida.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Análise da interação de folhas vegetais com tensoativos e formulações

3.1.1. Cultivo da soja

Grãos de soja (*Glycine max*) foram adquiridos comercialmente, plantados em vasos de plástico médios e regados diariamente em laboratório. No estágio V2 de desenvolvimento da planta, aproximadamente um mês após a germinação, as folhas foram retiradas. O estágio V2 corresponde ao momento em que é feita a aplicação do herbicida. Todas as análises foram realizadas logo após a colheita das folhas para evitar qualquer mudança em sua superfície (ex.: ressecamento).

Figura 18: Representação do ciclo de vida da soja. O estágio V2, em destaque, foi aquele no qual as folhas foram colhidas para análises.

3.1.2. Colheita da gramínea

Amostras de capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*) foram colhidas no corredor lateral entre os Blocos 3 e 4 do Instituto de Química da USP – São Paulo. Folhas com aproximadamente 6 cm de comprimento foram cortadas e analisadas logo após a colheita para evitar qualquer mudança na superfície.

3.1.3. Determinação do ângulo de contato

As medidas de ângulo de contato foram feitas na superfície adaxial das folhas de soja e de gramínea, e na superfície de Parafilm M[®], a fim de comparar o comportamento dos líquidos nessas superfícies. As amostras foram cortadas em quadrados de aproximadamente 1 cm x 1 cm abrangendo toda sua área, com exceção ao veio central no caso da soja, e coladas com fita dupla-face na parte inferior de uma placa de Petri de 15 cm de diâmetro, onde foram realizadas as medidas.

Os ângulos de avanço e recesso foram medidos a 24 ± 1 °C pelo método da gota séssil em equipamento SEO (Surface Electro Optics, South Korea). O volume utilizado nas medidas do ângulo de avanço (θ_a) foi 10 μ L, do qual foi retirado metade do volume para as medidas do ângulo de recesso (θ_r). A duração das medidas foi de 1-2 minutos. (https://youtu.be/_0A2i8L8EmY). Os ângulos de contato foram calculados pela média de triplicatas, as quais foram determinadas a partir do ângulo médio obtido considerando os lados esquerdo e direito da gota. Análises de variância (ANOVA) com teste *post hoc* foram utilizadas para avaliar a diferença nos resultados de θ_a entre os grupos. Foram consideradas diferenças significativas aquelas cujo $p < 0,05$. As análises foram realizadas em Excel 2013[®] para Windows[®] (Microsoft Office Home and Student[®], 2013).

A tensão superficial da água e demais soluções foi medida a 24 ± 1 °C, utilizando um tensiômetro Krüss K100 (Krüss, Germany) pelo método da placa de Wilhelmy.

Figura 19: Tensiômetro Krüss K100 no qual foram realizadas as medidas de tensão superficial

As medidas de ângulo de contato foram feitas com água, soluções de tensoativos comuns (SDS, CTAB e PS20), soluções de um tensoativo utilizado em formulações comerciais de herbicida (TF) e uma solução de formulação, a qual consiste numa mistura de tensoativos (FC). As soluções utilizadas, suas concentrações e a superfície em que foram medidas, estão descritas na Tabela 4. As concentrações das soluções de tensoativos comuns correspondem às suas concentrações micelares críticas. A concentração de FC corresponde àquela utilizada para aplicação em campo. TF foi testado em concentração acima da sua concentração micelar crítica, a qual foi determinada a partir das medidas de variação da tensão superficial da solução em função da concentração do tensoativo, como mostra o Apêndice A. O ângulo de avanço de diiodometano sobre a folha de soja foi medido a fim de calcular a energia superficial da mesma.

Tabela 4: Soluções utilizadas nas medidas de ângulo de contato, suas concentrações e superfície em que foram medidas.

Solução	Concentração	Superfície
Água	-	Soja, gramínea e Parafilm M [®]
Diiodometano	-	Soja
SDS	9 mM	Soja, gramínea e Parafilm M [®]
CTAB	1 mM	Soja, gramínea e Parafilm M [®]
PS20	0,07 mM	Soja, gramínea e Parafilm M [®]
TF	0,2% v/v	Soja e gramínea
FC	0,2% v/v	Soja e gramínea

3.1.4. Avaliação morfológica das folhas

A morfologia das folhas de soja e de gramínea foi avaliada em dois momentos: logo após a colheita e após contato com as soluções apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5: Soluções utilizadas, suas concentrações e superfície em que foram depositadas para posterior avaliação morfológica.

Solução	Concentração	Superfície
Água	-	Soja
SDS	9 mM	Soja e gramínea
CTAB	1 mM	Soja e gramínea
PS20	0,07 mM	Soja e gramínea
TF	0,2% v/v	Soja e gramínea
FC	0,2% v/v	Soja e gramínea

As folhas foram cortadas em quadrados de aproximadamente 1 cm x 1 cm, abrangendo todas as áreas das folhas, com exceção do veio central no caso da soja. Uma gota de 10 µL de cada solução foi pingada no centro de cada quadrado. Depois da total evaporação das gotas (aproximadamente 3 horas) as folhas foram lavadas por imersão em água destilada e deixadas à temperatura ambiente (secagem). As amostras foram recobertas com uma camada de aproximadamente 2 nm de ouro por “sputtering”. As imagens foram obtidas em equipamento SEM-FEG JEOL 7401F e JEOL Neoscope JCM 5500. A superfície de Parafilm M[®] também foi observada no microscópio para fins de comparação.

3.1.5. Extração e análise da cera das folhas de soja

A extração da cera foi feita mantendo aproximadamente 5 mL de clorofórmio em contato com cada folha por 30 segundos. O extrato obtido foi filtrado em filtro analítico e transferido para um *vial* limpo e previamente pesado, o qual foi mantido em estufa a 45 °C até completa evaporação do solvente e peso constante. A cera seca foi guardada para análises posteriores

Aproximadamente 0,5 mg de cera foi solubilizada em clorofórmio e analisada por cromatografia gasosa em equipamento CG-MS QP5050 A (Shimadzu). Foi utilizada uma coluna apolar (BPX5, 5% phenyl polysilphenylene siloxane) e a faixa de temperatura variou de 150 °C a 300 °C. Os compostos presentes na cera foram qualitativamente identificados a partir da biblioteca do software CLASS-5000.

3.2. Avaliação da atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana da cera foi avaliada por dois procedimentos diferentes: diminuição da turbidez relativa e contagem de UFC (unidades formadoras de colônia).

No primeiro procedimento, 70 mL de uma solução de cera de 5,4 g/L (1 CHCl₃: 10 MeOH) interagiu com 0,63 mL de uma dispersão aquosa de *Micrococcus luteus* (ATCC 4698) a 4 g/L dentro de uma cubeta de plástico. A transmitância da solução ao longo do tempo foi monitorada em 650 nm, utilizando um espectrofotômetro Beckmann Coulter DU-600, a fim de detectar a diminuição da turbidez relativa ($\Delta\tau$). Valores altos de $\Delta\tau$ indicam a ruptura das bactérias e, portanto, atividade antimicrobiana (BERGMEYER, 1984).

A fim de observar as interações entre a cera e as bactérias, gotas da solução de *M. luteus* foram aplicadas sobre uma placa de Si previamente revestida com a solução de cera, a qual foi analisada após secagem em temperatura ambiente (24 ± 1 °C) e recobrimento com uma camada de aproximadamente 2 nm de ouro por “sputtering” em equipamento SEM JEOL-FEG 7401F.

No procedimento de contagem de UFC soluções de cera emulsificada em SDS 9 mM e dissolvida em DMSO foram testadas contra *S. aureus* (ATCC 29213) e *E. coli* (ATCC 25922) e a atividade foi avaliada a partir do plaqueamento e contagem das unidades formadoras de colônias após 1 hora de interação entre as bactérias e a cera. As suspensões bacterianas foram preparadas em meio de 0,264 M de D-glucose e a sua turbidez a 650 nm foi ajustada a 0,5 na escala de McFarland, resultando em uma concentração celular final de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Uma alíquota de 50 μ L de solução ou emulsão de cera a 2,5 g/L interagiu com 4,95 ml de inóculo de *S. aureus* no interior de um tubo Falcon à temperatura ambiente ($24 \pm 1^\circ\text{C}$) durante 1 hora. A suspensão de *E. coli* foi testada nas mesmas condições, mas apenas com soluções de cera em DMSO. A suspensão resultante foi diluída (de 0 a 10^6 vezes) e 100 μ L de cada diluição foi plaqueada em triplicata em ágar Mueller–Hinton (MHA) e mantida durante 24 h a 37°C . Posteriormente foi realizada contagem de UFC em MHA.

Os experimentos de controle foram realizados com água, solução pura de SDS e DMSO puro, além das suspensões de *S. aureus* e *E. coli*.

3.3. Adsorção e dessorção de glifosato

3.3.1. Procedimento de adsorção

Soluções aquosas de glifosato em concentrações de 0,3 a 28,3 g/L foram preparadas a partir de uma amostra de glifosato puro (Roundup®). Em seguida, 1 mL de cada solução foi adicionado a “eppendorfs” contendo 3 mg de CaCO_3 , e a suspensão foi mantida sob agitação constante à $24 \pm 1^\circ\text{C}$ durante aproximadamente 18 horas. Este período de tempo garantiu condições de equilíbrio de adsorção. A quantificação de glifosato no equilíbrio foi realizada através do método colorimétrico de detecção fosfato (CARMONA-RIBEIRO, 2012). Nesse método o glifosato é aquecido em presença de ácido perclórico, um oxidante forte, para

destruição da matéria orgânica presente e da ligação C-P e conversão em ortofosfato livre. Após essa digestão, o ortofosfato liberado reage com o molibdato de amônio, em meio fortemente ácido, para formar o complexo fosfomolibdato de amônio, que é reduzido pelo ácido ascórbico a azul de molibdênio, cuja intensidade da cor é proporcional à concentração de fósforo presentes na amostra (LEAL et al, 2008).

Abaixo se encontra a representação esquemática das 3 principais reações que ocorrem no processo. O azul de molibdênio formado não possui estrutura definida e está representado por uma estrutura provável, composta por uma estrutura contendo molibdênio nos estados de oxidação +6 e +5 (MENDONÇA, 2013).

As soluções após adsorção foram centrifugadas a 10.000 rpm por 3 minutos e alíquotas de 10 µL a 90 µL do sobrenadante foram retiradas e transferidas para tubos de ensaio. O mesmo procedimento foi feito utilizando uma solução padrão de fosfato (NaH₂PO₄, 1 mM) para construir a curva de calibração. O branco utilizado foi um tubo sem adição do padrão de fosfato, mas submetido a todos os demais procedimentos.

Os tubos ficaram em estufa a 100 °C até completa evaporação do líquido e os sólidos restantes foram submetidos à digestão ácida com adição de 0,3 mL de ácido perclórico. Os tubos foram tampados e mantidos em banho de óleo a 180 °C por 1 hora. Após retornar à temperatura ambiente adicionou-se 1 mL de água destilada, 400 µL de molibdato de amônio 1,25% m/v e 400 µL de ácido ascórbico 5% m/v em cada tubo, agitando em vortex após cada adição. Os tubos foram tampados e mantidos em banho-maria a 100°C por 5 minutos. Após retornar à temperatura ambiente a absorbância foi lida em 795 nm. Cada quantificação foi feita em triplicata.

3.3.2. Procedimento de dessorção ácida

Utilizando uma concentração intermediária de glifosato (≈ 6 g/L) foi realizado o procedimento de adsorção descrito anteriormente. Após o término da reação e centrifugação a 10.000 rpm por 3 minutos, uma alíquota do sobrenadante foi analisada pelo método colorimétrico de detecção de fosfato descrito previamente e o restante foi removido. Ao sólido restante, foi adicionado 1mL de água destilada, homogeneizado, centrifugado novamente e essa lavagem foi repetida algumas vezes. Na última lavagem, uma alíquota do sobrenadante foi analisada e o restante foi removido. Então 1 mL de HCl 0,1 M foi adicionado ao sólido, homogeneizado e analisado. A fim de controlar possíveis interferências advindas da dissolução ácida, separadamente adicionou-se 1 mL de HCl 0,1 M a 3 mg de CaCO_3 e a solução foi homogeneizada e analisada.

3.3.3. Procedimento de dessorção por ultrassom

Utilizando uma concentração intermediária de glifosato (≈ 6 g/L) foram realizadas 3 replicatas de adsorção seguindo o método descrito anteriormente. Após o término das reações e centrifugação a 10.000 rpm por 3 minutos, uma alíquota de cada sobrenadante foi analisada pelo método colorimétrico de detecção de fosfato descrito previamente e o restante foi removido.

Então, 1 mL de água destilada foi adicionado a cada sólido, homogeneizado e levado ao banho de ultrassom por $t = 0$, $t = 15$ minutos e $t = 25$ minutos. Após o tempo de dessorção, cada replicata foi retirada do ultrassom, novamente centrifugada e seu sobrenadante foi analisado.

3.3.4. Cinética de adsorção

No experimento de cinética de adsorção o mesmo procedimento de adsorção foi feito utilizando soluções de glifosato 1 g/L e 17 g/L e variando o tempo de reação. Para cada concentração foi quantificado o glifosato em solução após seis tempos de interação diferentes: 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 8 horas e 24 horas. A quantificação de glifosato no equilíbrio foi feita pelo método colorimétrico descrito anteriormente e realizada em triplicada para cada amostra.

3.3.5. Caracterização do CaCO_3 antes e após adsorção do glifosato

A fim de verificar uma possível mudança na estrutura cristalina do CaCO_3 após contato com a solução de glifosato, foram realizadas análises por microscopia eletrônica de varredura e difração de raios-X. A microscopia permite uma observação morfológica do sólido enquanto a análise por raios-X evidencia possíveis mudanças no hábito cristalino.

Após realização do procedimento de cinética de adsorção as amostras com tempos de reação de 1 hora, 4 horas e 24 horas foram centrifugadas a 10.000 rpm por 3 minutos, a maior parte dos sobrenadantes foi retirada e o restante, aproximadamente 100 μL , foi homogeneizado até a obtenção de suspensões altamente concentradas dos sólidos CaCO_3 -glifosato. Uma gota de cada suspensão foi aplicada na superfície de uma placa de Si, seca ao ar, recoberta com uma camada de aproximadamente 2 nm de ouro por “sputtering e analisada em equipamento JEOL Neoscope JCM 5500. A análise do CaCO_3 puro foi realizada seguindo os mesmos procedimentos, porém após 18 horas de interação com água ao invés da solução de glifosato. Após o preparo das

amostras para o MEV, os “eppendorfs” contendo as suspensões altamente concentradas dos sólidos CaCO_3 -glifosato foram mantidos em dessecador até secagem completa e peso constante. Os difratogramas foram obtidos em um difratômetro Rigaku modelo Miniflex® numa velocidade de 1 grau por minuto e com 2θ variando de 10° a 60° .

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Medidas de ângulo de contato

As medidas de ângulo de contato foram realizadas na superfície adaxial das folhas, uma vez que é esta que entra em contato direto com os herbicidas e, portanto, está mais suscetível a danos. O trabalho de adesão foi calculado a partir da equação 3 e a histerese do ângulo de contato foi determinada utilizando a equação 4.

4.1.1. Soja

Na Figura 20 estão representados os fragmentos da folha de soja nos quais as medidas de ângulo de contato foram feitas. Os valores médios de ângulo de avanço (θ_a) obtidos e apresentados na Tabela 6 mostram grande diferença na molhabilidade da folha de soja perante cada solução. A ordem crescente de molhabilidade e, portanto, decrescente em relação ao valor do ângulo de contato é: PS20 < CTAB < SDS < FC < TF. O valor do trabalho de adesão cresce na mesma ordem, denotando melhor interação da superfície da folha com as soluções de FC e TF. Dentre os tensoativos comuns, o valor de trabalho para a solução de SDS, cuja cmc é a maior, é o mais alto. Essa relação entre cmc e trabalho de adesão também ocorre para CTAB e PS20. O SDS é um tensoativo aniônico e possui a cmc mais alta, pois além da repulsão eletroestática de sua cabeça negativamente carregada tornar mais difícil a formação das micelas, sua cadeia carbônica com apenas 12 carbonos é mais facilmente hidratada pelas moléculas de água, portanto o ganho entrópico com a formação das micelas devido a liberação dessas moléculas pelo efeito hidrofóbico é menor. O CTAB também possui cabeça polar carregada, gerando repulsão eletroestática na formação das micelas, porém sua cadeia carbônica com 19 carbonos promove um ganho entrópico maior com a liberação das moléculas de água devido a formação das micelas. O PS20 é um tensoativo não carregado, portanto a repulsão entre as cabeças polares é

somente estérica e, dessa forma, mais fraca, tornando mais favorável a formação das micelas em relação aos tensoativos com cabeça carregada.

Considerando que o interesse das formulações é afetar a daninha, e não a soja, a melhor opção de surfactante a ser utilizado seria o não-iônico, pois apresenta a menor molhabilidade e afinidade pela folha de soja.

Figura 20: Folha de soja. Os quadrados representam os fragmentos de folha (1cm²) nos quais as medidas de ângulo de contato foram feitas.

A Tabela 6 também revela que não é possível calcular a histerese do ângulo de contato para TF, uma vez que o espalhamento da gota é total após remoção de metade do seu volume inicial. Na realidade, o tempo entre a medida do ângulo de avanço e a retirada de metade do volume da gota é o suficiente para que esta se espalhe completamente, tornando impossível a medida do ângulo de recesso. Isto, assim como os altos valores de histerese observados para todas as soluções em comparação com a água, sugerem que há solubilização da cera presente na superfície da folha de soja. A cera cuticular é responsável pela hidrofobicidade da folha, denotada por um ângulo de 128 ° quando em contato com água, e uma vez solubilizada permite maior espalhamento das soluções, proporcionando ângulos de recesso bem menores que os de avanço e, consequentemente, histerese alta.

Os maiores valores de $\Delta\theta$ ocorreram com FC e SDS, sugerindo que além de ter mais afinidade pela folha, o tensoativo de maior cmc também é aquele que mais danos causa à cera.

Tabela 6: Ângulos de avanço e recesso, histerese do ângulo de contato e trabalho de adesão da água e das soluções de SDS, CTAB, PS20, TF e FC, sobre as folhas de soja.

	Concentração	Ângulo de Contato (°)		Histerese do Ângulo de Contato	Trabalho de Adesão (10^{-3} J m^{-2})	Tensão Superficial (10^{-3} J m^{-2})
		Avanço	Recesso			
Água	-	128 ± 1	124,9 ± 0,2	3,6	26,5	69,00 ± 0,01
SDS	9 mM	104,8 ± 0,5	67,8 ± 0,9	37,0	27,3	36,79 ± 0,06
CTAB	1 mM	118,0 ± 0,2	100,4 ± 0,3	17,6	20,2	38,07 ± 0,05
PS20	0,07 mM	124,0 ± 0,5	102 ± 1	22,1	17,2	39,07 ± 0,09
TF	0,2% v/v	23 ± 1	* ± *	*	53,7	27,98 ± 0,02
FC	0,2% v/v	81 ± 2	31,6 ± 0,1	50	38,5	32,3 ± 0,2

*não foi possível realizar a medida de ângulo de recesso, pois houve espalhamento total da gota.

A ANOVA realizada com os dados de ângulo de contato das diferentes soluções com a folha de soja resultou em um valor-p de $8,2 \times 10^{-17}$ ($p < 0,05$) que mostra que há diferença estatística entre os valores de θ_a obtidos para as diferentes soluções.

Figura 21: Ângulos de avanço e recesso da água e das soluções de SDS, CTAB, PS20, TF e FC, sobre as folhas de soja.

As medidas de ângulo de contato foram feitas também sobre Parafilm M[®] a fim de avaliar a influência da composição química da superfície sobre os valores obtidos. A Tabela 7 mostra que apesar do Parafilm M[®] ser um material conhecidamente hidrofóbico, os valores de ângulo de contato sobre a sua superfície foram significativamente mais baixos do que sobre a folha de soja. Isso mostra que a estrutura da folha tem um peso maior em sua hidrofobicidade do que sua composição. Presume-se que os microcristais de cera epicuticular, presentes em diversas espécies vegetais, assumam papel fundamental na intensificação da hidrofobicidade, como descrito no modelo de Cassie-Baxter.

Tabela 7: Comparação do ângulo de contato da água e das soluções de tensoativos comuns sobre Parafilm M[®] e folha de soja.

	Concentração	Ângulo de Contato sobre Parafilm M [®] (°)	Ângulo de Contato sobre folha de soja (°)
Água	-	99 ± 4	128 ± 1
SDS	9 mM	62 ± 1	104,8 ± 0,5
CTAB	1 mM	58 ± 2	118,0 ± 0,2
PS20	0,07 mM	72 ± 3	124,0 ± 0,5

De acordo com a teoria de Owens-Wendt a energia superficial de uma superfície sólida (γS) pode ser estimada pela soma das suas componentes polar (γS_p) e dispersiva (γS_d). A equação de Owens–Wendt (8) relaciona a média geométrica das componentes polar e dispersiva da tensão superficial do líquido e da energia de superfície do sólido com a tensão superficial do

líquido e o ângulo de contato deste com a superfície. Assim, a energia superficial da folha de soja foi determinada utilizando a equação 8, a partir das medidas do ângulo de avanço da água e diiodometano. Os valores dessas medidas, assim como os valores de tensão superficial e componentes polar e dispersiva de cada líquido estão descritos na Tabela 8.

$$\gamma L(1 + \cos\theta) = 2(\sqrt{\gamma S_d \gamma L_d} + \sqrt{\gamma S_p \gamma L_p}) \quad (8)$$

Tabela 8: Ângulo de avanço sobre a folha de soja referente à água e diiodometano e seus respectivos valores de tensão superficial, componente dispersiva e polar.

	θ_a (°)	γL (10^{-3} J m $^{-2}$)	γL_d (10^{-3} J m $^{-2}$)	γL_p (10^{-3} J m $^{-2}$)
Água	128 ± 1	72,8	21,8	51
Diiodometano	90 ± 2	50,8	50,8	-

Os valores encontrados para a componente dispersiva (γS_d) e polar (γS_p) da folha de soja foram respectivamente $12,7 \times 10^{-3}$ J m $^{-2}$ e $0,1 \times 10^{-3}$ J m $^{-2}$. De acordo com esse modelo de duas componentes, a tensão interfacial entre duas partes depende de como as componentes polar e dispersiva de uma das partes interagem com as componentes correspondentes da parte adjacente. Dessa forma, a tensão interfacial entre a água e um sólido será baixa se a componente polar desse sólido for alta, enquanto se torna mais alta quando em contato com um sólido de componente polar mais baixa. Neste último caso, as interações polares só fazem uma pequena contribuição para reduzir a tensão interfacial, correspondendo a uma baixa molhabilidade e um ângulo de contato elevado (OWENS & WENDT, 1969). A Figura 22 mostra como uma mesma superfície interage com dois líquidos diferentes que, embora tenham a mesma tensão superficial, possuem componentes polares e dispersivas diferentes.

Figura 22: Representação esquemática de como as componentes polar e dispersiva de cada parte interferem na tensão interfacial entre elas.

Como representado na Figura 22, somente componentes equivalentes interagem entre si, diminuindo a tensão interfacial. A soja apresenta uma componente polar bastante baixa, o que justifica seu caráter hidrofóbico e o fato dela ter uma fraca interação com a água.

4.1.2. Gramínea

Na Figura 23 está apresentada uma amostra da gramínea e uma amostra da folha na qual foram realizadas as medidas de ângulo de contato.

Figura 23: Gramínea. (a) Amostra e (b) pedaço de folha

A Tabela 9, que mostra os valores médios de ângulo de avanço (θ_a) obtidos sobre gramínea, revela que esta apresenta a mesma ordem crescente de molhabilidade, perante as soluções, que aquela obtida para a folha de soja: $PS20 < CTAB < SDS < FC < TF$. No entanto, os valores são significativamente menores, sendo comparáveis aos obtidos em Parafilm M[®]. Isso indica que a gramínea não possui cera epicuticular na forma de microcristais, mas apenas uma superfície hidrofóbica e lisa, como a do Parafilm M[®].

Os altos valores de histerese e trabalho de adesão corroboram essa suspeita, pois não tendo essa estrutura, a folha se torna muito mais suscetível a absorver as soluções, que se espalham facilmente sobre ela, proporcionando um ângulo de recesso significativamente menor que o de avanço e resultando numa forte interação entre as partes. No entanto, os valores de histerese e trabalho de adesão para a gramínea não variaram tanto dentre soluções quanto para a folha de soja, sugerindo que não existe diferença entre os tensoativos testados na absorção pela folha de gramínea.

Tabela 9: Ângulos de avanço e recesso, histerese do ângulo de contato e trabalho de adesão da água e das soluções de SDS, CTAB, PS20, TF e FC, sobre as folhas de gramínea.

	Concentração	Ângulo de Contato (°)		Histerese do Ângulo de Contato	Trabalho de Adesão (10^{-3} J m^{-2})	Tensão Superficial (10^{-3} J m^{-2})
		Avanço	Recesso			
Água	-	84 ± 5	32 ± 2	51,9	76,2	69,00 ± 0,01
SDS	9 mM	43 ± 2	13 ± 2	30,0	63,7	36,79 ± 0,06
CTAB	1 mM	51 ± 6	26 ± 2	24,9	62,0	38,07 ± 0,05
PS20	0,07 mM	77 ± 5	51 ± 3	25,9	47,9	39,07 ± 0,09
TF	0,2% v/v	29 ± 2	* ± *	*	52,5	27,98 ± 0,02
FC	0,2% v/v	40 ± 3	13 ± 2	27	57,0	32,3 ± 0,2

*não foi possível realizar a medida de ângulo de recesso, pois houve espalhamento total da gota.

A ANOVA realizada com os dados de ângulo de contato das diferentes soluções com a folha de gramínea resultou em um valor-p de $4,5 \times 10^{-8}$ ($p < 0,05$) que mostra que há diferença estatística entre os valores de θ_a obtidos para as diferentes soluções.

Figura 24: Ângulos de avanço e recesso da água e das soluções de SDS, CTAB, PS20, TF e FC, sobre as folhas de gramínea.

A ANOVA também foi realizada para comparar os valores de θ_a obtidos para água e para as diferentes soluções em contato com a folha de soja com aqueles obtidos em contato com a folha de gramínea, como mostra a Tabela 10. Para todos os líquidos o valor-p foi menor que 0,05, indicando que há diferença significativa entre a molhabilidade da folha de soja e de gramínea pelos mesmos líquidos.

Tabela 10: Resultados da ANOVA realizada com os dados de θ_a obtidos para diferentes soluções em contato com a folha de soja e de gramínea.

	<i>Valor-F</i>	<i>Valor-p</i>
Água	233,0568	$1,07 \times 10^{-4}$
SDS	4304,719	$3,23 \times 10^{-7}$
CTAB	376,8955	$4,15 \times 10^{-5}$
PS20	287,4092	$7,1 \times 10^{-5}$
TF	28,3707	$5,9 \times 10^{-3}$
FC	203,9508	$1,4 \times 10^{-4}$

4.2. Microscopia eletrônica de varredura

A Figura 25 mostra a imagem MEV do Parafilm M[®], confirmando que ele consiste em uma superfície totalmente lisa, ausente de microrugosidades que tornariam sua superfície mais hidrofóbica.

Figura 25: Imagem MEV da superfície de Parafilm M[®]. A barra de escala corresponde a 1µm.

4.2.1. Soja

As Figuras 26 e 27 mostram respectivamente as imagens MEV da superfície adaxial e abaxial da folha de soja logo após colheita. Pode-se observar que não existe diferença na morfologia das duas superfícies, exceto pela presença de estômatos somente na abaxial. Em ambas as superfícies existe uma hierarquia estrutural bastante definida, na qual os cristais de cera possuem morfologia de plaquetas (KOCH et al, 2008). Esse tipo de estrutura tridimensional se caracteriza por cristais planos formados por auto-associação, que podem possuir extremidades irregulares e uma razão largura/altura bastante variável (BARTHLOTT et al, 1998). Ceras com essa morfologia normalmente são formadas por álcoois primários, hidrocarbonetos e triterpenóides (SANTOS et al, 2007).

A hierarquia estrutural presente na folha de soja é condizente com os altos valores de ângulo de contato obtidos sobre ela, em comparação com aqueles obtidos sobre Parafilm M[®] e

folha de gramínea, os quais são explicados pelo modelo de Cassie-Baxter. A presença desses microcristais causa aprisionamento de ar nos interstícios e, como a composição da cera é conhecida composta por moléculas apolares, ocorre a intensificação da hidrofobicidade da superfície.

Figura 26: Imagens de MEV da superfície adaxial da folha de soja. As barras de escala correspondem a 1µm.

Figura 27: Imagens de MEV da superfície abaxial da folha de soja. As barras de escala correspondem a 1µm.

A Figura 28 mostra a imagem MEV da superfície adaxial da folha de soja após contato com água e com as soluções. Após contato com a água, como mostrado na Figura 28a, pode-se observar que não ocorre alteração na estrutura de plaquetas presente na folha, diferentemente do que ocorre após contato com as soluções. Nas Figuras 28b, 28c, 28d, 28e e 28f é possível ver a

perda da estrutura cristalina da cera, o que confirma a hipótese de que os tensoativos solublizam a cera epicuticular, destruindo a hierarquia estrutural responsável pela alta hidrofobicidade. Isso, portanto, explica os altos valores de histerese obtidos para todos os líquidos sobre essa superfície. A superfície na qual é medido o ângulo de recesso não é a mesma na qual foi medido o ângulo de avanço, pois parte importante da estrutura foi danificada, ocasionando melhor acomodação da gota e ângulos de contato mais baixos.

Figura 28: Imagens de MEV da superfície adaxial da folha de soja após contato com (a) água, (b) SDS (9mM), (c) CTAB (1mM), (d) PS20 (0,07mM), (e) TF (0,2% v/v) e (f) FC (0,2% v/v). As barras de escala correspondem a 1µm.

O foco do herbicida não é atingir a folha de soja, mas todos os tensoativos ocasionaram perda da estrutura cristalina da cera, prejudicando a planta como um todo. Dessa forma, a melhor escolha de tensoativo do ponto de vista da soja para ser utilizado na formulação é aquele com menor afinidade pela folha. Como visto na Tabela 6, o tensoativo que apresentou menor trabalho de adesão pela folha e menor histerese do ângulo de contato e, portanto, causaria menos danos à folha seria o não-iônico.

4.2.2. *Gramínea*

A Figura 29 mostra a imagem MEV da superfície adaxial da folha de gramínea, que confirma a suspeita de ausência de uma estrutura tridimensional de cera. É possível observar alguns aglomerados depositados sobre a superfície, mas que não possuem hierarquia estrutural e, dessa forma, não promovem intensificação da hidrofobicidade.

Figura 29: Imagens de MEV da superfície da folha de gramínea. As barras de escala correspondem a 1 μm

Uma vez que a folha de gramínea não apresenta cera epicuticular na forma de cristais, não é possível observar alterações nessa estrutura após contato com água ou soluções de tensoativos. A Figura 30 confirma que nenhuma alteração visível ocorre na estrutura após esse contato, explicando por que os valores de $\Delta\theta$ não variaram tanto na gramínea como na folha de soja. Considerando que não há grande variação no trabalho de adesão dentre as soluções dos diferentes tipos de tensoativos em relação à gramínea e que os não-iônicos são os que menos causam danos à soja, estes últimos seriam os mais indicados para serem utilizados em formulações de herbicidas, pois seriam eficientes na gramínea causando o menor dano à soja.

Figura 30: Imagens de MEV da superfície adaxial da folha de gramínea após contato com (a) SDS (9mM), (b) CTAB (1mM), (c) PS20 (0,07mM), (d) TF (0,2% v/v) e (e) FC (0,2% v/v). As barras de escala correspondem a 1 μ m.

4.3. Composição da cera de soja

A Figura 31 mostra fotografias da folha de soja antes e depois da extração da cera com clorofórmio. Nela fica evidente o ressecamento e perda da estrutura que ocorre na folha com a perda da sua camada protetora, mostrando o quão potencialmente prejudicial a solubilização da cera pode ser, mesmo que em pequena escala.

Após extração, análises gravimétricas mostraram que cada folha de soja possui na média 0,5 mg de cera seca.

Figura 31: Fotografias da folha de soja (a) antes e (b) depois da extração da cera com clorofórmio.

A Figura 32 mostra o cromatograma obtido na análise da cera. Os picos de retenção de maior intensidade foram analisados qualitativamente com base nos cromatogramas e espectros de massas disponíveis na biblioteca do equipamento. Alguns dos compostos que puderam ser

identificados foram: Diisooctil adipato ($C_{22}H_{42}O_4$), tricosano ($C_{23}H_{48}$), heptacosano ($C_{27}H_{56}$), octacosano ($C_{28}H_{58}$), triacontano ($C_{30}H_{62}$), hexatriacontano ($C_{36}H_{74}$), pentatriacontano ($C_{35}H_{72}$) e 9-octadecenamida ($C_{18}H_{35}NO$). É sabido que as ceras das plantas têm composição química complexa e variada, a qual depende da sua fase de desenvolvimento, idade e condições ambientais como temperatura e iluminação (RIEDERER & MÜLLER, 2006).

Figura 32: Cromatograma obtido para cera de soja.

Dessa forma, embora a microestrutura de plaquetas seja normalmente formada por álcoois primários, hidrocarbonetos e triterpenóides, os resultados de GC-MS que indicaram a presença de hidrocarbonetos, éster e amida são coerentes. Esses e os demais compostos de cadeia longa presentes nas ceras são biossintetizados por prolongamento de ácidos graxos, que posteriormente se convertem nos correspondentes álcoois, ésteres, aldeídos, alcanos e cetonas, e essas reações podem ocorrer de forma diferente em cada planta (BARTHLOTT et al, 1998).

4.4. Atividade antimicrobiana da cera de soja

Um importante papel das microestruturas de cera na superfície das folhas é a proteção contra patógenos. A fim de avaliar o papel da composição dessa estrutura na proteção foram realizados dois ensaios biocidas com a cera extraída a partir de folhas de soja.

No ensaio de turbidez, após extração com $CHCl_3$ e posterior secagem, a cera foi novamente dissolvida numa mistura de $CHCl_3$: MeOH (01:10) e interagiu com a dispersão de

Micrococcus luteus (Gram-positiva). Nesse ensaio, a turbidez da dispersão de *Micrococcus luteus* e do composto o qual se quer avaliar a atividade antimicrobiana é medida em função do tempo através de espectrofotometria. A turbidez da dispersão de *Micrococcus luteus* deverá diminuir devido ao rompimento do microorganismo, no caso do composto apresentar atividade. A cera dissolvida e também o controle (mistura de CHCl_3 : MeOH (01:10) sem cera), interagiram com a dispersão de *Micrococcus luteus* por diferentes períodos de tempo, mas mesmo após 24 horas de interação nenhuma diferença entre os valores iniciais e finais de turbidez foi observada. A Figura 33 mostra a imagem MEV do filme de cera após 24 horas de interação com a dispersão de *Micrococcus luteus* e revela que as bactérias preservaram a sua integridade, confirmando que não houve rompimento. Além disso, é possível ver que a cera recristalizada nas placas de Si apresenta morfologia de plaquetas bem definida (BLACHECHEN et al, 2014).

Figura 33: Imagem MEV do filme de cera depositado sobre a placa de Si após 24 horas de interação com a dispersão de *Micrococcus luteus* (indicado pelas setas). A barra de escala corresponde a 1 μm .

A atividade biocida da cera também foi avaliada por contagem de UFC após 1 hora de interação entre a cera dissolvida em DMSO ou emulsificada em solução de SDS e *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) e *Escherichia coli* (Gram-negativa). Não foi observada

qualquer diferença significativa entre o número de UFC dos experimentos com as bactérias cultivadas em contato com a cera e aquelas cultivadas sem cera (controle).

Os resultados mostram que os compostos químicos presentes na cera não possuem atividade biocida. Pode-se concluir que a proteção contra o agente patogênico é devida somente à morfologia da cera, sendo que as microestruturas sobre a superfície prejudicam a adesão física das bactérias.

4.5. Adsorção de glifosato em CaCO_3

Após a realização dos procedimentos de adsorção foi possível calcular o parâmetro q_B (g/g.L), que indica a capacidade de adsorção de glifosato pelo CaCO_3 e é dado pela equação 9:

$$q_B = \frac{C_a}{M} \quad (9)$$

Onde C_a (g/L) é a concentração de glifosato adsorvido e M a massa de CaCO_3 utilizada (g). A concentração de glifosato adsorvido foi calculada a partir da diferença entre a concentração de glifosato na solução inicial e aquela detectada no equilíbrio.

A % remoção foi determinada dividindo C_a pela concentração de glifosato na solução inicial e multiplicando por 100.

Tabela 11: Concentração de glifosato no equilíbrio (g/L) e capacidade de adsorção (q_B) de glifosato pelo CaCO_3 (g/g.L) obtidos após 18 h de adsorção a 24 ± 1 °C utilizando diferentes concentrações de glifosato inicial e mantendo fixa a massa de CaCO_3 (mg).

Massa de CaCO_3 (mg)	[Glifosato inicial] (g/L)	[Glifosato no equilíbrio] (g/L)	q_B (g/g.L)
3,4	0,32	0,26	16
3,2	0,64	0,54	31
3,2	0,95	0,81	45
3,5	1,00	0,88	34
3,2	1,27	0,92	109
3,5	2,01	1,17	242
3,0	8,46	5,86	865
2,9	9,91	5,75	1433
2,9	11,42	7,18	1461
3,2	14,13	8,22	1849
3,8	21,22	11,24	2625
3,8	28,28	13,24	3959

A partir dos valores da Tabela 11 foi possível construir o gráfico da Figura 34 que mostra a variação na capacidade de adsorção de glifosato pelo carbonato em função da concentração de glifosato na solução inicial. Pode-se observar que a capacidade adsorptiva do carbonato aumenta com o aumento da disponibilidade de glifosato. A Figura 35 também evidencia isso, mostrando a tendência de aumento na porcentagem de remoção de glifosato da solução com o aumento da concentração inicial do glifosato.

Figura 34: Capacidade de adsorção (q_B) de glifosato por CaCO_3 em função da concentração de glifosato na solução inicial obtidos após 18 h de adsorção a $24 \pm 1^\circ\text{C}$.

Figura 35: Porcentagem de remoção de glifosato da solução em função da concentração inicial do glifosato determinada após 18 h de contato a $24 \pm 1^\circ\text{C}$.

A isoterma de adsorção do glifosato sobre CaCO_3 foi analisada pelos modelos de Langmuir e Freundlich.

4.5.1. Modelo de Langmuir

O modelo de Langmuir assume que (i) a adsorção só existe até saturação da superfície e formação da monocamada, (ii) a superfície é uniforme e todos os sítios de adsorção são energeticamente equivalentes, (iii) não há interação entre sítios vizinhos e (iv) o processo de adsorção é um equilíbrio dinâmico.

A equação de Langmuir pode ser escrita linearmente como:

$$\frac{C_e}{qB} = C_e \frac{1}{qB\infty} + \frac{1}{K_L \cdot qB\infty} \quad (11)$$

Onde C_e é a concentração de glifosato no equilíbrio (g/L), qB é a capacidade de adsorção (g/g.L), $qB\infty$ é a quantidade de adsorbato na superfície quando ocorre a saturação da superfície e K_L é a constante de adsorção de Langmuir (L/g).

Tabela 12: Concentração de glifosato no equilíbrio (g/L) e concentração de glifosato no equilíbrio/capacidade de adsorção de glifosato pelo CaCO_3 (g) referentes as adsorções apresentadas na Tabela 11.

[Glifosato no equilíbrio] (g/L)	[Glifosato no equilíbrio]/ qB (g)
0,26	16
0,54	17
0,81	18
0,88	26
0,92	8
1,17	5
5,86	6,8
5,75	4,0
7,18	4,9

8,22	4,4
11,24	4,3
13,24	3,3

Se a adsorção se ajustar ao modelo de Langmuir, é possível obter os parâmetros qB^∞ e K_L , sendo $\frac{1}{qB^\infty}$ o coeficiente angular e $\frac{1}{K_L qB^\infty}$ o coeficiente linear da reta obtida.

A Figura 36 mostra que a isoterma de adsorção experimental não se ajustou ao modelo de Langmuir, pois não se obteve uma tendência linear crescente.

Figura 36: Dados experimentais calculados para o modelo de isoterma de adsorção de Langmuir.

4.5.2. Modelo de Freundlich

O modelo de Freundlich é empírico e admite que cada sítio de adsorção possui entalpia de adsorção diferente.

A equação de Freundlich pode ser escrita como:

$$\ln qB = \frac{1}{n} \ln C_e + \ln K_F \quad (12)$$

Onde C_e é a concentração de glifosato no equilíbrio (g/L), qB é a capacidade de adsorção (g/g.L), K_F é a constante de Freundlich $\left(\frac{g}{L.g}\right)\left(\frac{L}{g}\right)^{\frac{1}{n}}$ e n está relacionado com a heterogeneidade da superfície. Quanto maior o valor de K_F , maior é a capacidade de adsorção. Quanto menor o valor de n , mais heterogênea é a superfície.

Para fins de comparação com dados da literatura, a isoterma de Freundlich foi construída utilizando os valores de C_e em mg/L e qB em mg/g.L.

Tabela 13: Logaritmos neperianos da concentração de glifosato no equilíbrio e da capacidade de adsorção de glifosato pelo CaCO_3 .

ln [Glifosato no equilíbrio]	ln qB
5,6	9,7
6,3	10,3
6,7	10,7
6,8	10,4
6,8	11,6
7,1	12,4
8,7	13,7
8,7	14,2
8,9	14,2
9,0	14,4
9,3	14,8
9,5	15,2

Se a isoterma de adsorção se ajustar ao modelo de Freundlich, é possível, através da interpolação dos dados da Tabela 13, obter os parâmetros n e K_F , sendo $\frac{1}{n}$ o coeficiente angular e $\ln K_F$ o coeficiente linear da reta obtida.

Figura 37: Dados experimentais ajustados para o modelo de isoterma de adsorção de Freundlich ($R^2 = 0,958$).

Os parâmetros de ajuste obtidos (Figura 37) foram $K_F = 4,5 \left(\frac{\text{mg}}{\text{L.g}} \right) \left(\frac{\text{L}}{\text{mg}} \right)^{\frac{1}{n}}$ e $n = 0,69$. Não há muitos trabalhos na literatura sobre adsorção de glifosato sobre adsorventes sólidos para comparar com o comportamento observado para a adsorção de glifosato sobre CaCO_3 . Um dos poucos trabalhos relacionados ao assunto é o estudo realizado por Igwe e colaboradores (2012), que estudaram a adsorção de glifosato em cinzas provenientes dos resíduos de combustão em caldeiras. Os parâmetros por eles obtidos para o ajuste de Freundlich foram $K_F = 0,5 \left(\frac{\text{mg}}{\text{L.g}} \right) \left(\frac{\text{L}}{\text{mg}} \right)^{\frac{1}{n}}$ e $n = 1,10$. Esses valores mostram que o glifosato tem uma maior tendência de se ligar ao CaCO_3 do que às cinzas, as quais, de acordo com o valor de n obtido, possuem superfície mais homogênea do que o CaCO_3 .

4.5.3. Dessorção ácida

O procedimento de dessorção ácida foi realizado a fim de obter a contraprova da quantificação de glifosato pelo método colorimétrico. O método detecta o glifosato em solução e a quantidade de glifosato adsorvido é calculada pela diferença entre a concentração inicial de glifosato e a concentração na solução após adsorção. Ao adicionar HCl ao CaCO_3 , promovemos a dissolução completa do sólido, obrigando qualquer molécula nele adsorvida a migrar para a solução. Dessa forma, ao detectar a quantidade de glifosato presente nessa nova solução é possível ter certeza da quantidade que havia sido adsorvida no sólido.

Assim, foi escolhida uma concentração intermediária de glifosato para realização do procedimento de adsorção. Após o término da reação, uma alíquota do sobrenadante, denominada *Ad*, foi analisada pelo método colorimétrico, a fim de obter-se por diferença a quantidade de glifosato adsorvida em CaCO_3 .

Após a remoção do restante do sobrenadante e realização da lavagem do sólido com água, uma nova alíquota, denominada *L*, foi analisada a fim de garantir que não houvesse qualquer resquício de glifosato presente na solução após as lavagens. Então, todo o sobrenadante foi retirado, a solução de HCl foi adicionada ao sólido e a solução resultante, denominada *D*, foi analisada a fim de obter-se a concentração de glifosato dessorvido.

A solução controle, denominada *Bc*, também foi analisada para garantir que a dissolução ácida não tivesse provocado interferências na quantificação colorimétrica.

Tabela 14: Concentração de glifosato adsorvido calculada por diferença utilizando o método colorimétrico.

Nome	[Glifosato inicial] (g/L)	[Glifosato equilíbrio] (g/L)	[Glifosato adsorvido] (g/L)
<i>Ad</i>	5,86	2,41	$3,45 \pm 0,03$

Tabela 15: Concentração de glifosato detectada em solução pelo método colorimétrico após lavagem (L), após dessorção ácida (D) e após reação de CaCO_3 puro com solução de HCl 0,1M (Bc).

Nome	[Glifosato] em solução (g/L)
<i>L</i>	$0,101 \pm 0,007$
<i>D</i>	$3,4 \pm 0,3$
<i>Bc</i>	$0,020 \pm 0,005$

Observando os dados das Tabelas 14 e 15 podemos ver que a reação do HCl com CaCO_3 não provoca grandes interferências na detecção colorimétrica, pois o valor encontrado para o controle Bc foi de $0,020 \pm 0,005$ g/L, duas ordens de grandeza menor do que os valores encontrados na adsorção e dessorção. Da mesma forma, a amostra L mostrou que após lavagens com água só havia restado junto ao sólido $0,101 \pm 0,007$ g/L de glifosato. A adsorção Ad revelou uma concentração de glifosato adsorvida em CaCO_3 de $3,45 \pm 0,03$ g/L e a dessorção D revelou $3,4 \pm 0,3$ g/L. Considerando o erro, os valores são iguais, validando o método colorimétrico para detecção do glifosato adsorvido em carbonato.

4.5.4. Dessorção por ultrassom

O procedimento de dessorção por ultrassom foi realizado a fim de testar o potencial de dessorção do glifosato adsorvido em CaCO_3 . Esse método foi escolhido, pois no banho

ultrassônico a alta frequência com que o líquido vibra (acima de 20 kHz) gera jatos microscópicos de alta energia. As ondas ultrassônicas ao se difundirem pelo líquido possuem zonas de alta e baixa pressão, as quais proporcionam a formação e o colapso de milhões de pequenas bolhas microscópicas em um líquido, fenômeno chamado de cavitação. Espera-se que esses jatos energéticos do líquido, ao encontrarem o sólido, forneçam energia suficiente para arrancar a molécula adsorvida de sua superfície.

A adsorção foi realizada em triplicata utilizando soluções de glifosato de aproximadamente 6 g/L. Após centrifugação e quantificação do glifosato no sobrenadante, este foi todo retirado e 1 mL de água destilada foi adicionado. Cada replicata permaneceu um intervalo de tempo no banho de ultrassom, como mostrado na Tabela 16.

Tabela 16: Concentração de glifosato inicial, concentração de glifosato adsorvido após a reação de adsorção e concentração de glifosato dessorvido após determinado tempo em banho de ultrassom para três diferentes replicatas.

[Glifosato inicial] (g/L)	[Glifosato adsorvido] (g/L)	Tempo de ultrassom (min)	[Glifosato dessorvido] (g/L)
6,96	$4,58 \pm 0,05$	0	$0,35 \pm 0,05$
6,54	$4,12 \pm 0,05$	15	$0,30 \pm 0,02$
6,54	$3,70 \pm 0,05$	25	$0,29 \pm 0,05$

Pode-se observar que a replicata que não foi submetida ao banho de ultrassom ($t = 0$) apresentou glifosato em solução, provavelmente advindo da solução inicial de glifosato que restou em contato com o sólido, já que não foram realizadas lavagens antes da adição de 1 mL de água destilada. As replicatas seguintes apresentaram a mesma concentração de glifosato que a primeira, considerando o erro. Portanto, podemos concluir que após 25 minutos no banho de ultrassom não houve dessorção de glifosato. Considerando que o banho de ultrassom é uma condição extrema, muito diferente da condição na qual a dessorção ocorreria no solo, e que ainda

assim não foi capaz de quebrar a interação entre o CaCO_3 e o glifosato, concluímos que essa interação é muito forte, tornando inviável a utilização do carbonato como formulação alternativa de herbicida.

4.5.5. Cinética de adsorção

A Figura 38 mostra a concentração de glifosato adsorvido em função do tempo de adsorção utilizando solução de glifosato 17 g/L. Pode-se observar que uma concentração razoável de glifosato já foi adsorvida a partir de 30 minutos de interação, o equivalente a aproximadamente 13% de remoção. A cinética evidencia a tendência de aumento na concentração de glifosato adsorvido ao longo do tempo, até chegar em aproximadamente 30% de remoção após 8 horas de interação, se mantendo estável em 24 horas.

Figura 38: Concentração de glifosato adsorvido em função do tempo de reação para a adsorção utilizando solução de glifosato 17 g/L

A adsorção utilizando solução de glifosato 1 g/L não mostrou resultado até 8 horas de reação. Em 24 horas a concentração de glifosato adsorvida foi de $0,10 \pm 0,02$ g/L, o equivalente a 10% de remoção.

Esses resultados confirmam aqueles obtidos pelas Figuras 34 e 35, que mostram que em concentrações baixas de glifosato a porcentagem de remoção é bastante baixa, aumentando com o aumento da concentração de glifosato inicial. Além disso, para a solução de glifosato 1 g/L não houve remoção até pelo menos 8 horas de interação, enquanto para a solução 17 g/L houve um resultado significativo após 30 minutos. Isto indica que se trata de uma reação que ocorre de forma mais lenta e em menor extensão quando em menor concentração.

4.5.6. Caracterização do CaCO_3 antes e depois da adsorção do glifosato

4.5.6.1. Microscopia eletrônica de varredura

As Figuras 39a e 39b mostram micrografias obtidas para as partículas de CaCO_3 puro e após interação com água por 18 horas, respectivamente. É possível ver que não existe diferença na morfologia das partículas devido à interação com água. As partículas de CaCO_3 antes e depois têm aproximadamente 5 μm de diâmetro.

Figura 39: Imagens de MEV de partículas de CaCO_3 (a) puro e (b) após contato com água por 18 horas. A barra de escala corresponde a 10 μm .

A Figura 40 mostra imagens de MEV obtidas para as partículas após os períodos de tempo correspondentes aos experimentos de cinética de adsorção de glifosato nas concentrações

de 1 g/L e 17 g/L. As Figuras 40a, 40b e 40c mostram as imagens das partículas de CaCO_3 após 1 hora, 4 horas e 24 horas, respectivamente, de interação com a solução de glifosato 1 g/L. As Figuras 40d, 40e e 40f mostram as imagens das partículas de CaCO_3 após 1 hora, 4 horas e 24 horas, respectivamente, de interação com a solução de glifosato 17 g/L.

Figura 40: Imagem MEV de partículas de CaCO_3 após contato com solução de glifosato 1 g/L por (a) 1 hora, (b) 4 horas, (c) 24 horas e solução de glifosato 17 g/L por (d) 1 hora, (e) 4 horas e (f) 24 horas. As barras de escala correspondem a 10µm.

As imagens mostram que as partículas de CaCO_3 após 1 hora e 4 horas de interação com solução de glifosato 1 g/L não sofreram mudanças em sua morfologia, pouco diferindo das imagens da Figura 39. Após 24 horas é possível ver que houve ligeira alteração na aparência das partículas, que formaram agregados. Esse comportamento corrobora com os baixos valores de q_B determinados nestas condições. Já no caso das partículas após interação com solução de glifosato 17 g/L houve mudança drástica na morfologia após 1 hora, um aumento de aproximadamente 10 vezes no tamanho em comparação ao CaCO_3 puro, o qual também foi visto após 4 e 24 horas.

Esses resultados mostram que as partículas que apresentaram mudança morfológica foram aquelas que apresentaram remoção efetiva de glifosato pela quantificação colorimétrica. As imagens do MEV, portanto, são uma confirmação de que em baixas concentrações ocorre pouca ou nenhuma mudança nas partículas e que em altas concentrações ocorre uma reação capaz de alterar a forma cristalina do sólido.

4.5.6.2. Difração de raios-X

A Figura 41 mostra os espectros de difração de raios-X das partículas de carbonato de cálcio após 18 horas de agitação em água e após 1, 4 e 24 horas de interação com solução de glifosato 1 g/L. Estes resultados mostram que todas as partículas são altamente cristalinas e confirmam que não houve mudança na estrutura cristalina da calcita após interação com a água ou com glifosato 1 g/L, uma vez que todos os picos correspondem aos picos de difração de CaCO_3 calcita (JCPDS 47-1743 – Apêndice B).

Figura 41: Difratogramas obtidos para partículas de carbonato de cálcio após 18 horas de agitação em água e após 1, 4 e 24 horas de interação com solução de glifosato 1 g/L.

Por outro lado, a Figura 42, que mostra o difratograma das partículas após interação com solução de glifosato 17 g/L, evidencia mudança na estrutura cristalina das partículas. Os espectros após 4 e 24 horas são iguais ao espectro após 1 hora, o que mostra que a mudança na estrutura ocorre no começo da adsorção. As mudanças morfológicas e de hábito cristalino nestas condições indicam que não só houve adsorção, mas também houve alguma reação química entre o glifosato e o CaCO_3 . A primeira hipótese levantada foi uma possível decomposição do glifosato, com geração de fosfato e a troca do ligante carbonato pelo fosfato. Entretanto, o padrão cristalino de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (Apêndice C) é bem diferente dos observados após adsorção (Figura 42).

Figura 42: Difratomogramas obtidos para partículas de carbonato de cálcio após 18 horas de agitação em água, após 1, 4 e 24 horas de interação com solução de glifosato 17 g/L e difratograma padrão de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

Outra hipótese levantada para explicar a mudança observada no hábito cristalino dos sólidos é a formação de um complexo entre os íons cálcio e o glifosato. É sabido que o glifosato forma complexos com Cobre (II), devido aos grupos complexantes presentes em sua estrutura

(carboxilato, fosfonato e amina) (COUTINHO & MAZO, 2005). As soluções de glifosato 1 g/L e 17 g/L, com as quais foram realizadas as reações de adsorção, possuem pH = 4,5, o qual pode favorecer a dissolução parcial do CaCO_3 , liberando os íons Ca^{2+} para interagirem com as duas cargas negativas presentes no glifosato nesse pH.

Figura 43: Equilíbrios e constantes de dissociação da molécula de glifosato

Subramaniam & Hoggard (1988) estudaram a formação do complexo de glifosato com cálcio a partir da reação do ativo herbicida com CaCl_2 na razão molar 1:1. O complexo $\text{Ca}(\text{HL}).2,25\text{H}_2\text{O}$ formado (em que L representa o ligante glifosato e H indica que um dos três sítios complexantes permanece protonado) pode ser detectado por Infravermelho, onde deslocamentos nas frequências de absorção dos grupos CO_2 , NH_2 e PO_3 denotam a coordenação dos respectivos íons.

A adsorção realizada com solução de glifosato 1 g/L possuía razão molar entre glifosato e cálcio de 5:1, enquanto que na adsorção utilizando solução de glifosato 17 g/L essa razão era de aproximadamente 1:3. Isso explica por que no primeiro caso não foi vista mudança na morfologia do sólido, pois pouco glifosato se encontrava presente para realizar a complexação. Já no segundo

caso, o glifosato em excesso permitiu que todo o cálcio fosse consumido na complexação, gerando uma estrutura cristalina totalmente nova.

Estudos de espectroscopia no Infravermelho e espectrometria de massas serão realizados a fim de comprovar a formação desse novo sólido cristalino.

5. CONCLUSÕES

A cera epicuticular da folha de soja apresentou forte interação com os tensoativos, sendo maior para aquele com a maior concentração micelar crítica. Os dados de ângulo avanço, histerese do ângulo de contato e trabalho de adesão e as imagens MEV evidenciaram a solubilização da cera pelos tensoativos. As folhas de gramínea são menos hidrofóbicas devido à ausência de microestruturas de cera e, portanto, naturalmente mais suscetíveis à absorção das formulações de herbicida, indicando que estas devem conter o mínimo possível de surfactantes, os quais devem ser neutros e possuir cadeia longa para que a cmc seja mais baixa. Dessa forma garante-se a eficiência contra o crescimento de ervas daninhas sem prejudicar a integridade da estrutura de cera nas folhas da soja.

Do ponto de vista da proteção contra patógenos, os compostos químicos presentes na cera não mostraram efeito antimicrobiano contra bactérias Gram negativa e Gram positiva, evidenciando que a proteção é devida principalmente ao arranjo tridimensional das plaquetas de cera sobre a superfície. Portanto, qualquer dano à estrutura da cera epicuticular prejudica a defesa física da folha, sendo mais um motivo para a utilização do mínimo possível de surfactantes nas formulações de herbicidas.

O glifosato mostrou grande afinidade pelo CaCO_3 , proporcionando mais do que uma adsorção, que por sua vez mostrou-se bastante favorável. É plausível a hipótese de que os dois componentes reajam formando uma espécie cristalina diferente da calcita. Essa nova espécie, evidenciada pelas imagens de microscopia e pelos difratogramas de raios-X, é estável e a reação não pode ser revertida. A formação de um complexo de glifosato com o íon cálcio é uma provável explicação, devido aos sítios complexantes presentes na molécula de glifosato, os quais conhecidamente formam complexos insolúveis com outros cátions. Essa forte afinidade entre os dois componentes torna inviável a utilização do carbonato como adsorvente de glifosato para

posterior liberação no solo, mas origina a possibilidade de aplicação do CaCO_3 como pré-concentrador de glifosato no tratamento de águas contaminadas.

REFERÊNCIAS

- ABREU, K. *Contribuição da soja no PIB brasileiro e seu vínculo com o Japão*. 2015. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/politica-agricola/noticias/2015/07/contribuicao-da-soja-no-pib-brasileiro-e-seu-vinculo-com-o-japao>> 26/07> Acesso em: 10/10/2016
- ALVES FILHO, J. P. *Uso de agrotóxicos no Brasil: controle social e interesses corporativos*. Annablume, Fapesp: São Paulo, 2002.
- AZEVEDO, F. R.; FREIRE, F.C. O. *Tecnologia da aplicação de defensivos agrícolas*. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 102).
- BARTHLOTT, W., NEINHUIS, C., CUTLER, D., DITSCH, F., MEUSEL, I., THEISEN, I., WILHELMI, H. *Classification and terminology of plant epicuticular waxes*. Botanical Journal of the Linnean Society (1998), 126: 237-260.
- BERGMAYER, H.U. in: Bergmeyer, H.U., Bergmeyer, J., Grals, M. (Eds.), 1984. *Methods of Enzymatic Analysis*, vol. 2, 3rd ed., Verlag Chemie, Weinheim, pp. 190–195.
- BLACHECHEN, L. S., FARDIM, P., PETRI, D. F. S. *Multifunctional Cellulose Beads and Their Interaction with Gram Positive Bacteria*. Biomacromolecules 15, 2014, 3440-3448.
- Bouncing droplets: Superhydrophobic and superhydrophilic surfaces*. Disponível em: <<http://ow.ly/sI4i3>> Acesso em: 10/10/2016
- CARMONA-RIBEIRO, A. M. Preparation and characterization of biomimetic nanoparticles for drug deliver. In: *Nanoparticles in biology and medicine*. Humana Press, Surrey, 2012
- CARVALHO, L. Bianco. *Herbicidas*. Lages: Editado pelo autor, 2013
- CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. *Análise do PIB das cadeias produtivas de algodão, cana-de-açúcar, soja, pecuária de corte e de leite no Brasil*. Brasília, 2012
- COSTA, A. C. P.; MACÊDO, F. S.; HONCZAR, G. *Agronegócio brasileiro*, 2008
- COUTINHO, C. F. B., MAZO, L. H., *Complexos metálicos com o herbicida glifosato: revisão*. Química Nova, Vol. 28, No. 6, 1038-1045, 2005
- CZARNOTA, M.; THOMAS, P. *Using Surfactants, Wetting Agents, and Adjuvants in the Greenhouse*. Boletim 1314, 2013
- Herbicide Formulations and Calculations: Active Ingredient or Acid Equivalent?* Disponível em: <<http://weeds.cropsci.illinois.edu/extension/factsheets/aivsae.pdf>> Acesso em: 10/10/2016
- GALLI, A. J. B.; MONTEZUMA, M. C. *Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura*, ACADCOM, 2005

History of Pesticide Use. Disponível em: <http://agrochemicals.iupac.org/index.php?option=com_sobi2&sobi2Task=sobi2Details&catid=3&sobi2Id=31> Acesso em: 10/10/2016

IGWE, J. C., NWADIRE, F. C., ABIA, A. A. *Kinetics and equilibrium isotherms of pesticides adsorption onto boiler fly ash.* Terrestrial and Aquatic Environmental Toxicology. 2012, 21-29

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. *Boletim de Comercialização de Agrotóxicos e Afins – Histórico de Vendas – 2000 a 2012*, 2012, Brasília, 42p.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. *Vigilância do Câncer Relacionado ao Trabalho ao Ambiente.* Rio de Janeiro, 2006

KNOWELS, D. A. Formulation of agrochemicals. In: *Chemistry and Technology of Agrochemical Formulations.* Springer Netherlands, 1998, Cap. 3

KOCH, K., BHUSHAN, B., BARTHLOTT, W. *Diversity of structure, morphology and wetting of plant surfaces.* Soft Matter, 2008, 4, 1943-1963

LEAL, A. A. X.; HENRIQUES, C. A.; LUNA, A. S. *Validação e estimativa da incerteza do método de determinação de fósforo por espectrofotometria UV-Vis.* Revista Analytica, dez 2007/jan 2008, 32

MENDONÇA, F. *Avaliação dos métodos colorimétrico e espectrométrico (ICP-OES) na determinação de fósforo total em amostras ambientais.* Santo André: Universidade Federal do ABC, 2013

NOSONOVSKY, M., BHUSHAN, B. Superhydrophobic surfaces and emerging applications: Non-adhesion, energy, green engineering. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2009, 270-280

OWENS, D.K., WENDT, R.C., *Estimation of the surface free energy of polymers.* J. Appl. Polym. Sci. 1969, 13, 1741–1747.

Owens, Wendt, Rabel and Kaelble (OWRK) method. Disponível em: <<https://www.kruss.de/services/education-theory/glossary/owens-wendt-rabel-and-kaelble-owrk-method/>> Acesso em: 22/10/2016

PASCHOLATI, S.; CIA, P. *Mecanismos bioquímicos na resistência de plantas às doenças.*

PELAEZ, V.; TERRA, F. H. B.; SILVA, L. R. *A regulamentação dos agrotóxicos no Brasil: entre o poder de mercado e a defesa da saúde e do meio ambiente.* Revista de Economia, Editora UFPR, v. 36, n. 01, p. 27-48, jan./abr. 2010.

PTEIFFER, M. *Glyphosate: Mode of action.* Pesticide Training Resources, Arizona, 2009

RIEDERER, M., MÜLLER, C. *Biology of the Plant Cuticle*, Blackwell Publishing Ltd, Oxford, 2006, UK.

RIEDERER, M., SCHREIBER, L. Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles. *Journal of Experimental Botany*, 2001, Vol. 52, No. 363

ROQUETTI, M. H., TAKEDA, S. H. K., KUNO, R. *Proposta para derivação de critérios para contaminantes ambientais da agricultura*, CETESB, 2010

Séries Históricas de Área Plantada, Produtividade e Produção, Relativas às Safras 1976/77 a 2015/16 de Grãos. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&&Pagina_objcmsconteudos=3#A_objcmsconteudos> Acesso em: 10/10/2016

SANTOS, S., SCHREIBER, L., GRAÇA, J. *Cuticular waxes from Ivy leaves (Hedera helix L.): analysis of high-molecular-weight esters*. *Phytochem. Anal.*, 2007, 18, 60–69

SILVA, A. A.; FERREIRA, F. A.; FERREIRA, L. R. Herbicidas: Classificação e Mecanismo de Ação. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. *Tópicos em Manejo Integrado de Plantas Daninhas*, Editora UFV, 2007, Cap. 3

SILVA, M. F. O., DA COSTA, L.M. *A Indústria de Defensivos Agrícolas*. BNDES Setorial, Nº 35, p. 233-276, 2012

SMIL, V. *Enriching the Earth: Fritz Haber, Carl Bosch, and the Transformation of World Food Production*. London: The MIT Press, 2004, 338

Soja transgênica. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/soja-transgenica>> Acesso em: 20/07

SUBRAMANIAM, V.; HOGGARD, P. E., *Metal Complexes of Glyphosate* J. Agric. Food Chem. 1988, 36, 1326.

TERRA, F. H. B. *A Indústria de Agrotóxicos no Brasil*. 2008. 156f. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Econômico da Universidade Federal do Paraná. Curitiba

UNITED NATIONS. Department of Economic and Social Affairs - Population Division. *World Population to 2300*, New York, 2004

VALESCO, L. O. M.; CAPANEMA, L. X. L. *O Setor de Agroquímicos*. BNDES Setorial, Nº 24, p. 69-96, 2006

VARGAS, L.; ROMAN, E. S. *Conceitos e aplicações dos adjuvantes*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2006. (Embrapa Trigo. Documentos Online, 56).

VARGAS, L.; ROMAN, E. S. *Manejo e controle de plantas daninhas na cultura de soja*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2006. (Embrapa Trigo. Documentos Online, 62)

WELLER, S. Principles of selective weed control with herbicides. In: *Herbicide action course*. West Lafayette: Purdue University, 2003a. p. 101-130.

YUAN, Y., LEE, T. R. Contact Angle and Wetting Properties. In: G. BRACCO, B. HOLST (Eds.), *Surface Science Techniques*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2013

**APÊNDICE A – DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MICELAR CRÍTICA DO
TENSOATIVO USADO EM FORMULAÇÕES COMERCIAIS**

Tabela 17: Valores de tensão superficial (10^{-3} J m^{-2}) das soluções de TF em diferentes concentrações.

Concentração (% v/v)	Tensão superficial (10^{-3} J m^{-2})
0,00002	$58,92 \pm 0,08$
0,0002	$59,4 \pm 0,1$
0,002	$48,36 \pm 0,08$
0,02	$38,65 \pm 0,06$
0,2	$27,98 \pm 0,02$
2	$28,05 \pm 0,01$
20	$28,12 \pm 0,03$

Figura 44: Variação da tensão superficial das soluções de TF em função da concentração.

APÊNDICE B – DIFRATOGRAMA PADRÃO CALCITA JCPDS 47-1743

Figura 45: Difratoograma padrão calcita JCPDS 47-1743

APÊNCIDE C - DIFRATOGRAMA PADRÃO DO FOSFATO DE CÁLCIO JCPDS 29-359

Figura 46: Difratoograma padrão do fosfato de cálcio JCPDS 29-359

SÚMULA CURRICULAR

DADOS PESSOAIS

Nome: Tatiana Cardoso D'Amato

Local e data de nascimento: 27/04/1991, São Paulo, SP

EDUCAÇÃO

Colégio Franciscano Nossa Senhora Aparecida, São Paulo, SP, 2008

Universidade de São Paulo, Instituto de Química, São Paulo, SP, 2014

Bacharelado em Química

OCUPAÇÃO

Aluna de Iniciação Científica na área de Nanotecnologia de agosto/2011 a julho/2013 em laboratório de pesquisa do Instituto de Química da USP-SP.

Bolsista CNPq/PIBIC de agosto/2012 a julho/2013.

ATIVIDADES PROFISSIONAIS

- Apresentação de pôster no 21º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP.
- Apresentação de pôster nas 35ª, 36ª e 39ª edições da Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.
- Apresentação oral na 39ª edição da Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.
- Apresentação oral no IV Workshop do Mestrado Profissional do IQ-USP
- Monitora na 3ª Escola de Verão em Colóides e Superfícies do IQ-USP
- Primeira autora do artigo *A Facile Approach to TiO₂ Colloidal Spheres Decorated with Au Nanoparticles Displaying Well-Defined Sizes and Uniform Dispersion*. Langmuir, 2013, 29, 1642–1649
- Primeira autora do artigo *The interactions between surfactants and the epicuticular wax on soybean or weed leaves: Maximal crop protection with minimal wax solubilization*. Crop Protection, 2017, 91, 57-65.
- Coautora do artigo *Size Dependence of Ultrafast Charge Dynamics in Monodisperse Au Nanoparticles Supported on TiO₂ Colloidal Spheres*. Physical Chemistry Chemical Physics, 2014, 16, 14189
- Curso de Introdução à Tecnologia da Borracha - 16h - Modulus Consultoria - Realizado em agosto/2014