

ILZA DALMÁZIO

APLICAÇÃO DA ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM
IONIZAÇÃO ELECTROSPRAY NO MONITORAMENTO
DE PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS DE
INTERESSE AMBIENTAL: DEGRADAÇÃO DE
FÁRMACOS, AVALIAÇÃO DE SISTEMAS OXIDATIVOS
E OXIDAÇÃO DO ISOPRENO

**Belo Horizonte
2007**

**UFMG – ICExDQ.679
T.269^a**

ILZA DALMÁZIO

**APLICAÇÃO DA ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM IONIZAÇÃO
ELECTROSPRAY NO MONITORAMENTO DE PROCESSOS
OXIDATIVOS AVANÇADOS DE INTERESSE AMBIENTAL:
DEGRADAÇÃO DE FÁRMACOS, AVALIAÇÃO DE SISTEMAS
OXIDATIVOS E OXIDAÇÃO DO ISOPRENO**

Tese apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de doutor em química.

Área de Concentração: Química Analítica

Orientador: Prof. Dr. Rodinei Augusti
Co-orientadora: Dra. Tânia M. A. Alves

**Belo Horizonte
2007**

Agradecimentos

Ao professor Rodinei Augusti pela orientação e pelo constante estímulo durante o desenvolvimento desta tese.

À Dra. Tânia M. A. Alves pela co-orientação e por possibilitar a utilização dos recursos materiais do Centro de Pesquisa René Rachou – FIOCRUZ.

Ao professor Marcos N. Eberlin por possibilitar a utilização dos recursos materiais do Laboratório Thomson do Instituto de Química da Unicamp.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão da bolsa de doutorado.

A todos aqueles que colaboraram direta ou indiretamente para execução deste trabalho.

Resumo

A Espectrometria de Massas com Ionização Electrospray (ESI-MS e ESI-MS/MS) foi utilizada no monitoramento de reações, em meio aquoso, promovidas pelos processos oxidativos avançados (POAs). Os seguintes estudos foram realizados: degradação de fármacos (cafeína e tetraciclina), caracterização de novos sistemas oxidativos e oxidação do isopreno mediada por radicais hidroxila. No monitoramento da degradação dos fármacos cafeína, por TiO_2/UV , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e Fenton, e tetraciclina (por ozonização) foram observados intermediários e produtos, alguns dos quais não previamente relatados. No monitoramento das reações de substratos modelos com os sistemas Fenton heterogêneo (baseado em magnetita) e $\text{H}_2\text{O}_2/\text{I}$ foram caracterizadas espécies formadas a partir da participação de radicais hidroxila, o que permitiu a classificação de tais sistemas como POAs. No monitoramento da reação de oxidação do isopreno, sob condições que mimetizam processos oxidativos ocorrendo na atmosfera, foram detectadas espécies poli-oxigenadas, provavelmente precursoras de aerossóis atmosféricos. A aplicação da técnica ESI-MS na obtenção de dados relevantes sobre estes sistemas foi demonstrada, bem como sua contribuição na expansão do conhecimento relativo aos processos oxidativos avançados.

Abstract

Electrospray Ionization Mass Spectrometry (ESI-MS and ESI-MS/MS) was used to monitor reactions taking place in aqueous medium promoted by the advanced oxidation processes (AOPs). The following investigations were performed: degradation of pharmaceuticals (caffeine and tetracycline), characterization of novel oxidation systems (heterogeneous Fenton and $\text{H}_2\text{O}_2/\text{T}$), and oxidation of isoprene induced by hydroxyl radicals. In the monitoring of degradation of caffeine (by TiO_2/UV , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ and Fenton systems), and tetracycline (by ozonation) products and intermediates were characterized, a number of them not previously reported. In the monitoring of reactions of model organic compounds with the novel oxidation systems, i. e. heterogeneous Fenton (based in magnetite) and $\text{H}_2\text{O}_2/\text{T}$, a number of products, formed as a result of the reaction with hydroxyl radicals, were characterized. These findings thus allowed the classification of such systems as AOPs. In the ESI-MS monitoring of the oxidation of isoprene, under conditions that attempted to mimic the atmospheric environment, poly-oxygenated species were detected and proposed to be key components to the formation of secondary organic aerosols (SOAs). The applicability of the ESI-MS in attaining relevant information on the systems herein evaluated was thus demonstrated. Its potential to furnish key information, which could not be achieved via concurrent techniques, certainly will contribute to expand the knowledge about the AOPs.

Lista de Figuras

- Figura 2.1 - Estrutura básica de um espectrômetro de massas. 6
- Figura 2.2 – Número de artigos publicados no período de 1990 a 2006. Estes dados são baseados em pesquisa feita em *www.isiknowledge.com*, com as entradas “Electrospray” e “Mass Spectrometry”. 9
- Figura 2.3 – Produção das gotas e processo de dessolvatação na fonte Electrospray. 10
- Figura 2.4 – Possíveis mecanismos para formação do íon gasoso no processo electrospray. 11
- Figura 4.1 – Rotas de entrada e de possível distribuição dos fármacos no meio ambiente. 39
- Figura 4.2 – Estrutura da cafeína (1). 41
- Figura 4.3 – Representação esquemática do reator de UV. 42
- Figura 4.4 - Gráfico de influência relativa dos parâmetros [1 (TiO_2), 2 (UV) e 3 (tempo)] e das interações duplas (12, 13 e 23) e tripla (123) para o sistema TiO_2/UV . Valor limite normalizado = 2,4 % ($t= 0,05$). 46
- Figura 4.5 - Gráfico de influência relativa dos parâmetros [1 (H_2O_2), 2 (UV) e 3 (tempo)] e das interações dupla (12, 13 e 23) e tripla (123) para o sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$. Valor limite normalizado = 1,3 % ($t= 0,05$). 48
- Figura 4.6 - Gráfico de influência relativa dos parâmetros [1 ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 2 (H_2O_2) e 3 (tempo)] e das interações duplas (12, 13 e 23) e tripla (123) para o sistema Fenton. Valor limite normalizado = 2,3 % ($t= 0,05$). 50
- Figura 4.7 – Concentração de cafeína normalizada (C_i/C_0), monitorada por HPLC, e conteúdo de carbono orgânico total normalizado ($\text{COT}_i/\text{COT}_0$) em função do tempo para a degradação da cafeína promovida pelo sistema TiO_2/UV . Condições: $C_0 = 160 \mu\text{mol.L}^{-1}$ e $\text{COT}_0 = 15,3 \text{ mg.L}^{-1}$. 51

- Figura 4.8– Concentração de cafeína normalizada (C_i/C_0), monitorada por HPLC, e conteúdo de carbono orgânico total normalizado (COT_i/COT_0) em função do tempo para a degradação promovida pelo sistema H_2O_2/UV . $C_0 = 160 \mu\text{mol.L}^{-1}$ e $COT_0 = 15,3 \text{ mg.L}^{-1}$. 52
- Figura 4.9 – Concentração de cafeína normalizada (C_i/C_0), monitorada por HPLC, e conteúdo de carbono orgânico total normalizado (COT_i/COT_0) em função do tempo para degradação promovida pelo sistema Fenton. $C_0 = 160 \mu\text{mol.L}^{-1}$ e $COT_0 = 15,3 \text{ mg.L}^{-1}$. 52
- Figura 4.10 – Cromatogramas HPLC/UV (método 1b, $\lambda = 215 \text{ nm}$) da solução controle e das alíquotas retiradas após 60 e 150 minutos de reação para o sistema TiO_2/UV . 53
- Figura 4.11 – Cromatogramas HPLC/UV (método 1c, $\lambda = 215 \text{ nm}$) da solução controle e das alíquotas retiradas após 60 e 90 minutos de reação com o sistema H_2O_2/UV . 54
- Figura 4.12 – Cromatogramas HPLC/UV (método 1a, $\lambda = 215 \text{ nm}$) da solução controle e das alíquotas retiradas após 60 e 150 minutos de reação com o sistema Fenton. 54
- Figura 4.13 – Espectros UV da solução aquosa de cafeína (160 mmol.L^{-1}) e de uma alíquota retirada após 150 minutos de reação promovida pelo sistema TiO_2/UV . 55
- Figura 4.14 – Espectros ESI-MS obtidos a partir de alíquotas da reação de degradação da cafeína promovida pelo sistema TiO_2/UV . (a) Solução controle; (b) 90 min; (c) 150 min de irradiação UV. 58
- Figura 4.15 – Espectros ESI-MS² dos íons: (a) de m/z 195, cafeína protonada ($[1 + H]^+$), (b) m/z 143, atribuído a $[2 + H]^+$, e (c) m/z 175, atribuído a $[3 + H]^+$. 59
- Figura 4.16 – Espectros ESI-MS obtidos a partir das alíquotas da reação de degradação da cafeína pelo sistema H_2O_2/UV . (a) solução controle e (b) após 150 min de irradiação UV. 61

- Figura 4.17 – Espectros ESI-MS obtidos a partir das alíquotas da reação de degradação da cafeína pelo sistema Fenton. (a) solução controle e (b) após 150 min de reação. 62
- Figura 4.18 – Cromatograma GC-MS da solução controle do sistema TiO₂/UV. 63
- Figura 4.19 – Espectros de massas referentes à: (a) pico cromatográfico com tr = 14,9 min (Figura 4.18) e (b) padrão cafeína.²¹ 63
- Figura 4.20 – Cromatogramas GC-MS das alíquotas retiradas após 150 min da degradação da cafeína pelos sistemas: (a) TiO₂/UV, (b) H₂O₂/UV e (c) Fenton. 64
- Figura 4.21 – Espectros de massas (EI) referentes à: (a) pico cromatográfico com tr = 6,8 min (Figura 4.20c) e (b) padrão ácido 1,3-dimetilparabênico.²¹ 65
- Figura 4.22 – Espectros de massas (EI) referentes à: (a) pico cromatográfico com tr = 9,9 min (Figura 4.20b) e (b) padrão 1,3-dimetil-1,3,5-triazina-2,4,6-triona.¹³ 66
- Figura 4.23 – Estrutura da tetraciclina (**9**). 70
- Figura 4.24 – Concentração de tetraciclina normalizada (C_i/C_0), monitorada por HPLC e conteúdo de carbono orgânico total normalizado (COT_i/COT_0) em função do tempo para a ozonização da tetraciclina. Condições: $C_0 = 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ e $COT_0 = 52,8 \text{ mg.L}^{-1}$. 73
- Figura 4.25 – Cromatogramas HPLC/UV (método 2, $\lambda = 275 \text{ nm}$) das alíquotas retiradas entre 0 e 120 min de reação da tetraciclina com ozônio em fase aquosa. 74
- Figura 4.26 – Espectros UV-Vis de: (a) solução aquosa de tetraciclina a $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, e (b)-(d) das alíquotas da solução retiradas após diferentes tempos de reação com ozônio. 75
- Figura 4.27 – Espectros ESI-MS obtidos a partir de alíquotas da ozonização da tetraciclina: (a) 0 min, (b) 60 min e (c) 140 min. 76

| | |
|---|-----|
| Figura 4.28 – Espectros ESI-MS ² (a) e ESI-MS ³ (b) do íon de m/z 445 atribuído a $[\mathbf{9} + \text{H}]^+$. | 77 |
| Figura 4.29 – Espectros ESI-MS ² e ESI-MS ³ dos íons de m/z 461 (a-b) e 477 (c-d), atribuídos a $[\mathbf{10} + \text{H}]^+$ e $[\mathbf{11} + \text{H}]^+$, respectivamente. | 79 |
| Figura 4.30 – Cromatogramas de íons totais LC-APCI-MS do monitoramento da degradação da tetraciclina por O ₃ em solução aquosa nos tempos 0, 30, 90 e 150 min de reação. Os espectros APCI-MS correspondem aos picos com tempo de retenção de 24,2, 21,1 e 14,6 min. | 82 |
| Figura 5.1 – Estrutura do fenol (1). | 93 |
| Figura 5.2 - Espectros ESI-MS das alíquotas da reação de oxidação do fenol pelo sistema Fe ⁰ /Fe ₃ O ₄ /H ₂ O ₂ retiradas em: (a) 0 min; (b) 20 min e (c) 80 min de reação. | 95 |
| Figura 5.3 – Espectro ESI-MS ² do íon de m/z 113, atribuído ao ânion $[\mathbf{7} - \text{H}]^-$. | 96 |
| Figura 5.4 – Espectro ESI-MS ² do íon de m/z 125, atribuído ao ânion $[\mathbf{8} - \text{H}]^-$. | 97 |
| Figura 5.5 – Estrutura do índigo carmim. | 103 |
| Figura 5.6 – Espectros ESI-MS de uma solução aquosa de H ₂ O ₂ e iodeto após os tempos de reação (a) 2 min e (b) 30 min. | 105 |
| Figura 5.7 - Espectro ESI-MS ² do íon de m/z 287. | 106 |
| Figura 5.8 – Estruturas otimizadas para várias espécies formadas a partir da dissociação do íon $[\text{I}_2\text{OOH}]^-$ e de sua formação a partir de IOOH e I. A energia livre ($\Delta G / \text{kcal.mol}^{-1}$) das vias de dissociação e formação são indicadas sobre as setas. Método utilizado: CCSD(T)//CCSD/6-311++G**. | 108 |
| Figura 5.9 - Espectro ESI-MS da solução aquosa do corante indigo carmim. | 110 |
| Figura 5.10 – Espectros ESI-MS: (a) da alíquota retirada após 15 min de reação entre corante indigo carmim e H ₂ O ₂ e (b) ESI-MS ² do íon de m/z 235. | 111 |

- Figura 5.11 - Espectros ESI-MS das alíquotas do monitoramento da degradação corante do indigo carmim pelo sistema H_2O_2/I retiradas após (a) 20 e (b) 60 min de reação. 113
- Figura 6.1 – Representação dos mecanismos de formação do aerossol atmosférico. 121
- Figura 6.2 – Espectros ESI-MS, no modo negativo, para: (a) solução aquosa da reação do isopreno com radicais hidroxila quimicamente gerados por H_2O_2 -AIBN após 10 min de reação, e (b) solução controle contendo isopreno e H_2O_2 , armazenada por 3 horas na ausência de luz. As abundâncias em ambos os espectros são relativas ao m/z 62. 126
- Figura 6.3 – Espectros ESI-MS/MS dos íons de m/z 135 a partir de: (a) alíquota da solução aquosa da reação do isopreno com radicais hidroxila quimicamente gerados por H_2O_2 -AIBN e (b) padrão 2-metiltetrol. 128

Lista de Esquemas

- Esquema 4.1 – Proposta para a fragmentação CID do íon de m/z 195, atribuído à cafeína protonada [**1** + H]⁺. 56
- Esquema 4.2 – Oxidação da cafeína (**1**) para formação de **2** e **3**. 57
- Esquema 4.3 – Proposta de fragmentação CID do íon de m/z 143, atribuído ao ácido 1,3-dimetilparabânico protonado [**2** + H]⁺. 60
- Esquema 4.4 – Proposta para a fragmentação CID do íon de m/z 175, atribuído a [**3** + H]⁺. 60
- Esquema 4.5 – Proposta de oxidação da cafeína e formação de ácido 1,3-dimetilparabânico, (**2**), ácido 1,3-di(hidroximetil)parabânico (**3**) e 1,3-dimetil-1,3,5-triazina-2,4,6-triona (**4**). 67
- Esquema 4.6 – Proposta de hidroxilação e demetilação da cafeína. 68
- Esquema 4.7 – Rota de fragmentação por CID proposta para o íon precursor [**9** + H]⁺ (m/z 445) e do seu fragmento [**9** + H - NH₃]⁺ (m/z 428). 77
- Esquema 4.8 – Rota de fragmentação por CID proposta para os íons precursores [**10** + H]⁺ (m/z 461) e [**11** + H]⁺ (m/z 477) e dos seus respectivos fragmentos [**10** + H - NH₃]⁺ (m/z 444), e [**11** + H - NH₃]⁺ (m/z 460). 80
- Esquema 4.9 – Formação do íon de m/z 499 via extrusão do CO a partir do íon [**11** + H]⁺ de m/z 477. 83
- Esquema 4.10 – Mecanismo de reação proposto para a formação dos produtos **10** e **11** da reação da tetraciclina (**9**) com ozônio em solução aquosa. 84

| | |
|--|-----|
| Esquema 5.1 – Rota proposta para a formação de espécies oxidadas (2-8) a partir do fenol no sistema $\text{Fe}^0/\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ em meio aquoso. Outros isômeros posicionais também são possíveis, mas não foram representados neste esquema. | 98 |
| Esquema 5.2 – Geração de radicais hidroxila no sistema Fenton heterogêneo baseado em $\text{Fe}^0/\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{H}_2\text{O}_2$. | 100 |
| Esquema 5.3 – Estruturas propostas para os fragmentos formados por dissociação induzida por colisão do íon de m/z 235. | 112 |
| Esquema 5.4 – Rota proposta para a degradação do indigo carmim por H_2O_2 e $\text{H}_2\text{O}_2/\Gamma$ em solução aquosa. | 114 |
| Esquema 6.1 - Proposta de formação dos tetróis (2a e 2b) a partir da oxidação do isopreno feita por Clayes e colaboradores. ⁴ | 122 |
| Esquema 6.2 – AIBN como iniciador de radicais. | 124 |
| Esquema 6.3 – Proposta de fragmentação CID do íon de m/z 135, atribuído ao 2- metiltetrol desprotonado $[2 - \text{H}]^-$. | 129 |
| Esquema 6.4 – Rota proposta para a formação dos produtos da oxidação do isopreno mediada por radicais hidroxila. | 131 |

Lista de Tabelas

| | |
|--|-----|
| Tabela 2.1 – Potenciais de oxidação-redução. ³³ | 16 |
| Tabela 2.2 - Exemplos de sistemas típicos baseados em POAs. | 17 |
| Tabela 4.1 – Propriedades físico-químicas da cafeína. ¹⁰ | 41 |
| Tabela 4.2 – Matriz experimental do planejamento fatorial 2 ³ para o sistema TiO ₂ /UV | 45 |
| Tabela 4.3– Efeitos calculados para o planejamento fatorial 2 ³ do sistema TiO ₂ /UV | 45 |
| Tabela 4.4 – Matriz experimental do planejamento fatorial 2 ³ para o sistema H ₂ O ₂ /UV | 47 |
| Tabela 4.5 – Efeitos calculados para o planejamento fatorial 2 ³ do sistema H ₂ O ₂ /UV | 47 |
| Tabela 4.6 – Matriz experimental do planejamento fatorial 2 ³ para o sistema Fenton. | 49 |
| Tabela 4.7 – Efeitos calculados para o planejamento fatorial 2 ³ do sistema Fenton. | 49 |
| Tabela 4.8 – Propriedades físico-químicas da tetraciclina. ¹⁰ | 70 |
| Tabela 5.1 – Propriedades físico-químicas do fenol. ³⁷ | 93 |
| Tabela 5.2 – Propriedades físico-químicas do índigo carmim. ³⁷ | 103 |
| Tabela 6.1 Comparação entre os valores de <i>m/z</i> experimentais e calculados para os íons observados medidas de alta exatidão das alíquotas da oxidação do isopreno mediada por radicais hidroxila. | 130 |

Lista de Siglas

| | |
|---------|--|
| AIBN | Azobisisobutironitrila |
| AOS | Aerossóis Orgânicos Secundários |
| APCI | Ionização Química a Pressão Atmosférica (<i>Atmospheric Pressure Chemical Ionization</i>) |
| APCI-MS | Espectrometria de Massas com Ionização Química à Pressão Atmosférica (<i>Atmospheric Pressure Chemical Ionization-Mass Spectrometry</i>) |
| B | Analisador de Massas de Setor Magnético |
| CAS RN | Chemical Abstract Service Registry Number |
| CCSD | Teoria Coupled Cluster com Excitações Simples e Duplas |
| CI | Ionização Química (<i>Chemical Ionization</i>) |
| CID | Dissociação Induzida por Colisão (<i>Collision Induced Dissociation</i>) |
| COT | Carbono Orgânico Total |
| COVs | Compostos Orgânicos Voláteis |
| CRM | Modelo de Carga Residual (<i>Charged Residue Model</i>) |
| DFT | Teoria do Funcional de Densidade |
| E | Analisador de Massas de Setor Elétrico |
| E° | Potencial de Redução |
| EI | Ionização por Elétrons (<i>Electron Ionization</i>) |
| ESI | Ionização Electrospray (<i>Electrospray Ionization</i>) |
| ESI-MS | Espectrometria de Massas com Ionização Electrospray (<i>Electrospray Ionization Mass Spectrometry</i>) |
| FAB | Bombardeamento de Átomos Rápidos (<i>Fast Atom Bombardment</i>) |
| FT-ICR | Ressonância Ciclotrônica de Íons com Transformada de Fourier (<i>Fourier-Transform Ion Cyclotron Resonance</i>) |
| GC | Cromatografia a Gás (<i>Gas Chromatography</i>) |
| GC-MS | Cromatografia a Gás Acoplada a Espectrometria de Massas (<i>Gas Chromatography - Mass Spectrometry</i>) |

| | |
|-----------------|--|
| HPLC | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (<i>High Performace Liquid Chromatography</i>) |
| IEM | Modelo de Evaporação do Íon (<i>Ion Evaporation Model</i>) |
| IV | Infravermelho |
| LC-APCI-MS | Cromatografia Líquida Acoplada a Espectrometria de Massas com Ionização Química à Pressão Atmosférica (<i>Liquid Chromatography-Atmosferic Pressure Chemical Ionization-Mass Spectrometry</i>) |
| MALDI | Ionização e Dessorção por Laser Assistida por Matriz (<i>Matrix Assisted Laser Dessorption Ionization</i>) |
| MP2 | Teoria de Perturbação Møller-Plesset de Segunda Ordem |
| MS | Espectrometria de Massas (<i>Mass Spectrometry</i>) |
| MS/MS | Espectrometria de Massas Sequencial |
| MS ⁿ | Espectrometria de Massas Sequencial em Múltiplos Estágios |
| PD | Dessorção por Plasma (<i>Plasm Dessorption</i>) |
| POAs | Processos Oxidativos Avançados |
| Q | Quadrupolo |
| SI | Íons Secundários (<i>Secondary Ions</i>) |
| TIC | Cromatograma de Íons Totais (<i>Total Ion Chromatogram</i>) |
| TOF | Tempo de Vôo (Time of Flight) |
| UV | Ultravioleta |
| UV-Vis | Espectrofotometria na Região do Ultravioleta e Visível |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----|
| Agradecimentos..... | iv |
| Resumo..... | v |
| Abstract..... | vi |
| Lista de Figuras..... | vii |
| Lista de Esquemas..... | xii |
| Lista de Tabelas..... | xiv |
| Lista de Siglas..... | xv |
| | |
| Capítulo 1 Relevância e Objetivos..... | 1 |
| | |
| Capítulo 2 Revisão Bibliográfica..... | 4 |
| 2.1 Espectrometria de Massas com Ionização Electrospray..... | 5 |
| Fundamentos da Espectrometria de Massas..... | 5 |
| Espectrometria de Massas com Ionização Electrospray..... | 8 |
| O Processo Electrospray..... | 9 |
| 2.2 Aplicação da ESI-MS no Monitoramento de Reações Químicas..... | 12 |
| Monitoramento de Reações e a ESI-MS..... | 12 |
| Estratégias para o Monitoramento de Reações por ESI-MS..... | 13 |
| Determinações Cinéticas..... | 14 |
| Caracterização das Espécies..... | 15 |
| 2.3 Processos Oxidativos Avançados..... | 15 |
| Sistema H ₂ O ₂ /UV..... | 18 |
| Sistema H ₂ O ₂ /Fe ⁺² (Reagente de Fenton)..... | 19 |
| Sistema TiO ₂ /UV..... | 21 |
| Ozonização..... | 22 |

| | |
|--|----|
| Monitoramento dos Processos Oxidativos Avançados..... | 23 |
| 2.4 Referências Bibliográficas..... | 24 |
| | |
| Capítulo 3 Métodos de Análise..... | 30 |
| 3.1 Técnicas e Condições de Análise..... | 31 |
| Espectrofotometria no Ultra-violeta e Visível..... | 31 |
| Análise de Carbono Orgânico Total..... | 31 |
| Cromatografia Líquida de Alta Eficiência..... | 32 |
| Espectrometria de Massas com Ionização por Electrospray..... | 33 |
| Cromatografia a Gás Acoplada a Espectrometria de Massas..... | 34 |
| Cromatografia Líquida Acoplada a Espectrometria de Massas com Fonte de Ionização Química à Pressão Atmosférica..... | 35 |
| | |
| 3.2 Referências Bibliográficas..... | 36 |
| | |
| Capítulo 4 Degradação de Fármacos..... | 37 |
| 4.1 Fármacos no Meio Ambiente..... | 38 |
| 4.2 Monitoramento da Degradação da Cafeína por TiO ₂ /UV, H ₂ O ₂ /UV e Fenton..... | 40 |
| 4.2.1 Cafeína..... | 40 |
| 4.2.2 Parte Experimental..... | 42 |
| Reagentes..... | 42 |
| Montagem do Reator de UV..... | 42 |
| Experimentos de Degradação..... | 43 |
| 4.2.3 Resultados e Discussão..... | 44 |
| Planejamento Fatorial..... | 44 |
| Eficiência da Degradação e Mineralização dos Processos..... | 51 |
| Monitoramento por ESI-MS..... | 55 |
| Identificação Complementar de Intermediários por GC-MS..... | 62 |

| | |
|---|----|
| Mecanismos de Oxidação..... | 66 |
| 4.2.4 Conclusões..... | 69 |
| 4.3 Monitoramento da Degradação da Tetraciclina por Ozonização..... | 70 |
| 4.3.1 Tetraciclina..... | 70 |
| 4.3.2 Parte Experimental..... | 72 |
| Reagentes..... | 72 |
| Ozonização..... | 72 |
| 4.3.3 Resultados e Discussão..... | 72 |
| Degradação da Tetraciclina..... | 72 |
| Monitoramento por ESI-MS..... | 76 |
| Monitoramento por LC-APCI-MS..... | 81 |
| Mecanismos de Oxidação..... | 83 |
| 4.3.4 Conclusões..... | 85 |
| 4.4 Referências Bibliográficas..... | 86 |
| | |
| Capítulo 5 Avaliação de Sistemas Oxidativos Alternativos..... | 90 |
| 5.1 Sistema Fenton Baseado em $Fe^0/Fe_3O_4/H_2O_2$ | 91 |
| 5.1.1 Sistema Fenton Clássico..... | 91 |
| 5.1.2 Sistema Fenton Heterogêneo..... | 92 |
| 5.1.3 Parte Experimental..... | 93 |
| Reagentes..... | 93 |
| Experimento de Oxidação..... | 94 |
| 5.1.4 Resultados e Discussão..... | 94 |
| Monitoramento ESI-MS..... | 94 |
| Caracterização por ESI-MS ² e Rota de Formação de Produtos da Oxidação do Fenol..... | 96 |
| Evidências Adicionais Obtidas no Monitoramento por ESI(+)-MS..... | 98 |

| | |
|---|-----|
| Proposta do Mecanismo Envolvido no Sistema $\text{Fe}^0/\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ | 99 |
| 5.1.5 Conclusões..... | 100 |
| 5.2 Sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\Gamma$ | 101 |
| 5.2.1 Abordagem Clássica para o Sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\Gamma$ | 101 |
| 5.2.2 Novas Abordagens para o Sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\Gamma$ | 102 |
| 5.2.3 Parte Experimental..... | 103 |
| Reagentes..... | 103 |
| Decomposição do H_2O_2 | 104 |
| Degradação do Corante Indigo Carmim..... | 104 |
| 5.2.4 Resultados e Discussão..... | 104 |
| Monitoramento ESI-MS da Decomposição do H_2O_2 | 104 |
| Proposta de Mecanismo de Oxidação de H_2O_2 Catalisada por Γ | 106 |
| Cálculos Teóricos..... | 107 |
| Monitoramento ESI-MS da Degradação do Corante Indigo Carmim..... | 109 |
| Proposta de Rota de Degradação do Indigo Carmim..... | 114 |
| Evidências Adicionais da Formação do Intermediário IOOH..... | 115 |
| 5.2.5 Conclusões..... | 115 |
| 5.3 Referências Bibliográficas..... | 116 |
| | |
| Capítulo 6 Oxidação do Isopreno Mediada por Radicais Hidroxila..... | 120 |
| 6.1 Isopreno e os Aerossóis Atmosféricos..... | 121 |
| 6.2 Isopreno como Precursor de Aerossóis Orgânicos Secundários..... | 122 |
| 6.3 Monitoramento da Oxidação do Isopreno por $\text{H}_2\text{O}_2/\text{AIBN}$ e $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ | 124 |
| 6.3.1 Parte Experimental..... | 124 |
| Reagentes..... | 124 |
| Experimentos de Oxidação..... | 125 |
| 6.3.2 Resultados e Discussão..... | 125 |

| | |
|--|-----|
| Monitoramento ESI-MS..... | 125 |
| Caracterização por ESI-MS/MS..... | 127 |
| Espectrometria de Massas de Alta Exatidão..... | 130 |
| Rota de Formação de Produtos da Oxidação do Isopreno..... | 131 |
| 6.4 Conclusões..... | 132 |
| 6.5 Referências Bibliográficas..... | 132 |
| | |
| Capítulo 7 Considerações Finais..... | 134 |
| | |
| Anexos..... | 136 |
| Lista de Trabalhos Apresentados em Congressos..... | 137 |
| Lista de Artigos Publicados e Aceitos para Publicação..... | 138 |

CAPÍTULO 1 RELEVÂNCIA E OBJETIVOS

A espectrometria de massas e a sua aplicação à resolução de desafios analíticos têm estado no centro de diversos interesses científicos. Desde o início do século XX, a espectrometria de massas vem sendo reconhecida como uma ferramenta analítica potente, devido à extraordinária capacidade de determinação das massas moleculares e caracterização de estruturas com sensibilidade e exatidão.

Na sua forma convencional, a espectrometria de massas possui como uma das principais limitações a necessidade de realizar a ionização de uma substância a baixíssimas pressões. Se esta substância não for volátil, devem-se utilizar procedimentos que irão lhe conferir esta propriedade. No entanto, muitas substâncias não se ajustam a estes procedimentos e, portanto, não podem ser analisadas, limitando assim o universo de sistemas a serem estudados.

Um dos principais avanços apresentados em espectrometria de massas ocorreu com a introdução de novas formas de ionização à pressão atmosférica, como a ionização electrospray, por exemplo. O restrito universo de substâncias analisáveis por espectrometria de massas foi ampliado enormemente, na medida em que permitiu a inclusão daquelas não voláteis, termicamente lábeis e polares. Assim, os sistemas baseados em água como solvente passaram a ser diretamente analisados por esta técnica e informações sobre a massa molecular e as estruturas das substâncias ionizáveis presentes neste meio puderam ser obtidas.

O uso da espectrometria de massas com ionização electrospray para monitorar reações em meio aquoso é o tema principal desta tese. Os sistemas avaliados pertencem a uma classe conhecida como processos oxidativos avançados, onde o resultado líquido é a oxidação da substância alvo. Estas reações foram feitas sob diversas abordagens, mas tendo como foco comum a relevância ambiental de cada um destes sistemas.

Posto isto, os objetivos principais do conjunto de trabalhos apresentados nesta tese são demonstrar a aplicação da espectrometria de massas com ionização electrospray no monitoramento de processos oxidativos, para obter informações reveladas especificamente por esta técnica, e expandir o conhecimento acerca das reações ocorridas nestes sistemas. A motivação particular para o estudo de cada sistema é descrita nos respectivos capítulos.

Desse modo, esta tese é composta por sete capítulos. Na Revisão Bibliográfica são apresentados os fundamentos da espectrometria de massas com ionização electrospray e o estado da arte do monitoramento de reações por esta técnica. No capítulo Métodos de Análise se faz uma descrição dos métodos e técnicas analíticas que deram suporte à investigação de cada sistema. Nos demais capítulos são discutidos aspectos específicos observados para cada sistema avaliado, a saber, degradação de fármacos, caracterização de sistemas oxidativos e oxidação do isopreno mediada por radicais hidroxila. O último capítulo traz as considerações finais, no qual se faz a analogia dos trabalhos apresentados no corpo da tese.

CAPÍTULO 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Espectrometria de Massas com Ionização Electrospray

Fundamentos da Espectrometria de Massas

A Espectrometria de Massas (MS – *Mass Spectrometry*) é uma técnica analítica empregada na identificação e quantificação de substâncias orgânicas ou inorgânicas presentes em sólidos, líquidos ou gases, e na elucidação da estrutura das moléculas. Possui uma posição de destaque entre as técnicas analíticas devido a características como especificidade, elevada sensibilidade e limites de detecção cada vez mais baixos. Sua ampla diversidade de aplicações estende-se desde a química, geocronologia, biologia, ciências médicas, ambientais e até no desenvolvimento de novas tecnologias.¹ A MS é particularmente adequada para a caracterização e quantificação dos analitos em misturas complexas, mesmo que estes estejam presentes em concentrações traços.

A Espectrometria de Massas tem sua origem em 1897, com o descobrimento do elétron por Sir J. J. Thomson em Cambridge. No início do século XX, Thomson construiu o primeiro espectrômetro e, desde então, as técnicas utilizadas na MS vêm evoluindo e se adaptando a um amplo ramo de aplicações. O princípio de funcionamento de qualquer espectrômetro de massas baseia-se na detecção de íons selecionados de acordo com a sua razão massa-carga (m/z), sendo m a massa em u (massa atômica unificada, também chamada de Dalton (Da), definida como 1/12 da massa de um átomo do isótopo de ^{12}C , convencionado como 12).

Um esquema da estrutura básica de um espectrômetro de massas é mostrado na Figura 2.1. De acordo com este esquema, a obtenção de um espectro de massas segue a seqüência: introdução da amostra, ionização das espécies, passagem por um analisador de massas onde ocorre a separação dos íons de acordo com a sua razão m/z , e detecção, onde a contagem dos íons é transformada em um sinal cuja magnitude, normalizada em relação ao sinal mais abundante, é plotada em função dos respectivos m/z .

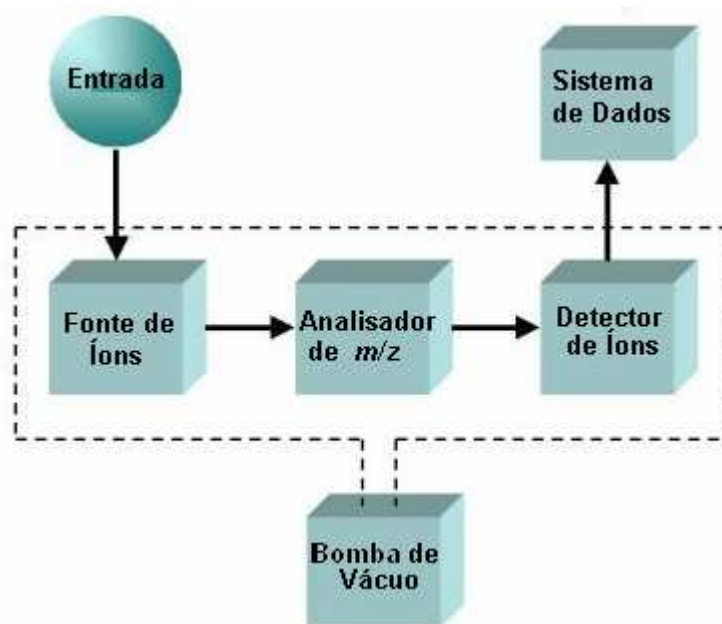


Figura 2.1 - Estrutura básica de um espectrômetro de massas.

As formas de introdução da amostra em um espectrômetro de massas são ou por inserção direta ou infusão direta. Na inserção direta, a amostra sólida é disposta sobre uma sonda ou placa e esta sonda é introduzida na região de ionização através de uma conexão adequada para que o vácuo seja mantido no sistema. Na infusão direta, um capilar é usado para introduzir a amostra que se encontra na fase gasosa ou líquida. Geralmente as colunas capilares são usadas para fazer a interface entre métodos de separação, como a cromatografia a gás, e o espectrômetro de massas.

A fonte de ionização é um dispositivo que permite a ocorrência do processo de ionização dos analitos da amostra antes da sua entrada no analisador de m/z . Existe uma grande variedade de técnicas de ionização, cuja escolha deve levar em conta as propriedades físico-químicas do analito e a energia transferida durante o processo de ionização. Das diversas fontes de ionização, algumas são adequadas para a fase gasosa [Ionização por Elétrons (EI – *Electron Ionization*) e Ionização Química (CI – *Chemical Ionization*)], para a fase líquida [Electrospray (ESI), Thermospray, Ionização Química a Pressão Atmosférica (APCI – *Atmospheric Pressure Chemical Ionization*), Plasma] e para a fase sólida [Ionização e Dessorção por Laser Assistida por Matriz (MALDI – *Matrix Assited Laser Dessorption Ionization*), Íons Secundários (SI – *Secondary Ions*), Dessorção por Plasma (PD – *Plasm Dessorption*)]. Em relação à energia transferida durante a ionização, algumas técnicas promovem extensiva fragmentação (p. ex.: EI) e outras são mais brandas produzindo espécies

que não dissociadas (p. ex.: ESI). A ionização do analito pode ocorrer por ejeção de elétrons, captura de elétrons, protonação, desprotonação, formação de adutos ou transferência de espécies carregadas da fase condensada para a fase gasosa.

A adição de carga permite que a espécie seja afetada por campos elétricos e, assim, uma vez produzidos, os íons podem ser separados de acordo com a sua razão m/z . A região onde a separação ocorre está contida em alto vácuo (10^{-6} a 10^{-11} Torr). Os tipos de analisadores utilizados são: quadrupolos (Q), armadilha de íons (Ion Trap), tempo de voo (TOF – *Time of Flight*), setor elétrico (E) e setor magnético (B), ressonância ciclotrônica de íons com Transformada de Fourier (FT-ICR – *Fourier-Transform Ion Cyclotron Resonance*) e configurações híbridas (p. ex.: Q-TOF). Os instrumentos operam separando os íons ou no espaço [p. ex.: quadrupolo (Q)] ou no tempo [p. ex.: tempo de voo (TOF)]. Na Espectrometria de Massas Sequencial (MS/MS) vários analisadores podem ser combinados em série [p. ex.: triploquadrupolo (QqQ)]. Estes arranjos permitem obter um espectro dos fragmentos de um íon selecionado no primeiro analisador. A decomposição de íons pode ser estendida a uma ordem maior, MS^n , com o uso de analisadores do tipo ciclotron ou armadilha de íons. Com estas técnicas, informações sobre a estrutura dos íons individuais podem ser obtidas e, conseqüentemente, uma descrição estrutural mais detalhada da molécula precursora destes íons pode ser feita. As três principais características de um analisador de massas são: o limite superior de medida da razão m/z , a transmissão, que é a razão entre número de íons que alcançam o detector e o número de íons produzidos na fonte, e o poder de resolução, que é a habilidade de produzir sinais distintos para dois íons com uma pequena diferença de massa.

Os íons, após a passagem pelo analisador de massas, alcançam o detector que gera um sinal correspondente. Entre os diferentes tipos de detectores encontram-se as placas fotográficas e os cilindros Faraday, que permitem a medida direta dos íons que chegam ao detector, as fotomultiplicadoras, multiplicadoras de elétrons e com arranjo em canais, que aumentam a intensidade do sinal, e ainda os detectores de carga, que reconhecem cargas em movimento.

Por fim, um computador dedicado ao espectrômetro de massas registra os dados de saída, convertendo-os em valores de m/z e intensidades, além de controlar também toda a instrumentação pela introdução de valores e variação de diversos parâmetros.

Espectrometria de Massas com Ionização Electrospray

A análise por espectrometria de massas exige que a espécie seja ionizada antes de alcançar o analisador de m/z . Quando a amostra é volátil e ou termicamente estável, a sua introdução na região de alto vácuo do espectrômetro é relativamente simples e o posterior processo de ionização pode ser conduzido com um feixe de elétrons, por exemplo. Dessa forma, os primeiros instrumentos e, atualmente os de uso mais difundido, apresentam uma configuração na qual a fonte de ionização se localiza na região de vácuo. No entanto, para amostras não voláteis, a introdução em um espectrômetro de massas não é um processo tão trivial e isto limitou durante muito tempo a análise destas espécies. Para superar esta restrição, novas formas de introdução e ionização da amostra foram desenvolvidas, como por exemplo: Bombardeamento de Átomos Rápidos (FAB – *Fast Atom Bombardment*), Thermospray, Electrospray, entre outras.

Uma das interfaces mais amplamente usadas para introdução de amostras não voláteis é a fonte de ionização por electrospray. O conceito da fonte ESI foi inicialmente proposta em 1968 a partir de estudos feitos por Dole.² Neste trabalho, Dole descreve a tentativa de medir a massa molecular de espécies poliméricas baseado na ionização por electrospray. Mas foi somente na década de 80 que a técnica se desenvolveu na forma como é conhecida hoje, através do trabalho independente de dois grupos: Yamashita e Fenn³, nos Estados Unidos, e Aleksandrov e colaboradores⁴, na antiga Rússia. O trabalho desenvolvido por John B. Fenn na obtenção de espectros de massas de grandes biomoléculas (da ordem de 20.000 Da) utilizando a fonte ESI foi reconhecido ao receber o Prêmio Nobel de Química em 2002.

Os primeiros espectrômetros de massa com fonte ESI tornaram-se comercialmente disponíveis no início da década de 90 e isto revolucionou a forma como a espectrometria de massas era feita. Desde então, a Espectrometria de Massas com Ionização Electrospray (ESI-MS – *Electrospray Ionization Mass Spectrometry*) vem sendo aplicada em diversas áreas da ciência, tendo como área mais ativa a análise de biomoléculas. Para exemplificar este crescente avanço, a Figura 2.2 mostra o número total de artigos publicados no período de 1990 a 2006.

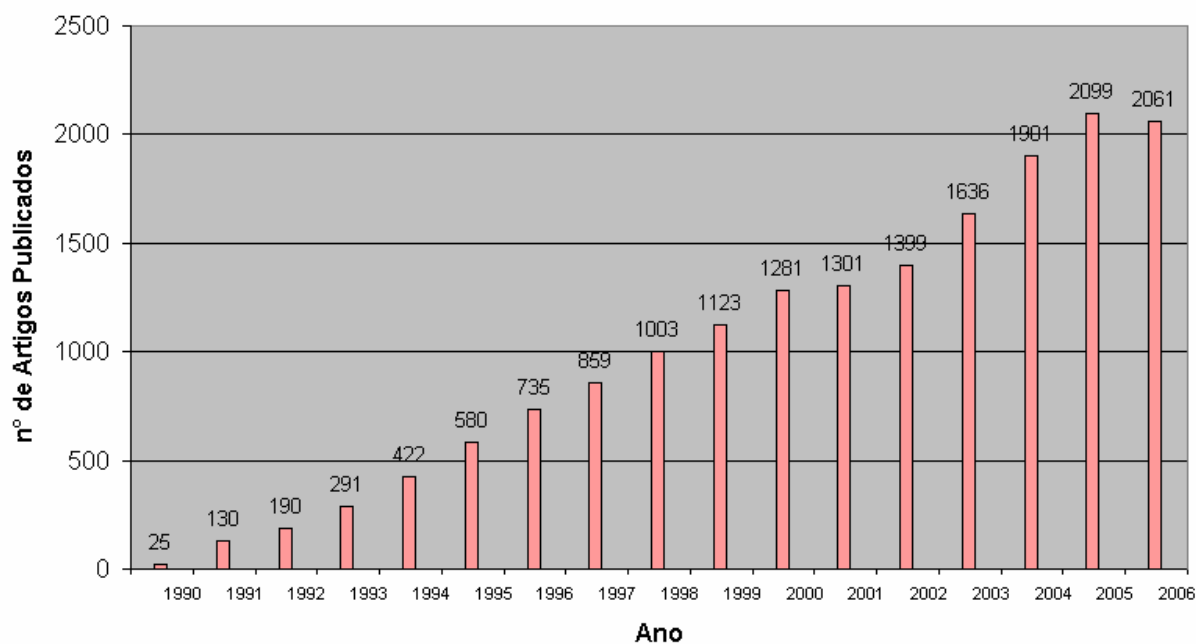


Figura 2.2 – Número de artigos publicados no período de 1990 a 2006. Estes dados são baseados em pesquisa feita em *www.isiknowledge.com*, com as entradas “Electrospray” e “Mass Spectrometry”.

O Processo Electrospray

A ESI é uma fonte de ionização à pressão atmosférica, que inicialmente foi considerada como uma fonte de ionização destinada à análise de proteínas. Mais tarde, seu uso foi estendido, não apenas a polímeros e biopolímeros, mas também à análise de moléculas polares de baixa massa molecular. Os princípios de formação do electrospray são apresentados a seguir.

Um eletrospray é produzido pela aplicação de um forte campo elétrico a um líquido bombeado através de um tubo capilar com um fluxo baixo (geralmente de 1 a 10 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$), à pressão atmosférica. Este campo elétrico é obtido a partir da aplicação de uma diferença de potencial de 3 a 6 kV entre este capilar e um contra-eletrodo, separados por uma distância de 0,3 a 2 cm. Se um potencial positivo, por exemplo, é aplicado no tubo capilar, os íons positivos tenderão a se afastar para uma região menos positiva, isto é, em direção ao contra-eletrodo (negativo). O mecanismo global pode ser dividido em: formação da gota, contração da gota e formação do íon gasoso⁵. A gota formada na ponta do capilar, sob um potencial

positivo, estará enriquecida de íons positivos. Quando a densidade de carga aumenta na gota, o campo elétrico formado entre o capilar e o contra-eletródo provoca a deformação da gota, que adquire a forma de um cone, denominado de cone de Taylor, Figura 2.3. A gota na forma de cone conserva-se junto ao capilar até que a repulsão entre os íons de mesma carga supere a tensão superficial do líquido, ocorrendo então a liberação de pequenas gotas com alta densidade de carga. O diâmetro das gotas é influenciado por diversos parâmetros, incluindo o potencial aplicado, a taxa de fluxo da solução e as propriedades do solvente.⁶

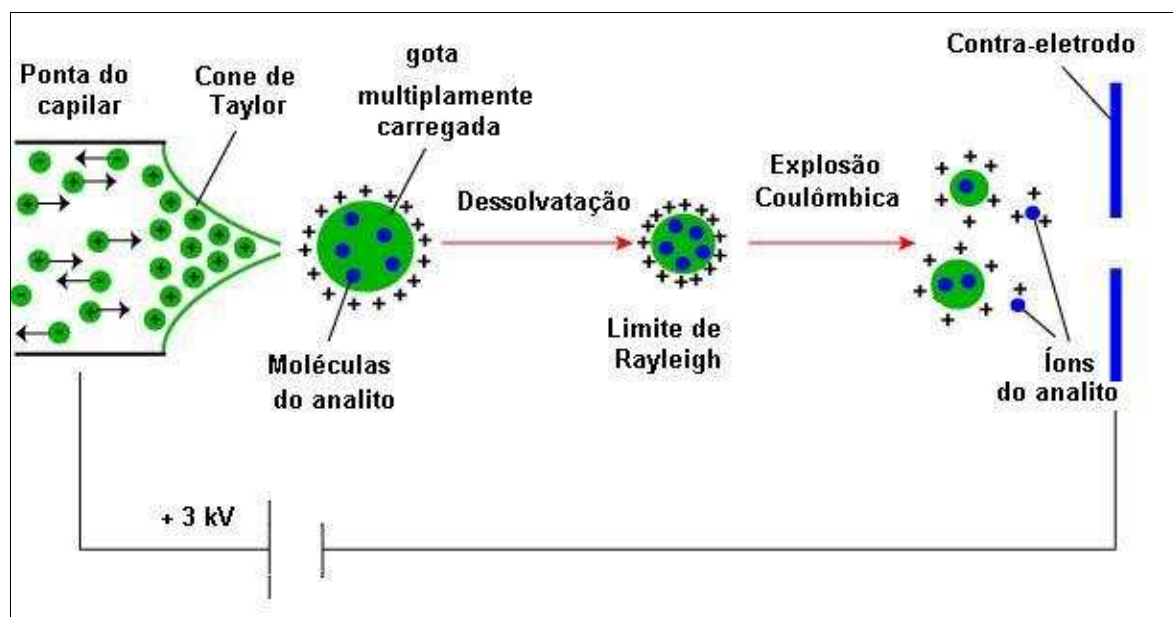


Figura 2.3 – Produção das gotas e processo de dessolvatação na fonte Electro spray.

As gotas desprendidas da ponta do capilar passam por um processo de dessolvatação, na medida em que atravessam a região de gradiente de pressão em direção ao analisador de massas. Esta evaporação é facilitada pela energia térmica do ambiente (capilar aquecido) ou pelo uso de um gás inerte secante (N_2). Durante este percurso, entre a ponta do capilar e o analisador de massas, ocorre a transferência dos íons positivos da fase condensada para a fase gasosa, gerando assim os íons gasosos. Embora não haja um consenso sobre como estes íons são formados, dois modelos são propostos para explicar este processo. No modelo de carga residual (CRM - *Charged Residue Model*), originalmente proposto por Dole e colaboradores^{2,7}, conforme a dessolvatação ocorre, a densidade de carga na gota aumenta até que as forças de repulsão vencem a tensão superficial e a gota se rompe (explosão coulômbica). Dessa forma, as gotas são submetidas a um efeito de rompimento em cascata, levando à formação do

íon gasoso, Figura 2.4. A carga máxima q que uma gota de diâmetro D pode manter antes de se fragmentar (comumente conhecida como o limite de Rayleigh), é fornecida pela Equação 2.1.

$$q^2 = 8\pi^2 \cdot \epsilon_0 \cdot \gamma \cdot D^3 \quad (2.1)$$

onde ϵ_0 é a permissividade do meio e γ é a tensão superficial da gota.

No modelo de evaporação do íon (IEM - *Ion Evaporation Model*), sugerido por Iribarne e Thomson em 1975^{8,9}, a formação dos íons gasosos ocorre a partir da emissão destes diretamente de gotas muito pequenas e altamente carregadas, formadas no processo de dessolvatação. Neste mecanismo, não ocorre a ruptura da gota e a força motriz é a repulsão entre o íon carregado e as outras cargas na gota, Figura 2.4.

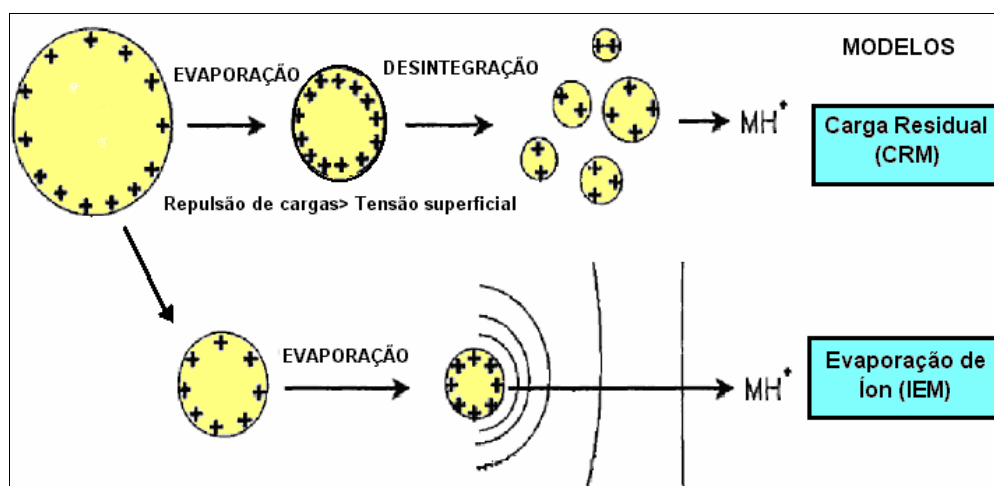


Figura 2.4 – Possíveis mecanismos para formação do íon gasoso no processo electro spray.

Uma importante característica do processo electro spray é a habilidade de produzir íons multiplamente carregados a partir de grandes moléculas com vários sítios ionizáveis. Foi esta característica que o tornou muito popular na análise de biomoléculas, como por exemplo, as proteínas.

O principal resultado do processo electro spray é a transferência do analito, geralmente ionizado na fase condensada, para a fase gasosa como uma entidade isolada. As espécies iônicas observadas podem ser protonadas $[M+nH]^{n+}$, desprotonadas $[M-nH]^{n-}$, cationizadas, por exemplo $[M+Na]^+$, ou anionizadas, por exemplo $[M+Cl]^-$, além de possíveis *clusters* com

moléculas do solvente, por exemplo $[M+n\text{MeOH}+H]^+$. Por esse motivo alguns pesquisadores não se consideram esta interface como uma fonte de ionização. No entanto, uma vez que no electrospray ocorre um processo eletroforético, a fonte pode ser considerada uma célula eletrolítica e assim oxidações eletroquímicas podem ocorrer.⁵ Por exemplo, cátions ou ânions radicais ($M^{\bullet+}$ ou $M^{\bullet-}$) podem ser gerados a partir de espécies neutras e assim a fonte electrospray atua como uma verdadeira fonte de ionização.^{10,11}

A ESI-MS pode ser usada para analisar substâncias polares, como por exemplo: polímeros biológicos (proteínas, nucleotídeos, etc), fármacos e seus metabólitos, e polímeros industriais (polietilenoglicóis, por exemplo). Suas características a tornaram uma excelente interface de acoplamento entre métodos de separação, como HPLC e eletroforese, e o analisador de massas. A utilização desta fonte para análise por espectrometria de massas teve um impulso tão grande, e em tão pouco tempo, devido ao fato de que a maioria dos processos química e bioquímica ocorre em fase líquida e por envolverem, muitas vezes, espécies pouco voláteis e termicamente instáveis.

2.2 Aplicação da ESI-MS no Monitoramento de Reações Químicas

Monitoramento de Reações e a ESI-MS

O desenvolvimento da ionização electrospray fez com que espécies polares em fase líquida, principalmente aquosa, pudessem ser analisadas por espectrometria de massas fornecendo, assim, uma excelente forma de acompanhar o avanço de uma reação. Além disso, informações específicas sobre a massa molecular e a estrutura de espécies relevantes na mistura reacional podem ser obtidas com exatidão, sensibilidade e rapidez que não são muitas vezes alcançadas por outras técnicas de análise química. O monitoramento da reação pode ser feito através da amostragem da mistura com uma frequência tal que permita a avaliação do sistema antes de atingir o equilíbrio. Assim, informações relevantes sobre o caminho percorrido pelos reagentes até os produtos serão obtidas. A determinação da cinética e/ou de intermediários de vida curta fornecem também informações cruciais para a elucidação dos mecanismos de reação. Além disso, a habilidade da MS de detectar várias espécies

simultaneamente pode revelar a presença de reações competitivas e das suas velocidades relativas.

A transferência dos íons para a fase gasosa durante o electrospray não é um processo energético, envolvendo, em sua maior parte, a ruptura de interações não covalentes, tais como a remoção do solvente. Por isso, espera-se que o estado de carga dos íons gasosos reflita o seu estado de carga em solução.¹² No entanto, alguns outros processos, tais como formação de cátions ou anions radicais¹¹ e mudanças nas propriedades de coordenação¹³, podem ocorrer. Eventos como estes sugerem que uma análise rigorosa deve ser feita para examinar se as espécies detectadas na ESI são as que prevalecem em solução e se são, realmente, intermediários de reação. Estes exames podem ser feitos, por exemplo, com o uso de reações íon/molécula das espécies sob investigação ou pelo estudo comparativo de dados obtidos através das análises por ESI-MS e outras técnicas analíticas.

Estratégias para o Monitoramento de Reações por ESI-MS

A seqüência de eventos que ocorrem durante o curso de uma reação pode ser convenientemente investigada pela mistura dos reagentes, sob as condições desejadas, e pela determinação da composição do sistema em função do tempo. Para se estudar uma reação usando ESI-MS duas estratégias podem ser descritas: (i) o monitoramento fora de linha (*off-line*) e (ii) o monitoramento em linha (*on-line*).

No monitoramento fora de linha, alíquotas da reação retiradas em intervalos pré-determinados são imediatamente analisadas por ESI-MS (análise em tempo real – *real time*) ou a reação é interrompida e a alíquota é armazenada para análise em um momento posterior. Um parâmetro importante neste procedimento é o tempo decorrido entre amostragens consecutivas, que deve ser convenientemente escolhido para se ajustar à velocidade do processo e fornecer as informações esperadas. Este tempo deve considerar o intervalo decorrido entre as operações de coleta e de interrupção da reação. O controle deste parâmetro é mais crítico se a reação é interrompida pela introdução da alíquota na fonte ESI e é mais flexível quando se utilizam mudanças de pH, mudança brusca de temperatura, adição de solventes ou agentes quelantes, como métodos de interrupção. A vantagem desta estratégia é a flexibilidade do meio reacional, que pode conter, por exemplo, tampões não voláteis, sais ou

outros aditivos, já que a alíquota pode ser manipulada para remoção destes interferentes antes da inserção na fonte ESI. A desvantagem se revela na dificuldade de detecção de espécies com curto tempo de vida em solução. As aplicações desta estratégia já ocorriam na década de 1990, como por exemplo, no monitoramento das reações de Wittig, Mitsunobu e Staudinger.¹⁴

No monitoramento em linha, a reação é executada em um reator conectado diretamente à fonte ESI do espectrômetro de massas, para análises em tempo real sem interrupções ou manipulação da amostra. O processo de dessorção/ionização atua como a etapa de terminação da reação. A aquisição dos dados pode ser iniciada antes ou em sincronia com o início da reação e pode ser prolongada pelo tempo desejado, desde que uma quantidade suficiente da mistura reacional seja colocada no reator. Cada ciclo de aquisição de espectros, que pode ser contínuo ou não, gera um conjunto de informações sobre o sistema durante o intervalo de tempo escolhido. Esta estratégia se mostra efetiva no estudo de sistemas que contém espécies que não são estáveis frente a operações de manuseio, interrupção e armazenamento. Além disso, a possibilidade de perda de amostra, degradação e contaminação são drasticamente reduzidas. No entanto, apresenta dificuldades para a análise de sistemas contendo soluções com aditivos não compatíveis com a fonte ESI, tais como substâncias não voláteis.

Na estratégia de monitoramento em linha, diversos tipos de reatores podem ser acoplados à fonte ESI. A versão mais simples é uma seringa conectada ao capilar do ESI que pode atuar como frasco da reação.^{15,16} Outros arranjos instrumentais mais complexos podem também ser usados, por exemplo: micro reator¹⁷, câmara de volume controlado¹⁸, reatores fotoquímicos¹⁹ e eletroquímicos.²⁰

Determinações Cinéticas

Um perfil cinético é construído com a variação da concentração de uma ou mais espécies, reagentes ou produtos, em função do tempo de reação. A seleção do tipo de experimento deve assegurar uma resolução adequada do tempo e, também, a determinação da concentração destas espécies com confiabilidade. Vários métodos de quantificação, como uso de padrão interno, curvas de calibração e adição de padrão podem ser utilizados. Como resposta podem ser utilizadas a intensidade do sinal registrado no espectro de massas ou a

área de picos cromatográficos ou eletroforéticos, quanto se usam técnicas hifenizadas. Vários exemplos de determinações cinéticas, utilizando as abordagens descritas anteriormente, podem ser encontradas na literatura: reações de hidrólise^{21,22}, catálise enzimática²³, reações bioquímicas²⁴, etc.

Caracterização das Espécies

A Espectrometria de Massas, além de fornecer informações adequadas para uma análise cinética, possui, como habilidade de maior destaque, a capacidade de caracterizar as espécies. As qualidades inerentes à espectrometria de massas, tais como excelente sensibilidade analítica, elevada especificidade, por exemplo, análise feita com espectrômetros de alta resolução^{25,26,27}, uso dos perfis de fragmentação que podem ser obtidos, por exemplo, em experimentos de dissociação induzida por colisão (CID)²⁸, facilitam a caracterização dos intermediários e produtos da reação. A caracterização de espécies transientes, que muitas vezes não é possível por outras técnicas, pode auxiliar na formulação de hipóteses sobre mecanismos de reação. Além disso, a possibilidade de detecção simultânea de várias espécies pode revelar a presença de reações competitivas e das suas velocidades relativas. Há diversos sistemas que têm sido avaliados por ESI-MS para propor estruturas de intermediários^{17,29} e composto inéditos^{30,31,32}, e avaliar o mecanismo de reações^{33,34}, por exemplo.

2.3 Processos Oxidativos Avançados

Nas últimas décadas, tem se observado uma intensificação das atividades de pesquisa direcionadas à proteção do meio ambiente, principalmente daquelas envolvidas em novas tecnologias para tratamento de água e águas residuárias. Uma classe especial de técnicas de oxidação química, conhecida como processos oxidativos avançados (POAs), tem sido alvo de muitos estudos, com a finalidade de eliminar poluentes recalcitrantes.^{35,36}

Uma reação de oxidação/redução é aquela que envolve transferência de elétrons entre os reagentes. Para que isto ocorra, deve-se ter um elemento que sofre perda de elétrons, ou

seja, é oxidado, enquanto outro elemento ganha elétrons, ou seja, é reduzido. A capacidade de oxidação de uma espécie está relacionada com seu potencial de redução (E°). Uma espécie com elevado valor de E° é um forte agente oxidante. A Tabela 2.1 mostra os potenciais de redução de espécies que são oxidantes mais fortes que o O_2 . Entre estes se encontra o radical hidroxila ($\bullet OH$) que é um dos radicais livres mais reativos e um dos oxidantes mais poderosos.

Tabela 2.1 – Potenciais de redução.³⁷

| Reação Redox | E° (EPH) / Volt, 25°C |
|---|------------------------------|
| $F_2 + 2e^- \rightarrow 2F^-$ | 2,87 |
| $\bullet OH + H^+ + e^- \rightarrow H_2O$ | 2,33 |
| $O_3 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow O_2 + H_2O$ | 2,07 |
| $H_2O_2 + H^+ + 2e^- \rightarrow H_3O_2^+$ | 1,76 |
| $MnO_4^- + 4H^+ + 3e^- \rightarrow MnO_2 + 2H_2O$ | 1,68 |
| $HClO_2 + 3H^+ + 4e^- \rightarrow Cl^- + 2H_2O$ | 1,57 |
| $MnO_4^- + 8H^+ + 5e^- \rightarrow Mn^{2+} + 4H_2O$ | 1,49 |
| $HOCl + H^+ + 2e^- \rightarrow Cl^- + H_2O$ | 1,49 |
| $Cl_2 + 2e^- \rightarrow 2Cl^-$ | 1,36 |
| $HBrO + H^+ + 2e^- \rightarrow Br^- + H_2O$ | 1,33 |
| $O_3 + H_2O + 2e^- \rightarrow O_2 + 2OH^-$ | 1,24 |
| $ClO_{2(g)} + e^- \rightarrow ClO_2^-$ | 1,15 |
| $Br_2 + 2e^- \rightarrow 2Br^-$ | 1,07 |
| $HIO + H^+ + 2e^- \rightarrow I^- + H_2O$ | 0,99 |
| $ClO_{2(aq)} + e^- \rightarrow ClO_2^-$ | 0,95 |
| $ClO + H_2O + 2e^- \rightarrow Cl^- + 2OH^-$ | 0,90 |
| $H_2O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow 2H_2O$ | 0,87 |
| $ClO_2^- + 2H_2O + 4e^- \rightarrow Cl^- + 4OH^-$ | 0,78 |
| $BrO^- + H_2O + 2e^- \rightarrow Br^- + 2OH^-$ | 0,70 |
| $I_2 + 2e^- \rightarrow 2I^-$ | 0,54 |
| $I_3^- + 3e^- \rightarrow 3I^-$ | 0,53 |
| $IO^- + H_2O + 2e^- \rightarrow I^- + 2OH^-$ | 0,49 |

Os processos oxidativos avançados foram definidos por Glaze e colaboradores³⁸ como aqueles que geram radicais hidroxila em quantidade suficiente para afetar o tratamento de purificação da água. Muitos sistemas são classificados sob esta definição, Tabela 2.2. A maioria usa a combinação de fortes espécies oxidantes (O_3 e H_2O_2) com catalisadores (metais de transição ou fotocatalisadores) e/ou irradiação (p. ex.: ultravioleta (UV), ultra-som ou feixe de elétrons).

Tabela 2.2 - Exemplos de sistemas típicos baseados em POAs.

| Sistemas Homogêneos | | Sistemas Heterogêneos | |
|---------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|
| Com Irradiação | Sem Irradiação | Com Irradiação | Sem Irradiação |
| H_2O_2/UV | H_2O_2/Fe^{2+} (Fenton) | TiO_2/UV | Eletro-Fenton |
| O_3/UV | O_3 | $TiO_2/H_2O_2/UV$ | |
| Feixe de elétrons | O_3/HO^- | | |
| Ultra-som (US) | O_3/H_2O_2 | | |
| H_2O_2/US | | | |
| UV/US | | | |

Os radicais hidroxila são espécies extremamente reativas, podendo reagir com a maioria das substâncias orgânicas com uma constante de velocidade na ordem de 10^6 a 10^9 $L.mol^{-1}.s^{-1}$.³⁹ Dependendo da natureza da espécie orgânica, três tipos de mecanismos podem ocorrer durante este ataque :



O ataque do radical hidroxila inicia complexas reações em cascata que podem levar a mineralização do composto orgânico. As rotas exatas para estas reações não estão completamente claras. Por exemplo, compostos clorados são primeiramente oxidados a intermediários (aldeídos ou ácidos carboxílicos) e finalmente a CO_2 , H_2O e cloretos, enquanto compostos orgânicos nitrogenados normalmente se oxidam gerando nitratos ou N_2 . Como

regra geral, se observa que compostos insaturados reagem mais facilmente do que compostos saturados, tais como alcanos.⁴⁰

O tratamento de poluentes por oxidação química é uma forma de transformar as substâncias ambientalmente indesejáveis em outras menos tóxicas. Os sistemas baseados em POAs podem ser utilizados para a destruição oxidativa de poluentes orgânicos (p. ex.: herbicidas, fungicidas e fármacos) e inorgânicos (p. ex.: SO_3^- , HS^- , PO_3^- e NH_4^+). Já existem sistemas disponíveis em escala comercial como, por exemplo, Rayox® $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ (Calgon Carbon Corporation), Zentox TiO_2/UV (Zentox Corporation), WEDECO $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e O_3/UV (WEDECO – Verfahrenstechnik). Instalações em escala piloto e de processo já se encontram em funcionamento. Por exemplo, a companhia Chemviron Carbon (EUA) listava, em 2001, cerca de 50 instalações que utilizam os sistemas UV, $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ou $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ para tratar uma variedade de contaminantes em águas residuárias, subterrâneas e potáveis.⁴¹

Os sistemas utilizados como POAs nos trabalhos experimentais descritos nesta tese serão abordados com maior ênfase nos itens abaixo.

Sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$

O peróxido de hidrogênio e a radiação UV podem ser usados, individualmente, como agentes oxidantes. O H_2O_2 é utilizado em diversos processos como, por exemplo, no branqueamento de papel, na indústria petroquímica, na produção de água potável, entre outras. A radiação UV pode ser usada para provocar a fotólise de espécies orgânicas. A faixa de comprimento de onda de 200-290 nm corresponde à faixa mais energética do espectro UV, sendo utilizada como agente bactericida em muitos tratamentos de água (lâmpada germicida, 254 nm, por exemplo). No entanto, a combinação do H_2O_2 com UV em um único sistema torna-o muito mais eficiente em relação à degradação do substrato, do que uso de cada um separadamente. Isto se deve ao aumento da geração de radicais livres no meio. A clivagem homolítica do H_2O_2 por UV gera radicais hidroxila de acordo com a reação:



Uma vez que H_2O_2 pode ser atacado por radicais hidroxila, outros tipos de radicais podem ser formados⁴², além da recombinação dos mesmos:



Como fonte de irradiação pode-se usar lâmpadas de mercúrio de baixa pressão, com pico de emissão em 254 nm. No entanto, estas não são as fontes de melhor escolha, uma vez que a absorvidade molar neste comprimento de onda é baixa ($19,6 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$).⁴³ Com o uso deste tipo de fonte, altas concentrações de H_2O_2 serão necessárias para gerar radicais hidroxila em quantidade suficiente para degradar os substratos. No entanto, concentrações muito altas de H_2O_2 podem tornar o processo menos efetivo devido ao seqüestro dos radicais hidroxila (Equação 2.6). Outras fontes de irradiação mais potentes têm sido utilizadas como, por exemplo, as lâmpadas de mercúrio de média pressão e as de xenônio.

A aplicação deste sistema pode ser apreciado em diversos trabalhos, como por exemplo na degradação de corantes,^{44,45} tratamento de esgoto doméstico,⁴⁶ degradação de fármacos^{47,48,49} e herbicidas,⁵⁰ entre outros.

Sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{+2}$ (Reagente de Fenton)

A capacidade oxidante da mistura de H_2O_2 com sais de Fe^{2+} foi inicialmente observada por Fenton no final do século XIX.⁵¹ Após 40 anos, foi proposto que o radical hidroxila é a espécie oxidante neste sistema⁵², sendo capaz de oxidar várias classes de compostos orgânicos em uma reação espontânea:



O radical hidroxila formado pode oxidar outro íon Fe^{2+} , na ausência de substrato:



A estequiometria da reação (adicionando prótons para formação da água) é dada por:



Assim, nota-se, a partir da Equação 2.10, que este sistema é fortemente dependente do pH do meio. Os íons férricos formados na reação podem também decompor cataliticamente o H_2O_2 gerando H_2O , O_2 e também outras espécies oxidantes.⁴²



Como pode ser observado na Equação 2.6, o H_2O_2 pode atuar como seqüestrador de radical hidroxila formando o radical hidroperoxila (HO_2^\bullet), que devido ao seu menor potencial de redução em relação $^\bullet\text{OH}$, prejudica o processo de degradação. Isto ocorre na presença de excesso de H_2O_2 , onde a concentração de Fe^{2+} no meio será baixa em relação à de Fe^{3+} , uma vez que a reação entre H_2O_2 e Fe^{3+} (Equação 2.11) ocorre mais lentamente que a decomposição de H_2O_2 na presença de Fe^{2+} (Equação 2.8). Um excesso de íons Fe^{2+} pode também provocar uma considerável perda de radicais hidroxila (via Equação 2.9), reduzindo a eficiência do processo de degradação.⁵³

O radical hidroxila é, geralmente, aceito como a espécie que dá início à oxidação dos substratos no sistema Fenton; no entanto, alguns estudos sugerem que outras espécies oxidantes, tais como intermediários de ferro de alta valência como FeO^{3+} (Fe^{5+}) e íons ferril FeO^{2+} (Fe^{4+}), também atuam durante o processo de oxidação.^{54,55}

Devido a características como a realização da reação à temperatura e pressão ambientes, não há necessidade de reagentes ou equipamentos especiais e pode ser aplicado a uma grande variedade de alvos. Assim, um grande número de trabalhos tem demonstrado a aplicabilidade deste sistema como, por exemplo, na degradação de fenóis e clorofenóis⁵⁶, no tratamento de chorume⁵⁷, entre outras diversas aplicações.⁵⁸

Sistema TiO₂/UV

No sistema constituído pela interação de TiO₂ com a radiação UV ocorre um processo denominado oxidação fotocatalítica. Neste tipo de processo, um material semicondutor (TiO₂, CdS, ZnO, etc) em solução aquosa absorve radiação eletromagnética com energia suficiente para superar o *band-gap* e, assim, produzir elétrons na banda de condução (e_{BC}) e lacunas na banda de valência (h^+_{BV}). Dessa forma, o processo se inicia com a formação do par elétron-lacuna:



Estes elétrons podem reduzir oxigênio dissolvido gerando íon radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) e as lacunas, por sua vez, são capazes de oxidar H₂O ou HO⁻, produzindo os radicais hidroxila:



Estas reações são importantes devido à elevada concentração de H₂O ou HO⁻ adsorvidos na superfície do catalisador.

O substrato pode ser oxidado através de reações com os radicais hidroxila e também quando se encontrar adsorvido na superfície do catalisador, através de reações de transferência de elétrons:



Reações de recombinação entre o elétron e a lacuna também podem ocorrer, diminuindo a eficiência do processo.

Entre os semicondutores que têm sido utilizados em aplicações ambientais, o TiO₂ é geralmente preferido devido ao seu alto nível de fotossensibilidade, disponibilidade, baixa toxicidade, elevada estabilidade química e baixo custo. A atividade fotocatalítica e o mecanismo de reação do TiO₂ são influenciados pela estrutura, defeitos e impurezas, morfologia da superfície e interface, entre outros fatores. As formas cristalinas do TiO₂ são

rutilo, anatásio e brookita. Muitos pesquisadores argumentam que a forma anatásio é a mais fotoativa e, em consequência disto, é a forma preferencialmente usada.⁵⁹ O TiO_2 pode ser ativado por radiação UV até 387,5 nm, o que permite o uso de radiação solar como fonte de excitação. Entre exemplos da aplicação deste sistema oxidativo encontram-se: desinfecção de alimentos⁶⁰, degradação de haletos orgânicos⁶¹, descoloração de efluentes industriais⁶², etc.

Ozonização

O ozônio (O_3) é um gás incolor, altamente corrosivo, tóxico e de odor pungente. É um poderoso agente oxidante que foi usado no tratamento de água pela primeira vez em 1893 na Holanda e é ainda um tratamento freqüentemente utilizado na Europa e nos Estados Unidos.⁶³ Devido a sua instabilidade, o ozônio deve ser gerado *in situ*. Os processos utilizados para geração são descarga por efeito corona, irradiação de O_2 com UV e reação eletrolítica.

Os trabalhos de Hoigné e Bader⁶⁴ e de Glaze e colaboradores³⁸ propõem que o ozônio seja decomposto espontaneamente, durante o tratamento de água, por um complexo mecanismo que envolve a geração de radicais hidroxila com velocidades da ordem de 10^{10} - 10^{13} $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$. Assim, durante o processo de ozonização em solução aquosa, a oxidação pode ocorrer por meio de dois mecanismos: (i) via direta, onde ocorre a oxidação direta do substrato pelo ozônio molecular ($\text{O}_{3(\text{aq})}$) e (ii) via indireta, onde a oxidação do substrato é feita por radicais hidroxila produzidos durante a decomposição do O_3 . Estes dois caminhos competem pelo substrato, sendo a oxidação direta mais lenta do que a indireta. Por outro lado, a concentração de O_3 é relativamente mais alta do que a de radical hidroxila. Segundo Hoigné e Bader⁶⁴, sob condições ácidas a via de oxidação por O_3 é a preferencial e sob condições que favoreçam a formação de radicais livres, tais como irradiação com UV, adição de H_2O_2 e elevação do pH, a via indireta será favorecida.

A aplicação do ozônio no tratamento de efluentes é bastante difundida tanto para desinfecção quanto para oxidação como, por exemplo, no controle de odor e sabor, descoloração, eliminação de micro poluentes, etc.^{65,66}

Monitoramento dos Processos Oxidativos Avançados

O objetivo das reações de degradação não é apenas promover o desaparecimento dos substratos, mas sim alcançar a oxidação completa a CO₂ e H₂O (mineralização), para que seja assegurado que tanto os substratos quanto os produtos originados neste processo tenham sido degradados. No entanto, a mineralização pode não ser completamente alcançada na maior parte dos tratamentos.⁶⁷ Isto torna necessária a realização de um monitoramento mais adequado dos processos.

A eficiência dos processos oxidativos pode ser monitorada com auxílio de várias análises, por exemplo, medidas da demanda química e demanda bioquímica de oxigênio (DQO e DBO), que medem o oxigênio necessário para oxidar a matéria orgânica e inorgânica contida na amostra, ou carbono orgânico total (COT), que informa o grau de mineralização ocorrido. Os ensaios de toxicidade podem ser feitos com organismos (p. ex.: *Daphnia magna*, *Selenastrum capricornotum*, *Vibrio fischeri*, Microtox®, etc)⁶⁸ para medir a eficiência do processo em relação aos efeitos nocivos que podem ser causados pelas substâncias remanescentes ou formadas durante o processo.⁶⁷ As análises para caracterização das substâncias formadas no processo podem ser feitas com o uso de técnicas de análise, tais como espectroscopia no infravermelho, espectrofotometria ultra-violeta visível e espectrometria de massas, que também podem ser acopladas a técnicas de separação como cromatografias a gás e líquida de alta eficiência.

O volume de trabalhos envolvendo a determinação de espécies, no caso de não ocorrer uma completa mineralização dos substratos, pelos processos oxidativos avançados não é muito amplo. Isto se torna mais crítico quando os substratos são poluentes emergentes (substâncias que não eram previamente reconhecidas como poluentes, por exemplo, os aditivos de gasolina, surfactantes e produtos farmacêuticos).^{69,70} Além disso, para muitos sistemas não existe uma adequada descrição sobre os mecanismos químicos envolvidos⁷¹, principalmente para sistemas oxidativos com novas configurações^{72,73,74} e na avaliação de substratos não prioritários como fármacos e surfactantes,⁷⁵ por exemplo. Assim sendo, tais questões vem despertando o interesse por este tipo de tema, como pode ser observado em recentes publicações^{76,77,78}, incluindo às originadas dos trabalhos descritos nesta tese.^{79,80,81,82}

2.5 Referências Bibliográficas

- 1 - Hoffman, E. e V. Stroobant. **Mass Spectrometry: Principles and Applications**. Chichester: John Wiley & Sons. 2002. 407 p.
- 2 - Dole, M., L. L. Mack, *et al.* Molecular Beams of Macroions. **Journal of Chemical Physics**, v.49, n.5, p.2240-2249. 1968.
- 3 - Yamashita, M. e J. B. Fenn. Electrospray Ion-Source - Another Variation on the Free-Jet Theme. **Journal of Physical Chemistry**, v.88, n.20, p.4451-4459. 1984.
- 4 - Aleksandrov, M. L. G., L. N.; Krasnov, *et al.* Ion extraction from solutions at atmospheric pressure - a method for mass-spectrometric analysis of bioorganic substances. **Doklady Akademii Nauk SSSR**, v.277, n.2, p.379-83. 1984.
- 5 - Kebarle, P. e L. Tang. From Ions in Solution to Ions in the Gas-Phase - the Mechanism of Electrospray Mass-Spectrometry. **Analytical Chemistry**, v.65, n.22, p.A972-A986. 1993.
- 6 - Wilm, M. S. e M. Mann. Electrospray and Taylor-Cone Theory, Doles Beam of Macromolecules at Last. **International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes**, v.136, n.2-3, p.167-180. 1994.
- 7 - Mack, L. L., P. Kralik, *et al.* Molecular Beams of Macroions 2. **Journal of Chemical Physics**, v.52, n.10, p.4977-4986. 1970.
- 8 - Iribarne, J. V. e B. A. Thomson. Evaporation of Small Ions from Charged Droplets. **Journal of Chemical Physics**, v.64, n.6, p.2287-2294. 1976.
- 9 - Thomson, B. A. e J. V. Iribarne. Field-Induced Ion Evaporation from Liquid Surfaces at Atmospheric-Pressure. **Journal of Chemical Physics**, v.71, n.11, p.4451-4463. 1979.
- 10 - Vanberkel, G. J. e F. M. Zhou. Characterization of an Electrospray Ion-Source as a Controlled-Current Electrolytic Cell. **Analytical Chemistry**, v.67, n.17, p.2916-2923. 1995.
- 11 - De La Mora, J. F., G. J. Van Berkel, *et al.* Electrochemical processes in electrospray ionization mass spectrometry - Discussion. **Journal of Mass Spectrometry**, v.35, n.8, p.939-952. 2000.
- 12 - Kebarle, P. e Ho, Y. In: R.B. Cole (Ed.). **Electrospray Ionization Mass Spectrometry**. New York: Wiley & Sons. 1997
- 13 - Gianelli, L., V. Amendola, *et al.* Investigation of reduction of Cu(II) complexes in positive-ion mode electrospray mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v.15, n.23, p.2347-2353. 2001.
- 14 - Wilson, S. R., J. Perez, *et al.* ESI-MS Detection of Ionic Intermediates in Phosphine-Mediated Reactions. **Journal of the American Chemical Society**, v.115, n.5, p.1994-1997. 1993.
- 15 - Lee, E. D., W. Muck, *et al.* Real-Time Reaction Monitoring by Continuous-Introduction Ion-Spray Tandem Mass-Spectrometry. **Journal of the American Chemical Society**, v.111, n.13, p.4600-4604. 1989.

- 16 - Zaia, J., D. Fabris, *et al.* Monitoring metal ion flux in reactions of metallothionein and drug-modified metallothionein by electrospray mass spectrometry. **Protein Science**, v.7, n.11, p.2398-2404. 1998.
- 17 - Meyer, S. e J. O. Metzger. Use of electrospray ionization mass spectrometry for the investigation of radical cation chain reactions in solution: detection of transient radical cations. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.377, n.7-8, p.1108-1114. 2003.
- 18 - Wilson, D. J. e L. Konermann. A capillary mixer with adjustable reaction chamber volume for millisecond time-resolved studies by electrospray mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v.75, n.23, p.6408-6414. 2003.
- 19 - Brum, J. e P. Dell'orco. On-line mass spectrometry: Real-time monitoring and kinetics analysis for the photolysis of idoxifene. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v.12, n.11, p.741-745. 1998.
- 20 - Modestov, A. D., J. Gun, *et al.* On-line electrochemical-mass spectrometry study of the mechanism of oxidation of N,N-dimethyl-p-phenylenediamine in aqueous electrolytes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v.565, n.1, p.7-19. 2004.
- 21 - Espenson, J. H., H. S. Tan, *et al.* Base hydrolysis of methyltrioxorhenium. The mechanism revised and extended: A novel application of electrospray mass spectrometry. **Inorganic Chemistry**, v.37, n.18, p.4621-4624. 1998.
- 22 - Brum, J., P. Dell'orco, *et al.* Monitoring organic reactions with on-line atmospheric pressure ionization mass spectrometry: the hydrolysis of isatin. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v.15, n.17, p.1548-1553. 2001.
- 23 - Bothner, B., R. Chavez, *et al.* Monitoring enzyme catalysis with mass spectrometry. **Journal of Biological Chemistry**, v.275, n.18, p.13455-13459. 2000.
- 24 - Kolakowski, B. M. e L. Konermann. From small-molecule reactions to protein folding: Studying biochemical kinetics by stopped-flow electrospray mass spectrometry. **Analytical Biochemistry**, v.292, n.1, p.107-114. 2001.
- 25 - Cottee, F., N. Haskins, *et al.* The use of accurate mass measurement by orthogonal time-of-flight mass spectrometry in pharmaceuticals research. **European Journal of Mass Spectrometry**, v.6, n.2, p.219-224. 2000.
- 26 - Bristow, A. W. T. e K. S. Webb. Intercomparison study on accurate mass measurement of small molecules in mass spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v.14, n.10, p.1086-1098. 2003.
- 27 - Bristow, A. W. T. Accurate mass measurement for the determination of elemental formula - A tutorial. **Mass Spectrometry Reviews**, v.25, n.1, p.99-111. 2006.
- 28 - Shukla, A. K. e J. H. Futrell. Tandem mass spectrometry: dissociation of ions by collisional activation. **Journal of Mass Spectrometry**, v.35, n.9, p.1069-1090. 2000.
- 29 - Charbonniere, L. J., A. F. Williams, *et al.* A comparison of the lability of mononuclear octahedral and dinuclear triple-helical complexes of cobalt(II). **Journal of the American Chemical Society**, v.119, n.10, p.2488-2496. 1997.

- 30 - Campos, S. X., E. M. Vieira, *et al.* Degradation of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) dimethylamine salt by gamma radiation from cobalt-60 in aqueous solution containing humic acid. **Radiation Physics and Chemistry**, v.68, n.5, p.781-786. 2003.
- 31 - Hellman, H., R. S. Laitinen, *et al.* Identification of hydrolysis products of FeCl₃.6H₂O by ESI-MS. **Journal of Mass Spectrometry**, v.41, n.11, p.1421-1429. 2006.
- 32 - Domingues, M. R. M., P. Domingues, *et al.* Identification of oxidation products and free radicals of tryptophan by mass spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v.14, n.4, p.406-416. 2003.
- 33 - Sabino, A. A., A. H. L. Machado, *et al.* Probing the mechanism of the heck reaction with arene diazonium salts by electrospray mass and tandem mass spectrometry. **Angewandte Chemie-International Edition**, v.43, n.34, p.4389-4389. 2004.
- 34 - Zhang, X., Y. X. Liao, *et al.* Investigation of radical cation in electrophilic fluorination by ESI-MS. **Organic Letters**, v.7, n.18, p.3877-3880. 2005.
- 35 - Gogate, P. R. e A. B. Pandit. A review of imperative technologies for wastewater treatment I: oxidation technologies at ambient conditions. **Advances in Environmental Research**, v.8, n.3-4, p.501-551. 2004.
- 36 - Gogate, P. R. e A. B. Pandit. A review of imperative technologies for wastewater treatment II: hybrid methods. **Advances in Environmental Research**, v.8, n.3-4, p.553-597. 2004.
- 37 - Crc. **Handbook of Chemistry and Physics**. In: (Ed.). Cleveland, OH: CRC Press Inc., 1975. Handbook of Chemistry and Physics, p.141-143
- 38 - Glaze, W. H., J. W. Kang, *et al.* The Chemistry of Water-Treatment Processes Involving Ozone, Hydrogen-Peroxide and Ultraviolet-Radiation. **Ozone-Science & Engineering**, v.9, n.4, p.335-352. 1987.
- 39 - Hoigne, J. e H. Bader. Rate Constants of Reactions of Ozone with Organic and Inorganic-Compounds in Water .2. Dissociating Organic-Compounds. **Water Research**, v.17, n.2, p.185-194. 1983.
- 40 - Farhataziz, P. C. e A. B. Ross. **NSRDS-NBS59**. National Bureau of Standars. Washington, D.C., p.113. 1977
- 41 - Munter, R. Advanced oxidation processes – current status and prospects. **Proceedings of the Estonian Academy of Sciences Chemistry**, v.50, n.2, p.59-80. 2001.
- 42 - Nogueira, R. F. P., A. G. Trovó, *et al.* Fundaments and environmental applications of Fenton and photo-Fenton processes. **Química Nova**, v.30, n.2. 2007.
- 43 - Baxendale, J. H. e J. A. Wilson. The Photolysis of Hydrogen Peroxide at High Light Intensities. **Transactions of the Faraday Society**, v.53, n.3, p.344-356. 1957.
- 44 - Rodriguez, E., R. Peche, *et al.* Decoloring of aqueous solutions of indigocarmine dye in an acid medium by H₂O₂/UV advanced oxidation. **Environmental Engineering Science**, v.24, n.3, p.363-371. 2007.
- 45 - Schrank, S. G., J. N. R. Dos Santos, *et al.* Decolourisation effects of Vat Green 01 textile dye and textile wastewater using H₂O₂/UVprocess. **Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry**, v.186, n.2-3, p.125-129. 2007.

- 46 - Yonar, T., K. Kestioglu, *et al.* Treatability studies on domestic wastewater using UV/H₂O₂ process. **Applied Catalysis B-Environmental**, v.67, n.3-4, p.223-228. 2006.
- 47 - Andreozzi, R., V. Caprio, *et al.* Ozonation and H₂O₂/UV treatment of clofibric acid in water: a kinetic investigation. **Journal of Hazardous Materials**, v.103, n.3, p.233-246. 2003.
- 48 - Andreozzi, R., V. Caprio, *et al.* Paracetamol oxidation from aqueous solutions by means of ozonation and H₂O₂/UV system. **Water Research**, v.37, n.5, p.993-1004. 2003.
- 49 - Vogna, D., R. Marotta, *et al.* Kinetic and chemical assessment of the UV/H₂O₂ treatment of antiepileptic drug carbamazepine. **Chemosphere**, v.54, n.4, p.497-505. 2004.
- 50 - Chu, W. Modeling the quantum yields of herbicide 2,4-D decay in UV/H₂O₂ process. **Chemosphere**, v.44, n.5, p.935-941. 2001.
- 51 - Fenton, H. J. H. Oxidation of tartaric acid in the presence of iron. **Journal of the Chemical Society, Transactions**, v.65, p.899-910. 1894.
- 52 - Haber, F. e J. Weiss. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. **Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences**, v.147, n.861, p.332-351. 1934.
- 53 - Huang, C. P., C. Dong, *et al.* Advanced Chemical Oxidation: Its Present Role and Potential Future in Hazardous Waste Treatment. **Waste Management**, v.13, p.361-377. 1993.
- 54 - Sawyer, D. T., A. Sobkowiak, *et al.* Metal [ML(x); M=Fe, Cu, Co, Mn]/hydroperoxide-induced activation of dioxygen for the oxygenation of hydrocarbons: Oxygenated Fenton chemistry. **Accounts of Chemical Research**, v.29, n.9, p.409-416. 1996.
- 55 - Bossmann, S. H., E. Oliveros, *et al.* New evidence against hydroxyl radicals as reactive intermediates in the thermal and photochemically enhanced Fenton reactions. **Journal of Physical Chemistry A**, v.102, n.28, p.5542-5550. 1998.
- 56 - De, A. K., B. K. Dutta, *et al.* Reaction kinetics for the degradation of phenol and chlorinated phenols using Fenton's reagent. **Environmental Progress**, v.25, n.1, p.64-71. 2006.
- 57 - Deng, Y. e J. D. Englehardt. Treatment of landfill leachate by the Fenton process. **Water Research**, v.40, n.20, p.3683-3694. 2006.
- 58 - Pignatello, J. J., E. Oliveros, *et al.* Advanced oxidation processes for organic contaminant destruction based on the Fenton reaction and related chemistry (vol 36, pg 1, 2006). **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v.37, n.3, p.273-275. 2007.
- 59 - Ziolli, R. L. e W. F. Jardim. Mechanism reactions of photodegradation of organic compounds catalyzed by TiO₂. **Quimica Nova**, v.21, n.3, p.319-325. 1998.
- 60 - Cho, M., Y. Choi, *et al.* Titanium dioxide/UV photocatalytic disinfection in fresh carrots. **Journal of Food Protection**, v.70, n.1, p.97-101. 2007.
- 61 - Lin, C. e K. S. Lin. Photocatalytic oxidation of toxic organohalides with TiO₂/UV: The effects of humic substances and organic mixtures. **Chemosphere**, v.66, n.10, p.1872-1877. 2007.
- 62 - Wu, C. H. e J. M. Chern. Kinetics of photocatalytic decomposition of methylene blue. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v.45, n.19, p.6450-6457. 2006.

- 63 - Langlais, B., D. A. Reckhow, *et al.*, Eds. **Ozone in Drinking Water Treatment: Application and Engineering**. Boca Raton, FL: AWWARF and Lewis Publishers. 1991.
- 64 - Hoigne, J. e H. Bader. Role of Hydroxyl Radical Reactions in Ozonation Processes in Aqueous-Solutions. **Water Research**, v.10, n.5, p.377-386. 1976.
- 65 - Von Gunten, U. Ozonation of drinking water: Part II. Disinfection and by-product formation in presence of bromide, iodide or chlorine. **Water Research**, v.37, n.7, p.1469-1487. 2003.
- 66 - Von Gunten, U. Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. **Water Research**, v.37, n.7, p.1443-1467. 2003.
- 67 - Fernandez-Alba, A. R., D. Hernando, *et al.* Toxicity assays: a way for evaluating AOPs efficiency. **Water Research**, v.36, n.17, p.4255-4262. 2002.
- 68 - Munkittrick, K. R., E. A. Power, *et al.* The Relative Sensitivity of Microtox Daphnid, Rainbow-Trout, and Fathead Minnow Acute Lethality Tests. **Environmental Toxicology and Water Quality**, v.6, n.1, p.35-62. 1991.
- 69 - Richardson, S. D. e T. A. Ternes. Water analysis: Emerging contaminants and current issues. **Analytical Chemistry**, v.77, n.12, p.3807-3838. 2005.
- 70 - Ikehata, K., N. J. Naghashkar, *et al.* Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation processes: A review. **Ozone-Science & Engineering**, v.28, n.6, p.353-414. 2006.
- 71 - Burrows, H. D., M. Canle, *et al.* Reaction pathways and mechanisms of photodegradation of pesticides. **Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology**, v.67, n.2, p.71-108. 2002.
- 72 - Sanchez, I., F. Stueber, *et al.* Elimination of phenol and aromatic compounds by zero valent iron and EDTA at low temperature and atmospheric pressure. **Chemosphere**, v.68, n.2, p.338-344. 2007.
- 73 - Hung, S. J., S. Balaji, *et al.* Preliminary studies using hybrid mediated electrochemical oxidation (HMEO) for the removal of persistent organic pollutants (POPs). **Water Science and Technology**, v.55, n.1-2, p.261-266. 2007.
- 74 - Oliveira, L. C. A., M. Goncalves, *et al.* A new catalyst material based on niobia/iron oxide composite on the oxidation of organic contaminants in water via heterogeneous Fenton mechanisms. **Applied Catalysis a-General**, v.316, n.1, p.117-124. 2007.
- 75 - Zwiener, C. Occurrence and analysis of pharmaceuticals and their transformation products in drinking water treatment. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.387, n.4, p.1159-1162. 2007.
- 76 - Mascolo, G., A. Lopez, *et al.* Ion chromatography-electrospray mass spectrometry for the identification of low-molecular-weight organic acids during the 2,4-dichlorophenol degradation. **Journal of Chromatography A**, v.1067, n.1-2, p.191-196. 2005.
- 77 - Konstantinou, I. K. e T. A. Albanis. Photocatalytic transformation of pesticides in aqueous titanium dioxide suspensions using artificial and solar light: intermediates and degradation pathways. **Applied Catalysis B-Environmental**, v.42, n.4, p.319-335. 2003.
- 78 - Kralj, A. B., M. Franko, *et al.* Photodegradation of organophosphorus insecticides - Investigations of products and their toxicity using gas chromatography-mass spectrometry and AChE-thermal lens spectrometric bioassay. **Chemosphere**, v.67, n.1, p.99-107. 2007.

79 - Dalmazio, I., L. S. Santos, *et al.* Advanced oxidation of caffeine in water: On-line and real-time monitoring by electrospray ionization mass spectrometry. **Environmental Science & Technology**, v.39, n.16, p.5982-5988. 2005.

80 - Moura, F. C. C., M. H. Araujo, *et al.* Investigation of reaction mechanisms by electrospray ionization mass spectrometry: characterization of intermediates in the degradation of phenol by a novel iron/magnetite/hydrogen peroxide heterogeneous oxidation system. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v.20, n.12, p.1859-1863. 2006.

81 - Santos, L. S., I. Dalmázio, *et al.* Mimicking the atmospheric OH-radical-mediated photooxidation of isoprene: formation of cloud-condensation nuclei polyols monitored by electrospray ionization mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v.20, n.14, p.2104-2108. 2006.

82 - Dalmázio, I., M. O. Almeida, *et al.* Monitoring the Degradation of Tetracycline by Ozone in Aqueous Medium Via Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v.18, n.4, p.679-687. 2007.

CAPÍTULO 3 MÉTODOS DE ANÁLISE

3.1 Técnicas e Condições de Análise

Uma breve descrição das técnicas e as respectivas condições de análise, que foram utilizadas no desenvolvimento desta tese, são apresentadas abaixo.

Espectrofotometria no Ultravioleta e Visível

A espectrofotometria na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) é uma técnica analítica que se baseia na absorção da radiação nesta faixa de energia por substâncias que possuem elétrons excitáveis como, por exemplo, alquenos, aromáticos, etc. Os fundamentos desta técnica são encontrados em Frost e colaboradores.¹

Os espectros UV-Vis foram obtidos utilizando o instrumento Cary 50 Conc (Varian, Austrália) equipado com uma célula de quartzo (1 cm de caminho ótico). As medidas de absorbância foram realizadas com correção da linha base, taxa de varredura a 300 nm.min⁻¹ e intervalo de pontos de 0,5 nm.

Análise de Carbono Orgânico Total

A análise de carbono orgânico total (COT) baseia-se na determinação de CO₂ produzido pela degradação da matéria orgânica presente na amostra, por um sistema oxidativo. O detector de CO₂ mais frequentemente usado é o de infravermelho (IV), mas outros têm sido empregados (condutivímetro, eletrodo de CO₂, etc). A descrição desta técnica e da sua importância em análises ambientais é encontrada nas revisões feitas por Visco e colaboradores² e por Bisutti e colaboradores.³

As análises para obtenção da concentração de carbono orgânico total foram conduzidas no instrumento TOC 5000A (Shimadzu, Japão) utilizando, como sistema oxidativo, a combustão catalisada (catalisador de Pt) a 680°C e detecção por IV.

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

A cromatografia é uma técnica de separação físico-química fundamentada na migração diferencial das substâncias presentes em uma mistura devido a interações com duas fases imiscíveis, a fase móvel e a fase estacionária.⁴ Esta é uma técnica versátil e com grande faixa de aplicação, já que diferentes combinações entre as fases móvel e estacionária podem ser feitas. Desse modo, na Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*) a fase móvel é um líquido bombeado com elevada pressão e a fase estacionária é um sólido (p. ex: octadecilsilano – C18). Os fundamentos e o desenvolvimento de métodos para o uso desta técnica são encontrados em Snyder e colaboradores.⁵

As análises foram conduzidas no instrumento SPD-10A (Shimadzu, Japão) e as condições experimentais são descritas como:

Método 1a: coluna utilizada, ODS Hypersil (250 × 4,6 mm; 5µm), eluição isocrática com MeOH:H₂O/3:7, fluxo 1,0 mL.min⁻¹, volume de injeção 20 µL e detecção no UV em $\lambda = 215$ e 274 nm.

Método 1b: coluna LC-18 Supelcosil (250 × 4,6 mm; 5µm), eluição isocrática com MeOH:H₂O/1:9, fluxo 1,0 mL.min⁻¹, volume de injeção 20 µL e detecção no UV em $\lambda = 215$ e 274 nm.

Método 1c: foram empregadas as mesmas condições do método 1b, exceto pelo fluxo que foi de 1,2 mL.min⁻¹.

Método 2: coluna utilizada, ODS Hypersil (250 × 4,6 mm; 5µm), eluição isocrática com acetonitrila:solução aquosa de ácido oxálico (0,01 mol.L⁻¹)/1:1, fluxo 1,0 mL.min⁻¹, volume de injeção 20 µL e detecção no UV em $\lambda = 275$ e 350 nm.

Espectrometria de Massas com Ionização por Electrospray

Os fundamentos da ESI-MS foram descritos no Capítulo 2. A abordagem desta técnica, com maior profundidade, encontra-se no livro editado por Cole.⁶ Os tipos de analisadores de massas e as condições experimentais usadas são descritos abaixo:

Método 1a: as análises foram conduzidas em um espectrômetro de massas da alta resolução composto por um arranjo híbrido de um duplo quadrupolo (Qq) ortogonal a um analisador por tempo de voo (TOF - *Time-of-flight*) (Q-Tof, Micromass, Reino Unido). A fonte de electrospray foi operada no modo positivo, com fluxo de gás (N₂) constante a 0,25 L.min⁻¹ e temperatura de nebulização a 50°C. As tensões utilizadas no capilar, cone de amostragem e cone de extração foram 3.000, 40 e 10 V, respectivamente. A faixa de m/z analisada foi de 50-1000. As amostras foram introduzidas diretamente na fonte ESI através do bombeamento de uma seringa com um fluxo constante de 10 µL.min⁻¹. Neste instrumento, os experimentos de MS/MS são feitos através da seleção do íon de interesse, no quadrupolo Q. O íon de interesse é dissociado na câmara de colisão (q2), após colidir com o argônio (*collision induced dissociation* – CID). Os íons produzidos neste processo são analisados no analisador de massas TOF.

Método 1b: foram empregadas as mesmas condições do método 1a, exceto pelo uso do modo negativo na fonte electrospray.

Método 2a: as análises foram conduzidas em um espectrômetro de massas composto por um quadrupolo do tipo armadilha de íons (*Ion Trap*) (LCQ Advantage MS, Thermo Finnigan, EUA). A fonte de electrospray foi operada no modo positivo, com fluxo de gás (N₂) a 0,30 L.min⁻¹ e temperatura do capilar de transferência iônica a 200°C. As tensões aplicadas no spray, no capilar de transferência iônica e no tubo de lentes foram 4.500, 25 e 25 V, respectivamente. A faixa de m/z analisada foi de 50-2000. As amostras foram introduzidas diretamente na fonte ESI através do bombeamento de uma seringa com um fluxo constante de 5 µL.min⁻¹. Neste instrumento, os experimentos MSⁿ são feitos através da aplicação de vários tipos de voltagens de corrente alternada nos eletrodos do quadrupolo, para selecionar o íon de interesse, fragmentá-lo (CID) e ejetar os fragmentos de acordo com suas razões m/z . Neste processo, o movimento dos íons selecionados aumenta, colidem com o gás hélio

e, assim, aumentam sua energia interna provocando a dissociação em direção aos íons produto.

Método 2b: foram empregadas as mesmas condições do método 2a, exceto pelo uso do modo negativo na fonte electrospray, fluxo de gás (N_2) a $0,50 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ e temperatura do capilar a 150°C .

Método 2c: foram empregadas as mesmas condições do método 2a, exceto pelo uso do modo negativo na fonte electrospray.

Cromatografia a Gás Acoplada a Espectrometria de Massas

A cromatografia a gás (GC – *Gas Chromatography*) é uma técnica para separação e análise de misturas de substâncias voláteis. A amostra é vaporizada e introduzida por um fluxo de gás de arraste (fase móvel) que conduz a mistura através da coluna cromatográfica contendo a fase estacionária. Existe um grande número de fases estacionárias, que podem ser líquidas ou sólidas, disponíveis comercialmente, tendo como mais popular as baseadas em silicone (p. ex. polidimetilsiloxanas). Os fundamentos da cromatografia a gás são encontrados em Ciola e colaboradores⁷ e para a cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (GC-MS – *Gas Chromatography - Mass Spectrometry*) encontram-se em Kitson e colaboradores.⁸

As análises por GC-MS foram conduzidas em um cromatógrafo a gás HP6890 acoplado a um espectrômetro de massas HP5989A, e utilizando uma coluna HP1 (100% dimetilpolisiloxano) $25 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm}$ (Hewlett-Packard, EUA). As amostras (100,0 mL) sofreram redução de volume no rotavapor a 50°C e pressão reduzida. Em seguida, foram adicionados 10 mL de MeOH e 1 g de Na_2SO_4 , para remoção de água. A suspensão foi filtrada e o resíduo foi lavado com seis porções de 5 mL de CH_2Cl_2 . O volume foi novamente reduzido ao volume final de 2,00 mL. Condições de análise no GC-MS: gás de arraste hélio ($1,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$), programação de aquecimento: 100°C , 3 min; $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; 280°C , 2 min; temperatura de injeção: 270°C , modo de injeção *splitless*, temperatura da fonte e detector

280°C, modo de ionização: ionização por elétrons (EI – *Electron Ionization*) a 70 eV, e volume de injeção: 1 µL.

Cromatografia Líquida Acoplada a Espectrometria de Massas com Fonte de Ionização Química à Pressão Atmosférica

A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas com fonte de ionização química à pressão atmosférica (LC-APCI-MS - *Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Chemical Ionization-Mass Spectrometry*) é uma técnica que permite a análise de substâncias com baixa a média polaridade, massa molecular relativamente baixa e com alguma volatilidade. Na fonte APCI, os íons são produzidos de acordo com as seguintes etapas:

- a) a solução da amostra é bombeada para a agulha do APCI, onde é transformada em um *spray*,
- b) as gotas são evaporadas em um tubo (vaporizador) com uma elevada temperatura (500°C),
- c) uma alta tensão é aplicada em uma agulha localizada perto da saída do vaporizador, para criar uma descarga que forma íons reagentes através de uma série de reações químicas com as moléculas do solvente e do gás de arraste (N₂),
- d) estes íons reagem com as moléculas do analito formando os íons do analito em fase gasosa,
- e) estes íons são dirigidos para a região de alto vácuo do analisador de massas e são separados de acordo com a *m/z*.

Uma abordagem desta técnica, com maior profundidade, pode ser encontrada em Niessen.⁹

As análises foram feitas utilizando o mesmo espectrômetro de massas descrito no ESI-MS (método 2). A fonte de APCI foi operada no modo positivo, voltagem de descarga a 3.000 V, corrente de descarga a 5 µA, voltagem do capilar a 4 V, temperatura do vaporizador a

450°C, temperatura do capilar a 150°C, com fluxo de gás (N₂) nebulizador e auxiliar a 0,90 e 0,22 L.min⁻¹, respectivamente. As amostras foram introduzidas na fonte APCI através de um cromatógrafo líquido, constituído por um injetor Rheodyne (*loop* com 20 µL) acoplado a coluna ODS Hypersil (250 × 4,6 mm; 5µm) e a uma bomba de pistão (Shimadzu 10AD). As condições cromatográficas foram: eluição isocrática com acetonitrila:solução aquosa de ácido oxálico (0,01 mol.L⁻¹)/6:4, fluxo 0,5 mL.min⁻¹ e volume de injeção 20 µL.

3.2 Referências Bibliográficas

- 1 - Frost, T., M. A. Russell, *et al.*, Eds. **UV Spectroscopy: Techniques, Instrumentation, Data Handling**. London, UK: Chapman &Hall, p.146ed. 1993.
- 2 - Visco, G., L. Campanella, *et al.* Organic carbons and TOC in waters: an overview of the international norm for its measurements. **Microchemical Journal**, v.79, n.1-2, p.185-191. 2005.
- 3 - Bisutti, I., I. Hilke, *et al.* Determination of total organic carbon - an overview of current methods. **TRAC Trends in Analytical Chemistry**, v.23, n.10-11, p.716-726. 2004.
- 4 - Collins, C. H., G. L. Braga, *et al.* **Introdução a Métodos Cromatográficos**. Campinas: UNICAMP. 1995. 279 p.
- 5 - Snyder, L. R., J. J. Kirkland, *et al.* **Practical HPLC Method Development**. New York, NY: Jhon Wiley & Sons, Inc. 1997
- 6 - Cole, R. B., Ed. **Electrospray Mass Spectrometry: fundamentals, instrumentation & applications**. New York, NY: John Wiley & Sonsed. 1997.
- 7 - Ciola, R. e I. C. C. G. **Fundamentos da cromatografia a gás**. São Paulo: E. Blucher: Instrumentos Científicos C. G. 1985. 266 p.
- 8 - Kitson, F. G., B. S. Larsen, *et al.* **Gas Chromatography and Mass Spectrometry: a practical guide**. San Diego: Academic Press. 1996. 369 p.
- 9 - Niessen, W. M. A. **Liquid Chromatography-Mass Spectrometry**. Boca Raton, FL: Taylor & Francis. 2006. 600 p.

CAPÍTULO 4 DEGRADAÇÃO DE FÁRMACOS

4.1 Fármacos no Meio Ambiente

O interesse por efeitos adversos causados pela influência do homem no meio ambiente tem aumentado continuamente. Estes efeitos possuem, muitas vezes, ligação direta com a produção, uso e disposição inadequada de inúmeros produtos químicos utilizados na indústria, agricultura, medicina humana e veterinária, e até mesmo com produtos de uso doméstico.

Durante algum tempo, a avaliação do impacto da poluição química considerava quase exclusivamente substâncias tidas como poluentes prioritários, tais como os agrotóxicos. Atualmente, outras classes de substâncias, tais como os aditivos de gasolina, surfactantes e produtos farmacêuticos têm despertado o interesse da comunidade científica devido a potencial interação com o meio ambiente.^{1,2} Entre estes poluentes emergentes, encontram-se as substâncias químicas usadas como princípio ativo de medicamentos, os fármacos. Estas substâncias são usadas na farmacoterapia humana e veterinária, e também como aditivos alimentares. O interesse acerca dos poluentes emergentes abrange desde a ocorrência, comportamento e persistência nos meios aquáticos e terrestres, até a interação com micro e macro ecossistemas.³

Diversos fármacos e produtos de uso pessoal (antibióticos, hormônios, anti-sépticos, etc) têm sido detectados em águas superficiais, potável, subterrânea e esgotos. Uma das principais rotas de entrada destas substâncias no meio ambiente ocorre através do descarte no sistema de esgoto ou no solo, Figura 4.1. O meio aquático é atingido quando o esgoto é diretamente lançado nos rios, ou quando estes resíduos não são completamente eliminados nas estações de tratamento. Existe uma crescente inquietação acerca dos possíveis efeitos adversos que estes resíduos poderiam provocar nos animais e seres humanos, além do desenvolvimento de microorganismos mais resistentes.³

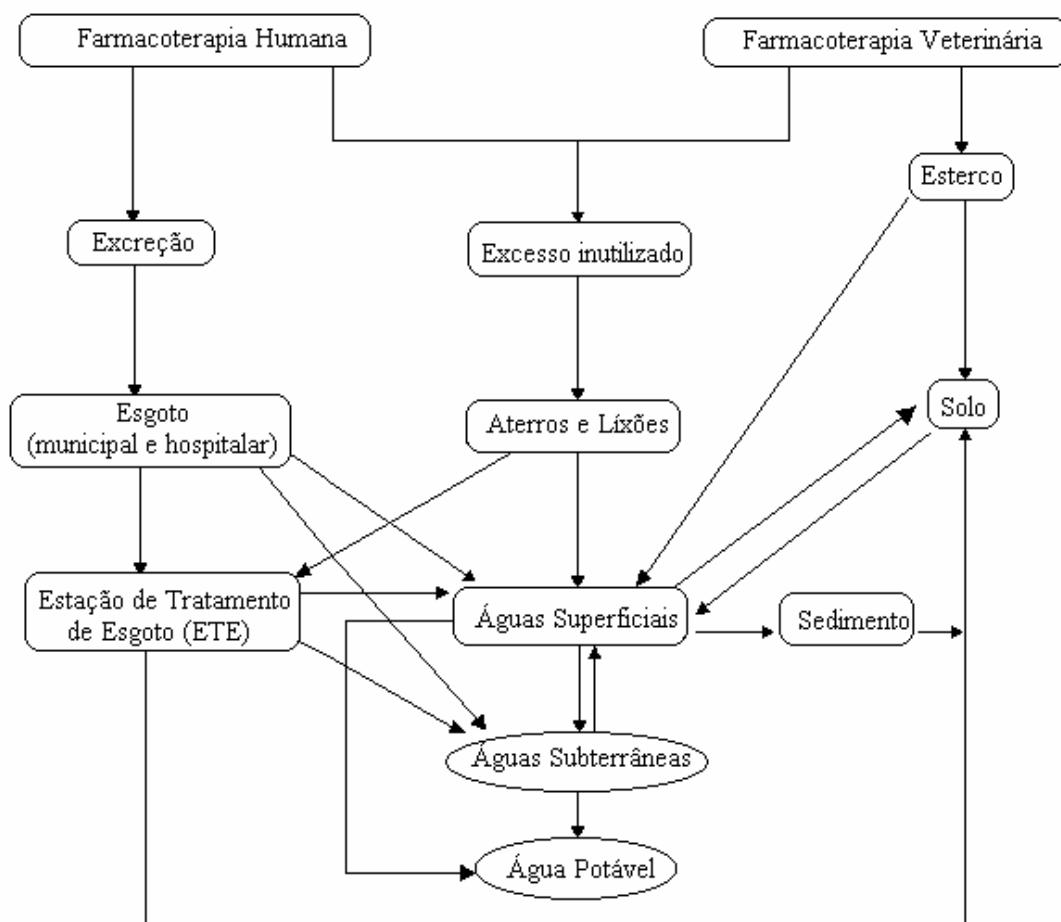


Figura 4.1 – Rotas de entrada e de possível distribuição dos fármacos no meio ambiente.

A presença dos resíduos de fármacos no meio ambiente é resultante das quantidades produzidas e usadas, da frequência de administração, da eficiência de excreção do fármaco ou metabólitos, da propensão da substância em ser adsorvida em solos e da capacidade de degradação do meio em que o resíduo se encontra. Outro fator a ser considerado, é que a facilidade de dispersão destes resíduos através do transporte aquoso está associada à natureza polar e a baixa volatilidade destas substâncias. Isto dificulta o escape do meio aquático, como presumivelmente ocorre com os compostos orgânicos voláteis (COVs).

A biodegradação e a degradação abiótica são os processos naturais de eliminação dos fármacos do meio ambiente. Uma vez que os fármacos são xenobióticos, espera-se que a biodegradação tenha um efeito mínimo neste processo de eliminação. De fato, vários estudos

citados por Halling-Sorensen e colaboradores⁴ indicam que diversos fármacos não são biodegradados, parcial ou totalmente, em matrizes contendo tais resíduos. Encontram-se, também, relatos de que mesmo filtros biológicos, usados no tratamento de esgoto, não são suficientes para a remoção destes tipos de resíduos.^{5,6} A degradação abiótica do fármaco, promovida pela absorção da radiação solar ou pela reação com espécies reativas fotoquimicamente geradas ($\bullet\text{OH}$, $\bullet\text{OOH}$, etc), pode ser o processo de eliminação dominante. No entanto, a persistência destes resíduos no ambiente aquático é um reflexo de que os processos naturais de eliminação não têm sido eficientes para eliminá-los.

O uso de processos abióticos artificiais de degradação, tais como processos oxidativos avançados, é um caminho alternativo para diminuir e eliminar resíduos de fármacos do meio ambiente. Os POAs são considerados processos promissores para tratamento de poluentes aquosos, no entanto, uma questão que deve ser considerada sobre os processos abióticos é que se a mineralização total não ocorrer, poderá haver a formação de muitos produtos a partir das substâncias alvo, com diferentes níveis de periculosidade.⁷

Os estudos sobre o comportamento de fármacos frente a processos abióticos de degradação, principalmente sobre os POAs, têm se intensificado.⁸ Além disso, a necessidade de melhorias nas tecnologias empregadas para remoção de fármacos e outros xenobióticos em ambientes aquáticos têm sido constantemente discutidas.⁹ Fundamentado neste crescente interesse, nos próximos itens serão abordados a degradação por processos oxidativos avançados de dois fármacos, cafeína e tetraciclina e o monitoramento destes processos por ESI-MS.

4.2 Monitoramento da Degradação da Cafeína por TiO_2/UV , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e Fenton

4.2.1 Cafeína

A cafeína (**1**) é um alcalóide de ocorrência natural e que também é produzida comercialmente para ser empregada em bebidas, fármacos (estimulante do sistema nervoso central) e outros produtos. Por ser amplamente utilizada, a cafeína é continuamente

introduzida no ambiente e pode persistir no meio aquático devido à alta solubilidade e baixíssima volatilidade. Suas propriedades físico-químicas são descritas na Tabela 4.1.

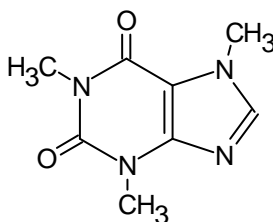


Figura 4.2 – Estrutura da cafeína (1).

Tabela 4.1 – Propriedades físico-químicas da cafeína.¹⁰

| | |
|-----------------------------|--|
| Nome | Cafeína |
| | 1,3,7-Trimetilxantina |
| | 3,7-dihidro-1,3,7-trimetil-1 <i>H</i> -purina-2,6-diona |
| | Metilteobromina |
| | Metilteofilina |
| CAS RN | 58082 |
| Fórmula molecular | C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂ |
| Massa molar | 194,19 g.mol ⁻¹ |
| Descrição | Sólido branco, cristais prismáticos, sem odor |
| Ponto de fusão | 238°C |
| Ponto de Sublimação | 178°C |
| Solubilidade em água | 21,7 mg.mL ⁻¹ |

A sua ocorrência em águas superficiais, subterrâneas e nas águas residuárias tem sido relatada com frequência.^{11,12} Alguns estudos sobre oxidação da cafeína, já relatados na literatura, utilizaram como sistema oxidativo processos como a ozonização¹³, sistemas similares ao Fenton,¹⁴ ClO₂¹⁵ e O₃/H₂O₂,¹⁶ mas poucos enfocam a determinação de intermediários e produtos destas reações. Além disso, até a execução deste estudo, não se encontravam relatos sobre a degradação da cafeína pelos sistemas oxidativos TiO₂/UV, H₂O₂/UV e Fenton.

Neste trabalho, os sistemas oxidativos TiO_2/UV , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e sistema Fenton foram utilizados no processo de degradação da cafeína em solução aquosa. Os experimentos foram monitorados por HPLC, espectrofotometria UV-Vis e COT. A ESI-MS foi utilizada na determinação estrutural de intermediários e produtos diretamente da solução da reação. A técnica GC-MS foi também utilizada para determinação estrutural dos produtos da reação.

4.2.2 Parte Experimental

Reagentes

Os reagentes cafeína (Aldrich), TiO_2 P25 (Degussa), H_2O_2 32% (Merck), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Aldrich), $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Merck), e metanol (grau HPLC, Merck), foram utilizados sem prévia purificação. Utilizou-se, em todos os experimentos, água bi-distilada para o preparo das soluções.

Montagem do Reator de UV

O reator de UV foi construído em uma caixa de madeira ($35 \times 48 \times 40$ cm) revestida internamente com folhas de papel alumínio. A lâmpada (Philips TUV G5T8), que emite radiação UV com comprimento de onda em 254 nm e com 15 W de potência, foi instalada na parte superior interna da caixa, como mostrado na Figura 4.3.

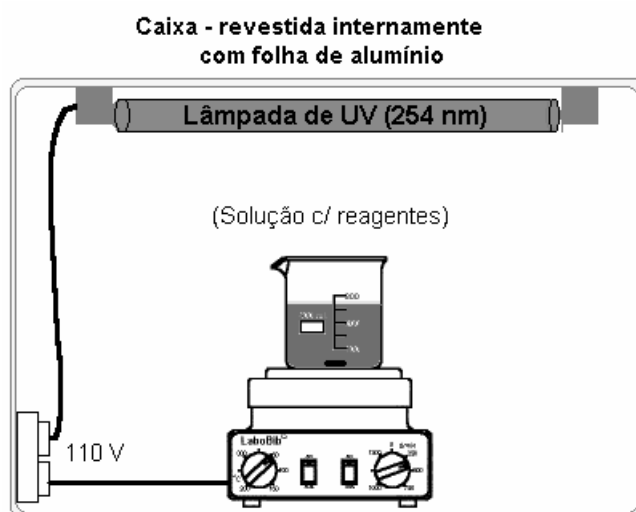


Figura 4.3 – Representação esquemática do reator de UV.

Experimentos de Degradação

TiO₂/UV

Os testes foram conduzidos utilizando-se solução aquosa de cafeína (100,00 mL, 160 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, 31,0 mg.L^{-1}). Empregando-se um planejamento fatorial 2³, as seguintes variáveis foram avaliadas: concentração de TiO₂, uso da irradiação UV e tempo de reação. Em cada experimento, a taxa de degradação da cafeína foi avaliada por HPLC (método 1a). Nas condições escolhidas para o monitoramento do sistema ([TiO₂] = 0,1 g.L^{-1} e irradiação UV), os espectros UV-Vis foram obtidos, a taxa de degradação (HPLC, método 1b) e a taxa de mineralização (COT) foram determinadas, e os intermediários e produtos da reação foram caracterizados por ESI-MS (método 1a) e GC-MS. As alíquotas das reações retiradas para análise foram centrifugadas a 2600 rpm/10 min (Centrífuga Sigma 6-15, Alemanha), sendo em seguida o sobrenadante recuperado e imediatamente armazenado a 4°C. Como solução controle foi utilizado o sistema solução aquosa de cafeína (100,00 mL, 160 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, 31,0 mg.L^{-1}) e [TiO₂] = 0,1 g.L^{-1} , mantida sob agitação por 150 min, na ausência de luz. As alíquotas desta solução controle, retiradas após este período, foram submetidas ao mesmo tratamento descrito para as alíquotas da reação.

H₂O₂/UV

Os testes foram conduzidos utilizando-se solução aquosa de cafeína (100,00 mL, 160 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, 31,0 mg.L^{-1}). Empregando-se um planejamento fatorial 2³, as seguintes variáveis foram avaliadas: concentração de H₂O₂, uso da irradiação UV e tempo de reação. Em cada experimento, a taxa de degradação da cafeína foi avaliada por HPLC (método 1a). Nas condições escolhidas para o monitoramento do sistema ([H₂O₂] = 1,88 mmol.L^{-1} e irradiação UV), a taxa de degradação (HPLC, método 1c) e a taxa de mineralização (COT) foram determinadas, e os intermediários e produtos da reação foram caracterizados por ESI-MS (método 1a) e GC-MS. Em cada alíquota da reação retirada para análise foi adicionado Na₂S₂O₃.5H₂O, com excesso de 10% em relação à quantidade estequiométrica de H₂O₂, presente na alíquota, para promover a interrupção da reação¹⁷ sendo, após isto, imediatamente armazenada a 4°C. Como solução controle foi utilizado o sistema solução aquosa de cafeína (100,00 mL, 160 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, 31,0 mg.L^{-1}) e [H₂O₂] = 1,88 mmol.L^{-1} na ausência de luz. As alíquotas desta solução controle foram retiradas para análise imediatamente após a adição de

H₂O₂ na solução sendo em seguida submetidas ao mesmo tratamento descrito para as alíquotas da reação neste sistema.

Fenton

Os testes foram conduzidos utilizando-se solução aquosa de cafeína (100,00 mL, 160 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, 31,0 mg.L^{-1}) em pH=3 (H₂SO₄ 0,1 mol.L^{-1}). Empregando-se um planejamento fatorial 2³, as seguintes variáveis foram avaliadas: concentração de H₂O₂, concentração de FeSO₄.7H₂O e tempo de reação. Em cada experimento, a taxa de degradação da cafeína foi avaliada por HPLC (método 1a). Nas condições escolhidas para o monitoramento do sistema ([FeSO₄.7H₂O] = 0,1 g.L^{-1} e [H₂O₂] = 47 mmol.L^{-1}), a taxa de degradação (HPLC, método 1a) e a taxa de mineralização (COT) foram determinadas, e os intermediários e produtos da reação foram caracterizados por ESI-MS (método 1a) e GC-MS. Em cada alíquota da reação retirada para análise foi adicionado Na₂S₂O₃.5H₂O, com excesso de 10% em relação à quantidade estequiométrica de H₂O₂, presente na alíquota, para promover a interrupção da reação¹⁷ sendo, após isto, imediatamente armazenada a 4°C. Como solução controle foi utilizado o sistema solução aquosa de cafeína (25,00 mL, 160 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, 31,0 mg.L^{-1}) em pH=3 (H₂SO₄ 0,1 mol.L^{-1}), [FeSO₄.7H₂O] = 0,1 g.L^{-1} , [Na₂S₂O₃.5H₂O] = 103 mmol.L^{-1} e [H₂O₂] = 47 mmol.L^{-1} , sendo a armazenada a 4°C imediatamente após a adição de H₂O₂ na solução.

4.2.3 Resultados e Discussão

Planejamento Fatorial

O planejamento fatorial¹⁸ foi feito com o objetivo de determinar a influência de alguns parâmetros na eficiência de degradação da cafeína. Planejamentos fatoriais têm sido aplicados na avaliação de processos oxidativos avançados como, por exemplo, no trabalho descrito por Hequet e colaboradores sobre a fotodegradação da atrazina.¹⁹ Neste trabalho, foi utilizado o planejamento fatorial 2³ e a resposta avaliada foi a percentagem relativa de degradação da cafeína.

A matriz experimental do sistema TiO₂/UV é dada na Tabela 4.2 e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.3 e no gráfico de influência relativa dos parâmetros e das interações duplas (12, 13 e 23) e tripla (123) destes parâmetros, Figura 4.4.

Tabela 4.2 – Matriz experimental do planejamento fatorial 2^3 para o sistema TiO_2/UV

| Fatores | | | | Nível | | |
|-----------|----------------------------------|--|--|-------|-----|-----|
| | | | | (-) | | (+) |
| 1: | $\text{TiO}_2 / \text{g.L}^{-1}$ | | | 0,01 | 0,1 | |
| 2: | UV | | | não | Sim | |
| 3: | Tempo / min | | | 30 | 150 | |

| Número do Ensaio | 1 | 2 | 3 | % relativa de degradação | | Média |
|------------------|----|----|----|--------------------------|------|-------|
| | | | | | | |
| 1 | -1 | -1 | -1 | 0 | 0,6 | 0,3 |
| 2 | 1 | -1 | -1 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | -1 | 1 | -1 | 17,2 | 9,1 | 13,1 |
| 4 | 1 | 1 | -1 | 25,2 | 21,2 | 23,2 |
| 5 | -1 | -1 | 1 | 0 | 0,6 | 0,3 |
| 6 | 1 | -1 | 1 | 0 | 1,1 | 0,5 |
| 7 | -1 | 1 | 1 | 34,5 | 31,6 | 33,1 |
| 8 | 1 | 1 | 1 | 75,4 | 75,2 | 75,3 |

Tabela 4.3– Efeitos calculados para o planejamento fatorial 2^3 do sistema TiO_2/UV

| | |
|--------------------------------------|------------|
| Média | 18,0 ± 0,6 |
| Efeitos principais | |
| 1 (TiO_2) | 13,1 ± 1,2 |
| 2 (UV) | 36,3 ± 1,2 |
| 3 (tempo) | 18,1 ± 1,2 |
| Interação entre dois fatores | |
| 12 | 13,3 ± 1,2 |
| 13 | 8,3 ± 1,2 |
| 23 | 17,9 ± 1,2 |
| Interação entre três fatores | |
| 123 | 7,8 ± 1,2 |

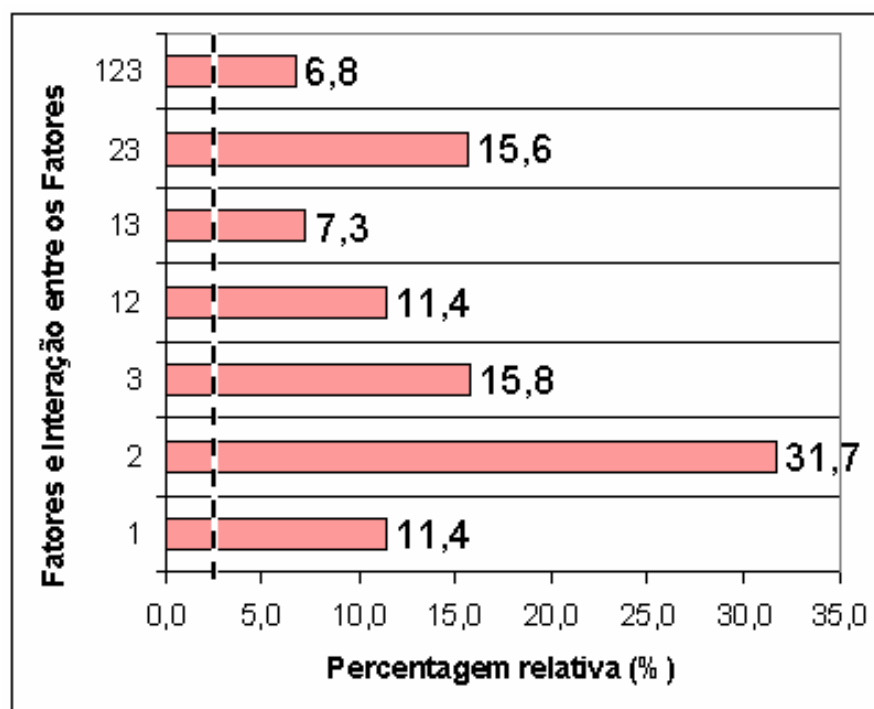


Figura 4.4 - Gráfico de influência relativa dos parâmetros [1 (TiO₂), 2 (UV) e 3 (tempo)] e das interações duplas (12, 13 e 23) e tripla (123) para o sistema TiO₂/UV. Valor limite normalizado = 2,4 % ($t = 0,05$).

De acordo com estes resultados, para o sistema TiO₂/UV pode se observar que o fator de maior influência, em relação aos efeitos principais, foi a irradiação UV (31,7%). As influências dos outros fatores são menores, mas não são desprezíveis e isto pode ser notado pelos valores de influência relativa apresentados pelas interações, tanto duplas quanto tripla. Isto indica que as variações destes três parâmetros são importantes junto à percentagem de degradação. Dos ensaios realizados o que apresentou maior resposta foi o que usou os três níveis positivos, ou seja, [TiO₂] = 0,1 g.L⁻¹ sob irradiação UV por 150 minutos.

A matriz experimental do sistema H₂O₂/UV é dada na Tabela 4.4 e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.5 e no gráfico de influência relativa dos parâmetros e das interações duplas (12, 13 e 23) e tripla (123) destes parâmetros, Figura 4.5.

Tabela 4.4 – Matriz experimental do planejamento fatorial 2^3 para o sistema H_2O_2/UV

| Fatores | | | | Nível | | Média |
|-----------|------------------------|------|-----|-------|-----|-------|
| | | | | (-) | (+) | |
| 1: | $H_2O_2 / mmol.L^{-1}$ | 1,88 | 9,4 | | | |
| 2: | UV | não | sim | | | |
| 3: | Tempo / min | 30 | 150 | | | |

| Número do Ensaio | 1 | 2 | 3 | % relativa de degradação | | Média |
|------------------|----|----|----|--------------------------|------|-------|
| 1 | -1 | -1 | -1 | 0,3 | 0,4 | 0,4 |
| 2 | 1 | -1 | -1 | 0,6 | 0 | 0,3 |
| 3 | -1 | 1 | -1 | 41,6 | 36,6 | 39,1 |
| 4 | 1 | 1 | -1 | 56,7 | 60,0 | 58,4 |
| 5 | -1 | -1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 1 | -1 | 1 | 0,4 | 0 | 0,2 |
| 7 | -1 | 1 | 1 | 90,8 | 93,7 | 92,3 |
| 8 | 1 | 1 | 1 | 99,5 | 99,2 | 99,4 |

Tabela 4.5 – Efeitos calculados para o planejamento fatorial 2^3 do sistema H_2O_2/UV

| | |
|-------------------------------------|------------|
| Média | 36,2 ± 0,4 |
| Efeitos principais | |
| 1 (H_2O_2) | 6,6 ± 0,8 |
| 2 (UV) | 72,1 ± 0,8 |
| 3 (tempo) | 23,4 ± 0,8 |
| Interação entre dois fatores | |
| 12 | 6,6 ± 0,8 |
| 13 | -3,0 ± 0,8 |
| 23 | 23,7 ± 0,8 |
| Interação entre três fatores | |
| 123 | -3,1 ± 0,8 |

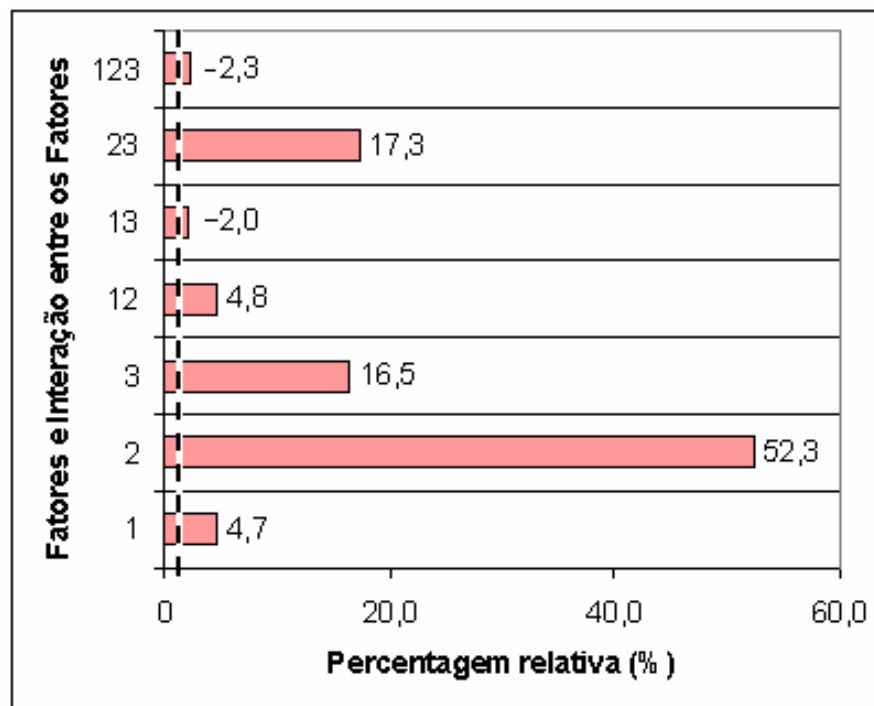


Figura 4.5 - Gráfico de influência relativa dos parâmetros [1 (H₂O₂), 2 (UV) e 3 (tempo)] e das interações dupla (12, 13 e 23) e tripla (123) para o sistema H₂O₂/UV. Valor limite normalizado = 1,3 % ($t=0,05$).

Para o sistema H₂O₂/UV observou-se, também, que o fator de maior influência foi a irradiação UV (52,3%). No entanto, diferentemente do sistema anterior, apenas mais um dos fatores, o tempo (16,5%), apresentou um valor alto de influência relativa. A interação 23 (irradiação UV e tempo) é aditiva e também bastante significativa. O baixo valor para o efeito do fator [H₂O₂] indica que este parâmetro, apesar de ser significativo, não afeta em escala considerável a porcentagem de degradação. Assim, os ensaios que apresentaram maior resposta foram aqueles que usaram níveis positivos para irradiação e tempo, ou seja, sob irradiação UV por 150 minutos em concentrações de H₂O₂ de 1,88 ou 9,4 mmol.L⁻¹.

A matriz experimental do sistema Fenton é dada na Tabela 4.6 e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.7 e no gráfico de influência relativa dos parâmetros e das interações duplas (12, 13 e 23) e tripla (123) destes parâmetros, Figura 4.6.

Tabela 4.6 – Matriz experimental do planejamento fatorial 2^3 para o sistema Fenton.

| Fatores | | | | Nível | | |
|--|--|--|--|-------|-----|--|
| | | | | (-) | (+) | |
| 1: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} / \text{g.L}^{-1}$ | | | | 0,01 | 0,1 | |
| 2: $\text{H}_2\text{O}_2 / \text{mmol.L}^{-1}$ | | | | 5,7 | 47 | |
| 3: Tempo / min | | | | 30 | 150 | |

| Número do Ensaio | 1 | 2 | 3 | % relativa de degradação | | Média |
|------------------|----|----|----|--------------------------|------|-------|
| 1 | -1 | -1 | -1 | 15,4 | 22,4 | 18,9 |
| 2 | 1 | -1 | -1 | 93,7 | 94,2 | 94,0 |
| 3 | -1 | 1 | -1 | 16,5 | 15,4 | 16,0 |
| 4 | 1 | 1 | -1 | 61,9 | 64,8 | 63,4 |
| 5 | -1 | -1 | 1 | 26,0 | 24,6 | 25,3 |
| 6 | 1 | -1 | 1 | 95,3 | 95,0 | 95,2 |
| 7 | -1 | 1 | 1 | 25,5 | 27,0 | 26,3 |
| 8 | 1 | 1 | 1 | 81,6 | 80,6 | 81,1 |

Tabela 4.7 – Efeitos calculados para o planejamento fatorial 2^3 do sistema Fenton.

| | |
|---|------------|
| Média | 52,5 ± 0,5 |
| Efeitos principais | |
| 1 ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) | 61,8 ± 1 |
| 2 (H_2O_2) | -11,7 ± 1 |
| 3 (tempo) | 8,9 ± 1 |
| Interação entre dois fatores | |
| 12 | -10,7 ± 1 |
| 13 | 0,6 ± 1 |
| 23 | 5,1 ± 1 |
| Interação entre três fatores | |
| 123 | 3,2 ± 1 |

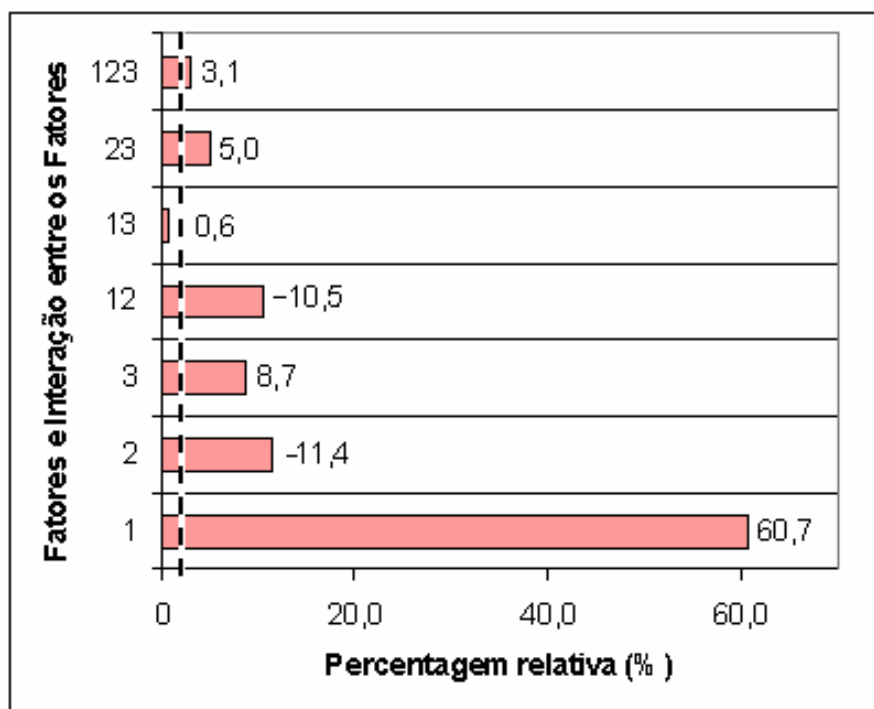


Figura 4.6 - Gráfico de influência relativa dos parâmetros [1 ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 2 (H_2O_2) e 3 (tempo)] e das interações duplas (12, 13 e 23) e tripla (123) para o sistema Fenton. Valor limite normalizado = 2,3 % ($t=0,05$).

Os resultados do planejamento fatorial para o sistema Fenton mostraram que todos os fatores e as interações entre eles são significativos, exceto para a interação dupla 13. O fator [$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$] é o mais importante (60,7%) na degradação da cafeína. O fator [H_2O_2] mostra um efeito negativo (-11,4%), diminuindo a porcentagem de degradação de acordo com o aumento do nível. Um efeito negativo também é observado para a interação dupla 12. Dessa forma, o ensaio que apresentou maior resposta foi o que utilizou nível negativo para o fator [H_2O_2] e positivos para os demais, ou seja, [H_2O_2] = 5,7 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, [$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$] = 0,1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ e 150 minutos de reação.

Eficiência da Degradação e Mineralização dos Processos

As avaliações sobre a eficiência de degradação e mineralização dos processos oxidativos aplicados à solução aquosa de cafeína foram feitas utilizando as condições de reação escolhida para cada sistema e descritas na Parte Experimental. As Figuras 4.7, 4.8 e 4.9 mostram o monitoramento da concentração da cafeína e do conteúdo de carbono orgânico total durante a reação de degradação promovida pelos sistemas TiO_2/UV , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e Fenton, respectivamente.

Assim, na Figura 4.7 (TiO_2/UV), pode-se observar que a concentração de cafeína, após 150 min de reação, sofre um decréscimo em torno de 90%, enquanto que o conteúdo de carbono orgânico diminui apenas 13%. Na Figura 4.8 ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$), observa-se uma diminuição na concentração de cafeína em cerca de 93% e que o conteúdo de carbono orgânico diminui 20% durante o período de monitoramento. Já, na Figura 4.9 (Fenton), nota-se que a concentração de cafeína diminuiu cerca de 80% e o conteúdo de carbono orgânico cerca de 19%.

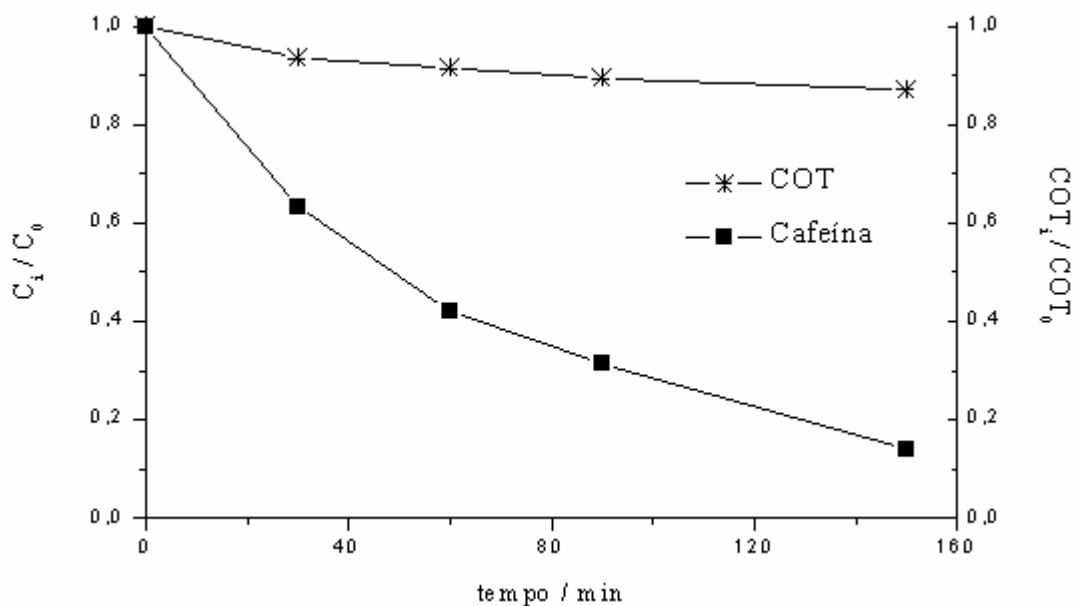


Figura 4.7 – Concentração de cafeína normalizada (C_i/C_0), monitorada por HPLC, e conteúdo de carbono orgânico total normalizado (COT_i/COT_0) em função do tempo para a degradação da cafeína promovida pelo sistema TiO_2/UV . Condições: $C_0 = 160 \mu\text{mol.L}^{-1}$ e $COT_0 = 15,3 \text{ mg.L}^{-1}$.

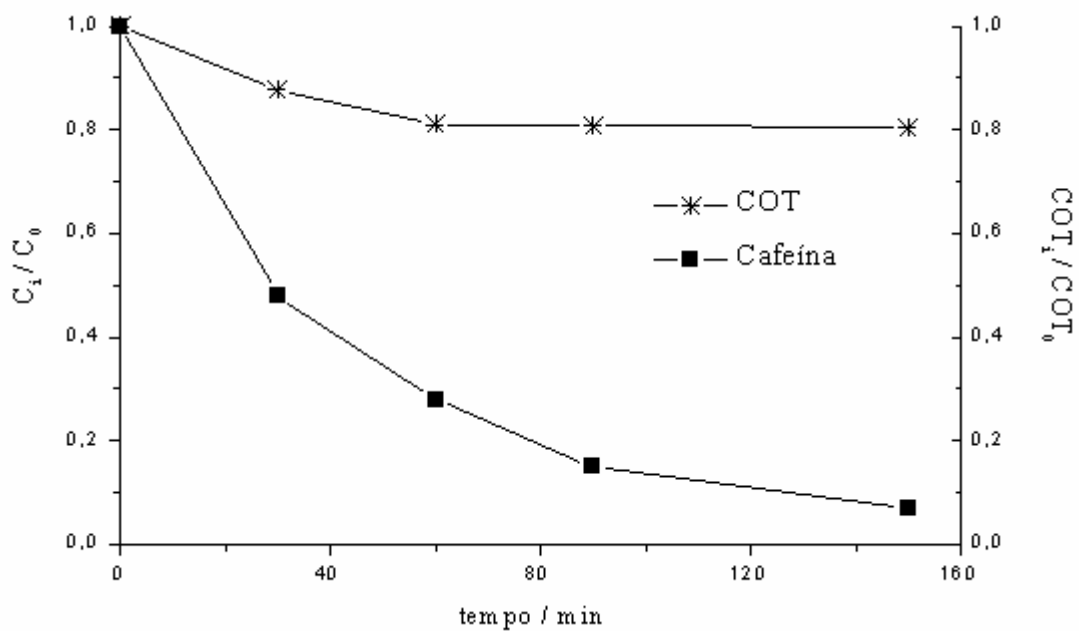


Figura 4.8– Concentração de cafeína normalizada (C_i/C_0), monitorada por HPLC, e conteúdo de carbono orgânico total normalizado (COT_i/COT_0) em função do tempo para a degradação promovida pelo sistema H_2O_2/UV . $C_0 = 160 \mu\text{mol.L}^{-1}$ e $COT_0 = 15,3 \text{ mg.L}^{-1}$.

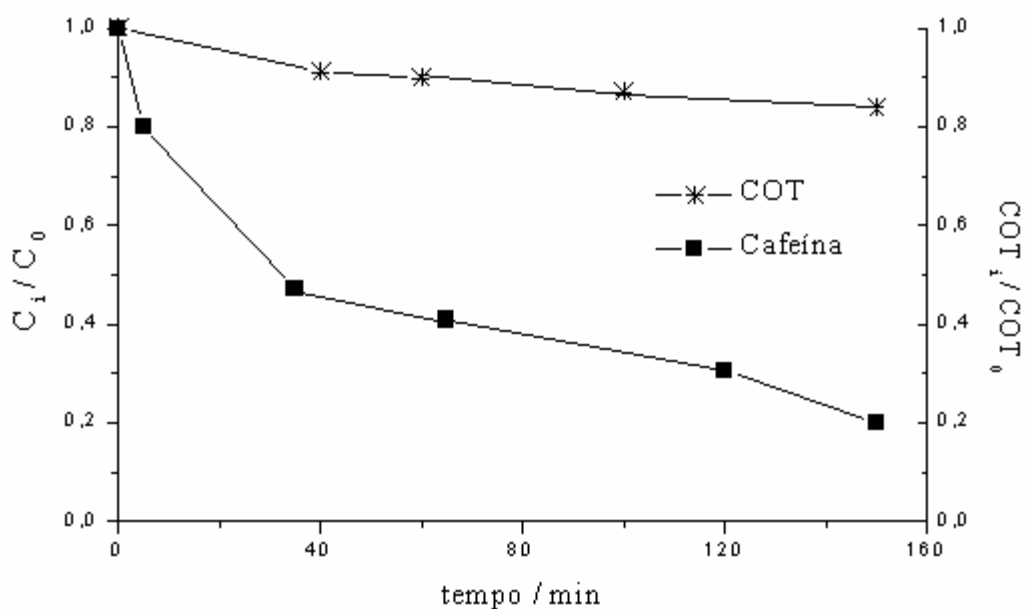


Figura 4.9 – Concentração de cafeína normalizada (C_i/C_0), monitorada por HPLC, e conteúdo de carbono orgânico total normalizado (COT_i/COT_0) em função do tempo para degradação promovida pelo sistema Fenton. $C_0 = 160 \mu\text{mol.L}^{-1}$ e $COT_0 = 15,3 \text{ mg.L}^{-1}$.

As degradações nestes três sistemas mostram como características comuns altas taxas de degradação da cafeína, mas baixo grau de mineralização. Dessa forma, a concentração residual de cafeína foi de 10%, 7% e 20%, e de carbono orgânico em solução foi de 87%, 80% e 81%, para TiO_2/UV , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e Fenton, respectivamente. Isto indica que a degradação da cafeína ocorre com a formação de intermediários orgânicos que não são mineralizados nas condições oxidativas empregadas. Estes resultados concordam com as observações feitas a partir dos cromatogramas HPLC, Figuras 4.10 a 4.12. Nos cromatogramas das soluções controle observam-se apenas os picos referentes à cafeína (a variação nos tempos de retenção é devido a diferentes condições cromatográficas utilizadas nas análises, ver HPLC métodos). Nos cromatogramas obtidos durante o monitoramento da reação, pode-se observar a diminuição da área do pico da cafeína e o aparecimento de diversos picos com tempos de retenção menores, indicando a formação de outras substâncias nestas condições.

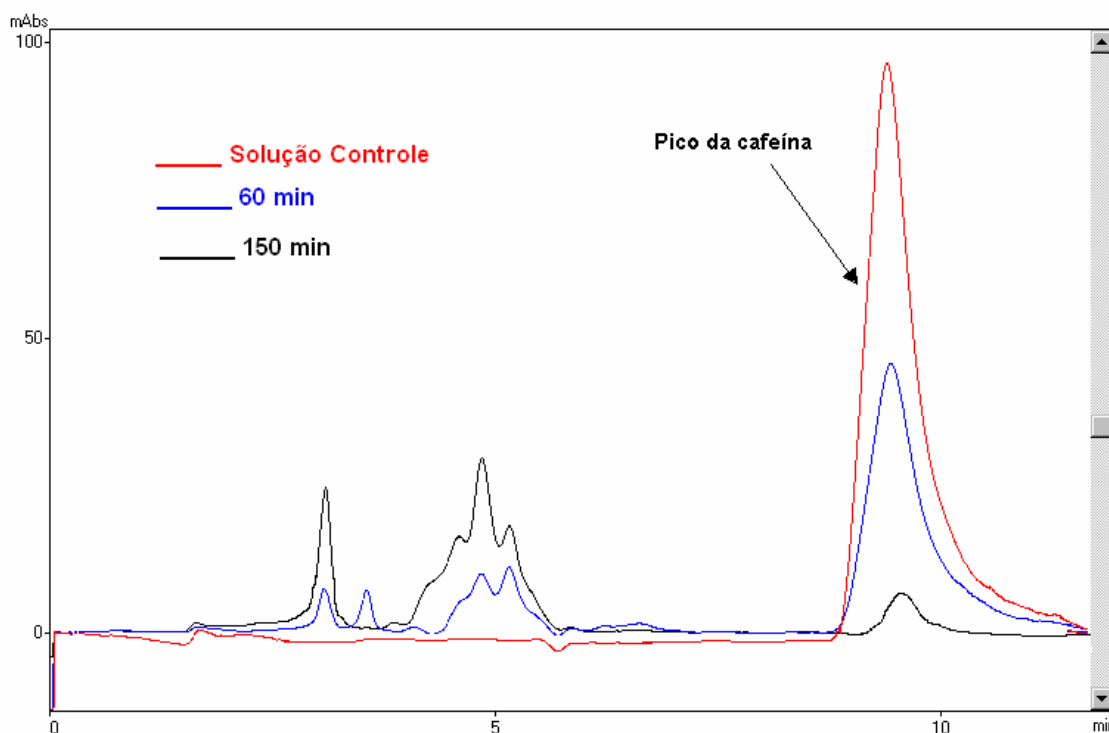


Figura 4.10 – Cromatogramas HPLC/UV (método 1b, $\lambda = 215 \text{ nm}$) da solução controle e das alíquotas retiradas após 60 e 150 minutos de reação com o sistema TiO_2/UV .

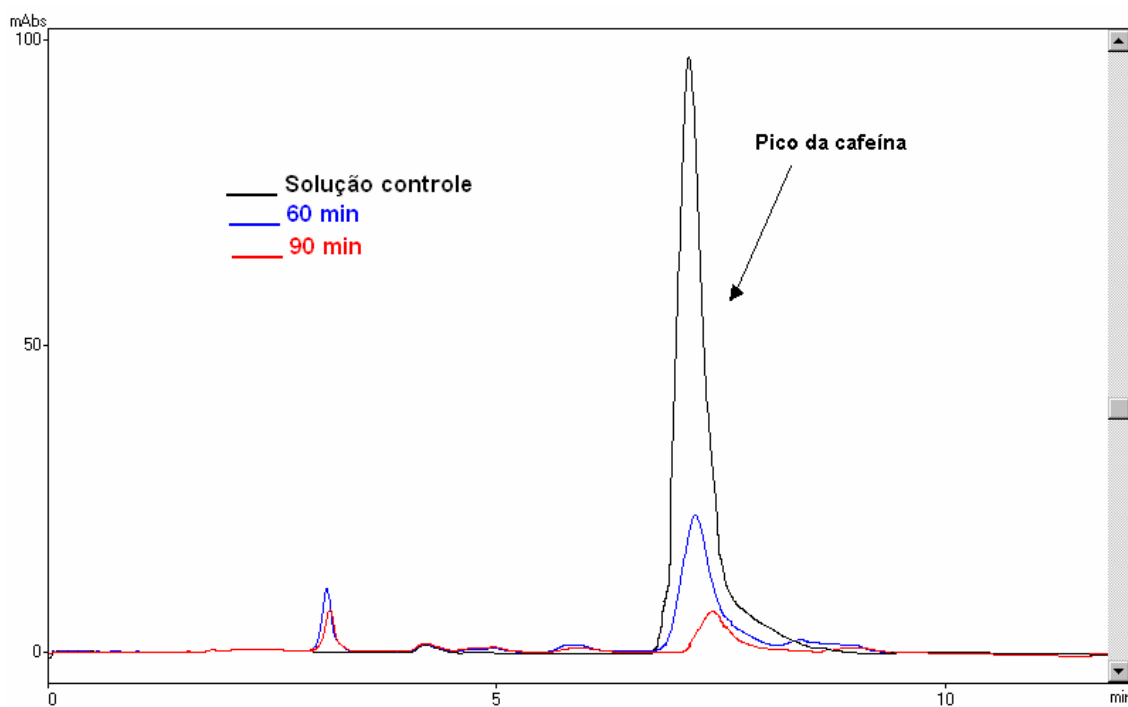


Figura 4.11 – Cromatogramas HPLC/UV (método 1c, $\lambda = 215$ nm) da solução controle e das alíquotas retiradas após 60 e 90 minutos de reação com o sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$.

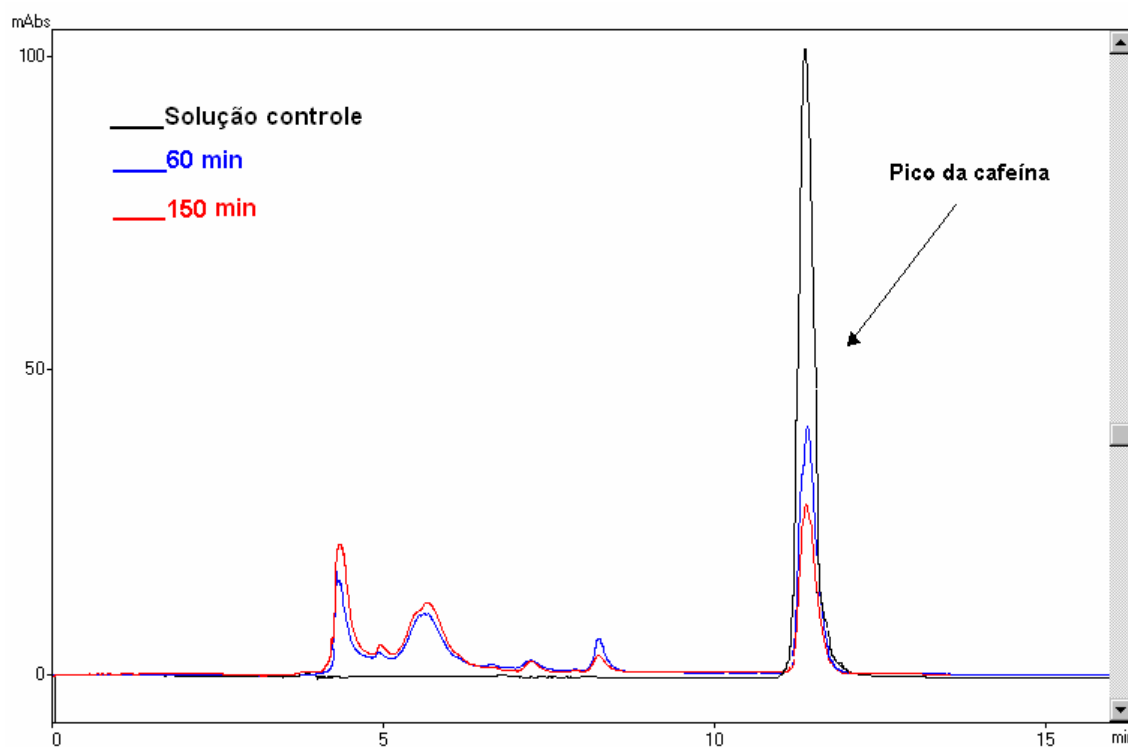


Figura 4.12 – Cromatogramas HPLC/UV (método 1a, $\lambda = 215$ nm) da solução controle e das alíquotas retiradas após 60 e 150 minutos de reação com o sistema Fenton.

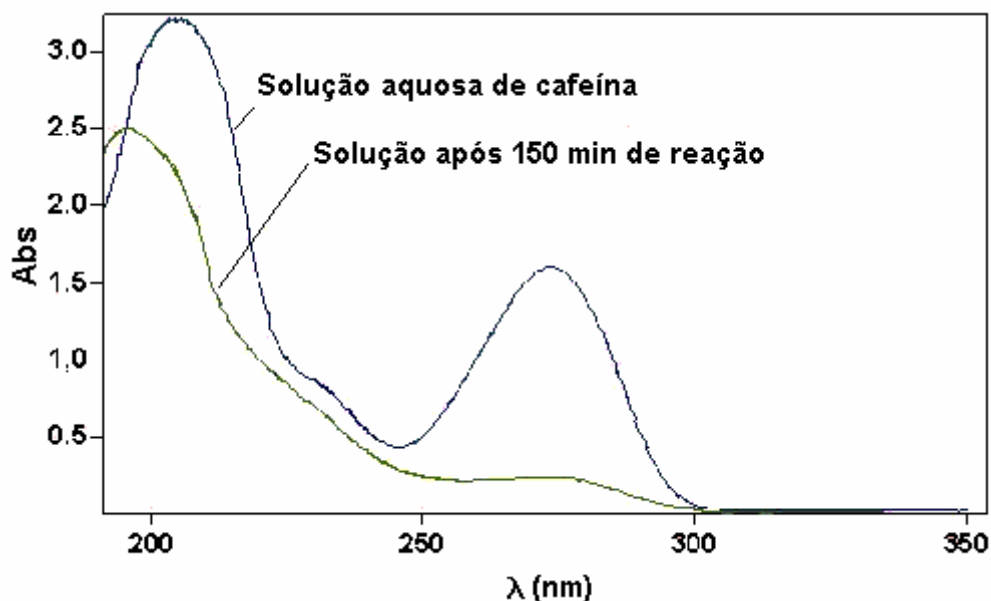


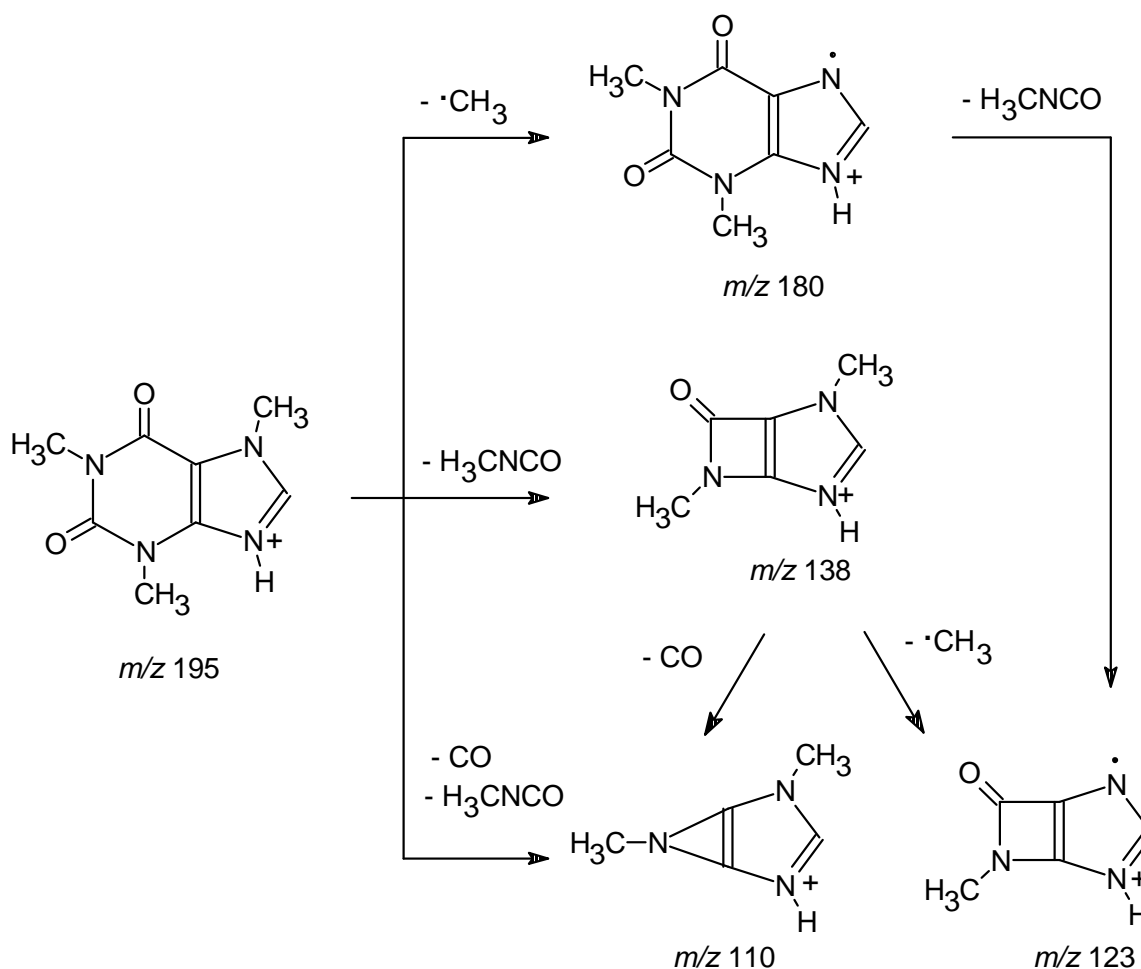
Figura 4.13 – Espectros UV da solução aquosa de cafeína (160 mmol.L^{-1}) e de uma alíquota retirada após 150 minutos de reação promovida pelo sistema TiO_2/UV .

A partir da análise espectrofotométrica UV-Vis para o sistema TiO_2/UV (Figura 4.13) pode-se observar que o espectro da alíquota retirada após 150 min de reação mostra a diminuição das bandas características da cafeína (λ_{max} em 205 e 274 nm) e o aparecimento de outra com λ_{max} menor (195 nm). Isto indica a presença de substâncias, provavelmente intermediários da degradação, com grau de conjugação menor que o da cafeína.

Monitoramento por ESI-MS

O monitoramento das reações ESI-MS (método 1a) foi feito para caracterizar os intermediários formados. Os espectros ESI-MS obtidos em vários tempos para a degradação da cafeína promovida pelo sistema TiO_2/UV são mostrados na Figura 4.14. A Figura 4.14a mostra o espectro da solução controle, sem irradiação, onde é possível observar um sinal de m/z 195 atribuído à cafeína protonada $[\mathbf{1} + \text{H}]^+$. O espectro ESI-MS/MS deste íon (m/z 195)

foi obtido, Figura 4.15a. Neste espectro, pode-se observar como fragmentos principais os íons de m/z 180, 138, 123 e 110, resultantes das perdas de $\cdot\text{CH}_3$, H_3CNCO e CO . Uma proposta para a fragmentação do íon de m/z 195 é apresentada no Esquema 4.1.

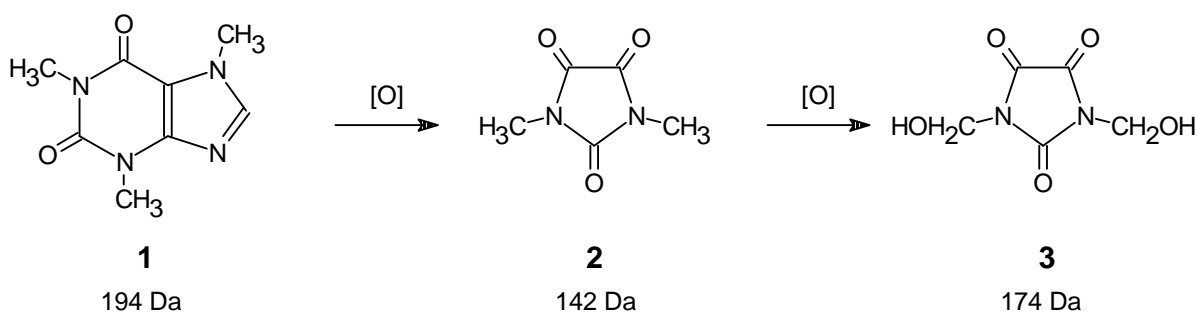


Esquema 4.1 – Proposta para a fragmentação CID do íon de m/z 195, atribuído à cafeína protonada $[\mathbf{1} + \text{H}]^+$.

A medida com alta exatidão da m/z experimental 195,0869 mostrou uma excelente concordância com o valor calculado 195,0883 para a composição elementar relativa à cafeína protonada ($\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}_2$), com uma diferença de massa igual a 7 ppm. Além disso, esta

atribuição foi confirmada pela comparação do perfil destes espectros com os espectros ESI-MS e ESI-MS/MS obtidos a partir de uma amostra padrão de cafeína.

Após 90 e 150 min de irradiação é possível observar nos espectros de ESI-MS (Figura 4.14b e 4.14c) o aumento da abundância relativa dos sinais de m/z 143 e 175, além da diminuição do sinal da cafeína protonada (m/z 195). A presença do íon de m/z 143 foi atribuída à formação do ácido 1,3-dimetilparabânico (**2**), um produto conhecido da oxidação da cafeína¹³, o qual foi detectado na sua forma protonada [**2** + H]⁺. A presença do íon de m/z 175 foi atribuída à detecção do produto **3** na sua forma protonada [**3** + H]⁺. Tal produto (**3**) seria supostamente formado a partir da oxidação de **2**, como mostrado no Esquema 4.2.



Esquema 4.2 – Oxidação da cafeína (**1**) para formação de **2** e **3**.

A medida com alta exatidão de m/z experimental para [**2** + H]⁺ foi 143,0511 e para [**3** + H]⁺ foi 175,0365. Tais valores mostram uma excelente concordância com aqueles calculados para a composição elementar C₅H₇N₂O₅ (143,0457) e para C₅H₇N₂O₃ (175,0355). As diferenças de massa obtidas foram: 37 ppm para [**2** + H]⁺ e 5 ppm para [**3** + H]⁺.

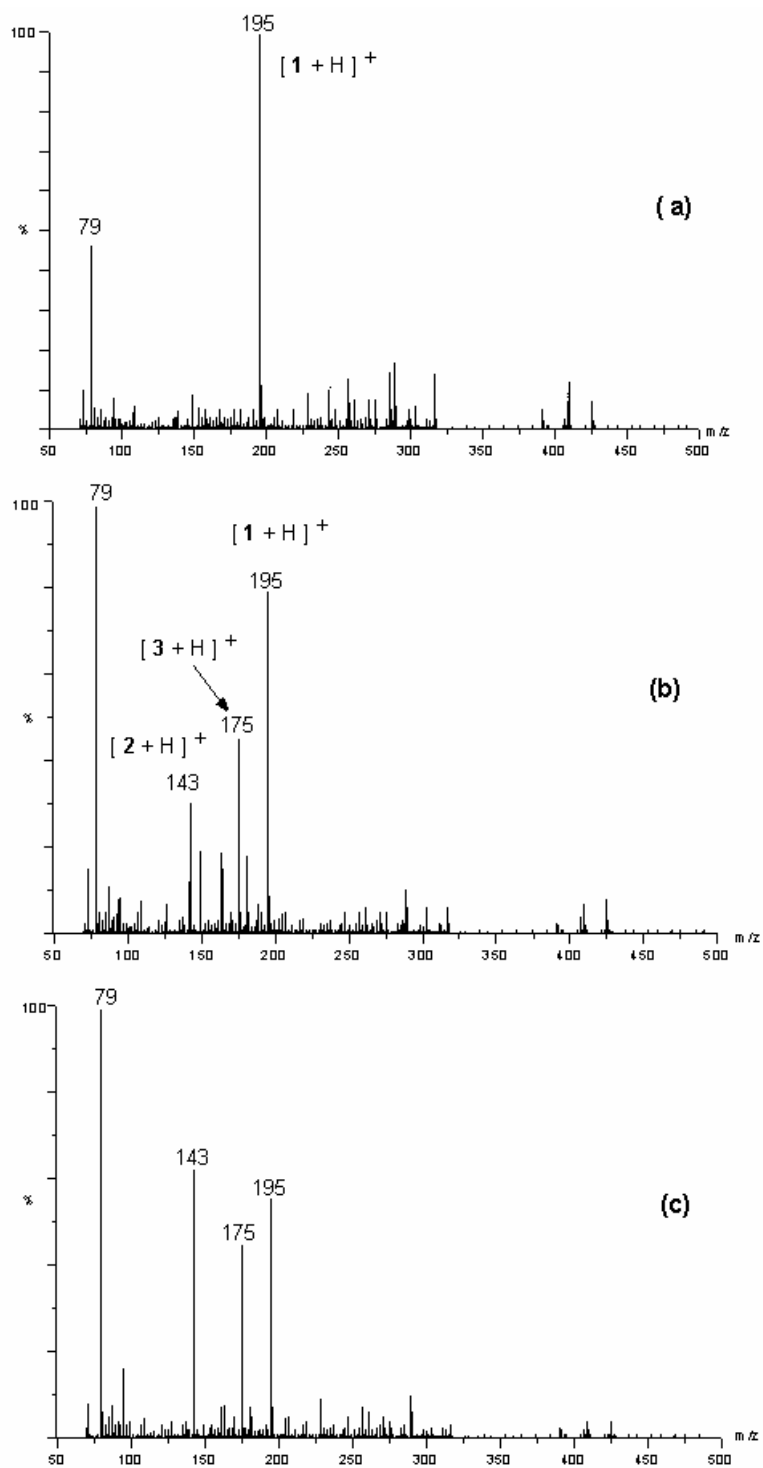


Figura 4.14 – Espectros ESI-MS obtidos a partir de alíquotas da reação de degradação da cafeína promovida pelo sistema TiO_2/UV . (a) Solução controle; (b) 90 min; (c) 150 min de irradiação UV.

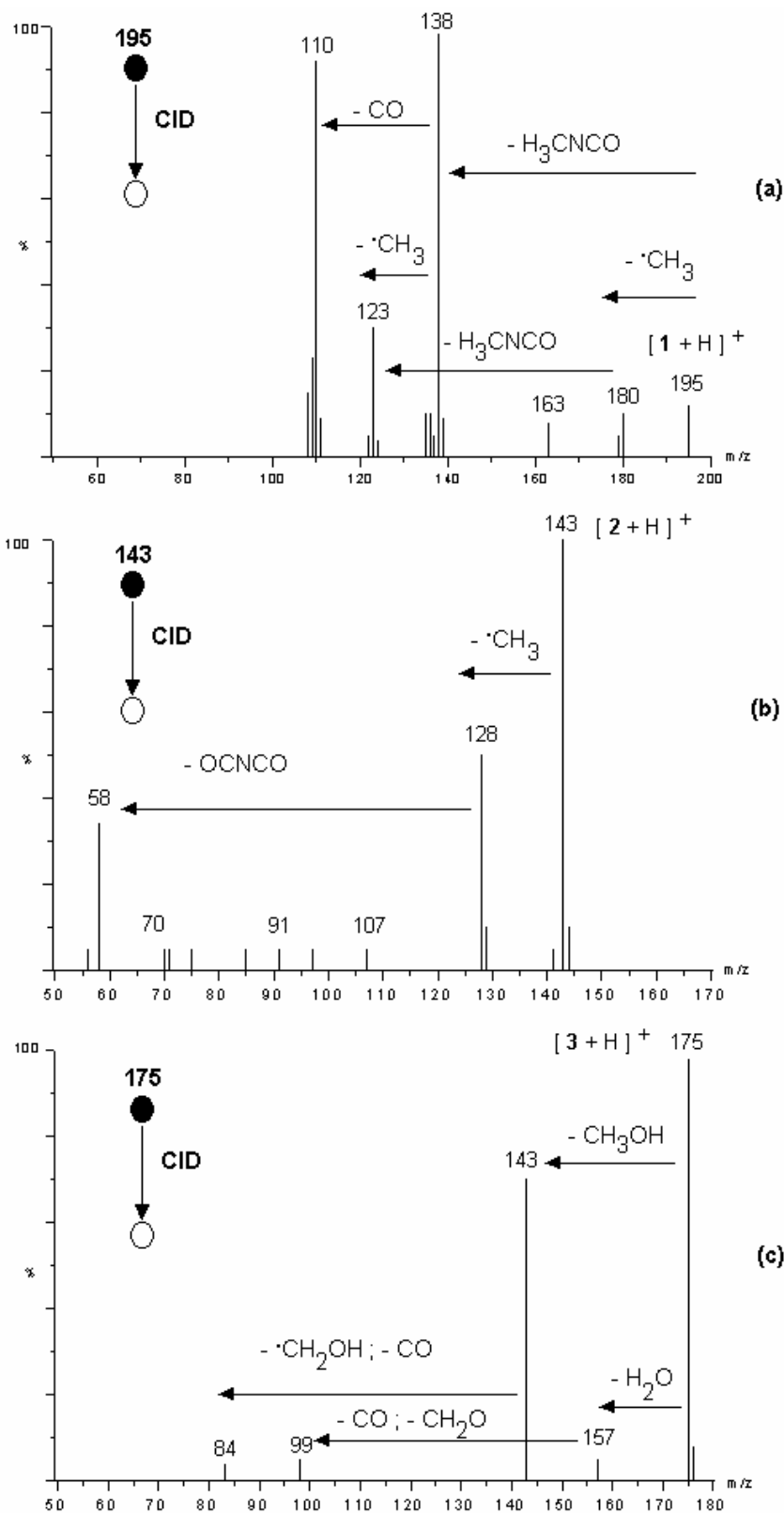
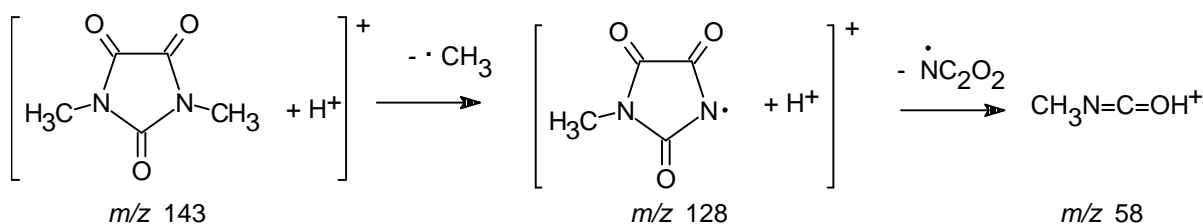


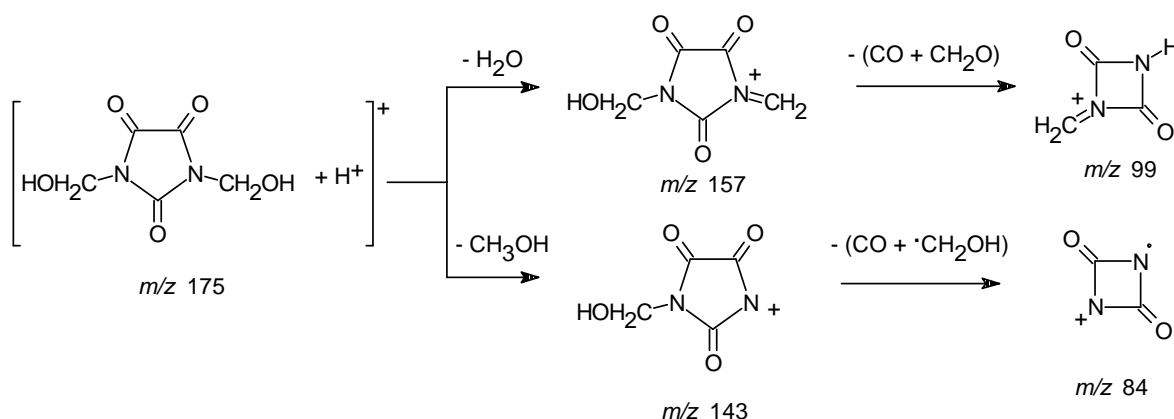
Figura 4.15 – Espectros ESI-MS/MS dos íons: (a) de m/z 195, cafeína protonada ($[1 + H]^+$), (b) m/z 143, atribuído a $[2 + H]^+$, e (c) m/z 175, atribuído a $[3 + H]^+$.

Algumas informações adicionais sobre a estrutura dos cátions $[2 + H]^+$ e $[3 + H]^+$ foram obtidas a partir da análise dos respectivos espectros ESI-MS/MS. No espectro do íon de m/z 143, Figura 4.15b, pode-se observar íons resultantes da perda de CH_3 (m/z 128) e de $CH_3 + NC_2O_2$ (m/z 58). Estas dissociações podem ser consideradas consistentes com a presença das N-metilas e do grupo OCNCO na estrutura de **2**, como proposto no Esquema 4.3.



Esquema 4.3 – Proposta de fragmentação CID do íon de m/z 143, atribuído ao ácido 1,3-dimetilparabânico protonado $[2 + H]^+$.

O espectro ESI-MS/MS do íon de m/z 175, Figura 4.15c, mostra íons resultantes da perda de H_2O (m/z 157) e CH_3OH (m/z 143), que é consistente com a presença dos grupos N- CH_2OH na estrutura de **3**, como proposto no Esquema 4.4.



Esquema 4.4 – Proposta para a fragmentação CID do íon de m/z 175, atribuído a $[3 + H]^+$.

A Figura 4.16 mostra os espectros obtidos a partir da degradação da cafeína pelo sistema H_2O_2/UV . O espectro ESI-MS da solução controle (Figura 4.16a) mostra, como sinais mais significativos, os íons de m/z 195 e 217, atribuídos à cafeína protonada $[1 + H]^+$ e ao seu

aduto com sódio $[1 + \text{Na}]^+$, respectivamente. Após 150 minutos de reação os sinais observados anteriormente diminuem e surgem outros sinais de m/z 143 e 165, os quais foram atribuídos $[2 + \text{H}]^+$ e ao seu aduto com sódio $[2 + \text{Na}]^+$. Um perfil muito similar é observado nos espectros obtidos do monitoramento da degradação da cafeína utilizando o sistema Fenton, Figura 4.17.

Em ambos os sistemas não houve detecção do cátion $[3 + \text{H}]^+$. Isto pode ser um indício de que o 1,3-dimetilparabânico não é oxidado nestas condições. No entanto, deve-se também levar em consideração que estas reações foram interrompidas por $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ e que este reagente pode ter suprimido sinal do íon $[3 + \text{H}]^+$.

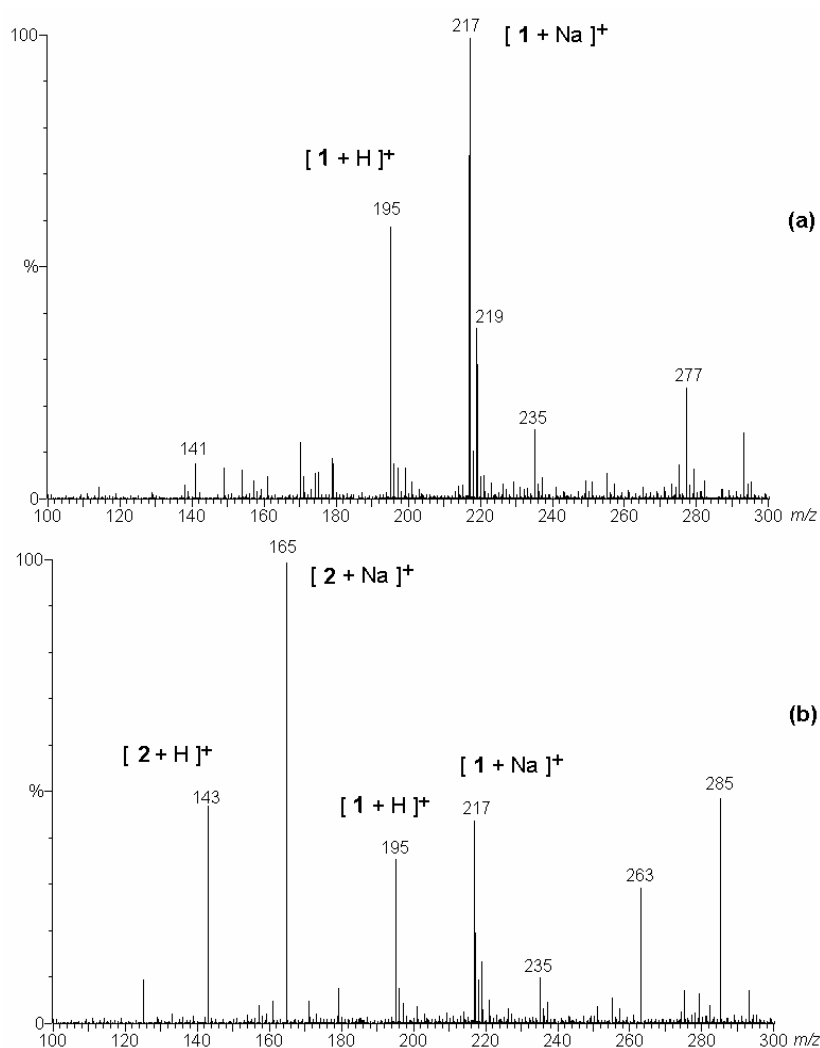


Figura 4.16 – Espectros ESI-MS obtidos a partir das alíquotas da reação de degradação da cafeína pelo sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$. (a) solução controle e (b) após 150 min de irradiação UV.

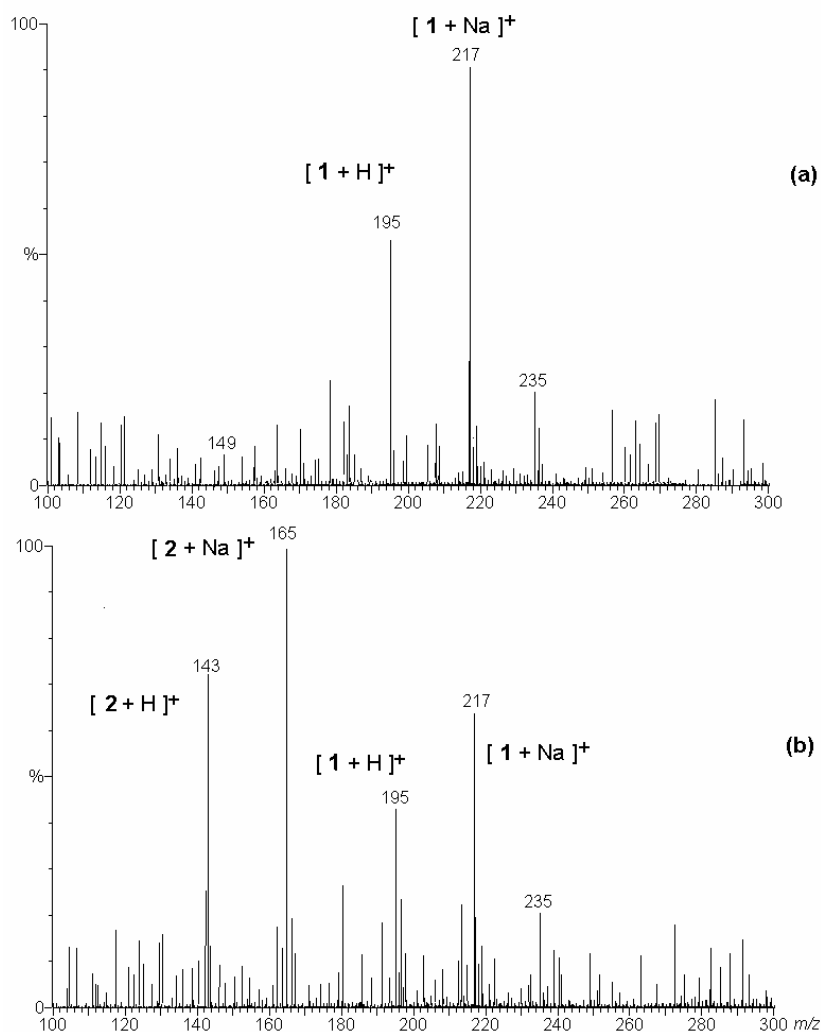


Figura 4.17 – Espectros ESI-MS obtidos a partir das alíquotas da reação de degradação da cafeína pelo sistema Fenton. (a) solução controle e (b) após 150 min de reação.

Identificação Complementar de Intermediários por GC-MS

Para obter dados adicionais, análises por GC-MS das alíquotas da reação de degradação da cafeína pelos sistemas oxidativos foram adquiridos. A Figura 4.18 mostra o cromatograma GC-MS obtido a partir da solução controle do sistema TiO_2/UV . Nele pode-se observar claramente um pico com tempo de retenção (t_r) em 14,9 min. O espectro de massas deste pico é apresentado na Figura 4.19, no qual se observa o íon molecular com m/z 194. O espectro de massas foi comparado com dados da literatura e foi atribuído à cafeína **1**. Os

cromatogramas GC-MS obtidos das soluções controle dos sistemas $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e Fenton se mostraram similares ao apresentado na Figura 4.18.

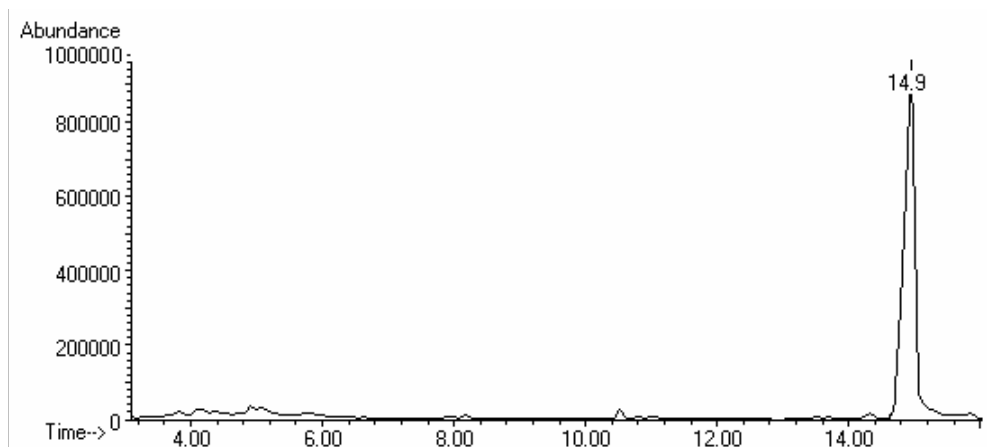


Figura 4.18 – Cromatograma GC-MS da solução controle do sistema TiO_2/UV .

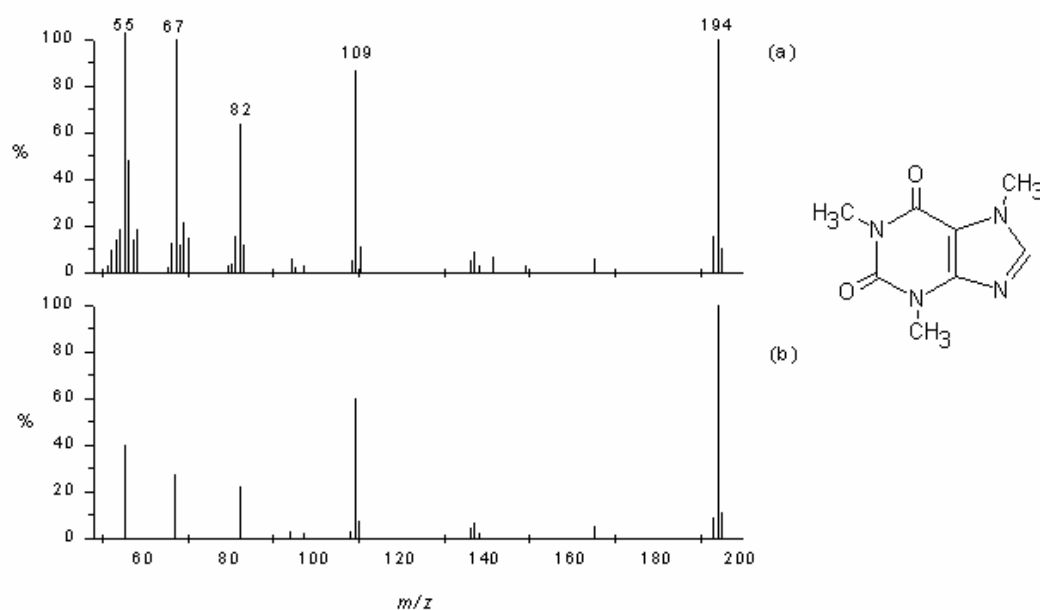


Figura 4.19 – Espectros de massas referentes à: (a) pico cromatográfico com $t_r = 14,9$ min (Figura 4.18) e (b) padrão cafeína.²⁰

Os cromatogramas GC-MS obtidos das alíquotas retiradas em cada sistema após 150 min de reação são mostrados na Figura 4.20.

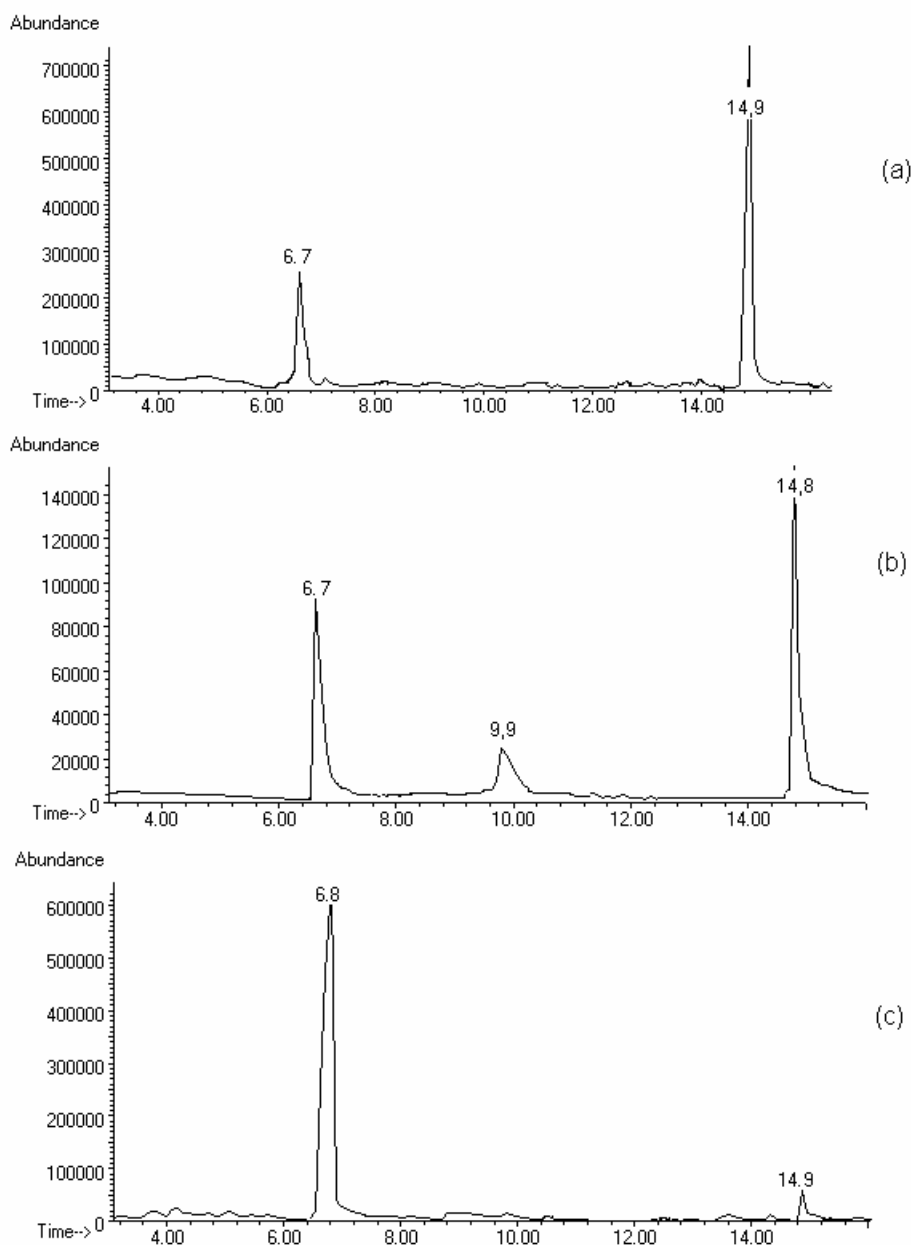


Figura 4.20 – Cromatogramas GC-MS das alíquotas retiradas após 150 min da degradação da cafeína pelos sistemas: (a) TiO_2/UV , (b) $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e (c) Fenton.

Os cromatogramas obtidos a partir das alíquotas retiradas das reações com os sistemas TiO_2/UV e Fenton apresentaram o mesmo perfil. Na Figura 4.20a, relativa ao sistema TiO_2/UV , é possível observar a presença de um pico com $t_r = 6,7$ min e na Figura 4.20c, relativa ao sistema Fenton, observa-se um pico com $t_r = 6,8$ min, além do pico referente à cafeína residual ($t_r = 14,9$ min). O espectro de massas do pico com $t_r = 6,8$ min é apresentado

na Figura 4.21a, no qual se observa um pico com m/z 142 referente ao íon molecular. Este pico foi atribuído à presença do ácido 1,3-dimetilparabânico (**2**), a partir do perfil do espectro de massas experimental coincidente com o espectro descrito na literatura, Figura 4.21b. Os espectros de massas dos picos com $t_r = 6,7$ min observados nos sistemas TiO_2/UV (Figura 4.20a) e $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ (Figura 4.20b), também apresentaram o mesmo perfil observado na Figura 4.21, e, por isso, foram também atribuídos à presença de **2**.

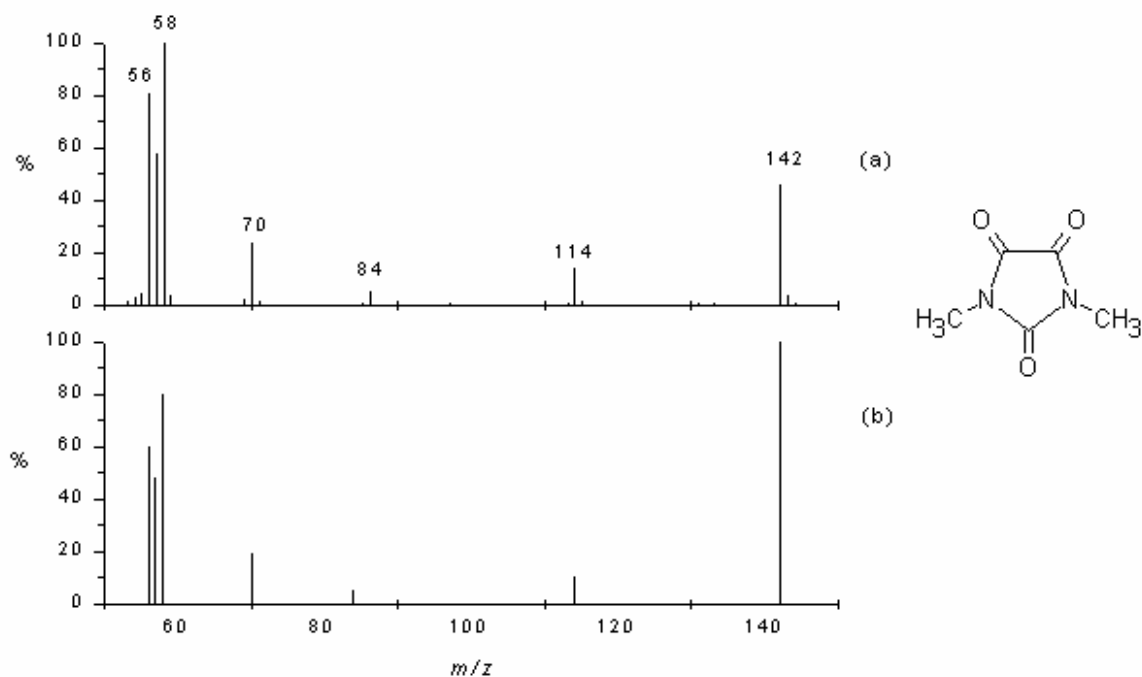


Figura 4.21 – Espectros de massas (EI) referentes à: (a) pico cromatográfico com $t_r = 6,8$ min (Figura 4.20c) e (b) padrão ácido 1,3-dimetilparabânico.²⁰

O cromatograma GC-MS obtido a partir do sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, Figura 4.20b, apresenta um perfil similar aos anteriores exceto pela presença de outro pico com $t_r = 9,9$ min. O espectro de massas deste pico é mostrado na Figura 4.22a, no qual se observa um sinal de m/z 157 referente ao íon molecular.

A 1,3-dimetil-1,3,5-triazina-2,4,6-triona (**4**) foi atribuída a este pico, após a análise comparativa com o espectro de massas da literatura (Figura 4.22b). Esta substância foi também anteriormente relatada como um produto da ozonização da cafeína por Kolonko e colaboradores.¹³ Curiosamente, o íon $[\mathbf{4} + \text{H}]^+$ de m/z 158 ou $[\mathbf{4} + \text{Na}]^+$ de m/z 180 não foram detectados nos espectros ESI-MS do monitoramento da reação com o sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$. A

não detecção de tais íons talvez esteja relacionada à baixa afinidade por H^+ ou Na^+ do composto **4** em comparação com o produto **2**.

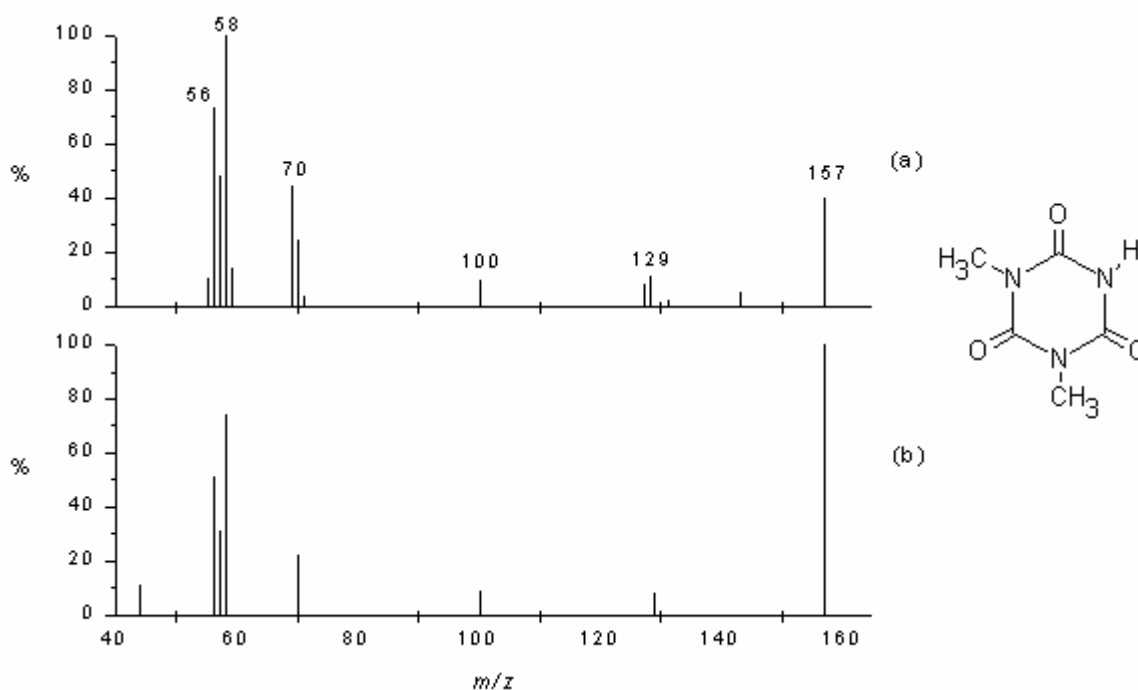
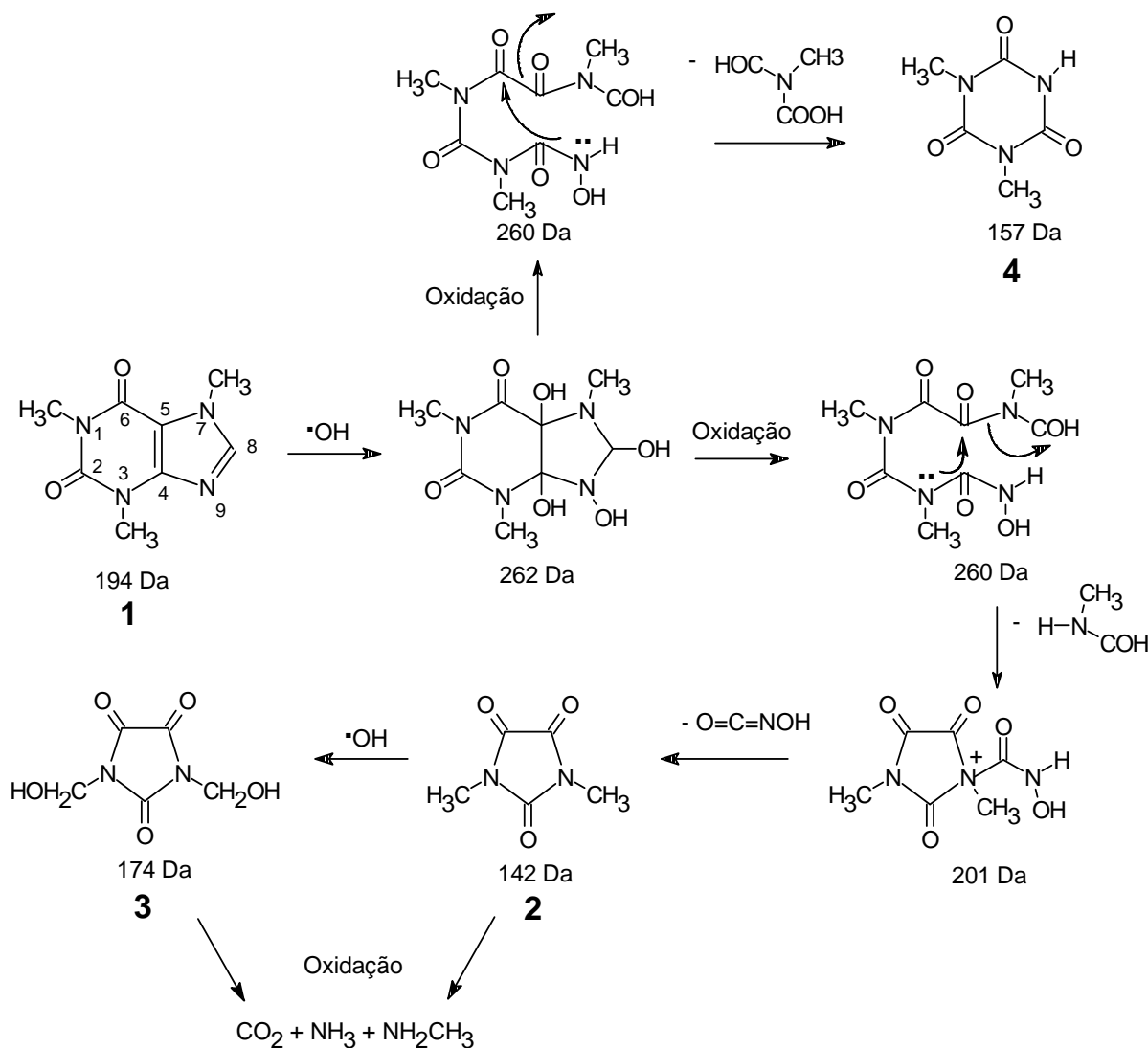


Figura 4.22 – Espectros de massas (EI) referentes à: (a) pico cromatográfico com $tr = 9,9$ min (Figura 4.20b) e (b) padrão 1,3-dimetil-1,3,5-triazina-2,4,6-triona.¹³

Mecanismos de Oxidação

De acordo com os resultados observados a partir das análises ESI-MS, ESI-MS/MS e GC-MS algumas considerações sobre a degradação da cafeína por estes processos oxidativos podem ser feitas. Na degradação de compostos orgânicos pelos sistemas TiO_2/UV , H_2O_2/UV e Fenton assume-se que as oxidações ocorrem, principalmente, via radicais hidroxilas gerados *in situ*.²¹ Deste modo, uma proposta para a degradação da cafeína nestes sistemas e para a formação dos compostos **2**, **3** e **4** é apresentada no Esquema 4.5.

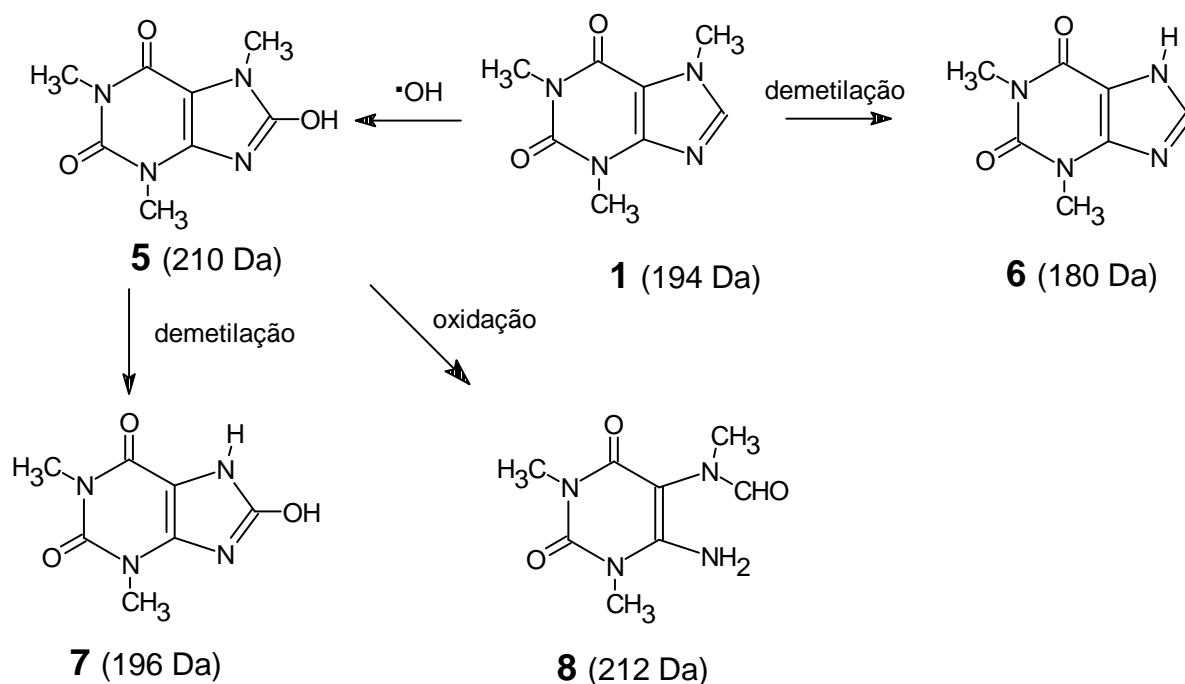


Esquema 4.5 – Proposta de oxidação da cafeína e formação de ácido 1,3-dimetilparabânico, (2), ácido 1,3-di(hidroximetil)parabânico (3) e 1,3-dimetil-1,3,5-triazina-2,4,6-triona (4).

Segundo este esquema, a conversão da cafeína em ácido 1,3-dimetilparabânico envolve um ataque inicial dos radicais hidroxila às duplas ligações em C4-C5 e C8-N9 da cafeína. Após este ataque, e a partir de sucessivas hidroxilações e oxidações dos intermediários descritos no esquema, os produtos 2 e 3 são formados. Em uma última etapa, estes produtos seriam lentamente oxidados a CO_2 , NH_3 e CH_3NH_2 . Um mecanismo similar pode ser sugerido para a formação de 4 a partir do ataque radicalar por HO^\bullet em C4-C5 e C8-N9, seguida do ataque de N9 no C6 (Esquema 4.5).

A reação da cafeína com radicais $\text{SO}_4^{\bullet-}$ produzindo o ácido 1,3,7-trimetilúrico (**5**) como resultado da hidroxilação do C8 da cafeína, já foi previamente relatada por Telo e Vieira.²² Sob condições similares a um sistema Fenton, Stadler e colaboradores detectaram a N-demetilação em N1, N3 e N7 e a hidroxilação no C8 da cafeína, cujos produtos principais foram o ácido 1,3-dimetilúrico (**7**) e também o ácido 6-amino-5-(N-formilmetil-amino)-1,3-dimetiluracil (**8**).¹⁴

Apesar dos compostos **5**, **6**, **7** e **8** já terem sido relatados como produtos da reação da cafeína com radicais, eles não foram detectados nas suas formas protonadas pelo monitoramento ESI-MS das reações avaliadas neste trabalho. No entanto, a presença do íon de m/z 181 no espectro ESI-MS, Figura 4.14b, pode indicar uma possível formação de intermediários N-demetilados, tais como **6** (Esquema 4.6), sob as condições experimentais utilizadas nas reações. No entanto, a formação de **6** e similares não pôde ser confirmada por análises ESI-MS/MS, devido à baixa intensidade do sinal.



Esquema 4.6 – Proposta de hidroxilação e demetilação da cafeína.

Uma justificativa para a dificuldade de detectar tais compostos é que os produtos **5-8** podem ser convertidos em ácido 1,3-dimetilparabânico (**2**) via um mecanismo similar ao descrito no Esquema 4.5. Sendo assim, propõe-se que a cafeína pode ser inicialmente atacada

por radicais hidroxila para produzir **5-8** (Esquema 4.6), e estes são posteriormente convertidos em **2** sob as condições oxidativas utilizadas nestas reações.

4.2.4 Conclusões

Neste trabalho, a degradação da cafeína pelos processos oxidativos avançados TiO₂/UV, H₂O₂/UV e Fenton foi avaliado. Nas condições oxidativas empregadas foram encontrados altas taxas de degradação da cafeína com baixo grau de mineralização, indicando que as reações ocorreram com a formação de intermediários orgânicos. A partir dos resultados de ESI-MS, ESI-MS/MS e GC-MS foi possível identificar três intermediários da degradação incompleta da cafeína. Dois deles já foram previamente relatados como produtos da ozonização da cafeína: o ácido 1,3-dimetilparabânico (**2**) e a 1,3-dimetil-1,3,5-triazina-2,4,6-triona (**4**). O terceiro intermediário detectado, o ácido 1,3-di(hidroximetil)parabânico (**3**), até a publicação deste estudo²³, não havia sido citado na literatura como produto de oxidação da cafeína. Portanto, as análises por ESI-MS e ESI-MS/MS mostraram-se adequadas para o monitoramento dos processos oxidativos estudados, devido a sua capacidade em detectar intermediários protonados em fase aquosa. Os resultados obtidos por GC-MS confirmaram a presença do ácido 1,3-dimetilparabânico (**2**), gerando mais uma evidência de sua presença como intermediário da degradação da cafeína. A análise por GC-MS também permitiu a detecção de **4**, que curiosamente não foi detectado por ESI-MS. Por outro lado, o composto **3** não foi detectado por GC-MS. Isto pode estar associado, provavelmente, à sua polaridade ou baixa estabilidade térmica, ou ainda a perdas e/ou degradação durante o preparo das amostras para as análises por GC-MS. A detecção deste intermediário por ESI-MS demonstra uma típica vantagem do uso desta técnica de análise para detectar espécies polares ou instáveis para serem detectadas, por exemplo, por GC-MS.

4.3 Monitoramento da Degradação da Tetraciclina por Ozonização

4.3.1 Tetraciclina

A ocorrência de antibióticos, uma das classes de fármacos mais utilizados na terapia farmacológica, em águas superficiais e efluentes de estações de tratamento de esgoto tem sido frequentemente registrada.^{4,24} Os antibióticos são especialmente significativos como poluentes ambientais, já que podem apresentar efeitos tóxicos em organismos aquáticos e também promover o desenvolvimento de bactérias resistentes.²⁵

A tetraciclina (9) pertence a uma classe de antibióticos, as tetraciclinas, que exibem atividade contra uma ampla faixa de microorganismos, incluindo bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, protozoários, clamídias e micoplasmas. Suas propriedades físico-químicas são descritas na Tabela 4.8.

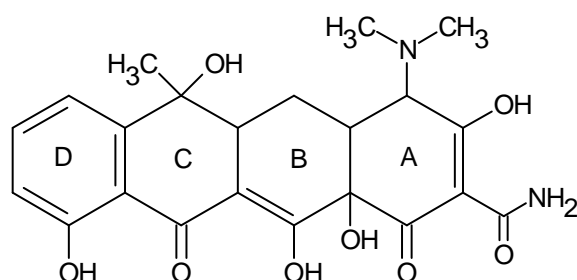


Figura 4.23 – Estrutura da tetraciclina (9).

Tabela 4.8 – Propriedades físico-químicas da tetraciclina.¹⁰

| | |
|-----------------------------|--|
| Nome | Tetraciclina, Ambracina 4-(dimetilamina)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahidro-3,6,10,12,12a-pentahidroxi-6-metil-1,11-dioxo-naftaceno-2-carboxamida |
| CAS RN | 60-54-8 |
| Fórmula molecular | C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈ |
| Massa molar | 444,43 g.mol ⁻¹ |
| Descrição | Sólido amarelo cristalino sem odor |
| Ponto de fusão | 214-215°C |
| Solubilidade em água | 1,7 mg.mL ⁻¹ |
| pka | pka ₁ = 3,30 ; pka ₂ = 7,68 ; pka ₃ = 9,69 |

As tetraciclinas são usadas no tratamento de doenças infecciosas em humanos e animais, como aditivos alimentares (suinocultura, avicultura, bovinocultura e aquíicultura), e na agricultura (inibição do crescimento de fungos em frutas, por exemplo). Uma estimativa de consumo das tetraciclinas na década de 1990 foi de 5.500 toneladas/ano nos Estados Unidos e Europa.²⁶ A ocorrência de tetraciclinas tem sido reportada em amostras coletadas em lagoa de deposição de rejeitos de porcos ($700 \mu\text{g.L}^{-1}$)²⁷, em solos fertilizados com esterco animal (32,3 ppb e 82,2-171,7 ppb)^{28,29}, e amostras de diversas instalações de tratamento de águas residuárias (afluente e efluente)³⁰.

Alguns estudos sobre processos oxidativos envolvendo a tetraciclina como substrato já foram relatados na literatura, por exemplo, a avaliação da influência dos parâmetros da reação na eficiência de um sistema foto-Fenton³¹, e da degradação da tetraciclina por TiO_2/UV ³² e por oxidação eletroquímica.³³ Embora o número de estudos sobre a degradação de antibióticos por processos oxidativos tenha aumentado, são poucos os que focaram a detecção dos compostos produzidos no processo de degradação.^{34,35}

A degradação de fármacos pelo processo de ozonização tem se mostrado uma alternativa promissora para o tratamento destes poluentes.^{36,37,38} Este processo também tem sido proposto para a desinfecção de lagoas de tratamento de dejetos de suínos, locais com provável ocorrência de tetraciclinas.³⁹ Já em relação à ozonização da tetraciclina, até recentemente não se encontravam relatos sobre este tema na literatura, exceto por um estudo sobre cinética da reação entre o ozônio e sítios bioquimicamente essenciais de diversos antibióticos, incluindo a tetraciclina, feito por Dodd e colaboradores em 2006.⁴⁰ Neste estudo, os autores indicam que a ozonização é eficiente na desativação destes sítios, mas nenhuma avaliação mais aprofundada sobre os possíveis produtos desta reação foi feita.

Neste trabalho, a degradação da tetraciclina por ozônio em solução aquosa foi avaliada. A reação foi monitorada por HPLC, espectrofotometria UV-Vis e COT, para estimar a degradação do substrato, bem como a presença de compostos orgânicos residuais. A ESI-MS foi utilizada na determinação de intermediários e/ou produtos diretamente da solução da reação. A LC-APCI-MS foi utilizada para confirmar os resultados obtidos por ESI-MS.

4.3.2 Parte Experimental

Reagentes

Os reagentes hidrocloreto de tetraciclina (Sigma-Aldrich, Milwaukee, WI), acetonitrila grau HPLC (JT Baker, Phillipsburg, NJ) e ácido oxálico (Sigma-Aldrich) foram utilizados sem prévia purificação. Água bi-destilada foi utilizada, em todos os experimentos, para o preparo das soluções. O ozônio foi produzido por um gerador de ozônio (Eletro-Triozone, Florida/MS, Brasil) alimentado com ar sintético puro (99,99%, White Martins). O fluxo do ozônio ($2,5 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$) foi determinado pelo método titulométrico com $\text{KI-Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

Ozonização

Uma solução aquosa de hidrocloreto de tetraciclina (200 mL, $2 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 88,9 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, pH natural = 3) foi continuamente borbulhada com um fluxo de ozônio/ar do gerador. As alíquotas da solução foram coletadas em função do tempo de exposição ao fluxo de ozônio/ar e foram imediatamente submetidas a um sonificador por 1 min e armazenadas a 4 °C. Estas alíquotas foram analisadas por COT, HPLC (método 2), UV-Vis, ESI-MS (método 2), e LC-APCI-MS.

4.3.3 Resultados e Discussão

Degradação da Tetraciclina

A Figura 4.24 mostra o monitoramento da concentração da tetraciclina e do conteúdo de carbono orgânico total durante a ozonização. Pode-se observar que a tetraciclina sofre um acentuado consumo e que apenas 5% do carbono orgânico é removido. Estes resultados sugerem que o processo de ozonização promove a degradação da tetraciclina, mas não leva a mineralização completa.

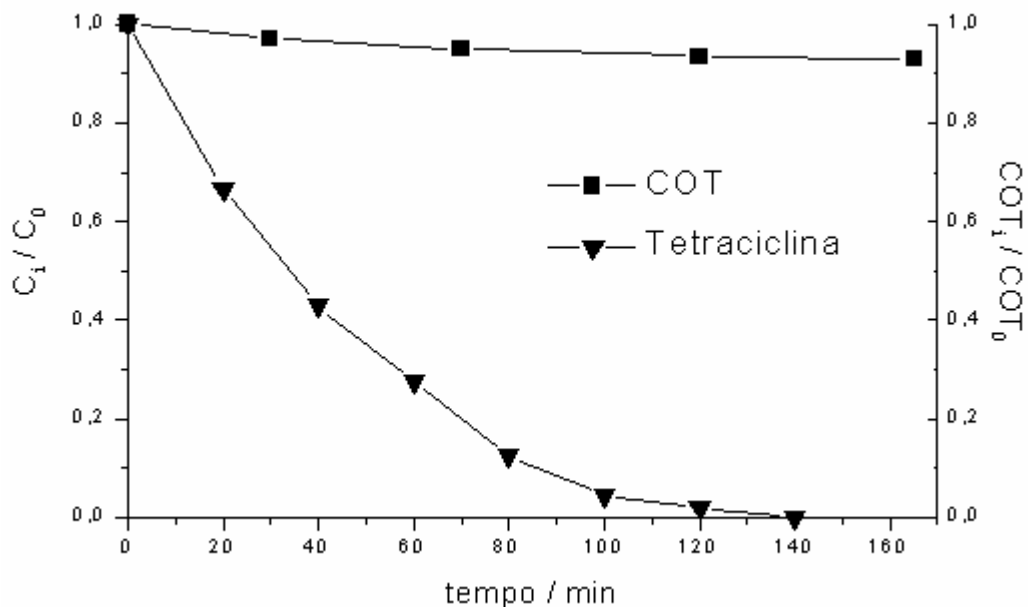


Figura 4.24 – Concentração de tetraciclina normalizada (C_i/C_0), monitorada por HPLC e conteúdo de carbono orgânico total normalizado (COT_i/COT_0) em função do tempo para a ozonização da tetraciclina. Condições: $C_0 = 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ e $COT_0 = 52,8 \text{ mg.L}^{-1}$.

Estes resultados indicam que outros compostos orgânicos são formados em solução e que o processo de mineralização é lento sob as condições oxidativas empregadas. Isto pode, também, ser visualizado nos cromatogramas HPLC, Figura 4.25. Nestes cromatogramas pode-se observar que a intensidade do pico da tetraciclina ($t_r = 12 \text{ min}$) diminui com o avanço da reação e que novos picos, com tempos de retenção menores que o da tetraciclina, são detectados nos cromatogramas das alíquotas da reação. Foi observado, também, que o pico com t_r em torno de 10 min alcança uma área máxima em 80 min. Após este tempo de reação a sua área sofre uma contínua diminuição, indicando que este composto é consumido durante a reação. Além disso, estes resultados indicam que estes novos compostos podem ser mais polares que a tetraciclina, já que a interação destes com a fase estacionária da coluna (C18) é menor.

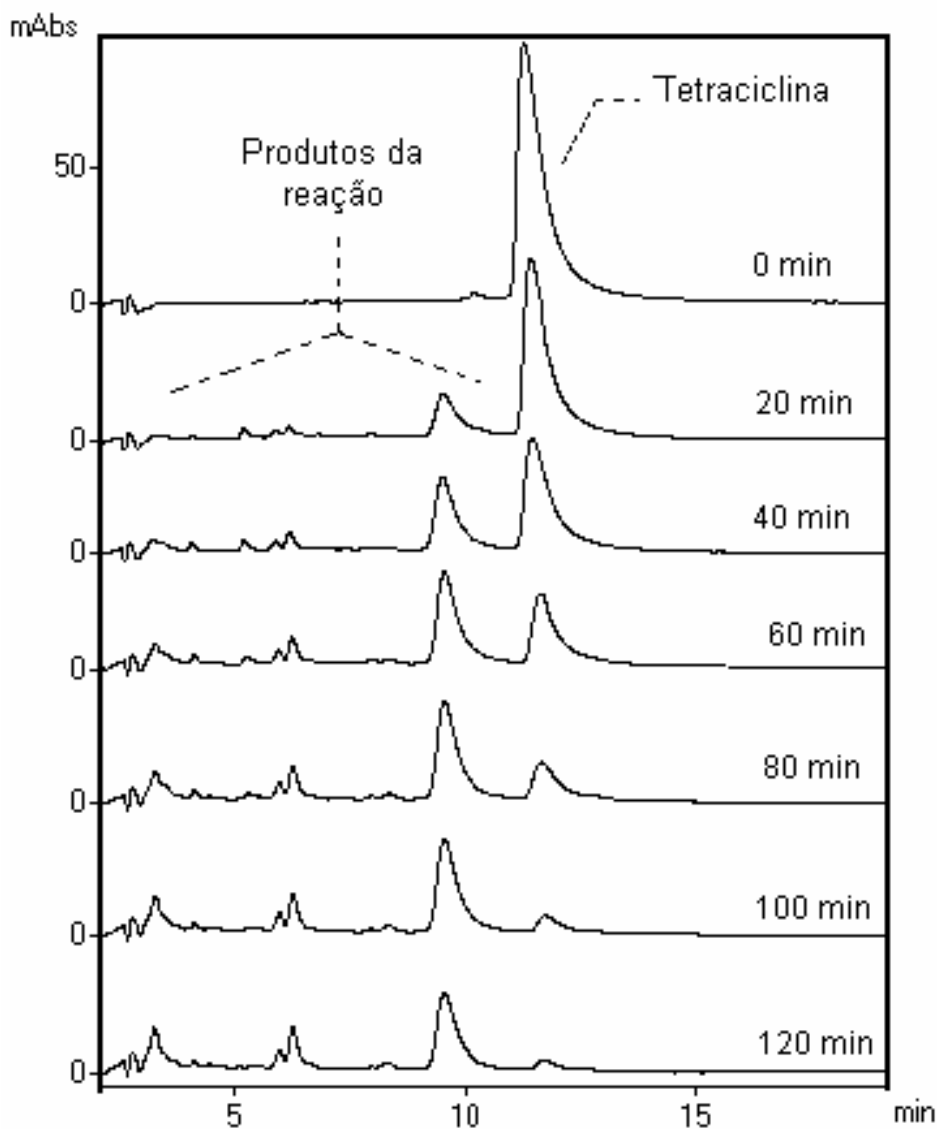


Figura 4.25 – Cromatogramas HPLC/UV (método 2, $\lambda = 275$ nm) das alíquotas retiradas entre 0 e 120 min de reação da tetraciclina com ozônio em fase aquosa.

A degradação da tetraciclina foi também monitorada por espectrofotometria UV-Vis. A Figura 4.26 mostra os espectros UV-Vis da solução aquosa da tetraciclina a $2,0 \times 10^{-4}$ mol.L⁻¹ e das alíquotas retiradas em tempos de reação sucessivos de 20 a 120 min.

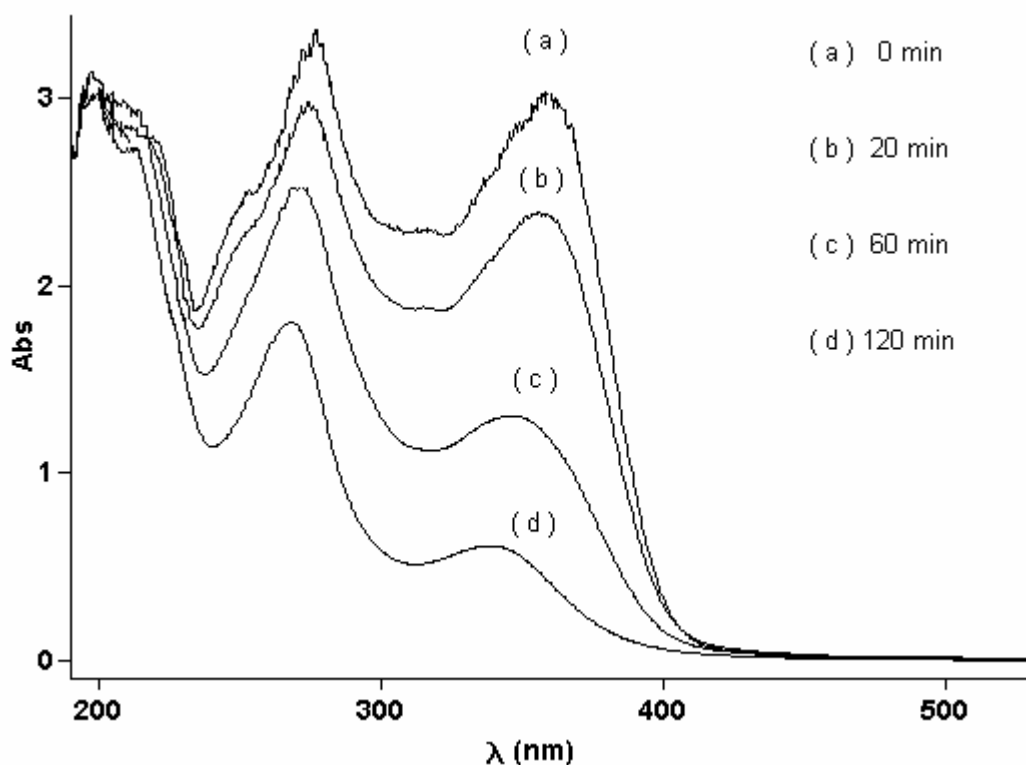


Figura 4.26 – Espectros UV-Vis de: (a) solução aquosa de tetraciclina a $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, e (b)-(d) das alíquotas da solução retiradas após diferentes tempos de reação com ozônio.

O espectro de absorção da tetraciclina é resultante da superposição de dois grupos cromóforos.⁴¹ Esta molécula possui quatro anéis condensados, com seis carbonos cada, denominados A, B, C e D, Figura 4.23. O anel A possui o primeiro grupo cromóforo que contribui somente para a absorbância entre 250-300 nm, enquanto que o segundo grupo cromóforo, localizado nos anéis B-C-D, contribui para a absorbância em ambas as regiões 250-300 e 320-380 nm. Já os espectros das alíquotas da reação apresentam um decréscimo significativo da absorbância nas duas bandas características da tetraciclina e um deslocamento hipsocrômico do máximo de absorbância em 360 para 340 nm. Estes resultados indicam que, sob as condições utilizadas na reação, o consumo de tetraciclina ocorre juntamente com a formação de alguns compostos com um perfil de absorção no UV similar ao da tetraciclina, e que as modificações estruturais ocorreram, provavelmente, nos dois grupos cromóforos da mesma.

Monitoramento por ESI-MS

O monitoramento ESI-MS, para caracterizar os intermediários formados, foi feito e os espectros obtidos em vários tempos de ozonização são mostrados na Figura 4.27. A Figura 4.27a mostra o espectro ESI-MS da solução da tetraciclina (**9**) a $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, onde se pode observar, como íon mais intenso, o de m/z 445, correspondente à tetraciclina protonada [**9** + H]⁺.

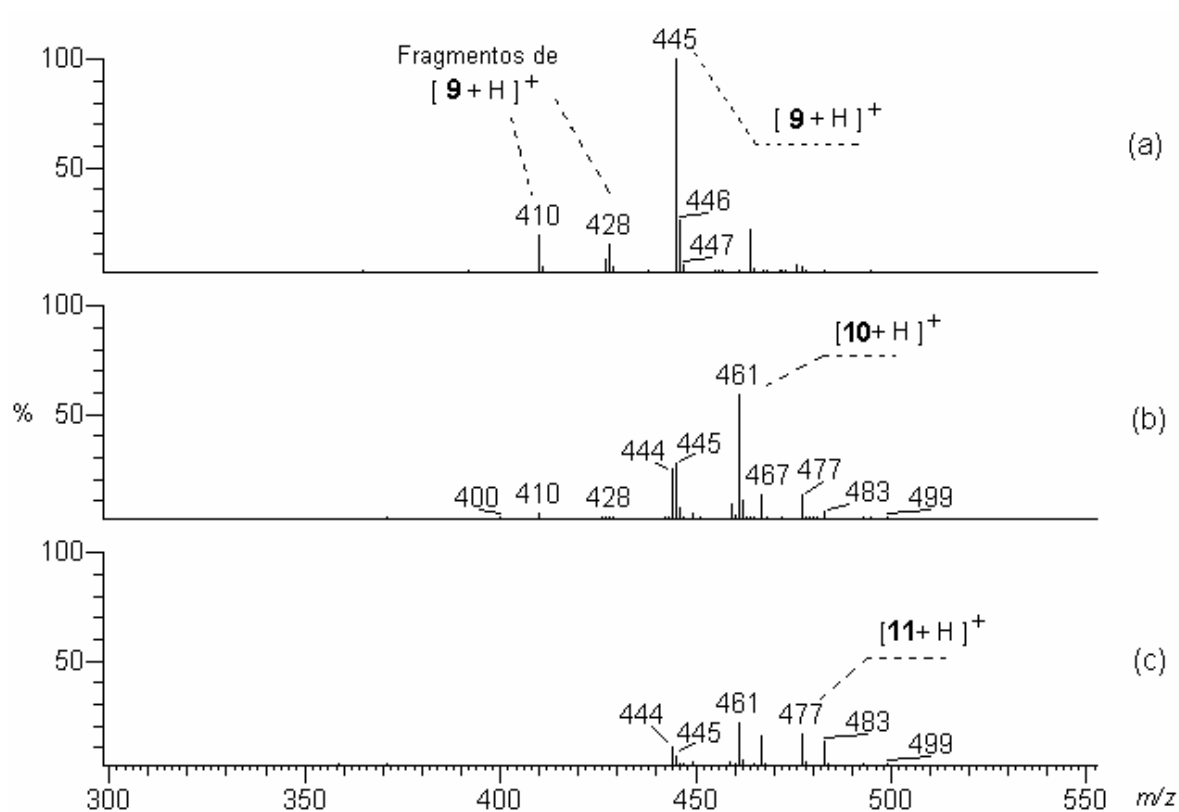


Figura 4.27 – Espectros ESI-MS obtidos a partir de alíquotas da ozonização da tetraciclina: (a) 0 min, (b) 60 min e (c) 140 min.

Experimentos de dissociação induzida por colisão (CID) do íon m/z 445 foram feitos, ESI-MS² e ESI-MS³, e os espectros são mostrados na Figura 4.28. Como resultado pode-se observar a seqüência: m/z 445 \rightarrow m/z 428 \rightarrow m/z 410, relativas a perdas de 17 Da (NH₃) e 18 Da (H₂O). A rota proposta para a fragmentação deste íon é mostrada no Esquema 4.7, na qual a perda de H₂O, envolvendo a hidroxila de C6, foi proposta baseada em resultados já descritos na literatura.^{42,43,44}

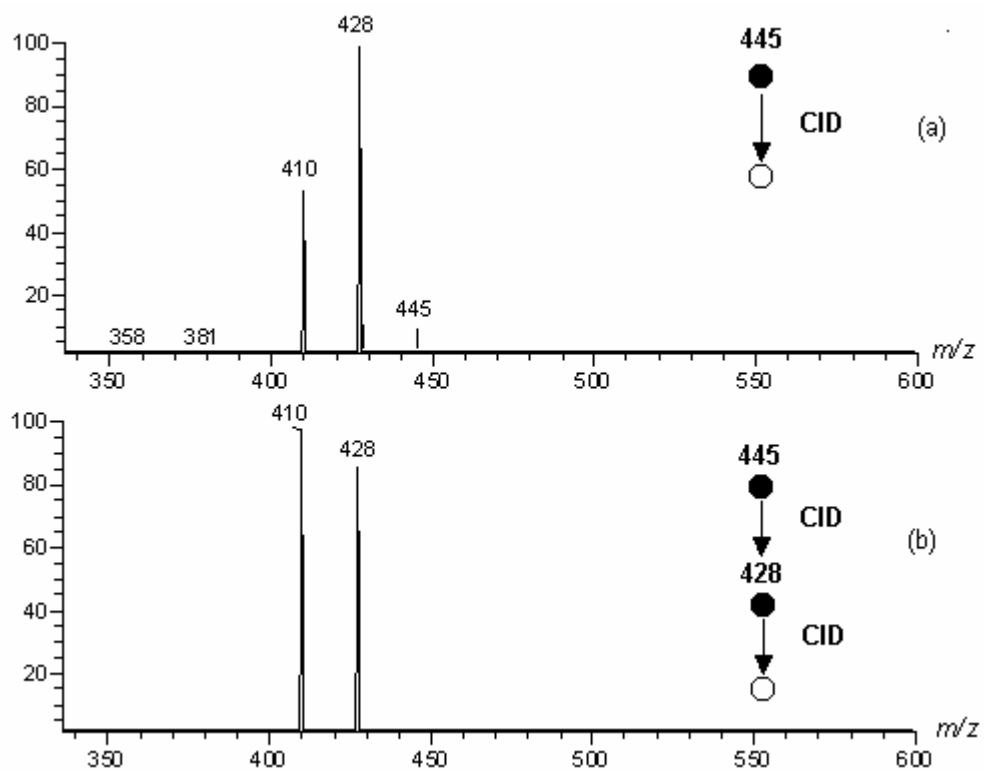
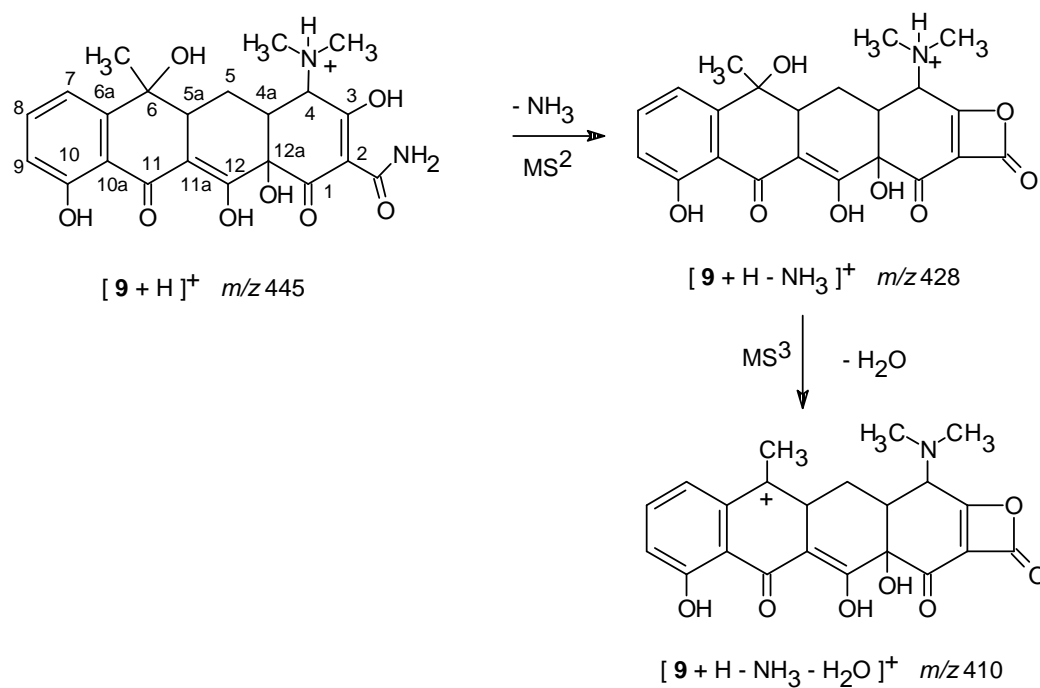


Figura 4.28 – Espectros ESI-MS² (a) e ESI-MS³ (b) do íon de m/z 445 atribuído a $[\mathbf{9} + \text{H}]^+$.



Esquema 4.7 – Rota de fragmentação por CID proposta para o íon precursor $[\mathbf{9} + \text{H}]^+$ (m/z 445) e do seu fragmento $[\mathbf{9} + \text{H} - \text{NH}_3]^+$ (m/z 428).

O processo de degradação foi monitorado em intervalos de 20 min. Os espectros ESI-MS das alíquotas retiradas em 60 e 140 min são mostradas na Figura 4.27b-c. Nestes espectros pode-se observar que a intensidade do íon de m/z 445 decresceu consideravelmente com o aumento do tempo de reação, enquanto que dois novos íons, m/z 461 e 477, são claramente detectados devido ao aumento de sua intensidade. Estes íons possuem 16 e 32 Da de acréscimo de massa em relação ao íon de m/z 445. Para tempos de reação maiores (180 min), o monitoramento por ESI-MS (espectros não mostrados) revela que a intensidade do íon m/z 461 diminui enquanto que a intensidade do íon m/z 477 aumenta.

Experimentos de dissociação induzida por colisão (CID) dos íons de m/z 461 e 477, atribuídos a $[\mathbf{10} + \text{H}]^+$ e $[\mathbf{11} + \text{H}]^+$, respectivamente, foram feitos e os espectros são mostrados na Figura 4.29.

A seleção e fragmentação dos íons de m/z 461 e 477 nos experimentos ESI-MS² produzem, como fragmentos principais, os íons de m/z 444 e 460, respectivamente, com uma diferença de massa de 17 Da, que foi atribuída a perda de NH₃. Nos experimentos ESI-MS³ para os íons de m/z 444 e 460 observou-se, como principais fragmentos, íons correspondentes à perda de 44 Da, diferentemente do perfil de fragmentação observado para $[\mathbf{9} + \text{H}]^+$, que se dissocia preferencialmente via perda de 17 Da e, posteriormente, de 18 Da. A proposta estrutural e as rotas de fragmentação por CID dos íons m/z 461 ($[\mathbf{10} + \text{H}]^+$) e m/z 477 ($[\mathbf{11} + \text{H}]^+$) é apresentada no Esquema 4.8.

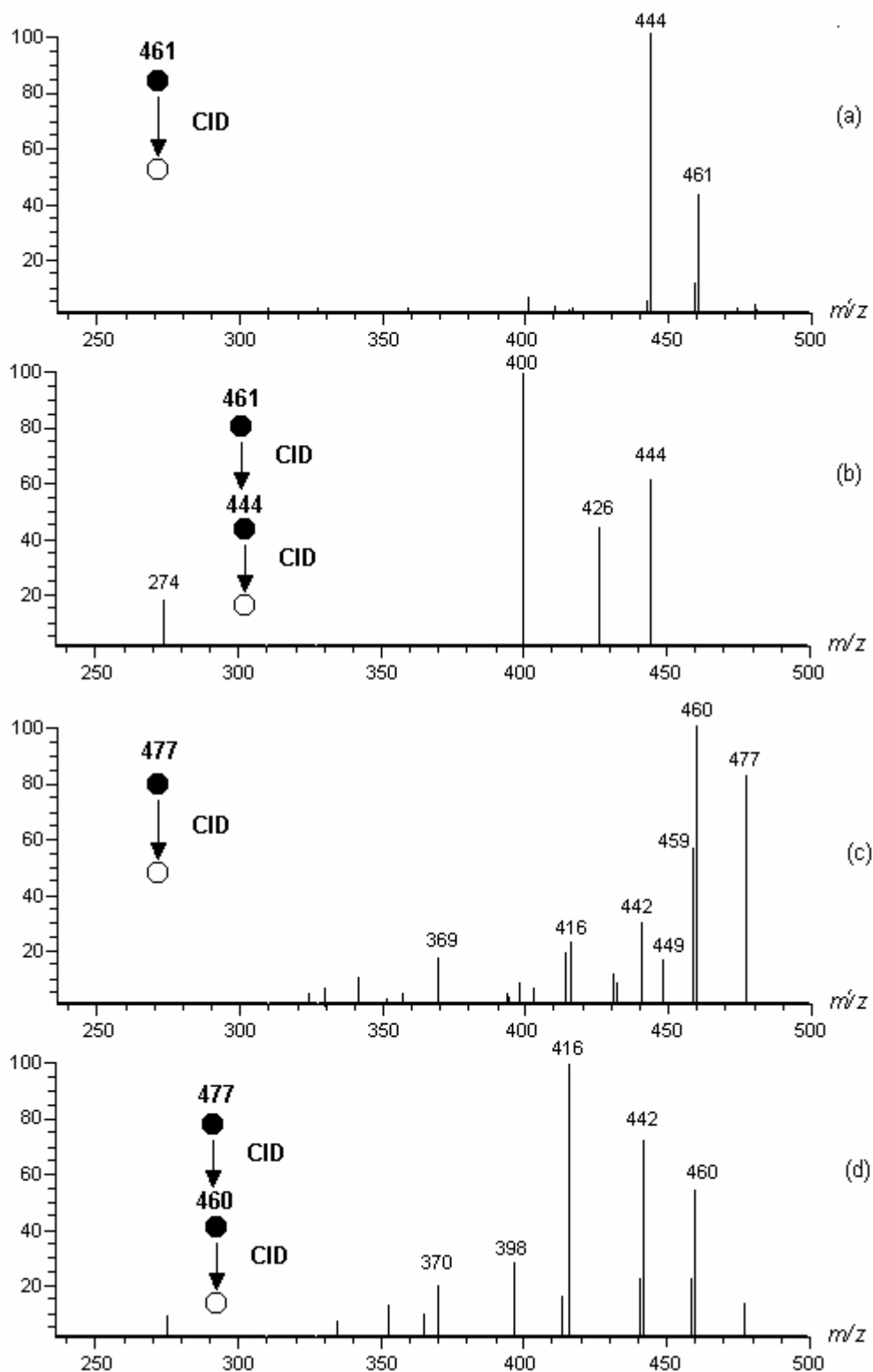
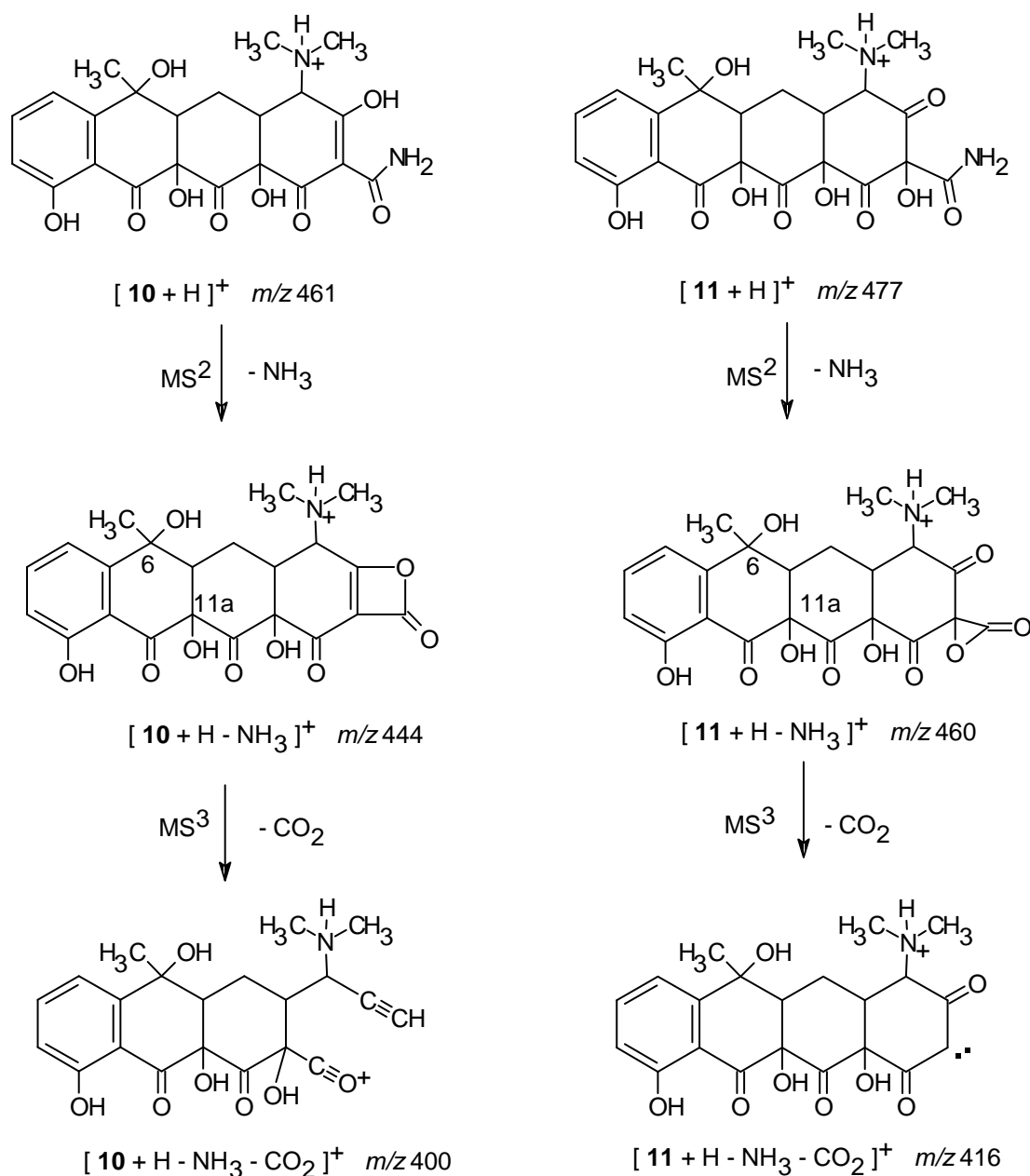


Figura 4.29 – Espectros ESI-MS² e ESI-MS³ dos íons de m/z 461 (a-b) e 477 (c-d), atribuídos a $[10 + H]^+$ e $[11 + H]^+$, respectivamente.



Esquema 4.8 – Rota de fragmentação por CID proposta para os íons precursores $[10 + H]^+$ (m/z 461) e $[11 + H]^+$ (m/z 477) e dos seus respectivos fragmentos $[10 + H - NH_3]^+$ (m/z 444), e $[11 + H - NH_3]^+$ (m/z 460).

Uma justificativa para a discrepância observada no perfil de fragmentação de $[10 + H]^+$ e $[11 + H]^+$ em relação a $[9 + H]^+$ pode ser proposta quando se considera a presença da hidroxila no C11a nas estruturas propostas para estes íons. A formação de ligação de hidrogênio entre a hidroxila C6 e a hidroxila C11a poderia dificultar a perda de água e, como consequência, tornando mais propensa à perda de CO₂. Nota-se ainda alguns sinais menos abundantes relativos à perda de H₂O nos espectros ESI-MS³, nos quais se observam as

seqüências de fragmentação m/z 461 \rightarrow m/z 444 \rightarrow m/z 426 (Figura 4.29a-b) e m/z 477 \rightarrow m/z 460 \rightarrow m/z 442 (Figura 4.29c-d), com perdas sucessivas de 17 e 18 Da.

Na Figura 4.27 observa-se, ainda, outros íons de m/z 467, 483 e 499 cujas atribuições propostas foram $[\mathbf{9} + \text{Na}]^+$, $[\mathbf{10} + \text{Na}]^+$ e $[\mathbf{11} + \text{Na}]^+$, respectivamente. A partir do monitoramento do processo de degradação pode-se também observar que as intensidades dos íons atribuídos à espécie **10** ($[\mathbf{10} + \text{H}]^+$ e $[\mathbf{10} + \text{Na}]^+$) diminuem a partir de 80 min de ozonização.

Monitoramento por LC-APCI-MS

Para obter informações complementares, alíquotas da reação coletadas em intervalos de 30 min foram monitoradas por LC-APCI-MS. A escolha da fonte APCI como interface foi devido às típicas condições desta fonte que podem evitar a obstrução do capilar, normalmente causada pelo uso de fase móvel com ácido oxálico.⁴⁵ A Figura 4.30 mostra os cromatogramas de íons totais (TIC - *Total Ion Chromatogram*) da solução aquosa de tetraciclina e das alíquotas da reação retiradas em 30, 90 e 150 min.

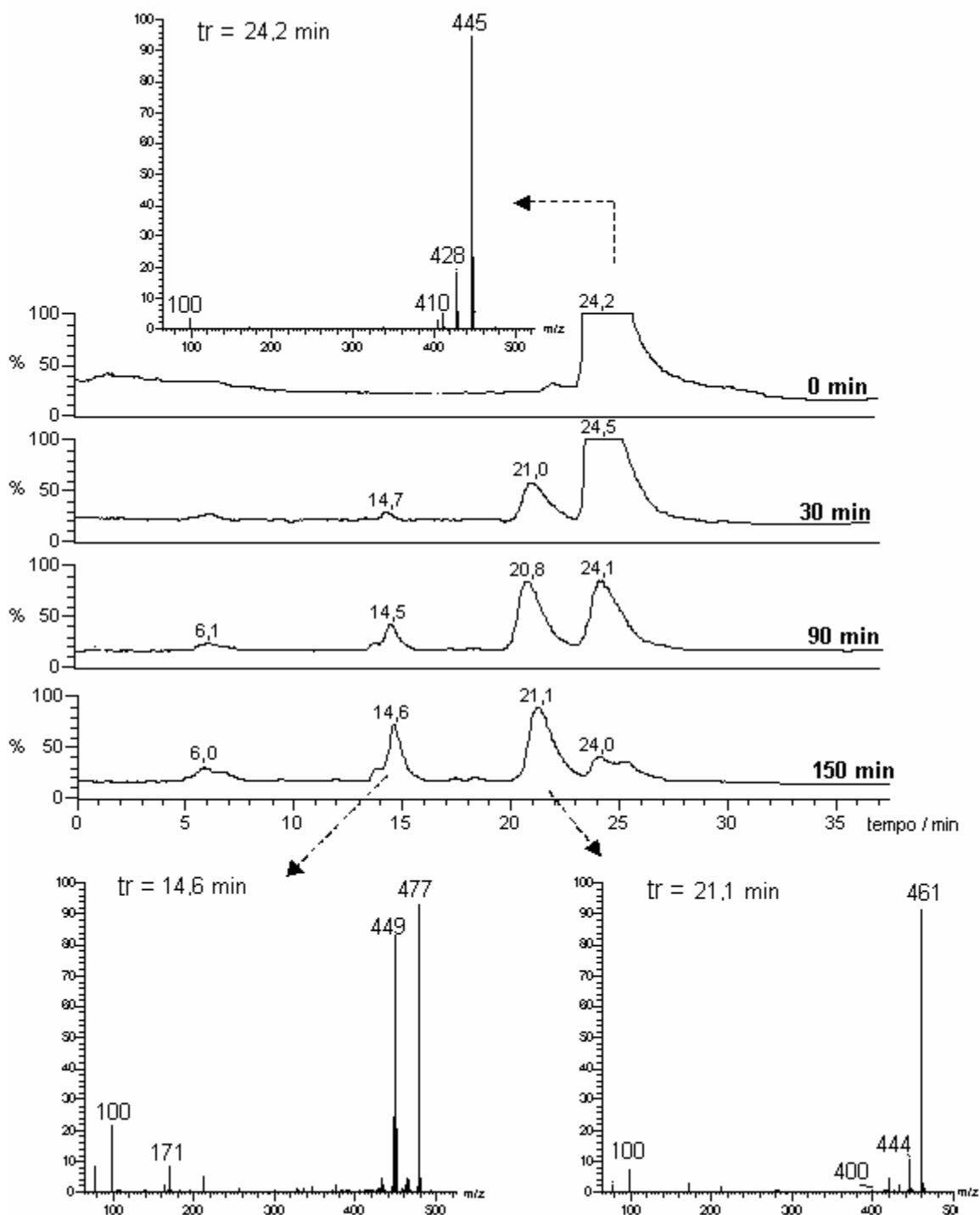
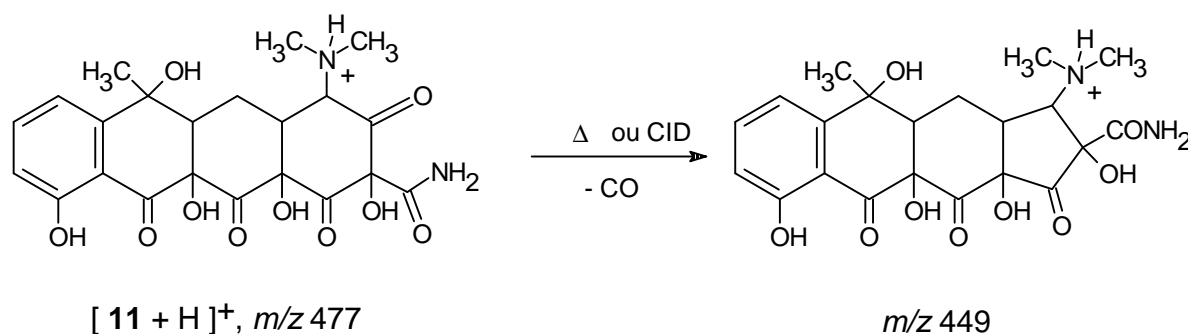


Figura 4.30 – Cromatogramas de íons totais LC-APCI-MS do monitoramento da degradação da tetraciclina por O_3 em solução aquosa nos tempos 0, 30, 90 e 150 min de reação. Os espectros APCI-MS correspondem aos picos com tempo de retenção de 24,2, 21,1 e 14,6 min.

Nesta figura pode-se notar que o perfil dos cromatogramas é similar ao daqueles obtidos nas análises por HPLC/UV (Figura 4.25). Os espectros APCI-MS dos principais picos cromatográficos são também mostrados na Figura 4.30 nos quais se notam, como sinais proeminentes, os de m/z 445, 461 e 477 correspondentes aos picos com tempos de 24,2, 21,1 e 14,6 min, respectivamente. Isto indica que estes dois novos picos estão relacionados com os compostos atribuídos a **10** ($[\mathbf{10} + \text{H}]^+$, m/z 461) e a **11** ($[\mathbf{11} + \text{H}]^+$, m/z 477), previamente caracterizados por ESI-MS. No espectro do pico com $t_r = 14,6$ min pode-se notar ainda presença do íon de m/z 449, que foi proposto ser um fragmento do íon de m/z 477 através da perda de CO (28 Da), devido a eventos de dissociação ocorridos na fonte pelas condições APCI empregadas (450 °C), Esquema 4.9.

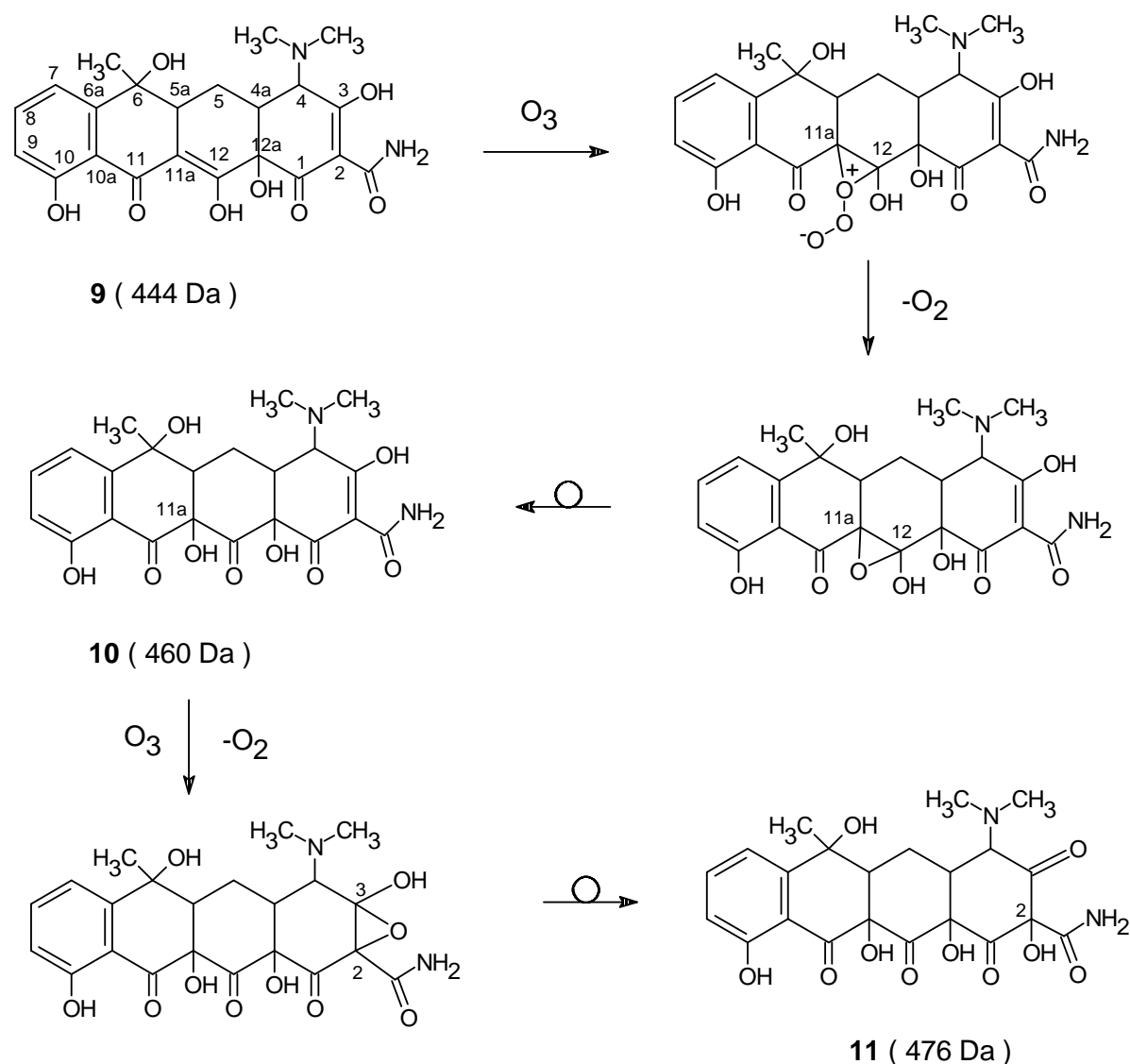


Esquema 4.9 – Formação do íon de m/z 499 via extrusão do CO a partir do íon $[\mathbf{11} + \text{H}]^+$ de m/z 477.

Mecanismos de Oxidação

De acordo com os resultados observados anteriormente, algumas considerações sobre a degradação da tetraciclina em solução aquosa por ozônio podem ser feitas. Em meio aquoso, o ozônio pode reagir com compostos orgânicos via a adição direta a duplas ligações (C=C, C=N, N=N) e/ou via reação com radicais hidroxilas formados durante a decomposição do ozônio (principalmente em soluções com elevado pH).^{46,47} Fundamentado nisto, a formação do produto de oxidação **10** é proposta ocorrer via uma adição 1,3-dipolar do ozônio à dupla ligação C11a-C12 da tetraciclina (**9**), produzindo um intermediário instável.⁴⁸ Deve-se observar que a dupla ligação C11a-C12, que está ligada a apenas um substituinte eletroretirador (carbonila C11), é mais susceptível ao ataque do ozônio do que a outra dupla ligação disponível (C2-C3), que possui duas carbonilas como substituintes.^{49,50} O intermediário formado se decompõe rapidamente, via liberação de O₂, para gerar outro

intermediário epóxido instável. A formação de epóxido durante a reação de ozonização é um processo comum de ocorrer quando substituintes volumosos estão conectados às duplas ligações,⁵¹ como no caso das duplas ligações da tetraciclina. Desse modo, sugere-se que este epóxido sofra um rearranjo, facilitado pela presença do grupo hidroxila em C12, para formar o produto **10**. É interessante notar que o pico cromatográfico associado a **10** atinge uma área máxima (ou seja, uma concentração máxima) entre 80 e 120 min de reação, indicando que este composto é também consumido durante a reação. Sendo assim, a formação do produto **11** é proposta ocorrer via a reação do ozônio com a dupla ligação C2-C3 do composto **10**, através de um mecanismo similar ao descrito anteriormente. Os mecanismos propostos são mostrados no Esquema 4.10.



Esquema 4.10 – Mecanismo de reação proposto para a formação dos produtos **10** e **11** da reação da tetraciclina (**9**) com ozônio em solução aquosa.

A formação de diversos produtos de oxidação pela reação do ozônio com o anel benzênico de **9**, outro possível sítio de ataque⁴⁰, não foi considerado, uma vez que os compostos aromáticos são menos propensos ao ataque do ozônio do que as olefinas convencionais, principalmente nas condições moderadas aqui utilizadas.⁵² Além disso, as modificações estruturais propostas para formação de **10** e **11** podem justificar os resultados observados na modificação do perfil de absorbância das alíquotas da reação nos espectros UV-Vis (Figura 4.26), já que os dois grupos cromóforos foram afetados. Outro aspecto interessante a ser mencionado é que os átomos de oxigênio das carbonilas e hidroxilas presentes na tetraciclina desempenham um papel importante na atividade antibacteriana, embora seu completo mecanismo não seja ainda conhecido.⁵³ Sendo assim, os produtos **10** e **11** poderiam possuir uma atividade similar à tetraciclina, uma vez que estes sítios foram preservados na sua estrutura. Além disso, o aumento da polaridade, e conseqüentemente da solubilidade em água em comparação com **9**, pode facilitar o transporte e a distribuição destes compostos no meio ambiente.

4.3.4 Conclusões

Neste trabalho, a degradação da tetraciclina (**9**) em solução aquosa pelo processo de ozonização foi avaliada. Nas condições oxidativas empregadas foi observado uma elevada taxa de degradação, mas com baixo grau de mineralização. Os resultados das análises por HPLC, UV-Vis, ESI-MS e LC-APCI-MS indicaram, além do consumo contínuo da tetraciclina, a simultânea formação de produtos de oxidação, atribuídos aos compostos **10** (tetraciclina hidroxilada em C11a) e **11** (tetraciclina dihidroxilada em C11a e C2). Apesar de alguns artigos reportarem a degradação da tetraciclina por processos oxidativos avançados, estes dois compostos não haviam sido citados na literatura até a publicação deste estudo.⁵⁴ Os resultados ainda indicam que **11** foi provavelmente formado a partir da oxidação de **10**, mas que uma extensiva oxidação destes compostos não ocorre sob as condições oxidativas empregadas. Por último, as análises por ESI-MS e ESI-MSⁿ mostraram-se adequadas para o monitoramento deste processo oxidativo, devido à capacidade em detectar e caracterizar as formas protonadas dos produtos de oxidação diretamente da fase aquosa.

4.4 Referências Bibliográficas

- 1 - Barcelo, D. e M. Petrovic. Reducing the environmental risk from emerging pollutants - Report on the 1st EMCO workshop "Analysis and removal of contaminants from wastewaters for the implementation of the Water Framework Directive (WFD)", Dubrovnik, Croatia, 20-21 October 2005. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v.25, n.3, p.191-193. 2006.
- 2 - Petrovic, M., S. Gonzalez, *et al.* Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v.22, n.10, p.685-696. 2003.
- 3 - Daughton, C. G. e T. A. Ternes. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change? **Environmental Health Perspectives**, v.107, p.907-938. 1999.
- 4 - Halling-Sorensen, B., S. N. Nielsen, *et al.* Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment - A review. **Chemosphere**, v.36, n.2, p.357-394. 1998.
- 5 - Stumpf, M., T. A. Ternes, *et al.* Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Science of the Total Environment**, v.225, n.1-2, p.135-141. 1999.
- 6 - Ternes, T. A., M. Stumpf, *et al.* Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants - I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. **Science of the Total Environment**, v.225, n.1-2, p.81-90. 1999.
- 7 - Daughton, C. G. Environmental stewardship and drugs as pollutants. **Lancet**, v.360, n.9339, p.1035-1036. 2002.
- 8 - Zwiener, C. e F. H. Frimmel. Oxidative treatment of pharmaceuticals in water. **Water Research**, v.34, n.6, p.1881-1885. 2000.
- 9 - Merkel, W. Drug residues in the aquatic environment. New challenges in wastewater purification and drinking water treatment? **Wasser/Abwasser**, v.145, n.5, p.326-335. 2004.
- 10 - Budavari, S. **The merck index : an encyclopedia of chemicals drugs, and biologicals**. 11.en. New Jersey: Rahway. 1989. 1606 p.
- 11 - Gardinali, P. R. e X. Zhao. Trace determination of caffeine in surface water samples by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry (LC-APCI-MS). **Environment International**, v.28, n.6, p.521-528. 2002.
- 12 - Seiler, R. L., S. D. Zaugg, *et al.* Caffeine and pharmaceuticals as indicators of waste water contamination in wells. **Ground Water**, v.37, n.3, p.405-410. 1999.
- 13 - Kolonko, K. J., R. H. Shapiro, *et al.* Ozonation of Caffeine in Aqueous-Solution. **Journal of Organic Chemistry**, v.44, n.22, p.3769-3778. 1979.
- 14 - Stadler, R. H., J. Richoz, *et al.* Oxidation of caffeine and related methylxanthines in ascorbate and polyphenol-driven Fenton-type oxidations. **Free Radical Research**, v.24, n.3, p.225-240. 1996.
- 15 - Huber, M. M., S. Korhonen, *et al.* Oxidation of pharmaceuticals during water treatment with chlorine dioxide. **Water Research**, v.39, n.15, p.3607-3617. 2005.
- 16 - Snyder, S. A., E. C. Wert, *et al.* Ozone oxidation of endocrine disruptors and pharmaceuticals in surface water and wastewater. **Ozone-Science & Engineering**, v.28, n.6, p.445-460. 2006.

- 17 - Liu, W. J., S. A. Andrews, *et al.* Optimal methods for quenching H₂O₂ residuals prior to UFC testing. **Water Research**, v.37, n.15, p.3697-3703. 2003.
- 18 - Neto, B. B., I. S. Scarminio, *et al.* **Planejamento e otimização de experimentos**. Campinas, SP: UNICAMP. 1995
- 19 - Hequet, V., C. Gonzalez, *et al.* Photochemical processes for atrazine degradation: Methodological approach. **Water Research**, v.35, n.18, p.4253-4260. 2001.
- 20 - Lias, S. G., J. E. Bartmess, *et al.* Ion Energetics Data. In: P. J. Linstrom e W. G. Mallard (Ed.). **The NIST Chemistry WebBook** (<http://webbook.nist.gov>). Gaithersburg, MD: National Institute of Standards and Technology, 2001. Ion Energetics Data
- 21 - Huang, C. P., C. Dong, *et al.* Advanced Chemical Oxidation: Its Present Role and Potential Future in Hazardous Waste Treatment. **Waste Management**, v.13, p.361-377. 1993.
- 22 - Telo, J. P. e A. J. S. C. Vieira. Mechanism of free radical oxidation of caffeine in aqueous solution. **Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 2**, n.9, p.1755-1757. 1997.
- 23 - Dalmazio, I., L. S. Santos, *et al.* Advanced oxidation of caffeine in water: On-line and real-time monitoring by electrospray ionization mass spectrometry. **Environmental Science & Technology**, v.39, n.16, p.5982-5988. 2005.
- 24 - Hirsch, R., T. Ternes, *et al.* Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. **Science of the Total Environment**, v.225, n.1-2, p.109-118. 1999.
- 25 - Diaz-Cruz, M. S., M. J. L. De Alda, *et al.* Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v.22, n.6, p.340-351. 2003.
- 26 - Chopra, I. e M. Roberts. Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.65, n.2, p.232-260. 2001.
- 27 - Meyer, M., D. W. Kolpin, *et al.* Occurrence of antibiotics in surface and groundwater near confined animal-feeding operations and wastewater treatment plants using radioimmunoassay and liquid chromatography/electrospray mass spectrometry. **Abstracts of Papers of the American Chemical Society**, v.219, p.U623-U623. 2000.
- 28 - Hamscher, G., S. Sczesny, *et al.* Substances with pharmacological effects including hormonally active substances in the environment: Identification of tetracyclines in soil fertilized with animal slurry. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v.107, n.8, p.332-334. 2000.
- 29 - Hamscher, G., S. Sczesny, *et al.* Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v.74, n.7, p.1509-1518. 2002.
- 30 - Karthikeyan, K. G. e M. T. Meyer. Occurrence of antibiotics in wastewater treatment facilities in Wisconsin, USA. **Science of the Total Environment**, v.361, n.1-3, p.196-207. 2006.
- 31 - Bautitz, I. R. e R. F. P. Nogueira. Degradation of tetracycline by photo-Fenton process - Solar irradiation and matrix effects. **Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry**, v.187, n.1, p.33-39. 2007.

- 32 - Addamo, M., V. Augugliaro, *et al.* Removal of drugs in aqueous systems by photoassisted degradation. **Journal of Applied Electrochemistry**, v.35, n.7, p.765-774. 2005.
- 33 - Weichgrebe, D., E. Danilova, *et al.* Electrochemical oxidation of drug residues in water by the of example of tetracycline, gentamicine and aspirin (R). **Water Science and Technology**, v.49, n.4, p.201-206. 2004.
- 34 - Oka, H., Y. Ikai, *et al.* Photodecomposition Products of Tetracycline in Aqueous-Solution. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.37, n.1, p.226-231. 1989.
- 35 - Davies, A. K., J. F. Mckellar, *et al.* Photo-Chemical Oxidation of Tetracycline in Aqueous-Solution. **Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 2**, n.3, p.369-375. 1979.
- 36 - Ikehata, K., N. J. Naghashkar, *et al.* Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation processes: A review. **Ozone-Science & Engineering**, v.28, n.6, p.353-414. 2006.
- 37 - Huber, M. M., S. Canonica, *et al.* Oxidation of pharmaceuticals during ozonation and advanced oxidation processes. **Environmental Science & Technology**, v.37, n.5, p.1016-1024. 2003.
- 38 - Huber, M. M., A. Gobel, *et al.* Oxidation of pharmaceuticals during ozonation of municipal wastewater effluents: A pilot study. **Environmental Science & Technology**, v.39, n.11, p.4290-4299. 2005.
- 39 - Macauley, J. J., Z. M. Qiang, *et al.* Disinfection of swine wastewater using chlorine, ultraviolet light and ozone. **Water Research**, v.40, n.10, p.2017-2026. 2006.
- 40 - Dodd, M. C., M. O. Buffle, *et al.* Oxidation of antibacterial molecules by aqueous ozone: Moiety-specific reaction kinetics and application to ozone-based wastewater treatment. **Environmental Science & Technology**, v.40, n.6, p.1969-1977. 2006.
- 41 - Schneider, S., M. O. Schmitt, *et al.* Fluorescence kinetics of aqueous solutions of tetracycline and its complexes with Mg²⁺ and Ca²⁺. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v.2, n.11, p.1107-1117. 2003.
- 42 - Kamel, A. M., P. R. Brown, *et al.* Electrospray ionization mass spectrometry of tetracycline, oxytetracycline, chlorotetracycline, minocycline and methacycline. **Analytical Chemistry**, v.71, n.5, p.968-977. 1999.
- 43 - Kamel, A. M., H. G. Fouda, *et al.* Mass spectral characterization of tetracyclines by electrospray ionization, H/D exchange, and multiple stage mass spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v.13, n.5, p.543-557. 2002.
- 44 - Vartanian, V. H., B. Goolsby, *et al.* Identification of tetracycline antibiotics by electrospray ionization in a quadrupole ion trap. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v.9, n.10, p.1089-1098. 1998.
- 45 - Nakazawa, H., S. Ino, *et al.* Simultaneous determination of residual tetracyclines in foods by high-performance liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v.732, n.1, p.55-64. 1999.
- 46 - Glaze, W. H. Drinking-Water Treatment with Ozone. **Environmental Science & Technology**, v.21, n.3, p.224-230. 1987.

-
- 47 - Hoigne, J. e H. Bader. Role of Hydroxyl Radical Reactions in Ozonation Processes in Aqueous-Solutions. **Water Research**, v.10, n.5, p.377-386. 1976.
- 48 - Gillies, J. Z., C. W. Gillies, *et al.* The Ozonolysis of Ethylene - Microwave-Spectrum, Molecular-Structure, and Dipole-Moment of Ethylene Primary Ozonide (1,2,3-Trioxolane). **Journal of the American Chemical Society**, v.110, n.24, p.7991-7999. 1988.
- 49 - Pryor, W. A., D. Giamalva, *et al.* Kinetics of Ozonation .1. Electron-Deficient Alkenes. **Journal of the American Chemical Society**, v.105, n.23, p.6858-6861. 1983.
- 50 - Pryor, W. A., D. Giamalva, *et al.* Kinetics of Ozonation .3. Substituent Effects on the Rates of Reaction of Alkenes. **Journal of the American Chemical Society**, v.107, n.9, p.2793-2797. 1985.
- 51 - Bailey, P. S., H. H. Hwang, *et al.* Mechanisms of Epoxidation During Ozonation of Carbon-Carbon Double-Bonds. **Journal of Organic Chemistry**, v.50, n.2, p.231-234. 1985.
- 52 - Omurchu, C. Ozonolysis of Quinolines - a Versatile Synthesis of Polyfunctional Pyridines. **Synthesis-Stuttgart**, n.11, p.880-882. 1989.
- 53 - Brodersen, D. E., W. M. Clemons, *et al.* The structural basis for the action of the antibiotics tetracycline, pactamycin and hygromycin B on the 30S ribosomal subunit. **Cell**, v.103, n.7, p.1143-1154. 2000.
- 54 - Dalmazio, I., M. O. Almeida, *et al.* Monitoring the degradation of tetracycline by ozone in aqueous medium via atmospheric pressure ionization mass spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v.18, n.4, p.679-687. 2007.

***CAPÍTULO 5 AVALIAÇÃO DE SISTEMAS
OXIDATIVOS ALTERNATIVOS***

5.1 Sistema Fenton Baseado em Fe⁰/Fe₃O₄/H₂O₂

5.1.1 Sistema Fenton Clássico

O reagente de Fenton foi descoberto em 1894 quando H. J. H. Fenton observou que a oxidação do ácido tartárico pelo peróxido de hidrogênio era catalisada por íons Fe²⁺.¹ No entanto, a sua aplicação como sistema oxidativo para destruição de compostos orgânicos iniciou-se somente a partir da década de 1960.² De acordo com o mecanismo de Haber-Weiss, no sistema Fenton clássico são gerados radicais livres *in situ*, principalmente os radicais hidroxila (•OH), Equação 5.1.^{3,4} Devido à geração deste tipo de radical em solução aquosa, este sistema é classificado como processo oxidativo avançado.



Segundo Neyens e Baeyens, a eficiência do processo Fenton é governada pelas concentrações dos reagentes, ou seja [Fe⁺²], [Fe⁺³], [H₂O₂] e parâmetros da reação como pH, temperatura, e quantidade e tipo de constituintes orgânicos e inorgânicos.⁵ A relação mútua entre os reagentes e os parâmetros é que controlará a produção e consumo de radicais hidroxila, e conseqüentemente a eficiência do processo.

Um dos parâmetros mais críticos é a faixa de pH utilizada. A variação da eficiência de degradação de compostos orgânicos, devido à influência do pH, vem sendo relatada em diversos estudos.^{6,7} Neles se observou que uma estreita faixa de pH, entre 2 e 4, proporciona uma eficiência de degradação máxima. A execução de reações com valores de pH acima de 4 podem provocar a precipitação de Fe³⁺ diminuindo de maneira drástica a interação com H₂O₂ e, portanto, a produção de •OH. A velocidade de degradação também diminui abaixo de pH 2, devido ao consumo de radicais hidroxila pela elevação da concentração de H⁺.⁴

Atualmente, este sistema tem sido um dos processos mais empregados para oxidação de compostos orgânicos em água, sendo utilizado no tratamento de efluentes industriais e águas residuárias contendo vários tipos de poluentes (p. ex.: fenóis, pesticidas, benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno).^{8,9,10,11,12} Este sistema tem sido também utilizado para reduzir a

toxicidade,^{13,14} aumentar a biodegradabilidade,^{15,16,17} e também na remoção de cor^{18,19,20} e de odor dos efluentes tratados.²¹ No entanto, apesar da grande amplitude de aplicações, o sistema Fenton clássico apresenta algumas desvantagens já bem conhecidas, como a limitada faixa de pH, onde os efluentes devem ter o pH ajustado antes e depois do tratamento, e a produção de rejeito sólido (lama) contendo ferro, após a etapa de neutralização.

5.1.2 Sistema Fenton Heterogêneo

Alguns estudos, sobre o uso de sistemas heterogêneos baseados no reagente de Fenton têm sido feitos, com a intenção de superar as desvantagens descritas anteriormente. Nestes sistemas, Fe^{2+} é substituído por um de óxido de ferro insolúvel, e por isso as operações não requerem um controle rígido de pH, não produzem lama, podem utilizar reatores de leito fixo e ainda permitem a recuperação do catalisador.^{22,23,24} Entretanto, a maior parte dos catalisadores investigados, tais como goethita,^{24,25} hematita,^{26,27} e ferridrita,^{28,29,30} mostram uma atividade insuficiente. Recentemente, os óxidos baseados em magnetita, por exemplo, $\text{Fe}_{3-x}\text{M}_x\text{O}_4$ ($\text{M} = \text{Mn}$ ou Co)^{31,32} e $\text{Fe}^0/\text{Fe}_3\text{O}_4$,^{33,34} têm se mostrado altamente promissores como reagentes em sistemas oxidativos.

Embora muitos sistemas Fenton heterogêneo tenham sido investigados, são poucas as informações sobre os mecanismos de reação, principalmente em relação à participação dos radicais livres e quais intermediários orgânicos estão envolvidos.^{30,35,36}

Com o objetivo de investigar o sistema Fenton heterogêneo baseado em magnetita, o composto $\text{Fe}^0/\text{Fe}_3\text{O}_4$ e H_2O_2 foram utilizados como componentes do sistema oxidativo na degradação do fenol, como composto modelo, em solução aquosa. As propriedades físico-químicas do fenol (Figura 5.1) são descritas na Tabela 5.1. O sistema foi monitorado por ESI-MS e ESI-MS² para detectar e caracterizar as espécies geradas nesta reação.

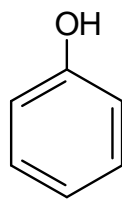


Figura 5.1 – Estrutura do fenol (1).

Tabela 5.1 – Propriedades físico-químicas do fenol.³⁷

| | |
|-----------------------------|--|
| Nome | Fenol Hidroxibenzeno Oxibenzeno |
| CAS RN | 108-95-2 |
| Fórmula molecular | C ₆ H ₆ O |
| Massa molar | 94,11 g.mol ⁻¹ |
| Descrição | Sólido incolor, cristalino, odor característico e cáustico |
| Ponto de fusão | 40°C |
| Solubilidade em água | 66,7 mg.mL ⁻¹ |
| pka | pka = 10,0 |

5.1.3 Parte Experimental

Reagentes

Os reagentes FeCl₃, NH₄OH, CH₃COONH₄ e H₂O₂ foram adquiridos da Aldrich (Milwaukee, WI, USA) ou Merck (Whitehouse Station, NJ, USA) e foram utilizados sem prévia purificação. Em todos os experimentos, utilizou-se água Milli-Q para o preparo das soluções.

A magnetita foi preparada através da co-precipitação do precursor hidroxiacetato férrico, produzido a partir de uma solução aquosa de FeCl_3 ($1,65 \text{ mol.L}^{-1}$, 85 mL), NH_4OH (28 %, 100 mL) e $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ (20 %, 500 mL), e posterior tratamento térmico a $430 \text{ }^\circ\text{C}$ sob atmosfera de N_2 . A mistura $\text{Fe}^0/\text{Fe}_3\text{O}_4$ foi preparada através da trituração manual de $\alpha\text{-Fe}$ e de Fe_3O_4 por 1 minuto. A mistura resultante foi caracterizada por espectroscopia Mössbauer, difração de raios X, medidas de magnetização, microscopia eletrônica de varredura e microscopia eletrônica de transmissão e os resultados foram divulgados por Moura e colaboradores.^{33,34}

Experimento de Oxidação

O sistema heterogêneo foi composto por 100,00 mL de solução aquosa de fenol ($3,18 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, 30 mg.L^{-1}), pH natural (pH = 6), 1,00 mL de H_2O_2 (30 %) e 30,0 mg do composto $\text{Fe}^0/\text{Fe}_3\text{O}_4$, foi mantido sob constante agitação. As alíquotas da fase aquosa da reação foram retiradas em função do tempo para análise por ESI-MS (método 2b). Uma solução controle, composta por 100,00 mL de solução aquosa de fenol ($3,18 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, 30 mg.L^{-1}) e 1,00 mL de H_2O_2 (30 %), foi também analisada por ESI-MS (método 2b).

5.1.4 Resultados e Discussão

Monitoramento ESI-MS

As análises ESI-MS e ESI-MS², no modo negativo, foram utilizadas na detecção e caracterização de intermediários gerados durante a oxidação do fenol promovida por $\text{Fe}^0/\text{Fe}_3\text{O}_4$ em meio aquoso. A Figura 5.2 mostra os espectros de massas ESI-MS obtidos a partir de alíquotas retiradas em diferentes tempos da reação.

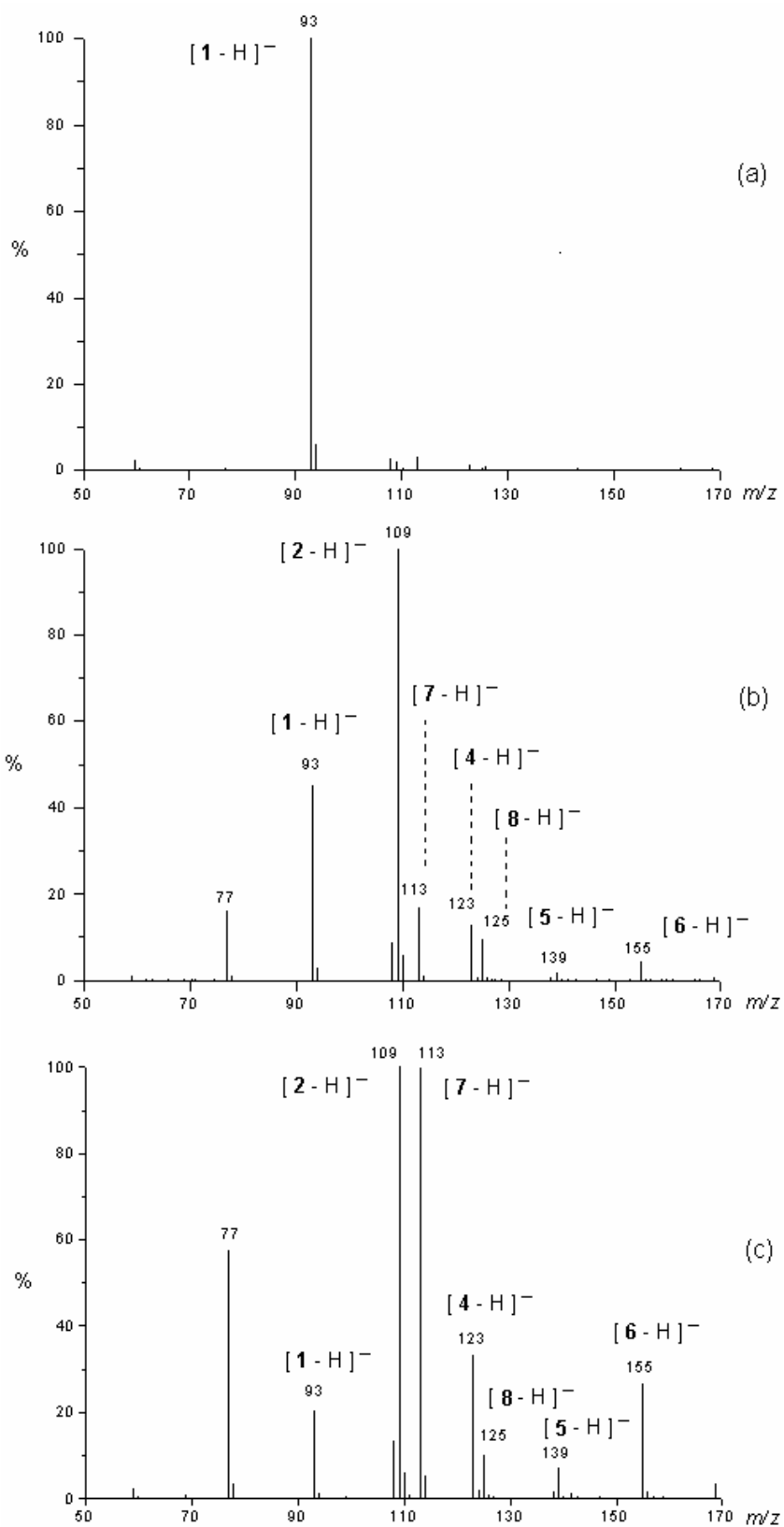


Figura 5.2 - Espectros ESI-MS das alíquotas da reação de oxidação do fenol pelo sistema $Fe^0/Fe_3O_4/H_2O_2$ retiradas em: (a) 0 min; (b) 20 min e (c) 80 min de reação.

No espectro ESI-MS da alíquota retirada no início da reação, Figura 5.2a, pode-se observar um intenso íon de m/z 93, atribuído ao fenol desprotonado [**1** – H]⁻. Após 20 e 80 minutos de reação (Figura 5.2b e c, respectivamente) é possível observar sinais intensos de m/z 109, 113, 123, 125 e 155, que não se encontravam presentes no espectro antes do início da reação. Estes ânions estão provavelmente em equilíbrio com as suas respectivas formas neutras em solução, atribuídas a compostos oxidados a partir do fenol, como será discutido a seguir.

Caracterização por ESI-MS² e Rota de Formação de Produtos da Oxidação do Fenol

Para caracterizar os íons observados anteriormente, experimentos de dissociação induzida por colisão foram realizados. Para os íons de m/z 109, 123, 139 e 155 foram observados, como fragmentos principais, os íons de m/z relativos a perdas de H₂O (18 Da) e/ou CO (28 Da) (espectros não mostrados). Já para o íon de m/z 113, o principal fragmento foi o íon de m/z 69 relativo à perda de CO₂ (44 Da), Figura 5.3.

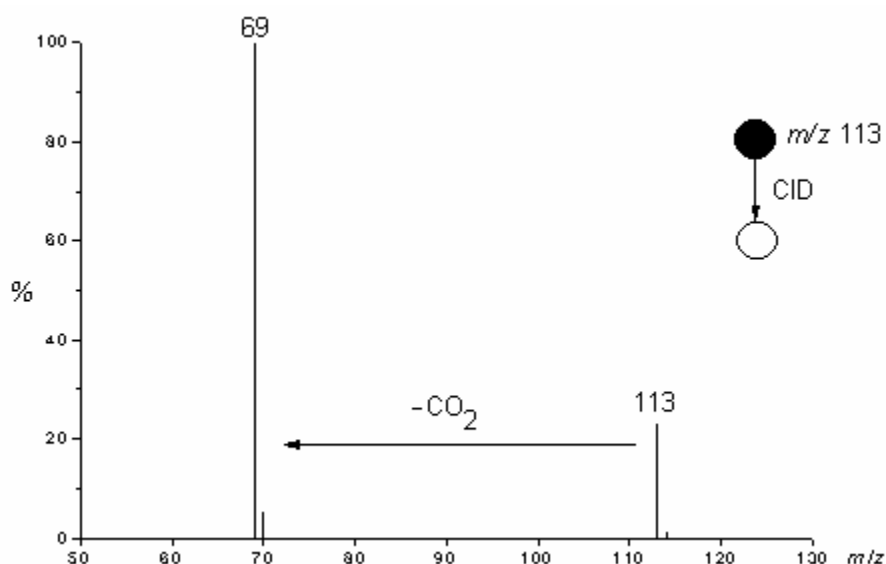


Figura 5.3 – Espectro ESI-MS² do íon de m/z 113, atribuído ao ânion [**7** – H]⁻.

A dissociação induzida por colisão do íon de m/z 125, Figura 5.4, mostrou, como fragmento predominante, o íon de m/z 93, atribuído à perda de O_2 (32 Da).

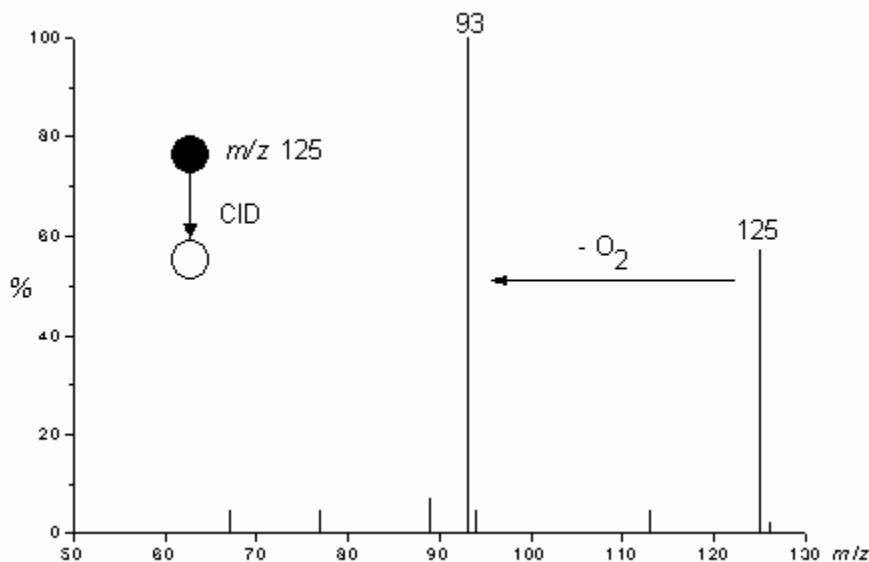
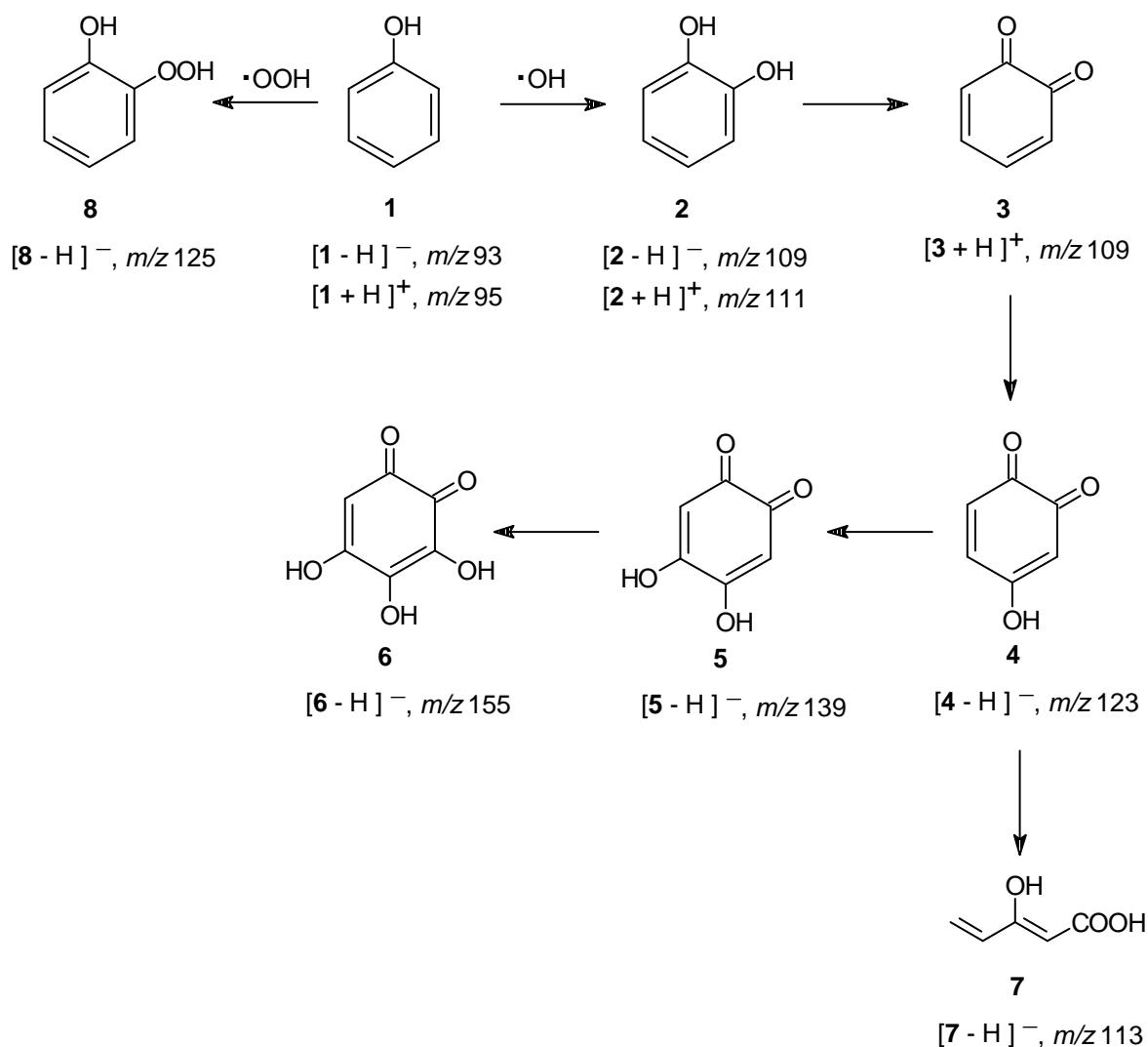


Figura 5.4 – Espectro ESI-MS² do íon de m/z 125, atribuído ao ânion [**8** – H]⁻.

A detecção dos ânions nos espectros ESI-MS está provavelmente relacionada com a formação de compostos oxidados (**2-8**) em solução, como proposto no Esquema 5.1. As dissociações observadas nos experimentos CID são consistentes com as estruturas propostas, fornecendo assim mais evidências da formação destes compostos sob as condições experimentais utilizadas. Dessa forma, a partir da seqüência apresentada nesta rota, sugere-se que a reação é iniciada pelo ataque do radical hidroxila às posições ativas (*orto* e *para*) do anel fenólico, levando assim à formação do dihidroxibenzeno **2**. A subsequente oxidação de **2** gera a quinona **3** que, através de sucessivas hidroxilações, produz **4**, **5** e **6**. Por fim, o ácido carboxílico acíclico **7** é sugerido ser formado via um ataque nucleofílico de H_2O sobre a carbonila de **4**, seguida pela abertura do anel e perda de CO . A estrutura proposta para **7** é consistente com o perfil de fragmentação observado para [**7** – H]⁻ (Figura 5.3), onde se observa a perda de CO_2 . Já, o intermediário **8** poderia ser formado via um ataque eletrofílico do radical $\bullet OOH$, espécie que pode ser formada nestas condições, sobre uma das posições ativas no anel fenólico. Novamente, a estrutura proposta para **8** é consistente com o perfil de fragmentação observado para [**8** – H]⁻ (Figura 5.4), que mostra uma perda exclusiva de O_2 .



Esquema 5.1 – Rota proposta para a formação de espécies oxidadas (**2-8**) a partir do fenol no sistema $Fe^0/Fe_3O_4/H_2O_2$ em meio aquoso. Outros isômeros posicionais também são possíveis, mas não foram representados neste esquema.

Evidências Adicionais Obtidas no Monitoramento por ESI(+)-MS

Este sistema foi também caracterizado por Moura e colaboradores, que realizaram análises por ESI-MS e ESI-MS/MS no modo positivo.³⁸ Os cátions de m/z 95 $[1 + H]^{+}$, 111 $[2 + H]^{+}$ e 109 $[3 + H]^{+}$ foram observados após 5 minutos de reação do fenol com $Fe^0/Fe_3O_4/H_2O_2$ em meio aquoso. O cátion de m/z 109 foi atribuído a quinona **3** na sua forma protonada. Este composto não foi observado nos experimentos ESI-MS no modo negativo

devido à ausência de prótons ácidos na sua estrutura. As análises ESI-MS/MS dos cátions de m/z 109 e 111 foram feitas. No espectro referente à fragmentação do cátion $[\mathbf{3} + \text{H}]^+$ de m/z 109 foi observado um íon de m/z 81, relativo à perda neutra de CO. No espectro referente à fragmentação do cátion $[\mathbf{2} + \text{H}]^+$ de m/z 111 foi observado um íon de m/z 93, relativo à perda neutra de H_2O e também m/z 65, relativo à perda neutra de CO. Estes perfis de fragmentação são indicações de que estes íons podem estar relacionados com os intermediários do tipo quinona e dihidroxibenzeno, como mostrado no Esquema 5.1.

Proposta do Mecanismo Envolvido no Sistema $\text{Fe}^0/\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{H}_2\text{O}_2$

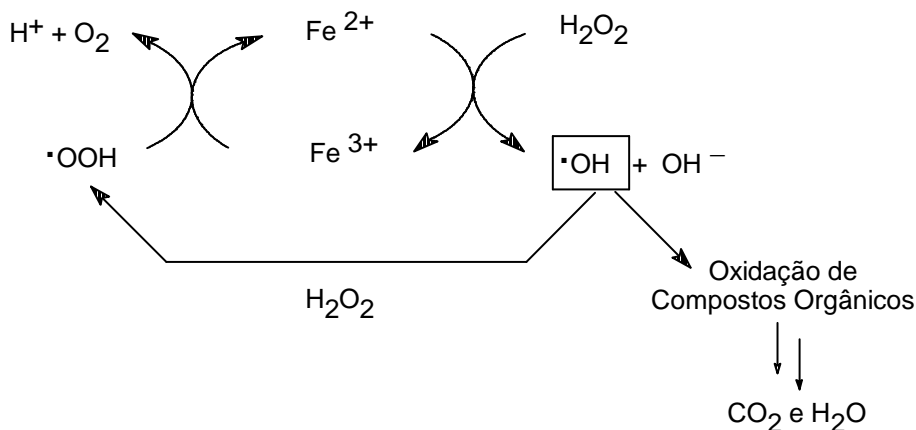
De acordo com os resultados observados das análises ESI-MS para a oxidação do fenol pelo sistema $\text{Fe}^0/\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ em solução aquosa, algumas considerações sobre este sistema podem ser feitas. Apesar de o mecanismo da reação não estar completamente claro, pode-se sugerir a participação de radicais hidroxilas na reação de oxidação do fenol, uma vez que intermediários hidroxilados foram detectados durante o monitoramento desta reação. Em um estudo utilizando um sistema Fenton clássico, Augusti e colaboradores já haviam reportado a detecção de alguns intermediários hidroxilados em experimentos de oxidação de compostos aromáticos.³⁹ Em outros estudos, experimentos utilizando ácido fórmico marcado com ^{14}C sugerem a participação de radicais $\bullet\text{OH}$ em sistemas baseados em óxidos de ferro.^{30,35}

Desse modo, infere-se que no sistema heterogêneo baseado em $\text{Fe}^0/\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ os radicais $\bullet\text{OH}$ são gerados a partir da reação com espécies reduzidas de ferro presentes na superfície do sólido em um mecanismo do tipo Fenton. Estas espécies seriam geradas em altas concentrações a partir de reações de oxi-redução na superfície do sólido, durante a preparação mecânica deste material. Ou seja, na superfície do material o Fe^0 pode reduzir as espécies $\text{Fe}^{3+}_{\text{superficial}}$ do Fe_3O_4 ou Fe_2O_3 (presentes na magnetita) produzindo $\text{Fe}^{2+}_{\text{superficial}}$, Equação 5.2.



As espécies Fe^{2+} formadas na superfície do material gerariam radicais hidroxila $\bullet\text{OH}$ a partir da reação com H_2O_2 que, por sua vez, participaria de dois processos competitivos (i) a oxidação de compostos orgânicos e (ii) a decomposição do H_2O_2 a O_2 . A decomposição do

peróxido de hidrogênio pode ocorrer via radical hidropéroxido ($\cdot\text{OOH}$). A participação do radical hidropéroxido pode ser indicada pela detecção do intermediário do tipo hidropéroxido **8**. Os radicais $\cdot\text{OOH}$ poderiam reagir com $\text{Fe}^{3+}_{\text{superficial}}$ e, assim, produzir $\text{Fe}^{2+}_{\text{superficial}}$ e O_2 aumentando a geração de radicais, ou seja, a eficiência do sistema, Esquema 5.2.



Esquema 5.2 – Geração de radicais hidroxila no sistema Fenton heterogêneo baseado em $\text{Fe}^0/\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{H}_2\text{O}_2$.

5.1.5 Conclusões

Neste trabalho, o sistema Fenton heterogêneo baseado em magnetita foi avaliado, utilizando o monitoramento ESI-MS da reação de oxidação do fenol, como composto modelo, em solução aquosa. As análises indicaram a formação de diversos intermediários hidroxilados, sugerindo uma intensa participação de radicais hidroxila. Tais resultados fornecem evidências de que o sistema $\text{Fe}^0/\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ comporta-se como um sistema oxidativo, atuando com um mecanismo similar ao do Fenton clássico. Estes resultados são relevantes, pois embora os sistemas baseados em Fe_3O_4 ,^{33,34} e $\text{Fe}_{3-x}\text{M}_x\text{O}_4$ ($\text{M} = \text{Mn}$ ou Co)^{31,32}, sejam altamente reativos, nenhuma evidência direta sobre o provável mecanismo de reação tinha sido reportado antes da publicação destes resultados.³⁸ Por fim, o conhecimento gerado pelo monitoramento ESI-MS de processos oxidativos pode auxiliar no entendimento do mecanismo envolvido nestes tipos de oxidação. Além disso, o estudo de sistemas como este, sob condições adequadas para tratamento de compostos orgânicos, pode ser importante para a elaboração de processos baseados no reagente de Fenton heterogêneo com menor custo e maior eficiência.

5.2 Sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{I}^-$

5.2.1 Abordagem Clássica para o Sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{I}^-$

O peróxido de hidrogênio pode atuar como um agente oxidante ou redutor, podendo sofrer auto oxi-redução. É um composto termodinamicamente instável, mas sua decomposição espontânea é muito lenta, sendo favorecida pela ação de um catalisador como, por exemplo, Fe^{2+} , haletos e sólidos. De acordo com Hansen, o íon iodeto catalisa a decomposição do peróxido de hidrogênio em soluções neutras (Equação 5.3), enquanto que em soluções ácidas o íon iodeto é oxidado a I_2 (Equação 5.4).⁴⁰

A reação entre o peróxido de hidrogênio e iodeto em meio ácido é bastante conhecida sendo, freqüentemente, utilizada em demonstrações da reação relógio do iodo.⁴¹ A reação em meio ácido é:



A decomposição do peróxido de hidrogênio catalisada pelo iodeto, liberando oxigênio com produção de bolhas de sabão é conhecida como “pasta de dentes de elefante” e também é utilizada em demonstrações sobre cinética química.^{42,43} A reação de decomposição é:



Esta reação, catalisada por iodeto, tem sido extensivamente estudada desde o início do século XX por Liebhafsky e colaboradores.^{44,45,46} O mecanismo aceito possui as seguintes etapas:



Na Equação 5.5, que se acredita ser a etapa determinante da velocidade da reação, propõe-se que o H_2O_2 é reduzido a H_2O enquanto que o iodeto (I^-) é oxidado a ácido hipoiódico (HOI). Na equação 5.4, a oxidação de H_2O_2 a O_2 é acompanhada pela redução do ácido hipoiódico a iodeto.

5.2.2 Novas Abordagens para o Sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{I}^-$

Além do uso em experimentos clássicos, reações envolvendo H_2O_2 e sais de iodeto têm recebido uma crescente atenção devido ao potencial como reagentes em rotas sintéticas para iodação de orgânicos. Por exemplo, Iskra e colaboradores fizeram a iodação dos arenos 1,3,4-trimetilbenzeno, metoxibenzeno, fenol e anilina utilizando H_2O_2 e KI como reagentes,⁴⁷ e Barluenga e colaboradores obtiveram um protocolo de síntese de iodoidrinas a partir de alquenos utilizando H_2O_2 e NaI como reagentes.⁴⁸

A ativação catalítica produzida pelo iodeto para a oxidação de compostos orgânicos por H_2O_2 também tem sido relatada. Este efeito tem sido usado para a determinação de traços de iodeto em águas naturais e solos.⁴⁹ Outros estudos reportam que o peróxido de hidrogênio e o iodeto são componentes importantes em alguns sistemas citotóxicos. Por exemplo, Klebanoff e colaboradores compararam o sistema $\text{Fe}^{+2}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{I}^-$ com o sistema mieloperoxidase/ $\text{H}_2\text{O}_2/\text{I}^-$ para avaliar a atividade bactericida destes sistemas frente a *Staphylococcus aureus*.⁵⁰ Em outro estudo, Sugar e colaboradores utilizaram um sistema similar envolvendo $\text{Fe}^{+2}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{I}^-$ para demonstrar o seu potencial microbicida sobre o fungo *Blastomyces dermatitidis*.⁵¹ O sistema peroxidase/ $\text{H}_2\text{O}_2/\text{I}^-$, além da ação citotóxica, foi utilizado em experimentos de degradação do metil-mercúrio e do etil-mercúrio, em um estudo realizado por Suda e Takahashi.⁵² Estes três relatos destacam a influência do iodeto no aumento da eficiência do sistema oxidativo utilizado, e também sugerem a presença de radicais como as principais espécies oxidantes no meio.

Estudos envolvendo a degradação do corante índigo carmim pelo sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{I}^-$ em meio aquoso, realizados por Lago e colaboradores, demonstraram que este sistema é bastante eficiente na remoção da cor da solução aquosa do corante e, portanto, poderia possuir uma aplicação promissora como sistema oxidativo.⁵³ Tal aplicação do sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{I}^-$ não foi descrita ainda na literatura.

Com o objetivo de investigar este sistema como provável candidato a um processo oxidativo avançado, a reação entre peróxido de hidrogênio e íons iodeto em solução aquosa foi monitorada por ESI-MS e ESI-MS² para detectar e caracterizar as espécies geradas nesta reação. A degradação do corante índigo carmim, como composto modelo, pelo sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{I}^-$ em meio aquoso foi também monitorada por ESI-MS e ESI-MS² na busca de

informações adicionais sobre este sistema. As propriedades físico-químicas do índigo carmim (Figura 5.5) são descritas na Tabela 5.2.

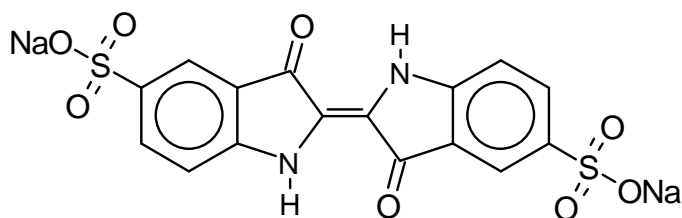


Figura 5.5 – Estrutura do índigo carmim.

Tabela 5.2 – Propriedades físico-químicas do índigo carmim.³⁷

| | |
|-----------------------------|---|
| Nome | Índigo Carmim |
| | Índigo Solúvel |
| | Indigodissulfonato de sódio |
| CAS RN | 860-22-0 |
| Fórmula molecular | C ₁₆ H ₈ N ₂ Na ₂ O ₈ S ₂ |
| Massa molar | 466,37 g.mol ⁻¹ |
| Descrição | Sólido de cor púrpura, sensível a luz |
| Solubilidade em água | 10,0 mg.mL ⁻¹ |

5.2.3 Parte Experimental

Reagentes

Os reagentes H₂O₂, KI, índigo carmim, NaOH foram adquiridos da Aldrich (Milwaukee, WI, USA) ou Merck (Whitehouse Station, NJ, USA) e foram utilizados sem prévia purificação. Em todos os experimentos utilizou-se água Milli-Q para o preparo das soluções.

Decomposição do H₂O₂

Uma solução aquosa contendo H₂O₂ ($7,0 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$) e KI ($2,4 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) em pH natural (pH = 6) foi mantida sob agitação constante. As alíquotas desta reação foram retiradas em função do tempo e imediatamente analisadas por ESI-MS (método 2c).

Degradação do Corante Índigo Carmim

A 100,0 mL de uma solução de índigo carmin ($153 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, 71 g.L^{-1}) foi adicionado 1,00 mL de H₂O₂ ($0,7 \text{ mol.L}^{-1}$) e o pH ajustado para 8 (NaOH, 1 mol.L^{-1}). A uma segunda solução de índigo carmin (100,0 mL, $153 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, 71 g.L^{-1}) com pH ajustado para 8 (NaOH, 1 mol.L^{-1}) e H₂O₂ (1,00 mL, $0,7 \text{ mol.L}^{-1}$) foi adicionado 1,00 mL de KI ($2 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$). As alíquotas destas duas reações foram retiradas em função do tempo e imediatamente analisadas por ESI-MS (método 2c).

5.2.4 Resultados e Discussão

Monitoramento ESI-MS da Decomposição do H₂O₂

As análises ESI-MS e ESI-MS², no modo negativo, foram utilizadas na detecção de espécies formadas *in situ* durante a decomposição do H₂O₂ catalisada por iodeto. A Figura 5.6 mostra os espectros de massas ESI-MS obtidos a partir de alíquotas da reação.

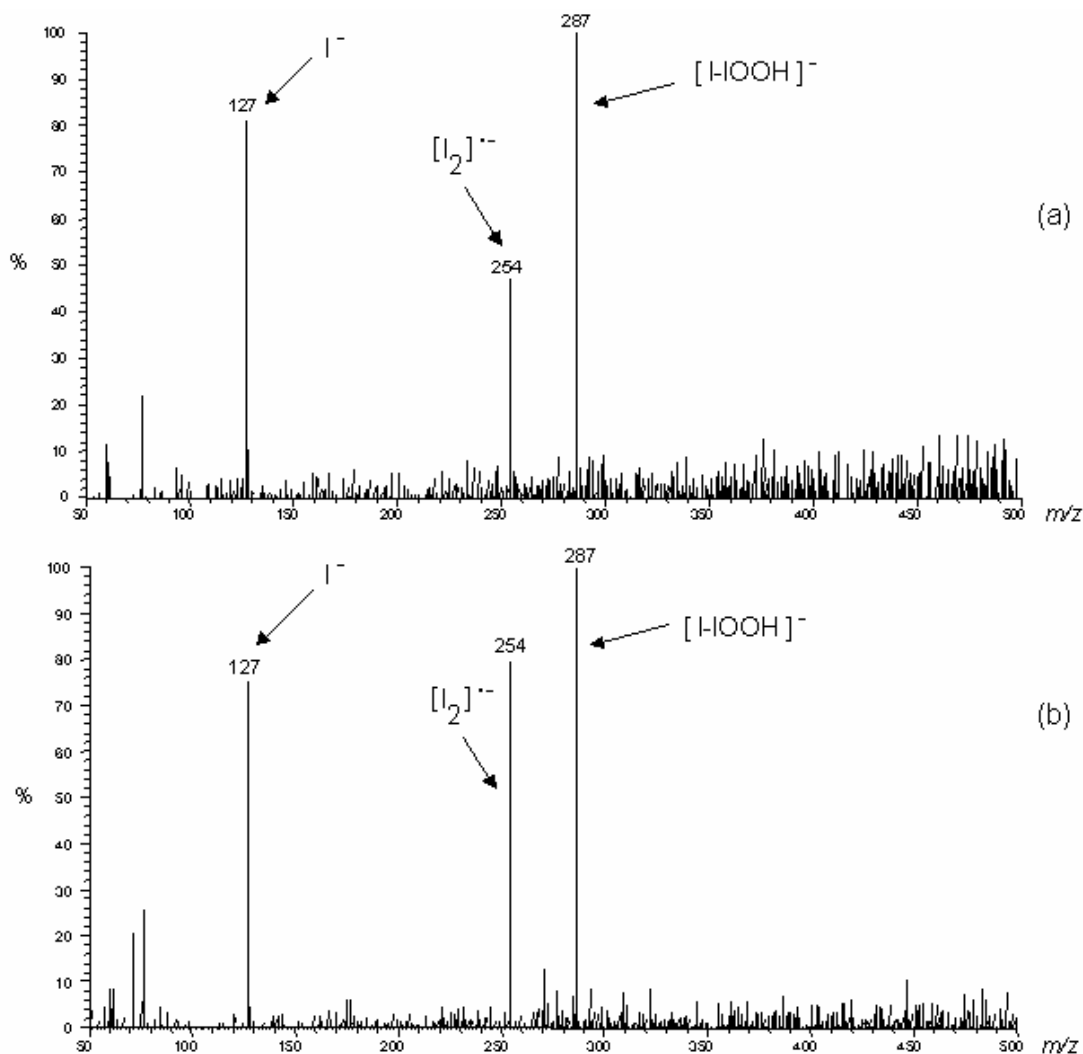


Figura 5.6 – Espectros ESI-MS de uma solução aquosa de H_2O_2 e iodeto após os tempos de reação (a) 2 min e (b) 30 min.

Nestes espectros pode-se observar a presença dos íons de m/z 127, atribuído ao íon iodeto, m/z 254, atribuído ao ânion radical $I_2^{•-}$ e o íon de m/z 287. As intensidades relativas destes íons, estimada a partir dos espectros ESI-MS obtidos em vários tempos de reação, permaneceram praticamente constantes durante o período de monitoramento indicando um aparente estado de equilíbrio deste sistema.

A dissociação induzida por colisão do íon de m/z 287, Figura 5.7, produziu exclusivamente como fragmento o íon de m/z 254, relativo a perda de 33 Da [radical hidropéroxido ($^{\bullet}OOH$)].

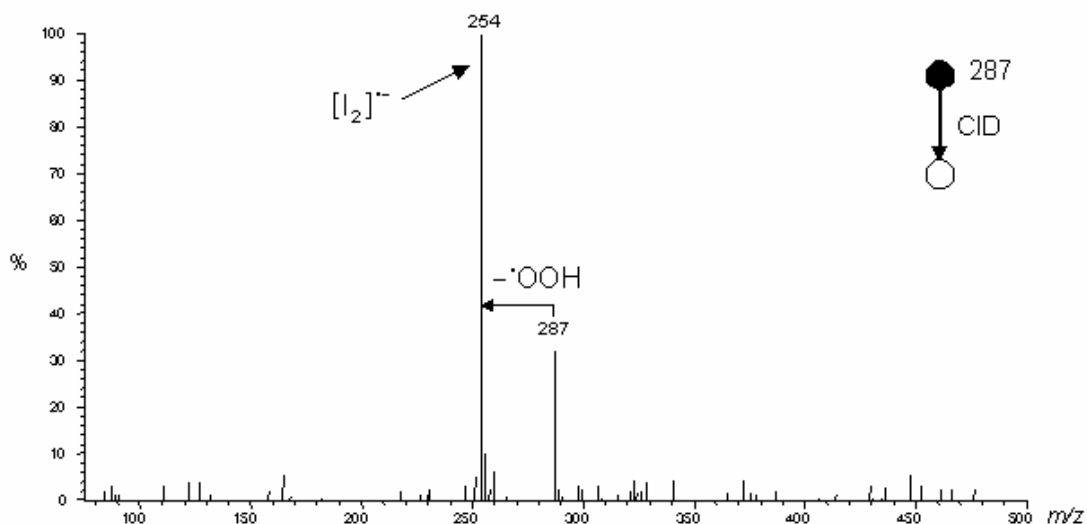


Figura 5.7 - Espectro ESI-MS² do íon de m/z 287.

Fundamentado neste resultado, a estrutura [I-IOOH]⁻ foi proposta para este ânion, cuja formação ocorreria a partir da interação do íon iodeto e a espécie instável IOOH. A ligação I-I, presente na estrutura proposta para este ânion, é provavelmente similar à ligação química formada entre o íon iodeto (I⁻) e Iodo (I₂) no íon triiodeto (I₃⁻).

Outro ponto interessante a ser observado é que nenhum ânion derivado do ácido hipoiódico (HOI), que se propõe ter um importante papel na decomposição do H₂O₂ como estabelecido nas Equações 5.5 e 5.6, foi detectado durante o monitoramento. Isto pode ser uma indicação de que a concentração de HOI seja baixa durante a reação, ou que o mecanismo não envolva a participação de HOI.

Proposta de Mecanismo de Oxidação de H₂O₂ Catalisada por I

De acordo com os resultados observados das análises ESI-MS, propõe-se que a oxidação de H₂O₂ a O₂ possa ocorrer através das etapas mostradas nas Equações 5.7 e 5.8:



De acordo com a Equação 5.7, sugere-se que o intermediário IOOH é formado diretamente a partir da reação entre H_2O_2 e I^- sem a formação da espécie HOI. A espécie IOOH poderia então sofrer decomposição a O_2 e HI, como mostrado na Equação 5.8. Pode-se notar que a combinação das Equações 5.7 e 5.8 gera a Equação 5.4, na qual ocorre a decomposição de H_2O_2 . Desse modo, no processo global, ou seja, na combinação das Equações 5.7 e 5.8, não há consumo do iodeto, indicando que este íon atua como catalisador do processo. Embora este mecanismo proposto possa explicar a decomposição do H_2O_2 catalisada por iodeto, deve-se mencionar que esta reação deve possuir um mecanismo muito mais complexo e, assim, uma possível participação de espécies radicalares, tais como $\cdot\text{OH}$, $\cdot\text{OOH}$ e I^\cdot , não deve ser descartada.

Cálculos Teóricos

Cálculos teóricos *ab initio* de alto nível relativos à estabilidade das espécies observadas no monitoramento ESI-MS do sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{I}^-$ foram realizados por Duarte e Lima.⁵⁴ As geometrias das espécies foram completamente otimizadas e os cálculos de frequência foram feitos utilizando-se os níveis de teoria DFT (Teoria do Funcional de Densidade), MP2 (Teoria de Perturbação Møller-Plesset de segunda ordem) e CCSD (Teoria Coupled Cluster com excitações simples e duplas).

Os resultados obtidos por todos os níveis de teoria foram similares. Abaixo se discutem os resultados obtidos pela Teoria Coupled Cluster com excitações simples e duplas, por ser mais representativa. As estruturas otimizadas e a energia livre das vias de dissociação podem ser visualizados na Figura 5.8.

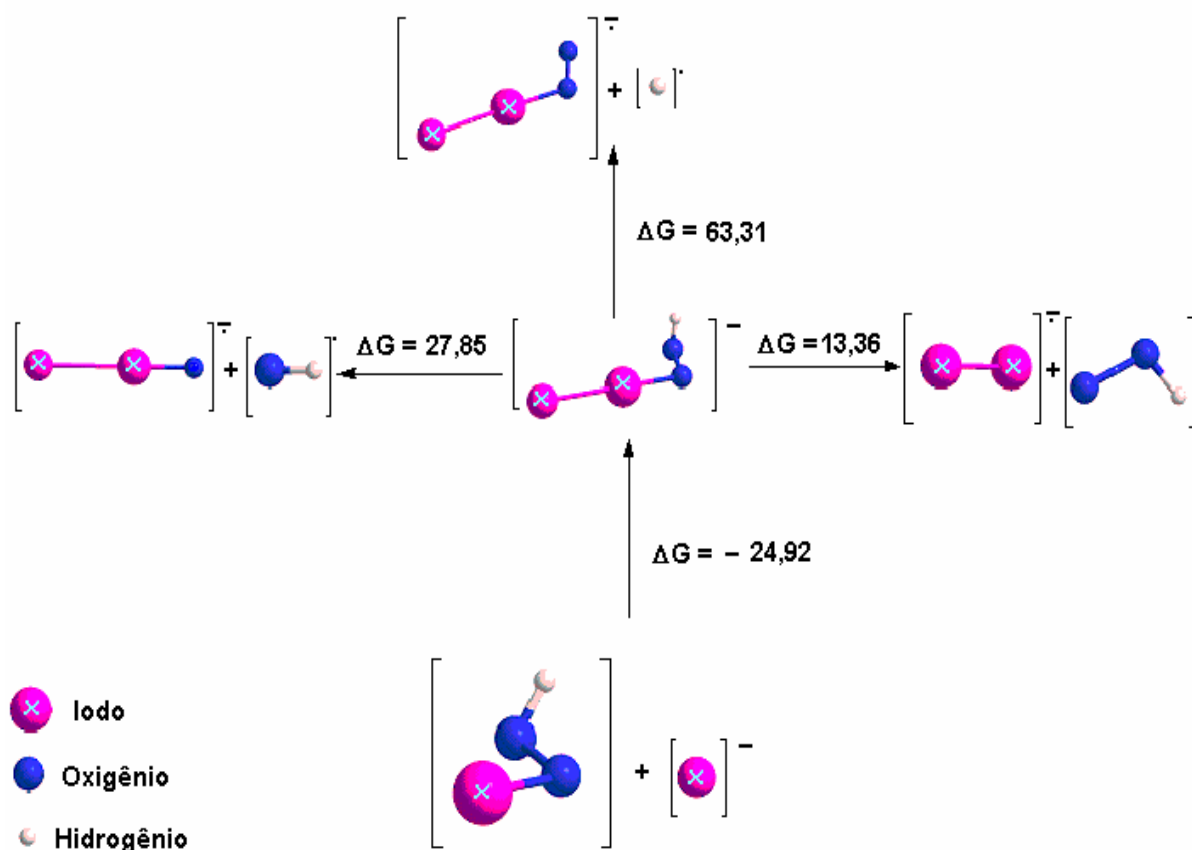


Figura 5.8 – Estruturas otimizadas para várias espécies formadas a partir da dissociação do íon $[\text{I}_2\text{OOH}]^-$ e de sua formação a partir de IOOH e I^- . A energia livre ($\Delta G / \text{kcal.mol}^{-1}$) das vias de dissociação e formação são indicadas sobre as setas. Método utilizado: CCSD(T)//CCSD/6-311++G(d,p).

Pode-se observar que a formação do ânion $[\text{I}_2\text{OOH}]^-$ a partir de IOOH e I^- é favorável por $24,9 \text{ kcal.mol}^{-1}$ na fase gasosa. Isto é consistente com o resultado experimental, no qual $[\text{I}_2\text{OOH}]^-$, de m/z 287, é proposto ser formado sob as condições utilizadas na fonte ESI durante a transferência das espécies da fase aquosa para a fase gasosa, via interação entre IOOH e I^- . É importante considerar que a formação deste anion não é, provavelmente, favorável em fase aquosa devido à grande energia de solvatação do iodeto em relação aos outros reagentes envolvidos na reação. Por outro lado, em fase gasosa, o anion $[\text{I}_2\text{OO}]^-$ é relativamente estável e sua decomposição não é favorecida por esta via.

A energia livre estimada para a reação de dissociação do $[\text{I}_2\text{OOH}]^-$ levando a $[\text{I}_2\text{OO}]^{\bullet-}$ e $\bullet\text{H}$ é de $63,3 \text{ kcal.mol}^{-1}$ enquanto que para a via que leva a $[\text{I}_2\text{O}]^{\bullet-}$ e $\bullet\text{OH}$ é de $27,9 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Já, a energia livre estimada para a fragmentação do $[\text{I}_2\text{OOH}]^-$ levando a $[\text{I}_2]^{\bullet-}$ e $\bullet\text{OOH}$ é cerca de $13,4 \text{ kcal.mol}^{-1}$, sendo este valor cerca de 50 e 15 kcal.mol^{-1} menor que as vias descritas anteriormente. Isto indica que esta última via é o canal mais favorável de decomposição em comparação com as outras vias investigadas. Os resultados dos cálculos teóricos são consistentes com os resultados experimentais obtidos na dissociação induzida por colisão do íon de m/z 287.

Monitoramento ESI-MS da Degradação do Corante Índigo Carmim

O índigo carmim é um corante amplamente empregado em diversos processos industriais, apesar de pertencer a uma classe tóxica de corantes, os indigóides.⁵⁵ A degradação deste corante tem sido avaliada utilizando fotocatalise,^{56,57,58} métodos eletroquímicos,⁵⁹ e H_2O_2 e complexos metálicos,⁶⁰ por exemplo.

As análises ESI-MS e ESI-MS², no modo negativo, foram utilizadas na detecção de espécies formadas *in situ* durante a degradação de Índigo Carmim por H_2O_2 e $\text{H}_2\text{O}_2/\Gamma$. A Figura 5.9 mostra o espectro ESI-MS da solução aquosa do corante, no qual pode-se observar o íon de m/z 210, que corresponde ao índigo carmim na forma dianiônica (**9**). A dissociação induzida por colisão deste íon gerou os seguintes íons fragmentos com m/z 356 (**9** - $\text{SO}_2^{\bullet-}$), 340 (**9** - $\text{SO}_3^{\bullet-}$), 276 (**9** - SO_2 - $\text{SO}_3^{\bullet-}$) e 260 (**9** - SO_3 - $\text{SO}_3^{\bullet-}$).

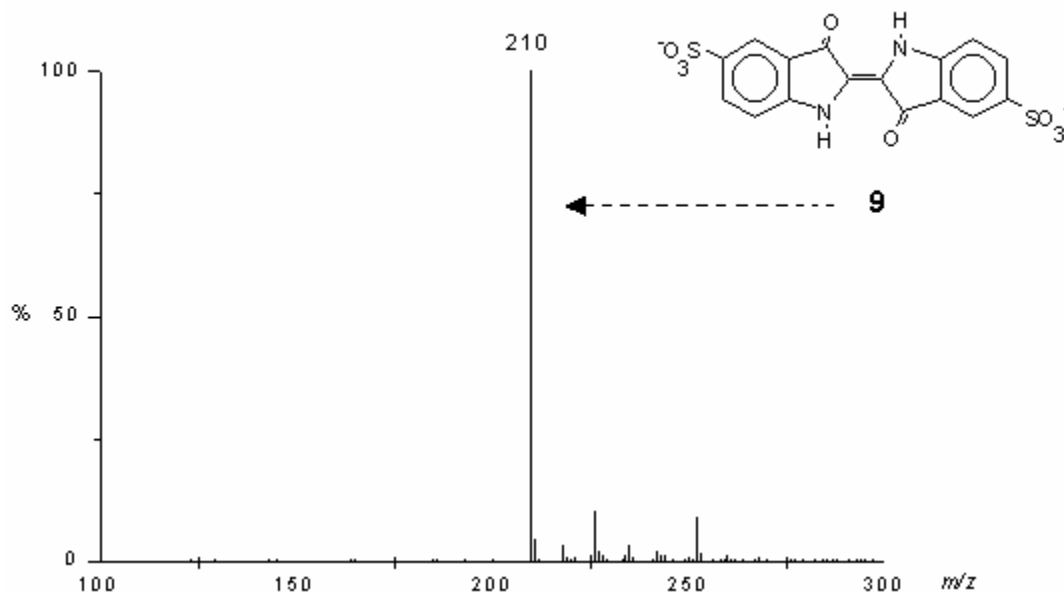


Figura 5.9 - Espectro ESI-MS da solução aquosa do corante índigo carmin.

A solução contendo o corante e H_2O_2 apresentou uma leve descoloração após 15 min de reação. O espectro ESI-MS obtido desta solução é mostrado na Figura 5.10a. Neste espectro pode-se notar, além de **9** (m/z 210), outros íons intensos de m/z 235, 226, 244 e 216. Para tempos maiores de reação (p. ex.: 40 min) a solução não apresentou descoloração acentuada e nem uma modificação significativa nas abundâncias dos íons nos espectros ESI-MS foi observada. Isto pode ser uma indicação de que a reação não avança de maneira significativa.

No espectro da dissociação induzida por colisão do íon de m/z 235, Figura 5.10b, observa-se, como fragmentos principais, os íons de m/z 242, 228 e 226. Este perfil de fragmentação indica que este íon 235 é duplamente carregado e possui uma diferença de massa de 50 Da ($3\text{O} + 2\text{H}$) em relação ao diânion **9**.

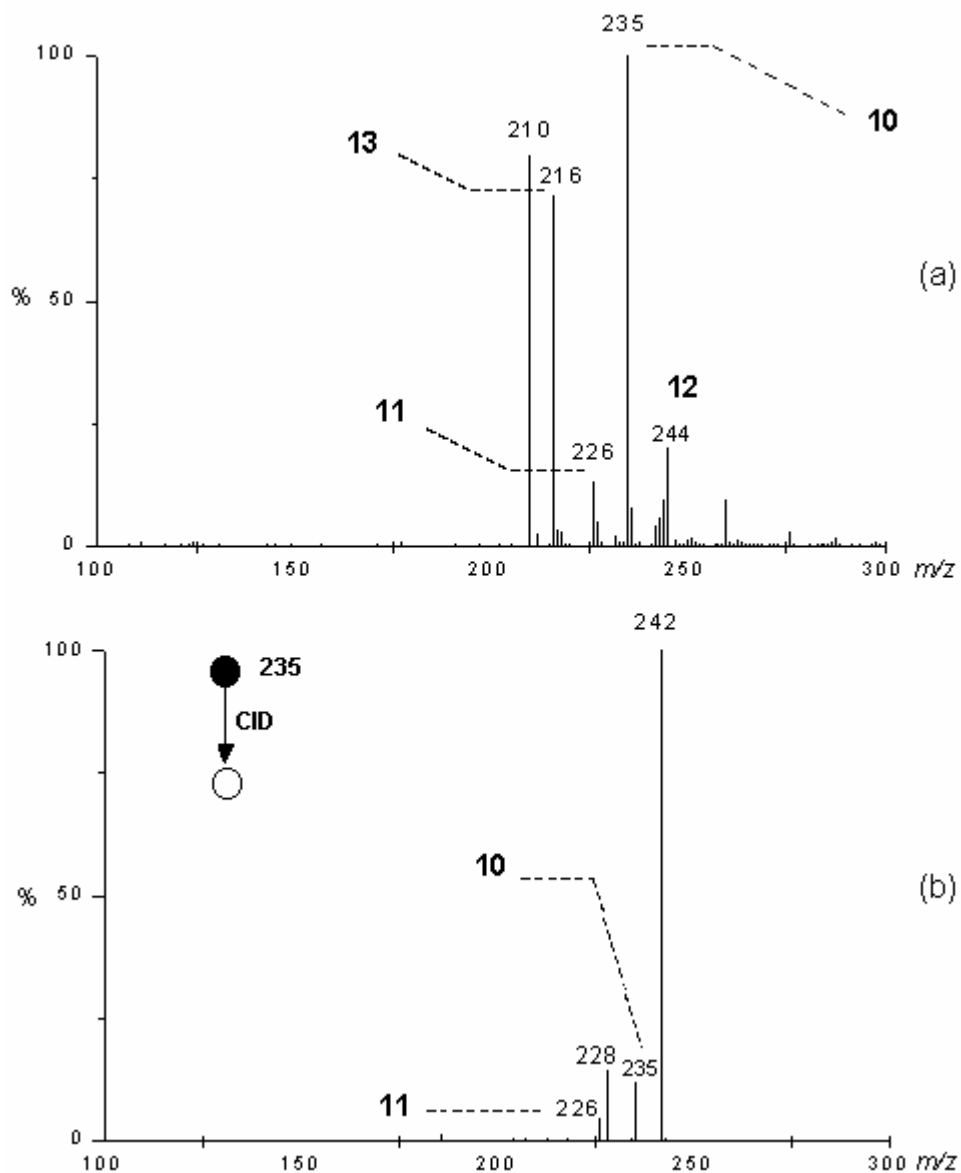
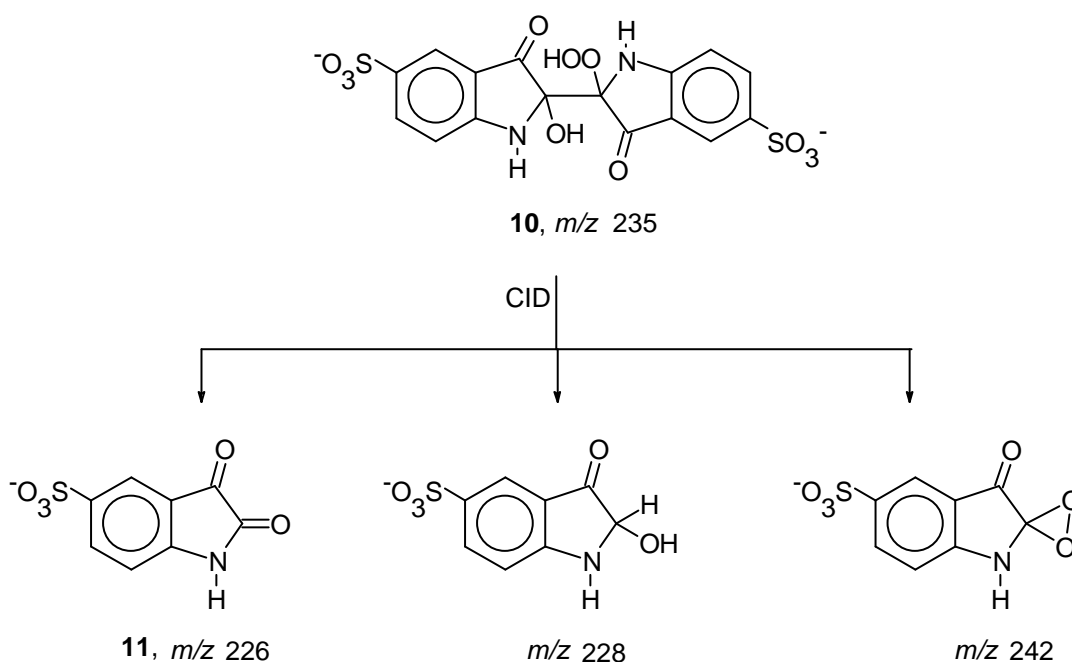


Figura 5.10 – Espectros ESI-MS: (a) da alíquota retirada após 15 min de reação entre corante índigo carmim e H_2O_2 e (b) ESI-MS² do íon de m/z 235.

Baseado nos dados apresentados acima, a estrutura **10** para um intermediário hidroperóxido é proposta para o íon m/z 235. A rota de fragmentação CID e as estruturas dos fragmentos são também propostas, como mostrado no Esquema 5.3.



Esquema 5.3 – Estruturas propostas para os fragmentos formados por dissociação induzida por colisão do íon de m/z 235.

A fragmentação por CID do ânion de m/z 226 gerou, exclusivamente, o íon m/z 198 relativo a perda de 28 Da (CO) enquanto que o CID do íon de m/z 244 gerou o fragmento de m/z 200 pela perda de 44 Da (CO₂). Já, o ânion de m/z 216 produziu a série de fragmentos: m/z 198, 172 e 136, relativos a perdas de 18 Da (H₂O), 44 Da (CO₂) e 80 Da (SO₃), respectivamente. As estruturas dos ânions de m/z 216, 226 e 244, observados no espectro ESI-MS da Figura 5.8a, são propostas no Esquema 5.4.

Na degradação do índigo carmim pelo sistema H₂O₂/I observou-se que após um curto período de reação (5 min) a solução havia apresentado uma descoloração intensa. Isto, provavelmente, deve estar associado ao efeito provocado pelo iodeto na reação de oxidação de **9**. Após 60 min de reação, uma descoloração completa foi alcançada. Tais resultados indicam que a adição de iodeto torna o sistema mais eficiente. A Figura 5.11 mostra os espectros ESI-MS obtidos para as alíquotas desta reação coletadas nos tempos 20 e 60 min.

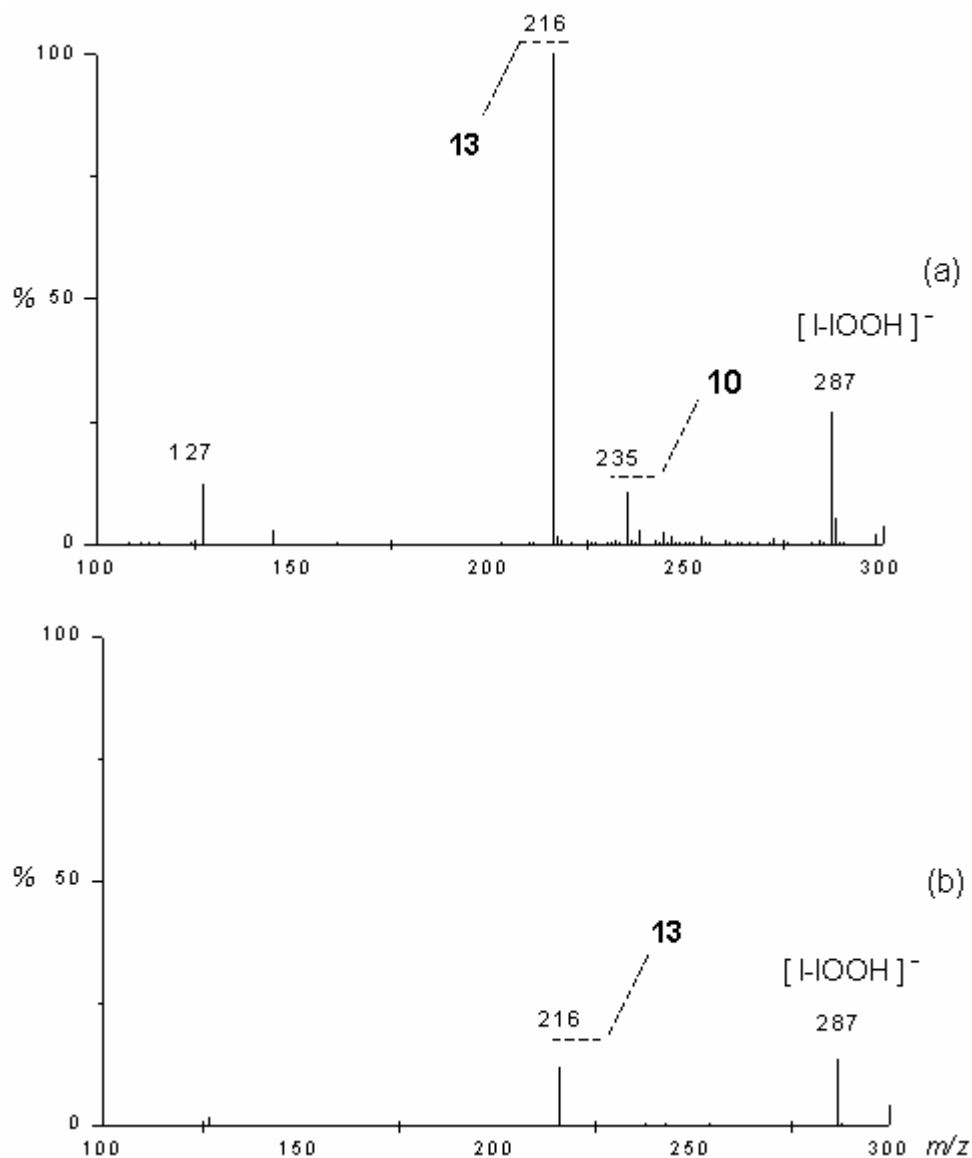


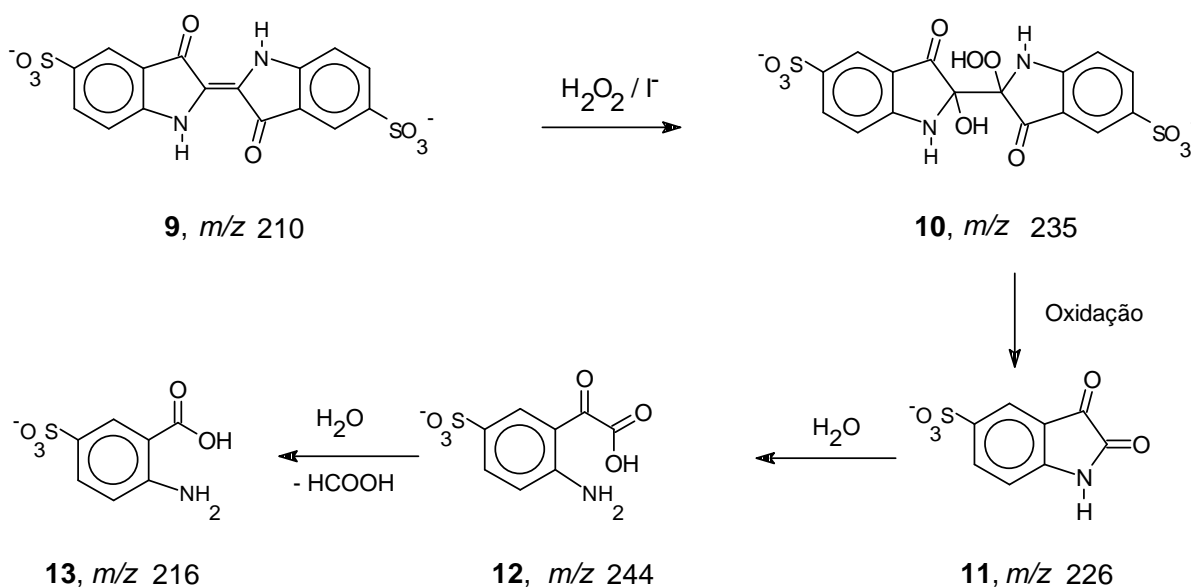
Figura 5.11 - Espectros ESI-MS das alíquotas do monitoramento da degradação corante do índigo carmin pelo sistema H_2O_2/T retiradas após (a) 20 e (b) 60 min de reação.

No espectro obtido em 20 min pode-se observar, como sinal mais intenso, o de m/z 216 (**13**) e também o de m/z 235 (**10**), em menor intensidade. Já nos espectros obtidos para tempos maiores de reação observa-se o contínuo decréscimo da abundância relativa destes sinais, como pode ser visto no espectro coletado em 60 min de reação, Figura 5.11b. A consecutiva diminuição da abundância de m/z 216 indica que esta espécie está sendo

consumida no meio. A detecção destas espécies pode ser uma indicação de que a mesma rota de degradação do corante índigo carmin pode se aplicar para ambos os sistemas, ou seja, H_2O_2 e $\text{H}_2\text{O}_2/\Gamma$.

Proposta de Rota de Degradação do Índigo Carmim

O Esquema 5.4 mostra a proposta de degradação do índigo carmin pelos sistemas H_2O_2 e $\text{H}_2\text{O}_2/\Gamma$, onde se sugere a formação inicial do ânion **10** como um intermediário hidroperóxido através de um simultâneo ataque de radicais hidroxila e hidroperóxido, formados a partir de decomposição do H_2O_2 , na dupla ligação C=C exocíclica de **9**. Um intermediário similar havia sido proposto por Kettle e colaboradores na oxidação do índigo carmin por superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), mas não houve confirmação experimental.⁶¹ O intermediário **10** poderia ser facilmente oxidado gerando **11** (m/z 226), que se converte no ânion **12** (m/z 244) por adição de H_2O . Por fim, a posterior hidrólise de **12** poderia gerar **13**. Esta rota é também proposta para a reação com o sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\Gamma$, com a diferença de que a reação caminha muito mais rapidamente em direção a formação de **13**.



Esquema 5.4 – Rota proposta para a degradação do índigo carmin por H_2O_2 e $\text{H}_2\text{O}_2/\Gamma$ em solução aquosa.

Evidências Adicionais da Formação do Intermediário IOOH

A rota de oxidação do índigo carmim pressupõe que radicais hidroxila e hidroperoxila se encontram presentes no meio reacional. Estas espécies poderiam ser formadas em pequena extensão durante a decomposição do H_2O_2 . Já na presença de iodeto, os radicais seriam formados em uma extensão muito maior provocando a rápida oxidação do corante.

Nos itens anteriores foi proposta a formação da espécie IOOH, durante a decomposição do H_2O_2 catalisada por iodeto. Esta espécie também poderia ser uma fonte iniciadora de radicais no meio, gerando iodo (I^\bullet) e radical hidroperóxido ($^\bullet\text{OOH}$). Segundo Klebanoff,⁵⁰ radicais I^\bullet poderiam induzir a decomposição o peróxido de hidrogênio gerando radicais hidroxila constituindo, assim, uma série de reações em cadeia na qual se formariam mais radicais. Desse modo, o intermediário hidroperóxido **10** poderia ter sido formado através do ataque de radicais, $^\bullet\text{OH}$ e $^\bullet\text{OOH}$, como proposto anteriormente, indicando a presença destas espécies no meio.

5.2.5 Conclusões

Neste trabalho, o sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{I}$ foi avaliado utilizando-se o monitoramento por ESI-MS e análises por ESI-MS². Os resultados indicaram a formação *in situ* de IOOH, cuja proposta estrutural foi obtida através de dados de dissociação induzida por colisão e cálculos teóricos *ab initio* de alto nível. Propôs-se a participação desta espécie, como um possível intermediário na decomposição do H_2O_2 catalisada por iodeto. O monitoramento ESI-MS da degradação do corante índigo carmim por H_2O_2 e $\text{H}_2\text{O}_2/\text{I}$ revelou uma série de espécies resultantes de um processo oxidativo, incluindo um intermediário hidroperóxido instável, detectado pela primeira vez nestas condições. A utilização do monitoramento por ESI-MS mostrou-se uma abordagem adequada na obtenção, em tempo real, de dados relevantes sobre os sistemas estudados. Por fim, os resultados aqui mostrados indicam que o sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{I}$ pode ter aplicabilidade como um processo oxidativo avançado, no entanto, estudos sobre a eficiência deste sistema frente a outras substâncias devem ser feitos.

5.3 Referências Bibliográficas

- 1 - Walling, C. Fenton's Reagent Revisited. **Accounts of Chemical Research**, v.8, n.4, p.125-131. 1975.
- 2 - Huang, C. P., C. Dong, *et al.* Advanced Chemical Oxidation: Its Present Role and Potential Future in Hazardous Waste Treatment. **Waste Management**, v.13, p.361-377. 1993.
- 3 - Haber, F. e J. Weiss. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. **Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences**, v.147, n.861, p.332-351. 1934.
- 4 - Nogueira, R. F. P., A. G. Trovó, *et al.* Fundamentals and environmental applications of fenton and photo-fenton processes. **Química Nova**, v.30, n.2. 2007.
- 5 - Neyens, E. e J. Baeyens. A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. **Journal of Hazardous Materials**, v.98, n.1-3, p.33-50. 2003.
- 6 - Pignatello, J. J. Dark and Photoassisted Fe³⁺-Catalyzed Degradation of Chlorophenoxy Herbicides by Hydrogen-Peroxide. **Environmental Science & Technology**, v.26, n.5, p.944-951. 1992.
- 7 - Nogueira, R. F. P. e J. R. Guimaraes. Photodegradation of dichloroacetic acid and 2,4-dichlorophenol by ferrioxalate/H₂O₂ system. **Water Research**, v.34, n.3, p.895-901. 2000.
- 8 - Badawy, M. I. e M. E. M. Ali. Fenton's peroxidation and coagulation processes for the treatment of combined industrial and domestic wastewater. **Journal of Hazardous Materials**, v.136, n.3, p.961-966. 2006.
- 9 - Ustun, G. E. e S. K. A. Solmaz. Color and COD removal from organized industrial district (OID) wastewater by Fenton process. **Fresenius Environmental Bulletin**, v.15, n.6, p.508-511. 2006.
- 10 - Zak, S. The use of Fenton's system in the yeast industry wastewater treatment. **Environmental Technology**, v.26, n.1, p.11-19. 2005.
- 11 - Kang, N. e I. Hua. Enhanced chemical oxidation of aromatic hydrocarbons in soil systems. **Chemosphere**, v.61, n.7, p.909-922. 2005.
- 12 - Liu, R. L., Z. H. Liu, *et al.* Fenton integrated processes for landfill leachate treatment. **Journal of Central South University of Technology**, v.13, p.163-166. 2006.
- 13 - Meric, S., H. Selcuk, *et al.* Acute toxicity removal in textile finishing wastewater by Fenton's oxidation, ozone and coagulation-flocculation processes. **Water Research**, v.39, n.6, p.1147-1153. 2005.
- 14 - Barbusinski, K. Toxicity of industrial wastewater treated by Fenton's reagent. **Polish Journal of Environmental Studies**, v.14, n.1, p.11-16. 2005.
- 15 - Chamarro, E., A. Marco, *et al.* Use of Fenton reagent to improve organic chemical biodegradability. **Water Research**, v.35, n.4, p.1047-1051. 2001.

- 16 - Khan, E., R. W. Babcock, *et al.* Mineralization and biodegradability enhancement of low level p-nitrophenol in water using Fenton's reagent. **Journal of Environmental Engineering-Asce**, v.131, n.2, p.327-331. 2005.
- 17 - Tekin, H., O. Bilkay, *et al.* Use of Fenton oxidation to improve the biodegradability of a pharmaceutical wastewater. **Journal of Hazardous Materials**, v.136, n.2, p.258-265. 2006.
- 18 - Barros, A. L., T. M. Pizzolato, *et al.* Decolorizing dye wastewater from the agate industry with Fenton oxidation process. **Minerals Engineering**, v.19, n.1, p.87-90. 2006.
- 19 - Lucas, M. S. e J. A. Peres. Decolorization of the azo dye Reactive Black 5 by Fenton and photo-Fenton oxidation. **Dyes and Pigments**, v.71, n.3, p.236-244. 2006.
- 20 - Yu, F. Y., C. W. Li, *et al.* Color, dye and doc removal, and acid generation during fenton oxidation of dyes. **Environmental Technology**, v.26, n.5, p.537-544. 2005.
- 21 - Tambosi, J. L., M. Di Domenico, *et al.* Treatment of paper and pulp wastewater and removal of odorous compounds by a Fenton-like process at the pilot scale. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v.81, n.8, p.1426-1432. 2006.
- 22 - Lin, S. S. e M. D. Gurol. Heterogeneous catalytic oxidation of organic compounds by hydrogen peroxide. **Water Science and Technology**, v.34, n.9, p.57-64. 1996.
- 23 - Watts, R. J. e S. E. Dilly. Evaluation of iron catalysts for the Fenton-like remediation of diesel-contaminated soils. **Journal of Hazardous Materials**, v.51, n.1-3, p.209-224. 1996.
- 24 - Andreozzi, R., V. Caprio, *et al.* Oxidation of 3,4-dihydroxybenzoic acid by means of hydrogen peroxide in aqueous goethite slurry. **Water Research**, v.36, n.11, p.2761-2768. 2002.
- 25 - Lu, M. C., J. N. Chen, *et al.* Role of goethite dissolution in the oxidation of 2-chlorophenol with hydrogen peroxide. **Chemosphere**, v.46, n.1, p.131-136. 2002.
- 26 - Feng, J., X. J. Hu, *et al.* Novel bentonite clay-based Fe-nanocomposite as a heterogeneous catalyst for photo-fenton discoloration and mineralization of orange II. **Environmental Science & Technology**, v.38, n.1, p.269-275. 2004.
- 27 - Herrera, F., A. Lopez, *et al.* Catalytic decomposition of the reactive dye Uniblue A on hematite. Modeling of the reactive surface. **Water Research**, v.35, n.3, p.750-760. 2001.
- 28 - Barreiro, J. C., M. D. Capelato, *et al.* Oxidative decomposition of atrazine by a Fenton-like reaction in a H₂O₂/ferrihydrite system. **Water Research**, v.41, n.1, p.55-62. 2007.
- 29 - Huang, H. H., M. C. Lu, *et al.* Catalytic decomposition of hydrogen peroxide and 2-chlorophenol with iron oxides. **Water Research**, v.35, n.9, p.2291-2299. 2001.
- 30 - Kwan, W. P. e B. M. Voelker. Rates of hydroxyl radical generation and organic compound oxidation in mineral-catalyzed Fenton-like systems. **Environmental Science & Technology**, v.37, n.6, p.1150-1158. 2003.
- 31 - Costa, R. C. C., M. De Fatima, *et al.* Remarkable effect of Co and Mn on the activity of Fe₃-xMxO₄ promoted oxidation of organic contaminants in aqueous medium with H₂O₂. **Catalysis Communications**, v.4, n.10, p.525-529. 2003.

- 32 - Costa, R. C. C., M. F. F. Lelis, *et al.* Novel active heterogeneous Fenton system based on Fe₃-xMxO₄ (Fe, Co, Mn, Ni): The role of M²⁺ species on the reactivity towards H₂O₂ reactions. **Journal of Hazardous Materials**, v.129, n.1-3, p.171-178. 2006.
- 33 - Moura, F. C. C., M. H. Araújo, *et al.* Efficient use of Fe metal as an electron transfer agent in a heterogeneous Fenton system based on FeO/Fe₃O₄ composites. **Chemosphere**, v.60, n.8, p.1118-1123. 2005.
- 34 - Moura, F. C. C., G. C. Oliveira, *et al.* Formation of highly reactive species at the interface Fe degrees-iron oxides particles by mechanical alloying and thermal treatment: Potential application in environmental remediation processes. **Chemistry Letters**, v.34, n.8, p.1172-1173. 2005.
- 35 - Kwan, W. P. e B. M. Voelker. Influence of electrostatics on the oxidation rates of organic compounds in heterogeneous Fenton systems. **Environmental Science & Technology**, v.38, n.12, p.3425-3431. 2004.
- 36 - Rios-Enriquez, M., N. Shahin, *et al.* Optimization of the heterogeneous Fenton-oxidation of the model pollutant 2,4-xylidine using the optimal experimental design methodology. **Solar Energy**, v.77, n.5, p.491-501. 2004.
- 37 - Budavari, S. **The merck index : an encyclopedia of chemicals drugs, and biologicals**. 11.en. New Jersey: Rahway. 1989. 1606 p.
- 38 - Moura, F. C. C., M. H. Araujo, *et al.* Investigation of reaction mechanisms by electrospray ionization mass spectrometry: characterization of intermediates in the degradation of phenol by a novel iron/magnetite/hydrogen peroxide heterogeneous oxidation system. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v.20, n.12, p.1859-1863. 2006.
- 39 - Augusti, R., A. O. Dias, *et al.* Kinetics and mechanism of benzene derivative degradation with Fenton's reagent in aqueous medium studied by MIMS. **Journal of Physical Chemistry A**, v.102, n.52, p.10723-10727. 1998.
- 40 - Hansen, J. C. The iodide-catalyzed decomposition of hydrogen peroxide: A simple computer-interfaced kinetics experiment for general chemistry. **Journal of Chemical Education**, v.73, n.8, p.728-732. 1996.
- 41 - Shakhashiri, B. Z. **Chemical Demonstrations: A Handbook for Teachers of Chemistry** Madison, WI: University of Wisconsin Pres, v.4. 1992. 37-43 p.
- 42 - Trujillo, C. A. A modified demonstration of the catalytic decomposition of hydrogen peroxide. **Journal of Chemical Education**, v.82, n.6, p.855-855. 2005.
- 43 - Conklin, A. R. e A. Kessinger. Demonstration of the catalytic decomposition of hydrogen peroxide. **Journal of Chemical Education**, v.73, n.9, p.838-839. 1996.
- 44 - Liebafsky, H. A. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by the iodine-iodide couple at 25°. **Journal of the American Chemical Society**, v.54, p.1792-1806. 1932.
- 45 - Liebafsky, H. A. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by the iodine-iodide couple. II, III. The rate of oxidation in neutral and in acid solution of hydrogen peroxide by iodine. **Journal of the American Chemical Society**, v.54, p.3499-3508. 1932.
- 46 - Liebafsky, H. A. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by the iodine-iodide couple. IV. The approach to the steady state. **Journal of the American Chemical Society**, v.56, p.2369-2372. 1934.

- 47 - Iskra, J., S. Stavber, *et al.* Nonmetal-catalyzed iodination of arenes with iodide and hydrogen peroxide. **Synthesis-Stuttgart**, n.11, p.1869-1873. 2004.
- 48 - Barluenga, J., M. Marco-Arias, *et al.* Reaction of alkenes with hydrogen peroxide and sodium iodide: A nonenzymatic biogenic-like approach to iodohydrins. **Chemistry-a European Journal**, v.10, n.7, p.1677-1682. 2004.
- 49 - Mitic, S. S., G. Z. Miletic, *et al.* Kinetic determination of traces of iodide by its catalytic effect on oxidation of sodium pyrogallol-5-sulfonate by hydrogen peroxide. **Analytical Sciences**, v.19, n.6, p.913-916. 2003.
- 50 - Klebanoff, S. J. The Iron-H₂O₂-Iodide Cytotoxic System. **Journal of Experimental Medicine**, v.156, n.4, p.1262-1267. 1982.
- 51 - Sugar, A. M., R. S. Chahal, *et al.* The Iron Hydrogen- Peroxide Iodide System Is Fungicidal - Activity against the Yeast Phase of Blastomyces Dermatitidis. **Journal of Leukocyte Biology**, v.36, n.4, p.545-548. 1984.
- 52 - Suda, I. e H. Takahashi. Degradation of Methyl and Ethyl Mercury into Inorganic Mercury by Other Reactive Oxygen Species Besides Hydroxyl Radical. **Archives of Toxicology**, v.66, n.1, p.34-39. 1992.
- 53 - Lago, R. M. Informação verbal fornecida pelo Professor Rochel M. Lago. Departamento de Química da UFMG, Belo Horizonte Abril de 2004.
- 54 - Duarte, H. A. e G. F. D. Lima. Resultados fornecidos pelo Professor Hélio A. Duarte. Departamento de Química da UFMG, Belo Horizonte Maio de 2007.
- 55 - Green, F. **The Sigma Aldrich Handbook of Stains, Dyes and Indicators Aldrich Chemical**. Milwaukee: Aldrich Chemical. 1990. 403 p.
- 56 - Hachem, C., F. Bocquillon, *et al.* Decolourization of textile industry wastewater by the photocatalytic degradation process. **Dyes and Pigments**, v.49, n.2, p.117-125. 2001.
- 57 - Vautier, M., C. Guillard, *et al.* Photocatalytic degradation of dyes in water: Case study of indigo and of indigo carmine. **Journal of Catalysis**, v.201, n.1, p.46-59. 2001.
- 58 - Zainal, Z., L. K. Hui, *et al.* Removal of dyes using immobilized titanium dioxide illuminated by fluorescent lamps. **Journal of Hazardous Materials**, v.125, n.1-3, p.113-120. 2005.
- 59 - Flox, C., S. Ammar, *et al.* Electro-Fenton and photoelectro-Fenton degradation of indigo carmine in acidic aqueous medium. **Applied Catalysis B-Environmental**, v.67, n.1-2, p.93-104. 2006.
- 60 - Gemeay, A. H., I. A. Mansour, *et al.* Kinetics and mechanism of the heterogeneous catalyzed oxidative degradation of indigo carmine. **Journal of Molecular Catalysis a-Chemical**, v.193, n.1-2, p.109-120. 2003.
- 61 - Kettle, A. J., B. M. Clark, *et al.* Superoxide converts indigo carmine to isatin sulfonic acid - Implications for the hypothesis that neutrophils produce ozone. **Journal of Biological Chemistry**, v.279, n.18, p.18521-18525. 2004.

*CAPÍTULO 6 OXIDAÇÃO DO ISOPRENO
MEDIADA POR RADICAIS
HIDROXILA*

6.1 Isopreno e os Aerossóis Atmosféricos

Aerossóis são suspensões relativamente estáveis de partículas sólidas ou gotículas dispersas num gás com dimensões inferiores a $100\ \mu\text{m}$, mas tamanhos superiores aos das moléculas individualizadas. Os aerossóis atmosféricos desempenham um importante papel no clima e na química atmosférica. Eles são importantes componentes no mecanismo de formação de chuvas, pois atuam como núcleos de condensação de nuvens.¹ Este mecanismo envolve a atração e condensação de moléculas de água, formando núcleos que crescem até se tornarem pesados o suficiente para precipitarem na forma de chuva. Além disso, também alteram o balanço radiativo atmosférico devido ao espalhamento e absorção de luz solar.² A classificação dos aerossóis atmosféricos é feita de acordo com a origem ou processos de formação em primários e secundários.³ Os aerossóis atmosféricos primários são gerados a partir de fontes naturais ou antropogênicas, Figura 6.1. Como exemplos destes aerossóis têm-se as partículas de carbono (carbono orgânico e carbono negro), de poeiras do solo, de emissões vulcânicas, de sal marinho, de atividades industriais e de origem biogênicas (compostos orgânicos voláteis (COVs), material húmico e partículas microbianas). Os aerossóis atmosféricos secundários são formados a partir dos primários podendo classificar-se em três categorias principais: aerossóis de sulfato, aerossóis de nitrato e aerossóis orgânicos secundários (AOS).

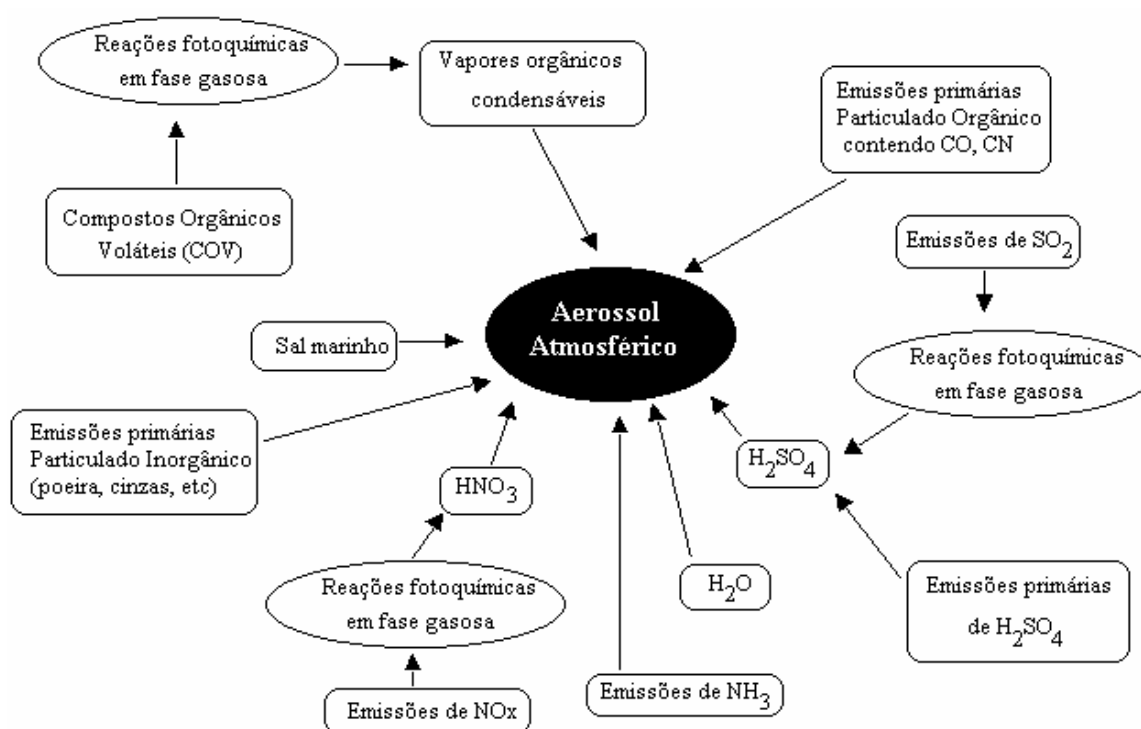
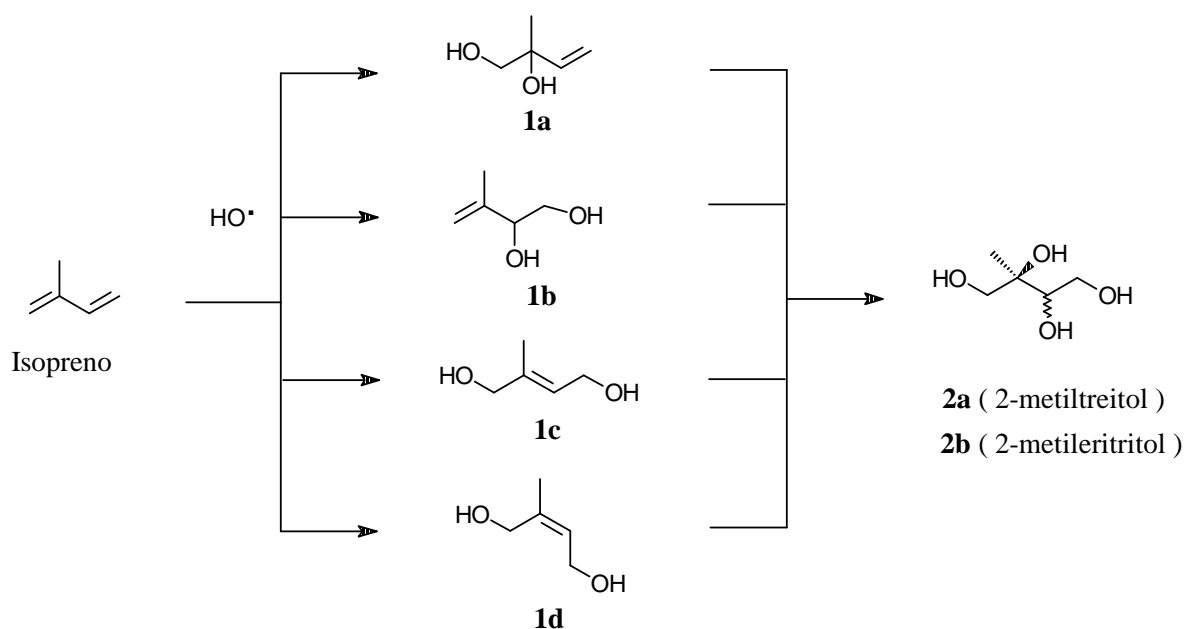


Figura 6.1 – Representação dos mecanismos de formação do aerossol atmosférico.

Recentemente Clayes e colaboradores detectaram em amostras de aerossóis da floresta Amazônica, durante a estação úmida, dois componentes inéditos neste tipo de amostra: a mistura diastereoisomérica do 2-metiltetrol (2-metiltreitol e 2-metileritritol).⁴ Estes componentes foram também detectados em florestas da Hungria e Finlândia.^{5,6} Estes tetróis são higroscópicos, com baixa pressão de vapor e possuem uma estrutura com cinco carbonos, que segundo Clayes e colaboradores⁴ seriam importantes AOS na formação dos núcleos de condensação de nuvens na região Amazônica. Devido ao esqueleto com cinco carbonos observado nestes compostos, os autores propuseram que estes tetróis (**2**) seriam formados a partir dos dióis (**1**), gerados por sua vez através da oxidação do isopreno induzida por radicais hidroxila foto gerados, Esquema 6.1.



Esquema 6.1 - Proposta de formação dos tetróis (**2a** e **2b**) a partir da oxidação do isopreno feita por Clayes e colaboradores.⁴

6.2 Isopreno como Precursor de Aerossóis Orgânicos Secundários

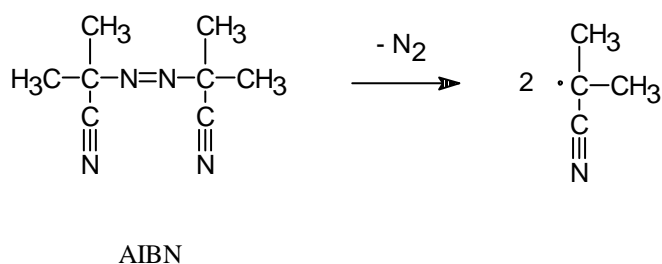
O isopreno (2-metil-1,3-butadieno) é um hemiterpeno proveniente de emissões biogênicas, por exemplo, a partir do algodoeiro, eucalipto, carvalho e pinheiros brancos.⁷ Este composto possui uma importante posição no modelamento mundial da qualidade do ar, já que representa cerca de 50% dos hidrocarbonetos biogênicos emitidos em escala global, retirando do balanço o CH₄ e cuja estimativa de geração é 500 Tg por ano.⁸ No entanto, apesar destas grandes quantidades de emissão, assumia-se que o isopreno não contribuía para a produção de AOS nas condições ambientais.^{9,10} Considerava-se que a foto-oxidação do isopreno na atmosfera resultasse apenas em compostos leves e voláteis, tais como formaldeído, metacroleína e metilvinilcetona, e não em produtos polares que pudessem gerar aerossóis.^{8,10}

O exato mecanismo de oxidação pelo qual o isopreno é transformado em 2-metiltetrol, na atmosfera, não está claro ainda e por isso mecanismos ocorridos tanto em fase gasosa quanto aquosa têm sido considerados em alguns estudos. Dessa forma, Claeys e colaboradores realizaram em laboratório um estudo cujos resultados mostraram que o isopreno em solução aquosa pode ser convertido em produtos polihidroxilados, entre eles os isômeros sin e anti do 2-metiltetrol, através de reação com H₂O₂ catalisada por ácido.¹¹ Os autores indicam que esta pode ser uma rota de formação de AOS a partir de isopreno biogênico. Um outro estudo investigou a fotoxidação do isopreno mediada por radicais hidroxila (irradiação com UV da mistura isopreno/ar/H₂O₂ em uma câmara) na presença e ausência de NO_x e relatou a formação dos dióis 2-metil-3-buten-1,2-diol (**1a**) e 3-metil-3-buten-1,2-diol (**1b**).¹² Os autores indicam que a formação dos dióis a partir da oxidação atmosférica do isopreno pode ocorrer na ausência de NO_x, principalmente em áreas remotas onde ocorre grande volume de emissão do isopreno. Um estudo feito por Boge e colaboradores em uma câmara de *smog* com alta percentagem de umidade relativa (45 %), utilizando H₂O₂ como agente oxidante na presença de partículas ácidas, mostrou que o isopreno e o diol **1a** atuaram como precursores dos 2-metiltetróis.¹³ O rendimento observado para o diol, como precursor, foi maior do que o observado para o isopreno. Assim, estas informações dão suporte à hipótese de que dióis, formados na fase gasosa, poderiam ser oxidados no aerossol em fase líquida por reações mediadas por radicais hidroxila.

Com o objetivo de investigar o possível papel do isopreno para a formação dos 2-metiltetróis como AOS, na fase líquida do aerossol, experimentos de oxidação feitos em solução aquosa mediada por radicais hidroxila, foto e quimicamente gerados, foram realizados. As reações foram monitoradas utilizando ESI-MS e ESI-MS/MS para detectar e caracterizar as espécies geradas nesta reação.

6.3 Monitoramento da Oxidação do Isopreno por $\text{H}_2\text{O}_2/\text{AIBN}$ e $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$

Os experimentos de oxidação do isopreno em solução aquosa foram feitos utilizando dois sistemas para gerar radicais hidroxila em meio aquoso: o $\text{H}_2\text{O}_2/\text{AIBN}$ e $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$. O sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{AIBN}$ produz quimicamente os radicais hidroxila, utilizando o reagente azobisisobutironitrila (AIBN) como iniciador de radical.¹⁴ Este é um reagente amplamente empregado, cuja geração de radicais ocorre a partir da clivagem das ligações C-N e da favorecida liberação de nitrogênio molecular, Esquema 6.2. Os radicais isobutironitrilas, assim que formados, reagem com H_2O_2 , decompondo-o e iniciando a geração dos radicais hidroxila. O sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, classificado como um processo oxidativo avançado, produz os radicais hidroxila fotoquimicamente, como discutido no Capítulo 2.



Esquema 6.2 – AIBN como iniciador de radicais.

6.3.1 Parte Experimental

Reagentes

Os reagentes isopreno (Sigma-Aldrich, 99,5 %, CAS 78-79-5, 68,12 g.mol⁻¹), AIBN (Sigma-Aldrich, 98 %), H_2O_2 (Merck, 30 %) e padrão 2-metiltetrol (sintetizado e cedido por Magda Claeys, *Department of Pharmaceutical Sciences, University of Antwerp*, Bélgica) foram utilizados sem prévia purificação. Utilizou-se água Milli-Q para o preparo das soluções.

Experimentos de Oxidação

A oxidação do isopreno mediada por radicais hidroxila quimicamente gerados foi realizada pela mistura de 1,0 mL de isopreno, 5,0 mL de H₂O₂ (30 %) e 10,0 mg de AIBN. A mistura resultante foi mantida sob contínua agitação.

A oxidação do isopreno mediada por radicais hidroxila fotoquimicamente gerados foi realizada pela mistura de 5,0 mL de isopreno, 5,0 mL de H₂O₂ (30 %) e 20 mL de água, com posterior irradiação por lâmpada de UV (Philips TUV G5T8, 254 nm, 15 W) no reator descrito no Capítulo 4.

Duas soluções controles foram também monitoradas, uma contendo 5,0 mL de H₂O₂ (30 %) e 10,0 mg de AIBN, e outra contendo 5,0 mL de isopreno, 5,0 mL de H₂O₂ (30 %) mantida na ausência de luz.

As alíquotas dos sistemas descritos acima foram coletadas em função do tempo, com uma microseringa, e imediatamente analisadas por ESI-MS e ESI-MS/MS (método 1b).

6.3.2 Resultados e Discussão

Monitoramento ESI-MS

A Figura 6.2a apresenta o espectro ESI-MS da solução aquosa após 10 minutos de reação do isopreno com o sistema H₂O₂/AIBN. Neste espectro, pode-se observar, após este curto período de reação, a presença de um conjunto abundante de íons com m/z 101, 119, 133, 135, 149, 151, 165 e 179. No monitoramento deste sistema, por tempos maiores de reação, observa-se um contínuo aumento das abundâncias relativas dos íons de m/z 133, 149, 151, 165 e 179 e a diminuição para os íons de m/z 101 e 135.

Estes íons foram atribuídos a ânions de produtos oxigenados formados na oxidação do isopreno. Assim, o íon de m/z 101 foi atribuído aos dióis **1** desprotonados ($[\mathbf{1} - \text{H}]^-$) e o íon m/z 119 foi proposto como aduto de água de $[\mathbf{1} - \text{H}]^-$. O íon de m/z 135 foi atribuído aos tetróis **2** desprotonados ($[\mathbf{2} - \text{H}]^-$), devido à diferença de 34 Da em relação ao íon de m/z 101.

Os outros íons detectados sugerem a presença de produtos polioxygenados, como será discutido à frente neste texto.

Um resultado similar foi observado nos espectros ESI-MS obtidos das alíquotas da reação de oxidação no sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ (espectros não mostrados), para tempos maiores de reação (40-50 min).

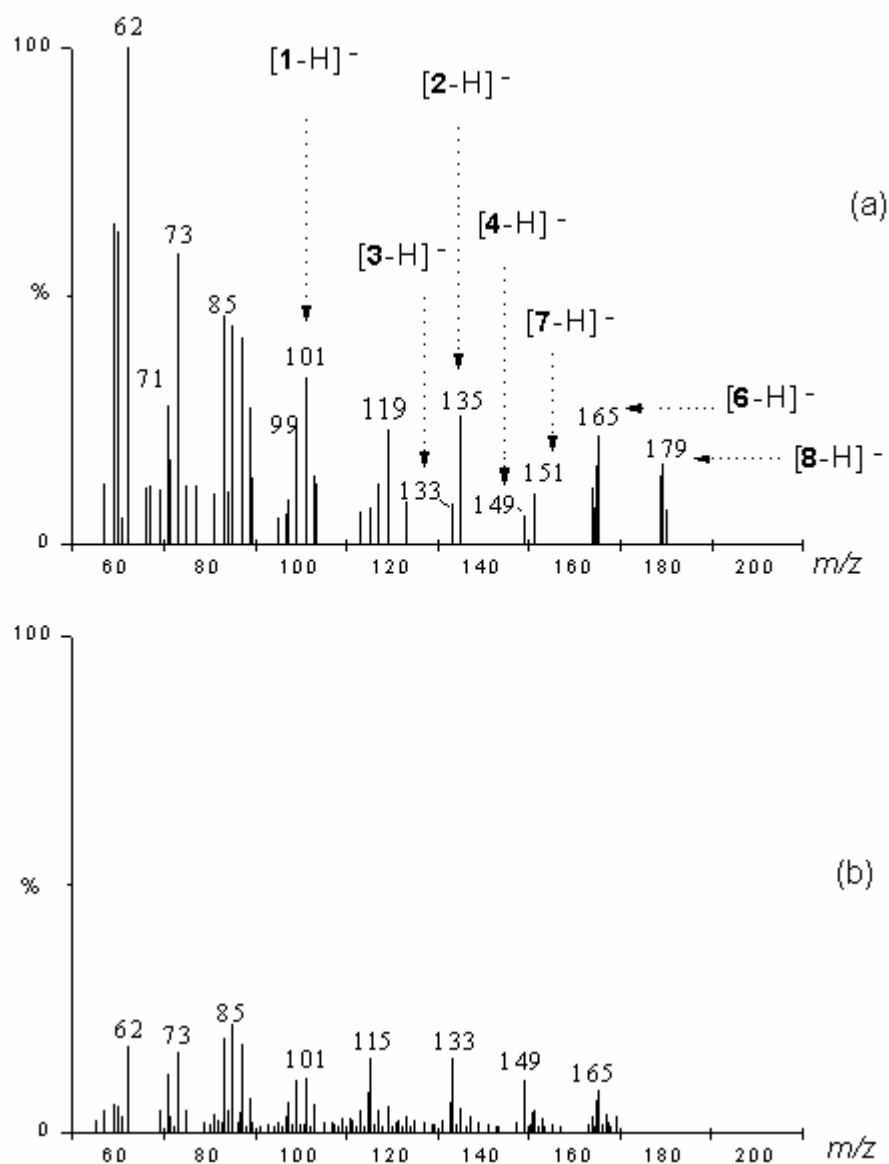


Figura 6.2 – Espectros ESI-MS, no modo negativo, para: (a) solução aquosa da reação do isopreno com radicais hidroxila quimicamente gerados por H_2O_2 -AIBN após 10 min de reação, e (b) solução controle contendo isopreno e H_2O_2 , armazenada por 3 horas na ausência de luz. As abundâncias em ambos os espectros são relativas ao m/z 62.

Para verificar se os íons observados no espectro da Figura 6.2a poderiam ter origem na oxidação do AIBN foi realizado o monitoramento ESI-MS da solução controle contendo AIBN e H₂O₂. Como resultado (espectros não mostrados) observou-se apenas íons com baixa abundância e com valores não coincidentes de m/z .

Em outro experimento, uma solução controle contendo isopreno e H₂O₂ foi armazenada por 3 horas na ausência de luz e seu espectro ESI-MS foi obtido, Figura 6.2b. Neste, pode se observar a presença de um conjunto de íons similar ao do espectro da Figura 6.2a, mas com abundâncias menores. Isto indica que os radicais hidroxila, provavelmente formados em baixa concentração nestas condições, podem reagir com o isopreno para formar produtos oxigenados.

Caracterização por ESI-MS/MS

Para caracterizar os íons observados nas análises anteriores foram realizados experimentos de dissociação induzida por colisão. A Figura 6.3 mostra o espectro ESI-MS/MS do íon m/z 135, no qual nota-se uma série de íons resultantes da sua fragmentação.

Devido às diferenças de m/z observadas, as seguintes perdas foram propostas: H₂ (m/z 133), H₂O (m/z 117), H₂O + H₂ (m/z 115), MeOH (m/z 103), MeOH + H₂ (m/z 101), 2 H₂O (m/z 99), H₂O + CO (m/z 89), H₂O + MeOH (m/z 85), 3 H₂O (m/z 81) e 2 MeOH (m/z 71). Este comportamento, ou seja, a eliminação de moléculas de água (de grupos OH) e metanol (de grupos CH₂OH), a eliminação consecutiva de duas moléculas de metanol (m/z 103 e 71) e de água (m/z 117, 99 e 81) permitem propor que os íons com m/z 135 se originam do 2-metiltetrol desprotonado [2 - H]⁻, como proposto no Esquema 6.3. Além disso, uma evidência mais conclusiva é obtida quando se compara este resultado com o espectro CID de uma solução aquosa do padrão 2-metiltetrol, como o mostrado na Figura 6.3b.

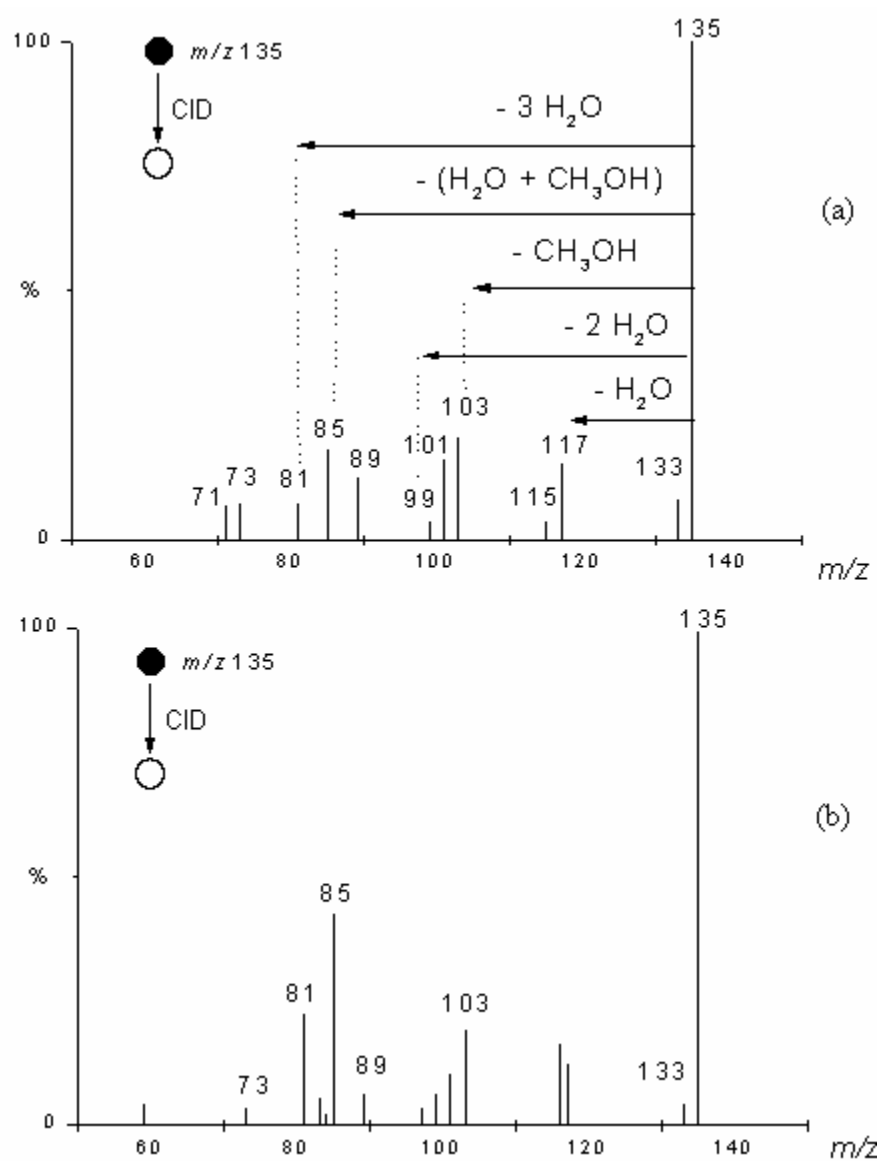
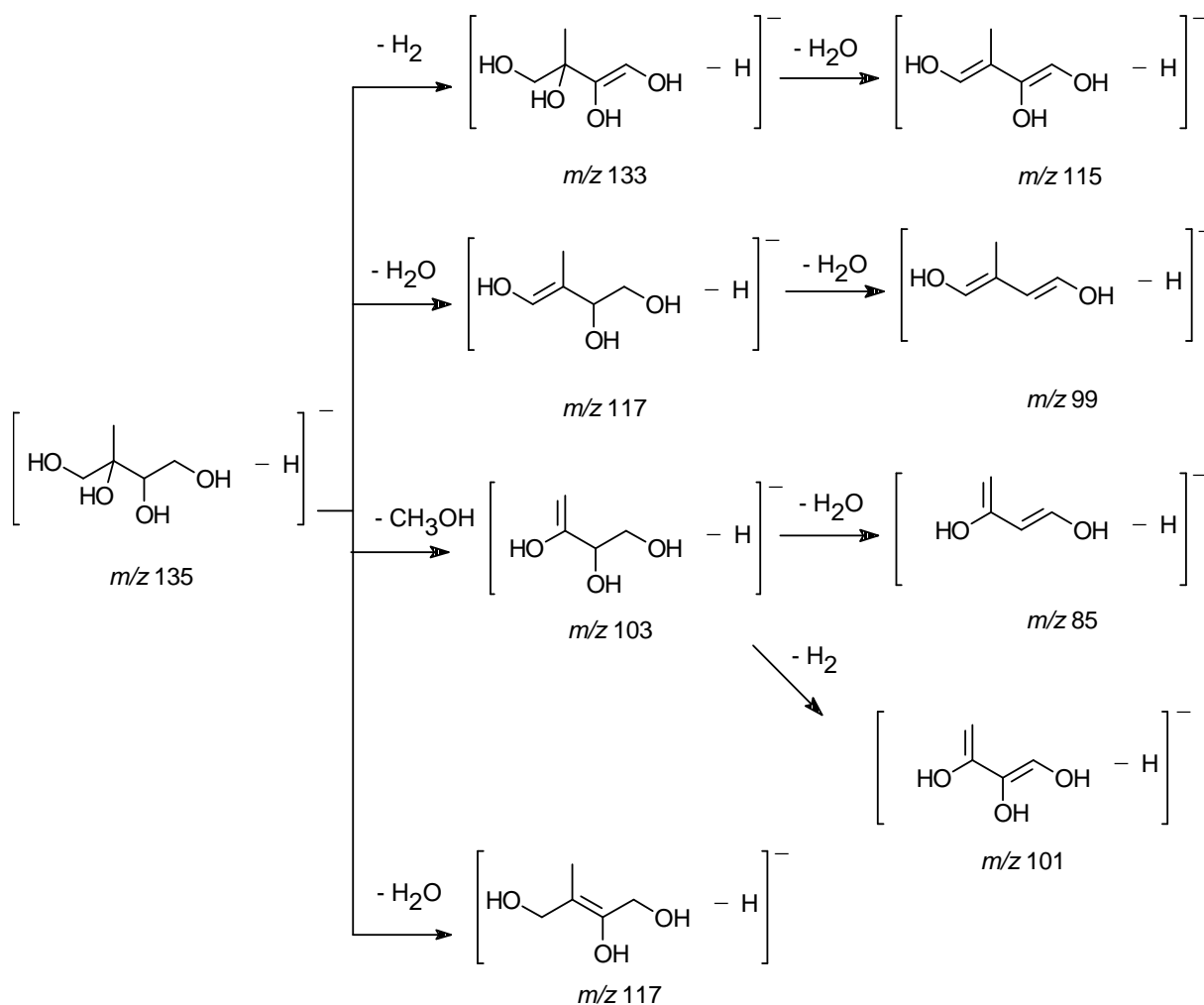


Figura 6.3 – Espectros ESI-MS/MS dos íons de m/z 135 a partir de: (a) alíquota da solução aquosa da reação do isopreno com radicais hidroxila quimicamente gerados por H_2O_2 -AIBN e (b) padrão 2-metiltetrol.



Esquema 6.3 – Proposta de fragmentação CID do íon de m/z 135, atribuído ao 2-metiltetrol desprotonado $[2 - H]^-$.

Os íons de m/z 133, 149, 151, 165 e 179 foram, também, submetidos a experimentos de dissociação induzida por colisão e os espectros ESI-MS/MS (não mostrados) revelaram os seguintes perfis de fragmentação:

- íon m/z 133, perdas de H_2O (m/z 115), $\text{CO} + \text{H}_2$ (m/z 103) e $\text{CH}_3\text{OH} + \text{H}_2$ (m/z 99),
- íon de m/z 149, perdas de H_2O (m/z 131), $\text{CH}_3\text{OH} + \text{H}_2$ (m/z 115), $\text{CO} + \text{H}_2\text{O}$ (m/z 103) e $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ (m/z 89),
- íon m/z 151, perdas de $\bullet\text{CH}_3$ (m/z 136) e $\bullet\text{CH}_3 + \text{CO}$ (m/z 106),
- íon m/z 165, perdas de $\bullet\text{CH}_3$ (m/z 150) e $\bullet\text{CH}_3 + \text{H}$ (m/z 149), $\bullet\text{CH}_3 + \text{CO}$ (m/z 122), $\bullet\text{CH}_3 + \text{CO}_2$ (m/z 106), e
- íon m/z 179, perdas de $\bullet\text{CH}_3$ (m/z 164) e $\bullet\text{CH}_3 + \text{CO}_2$ (m/z 120).

O perfil de fragmentação destes íons sugere que eles possuem uma estrutura polihidroxilada e ainda, em alguns, a presença de grupos carbonílicos.

Espectrometria de Massas de Alta Exatidão

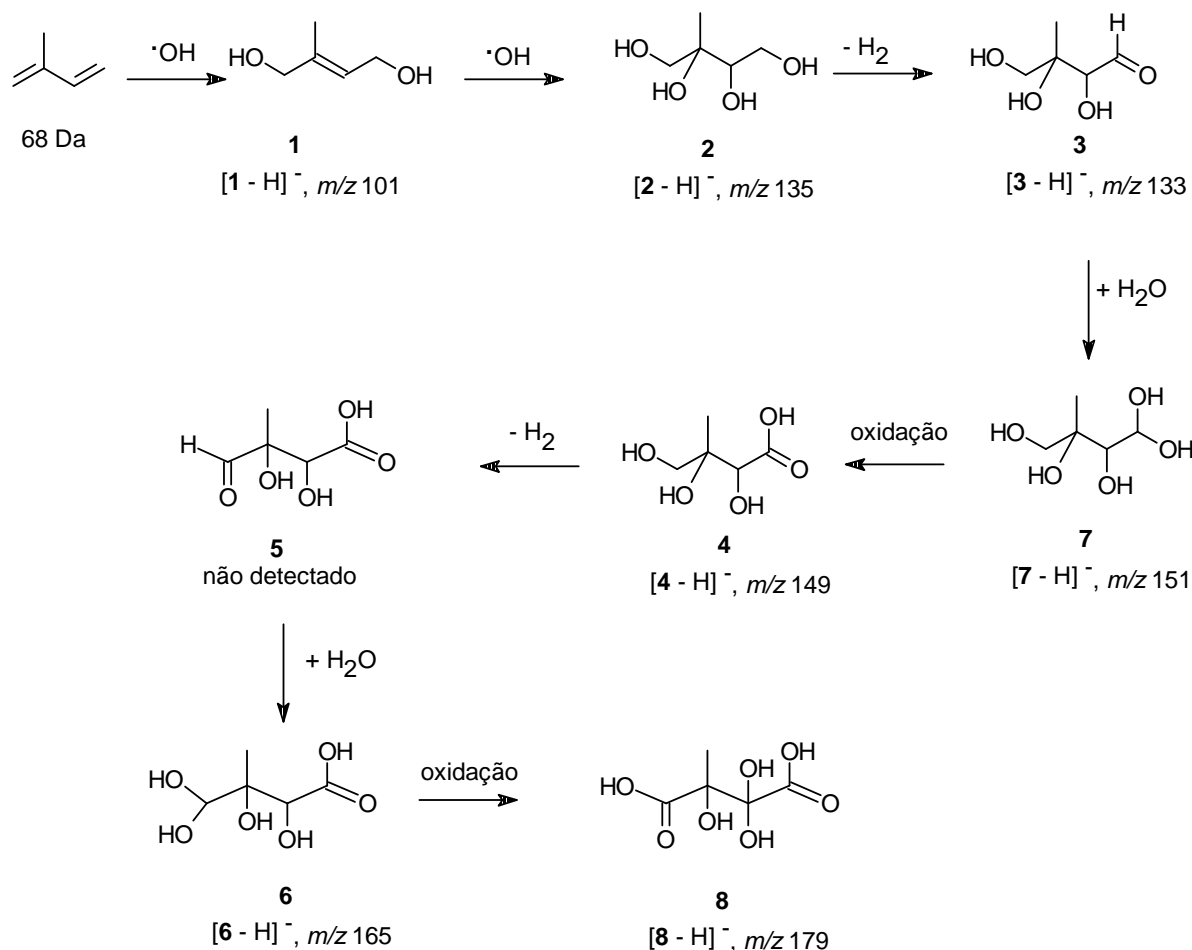
O monitoramento dos sistemas foi conduzido com medidas de massa de alta exatidão e os resultados são apresentados na Tabela 6.1. Os resultados mostram nível de concordância razoável entre os valores experimentais, atribuídos aos polióis desprotonados, e valores teóricos, considerando moléculas formadas por C, O e H.

Tabela 6.1 Comparação entre os valores de m/z experimentais e calculados para os íons observados no espectro ESI-MS das alíquotas da oxidação do isopreno mediada por radicais hidroxila.

| m/z Experimental | m/z Calculado | Δ massa / ppm | Composição Elementar | Atribuição |
|-----------------------|-----------------|----------------------|-------------------------------------|----------------------|
| 101,0584 | 101,0603 | 19 | $\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_2$ | [1 – H] ⁻ |
| 135,0595 | 135,0657 | 46 | $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}_4$ | [2 – H] ⁻ |
| 133,0455 | 133,0501 | 35 | $\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_4$ | [3 – H] ⁻ |
| 149,0511 | 149,0450 | 41 | $\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_5$ | [4 – H] ⁻ |
| 165,0325 | 165,0399 | 45 | $\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_6$ | [6 – H] ⁻ |
| 151,0643 | 151,0606 | 25 | $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}_5$ | [7 – H] ⁻ |
| 179,0177 | 179,0191 | 8 | $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_7$ | [8 – H] ⁻ |

Rota de Formação de Produtos da Oxidação do Isopreno

De acordo com os resultados observados a partir das análises ESI-MS, a formação de 2-metiltetróis e de outros produtos polioxigenados a partir da oxidação do isopreno em solução aquosa mediada por radicais hidroxila é proposta no Esquema 6.4.



Esquema 6.4 – Rota proposta para a formação dos produtos da oxidação do isopreno mediada por radicais hidroxila.

No Esquema 6.4, propõe-se que os dióis **1** atuam como precursores dos tetróis **2** e estes, por sua vez, podem atuar como precursores dos compostos polioxigenados **3-8**. Desse modo, um dos grupos CH₂OH de **2** é oxidado, formando o aldeído **3**, e este é convertido ao ácido carboxílico **4**. A formação de **5** é sugerida ocorrer através da oxidação do grupo CH₂OH de **4**. No entanto, o ânion [5 - H]⁻ não foi detectado nos monitoramentos por ESI-MS. Os

hidratos **6** e **7**, espécies provavelmente estáveis em solução aquosa, poderiam ser formados a partir da adição nucleofílica de H₂O à carbonila dos composto **5** e **3**, respectivamente. Finalmente, o composto **8** é sugerido ser formado a partir da oxidação de **6**.

As estruturas propostas para estes produtos foram baseadas nos resultados dos experimentos CID e nas medidas de massa de alta exatidão, e também no comportamento clássico ocorrido em reações de oxidação mediada por radicais hidroxila.¹⁵ No entanto, outras estruturas isoméricas são possíveis de serem propostas e, conseqüentemente, outras rotas de formação destes compostos também podem ser propostas.

6.4 Conclusões

Neste trabalho, a oxidação do isopreno com H₂O₂, iniciada ou por AIBN ou por radiação UV, foi avaliada por ESI-MS. A detecção *in situ* e a caracterização estrutural de 2-metiltetrol (**2**) oferecem mais um suporte de que o isopreno pode atuar como precursor de compostos capazes de gerar núcleos de condensação de nuvens, como já detectado por Claeys e colaboradores na Floresta Amazônica.⁴ De acordo com proposições anteriores, e com os resultados aqui apresentados, estes compostos poderiam ser formados na fase líquida dos aerossóis atmosféricos. Além disso, outros compostos polioxigenados poderiam ser formados a partir de um processo mais extensivo de oxidação dos tetróis, como foi aqui demonstrado, e assim atuar também como componentes dos AOS. A abordagem utilizada, monitoramento por ESI-MS, se mostrou adequada na obtenção destes resultados e poderá ser útil em outros estudos de detecção e caracterização de produtos gerados a partir de reações de oxidação com outros possíveis precursores de AOS, como por exemplo, metivinilcetona, metacroleína e ácido pirúvico.^{16,17}

6.5 Referências Bibliográficas

1 - Novakov, T. e J. E. Penner. Large Contribution of Organic Aerosols to Cloud-Condensation-Nuclei Concentrations. **Nature**, v.365, n.6449, p.823-826. 1993.

-
- 2 - Andreae, M. O. e P. J. Crutzen. Atmospheric aerosols: Biogeochemical sources and role in atmospheric chemistry. **Science**, v.276, n.5315, p.1052-1058. 1997.
- 3 - Alves, U. Atmospheric aerosols: Historical perspective, sources, chemical formation processes and organic composition. **Quimica Nova**, v.28, n.5, p.859-870. 2005.
- 4 - Claeys, M., B. Graham, *et al.* Formation of secondary organic aerosols through photooxidation of isoprene. **Science**, v.303, n.5661, p.1173-1176. 2004.
- 5 - Ion, A. C., R. Vermeylen, *et al.* Polar organic compounds in rural PM_{2.5} aerosols from K-puszta, Hungary, during a 2003 summer field campaign: Sources and diel variations. **Atmospheric Chemistry and Physics**, v.5, p.1805-1814. 2005.
- 6 - Kourtschev, I., T. Ruuskanen, *et al.* Observation of 2-methyltetrols and related photo-oxidation products of isoprene in boreal forest aerosols from Hyytiala, Finland. **Atmospheric Chemistry and Physics**, v.5, p.2761-2770. 2005.
- 7 - Nunes, F. M. N., P. A. D. Pereira, *et al.* Gas phase reactions of ozone with olefins. **Quimica Nova**, v.23, n.6, p.794-804. 2000.
- 8 - Guenther, A., C. N. Hewitt, *et al.* A Global-Model of Natural Volatile Organic-Compound Emissions. **Journal of Geophysical Research-Atmospheres**, v.100, n.D5, p.8873-8892. 1995.
- 9 - Seinfeld, J. H. e S. N. Pandis. **Atmospheric Chemistry and Physics: From Air Pollution to Climate Change**. John Wiley & Sons. New York. 1998. p. 748
- 10 - Pandis, S. N., S. E. Paulson, *et al.* Aerosol Formation in the Photooxidation of Isoprene and Beta-Pinene. **Atmospheric Environment Part a-General Topics**, v.25, n.5-6, p.997-1008. 1991.
- 11 - Claeys, M., W. Wang, *et al.* Formation of secondary organic aerosols from isoprene and its gas-phase oxidation products through reaction with hydrogen peroxide. **Atmospheric Environment**, v.38, n.25, p.4093-4098. 2004.
- 12 - Ruppert, L. e K. H. Becker. A product study of the OH radical-initiated oxidation of isoprene: formation of C-5-unsaturated diols. **Atmospheric Environment**, v.34, n.10, p.1529-1542. 2000.
- 13 - Boge, O., Y. Miao, *et al.* Formation of secondary organic particle phase compounds from isoprene gas-phase oxidation products: An aerosol chamber and field study. **Atmospheric Environment**, v.40, n.14, p.2501-2509. 2006.
- 14 - Takenaka, M., A. F. Johnson, *et al.* Aspects of High-Conversion Free-Radically Initiated Polymerizations.1. Initiator Efficiency in the Homopolymerization of Acrylonitrile and Methyl Acrylate in Dimethylsulfoxide with Azobisisobutyronitrile as Initiator. **Polymer**, v.35, n.18, p.3899-3907. 1994.
- 15 - March, J. **Advanced Organic Chemistry**. 4th. New York, NY: Wiley. 1992
- 16 - Lee, W., M. Baasandorj, *et al.* Monitoring OH-initiated oxidation kinetics of isoprene and its products using online mass spectrometry. **Environmental Science & Technology**, v.39, n.4, p.1030-1036. 2005.
- 17 - Carlton, A. G., B. J. Turpin, *et al.* Link between isoprene and secondary organic aerosol (SOA): Pyruvic acid oxidation yields low volatility organic acids in clouds. **Geophysical Research Letters**, v.33, n.6, L06822. 2006.

CAPÍTULO 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta tese foram apresentados os seguintes estudos, todos realizados em meio aquoso: (i) degradação da cafeína por TiO_2/UV , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e Fenton; (ii) degradação da tetraciclina pelo processo de ozonização; (iii) sistema Fenton heterogêneo baseado em magnetita; (iv) sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{I}$; e (v) oxidação do isopreno por radicais hidroxila.

As reações ocorridas nestes sistemas possuem, como ponto comum, a sua relevância ambiental, seja na degradação de poluentes (cafeína e tetraciclina), desenvolvimento de novos agentes oxidativos (Fenton heterogêneo e $\text{H}_2\text{O}_2/\text{I}$), ou auxiliando no aumento do conhecimento de eventos relativos à química atmosférica. Os intermediários e produtos formados nestas reações, e que foram detectados/caracterizados pelo monitoramento por ESI-MS, permitiram que propostas sobre a química envolvida nestes sistemas fossem inferidas.

As informações específicas obtidas para estes sistemas foram possíveis devido à capacidade da ESI-MS em detectar espécies ionizadas presentes na fase aquosa diretamente da amostra sem a necessidade de pré-tratamento. Isto demonstrou uma das maiores vantagens do uso desta técnica de análise, já que permitiu a detecção de espécies polares e instáveis que poderiam não ser detectadas por outra técnica, por exemplo, GC-MS. Portanto, a aplicação das análises por ESI-MS e ESI-MS seqüencial no monitoramento de processos oxidativos para obter informações relevantes e específicas sobre estes sistemas foi demonstrada nesta tese.

Por fim, o conhecimento gerado pelos monitoramentos por ESI-MS dos processos oxidativos avançados pode auxiliar na compreensão dos eventos intrínsecos a estes processos, auxiliando no desenvolvimento de etapas importantes da implementação deste tipo de tratamento. Por isso, os trabalhos descritos aqui podem ser úteis na elaboração de futuros estudos sobre reações ocorridas em processos oxidativos avançados, sendo assim uma proveitosa fonte de consulta bibliográfica.

ANEXOS

Lista de Trabalhos Apresentados em Congressos

Paim, L.A., Augusti, D.V., Dalmázio, I., Alves, T.M.A., Augusti, R., Siebald, H.J.L. Caracterização de complexos RuCp(dppf)X (X = Cl⁻, Br⁻, I⁻ e N₃⁻) e RuCp(dppf)SnX₃ (X = Cl⁻ e Br⁻) através das técnicas ESI-MS e ESI-MS/MS. XXVI Congresso Latinoamericano de Química, 21^a Reunião Anual da SBQ, **2004**, Salvador-BA.

Dalmázio, I., Lopes, R.P., Augusti, R., Alves, T.M.A. Avaliação da Degradação do Paracetamol em Meio Aquoso Induzida pelos Sistemas H₂O₂/UV e TiO₂/UV. 28^o Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, **2005**, Poços de Caldas- MG

Dalmázio, I., Lopes, R.P., Augusti, R., Alves, T.M.A. Monitoramento da degradação do Paracetamol pelo Sistema TiO₂/UV através da Técnica ESI-MS. 13^o Encontro Nacional de Química Analítica, 1^o Congresso Ibero-Americano de Química Analítica, **2005**, Niterói-RJ.

Moura, F.C.C., Araujo, M.H., Dalmázio, I., Augusti, R., Santos, L.S., Eberlin, M.N Lago, R.M. Estudos cinéticos e mecanismo de oxidação de compostos orgânicos através de um novo sistema Fenton heterogêneo baseado em Fe⁰/Fe₃O₄/H₂O₂. 13^o Congresso Brasileiro de Catálise, 3^o Congresso de Catálise do Mercosul, **2005**, Foz do Iguaçu-PR.

Augusti, R., Dalmázio, I., Moura, F.C.C., Araujo, M.H., Lago, R.M., Alves, T.M.A. Degradação do corante indigo carmim pelo sistema oxidativo H₂O₂/I⁻:monitoramento por espectrometria de massas com ionização electrospray (ESI-MS). III Encontro sobre Aplicações Ambientais de Processos Oxidativos Avançados, **2005**, Campinas-SP.

Moura, F.C.C., Dalmázio, I., Araujo, M.H., Macedo, W.A.A., Ardisson, J., Augusti, R., Santos, L.S., Eberlin, M.N Lago, R.M. Novo sistema Fenton heteorgêneo baseado em misturas de Fe⁰/Fe₃O₄ para contaminação de oxidantes em meio aquoso [1,2]. Estudos mecanísicos por ESI-MS [3]. III Encontro sobre Aplicações Ambientais de Processos Oxidativos Avançados, **2005**, Campinas-SP.

Augusti, R., Dalmázio, I., Moura, F.C.C., Araujo, M.H., Lago, R.M., Alves, T.M.A. Degradação do corante indigo carmim pelo sistema oxidativo H₂O₂/I⁻:monitoramento por

espectrometria de massas com ionização electrospray (ESI-MS). I Congresso BrMass, **2005**, Campinas-SP.

Dalmázio, I., Almeida, M. O., Augusti, R., Influência da Modificação do pH na Degradação da Tetraciclina por Ozonização em Meio Aquoso. XX Encontro da Sociedade Brasileira de Química-MG, **2006**, São João Del Rei-MG.

Lista de Artigos Publicados e Aceitos para Publicação

Dalmázio, I, Alves, T.M.A., Augusti, R. An Appraisal on the Degradation of Paracetamol by the TiO₂/UV System in Aqueous Medium. Products Identification by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC/MS). **Journal of Brazilian Chemical Society**, (no prelo), **2007**.

Dalmázio, I, Urzedo, A.P.F.M., Alves, T.M.A., Catharino, R.R., Eberlin, M.N., Nascentes, C.C., Augusti, R. Electrospray ionization mass spectrometry monitoring of indigo carmine degradation by advanced oxidative processes. **Journal of Mass Spectrometry**, (no prelo), **2007**.

Dalmázio, I, Almeida, M.O., Alves, T.M.A., Augusti, R. Monitoring the Degradation of Tetracycline by Ozone in Aqueous Medium Via Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometry. **Journal of The American Society for Mass Spectrometry**, v. 18, p. 679–687, **2007**.

Santos, L.S.; Dalmázio, I., Augusti, R.; Eberlin, M.N. Mimicking the atmospheric OH-radical-mediated photooxidation of isoprene: formation of cloud-condensation nuclei polyols monitored by electrospray ionization mass spectrometry. **Rapid Communication in. Mass Spectrometry**, v. 20, p. 2104–2108, **2006**.

Moura, F.C.C., Araujo, M.H., Dalmázio, I., Alves, T.M.A., Santos, L.S., Eberlin, M.N Augusti, R., Lago, R.M. Investigation of reaction mechanisms by electrospray ionization mass spectrometry: characterization of intermediates in the degradation of phenol by a novel iron/magnetite/hydrogen peroxide heterogeneous oxidation system. **Rapid Communication in. Mass Spectrometry**, v. 20, p. 2104–2108, **2006**.

Dalmázio, I., Santos, L.S.; Lopes, R. P.; Eberlin, M.N; Augusti, R. Advanced Oxidation of Caffeine in Water: On-Line and Real-Time Monitoring by Electrospray Ionization Mass Spectrometry. **Environmental Science & Technology**, v. 39, p. 5982-5988, **2005**.

Paim, L.A., Augusti, D.V., Dalmázio, I., Alves, T.M.A., Augusti, R., Siebald, H.J.L. Electrospray ionization and tandem mass spectrometry characterization of novel heterotrimetallic Ru(η^5 -C₅H₅)(dppf)SnX₃ complexes and their heterobimetallic Ru(η^5 -C₅H₅)(dppf)X precursors. **Polyhedron**, v.24, n.10, p.1153-1159, **2005**.