

Estudos dos parâmetros analíticos para determinação de picloram em águas empregando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em duas colunas cromatográficas (C18 e C18 monolítica)

Studies of analytical parameters for the determination of picloram in water using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) in two chromatographic columns (C18 and C18 monolithic)

Prícilia Santos Pereira Gomes^{1*}, Luciana Bagdeve de Oliveira dos Santos²

¹Universidade Federal de Sergipe (UFS), Programa de Pós-Graduação em Química, Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Departamento de Química, Cidade Universitária "Prof. José Aloísio de Campos, s/n, Jardim Rosa Elze, São Cristóvão-SE.

*priciliagomes13@gmail.com

²Universidade Estadual de Feira de Santana, Departamento de Ciências Exatas e da Terra, Av. Transnordestina, s/n, Novo Horizonte, Feira de Santana-BA.

Resumo

O picloram é um herbicida organoclorado, utilizado no controle de ervas daninhas em várias culturas e apresenta alta persistência em solos (90 dias) e águas (2,6 dias [18,19]). O objetivo deste trabalho foi determinar o picloram em águas naturais usando CLAE com colunas C18 e C18monolítica, avaliar a recuperação do pesticida com os métodos desenvolvidos e compará-los. Para a coluna C18, a melhor condição de fase móvel utilizada foi 60:40 de acetonitrila(ACN)/ácido fosfórico 0,1%, resultando em Tempo de Retenção(T_R)=3,21min e volume de solvente gasto V_{ACN} =2,31mL. Para a C18monolítica a melhor condição de fase móvel foi 40:60 acetonitrila/ácido fosfórico 0,1%, resultando em T_R = 1,68min e volume de solvente gasto por análise= 0,80mL de ACN. Os métodos apresentaram precisão de 2,3% para 0,1 mg L⁻¹ de picloram e são estatisticamente equivalentes (teste t de student, para 95% de confiança). As curvas analíticas obtidas $y=(120923\pm351)(\text{mg L}^{-1})C+(13437\pm6117)$, $R^2 = 0,9999$, faixa linear 0,1-50,0mg L⁻¹ e $y=(116008\pm774)(\text{mg L}^{-1})C+(-2383\pm14212)$, $R^2 = 0,9996$, faixa linear 0,05-50,0mg L⁻¹ para os métodos empregando C18 e C18monolíticas, respectivamente, com limites de detecção 0,01 e 0,05mg L⁻¹. Entretanto, a coluna monolítica oferece vantagens em relação à convencional, com menores T_R , quantidades de solvente orgânico e maior faixa linear de trabalho.

Palavras-chave: Picloram; HPLC; Águas Naturais; Coluna monolítica;

Abstract

Picloram is an organochlorine herbicide, used to control weeds in various crops and has high persistence in soils (90 days) and waters (2.6 days [18,19]). The objective of this work was to determine picloram in natural waters using HPLC with C18 and C18monolithic columns, to evaluate the recovery of the pesticide with the developed methods and to compare them. For the C18 column, the best mobile phase condition used was 60:40 acetonitrile(ACN)/0.1% phosphoric acid, resulting in Retention Time (RT)=3.21min and volume of solvent spent V_{ACN} =2.31mL. For C18monolytic, the best mobile phase condition was 40:60 acetonitrile/0.1% phosphoric acid, resulting in RT=1.68 min and volume of solvent used for analysis=0.80 ml of ACN. The methods showed 2.3% precision for 0.1 mg L⁻¹ of picloram and are statistically equivalent (student's t-test, for 95% confidence). The analytical curves obtained $y=(120923\pm351)(\text{mgL}^{-1})C+(13437\pm6117)$, $R^2=0.9999$, linear range 0.1-50.0mgL⁻¹ and $y=(116008\pm774)(\text{mgL}^{-1})C+(-2383\pm14212)$, $R^2=0.9999$, linear range 0.05-50.0mgL⁻¹ for methods employing C18 and C18monolithic, respectively, with detection limits 0.01 and 0.05mg L⁻¹. However, the monolithic column offers advantages over the conventional one, with lower RT, quantities of organic solvent and greater linear working range.

Keywords: Picloram; HPLC; Natural waters; Monolithic column

1. Introdução

A água é um dos recursos naturais mais importantes do mundo, mas sua disponibilidade como água potável sofreu/sofre várias modificações devido à ação do homem como, por exemplo, o desmatamento, assoreamento de rios e nascentes e aplicação exacerbada de pesticidas [1]. Os pesticidas além de causar problemas ambientais com a contaminação dos solos, águas, eutrofização, a morte de peixes, entre outros, podem afetar a saúde humana a partir do consumo de água e alimentos contaminados [2-7].

Há ainda outras maneiras de contaminação por agrotóxicos como, por exemplo, os moradores que vivem ao entorno do local de cultivo, “locais atingidos por resíduos de pulverização aérea e trabalhadores expostos” [8]. Alguns autores [8-11] estudaram os casos de intoxicações geradas devido ao uso de agrotóxicos em todas as regiões do Brasil, concluindo que os maiores valores de notificação de casos ocorrem no estado de São Paulo e de óbitos, na região Nordeste, entre homens na faixa de 25 a 44 anos. Várias são as doenças que estão atreladas ao uso de pesticidas como transtornos mentais, depressão, ansiedade, distúrbios respiratórios, além de vários tipos de câncer [12].

Dentre os agrotóxicos empregados no Brasil, os herbicidas são os mais utilizados e, na classe dos organoclorados, temos o herbicida picloram (4-amino-3,5,6-trichloro-2-pyridinecarboxylic acid), um herbicida utilizado sozinho ou associado ao 2,4-D ou 2,4,5-T, para o controle de ervas daninhas em diversas culturas. Esse pesticida (Figura 1) atua como mimetizador de auxinas naturais que são hormônios reguladores de crescimento vegetal, como o ácido indolacético, inibindo a síntese de proteínas, e assim ocasionando a morte da espécie. Devido a sua alta taxa de lixiviação no solo, principalmente em solos com baixo teor de matéria orgânica e pH elevado, [13-16], o picloram também foi encontrado em águas superficiais e subterrâneas [17-18].

O picloram apresenta meia-vida no solo, em média, de aproximadamente 90 dias e na água de 2,6 dias, podendo ser degradado a partir da luz solar e também através da ação de microrganismos [19-20]. Tal característica pode gerar a bioacumulação do pesticida no solo e no ambiente aquático, contaminando flora e fauna, e posteriormente contaminar níveis tróficos superiores, como o ser humano. A exposição direta ou indireta ao herbicida, por longos períodos, “pode causar danos ao sistema nervoso central, perda de peso, diarreia e fraqueza” [21].

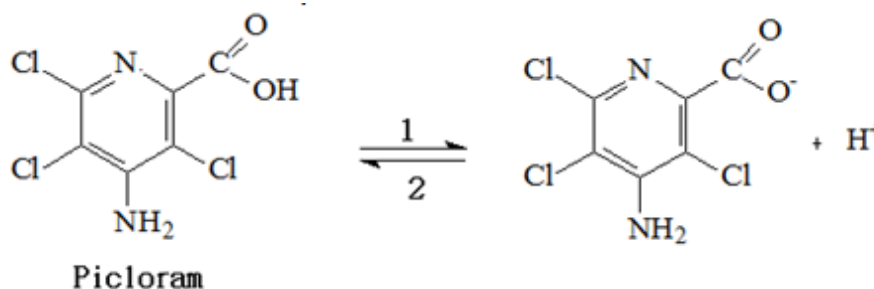


Figura 1: Equilíbrio de ionização do picloram

O herbicida picloram atua similarmente a auxinas naturais das plantas, hormônios reguladores do crescimento vegetal, sua absorção ocorre na forma iônica pelas raízes, caules e folhas, promovendo a divisão celular e alongamento acelerados, ativando o metabolismo [22]. De acordo com Grouver [23], a adsorção de picloram no solo é dependente do pH e há uma diminuição na bioatividade do herbicida para baixos valores de pH. Uma vez que o picloram apresenta $pK_a = 3,4$ [24], abaixo de $pH = 3,4$ esse herbicida, encontra-se prioritariamente em sua forma molecular que não favorece sua absorção pelas plantas e justifica a diminuição da sua bioatividade. Entretanto, em pHs de soluções de solos, que normalmente estão entre 4,5- 8,0 [25] a forma iônica do picloram é favorecida (sentido 1, Figura 1), o que acarreta em baixa adsorção no solo, provavelmente devido a repulsão entre cargas negativas presentes em argilas e o ânion picloram. Esse herbicida é um ácido moderadamente polar e forte, o que confere também baixa adsorção [26]. Solos arenosos e com pequena concentração de matéria orgânica

também dificultam sua adsorção [27], de modo a favorecer a lixiviação do herbicida para rios, lagos, bem como para lençóis freáticos causando sua contaminação [16].

Apesar de técnicas alternativas como Fluorescência [28], Voltametria [29], Voltametria com SIC [30] e Cromatografia Iônica [31], a Cromatografia Gasosa (CG) é empregada para determinar vários pesticidas em matriz aquosa, com prévia extração líquido-líquido. No entanto, atualmente, a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com coluna C18 tem sido a mais empregada na determinação de agrotóxicos, devido às vantagens que a técnica apresenta, comparada com a CG [32]. Como alternativa às colunas C18, utiliza-se colunas C18 monolíticas por apresentarem estrutura interna sólida e altamente porosa composta por macroporos e mesoporos que fornecem altas permeabilidade e eficiência de coluna, sem atingir altas pressões no equipamento [33-34].

Este trabalho teve como proposta o desenvolvimento de métodos para determinar picloram empregando CLAE com as colunas C18 e C18 monolítica, e realizar testes de recuperação do herbicida com os métodos otimizados em amostras de águas naturais de Feira de Santana-BA.

2. Materiais e Métodos

2.1. Materiais e reagentes

Todos os experimentos de quantificação do picloram (Pic) foram realizados em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (HPLC) Shimadzu, LC-20AT, com detector espectrofotométrico "Photodiode Array" modelo SPD-M20A e forno de colunas modelo CTO-20A para operar na faixa de temperatura ambiente +10°C a 85°C com precisão de $\pm 0,1^\circ\text{C}$, a uma Coluna HP - Zorbax SB-C18, 4,6 x 150 mm, 3,5 μm e coluna monolítica Phenomenex, Onyx-C18 100 x 4,6 mm. As amostras de águas naturais foram caracterizadas por análises físico-químicas com o equipamento multiparâmetro modelo PCD 650, marca Oakton.

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico (P.A) e todas as soluções de trabalho foram preparadas em água deionizada. A solução estoque de picloram 1000 mg L⁻¹ foi preparada dissolvendo o padrão sólido (Riedel de Haën, pureza $\geq 99\%$, massa molar 215,69 g mol⁻¹) em água deionizada e álcool etílico 98% da marca J.T. Backer. A acetonitrila sigma aldrich, grau HPLC, pureza $\geq 99,9\%$ foi utilizada como solvente nas eluições cromatográficas. As soluções de trabalho foram preparadas diluindo esta solução em água deionizada de modo a obter as concentrações desejadas.

2.2. Coleta e caracterização das amostras de águas

As amostras de águas foram coletadas nas lagoas Grande e do parque da cidade Frei Monteiro. A coleta foi realizada de acordo com o procedimento de amostras simples (coletada de uma única vez) com coleta superficial (profundidade entre 0 e 30 cm) em recipientes de vidro produzidos com borossilicato de boca larga (1,0 L) como estabelece a NBR 9898/1987 e foram caracterizadas in locu com equipamento multiparâmetro para obtenção de dados como pH, resistência, condutividade elétrica, sólidos totais dissolvidos e temperatura.

2.3 Análise cromatográfica para o Picloram

Os resíduos de picloram foram determinados empregando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) a 40° C, em modo de eluição isocrático de análise, utilizando detector UV em comprimento de onda 220 nm e colunas cromatográficas C18 e C18 monolítica. As condições de fluxo e composição da fase móvel foram otimizadas para obtenção da melhor condição de análise. Todas as determinações em águas naturais foram realizadas em triplicata.

2.4 Tratamento dos dados

Os dados foram analisados utilizando os softwares Excel e o origin. Com eles, foram plotados tabelas e figuras importantes para exposição dos resultados.

3. Resultados e Discussão

1.1 Otimização de Metodologia para a determinação de Picloram em Águas Naturais

1.1.1 Estudo do meio para determinação de picloram

Inicialmente, uma solução de picloram $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ em água deionizada foi injetada em uma coluna com fase estacionária C18 e utilizou-se como fase móvel 60:40 Acetonitrila/ água a uma vazão de fase móvel = $1,2 \text{ mL min}^{-1}$, mantendo a temperatura da coluna em 40°C . O herbicida foi determinado na região do ultravioleta em comprimento de onda 220 nm. Os resultados apresentados na Figura 2 mostra o aparecimento de dois picos durante o processo de eluição.

Uma vez que a solução do picloram ($\text{pK}_a=3,4$) foi inicialmente analisada em água deionizada, pode-se sugerir que no equilíbrio, há a coexistência das duas espécies representadas na Figura 1. Para deslocarmos o equilíbrio no sentido 2 (Figura 1), foi adicionado ácido fosfórico de modo que a forma não iônica prevalece majoritariamente.

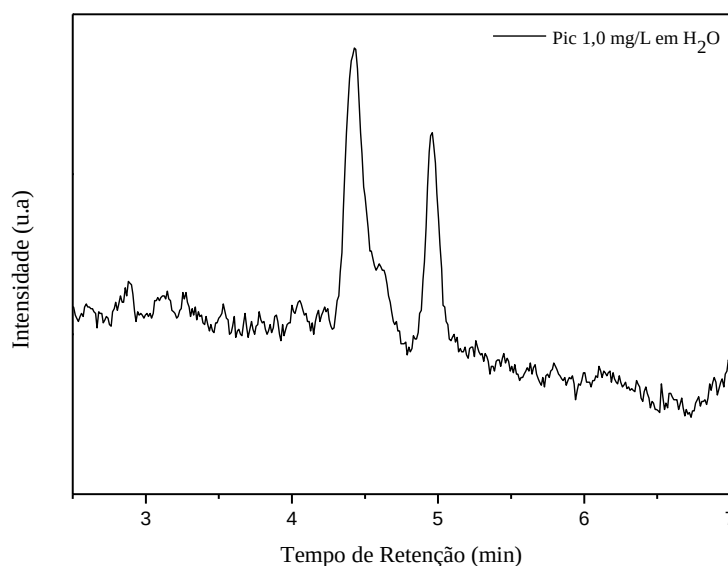


Figura 2: Picloram $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ em água com C18 em fase móvel 60:40 Acetonitrila/ água, Vazão de fase móvel = $1,2 \text{ mL min}^{-1}$, TC = 40°C , comprimento de onda 220nm.

1.1.2 Estudo da proporção de fase móvel para determinação de Picloram em coluna C18

Este estudo visa escolher a proporção de fase móvel para determinação do picloram que apresente melhor compromisso entre quantidade de solvente orgânico utilizado e o tempo de retenção.

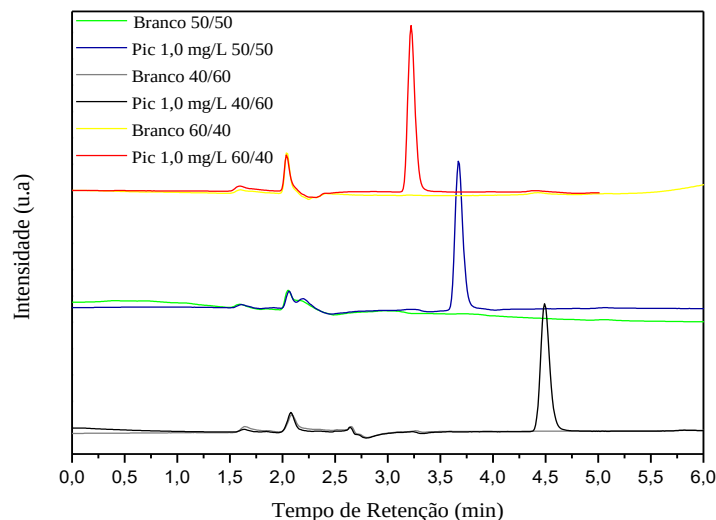


Figura 3: Otimização para determinação de picloram (Pic) (1,0 mg L⁻¹ em H₃PO₄ 0,1 %) com C18 em diferentes proporções de fase móvel Acetonitrila e H₃PO₄ 0,1 %, Vazão de fase móvel = 1,2 mL min⁻¹, TC = 40°C, comprimento de onda 220nm.

A melhor condição de análise deve apresentar boa resolução e separação, além de menores tempos de retenção (T_R) e quantidade de solvente orgânico. Ao analisar a Figura 3, observa-se que a condição 60:40 apresenta menor T_R (3,21 minutos), o que possibilita um número maior de análises por tempo, apesar de a proporção do solvente orgânico ser maior que nas demais condições estudadas, 50:50 (3,67 minutos) e 40:60 (4,49 minutos). Os experimentos foram realizados com vazão de fase móvel correspondente a 1,2 mL min⁻¹ e nos permite calcular a quantidade de fase móvel, para assim conhecer o volume de ACN usado em cada uma das análises, em cada condição, de acordo com a equação (1):

$$Q = \frac{V}{t} \quad \text{equação (1)}$$

Onde Q é a vazão da fase móvel (FM), V é o volume de FM e t é o tempo de corrida.

Dessa forma, foi possível calcular o volume de solvente por análise em cada condição estudada, onde na condição 40:60 foram usados 2,15 mL, em 50:50, o volume de ACN foi de 2,20 mL e em 60:40 foram usados 2,31 mL de ACN; estes volumes representam a quantidade de ACN usada para cada análise de picloram em suas respectivas condições de fase móvel e fluxo a 1,2 mL min⁻¹. Observa-se que os volumes de ACN usados são muito próximos, indicando que dentre as condições analisadas, a que apresenta um melhor compromisso entre quantidade de solvente gasto e tempo de retenção é 60:40 Acetonitrila/ H₃PO₄ 0,1 %, respectivamente.

1.1.3 Estudo da proporção de fase móvel para determinação de Picloram em coluna C18 monolítica

Para a coluna cromatográfica monolítica, em condição 50:50 (ACN/ Ácido fosfórico 0,1%) não foi possível distinguir os picos do picloram e do volume morto, portanto, a fim de deslocar o pico do picloram, foi aumentada a proporção de fase aquosa / solvente orgânico. As condições estudadas foram 40:60, 30:70 e 20:80 de ACN/ Ácido fosfórico 0,1%. Os resultados são observados na Figura 4.

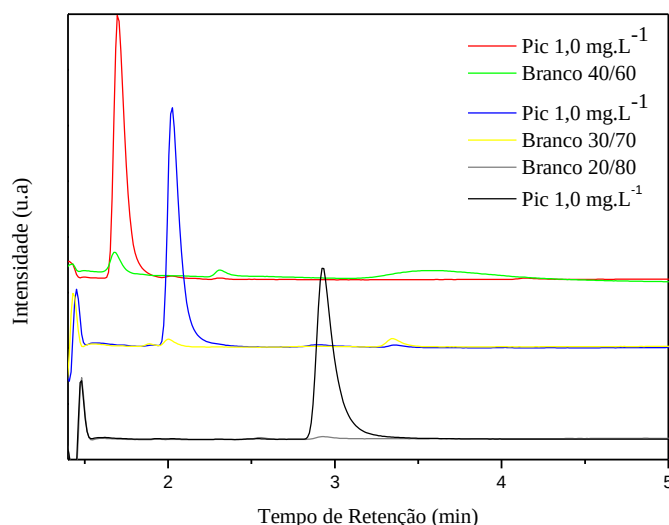


Figura 4: Otimização de separação de picloram (Pic) ($1,0 \text{ mg L}^{-1}$ em H_3PO_4 0,1 %) com C18 monolítica em diferentes proporções de fase móvel Acetonitrila/ H_3PO_4 0,1 %, Vazão de fase móvel = $1,2 \text{ mL min}^{-1}$, TC = 40°C .

Observa-se que nas três condições analisadas tem-se uma boa separação e resolução (Figura 4), no entanto, a condição 40:60 de ACN/ Ácido fosfórico 0,1%, para a coluna C18 monolítica, apresenta menor tempo de retenção (1,68 min). As demais condições estudadas 20:80 ($T_R = 2,92 \text{ min}$.) e 30:70 ($T_R = 2,02 \text{ min}$) apresentaram maiores T_R .

Os volumes de ACN consumidos para cada uma das análises foram 0,70; 0,73 e 0,80 mL para 20:80, 30:70 e 40:60, respectivamente. A condição que utiliza menor volume de solvente por análise é a 20:80, no entanto, os volumes gastos não apresentam diferenças significativas entre si ($0,74 \pm 0,05$). Diante das condições avaliadas, (Figura 4) a condição 40:60 apresenta um melhor resultado devido menor tempo de análise, sendo essa é a condição utilizada para avaliar a recuperação do pesticida em águas naturais.

1.2 Parâmetros Analíticos

Os parâmetros analíticos para o picloram foram obtidos em modo de eluição isocrática em fase móvel 60:40 (ACN/ H_3PO_4 0,1 %) utilizando coluna C18 e 40:60 (ACN/ H_3PO_4 0,1 %) utilizando coluna C18 monolítica.

A curva analítica para o picloram com coluna C18 (Figura 5) foi obtida em vazão de fase móvel = $1,2 \text{ mL min}^{-1}$, TC = 40°C e apresentou faixa linear de trabalho entre 0,1 e 50 mg L^{-1} , ajustando-se à equação $y = (120923 \pm 351) (\text{mg L}^{-1}) C + (13437 \pm 6117)$ e $R^2 = 0,9999$. Já a curva analítica obtida em coluna C18 monolítica, deu origem a equação $y = (116008 \pm 774) (\text{mg L}^{-1}) C + (-2383 \pm 14212)$ com $R^2 = 0,9996$ e faixa linear de trabalho 0,05 e 50 mg L^{-1} (Figura 6).

Os limites de detecção (LD) correspondem ao menor valor injetado que apresenta área superior ao valor do branco, sendo 0,01 e $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ para colunas C18 e C18 monolítica, respectivamente, nas condições otimizadas.

A repetitividade foi avaliada através dos cálculos dos coeficientes de variação (CV) a partir da leitura de soluções de picloram em concentrações 0,10 e $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, em quintuplicata. Os resultados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 01: Repetitividade obtida para coluna C18 e C18 monolítica

Concentrações de Pic (mg L ⁻¹)	Coluna C18			Coluna C18 Monolítica		
	Média (mg L ⁻¹)	Desvpad (mg L ⁻¹)	CV (%)	Média (mg L ⁻¹)	Desvpad (mg L ⁻¹)	CV (%)
0,1	11842	269	2,3	10566	242	2,3
1,0	116174	1271	1,1	111355	1947	1,7

Desvpad: desvio padrão da média; CV: Coeficiente de variação;

Observa-se que os coeficientes de variação (CV) obtidos estão abaixo de 5%, tendo o maior CV correspondente a 2,3%, indicando boa precisão dos métodos.

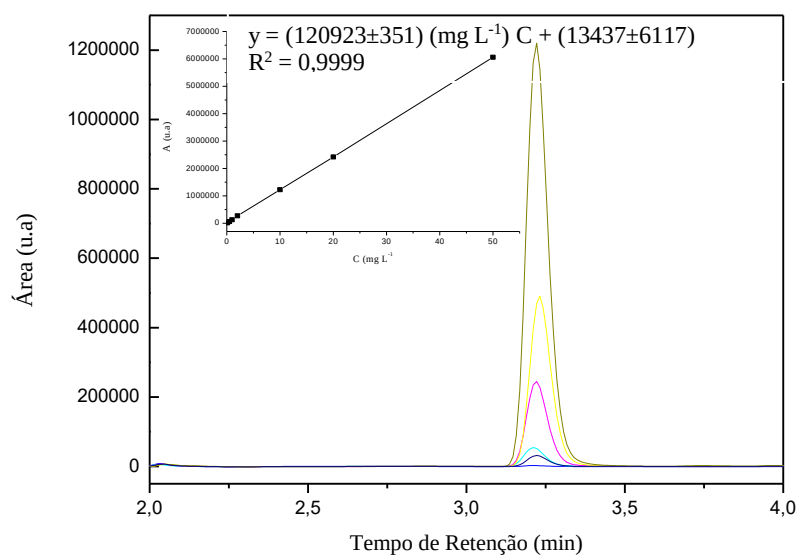


Figura 5: Curva analítica para determinação de picloram (Pic) (1,0 mg L⁻¹ em H₃PO₄ 0,1 %) com C18 na condição 60:40 de fase móvel Acetonitrila/ H₃PO₄ 0,1 %, Vazão de fase móvel = 1,2 mL min⁻¹, TC = 40°C, comprimento de onda 220nm.

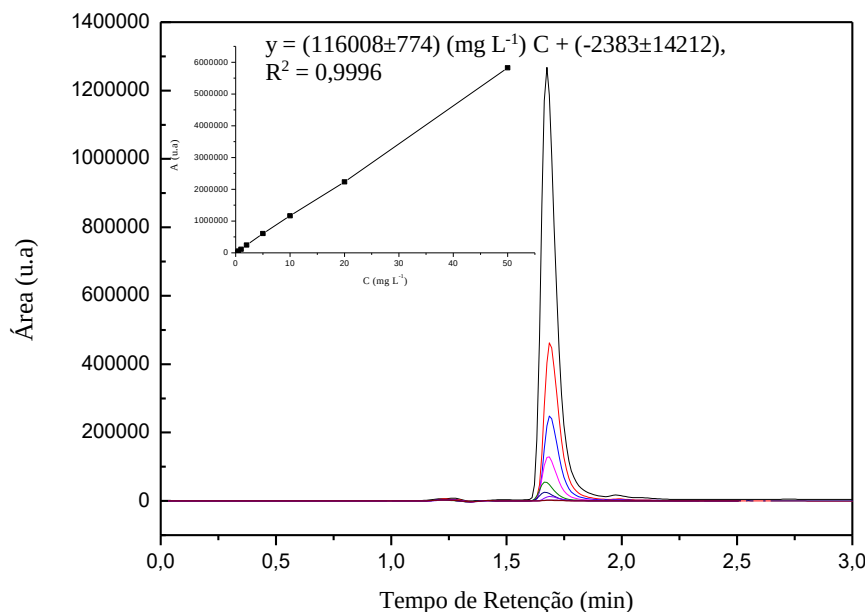


Figura 6: Curva analítica para determinação de picloram (Pic) ($1,0 \text{ mg L}^{-1}$ em H_3PO_4 0,1 %) com C18 monolítica na condição 40:60 de fase móvel Acetonitrila/ H_3PO_4 0,1 %, Vazão de fase móvel = $1,2 \text{ mL min}^{-1}$, TC = 40°C .

1.3 Recuperação de Picloram em águas naturais

As amostras foram contaminadas com solução de Picloram de modo que concentração final de picloram fosse igual a $0,50 \text{ mg L}^{-1}$ e depois analisadas com o HPLC nas condições otimizadas.

Tabela 2: Valores de recuperação de picloram nas amostras lagoas do Parque Frei Monteiro e lagoa Grande após a contaminação com Pic $0,50 \text{ mg L}^{-1}$.

Nome da amostra	Coluna C18		Coluna C18 Monolítica		t
	Média (mg L^{-1})	Desvio (S) (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio (S) (mg L^{-1})	
Parque F. Monteiro	0,44	0,01	0,43	0,01	0,34
Lagoa Grande	0,42	0,02	0,46	0,02	2,17

Valor de t para 4 graus de liberdade e 95% de confiança igual a 2,78.

Os resultados obtidos para recuperação de picloram nas amostras de águas mostraram recuperação acima de 84% do pesticida. Os métodos utilizando coluna C18 e C18 monolítica foram comparados empregando o teste t para 95% de confiança e 4 graus de liberdade, e uma vez que os valores de “t” obtidos foram menores que o “t” tabelado = 2,78, podemos afirmar que não existem evidências de diferenças significativas entre os métodos empregados para as amostras (Tabela2).

4. Considerações Finais

Nas condições estudadas, observou-se que a coluna C18 monolítica apresentou menores t_R e condições de análises que envolvem menores proporções de ACN em relação a coluna C18, o que é extremamente positivo. Os testes de repetitividade dos métodos empregados demonstram que os coeficientes de

variação obtidos foram inferiores a 5% para ambos os métodos. Os resultados obtidos para recuperação de picloram nas amostras de águas, demonstraram recuperação acima de 84% do pesticida. Os métodos utilizando coluna C18 e C18 monolítica foram comparados empregando o teste t para 95% de confiança, e uma vez que os valores de “t” obtidos foram menores que o “t” tabelado =2,78, para as amostras estudadas, podemos afirmar, para essas amostras, nas condições estudadas, que não existem evidências de diferenças significativas entre os métodos desenvolvidos.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, ao grupo de Pesquisa em Eletroquímica, Energia e Materiais (GPEEM) da Universidade Federal da Bahia (UFBA) *campus* Ondina e ao laboratório de Catálise, Adsorção e Geoquímica Ambiental do Programa de Pós-graduação em Modelagem em Ciências da Terra e do Ambiente – PPGM da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).

Referências

- [1] W. Pereira; R. Freire, Ferro zero: uma nova abordagem para o tratamento de águas contaminadas com compostos orgânicos poluentes, *Quím. Nova*, 28, (2005) 130-136.
- [2] A. Sanches et al, Single and mixture toxicity of abamectin and difenoconazole to adult zebrafish (*Danio rerio*), *Chemosphere*, 188 (2017) 582-587.
- [3] A. Castro; I. Colares; T. Franco, Using a toxicity test with *Ruppia maritima* (Linnaeus) to assess the effects of Roundup. *Marine Pollut. Bull.*, 91 (2015) 506-10.
- [4] A. Mansano; R. Moreira; M. Pierozzi. Effects of diuron and carbofuran pesticides in their pure and commercial forms on *Paramecium caudatum*: The use of protozoan in. *Environ. Pollut.*, 213 (2016) 160-172.
- [5] P. Pessoa; K. Luchmann; A. Ribeiro, Cholinesterase inhibition and behavioral toxicity of carbofuran on *Oreochromis niloticus* early life stages, *Aquatic Toxicol.*, 105 (2017) 312-20
- [6] M. Goncalves; T. Vieira; N. Maciel. Detecting genomic damages in the frog *Dendropsophus minutus*: preserved versus perturbed areas, *Environ.Sci. Pollut. Res. Int.*, 22 (2015) 3947-3954.
- [7] G. Schmitt et al. Aspectos gerais e diagnóstico clinicolaboratorial da intoxicação por paraquat. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* [online]. 42 (2006) 235-243
- [8] V. Santana; P. Moura; F. Nogueira. Mortalidade por intoxicação ocupacional relacionada a agrotóxicos, 2000-2009, Brasil. *Rev. Saúde Pública*, 47 (2013) 598-606.
- [9] BRASIL. Ministério da Saúde. Relatório Nacional de Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos, 2 (2018).
- [10] N. Faria; L. Facchini; A. Fassa; E. Tomasi. Trabalho rural e intoxicações por agrotóxicos. *Cad. Saúde Pública*, 20 (2004) 1298-1308.
- [11] W. Soares; M. Porto. Uso de agrotóxicos e impactos econômicos sobre a saúde. *Rev Saúde Pública*, 46 (2012) 209-17.

- [12] A. Lopes; G. Albuquerque. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. *Saúde Debate*, 42 (2018) 518-534.
- [13] K. Barbosa; W. Teixeira; L. Soares; E. Fagan. Residual Doses of Herbicide Affect the Initial Development of *Hymenaea stigonocarpa*, *Floresta e Ambiente*, 27 (2020) 2-6.
- [14] L. D'Antonino; A. Silva; L. Ferreira; P. Cecon; A. França; G. Silva. Lixiviação do picloram em argissolo vermelho-amarelo e latossolo vermelho-amarelo com diferentes valores de pH. *Planta daninha*, 27 (2009) 589-600.
- [15] M. Carmo; S. Procopio; F. Pires; A. Cargnelutti Filho; A. Barroso; G. Silva; E. Carmo; G. Braz; W. Silva; A. Braz; L. Pacheco. Seleção de plantas para fitorremediação de solos contaminados com picloram. *Planta daninha*, 26 (2008) 301-313.
- [16] L. dos Santos; J. Masini. Sequential Injection Analysis with Square Wave Voltammetry (SI-SWV) Detection for Investigation of Adsorption of Picloram on a Clay Soil. *J. Braz. Chem. Soc.*, 26 (2015) 2063-2068.
- [17] L. Ismael Elisângela; M. Rocha. Estimativa de contaminação de águas subterrâneas e superficiais por agrotóxicos em área sucroalcooleira, Santa Rita/PB, Brasil. *Ciênc. saúde coletiva*, 24 (2019) 4665-4675.
- [18] R. Barbosa; S. Gabas; G. Lastoria; G. Cavazzan; A. de Souza. Determinação do potencial de lixiviação (índice *lix*) de herbicidas empregados em culturas no município de São Gabriel do Oeste – MS. Em “XVI Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas e XVII Encontro Nacional de Perfuradores de Poços” (Rev. Águas Subterrâneas), 2010.
- [19] R. Wauchope; T. Buttler; A. Hornsby; P. Augustijn beckers; P. Burt; SCSIARS/CES pesticide properties database for environmental decision making. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 123 (1992) 1-157.
- [20] P. Howard (Ed.). *Handbook of environmental fate and exposure data for organic chemicals*. v. 3. Pesticides. Chelsea: Lewis Publishers, 1991. 101p.
- [21] L. Huizar. Global and local reactivity descriptors for picloram herbicide: a theoretical Quantum study. *Quim. Nova*, 38 (2015) 71-76.
- [22] T.R. Roberts, “Metabolic Pathways of Agrochemicals: Herbicides and Plant Growth Regulators” The Royal Society of Chemistry, 1998.
- [23] R. Grover. Influence of soil properties on phytotoxicity of 4-aminobenzo-3,5,6-trichloropicolinic acid (picloram). *Journal of Weed Biology, Ecology and Vegetation Management*, 1968.
- [24] Spadotto, C.A.; Hornsby, A.G.; Soil sorption of acidic pesticides: Modeling pH effects, *J. Environ. Qual.*, 32 (2003) 949-956.
- [25] Laird, D. A.; Koskinen, W. C., Triazine soil interactions. em: Lebaron, H. M.; McFarland, J. E.; Burns, O. C. (Eds). *The triazine herbicides*, pp. 275-300, Elsevier, 2011.
- [26] R.S de Oliveira Jr et al, “Biologia e Manejo de Plantas Daninhas”. Omnipax, Curitiba, 2011.
- [27] M.V. Santos et al. Eficácia e persistência no solo de herbicidas utilizados em pastagem. *Planta daninha*, 24 (2006) 391-398.

- [28] Y. Zhang et al. Highly sensitive fluorescence quantification of picloram using immunorecognition liposome, *Talanta*, 83 (2010) 210–215.
- [29] L. Bandřuchová et al. Voltammetric method for sensitive determination of herbicide picloram in environmental and biological samples using boron-doped diamond film electrode. *Electrochimica Acta*, 111 (2013) 242-249.
- [30] L. dos Santos; C. Infante; J. Masini. Determination of Picloram in Waters by Sequential Injection Chromatography with UV Detection. *J. Braz. Chem. Soc.*, 21 (2010) 1557-1562.
- [31] X. Luo; L. Chen; Y. Zhao. Simultaneous determination of three chloroacetic acids, three herbicides, and 12 anions in water by ion chromatography. *J. Sep. Sci.*, 38 (2015) 3096–3102.
- [32] D. Skoog; D. West; F. Holler. “Fundamentals of analytical chemistry”. Fort Worth, Saunders College, 1997.
- [33] A. Faria et al. Fases estacionárias monolíticas para separações cromatográficas. *Quím. Nova*, 29 (2006) 300-309.
- [34] M. Segato; C. Silva; I. Jardim. Eletrocromatografia capilar: contextualização, estado da arte e perspectivas. *Quim. Nova*, 32 (2009) 431-440.