II Simpósio de Pesquisa do Ecossistema Ânima:

**Juntos pelo Conhecimento: um novo saber cria um novo amanhã**

**ELIMINAÇÃO DE GLIFOSATO DE MORANGO IN NATURA UTILIZANDO A TECNOLOGIA DO PLASMA NÃO TÉRMICO (PNT)**

Andreza de Souza Alves Rosa1; Gabriel de Abreu Pinto1; Drª Anelise Leal Vieira Cubas2

1 Estudantes

2 Orientadora

**RESUMO:**

Estudos tem mostrado que a Água Ativada por plasma (PAW) oferece vantagens para degradação de agrotóxicos de alimentos in natura, se destacam benefícios como a sua simples produção e aplicação, bem como sua aptidão para armazenamento, este estudo busca comprovar a eficiência dessa forma de degradação de agrotóxico de morangos. Durante a investigação, soluções contendo glifosato foram expostas a descarga de plasma não térmico utilizando ar atmosférico como gás plasmogênico em tempos de 5, 15 e 45 min em amostras contendo glifosato. Após o tratamento verificou-se diminuição na concentração de glifosato, que foi derivada principalmente da degradação da molécula nas ligações entre carbono e nitrogênio e carbono e fósforo. Além disso, houve diminuição na condutividade elétrica e pH.

1. **INTRODUÇÃO:**

O aumento na produção de *commodities* agrícolas tem ocorrido, entre outros aspectos, através do uso massivo de agrotóxicos, segundo a *Food and Agriculture Organization of the United* Nations (FAO), em 2018 o Brasil foi o maior importador de agrotóxicos do globo, o 3º maior consumidor em volume e o 25º país que mais consumiu agrotóxicos por hectare plantado( FAO, 2021). Seguindo tendência mundial, o ingrediente ativo mais utilizado no país é o glifosato [N-(fosfonometil) glicina], CAS nº 1071-83-6, que é empregado como base na produção de 116 rótulos de agrotóxicos e possui aplicação autorizada em 48 tipos de lavouras (ANVISA, 2021; MAPA, 2021).

O glifosato é um herbicida sistêmico, pós-emergente e não seletivo que faz parte do grupo químico dos aminoácidos fosfonados e como seu precursor, a Glicina, apresenta comportamento zwiteriônico, ou seja, com separação de duas cargas em pH neutro, uma negativa através do grupo fosfonato e outra positiva, através do grupo amino (figura 1)(DE AMARANTE JUNIOR et al., 2002). Em 2019 foram aplicadas 620.537,98 toneladas de pesticidas nas lavouras nacionais, das quais o volume de glifosato corresponde a 35,06% do total, ou seja, 217.592,24 toneladas. Entre 2009 e 2019 o consumo de glifosato nas lavouras do país aumentou 83,65%(IBAMA, 2021).

Estudos apresentados pela International Agency for Research on Cancer (IARC), ligada à Organização Mundial da Saúde (OMS), relacionam a exposição ao glifosato a danos à saúde, ao meio ambiente e o classificam como provável cancerígeno humano(IARC, 2021). Atrelado ao aumento do consumo de pesticidas, os problemas ambientais multiplicam-se. O enorme potencial de contaminação ambiental característico dos agrotóxicos não se restringe às áreas limítrofes às lavouras (MOREIRA et al., 2012). Devido às suas características, os recursos hídricos apresentam grande fragilidade diante do potencial poluidor dos pesticidas (MEKONEN et al., 2016).

Os morangos são frutos que tem comportamento pós-colheita não climatérico e são altamente perecíveis, estudos tem relatado que sua vida útil está entre 1 e 3 dias (I. Saleh & Al-Thani, 2019), perdas por deterioração de morango podem chegar a 40% (Luksiene, & Brovko, 2013). Seus tecidos muito macios e facilmente danificáveis, possuem elevada suscetibilidade ao ataque de pragas na lavoura e de bactérias e fungos na pós colheita levando não apenas à deterioração visível de amostras frescas, mas também à contaminação de sucos e geleias de morango com níveis de micotoxinas além do permitido (Fernández-Cruz et al. , 2010). O ataque por fungos causam apodrecimento dos frutos e severas perdas pós-colheita, isto é mais acentuado quando o fruto vem de cultivos orgânicos, o que leva muitos produtores a adotar o cultivo convencional com práticas inadequadas como uso excessivo de agrotóxicos com a justificativa de viabilizar a produção e aumentar o tempo de prateleira pós-colheita (Feliziani & Romanazzi, 2016).

Atualmente os consumidores tem apresentado certa resistência em consumir produtos com agrotóxicos, e cada vez mais tem sido desenvolvidas técnicas ambientalmente corretas, como o uso de agentes de controle biológico naturais e métodos de controle físico eficientes como controle de atmosfera com ozônio entre outros (I. Saleh & Goktepe, 2019, Díaz et al., 2020). Porém para viabilizar o cultivode grandes hectares com menores perdas e em tempo curto, o uso de agrotóxico ainda é a técnica mais utilizada, pois evita o desperdício do alimento na lavoura e prolonga a sua vida de prateleira a custo relativamente baixo (Garnier et. al.2017).

A tecnologia do plasma frio tem sido testada com sucesso na degradação de agrotóxicos em frutas e vegetais in natura, a maioria dos estudos tem se concentrado em produtos frescos destinados ao consumo cru, como uvas (Zengh et al. 2019), manga (Phan et al. 2018), tangerina (Sawangrat et al. 2019), morango (Misra et al. 2014) entre outros, pois a natureza desses alimentos e a demanda por alimentos in natura e minimamente processados requerem tecnologias de tratamento não térmico, que seja eficiente na eliminação do agrotóxico, com o mínimo impacto na qualidade do produto (BAIER ET AL., 2013; PANKAJ ET AL., 2014).

Estudos mostram que a tecnologia de plasma não térmico para degradação de agrotóxicos em frutas e vegetais é uma alternativa eficiente, de baixo custo (baixo consumo de energia) e capaz de aumentar consideravelmente o tempo de prateleira (Zangh et al. 2018),substituindo os sanitizantes químicos tradicionais amplamente utilizados na indústria de alimentos que vem causando preocupações com a saúde pública quanto ao risco de formação de compostos orgânicos cancerígenos(Meireles et al., 2016).

A forma de degradação de pesticidas de alimentos por plasma que vem sendo usada com sucesso é a aplicação de água ativada por plasma (PAW) em alimentos in natura, estudos mostram a eficiência da degradação de agrotóxicos por PAW em alimentos (Guo et al. 2021). A PAW apresenta propriedades antimicrobianas que persistem por longos períodos de tempo (Shen et al., 2016), apresenta compostos de ROS e RNS, incluindo radicais hidroxila, oxigênio singlete, ânion superóxido, peróxido de hidrogênio, bem como óxido nítrico e seus derivados (Shen et al., 2016, Khan e Kim, 2019, Tarabova et al., 2019, Xiang et al., 2020). Também foi verificado aumento da condutividade elétrica e potencial de oxidação-redução, e reduz seu pH, para valores próximos de 3 (Ma et al., 2015, Guo et al. , 2017, Joshi et al., 2018, Qian et al., 2019, Frías et al., 2020,).

Nesse estudo pretendemos mostrar a eficiência da degradação de do agrotóxico glifosato de amostras de morango in natura por plasma não térmico, utilizando a PAW.

**PALAVRAS-CHAVE:**

Plasma não térmico, agrotóxicos, morangos.

1. **MÉTODO:**

O tipo de estudo adotado nesta pesquisa é do tipo experimental/exploratório pois envolve experimentos em bancada e a observação dos efeitos da aplicação do plasma não térmico em amostras de alimentos contaminados com glifosato. Os ensaios serão realizados no Laboratório de Microbiologia e no Laboratório em Plasma da Universidade do Sul da Santa Catarina, campus Pedra Branca.

**2.1 Preparação das amostras contendo glifosato**

O glifosato foi adquirido no comércio local sob o rótulo de Roundup® e de acordo com a bula do produto, cada litro de Roundup® contêm 480 gramas do ingrediente ativo, o sal de isopropilamina de N-(fosfonometil) glicina. Com o objetivo de avaliar o comportamento do PNT em amostras com concentrações de glifosato encontradas em ensaios realizados na água de abastecimento público no país e considerando o limite de glifosato estabelecido pela legislação. As amostras foram preparadas com concentrações de glifosato de 100 μg/L, 500 μg/L e 1000 μg/L.

**2.2 Reator de plasma**

O Reator de plasma ( figura 1)com eletrodos de aço inox, vidro borosilicato com capacidade para trabalhar com até 500 mL de amostra por batelada foi conectado a uma fonte de alta tensão acoplada a um transformador com entrada de 220 V, 60Hz e saída de 17 kV e 30 mA com potência máxima de 500W.



Figura 1: desenho esquemático – A: reator para sólidos; B: reator para líquidos (produção de água ativada por plasma)

* 1. **Condições experimentais**

Os experimentos foram realizados em triplicata, os morangos in natura foram mergulhadas em solução de glifosato em diferentes concentrações durante 2 minutos. Após a contaminação do alimento com o herbicida, o mesmo será submetido mergulhado na água ativada por plasma.

**2.4 Ensaios físico-químicos**

As análises de concentração foram realizadas através de HPLC onde uma alíquota de 200 μL foi injetada em uma coluna de troca catiônica. A separação foi conseguida usando uma eluição isocrática. Após eluição da coluna analítica a 65°C, o analito foi oxidado com hipoclorito de cálcio. O produto (glicina) foi então acoplado ao complexo o-ftalaldeído-2-mercaptoetanol a 38°C para dar um fluoróforo, que foi detectado por um fluorômetro com excitação a 340 nm e detecção de emissão medida a 455 nm.

As análises de pH foram realizadas por meio de pHmetro da marca Hanna, modelo Edge, utilizando alíquotas de 50ml. Os tampões utilizados para calibrar o equipamento eram da marca Êxodo Científica.

As análises de condutividade elétrica foram realizadas através de condutivímetro marca Marte Científica, modelo OneSense Cond2500 utilizando alíquotas de 50ml de amostra. A solução padrão de condutividade utilizada para calibrar o equipamento foi da marca Êxodo Científica.

1. **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

**Concentração**

Após realização dos ensaios foi verificado que a amostra preparada utilizado agrotóxico a base de glifosato continha 6,557 ± 0,00 do ingrediente ativo. Após o tratamento utilizando o PNT a concentração de glifosato determinada foi de 5,401 ± 0,123 , 5,017 ± 0,242 e 4,709 ± 0, 317 , resultando em reduções de 17,63% ± 1,88%, 23,49% ± 3,70% e 28,19% ± 4,84% nos tempos de 5, 15 e 45 minutos (fig. 3)

Fig. 3 – Degradação na concentração de glifosato

Fonte: Autor, (2022)

Após expor solo contaminado com glifosato à descarga de plasma de barreira dielétrica utilizando corrente alternada e ar como gás plasmogênico, WANG, *et al.*, (2016) relataram a degradação do ingrediente ativo. ZOCHER *et al.*, (2021) também obtiveram resultados positivos quanto à degradação de glifosato, contudo, os autores expuseram amostras aquosas contendo glifosato à descarga elétrica. Além desse autores, FOUODJOUO *et al.*, (2015) demonstraram que a degradação do glifosato dissolvido em água era possível com um plasma de arco deslizante.

Apesar de exporem o glifosato a técnicas particulares de descarga de plasma não térmico, os autores concluíram que as ligações afetadas pelas espécies reativas formadas no interior do reator foram as ligações formadas entre carbono e nitrogênio e carbono e fósforo (fig. 4).

Fig.4 – Ligações mais afetadas pelas espécies reativas formadas pela descarga de PNT

Desenho de uma pessoa

Descrição gerada automaticamente com confiança média

Fonte: Autor, (2022)

Os autores relatam que de todas as espécies reativas formadas pela descarga de PNT, os radicais hidroxila () e óxido de nitrogênio (), o peróxido de hidrogênio () e o ozônio (), que são formadas devido à colisão de elétrons energeticamente carregados com átomos e moléculas do gás plasmogênico, foram as responsáveis por efetivamente romper as ligações entre os átomos e degradar do glifosato.

Wang, T. *et al.*, (2016) relataram que a quebra da molécula de glifosato nas ligações C-N e C-P resultou na formação de ácido aminometilfosfônico (AMPA), glicina, ácido fórmico e ácido acético, acompanhados da liberação de fosfatos e nitratos. Fouodjouo *et al.*, (2015) e Zocher *et al.*, (2021) obtiveram resultado semelhante ao encontrado por Wang, T. *et al.*, (2016) e relataram que a quebra da molécula de glifosato nessas ligações resultou no incremento na concentração de ortofosfatos, fato que utilizaram como subsídio para concluir que houve degradação do ingrediente ativo após a exposição ao plasma não térmico.

**Condutividade elétrica**

A condutividade elétrica (CE) determinada na amostras bruta e após tratamento de PNT de 5 minutos, 15 minutos e 45 minutos foram de 47,40 ± 0,21 , 117,43 ± 21,08 , 269,33 ± 25,53 e 808,00 ± 32,26 , o que representa um aumento de 147,75% ± 46,16%, 468,21% ± 47,53%, e 1.604,64% ± 68,06% (fig. 5).

Fig. 5 – Aumento da CE

Fonte: Autor, (2022)

Após a exposição ao tratamento com PNT foi observada relação entre o tempo de exposição e a CE. Quanto maior o tempo de tratamento, maior a CE da amostra. Diversos autores testemunharam esta tendência como FERREIRA; WHEELER; MOECKE, (2021), CHANDANA *et al.*, (2018), NAZ *et al.*, (2021), ALI; CHENG; SUN, (2021) e THAN *et al.*,(2022) que relataram aumento na quantidade de íons presentes nas amostras investigadas.

A condutividade elétrica é uma característica que pode ser definida pela capacidade que um material ou solução possui em conduzir cargas elétricas por intermédio dos íons presentes. O incremento da condutividade elétrica na solução contendo glifosato é derivado principalmente da capacidade do PNT de gerar espécies reativas através da descarga. A formação dessas espécies guarda relação direta com o gás plasmogênico empregado no tratamento além dos compostos presentes nas amostras expostas à descarga elétrica (ZEGHIOUD *et al.*, 2020). Ao utilizar o ar atmosférico, que é constituído basicamente por oxigênio e nitrogênio, as espécies reativas formadas no interior do reator são derivadas desses elementos (eqs. 19 a 26) formando íons como por exemplo nitratos, nitritos, peroxinitritos, hidrônio e óxido nitroso, além de haver concentração de produtos da degradação do glifosato, como os íons fosfato resultando no aumento da condutividade (CHANDANA *et al.*, 2018), (ADHIKARI *et al.*, 2021), (GHIMIRE *et al.*, 2021).

**pH**

A potencial hidrogeniônico (pH) de todas as amostras, inclusive da bruta, ficaram acima do limite de quantificação (LQ=1,00) e abaixo do limite de quantificação (LQ=4,00) (SMWW, 2017a). Na amostra bruta o pH foi de 3,96 ± 0,04 e nas amostras após o tratamento de 5, 15 e 45 min o pH mensurado foi de 3,28 ± 0,05, 2,85 ± 0,07 e 2,26 ± 0,12 (fig. 6).

Fig. 6 – Variação do pH

Fonte: Autor, (2022)

A diminuição do pH das amostras é uma das características da aplicação de PNT utilizando ar atmosférico como gás plasmogênico, gerando diversas espécies reativas que contribuem com a diminuição (eq. 19 a 26). Entretanto, a redução do pH está principalmente relacionada com a formação de ácido nítrico e nitroso (eq. 19). GIARDINA *et al.*, (2019), GHIMIRE *et al.*, (2021) e MAGUREANU *et al.*, (2021) relataram a diminuição do pH das amostras expostas ao tratamento com PNT devido à formação de espécies reativas derivadas de nitrogênio e oxigênio. SILVA, (2017) relatou que dentre todas as espécies formadas pela descarga elétrica em reator preenchido com ar atmosférico, as espécies reativas de nitrogênio, como nitratos e nitritos, foram as espécies que mais contribuíram para a acidificação das amostras, seguidas das espécies reativas formadas por oxigênio, como ozônio e oxigênio atômico.

Autores como GONG *et al.*, (2020) e HU *et al.*, (2018) relatam que a variedade de espécies reativas formadas pela descarga elétrica sofrem influência direta do pH das amostras. Valores de pH baixo são mais propícios à formação de radicais hidroxilas. SINGH; PHILIP; RAMANUJAM, (2017) variaram o pH entre 4 e 9 e relataram que a concentração máxima desses radicais foi alcançada em amostras com pH 4. Os autores atribuíram a maior produção de radicais hidroxila em condições ácidas devido ao aumento da produção de radicais hidrogênio, que reagem com água do meio e com peróxidos de hidrogênio formados.

**CONCLUSÕES:**

O Plasma não térmico provou ser eficaz na quebra do glifosato em solução aquosa e pode ser visto como uma técnica alternativa aos métodos convencionais de tratamento de água para degradar glifosato. O processo de quebra do glifosato envolveu radicais de hidrogênio e oxigênio, como hidroxila, óxido de nitrogênio, peróxido de hidrogênio e ozônio. A principal decomposição foi nas ligações entre os átomos de carbono e nitrogênio e entre carbono e fósforo.

Adicionalmente, houve um aumento na condutividade elétrica, devido ao crescimento de íons na solução oriundos da decomposição da molécula principal e à criação de várias espécies reativas no reator. O pH das amostras diminuiu após o tratamento com plasma não térmico, influenciado por compostos secundários da decomposição do glifosato, como ácidos acético e fórmico e radicais de hidrogênio. Também se observou uma diminuição na saturação de oxigênio dissolvido, resultante de sua interação com radicais formados pelo plasma, principalmente os derivados de hidrogênio e nitrogênio, que geram hidroxilas e óxidos de nitrogênio como nitratos e nitritos.

**REFERÊNCIAS:**

* De Amarante Junior, O. P. DE et al. Glifosato: Propriedades, toxicidade, usos e legislação.**Quimica Nova**, v. 25, n. 4, p. 589–593, 2002. ABNT.
* Anvisa. Monografias autorizadas. Disponível em: . Acesso em: 6 maio. 2021.
* Baier, M., Foerster, J., Schnabel, U., Knorr, D., Ehlbeck, J., Herppich, W. B., & Schlüter, O. Direct non-thermal plasma treatment for the sanitation of fresh corn salad leaves: Evaluation of physical and physiological effects and antimicrobial efficacy. Postharvest Biology and Technology, 84, 81–87, 2013.
* FAO. Pesticides Trade. Disponível em: . Acesso em: 6 maio. 2021.
* I.Joshi,D.Salvi,D.W.Schaffner,M.V.Karwe.**Characterization of microbial inactivation using plasma-activated water and plasma-activated acidified buffer.**Journal of Food Protection,81(9)(2018), pp.1472-1480,[10.4315/0362-028X.JFP-17-487](https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-487)
* E.Frías,Y.Iglesias,A.Alvarez-Ordóñez,M.Prieto,M.Gonzalez- Raurich,M.Lopez
* E. Feliziani, G. Romanazzi. Postharvest decay of strawberry fruit: Etiology, epidemiology, and disease management. Journal of Berry Research (2016).
* Khanh Thi Kim Phan, Huan Tai Phan, Dheerawan Boonyawan, Pilairuk Intipunya, Charles S. Brennan, Joe M. Regenstein, Yuthana Phimolsiripol, Non-thermal plasma for elimination of pesticide residues in mango, Innovative Food Science & Emerging Technologies, Volume 48, 2018, Pages 164-171, ISSN 1466-8564, https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.06.009.
* L. Garnier, F. Valence, J. Mounier. Diversity and control of spoilage fungi in dairy products: An update. Microorganisms, 5 (3) (2017), p. 42.
* M.L. Fernández-Cruz, M.L. Mansilla, J.L. Tadeo. Mycotoxins in fruits and their processed products: Analysis, occurrence and health implications. Journal of Advanced Research, 1 (2) (2010), pp. 113-122.
* J.Qian,H.Zhuang,M.M.Nasiru,U.Muhammad,J.Zhang,W.Yan.**Action of plasma-activated lactic acid on the inactivation of inoculated***Salmonella***Enteritidis and quality of beef.**Innovative Food Science and Emerging Technologies,57(2019), Article102196,[10.1016/j.ifset.2019.102196](https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102196).
* PANKAJ, S. K., BUENO-FERRER, C., MISRA, N. N., MILOSAVLJEVIC &769;, V., O’DONNELL, C. P., BOURKE, P., ... Cullen, P. J. Applications of cold plasma technology in food packaging. Trends in Food Science & Technology, 35(1), 5–17. 2014.
* IARC. IARC Monograph on Glyphosate. Disponível em: . Acesso em: 6 maio. 2021.
* Luksiene, Z., Buchovec, I., & Viskelis, P. (2013). Impact of high-power pulsed light on microbial contamination, health promoting components and shelf life of strawberries. Food Technology and Biotechnology, 51, 284.

**FOMENTO**

O trabalho teve a concessão de Bolsa pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Tecnológica e Inovação (PIBITI), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). O trabalho também contou com recursos externos oriundos de projeto do programa CELESC-ANEEL de P&D-0395-002/2006 - A utilização da nitretação a plasma como processo anticorrosivo em superfícies metálicas.