

**Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Química**

Renata Pereira Lopes

Estudo de processos alternativos para a degradação de compostos de relevância ambiental com monitoramento dos produtos formados por Espectrometria de Massas com Fonte de Ionização Electrospray (ESI-MS).

**Belo Horizonte
2008**

Renata Pereira Lopes

Estudo de processos alternativos para a degradação de compostos de relevância ambiental com monitoramento dos produtos formados por Espectrometria de Massas com Fonte de Ionização Electrospray (ESI-MS).

Dissertação apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química – Química Analítica.

**Belo Horizonte
2008**

“As estrelas podem ser vistas do fundo de um poço escuro, quando não podem ser discernidas do topo de um monte. Assim também, muitas coisas são aprendidas na adversidade...”

Charles H. Spurgeon

Dedico este trabalho à minha família que me apóia em todos os momentos da minha vida e que incondicionalmente sempre me deu incentivo, carinho e compreensão.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por absolutamente tudo.

Aos meus pais que nunca mediram esforços para que eu pudesse investir nos meus sonhos.

Ao meu marido Salatiel que sempre me incentivou e apoiou em todas as minhas decisões.

À minha filhinha Rebeca que desde pequena já compreende o pouco tempo que temos para ficarmos juntas.

Aos professores Clésia, Rodinei e Jacqueline pela orientação, paciência, carinho e amizade que tiveram comigo ao longo deste trabalho.

Ao professor Ludwig Pfenning do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras e ao Lucas por disponibilizarem algumas linhagens fúngicas para realização do trabalho biológico.

Aos professores Luiz Carlos e Mário Guerreiro e aos alunos Maraísa e Alexandre, pela oportunidade e receptividade no laboratório de LC-MS da Universidade Federal de Lavras.

Aos meus amigos pelo apoio e incentivo, em especial, à Ana Paula, Karla, Ilza, Mariana, Amauri, Helvécio, Patterson, Frank, Henrique, Rosilene, Waldomiro, Simone, Adriana (Dri), Giovanni, Leonardo, Yuri e Thais.

Aos alunos de iniciação científica Antônio Cantoni e Maria Elisa.

Aos profissionais do Departamento de Química da UFMG.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

Índice de Figuras	viii
Índice de Esquemas	ix
Índice de Tabelas	x
Lista de abreviaturas	xii
Abstract	xiii
Resumo	xv
Capítulo 1	1
1. Introdução	2
Capítulo 2	4
2. Objetivos	5
Capítulo 3	6
3. Revisão bibliográfica	7
3.1. Processos físicos	7
3.2. Processos biológicos	8
3.3. Processos Químicos	11
3.3.1. Incineração	11
3.3.2. Processos oxidativos avançados (POAs)	11
3.3.3. Degradação redutiva mediada por metais de valência zero	13
3.4 Técnicas analíticas utilizadas	17
3.4.1. Espectrofotometria de Absorção Molecular na região do Ultravioleta-Visível (EAM UV-Vis)	17
3.4.2. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - “High Performance Liquid Chromatography” (HPLC)	19
3.4.3. Espectrometria de Massas – “Mass Spectrometry” (MS)	20
3.4.3.1. Introdução da amostra e técnicas de ionização	21
3.5 - Métodos quimiométricos para otimização de experimentos	24
3.5.1 - Avaliação do modelo matemático	27
Capítulo 4	31
4. Estudos de degradação de pesticidas neonicotinóides	32
4.1. Introdução	32
4.1.1. Inseticidas Neonicotinóides	33

4.1.1.1. Tiametoxam	33
4.1.1.2. Imidacloprid	34
4.2. Parte Experimental.....	36
4.2.1. Reagentes e Materiais	36
4.2.2. Processo de obtenção dos pesticidas Tiametoxam e Imidacloprid.....	36
4.2.3. Metodologia	37
4.2.3.1. Experimentos Biológicos	37
4.2.3.1.1. Triagem fúngica.....	37
4.2.3.1.2. Condições de incubação	38
4.2.3.1.3. Otimização do meio de cultura	38
4.2.3.1.4. Teste de degradação do Imidacloprid	39
4.2.3.2. Experimentos redutivos	39
4.2.3.2.1. Estudos preliminares	39
4.2.3.2.1.1. Estudo da potencialidade dos metais zinco (Zn^0), magnésio (Mg^0) e estanho (Sn^0) na degradação de soluções aquosas do pesticida Tiametoxam.....	39
4.2.3.2.1.2. Estudo do efeito do pH nos experimentos redutivos	40
4.2.3.2.2. Estudo da influência das variáveis massa do metal e tempo de exposição à radiação ultra-sônica na degradação dos pesticidas Tiametoxam e Imidacloprid.	40
4.2.3.2.3. Estudo do efeito da exposição à radiação ultra-sônica	41
4.2.3.2.4. Estudo da taxa de degradação.....	42
4.2.4. Técnicas analíticas utilizadas no monitoramento dos processos de degradação biológica e redutiva dos pesticidas em solução aquosa	42
4.2.4.1. Cromatografia Líquida de alta Eficiência (HPLC)	42
4.2.4.2. Espectrometria de Massas com Fonte de Ionização “Electrospray” (ESI-MS)	43
4.3. Resultados e discussão	43
4.3.1. Experimentos biológicos	43
4.3.1.1. Triagem fúngica.....	43
4.3.1.2. Otimização do meio de cultura	44
4.3.1.3. Experimentos biológicos envolvendo o pesticida Imidacloprid	48

4.3.1.4. Avaliação dos produtos de degradação por meio da técnica ESI-MS.....	49
4.3.1.4.1 - Tiametoxam.....	49
4.3.1.4.2 – Imidacloprid	55
4.3.2. Experimentos redutivos.....	61
4.3.2.1. Estudo da potencialidade dos metais zinco (Zn ⁰), magnésio (Mg ⁰) e estanho (Sn ⁰) na degradação de soluções aquosas do pesticida Tiametoxam.	61
4.3.2.2. Estudo do efeito do pH nos experimentos redutivos envolvendo o pesticida Tiametoxam.....	62
4.3.2.3. Influência das variáveis massa do metal e tempo de exposição à radiação ultra-sônica na degradação dos pesticidas Tiametoxam e Imidacloprid.	63
4.3.2.4. Estudo do efeito da exposição à radiação ultra-sônica (US) na degradação dos pesticidas Tiametoxam e Imidacloprid.	68
4.3.2.5. Avaliação dos produtos de degradação por ESI-MS	72
4.3.2.5.1. Estudo do mecanismo de degradação redutiva do pesticida Tiametoxam em solução aquosa.....	72
4.3.2.5.2. Estudo do mecanismo de degradação redutiva do pesticida Imidacloprid em solução aquosa	77
4.4. Conclusões parciais	81
Capítulo 5	84
5. Estudos de degradação redutiva do corante índigo carmim em solução aquosa.....	85
5.1. Introdução	85
5.1.1. Índigo Carmim.....	86
5.2. Parte Experimental.....	87
5.2.1. Metodologia	87
5.2.1.1. Estudo da degradação redutiva do corante Índigo Carmim em solução aquosa.	87
5.2.1.1.1. Estudos preliminares	87
5.2.1.1.2. Estudo da potencialidade da esponja de aço Bombril [®] na degradação redutiva do corante	87
5.2.2. Técnicas analíticas utilizadas no monitoramento da reação redutiva do corante Índigo Carmim em solução aquosa.	88

5.2.2.1. Espectrofotometria de Absorção Molecular na região do Ultravioleta-Visível (EAM-UV-Vis).	88
5.2.2.2. Espectrometria de Massas com Fonte de Ionização “Electrospray” (ESI-MS).....	88
5.3. Resultados e discussão	89
5.3.1. Estudos preliminares – Potencialidade dos metais Zn ⁰ , Sn ⁰ , Mg ⁰ e Fe ⁰ na degradação do corante Índigo Carmim em solução aquosa.....	89
5.3.2. Potencialidade da esponja de aço Bombril [®] nos ensaios redutivos do corante Índigo Carmim	89
5.3.3. Estudo do mecanismo da reação do corante Índigo Carmim em solução aquosa promovida por Fe ⁰	91
5.4. Conclusões parciais	93
Capítulo 6	95
6. Considerações finais	96
7. Referências bibliográficas.....	98

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1. Rotas de dealogenação de organoclorados em sistema Fe^0/H_2O	15
Figura 3.2. Purificação <i>in situ</i> de águas subterrâneas por meio de uma barreira contendo Fe^0	16
Figura 3.3 - Esquema ilustrativo do processo de excitação de um elétron através de radiação eletromagnética.	17
Figura 3.4 – Componentes básicos de um espectrofotômetro	19
Figura 3.5 - Componentes básicos de um equipamento de HPLC.....	20
Figura 3.6 - Componentes básicos de espectrômetro de massas.....	21
Figura 3.7 – Representação esquemática da técnica ESI.....	23
Figura 4.1. Estrutura química do inseticida Tiametoxam	34
Figura 4.2. Estrutura química do inseticida Imidacloprid	35
Figura 4.3 - Concentração normalizada do inseticida Tiametoxam (C/C_0) como uma função do tempo ($C_0 = 50 \text{ mg.L}^{-1}$).....	46
Figura 4.4. Hidrólise do Tiametoxam.....	47
Figura 4.5. Hidrólise do Imidacloprid	49
Figura 4.6 - ESI(+)-MS do meio de cultura contendo o inseticida Tiametoxam ($50,0 \text{ mg.L}^{-1}$).	51
Figura 4.7 - ESI(+)-MS do meio de cultura contendo o inseticida Imidacloprid (50 mg.L^{-1})	56
Figura 4.8. Concentração normalizada do inseticida Tiametoxam (C/C_0) como uma função do tempo ($C_0 = 50,00 \text{ mg.L}^{-1}$).....	63
Figura 4.9 - Concentração normalizada do inseticida (C/C_0) como uma função do tempo:	71
Figura 4.10 - ESI(+)-MS da solução aquosa de Tiametoxam $50,0 \text{ mg.L}^{-1}$	73
Figura 4.11. ESI(+)-MS da solução aquosa de Imidacloprid $50,0 \text{ mg.L}^{-1}$	78
Figura 5.1. Estrutura do corante Índigo Carmim	86
Figura 5.2. Espectro UV-Vis de uma solução de Índigo Carmim ($40,0 \text{ mg.L}^{-1}$)	90
Figura 5.3. Espectro UV-Vis de uma solução do corante Índigo Carmim ($40,0 \text{ mg.L}^{-1}$) após tratamento redutivo com esponja de aço Bombril®	91
Figura 5.4. ESI(-)-MS da solução aquosa de Índigo Carmim $40,0 \text{ mg.L}^{-1}$ tratada com esponja de aço Bombril®.	92

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 4.1. Proposta para a rota de biodegradação do Tiametoxam induzida pelo fungo <i>Paecilomyces lilacinus</i>	53
Esquema 4.2. Proposta do caminho de fragmentação do íon $[2 + H]^+$ após a seleção e fragmentação promovida por CID.	54
Esquema 4.3. Proposta para a rota de degradação do Imidacloprid induzida pelo fungo <i>Paecilomyces lilacinus</i> em solução aquosa.	58
Esquema 4.4. Proposta de fragmentação do íon $[3 + H]^+$ após seleção e fragmentação por CID.	59
Esquema 4.5. Proposta de fragmentação do íon $[2 + H]^+$ após seleção e fragmentação por CID.	60
Esquema 4.6. Proposta para a rota de degradação do Tiametoxam promovido pelos metais Zn^0 e Sn^0 em solução aquosa (pH = 2).	75
Esquema 4.7. Proposta do caminho de fragmentação dos íons $[1b + H]^+$, $[1c + H]^+$, e $[1d + H]^+$ após a seleção e fragmentação promovida por CID	76
Esquema 4.8. Proposta de degradação do Imidacloprid (2) promovida pelos metais (Sn^0 , Zn^0) em solução aquosa ácida.	79
Esquema 4.9 - Proposta do caminho de fragmentação dos íons $[2b + H]^+$, $[2c + H]^+$, $[2d + H]^+$, e $[2e + H]^+$ após a seleção e fragmentação promovida por CID .	80
Esquema 5.1. Proposta para a rota de degradação do corante Índigo Carmim induzida por metais de valência zero.	93

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 3.1 - Potenciais de redução de alguns oxidantes mais comuns	12
Tabela 3.2 - Potenciais de redução de alguns metais mais comuns.....	13
Tabela 3.3 – Algumas das principais técnicas de ionização.....	22
Tabela 3.4 – Matriz de coeficientes de contraste para um planejamento fatorial completo 2^2	26
Tabela 4.1. Propriedades físico-químicas do inseticida Tiametoxam	34
Tabela 4.2. Propriedades físico-químicas do inseticida Imidacloprid	35
Tabela 4.4 - Planejamento fatorial completo 2^2 com ponto central realizado para otimização da degradação dos pesticidas Tiametoxam e Imidacloprid em solução aquosa pelos metais Zn^0 , Sn^0 e Mg^0	41
Tabela 4.5 - Planejamento fatorial completo 2^2 para determinação da influência do ultra-som nos processos redutivos em estudo.	42
Tabela 4.6 - Degradação do Tiametoxam após 22 dias de tratamento biológico.	44
Tabela 4.7 - Degradação do Tiametoxam em dois diferentes meios de cultura após 15 dias de incubação, utilizando-se o fungo <i>Paecilomyces lilacinus</i>	45
Tabela 4.8 - Monitoramento do pH durante o tempo de incubação para biodegradação do tiametoxan.	46
Tabela 4.9. Determinação da influência do pH alcalino nos ensaios de degradação do inseticida Tiametoxam pelo fungo <i>Paecilomyces lilacinus</i>	47
Tabela 4.10 - Degradação do Imidacloprid após 15 dias de incubação, utilizando-se o fungo <i>Paecilomyces lilacinus</i> . O sistema foi mantido sob agitação orbital à temperatura ambiente.	48
Tabela 4.11 - Principais fragmentos gerados por CID do íon de m/z 248, detectado no ESI(+)-MS do meio de cultura contendo Tiametoxam (1) tratado com o fungo <i>Paecilomyces lilacinus</i>	54
Tabela 4.12 - Principais fragmentos gerados por CID dos íons de m/z 210 e 256 detectados no ESI(+)-MS do meio de cultura contendo Imidacloprid (2) tratada com o fungo <i>Paecilomyces lilacinus</i>	59
Tabela 4.13 - Porcentagem de degradação do Tiametoxam obtida no processo redutivo pelos metais Zn^0 , Sn^0 e Mg^0 . Concentração inicial do Tiametoxam = 50 $mg.L^{-1}$	61

Tabela 4.14 - Efeito do pH na degradação reductiva de uma solução do inseticida Tiametoxam ($50,0 \text{ mg.L}^{-1}$) . Massa de 200,0 mg de zinco e 20 min de sonicação. (n = 2).	62
Tabela 4.15 - Planejamento fatorial 2^2 com ponto central realizado para otimização da degradação do pesticida tiametoxam em solução aquosa pelos metais Zn^0 , Sn^0 e Mg^0	63
Tabela 4.16 - Cálculos dos efeitos principais e de interação de 2^{a} ordem referentes ao planejamento fatorial com ponto central realizado para a otimização da degradação do pesticida tiametoxam em solução aquosa pelos metais Zn^0 e Sn^0 e Mg^0	64
Tabela 4.17 - Análise de variância para regressão múltipla envolvendo o sistema de degradação reductiva do inseticida Tiametoxam induzida pelo Zn^0	66
Tabela 4.20 - Planejamento fatorial 2^2 para otimização da degradação do pesticida Tiametoxam em solução aquosa pelos metais Zn^0 e Sn^0 . (n = 2)	68
Tabela 4.21 - Planejamento fatorial 2^2 para otimização da degradação do pesticida Imidacloprid em solução aquosa pelos metais Zn^0 e Sn^0 . (n = 2).....	69
Tabela 4.22 - Planejamento fatorial 2^2 realizado para verificação da influência do ultra-som na degradação reductiva do Tiametoxam	69
Tabela 4.23 - Planejamento fatorial 2^2 realizado para verificação da influência do ultra-som na degradação reductiva do Imidacloprid.....	70
Tabela 4.24. Principais fragmentos gerados por CID dos íons $[\mathbf{1b} + \text{H}]^+$, $[\mathbf{1c} + \text{H}]^+$, e $[\mathbf{1d} + \text{H}]^+$ detectados no ESI(+)-MS de uma solução aquosa de Tiametoxam (1) tratada com os metais de valência zero.	76
Tabela 4.25. Principais fragmentos gerados por CID dos íons $[\mathbf{2b} + \text{H}]^+$, $[\mathbf{2c} + \text{H}]^+$, $[\mathbf{2d} + \text{H}]^+$, e $[\mathbf{2e} + \text{H}]^+$ detectados no ESI(+)-MS de uma solução aquosa de Imidacloprid (2) tratada com os metais de valência zero.....	80
Tabela 5.1. Propriedades físico-químicas do corante Índigo Carmim.	87

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA = Análise de variância

CID = “Collison-Induced Dissociation” / Dissociação induzida por colisão

EAM-UV-Vis = Espectrofotometria de Absorção Molecular na região do Ultravioleta – Visível

ESI = “Electrospray”

ETEs = Estações de tratamentos de esgotos

F = Teste F (distribuição de Fisher)

GC = “Gás Chromatography” / Cromatografia Gasosa

HPLC = “High Performance Liquid Chromatography” / Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

LC = “Liquid Chromatography” / Cromatografia Líquida

LC-ESI-MS = “Liquid Chromatography Electrospray Ionisation Mass Spectrometry” / Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas com Fonte de Ionização Electrospray.

m/z = razão massa / carga

MQ = Média Quadrática

MS = “Mass Spectrometry” / Espectrometria de Massas

nGL = Número de Graus de Liberdade

POAs = Processos Oxidativos Avançados

SG = Significativo a 95% de confiança

SQ = Soma Quadrática

US = Radiação Ultra-sônica

Abstract

Over the last decades, the growth of population and industrial activities has contributed to the aggravation of environmental problems, especially the contamination of superficial and underground waters. This is mainly caused by the enormous amounts of domestic or industrial wastes that are many times discarded directly into these bodies with no previous treatment.

As conventional treatments have shown to be ineffective in removing a number of organic pollutants from water, this work aimed to evaluate the efficiency of alternative processes in promoting the degradation of prototype contaminants. Hence, the degradation of two insecticides (Thiametoxam and Imidacloprid) by two distinct processes (biodegradation by filamentous fungus and reductive degradation by zero-valent metals) in aqueous medium has been evaluated. Optimized results, as achieved via high performance liquid chromatography (HPLC) monitoring, indicated that the biodegradation of Thiametoxam and Imidacloprid by the fungi *Paecilomyces lilacinus* reached yields of 80% and 30%, respectively, after an incubation time of 15 days. Similarly, zero-valent tin, zinc, and magnesium were able to destroy both insecticides with degradation yields higher than 70%. Factorial designs were also employed to evaluate the influence of major parameters, i. e. reaction time, mass of the metal, and ultrasonic irradiation, on the reductive degradation of both insecticides. It was observed that the mass of the metal and the time of exposition to the ultrasonic irradiation significantly affected the degradation rates. It was also clear that the effect of ultrasonic radiation was more significant when smaller masses of the metal were used.

Studies on the reductive degradation of the dye Indigo Carmine in aqueous solution were also performed. When treated with the zero-valent metals (Mg, Sn, Zn) in acidic medium (pH = 2), the dye was quickly degraded as visualized by the continuous solution discoloration. By bubbling atmospheric air into this discolored solution, however, the initial color was restored. This result, as achieved by a simple visual examination as well as by an UV-Visible spectroscopy monitoring, indicated that the dye is promptly and reversibly reduced by the zero-valent metals

yielding an unstable and colorless product. Upon treatment with atmospheric air, however, this reduced compound is promptly oxidized to restore the original dye.

Electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS) was employed herein to monitor these degradation processes. In all cases, a number of degradation products could be detected and characterized thus demonstrating that this technique can be efficiently employed to monitor analogous environmentally-relevant reactions that take place in water solution.

Resumo

Nas últimas décadas o aumento populacional e o conseqüente aumento das atividades industriais, vêm contribuindo para o agravamento dos problemas ambientais, principalmente com respeito à preservação das águas superficiais e subterrâneas. Isso acontece porque são geradas grandes quantidades de resíduos orgânicos, de origem doméstica ou industrial, os quais muitas vezes, são lançados nos corpos receptores sem tratamento prévio. Como as águas superficiais são fontes vitais de água potável, a qualidade da água tem recebido considerável atenção nas legislações ambientais. Embora se tenha uma lei mais restritiva, os tratamentos convencionais de água são muitas vezes ineficientes na remoção destes poluentes, levando à persistência do problema.

Diante disso, este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência de processos alternativos para a degradação de compostos orgânicos de relevância ambiental. Foram estudados processos de biodegradação, utilizando-se fungos filamentosos, e processos redutivos, utilizando-se metais de valência zero, para degradação dos pesticidas Tiametoxam e Imidacloprid. A degradação, em ambos os processos, foi monitorada pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). No processo de biodegradação foi observada uma redução do pico de Tiametoxam e Imidacloprid de 80 e 30% respectivamente, após a incubação de 15 dias com o fungo *Paecilomyces lilacinus*.

Os processos redutivos mostraram-se muito eficientes na degradação dos pesticidas estudados, sendo observada uma degradação superior a 70% para ambas as moléculas. Foi investigada a influência das variáveis envolvidas nas condições reacionais (como tempo, massa de metal e radiação ultra-sônica) que proporcionassem uma maior resposta de degradação, sendo que para isso foi utilizado o planejamento fatorial de experimentos. Este método possibilitou a investigação da influência destas variáveis com um número mínimo de experimentos. Foi observado que a massa do metal e tempo de exposição ao ultra-som afetam significativamente a degradação dos pesticidas estudados. Também foi possível verificar que a presença de radiação ultra-sônica é mais significativa quando se utiliza pequenas massas do metal.

Estudos de degradação redutiva envolvendo o corante Índigo Carmim também foram realizados. Foi observado que se forma um produto instável, o qual é oxidado novamente na presença de oxigênio atmosférico. O monitoramento da reação foi realizado pela técnica analítica UV-Vis que permitiu visualizar com clareza a reversibilidade da reação, uma vez que a forma reduzida apresenta um espectro totalmente diferente da forma oxidada.

Sabendo-se que muitos processos de degradação podem levar a formação de compostos mais tóxicos que os de origem, este trabalho também se propôs a fazer o monitoramento dos produtos formados através da técnica Espectrometria de Massas com Fonte de Ionização Electrospray (ESI-MS). A técnica se mostrou eficiente, possibilitando a elucidação dos mecanismos de degradação dos compostos estudados.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A água é um dos recursos naturais mais importantes da Terra, sendo fundamental para a geração e manutenção de todas as formas de vida em nosso planeta. Além de constituir cerca de 60% da composição do corpo humano, chegando a 98% em algumas espécies, ela também é ambiente de vida de algumas espécies animais e vegetais. Além disso, a água apresenta outras importantes utilidades como abastecimento doméstico e industrial, irrigação, preservação da flora e fauna, recreação e lazer, geração de energia elétrica, navegação, dentre outras [Sperling, 2005].

O volume total de água na Terra é estimado em 1,36 bilhões de Km³, sendo que deste valor 97% correspondem aos mares e oceanos, 2,2% compreendem as calotas polares e apenas uma pequena fração de 0,8% corresponde à água doce. Desta fração, apenas 3% encontra-se na forma de água superficial de fácil extração, os 97% restantes encontram-se armazenados em depósitos subterrâneos. A partir destes valores, pode-se perceber a grande importância de se preservarem os recursos hídricos na Terra, e de se evitar a contaminação da água mais facilmente disponível [Sperling, 2005].

Até o final da década passada, a água era considerada como um recurso inesgotável. Infelizmente, esta concepção mostrou-se equivocada, pois constantes mudanças geoclimáticas vêm alterando a disponibilidade de água potável. Esta escassez é agravada em virtude da desigualdade social e da falta de manejo e usos sustentáveis dos recursos naturais. Segundo a Unicef (Fundo das Nações Unidas para a Infância), menos da metade da população mundial tem acesso à água potável. Em todo o mundo cerca de 1,2 bilhões de pessoas (35% da população mundial) não têm acesso à água tratada e 1,8 bilhões de pessoas (43% da população mundial) não contam com serviços adequados de saneamento básico [Pereira, 2005].

Nas últimas décadas, como uma consequência do desenvolvimento industrial, a poluição tem-se agravado, devido ao aumento das cargas poluidoras urbana e industrial, uso inadequado do solo, erosão, desmatamento, uso

inadequado de insumos agrícolas e mineração. Estes fatores, associados às alterações na distribuição anual de chuvas e nas características climáticas, levam a danos ambientais dos recursos hídricos, dentre os quais se destacam o aumento do transporte de sedimento e a contaminação química das águas. Além disso, tem-se uma série de problemas quanto ao planejamento urbano e quanto à racionalização do uso da água. Dentre estes problemas, pode-se destacar como uma das agressões mais impactantes dos recursos hídricos, a falta de tratamento adequado dos resíduos industriais e domésticos que, constantemente, são despejados nos corpos d'água sem nenhum processo de tratamento [Pereira, 2005].

A maior conscientização dos riscos iminentes à saúde humana e a necessidade de conservação dos recursos hídricos têm motivado esforços para minimizar o problema da contaminação. Alguns exemplos são: a imposição de legislações mais restritivas visando à redução da quantidade e toxicidade das emissões, reciclagem e reuso de resíduos, adaptação e otimização de processos de produção e a substituição de matérias-primas tóxicas. Também é de suma importância a utilização de métodos de tratamento de efluentes e de recuperação de ambientes já contaminados, que satisfaça as restrições impostas [Pereira, 2005].

Muitos poluentes parecem ser persistentes no meio ambiente e não são completamente removidos nas estações de tratamento de esgotos (ETEs), resistindo a vários processos de tratamento convencional de água. Desta forma, faz-se necessário estudar formas alternativas de remoção destes compostos em meio aquoso, assim como desenvolver metodologias de análises que permitam investigar os produtos gerados, uma vez que, produtos mais tóxicos que os de origem podem ser gerados nestes processos alternativos [EPA, 1992; Miltner et al., 1989; Battaglin et al., 1996].

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Sabendo-se dos graves problemas ambientais que vêm aumentando nas últimas décadas devido, principalmente, ao descarte indiscriminado de poluentes orgânicos e a falta de manejo dos mesmos, e também da ineficiência dos processos convencionais para o tratamento destes resíduos, é importante investigar formas alternativas de degradação de compostos orgânicos de relevância ambiental.

Desta forma, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar a eficiência de processos alternativos para a degradação dos pesticidas Tiametoxam e Imidacloprid em meio aquoso com monitoramento dos produtos formados através da Espectrometria de Massas com Fonte de Ionização Electrospray (ESI-MS). Os objetivos secundários foram aperfeiçoar as condições reacionais, com a finalidade de investigar a influência de parâmetros relevantes na taxa de degradação.

Os processos avaliados em laboratório foram:

- Processos biológicos utilizando-se fungos filamentosos como agentes responsáveis pela biodegradação dos compostos poluentes;
- Processos redutivos utilizando-se metais de valência zero como agentes redutores;

Também, teve-se por objetivo avaliar a eficiência dos processos redutivos na degradação do corante Índigo Carmim em meio aquoso com monitoramento dos produtos gerados através da técnica ESI-MS.

CAPÍTULO 3

REVISÃO

BIBLIOGRÁFICA

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Diferentes métodos para a degradação de compostos orgânicos em meio aquoso vêm sendo estudados nas últimas décadas. Entretanto, deve-se considerar que os processos desenvolvidos devem ser direcionados a um tipo particular de efluente, já que não existem procedimentos padronizados que possam ser aplicados no tratamento de um grande número de efluentes. De maneira geral, procuram-se alternativas que permitam, não somente a remoção dos contaminantes, mas sim a sua completa mineralização [Freire, 2000].

3.1. Processos físicos

Os processos físicos de tratamento estão baseados na separação de fases (sedimentação, decantação, filtração, centrifugação e flotação), transição de fases (destilação, evaporação e cristalização), transferência de fases (extração por solventes e adsorção) e na separação molecular, ou seja, processos baseados na utilização de membranas seletivas (hiperfiltração, ultrafiltração, nanofiltração, osmose reversa e diálise) [Rodrigues, 2001].

Um dos processos mais amplamente utilizados é baseado na separação por adsorção, entretanto alguns adsorventes apresentam um alto custo, e devido a isso, vários métodos alternativos têm sido estudados. Entre estes, pode-se citar a biossorção, baseada na utilização de materiais de origem natural ou biomassas microbianas como: bactérias, fungos e algas, para remoção de contaminantes orgânicos e/ou inorgânicos. Além de ser um método eficiente e de baixo custo, a biossorção ainda apresenta outras vantagens quando comparada aos demais métodos utilizados, como a alta seletividade e potencial para regeneração da biomassa, possibilitando a reutilização em novas etapas de remoção, após a retirada do poluente.

Neste sentido, existe um grande interesse pela busca de materiais alternativos de baixo custo que possam ser utilizados, em substituição ao carvão ativado, como adsorventes para a eliminação de poluentes orgânicos, tais como argilas [Oliveira, 2002 e Nassar, 1994], bagaço de cana [Nassar, 1997], madeira

[Asfour, 1991] e outros resíduos celulósicos [McKay, 1983 e Nicolet 1999]. Além de sólidos de origem mineral e vegetal, estudos recentes vêm se destacando pelo uso de microorganismos na retenção de metais pesados e/ou compostos orgânicos persistentes. A parede celular destes microorganismos contém substâncias como proteínas, lipídeos, polissacarídeos entre outros componentes celulares que são capazes de adsorver os compostos poluentes orgânicos e/ou inorgânicos. Estudos realizados indicaram um grande potencial das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* na remoção de metais pesados da água, podendo ser usada como bioacumulador desses metais, sendo uma ótima alternativa para a descontaminação ambiental [Del Rio, 2004].

Segundo dados compilados por Ajamal e colaboradores [2000] o uso de bagaço de laranja como adsorvente alternativo se mostrou eficaz na remoção de Ni em efluente de galvanoplastia, onde mais de 93% do referido metal foi adsorvido. Dallago e colaboradores [2005] utilizaram o couro residual “wet blue” como material adsorvente de corantes têxteis em solução aquosa, os quais apresentaram elevada capacidade de adsorção, similar à do carvão ativado, adsorvente comumente empregado para o tratamento de efluentes têxteis. Santos e colaboradores [2007] verificaram o desempenho de quatro biomassas de baixo custo (sabugo de milho, serragem de madeira, mesocarpo do coco e bagaço de cana) na capacidade de adsorção de hidrocarbonetos leves, sendo que os melhores resultados foram atribuídos ao mesocarpo de coco e ao bagaço de cana.

Geralmente, estes processos permitem uma depuração eficiente dos efluentes. Entretanto, as substâncias contaminantes não são degradadas ou eliminadas, mas apenas transferidas para uma nova fase. Embora o volume do efluente seja significativamente reduzido, a disposição final das fases sólidas continua sendo um problema sem solução [Kunz, 2002].

3.2. Processos biológicos

Estes processos fundamentam-se na oxidação biológica por microorganismos, decompondo a matéria orgânica em substâncias mais simples

como CO₂ e H₂O (ou CH₄ e CO₂), com custos relativamente baixos. A capacidade de certos microorganismos para degradar substâncias orgânicas tóxicas é um fato bem documentado [Uzura, 2001; Koller, 2000; Juhasz, 2000; Mills, 2003]. Em termos de sua função metabólica, os processos biológicos podem ser classificados como anaeróbios, aeróbios, anóxicos e facultativos [Biton, 1999; Eddy, 2003].

Os processos aeróbios consistem na utilização de bactérias, fungos e algas que requerem oxigênio molecular como acceptor final de elétrons gerando CO₂ e H₂O a partir da matéria orgânica. As formas mais comuns para aplicação deste processo são as lagoas aeradas, sistemas de lodos ativados, filtros biológicos, entre outros. O processo de lodos ativados consiste na agitação dos efluentes na presença de microorganismos e ar, durante o tempo necessário para metabolizar e flocular uma grande parte da matéria orgânica. Infelizmente, o processo apresenta o grande inconveniente de ser bastante susceptível à composição do efluente (cargas de choque), além de produzir um grande volume de lodo. Apesar deste sistema apresentar uma eficiência relativamente alta na remoção de compostos poluentes simples, o problema relacionado ao acúmulo de lodo torna-se crítico, impedindo qualquer possibilidade de reaproveitamento.

Nos processos anaeróbios, o oxigênio molecular está ausente e desta forma, algumas formas de carbono (CO₂), enxofre (SO₄²⁻), e nitrogênio (NO₃⁻) participam como aceptores de elétrons gerando CO₂ e CH₄ como produtos de biodegradação. Os principais microorganismos empregados no processo anaeróbio são as bactérias [Faisal, 2001]. A capacidade de uma bactéria anaeróbia decompor um determinado substrato é bastante específica, dependendo principalmente das enzimas que possui. A eficiência global de conversão da matéria orgânica em produtos estabilizados depende da eficiência de cada reação e do equilíbrio entre as diversas espécies e entre os grupos de bactérias presentes no sistema anaeróbio [Lema, 1991]. Ao contrário dos processos aeróbios, os processos anaeróbios não necessitam de equipamentos de aeração artificial e há geração de biogás (CH₄), que pode ser aproveitado na indústria como fonte de energia. O processo anaeróbio possui baixa produção de

biomassa, apenas 10 a 20% do volume produzido no aeróbio, devido à reduzida taxa de crescimento dos microrganismos no consórcio anaeróbio [Wendt, 1999].

Os processos facultativos empregam bactérias facultativas, que têm a capacidade de sobreviver tanto na presença quanto na ausência de oxigênio molecular livre. Sob ambiente anóxico (ausência de oxigênio), as bactérias desnitrificantes para se desenvolverem usam o nitrato como fonte de alimento, havendo a formação de nitrogênio gasoso (N_2), CO_2 e água [Eddy, 2003].

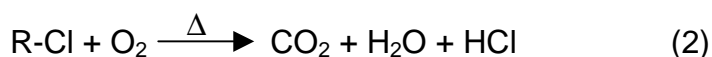
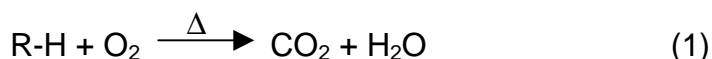
Vários estudos têm sido realizados com a finalidade de se identificar novas linhagens capazes de degradar uma grande variedade de compostos poluentes. Dentre estes, pode-se citar o trabalho de Gesell e colaboradores [2001] que testaram a atividade do fungo *Paecilomyces lilacinus* na degradação do fungicida difenil. Os resultados indicaram que o fungo é tolerante ao fungicida, sendo capaz de oxidar a molécula do difenil. Estudos sobre a biodegradação de poluentes voláteis – como benzeno, tolueno e xilenos – em reatores seqüenciais anóxidos/microaeróbios têm mostrado que tolueno e p-xilenos são degradados sob condições anóxicas (nitrificação), enquanto benzeno, orto e para-xilenos somente são biodegradáveis sob condições microaeróbias [Ma, 2001].

Os processos biológicos apresentam algumas desvantagens, pois a decomposição biológica do material orgânico requer condições ambientais favoráveis, como o controle da temperatura, pH, tempo de contato entre outros e, em condições aeróbias, oxigênio. Muitos compostos não são efetivamente degradados pelos microrganismos, principalmente organoclorados e nitroaromáticos, ficando adsorvidos nos flocos de lodo, o que gera um novo problema a respeito da disposição final desta biomassa contaminada. Além disso, alguns problemas associados com perdas de substratos tóxicos por volatilização e contaminação de lençóis freáticos por percolação, também são bastantes críticos [Freire, 2000].

3.3. Processos Químicos

3.3.1. Incineração

A incineração constitui-se como um dos procedimentos mais clássicos para a degradação de resíduos e espécies contaminantes. A base química envolvida nestes processos é a oxidação dos compostos orgânicos pelo oxigênio a elevadas temperaturas (>800 °C) formando principalmente CO₂ e H₂O, conforme as reações mostradas abaixo:



Este processo apresenta algumas desvantagens como, por exemplo, levar à formação de compostos mais tóxicos que os de origem, pois algumas moléculas orgânicas podem não ser mineralizadas a CO₂ e H₂O. Vários estudos têm relatado a formação de dibenzo-p-dioxinas e dibenzofuranos policlorados em processos de incineração [Harnly, 1995; Addink, 1995; Addink, 1998; Ghorishi, 1995; Pennise, 1996; Cains, 1997]. Além disso, são processos muito caros.

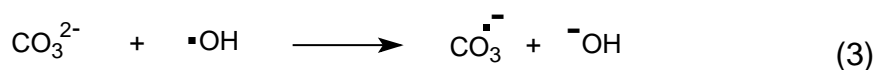
3.3.2. Processos oxidativos avançados (POAs)

Dentre as tecnologias oxidativas, os processos oxidativos avançados (POAs) têm merecido destaque. Baseiam-se na formação de radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$), altamente oxidante. Devido ao seu elevado potencial de redução (Tabela 3.1), este radical é capaz de oxidar uma ampla variedade de compostos orgânicos podendo levar à sua completa mineralização (conversão a CO₂ e H₂O) em um tempo reacional relativamente curto. Como se pode observar, o radical hidroxila apresenta o segundo maior potencial de redução dentre os oxidantes apresentados.

Tabela 3.1 - Potenciais de redução de alguns oxidantes mais comuns

Oxidante	Potencial de redução (V)
Flúor	3,03
Radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$)	2,80
Ozônio (O_3)	2,07
Peróxido de hidrogênio	1,78
Radical hidroperoxila ($\cdot\text{OOH}$)	1,70
Permanganato de potássio	1,59
Dióxido de cloro	1,57
Ácido hipocloroso	1,49
Ácido hipoiódoso	1,45
Cloro	1,36
Iodo	1,09
Bromo	0,54

Apesar dos POAs serem uma alternativa promissora para o tratamento de compostos persistentes, a geração dos radicais hidroxila é um processo relativamente caro e apresenta uma série de dificuldades em sua implementação em grande escala, tais como a remoção ou imobilização das nanopartículas dos fotocatalisadores, necessidade de fontes de radiação ultravioleta e eletrodos, adição constante de reagentes instáveis como ozônio, peróxidos, entre outros [Freire, 2000; Neyens, 2002; Pêra-Titus, 2004; Kwon, 1999; Esplugas, S.; 2002]. Além disso, os radicais $\text{HO}\cdot$ podem ser consumidos em reações paralelas que não levam à degradação dos compostos de interesse diminuindo, desta forma, a eficiência destes processos, como por exemplo, os íons carbonatos que transferem um elétron para o $\text{HO}\cdot$ tornando-se ânions radicais carbonato mononegativos, que são inativos na reação com os poluentes (Equação 3) [Baird, 2002].



3.3.3. Degradação redutiva mediada por metais de valência zero

Devido à grande dificuldade de implementação de alguns processos de depuração de efluentes, novas tecnologias têm sido propostas nas últimas décadas. Dentro deste contexto, destacam-se os trabalhos que utilizam a degradação redutiva, mediada por metais de valência zero. Alguns compostos com centros deficientes de elétrons, tais como compostos halogenados e/ou nitrogenados, que reagem lentamente com HO[•], são facilmente degradados pelos processos redutivos. Vários metais têm sido utilizados para estes fins, tais como Zn⁰, Sn⁰, Pt⁰, Mg⁰, entretanto o ferro metálico tem merecido destaque. Souza e Zamora [2005] estudaram a degradação redutiva de corantes azo, utilizando esponja de aço como fonte de ferro metálico, obtendo-se resultados promissores quanto a descoloração dos corantes estudados. A redução de alguns pesticidas (benomyl, picloram e dicamba) foi estudada por Ghauch [2000] utilizando-se ferro metálico em um reator cônico, no qual foram obtidas elevadas taxas de degradação em poucos minutos de reação. Alguns metais e seus respectivos potenciais de redução são citados na Tabela 3.2.

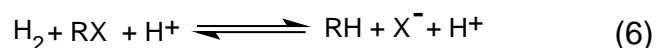
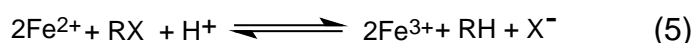
Tabela 3.2 - Potenciais de redução de alguns metais mais comuns.

Semi-reação de redução	Potencial de redução (V)
$\text{Cr}^{3+} + 1\text{e}^{-} \rightarrow \text{Cr}^{2+}$	-0,41
$\text{Fe}^{2+} + 2\text{e}^{-} \rightarrow \text{Fe}$	-0,44
$\text{Cr}^{3+} + 3\text{e}^{-} \rightarrow \text{Cr}$	-0,74
$\text{Zn}^{2+} + 2\text{e}^{-} \rightarrow \text{Zn}$	-0,76
$\text{Mn}^{2+} + 2\text{e}^{-} \rightarrow \text{Mn}$	-1,18
$\text{Al}^{3+} + 3\text{e}^{-} \rightarrow \text{Al}$	-1,66
$\text{Mg}^{2+} + 2\text{e}^{-} \rightarrow \text{Mg}$	-2,37

Pode-se perceber que o ferro apresenta um potencial de redução suficiente para promover a redução de inúmeras substâncias de interesse, tais como corantes alimentícios e têxteis [Nam, 2000], compostos orgânicos clorados [Liu,

2006], pesticidas [Ghauch, 2000], entre outros. Além disso, ele é o quarto elemento mais abundante da crosta terrestre, representando 6,2% de seu peso [Lee, 1999]. Ele tem apresentado elevada efetividade na degradação de contaminantes ambientais além de apresentar baixo custo e baixa toxicidade nas condições utilizadas [Matheson, 1994].

Existem três rotas pelas quais os compostos organoclorados em meio aquoso podem ser reduzidos pelo ferro de valência zero. A primeira delas (Equação 4) é a transferência direta de elétrons do Fe^0 para o haleto de alquila adsorvido na superfície metálica. A segunda rota envolve a reação dos íons Fe^{2+} formados através da corrosão do Fe^0 , que ocorre segundo a Equação 5. E finalmente, a terceira via (Equação 6) tem o H_2 , produzido como um produto da corrosão do ferro pela água, como agente redutor.



É importante mencionar que a reação envolvendo o H_2 (Equação 6) não é efetiva na ausência de catalisadores e, desta forma, a própria superfície metálica do Fe^0 pode ser utilizada como catalisador. A Figura 3.1 apresenta um esquema das rotas redutivas de um composto organoclorado em um sistema empregando ferro de valência zero.

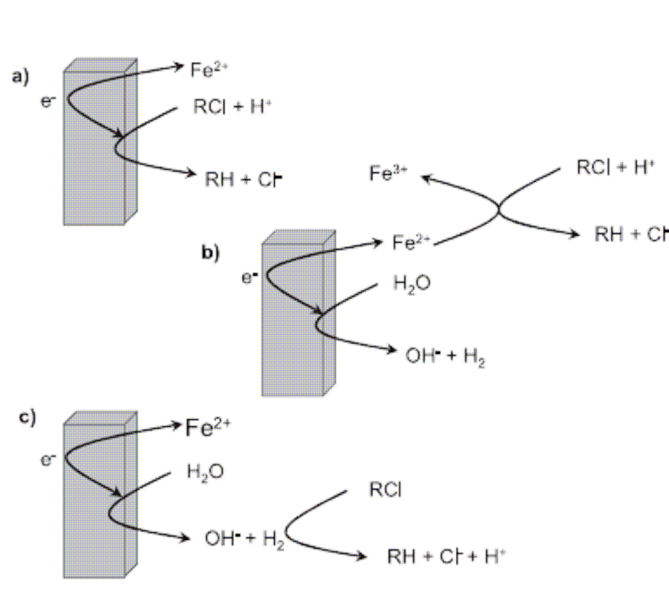


Figura 3.1. Rotas de dealogenação de organoclorados em sistema Fe⁰/H₂O: a) transferência direta de elétrons da superfície metálica para o organoclorado adsorvido na superfície do Fe⁰; b) redução do composto alvo pelo Fe²⁺ produzido pela corrosão do ferro metálico; c) hidrogenação do poluente organoclorado pelo H₂ formado em condições anaeróbias. Fonte: Pereira, 2005

Embora alguns metais apresentem um potencial de redução superior ao do ferro, estes metais apresentam uma capacidade de passivação muito mais elevada, isto é, são muito mais susceptíveis à formação de óxidos e/ou hidróxidos sobre a superfície metálica impedindo a transferência de elétrons para o substrato. Desta forma, a utilização de técnicas como ultra-som podem ser utilizadas nestes processos permitindo a limpeza contínua da superfície metálica, garantindo a efetividade destes metais nos processos redutivos. Hung [1998] estudou a cinética e o mecanismo de degradação redutiva do tetracloreto de carbono por ferro elementar na presença de radiação ultra-sônica. Ele observou que a associação dos dois processos resultava em um aumento significativo na resposta de degradação, sendo este aumento atribuído (1) à limpeza contínua e ativação química da superfície do Fe⁰ por combinar efeitos físicos e químicos da cavitação acústica e (2) a aceleradas taxas de transporte dos reagentes à superfície do Fe⁰.

Um dos trabalhos mais representativos a respeito da potencialidade e aplicabilidade do processo de remediação via degradação redutiva com Fe^0 foi realizado por Guillham e colaboradores [1996]. Os autores desenvolveram uma técnica *in situ* promissora para o tratamento de águas subterrâneas contaminadas por compostos orgânicos clorados voláteis (principalmente C_1 e C_2). O processo foi baseado na construção de uma “barreira” permeável subterrânea perpendicular à direção do fluxo de água subterrânea (Figura 3.2). Esta “barreira” era constituída de camadas de areia, entre as quais foi adicionado ferro metálico na forma de pequenos grânulos. Durante o processo de difusão dos compostos poluentes através da parede, havia a interação destes com o Fe^0 que promovia sua dealogenação, obtendo-se água purificada sem necessidade do seu bombeamento para fora do subsolo. Um aspecto importante a ser destacado é que a fonte de ferro zero empregada era um produto de descarte de vários processos de manufatura como, por exemplo, rejeitos metalúrgicos. Desta forma, estes processos apresentam uma vantagem adicional, pois permitem a reutilização de rejeitos como agentes ativos na depuração e conservação da qualidade do meio ambiente.

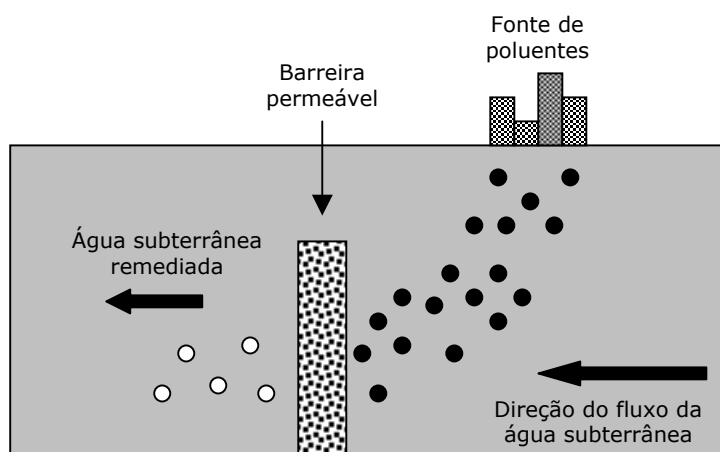


Figura 3.2. Purificação *in situ* de águas subterrâneas por meio de uma barreira contendo Fe^0 .

Experimentos de campo realizados por Guillham e colaboradores [1996] indicam que essa nova tecnologia pode funcionar com sucesso durante vários

anos, podendo substituir no futuro, os métodos de “bombeamento e tratamento” em muitas situações que envolvam metanos e etanos clorados dissolvidos em águas subterrâneas. Existem também algumas possibilidades de que a técnica possa ser utilizada para remediar solo contaminado com metais tóxicos altamente oxidados [Baird, 2002].

Como desvantagens dos processos redutivos podem-se citar a formação de óxidos, os quais podem ficar retidos na superfície metálica reduzindo a velocidade da reação. Além disso, pode ocorrer a simples adsorção ou precipitação dos contaminantes, o que confere ao processo um efeito não destrutivo.

3.4 Técnicas analíticas utilizadas

3.4.1. Espectrofotometria de Absorção Molecular na região do Ultravioleta-Visível (EAM UV-Vis)

Espectrofotometria de absorção molecular na região UV-Vis do espectro eletromagnético é uma das técnicas analíticas mais empregadas, em função de sua robustez, custo relativamente baixo e do grande número de aplicações desenvolvidas [Lobinski, et al., 1992]. Quando a radiação eletromagnética contínua passa através de um material transparente, uma parte dessa radiação pode ser absorvida. Como resultado da absorção de energia, os átomos ou moléculas passam de um estado de baixa energia (estado fundamental) para um estado de energia mais alta (estado excitado). A Figura 3.3 mostra esse processo de excitação, que é quantizado. A radiação eletromagnética que é absorvida tem energia exatamente igual à diferença de energia entre os estados excitado e fundamental.

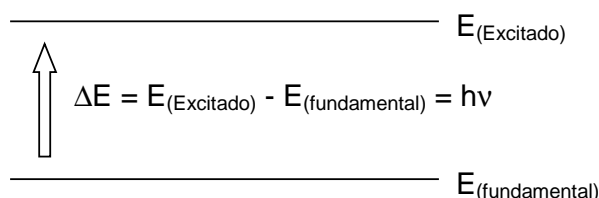


Figura 3.3 - Esquema ilustrativo do processo de excitação de um elétron através de radiação eletromagnética.

Na EAM UV-Vis as transições que resultam na absorção da radiação eletromagnética nesta região do espectro são transições entre níveis de energia eletrônicos. Quando uma molécula absorve energia, um elétron é promovido de um orbital ocupado para um orbital não ocupado de maior energia potencial. Geralmente, a transição mais provável ocorre do orbital molecular ocupado mais alto (HOMO – Highest occupied molecular orbital) para o orbital molecular não ocupado mais baixo (LUMO – lowest unoccupied molecular orbital).

A técnica EAM-UV-Vis é fundamentada na lei de Lambert-Beer, que é a base matemática para medidas de absorção de radiação por amostras no estado sólido, líquido ou gasoso, nas regiões ultravioleta, visível e infravermelho do espectro eletromagnético. Para medidas de absorção de radiação em determinado comprimento de onda, tem-se: $A = \log(I_0/I) = \epsilon bc$, onde A é a absorvância, I_0 é a intensidade da radiação monocromática que incide na amostra e I é a intensidade da radiação que emerge da amostra. A absorvidade molar (ϵ) é uma grandeza característica da espécie absorvente, cuja magnitude depende do comprimento de onda da radiação incidente. O termo “ c ” é a concentração da espécie absorvente e “ b ”, a distância percorrida pelo feixe através da amostra [Perkampus, 1992].

Um espectrofotômetro UV-Vis mede a quantidade de luz absorvida a cada comprimento de onda nas regiões UV e visível do espectro. Os componentes básicos deste aparelho consistem de uma fonte de luz, um monocromador, e um detector (Figura 3.4). A fonte de luz é geralmente uma lâmpada de deutério ou xenônio, que emitem radiação eletromagnética na região UV do espectro. Uma segunda fonte de luz, geralmente uma lâmpada de Tungstênio, é usada para comprimentos de onda na região visível do espectro. O monocromador é uma rede de difração; sua função é separar o feixe de luz em seus comprimentos de onda constituintes. Um sistema de fendas focaliza a radiação desejada sobre a amostra e após atravessar a amostra, a radiação atinge o detector, que registra a intensidade da luz transmitida (I). O detector é geralmente uma fotomultiplicadora, embora em instrumentos mais modernos estejam sendo usados fotodiodos.

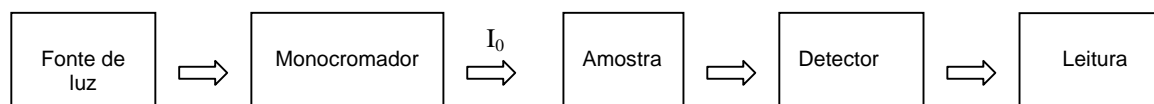


Figura 3.4 – Componentes básicos de um espectrofotômetro

A EAM-UV-Vis pode ser usada na elucidação da estrutura das moléculas orgânicas, embora seu principal emprego em Química Analítica esteja relacionado com a determinação da concentração de analitos em uma amostra desconhecida. A relação $A = \epsilon bc$ indica que a quantidade de absorção por uma amostra, em determinado comprimento de onda, depende de sua concentração. Essa relação é geralmente linear sobre a faixa de concentração adequada para análise. Para determinar a concentração de amostras desconhecidas, deverá ser construída uma curva de calibração usando soluções com concentrações conhecidas. Neste caso, deverá ser selecionado o comprimento de onda de máxima absorção ($\lambda_{\text{máx}}$). Assim, o valor de absorbância da amostra é lido no espectrofotômetro e a sua concentração é obtida na curva de calibração através do ponto de intersecção com o eixo das abscissas [Skoog, 2002].

3.4.2. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - “High Performance Liquid Chromatography” (HPLC)

A cromatografia líquida de alta eficiência é um dos métodos analíticos mais utilizados para fins qualitativos e quantitativos devido à sua adaptabilidade para determinações quantitativas com boa sensibilidade e possibilidade de separar espécies não voláteis e termicamente instáveis. Suas aplicações se estendem à indústria farmacêutica, a determinações ambientais e a muitos outros campos da ciência, como o da medicina.

A técnica baseia-se no emprego de pequenas colunas, empacotadas com materiais especialmente preparados, e uma fase móvel que é bombeada sob altas pressões através da fase estacionária (coluna). A técnica HPLC é aplicada em separações e análises quantitativas de um grande número de compostos orgânicos presentes em vários tipos de amostras, de forma rápida, com alta resolução, eficiência e sensibilidade. As forças físicas e químicas que atuam entre

os analitos e as duas fases são responsáveis pela retenção destes sobre a coluna cromatográfica. A diferença na magnitude dessas forças é responsável pela resolução e, portanto pela separação dos analitos. As forças que agem sobre as moléculas são de cinco tipos: forças de dispersão de London ou forças de Van der Waals; interações de dipolo induzido; ligações de hidrogênio; interações dielétricas e interações eletrostáticas e coulombianas.

O equipamento (Figura 3.5) consiste em um reservatório que contém a fase móvel, uma bomba com a finalidade de impelir a fase móvel pelo sistema cromatográfico, um injetor para introduzir a amostra no sistema, uma coluna cromatográfica, um detector e um dispositivo de captura de dados, geralmente um computador. Além de receber e enviar informações para o detector, computadores são utilizados para controlar todo o sistema cromatográfico proporcionando maior operacionalidade e logística de análise.

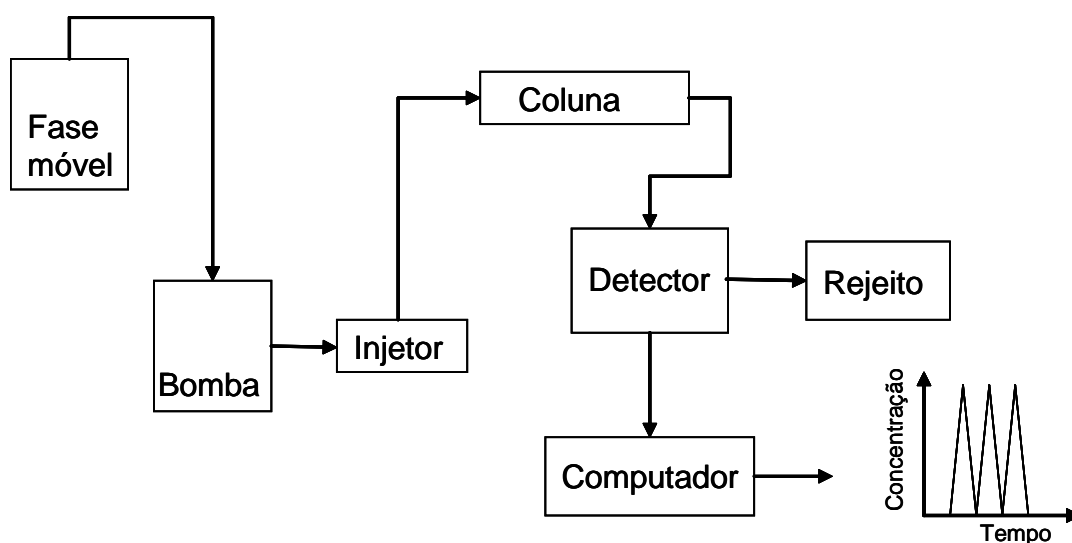


Figura 3.5 - Componentes básicos de um equipamento de HPLC

3.4.3. Espectrometria de Massas – “Mass Spectrometry” (MS)

A espectrometria de massas (“Mass Spectrometry”) é uma poderosa ferramenta que foi usada, no princípio, para determinação de massas atômicas e, vem sendo empregada, na atualidade, na busca de informações sobre a estrutura

de compostos orgânicos, na análise de misturas orgânicas complexas, na análise elementar e na determinação da composição isotópica dos elementos. Esta técnica fornece informações para profissionais de diversas áreas como químicos, biólogos, farmacêuticos, físicos, astrônomos, entre outros.

O espectrômetro de massas é um instrumento que separa íons, positivos ou negativos, produzidos a partir de átomos ou moléculas, das mais simples às mais complexas, de acordo com a razão massa/carga (m/z). Este instrumento deve conter uma fonte de íons, um analisador de massas e um detector de íons, conforme ilustrado na Figura 3.6. Na fonte de íons, os componentes de uma amostra são convertidos em íons, pela ação de um agente ionizante, os quais são imediatamente acelerados em direção ao analisador de massa. A função do analisador de massa é separar tais íons de acordo com a sua relação m/z . Finalmente um detector recebe estes íons que foram separados pelo analisador, transformando a corrente de íons em sinais elétricos que são processados, armazenados na memória de um computador e mostrados em uma tela.

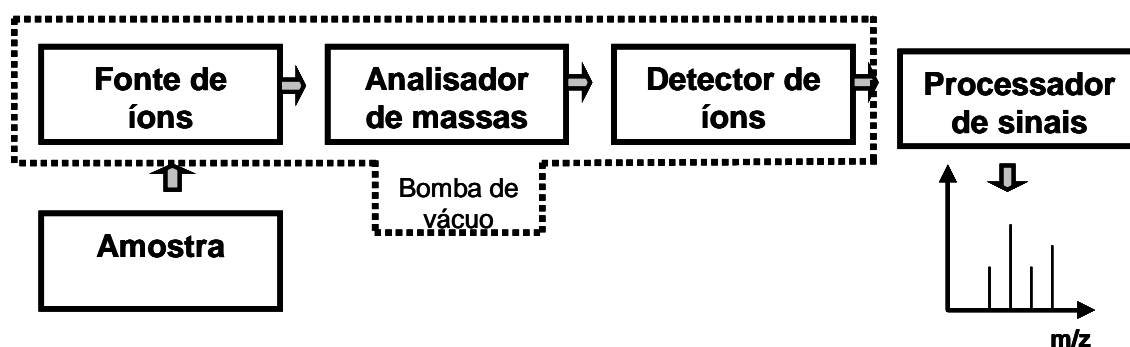


Figura 3.6 - Componentes básicos de espectrômetro de massas

3.4.3.1. Introdução da amostra e técnicas de ionização

As amostras podem ser introduzidas em um espectrômetro de massas de várias maneiras, sendo que a inserção direta e a infusão através de uma coluna capilar são as mais comuns. A infusão capilar pode introduzir pequenas quantidades da amostra no espectrômetro de massas sem destruir o vácuo. Esta técnica geralmente está acoplada a outras técnicas de separação incluindo a cromatografia líquida (*liquid chromatography* - LC) e cromatografia gasosa (*gás*

chromatography – GC), que primeiramente separam os componentes de uma mistura para posterior análise.

Existem várias técnicas de ionização, e isso se deve à grande variedade de amostras e espécies de interesse. Amostras sólidas, líquidas ou gasosas contendo espécies voláteis ou não e com interesses que englobam desde a análise elementar até a determinação da composição de proteínas requerem diferentes processos de ionização. Algumas das principais técnicas de ionização e os respectivos agentes ionizantes são mostrados na Tabela 3.3.

Tabela 3.3 – Algumas das principais técnicas de ionização

Técnica de ionização	Agente ionizante
Impacto de Elétrons (EI)	Elétrons energéticos
Ionização Química (CI)	Íons de um gás reagente
Ionização por Campo Elétrico (FI)	Eletrodo com alto potencial elétrico
Luz Síncrotron	Fótons
Ionização por Electrospray (ESI)	Campo elétrico intenso
Dessorção por Campo Elétrico (FD)	Eletrodo com potencial elétrico alto
Ionização/Dessorção por Laser, Assistido por uma Matriz (MALDI)	Feixe de laser (UV)
Dessorção de Plasma (PD)	Fragmentos de fissão do ^{252}Cf (MeV)
Bombardeamento por Átomos Rápidos (FAB)	Feixe de átomos energéticos (\gg 5 KeV)
Emissão de Íons Secundários (SIMS)	Feixe de íons energéticos (5-15 KeV)
Ionização Térmica - Thermospray (TS)	Temperatura alta
Impacto de Íons Pesados (HIMS)	Feixe de íons de aceleradores (MeV)

Dentre as técnicas de ionização citadas anteriormente, a ionização por “electrospray” destaca-se como uma alternativa para geração de íons a partir de espécies pouco voláteis presentes em fase líquida. Uma representação esquemática é apresentada na Figura 3.7. Esta técnica se baseia na formação de um “spray” eletrostático, a partir do qual são geradas pequenas gotas carregadas e destas são liberados os íons. Quando um potencial positivo, por exemplo, é

aplicado na solução, os íons positivos tendem a se afastar para uma região menos positiva, isto é, em direção ao contra-eletrodo. Assim, a gota formada na ponta do capilar estará enriquecida em íons positivos. Este tipo de separação de carga é chamado de processo eletroforético. Conforme a densidade de carga aumenta na gota, o campo elétrico formado entre o capilar e o contra-eletrodo aumenta provocando a deformação da gota. A gota ganha a forma de um cone que é denominado de cone de Taylor [Moraes, 2003].

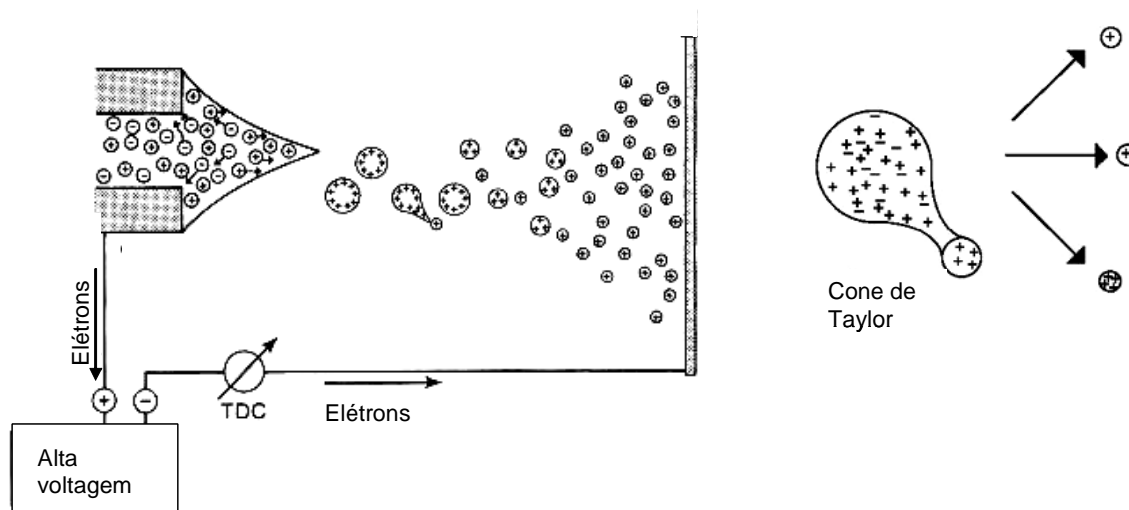


Figura 3.7 – Representação esquemática da técnica ESI.

Esta gota na forma de cone permanece “presa” ao capilar até o momento em que a densidade de carga na superfície da gota e o aumento da repulsão entre os íons vençam a tensão superficial do líquido, ocorrendo então a liberação de pequenas gotas com alta densidade de carga. A frequência deste processo depende da magnitude do campo elétrico, da tensão superficial do solvente e da condutividade da solução. Depois da liberação das gotas com alta densidade de carga do cone de Taylor, estas passam pela região entre a ponta do capilar e o contra eletrodo e vão sofrendo dessolvatação. A evaporação do solvente é favorecida pela energia térmica do ambiente e pelo auxílio de um gás secante, normalmente nitrogênio. Durante o processo de dessolvatação, a densidade de carga aumenta até um ponto em que as forças de repulsão vencem a tensão superficial e gotículas são liberadas pela fissão da gota inicial [Morais, 2003].

Como descrito anteriormente, o processo de dessolvatação é bem conhecido, entretanto, não se sabe exatamente como o íon é gerado em fase gasosa. Existem dois diferentes mecanismos que foram propostos para a formação dos íons na fase gasosa. O primeiro mecanismo, proposto por Dole em 1968, depende da formação de gotas extremamente pequenas, com raio de aproximadamente 1 nm, e que contenham somente um íon. A evaporação do solvente converterá esta gota em um íon na fase gasosa. Esse mecanismo foi denominado modelo da carga residual (CRM). O outro mecanismo foi proposto por Thomson e Iribarne – modelo da evaporação do íon (IEM) - e sugere que a emissão dos íons ocorre diretamente de gotas muito pequenas e altamente carregadas. Para começar a ocorrer este processo, a gota deve ter um raio de 8 nm e 70 cargas aproximadamente. Nestas condições, a gota não sofre ruptura, mas pode emitir íons para a fase gasosa. [Morais, 2003].

Nos últimos anos, a ionização por “electrospray” tem sido extensivamente empregada. Dados da literatura reportam a utilização da técnica para diferentes finalidades, podendo-se destacar a identificação de substâncias em soluções aquosas, determinação de resíduos de agrotóxicos em água e alimentos, identificação de produtos de relevância ambiental, mapeamento proteômico, *screening* de drogas, adulteração de bebidas entre outros. Como exemplo, pode-se citar o trabalho de Muccio e colaboradores [2005], que desenvolveram um método simples e rápido, utilizando extração em fase sólida e cromatografia líquida acoplada a Espectrometria de Massas com Fonte de Ionização Electrospray (LC-ESI-MS), para a determinação simultânea de quatro inseticidas neonicotinóides em frutas e vegetais.

3.5 - Métodos quimiométricos para otimização de experimentos

Todo experimento envolve uma série de variáveis (ou fatores) com maior ou menor grau de importância para o sistema em estudo. Desta forma, uma das principais questões que surgem em trabalhos experimentais é a determinação da influência das variáveis e de suas interações sobre a resposta de interesse. Uma prática comum em laboratório é realizar experimentos de forma univariada, ou seja, alterando uma variável de cada vez, enquanto as demais permanecem

constantes. Entretanto, a maneira mais eficiente de otimizar um sistema é utilizar uma abordagem científica denominada planejamento estatístico de experimentos. Nele, todas as variáveis são modificadas ao mesmo tempo, de forma cuidadosamente elaborada, através de um planejamento experimental. A razão para isso é que as variáveis podem apresentar interações significativas e o valor ideal para uma delas pode depender do valor da outra. Desta forma, resultados apropriados são obtidos em menor tempo e a custos mínimos [Neto et. al., 2003; Neve e Schvartzman, 2002].

Em um planejamento fatorial de experimentos são investigados os efeitos de todas as variáveis experimentais de interesse e os efeitos das interações dessas variáveis sobre a resposta, utilizando-se um número reduzido de experimentos. Se a combinação de k fatores (variáveis) é investigada em dois níveis, um planejamento fatorial consistirá de 2^k experimentos. Normalmente, os níveis dos fatores quantitativos (como por exemplo, concentrações de uma substância, valores de temperatura, pH, etc.) são nomeados pelos sinais - (menos) para o nível mais baixo e + (mais) para o nível mais alto, porém o que importa é a relação inicial entre o sinal dado e o efeito obtido. Para fatores qualitativos (como por exemplo, tipos de ácidos, tipos de catalisadores, etc.), como não existem valores altos ou baixos, fica a critério do analista estabelecer os seus níveis [Teófilo e Ferreira, 2006].

Pode-se assumir, desde o início do experimento, que o sistema estudado (domínio experimental) é regido por alguma função que é descrita pelas variáveis experimentais. Normalmente esta função pode ser aproximada por um polinômio, o qual pode fornecer uma boa descrição entre os fatores e a resposta obtida. A ordem deste polinômio é limitada pelo tipo de planejamento usado. Planejamentos fatoriais de dois níveis podem estimar apenas efeitos principais e interações. Planejamentos fatoriais de três níveis (com ponto central) podem estimar, além disso, o grau de curvatura na resposta.

Para descrever tais modelos em um estudo de triagem, são utilizados os polinômios mais simples, ou seja, aqueles que contêm apenas termos lineares. Considerando um exemplo para duas variáveis, x_1 e x_2 dois polinômios seriam:

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + e \quad (7)$$

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{12}x_{12} + e \quad (8)$$

Segundo a Equação 7, o coeficiente b_0 é o valor populacional da média de todas as respostas obtidas, b_1 e b_2 são os coeficientes relacionados com as variáveis x_1 e x_2 , respectivamente, e e é o erro aleatório associado ao modelo e, para o caso da Equação 8, b_{12} , é o coeficiente para a interação x_1x_2 . A partir do planejamento montado, pode-se construir a matriz de coeficientes de contraste, de acordo com a Tabela 3.4. A matriz de coeficientes de contraste \mathbf{X} , juntamente com o vetor de respostas \mathbf{y} , obtido experimentalmente, será utilizada para cálculo dos coeficientes do modelo, conhecidos também como vetor de regressão.

Tabela 3.4 – Matriz de coeficientes de contraste para um planejamento fatorial completo 2^2 .

Média	Variáveis		Interações
	x_1	x_2	x_{12}
+	-	-	+
+	+	-	-
+	-	+	-
+	+	+	+

O modelo procurado, descrito pelas Equações 7 e 8 pode ser representado matricialmente pela Equação 9.

$$\hat{\mathbf{y}} = \mathbf{Xb} \quad (9)$$

Onde $\hat{\mathbf{y}}$ é o vetor das respostas estimadas pelo modelo e \mathbf{b} o vetor de regressão. Uma maneira de determinar o vetor de regressão \mathbf{b} é através do método dos quadrados mínimos, definido pela Equação 10, em que \mathbf{X}^t indica a

matriz transposta de \mathbf{X} . $(\mathbf{X}'\mathbf{X})^{-1}$ é a matriz inversa do produto da transposta da matriz \mathbf{X} com ela mesma.

$$\mathbf{b} = (\mathbf{X}'\mathbf{X})^{-1}\mathbf{X}'\mathbf{y} \quad (10)$$

Neste trabalho, as avaliações de significância para a decisão estatística, tanto para efeitos quanto para coeficientes do modelo, foram realizados empregando o teste t (*distribuição de student*), através do valor p .

3.5.1 - Avaliação do modelo matemático

A maneira mais confiável de se avaliar a qualidade do ajuste do modelo é empregando a análise de variância (ANOVA). Na ANOVA a variação total da resposta é definida como a soma quadrática de dois componentes: a soma quadrática da regressão (SQ_{regr}) e a soma quadrática dos resíduos (SQ_{res}). A soma quadrática da variação total, corrigida para a média (SQ_{tot}) é representada pela Equação 11:

$$SQ_{tot} = SQ_{regr} + SQ_{res} \quad (11)$$

Sendo:

$$SQ_{regr} = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{r_i} (\hat{y}_i - \bar{y})^2 \quad (12)$$

$$SQ_{res} = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{r_i} (y_{ij} - \hat{y}_i)^2 \quad (13)$$

Das Equações 12 e 13, m é o número total de níveis do planejamento \hat{y}_i é o valor estimado pelo modelo para o nível i e \bar{y} é o valor médio das replicatas (r). As replicatas realizadas no ponto central deixarão um resíduo para cada observação y_i . A soma quadrática destes resíduos fornece a soma quadrática residual somente no nível zero, que é considerada de acordo com a Equação 13.

Quando um modelo é ajustado aos dados, a soma quadrática do erro puro é sempre uma parte da soma quadrática dos resíduos. Então, cada resíduo pode ser desmembrado em duas partes, de acordo com a Equação 14.

$$(y_{ij} - \hat{y}_i) = (y_{ij} - \bar{y}_i) - (\hat{y}_i - \bar{y}_i) \quad (14)$$

Pode-se perceber pela Equação 14 que o primeiro termo da direita diz respeito à diferença entre o valor de cada observação individual no nível e a média de todas as observações naquele nível. Já o segundo termo corresponde à diferença entre o valor estimado no nível e a média de todas as observações naquele nível. A subtração entre estes dois termos fornece como resposta o resíduo de cada observação individual, sendo que, para evitar termos negativos nesta equação, tomam-se suas diferenças quadráticas, obtendo-se desta forma a Equação 15.

$$\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{r_i} (y_{ij} - \hat{y}_i)^2 = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{r_i} (y_{ij} - \bar{y}_i)^2 + \sum_{i=1}^m (\hat{y}_i - \bar{y}_i)^2 \quad (15)$$

A equação acima pode ser resumida de acordo com a Equação 16:

$$SQ_{res} = SQ_{ep} + SQ_{faj} \quad (16)$$

Sendo SQ_{ep} a soma quadrática do erro puro, que está relacionado aos erros aleatórios das replicatas, e SQ_{faj} a soma quadrática da falta de ajuste, que está relacionado à falta de ajuste do modelo. Para cada fonte de variação (regressão, resíduos, falta de ajuste, erro puro e total) é necessário obter o número de graus de liberdade (nGL) para as Equações 12 e 13 e 15 que podem ser encontrados, respectivamente, de acordo com as expressões representadas pelas Equações 17, 18 e 19:

$$nGL = p - 1 \quad (17)$$

$$nGL = n - p \quad (18)$$

$$nGL = (n - m) + (m - p) \quad (19)$$

Sendo p o número de parâmetros (coeficientes) do modelo, n o número total de observações (ensaios) e m é o número de níveis do planejamento. O número de graus de liberdade para as outras fontes de variação pode ser facilmente calculado por cálculos algébricos simples. A divisão da soma quadrática de cada fonte de variação pelo seu respectivo número de grau de liberdade fornece a média quadrática (MQ). A razão entre a média quadrática da regressão (MQ_{reg}) pela média quadrática dos resíduos (MQ_{res}), consiste na razão entre duas variâncias, a qual pode ser usada para comparar tais fontes de variação através do teste F (*distribuição de Fisher*), Equação 20, levando em consideração seus respectivos números de graus de liberdade. Semelhantemente, este procedimento pode ser realizado para a razão entre a média quadrática da falta de ajuste (MQ_{faj}) pela média quadrática do erro puro (MQ_{ep}).

$$\frac{MQ_1}{MQ_2} \approx F_{v_1, v_2} \quad (20)$$

Onde MQ_1 e MQ_2 são as médias quadráticas das fontes de variação de regressão e resíduo, respectivamente, e v_1 e v_2 são seus respectivos números de graus de liberdade.

A razão entre as médias quadráticas da falta de ajuste e do erro puro é o valor calculado do teste estatístico (F_{calc}), que é usado para comparar qual é mais significativo. Em termos práticos, um bom modelo necessita ter uma regressão significativa e uma falta de ajuste não significativa. Isso significa que a maior parte da variação total das observações em torno da média deve ser descrita pela equação de regressão, e o restante ficará com os resíduos. Da variação correspondente aos resíduos, espera-se que a maior parte fique com o erro puro, que é atribuído ao erro experimental, e não com a falta de ajuste que está diretamente relacionada ao modelo.

O coeficiente de variação R^2 (Equação 21) e o gráfico dos resíduos também são parâmetros importantes a serem observados na avaliação do modelo. O valor de R^2 representa a fração da variação que é explicada pela falta

de ajuste do modelo. Quanto mais próximo de 1 o valor do coeficiente estiver, melhor estará o ajuste do modelo às respostas observadas.

$$R^2 = \frac{SQ_{res}}{SQ_{tot}} \quad (21)$$

Uma outra maneira de se avaliar o modelo é examinar a distribuição dos resíduos, pois ajuda a verificar se há dados tendenciosos no modelo. Desta forma, pode-se fazer um gráfico dos valores estimados pelo modelo (\hat{y}_i) com os valores da diferença entre os valores observados experimentalmente (y_i) e seus respectivos valores estimados, isto é, (\hat{y}_i) *versus* ($y_i - \hat{y}_i$). Se os resíduos não estiverem aleatoriamente distribuídos, novos recursos devem ser utilizados para a sua melhoria.

CAPÍTULO 4

ESTUDOS DE DEGRADAÇÃO DE PESTICIDAS NEONICOTINÓIDES.

4. ESTUDOS DE DEGRADAÇÃO DOS PESTICIDAS TIAMETOXAM E IMIDACLOPRID EM SOLUÇÃO AQUOSA

4.1. Introdução

Os pesticidas são substâncias que podem matar diretamente um organismo indesejável ou controlá-lo de alguma maneira (por exemplo, interferindo em seu processo reprodutivo). Estes compostos têm a propriedade comum de bloquear um processo metabólico vital dos organismos para os quais são tóxicos. Uma das principais motivações para o uso de inseticidas é o controle de enfermidades, pois muitos insetos podem atuar como vetores transmitindo doenças, como malária, febre amarela, entre outras, além de controlar insetos como mosquitos e moscas devido a sua presença irritante. Outra razão fundamental para o uso de inseticidas é impedir que os insetos ataquem lavouras de alimentos [Baird, 2002]. O grande emprego de pesticidas orgânicos na agricultura desde 1940 promoveu, além de colheitas com qualidade, um aumento na produtividade possibilitando o atendimento da demanda alimentícia na maioria dos países [Branco, 1988].

Apesar dos benefícios atribuídos ao uso de pesticidas, o problema de intoxicações por defensivos agrícolas preocupa as autoridades, especialmente pelo fato de que essas intoxicações acontecem pela ingestão gradativa destes produtos que contaminam a água, o solo e uma variedade de alimentos. O uso de muitos destes compostos foi proibido devido à constatação do efeito cumulativo e prejudicial, que ocorre pela transferência de pequenas quantidades ao longo das cadeias alimentares [Jorgenson, 2001]. Além disso, os pesticidas muitas vezes são tóxicos, podendo ser cancerígenos, mutagênicos, teratogênicos e mimetizadores de hormônios [Colborn, et al 1997]; são aplicados em grande quantidade, em áreas bastante extensas e, geralmente, possuem grande persistência no meio ambiente [Blzmk, et al 1996], além de gerar sérios problemas de qualidade das águas superficiais e subterrâneas [Baird, 2002].

O efeito e a magnitude decorrentes do uso de pesticidas no ambiente dependem basicamente dos processos de transferência e transformações que

ocorrem em cada compartimento do sistema solo-água-planta-atmosfera. As maiores rotas de dispersão de pesticidas para sistemas aquáticos são: o escoamento superficial e a drenagem. O tipo de planta e a topografia do terreno têm importância decisiva na maioria desses processos [Traub-Eberhard, 1995]. Assim, a dinâmica dos pesticidas no solo está relacionada com a precipitação pluvial e o manejo da irrigação [Logan, 1994].

4.1.1. Inseticidas Neonicotinóides

Os neonicotinóides representam uma nova classe de inseticidas relacionados estrutural e funcionalmente à nicotina e que apresentam modo de ação na interferência dos receptores de acetilcolina do sistema nervoso do inseto [Stenersen, 2004]. Estes compostos são registrados para o controle de uma grande variedade de insetos-praga em diversos agroecossistemas, pois além de sua elevada capacidade inseticida, principalmente contra lepidópteros-praga, apresentam baixa toxicidade a mamíferos [Takahashi et al., 1998]. Atualmente, existem duas gerações de neonicotinóides, sendo que a primeira geração apresenta um grupo cloropiridinil (CP) heterocíclico, como por exemplo o Imidacloprid, e a segunda geração apresenta um clorotiazolidil (CT) heterocíclico como por exemplo o Tiametoxam.

4.1.1.1. Tiametoxam

Entre os inseticidas mais recentes disponíveis no mercado, o Tiametoxam tem sido testado com sucesso em muitas espécies vegetais de importância econômica no controle de insetos sugadores [Benvenga et al., 1998; Raetano et al., 2000; Martins e Nakamura, 2000; Moraes et al., 2005; Senn et al., 2000a, b]. O Tiametoxam (Figura 4.1) é um inseticida sistêmico do grupo químico dos neonicotinóides de nome químico 3-(2-cloro-tiazol-5-ilmetil)-5-metil-[1,3,5] oxadiazino-4-ilideno-N-nitroamina. É comercializado sob os nomes de Actara[®], para aplicação no solo e pulverização foliar e Cruiser[®], para o tratamento de sementes.

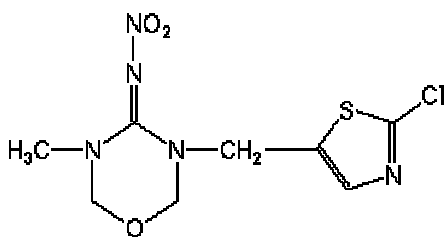


Figura 4.1. Estrutura química do inseticida Tiametoxam

As propriedades físico-químicas do Tiametoxam podem ser visualizadas na Tabela 4.1

Tabela 4.1. Propriedades físico-químicas do inseticida Tiametoxam

Propriedades	Tiametoxam
Fórmula química	$C_8H_{10}ClN_5O_3S$
Massa molar	291,7 g.mol ⁻¹
Estado físico	Cristalino
Ponto de fusão	139,1 °C
Solubilidade em água	4,1 g.L ⁻¹
Log P*	-0,13

*P= coeficiente de partição octanol/água

4.1.1.2. Imidacloprid

O Imidacloprid (Figura 4.2) é um inseticida sistêmico de ampla utilização na fumicultura e em outras culturas, cuja introdução diminuiu sensivelmente a utilização de vários outros inseticidas. O nome segundo a IUPAC é 1-(6-cloro-3-piridilmetil)-N-nitroimidazolidin-2-ilidenoamino. É comercializado sob os nomes Nuprid[®], Confidor[®], Gaucho[®], entre outros. Este composto apresenta efeito residual muito longo [González-Pradas et al., 2002] de modo que, quando aplicado na sementeira, protege a cultura durante todo o seu ciclo. Entretanto, sua presença foi comprovada nos mananciais de águas superficiais, o que carece de uma reflexão sobre seu uso indiscriminado e a falta de cuidado com as águas residuais do sistema “float”, de produção de mudas e com o destino das

embalagens. Ademais, este princípio ativo apresenta alta mobilidade no solo [González-Pradas et al., 2002], o que pode ser um inconveniente ambiental em áreas planas, com solos arenosos e lençol freático raso.

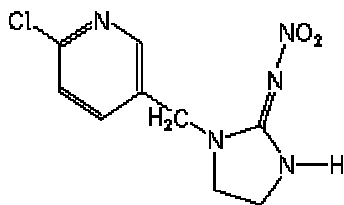


Figura 4.2. Estrutura química do inseticida Imidacloprid

As propriedades físico-químicas do Imidacloprid podem ser visualizadas na Tabela 4.2.

Tabela 4.2. Propriedades físico-químicas do inseticida Imidacloprid

Propriedades	Imidacloprid
Fórmula química	$C_9H_{10}ClN_5O_2$
Massa molar	255,7 g.mol ⁻¹
Estado físico	Cristalino
Ponto de fusão	136,4 – 143,8 °C
Solubilidade em água	0,61 g.L ⁻¹
Log P*	0,57

*P= coeficiente de partição octanol/água

4.2. Parte Experimental

4.2.1. Reagentes e Materiais

Para realização dos experimentos envolvidos na elaboração deste trabalho, os seguintes reagentes foram utilizados:

- Glicose anidra (Synth)
- Peptona Bacteriológica (Biobrás)
- Extrato de Levedura (Biobrás)
- Zinco metálico granulado (F. Maia)
- Magnésio metálico em pó (F. Maia)
- Estanho metálico granulado (Reagen)
- Esponja de aço Bombril[®]
- Metanol 99,8% (F. Maia)
- Ácido Acético Glacial 99,7% (Synth)
- Ácido sulfúrico (Merck)
- Hidróxido de sódio (Synth)
- Corante Índigo Carmim (Hartman Leddon CO)
- Sílica gel (Merck)
- Diclorometano (F. Maia)

4.2.2. Processo de obtenção dos pesticidas Tiametoxam e Imidacloprid

Os pesticidas Tiametoxam e Imidacloprid foram obtidos a partir de um processo de purificação dos produtos comerciais Actara[®] e Confidor 700 WG[®] respectivamente, conforme o procedimento otimizado pela aluna de doutorado Ana Paula Fonseca Maia de Urzedo, descrito a seguir:

- Dissolveu-se 5,0000 g do produto comercial em 50,00 mL de diclorometano e deixou-se o sistema agitando, utilizando-se um agitador magnético (IKA RH Basic 1), durante 30 minutos. Filtrou-se a mistura, utilizando-se um sistema de filtração simples. Reduziu-se o volume do solvente em rotavapor (Quimis Modelo Q 344.2)

até obter-se um volume de aproximadamente 2 mL. Este volume foi submetido a técnicas de cromatografia em coluna.

- Para purificação do pesticida, fez-se a eluição do mesmo através de uma coluna cromatográfica de aproximadamente 20 cm, utilizando-se sílica gel como fase estacionária. A fase móvel consistiu de uma solução de diclorometano contendo 1% de metanol. Recolheu-se frações de aproximadamente 5 mL, sendo monitorada a presença do composto de interesse através de EAM-UV-Vis.

- O rendimento dos processos de purificação foram aproximadamente 10 e 50% para Tiametoxam e Imidacloprid, respectivamente.

- A identificação dos compostos purificados foi determinada através do ponto de fusão, EAM UV-Vis e ESI-MS.

4.2.3. Metodologia

4.2.3.1. Experimentos Biológicos

4.2.3.1.1. Triagem fúngica

Inicialmente foi realizada uma triagem fúngica para identificação de fungos que fossem ativos no processo de biodegradação do inseticida Tiametoxam em solução aquosa. Foram testadas as seguintes espécies de fungos filamentosos: *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus niger*, *Mucor plumbeus*, *Trichoderma sp.*, *Paecilomyces lilacinus*, *Acremonium murorum* e *Thamnosostylum sp.*

Os fungos *Acremonium murorum*, *Paecilomyces lilacinus* e *Trichoderma sp.* foram isolados de amostras de solo de floresta secundária, situada próximo ao município de Benjamim Constant, no estado do Amazonas. Este estudo fez parte do projeto Below Ground Biodiversity, custeado pela UNEP, órgão das Nações Unidas para o Meio Ambiente. No Brasil o projeto recebeu o nome de BiosBrasil. Estes fungos estão em uma coleção chamada FSA (fungos do solo da Amazônia) que está sendo incorporada à coleção micológica de Lavras. Os demais fungos

fazem parte de uma coleção de culturas do Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Química da UFMG.

4.2.3.1.2. Condições de incubação

Os fungos foram cultivados em 50,00 mL de meio de cultura cuja composição foi glicose 10,0 g.L⁻¹, peptona bacteriológica 5,0 g.L⁻¹ e extrato de levedura 2,5 g.L⁻¹, em frascos erlenmeyer de 125 mL. O meio em cada frasco foi previamente esterilizado em autoclave a 120° C por 20 minutos. Após o inóculo dos fungos, as culturas foram incubadas por 72 h à temperatura ambiente sob agitação orbital em Shaker (Tecnal, Modelo TE-420). Após este tempo, introduziu-se 1,00 mL de uma solução estoque do substrato (Tiametoxam) obtendo-se uma concentração final de 50,00 mg.L⁻¹. Este procedimento foi realizado em capela de fluxo laminar utilizando-se material previamente esterilizado. O sistema foi agitado por mais 22 dias. Alíquotas foram retiradas do sistema reacional em diferentes intervalos de tempo, sob condições assépticas para que o sistema não fosse contaminado por microorganismos indesejáveis, filtradas sob vácuo e congeladas para análises posteriores. Foram preparados dois experimentos controle, um contendo o analito sem a presença do fungo e o outro contendo o fungo sem a presença do analito.

4.2.3.1.3. Otimização do meio de cultura

O fungo *Paecilomyces lilacinus* foi selecionado para realização de uma investigação da influência da presença e ausência de glicose no meio de cultura no processo de biodegradação do Tiametoxam. Desta forma, foram preparados dois meios de cultura cuja composição pode ser visualizada na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 – Composição dos meios de cultura utilizados nos ensaios biológicos envolvendo o fungo *Paecilomyces lilacinus*.

Meio de cultura	Glicose (g.L ⁻¹)	Peptona bacteriológica (g.L ⁻¹)	Extrato de Levedura (g.L ⁻¹)
Com glicose	10,0	5,0	2,5
Sem glicose	0,0	5,0	2,5

As outras condições reacionais do sistema foram semelhantes às descritas no item 4.2.3.1.2. As alíquotas foram retiradas após 15 dias de agitação orbital dos sistemas. Após este tempo, as amostras foram filtradas sob vácuo e congeladas para análises posteriores.

4.2.3.1.4. Teste de degradação do Imidacloprid

O fungo que apresentou melhor resposta na degradação do Tiametoxam foi submetido a testes de degradação do inseticida Imidacloprid, mantendo-se as condições otimizadas discutidas no item 4.2.3.1.3.

4.2.3.2. Experimentos redutivos

4.2.3.2.1. Estudos preliminares

4.2.3.2.1.1. Estudo da potencialidade dos metais zinco (Zn⁰), magnésio (Mg⁰) e estanho (Sn⁰) na degradação de soluções aquosas do pesticida Tiametoxam

Os experimentos de degradação foram realizados em tubos de ensaios de 30 mL onde eram colocados 20,00 mL da solução de Tiametoxam na concentração de 50,0 mg.L⁻¹. Fez-se o ajuste do pH da solução para 2,0, com auxílio de uma solução de H₂SO₄/H₂O (1:1), e adicionou-se 0,2000 g do metal. Finalmente, estes tubos foram colocados no banho de ultra-som (modelo 28H, Neytech) por 20 minutos. Após este tempo, alíquotas foram retiradas e filtradas, utilizando-se filtros Millipore (com membrana PTFE 0,45 µm e 13 mm de diâmetro) para retirar partículas metálicas além de óxidos, hidróxidos e sulfatos

formados durante a reação. As amostras foram submetidas à análise cromatográfica para verificação da eficiência dos processos estudados.

4.2.3.2.1.2 Estudo do efeito do pH nos experimentos redutivos

A influência do pH no processo de degradação redutiva do Tiametoxam foi investigada através da adição de 0,2000 g de zinco metálico em soluções do pesticida ($50,0 \text{ mg.L}^{-1}$) em pH previamente ajustado para 2,0 e 5,0 (pH natural da solução). Não foram avaliados valores de pH acima de 7, pois o Tiametoxam hidrolisa em soluções básicas. As condições reacionais foram descritas no item anterior.

4.2.3.2.2. Estudo da influência das variáveis massa do metal e tempo de exposição à radiação ultra-sônica na degradação dos pesticidas Tiametoxam e Imidacloprid.

Amostras de 20,00 mL da solução do pesticida Imidacloprid ou Tiametoxam (50 mg.L^{-1}) em pH previamente ajustado para 2,0 foram transferidos para tubos de ensaio de 30 mL e submetidas ao processo de degradação redutiva dos pesticidas. Parâmetros experimentais relevantes como massa do metal, visando à obtenção de uma maior superfície de contato entre o metal e o substrato, e tempo de sonicação foram investigados utilizando-se planejamento fatorial de experimentos com ponto central.

Desta forma, o efeito das duas variáveis selecionadas foi estudado em dois níveis, configurando um planejamento fatorial 2^2 acrescido de um ponto central realizado em triplicata, perfazendo um total de sete experimentos. A Tabela 4.4 apresenta a matriz de planejamento com os níveis estudados para cada variável.

Tabela 4.4 - Planejamento fatorial completo 2^2 com ponto central realizado para maximização da resposta de degradação dos pesticidas Tiametoxam e Imidacloprid em solução aquosa pelos metais Zn^0 , Sn^0 e Mg^0 .

Experimento	Massa do metal (mg)	Tempo de US (min)
1	(-) 50	(-) 10
2	(+) 350	(-) 10
3	(-) 50	(+) 30
4	(+) 350	(+) 30
5	(0) 200	(0) 20
6	(0) 200	(0) 20
7	(0) 200	(0) 20

Ao término dos experimentos as amostras foram filtradas utilizando-se filtros Millipore e submetidas a análises cromatográficas.

4.2.3.2.3. Estudo do efeito da exposição à radiação ultra-sônica

Para verificar a influência da radiação US na degradação reductiva do Tiametoxam e Imidacloprid, foi realizado um planejamento fatorial 2^2 . As variáveis escolhidas para este planejamento foram: uma variável quantitativa, correspondendo à massa do metal, e uma variável qualitativa, correspondendo à presença ou ausência de US. A Tabela 4.5 mostra a matriz de planejamento assim como os níveis máximo (+), mínimo (-) para as variáveis estudadas. As amostras que não foram submetidas à radiação ultra-sônica foram agitadas utilizando-se um agitador magnético. Ao término da reação, as amostras foram filtradas e submetidas à análise cromatográfica.

Tabela 4.5 - Planejamento fatorial completo 2^2 para determinação da influência do ultra-som nos processos redutivos em estudo.

Experimento	Massa do metal (mg)	Agitação ou US
1	(-) 50	(-) Agitação
2	(+) 350	(-) Agitação
3	(-) 50	(+) US
4	(+) 350	(+) US

4.2.3.2.4. Estudo da taxa de degradação

Após a determinação das melhores condições para degradação dos pesticidas em solução aquosa, iniciou-se um estudo para a determinação da taxa de degradação redutiva destas moléculas. Alíquotas foram retiradas em diferentes intervalos de tempo reacional e submetidas à análise cromatográfica, avaliando-se a diminuição na área do pico do analito.

4.2.4. Técnicas analíticas utilizadas no monitoramento dos processos de degradação biológica e redutiva dos pesticidas em solução aquosa

4.2.4.1. Cromatografia Líquida de alta Eficiência (HPLC)

A taxa de degradação dos pesticidas por meio dos processos biológicos e redutivos foi determinada através de análises cromatográficas, onde se monitorou a redução da área do pico do analito. As análises foram realizadas em um equipamento SPD-10A (Shimadzu) utilizando-se uma coluna ODS Hypersil C18, 5 μm (4,6mm x 250 mm Supelco). A fase móvel consistia em uma solução de 10% metanol / água (0,01% Ácido acético) sob um fluxo de 1,0 mL / min. O volume de injeção foi de 20 μL e o detector utilizado foi o de ultravioleta, sendo monitorado os comprimentos de onda de 254 e 275 nm para Tiametoxam e Imidacloprid, respectivamente.

Este equipamento faz parte da infra-estrutura do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

4.2.4.2. Espectrometria de Massas com Fonte de Ionização “Electrospray” (ESI-MS)

A investigação dos produtos de degradação dos pesticidas estudados, gerados a partir dos processos biológicos e reductivos, foi realizada em um equipamento Electrospray-LC/MS (Agilent-1100) operando em modo positivo. As amostras foram introduzidas diretamente na fonte, com auxílio de uma microseringa, sob um fluxo de $5 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. Os parâmetros operacionais foram os seguintes: Temperatura do capilar - $200 \text{ }^\circ\text{C}$; fluxo do gás de secagem (N_2) - $6 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$; potencial do spray - 3.5 kV . Para análises MS/MS, os íons precursores foram isolados no *íon trap* numa faixa de 1 unidade de razão m/z e fragmentados via dissociação induzida por colisão (CID) com gás hélio.

Este equipamento encontra-se instalado nas dependências do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

4.3. Resultados e discussão

4.3.1. Experimentos biológicos

4.3.1.1. Triagem fúngica

Para determinar a atividade fúngica no processo de degradação do Tiametoxam, alíquotas recolhidas em diferentes intervalos de tempo reacional foram submetidas a análises cromatográficas, sendo monitorada a área do pico do Tiametoxam. Os fungos que proporcionaram uma diminuição no pico referente ao analito após 22 dias de agitação foram considerados ativos, visto que a diminuição do pico corresponde à biodegradação da molécula de interesse. De acordo com os dados mostrados na Tabela 4.6, pode-se concluir que nas condições estudadas apenas os fungos *Trichoderma sp.*, *Acremonium murorum*, *Paecilomyces lilacinus* e *Thamnostylum sp.* foram ativos no processo de biodegradação, uma vez que proporcionaram uma redução na área do pico referente ao Tiametoxam, superior a 70%. Nos experimentos controle, a concentração do Tiametoxam manteve-se inalterada após o término das reações.

Dentre estes, o fungo *Paecilomyces lilacinus* foi selecionado para estudos de otimização do meio de cultura, uma vez que proporcionou maior taxa de degradação. Estudos têm sido realizados utilizando-se o fungo *Paecilomyces lilacinus* na degradação de dibenzofurano [Gessel, 2004] e difenil [Gessel, 2001]. Nestes estudos, o fungo oxidou dibenzofurano e difenil em vários produtos, os quais foram identificados por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS).

Tabela 4.6 - Degradação do Tiametoxam após 22 dias de tratamento biológico.

Fungo	Degradação do Tiametoxam (%)
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0
<i>Aspergillus niger</i>	0
<i>Mucor plumbeus</i>	0
<i>Trichoderma sp.</i>	73
<i>Acremonium murorum</i>	72
<i>Thamnosostylum sp.</i>	71
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	80

4.3.1.2. Otimização do meio de cultura

Estudos reportam a influência dos nutrientes do meio de cultura nas taxas de degradação de compostos de interesse. Para aumentar a taxa de degradação do 2,4-diclorofenol (2,4-DCP) e Ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) pelos fungos *Cunninghamella elegans*, *C. echinulata*, *Rhizoctonia solani* e *Verticillium lecanii*, Vroumsia e colaboradores [1999] variou a concentração inicial das moléculas em estudo, a concentração de glicose e a concentração de nitrogênio. Os níveis de 2,4-DCP e 2,4-D foram monitorados por HPLC após cinco dias de cultivo. Os melhores resultados foram obtidos utilizando-se baixas concentrações de glicose (5 g.L⁻¹) e de nitrogênio (2,4 mmol.L⁻¹). Entretanto, a ausência de ambos os nutrientes desfavorecem o processo de biodegradação.

A glicose é utilizada como uma das principais fontes de carbono no metabolismo dos fungos. Sendo assim, para se tentar maximizar a degradação do

pesticida pelo fungo, avaliou-se o efeito da remoção da glicose do meio de cultura na taxa de degradação. Sendo assim, como no item anterior, as amostras foram submetidas a análises cromatográficas para monitoramento do pico do analito. A Tabela 4.7 apresenta a porcentagem de degradação após 15 dias de incubação. Como se pode observar, neste intervalo de tempo, a ausência de glicose favoreceu a degradação do Tiametoxam em aproximadamente 20%, o que nos leva a concluir que o fungo, possivelmente, utiliza o Tiametoxam como fonte de carbono.

Tabela 4.7 - Degradação do Tiametoxam em dois diferentes meios de cultura após 15 dias de incubação, utilizando-se o fungo *Paecilomyces lilacinus*.

Meio de cultura	Degradação (%)
Com adição de glicose	61
Sem a adição de glicose	78

Pode-se observar que no meio sem adição de glicose a degradação obtida em 15 dias (78%) foi muito próxima àquela obtida com 22 dias no meio de cultura com glicose (80%). A taxa de degradação do Tiametoxam pelo fungo *Paecilomyces lilacinus* utilizando-se o meio de cultura sem glicose foi investigada. Alíquotas do sistema reacional foram retiradas em diferentes intervalos de tempo. Com os resultados obtidos construiu-se um gráfico da concentração normalizada de Tiametoxam (C/C_0) versus o tempo de incubação.

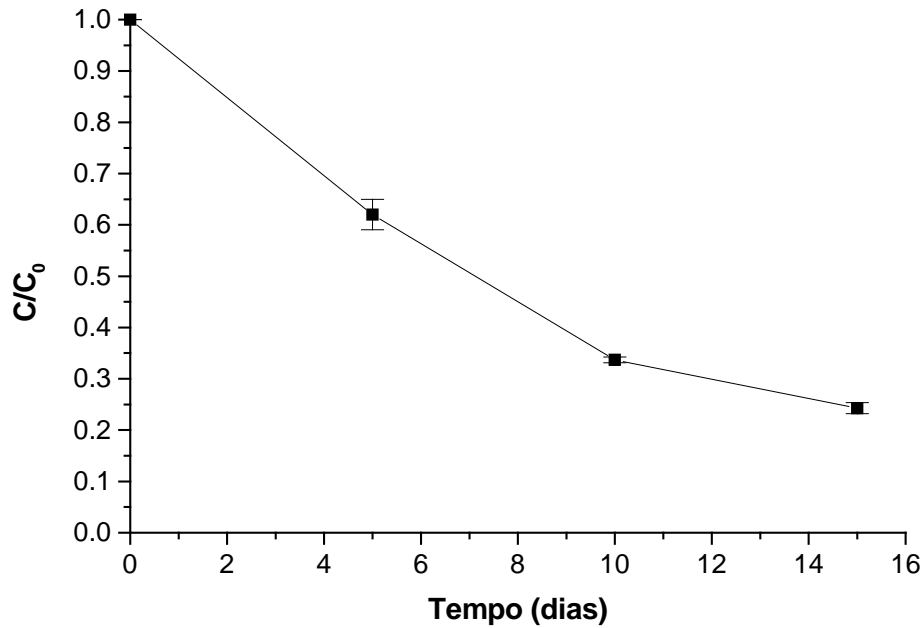


Figura 4.3 - Concentração normalizada do inseticida Tiametoxam (C/C_0) como uma função do tempo ($C_0 = 50 \text{ mg.L}^{-1}$). Os experimentos biológicos foram mantidos sob agitação orbital à temperatura ambiente.

O pH da solução foi monitorado durante o tempo de incubação e os resultados podem ser visualizados na Tabela 4.8.

Tabela 4.8 - Monitoramento do pH durante o tempo de incubação para biodegradação do Tiametoxan.

Ensaio	Tempo (dias)	pH
Controle ⁽¹⁾	0	7,0
	15	7,0
Biológico ⁽²⁾	0	8,0
	15	8,0

(1) Experimento controle: introdução do substrato ao meio de cultura sem a presença do fungo. (2) Ensaio biológico: introdução do substrato ao meio contendo o fungo *Paecilomyces lilacinus*.

Como se pode observar, o pH do experimento controle, sem a presença do fungo, se mantém constante ao longo do experimento (pH = 7). Entretanto, ao se adicionar o substrato nos frascos contendo o meio de cultura e o fungo

Paecilomyces lilacinus, o pH da solução já apresentava um valor igual a 8. É importante ressaltar que o tempo zero corresponde ao tempo que se introduziu o substrato ao meio de cultura, e não a introdução do fungo que já havia sido introduzido anteriormente. Desta forma, pode-se concluir que o fungo metaboliza o meio de cultura, modificando o pH de 7 para 8. Deve-se salientar que dados da literatura reportam que o Tiametoxam é instável em pH alcalino, sofrendo hidrólise, com a quebra da ligação C-N do anel oxadiazino (Figura 4.4) [Liqing, Z.; et al, 2006].

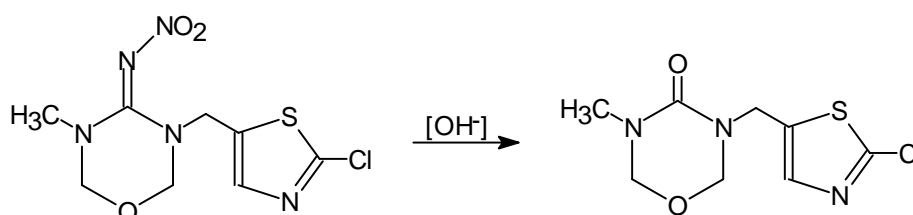


Figura 4.4. Hidrólise do Tiametoxam

Sendo assim, para investigar a influência do pH alcalino nestes processos, fez-se o ajuste prévio do meio de cultura para 8 (solução de NaOH 0,5 mol.L⁻¹) e adicionou-se o substrato conforme os procedimentos relatados no item 4.2.3.1.2. O processo biológico utilizando-se o fungo *Paecilomyces lilacinus* também foi realizado mantendo-se, rigorosamente, as mesmas condições. As alíquotas foram retiradas do sistema reacional, filtradas e imediatamente analisadas por HPLC. Os resultados foram sintetizados na Tabela 4.9.

Tabela 4.9. Determinação da influência do pH alcalino nos ensaios de degradação do inseticida Tiametoxam pelo fungo *Paecilomyces lilacinus*.

Ensaio	Degradação (%)
Controle ⁽¹⁾	36 ± 1
Biológico ⁽²⁾	76 ± 1

(1) Experimento controle: introdução do substrato ao meio de cultura (pH = 8,0) sem a presença do fungo. (2) Ensaio biológico: introdução do substrato ao meio contendo o fungo *Paecilomyces lilacinus*.

Através destes resultados, pode-se perceber que a participação do metabolismo fúngico é responsável por uma maior taxa de degradação da molécula nas condições estudadas. Além disso, o fungo é responsável pelo aumento do pH do meio, o qual favorece a hidrólise do Tiametoxam. Em ensaios anteriores, os experimentos controle (pH = 7,0) não apresentaram variação da concentração de Tiametoxam.

4.3.1.3. Experimentos biológicos envolvendo o pesticida Imidacloprid

O fungo *Paecilomyces lilacinus* foi submetido a testes de degradação do pesticida Imidacloprid, utilizando-se o meio de cultura sem a presença de glicose que apresentou melhores resultados de degradação para o Tiametoxam. Os resultados cromatográficos indicaram que o fungo selecionado apresentou uma porcentagem de degradação de aproximadamente 30% após 15 dias de incubação, como se pode observar na Tabela 4.10.

Tabela 4.10 - Degradação do Imidacloprid após 15 dias de incubação, utilizando-se o fungo *Paecilomyces lilacinus*. O sistema foi mantido sob agitação orbital à temperatura ambiente.

Ensaio	Degradação (%)
Controle	0
Biológico	31,5

No entanto, o pH do sistema reacional, ao término do experimento, apresentou um valor igual a 8 e, semelhantemente ao Tiametoxam, dados reportam que o Imidacloprid é instável em pH acima de 7 (Figura 4.5) [ZHENG, 1999; Vilchez, 1996].

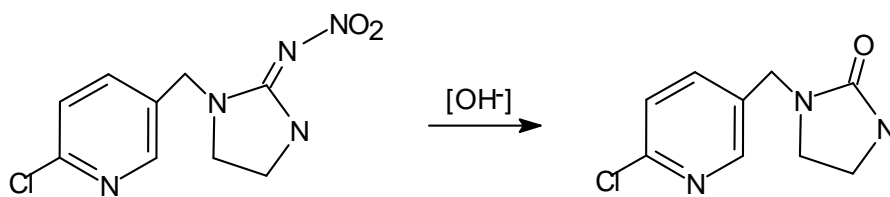


Figura 4.5. Hidrólise do Imidacloprid

Desta forma, pode-se inferir que, semelhantemente ao Tiametoxam, o fungo metaboliza o meio de cultura com um conseqüente aumento do pH do meio, proporcionando um aumento na taxa de hidrólise da molécula em estudo. Entretanto, os experimentos realizados indicam que o pesticida Imidacloprid é mais resistente aos processos biológicos testados.

4.3.1.4. Avaliação dos produtos de degradação por meio da técnica ESI-MS

4.3.1.4.1 - Tiametoxam

Para elucidar os produtos de biodegradação do Tiametoxam pelo fungo *Paecilomyces lilacinus*, as amostras dos experimentos biológicos foram introduzidas no espectrômetro de massas sem nenhum tratamento prévio. As condições de operação do equipamento foram descritas no item 4.2.4.2. Primeiramente, fez-se a análise do experimento controle, isto é, do Tiametoxam presente em meio de cultura (sem a presença do fungo), mantidas nas mesmas condições dos experimentos de biodegradação (Figura 4.6a). A Figura 4.6b mostra o espectro obtido para a solução contendo Tiametoxam após 15 dias de incubação com o fungo *Paecilomyces lilacinus*.

Moléculas que contêm um átomo de cloro em sua estrutura têm dois picos na região do peso molecular separados por duas unidades de massa, os quais correspondem a algumas moléculas que contêm o isótopo cloro-35 e outras que contêm o isótopo cloro-37. A intensidade destes dois picos é referente à abundância natural dos dois isótopos, sendo que a razão das intensidades dos isótopos cloro-35 e cloro-37 é de 3:1. Sendo assim, pode-se inferir que o

Tiametoxam possui uma massa nominal de 291 Da (para o isótopo ^{35}Cl) e 293 Da (para o isótopo ^{37}Cl).

A Figura 4.6a mostra o espectro de massas do meio de cultura contendo o inseticida Tiametoxam podendo-se observar a presença do aduto protonado, $[\mathbf{1} + \text{H}]^+$, de m/z 292/294, além dos adutos $[\mathbf{1} + \text{Na}]^+$, m/z 314/316 e $[\mathbf{1} + \text{K}]^+$, m/z 330/332. É importante mencionar que, mesmo utilizando-se uma matriz bastante complexa, foi possível detectar a presença do Tiametoxam ($\mathbf{1}$, $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_5\text{O}_3\text{SCl}$). Além dos picos referentes ao pesticida, pode-se perceber a presença predominante de um pico de m/z 175 que é referente a ingredientes do meio de cultura, observado em experimentos controle.

Pode-se perceber na Figura 4.6b uma diminuição da intensidade do pico de m/z 292/294, $[\mathbf{1} + \text{H}]^+$, além da presença predominante de um íon de m/z 248/250.

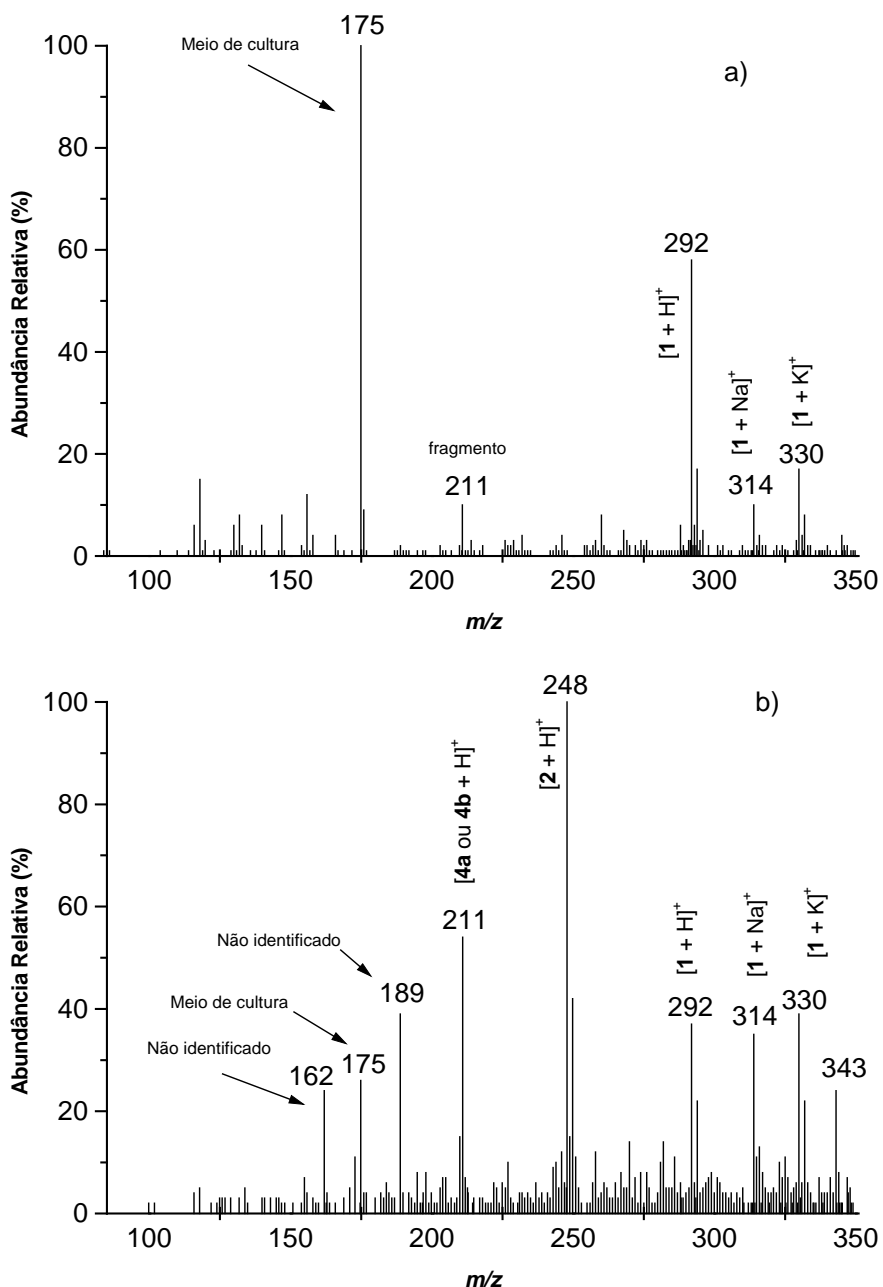
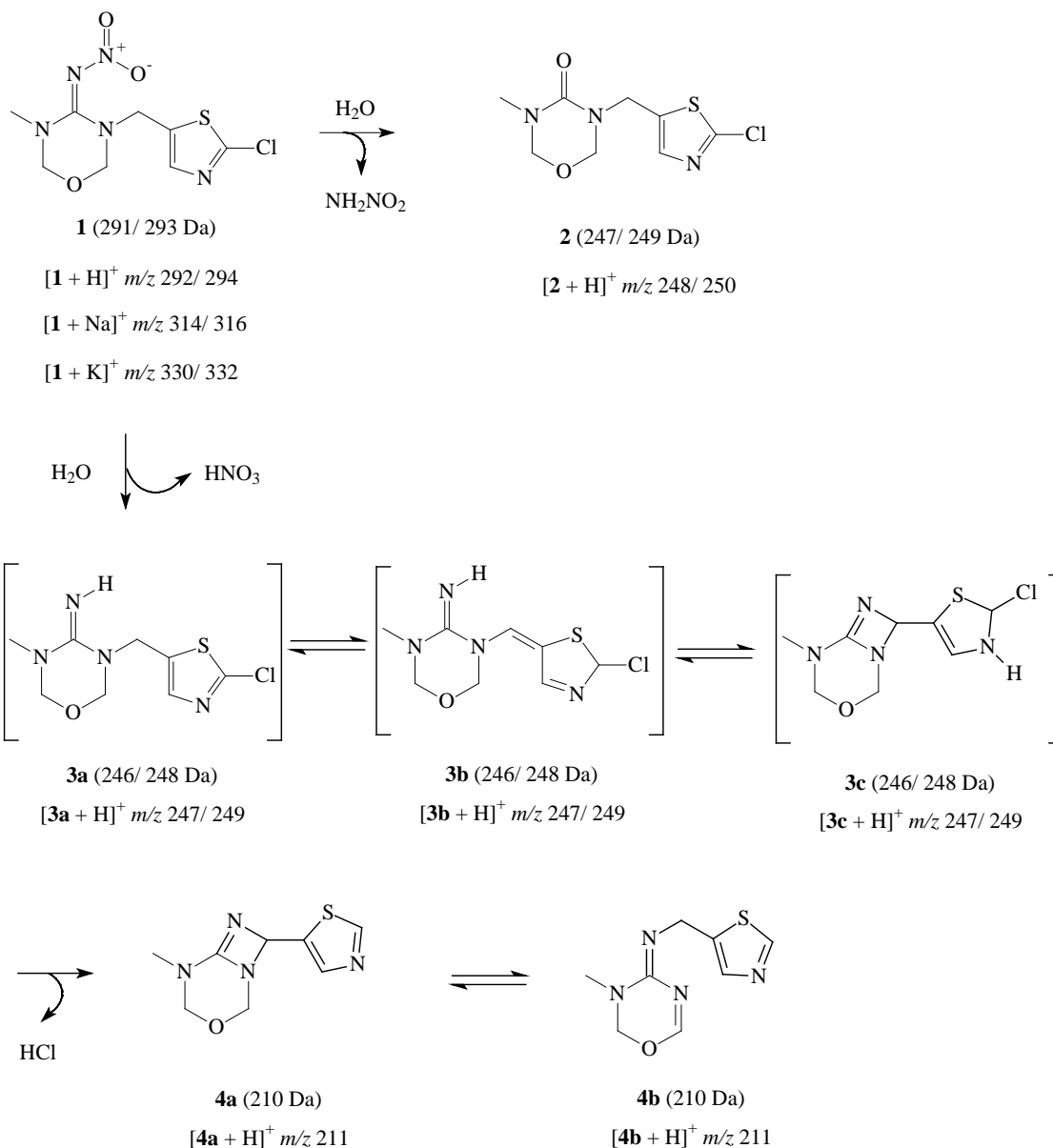


Figura 4.6 - ESI(+)-MS do meio de cultura contendo o inseticida Tiametoxam ($50,0 \text{ mg.L}^{-1}$) (1) (a) Experimento controle; (b) Incubação por 15 dias com o fungo *Paecilomyces lilacinus*.

Deste modo, levando-se em consideração a m/z de cada íon, foram propostas estruturas para os íons de m/z 248/250, representado por $[2 + H]^+$, e 211 representado pelos isômeros $[4a + H]^+$ e $[4b + H]^+$, mostradas no Esquema 4.1. De acordo com os resultados, a diferença de 44 unidades de m/z entre $[1 +$

$\text{H}]^+$ (de m/z 292/294) e $[\mathbf{2} + \text{H}]^+$ (de m/z 248/250) é formalmente, referente a ($[\mathbf{1} + \text{H}]^+ - 2\text{N}$ (28 Da) - 1O (16 Da)). Semelhantemente, a diferença de 81 unidades de m/z entre $[\mathbf{1} + \text{H}]^+$ e os isômeros $[\mathbf{4a} + \text{H}]^+$ e $[\mathbf{4b} + \text{H}]^+$ indica que estas estruturas podem ser entendidas como ($[\mathbf{1} + \text{H}]^+ - 1\text{N}$ (14 Da) - 2O (32 Da) - Cl (35 Da)).

Desta forma, uma rota de biodegradação do Tiametoxam (**1**) em solução aquosa induzida pelo fungo *Paecilomyces lilacinus* foi proposta, como mostrado no Esquema 4.1. Sugere-se que o mecanismo envolva uma etapa de hidrólise do grupo NNO_2 promovida pelo meio alcalino. Este grupo é um forte retirador de elétrons, o que possibilita a formação de uma carga parcial positiva sobre o carbono adjacente. Desta forma, o grupo OH^- ataca o sítio positivo da molécula formando o composto **2**. Para a formação do produto **4a** e **4b**, sugere-se a formação inicial dos intermediários isoméricos **3a**, **3b** e **3c** através de uma hidrólise do grupo NO_2 , seguida de uma eliminação de HCl .



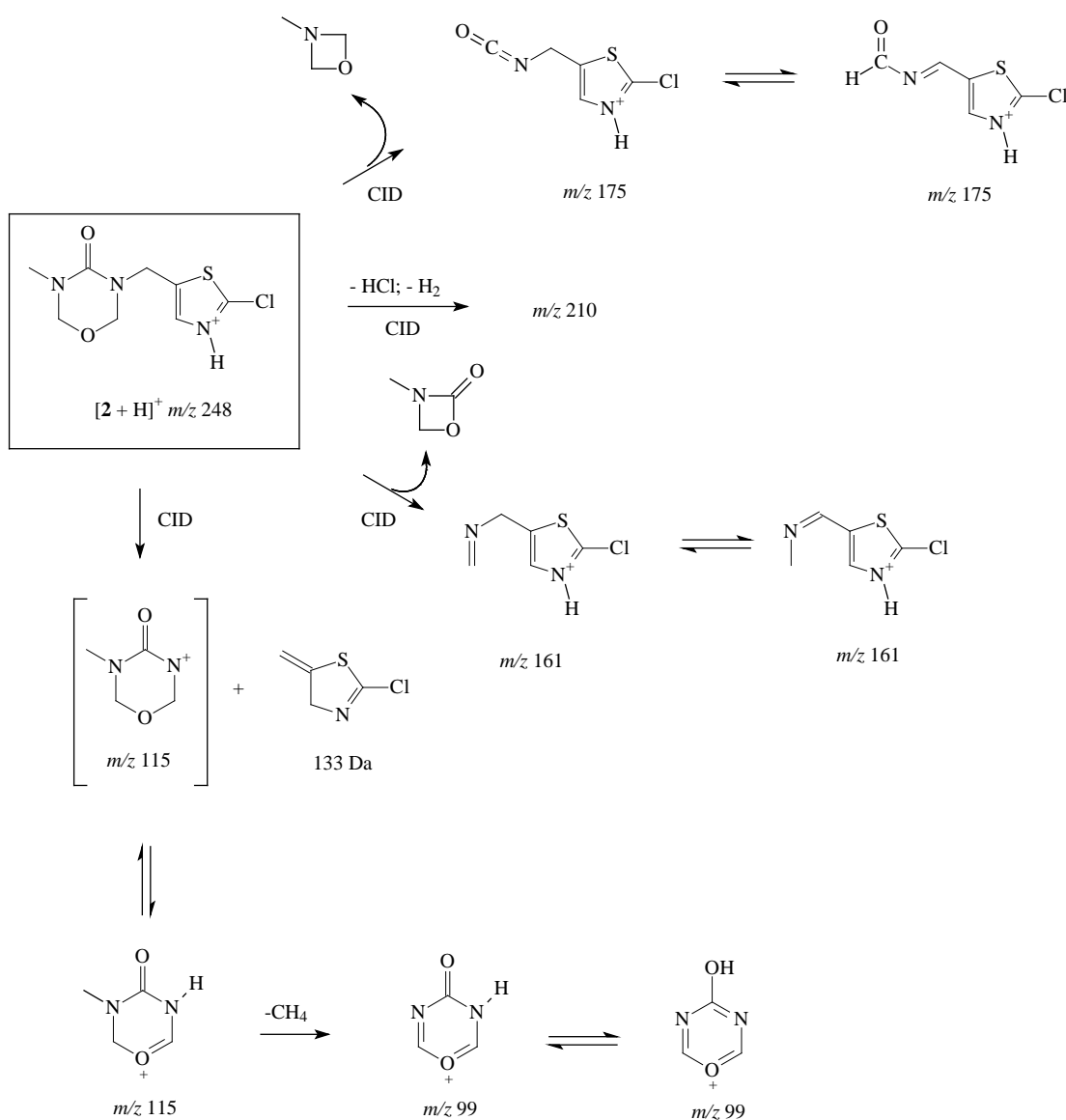
Esquema 4.1. Proposta para a rota de biodegradação do Tiametoxam induzida pelo fungo *Paecilomyces lilacinus*.

Para confirmação das estruturas propostas provenientes da biodegradação do Tiametoxam (**1**) pelo fungo *Paecilomyces lilacinus*, o íon $[2 + H]^+$ foi analisado por ESI(+)-MS/MS. A fragmentação por CID do íon selecionado gerou uma série de íons filhos (Tabela 4.11) que sustentam a proposta feita para a estrutura, como pode ser observado no Esquema 4.2.

Capítulo 4: Estudos de degradação de pesticidas neonicotinóides

Tabela 4.11 - Principais fragmentos gerados por CID do íon de m/z 248, detectado no ESI(+)-MS do meio de cultura contendo Tiametoxam (**1**) tratado com o fungo *Paecilomyces lilacinus*.

Íon precursor (m/z)	Fragmentos (abundância relativa %)
$[2 + H]^+$ (248)	99 (100), 210 (45), 175 (35), 161 (29)



Esquema 4.2. Proposta do caminho de fragmentação do íon $[2 + H]^+$ após a seleção e fragmentação promovida por CID.

4.3.1.4.2 – Imidacloprid

A Figura 4.7a mostra o espectro ESI(+)-MS do experimento controle dos experimentos biológicos envolvendo o inseticida Imidacloprid (**1a** e **1b**, $C_9H_{10}ClN_5O_2$). Este composto possui uma massa nominal de 255 Da (para o isótopo ^{35}Cl) e 257 Da (para o isótopo ^{37}Cl) e, desta forma, o espectro de massas mostra a presença do aduto protonado [**1a** ou **1b** + H]⁺ de m/z 256/260. Semelhantemente aos resultados envolvendo o inseticida Tiametoxam, o íon de m/z 175 é referente a ingredientes do próprio meio de cultura. A Figura 4.7b mostra o espectro de massas do meio de cultura contendo o Imidacloprid após 15 dias de incubação com o fungo *Paecilomyces lilacinus*. Pode-se perceber a presença predominante de um íon de m/z 256, não sendo observado o íon de m/z 258, supostamente referente à presença de ^{37}Cl , com uma abundância típica de 33%. Além disso, pode-se observar a presença de outros íons de m/z 210 e 192.

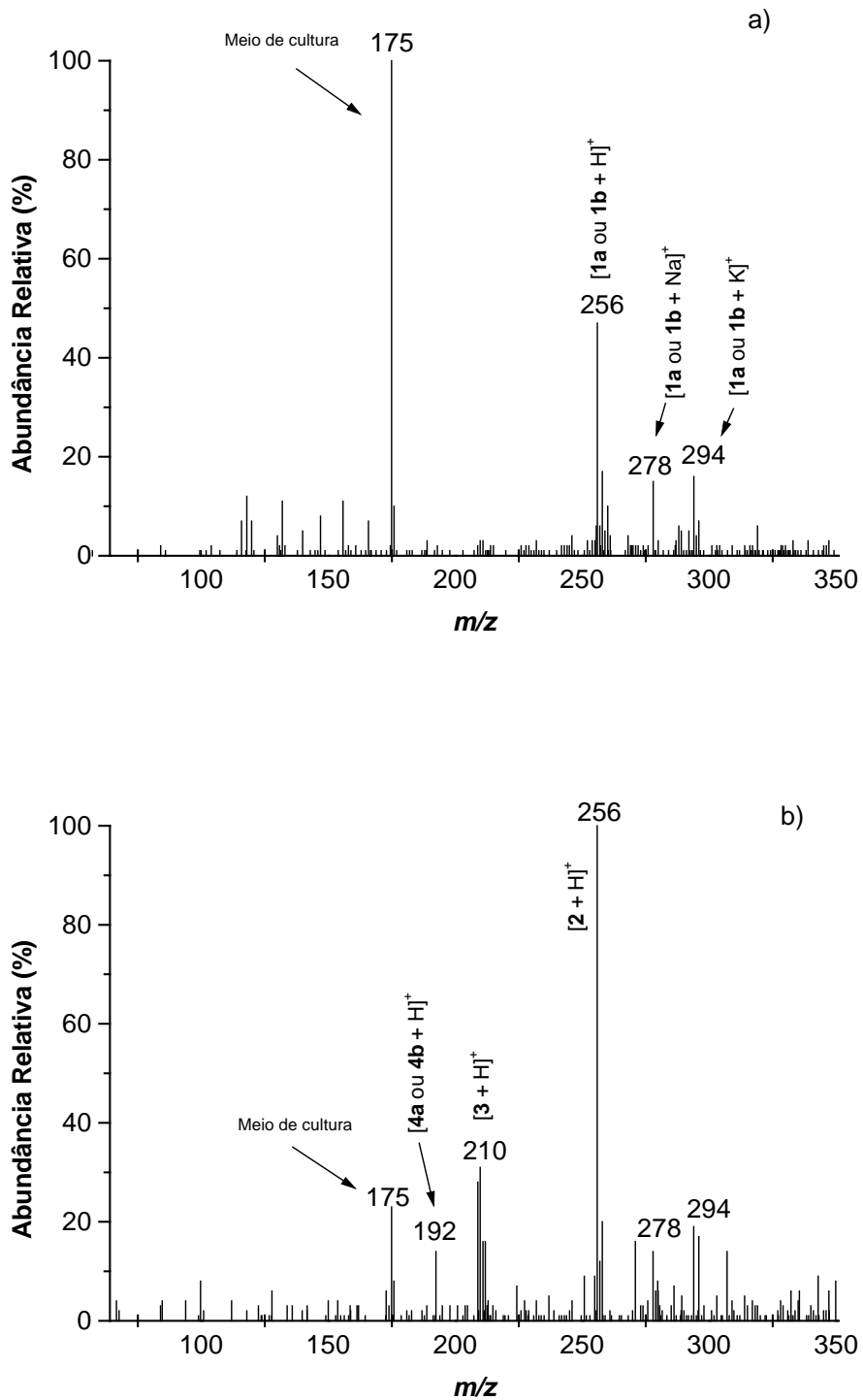
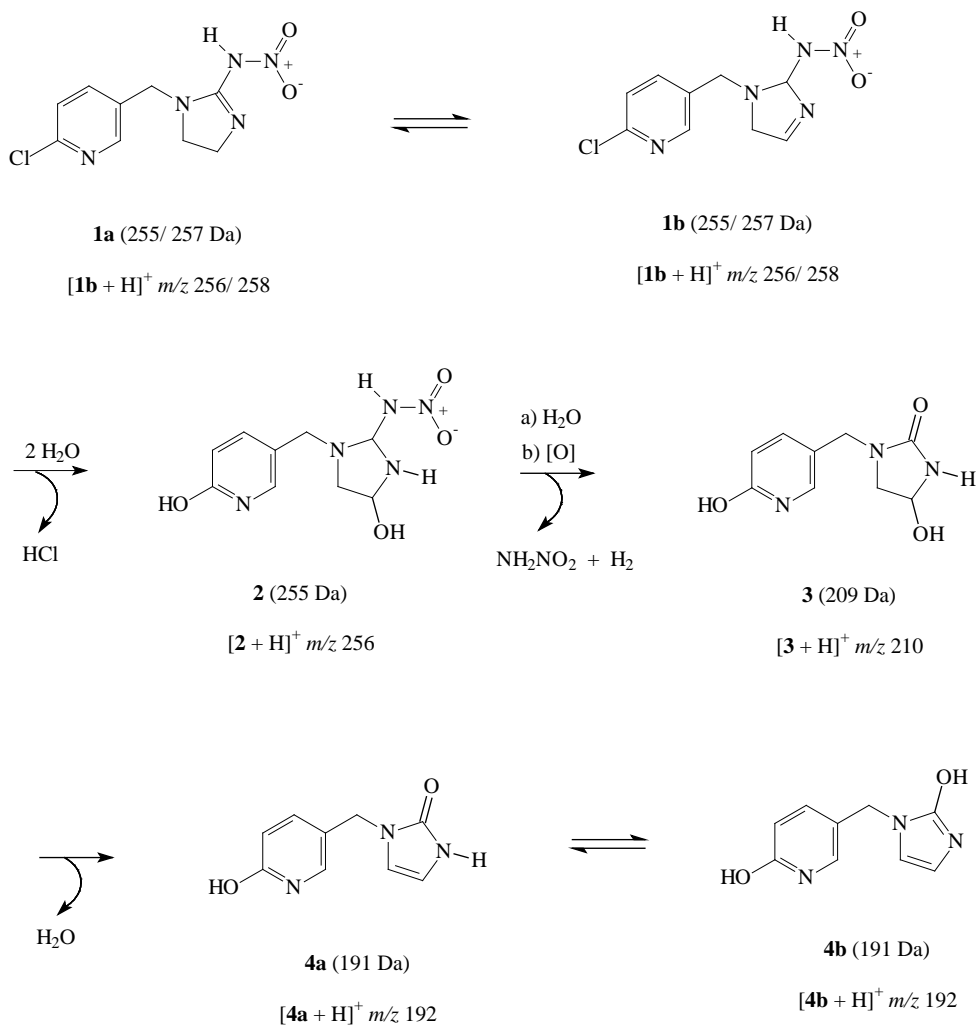


Figura 4.7 - ESI(+)-MS do meio de cultura contendo o inseticida Imidacloprid (50 mg.L^{-1}) (1) (a) Experimento controle; (b) Incubação por 15 dias com o fungo *Paecilomyces lilacinus*.

Desta forma, levando-se em consideração a m/z de cada íon, foram propostas estruturas para os íons de m/z 256, representado por $[2 + H]^+$, m/z 210, representado por $[3 + H]^+$, e m/z 192, representado por $[4a$ ou $4b + H]^+$, mostradas no Esquema 4.3. De acordo com os resultados, o íon $[2 + H]^+$ de m/z 256, que parece não conter o isótopo ^{37}Cl , é sugerido ser formado através de ($[1a$ ou $1b + H]^+ - \text{HCl}$ (36/ 38 Da) + 2 H_2O (36 Da)). A diferença de 46 Da entre $[2 + H]^+$ (de m/z 256) e $[3 + H]^+$ (de m/z 210) sugere que $[3 + H]^+$ pode ser entendido como ($[2 + H]^+ - 2\text{N}$ (28 Da) - 1O (16 Da) - 2H (2 Da)). Finalmente, a diferença de 18 Da entre $[3 + H]^+$ (de m/z 210) e $[4a$ ou $4b + H]^+$ sugere que $[4a$ ou $4b + H]^+$ é referente a ($[3 + H]^+ - \text{H}_2\text{O}$ (18 Da)).

Sendo assim, com base nos resultados descritos anteriormente, uma rota de biodegradação do pesticida Imidacloprid (**1a** e **1b**) induzida pelo fungo *Paecilomyces lilacinus* foi proposta, como mostrado no Esquema 4.3. Sugere-se que o mecanismo envolva uma etapa de hidroxilação do anel piridínico, proporcionando sua descloração, e também do anel pirrólico. Uma segunda etapa consiste na hidrólise do grupo NNO_2 promovida pelo meio alcalino formando o composto **3**, que sofre uma desidratação para formar os isômeros **4a** e **4b**.

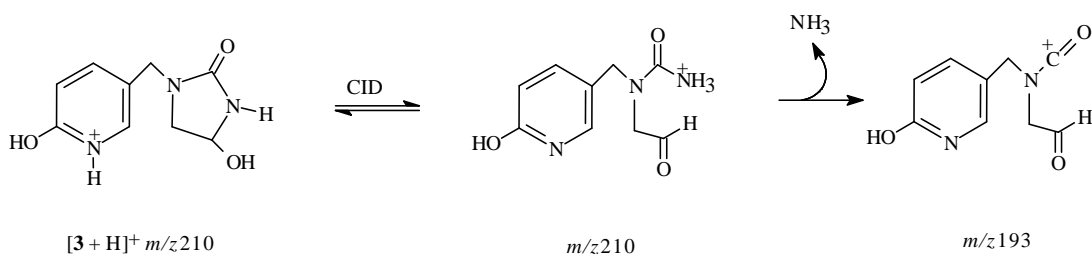


Esquema 4.3. Proposta para a rota de degradação do Imidacloprid induzida pelo fungo *Paecilomyces lilacinus* em solução aquosa.

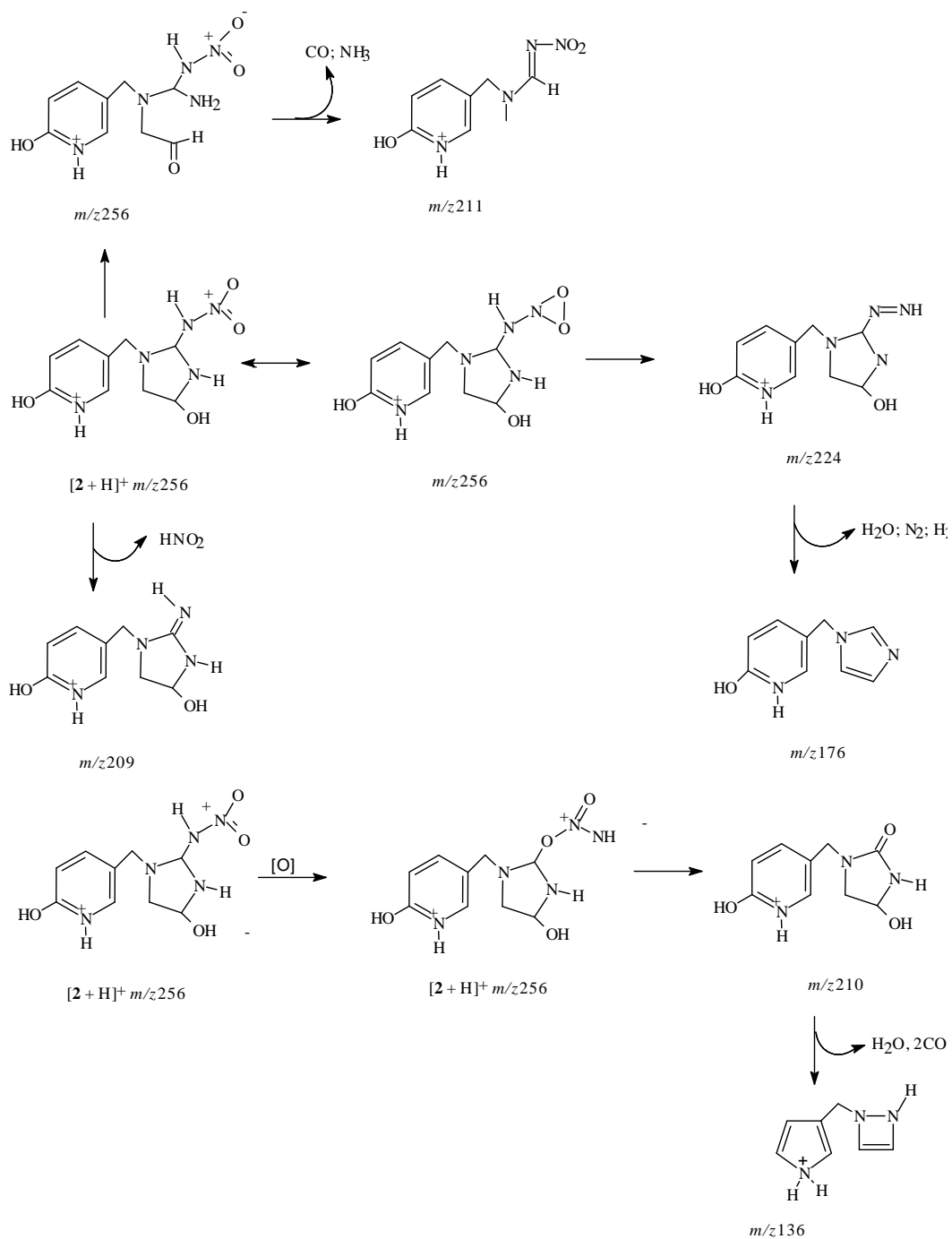
Para confirmação das estruturas propostas provenientes da biodegradação do Imidacloprid (**1a** ou **1b**), os íons $[2 + H]^+$ e $[3 + H]^+$ foram analisados por ESI(+)-MS/MS. A seleção de massas e fragmentação por CID dos íons gerou uma série de íons filhos (Tabela 4.12) que possibilitaram a sustentação das propostas sugeridas para as estruturas, como pode ser observado nos Esquemas 4.4 e 4.5.

Tabela 4.12 - Principais fragmentos gerados por CID dos íons de m/z 210 e 256 detectados no ESI(+)-MS do meio de cultura contendo Imidacloprid (**2**) tratada com o fungo *Paecilomyces lilacinus*.

Íon precursor (m/z)	Fragmentos (abundância relativa %)
$[3 + H]^+$ (210)	193 (100)
$[2 + H]^+$ (256)	224 (100), 209 (55), 211 (45), 210 (37), 176 (23), 136 (19)



Esquema 4.4. Proposta de fragmentação do íon $[3 + H]^+$ após seleção e fragmentação por CID.



Esquema 4.5. Proposta de fragmentação do íon $[2 + H]^+$ após seleção e fragmentação por CID.

4.3.2. Experimentos redutivos

4.3.2.1. Estudo da potencialidade dos metais zinco (Zn^0), magnésio (Mg^0) e estanho (Sn^0) na degradação de soluções aquosas do pesticida Tiametoxam

Neste trabalho os testes iniciais para redução foram realizados após o ajuste do pH da solução para 2,0 seguido da adição de 200,0 mg do metal. Dados da literatura reportam que valores mais altos de pH favorecem a formação de óxidos/hidróxidos que passivam o metal, impedindo que a superfície metálica doe elétrons para o substrato, e desta forma, não ocorre degradação significativa da molécula de interesse [Liu, 2006]. O sistema foi submetido à radiação ultra-sônica por 20 minutos. Esses testes foram úteis para se determinar a potencialidade dos metais zinco, magnésio e estanho na degradação redutiva do Tiametoxam. Após o processo redutivo, a solução tratada foi analisada por HPLC. Os dados cromatográficos obtidos foram normalizados e os valores percentuais de degradação do Tiametoxam podem ser visualizados na Tabela 4.13.

Tabela 4.13 - Porcentagem de degradação do Tiametoxam obtida no processo redutivo pelos metais Zn^0 , Sn^0 e Mg^0 . Concentração inicial do Tiametoxam = 50 mg.L⁻¹.

Metal	Degradação do Tiametoxam (%)
Zn^0	99
Sn^0	88
Mg^0	25

De acordo com os resultados mostrados na Tabela 4.13, pode-se perceber que os metais Zn^0 e Sn^0 foram eficazes na degradação do Tiametoxam, uma vez que apresentaram percentuais de degradação superiores a 80%. Embora estes ensaios demonstrem uma ineficiência do Mg^0 na degradação redutiva do Tiametoxam, sua capacidade redutora na degradação do pesticida em estudo será abordada com mais detalhes no próximo item.

4.3.2.2. Estudo do efeito do pH nos experimentos redutivos envolvendo o pesticida Tiametoxam

Sabendo-se da relevância do pH da solução nos processos envolvendo metais de valência zero, um novo estudo foi realizado tentando-se averiguar a magnitude desta variável na degradação do Tiametoxam pelo zinco metálico. Como se pode observar na Tabela 4.14, apenas para pH = 2,0 foi obtido uma considerável porcentagem de degradação, indicando que valores mais baixos da escala de pH favorecem a degradação redutiva da molécula em estudo. Outros trabalhos da literatura relatam efeito semelhante para outras moléculas [Kumar, 2004].

Tabela 4.14 - Efeito do pH na degradação redutiva de uma solução do inseticida Tiametoxam ($50,0 \text{ mg.L}^{-1}$) . Massa de 200,0 mg de zinco e 20 min de sonicação. (n = 2).

pH	Degradação do Tiametoxam (%)
2,0	$98,9 \pm 0,2$
5,0	$2,3 \pm 0,1$

É importante ressaltar que não houve variação significativa do pH das soluções resultantes dos experimentos redutivos quando se utilizou os metais Zn^0 e Sn^0 . Entretanto, para os experimentos envolvendo o Mg^0 , o pH aumentou subitamente em um pequeno intervalo de tempo após o início da reação. Desta forma, levando-se em consideração a importância do pH nos processos redutivos, conforme discutido anteriormente, novos experimentos envolvendo o magnésio foram realizados, monitorando e ajustando o pH durante todo o intervalo reacional. Quando se fez o ajuste desta variável, pôde-se perceber uma melhora significativa na capacidade redutora do Mg^0 sobre o Tiametoxam, obtendo-se cerca de 80% de degradação, como pode ser visualizado na Figura 4.8. De acordo com Kumar e Charabarty, durante a reação são gerados íons OH^- provocando o aumento do pH da solução. Em pH alcalino ocorre a formação e precipitação de $\text{Mg}(\text{OH})_2$ causando a passivação da superfície do Mg^0 e, desta forma, a degradação do Tiametoxam é interrompida. Quando se acidifica o

sistema durante todo o intervalo reacional, não ocorre a formação destes hidróxidos, o que favorece a transferência de elétrons do metal para o substrato.

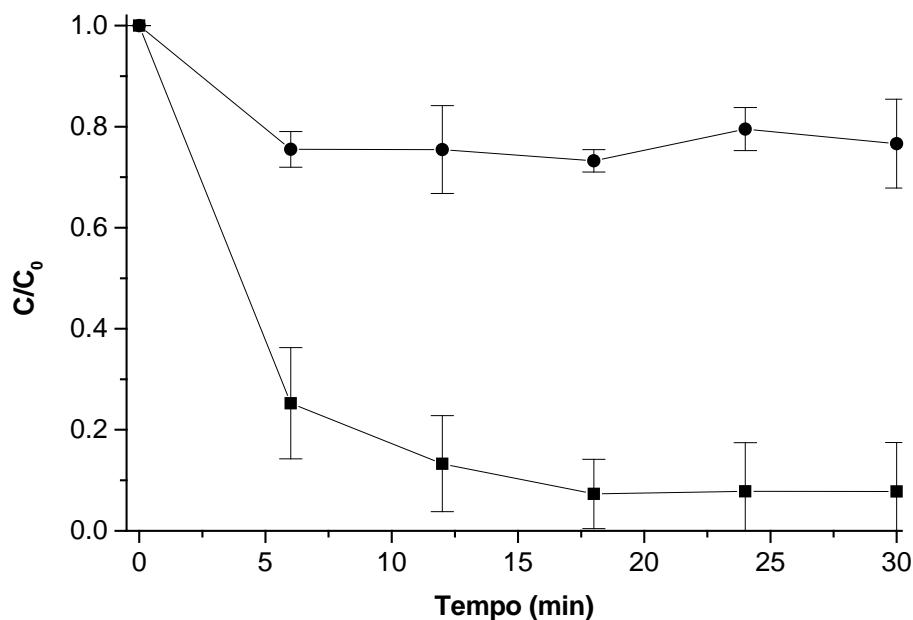


Figura 4.8. Concentração normalizada do inseticida Tiametoxam (C/C_0) como uma função do tempo ($C_0 = 50,00 \text{ mg.L}^{-1}$). As reações foram conduzidas em solução aquosa na presença de magnésio metálico. (•) Sem ajuste do pH durante o tempo reacional. (■) Ajuste do pH durante todo o intervalo reacional com solução $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$ (1:1)

4.3.2.3. Influência das variáveis massa do metal e tempo de exposição à radiação ultra-sônica na degradação dos pesticidas Tiametoxam e Imidacloprid.

Para investigar a influência das variáveis massa do metal e tempo de exposição à radiação ultra-sônica na degradação dos pesticidas Tiametoxam e Imidacloprid, realizou-se um planejamento fatorial completo 2^2 . As respostas de degradação, para os experimentos que foram realizados de acordo com a matriz de planejamento descrito no item 4.2.3.2.2, foram obtidas através de técnicas cromatográficas, sendo que os valores percentuais de degradação podem ser visualizados na Tabela 4.15. Para saber a importância de cada variável (massa

do metal e tempo de exposição à radiação US) no sistema de degradação redutiva do Tiametoxam induzida por metais de valência zero, foram realizados os cálculos dos efeitos principais e das interações de 2ª ordem para as variáveis estudadas. Para isso utilizou-se planilhas eletrônicas, desenvolvidas por um grupo de pesquisa da UNICAMP, utilizando-se o software Excel® da Microsoft.

Tabela 4.15 - Planejamento fatorial completo 2² com ponto central realizado para investigação da influência das variáveis massa do metal e tempo de exposição à radiação ultra-sônica na degradação do Tiametoxam.

Experimento	Zinco	Estanho	Magnésio
	Degradação (%)	Degradação (%)	Degradação (%)
1 (50 mg do metal / 10 US)	67,0	40,0	29,3
2 (350 mg do metal / 10 US)	74,0	82,0	50,2
3 (50 mg do metal / 30 US)	91,0	78,8	33,1
4 (350 mg do metal / 30 US)	100,0	95,5	76,3
5 (200 mg do metal / 20 US)	98,7	91,1	76,1
6 (200 mg do metal / 20 US)	99,0	90,1	73,6
7 (200 mg do metal / 20 US)	99,0	83,0	75,6

Os efeitos obtidos para as variáveis estudadas bem como para suas interações podem ser visualizados na Tabela 4.16. Pode-se perceber que ambas variáveis foram significativas a 95% de confiança, sendo seus efeitos positivos, indicando que a passagem do nível (-) para o nível (+) contribui com um aumento na resposta de degradação. Além disso, as interações entre as variáveis selecionadas, observadas para os metais Zn⁰ e Mg⁰, também foram significativas e positivas, indicando que se obtém maior resposta quando se trabalha simultaneamente no nível (+) das duas variáveis. Estes resultados indicam que melhores respostas de degradação redutiva do Tiametoxam são obtidas quando são utilizadas quantidades maiores do metal e maior tempo de exposição à radiação US. Isto pode ser explicado levando-se em consideração que uma maior massa do agente redutor compreende uma maior superfície de contato

estabelecida entre o metal e o substrato, e, desta forma, maior será a capacidade de transferência de elétrons do metal para a molécula de interesse, proporcionando uma degradação mais efetiva destes compostos. Além disso, de acordo com dados reportados na literatura [Hung, 2000; Hung, 1998], a radiação ultra-sônica favorece a limpeza contínua do metal dos óxidos/hidróxidos formados durante a reação permitindo a transferência de elétrons do metal para o substrato [Zhang, 2005; Y Z DAÍ, 2006]. Com relação à magnitude dos efeitos, os resultados variaram entre os metais estudados: para a degradação utilizando Zn^0 , o tempo de US foi a variável mais significativa; para o Sn^0 as duas variáveis estudadas apresentaram efeitos parecidos e para o Mg^0 , o maior efeito foi observado para a massa de metal utilizada, o que pode ser explicado pela utilização de magnésio em pó, o que promoveu o consumo quase que total do metal.

Tabela 4.16 - Efeitos das variáveis massa do metal e tempo de exposição à radiação ultra-sônica na degradação dos pesticidas Tiametoxam e Imidacloprid e suas interações obtidas no planejamento fatorial completo 2^2 com ponto central.

Variável	Zinco	Estanho	Magnésio
	Efeito	Efeito	Efeito
Média	(SG)* 89,81 ± 0,07	(SG) 80,08 ± 1,68	(SG) 59,18 ± 0,50
Massa do metal	(SG) 8,00 ± 0,17	(SG) 29,33 ± 4,44	(SG) 32,04 ± 1,32
Tempo US	(SG) 25,00 ± 0,17	(SG) 26,17 ± 4,44	(SG) 15,01 ± 1,32
Interação de 2ª ordem	(SG) 1,00 ± 0,17	-12,67 ± 4,44	(SG) 11,19 ± 1,32

(SG)* Significativo a 95% de confiança

Também foi realizada uma avaliação do ajuste do modelo linear empregando a análise de variância (ANOVA). Entretanto, os cálculos efetuados, cujos valores foram descritos na Tabela 4.17 (mostrados apenas para o planejamento envolvendo o zinco metálico), indicam que o modelo de regressão apresentou uma falta de ajuste significativa para alguns planejamentos e, além

disso, nenhum deles apresentou regressão significativa indicando que o modelo proposto não se aplicava satisfatoriamente aos dados obtidos. A falta de ajuste pode ser explicada uma vez que o gráfico de resíduos (não mostrado) apresentou resultados tendenciosos e, além disso, o coeficiente de correlação R apresentou um valor muito diferente de 100%. Essa falta de ajuste era esperada uma vez que, observando-se os dados da Tabela 4.15, os valores obtidos no ponto central são muito próximos ao obtido para o experimento no nível (+) para as duas variáveis, ou seja, 350,0 mg do metal e 30 minutos de US, o que indica que o sistema estudado não segue um comportamento linear. Verifica-se então que com massas de 200,0 mg e 20 min. de sonicação pode-se obter uma degradação significativa e que o aumento da massa e/ou tempo não melhoraram a resposta obtida.

Tabela 4.17 - Análise de variância para regressão múltipla envolvendo o sistema de degradação reductiva do inseticida Tiametoxam induzida pelo Zn⁰.

Fonte de Variação	SQ	nGL	MQ	F
Regressão	690	3	230	1,59
Resíduos	433	3	144	
F. Ajuste	433	1	433	(SG) 14446,29
Erro Puro	0,06	2	0,03	
Total	1123	6		
% variação explicada			61,42	
% máx. de variação explicável			99,99	

Resultados semelhantes foram obtidos para o inseticida Imidacloprid (Tabelas 4.18 e 4.19), onde se pode perceber que as duas variáveis selecionadas apresentaram efeitos significativos e também positivos. A única exceção foi para o sistema envolvendo a variável tempo de exposição à radiação US para o magnésio metálico, que não foi significativa a 95% de confiança. Uma outra diferença em relação aos resultados obtidos para o Tiametoxam é com relação às interações entre as variáveis que foram negativas, sendo significativas apenas para o sistema envolvendo o zinco metálico. A interação negativa indica que

Capítulo 4: Estudos de degradação de pesticidas neonicotinóides

melhores resultados são obtidos quando se utiliza uma das variáveis no nível superior e a outra no nível inferior. Neste caso, como a magnitude do efeito referente à massa do metal foi maior e também positivo, o planejamento indica que se deva trabalhar com maior massa de Zn⁰ e menor tempo de exposição à radiação US.

Tabela 4.18: Planejamento fatorial completo 2² com ponto central realizado para investigação da influência das variáveis massa do metal e tempo de exposição à radiação ultra-sônica na degradação do Imidacloprid.

Experimento	Zinco	Estanho	Magnésio
	Degradação (%)	Degradação (%)	Degradação (%)
1 (50 mg do metal / 10 US)	66,2	35,2	27,7
2 (350 mg do metal / 10 US)	96,3	74,9	96,9
3 (50 mg do metal / 30 US)	89,3	65,7	53,2
4 (350 mg do metal / 30 US)	100,0	92,9	100,0
5 (200 mg do metal / 20 US)	99,2	95,1	82,9
6 (200 mg do metal / 20 US)	99,6	90,2	97,6
7 (200 mg do metal / 20 US)	94,2	90,2	90,8

Tabela 4.19: Cálculos dos efeitos principais e de interação de 2^a ordem referentes ao planejamento fatorial com ponto central realizado para investigação da influência das variáveis massa do metal e tempo de exposição à radiação ultra-sônica na degradação do Imidacloprid.

Variável	Zinco	Estanho	Magnésio
	Efeito	Efeito	Efeito
Média	(SG) 92,11 ± 1,14	(SG) 77,74 ± 1,07	(SG) 78,44 ± 2,78
Massa do metal	(SG) 20,40 ± 3,01	(SG) 33,45 ± 2,83	(SG) 58,00 ± 7,36
Tempo US	(SG) 13,40 ± 3,01	(SG) 24,25 ± 2,83	14,30 ± 7,36
Interação de 2 ^a ordem	(SG) -9,70 ± 3,01	-6,25 ± 2,83	-11,20 ± 7,36

(SG)* Significativo a 95% de confiança

A avaliação do ajuste do modelo linear foi realizada empregando-se a análise de variância (ANOVA). Os dados não se ajustaram ao modelo, obtendo-se conclusões semelhantes às discutidas para o sistema envolvendo a degradação do Tiametoxam.

4.3.2.4. Estudo do efeito da exposição à radiação ultra-sônica (US) na degradação dos pesticidas Tiametoxam e Imidacloprid.

No estudo anterior foi verificado que o tempo de sonicação afeta significativamente o processo de degradação, sendo que quanto maior o tempo, maior a taxa de degradação. Outro planejamento fatorial 2^2 foi realizado para verificar se seria possível realizar a degradação reductiva sem o emprego do ultrassom. O tempo de agitação e de sonicação foram fixados em 30 minutos. Para a avaliação da importância da exposição US nos experimentos de degradação reductiva dos inseticidas Tiametoxam e Imidacloprid, as amostras foram submetidas a análises cromatográficas, sendo monitorada a área referente ao pico do analito, e as porcentagens de degradação dos compostos em estudo podem ser visualizados nas Tabelas 4.20 e 4.21.

Tabela 4.20 - Planejamento fatorial 2^2 para otimização da degradação do pesticida Tiametoxam em solução aquosa pelos metais Zn^0 e Sn^0 . (n = 2)

Experimento	Zinco	Estanho
	Degradação (%)	Degradação (%)
1 (50 mg do metal / agitação)	59,0 ± 7,0	39,1 ± 3
2 (350 mg do metal / agitação)	100,0 ± 0,1	99,7 ± 0,2
3 (50 mg do metal / US)	97,0 ± 1,0	85,6 ± 4
4 (350 mg do metal / US)	100,0 ± 0,1	95,4 ± 0,9

Tabela 4.21 - Planejamento fatorial 2² para otimização da degradação do pesticida Imidacloprid em solução aquosa pelos metais Zn⁰ e Sn⁰. (n = 2)

Experimento	Zinco	Estanho
	Degradação (%)	Degradação (%)
1 (50 mg do metal / agitação)	49,8 ± 3,0	26,6 ± 1,0
2 (350 mg do metal / agitação)	99,9 ± 0,1	99,9 ± 0,1
3 (50 mg do metal / US)	98,9 ± 0,8	87,3 ± 1,0
4 (350 mg do metal / US)	99,9 ± 0,1	92,9 ± 7,0

Os cálculos dos efeitos principais e as interações de 2^a ordem, cujos resultados foram descritos nas Tabelas 4.22 e 4.23, também foram realizados com auxílio das planilhas eletrônicas, desenvolvidas pelo grupo de pesquisa da UNICAMP, conforme descrito anteriormente. Todos os efeitos foram significativos a 95% de confiança.

Tabela 4.22 - Planejamento fatorial 2² realizado para verificação da influência do ultra-som na degradação reductiva do Tiametoxam

Variável	Zinco	Estanho
	Efeito	Efeito
Média	(SG) * 89,14 ± 1,26	(SG) 79,95 ± 0,90
Massa do metal	(SG) 21,64 ± 2,52	(SG) 35,16 ± 1,81
Agitação ou US	(SG) 19,00 ± 2,52	(SG) 21,14 ± 1,81
Interação de 2 ^a ordem	(SG) -19,01 ± 2,52	(SG) -25,40 ± 1,81

(SG)* Significativo a 95% de confiança

Tabela 4.23 - Planejamento fatorial 2² realizado para verificação da influência do ultra-som na degradação reductiva do Imidacloprid

Variável	Zinco	Estanho
	Efeito	Efeito
Média	(SG)* 87,13 ± 0,62	(SG) 76,68 ± 1,29
Massa do metal	(SG) 25,55 ± 1,24	(SG) 39,43 ± 2,58
Agitação ou US	(SG) 24,52 ± 1,24	(SG) 26,81 ± 2,58
Interação de 2 ^a ordem	(SG) -24,51 ± 1,24	(SG) -33,89 ± 2,58

(SG)* Significativo a 95% de confiança

Pode-se perceber em ambos os planejamentos (Tabelas 4.22 e 4.23), que as variáveis selecionadas apresentaram valores positivos para os efeitos, indicando que o aumento da massa do metal e a exposição do sistema à radiação ultra-sônica, conduzem a maiores taxas de degradação dos compostos em estudo. Entretanto, a interação entre as duas variáveis, também observado para ambos os planejamentos, apresentou um sinal negativo, indicando que, quando se utiliza uma das variáveis no nível (+) e a outra no nível (-) também se obtêm uma alta degradação. Assim, quando se utiliza menor massa de metal e radiação ultra-sônica ou maior massa de metal e agitação convencional é possível se obter altas taxas de degradação. Através de uma análise das Tabelas 4.20 e 4.21 pode-se perceber que para os experimentos 1 e 3, que apresentam uma massa de 50 mg do metal, o uso de radiação ultra-sônica proporciona um acréscimo de aproximadamente 50% na resposta de degradação para todos os planejamentos estudados. Entretanto, para os experimentos 2 e 4, que apresentam uma massa de 350 mg do metal, os resultados são muito semelhantes para ambos os experimentos, apresentando aproximadamente 100% de degradação dos pesticidas. Desta forma, pode-se concluir que a influência do US é mais significativa quando se utiliza pequenas massas do metal. Estes resultados podem ser claramente observados no gráfico da concentração normalizada do pesticida (C/C₀) como uma função do tempo para os experimentos reductivos

envolvendo o zinco metálico (Figura 4.9). Resultados semelhantes foram obtidos para o estanho.

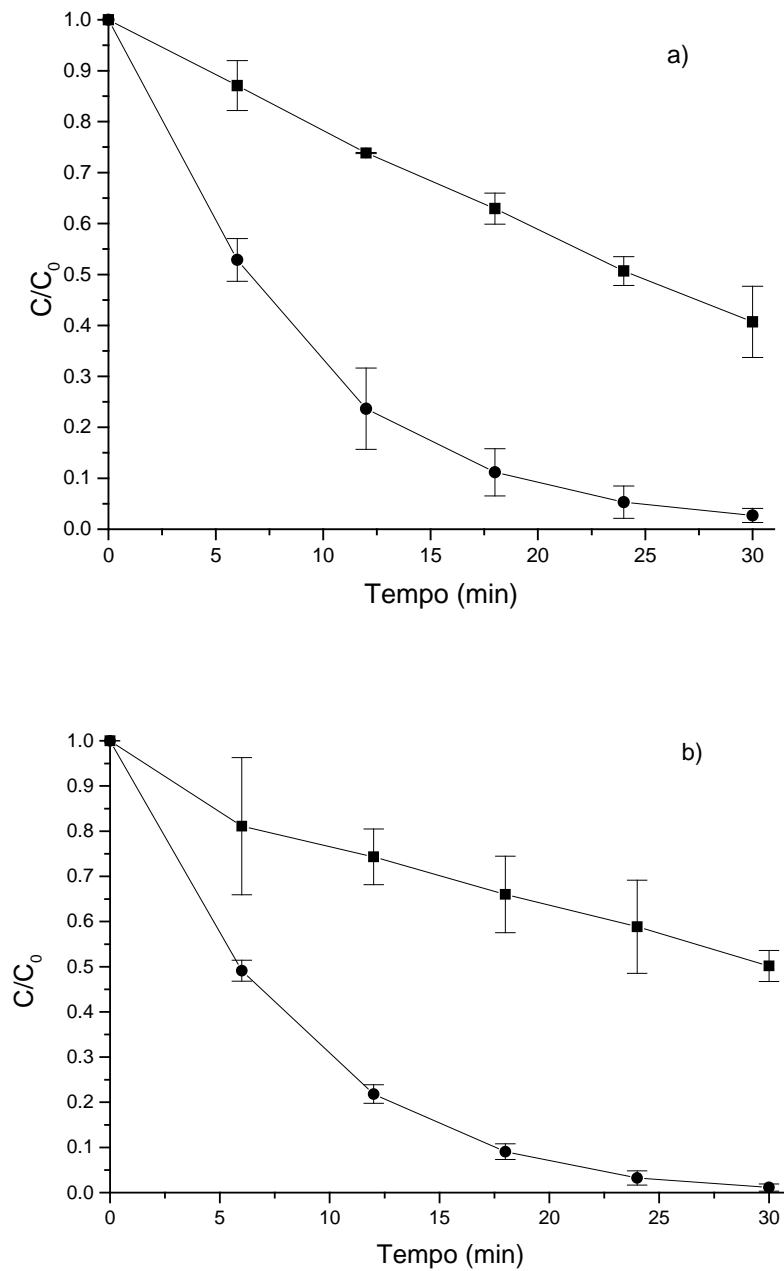


Figura 4.9 - Concentração normalizada do inseticida (C/C_0) como uma função do tempo: (a) Tiametoxam; b) Imidacloprid. As reações foram conduzidas em solução aquosa ($\text{pH} = 2$), na presença de 50,0 mg de zinco metálico com ou sem a irradiação ultra-sônica. As barras representam o desvio padrão das replicatas. (■) Sem a presença de radiação ultra-sônica. (●) Com a presença de radiação ultra-sônica.

De acordo com os resultados, pode-se concluir que para uma degradação efetiva dos compostos de interesse com pequenas massas do metal, o emprego da radiação ultra-sônica é imprescindível para garantir que a superfície do metal ficará exposta e que os elétrons poderão ser transferidos para o substrato. Em contrapartida, quando se utiliza massas bem maiores (7 vezes), o uso da radiação ultra-sônica pode ser dispensado.

4.3.2.5. Avaliação dos produtos de degradação por ESI-MS

Para elucidar os produtos de degradação redutiva dos pesticidas Tiametoxam e Imidacloprid em solução aquosa, alíquotas do sistema reacional foram analisadas em um espectrômetro de massas com fonte de ionização electrospray usado no modo positivo, ESI(+)-MS.

4.3.2.5.1. Estudo do mecanismo de degradação redutiva do pesticida Tiametoxam em solução aquosa

A Figura 4.10a mostra o espectro de massas das soluções de Tiametoxam (**1**, C₈H₁₀N₅O₃SCl) em pH = 2 e concentração 50,0 mg.L⁻¹, no tempo 0 e depois de 30 minutos de tratamento redutivo com estanho metálico sob radiação ultra-sônica. O espectro de massas da solução aquosa de Tiametoxam (Figura 4.10a) mostra a presença predominante do aduto protonado, [**1** + H]⁺, de *m/z* 292/294, além do aduto [**1** + Na]⁺, de *m/z* 314/316. O íon de *m/z* 211 corresponde ao produto de fragmentação do [**1** + H]⁺. A seleção por massas e a dissociação induzida por colisão (CID – “collision-induced dissociation”) do íon *m/z* 292, que é proporcionada pela colisão do íon com o gás de colisão (hélio) na fonte de íons, levou à formação do íon *m/z* 211 que corresponde à perda de NO₂ (46 Da) mais um átomo de cloro (35/37 Da).

A Figura 4.10b mostra o espectro de massas da solução aquosa de Tiametoxam após o tratamento redutivo com estanho metálico durante 30 minutos de radiação ultra-sônica. Resultados semelhantes foram obtidos para o zinco metálico (não mostrados). Pode-se perceber a redução da intensidade do pico de *m/z* 292/294, [**1** + H]⁺ indicando um considerável consumo desta molécula sob as

condições estudadas. Além disso, a presença de outros íons de m/z 262/264, 247/249, e 274/276 foram detectados. Pode-se observar pela abundância isotópica dos íons, uma forte evidência da presença de cloro em suas estruturas.

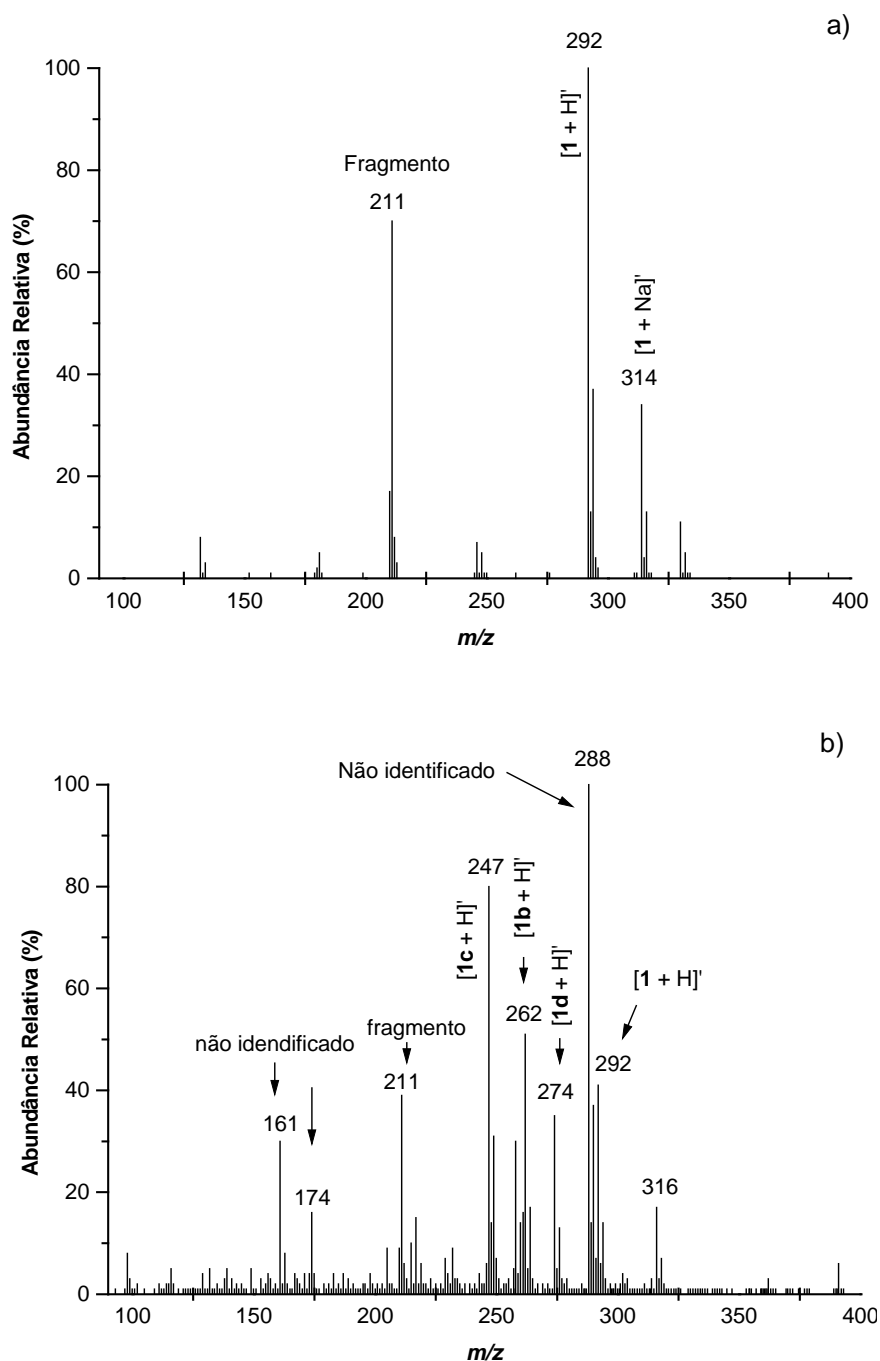
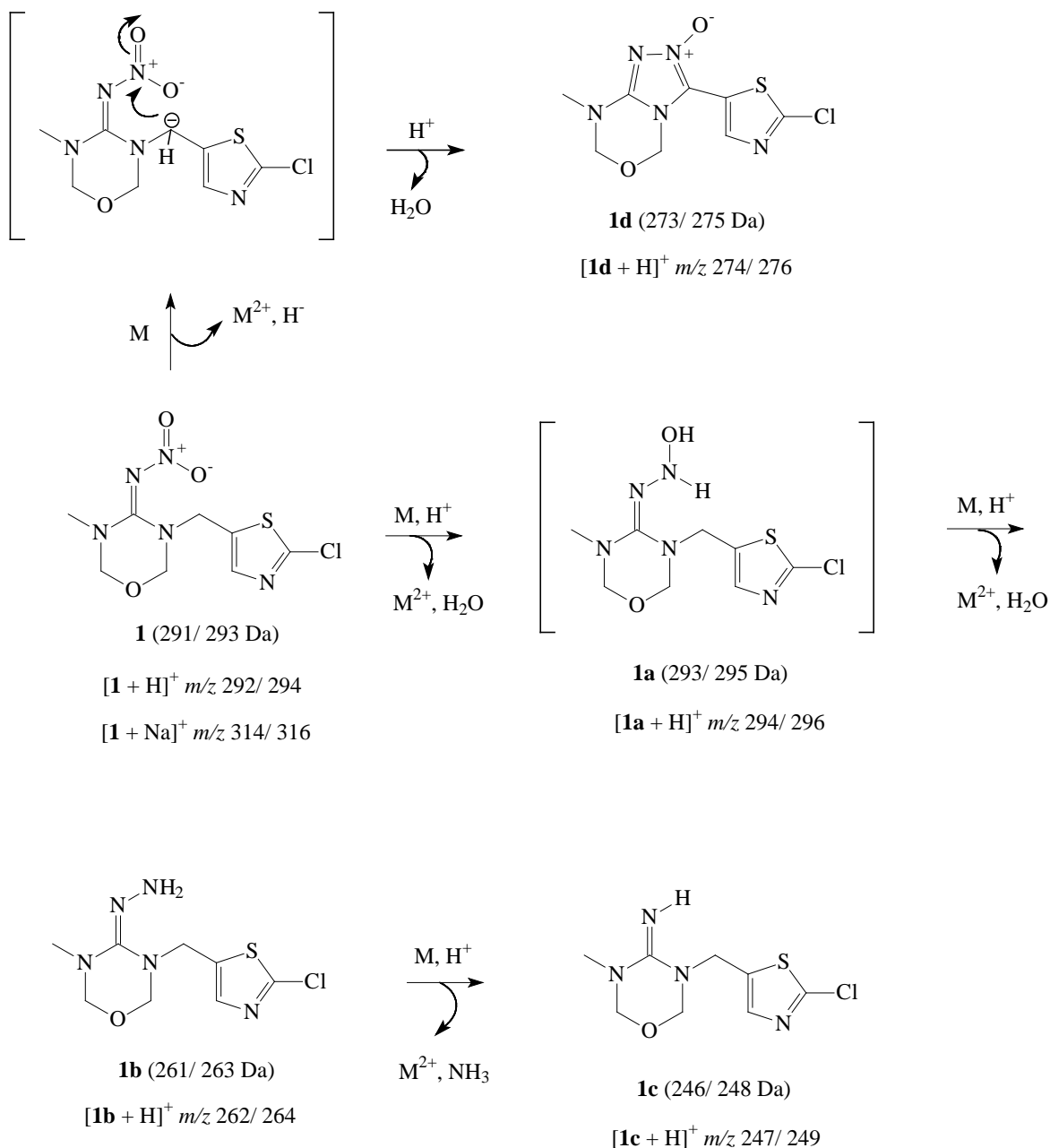


Figura 4.10 - ESI(+)-MS da solução aquosa de Tiametoxam 50,0 mg.L⁻¹ (1) tratada por estanho metálico (350 mg) na presença de radiação ultra-sônica. (a) 0 min; (b) 30 min.

De acordo com as informações relatadas anteriormente e levando-se em consideração a m/z de cada íon, foram propostas estruturas para os íons de m/z 262/264, 247/249, e 274/276, as quais são respectivamente representadas por: $[1b + H]^+$, $[1c + H]^+$, e $[1d + H]^+$ e mostradas no Esquema 4.6. De acordo com os resultados, a diferença de 30 unidades de m/z entre $[1 + H]^+$ (de m/z 292/294) e $[1b + H]^+$ (de m/z 262/264) indica que $[1b + H]^+$ é referente à ($[1 + H]^+ - 2O$ (32 Da) + $2H$ (2 Da)). Semelhantemente, a $\Delta m/z$ entre $[1b + H]^+$ (de m/z 262/ 264) e $[1c + H]^+$ (de m/z 247/ 249) de 15 unidades sugere que $[1c + H]^+$ pode ser entendido como ($[1b + H]^+ - NH_2$ (16 Da) + H (1 Da)). Finalmente, $\Delta m/z$ entre $[1 + H]^+$ (de m/z 292/ de 294) e $[1d + H]^+$ (de m/z 274/ 276) de 18 unidades indica que $[1d + H]^+$ é referente ($[1 + H]^+ - H_2O$ (18 Da)).

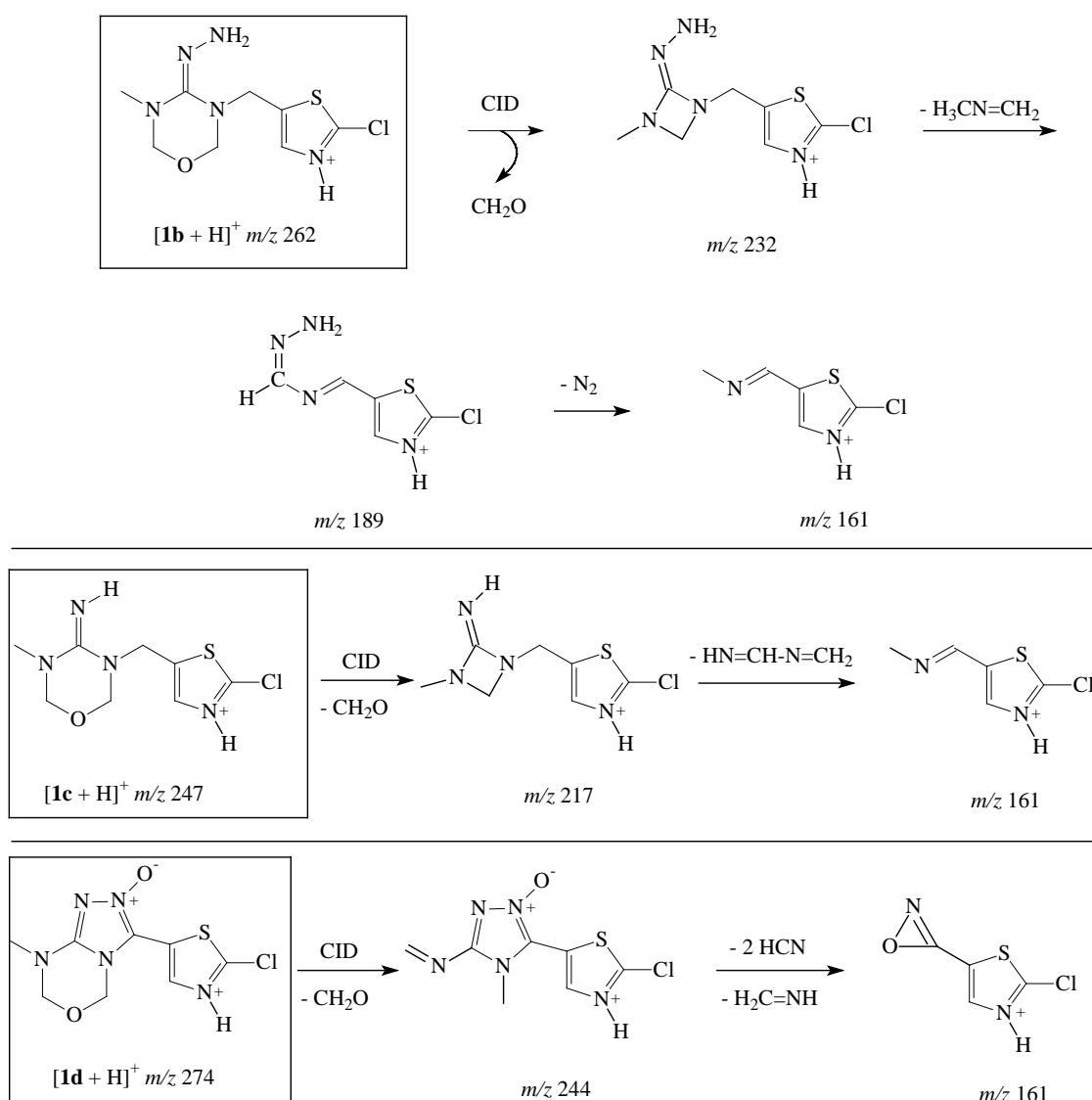


Esquema 4.6. Proposta para a rota de degradação do Tiametoxam promovido pelos metais Zn⁰ e Sn⁰ em solução aquosa (pH = 2).

Para confirmação das estruturas propostas provenientes da degradação redutiva do Tiametoxam (1), os íons [1b + H]⁺, [1c + H]⁺, e [1d + H]⁺ foram analisados por ESI(+)-MS/MS. A seleção por massas e fragmentação por CID dos íons gerou uma série de íons filhos (Tabela 4.24), os quais sustentam as propostas feitas para as estruturas, como pode ser observado no Esquema 4.7.

Tabela 4.24. Principais fragmentos gerados por CID dos íons $[1b + H]^+$, $[1c + H]^+$, e $[1d + H]^+$ detectados no ESI(+)-MS de uma solução aquosa de Tiametoxam (1) tratada com os metais de valência zero.

Íon precursor (m/z)	Fragmentos (abundância relativa %)
$[1b + H]^+$ (262)	232 (100), 189 (27), 161 (46)
$[1c + H]^+$ (247)	217 (79), 161 (100)
$[1d + H]^+$ (274)	244 (100), 161 (76)



Esquema 4.7. Proposta do caminho de fragmentação dos íons $[1b + H]^+$, $[1c + H]^+$, e $[1d + H]^+$ após a seleção e fragmentação promovida por CID.

Com base nestes resultados, uma rota de degradação para a reação do Tiametoxam (**1**) em solução aquosa (pH = 2) induzida por metais de valência zero foi proposta, como mostrado no Esquema 4.6. Sugere-se que o mecanismo envolva uma etapa inicial da reação que consiste na redução do grupo nitro de **1** com a formação de uma hidrazina hidroxilada muito instável **1a**. Pode-se perceber que os íons [**1a** + H]⁺ de *m/z* 278/280 não foram detectados no espectro ESI(+)-MS, como mostrado no Esquema 4.6. Sabe-se que muitos agentes podem ser utilizados para promover a redução do grupo NO₂, como Fe⁰, Zn⁰ e Sn⁰ na presença de ácido. Entretanto, o mecanismo destas reduções foi pouco estudado, embora se presuma que geralmente os compostos que carregam o grupo hidroxilamino são intermediários nestes processos, porque podem ser isolados sob determinadas circunstâncias. Sequencialmente, a hidrazina hidroxilada **1a** é rapidamente reduzida para formar a hidrazona **1b**, a qual pode sofrer uma eliminação redutiva do grupo NH₃ para formar a imina **1c**, que é provavelmente estabilizada pela ressonância dos elétrons não ligantes do nitrogênio do anel. A formação de **1b** e **1c** a partir de **1** foi relatada em trabalhos anteriores. Ford e Casida [2006] observaram que os compostos **1b** e **1c** são dois dos vários produtos formados a partir do metabolismo do Tiametoxam por ratos. Em um outro trabalho, Casida [2005] e colaboradores relataram a síntese de **1b** e **1c** tratando **1** com ferro ou zinco metálico em solução aquosa ácida. Finalmente, a formação de um carbânion estabilizado seguido por um ataque nucleofílico do carbono aniônico ao nitrogênio do grupo eletrofílico NO₂ seguido de uma perda de água é proposto para explicar a formação do composto **1d**, que é desconhecido.

4.3.2.5.2. Estudo do mecanismo de degradação redutiva do pesticida Imidacloprid em solução aquosa

A Figura 4.11a mostra o espectro ESI(+)-MS de uma solução aquosa (pH = 2) do pesticida Imidacloprid (**2**), que mostra a presença dos íons de *m/z* 256/ 258 e 278/ 280, atribuídas ao [**2** + H]⁺ e [**2** + Na]⁺, respectivamente. A abundância isotópica de ambos os íons indica a presença de um átomo de cloro em suas estruturas.

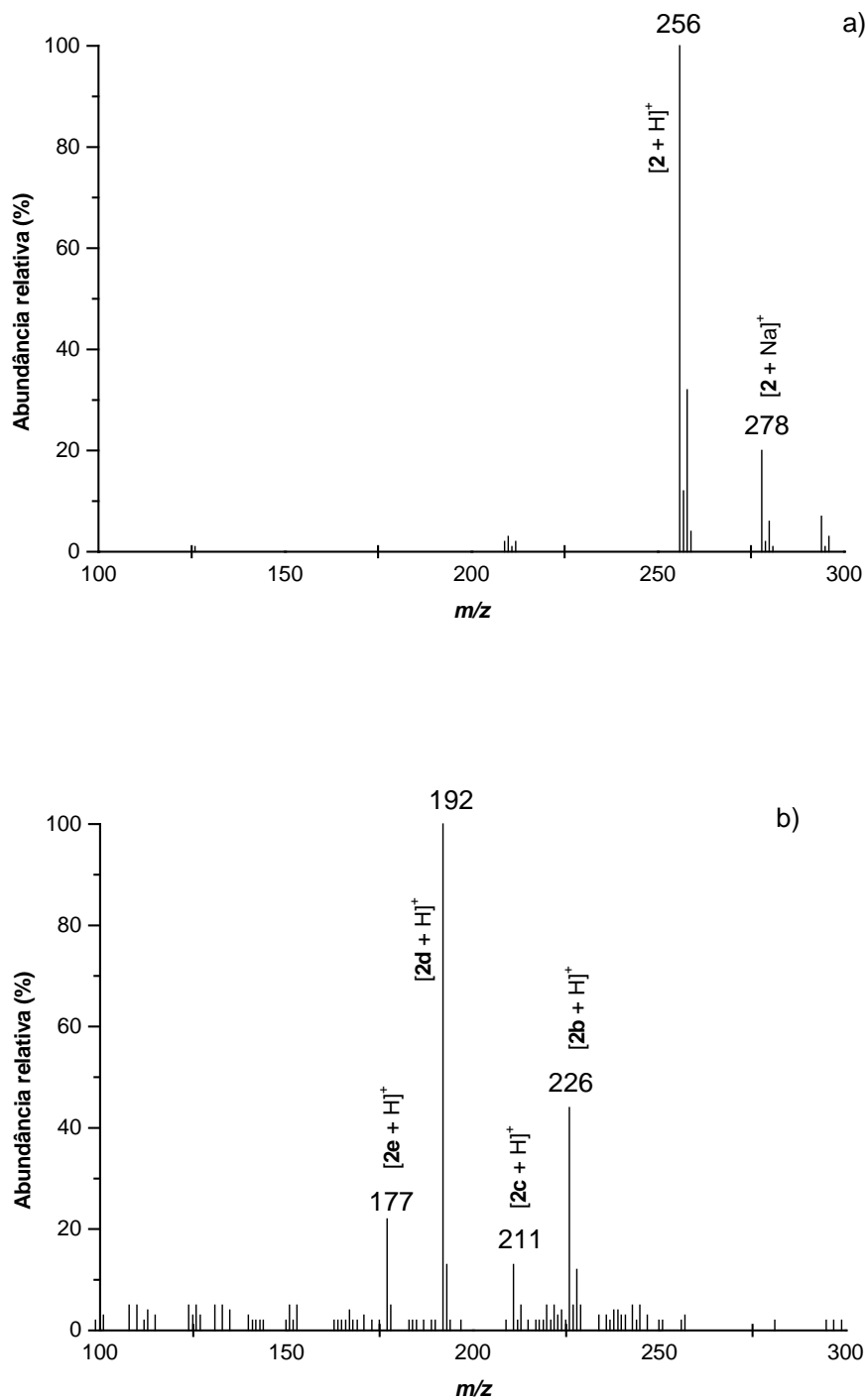
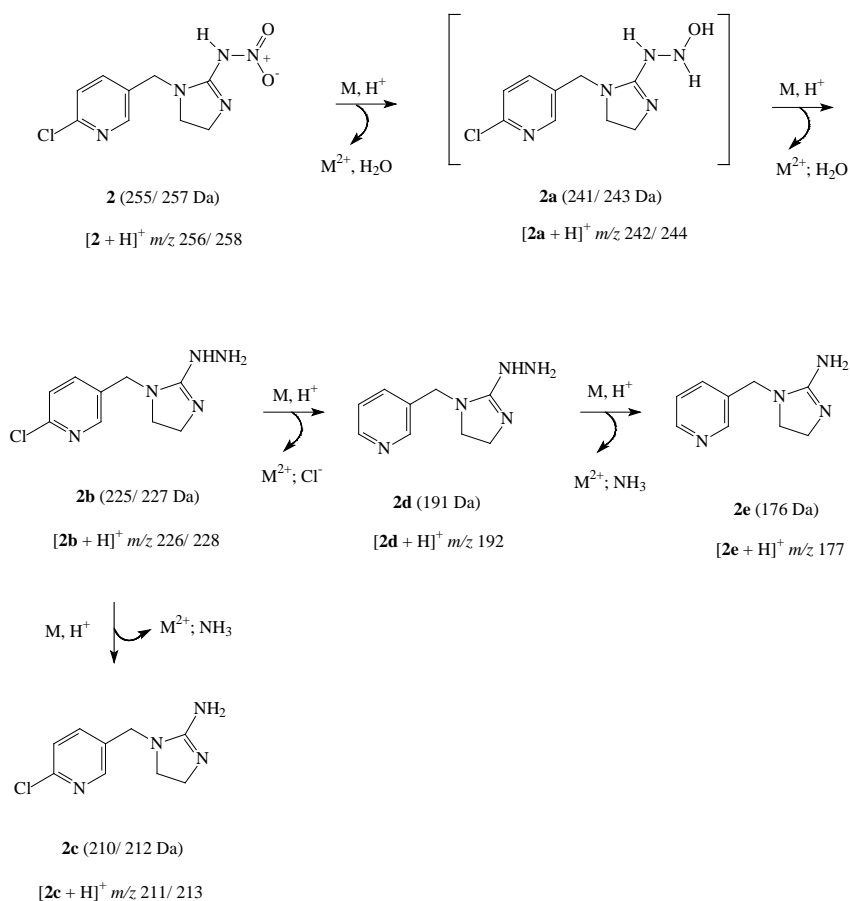


Figura 4.11. ESI(+)-MS da solução aquosa de Imidacloprid $50,0 \text{ mg.L}^{-1}$ (**2**) tratada com zinco metálico (350 mg) na presença de radiação ultra-sônica. (a) 0 min; (b) 30 min.

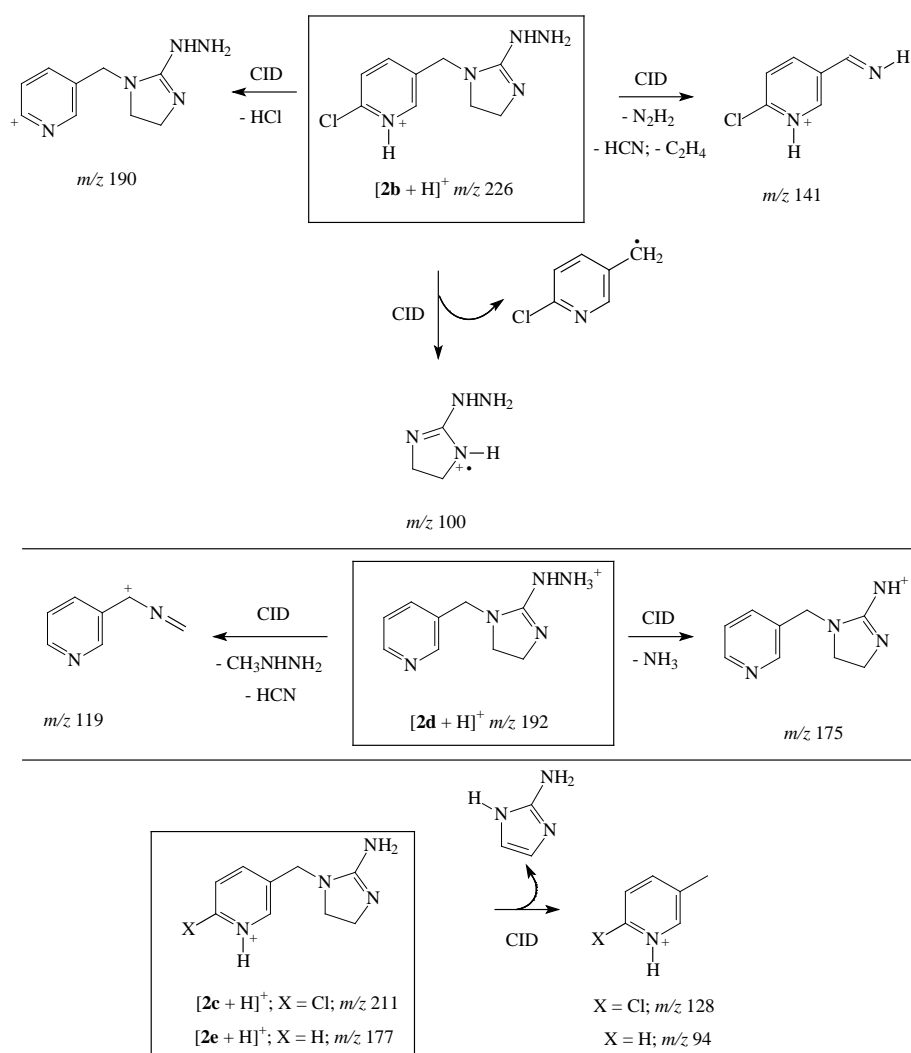
A Figura 4.11b mostra o espectro ESI(+)-MS de uma solução aquosa do pesticida Imidacloprid tratada com zinco metálico e submetida à irradiação ultrassônica por 30 minutos. Espectros similares foram obtidos para o Sn⁰ (não mostrados). Depois deste tempo, não se detectou os íons [2 + H]⁺ e [2 + Na]⁺ indicando que o pesticida Imidacloprid (**2**) tenha sido degradado sob estas condições. Além disso, foi detectada a presença de outros íons: *m/z* 226/ 228, 211/ 213, 192, e 177 (o primeiro e o segundo apresentam átomo de cloro em suas estruturas). Estes dados foram analisados e baseando-se nos argumentos usados para a interpretação Tiametoxam, foram propostas as estruturas para os íons de *m/z* 226/ 228, 211/ 213, 192, e 177, as quais foram representadas por: [2b + H]⁺, [2c + H]⁺, [2d + H]⁺, e [2e + H]⁺ (Esquema 4.8). Estas estruturas são consistentes com a fragmentação dos íons [2b + H]⁺, [2c + H]⁺, [2d + H]⁺, e [2e + H]⁺ (Tabela 4.25), como claramente representado no Esquema 4.9.



Esquema 4.8. Proposta de degradação do Imidacloprid (**2**) promovida pelos metais (Sn⁰, Zn⁰) em solução aquosa ácida.

Tabela 4.25. Principais fragmentos gerados por CID dos íons $[2b + H]^+$, $[2c + H]^+$, $[2d + H]^+$, e $[2e + H]^+$ detectados no ESI(+)-MS de uma solução aquosa de Imidacloprid (**2**) tratada com os metais de valência zero.

Íon precursor (m/z)	Íons fragmentos (Abundância relativa %)
$[2b + H]^+$ (226)	190 (59), 141 (35), 100 (100)
$[2c + H]^+$ (211)	128 (100)
$[2d + H]^+$ (192)	175 (44), 119 (100)
$[2e + H]^+$ (177)	94 (100)



Esquema 4.9 - Proposta do caminho de fragmentação dos íons $[2b + H]^+$, $[2c + H]^+$, $[2d + H]^+$, e $[2e + H]^+$ após a seleção e fragmentação promovida por CID .

De acordo com os resultados, o mecanismo para a degradação do Imidacloprid (**2**) em solução aquosa ácida induzida por metais de valência zero foram propostos, como descrito no Esquema 4.8. Esta rota, como sugerido igualmente para a degradação do Tiametoxam sob circunstâncias idênticas, (Esquema 4.6), envolve a redução inicial do grupo nitro de **2** para gerar a hidrazina hidroxilada instável **2a** (cuja forma protonada de m/z 242/ 244 não foram detectados na Figura 4.11b). Sequencialmente, **2a** pode rapidamente ser reduzida para formar a hidrazona monosubstituída **2b**, a qual pode submeter-se a uma eliminação redutiva do NH_3 para formar a amina **2c**. Pardo e colaboradores [1999] investigaram a degradação fotoquímica de Imidacloprid (**2**) através da técnica Polarografia de Pulso Diferencial (DPP) e pela Cromatografia Eletrocínética micelar capilar (MECC). Baseado nestes resultados eles propuseram uma rota muito similar para a degradação de **2** formando os compostos **2a**, **2b**, e **2c**. Os compostos **2b** e **2c** também foram relatados em outros trabalhos [Anhalt, 2007; Cox, 1997; Dick, 2005; Kagabu, 1995; Papiernik, 2006; Schulz-Jander, 2002].

Alternativamente, **2b** pode sofrer uma descloração redutiva para formar a hidrazina **2d**, a qual gera a amina **2e** através de um eliminação redutiva do NH_3 (as formas da hidrazona e da imina dos compostos **2b/ 2d** e **2c/ 2e**, respectivamente, não são representados no Esquema 4.8 devido, provavelmente, às suas elevadas instabilidades). Casida e colaboradores [2005] sintetizaram o composto **2e** pela primeira vez e verificaram que sua atividade inseticida é comparável ao do Imidacloprid [Latli, 1999]. Além disso, relatou-se que a remoção do halogênio dos anéis aromáticos (como é argumentado na descloração do Imidacloprid proposto no Esquema 4.7) pode ser realizada por diversos metais de valência zero, [Colon, 1982; Hoffmann, 1962] incluindo o Sn^0 , o Zn^0 , e o Fe^0 , em meio ácido.

4.4. Conclusões parciais

Os estudos mostram que o fungo *Paecilomyces lilacinus*, no pH estudado, possui a capacidade de degradar as moléculas dos inseticidas neonicotinóides estudados e que a ausência de glicose no meio de cultura favorece a degradação destes compostos. Provavelmente, a ausência de fonte de carbono induz o fungo

a consumir o composto de interesse para adquirir a energia necessária à sua sobrevivência. O Tiametoxam parece ser mais susceptível à degradação envolvendo o fungo *Paecilomyces lilacinus*, pois apresentou maior taxa de degradação (cerca de 80%) sob as condições estudadas, enquanto que o Imidacloprid apresentou uma taxa de degradação de cerca de 30%. Embora os testes realizados envolvendo os processos biológicos tenham apresentado resultados promissores quanto à degradação dos pesticidas em meio aquoso, pode-se dizer que este método necessita de condições favoráveis de trabalho, que muitas vezes inviabiliza o processo. Também é importante ressaltar que, como se pode ver nos mecanismos propostos, não se obteve completa mineralização dos compostos poluentes, uma vez que eles foram apenas convertidos em outros compostos, e que se faz necessário verificar a toxicidade destes produtos, pois muitas vezes, podem ser mais tóxicos que os de origem. Além disso, são necessários vários dias de incubação para que os compostos de interesse sejam degradados, o que também se torna um grande inconveniente.

As análises por Espectrometria de Massas com Fonte de Ionização “Electrospray” mostraram-se muito eficientes para os estudos mecanísticos, sendo que as amostras foram analisadas sem tratamento prévio, isto é, sem extração com solvente dos componentes do meio de cultura. De acordo com os resultados apresentados neste trabalho, mesmo utilizando-se uma matriz complexa, foi possível identificar os compostos de origem, além dos produtos de biodegradação. Esta técnica é muito promissora, uma vez que em estudos de biotransformação são realizadas várias etapas de purificação dos produtos de reação dos compostos orgânicos pelos microorganismos. Além disso, tem-se uma grande perda de massa dos compostos de interesse nestas etapas, que muitas vezes inviabilizam a técnica, uma vez que o rendimento das reações muitas vezes é baixo.

Os estudos de degradação redutiva indicam que os metais, Zn^0 e Sn^0 , quando em solução ácida, são efetivos na remoção dos inseticidas neonicotinóides estudados, apresentando um mecanismo de degradação semelhante para ambas as moléculas. Embora o Mg^0 tenha apresentado uma

elevada taxa de degradação para os compostos estudados, deve-se ressaltar que este metal é mais susceptível à passivação por óxidos/hidróxidos formados durante o processo, e que por isso se faz necessário o ajuste do pH durante todo o intervalo reacional. A técnica é muito simples e demanda pouco tempo de reação para que os compostos de interesse sejam degradados. Entretanto, não se obteve completa mineralização dos compostos poluentes, uma vez que estas moléculas apenas foram convertidas em outros compostos, sendo necessários estudos de toxicidade.

Os métodos quimiométricos, utilizando-se planejamento fatorial de experimentos, possibilitaram a investigação da influência das variáveis estudadas na degradação dos pesticidas Tiametoxan e Imidacloprid com um número mínimo de experimentos. Através destes estudos foi possível verificar que massa do metal e tempo de exposição ao ultra-som afetam significativamente a degradação dos pesticidas estudados. Também foi possível verificar que a presença de radiação ultra-sônica é mais significativa quando se utiliza pequenas massas do metal.

Semelhantemente aos processos biológicos, a técnica Espectrometria de Massas com Fonte de Ionização “Electrospray” mostrou-se muito eficaz na elucidação do mecanismo de degradação envolvendo os processos redutivos.

CAPÍTULO 5

ESTUDOS DE DEGRADAÇÃO REDUTIVA DO CORANTE ÍNDIGO CARMIM EM SOLUÇÃO AQUOSA.

5. ESTUDOS DE DEGRADAÇÃO REDUTIVA DO CORANTE ÍNDIGO CARMIM EM SOLUÇÃO AQUOSA.

5.1. Introdução

A importância dos corantes para a civilização humana é evidente e bem documentada. Mesmo nos tempos mais remotos, os pigmentos já eram utilizados para fazer inscrições rupestres. Estes compostos, inicialmente, eram obtidos de fontes naturais sendo que apenas em 1856 foi obtido o primeiro corante sintético por William Henry Perkin, um químico inglês, que sintetizou a mauveína. Atualmente, os corantes sintéticos são extensivamente utilizados nas indústrias alimentícia, têxtil, gráfica, fotográfica e também como aditivos em derivados de petróleo. Aproximadamente 10.000 diferentes corantes e pigmentos são usados industrialmente, o que representa um consumo anual de cerca de 7×10^5 tons no mundo [Spadaro, 1992; Nigam e Marchant, 1996; Nigam, 1995], sendo 26.500 tons somente no Brasil [Guaratini, 2000].

A indústria têxtil vem se destacando nas últimas décadas devido ao seu importante papel na economia de muitos países. No Brasil, esta indústria se destaca entre os 8 setores mais importantes da atividade industrial [Conchon, 1999]. Embora as diferenças tecnológicas entre as pequenas e grandes indústrias sejam bastante significativas, todas têm em comum a particularidade de utilizar grandes quantidades de água. Este fato, associado ao baixo aproveitamento dos insumos (corantes, detergentes, engomantes, amaciantes, etc.), faz com que a indústria têxtil seja responsável pela geração de grandes volumes de resíduos, com elevada carga orgânica e forte coloração [Kunz, 2002].

A problemática ambiental associada ao efluente têxtil é bastante conhecida. Devido a sua própria natureza, a presença dos corantes é facilmente detectada, sendo visíveis mesmo em concentrações tão baixas como 1 mg L^{-1} . Quando lançados nos corpos aquáticos receptores, mesmo quantidades reduzidas podem alterar a coloração natural dos rios, resultando em graves problemas estéticos além de reduzir alguns processos fotossintéticos [Kunz, 2002; Guaratini, 2000]. Os corantes apresentam composição química variada,

baixa degradabilidade por processos biológicos, elevada DQO, além da presença de compostos recalcitrantes que podem estar associados à toxicidade crônica e aguda [Kunz, 2002; Ciardelli, 2001]. Além disso, admite-se que o maior problema ambiental envolvendo corantes esteja representado pela ampla utilização de azocorantes, espécies químicas de reconhecido efeito carcinogênico e mutagênico [Zanoni, 2001; Nam, 2001].

No Brasil, a Resolução 357 do CONAMA estabelece critérios de qualidade para a água, sendo que os níveis de coloração são estabelecidos de acordo com a sua classificação (água doce, água salina e água salobra). É importante ressaltar que a Resolução também deixa claro que o lançamento de efluentes nos corpos receptores não pode alterar a sua classificação, e desta forma, os processos de degradação destes efluentes devem ser capazes de garantir os padrões de qualidade da água desejados.

5.1.1. Índigo Carmim

O corante índigo-carmim, ou sal sódico do ácido 5,5'-indigodissulfônico, é um corante muito utilizado na indústria alimentícia, fabricação de cápsulas como um pigmento solúvel, empregado como corante de contraste para a mucosa colorretal para melhor visualização de lesões detectadas pela colonoscopia, e é também usado como agente complexante para a análise de cobre por espectrofotometria. Entretanto, seu principal emprego acontece nas indústrias têxteis. Sua estrutura e algumas de suas propriedades podem ser visualizadas na Figura 5.1 e na Tabela 5.1 respectivamente.

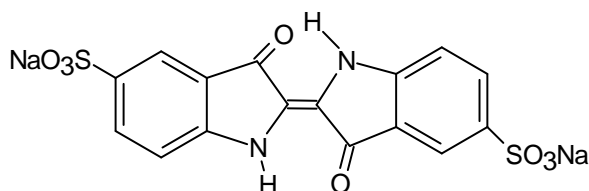


Figura 5.1. Estrutura do corante Índigo Carmim.

Tabela 5.1. Propriedades físico-químicas do corante Índigo Carmim.

Propriedades	Índigo Carmim
Fórmula química	$C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$
Massa molar	466,36 g.mol ⁻¹
Ponto de fusão	>300 °C
Solubilidade em água	10 g.L ⁻¹ (25 °C)

5.2. Parte Experimental

5.2.1. Metodologia

5.2.1.1. Estudo da degradação redutiva do corante Índigo Carmim em solução aquosa.

5.2.1.1.1. Estudos preliminares

Foram realizados testes iniciais para verificar a potencialidade dos metais Zn⁰, Sn⁰, Mg⁰ e Fe⁰ sobre a degradação da molécula Índigo Carmim em solução aquosa. Para isso, 200,0 mg do metal foram adicionados a 20,00 mL de uma solução de Índigo Carmim (40,0 mg.L⁻¹) em pH previamente ajustado para 2,0, com auxílio de uma solução de H₂SO₄/H₂O (1:1) e submetidos à radiação ultrassônica por 30 minutos. Quando se utilizou o metal Mg⁰, fez-se o ajuste do pH durante todo o intervalo reacional. Após o tempo estabelecido, as amostras foram filtradas utilizando-se filtros Millipore e posteriormente analisadas utilizando-se um espectrofotômetro UV-Vis.

5.2.1.1.2. Estudo da potencialidade da esponja de aço Bombril® na degradação redutiva do corante

Alguns experimentos foram realizados para verificar a potencialidade da esponja de aço Bombril® como fonte de ferro metálico nos processos redutivos envolvendo a molécula Índigo Carmim em solução aquosa. Desta forma, 330,0 mg do bombril® foram adicionados a 20,00 mL de uma solução de Índigo Carmim (40,0 mg.L⁻¹) em pH previamente ajustado para 2,0, com auxílio de uma solução

de H₂SO₄/H₂O (1:1). A solução foi agitada durante 30 minutos. Após este tempo, as amostras foram coletadas e analisadas em um espectrofotômetro UV-Vis, evitando-se, desta forma, a etapa de filtragem.

5.2.2. Técnicas analíticas utilizadas no monitoramento da reação redutiva do corante Índigo Carmim em solução aquosa.

5.2.2.1. Espectrofotometria de Absorção Molecular na região do Ultravioleta-Visível (EAM-UV-Vis).

A redução do corante Índigo Carmim foi monitorada pela técnica Espectrofotometria de Absorção Molecular na região do Ultravioleta-Visível (EAM-UV-Vis). Para isso utilizou-se um espectrofotômetro Varian modelo Cary 50 Series. As análises foram realizadas no modo varredura completa, na faixa compreendida de 190 a 800 nm, utilizando-se uma cubeta de quartzo com 1 cm de caminho óptico.

Este equipamento faz parte da infra-estrutura do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

5.2.2.2. Espectrometria de Massas com Fonte de Ionização “Electrospray” (ESI-MS)

A reação do corante Índigo Carmim utilizando-se a esponja de aço bombril[®] foi monitorada pela técnica ESI-MS, com o objetivo de elucidar os produtos da reação. Estas análises foram realizadas em um equipamento Electrospray-LC/MS (Agilent-1100) operando em modo negativo. As amostras foram diretamente introduzidas na fonte, com auxílio de uma microseringa, sob um fluxo de 5 µL.min⁻¹. Os parâmetros operacionais foram os seguintes: temperatura do capilar 200 °C, fluxo do gás de secagem (N₂) 6 L.min⁻¹, potencial do spray 3.5 kV. Para análises MS/MS, os íons precursores foram isolados no íon trap numa faixa de 1 unidade de razão *m/z* e fragmentados via dissociação induzida por colisão (CID) com gás hélio.

Este equipamento encontra-se instalado nas dependências do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

5.3. Resultados e discussão

5.3.1. Estudos preliminares – Potencialidade dos metais Zn^0 , Sn^0 , Mg^0 e Fe^0 na degradação do corante Índigo Carmim em solução aquosa.

Os ensaios redutivos do corante Índigo Carmim indicaram, visualmente, uma completa descoloração da solução para todos os metais testados. Desta forma, foram retiradas alíquotas do sistema reacional para análise por EAM-UV-Vis, para monitoramento da reação. Entretanto, na etapa de filtragem, para retirada dos metais dispersos em solução (além de óxidos/hidróxidos formados durante a reação), a solução apresentou novamente a coloração azul, indicando uma reversibilidade da reação. Acredita-se que o grupo cromóforo seja reduzido e que o contato com o oxigênio do ar seja capaz de oxidá-lo novamente. No caso da etapa de filtragem, o processo abrupto de empurrar o êmbolo da seringa, para que a solução passe pelo filtro, seja suficiente para a oxidação da molécula e, desta forma, ocorre o restabelecimento do grupo cromóforo responsável pela coloração. Desta forma, não foi possível monitorar a reação por EAM-UV-Vis. Sendo assim, novos experimentos foram realizados, eliminando-se a etapa de filtragem para que a reação pudesse ser monitorada por EAM-UV-Vis.

5.3.2. Potencialidade da esponja de aço Bombril[®] nos ensaios redutivos do corante Índigo Carmim

Resultados semelhantes foram obtidos quando se utilizou a esponja de aço Bombril[®], obtendo-se a mesma reversibilidade da reação. É importante ressaltar que não foi utilizada radiação ultra-sônica, sendo observado que ao cessar a agitação o sistema apresentou restabelecimento da cor. Desta forma, pôde-se fazer o monitoramento reacional pela técnica espectrofotométrica UV-Vis, pois não foi realizada a etapa de filtragem, uma vez que as amostras foram cuidadosamente recolhidas com uma pipeta de Pasteur. A Figura 5.2, mostra o espectro UV-Vis de uma solução aquosa do corante Índigo Carmim ($40,0 \text{ mg.L}^{-1}$)

em 0 e 30 minutos de tratamento redutivo com a esponja de aço. Observando-se os espectros, pode-se perceber que a banda que absorve na região compreendida entre 500 e 700 nm, que corresponde à faixa visível do espectro eletromagnético responsável pela coloração azul do corante Índigo Carmim, é quase totalmente consumida em 30 minutos de reação. Ainda se pode notar, para o espectro da amostra tratada com o metal, o aparecimento de uma banda que absorve na região compreendida entre 350 e 400 nm, (região ultravioleta do espectro eletromagnético).

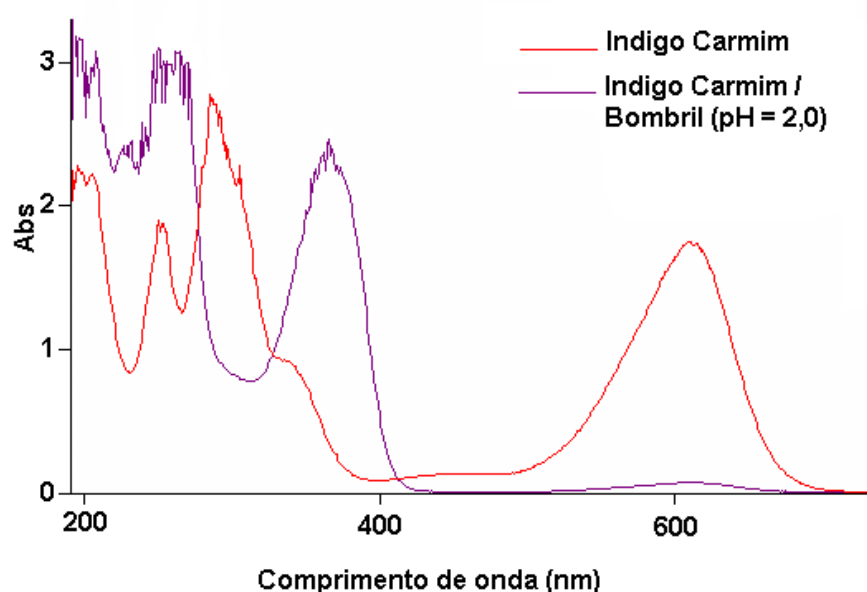


Figura 5.2. Espectro UV-Vis de uma solução de Índigo Carmim ($40,0 \text{ mg.L}^{-1}$) em tempo 0 e 30 minutos de tratamento redutivo utilizando-se esponja de aço Bombril[®] (pH = 2,0).

Após cessar a agitação, a amostra foi deixada em contato com o ar atmosférico. Alíquotas foram retiradas do sistema para monitoramento do restabelecimento da cor através da técnica espectrofotométrica UV-Vis. A Figura 5.3 mostra o espectro de uma mesma amostra nos tempos 0, 10, 20, 30, 43 e 64 minutos após cessar a agitação. Como se pode observar ocorre o restabelecimento da banda que absorve na região do visível com conseqüente diminuição da banda que absorve na região ultravioleta do espectro

eletromagnético, tendendo ao restabelecimento do espectro original, o que indica a reversibilidade da reação.

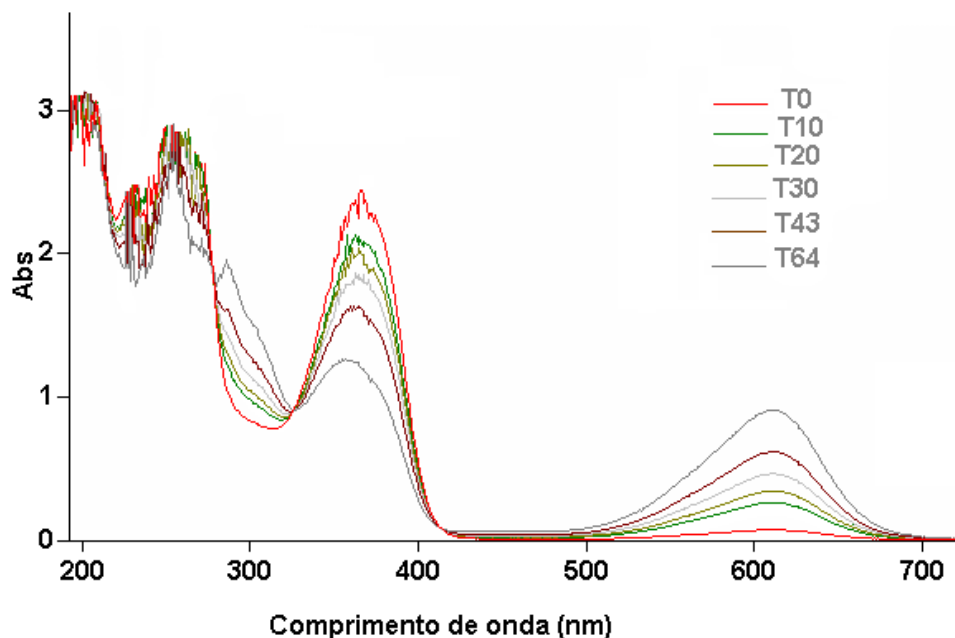


Figura 5.3. Espectro UV-Vis de uma solução do corante Índigo Carmim (40,0 mg.L⁻¹) após tratamento redutivo com esponja de aço Bombril®, que ficou exposta ao oxigênio do ar atmosférico por tempos variados.

5.3.3. Estudo do mecanismo da reação do corante Índigo Carmim em solução aquosa promovida por Fe⁰

Para tentar explicar a rota de degradação do corante Índigo Carmim pelos metais de valência zero, estudos preliminares envolvendo a técnica ESI-MS foram realizados. A Figura 5.4 mostra o ESI(-)-MS de uma solução aquosa de Índigo Carmim (40,0 mg.L⁻¹, pH = 2,0) em tempo 0 e 30 minutos de tratamento redutivo envolvendo a esponja de aço bombril®. Pode-se observar na Figura 5.4a a presença do ânion de m/z 210 que corresponde ao Índigo Carmim na sua forma totalmente desprotonada (isto é, desprotonação dos dois grupos sulfônicos presentes na molécula), desta forma, a razão m/z compreende a massa molar do composto dividido por dois, pois se tem a presença de duas cargas negativas.

Capítulo 5: Estudos de degradação redutiva do corante Índigo Carmim

Também é observada a presença do ânion de m/z 421 que corresponde apenas à desprotonação de um grupo sulfônico, e desta forma, a razão m/z compreende a massa molar do composto dividido por um (Figura 5.4).

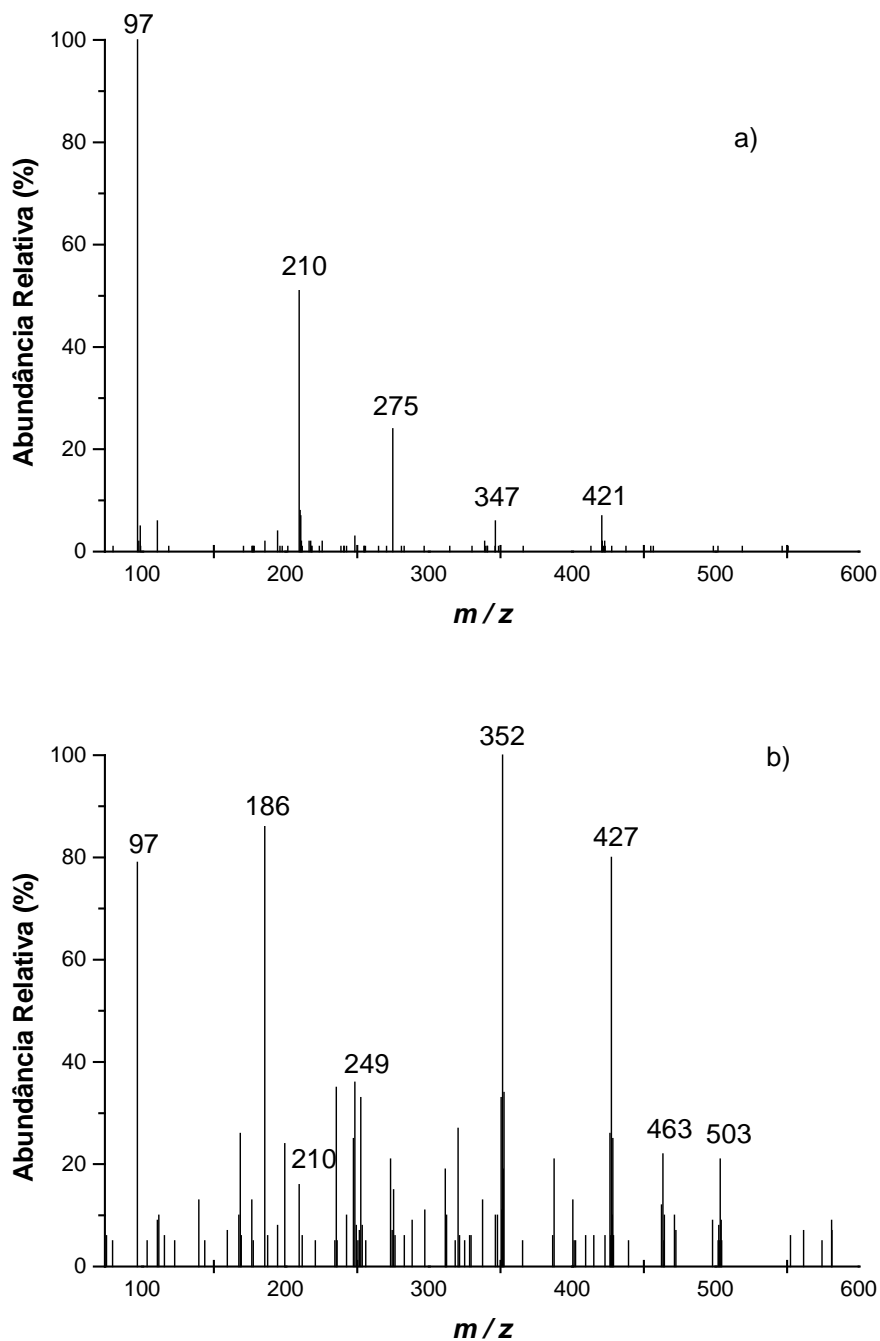
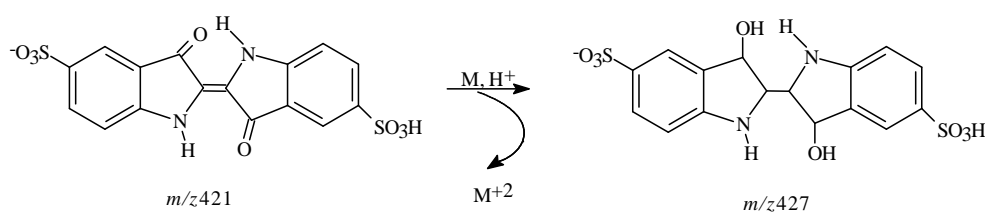


Figura 5.4. ESI(-)-MS da solução aquosa de Índigo Carmim 40,0 mg.L⁻¹ tratada com esponja de aço Bombril®. (a) 0 min; (b) 30 min.

Pode-se perceber na Figura 5.4b que após 30 minutos de tratamento redutivo houve o desaparecimento do íon de m/z 421 e diminuição da intensidade do pico de m/z 210, indicando que houve um consumo da molécula nestas condições. Também pode ser observado o surgimento de outros picos de m/z 427, 352, 249, e 186. Baseados nestes resultados preliminares e levando-se em consideração os resultados referentes ao espectro de absorção molecular UV-Vis, foi proposta uma rota de degradação do corante Índigo Carmim em solução aquosa, a qual é mostrada no Esquema 5.1. Não foi possível propor estruturas para os picos de m/z 352, 249 e 186. Deve-se ressaltar que apenas estes resultados são insuficientes para explicar com clareza a rota de degradação redutiva do corante, e desta forma, novos ensaios devem ser realizados, fazendo-se as fragmentações por CID dos íons formados durante a reação.



Esquema 5.1. Proposta para a rota de degradação do corante Índigo Carmim induzida por metais de valência zero.

5.4. Conclusões parciais

Os estudos de degradação do corante Índigo Carmim em solução aquosa envolvendo metais de valência zero indicam que se forma um produto instável, o qual é oxidado novamente quando se encontra na presença de oxigênio atmosférico.

A técnica analítica EAM-UV-Vis utilizada para o monitoramento da redução/oxidação do corante permitiu visualizar com clareza a reversibilidade da reação, uma vez que a forma reduzida apresenta um espectro totalmente diferente da forma oxidada. Quando a solução incolor é exposta ao oxigênio do ar atmosférico, tem-se o restabelecimento da coloração com um conseqüente

Capítulo 5: Estudos de degradação redutiva do corante Índigo Carmim

restabelecimento do espectro EAM-UV-Vis da forma oxidada, isto é, da forma original.

Os experimentos envolvendo a técnica Espectrometria de Massas com Fonte de Ionização “Electrospray” permitiu fazer uma proposta do mecanismo de degradação para o corante Índigo Carmim induzida por metais de valência zero. Entretanto, novos experimentos devem ser realizados, fazendo-se as fragmentações por CID dos íons formados durante a reação para confirmação da proposta sugerida.

CAPÍTULO 6

CONSIDERAÇÕES FINAIS

6. Considerações finais

Neste trabalho foram investigados dois diferentes processos de degradação para os pesticidas Tiametoxam e Imidacloprid, os processos biológicos envolvendo fungos filamentosos como agentes responsáveis pelo processo de biodegradação e os redutivos utilizando-se metais de valência zero como agentes redutores. Os processos redutivos apresentam maior versatilidade quando comparados aos processos biológicos, que necessitam de condições favoráveis de reação, como nutrientes adequados, temperatura, agitação, entre outros. Além disso, os processos biológicos demandam um maior tempo para que as moléculas sejam degradadas de forma efetiva.

Estudos mecanísticos mostraram que ambos os processos apresentam rotas de degradação muito distintas, entretanto não foram observadas mineralização de nenhuma molécula estudada, isto é sua conversão a CO₂ e água. Embora se tenha obtido resultados promissores quanto à degradação das moléculas estudadas, deve-se fazer um estudo quanto à toxicidade dos produtos gerados, uma vez que o principal objetivo de um processo de degradação é que sejam gerados produtos menos tóxicos. Desta forma, embora se tenha obtido consideráveis taxas de degradação para ambos os processos, não se pode afirmar que eles sejam eficazes na depuração de sítios contaminados.

Os resultados indicam que o corante Índigo Carmim não é degradado efetivamente pelos processos redutivos. Enquanto o metal doa elétrons para o corante, a descoloração da solução é observada, uma vez que o grupo cromóforo é reduzido, quebrando a seqüência de duplas ligações alternadas. Entretanto, quando se cessa a reação, o oxigênio do ar atmosférico oxida novamente a molécula, tendendo ao restabelecimento do grupo cromóforo e conseqüentemente o restabelecimento da cor. Embora os processos redutivos não sejam efetivos do ponto de vista ambiental, novos estudos devem ser realizados investigando-se o mecanismo da reação, de grande interesse para a química teórica. Estudos preliminares, baseados em espectros obtidos por "electrospray", mostram que a seqüência de duplas alternadas do grupo cromóforo é totalmente reduzida. Entretanto, novos estudos envolvendo

fragmentação por CID dos fragmentos observados (MS^2) devem ser realizados, pois estes possibilitam a confirmação das propostas sugeridas para os produtos gerados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDINK, R., ESPOURTEILLE, F.; ALTWICKER, M.; **Role of Inorganic Chlorine in the Formation of Polychlorinated Dibenzop-dioxins/Dibenzofurans from Residual Carbon on Incinerator Fly Ash.** Environ. Sci. Technol., V. 32, N.21, p. 3356-3359, 1998.

ADDINK, R., GOVERS, H. A. J.; OLIE, K.; **Isomer Distributions of Polychlorinated Dibenzop-dioxins/Dibenzofurans Formed during De Novo Synthesis on Incinerator Fly Ash.** Environ. Sci. Technol. V. 32, N. 13, p.1888-1883, 1998.

ADDINK, R.; BAKKER, W. C. M.; OLIE, K.; **Role of oxygen in formation of polychlorinated dibenzop-dioxins/dibenzofurans from carbon on fly ash.** Environ. Sci Technol. V. 29, N. 6, p. 1586-1590, 1995.

AJMAL, M.; RAO, R., AR, A.; **Adsorption studies citrus reticula (frit peel of orange): removal and recovery of Ni (II) from electroplating wasterwater.** Journal of Hazardous Materials, B79, pp.117-131, 2000.

ANHALT, J. C.; MOORMAN, T. B.; KOSKINEN, W. C.; **Biodegradation of Imidacloprid by an isolated soil microorganism.** J Env Sci Health B. V. 42, 509-514, 2007.

ASFOUR, M.; NASSAR, M. M.; FADALI, O. A.; EL-GEUNDI, M. S.; **Comparative cost of colour removal from textile effluents using natural adsorbents.** J. Chem. Technol. Biotechnol. V. 50, N. 2, p. 257-264. 1991

BAIRD, COLIN; **Química ambiental.** Tradução de Maria Angeles Lobo Recio e Luiz Carlos Marques Carrera. Porto Alegre, 2002. 622 p. Original inglês.

BATTAGLIN, W. A.; HAY, L. E.; **Effects of Sampling Strategies on Estimates of Annual Mean Herbicide Concentrations in Midwestern Rivers.** Environ. Sci. Technol., V. 30, N. 3, 889-896, 1996.

BENVENGA, S.R., SILVA, J.L., PAIVA, P.E.B., GRAVENA, R. & GRAVENA, S. **Inseticidas mais eficientes no controle das cigarrinhas *Acrogonia racilis*, *Dilobopterus costalimai* e *Oncometopia facialis* em citros.** In: Resumos, XVI Congresso Brasileiro de Entomologia. Rio de Janeiro RJ. 1998. p. 372.

BITTON, G.; **Wastewater Microbiology.** 2. ed. Wilry-Liss, New York, 1994; p.143.

BLZMK, M.; PRZYJAZNY, A.; CZERWINSKI, J.; WIERGOWSKI, M.; **Occurrence and determination of pesticides in natural and treated eaters.** J. Chromatogr., A, V. 754, N. 22, p.103-123. 1996.

BRANCO, S.M. **O meio ambiente em debate.** São Paulo: Ed. Moderna, 1988. 88p.

CAINS, P. W.; MECAUSLAND, L. J.; FERNANDES, A. R.; PATRICK, D.; **Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Dibenzofurans Formation in Incineration: Effects of Fly Ash and Carbon Source.** Environ. Sci. Technol. V. 31, N. 3, p. 776-785, 1997.

CASIDA, J.; KANNE, D. B.; DICK, R. A.; Tomizawa, M.; E. **Neonicotinoid nitroguanidine insecticide metabolites: Synthesis and nicotinic receptor potency of guanidines, aminoguanidines, and their derivatives.** Chemical Research in Toxicology, V. 18, 1479-1484, 2005.

CIARDELLI, G.; RANIERI, N.; **The treatment and reuse of wastewater in the textile industry by means of ozonation and electroflocculation.** Water Res. V. 35, N. 2, 567-572, 2001.

COLBORN, T.; DUMANOSKI, D.; MYERS, J. P.; **O Futuro Roubado**, 1ª. ed. Porto Alegre : L & PM Ed, 1997. 354 p.

COLON, I. **Reduction of organic halides by water and zinc effected by nickel.** J. Org. Chem., V. 47, 2622-2625, 1982.

CONCHON, J.A., **Tratamento de Efluentes na Indústria Têxtil.** Transcrição do artigo publicado na revista Base Têxtil, da Federación Argentina de la Industria Têxtil, nº123, junho, 1999.

COX, L.; KOSKINEN, W. C.; YEN, P. Y.; **Sorption-desorption of Imidacloprid and its metabolites in soils.** J. Agr. Food Chem., V. 45, 1468-1472, 1997.

DALLAGO R. M.; SMANIOTTO A.; OLIVEIRA, L. C. A.; **Resíduos sólidos de curtumes como adsorventes para a remoção de corantes em meio aquoso.** Quim. Nova, V.28, N.3, 433-437, 2005.

DEL RIO, D. T. **Biossorção de cádmio por leveduras *Saccharomyces cerevisiae*.** 2004. Dissertação (Mestrado em agronomia e microbiologia agrícola) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), São Paulo.

DICK, R. A.; KANNE, D. B.; CASIDA, J. E.; **Identification of aldehyde oxidase as the neonicotinoid nitroreductase.** Chem. Res. Tox. V. 18, 317-323, 2005.

EDDY, M.; **Wastewater engineering treatment, disposal and reuse, McGraw-Hill book company.** 3ª. ed., 2003, p.1334.

EPA - U. S. Environmental Protection Agency; Pesticide Environmental Fate Summaries, Office of Pesticide Programs, Washington, 1992.

ESPLUGAS, S.; GIMÉNEZ, J.; CONTRERAS, S.; PASCUAL, E.; RODRÍGUEZ, M.; **Comparison of different advanced oxidation processes for phenol degradation.** Water Res, V. 36, N. 4, p. 1034, 2002.

FAISAL, M.; UNNO, H.; **Kinetic analysis of palm oil mill wastewater treatment by a modified anaerobic baffled reactor.** Biochem. Eng. J., V. 9, N. 1, 25-31, 2001.

FIDENTE, P.; SECCIA, S.; VANNI, F.; MORRICA, **Analysis of nicotinoid insecticides residues in honey by solid matrix partition clean-up and liquid chromatography–electrospray mass spectrometry.** J. Chromatogr. A, V. 1094, 175-178, 2005.

FORD, K. A.; CASIDA, J. E. **Unique and common metabolites of thiamethoxam, clothianidin, and dinotefuran in mice.** Chem. Res. Tox., V. 19, 1549-1556, 2006.

FREIRE, R. S. *et al.* **Novas tendências para o tratamento de efluentes industriais contendo espécies organocloradas.** Quim. Nova, V. 23 N. 4, 504-511, 2000.

GESELL M., HAMMER, E.; SPECHT, M.; FRANCKE, W.; SCHAUER, F. **Biotransformation of Biphenil by *Paecilomyces lilacinus* and characterization of ring cleavage products.** Appl. Environ. Microbiol. V. 67, N. 4, 1551-1557, 2001.

GESELL M., HAMMER, E.; SPECHT, M.; FRANCKE, W.; SCHAUER, F. **Oxidation and ring cleavage of dibenzofuran by the filamentous fungus *Paecilomyces lilacinus*.** Arch Microbiol., V. 182, 51-59, 2004.

GHAUC, A.; **Degradation of benomyl, picloram and dicamba in a conical apparatus by zero-valent iron powder.** Chemosphere, V. 43, 1109-1117, 2001.

GHORISHI, S. B.; ALTWICKER, E. R.; **Formation of polychlorinated dioxins, furans, benzenes, and phenols in the post-combustion region of a heterogeneous combustor: effect of bed material and post combustion temperature.** Environ. Sci. Technol. V. 29, 1156-1162, 1995.

GONZÁLES-PRADAS, E.; UREÑA-AMATE, M.D.; FLORES-CÉSPEDES, F.; FERNÁNDEZ-PÉREZ, M.; GARRATT, J.; WILKINS, R.; **Leaching of Imidacloprid and procymidone in a greenhouse of southeast of Spain.** Soil Sci. Soc. Am. J., Madison, V. 66, N. 6, p.1821-1828, 2002.

GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. B.; **Corantes têxteis.** Quim. Nova, V. 23, N. 1, 71-78, 2000.

GUILHAM, R. W.; **Advances in Groundwater Pollution Control and Remediation,** Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, 1996.

HARNLY, M.; STEPHENS, R.; MCLAUGHLIN, C.; MARCOTTE, J.; PETREAS, M.; GOLDMAN, L.; **Polychlorinated Dibenzo-p-dioxin and Dibenzofuran Contamination at Metal Recovery Facilities, Open Burn Sites, and a Railroad Car Incineration Facility.** Environ. Sci. Technol., V. 29, 677- 684, 1995.

HOFFMANN, H.; MICHAEL, D.; **Phosphororganische verbindungen XXXIII. Zum mechanismus der phosphinimid-bildung aus brom-arylaminen und triphenylphosphin.** Chem. Ber. Rec V. 95, N. 2, 528-529, 1962.

HUNG, H. M.; HOFFMANN, M R.; **Kinetics and Mechanism of the Enhanced Reductive Degradation of CCl₄ by Elemental Iron in the Presence of Ultrasound.** Environ. Sci. Technol. V. 32, 3011-3016, 1998.

HUNG, H. M.; LING, F. H.; HOFFMANN, M R.; **Kinetics and Mechanism of the Enhanced Reductive Degradation Nitrobenzene by Elemental Iron the Presence of Ultrasound.** Environ. Sci. Technol., V. 34, 1758, 2000.

JORGENSON, J.; **Aldrin and dieldrin: a review of research on their production, environmental deposition and fate, bioaccumulation, toxicology, and epidemiology in the United States.** Environ. Health Perspect, V. 109, N. 1, 113-139, 2001.

JUHASZ, A. L.; NAIDU, R.; **Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene.** Int. Biodeter. Biodegrad. V. 45, 57-88, 2000.

KAGABU, S.; MEDEJ, S. Chloronicotinyl insecticides. **Stability comparison of Imidacloprid and related-compounds under simulated sunlight, hydrolysis conditions, and to oxygen.** Bioscience Biotechnology and Biochemistry, V. 59, 980-985, 1995.

KOLLER, G.; MÖDER, M.; CZIHAL, K.; **Peroxidative degradation of selected PCB: a mechanistic study.** Chemosphere, V. 41, 1827-1834, 2000.

KUMAR, M.; CHARABORTY, S.; **Chemical denitrification of water by zero-valent magnesium power.** J. Haz. Mat. B, V.135, 112-121, 2006.

KUNZ, A.; MANSILLA, H.; DURAN, N.; **A degradation and toxicity study of three textile reactive dyes by ozone.** Environ. Technol. V. 23 911-918, 2002,

KUNZ, A.; PERALTA-ZAMORA, P.; MORAES, S. G.; DURÁN, N.; **Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis.** Quim. Nova, V. 25, 78-82, 2002.

KWON, B. G.; LEE, S. D.; KANG, N.; YOON, J.; **Characteristics of p-chlorophenol oxidation by Fenton's reagent.** Wat. Res., V. 33, 2110-2118, 1999.

LATLI, B.; D'AMOUR, K.; CASIDA, J. E. **Novel and potent 6-chloro-3-pyridinyl ligands for the alpha 4 beta 2 neuronal nicotinic acetylcholine receptor.** J. Med. Chem.,V. 42, 2227-2234, 1999.

LEE, J. D.; **Química Inorgânica não tão Concisa**, 5ª ed., Edgard Blücher: São Paulo, 1999, 544 p.

LEMA, J. M.; MÉNDEZ, R.; IZA, J.; FERNÁNDEZ-POLANCO, F.; **Chemical reactor engineering concepts in design and operation of anaerobic treatment processes.** Water Sci. Technol. V. 24, N. 8, 79–86, 1991.

LIQING Z.; GUO GUANG, L.; DEZHI S.; KUN Y.; **Hydrolysis of Thiamethoxam.** Environ. Contam. Toxicol. V. 76, 942–949, 2006.

LIU, C. C.; TSENG, D. H.; WANG, C. Y. **Effects of ferrous ions on the reductive dechlorination of trichloroethylene by zero-valent iron.** J. Haz. Mat. V. 136, N. 3, 706–713, 2006.

LOBINSKI, R.; MARCZENKO, Z.; **Recent Advances in Ultraviolet-Visible Spectrophotometry.**, Crit. Rev. Anal. Chem. V. 23, 55-111, 1992.

LOGAN, T. J.; **Tillage, crop and climatic effects on runoff and tile drainage losses of nitrate and four herbicides.** Soil & Tillage Res. V. 30, 75–103, 1994.

MA, G.; LOVE, N. G.; **Creating anoxic and microaerobic conditions in sequencing batch reactors treating volatile BTX compounds.** Water Sci. Technol., V. 43,N. 3, p. 275. 2001.

MARTINS, J.C. & NAKAMURA, G.; **Efficiency of seed treatments with thiamethoxam to control Bemisia argentifolii on cotton crop.** Abstracts, XXI. International Congress of Entomology. Foz do Iguaçu PR. 2000. p. 343.

MATHESON, L. J.; TRATNYEK, P. G.; **Reductive Dehalogenation of Chlorinated Methanes by Iron Metal.** Environ. Sci. Technol., V. 28: 2045-2053, 1994.

MCKAY, G.; ALLEN, S. J.; **A mathematical model for the fixed bed adsorption of Telon Blue dye on peat.** J. Sep. Proc. Technol. V.4, 8–15, 1983.

MILLS, M. A.; BONNER, J. S.; MC DONALD, T. J.; PAGE, C. A.; Autenrieth, R. L.; **Intrinsic bioremediation of a petroleum-impacted wetland Marine.** Pollut., Mar. Pollut. Bull., V. 46, p. 887, 2003.

MILTNER, R. J.; BAKER, D. B.; SPETH, T. F.; FRONK, C. A.; **Treatment of seasonal pesticides in surface waters.** J. Am. Water Works Assoc., V. 81, 43-52, 1989.

MIYAMOTO, T.; KAGABU, S.; **Molecular mechanism for selective toxicity of nicotinoids and neonicotinoids.** J. Pestic. Sci., V.20, p.33-40, 1995.

MORAES, A.R.A., LOURENÇÃO, A.L., GODOY, I.J. & TEIXEIRA, G.C. **Infestation by Enneothrips flavens Moulton and yield of peanut cultivars.** Sci. Agr. 62:469-472. 2005.

MORAES, M. C.; LAGO, C. L. **Espectrometria de massas com ionização por “electrospray” aplicada ao estudo de espécies inorgânicas e organometálicas.** Quim. Nova, V. 26, N. 4, 556-563, 2003.

MORALES, J.; HUTCHESON, R.; CHENG, I. F.; **Dechlorination of chlorinated phenols by catalyzed and uncatalyzed Fe(0) and Mg(0) particles.** J. Hazard. Mater. B90, 97-108, 2002.

MUCCIO, A. D.; FIDENTE, P.; BARBINI, D. A.; DOMMARCO, R.; SECCIA, S.; MORRICA, P.; **Application of solid-phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry to determination of neonicotinoid pesticide residues in fruit and vegetables.** J. Chromatogr. A, V. 1108, 1-6, 2006.

NAM, S.; RENGANATHAN, V.; TRATNYEK, P. G.; **Substituent effects on azo dye oxidation by the Fe^{III}-EDTA-H₂O₂ system.** Chemosphere, V. 45, N. 1, 59-65, 2001.

NAM, S.; TRATNYEK, P. G.; **Reduction of azo dyes with zero-valent iron.** Wat. Res. V. 34, N. 6, 1837-1845, 2000.

NASSAR M. M, MAGDY Y. H; **Removal of different basic dyes from aqueous solutions by adsorption on palm-fruit bunch particles.** Chem Eng., V. 66, 223-226, 1997.

NASSAR, M. M.; Proc. Int. Meet. **On Chemical Engineering and Biotechnology**,ACHEMA-94, Frankfurt, 1994.

NETO, B. B; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E.; **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria.** 2^a Ed. Campinas. Editora UNICAMP, 2003, 369 p.

NEVE, C. F. C.; SCHVARTZMAN, M. M. A. M.; **Técnica para seleção de variáveis aplicada à separação de gases.** Quim. Nova, V. 25, N. 2, 327-329, 2002.

NEYENS, E.; BAEYENS, J.; **A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique.** J. Hazard. Mater. B98, 33-50. 2002.

NICOLET, L.; ROTT, U.; **Recirculation of powdered activated carbon for the adsorption of dyes in municipal wastewater treatment plants.** Water Sci Technol V. 40, 191-198, 1999.

NIGAM, P.; BANAT, I. M.; SINGH, D.; MARCHANT, R.; **Microbial process of fast decolourization of textile effluent containing azo, diazo and reactive dyes.** Process Bioche, V. 31, 435-442. 1996.

NIGAM, P.; MARCHANT, R.; **Selection of a substratum for composing biofilm system of a textile-effluent decolourizing bacteria.** *Biotech. Lett.* V. 17, 993–996, 1995.

OLIVEIRA, L. C. A.; RIOS, R. V.; FABRIS, J. D.; SAPAG, K.; GARG, V.; LAGO, R. M.; **Clay-iron oxide magnetic composite for the adsorption of contaminants in water.** *Appl. Clay Sci.* V. 803, 1–9, 2002.

PAPIERNIK, S. K.; KOSKINEN, W. C.; COX, L.; RICE, P. J.; CLAY, S. A.; Werdin-Pfisterer, N. R.; Norberg, K. A. **Sorption-desorption of Imidacloprid and its metabolites in soil and vadose zone materials.** *J. Agr. Food Chem.*, V. 54, 8163-8170, 2006.

PARDO, R.; CACHO, J.; FIERRO, I.; DEBAN, L.; VEGA, M.; **Monitoring of the photochemical degradation of metamitron and Imidacloprid by micellar electrokinetic chromatography and differential-pulse polarography.** *Pestic. Sci.*, V. 55, 949-954, 1999.

PENNISE, D. M.; KAMENS, R. M.; **Atmospheric Behavior of Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxins and Dibenzofurans and the Effect of Combustion Temperature.** *Environ. Sci. Technol.* V.30, N. 9, 2832-2842, 1996.

PÊRA-TITUS, M.; GARCÍA-MOLINA, V.; BAÑOS, M. A.; JIMÉNEZ, J.; ESPULGAS, J. S.; **Degradation of chlorophenols by means of advanced oxidation processes: a general review.** *Appl. Catal. B: Environ.* V. 47, 219–256, 2004.

PEREIRA, W. S.; FREIRE, R. S.; **Ferro zero: uma nova abordagem para o tratamento de águas contaminadas com compostos orgânicos poluentes.** *Quim. Nova*, V. 28, N. 1, 130-136, 2005.

PERKAMPUS H.H., **"UV-VIS Spectroscopy and Its Applications"**, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Springer Laboratory, 1992, p.3-24.

RAETANO, C.G., KUWAHARA, W.R., VINCH, R.R. & KOBAYASHI, M.R. **Influence of different application methods and dosage of thiamethoxam in thrips control.** Abstracts, XXI. International Congress of Entomology. Foz do Iguaçu PR. 2000. p. 82.

RESOLUÇÃO N° 357 CONAMA, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.

RODRIGUES, M. B. **Degradação de espécies químicas de relevância ambiental utilizando-se processos oxidativos avançados.** Curitiba, 2001. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Setor de Ciências Exatas, UFPR.

SANTOS, E. G.; ALSINA O. L. S.; SILVA, F. L. H. **Desempenho de biomassas na adsorção de hidrocarbonetos leves em efluentes aquosos.** Quím. Nova V. 30, N.2, 327-331, 2007.

SCHULZ-JANDER, D. A.; LEIMKUEHLER, W. M.; CASIDA, J. E. **Neonicotinoid insecticides: Reduction and cleavage of Imidacloprid nitroimine substituent by liver microsomal and cytosolic enzymes.** Chem. Res. Tox., V. 5, 1158-1165, 2002.

SENN, R., HOFER, D., BRANDL, L. & MORCOS, A. **Thiamethoxam used as seed treatment (Cruiser/Adage) or as soil application (Actara/Platinum).** Abstracts, XXI. International Congress of Entomology. Foz do Iguaçu PR. 2000a. p. 86.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A.; **Princípios de análise instrumental.** Trad. Ignez Caracelli et al. 5ª ed., Porto Alegre, Bookman, 836p., 2002, original inglês.

SOUZA, C. R. L.; ZAMORA, P. P.; **Degradação de corantes reativos pelo sistema ferro metálico/peróxido de hidrogênio.** Quím. Nova, V. 28, N. 2, 226-228, 2005 .

SPADARO, J. T.; GOLD, M. H.; RENGANATHAN, V.; **Degradation of azo dyes by the lignin-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium*.** Appl. Environ. Microbiol., V. 58, N. 8, 2397-2401, 1992.

SPERLING, M. V.; **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos.** 3ª Ed. Belo Horizonte. Editora UFMG, 2005. 452 p. (Princípios do tratamento biológico de águas residuárias V.1).

STENERSEN, J.; **Chemical pesticides: Mode of action and toxicology.** CRC Press, 2004, 276p.

TAKAHASHI, H.; TAKAKUSA, N.; SUZUKI, J.; KISHIMITO, T.; **Development of a new insecticide, acetamiprid.** J. of Pestic. Sci., V.23, p.193-200, 1998.

TEÓFILO, R. F.; MÁRCIA M. C. FERREIRA, M. M. C.; **Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial.** Quím. Nova, V.29, N.2, 2006.

TRAUB-EBERHARD, U., HENSCHER, K.-P., KÖRDEL, W., KLEIN, W.,. **Influence of different field sites on pesticide movement into subsurface drains.** Pest. Sci. V. 43, 121–129, 1995.

UZURA, T.; KATSURAGI, T.; TANI, Y.; **Conversion of Various Aromatic Compounds by Resting Cells of *Fusarium moniliforme* Strain MS31.** J. Biosci. Bioeng. V. 92, N. 4, 381-384, 2001.

VILCHEZ, J. L.; E1-KHATTABI, R.; FERNFINDEZ, J.; GONZFILEZ-CASADO, A.; NAVAL, A.; **Determination of imidacloprid in water and soil samples by gas chromatography-mass spectrometry.** J. Chromatogr. A, V. 746, 289-294, 1996.

VROUMSIA, T.; STEIMANT, R.; SEIGLE-MURANDIT, F.; BENOIT-GUYOD, J. L.; **Effects of culture parameters on the degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and 2,4-dichlorophenol (2,4-DCP) by selected fungi.** Chemosphere, V. 39, N. 9, 1397-1405, 1999.

WENDT, M. R.; KOETZ, P. R.; ABIB, E. N.; **Biodegradabilidade anaeróbia de águas residuárias da suinocultura.** Rev. Bras. Agric. V. 5; N. 2; 161-163; 1999.

ZANONI, M. V.; CARNEIRO, P. A.; **O descarte dos corantes têxteis.** Rev. Ciên. Hoje, V. 29, N. 174, 61-64, 2001.

ZHANG, H.; DUAN, L. J.; ZHANG, Y.; WU, F.; **The use of ultrasound to enhance the decolorization of the C.I. Acid Orange 7 by zero-valent iron.** Dyes Pigm., V. 65, N. 1, 39-43, 2005.

ZHENG, W. LIU, W. **Kinetics and mechanism of the hydrolysis of Imidacloprid.** Pestic. Sci., V. 55, N. 4, 482-485, 1999.