



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76

Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA - 2019

DETERMINAÇÃO DO HERBICIDA PICLORAN EM ÁGUAS NATURAIS EMPREGANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC)

Pricília Santos Pereira Gomes¹; Luciana Bagdeve Oliveira dos Santos²;

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduando em Licenciatura em Química, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: priciliagomes13@gmail.com
2. Orientador, Departamento de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: lbagdeve@hotmail.com

PALAVRAS-CHAVE: Picloram; HPLC; Águas naturais.

INTRODUÇÃO

A água é um dos recursos naturais mais importante no mundo, mas sua disponibilidade como água potável sofreu/sofre várias modificações, devido a ação do homem como, por exemplo, por desmatamento, assoreamento de rios e nascentes e aplicação exacerbada de pesticidas (PEREIRA & FREIRE, 2004). Dentro da classe organoclorados, temos o 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 herbicida atua como mimetizador de auxinas naturais que são hormônios reguladores de crescimento vegetal, como o ácido indolacético, inibindo a síntese de proteínas, levando a planta a morte. Devido a sua alta persistência em solos, (BARBOSA et.al, 2011), o picloram também foi encontrado em águas subterrâneas e superficiais (HUIZAR, 2014). A exposição humana ao herbicida, por longos períodos, “pode causar danos ao sistema nervoso central, perda de peso, diarreia e fraqueza” (HUIZAR, 2014). Neste trabalho pretende-se desenvolver metodologia utilizando colunas cromatográficas C18 monolítica como alternativa à substituição da coluna C-18 convencional e comparar os resultados entre as duas colunas.

MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA (ou equivalente)

Coleta e caracterização de águas

Foram coletadas amostras de água das Lagoas do Parque Frei Monteiro e da Lagoa Grande, além de água tratada (Embasa). 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 como estabelece a NBR 9898 e para água tratada foi aplicado o teste de cavalete.

Otimização do método para determinação do pesticida Picloram

O picloram foi determinado por HPLC, a uma vazão de 1,2 mLmin⁻¹, utilizando detector UV em comprimento de onda 220 nm e coluna cromatográfica C18

convencional e monolítica. A composição da fase móvel, acetonitrila (ACN) e ácido fosfórico 0,1%, foi otimizada para obtenção da melhor condição de análise.

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO (ou Análise e discussão dos resultados)

As amostras foram coletadas após período de chuva na cidade de Feira de Santana, Bahia e alguns parâmetros físico-químicos são demonstrados na Tabela 01 abaixo.

Tabela 1. Características físico-químicas das águas

	LAGOA DO PARQUE FREI MONTEIRO	LAGOA GRANDE	EMBASA
PH	7,32	8,67	7,40
CONDUTIVIDADE (μS)	685	705	293
OD (MG/L)	8,4	15,3	9,4-10,0
TEMPERATURA ($^{\circ}\text{C}$)	26	26,6	25,2

Estudo do meio para determinação de picloram

Inicialmente, uma solução de picloram (Pic) $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ em água foi injetada em uma coluna com fase estacionária C_{18} convencional e utilizou-se como em fase móvel 60:40 Acetonitrila/ água, com vazão de fase móvel = $1,2 \text{ mL min}^{-1}$ e temperatura da coluna em 40°C . O herbicida foi determinado na região do ultravioleta em comprimento de onda 220nm. Os resultados apresentados na Figura 1, mostra o aparecimento de dois picos durante o processo de eluição.

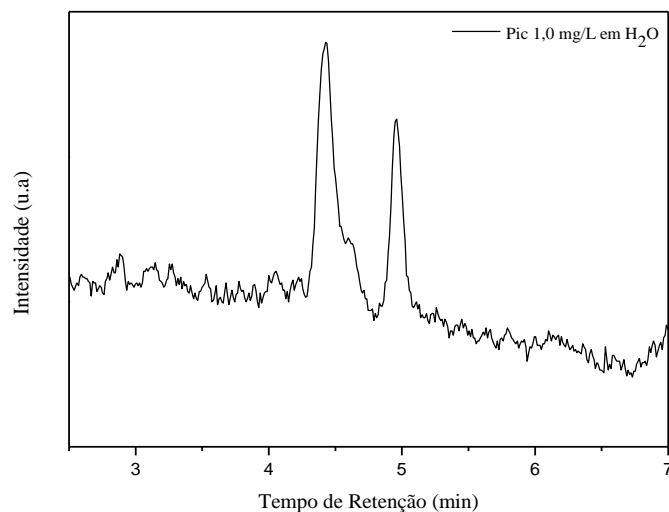


Figura 01: Picloram $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ em água com C_{18} convencional em fase móvel 60:40 Acetonitrila/ água, Vazão de fase móvel = $1,2 \text{ mL min}^{-1}$, TC = 40°C , comprimento de onda 220nm.

No cromatograma da Figura 1, nota-se dois picos característicos do Pic e sua base conjugada. No equilíbrio, em meio aquoso, ocorre a formação de Pic iônico, sendo necessário acidificar o meio de modo que o pH esteja menor que o pK_a do ácido ($\text{pK}_a=2,3$), deslocando o equilíbrio para dispormos de Pic molecular e assim determina-lo com HPLC. Desse modo, empregamos ácido fosfórico em todas as amostras e padrões de Pic, de modo que a concentração final das soluções em termos de H_3PO_4 fosse 0,1 %

Separação com coluna convencional

Foi avaliada a condição 50:50 Acetonitrila (ACN)/ Ácido fosfórico (H_3PO_4) 0,1 %, respectivamente, com vazão de fase móvel de $1,2 \text{ mL min}^{-1}$, temperatura da coluna (TC) de 40°C e comprimento de onda 220nm. Obtemos um tempo de retenção (TR) de 4,49 minutos. A fim de diminuir o TR outras condições de fase móvel foram testadas, empregando o mesmo programa de eluição. Foram testadas as condições 60:40 (TR=3,21 minutos) e 40:60 (4,49 minutos) ACN/ Ácido fosfórico 0,1%.

Os cromatogramas obtidos em todas as condições acima citadas, apresentam boa resolução e separação, desse modo, avaliou-se as quantidades de solvente ACN empregado em cada análise, concluindo que os volumes de ACN gastos são parecidos, sendo assim a melhor condição é a 60:40, pois apresentou menor TR (3,21 minutos).

Separação com coluna monolítica

Iniciou a análise com a condição 50:50 ACN/ H_3PO_4 0,1 %, respectivamente, com vazão de fase móvel de $1,2 \text{ mL min}^{-1}$, TC de 40°C e comprimento de onda 220nm. O TR obtido equivale a 1,53 minutos e foi o menor TR dentre todas as análises, no entanto, nessa condição o pico de Pic está muito próximo ao volume morto, ou seja, não apresenta boa resolução e separação.

A fim de otimizar a separação, outras condições de fase móvel foram testadas, empregando o mesmo programa de eluição. Foram testadas as condições 40:60 (TR=1,68 minutos), 30:70 (TR=2,02 minutos) e 20:80 (TR=2,92 minutos) ACN/ Ácido fosfórico 0,1%. Como esperado, a condição 20:80 que apresenta maior polaridade que as anteriores, apresentou também maior TR. Os volumes de solvente ACN empregado em cada análise foram avaliados concluindo que as quantidades de ACN gastos são parecidas. Nesse sentido, a melhor condição é a 40:60 por apresentar menor TR, uma vez que todas as condições testadas apresentam boa resolução e separação cromatográfica, com exceção da condição 50:50.

Parâmetros Analíticos

Tabela 02: Curvas analíticas para picloram nas melhores condições com fase móvel ACN/ ácido fosfórico 0,1% para colunas convencional (60:40) e monolítica (40:60)

	Coluna Convencional				Coluna monolítica			
	A	B (mg L^{-1})	R^2	Faixa Linear (mg L^{-1})	A	B (mg L^{-1})	R^2	Faixa Linear (mg L^{-1})
Picloram	13437 ± 6117	120923 ± 351	0,9999	0,1-50	2383 ± 14213	116009 ± 774	0,9996	0,05-50

Legenda: A equação da reta é dada por $y = A + Bx$ e F. Linear é a Faixa Linear de Trabalho; y= área; x=concentração; b=sensibilidade (inclinação da curva); a=interseção com eixo y, quando $x=0$

As curvas analíticas foram construídas a partir das melhores condições desenvolvidas para colunas convencional (60:40) e monolítica (40:60) e estão dispostas na Tabela 02. Os limites de detecção (LD) são 0,01 e 0,05 mg L^{-1} para colunas convencional e monolítica, respectivamente. Como apresentado na Tabela 02, apesar do menor LD para a coluna convencional, sua faixa linear de trabalho (0,1-50 mg L^{-1}) é menor que na

coluna monolítica (0,05-50 mg L⁻¹). A repetitividade dos métodos foi avaliada a partir dos coeficientes de variação (CV) obtidos com soluções de pic 0,10 e 1,0 mg L⁻¹, em quintuplicata e apresentaram resultados inferiores a 5%.

Tabela 03: Valores de recuperação de picloram nas amostras lagoas do Parque Frei Monteiro, lagoa Grande e Embasa após a contaminação com Pic 0,50 mg L⁻¹.

Nome da amostra	Coluna C18 Convencional		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 (1)	0,44	0,01	0,43	0,01	0,34
Lagoa Grande (2)	0,42	0,02	0,46	0,02	2,17
Embasa (3)	0,430	0,004	0,46	0,01	4,29

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

Os resultados obtidos para recuperação de picloram mostraram recuperação acima de 84% do pesticida para as colunas empregadas (Tabela 03). Para a comparação entre os métodos empregou-se o teste t para 95% de confiança e 4 graus de liberdade, onde o “t” tabelado =2,78. Os valores de “t” obtidos foram menores que t tabelado para as amostras 1 e 2, ou seja, não existem evidências de diferenças significativas entre os métodos empregados. Para amostra 3, o valor de t obtido é maior que o t tabelado, indicando que há diferenças significativas entre os métodos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS (ou Conclusão)

Os resultados obtidos para recuperação de pic nas amostras mostraram recuperação acima de 84% do pesticida. Os métodos utilizando coluna C18 convencional e C18 monolítica foram comparados empregando o teste t para 95% de confiança e os valores de “t” obtidos foram menores que o “t” tabelado =2,78, então não há diferenças significativas para amostras 1 e 2, mas para amostra 3 há evidências de diferenças significativas com os métodos, pois o t experimental (t= 4,29) foi maior que o t tabelado.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, K.A et all. **Efeito residual do herbicida 2,4-D+ picloram sobre o crescimento de *Hymenaea stigonocarpa mart.*** Sociedade de Ecologia do Brasil, 2011. Disponível em:< <http://www.seb-ecologia.org.br/xceb/resumos/1745.pdf>>. Acesso: 14 de março de 2018
- HUIZAR, L. H. M. **Global and local reactivity descriptors for picloram herbicide: a theoretical Quantum study.** Química Nova, 2014, México. Disponível em:< <http://www.scielo.br/pdf/qn/v38n1/0100-4042-qn-38-01-0071.pdf>>. Acesso: 18 de março de 2018
- PEREIRA, W. S.; FREIRE, R. S. **Ferro zero: uma nova abordagem para o tratamento de águas contaminadas com compostos orgânicos poluentes.** Química Nova, 2005, México. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422005000100022>. Acesso: 14 de março de 2018