

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

AMAURI GERALDO DE SOUZA

Avaliação da Estabilidade de  
Agrotóxicos Frente às Condições de  
Tratamento de Água Utilizando SPME-  
GC/MS e ESI/MS

Belo Horizonte

2011

UFMG – ICEX/IQ.861<sup>a</sup>

T.368<sup>a</sup>

AMAURI GERALDO DE SOUZA

# **Avaliação da Estabilidade de Agrotóxicos Frente às Condições de Tratamento de Água Utilizando SPME-GC/MS e ESI/MS**

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

Belo Horizonte

2011

S719a Souza, Amauri Geraldo de,  
2011 Avaliação da estabilidade de agrotóxicos frente às  
T condições de tratamento de água utilizando SPME-GC/MS  
e ESI/MS / Amauri Geraldo de Souza. 2011.  
xix, 104 f. : il.

Orientadora: Zenilda de Lourdes Cardeal.  
Coorientador: Rodinei Augusti.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas  
Gerais. Departamento de Química.  
Inclui bibliografia.

1. Química analítica - Teses 2. Degradação ambiental  
- Teses 3. Água - Análise - Teses 4. Produtos químicos  
agrícolas - Teses 5. Cromatografia de gás - Teses 6.  
Espectrometria de massa - Teses I. Cardeal, Zenilda de  
Lourdes, Orientadora. II. Augusti, Rodinei,  
Coorientador. III. Título.

CDU 043



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - ICEx  
31270-901 - BELO HORIZONTE - MG  
TEL.: 031 - 3499-5732  
FAX: 031 - 3499-5700  
E-MAIL: pgquimic@zeus.qui.ufmg.br



**"Avaliação da Estabilidade de Agrotóxicos Frente as Condições de Tratamento de Água Utilizando SPME-GC/MS e ESI/MS"**

**Amauri Geraldo de Souza**

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Profª. Zenilda de Lourdes Cardeal - Orientadora  
UFMG

Prof. Rodinei Augusti - Co-Orientador  
UFMG

Profª. Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz  
UFV

Prof. Maurício Xavier Coutrim  
UFOP

Profª. Clésia Cristina Nascentes  
UFMG

Prof. Evandro Piccin  
UFMG

Belo Horizonte, 30 de maio de 2011.

A meus maravilhosos pais: José (Duca) e Ercília

A meus irmãos, sobrinhos e afilhados

A meus amigos com “A” maiúsculo

## AGRADECIMENTOS

À Deus que permitiu com suas bênçãos sobre mim e a todos os meus queridos, que sempre levantou-m quando tropecei, e que sempre me encorajou quando fraquejei, para chegar até o presente momento. Glórias a ti SENHOR.

À Professora Dra. Zenilda de Lourdes Cardeal, pela orientação e ensinamentos transmitidos até o presente momento, confiados a meu trabalho.

Ao querido Dr. Professor Rodinei Augusti, pelos ensinamentos, sugestões, orientações, profissionalismo e paciência transmitidos durante o curso e por ter me possibilitado outros caminhos, e sobretudo pela sua valiosa amizade conquistada durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus colegas do laboratório 171 e 167, que foram minha família de convivência diária, nos momentos do cafezinho maravilhoso, e a todos eles que direta ou indiretamente contribuíram para a elaboração deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFMG por todo apoio concedido.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de doutorado

A Fundação Ezequiel Dias (FUNED), pela viabilização do início deste trabalho, pela concessão de alguns padrões.

Ao CETEC pelas coletas de amostras concedidos

Ao IGAM pelas sugestões e ajudas dadas no decorrer das análises

Aos funcionários que com paciência e compreensão nos atenderam nos momentos que eram requisitados.

A meus irmãos, sobrinhos e sobrinhas pelo carinho, respeito e compreensão em todos os momentos de ausência.

À meus queridos pais Duca e Ercília, por terem feito de mim um ser humano, capaz de respeitar, ouvir e acima de tudo amar ao próximo, e que nunca deixaram de acreditar em meu potencial, obrigado pela ajuda financeira, incentivos e dificuldades enfrentadas por minha causa, obrigado por tudo. Obrigado por tanto carinho e dedicação. Amo vocês...

A Fabiano que fez parte dos últimos momentos de minha vida neste trabalho, obrigado pelo carinho, convivência e compreensão...

E a todos aqueles que ajudaram tornar possível a realização deste Trabalho.

“O segredo não é correr atrás das borboletas ...  
E cuidar do jardim para que elas venham até você”.

*Mário Quintana.*

<b>SUMÁRIO.....</b>	<b>viii</b>
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
LISTA DE FIGURAS.....	xiv
LISTA DE TABELAS.....	xvi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLA.....	xvii
LISTA DE ESQUEMAS.....	xix
CAPÍTULO 1.....	1
1 – INTRODUÇÃO .....	1
1.1 - RELEVÂNCIA E OBJETIVOS .....	2
1.2 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	5
CAPÍTULO 2.....	8
2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	8
2.1 – TÉCNICAS DE ANÁLISES .....	9
2.2 – ANÁLISES AMBIENTAIS DE AGROTÓXICOS E SEUS SUB-PRODUTOS .....	12
2.2.1 – MÉTODO DE EXTRAÇÃO .....	12
2.3 – PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	17
2.4 – ESPECTROMETRIA DE MASSAS.. .....	19
2.4.1- MÉTODOS DE IONIZAÇÃO.....	21
2.4.2 – IONIZAÇÃO ELECTROSPRAY .....	21
2.5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	23
CAPÍTULO 3 .....	30
3 - ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA DA BACIA DO RIO SÃO FRANCISCO.....	30
3.1 – INTRODUÇÃO .....	31
3.2 - PARTE EXPERIMENTAL .....	32
3.2.1 – REAGENTES .....	32
3.2.2 – EQUIPAMENTOS.....	33
3.2.3 – INSTRUMENTAÇÃO.....	34

<b>SUMÁRIO.....</b>	<b>ix</b>
3.2.4 – MÉTODO DE ANÁLISE .....	35
3.2.5 - PREPARO DAS SOLUÇÕES .....	35
3.3 – AMOSTRAGEM .....	35
3.3.1 - PREPARAÇÃO DOS FRASCOS DE COLETA DE AMOSTRAS .....	35
3.3.2 – AMOSTRAS DE ÁGUA.....	36
3.3.3 – AMOSTRAS DE SEDIMENTOS .....	38
3.5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	39
3.5.1 – ESCOLHA DO SOLVENTE DE DILUIÇÃO DOS PADRÕES DE AGROTÓXICOS.....	40
3.5.2 – ESTUDO DA LINEARIDADE .....	41
3.5.3 – ANÁLISE DE AMOSTRAS DE ÁGUA E SEDIMENTOS DA BACIA DO RIO SÃO FRANCISCO .....	43
3.6 – CONCLUSÕES .....	43
3.7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	44
 CAPÍTULO 4 .....	 46
4 - DEGRADAÇÃO DE AGROTÓXICOS PROTÓTIPO SUBMETIDO A CONDIÇÕES DE TRATAMENTO DE ÁGUA CONVENCIONAIS: A INFLUÊNCIA DOS PRINCIPAIS PARÂMETROS.....	46
4.1 – INTRODUÇÃO.....	47
4.2 – METODOLOGIA .....	49
4.2.1 – REAGENTES .....	49
4.2.2 – REAÇÕES.....	50
4.2.3 – MONITORAMENTO DA DEGRADAÇÃO.....	51
4.2.4 – INSTRUMENTAÇÃO .....	51
4.2.5 – PLANEJAMENTO FATORIAL.....	52
4.2.6 – PLANEJAMENTO DOHELERT .....	53
4.3 – RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	55
4.3.1 – DEGRADAÇÃO COMPLETA DE AGROTÓXICOS ORGANOCLORADOS E ORGANOFOSFORADOS PROTÓTIPOS NAS CONDIÇÕES TÍPICAS EMPREGADAS EM ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ÁGUA.....	60

<b>SUMÁRIO.....</b>	<b>x</b>
4.4 – CONCLUSÕES .....	61
4.5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	62
CAPÍTULO 5 .....	66
5 - MONITORAMENTO DA DEGRADAÇÃO DO AGROTÓXICO ORGANOFOSFORADO DIAZINON POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM IONIZAÇÃO ELECTROSPRAY.....	66
5.1 – INTRODUÇÃO .....	67
5.1.1 - MONITORAMENTO DE PROCESSOS DE DEGRADAÇÃO: ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM IONIZAÇÃO ELECTROSPRAY (ESI-MS) .....	67
5.1.2 – OZONIZAÇÃO .....	67
5.1.3 - DEGRADAÇÃO DE AGROTÓXICOS PROMOVIDA POR RADIAÇÃO UV E HIPOCLORITO.....	68
5.2 – OBJETIVOS DO CAPÍTULO .....	69
5.3 – PARTE EXPERIMENTAL .....	70
5.3.1 – REAGENTES.....	70
5.3.2 - PROCEDIMENTO DE DEGRADAÇÃO: RADIAÇÃO UV E HIPOCLORITO .....	70
5.3.3 - PROCEDIMENTO DE DEGRADAÇÃO: OZONIZAÇÃO.....	71
5.3.4 – ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM IONIZAÇÃO ELECTROSPRAY .....	71
5.3.5 – ENSAIOS DE ECOTOXICIDADE.....	72
5.4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	73
5.4.1- MONITORAMENTO POR ESI(+)-MS: INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO UV .....	73
5.4.2- MONITORAMENTO POR ESI(+)-MS: DEGRADAÇÃO DO DIAZINON EM MEIO AQUOSO PROMOVIDA POR OZÔNIO E HIPOCLORITO DE SÓDIO .....	77
5.4.3 – PROPOSTA PARA ROTA DE DEGRADAÇÃO .....	77
5.4.4 - PERFIL DE FRAGMENTAÇÃO DOS PRINCIPAIS ÍONS.....	79
5.5 – TESTES DE TOXICIDADE COM ARTEMIAS SALINAS.....	80
5.6 – CONCLUSÕES .....	83
5.7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	83
CAPÍTULO 6 .....	88
6 – CONCLUSÃO .....	88
6.1 – CONCLUSÃO GERAL .....	89

<b>Sumário.....</b>	<b>xi</b>
ANEXOS.....	91
ANEXO 1 – ARTIGO DE REVISÃO .....	92
ANEXO 2 – ARTIGO DE DEGRADAÇÃO DE AGROTÓXICOS ORGANOFOSFORADOS.....	104

**RESUMO**

Os agrotóxicos, mesmo favorecendo a produção e conservação de alimentos, são nocivos e a detecção de seus resíduos tem requerido rigorosos métodos de controle. O avanço de tecnologias analíticas sensíveis e seletivas tem permitido a detecção destas substâncias em níveis de traço. Este trabalho descreve a utilização das técnicas de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS) e a espectrometria de massas com ionização electrospray (ESI/MS), para estudos relacionados à contaminação ambiental por agrotóxicos.

O primeiro estudo descreve a aplicação de um método de microextração em fase sólida (SPME) com cromatografia gasosa e detector de espectrometria de massas (GC/MS), para à análise de resíduos de agrotóxicos em amostras de águas da Bacia do Rio São Francisco. Foram estudados agrotóxicos organoclorados, organofosforados e piretróides. Apenas algumas amostras de sedimento mostraram a presença de resíduos de agrotóxicos organoclorados endosulfan sulfato e op"-metoxicloro.

O segundo estudo investigou a influência da concentração de hipoclorito de sódio, pH e tempo de exposição à luz UV, fatores usualmente importantes em uma estação convencional de tratamento de água, na degradação de alguns agrotóxicos da classe dos organofosforados, organoclorados e piretróides. As determinações foram feitas por SPME-GC/MS. Para determinar os efeitos desses fatores predominantes, assim como as possíveis interações entre eles, foi construído um planejamento fatorial  $2^3$  e superfícies de resposta (através da abordagem Doehlert) visando avaliar se as condições otimizadas propiciavam a taxa máxima de degradação dos agrotóxicos. Posteriormente, foram determinados os tempos de exposição à radiação UV que produziam completa degradação do dissulfoton e do endosulfan sulfato (agrotóxicos organofosforado e organoclorado, respectivamente).

Finalmente, utilizou-se a técnica de ESI/MS para o monitoramento do processo de degradação fotocatalítica do agrotóxico organofosforado, diazinon em meio aquoso, induzida por hipoclorito de sódio e ozônio. Com os resultados deste estudo foi possível propor uma rota de degradação para este composto exposto às condições usuais de estações de tratamento de águas, foi avaliada a toxicidade dos seus produtos de degradação através de testes com *artemia salina*.

**Abstract**

Pesticides, even encouraging the production and preservation of foods, are harmful waste and its detection has required strict control methods. The advancement of analytical technologies have allowed sensitive and selective detection of these substances at trace levels. This paper describes the use of the techniques of gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) and mass spectrometry with electrospray ionization (ESI/MS) for studies related to environmental contamination by pesticides.

The first study describes the application of a method of solid phase microextraction (SPME) with gas chromatography and mass spectrometry detector (GC/MS) for residue analysis of pesticides in water samples from the São Francisco River Basin. We studied organochlorine pesticides, organophosphates and pyrethroids. Only a few sediment samples showed the presence of residues of organochlorine pesticide endosulfan sulfate and *op*'-methoxychlor.

The second study investigated the influence of concentration of sodium hypochlorite solution, pH and time of exposure to UV light, usually important factors on a conventional water treatment on degradation of some class of pesticides organophosphorus, organochlorine and pyrethroids. Measurements were made by SPME-GC/MS. A factorial design<sup>23</sup> was built to determine the effects of these predominant factors, as well as the possible interactions between them. In addition, were also constructed response surfaces (through Doehlert surfaces) to assess whether the optimized conditions provide the maximum rate of degradation of each pesticide. Later, were determinate the exposition time to UV radiation that produced complete degradation of dissulfoton and endosulfan sulfate (organophosphorus and organochlorine pesticides, respectively).

Finally, the ESI/MS technique was used for monitoring the photocatalytic degradation process of the pesticide organophosphate diazinon in aqueous medium, induced by sodium hypochlorite and ozone. With the results of this study was possible to propose a route for this pesticide degradation under such conditions. In addition to check the degradation of diazinon exposed to usual conditions of water treatment stations, the toxicity of the their products of degradation was evaluated by tests with *Artemia salina*.

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>xiv</b>
<b>Figura 2.1 -</b> Etapas num processo analítico visando à análise química por G.....	12
<b>Figura 2.2 -</b> Exposição da fibra por microextração em fase sólida (SPME), no modo <i>headspace</i> (a) e a fibra no modo de imersão direta (b).....	13
<b>Figura 2.3 -</b> Sistema de extração inserido no injetor do cromatógrafo.....	14
<b>Figura 2.4 -</b> Superfície de resposta com efeito de interação entre a temperatura e o pH.....	19
<b>Figura 2.5 -</b> Representação esquemática dos componentes do espectrômetro de massas.....	20
<b>Figura 2.6 -</b> Representação esquemática do mecanismo de formação de íons pela técnica ESI.....	22
<b>Figura 3.1 -</b> Sistema SPME (A) vista interna do suporte com a fibra exposta (B) vista com a fibra exposta e o êmbolo travado pelo pino no centro da fenda em Z.....	33
<b>Figura 3.2 -</b> Sistema para extração por SPME. ....	33
<b>Figura 3.3 -</b> Sistema GC/MS (Thermo-Finnigan com detector de espectrometria de massas).....	34
<b>Figura 3.4 –</b> Mapa da Bacia do Rio São Francisco, com alguns pontos de coleta.....	37
<b>Figura 3.5 -</b> Cromatograma de GC/MS (modo positivo, full scan), obtido por SPME, solução de 3,0 µgL <sup>-1</sup> . Condições cromatográficas, descritas nos itens 3.2.3 e 3.2.4.....	39
<b>Figura 3.6 –</b> Extração de uma solução padrão de agrotóxicos 1,0 mgL <sup>-1</sup> em etanol e metanol diluídos em água.....	41
<b>Figura 3.7 –</b> Curvas analíticas para os agrotóxicos estudados.....	42
<b>Figura 4.1 -</b> Estrutura química dos agrotóxicos estudados (*Compostos avaliados para acompanhar a degradação por UV).....	49
<b>Figura 4.2 -</b> Câmara de radiação UV contendo placas de agitação e lâmpada UV.....	50
<b>Figura 4.3 -</b> Gráficos de Pareto relacionados com a degradação de agrotóxicos em meios aquosos.....	56
<b>Figura 4.4 -</b> Superfície de resposta (área do pico cromatográfico em função do pH e do tempo de exposição a radiação UV)(a) ametrina, (b)bifentrina, (c)	

**LISTA DE FIGURAS.....xv**

dissulfoton (d) endosulfan, (e) endosulfan sulfato e (g) pirimifós metil .....	59
<b>Figura 4.5</b> – Degradação de agrotóxicos, dissulfoton (a), e endosulfan sulfato (b), em solução aquosa (em pH 2,0; 4,5 e 7,0) monitorados em função do tempo de exposição a radiação UV e concentração de 1,0 mgL <sup>-1</sup> . O hipoclorito de sódio foi usado na concentração de 2,0 mgL <sup>-1</sup> .....	61
<b>Figura 5.1</b> – Estrutura do diazinon.....	69
<b>Figura 5.2</b> - Ciclo de vida das <i>Artemias salinas</i> .....	72
<b>Figura 5.3</b> - ESI(+)-MS da solução aquosa de diazinon em pH = 5 (a) e de alíquotas retiradas após 30 minutos (b) e 6 horas (c) de exposição à radiação UV.....	75
<b>Figura 5.4</b> - Gráfico mostrando a variação da intensidade absoluta do íon de <i>m/z</i> 305 (diazinon na sua forma protonada) em função do pH da solução (5, 7 e 8) e do tempo de exposição à radiação UV (0, 3 e 6 horas).....	76
<b>Figura 5.5</b> - Testes de toxicidade frente às <i>artemias salinas</i> : (a) água; (b) solução salina; (c) solução contendo hipoclorito de sódio; (d) solução contendo diazinon; (e) solução contendo diazinon e hipoclorito de sódio. Os tempos de exposição à radiação UV são indicados ao lado dos gráficos.....	81

**LISTA DE TABELAS.....xvi**

<b>Tabela 3.1</b> - Descrição das estações de monitoramento.....	37
<b>Tabela 3.2</b> - Pontos de Monitoramento da Bacia do Rio Das Velhas.....	38
<b>Tabela 3.3</b> - Principais fragmentos dos agrotóxicos que constituem a mistura padrão.....	40
<b>Tabela 4.1</b> - Planejamento Fatorial $2^3$ com as variáveis e os respectivos níveis estudados.....	52
<b>Tabela 4.2</b> – Planejamento fatorial completo ( $2^3$ ) mostrando as respostas (área do pico cromatográfico) para o agrotóxico forato degradado sob condições variadas.....	53
<b>Tabela 4.3</b> - Níveis de codificação para os parâmetros investigados das superfícies de resposta.....	54
<b>Tabela 4.4</b> – Matriz Dohelert mostrando as variáveis reais e codificadas (entre parênteses) ( $UV_{tempo}$ e pH) com as respectivas respostas (área do pico cromatográfico), para o agrotóxico forato.....	54
<b>Tabela 5.1</b> - Íons produtos formados a partir da fragmentação dos íons precursores $[1 + H]^+$ , $[2 + H]^+$ , $[3 + H]^+$ e $[4 + H]^+$ .....	80

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....xvii

ABNT	Agência Brasileira de Normas Técnicas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CETEC	Centro Tecnológico de Minas Gerais
Cetesb	Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental
CG	Cromatografia Gasosa
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
GPC	Cromatografia por Permeação em Gel
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
COPAM	Conselho de Política Ambiental de Minas Gerais
ECD	Detector de Captura de Elétrons
EM	Espectrometria de Massas
ESI	Ionização por Electrospray
EI	Impacto de Elétrons
ESI(-)-MS	Espectrometria de Massas com Ionização no Modo Negativo
ESI(+)-MS	Espectrometria de Massas com Ionização no Modo Positivo
NCI	Ionização Química no Modo Negativo
PCI	Ionização Química Positiva
APCI	Ionização Química a Pressão Atmosférica
EPA	Agência Proteção Ambiental
EU	União Européia
FEAM	Fundação Estadual do Meio Ambiente
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
IGAM	Instituto Mineiro de Gestão das Águas
IMA	Instituto Mineiro de Agropecuária
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MS	Ministério da Saúde
NPD	Detector de Nitrogênio e Fósforo
OMS	Organização Mundial de Saúde
PA	Poliacrilato
PDMS	Polidimetilsiloxano

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....xviii

SCAN	Monitoramento de Íons Totais
SPME	Microextração em Fase Sólida
HS	Headspace
LLE	Extração Líquido Líquido
SPE	Extração em Fase Sólida
SINITOX	Sistema Nacional de Informações Toxicológicas
USEPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos
UV	Luz Ultravioleta
OPAS	Organização Pan Americana de Saúde
IQA	Índice de Qualidade das Águas
OC	Organoclorados
OP	Organofosforados
TOC	Carbono Orgânico Total

**LISTA DE ESQUEMAS .....xix**

**Esquema 1** - Rota proposta para a degradação do diazinon em meio aquoso  
induzida por radiação UV.....78

## ***CAPÍTULO 1***

# **“INTRODUÇÃO”**

## 1.1 – RELEVÂNCIA E OBJETIVOS

A contaminação ambiental por agrotóxicos aumentou drasticamente a partir da década de 1990, especialmente em águas superficiais e subterrâneas, e, por isso, tornou-se um assunto de grande preocupação em nível regional, nacional e mundial [1-3]. Tal crescimento foi decorrente da alteração das práticas da agricultura intensiva e do crescimento populacional e industrial, fatores estes que tem causado um aumento preocupante nos níveis de resíduos em várias matrizes ambientais.

O crescimento populacional e industrial fez com que alternativas mais rápidas e eficientes para as práticas agrícolas, como a modernização e o desenvolvimento de novos produtos químicos, fossem desenvolvidas. Para isso, investiu-se no desenvolvimento de novos agrotóxicos que, de um lado, favorecem a produção e conservação de alimentos de origem vegetal e animal, atendendo a demanda mundial, mas, por outro lado, causam efeitos nocivos à população [1].

Segundo dados da Secretária de Política Agrícola do Ministério da Agricultura e Abastecimento [4], o Brasil, em 1997, estava entre os cinco maiores consumidores de agrotóxicos do mundo [5], com um total comercializado de U\$ 1.600.000.000 (um bilhão e seiscentos milhões de dólares), representando 7 % do consumo mundial. Recentemente, a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) divulgou que os preços dos agrotóxicos tiveram uma redução de 49,9 %, em função da desvalorização do dólar, no período de 2003 a 2010 [6,7]. Como consequência, dados da Secretaria de Comércio Exterior tem mostrado um aumento contínuo no consumo de agrotóxicos no país. Por exemplo, nos anos de 2008 e 2009 o país importou, respectivamente, 1,84 e 2,37 mil toneladas destes insumos [8], os quais foram empregados, principalmente, nas culturas de soja (48 %), milho (11 %), cana de açúcar (8 %), algodão (7 %), café (4 %) e citros (3 %) [9].

Outro problema foi constatado pelo Sistema Nacional de Informação Tóxico-Farmacológicas da Fundação Oswaldo Cruz (SINITOX), segundo o qual “*estamos consumindo o lixo que outras nações rejeitam*” [10]. Por exemplo, o metamidofós, agrotóxico de uso proibido pela União Européia, China, Índia e Paraguai, continua sendo comercializado no Brasil. Com a redução do mercado internacional, os produtores intensificaram a pressão para aumentar as vendas no Brasil. Diversas táticas foram utilizadas, acarretando, com isso, “*um preço invisível, que é o aumento*

*do custo na área de saúde*”, sendo este um outro fator que têm colocado o Brasil como um dos principais países consumidores de agrotóxicos. [11,12].

Embora o impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana também tenha crescido nos últimos anos, os estudos existentes são insuficientes para conhecer a extensão da exposição ocupacional e ambiental e a dimensão dos danos à saúde. A contaminação por agrotóxicos pode ocorrer durante a produção, o preparo da formulação, o transporte, a aplicação, o manejo das culturas, a estocagem a colheita dos produtos agrícolas e o consumo de alimentos contaminados. A ingestão, a inalação e o contato dérmico constituem as principais rotas de intoxicação por esses compostos [12]. Nos países em desenvolvimento, a carência de equipamentos e roupas adequadas para agricultores que manipulam os agrotóxicos é a principal causa de exposição, sendo as condições de armazenamento a segunda causa, e a utilização de agrotóxicos já banidos, a terceira. Técnicas deficientes de aplicação de agrotóxicos e desrespeito aos períodos de carência são também causas de sérios problemas de ordem ambiental e de segurança alimentar, acarretando a contaminação do solo, da água e dos alimentos [13].

De acordo com dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), 80 mil substâncias químicas sintéticas foram desenvolvidas no mundo, desde 1950, sendo que 15 mil são utilizadas anualmente para produzir cerca de 500 toneladas de agrotóxicos por ano [14]. Conseqüentemente, são registrados no mundo 25 milhões de casos e cerca de 20 mil mortes involuntárias decorrentes de envenenamento por agrotóxicos a cada ano [15]. Somente nos países em desenvolvimento, ocorrem dois milhões e cem mil casos agudos de envenenamento, com 14 mil óbitos. Outro dado relevante da OMS é que, aproximadamente, três milhões de pessoas são intoxicadas por ano em decorrência da utilização de agrotóxicos. Dessas, 220 mil morrem e 750 mil adquirem doenças crônicas [16]. Estes dados não levam em conta os prováveis problemas crônicos de saúde humana, ocasionados pelos resíduos de agrotóxicos encontrados no meio ambiente e nos alimentos [17-21], os quais formam a mais abrangente fonte de intoxicação.

A ação das substâncias químicas no organismo humano pode ser lenta e demorar anos para se manifestar. O uso prolongado tem causado diversas vítimas fatais, além de vários casos de suicídios. Há relatos de ocorrência de abortos, fetos

com má-formação, cânceres e dermatoses, entre outras doenças. Segundo a OMS, há 20.000 óbitos/ano em consequência da manipulação, inalação e consumo indireto de agrotóxicos nos países em desenvolvimento, como o Brasil [22, 23].

Em 2004, a Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental de São Paulo (Cetesb) organizou uma Conferência sobre “A exposição da criança à contaminação ambiental”. Segundo especialistas, a utilização de substâncias químicas com efeitos toxicológicos pouco conhecidos torna a criança alvo de exposições prolongadas a diversos agentes prejudiciais à sua saúde, principalmente nos países subdesenvolvidos. Assim, os níveis de exposição que não causariam efeito em um adulto, ou lhe produziram um efeito nocivo de curta duração, podem ter consequências graves ao longo da vida de uma criança e/ou adolescente, com possíveis efeitos neurotóxicos. Os alvos, em geral, desta contaminação são os sistemas respiratório, cardiovascular, nervoso, endócrino, reprodutivo e de controle e proteção ao DNA, principalmente, nos primeiros seis meses de desenvolvimento da criança. E, como consequências, acarretam infecções respiratórias agudas, enfermidades diarreicas e intoxicações crônicas e agudas. Contudo, os mais preocupantes são os possíveis efeitos neuro-comportamentais, que afetam a capacidade intelectual das crianças [24].

No cenário atual, é indiscutível que o uso de agrotóxicos nas plantações aumentou a produtividade agrícola, principalmente por propiciar maior tempo de estocagem dos alimentos e garantir a alimentação da população que cresce constantemente. Outro fato indiscutível é que a sociedade tem sido beneficiada pelo uso destes compostos, os quais ajudam a salvar milhões de pessoas através do combate a vetores que causam doenças, tais como malária, dengue, febre amarela, peste bubônica e doenças do sono. Entretanto, a utilização dos agrotóxicos deve ser criteriosa e exige planejamento e cuidados para que sua aplicação não atinja áreas não desejadas e evite causar sérios danos ao meio ambiente. Isto porque alguns agrotóxicos voláteis podem ser carregados pelo vento atingindo aves, mamíferos e diversos outros microorganismos. Quando retidos nas áreas de aplicações, eles podem ser lixiviados, ou percolados atingindo as superfícies das águas e águas subterrâneas, desencadeando o desequilíbrio ecológico. Neste trajeto, podem eliminar diversos seres vivos necessários para a cadeia ecológica. Podem, além disso, sofrer processos de degradação e originar compostos mais

tóxicos [25]. Considerando os diversos problemas e conseqüências supracitados sobre a contaminação ambiental por agrotóxicos, é extremamente importante que estes insumos sejam monitorados constantemente.

Com base nestas informações, este trabalho visou atingir os seguintes objetivos:

- 1) Estudar as possíveis contaminações ambientais geradas pelos agrotóxicos, organoclorados, organofosforados e piretróides pela determinação de seus resíduos em amostras de águas e sedimentos coletadas na Bacia do Rio São Francisco e amostras de água da sub-bacia do Rio das Velhas;
- 2) Investigar a influência de alguns fatores, tais como concentração de hipoclorito de sódio, pH da solução e tempo de exposição à luz UV, usualmente importantes em uma estação convencional de tratamento de água, na degradação agrotóxicos da classe dos organofosforados, organoclorados e piretróides. A radiação UV, simulando uma parte da radiação solar;
- 3) Estudar a degradação do Diazinon em solução aquosa por hipoclorito de sódio, ozônio e radiação ultravioleta.

Para os estudos 1 e 2 desenvolveu-se um método de microextração em fase sólida (SPME), associados à técnica de cromatografia a gás com detector de espectrometria de massas (GC/MS), e para o estudo 3 foi realizado um monitoramento direto pela técnica de espectrometria de massas com ionização electrospray (ESI/MS).

## 1.2 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1 - Nogueira, R.F.P.; Trovó, A.G.; Silva, M.R.A.; Villa, R.D. (2007). Fundamentos e aplicações ambientais dos processos Fenton e Foto-fenton, *Química nova*, Vol. 30, Nº 2, 400-408.

2 – WHO – World Health Organization (1990) – Environmental Health Critéria 9. United National Environmental Programme and the World Health Organization, Geneva.

3 - United Nations Population Division. (2007). *World Population*, New York, Oct..

- 4 – Vicente, M.C.M.; Baptistella, C.D.L.; Coelho, P.J.; Junior, A.L. **(1998)**. Perfil do aplicador de agrotóxicos na agricultura paulista. *Informações Agronômicas*. V. 28, Nº 11, 35-59.
- 5 – Alves, F. J. P. **(2002)**. Uso de agrotóxicos no Brasil – controle social e interesses corporativos. São Paulo: Annablume.
- 6 – Silva, L.R. **(2004)**. Agrotóxicos: Perspectivas e Desafios. In: Seminário Nacional sobre Agrotóxicos 3, Salvador. Apresentação. Salvador ADAB, ICD-ROOM.
- 7 – BRASIL. Ministério da Saúde. **(1997)**. Organização Pan-Americana da Saúde. Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos. Brasília.
- 8 – MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento **(2010)**. Portaria nº 329.
- 9 - SINDAG – Sindicato Nacional das Indústrias de Produtos para Defesa Agrícola.**(2006)**. <http://www.sind.com.br>. Arquivo acessado em 04 de Novembro 2010.
- 10 - SINITOX. Casos Registrado de Intoxicação Humana e Envenenamento, Brasil. In: FIOCRUZ, Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas. **(2010)**. [acessado em 03 Novembro 2010]. <HTTP://www.fiocruz.br/sinitox/2003/sinitox2003.htm>.
- 11 – Chu, Xiago-Gang.; HU, Xiao-Zhong; Yao, Hui-Yuan. **(2005)**. Determination of 266 pesticides residues in Apple by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography-mass selective detection. *Journal of Chromatography A*, 1063, 201.
- 12 – Henao, S.; Corey, O. G. **(1991)**. Centro Panamericano de Ecologia Humana y Salud, Programa de Salud Ambiental, Praguicidas inibidores de colinesterase, Organization Panamericana de Salud, (Série Vigilância, 11).
- 13 – <http://noticias.ambientalbrasil.com.br/?id=12241> . Arquivo acessado 06 de novembro de **2008**.
- 14 – [www.folha.uol.com.br](http://www.folha.uol.com.br) . Arquivo acessado 10 de agosto de **2008**.
- 15 – OMS – Organização Mundial da Saúde, Brasil **2000**.
- 16 - Araujo, S. M. M.; Lemos, R. N. S.; Queiroz, M. E. R.; Nunes, G. S. **(2000)**. Uso de inseticidas organofosforados nos pólos de produção na ilha de São Luis, MA: Condições de trabalho e contaminação de hortaliças. *Revista Brasileira de Toxicologia*, 13 (1), 25.
- 17 - Porfírio, A. P. **(1994)**. Resíduos em carne. *Higiene Alimentar*, 8,34,1994.

- 18 – Lara, W. H.; Barreto, H. H. C. **(1972)**. Resíduos de agrotóxicos clorados em alimentos, *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 32, 89.
- 19 - Alberto, B.; Sanchez-Brunete, C.; Tadeo, J. L. **(2003)**. Determination of organophosphorus pesticides in fruit juices by matrix solid-phase dispersion and Gas Chromatography. *Journal of Agricultural Chemical*, 51, 6915.
- 20 – Silva, F. C.; Cardeal, Z. L. **(1999)**. Determinação de agrotóxicos organofosforados em água usando microextração em fase sólida e CGAR-MS. *Química Nova*, 22. (2), 197.
- 21 – Yao, ZI-Wei.; Jiang, G.; Liu, Jie-Min; Cheng, W. **(2001)**. Application of solid-phase microextraction for the determination of organophosphorus pesticides in aqueous samples by gas chromatography with flame photometric detector. *Talanta*, 55, 807 .
- 22 - ANVISA, IBAMA, Saúde, Agricultura. AGROSIA - Sistema de Informações sobre Agrotóxicos - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente, Ministério da Saúde, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. [Arquivo capturado em Novembro de **2010**]. Disponível: <http://www4.anvisa.gov.br/agrosia/asp/default.asp>
- 23 – ILO. World Day for Safety and Health at Work. **(2005)**. A Background Paper Geneva: ILO – International Labour Organization. [Arquivo capturado em Novembro2010].Disponível:[http://www.ilo.org/public/english/bureau/inf/download/sh\\_bakcground.pdf](http://www.ilo.org/public/english/bureau/inf/download/sh_bakcground.pdf).
- 24
- <HTTP://www.ambientalbrasil.com.br/composer.php3?base=../biotecnologia/index.html&conteudo=../biotecnologia/artigos/trans.html>. [Arquivo capturado em 15 de setembro de **2008**].
- 25 - CONASQ -Comissão Nacional de Segurança Química. **(2003)**. Perfil nacional da gestão de substâncias químicas. Brasília: Ministério do Meio Ambiente (MMA).

## ***Capítulo 2***

# **“REVISÃO BIBLIOGRÁFICA”**

## 2.1 – TÉCNICAS DE ANÁLISES

Os agrotóxicos podem ser encontrados em diferentes compartimentos ambientais, desde águas até solos [1,2]. O avanço das tecnologias analíticas, as quais possuem sensibilidade e precisão apropriadas, tem permitido a detecção de tais agrotóxicos a níveis de traço. Dentre as técnicas mais utilizadas estão a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS) e a espectrometria de massas com ionização *electrospray* (ESI/MS).

A técnica GC/MS tem sido muito utilizada por nosso grupo em pesquisas envolvendo matrizes ambientais. Por exemplo, Silva e colaboradores [3] desenvolveram um método para a análise de agrotóxicos organofosforados e organoclorados em águas e alimentos utilizando GC/MS e extração SPME. O método mostrou-se sensível, linear e com boa precisão. Ele foi também utilizado por Capobianco e colaboradores [4] para a determinação de resíduos de agrotóxicos em águas na região de Patos de Minas, MG.

Em um trabalho similar, Gennaro e colaboradores [5] investigaram o processo de degradação do carbofuran usando métodos fotocatalíticos. O progresso da degradação deste agrotóxico foi monitorado utilizando as técnicas HPLC e GC, ambas acopladas a detectores de espectrometria de massas (MS). Os produtos de degradação do carbofuran somente puderam ser identificados por GC/MS, porque esta técnica apresentou maior seletividade, especificidade e capacidade de identificação.

Sasano e colaboradores [6] propuseram a análise de praguicidas em amostras de águas, utilizando a técnica GC/MS. Para a injeção, os autores usaram um sistema automatizado que introduzia a amostra diretamente no injetor, com uma rápida vaporização do solvente. Foram determinados 29 praguicidas e herbicidas. O sistema empregado apresentou um índice de recuperação acima de 75 % e desvio padrão relativo (n=6) de 10 %. Sabik e colaboradores [7] descreveram a determinação de triazinas e seus produtos de degradação em amostras de águas utilizando GC/MS, HPLC/UV e HPLC/MS. A técnica permitiu a obtenção de informações que possibilitaram a sugestão de rotas de degradação para a atrazina.

Nélieu e colaboradores [8] analisaram os produtos de degradação das atrazinas por HPLC/UV e HPLC/MS. Os resultados indicaram que o espectrômetro

de massas é um detector mais eficiente, pois alguns dos produtos de degradação só foram identificados por HPLC/MS ou HPLC/MS/MS. Sandra e colaboradores [9] investigaram a degradação do praguicida organofosforado metil pirimifós em meio aquoso por luz artificial. A análise de seus produtos de degradação foi feita por GC/MS, HPLC/UV e HPLC/MS enquanto que o grau de mineralização foi determinado por análises de carbono orgânico total (TOC). Os melhores resultados foram obtidos por GC/MS, sendo possível a identificação de todos os produtos de degradação do agrotóxico. Prevot e colaboradores e Ravelo-Pérez e colaboradores [10,11] investigaram a degradação fotocatalítica do ácido 2,3,6-triclorobenzóico (2,3,6-TBA) em meio aquoso utilizando  $\text{TiO}_2$ . Vários intermediários aromáticos foram detectados por GC/MS, com extração HS/SPME. Estes intermediários revelaram a presença de reações de hidroxilação, descloração, descarboxilação e oxidação-redução. Pereira e colaboradores [12] determinaram uma série de praguicidas, incluindo atrazinas, alacloro, metoxicloro e seus produtos de degradação, em águas superficiais usando GC/MS. O método permitiu determinações em torno de  $1,0 \text{ ngL}^{-1}$ , com limites de detecção de até  $60,0 \text{ pgL}^{-1}$ .

Faria e colaboradores [13] propuseram um método de análise de seis praguicidas por GC/MS e HPLC/MS. O método consistiu em imobilizar os praguicidas em um suporte de sílica imerso em água. Os resultados indicaram que o sistema proposto apresentou bom potencial de extração e concentração dos praguicidas de amostras aquosas, com a vantagem de ser um método de extração de baixo custo.

Faria e colaboradores e Sandra e colaboradores [9, 13] desenvolveram um método de GC/MS para a análise de dois metabólitos do herbicida clorotriazina, além de onze outros agrotóxicos, em amostras de água. O índice de recuperação para todos os analitos estudados foi de 105 – 116 %, para concentrações na faixa de  $0,5 - 1,0 \text{ ng mL}^{-1}$ , e com limites de detecção de  $0,05 \text{ ng mL}^{-1}$ .

Em outro trabalho, Carreter e colaboradores [14] determinaram cinco praguicidas em amostras de água por GC/MS com um espectrômetro de massas seqüencial (com analisadores do tipo *ion trap*). Dois modos de ionização foram aplicados: impacto de elétrons (EI) e ionização química positiva (PCI). Neste estudo, os limites de detecção para ambos modos de ionização foram de  $0,2$  a  $5,0 \text{ ngL}^{-1}$ .

Magnuson e colaboradores [15] determinaram os produtos de degradação das triazinas, também por GC/MS, mas observaram o problema de coeluição de dois produtos principais: dietilatrazina (DEA) e diisopropilatrazina (DIA). A estratégia para evitar a coeluição foi gerar derivados dos dois produtos por reação com dois diferentes reagentes, octadecil e amelida. Uygun e colaboradores [16] investigaram a degradação do agrotóxico clorvenvifós com as técnicas GC/MS, HPLC/UV e cromatografia por permeação em gel (GPC). O principal produto de degradação encontrado foi a tricloroacetofenona, sendo que a técnica GC/MS foi a única que conseguiu identificar este composto, pois se mostrou mais sensível. Os resultados também indicaram que a degradação do agrotóxico é significativamente menor em temperaturas abaixo de 5 °C.

Penuela & Barceló [17] estudaram a degradação do praguicida alacloro em amostras de águas, por GC/ECD e GC/MS e três produtos foram identificados, 2-hidroxi-2,6-dietil-N-metilacetanilida, 8-etil-1-metoximetil-4-metil-2-oxo-1,2,3,4 tetraquinolina e hidroxialacloro. O agrotóxico apresentou alta estabilidade quando exposto à irradiação por luz natural por um período de 120 horas mas, na presença de 15,0 mgL<sup>-1</sup> do catalisador FeCl<sub>3</sub>, o composto foi rapidamente destruído.

Em outro estudo, Jeannot e colaboradores [18], determinaram os níveis de vários agrotóxicos em amostras de água por HPLC/MS/MS utilizando APCI (ionização química à pressão atmosférica) como técnica de ionização. O método apresentou boa linearidade, de 0,05 a 10,0 ngL<sup>-1</sup>, coeficientes de correlação, entre 0,9993 a 1,0, e limites de detecção, de 0,02 a 0,1 µgL<sup>-1</sup>.

Chiron e colaboradores [19] fizeram uma revisão sobre as formas de determinação de praguicidas e seus produtos de degradação em amostras ambientais por diferentes tipos de detectores. O método mais usado nas análises foi GC com detectores de captura de elétrons (ECD), nitrogênio e fósforo (NPD) e espectrometria de massas (MS) e pela técnica de cromatografia líquida com detectores de UV e MS. O melhor detector dentre os trabalhos comentados foi o de espectrometria de massas, por apresentar melhor sensibilidade.

## 2.2 – ANÁLISES AMBIENTAIS DE AGROTÓXICOS E SEUS SUB-PRODUTOS

O intenso uso de praguicidas e a conseqüente contaminação de águas superficiais e subterrâneas, solos, flora e fauna por seus resíduos, incluindo produtos e sub-produtos de degradação, requer o uso de métodos de detecção sensíveis e confiáveis. Várias metodologias analíticas foram desenvolvidas para identificação e quantificação de agrotóxicos e seus produtos de degradação no meio ambiente. Essas metodologias geralmente requerem procedimentos de preparo de amostras que possibilitem maior seletividade, sensibilidade e capacidade de identificação e quantificação [7-9, 12-14, 20 e 21].

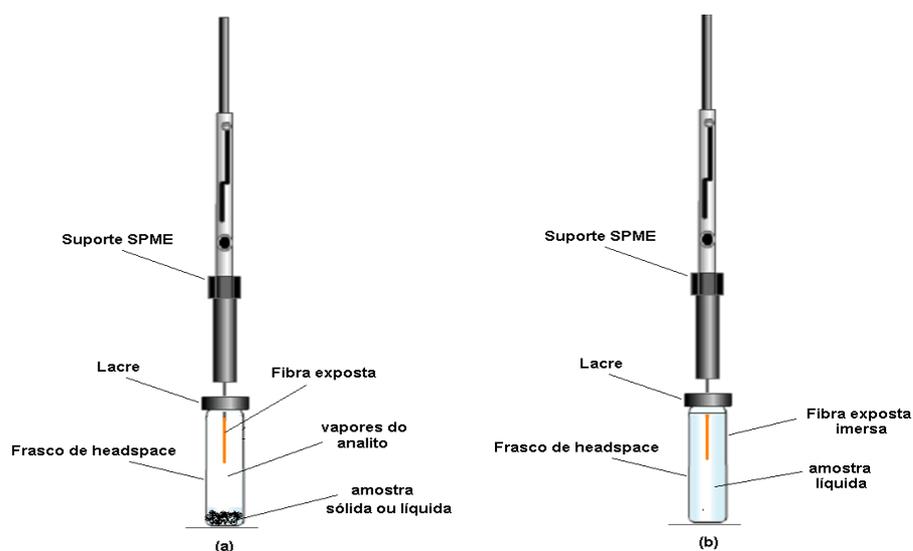
### 2.2.1 – MÉTODO DE EXTRAÇÃO

A qualidade de um método analítico é determinada, como representado na Figura 2.1, pela qualidade de suas etapas, com seus erros experimentais. Por um lado, esta qualidade depende da técnica de amostragem, com a qual se seleciona uma fração presumivelmente representativa da amostra primária. Nesta fração devem-se identificar e quantificar analitos, que são os componentes químicos que, também a definem. Não é comum analisar matrizes na forma bruta devido a interferências e incompatibilidade com o aparelho. Para contornar tais problemas são empregados procedimentos de preparo da amostra que não comprometam a sua análise química.



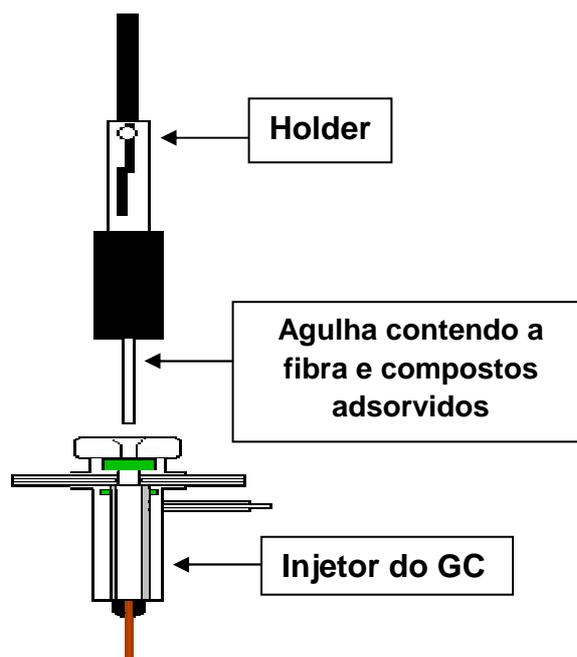
**Figura 2.1** - Etapas num processo analítico visando à análise química por GC [22].

Com relação à técnica SPME, Chiron e colaboradores [19] realçaram que esta técnica de extração, além de dispensar o uso de solventes é simples, rápida e eficiente. Tem sido empregada para essas operações que criam o elo entre a matriz química e o instrumental analítico, sendo particularmente interessante para a Cromatografia Gasosa. Portanto, a viabilização da análise por GC depende de uma técnica adequada de preparo da amostra. A SPME tem alto poder de concentração (adequando-se a sensibilidade dos detectores de GC), é aplicável a muitos tipos de analitos e facilita o transporte do material extraído para o cromatógrafo [23]. É uma técnica cujo fundamento é a retenção dos analitos de interesse sobre uma fase estacionária, que se encontra ligada ou depositada em uma microfibrilha capilar de sílica fundida, dispositivo representado na Figura 2.2.



**Figura 2.2** - Exposição da fibra por microextração em fase sólida (SPME), no modo *headspace* (a) e no modo imersão direta da fibra (b) [24].

Realizado o procedimento de extração a fibra é retirada da amostra e inserida no injetor do cromatógrafo a gas. A operação completa para extração e dessorção para análise cromatográfica é mostrado a seguir na Figura 2.3.



**Figura 2.3** - Sistema de extração inserido no injetor do cromatógrafo [24].

Neste sentido, Silva e colaboradores [25] desenvolveram um método para determinação de agrotóxicos organofosforados em amostras ambientais de água utilizando SPME. A linearidade do método foi obtida na faixa de 0,20 a 20,0  $\text{ngL}^{-1}$  e todos os coeficientes de correlação estavam acima de 0,999. A precisão do método foi de 5,70 a 10,20 %, para todos os agrotóxicos avaliados e baixos limites de detecção entre 0,008 a 0,020  $\text{ngL}^{-1}$ . O método desenvolvido foi adequado para determinação de agrotóxicos, de acordo com os valores estabelecidos pelas normas oficiais usadas no controle ambiental de agrotóxicos organofosforados.

Capobiango e colaboradores [4] propuseram um método de análise de agrotóxicos organofosforados (coral, DDVP, di-siston, forato, fosdrin e malation) em amostras de peixes de água doce e águas ambientais, aplicando também a técnica de SPME. As curvas analíticas obtidas apresentaram bons coeficientes de correlação entre 0,997 a 0,999 e desvio padrão relativo de 4,40 a 15,13 %. Os limites de detecção variaram de 0,05  $\mu\text{gL}^{-1}$  a 8,37  $\mu\text{gL}^{-1}$  e os limites de quantificação foram de 0,09  $\mu\text{gL}^{-1}$  a 8,70  $\mu\text{gL}^{-1}$ . O método propiciou a identificação e quantificação destes compostos em todas as matrizes estudadas, sendo uma alternativa para analisar agrotóxicos organofosforados em diversos outros tipos de amostras, apresentando a vantagem de ser um método rápido, de baixo custo, eficiente e livre de solventes se comparado a outras metodologias.

Carvalho e colaboradores [26] determinaram praguicidas organoclorados em sedimentos, usando SPME no modo *headspace* (HS-SPME), com a fibra de PDMS. O método apresentou limites de detecção de 0,005 a 0,11 ngg<sup>-1</sup> de sedimentos e uma boa linearidade na faixa de 6,0 a 1000,0 ngg<sup>-1</sup>. Xiang e colaboradores [27] investigaram SPME com uma nova fibra de politiofeno (PTh) para determinar praguicidas organoclorados em água no modo de imersão direta e *headspace*. Os resultados obtidos provaram a capacidade da nova fibra para extrair estes compostos de amostras aquosas. O limite de detecção foi de 0,5 a 10,0 ngL<sup>-1</sup>, e a curva analítica apresentou linearidade adequada na faixa de 10,0 a 100,0 ngL<sup>-1</sup> ( $R^2 > 0,982$ ). A técnica utilizando a fibra de PTh apresentou-se ser robusta, com longo tempo de duração, quando comparada à fibra de PDMS utilizada para à análise de sedimentos.

Também procurando inovar, Djozan e colaboradores [28], recobriram fibras com ácido metacrilico e etilenoglicol pelo processo de copolimerização para análise de atrazinas e triazinas em águas por SPME. A nova fibra mostrou-se altamente eficiente, inclusive para análise de amostras de arroz e alho. No mesmo sentido, Zeng e colaboradores [29] utilizaram um material de cerâmica e carbono de alta estabilidade térmica como suporte para fibras de SPME para análises de praguicidas organofosforados em amostras de água. O método apresentou LD de 5,2 a 34,6 ngL<sup>-1</sup> e boa linearidade entre 0,05 a 200,0 ngmL<sup>-1</sup>.

Sabik e colaboradores [7] determinaram praguicidas em águas superficiais e subterrâneas, utilizando SPME como método de extração e testando fibras de polidimetilsiloxano/divinilbenzeno (PDMS-DVB), carbowax/divinilbenzeno (CW-DVB) e poliacrilato (PA). Para as atrazinas e seus produtos de degradação, o uso das fibras em soluções salinas mostrou-se mais eficiente e adequado. Miége e colaboradores [30] analisaram praguicidas usando SPME em amostras aquosas. A fibra mais adequada foi a de polidimetilsiloxano de 100 µm (PDMS), conseguindo extrair praguicidas organoclorados e alguns organofosforados. A fibra de PA mostrou-se ideal para a extração de praguicidas contendo nitrogênio e fósforo. Os dados obtidos indicaram que os limites de quantificação foram de 5,0 a 100,0 ngL<sup>-1</sup>. Navalón e colaboradores [31] desenvolveram um método de determinação do herbicida oxidiazon em amostras de águas, solos, vinhos e urina humana, usando

SPME no modo *headspace* (HS-SPME) e fibra de PDMS. As melhores respostas obtidas foram com extração de 25 minutos, na temperatura de 100 °C.

Dentre as técnicas de extração citadas, SPME preserva todas as vantagens da SPE, tais como simplificação, baixo custo e fácil automação e elimina as desvantagens, tais como o entupimento do cartucho e o uso de solventes. Todos os estudos de análise de praguicidas com SPME possibilitaram obtenção de bons resultados mostrando que esta metodologia é recomendável para análise de traços de compostos orgânicos em amostras ambientais. As limitações para SPME são por um lado quando danificadas, devido ao uso em amostras turvas ou mau uso, não podem ser reaproveitadas, pois são muito sensíveis, ou seja, apresentam fragilidade de operação. A temperatura de extração é outra limitação para a técnica assim como o tempo de extração, ambos devem ser exatos, durante os experimentos, pois caso contrário não torna a técnica reproduzível. Outros estudos [32,33] têm proposto modificações no método como alternativas para análises de outros compostos indesejáveis ao ecossistema.

Os métodos de extração de praguicidas e *clean-up* de amostras ambientais são de extrema importância para detectá-los quantitativamente nas matrizes de interesse. Dentre as técnicas de extração utilizadas para concentrar os analitos, destacam-se a extração líquido-líquido (LLE), a extração em fase sólida (SPE) e a microextração em fase sólida (SPME). A técnica SPME é promissora, tendo a vantagem de não utilizar solvente para extração.

A LLE baseia-se na partição da amostra entre duas fases imiscíveis (orgânica e aquosa) e foi explorada na análise de praguicidas em amostras de águas e alimentos [34-36]. Ela foi usada muitos anos como técnica oficial da agência de proteção ambiental americana (US-EPA) [37]. É uma técnica clássica, baseada na extração repetitiva de 1,0 ou 0,5 L de amostra com solvente, em um funil de separação. Sua principal vantagem é a capacidade de extrair uma ampla gama de compostos .

A extração em fase sólida (SPE), uma técnica comumente usada como método de pré-tratamento de amostras contendo contaminantes ao nível de traços, foi introduzida em meados de 1970 [38,39]. Foi primeiramente comercializada em 1978 como uma alternativa para LLE. Nesta técnica, os analitos contidos numa matriz aquosa são extraídos juntamente com os compostos interferentes, após

passagem por um cartucho sorvente. Um solvente orgânico seletivo é geralmente utilizado para extrair os analitos de interesse. A seleção do método SPE depende das características físico-químicas do agrotóxico e suas concentrações [40]. Trabalhos na literatura tem demonstrado a performance superior do método de extração SPE. Por exemplo, Sasano e colaboradores [6] determinaram uma série de agrotóxicos em amostras aquosas usando SPE. Os resultados mostraram a eficiência do método de extração, conseguindo identificar trinta compostos. Utilizando o mesmo método de extração, Carreter e colaboradores [14] analisaram praguicidas em amostras de água do mar. Os resultados mostraram que a técnica foi muito eficiente para fazer a extração dos analitos, ao nível de  $\text{ngL}^{-1}$ , possibilitando uma rápida preparação da amostra no próprio local de coleta. Em outro trabalho, Penuela e colaboradores [41] utilizaram SPE para monitorar a cinética de degradação do alacloro em águas. O método foi eficiente para extração deste praguicida e seus produtos de degradação. Faria e colaboradores [13] propuseram um novo método de extração para praguicidas. Para isso utilizaram um polímero poly(metiltetradecilsiloxano) (PMTDS), suportado em sílica como fase estacionária no cartucho de SPE. Os resultados mostraram que o novo sistema apresentou bom potencial de extração, ao nível de  $\mu\text{gL}^{-1}$ .

### **2.3 – PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL**

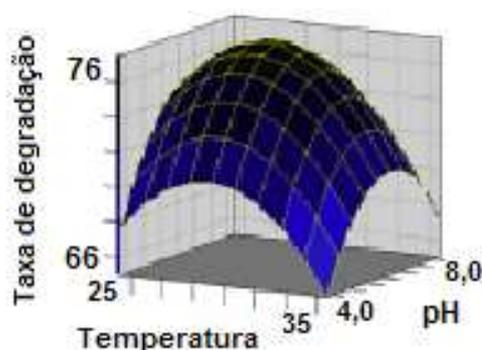
É comum, especialmente em laboratórios e indústrias químicas, aparecerem problemas em que se precisam estudar várias propriedades ao mesmo tempo e essas, por sua vez, são afetadas por um grande número de fatores experimentais. Para investigar os efeitos de todos esses fatores sobre todas as propriedades, minimizando o trabalho necessário e o custo dos experimentos, é preciso recorrer a métodos mais práticos e precisos. Assim, a obtenção de informações a partir dos resultados de um experimento e os problemas enfrentados nos laboratórios é respondida, por um planejamento experimental, que avalia a interação entre um grande número de variáveis, das quais um pequeno número de experimentos pode conter informações mais relevantes.

A decisão sobre quais variáveis são mais importantes nos métodos de extração SPE e SPME é feita geralmente com base em dados da literatura, tentativa e erro, intuição e ainda na experiência [3,4 e 42]. No entanto, McLaughlin e colaboradores [43] utilizaram um planejamento fatorial  $2^2$  na otimização da extração de metabólitos de herbicidas em amostras aquosas por SPE. Foram estudados o volume de amostra e a quantidade de sorvente usada nas soluções. As análises foram feitas por GC/MS. O volume ideal de amostra foi de 200,0 mL para 1,0 g do sorvente. Este método apresentou recuperações excelentes, com valores entre 105 e 116 %. Na otimização de um método para determinar agrotóxicos organoclorados em águas por GC/MS, Aguilar e colaboradores [44] estudaram a extração SPME, utilizando o planejamento fatorial tanto no modo *headspace* (HS) quanto por imersão direta (com e sem a presença de sal). Foi verificado que a técnica SPME foi mais eficiente na ausência de sal. O método apresentou boa linearidade, na faixa de 0,001 a 2,5  $\mu\text{gL}^{-1}$ , com LD de 0,15 a 0,35  $\text{ngL}^{-1}$  e desvio padrão relativo de 7,6 a 26,5 %.

Blanco e colaboradores [45] desenvolveram métodos de extração, por SPE e SPME, para determinar o teor de  $\alpha$ -endosulfan e  $\beta$ -endosulfan em amostras de águas. As análises foram feitas por GC-ECD. Os efeitos investigados foram adição de sal, temperatura de extração, tempo de extração, temperatura de dessorção e tempo de dessorção. Os LD e LQ para SPME e SPE foram de 0,02 a 0,06  $\mu\text{gL}^{-1}$  e 0,03 a 0,13  $\mu\text{gL}^{-1}$ , respectivamente, com níveis de quantificação de 0,1 a 5,0  $\mu\text{gL}^{-1}$ . Os resultados mostraram que a concentração de sal não teve influência enquanto que as melhores condições de análise foram: temperatura de extração de 45 °C, tempo de extração de 30 min., temperatura de dessorção de 230 a 270 °C e tempo de dessorção de 1 minuto.

Em outro trabalho, González e colaboradores [46] otimizaram um método de extração por SPME para diferentes classes de agrotóxicos, os quais foram analisados por GC/MS. Os parâmetros estudados foram tempo de adsorção, velocidade de agitação, temperatura de extração, tipo de fibras e pH da solução. As condições otimizadas foram as seguintes: 45 min., 500 rpm, 60 °C e pH baixo (meio ácido), respectivamente. O método estudado apresentou limites de detecção de 4,0 a 17,0  $\text{ngL}^{-1}$ .

Yugui e colaboradores [47] utilizaram a metodologia de superfície de respostas (RSM), através de um planejamento Dohelert, para verificar as melhores condições de degradação do agrotóxico organofosforado dimetoato. As condições otimizadas foram pH e temperatura. Na Figura 2.4 observa-se que a região do gráfico que contém um ponto de máximo está situada, aproximadamente, à temperatura de 32,5 °C e pH de 6,21. Considerando esses valores, a degradação máxima do dimetoato foi de 76 %.



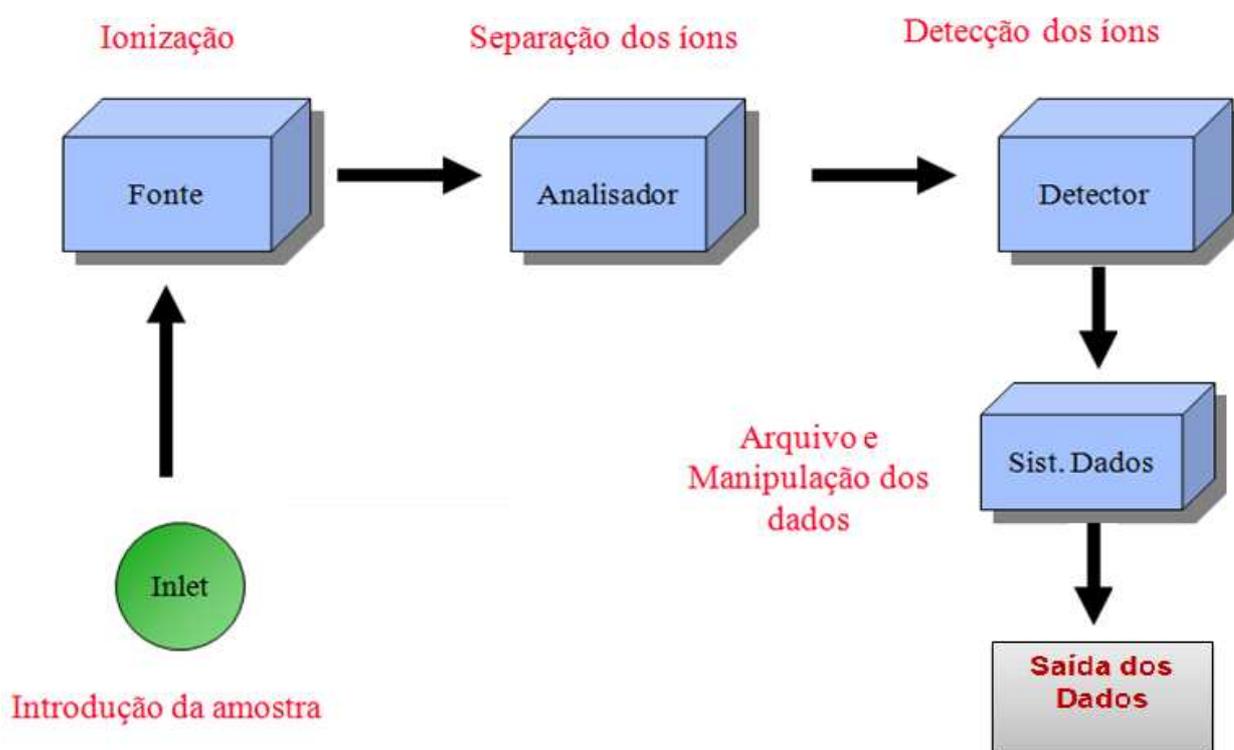
**Figura 2.4** - Superfície de resposta com efeito de interação entre a temperatura e o pH [47].

## 2.4 – ESPECTROMETRIA DE MASSAS

A espectrometria de massas (MS) é uma ferramenta que vem sendo utilizada há muito tempo para a medida de isótopos e para determinar a estrutura de moléculas orgânicas. É utilizada para o estudo das massas de átomos, moléculas ou fragmentos de moléculas [48]. A espectrometria de massas é uma técnica branda de ionização e fragmentação de moléculas que são, depois, separadas segundo sua razão massa/carga dos seus fragmentos [49].

Um espectrômetro de massas pode ser entendido, via de regra como um instrumento contendo uma fonte de íons, um analisador de massas, um detector e um registrador, Figura 2.5 [50]. Uma análise por espectrometria de massas envolve as seguintes etapas: (1) atomização, (2) conversão de uma fração substancial dos átomos formados na etapa 1 em um feixe de íons, (3) separação dos íons formados na etapa 2, com base na razão massa/carga ( $m/z$ ), e (4) contagem do número de íons de cada tipo [51].

O analisador de massas seleciona os íons de acordo com sua razão massa/carga ( $m/z$ ) que, chegando ao detector, geram um sinal elétrico interpretado na forma de espectro de massas. A partir do valor de  $m/z$ , consegue-se estimar ou obter o valor exato da massa molar da substância. Quase todas as substâncias podem ser analisadas por MS, já que existem diversos tipos de fontes de ionização, analisadores de massas e detectores.



**Figura 2.5** - Representação esquemática dos componentes do espectrômetro de massas [adaptado Skoog 51]

Na fonte de íons, os componentes de uma amostra são convertidos em íons, pela ação de um agente ionizante. Os íons positivos ou negativos são imediatamente acelerados através de um campo elétrico em direção ao analisador de massas. A função do analisador de massa é separar tais íons de acordo com a sua relação massa/carga ( $m/z$ ). Os espectrômetros de massas podem ser classificados em várias categorias, dependendo da natureza do analisador de massas. Finalmente um detector recebe os íons que foram separados pelo analisador, transformando a corrente de íons em sinais elétricos que são

processados, armazenados na memória de um computador e mostrados em uma tela [52].

#### 2.4.1- MÉTODOS DE IONIZAÇÃO

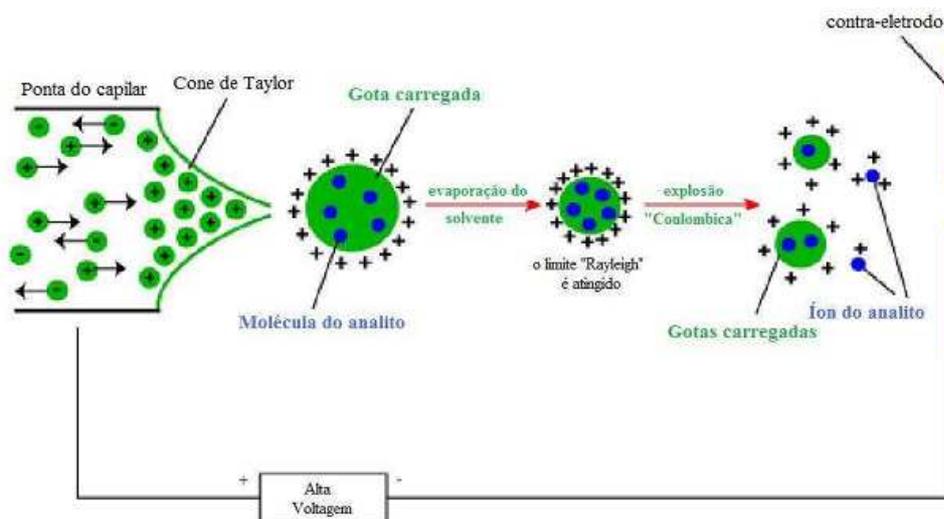
Na fonte de íons, os analitos constituintes das amostras, são ionizados para posterior análise no espectrômetro de massas. Algumas técnicas de ionização são muito energéticas e causam fragmentações extensivas. As considerações mais importantes são a energia interna transferida durante o processo de ionização e as propriedades físico-químicas do analito que pode ser ionizado. Outras técnicas são mais suaves e produzem somente espécies moleculares [52]. Atualmente, os maiores avanços tecnológicos na área de espectrometria de massas têm ocorrido nas fontes de ionização [53].

Dentre os métodos de ionização, os mais conhecidos são: ionização por elétrons (EI), ionização química (CI) e ionização *electrospray* (ESI). Enquanto que EI e CI são técnicas adequadas para analisar moléculas voláteis e termicamente estáveis, ESI não apresenta tais limitações.

#### 2.4.2 – IONIZAÇÃO ELECTROSPRAY

*Electrospray* é uma técnica pela qual íons, presentes em uma solução, podem ser transferidos para a fase gasosa [54]. A ionização por *electrospray* surgiu como uma alternativa para a geração de íons a partir de espécies pouco voláteis presentes em fase líquida e envolve a formação de um spray eletrolítico de uma solução que gera pequenas gotas carregadas, e destas são liberados os íons. Embora seja considerada como uma fonte de ionização, o *electrospray* é, realmente, um processo de transferência de íons pré-existent em solução para a fase gasosa. A implementação de uma fonte de *electrospray* é bastante simples se comparado com outras fontes de ionização. É necessária uma fonte de alta tensão (1,0 a 7,0 kV) que esteja em contato com a solução contendo eletrólitos. Esta solução é bombeada através de um microcapilar (diâmetro interno 50 a 100  $\mu\text{m}$ ) com uma velocidade de

fluxo da ordem de  $1,0$  a  $20,0 \mu\text{Lmin}^{-1}$  [55]. A voltagem aplicada à solução pode ser positiva ou negativa, dependendo das características da amostra. Um fino spray se forma na presença do campo elétrico e gotas com excesso de carga (positiva ou negativa) são formadas. De acordo com o aumento da densidade de carga na gota, o campo elétrico formado entre o capilar e o contra eletrodo aumenta, provocando a deformação da gota. A gota, então, forma um cone que é denominado de cone de Taylor [56], mostrado na Figura 2.6. Essa gota na forma de cone permanece “presa” ao capilar até o momento em que a densidade de carga na superfície da gota e o aumento da repulsão entre os íons vençam a tensão superficial do líquido, ocorrendo então a liberação de pequenas gotas com alta densidade de carga. A frequência desse processo depende da magnitude do campo elétrico, da tensão superficial do solvente e da condutividade da solução. Depois da liberação das gotas com alta densidade de carga do cone de Taylor, essas passam pela região entre a ponta do capilar e o contra eletrodo e vão sofrendo dessolvatação. A massa do solvente é reduzida por evaporação, sendo que para auxiliar este processo há um fluxo de gás inerte secante, normalmente nitrogênio, e a temperatura da câmara, de  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Conforme a gota perde solvente, a densidade de carga aumenta até um ponto em que esta vence a tensão superficial (limite de “Rayleigh”) e gotículas são liberadas. Este processo também é conhecido como explosões de Coulomb ou “coulômbicas”.



**Figura 2.6** - Representação esquemática do mecanismo de formação de íons pela técnica ESI [adaptado de Cole 57].

Nos últimos anos, a ionização por *electrospray* tem sido extensivamente empregada. Dados da literatura reportam a utilização da técnica para diferentes finalidades, podendo-se destacar a identificação de substâncias em soluções aquosas, determinação de resíduos de agrotóxicos em água e alimentos, identificação de produtos de relevância ambiental, mapeamento proteômico, *screening* de drogas, adulteração de bebidas, entre outros [58].

Por exemplo, Ayala e colaboradores investigaram a degradação de dois agrotóxicos (bromoxinil = 9,0  $\mu\text{M}$  e trifluralina = 4,5  $\mu\text{M}$ ), em solução aquosa por ozonização. As análises foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência e detector de espectrometria de massas com ionização *electrospray* (HPLC-ESI-MS). Os autores observaram que as altas reatividades dos compostos ocorrem devido aos radicais hidroxila gerados durante a ozonização. Com os resultados propuseram uma rota de degradação para ambos os agrotóxicos: para o bromoxinil ocorrem reações de hidroxilação e debrominação e para a oxidação da trifluralina, reações de hidroxilação e dealquilação. Os resultados mostraram que o processo de degradação por ozonização foi eficiente para a degradação de ambos os agrotóxicos em solução aquosa, devido à boa sensibilidade da técnica [59].

No entanto, poucos são os trabalhos descritos na literatura que fazem uso de ESI-MS com infusão direta para o estudo de degradação de agrotóxicos. Num dos poucos trabalhos descritos, Lopes e colaboradores investigaram a degradação dos inseticidas thiametoxam e imidacloprid por metais de valência zero (Fe, Zn e Sn), em solução aquosa (pH 2). Os autores propuseram uma rota de degradação para ambos os agrotóxicos e mostraram as vantagens de se usar a infusão direta no ESI-MS para detecção e caracterização de produtos de degradação. Os autores também argumentaram que tal metodologia pode ser aplicada para o monitoramento de amostras ambientais [60].

## 2.5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 – Bruzzanoti, M.C.; Sarzanine, C.; Mentasti, E. (2000). Preconcentration of contaminants in water analysis, *Journal of Chromatography*, 902, 289 – 309.

- 2 – Balinova, A. **(1998)**. Gas Chromatography determination of chloroacetamide herbicides in plants and soil. *Journal of Chromatography A*, 455, 391-395
- 3 – Silva, F. C.; Cardeal, Z. L. **(2002)**. Desenvolvimento de Métodos para Análises de Agrotóxicos organofosforados e organoclorados em águas e solos utilizando as técnicas de extração MEFS, EFS e análises por CG/DIC e GC-DSM. Tese de Doutorado, 2002.
- 4 - Capobiango, H. L. V.; Cardeal, Z. L. **(2005)**. A solid-phase microextraction method for the chromatographic determination of organophosphorus pesticides in fish, water, potatoes, guava and coffee. *Journal of Brazilian Chemistry Society*, 16(5), 907-914.
- 5 – Gennaro, M. E.; Gianotti, V.; Maurino, V. **(2001)** New strategies for the determination of phenylurea pesticides by chromatography with hot splitless inlet systems. *Journal of Chromatography A*, 910, 79-86.
- 6 – Sasano, R.; Hamada, T.; Kurano, M.; Furuno, M. **(2000)**. On-line coupling of solid-phase extraction to gas chromatography with fast solvent vaporization and concentration in an open injector liner. Analysis of pesticides in aqueous samples. *Journal of Chromatography A*, 896(1-2), 41-49.
- 7 – Sabik, H.; Jeannot, R.; Rondeau, B. **(2000)**. Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters. *Journal of Chromatography A*, 885(1-20), 217-236.
- 8 - Nelieu, S.; Stobiecki, M.; Einhorn, J. **(2000)**. Tandem solid-phase extraction of atrazine ozonation products in water. *Journal of Chromatography A*, 866(2), 195-201.
- 9 - Sandra, P.; Beltran, J.; David, F. **(1995)**. Enhanced selectivity in the determination of triazines in environmental samples by benchtop CG/MS/MS. *Journal of High Resolution Chromatography*, 18(9), 545-50.
- 10 - Prevot, A.B.; Pramauro, E. **(1999)**. Analytical monitoring of photocatalytic treatments. Degradation of 2,3,6-trichlorobenzoic acid in aqueous TiO<sub>2</sub> dispersions. *Talanta*, 48(4), 847-857.
- 11 - Ravelo-Pérez, R. M. L.; Borges, J. H.; Miquel, T. M.B.; Delgado, M. A. R. **(2008)**. Pesticide analysis in tomatoes by solid-phase microextraction and micellar electrokinetic chromatography. *Journal High Resolution Chromatography A*, 1185(1), 151-154.

- 12 - Pereira, W. E.; Rostad, C. E.; Leiker, T.J. **(1990)**. Determination of trace levels of herbicides and their degradation products in surface and ground waters by gas chromatography/ion-trap mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 228(1), 69-75.
- 13 - Faria, A. M.; Maldaner, L.; Santana, C. C.; Jardim, I.C.S.F.; Collins, C.H. **(2007)**. Poly(methyltetradecylsiloxane) immobilized onto silica for extraction of multiclass pesticides from surface waters. *Analytica Chimica Acta*, 582 (1), 34-40.
- 14 - Carreteur, C.; Kerbaol, N.; Peron, J. J. **(1996)**. Contribution to the analysis of triazines in water by gas chromatography and ion trap tandem mass spectrometry. *Analisis*, 24(8), 336-343.
- 15 - Magnuson, M.L.; Speth, T.F.; Kelty, C.A. **(2000)**. Determination of interfering triazine degradation products by gas chromatography-ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 868 (1), 115-119.
- 16 - Uygun, U. **(1997)**. Degradation of chlorfenvinphos in carrots during storage. *Food Chemistry*, 60(4), 479-487.
- 17 - Penuela, G. A.; Barceló, D. **(1996)**. Comparative degradation kinetics of alachlor in water by photocatalysis with FeCl<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub> and photolysis, studied by solid-phase disk extraction followed by gas chromatographic techniques. *Journal of Chromatography A*, 754(1-2), 187-195.
- 18 - Jeannot, R.; Sabik, H.; Rondeau, B. **(2000)**. Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters. *Journal of Chromatography A*, 885, 217-236.
- 19 - Chiron, S.; Fernandez-Alba, A. R.; Rodriguez, A. **(1997)**. Pesticide Chemical oxidation processes: an analytical approach. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 16, (9), 518-527.
- 20 - Gennaro, M.C.; E. Marengo, E.; Gianotti, V.; Maurino, V. **(2001)**. New strategies for the determination of phenylurea pesticides by gas chromatography with hot splitless inlet systems. *Journal of Chromatography A*, 910, 79-86.
- 21 - Sasano, R.; Hamada, T.; Kurano, M.; Furuno, M. **(2000)**. On-line coupling of solid-phase extraction to gas chromatography with fast solvent vaporization and concentration in an open injector liner. Analysis of pesticides in aqueous samples. *Journal of Chromatography A*, 896, 41-49.

- 22 – Valente, A. L.; Augusto, F. (2000). Microextração em fase sólida, *Química Nova*, 23 (4), 523-530.
- 23 - Pichon, V.; Hennion, M.C. (1994). Determination of pesticides in environmental waters by automated online trace-enrichment and liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 665(2), 269-81.
- 24 – Site da supelco, [www.supelco.com](http://www.supelco.com), Informações sobre SPME, aplicações...arquivo acessado em outubro de 2009
- 25 - Silva, F.C.; Cardeal, Z.L. (1999). Determination of organophosphorus pesticides in water using SPME-GC/MS. *Química Nova*, 22, 197-200.
- 26 - Carvalho, P. N.; Rodrigues, P. N.; Alves, F.; Evangelista, R.; Basto, M. C. P.; Vasconcelos, M. T. S. D. (2008). An expeditious method for the determination of organochlorine pesticides residues in estuarine sediments using microwave assisted pre-extraction and automated headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *Talanta*, 76(5), 1124-1129.
- 27 - Xiang, L.; Li, C.; Chen, J.; Li, C.; Sun, C. (2008). Polythiophene as a novel fibre coating for solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1198-1199, 7-13.
- 28 - Djozan, D.; Ebrahimi, B. (2008). Preparation of new solid phase micro extraction fiber on the basis of atrazine-molecular imprinted polymer: Application for GC and GC/MS screening of triazine herbicides in water, rice and onion. *Analytica Chimica Acta*, 616, 152-159.
- 29 - Zeng, J.; Yu, B.; Chen, W.; Lin, Z.; Zhang, L.; Lin, Z.; Chen, X.; Wang, X. (2008). Application of ceramic/carbon composite as a novel coating for solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1188(1), 26-33.
- 30 - Miege, C.; Dugay, J. (1998). Solide-phase microextraction and gas chromatography for rapid analysis of pesticides. *Analisis*, 26(6), M137-M143.
- 31 - Navalon, A.; Prieto, A.; Araújo, L.; Vilchez, L. J. (2002). Determination of oxadiazon residues by headspace solid-phase microextraction and gás chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 946(1-2), 239-245.

- 32 - Andreu, V.; Picó, Y. (2004). Determination of pesticides and their degradation products in soil: critical review and comparison of methods. *Trac-Trends Analytical Chemistry*, 23(10-11), 772-789.
- 33- Arbeli, Z.; Fuentes, C. L. (2007). Accelerated biodegradation of pesticides: An overview of the phenomenon, its basis and possible solutions; and a discussion on the tropical dimension. *Crop Protection*, 26(12), 1733-1746.
- 34 - Bandala, E. R.; Octaviano, J. A.; Albitar, V.; Torres, L.G.; Wickramanayake, G. B.; Hinchee, R.E. (2002). Solar photocatalytic degradation of Aldrin. *Catalysis Today*, 76, 189-199.
- 35 - Acero, J. L.; Benitez, F. J; Real, F. J.; Gonzalés, M. (2008). Chlorination of organophosphorus pesticides in natural waters. *Journal of Hazardous Materials*. 153, 320-328.
- 36 - Gupta, M.; Pillai, A.K.K.V.; Jain, A.; Verma, K.K. (2008). Coupled in tube and on fibre solid-phase microextractions for cleanup and pre-concentration of organic micropollutants from aqueous samples and analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 618, 61-69.
- 37 - Watts, C.D.; Clark, L.; Hennings, S.; Moore, K.; Parker, C.; Crathorne, B.; Angeletti, G. (1989). Pesticides: analytical requirements for compliance with EEC directives. *Water Pollution Resolusion*. 16-34.
- 38 - Pichon, V. (1998). Multiresidue solid-phase extraction for trace-analysis of pesticides and their metabolites in environmental water. *Analusis*, 26, M91-M98.
- 39 - Thurman, E.M.; Meyer, M.; Pomes, M.; Perry, C.A.; Schwab, P. (1990). Enzyme Linked-Immuno-sorbent-Assay Compared with Gas-Chromatography Mass-Spectrometry for the Determination of Triazine Herbicides in water. *Analytical Chemistry*, 62, 2043-2048.
- 40 – Melo, L. F.C.; Collins, C.H.; Jardim, I.C.S.F. (2004). New materials for solid phase extraction and multiclass high-performance liquid chromatographic analysis of pesticides in grapes. *Journal of Chromatography A*, 1032, 51-58.
- 41 - Penuela, G.A.; Barceló, D. (1998). Application of C<sub>18</sub> disks followed by gas chromatography techniques to degradation kinetics, stability and monitoring of endosulfan in water. *Journal of Chromatography A*, 795(1), 93-104.

- 42 – Boivin, A.; Cherrier,, R. C.; Perrin-Ganier, M. S.. **(2004)**. Time effect on bentazone sorption and degradation in soil. *Pesticide Management Science*, 60 (8), 809–814.
- 43 – McLaughlin, R.A.; Jhonson, B.S. **(1997)**. Optimization recoveries of two chlorotriazine herbicide metabolites and 11 pesticides from aqueous samples using solid-phase extraction and gas-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 790, 161-167.
- 44 – Aguilar,C; Peñalver, A.; Pocrull, E.; Ferré J.; Borrull, F.; Marcé, R.M. **(1999)**. Optimization of solid-phase microextraction conditions using a response surface methodology to determine organochlorine pesticides in water by gas chromatography and electron-capture detection. *Journal of Chromatography A*, 844, 425-432.
- 45 – Blanco, L.M.C.; Rodríguez, B.R.; Grande, C.B.; Gándara, S.J. **(2002)**. Optimization of solid-phase extraction and solid-phase microextraction for the determination of  $\alpha$ - and  $\beta$ -endosulfan in water by gas chromatography–electron-capture detection. *Journal of Chromatography A*, 976, 293-299.
- 46 – González, B.E.; Grãna, C.E.; Guimarães, A.; Gonçalves, C. **(2007)**. Optimisation and validation of a solid-phase microextraction method for simultaneous determination of different types of pesticides in water by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1141, 165-173.
- 47 – Yugui, T.; Yaoming, W.; Shilei, Y.; Lianbin, Y. **(2008)**. Optimization of omethoate degradation conditions and Kinetics model.; *International Biodeteriorization & Biodegradation*, 62, 239-243.
- 48 - Thomas, O.; Khorassani, H. E.; Touraud, E.; Bitar, H. **(1999)**. TOC versus UV spectrophotometry for wastewater quality monitoring. *Talanta*, 50 (4), 743-749.
- 49 - Mendham, J.; Denney, R. C.; Barnes, J. D.; Thomas, M. **(2002)**. Vogel Análise Química Quantitativa. 6ª Ed. Editora LTC: Rio de Janeiro, 202 – 211.
- 50 - Crotti, A. E. M.; Vessechi, R.; Lopes, C. J. L.; Lopes, P. L. **(2006)**. Espectrometria de massas com ionização por “*electrospray*”. Processos Químicos envolvidos na formação de íons de substâncias orgânicas de baixo peso molecular. *Química Nova*, Vol. 29, No. 2, 287-292.
- 51 - Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A. **(2002)**. Princípios de Análise Instrumental. 5ª ed.; Bookman.

- 52 – Hoffmann, E. D.; Stroobant, V. **(2007)**. *Mass Spectrometry: principles and applications*. 3rd. ed.; Willey.
- 53 - Vieira, T. G. **(2004)**. Detecção de Intermediários na Degradação de Corantes da Indústria Têxtil Através da Técnica de Espectrometria de Massas com Fonte de Ionização *Electrospray* (ESI-MS). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG.
- 54 – Cole, R. B. **(1997)**. *Electrospray ionization mass spectrometry: fundamentals, instrumentation and applications*. *John Wiley & Sons Inc.*: New York, p 577.
- 55 – Moraes, M. C. B.; Lago, C. L. **(2003)**. Espectrometria de Massas com ionização por "*electrospray*" aplicada ao estudo de espécies inorgânicas e organometálicas. *Química Nova*, 26 (4), 556-563.
- 56 - Araujo, A. S. **(2005)**. Análise e Tipificação de Diferentes Amostras de Cervejas Através de Espectrometria de Massas por Ionização *Electrospray*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP.
- 57 - Cole, R. B.**(1997)**. *Electrospray ionization mass spectrometry: fundamentals, instrumentation and applications*. *John Wiley & Sons Inc.*: New York, 577.
- 58 - Lopes, R. P. **(2008)**. Estudo de processos alternativos para a degradação de compostos de relevância ambiental com monitoramento dos produtos formados por Espectrometria de Massas com Fonte de Ionização *Electrospray* (ESI-MS). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG.
- 59 - Ayala, P. C.; El-Din, M. G.; Smith, D. W. **(2010)**. Kinetics and mechanism of the degradation of two pesticides in aqueous solutions by ozonation. *Chemosphere* 78, 557– 562.
- 60 - Lopes, R. P.; Urzedo, P. F. M.; Nascentes, C. C.; Augusti, R. **(2008)**. Degradation of the insecticides thiamethoxam and imidacloprid by zero-valent metals exposed to ultrasonic irradiation in water médium: *electrospray ionization mass spectrometry* monitoring. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 22: 1-9.

## ***CAPÍTULO 3***

# **“ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA DA BACIA DO RIO SÃO FRANCISCO”**

**3.1 - INTRODUÇÃO**

A contaminação de mananciais de água por agrotóxicos (herbicidas, fungicidas, pesticidas) é decorrente da intensa expansão do agronegócio que fez com que aumentasse a quantidade de agrotóxicos utilizada em terras brasileiras e conseqüentemente a contaminação dos mananciais vizinhos as diferentes culturas agrícolas. Os agrotóxicos mais utilizados no Brasil são da classe dos organofosforados, mas também são usados organoclorados em menor quantidade, inclusive alguns que já foram banidos da legislação brasileira como o aldrin e dieldrin, por serem altamente cancerígenos. Ainda são encontrados resíduos destes compostos em amostras ambientais [1].

O Rio São Francisco foi descoberto em 4 de outubro de 1501, pelos viajantes Américo Vespúcio e André Gonçalves e era chamado pelos índios que habitavam a região de Opara, rio-mar. Recebeu o nome de São Francisco em homenagem a São Francisco de Assis, nascido na Itália 319 anos antes do seu descobrimento. Ele nasce na serra da Canastra no município de Piúme, sudoeste de Minas Gerais e desemboca na Praia do Peba no estado de Alagoas. É conhecido também como Rio dos Currais por ter servido de trilha para transporte e criação de gado na época colonial, ligando a região Nordeste às regiões centro-Oeste e Sudeste [2]. É considerado o terceiro maior rio do Brasil, possui 3.163 quilômetros quadrados de extensão e sua bacia possui 640.000 quilômetros quadrados de área. É fonte de vida e de riqueza, pois possibilita o múltiplo uso do seu potencial hídrico, para abastecimento humano, agricultura irrigada, geração de energia, navegação, piscicultura, lazer e turismo. Vários problemas de natureza social e econômica vêm afetando o percurso natural do rio, entre eles a contaminação por agrotóxicos. Esta contaminação devido as culturas que são feitas as margens destes rios e que obviamente utilizam agrotóxicos, e conseqüentemente causam a contaminação ambiental, através do processo de lixiviação e pelas chuvas.

O Rio das Velhas nasce dentro da área de proteção ambiental da Cachoeira das Andorinhas em Ouro Preto e deságua no Rio São Francisco. É considerado o maior afluente do Rio São Francisco. Suas águas são utilizadas no abastecimento público, industrial, pecuária, irrigação, atividades de lazer e recreação, assim como

na manutenção e equilíbrio natural do ecossistema aquático brasileiro mostra a meta do Estado de Minas Gerais para recuperação da Bacia do Rio das Velhas.

A bacia do Rio das Velhas, sub-bacia do Rio São Francisco, está situada na região central do estado de Minas Gerais, ocupando uma área de aproximadamente 68.000 Km<sup>2</sup> e tem uma grande importância econômica e social, pois é a principal fonte para o abastecimento de água da região metropolitana de Belo Horizonte e vários outros municípios que estão nos limites do rio. Os agrotóxicos utilizados neste estudo foram escolhidos de acordo com os tipos de agrotóxicos comercializados no Brasil e de acordo com os tipos de plantações que são feitas as margens destes Rios, como hortaliças, frutas cítricas, lavouras de milho, feijão, dentre outras que provavelmente utilizam destes compostos.

O objetivo deste estudo foi a utilização de um método de microextração em fase sólida com cromatografia a gás e espectrometria de massas (anteriormente desenvolvido) [3,4] para à análise de resíduo de agrotóxico em água.

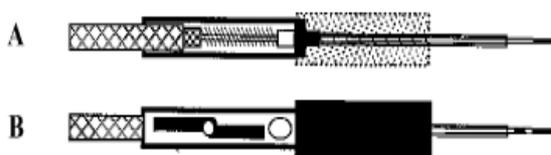
## **3.2 - PARTE EXPERIMENTAL**

### **3.2.1 – REAGENTES**

Os padrões de agrotóxicos utilizados foram: endosulfan sulfato, endosulfan alfa, endosulfan beta, alacloro, ametrina, bifentrina, forato, dissulfoton, pirimifós metílico, metil paration, malation e diazinon obtidos da Sigma-Aldrich (Supelco, Bellefonte, PA, USA). Foi utilizado etanol grau HPLC (Merk KGaA, Alemanha), água ultra-pura obtida de um sistema Milli-Q (Millipore, São Paulo, Brasil), ácido fosfórico H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 85 % PA (Synth, São Paulo, Brasil), cloreto de sódio, NaCl (Synth, São Paulo, Brasil), sulfato de alumínio e potássio K<sub>2</sub>Al<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Synth, São Paulo, Brasil), hidróxido de sódio, NaOH, (Merck, Brasil), detergente neutro, EXTRAN MA 02 (Merck, Brasil) e hélio N-50 da Air Liquid (Alpha-gaz, Belo Horizonte, Brasil), com 99,999 % de pureza.

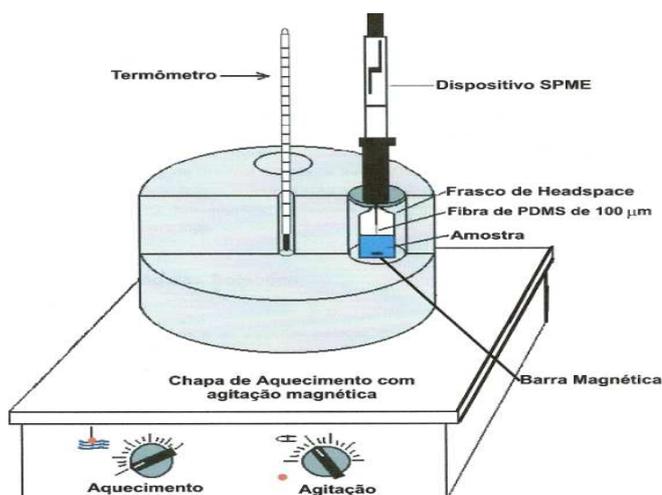
3.2.2 – EQUIPAMENTOS

Foi utilizado uma balança analítica Sartorius, Modelo PB210D de precisão  $S = 0,1 \text{ mg}$  (RGT- Equipamentos de Precisão Ltda, São Paulo, Brasil);  $S = 0,01\text{g}$ , e uma balança analítica Shimadzu modelo: AX200 (Brasil Comércio Ltda, São Paulo, Brasil); de precisão  $S = 0,001 \text{ mg}$ . Estufa para secagem de material (Biomatic/Aparelhos Científicos Ltda, São Paulo, Brasil), com regulador de temperatura de 50 a 300 °C. Sistema de microextração em fase sólida, SPME, com micro-fibras de PMS e PA (Supelco, Bellefonte, PA, USA), Figura 3.1.



**Figura 3.1** - Sistema SPME (A) vista interna do suporte com a fibra exposta (B) vista com a fibra exposta e o êmbolo travado pelo pino no centro da fenda em Z [5].

Uma centrifuga Excelsa II Modelo 206 BL (Belo Horizonte, Brasil) para preparo das amostras de sedimentos. Chapa aquecedora com controle de temperatura e agitação magnética da IKA RH basic 1, e um termômetro. A Figura 3.2, ilustra um sistema de microextração, contendo a etapa de extração.



**Figura 3.2** – Sistema para extração por SPME

### 3.2.3 - INSTRUMENTAÇÃO

Todas as análises foram realizadas em um sistema de cromatografia gasosa Thermo-Finnigan modelo TraceGC ultra equipado com detector de espectrometria de massas modelo Polaris Q e com um injetor com ou sem divisão de fluxo (split/splitless). Este sistema é mostrado na Figura 3.3.



**Figura 3.3** – Sistema GC/MS (Thermo-Finnigan com detector de espectrometria de massas).

O detector foi mantido no modo de varredura (full scan, de 50 a 650 m/z), utilizando a técnica de ionização por impacto de elétrons (EI), com energia de 70 eV. Coluna HP-5 MS (5 % fenil e 95 % metilpolisiloxano), contendo as seguintes dimensões: 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25  $\mu\text{m}$  de espessura de filme (Agilent Technologies INC, Alemanha), específica para análise por espectrometria de massas. O gás de arraste utilizado foi o hélio com fluxo de 1,2 mL/min.

### **3.2.4 – MÉTODO DE ANÁLISE**

Foi utilizado um método anteriormente desenvolvido no grupo de pesquisa [3,4] cujas condições ótimas são: volume de amostra de 15,0 mL, fibra de PDMS com extração por imersão direta na amostra, tempo de extração de 30 min, temperatura de extração de 40 °C e dessorção a 250 °C por 5 minutos. A temperatura do forno foi 60 °C permanecendo por 2 min, aquecimento até 160 °C com taxa de 15 °C/min, permanecendo por 10 minutos, seguido de aquecimento até 280 °C, com uma taxa 20 °C/min e aquecimento final até 300 °C com a taxa de 10 °C/min, e patamar final de 2 minutos. O tempo total da corrida foi de 34 minutos.

### **3.2.5 - PREPARO DAS SOLUÇÕES**

As soluções estoques de agrotóxicos de 200,0 mgL<sup>-1</sup> foram preparadas em etanol a partir de soluções padrão dos agrotóxicos descritos na seção 3.2.1. Soluções de trabalho foram produzida por diluição da solução estoque com água ultra pura (Milli-Q). As soluções de trabalho tiveram as concentrações variando de 0,10 a 25,0 µgL<sup>-1</sup>, para os ensaios de otimizações e preparo das curvas analíticas.

## **3.3 – AMOSTRAGEM**

### **3.3.1 - PREPARAÇÃO DOS FRASCOS DE COLETA DE AMOSTRAS**

A seleção e preparação dos frascos, para coleta das amostras seguiu o procedimento estabelecido pelo manual de coleta e preservação de amostras de água da CETESB [6]. Foram utilizados frascos âmbar de 500,0 mL com tampas de teflon recobertas com papel alumínio. Os frascos foram, previamente lavados com detergente neutro, e enxaguados com bastante água de torneira. Em seguida eles foram sucessivamente ambientados com álcool, água deionizada e água Milli-Q, e secos na estufa a 100 °C.

### 3.3.2 – AMOSTRAS DE ÁGUA

As coletas das amostras de águas de superfícies foram feitas manualmente seguindo o procedimento estabelecido pela norma NBR 9897 de Planejamento de amostragem de Efluentes Líquidos e Corpos Receptores da Agência Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) [7]. As amostras foram coletadas na profundidade de 20 a 30 cm da superfície. Os frascos eram colocados com a boca voltada contra a correnteza. Os frascos com as amostras, eram colocados em recipientes com gelo, para serem transportados até o local de análises. No laboratório estas amostras eram mantidas resfriadas (4-6 °C) até o momento de extração e analisadas dentro de no máximo 10 dias. Para estas análises 15,0 mL destas amostras de água coletadas eram transferidas para frascos de *headspace* de 22,0 e feito a extração no modo imersão direta, durante 30 minutos a 45 °C e em seguida levadas para o injetor do cromatógrafo.

As amostras de águas analisadas foram coletadas na Bacia do Rio São Francisco e sub Bacia do Rio das Velhas. As coletas das amostras do Rio São Francisco foram efetuadas por técnicos do Centro de Tecnologia (CETEC). Na maioria dos pontos de amostragem foram também coletadas amostras de sedimentos. Os pontos de coletas do São Francisco estão descritos na Tabela 3.1. Estes pontos foram escolhidos com o auxílio do Instituto Mineiro de Gestão das Águas (IGAM) considerando-se a proximidade de culturas agrícolas com provável uso de agrotóxicos. Figura 3.4, mostra os pontos de coleta da Bacia do São Francisco.

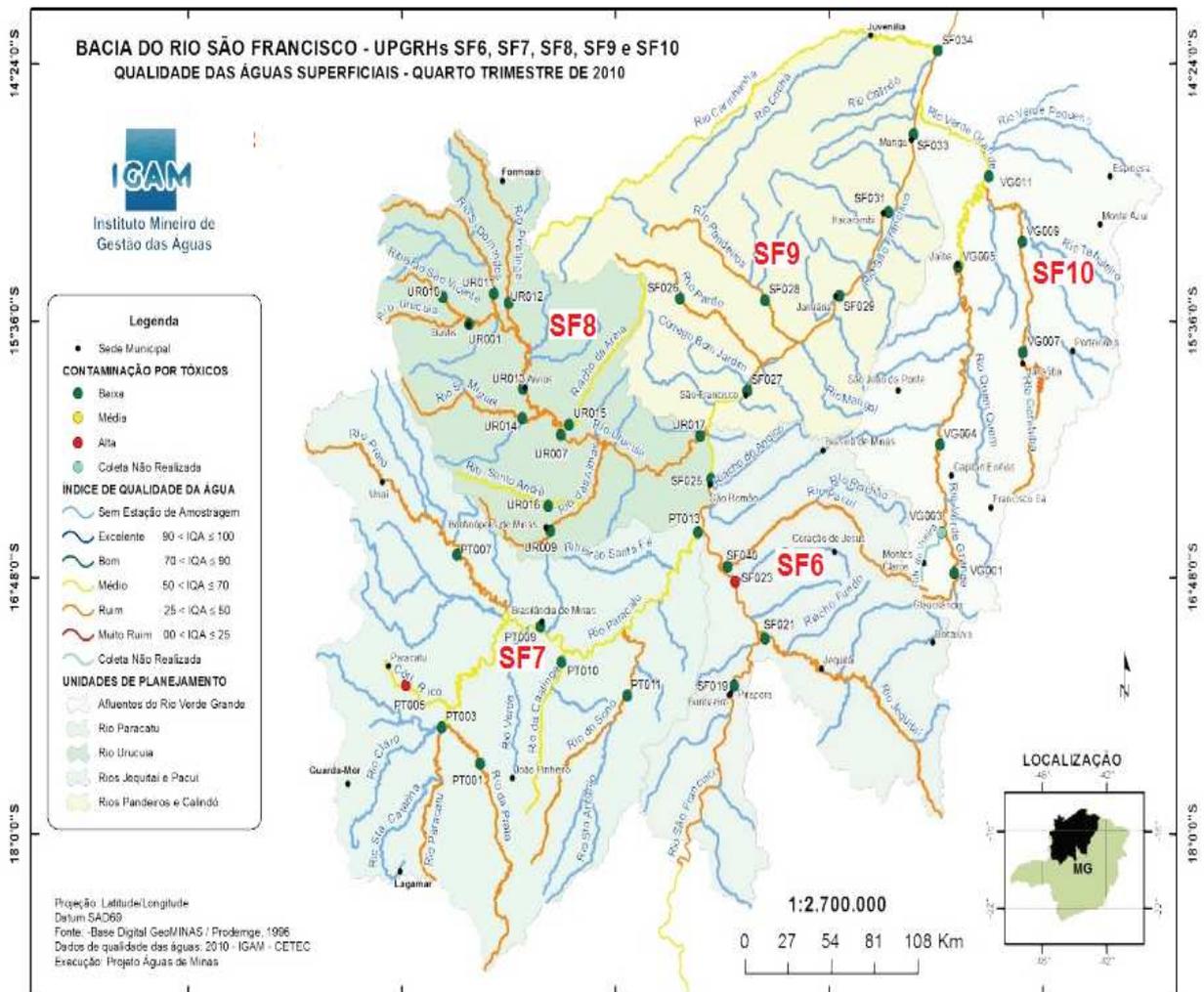


Figura 3.4 – Mapa da Bacia do Rio São Francisco, com alguns pontos de coleta [8]

Tabela 3.1: Descrição das estações de monitoramento

Código	Pontos	Descrição das Estações
<b>SF7</b>	PET013*	Ribeirão Ecurinho após a confluência com o rib. Jambreiro
	PTE015*	Rio Escuro próximo a sua confluência com o rio Paracatu.
	PTE027*	Rio Preto a montante do município de Unai.
	PT007*	Rio Preto a jusante do município de Unai
	PTE029*	Rib.São Pedro a jusante do ribeirão Santa Rita.
	PTE031*	Ribeirão Entre Ribeiros próximo a sua foz no rio Paracatu.
	PTE033*	Rio Paracatu a montante do ribeirão Entre Ribeiros.
<b>SF10</b>	SF19*	Rio São Francisco a montante da confluência com o Rio das Velhas.
	VG005* SF033*	Rio Verde Grande a jusante da cidade de Jaíba. Rio São Francisco a jusante da cidade de Manga.
<b>SF9</b>	SF027* BV149*	Rio São Francisco a jusante da cidade de São Francisco. Rio das Velhas a montante da sua foz no rio S. Francisco

\* Pontos onde foram coletados sedimentos para análise de agrotóxicos.

Foram coletadas amostras de água da sub-bacia do Rio das Velhas nas regiões mais críticas segundo dados do Conselho de Política Ambiental de Minas Gerais (COPAM) [9]. As coletas foram realizadas por membros da equipe de participação do Projeto Manuelzão, sob coordenação do Professor Dr. Tarcísio Márcio Magalhães Pinheiro, responsável pela avaliação da contaminação da população ribeirinha por agrotóxicos. Os pontos de coleta, mostrados na Tabela 3.2, foram escolhidos com o auxílio da Dra. Zenilde das Graças Guimarães Viola do Instituto Mineiro de Gestão das de Águas (IGAM).

Tabela 3.2: Pontos de Monitoramento da Bacia do Rio Das Velhas.

<b>Código</b>	<b>Descrição das Estações</b>
BV141	Rio das Velhas na cidade de Santana do Pirapama
BV142	Rio das Velhas a jusante do ribeirão Santo Antônio
BV146	Rio das Velhas a jusante do rio Pardo Grande
BV147	Rio Bicudo próximo de sua foz no Rio das Velhas
BV148	Rio das Velhas na cidade de Várzea da Palma
BV149	Rio das Velhas a montante da sua foz no rio S. Francisco em Guaicuí
BV150	Rio das Velhas a jusante do rio Paraúna, na localidade de S. da Glória
BV151	Rio das Velhas a jusante do córrego do Vinho em Lassance
BV152	Rio das Velhas entre os Rios Paraúna e Pardo Grande

As amostras foram levadas para o laboratório e condicionadas em refrigerador até 10 dias antes da análise.

### 3.3.3 – AMOSTRAS DE SEDIMENTOS

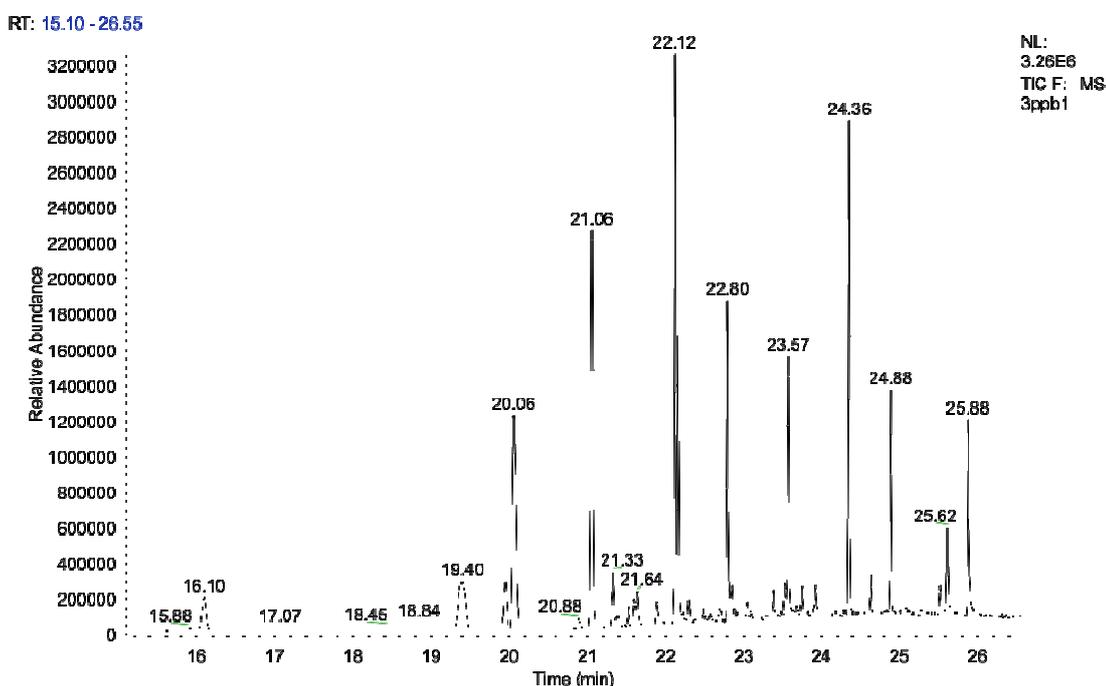
Foram analisadas amostras de sedimentos coletadas em todos pontos da Bacia do Rio São Francisco. Os sedimentos naturais são misturas complexas de minerais inorgânicos e matéria orgânica natural. Estes sedimentos favorecem a contaminação ambiental porque eles se associam a microorganismos ou poluentes através de processos de adsorção ou de absorção. Para avaliar se havia resíduos de agrotóxicos nos sedimentos que poderiam migrar para à água, 10,0 g de cada amostra foi misturada com 20,0 mL de água ultra pura (Milli-Q) e a mistura foi

colocada sob agitação magnética, durante 30 minutos, seguido de 30 minutos de repouso.

Então, a parte superior da amostra, contendo já menor quantidade de partículas sólidas, era transferida para um tubo de plástico onde era adicionado 100,0  $\mu\text{L}$  de uma solução de  $\text{KAl}_2\text{SO}_4$  ( $0,05 \text{ molL}^{-1}$ ), sendo este tubo centrifugado durante 20 minutos a 3000 rpm. Em seguida, 15,0 mL do sobrenadante eram retirados para frascos de 22,0 mL, extraídos por SPME e analisados por GC/MS, conforme procedimento descrito no item 3.2.4, para análise de água.

### 3.5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 3.5 e a Tabela 3.3 mostram o cromatograma e identificação dos agrotóxicos estudados neste trabalho.



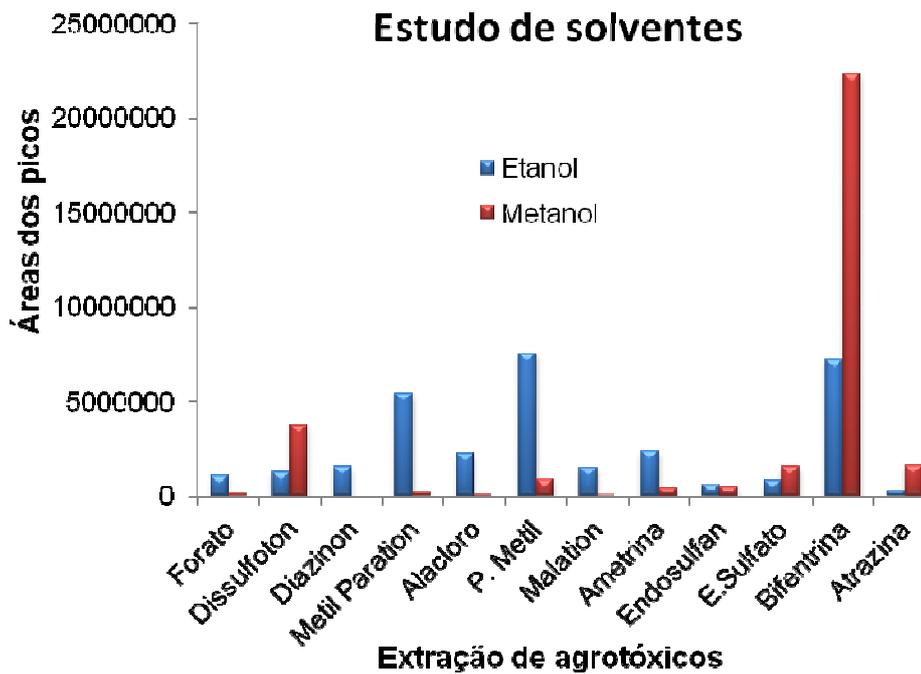
**Figura 3.5** - Cromatograma de GC/MS (modo positivo, full scan), obtido por SPME, solução de  $3,0 \mu\text{gL}^{-1}$ . Condições cromatográficas, descritas nos itens 3.2.3 e 3.2.4.

Tabela 3.3: Principais fragmentos dos agrotóxicos que constituem a mistura padrão.

Picos	Tempo de Retenção	Compostos	Íons característicos (m/z)
1	16,10	Forato	65(25) 75(100) 97(25) 121(30) 231(10) 260(20)
2	19,40	Diazinon	29(50) 137(100) 152(75) 179(100)
3	20,06	Dissulfoton	60(100) 65(25) 88(70) 97(40) 93(10) 97(30) 125(15) 125(10) 142(15) 186 (10) 274(10)
4	21,06	Metil paration	63(30) 79(45) 93(10) 109(40) 125(80) 263(100)
5	21,33	Alacloro	160(40) 188(100)
6	22,12	Pirimifós metil	79(25) 93(30) 109(25) 125(50) 151(10) 163(10) 180(40) 233(50) 244(10) 262(30) 276(75) 290(100) 305(75)
7	22,30	Malation	93(95) 125(75) 158(45) 173(100)
8	22,80	Ametrina	58(50) 68(30) 98(30) 155(10) 170(25) 170(25) 185(25) 212(60) 227(100)
9	23,57	Endosulfan alfa	75(40) 120(30) 159(55) 170(65) 195(85) 207(65) 229(50) 241(100) 265(60) 277(50) 307(25) 339(50) 406(10)
10	24,36	Endosulfan beta	159(60) 170(65) 195(100) 229(50) 241(95) 265(65) 339(75) 406(5)
11	24,88	Endosulfan sulfato	170(25) 206(15) 237(50) 263(15) 272(100) 289(10) 357(10) 387(40) 422(40)
12	25,62	Bifentrina	165(25) 181(100)

### 3.5.1 – ESCOLHA DO SOLVENTE DE DILUIÇÃO DOS PADRÕES DE AGROTÓXICOS

A maioria dos padrões de agrotóxicos estudados são solúveis apenas, em solventes orgânicos, como acetato de etila, isooctano, metanol e etanol. Para determinar os resíduos de agrotóxicos em amostras de água, estes padrões também deveriam ser diluídos em água. Deste modo foram testados dois solventes miscíveis com a água, o etanol e o metanol. Foram feitas soluções intermediárias dos padrões nestes solventes, as quais foram diluídas em água e colocadas em banho de ultrassom por 10 minutos. A Figura 3.6, mostra os resultados obtidos. O etanol foi escolhido, pois solubilizou melhor todos os compostos, exceto o dissulfoton e a bifentrina.



**Figura 3.6** – Extração de uma solução padrão de agrotóxicos 1,0 mgL<sup>-1</sup> em etanol e metanol diluídos em água.

### 3.5.2 – ESTUDO DA LINEARIDADE

A Figura 3.7 mostra as curvas analíticas dos agrotóxicos investigados nesta parte do trabalho.

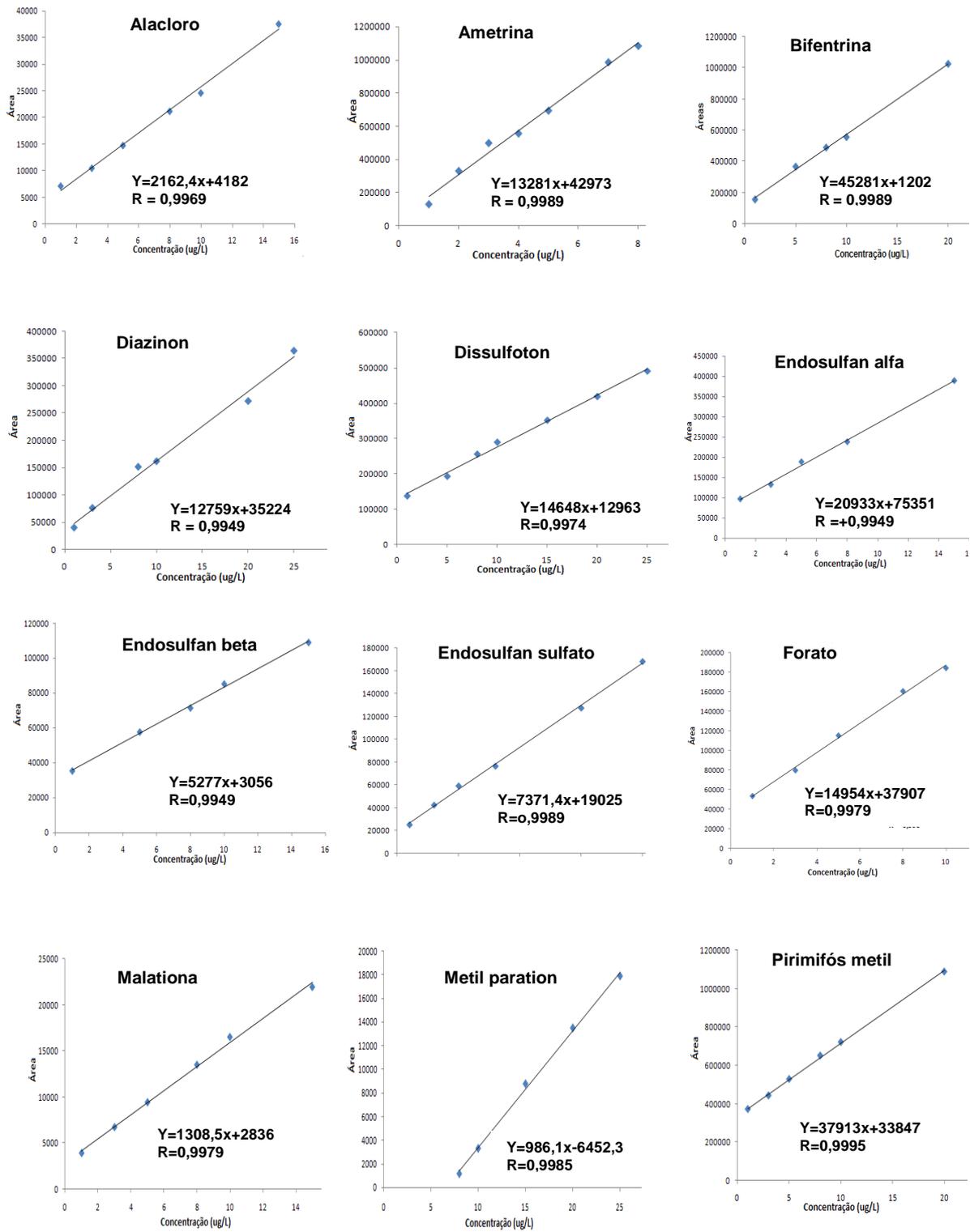


Figura 3.7 – Curvas de calibração para os agrotóxicos estudados

### 3.5.3 – ANÁLISE DE AMOSTRAS DE ÁGUA E SEDIMENTOS DA BACIA DO RIO S. FRANCISCO

Foram analisadas 30 amostras da Bacia do São Francisco e 20 amostras da sub-bacia do Rio das Velhas, nas quais não se detectou nenhum resíduo de agrotóxicos nas análises de água. Deve-se ressaltar que ocorreram alguns problemas que podem ter afetado estas análises. Algumas amostras tiveram de ser armazenadas por mais de dez dias sob refrigeração antes da análise, pois o sistema GC/MS estava em reparos técnicos e pode ter ocorrido total degradação dos agrotóxicos, se presentes. Algumas amostras foram coletadas em períodos distantes das primeiras chuvas e o ideal é que a coleta seja feita imediatamente após a primeira chuva.

Para os sedimentos, das doze amostras analisadas, em duas amostras detectaram-se resíduos dos agrotóxicos organoclorados endosulfan sulfato e op'-metoxicloro. Não havia curva de calibração para se fazer as determinações do op'-metoxicloro. Houve migração para a água de 0,63 e 0,85  $\mu\text{gL}^{-1}$  de endosulfan sulfato. Estes valores são elevados de acordo com a União Européia que estipula em 0,1 $\mu\text{gL}^{-1}$  a concentração máxima permitida para resíduos de agrotóxicos em águas destinadas para o consumo humano independente de sua toxicidade [10]. O USEPA (United States Environmental Protection Agency) e a OMS (organização mundial da saúde) estabeleceram níveis máximos individualizados por agrotóxicos baseados em estudos toxicológicos e epidemiológicos [11]. No Brasil, a legislação estabeleceu limites máximos dos contaminantes em águas dependendo do seu destino [1,12]. Para, a classe 1 águas para o consumo humano, o limite é de 0,056  $\mu\text{gL}^{-1}$  para o endosulfan sulfato.

Este resultado indica portanto que pode haver contaminação do manancial em níveis acima do permitido, através da migração do endosulfan sulfato do sedimento para à água.

### 3.6 – CONCLUSÕES

A não determinação de resíduos de agrotóxicos, nas amostras analisadas mostram a grande dificuldade deste tipo de análise, em que as coletas tem de ser

feitas no momento apropriado, ou seja dentro de sete dias no máximo, o que infelizmente não foi possível. Este estudo não pode avaliar o impacto da contaminação por agrotóxicos da Bacia do Rio São Francisco.

### 3.7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - MAPA, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento **(1985)**. Portaria nº 329.
- 2 – Site da ANVISA: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2006/310306.htm>. Arquivo capturado em março de **2007**.
- 3 – Silva, F.C.; Cardeal, Z.L. **(2002)**. Desenvolvimento de Métodos para Análises de Agrotóxicos organofosforados e organoclorados em águas e solos utilizando as técnicas de extração MEFS, EFS e análises por CG/DIC e GC/DSM. Tese de Doutorado.
- 4 – Capobianco, H.L.V.; Cardeal, Z. L. **(2005)**. A Slide-Phase Microextraction Method for the Chromatographic Determination of Organophosphorus Pesticides in Fish, Water, Potatoes, Guava and Coffee. *Journal of Brazilian Chemistry Society*, 16, 907-9014.
- 5 - Valente, A. L.; Augusto, F. **(2000)**. Microextração em fase sólida, *Quimica Nova*, 23 (4), 523-530.
- 6 – CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **(1987)**. Guia de Coleta e Preservação de Amostras de Água, São Paulo.
- 7 – ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas – NBR 9897 **(1987)**. Planejamento de Amostragem de Efluentes Líquidos e Corpos Receptores. Rio de Janeiro, 23.
- 8 - [http://aguas.igam.mg.gov.br/aguas/imagens/rede\\_amos\\_sup\\_codedvasf.jpg](http://aguas.igam.mg.gov.br/aguas/imagens/rede_amos_sup_codedvasf.jpg) - Arquivo capturado em junho de 2011.
- 9 – COPAM - Conselho de Política Ambiental de Minas Gerais. **(2004)**.
- 10 - EEC Drinking Water Guidelines **(1980)**. 80/779/EEC, EEC nº. L229/11-29, Brussels.

11 – USEPA – United States Environmental Protection Agency. **(2004)**. Unregulated Contaminant Monitoring Regulation Analytical Methods and Quality Control Manual. EPA.

12 - CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. **(2005)**. Resolução 357 de Março

## ***CAPÍTULO 4***

# **“DEGRADAÇÃO DE AGROTÓXICOS PROTÓTIPO SUBMETIDO A CONDIÇÕES DE TRATAMENTO DE ÁGUA CONVENCIONAIS: INFLUÊNCIA DOS PRINCIPAIS PARÂMETROS”**

#### 4.1 - INTRODUÇÃO

O uso descontrolado de agrotóxicos, muitos dos quais são proibidos em vários países, tem gerado uma preocupação crescente em todo o mundo como resultado dos danos irreparáveis que essas substâncias podem causar ao meio ambiente [1]. É desconcertante que os processos de tratamento tradicionais não são suficientemente eficientes na completa remoção destes agrotóxicos do sistema de abastecimento da água que é distribuída e consumida pela população [2].

Estudos têm mostrado que a radiação ultravioleta é capaz de degradar muitos contaminantes orgânicos, incluindo agrotóxicos [3,4]. A radiação UV pode iniciar reações químicas diversas, principalmente hidrólise, fotólise e oxidação [5]. Alternativamente, pode ser absorvida por outras moléculas (normalmente água) para a produção de espécies altamente reativas, como radicais hidroxila ( $\text{OH} \bullet$ ), os elétrons solvatados e oxigênio molecular, que prontamente atacam e destroem os contaminantes alvo [6,7]. Muitos agrotóxicos têm sido degradados por exposição à radiação UV que geram produtos com baixa toxicidade e com menor capacidade de causar danos ambientais notáveis do que o precursor primário [8-10]. Geralmente, as reações de degradação são favorecidas pela radiação UV em soluções ácidas em meio aquoso [11,12].

Agrotóxicos organofosforados (OP) têm caracteristicamente ligações  $\text{P}=\text{O}$  ou  $\text{P}=\text{S}$  em suas estruturas, e estes grupos reagem rapidamente ou são facilmente degradados em meio aquoso, sob condições normais. Por exemplo, Gratzel e Doong [13,14], observaram que alguns agrotóxicos organofosforados foram completamente mineralizados em uma solução aquosa ácida (pH 4,5) após duas horas de exposição à luz UV, à temperatura ambiente. Em um estudo análogo, Saien e colaboradores [15] verificaram que uma solução aquosa (pH 6,73) do fungicida organofosforado carbezini, teve mineralização completa de após 75 minutos de exposição à radiação UV. Além disso, o agrotóxico organofosforado dimetoato foi completamente degradado por uma série de microorganismos também em meio aquoso originando produtos ambientalmente inócuos [16,17].

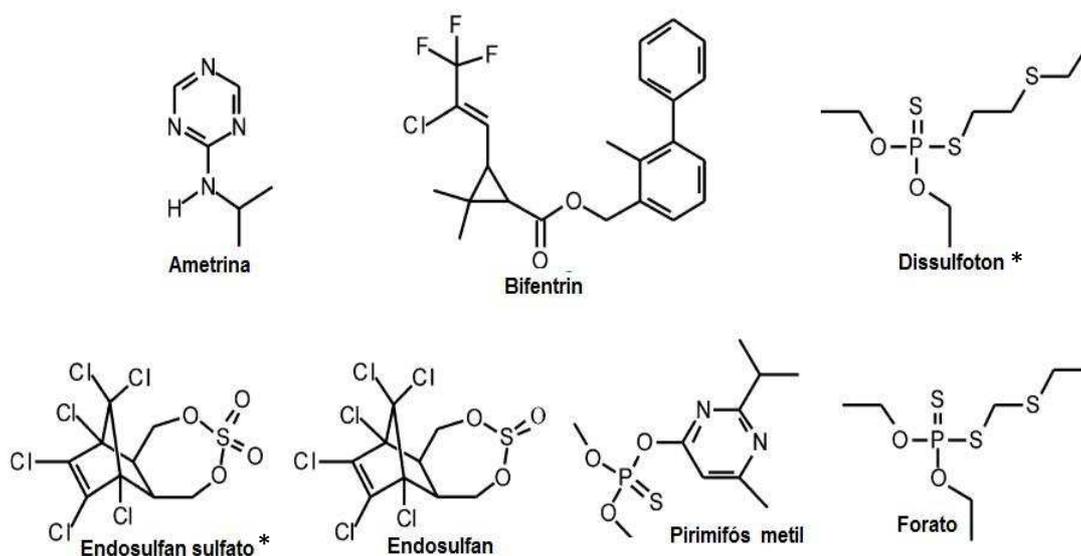
Os agrotóxicos organoclorados (OC) contêm anéis aromáticos altamente condensados, com ligações cloro-carbono, e/ou átomos de carbono quaternário em suas estruturas químicas. Eles geralmente apresentam baixa solubilidade em água,

bem como maior estabilidade e resistência à degradação em relação aos agrotóxicos organofosforados [18]. Além disso, os agrotóxicos organoclorados e seus metabólitos geralmente possuem toxicidade extremamente elevada, pois podem inibir uma série de processos enzimáticos vitais [19]. Alguns estudos têm esclarecido os efeitos da radiação UV e pH sobre a degradação dessa classe de agrotóxicos. Por exemplo, foi descrito Malato, Zeng e Duirk [20-22] que os agrotóxicos organoclorados,  $\alpha$ -BHC,  $\beta$ -BHC,  $\delta$ -BHC,  $\gamma$ -BHC, cipermetrina e dicofol foram totalmente convertidos em  $\text{CO}_2$  e HCl em meio aquoso à temperatura ambiente após 60 minutos de exposição à luz ultravioleta. Os autores sugeriram que o processo de degradação ocorreu através do ataque das hidroxila reativas ( $\text{OH}\cdot$ ) e hidroperoxil ( $\text{OOH}\cdot$ ). Estes radicais foram gerados in situ devido a interação dos compostos-alvo com a luz UV, com a água e com  $\text{O}_2$  atmosférico.

Em outro trabalho Zeng e Yu [23] também constataram que os radicais gerados in situ (incluindo  $\cdot\text{O}_2$ ,  $\cdot\text{CO}_3^-$ , e  $\cdot\text{HCO}_3$  entre muitos outros), podem promover a rápida mineralização de numerosos agrotóxicos organoclorados em meio aquoso. A relevância deste assunto é verificada por outros exemplos [24-26], que descrevem o papel da luz UV e pH da solução sobre o esgotamento de agrotóxicos organoclorados em meio aquoso.

Este capítulo descreve o estudo de degradação de agrotóxicos protótipos organofosforados, organoclorados e piretróides, (estruturas apresentadas na Figura 4.1). O objetivo foi avaliar o efeito sobre a degradação dos agrotóxicos, de fatores importantes utilizados em uma estação convencional de tratamento de água: 1) concentração de cloreto (hipoclorito de sódio), 2) pH da solução e 3) tempo de exposição à luz UV, de 0 a 6 horas, simulando uma parte da radiação solar, mas normalmente nas estações de tratamento de águas os tanques ficam expostos ao sol aproximadamente 5 a 6 horas por dia [27]. As determinações foram feitas por cromatografia gasosa com detector de espectrometria de massas (GC/MS) e o método de extração utilizado foi a microextração em fase sólida (SPME), por imersão direta. Para determinar os efeitos desses fatores predominantes, assim como as possíveis interações entre eles, foi construído um planejamento fatorial  $2^3$  (dois níveis para cada um dos três fatores), com um ponto central. Além disso, os dados experimentais foram também usados para construir superfícies de resposta (através da abordagem Doehlert) visando avaliar se as condições otimizadas

propiciavam a taxa máxima de degradação de cada pesticida. Finalmente, foram determinados os tempos de exposição à radiação UV que produziam completa degradação do dissulfoton e do endosulfan sulfato (agrotóxicos organofosforados e organoclorados, respectivamente) em meio aquoso, nas condições normais empregadas em estações de tratamento de água.



**Figura 4.1** - Estrutura química dos agrotóxicos estudados (\*Compostos avaliados para acompanhar a degradação por UV).

## 4.2 – METODOLOGIA

### 4.2.1 – REAGENTES

Para esta investigação foram utilizados os reagentes: Etanol grau cromatográfico (Merck KGaA, Alemanha), com grau de pureza de 99.99 %, água ultra-pura obtida do Milli-Q (Millipore, São Paulo, Brasil), solução de hipoclorito de sódio (NaClO), utilizou-se o produto comercial “Água Sanitária” da marca Santa Clara, com cloro ativo entre 2,0-2,5 % p/p, que além do baixo custo é também muito utilizada,, solução de ácido fosfórico  $H_3PO_4$ , 85 % PA (Synth, São Paulo, Brasil), cloreto de sódio, NaCl (Synth, São Paulo, Brasil), Solução de NaOH,  $0,05 \text{ molL}^{-1}$  (Merck, Brasil). Os agrotóxicos, bifentrina, ametrina, endosulfan sulfato, endosulfan alfa, dissulfoton, pirimifós metílico e forato, foram adquiridos da Supelco (*Sigma Aldrich*: Bellefonte, EUA).

#### 4.2.2 – REAÇÕES

As soluções estoque foram preparadas com água ultra pura Milli-Q (Milford, São Paulo, Brasil) na concentração de  $20,0 \text{ mgL}^{-1}$ . Foram transferidos transferidos 50,0 mL destas soluções para béqueres de vidro. Para ajuste de pH foi utilizado adição de ácido fosfórico, 85 %, ou hidróxido de sódio,  $0,1 \text{ molL}^{-1}$ . Quantidades específicas de hipoclorito de sódio, foram adicionados a estas soluções para alcançar as concentrações de 0 a  $2,0 \text{ mgL}^{-1}$ , conforme o planejamento fatorial (veja a seguir neste capítulo). Para o preparo das soluções de hipoclorito de sódio foi considerado o teor de 2,5 % de cloro ativo. As soluções resultantes foram então transferidas para uma câmara, Figura 4.2, com uma lâmpada UV (254 nm, 15 W, a Philips TUV G5T8) instalada. Sob agitação constante, as soluções foram posteriormente expostas à radiação UV por períodos especificados.



**Figura 4.2** - Câmara de radiação UV contendo placas de agitação e lâmpada UV.

### **4.2.3 – MONITORAMENTO DA DEGRADAÇÃO**

Para a análise por SPME a cada 30 minutos de reação no UV foram retiradas três alíquotas de 15,0 mL de uma solução contendo todos os agrotóxicos (mix), foram colocadas em frascos de vidro de 20,0 mL, específicos para SPME, que foram imediatamente fechados com septo de silicone e lacres de alumínio para a extração por imersão direta durante 30 minutos a 40 °C, sob agitação. Depois de realizada a extração, a fibra foi inserida diretamente no injetor do cromatógrafo a 250 °C para promover a dessorção dos analitos (os agrotóxicos e provavelmente seus produtos de degradação) durante 5 min.

Uma fibra de 100 µm de polidimetilsiloxano (PDMS) da Supelco, Bellefonte, PA, EUA, foi selecionada para o presente estudo, de acordo com os resultados obtidos a partir de trabalhos anteriores realizados em nosso laboratório [28-31].

### **4.2.4 – INSTRUMENTAÇÃO**

Todas as análises foram realizadas em um sistema CG/MS (Ultra Trace e Polaris-Q Íon Trap, respectivamente), da Thermo Finnigan, São José. O espectrômetro de massas foi ajustado para operar com ionização de elétrons (EI), no modo positivo ESI-(+)-MS, com 70 eV, com intervalo de varredura m/z 50-650. As temperaturas da linha de transferência e fonte foram ajustados para 275 °C e 200 °C, respectivamente. O fluxo de hélio foi de 1,2 mL/min. Uma coluna capilar HP-5 MS (Agilent, Alemanha), com dimensões de 30 m (comprimento) x 0,25 mm (diâmetro interno) x 0,25 µm (espessura) foi utilizada. O programa de temperatura foi o seguinte: temperatura inicial de 60 °C com patamar de 2 minutos, aquecimento de 15 °C/min até 160 °C (patamar de 10 min), aquecimento de 20 °C/min até 280 °C (patamar de 10 min), aquecimento de 10 °C/min até 300 °C, com patamar final de 2 minutos. O tempo total da corrida foi de 34 minutos.

#### 4.2.5 – PLANEJAMENTO FATORIAL

Para determinar os efeitos das três variáveis mais significativas, ou seja, a concentração de hipoclorito de sódio ( $C_{\text{NaClO}}$ ), pH da solução e tempo de exposição à radiação UV ( $UV_{\text{tempo}}$ ), na degradação dos agrotóxicos, representados na Figura 4.1, no meio aquoso, foi construído um Planejamento Fatorial Completo  $2^3$ . Este fatorial constou de 11 experimentos que compunham de combinações das variáveis em seus níveis máximo (+1), mínimo (-1), e o ponto central (0) (Tabela 4.1). A Tabela 4.2 mostra os experimentos e resultados obtidos para o agrotóxico, forato. Para  $C_{\text{NaClO}}$  (concentração de hipoclorito de sódio), os três níveis avaliados foram: 0 (-1), 2,0 (1) e 1,0 (0)  $\text{mgL}^{-1}$ . Os valores de pH de 4 (-1), 10 (+1) e 7 (0) foram escolhidos como mínimo, máximo e ponto central, respectivamente. Os tempos de exposição à radiação UV ( $UV_{\text{tempo}}$ ) avaliados foram: 30 (-1), 120 (+1), e 75 min (0). As taxas de degradação (respostas) foram calculadas através da redução da área do pico GC/MS em relação a área da solução inicial de cada agrotóxico. Para estimar o erro experimental, os experimentos do ponto central foram realizados em triplicata.

Tabela 4.1: Planejamento Fatorial  $2^3$  com as variáveis e os respectivos níveis estudados.

Variável	Nível		
	Mínimo (-)	Ponto médio	Máximo (+)
Tempo de exposição UV (min)	30	75	120
pH da solução	4	7	10
Concentração de NaClO ( $\text{mgL}^{-1}$ )	0	1,0	2,0

Tabela 4.2: Planejamento fatorial completo ( $2^3$ ) mostrando as respostas (área do pico cromatográfico) para o agrotóxico forato degradado sob condições variadas.

Número	pH <sup>a</sup>	C <sub>NaClO</sub> (mgL <sup>-1</sup> ) <sup>b</sup>	UV <sub>tempo</sub> (min) <sup>c</sup>	Área (mV)
1	4 (-1)	0 (-1)	30 (-1)	1335783
2	10 (+1)	0 (-1)	30 (-1)	1239905
3	4 (-1)	2 (+1)	30 (-1)	7646
4	10 (+1)	2 (+1)	30 (-1)	762802
5	4 (-1)	0 (-1)	120 (+1)	763055
6	10 (+1)	0 (-1)	120 (+1)	1040700
7	4 (-1)	2 (+1)	120 (+1)	1064813
8	10 (+1)	2 (+1)	120 (+1)	777701
9	7 (0)	1 (0)	75 (0)	759528
10	7 (0)	1 (0)	75 (0)	762019
11	7 (0)	1 (0)	75 (0)	760774

Os sinais referem-se ao valores codificados do variáveis em seu mínimo (-1), máximo (+1), e central pontos (0)<sup>a</sup> pH = solução

<sup>b</sup> C<sub>NaClO</sub>: concentração de hipoclorito de sódio

<sup>c</sup> UV<sub>tempo</sub>: tempo de exposição a radiação ultravioleta (UV)

#### 4.2.6 – PLANEJAMENTO DOHELERT

Com base nos resultados dos planejamentos fatoriais, foram construídas matrizes Doehlert para obter as superfícies de respostas (área do pico cromatográfico em função do pH e UV<sub>tempo</sub>) para todos os agrotóxicos, usando os níveis mostrados na Tabela 4.3. A Tabela 4.4 mostra, como exemplo, os dados referentes ao agrotóxico forato. Em todos os experimentos, a concentração de C<sub>NaClO</sub> foi mantida constante no nível mais elevado, 2,0 mgL<sup>-1</sup>.

Tabela 4.3: Níveis de codificação para os parâmetros investigados das superfícies de resposta

Variável	Nível codificado				
	(-1,0)	(-0,5)	(0)	(0,5)	(+1,0)
Tempo de exposição UV (min)	60	90	120	150	180
pH da solução	4,5	2,0	4,5	7,0	4,5

Tabela 4.4: Matriz Dohelert mostrando as variáveis reais e codificadas (entre parênteses) ( $UV_{tempo}$  e pH) com as respectivas respostas (área do pico cromatográfico), para o agrotóxico forato.

N	$UV_{time}$ (min) <sup>a</sup>	pH <sup>b</sup>	Area (mV)
1	90 (-0.5)	7 (+0.866)	104821
2	150 (+0.5)	7 (+0.866)	50833
3	60 (-1)	4.5 (0)	553296
4	180 (+1)	4.5 (0)	175624
5	90 (-0.5)	2 (-0.866)	197715
6	150 (+0.5)	2 (-0.866)	190506
7	120 (0)	4.5 (0)	74639
8	120 (0)	4.5 (0)	51603
9	120 (0)	4.5 (0)	32786

<sup>a</sup>  $UV_{tempo}$  = tempo de exposição a radiação UV; <sup>b</sup> pH = pH solução

Os experimentos, (como os mostrados nas Tabelas 4.2 e 4.4), foram realizados em ordem aleatória e um por vez. Um intervalo de confiança de 95 % foi utilizado para determinar os efeitos mais significativos. Os cálculos, incluindo gráficos de Pareto e superfícies de resposta, foram realizados pelo software Estatística, versão 6.0.

### 4.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Planejamentos fatoriais completos ( $2^3$ ) foram construídos para estimar diretamente a influência dos parâmetros mais importantes (variáveis), ou seja, a concentração de hipoclorito de sódio ( $C_{\text{NaClO}}$ ), o pH da solução, e o tempo de exposição à radiação UV ( $UV_{\text{tempo}}$ ), sobre a degradação de agrotóxicos modelos: ametrina e bifentrina (piretróides); endosulfan sulfato e endosulfan (organoclorados), dissulfoton, pirimifós metílico e forato (organofosforados), em meio aquoso.

Um planejamento fatorial completo típico ( $2^3$ ) e as respostas correspondentes (áreas dos picos cromatográficos) estão apresentados na Tabela 4.2, da seção 4.2.5, para o pesticida, forato. Planejamentos fatoriais Idênticos foram construídos também para os demais agrotóxicos estudados. Os valores para as três variáveis foram escolhidos visando simular uma estação de tratamento de água, concentração de hipoclorito de sódio  $2,0 \text{ mgL}^{-1}$ , pH de 5 a 8 e UV simulando a radiação solar ou mesmo para simular as condições encontradas em um ambiente natural .

A partir dos dados do planejamento fatorial, foram obtidos gráficos de Pareto para cada agrotóxico. Os gráficos de Pareto indicam a magnitude e a importância dos efeitos de cada variável individual, assim como as maiores interações e, contém uma linha de referência, sendo assim, qualquer efeito que vai além desta linha é potencialmente importante (um nível de confiança de 95 % foi utilizado aqui). Os resultados mostram (Figura 4.3) que cada agrotóxico analisado tem um comportamento específico.

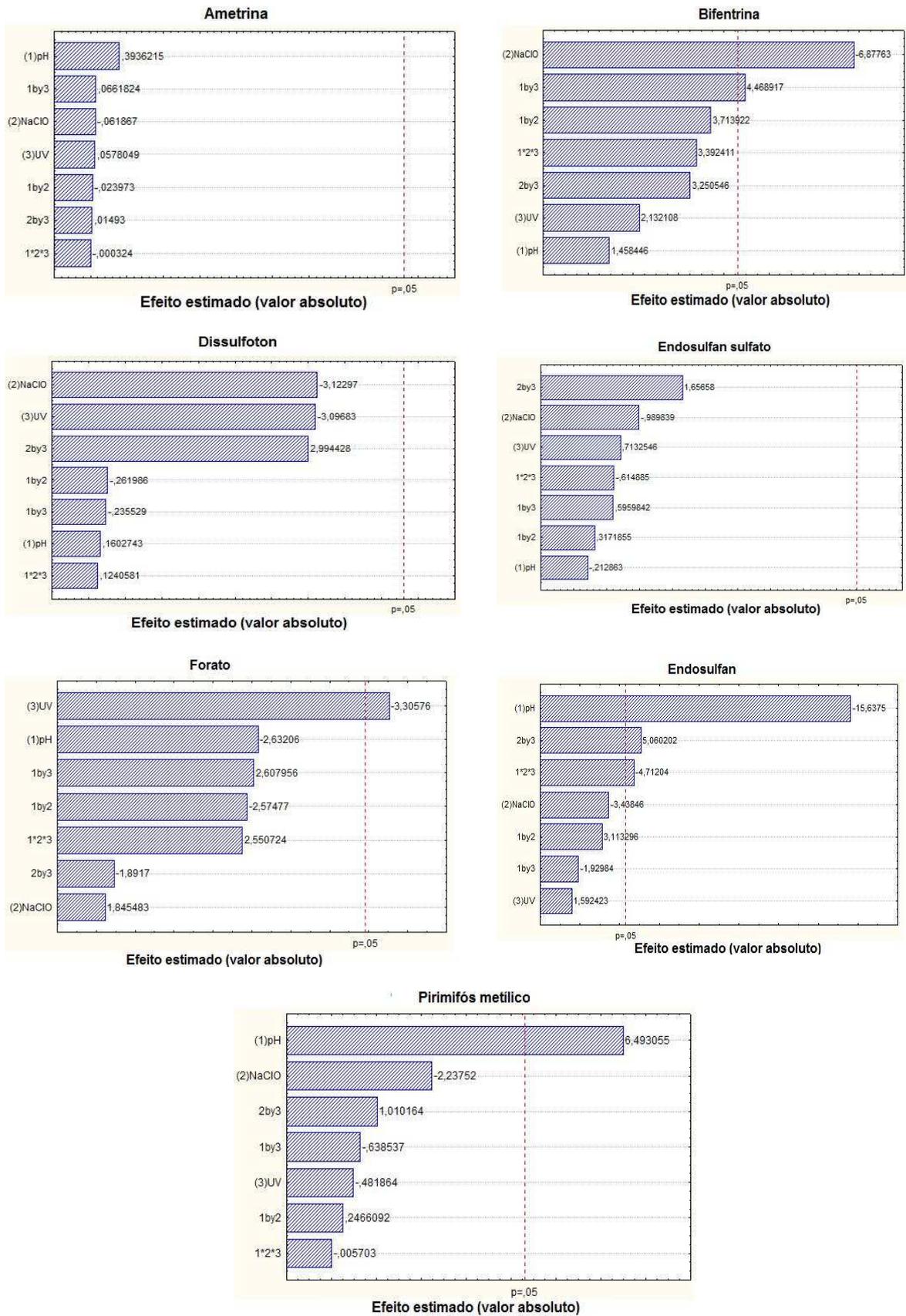


Figura 4.3 - Gráficos de Pareto relacionados com a degradação de agrotóxicos em meios aquosos.

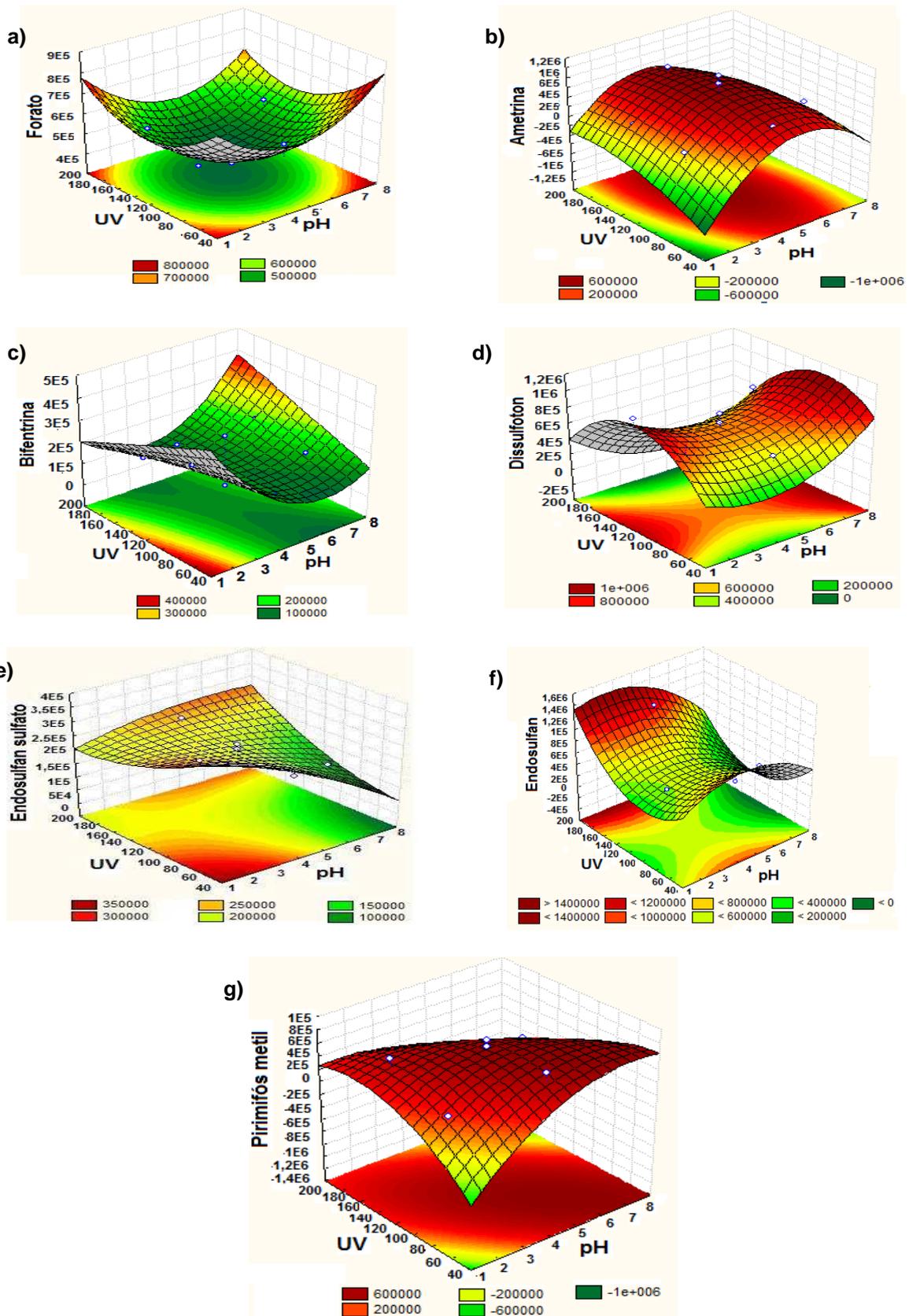
Estes gráficos foram construídos com base nos resultados obtidos do planejamento fatorial de cada agrotóxico (ver, por exemplo, Tabela 4.2, da seção 4.2.5, que mostra a matriz de dados para o forato). O composto bifentrina (piretróide) as únicas variáveis significativas foram  $C_{NaClO}$  e a interação  $pH \times UV$ , para a concentração do hipoclorito apresentou um efeito negativo indicando que maiores valores de  $C_{NaClO}$  renderam menores taxas de degradação (maiores áreas de pico cromatográfico). E a interação do  $pH \times UV$  tendem a valores positivos, indicando menores áreas de degradação. Para o dissulfoton (OP), não teve nenhuma variável significativa. Para o pirimifós metílico (OP), um efeito positivo sobre a resposta do pH (mais uma vez a única variável significativa) indica que menor rendimento de degradação (áreas de maior pico cromatográfico) foi obtido em maiores valores de pH (meio básico). Por outro lado, a degradação do endosulfan (OC) foi significativamente afetada pelo pH (maiores valores de pH, meio básico, permitem maiores taxas de degradação), pela interação secundária  $UV_{tempo} \times C_{NaClO}$ , e também pela interação terciária  $UV \times C_{NaClO} \times pH$ . Um efeito negativo foi observado para  $UV_{tempo}$  para forato (OP), o que significa que maiores taxas de degradação (menores áreas dos picos cromatográficos) são obtidos através do aumento do tempo de exposição à radiação UV. Os outros compostos estudados (ametrina e endosulfan sulfato) não apresentaram degradação significativamente afetada por nenhuma das variáveis, pelo menos neste domínio experimental.

Como os resultados dos gráficos de Pareto para variações de pH,  $UV_{tempo}$  e  $C_{NaClO}$  foram diferentes para cada substância estudada, um outro tratamento estatístico foi testado. Foram construídas matrizes Doehlert e, portanto, superfícies de respostas (taxa de degradação em função do pH e  $UV_{tempo}$ ) foram elaboradas para determinar os valores de ambos os parâmetros que possibilitavam maximizar a taxa de degradação para cada agrotóxico no âmbito experimental investigado. Nesses experimentos, a concentração de hipoclorito de sódio foi fixada em  $2,0\text{mgL}^{-1}$ , a mesma concentração comumente usada em estações de tratamento de água. Além disso, os intervalos experimentais escolhidos para as variáveis pH, na faixa de pH 2,0 (ácido) a 8,0 (neutro), abrangendo o pH comumente encontrados nas águas e exposição a radiação UV de 90 a 150 min, refletem as condições comumente encontradas em recursos hídricos em um país tropical como o Brasil. A Tabela 4.4 da seção 4.2.6, mostra uma matriz Doehlert com as correspondentes respostas

(área do pico cromatográfico) para a degradação do agrotóxico, forato modelos idênticos, foram também construídos para os outros agrotóxicos.

Observa-se, pela Figura 4.4, que foi encontrado um ponto de mínimo (correspondente a um máximo de degradação) na superfície de resposta do forato, com as seguintes coordenadas:  $\text{pH} = 4$  e  $\text{UV}_{\text{tempo}} = 140$  min. Este resultado é consistente com os resultados descritos em um estudo anterior (Acero e Benitez 2008) [32], que relata que os inseticidas organofosforados (incluindo forato) foram mais facilmente degradados em meio ácido, quando expostos à luz UV. Contrariamente ao resultado obtido para o forato, as superfícies de resposta para alguns dos outros agrotóxicos, não apresentaram nenhum ápices.

No entanto, como uma tendência geral, as superfícies de resposta, mostradas na Figura 4.4 indicam que a degradação de todos os agrotóxicos foi favorecida por maiores tempos de exposição a radiação UV. Além disso, essas superfícies também revelaram que a degradação dos piretróides (ametrina e bifentrina) tendem a maiores degradação em pH ácido para a bifentrina e pH básico para a ametrina. Os organofosforados (pirimifós metil e dissulfoton), tendem a ser maiores em condições básicas. Por outro lado, a degradação do organoclorado (endosulfan sulfato) tende a ser maior em valores de pH mais baixos (meio ácido). Finalmente, a realização de superfícies com pontos de máximo (respostas verdadeiramente otimizados) para os agrotóxicos iria exigir a execução de ensaios adicionais com um escopo experimental expandido. Estes ensaios extras não foram realizados.



**Figura 4.4-** Superfície de resposta (área do pico cromatográfico em função do pH e do tempo de exposição a radiação UV): (a) forato, (b) ametrina, (c) bifentrina, (d) dissulfoton, (e) endosulfan sulfato (f) endosulfan e (g) pirimifós metil.

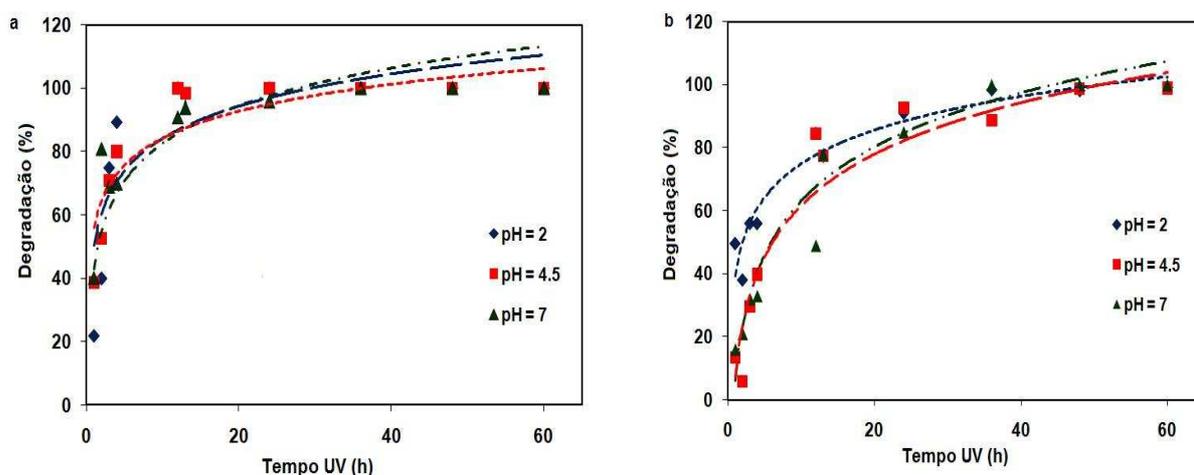
#### 4.3.1 – DEGRADAÇÃO COMPLETA DE AGROTÓXICOS ORGANOCLORADOS E ORGANOFOSFORADOS PROTÓTIPOS NAS CONDIÇÕES TÍPICAS EMPREGADAS EM ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ÁGUA.

Experimentos com condições típicas empregadas em sistemas de tratamento de água ( $\text{pH} = 6$ ,  $C_{\text{NaClO}} = 2,0 \text{ mgL}^{-1}$  e radiação solar de 6 horas) foram conduzidos para determinar qual tempo de exposição à radiação UV que produziria completa degradação de agrotóxicos protótipos em solução aquosa. Os compostos selecionados para este estudo foram: endosulfan sulfato e dissulfoton (organoclorados e organofosforados, respectivamente). As soluções aquosas destes compostos foram preparadas com uma concentração de hipoclorito de sódio a  $2,0 \text{ mgL}^{-1}$  e os valores de pH foram ajustados em 2,0, 4,5, e 7,0 antes da irradiação com luz UV. As áreas dos picos destes agrotóxicos foram monitoradas continuamente durante 60 h (via SPME–GC/MS, conforme abordagem descrita na seção experimental 4.2.3) e os resultados são mostrados na Figura 4.5.

Os resultados indicaram que a degradação completa de cada agrotóxico foi obtida mais ou menos ao mesmo tempo, independentemente do pH da solução. Além disso, a degradação completa do dissulfoton foi alcançada em um tempo de exposição pequeno (aproximadamente 10 h) e a de endosulfan sulfato em um tempo maior (aproximadamente 40 h). Resultados semelhantes foram relatados por Bali e Catalkaya [30], que também verificaram que, sob idênticas condições experimentais (em meio ácido) agrotóxicos organofosforados tendem a ser muito mais suscetível à degradação do que os organoclorados. A explicação para esse comportamento incomum está provavelmente relacionada ao pH que facilita a interação das espécies reativas com as ligações  $\text{P}=\text{O}$  e funcionalidades  $\text{P}=\text{S}$ , presente na estrutura química dos agrotóxicos OP, que podem ser facilmente atacados, como por exemplo, radicais hidroxila, provavelmente formados nessas condições de reação (Acero e Benitez, 2008) [33].

No entanto, Acero e Benitez (2008) [32], aparentemente obtiveram um resultado distinto durante a investigação da degradação de três agrotóxicos organofosforados (clorpirifós, clorfenvinfós e diazinon) por cloro gasoso ( $\text{Cl}\bullet$ ) em solução aquosa, em condições ligeiramente ácidas e básicas e em uma faixa de temperatura de 11 a  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ . Eles observaram que após 4 horas de exposição a

radiação UV, os agrotóxicos foram completamente destruídos. Os autores concluíram que a espécie HOCl (ácido hipocloroso), formada pela reação entre  $\text{Cl}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$  sob condições brandas, desempenhou um papel importante no processo por eles estudado. A discrepância notável em relação aos resultados obtidos neste trabalho está, certamente, associada às condições distintas empregadas nos dois experimentos.



**Figura 4.5** – Degradação de agrotóxicos, dissulfoton (a), e endosulfan sulfato (b), em solução aquosa (em pH 2,0; 4,5 e 7,0) monitorados em função do tempo de exposição a radiação UV e concentração de  $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ . O hipoclorito de sódio foi usado na concentração de  $2,0 \text{ mgL}^{-1}$ .

#### 4.4 — CONCLUSÕES

Este trabalho avaliou o efeito da degradação de agrotóxicos a partir de parâmetros majoritários que são essenciais na obtenção de água pura em estações de tratamento. Foram estudados a influência dos parâmetros, concentração de  $2,0 \text{ mgL}^{-1}$  de hipoclorito de sódio, pH da solução, e tempo de exposição à luz UV, na degradação dos agrotóxicos: bifentrina e ametrina (piretróides); endosulfan sulfato e endosulfan (organoclorados); pirimifós metílico, dissulfoton, e forato (organofosforados).

O consumo dos agrotóxicos foi determinado pelo método SPME-GC/MS, que provou ser um método sensível e reprodutível, que foi desenvolvido na primeira parte deste trabalho. Os experimentos foram racionalmente planejados aplicando um planejamento fatorial  $2^3$  para avaliar a influência de cada variável: pH, radiação UV e a concentração de NaClO. Superfícies de resposta (taxa de degradação em função do pH e  $UV_{tempo}$ ) também foram elaborados para a construção de matrizes Dohelert. Como uma tendência geral, estes dados indicaram que a degradação dos praguicidas foi favorecida pelo maior tempo de exposição à radiação UV.

A degradação total de dois agrotóxicos protótipos organoclorados e organofosforados (endosulfan sulfato e dissulfoton, respectivamente), nas condições normalmente empregadas nas estações de tratamento de água também foi realizada. Não foram determinados os produtos de degradação, pois o objetivo foi verificar a degradação destes compostos e não produtos que foram transformados. Os resultados revelaram que o agrotóxico organoclorado, foi mais persistente do que o agrotóxico organofosforado. O presente estudo também demonstrou que a degradação de alguns dos agrotóxicos em águas naturais, especialmente quando submetidos à redução de pH e expostos à radiação solar, pode ser fortemente reforçada.

#### 4.5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - Rand, G.M.; Petrocelli, S. R. **(1985)**. Fundamentals of Aquatic Toxicology Methods and Application, Hemisphere Publishing Co: Washington.
- 2 - Miltner, R. J.; Baker, D. B.; Speth, T. F.; Fronk, C. A. **(1989)**. Treatment of Seasonal pesticides in surface waters. *Journal of American Water Works Association*, 81, 43-52.
- 3 - Lunak, S.; Sedlak, P. **(1992)**. Photoinitiated reactions of hydrogen peroxide in the liquid phase, *Journal of Photochemistry and Photobiology, A: Chemistry*, 68, 1-33.
- 4 - Rosenfeldt, E. J.; Linden, K. G. **(2007)**. The ROH-UV concept you characterize the model  $UV/H_2O_2$  process in natural waters. *Environmental Science & Technology*, 41, (7), 2548-2553.

- 5 - Pelizzetti, E. **(1995)**. Concluding Remarks on heterogeneous solar Photocatalysis. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 38, 453-457.
- 6 - Bahnemann, D.; Cunningham, J.; Fox, M. A.; Pellizzetti, E.; Pichat, P.; Serpone, N. **(1998)**. Aquatic and surface photochemistry, *Journal of Photochemistry Photobiological*, 114, 219-221.
- 7 - Baxter, R.M.; Carey, J. H. **(1983)**. Evidence for photochemical generation of superoxide ion in humil waters. *Nature*. 306, 575-578.
- 8 - Legrini, O.; Oliveros, E.; Braun, A. M. **(1993)**. Photochemical processes for water treatment. *Chemical Reviews* (Washington, DC, United States), 93, 671-698.
- 9 - Chiron, S.; Fernandez-Alba, A. R.; Rodriguez, A. **(1997)**. Pesticide Chemical oxidation processes: an analytical approach. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 16, (9), 518-527.
- 10 - Fernandez-Alvarez, M.; Llompart, M.; Lores, M.; Garcia-Jares, C.; Cela, R.; Dagnac, T. **(2008)**. The Photochemical behaviour of Five household pyrethroid insecticides and a synergist as studied by photo solid phase microextraction. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388, 1235-1247.
- 11 - Liao, C. H.; Gurol, M. D. **(1995)**. Chemical oxidation by photolytic decomposition of hydrogen peroxide, *Environmental Science & Technology*, 29, 3007-3014.
- 12 - Ince, N.H.; Gonenc, D. T. **(1997)**. Treatability of a textile azo dye by UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Environmental Technology*, 18, 179-185.
- 13 - Gratzel, C. K.; Jirousek, M.; Gratzel, M. **(1990)**. Decomposition of organophosphorus compounds on photoactivated TiO<sub>2</sub> Surfaces. *Journal of Molecular Catalysis*, 60, 375-387.
- 14 - Doong, R., Chang, W. **(1997)**. Photoassisted titaniumdioxide mediated degradation of organophosphorus pesticides by hydrogen peroxide. *Journal of Photochemistry and Phtobiology A. Chemistry*, 107, 239-244.
- 15 - Saien, J.; Khezrianjoo, S. **(2008)**. Degradation of the fungicide carbezin in aqueous solutions with UV/TiO<sub>2</sub> process optimization, Kinetics and toxicity studies. *Journal of Hazardous Materials*, 157, 269-276.
- 16 - Tago, K.; Yonezawa, S.; Ohkouchi, T.; Hashimoto, M.; Hayatsu, M. **(2006)**. Purification and characterization of fenitrothion hydrolase from Burkholderia sp. NF 100. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(1), 80-82.

- 17 - Liu, Y. H.; Liu, Y.; Chen, Z. S.; Lian, J.; Huang, X.; Chung, Y. C. **(2004)**. Purification and characterization of a novel organophosphorus pesticide hydrolase from *Penicillium lilacinum* BP 303. *Enzyme and Microbial Technology*, 34, 297-303.
- 18 - Kerzhentsev, M.; Guilhard, C.; Hermann, J. M.; Pichat, P. **(1996)**. Photocatalytic pollutant removal in water at room temperature: case study of the total degradation of the insecticide fenitrothion (phosphorothioic acid O,O-dimethyl-O- (3-methyl-4-nitrophenyl) ester). *Catalysis Today*, 27, 215.
- 19 - Musumeci, M. R.; Cardoso, E. J. B. N.; Tsai, S. M.; Snows, M. C. P. **(1996)**. Agricultural defensives and its interaction with microbiota of the ground. *Brazilian Society. Science Ground*, 341-360.
- 20 - Malato, S.; Blanco, J.; Richter, C.; Milow, B.; Maldonado, M. I. **(1999)**. Solar photocatalytic mineralization of commercial pesticides: Methamidophos, *Chemosphere*, 38, 1145.
- 21 - Zeng, J.; Yu, B.; Chen, W.; Lin, Z.; Zhang, L.; Chen, X.; Wang, X. **(2008)**. Application of ceramic/carbon composite the novel a coating will be solid-phase microextraction, *Journal of Chromatography B*, 1188, 26-33.
- 22 - Duirk, S.E.; Collete, T.W. **(2006)**. Degradation of chlorpyrifos in aqueous chlorine solutions: pathways, Kinetics, and modeling, *Environmental Science & Technology*, 40, 546-551.
- 23 - Yu, B.; Zeng, J.; Cong, L. **(2007)**. Investigation of the photocatalytic, degradation of organochlorine pesticides on nano-Uncle<sub>2</sub> coated film, *Talanta*. 72, 1667-1674.
- 24 - Wu, J.; Laird, D. A. **(2003)**. Abiotic transformation of chlorpirifos you the chlorpiriphos oxon in chlorinated to water. *Environmental Toxicology Chemistry*, 22, 261-264.
- 25 - Oancea, P.; Oncescu, T. **(2008)**. The Photocatalytic degradation of dichlorvos under solar irradiations. *Journal of Photochemistry and Photobiology, A: Chemistry*, 199, 8-13.
- 26 - Martin, M. M. B.; Perez, S. J. A.; Sanchez, J. L. G.; Hollow, L. M.; López, J. L. C.; Oller, I.; Rodríguez, S. M.; Oca, L. M. **(2008)**. Degradation of alachlor and pyrimethanil by combined photo-Fenton and biological oxidation. *Journal Hazardous. Materials*, 155, 342-349.
- 27 – <http://www.copasa.com.br/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=98>. Arquivo acessado em 26 de Junho de 2011.

- 28 – Silva, F. C.; Cardeal, Z. L. **(2002)**. Desenvolvimento de Métodos para Análises de Agrotóxicos organofosforados e organoclorados em águas e solos utilizando as técnicas de extração MEFS, EFS e análises por CG/DIC e GC-DSM. Tese de Doutorado.
- 29 – Capobiango, H.L.V.; Cardeal, Z.L. **(2005)**. A Slide-Phase Microextraction Method for the Chromatographic Determination of Organophosphorus Pesticides in Fish, Water, Potatoes, Guava and Coffee. *Journal of Brazilian Chemistry Society*, 16, 907-9014.
- 30 - Arthur, C. L.; Killam, L. M.; Buchholz, K. D.; Berg, J. R.; Pawliszyn, J. **(1992)**. Automation and optimization of solid-phase microextraction. *Analytical Chemistry*, 64, 1960-1962.
- 31 - Pawliszyn, J. **(1997)**. Solid Phase Microextraction: Theory and Practice; Wiley-VHC; New York, NY, p. 3; 4. Shirey, R. E.; Mani, V.; Pittcon Conference; Atlanta, GA.
- 32 - Acero, J. L.; Benitez, F.J.; Real, F. J.; Gonzalez, M. **(2008)**. Chlorination of organophosphorus pesticides in natural Waters. *Journal of Hazardous. Materials*. 153, 320-328.
- 33 - Bali, U., Catalkaya, E. C., & Senguel, F. **(2003)**. Photochemical degradation and mineralization of phenol; a comparative study. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, A,38(10), 2259–2275.

## ***CAPÍTULO 5***

# **“MONITORAMENTO DA DEGRADAÇÃO DO AGROTÓXICO ORGANOFOSFORADO DIAZINON POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM IONIZAÇÃO *ELECTROSPRAY*”**

## 5.1 – INTRODUÇÃO

### 5.1.1 - MONITORAMENTO DE PROCESSOS DE DEGRADAÇÃO: ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM IONIZAÇÃO ELECTROSPRAY (ESI-MS)

Atualmente, a população está exposta a uma série de agrotóxicos, os quais estão presentes, principalmente, em águas e alimentos. Por isso é importante se determinar a concentração de tais substâncias e seus metabólitos em amostras ambientais, por métodos analíticos viáveis [1]. Estes métodos incluem, frequentemente, cromatografia gasosa e cromatografia líquida com detectores de captura de elétrons (ECD), nitrogênio e fósforo (NPD), ultravioleta (UV) e espectrometria de massas (MS).

Como uma alternativa a estas técnicas tradicionais, a espectrometria de massas com ionização *electrospray* (ESI-MS) tem mostrado ser uma técnica suficientemente rápida e eficiente no acompanhamento direto de processos ambientais relevantes [2-13]. Nestas investigações, as informações sobre a razão massa carga ( $m/z$ ) de espécies iônicas e os respectivos padrões de fragmentação são cuidadosamente avaliados com o objetivo de se propor estruturas químicas para as substâncias presentes na fase condensada [14-16]. Assim sendo, vários estudos têm sido realizados visando identificar os produtos formados durante os processos de degradação de praguicidas. [17-20].

### 5.1.2 - OZONIZAÇÃO

A ozonização da água para tratamento, com ou sem radiação UV, tem sido extensivamente relatada na literatura [21]. O ozônio, a forma triatômica do oxigênio, é um gás incolor de odor pungente. Além disso, é um agente oxidante poderoso ( $E^{\circ} = 2,08 \text{ v}$ ) quando comparado a outros agentes oxidantes conhecidos, como por exemplo,  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $E^{\circ} = 1,78 \text{ V}$ ), permitindo que esta espécie reaja com uma numerosa

classe de compostos [22]. Em fase aquosa, o ozônio se decompõe rapidamente a oxigênio e espécies radicalares. Dessa forma, quando um composto tratado com ozônio é lançado no meio ambiente, não haverá resíduos de oxidante que possa ser danoso à biota aquática.

A oxidação de poluentes por ozônio pode ocorrer de maneira direta ou indireta [22]. Na oxidação direta, a molécula de ozônio pode reagir diretamente com outras moléculas orgânicas ou inorgânicas via adição eletrofílica [23]. O ataque eletrofílico do ozônio pode acontecer sobre átomos com uma densidade de carga negativa (N, P, O ou carbonos nucleofílicos) ou a ligações duplas e triplas do tipo carbono-carbono, carbono-nitrogênio e nitrogênio-nitrogênio.

Indiretamente, o ozônio pode reagir por reação radicalar, principalmente pelo radical hidroxila, que é gerado pela sua decomposição [23]. O radical hidroxila é um oxidante poderoso e não seletivo, que pode reagir através de três mecanismos distintos: I) abstração de hidrogênio, II) transferência de elétrons ou III) adição radicalar [22]. Os radicais formados durante estas reações podem novamente reagir com o ozônio ou outros compostos.

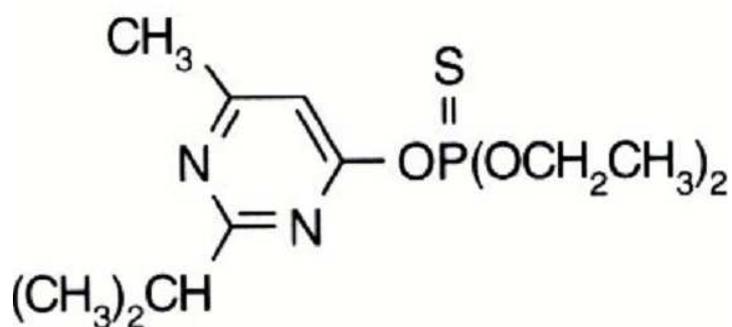
### **5.1.3 - DEGRADAÇÃO DE AGROTÓXICOS PROMOVIDA POR RADIAÇÃO UV E HIPOCLORITO**

A degradação fotoquímica de agrotóxicos usualmente requer uma fonte de luz artificial [24] (geralmente lâmpada de mercúrio de alta pressão ou lâmpada de xenônio de arco) ou a luz solar natural [25]. A maioria destes métodos requer longos períodos de tratamento e raramente promove uma completa degradação da molécula alvo. As reações mais comuns observadas quando um contaminante é irradiado com radiação UV são de cloração, onde ocorre a substituição de átomos de cloro por grupos hidroxila, e formação de espécies radicalares [26]. Por outro lado, o hipoclorito reage principalmente com sistemas aromáticos ativados, aminas neutras e duplas ligações, levando à formação de compostos orgânicos halogenados (especialmente trialometanos), alguns dos quais com uma atividade potencialmente cancerígena. Deve-se ressaltar que poucos estudos tem focado a degradação de

agrotóxicos organofosforados por hipoclorito. Dentre estes, destaca-se os estudo conduzidos com o pesticida clorpirifós [27-29], os quais relataram que clorpirifós oxigenado é o subproduto da degradação. Da mesma forma foi verificado que o agrotóxicos diazinon é oxidado pelo hipoclorito gerando oxon diazinon [30]. A influência do pH também foi investigada; para tanto, o tratamento do clorpirifós e diazinon com hipoclorito foi realizado em valores de pH neutro ou básico [31,32], e em ambos os meios foram encontrados o produto de degradação do diazinon (oxon diazinon).

## 5.2 – OBJETIVOS DO CAPÍTULO

Neste capítulo, a espectrometria de massas com ionização *electrospray* (ESI-MS) foi usada para monitorar a degradação do Diazinon (Figura 5.1) em solução aquosa por hipoclorito de sódio, ozônio e radiação ultravioleta. A ozonização foi investigada simulando uma degradação natural nos pH 5,0; 7,0 e 8,0, procurando observar o comportamento do diazinon em pH ácido e básico. Por outro lado, o hipoclorito, o reagente mais comumente empregado para desinfecção foi utilizado como agente oxidante, para simular as condições utilizadas nas estações de tratamento de água [33,34].



**Figura 5.1** – Estrutura do diazinon (MM = 304 g/mol).

### 5.3 – PARTE EXPERIMENTAL

#### 5.3.1 - REAGENTES

O padrão diazinon (grau de pureza: 98,1 %) foi adquirido da Supelco (Bellefonte, EUA). Uma solução estoque de  $200,0 \text{ mgL}^{-1}$  foi preparada em etanol grau cromatográfico (99,9 % de pureza, Merck, Alemanha). Soluções trabalho de  $10,0 \text{ mgL}^{-1}$  foram preparadas por diluição da solução estoque com água ultra pura Milli-Q (Milford, São Paulo, Brasil). As soluções trabalho tiveram os respectivos pH ajustados com ácido sulfúrico  $1,0 \text{ molL}^{-1}$  ou hidróxido de sódio  $0,5 \text{ molL}^{-1}$  (ambos da Synth, São Paulo, Brasil). Como fonte de hipoclorito de sódio ( $\text{NaClO}$ ), utilizou-se o produto comercial “Água Sanitária” da marca Santa Clara, com cloro ativo entre 2,0 e 2,5 % p/p. Para as reações de ozonização foi utilizado um gerador de ozônio.

#### 5.3.2 - PROCEDIMENTO DE DEGRADAÇÃO: RADIAÇÃO UV E HIPOCLORITO

A câmara de UV foi construída utilizando uma caixa de madeira de dimensões 60 cm x 50 cm x 45 cm, a qual foi forrada com papel alumínio. Fixou-se uma lâmpada (Philips TUV G5T8, com um  $\lambda_{\text{max}}$  de 254 nm e 15 W de potência) na parte superior interna da caixa. Num experimento típico,  $100,0 \mu\text{L}$  de hipoclorito de sódio ( $500,0 \mu\text{gL}^{-1}$ ) foram transferidos para um becker contendo 50,0 mL de uma solução de diazinon  $10,0 \text{ mgL}^{-1}$ . O pH da solução foi ajustado para 5, 7 e 8, e os recipientes levados para a câmara de UV. Alíquotas de  $500,0 \mu\text{L}$  foram coletadas após intervalos de tempo de 0, 30 minutos até 6 horas de exposição à radiação UV e transferidas para recipientes *ependorf* de plástico, os quais foram levados para o congelador até o momento da análise. No momento exato da análise, adicionou-se  $500,0 \mu\text{L}$  de etanol, para facilitar o processo de ionização e dessolvatação do composto e agitou-se em vórtex por 30 segundos. A solução resultante foi inserida diretamente na fonte do espectrômetro de massas por meio de uma microseringa (veja mais detalhes logo a seguir).

### 5.3.3 – PROCEDIMENTO DE DEGRADAÇÃO: OZONIZAÇÃO

Para a reação com ozônio foram preparadas soluções de diazinon  $10,0 \text{ mgL}^{-1}$  em água ultra pura (Milli-Q), as quais foram colocadas em bequer de  $80,0 \text{ mL}$  e tiveram seus valores de pH ajustados para 5, 7 ou 8. Havia uma amostra controle sem a presença do hipoclorito e com pH ajustado e outra amostra contendo o hipoclorito ( $500 \text{ } \mu\text{gL}^{-1}$ ), com pH ajustado. Cada bequer foi borbulhado ao fluxo de ozônio de  $1,73 \times 10^{-8} \text{ molmin}^{-1}$  sob agitação constante. A produção de ozônio foi realizada por um fluxo contínuo de ar sintético (pureza 99,999 %) pelo ozonizador (Eletrozon). O experimento foi realizado à temperatura ambiente ( $25 \pm 10 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Alíquotas de  $500,0 \text{ } \mu\text{L}$  foram coletadas (em recipientes *ependorf*) após 0, 30 minutos até 6 horas de reação com o ozonizador. Os recipientes contendo as alíquotas foram levados a um *freezer* e congelados até o momento da análise. No momento exato da análise, adicionou-se  $500,0 \text{ } \mu\text{L}$  de etanol e agitou-se em vórtex por 30 segundos. A solução resultante foi inserida diretamente na fonte do espectrômetro de massas por meio de uma seringa Hamilton de  $10 \text{ mL}$ .

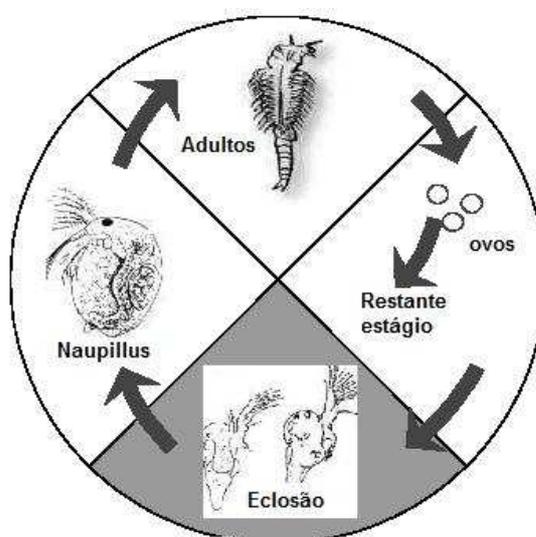
### 5.3.4 – ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM IONIZAÇÃO ELECTROSPRAY

Os estudos foram conduzidos num espectrômetro de massas contendo uma fonte de ionização *electrospray* e analisador do tipo *ion trap* (LCQFleet, ThermoElectron, San Jose, CA). As alíquotas de  $500,0 \text{ } \mu\text{L}$  de amostra mais  $500,0 \text{ } \mu\text{L}$  de etanol foram diretamente infundidas na fonte do ESI com uma microseringa em um fluxo de  $10,0 \text{ } \mu\text{Lmin}^{-1}$ . As condições da fonte ESI foram as seguintes: temperatura do capilar  $275 \text{ }^\circ\text{C}$ ; vazão de gás ( $\text{N}_2$ )  $8 \text{ L/min}$ ; voltagem do capilar  $36 \text{ V}$ , voltagem do cone  $5 \text{ kV}$ . Todos os espectros de massas (MS) foram adquiridos no modo positivo e utilizando varredura completa numa faixa de  $50\text{-}500 \text{ m/z}$ . Nos experimentos MS/MS, os íons foram isolados e fragmentados por dissociação induzida por colisão (CID) com o gás hélio. A energia de colisão (relativa) foi otimizada para cada íon, variando de  $15$  a  $50 \text{ eV}$ . Os dados gerados foram analisados usando o software X-calibur, presente no próprio equipamento.

### 5.3.5 – ENSAIOS DE ECOTOXICIDADE

Para avaliar a toxicidade do diazinon e de seus produtos de degradação, foram realizados testes de ecotoxicidade com *Artemia salina*. São pequenos crustáceos, com tamanhos e colorações variadas dependendo do tipo de alimento consumido. Vivem em regiões de água salgada concentrada (salinas), no qual poucas espécies desenvolvem-se, de forma que há poucos predadores. São espécies ricas em proteínas, vitaminas (principalmente A e caroteno) e sais minerais, constituindo um dos melhores alimentos vivos que se pode fornecer aos peixes. Atingem a fase adulta por volta dos 20 dias de vida. São muito utilizados em experimentos de toxicidade devido ao fácil manuseio e baixo custo. A montagem dos testes seguiu o procedimento descrito por McLaughlin, Saizarbitoria-Colman e Anderson [34].

Preparou-se um meio de cultura para os ovos da *Artemia salina*, dissolvendo-se 38 gramas de sal marinho em um litro de água. Esta solução foi filtrada e colocada em um pequeno tanque semi-aberto (utilizou-se uma tigela de vidro, meio coberta). Os ovos dos crustáceos foram adicionados no lado do tanque coberto e um feixe de luz (de uma lâmpada incandescente com filamento de tungstênio, potência de 100 W) foi mantido sobre o lado oposto durante 24 horas para permitir a eclosão dos ovos (o ciclo de vida da *Artemia salina* é representado na Figura 5.2). Após a eclosão dos ovos as *Artemias* migravam em direção à luz.



**Figura 5.2** - Ciclo de vida das *Artemias salinas* [34].

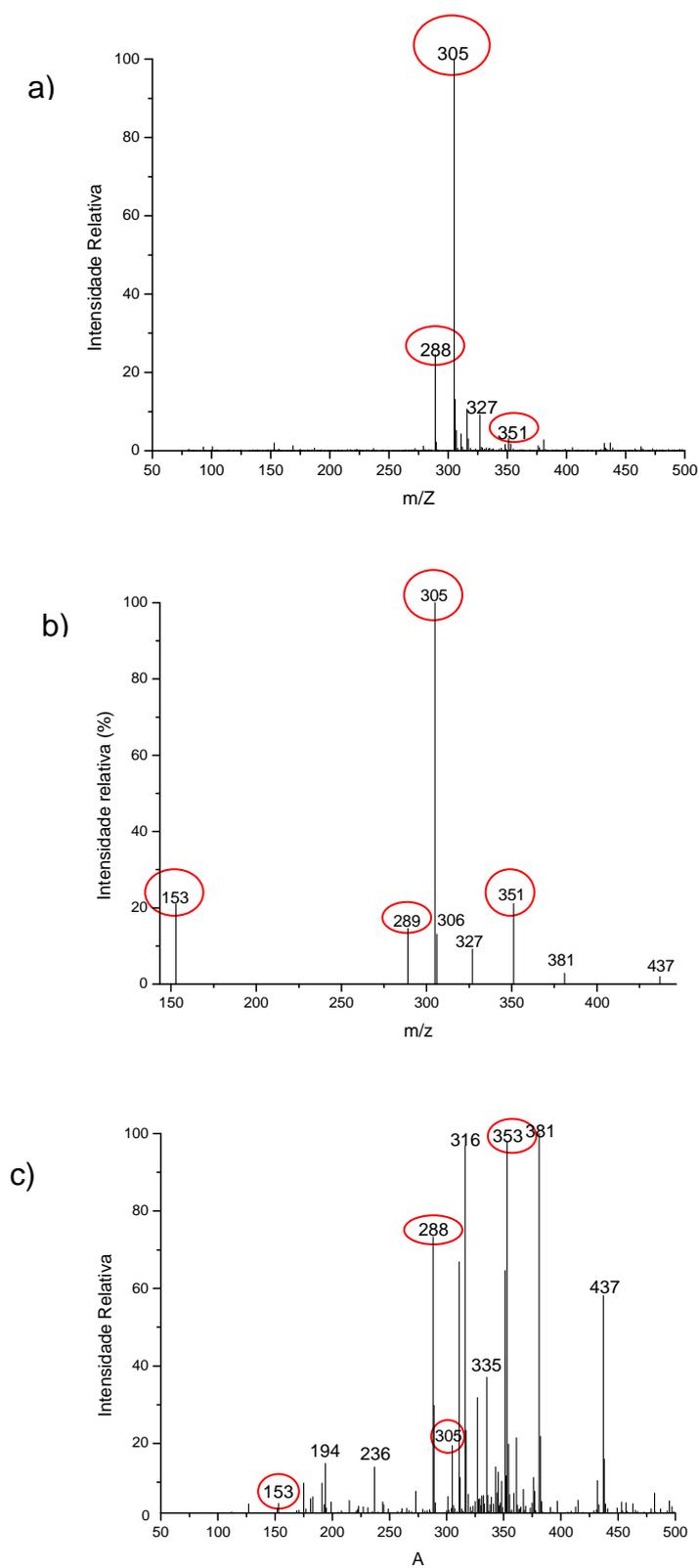
Foram realizados testes de toxicidade em soluções com concentrações de  $1,0 \text{ mgL}^{-1}$  do diazinon, após a exposição à radiação UV. Para este teste de toxicidade cinco becker distintos foram separados, aos quais foram adicionados (100,0 mL em cada bequer) de: (1) água, (2) solução salina, (3) solução de hipoclorito de sódio, (4), solução de diazinon; (5) solução de diazinon com hipoclorito de sódio, para verificar se os produtos de degradação tanto do diazinon, quanto do hipoclorito ou dos dois juntos seriam tóxicos a esta espécie. O pH em cada bequer foi ajustado para 5, pelo gotejamento de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $1,0 \text{ molL}^{-1}$ . Os recipientes foram expostos simultaneamente à radiação UV por até 24 horas. Foram coletadas aliquotas (5,0 mL), após 0, 3, 6, 12, 18 e 24 horas de exposição a radiação UV da câmara descrita no item 4.2.2, do capítulo anterior, e transferidas para frascos transparentes, os quais foram colocados num *freezer* até o momento do ensaio do teste de toxicidade. Finalmente, no momento de acrescentar as espécies, os frascos foram descongelados e em cada um deles foram colocadas dez *Artemias salinas*. Uma vez montado os experimentos, os frascos incubados com as *Artemias* foram deixados em repouso sob a luminosidade da lâmpada durante todo o período de contagem. O número de *Artemias* sobreviventes foi determinado após os seguintes tempos de permanência: 0, 6, 12, 18, 24 e 48 horas. Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

## 5.4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.4.1- MONITORAMENTO POR ESI(+)-MS: INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO UV

O uso da radiação ultravioleta para a degradação de substratos orgânicos teve início entre as décadas de 1960 e 1970. Essa metodologia tem sido eficientemente aplicada, com grande frequência, na descontaminação de águas naturais. No presente trabalho fez-se uso da técnica ESI-MS para monitorar a degradação do diazinon em meio aquoso (nos valores de pH 5,0; 7,0; e 8,0) promovida por hipoclorito de sódio, na presença de radiação UV.

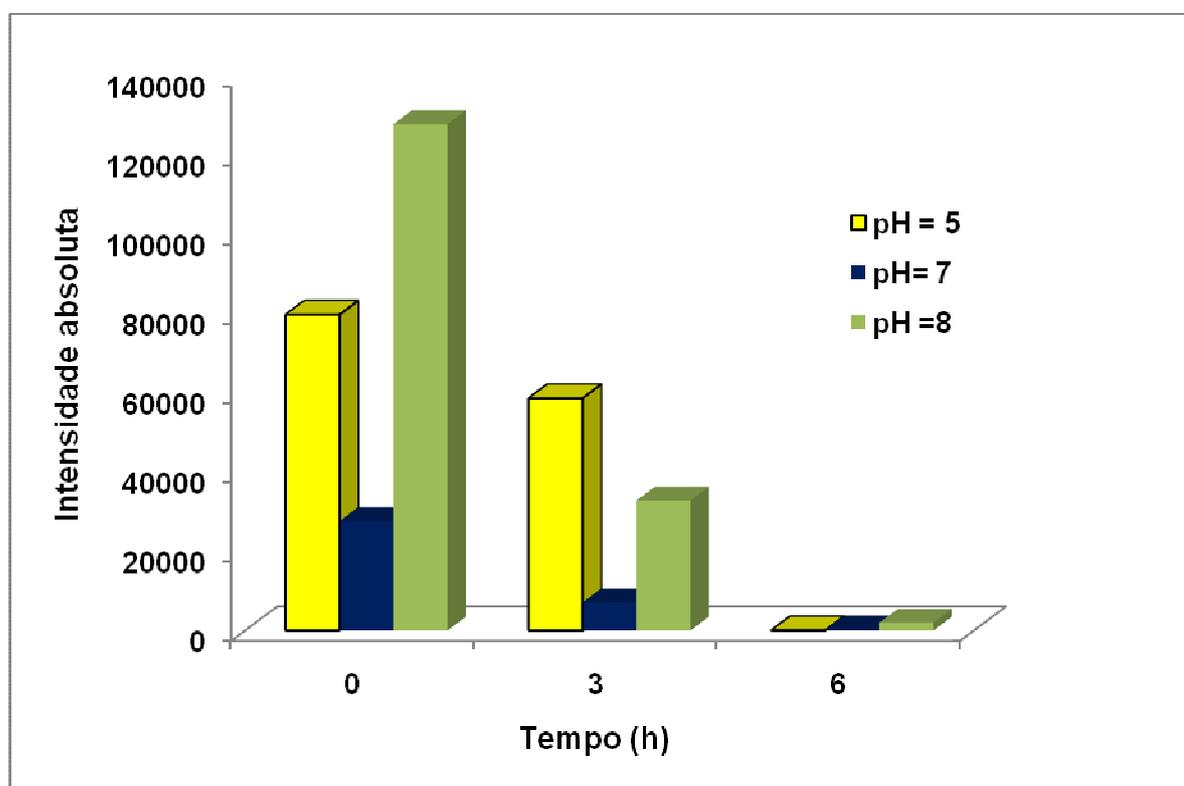
Deste modo, obteve-se os espectros de massas com ionização electrospray no modo positivo, ESI(+)-MS, da solução inicial de diazinon (sem adição de NaClO e em pH = 5) e de alíquotas retiradas de 0 minutos a 6 horas de exposição à radiação UV. Os resultados são mostrados na Figura 5.3. O ESI(+)-MS da solução inicial (Figura 5.3a) mostra a presença predominante de um íon de  $m/z$  305, referente ao diazinon na sua forma protonada. Após 30 minutos de exposição houve o aparecimento dos íons de  $m/z$  153, 289 e 351, indicando a formação de possíveis produtos de degradação (cujas estruturas serão propostas na seção 5.5.3), como mostrado na Figura 5.3 (b). E presença de alguns outros íons é possíveis produtos de degradação que não foram propostas suas estruturas. Após 6 horas de reação, tais íons (de  $m/z$  305, 153, 289 e 351) praticamente desapareceram, indicando o consumo tanto do diazinon quanto dos produtos de degradação. Neste último espectro de massas (Figura 5.3c) todos os íons estão presentes em intensidades absolutas muito baixas e se confundem com o ruído da linha base.



**Figura 5.3** - ESI(+)-MS da solução aquosa de diazinon em pH = 5 (a) e de alíquotas retiradas após 30 minutos (b) e 6 horas (c) de exposição à radiação UV.

Estudos similares foram conduzidos ajustando-se o pH da solução para 7 e 8. Os ESI(+)-MS obtidos (não mostrados) indicaram o consumo ininterrupto do diazinon após tempos sucessivos de exposição à radiação UV e o concomitante surgimento de outros íons, os mesmos observados em pH = 5.

Para melhor comparar tais resultados, foi construído um gráfico mostrando a variação da intensidade absoluta do íon de  $m/z$  305 (diazinon na sua forma protonada) em função do pH da solução (5, 7 e 8) e do tempo de exposição à radiação UV (0, 3 e 6 horas), Figura 5.4.



**Figura 5.4** - Gráfico mostrando a variação da intensidade absoluta do íon de  $m/z$  305 (diazinon na sua forma protonada) em função do pH da solução (5, 7 e 8) e do tempo de exposição à radiação UV (0, 3 e 6 horas).

Observando-se o gráfico pode-se concluir que a radiação UV foi eficiente em promover a degradação do diazinon. Note que após 6 horas de exposição, a totalidade do diazinon havia sido consumida nos três valores de pH avaliados. Num estudo similar descrito na literatura [35], Shankar e colaboradores verificaram a

influência do pH na degradação de agrotóxicos organofosforados em soluções aquosas expostas à radiação UV. Os melhores resultados, com taxas de degradação próximas a 100 %, foram obtidos para valores de pH próximos a 7,0. Embora tenha estudado os outros tempos de 1, 2, 3 4 e 5 horas, foi mostrado os resultados apenas de 0, 3 e 6 horas para facilitar a visualização e interpretação dos dados.

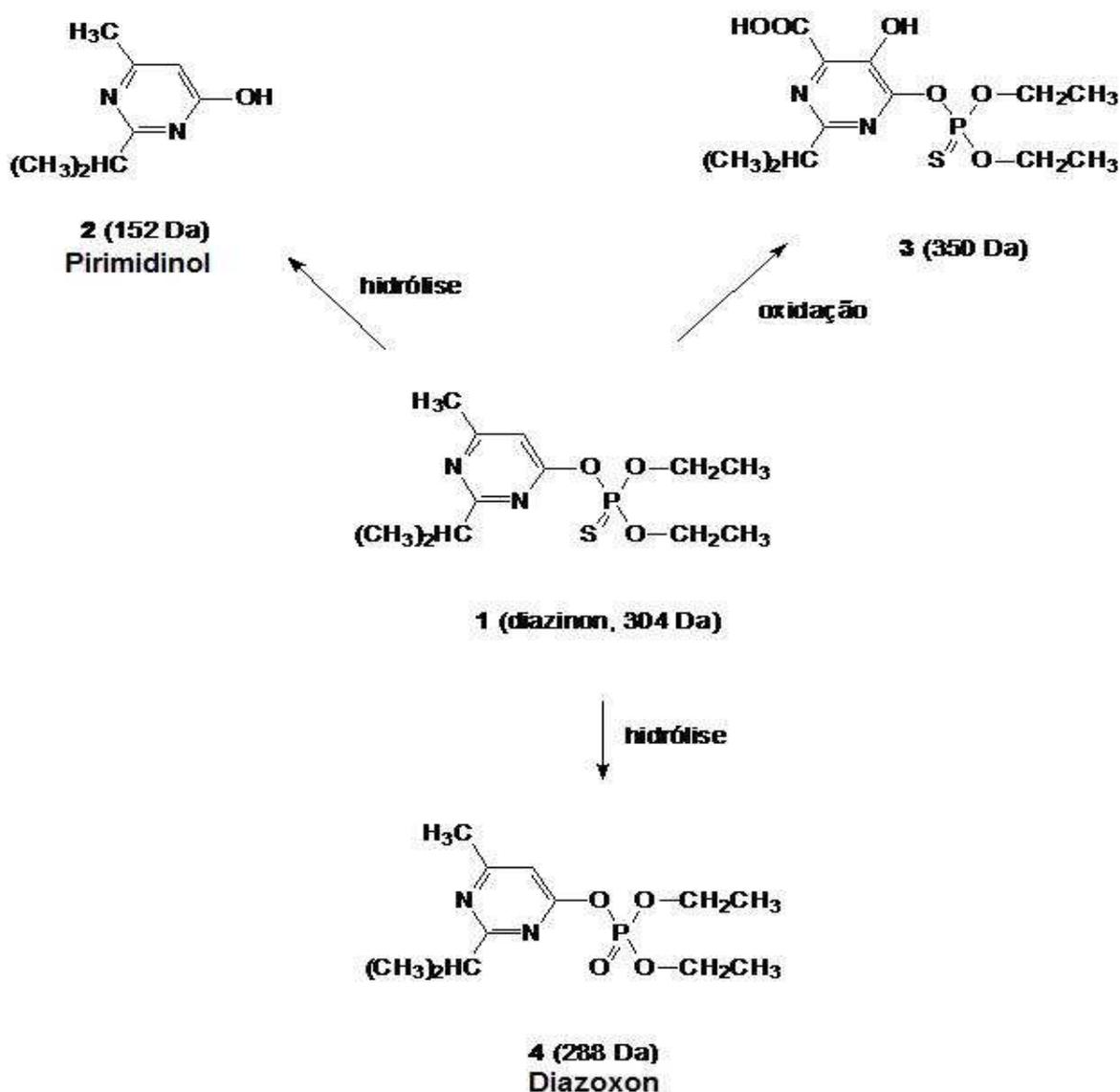
#### **5.4.2- MONITORAMENTO POR ESI(+)-MS: DEGRADAÇÃO DO DIAZINON EM MEIO AQUOSO PROMOVIDA POR OZÔNIO E HIPOCLORITO DE SÓDIO**

Dando sequência ao trabalho, estudos foram conduzidos para se verificar a eficiência da degradação do diazinon em meio aquoso induzida por dois sistemas distintos: I) NaClO; II) O<sub>3</sub>, procedimentos descritos nos itens 5.3.2 e 5.3.3, respectivamente. O consumo de diazinon foi verificado pela abundância absoluta do íon de *m/z* 305 (diazinon na sua forma protonada) nos respectivos ESI(+)-MS (não mostrados). Os ensaios foram conduzidos nos mesmos valores de pH avaliados anteriormente: 5, 7 e 8. Foi verificado que, em todos os valores de pH, os dois sistemas avaliados, NaClO e O<sub>3</sub>, tiveram performances insatisfatórias já que, após 6 horas de reação, a intensidade do íon de *m/z* 305 havia sido reduzida numa pequena extensão, aproximadamente 30 %. Somente o estudo com a radiação UV conseguiu reduzir a intensidade do íon *m/z* 305.

#### **5.4.3 – PROPOSTA PARA ROTA DE DEGRADAÇÃO**

Com base nos resultados dos ESI(+)-MS (Figura 5.4), e dos perfis de fragmentação dos íons de *m/z* 351, 289 e 153 (a ser discutido na seção 5.5.4), uma rota para a degradação do diazinon em meio aquoso, induzida pela radiação UV, foi proposta, como mostrado no Esquema 1. Por esta rota foi sugerido que o diazinon (1) sofreu hidrólise, com a quebra da ligação P-O, originando um produto (2) com massa nominal de 152 Da, o qual foi detectado na sua forma protonada como o íon

de  $m/z$  153. Num caminho alternativo, foi sugerido que a molécula de diazinon (1) poderia ser oxidada, pela conversão do grupo  $\text{CH}_3$  a  $\text{COOH}$  e inserção de um átomo de oxigênio no anel piridínico, gerando um produto (3) com massa nominal de 350 Da, detectado como  $[\mathbf{3} + \text{H}]^+$  de  $m/z$  351. Finalmente, a conversão do grupo  $\text{P}=\text{S}$  em  $\text{P}=\text{O}$  na molécula de diazinon, a partir de uma reação com água, foi utilizada para explicar a formação do produto 4 com massa nominal de 288 Da e detectado como  $[\mathbf{4} + \text{H}]^+$  de  $m/z$  289.



**Esquema 1-** Rota proposta para a degradação do diazinon em meio aquoso induzida por radiação UV.

Num experimento controle realizado, foi preparado uma solução aquosa de diazinon com hipoclorito de sódio em pH = 5, a qual não foi exposta à radiação UV, observou-se que a concentração do diazinon, mesmo com pH e hipoclorito de sódio permaneceu inalterada. Este resultado confirma, portanto, que a radiação UV é essencial para o processo de degradação. As estruturas propostas para os produtos de degradação confirmam a tendência do diazinon em sofrer hidrólise (principalmente no grupo fosfato) e oxidação. De fato, trabalhos similares na literatura têm descrito a obtenção de produtos de degradação de agrotóxicos organofosforados, via hidrólise [36-40] ou oxidação [41-44]. Deve-se ainda ressaltar que os produtos **2** (pirimidinol) e **4** (diazoxon) foram identificados (por análises de HPLC/MS) como dois dos principais produtos provenientes da degradação fotolítica do diazinon [45].

#### 5.4.4 - PERFIL DE FRAGMENTAÇÃO DOS PRINCIPAIS ÍONS

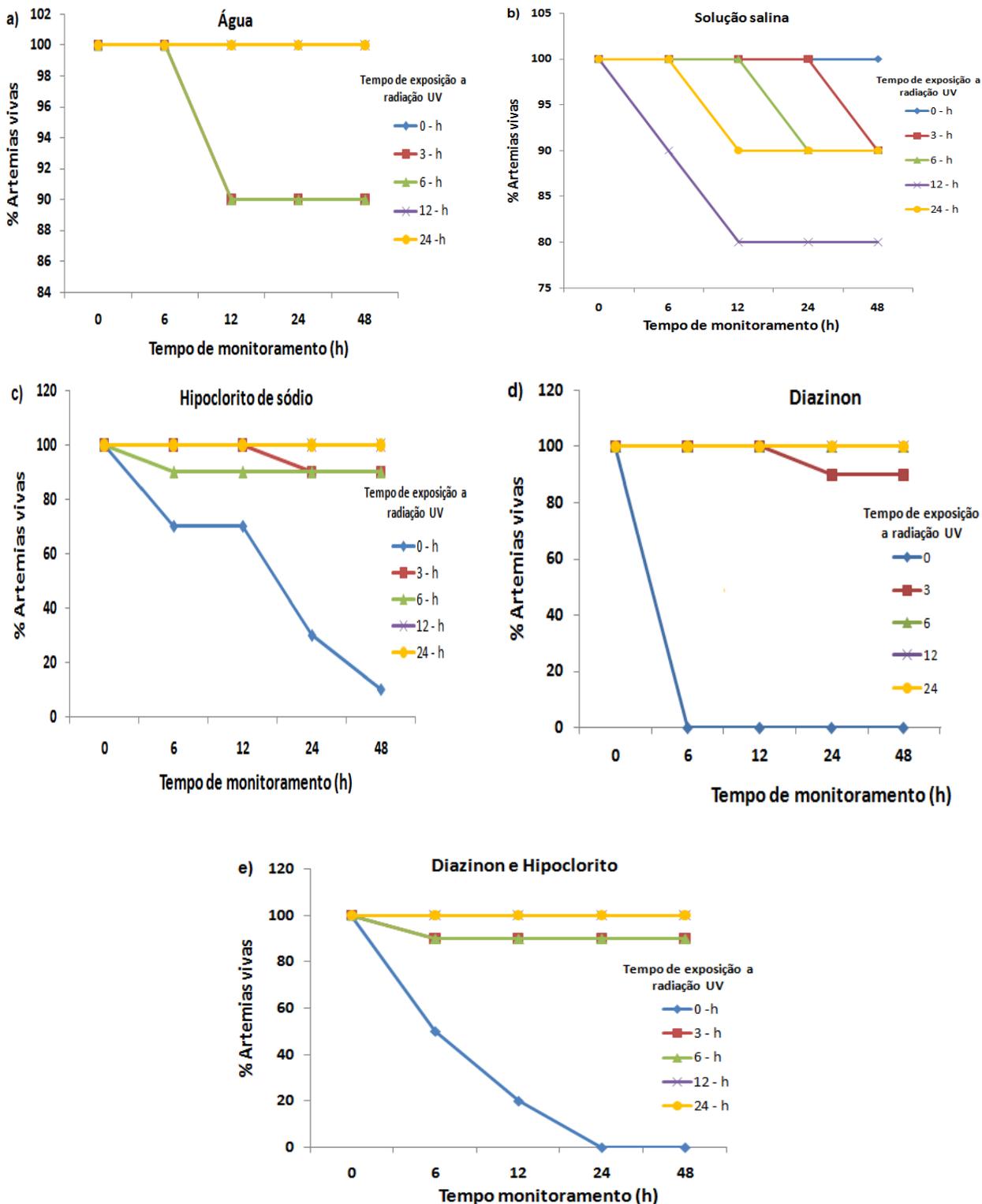
As estruturas dos produtos de degradação também foram propostas com base nos perfis de fragmentação dos íons precursores [**1** + H]<sup>+</sup>, [**2** + H]<sup>+</sup>, [**3** + H]<sup>+</sup> e [**4** + H]<sup>+</sup> e os resultados destas fragmentações estão apresentados na Tabela 1. Mais importante, note que as fragmentações observadas, normalmente por perda de moléculas como CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, são totalmente consistentes com as estruturas propostas para os produtos de degradação.

**Tabela 5.1:** Íons produtos formados a partir da fragmentação dos íons precursores [1 + H]<sup>+</sup>, [2 + H]<sup>+</sup>, [3 + H]<sup>+</sup> e [4 + H]<sup>+</sup>.

Íon precursor ( <i>m/z</i> )	Íons produto ( <i>m/z</i> , abundância relativa)
[1 + H] <sup>+</sup> (305)	[1 - CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH + H] <sup>+</sup> (259; 10 %) [1 - 2 CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> - O=P(=O)OH + H] <sup>+</sup> (169; 100 %), [1 - 2 CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> - S=P(=O)OH + H] <sup>+</sup> (153; 65 %)
[2 + H] <sup>+</sup> (153)	[2 - H <sub>2</sub> C=CH-CH <sub>3</sub> + H] <sup>+</sup> (111; 100 %)
[3 + H] <sup>+</sup> (351)	[3 - H <sub>2</sub> C=CH-CH <sub>3</sub> - CO <sub>2</sub> + H] <sup>+</sup> (265; 100 %), [3 - 2 CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> - S=P(=O)OH - H <sub>2</sub> O + H] <sup>+</sup> (181; 50 %)
[4 + H] <sup>+</sup> (289)	[4 - CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH + H] <sup>+</sup> (243; 20 %) [4 - 2 CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> - O=P(=O)OH + H] <sup>+</sup> (153; 100 %)

## 5.5. – TESTES DE TOXICIDADE COM ARTEMIAS SALINAS

Para se avaliar a toxicidade do diazinon e seus produtos de degradação, bio-ensaios com *artemia salina* foram realizados. Nestes experimentos foram preparadas cinco soluções (água, solução salina, hipoclorito de sódio, diazinon e diazinon mais hipoclorito de sódio) e o pH de cada uma delas ajustado para 5, conforme descrito no item 5.3.5. Cada uma destas soluções foi exposta à radiação UV por no máximo 24 horas. Alíquotas de cada uma destas soluções foram recolhidas após tempos de exposição à radiação UV de 0, 3, 6, 12, 18 e 24 horas. As *artemias* foram adicionadas a cada uma destas alíquotas e uma contagem foi realizada, visando determinar a porcentagem de indivíduos sobreviventes, após tempos de permanência de 0, 3, 6, 12, 24 e 48 horas. Os resultados estão descritos na Figura 5.5.



**Figura 5.5** - Testes de toxicidade frente às *artemias salinas*: (a) água; (b) solução salina; (c) solução contendo hipoclorito de sódio; (d) solução contendo diazinon; (e) solução contendo diazinon e hipoclorito de sódio. Os tempos de exposição 'a radiação UV são indicados ao lado dos gráficos.

Como esperado, a taxa de sobrevivência das *artemias* em água e solução salina Figuras 5.5 (a) e 5.5 (b), respectivamente, foi próxima a 100 %, mesmo após um tempo de permanência de 48 horas. A solução contendo apenas hipoclorito de sódio e não exposta à radiação UV, Figura 5.5 (c), apresentou elevada toxicidade às *artemias*; assim, após 48 horas de permanência, a taxa de *artemias* sobreviventes havia sido reduzida a aproximadamente 10 %. No entanto, tal solução, quando exposta à radiação UV por vários tempos (3, 6, 12, 18 e 24 horas), não mais apresentou toxicidade às *artemias*. Isto sugere, portanto, que a radiação UV promove a destruição do NaClO gerando, provavelmente, produtos com menor toxicidade.

A solução que continha apenas o diazinon (não exposta à radiação UV) apresentou elevada toxicidade às *artemias*; após 6 horas de permanência, 100 % dos indivíduos haviam sido eliminados, Figura 5.5 (d). No entanto, para as alíquotas expostas à radiação UV (por 3, 6, 12, 18 e 24 horas), houve uma redução drástica na toxicidade. Este é um resultado muito importante, pois demonstra que a radiação UV, além de promover a degradação do diazinon, leva à formação de produtos com baixa toxicidade, e, provavelmente, com menores riscos ambientais.

Finalmente, a última série de ensaios foi conduzida com uma solução contendo diazinon e hipoclorito de sódio, Figura 5.5 (e). Este experimento foi realizado numa tentativa de se mimetizar as condições usualmente encontradas nas estações de tratamento de águas. Esta solução, quando não exposta à radiação UV, também mostrou elevada toxicidade às *artemias*, com uma taxa de mortalidade de 100 % após 24 horas de permanência. Sob influência da radiação UV, no entanto, a toxicidade das alíquotas diminuiu drasticamente. Assim como no caso anterior, o presente resultado é relevante, pois demonstra que a radiação UV pode ser capaz de eliminar os efeitos deletérios causados ao meio ambiente pelo hipoclorito de sódio e diazinon (e, talvez, por outros agrotóxicos organofosforados).

## 5.6 - CONCLUSÕES

A técnica ESI-MS foi eficiente no monitoramento do processo de degradação fotocatalítica do diazinon em meio aquoso. Além disso, os resultados mostraram que tanto o hipoclorito de sódio quanto o ozônio apresentaram baixas eficiências na degradação deste pesticida. Com base nos dados de ESI-MS (e MS/MS) foi possível propor uma rota de degradação para o diazinon induzida pela radiação UV. Os testes de toxicidade frente às *artemias salinas* mostraram que a radiação UV foi capaz de diminuir drasticamente os efeitos deletérios tanto do hipoclorito de sódio quanto do diazinon. Este resultado sugere, portanto, que tal metodologia tem potencial para ser aplicada nas estações de tratamento de águas.

## 5.7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - Gonçalves, C.; Alpendurada, M. F. (2004). Solid-phase micro-extraction-gas chromatography-(tandem) mass spectrometry as a tool for pesticide residue analysis in water samples at high sensitivity and selectivity with confirmation capabilities. *Journal of Chromatography A*, 1026, p. 239-250.
- 2 - Rissato, R. S.; Libânio, M.; Giafferis, G. P.; Gerenutti, M. (2004). Determinação de pesticidas organoclorados em água de manancial água potável e solo da região de Bauru, São Paulo, *Química Nova*, 27(5), p. 739-743.
- 3 - Santos, F. J.; Galceran, M. T. (2002). The application of gás chromatography to environmental analysis, *Trends in Analytical Chemistry*, 21(9-10).
- 4 - Miége, C.; Dugay, J. (1998). Solid-phase microextraction and gás chromatography for rapid analysis of pesticides. *Analisis Magazine*, 26 (6).
- 5 - Xiaoqin, X.; Yang, H.; Wang, L.; Han, B.; Wang, X.; Lee, F. S.C. (2007). Analysis of chloroacetanilide herbicides in water samples by solid-phase microextraction coupled with gás chromatography-mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, 591, p. 87-96.

- 6 - Gonzales, E. B.; Grana, E. C.; Guimarães, A.; Gonçalves C.; Lorenzo, S. M.; Apendurada, M. F. **(2007)**. Optimisation and validation of a solid-phase microextraction method for simultaneous determination of different types of pesticides in water by gás chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1141, p. 165-173.
- 7 – Ratola, N.; Santos, L.; Herberte, P. Alves, A. **(2006)**. Uncertainty associated to the analysis of organochlorine pesticides in water by solid-phase microextraction/gás chromatography-electron capture detection-Evaluation, *Analytica Chimica Acta*, 574, 202-298.
- 8 Huang, Z.; Li, Y.; Chen, B.; Yao, S. **(2007)**. Simultaneous determination of 102 pesticide residues in Chinese teas by gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography B*, 853,154-162, 2007.
- 9 – Chen, S.; Shi, L.; Shan. Z.; Hu, Q. **(2007)**. Determination of organochlorine pesticide residues in rice and human and fish fat by simplified two-dimensional gas chromatography, *Food Chemistry*, 104, 1315-1319.
- 10–Shuling, S. M.; Xiaodong, L. Chogjiu. **(2007)**. Multi-residue determination method of pesticides in leek by gel permeation chromatography and solid phase extraction followed by gas chromatography with mass spectrometric detector, *Food Control*, 18, 448-453.
- 11 – Barrionuevo, W.R.; Lanças, F.M. **(2001)**. Microextração em Fase Sólida (SPE) e micro extração em fase sólida (SPME) de piretróides em água, *Química Nova*, 24, 2, 172-175.
- 12 – Henriksen, T.; Svensmark, B.; Lindhardt, B. **(2001)**. Analysis of acidic pesticides using in situ derivatization with alkylchloroformate and solid-phase microextraction (SPME) for GC–MS, *Chemosphere*, 44, 7, 1531-1539.
- 13 – Barros, N.B.; Scarmino, I.S.; Bruns, R.E.**(2006)**. 25 anos de Quimiometria no Brasil, *Química Nova*, 29, 6, 1401-1406.
- 14 – Boivin, A. R.; Cherrier, C.; Perrin-Ganier, M. S. **(2004)**. Time effect on bentazone sorption and degradation in soil. *Pesticide Management Science*. 60 (8), 809–814.

- 15 – Wauchope, R.D.; Yeh, S.; Linders, J. B. H.; Kloskowski, R.; Tanaka, K.; Katayama, A.; Kordel, W.; Gerstl, Z.; Lane, M.; Unsworth, J. (2001). Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses limitations and reliability. In: Poster presented at the IUPAC Congress/ General Assembly.
- 16 - Granã, E.C.; Carou, M.I.; Lorenzo, S.M. (2002). Online coupling of pressurized liquid extraction, solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography for automated analysis of proanthocyanidins in malt . *Journal of Chromatography A*, 958, 17-24.
- 17 – McLaughlin, R.A.; Johnson, B.S. (1997). Optimization recoveries of two chlorotriazine herbicide metabolites and 11 pesticides from aqueous samples using solid-phase extraction and gas-mass spectrometry, *Journal Chromatography A*, 790, 161-167.
- 18 – Aguilar, C.; Peñalver, A.; Pocrull, E., Ferré J.; Borrull, F.; Marcé, R.M. (1999). Optimization of solid-phase microextraction conditions using a response surface methodology to determine organochlorine pesticides in water by gas chromatography and electron-capture detection. *Journal of Chromatography A*, 844, 425-432.
- 19 – Blanco, L.M.C.; Rodríguez, B.R.; Grande, C.B.; Gándara, S.J. (2002). Optimization of solid-phase extraction and solid-phase microextraction for the determination of  $\alpha$ - and  $\beta$ -endosulfan in water by gas chromatography–electron-capture detection. *Journal of Chromatography A*, 976, 293-299, 2002.
- 20 – Fías, S. Rodríguez, M.A.; Conde, J.E.; Pérez-Trujillo, J.P. (2003). Optimisation of a solid-phase microextraction procedure for the determination of triazines in water with gas chromatography–mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography A*, 1007, 127-135.
- 21 – Lall, R.; Mutharasan, R.; Shah, Y.T.; Dhurjati, P. (2003). Decolorization of the dye, reactive Blue 19, using ozonation, ultrasound, and ultrasound enhanced ozonation. *Water Environmental Research*, 75, 2, 171-9
- 22 – Masten, S.T., Davies, S.H.R. (1994). The use of ozonation to degrade organic contaminants in waste-waters, *Environmental Science & Technological*, 28, 4, 181A-185A.
- 23 – Kuns, A.; Peralta, Z.; Moraes, S.G.; Duran, N. (2002). Novas tendências no Tratamento de Efluentes têxteis, *Química Nova*. 1, 25, 78-82.

- 24 - Wan, H. B.; Wong, M. K.; Mok, C. Y. **(1994)**. Comparative study on the quantum yields of direct photolysis of organophosphate pesticide in aqueous solution. *Journal of Agricultural in Food Chemistry*, 42 (11), 2625-2630.
- 25 - Machin, A.; Rogers, H.; Cross, A.; Quick, M.; Howells, L.; Janes, N. **(1975)**. Metabolic Aspects of the Toxicology of Diazinon I. Hepatic Metabolism in the Sheep, Cow, Pig, Guinea-Pig, Rat, Turkey, Chicken, and Duck. *Pesticide Science*, 6, 461-473.
- 26 - Zafiriou, O. C.; Jousset-dubien, J.; Zeep, R. G.; Zika, R. G. **(1994)**. Kinetics of Photodegradation of 2,3,4,7,8-Pentachlorodi-benzofuran in natural water. *Environmental Science & Technology*, 18, 358-362A.
- 27 - Wu, J.; Laird, D. A. **(2003)**. Abiotic transformation of chlorpyrifos to chlorpyrifos oxon in chlorinated water. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22, 261-264.
- 28 - Duirk, S. E.; Collete, T. W. **(2006)**. Degradation of chlorpyrifos in aqueous chlorine solutions: pathways, kinetics, and modeling, *Environmental Science & Technology*, 40, 546-551.
- 29 - Zhang, Q.; Pehkonen, S. O. **(1999)**. Oxidation of diazinon by aqueous chlorine: kinetics, mechanisms and products studies. *Journal of Agricultural in Food Chemistry*, 47, 1760-1766.
- 30 - Bull, R. J., Birnbaum, L. S., Cantor, K. P., Rose, J. B., Butterworth, B. E., Pegram, R., Tuomisto, J. **(1995)**. Water chlorination: essential process or cancer hazardous, fundam. *Journal of Applied Toxicology*, 28, 155-166.
- 31 - Singer, P. C., Reckhow, D. A., Letterman, R. D. **(1999)**. Chemical oxidation. *Water Quality and Treatment*, McGraw-Hill Inc., New York.
- 32 - Garcia, N. A.; Amat-Guerri, F. **(2005)** Photodegradation of hydroxylated *N*-heteroaromatic derivatives in natural-like aquatic environments: A review of kinetic data of pesticide model compounds, *Chemosphere*, 59, 8, 1067-1082.
- 33 - USEPA, United States Environmental Protection Agency. **(2004)**. Unregulated Contaminant Monitoring Regulation Analytical Methods and Quality Control Manual. EPA.
- 34 - McLaughlin, J.; Colman-Saizarbitoria, T.; Anderson, J. E. **(1995)**. Tres bioensayos simples para químicos de productos naturales. *Revista Sociedad Venezolana de Química*, 18, (1), 14-5.

- 35 - Banoub, J.; Gentil, E.; Kiceniuk, J. **(1995)**. Analysis of organophosphorus pesticide residues by low energy tandem mass spectrometry using *electrospray* ionization. *Int. Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 61, 143.
- 36 - Thomas, O.; Khorassani, H. E.; Touraud, E.; Bitar, H. (1999). TOC versus UV spectrophotometry for wastewater quality monitoring. *Talanta*, 50 (4), 743-749.
- 37 - Yang, R.; Hodgson, E.; Dauterman, W. (1971) Metabolism in Vitro of Diazinon and Diazoxon in Rat Liver. *Journal of Agricultural in Food Chemistry*, 19, 10–13.
- 38 - Machin, A.; Rogers, H.; Cross, A.; Quick, M.; Howells, L.; Janes, N. **(1975)**. Metabolic Aspects of the Toxicology of Diazinon I. Hepatic Metabolism in the Sheep, Cow, Pig, Guinea-Pig, Rat, Turkey, Chicken, and Duck. *Pesticide Science*, 6, 461–473.
- 39 - Miyazaki, H.; Tojinbara, I.; Watanabe, Y.; Osaka, T.; Okui, S. **(1970)**. Studies on Metabolism of Diazinon [O,O-Diethyl-O-(2-Isopro-pyl-4-Methyl-6-Pyrimidinyl)Phosphorothioate] in Animals and Plants. *Proceedings of the First Symposium on Drug Metabolism Action*; Chiba, Japan, pp 135–138.
- 40 - Shishido, T.; Fukami, J. **(1972)** Enzymatic Conjugation of Diazinon with Glutathione in Rat and American Cockroach. *Pesticide Biochemistry Physiology*, 2, 39–50.
- 41 – Araújo, P.W.; Brereton, R.G. **(1996)**. Experimental design II. Optimization. *Trends in Analytical Chemistry*, 15, 2.
- 42 - Sabik, H.; Jeannot, R.; Rondeau, B. **(2000)**. Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters. *Journal of Chromatography A*, 885, 217-236.
- 43 - EEC Drinking Water Guidelines **(1980)**. 80/779/EEC, EEC n°. L229/11-29, Brussels.
- 44 – Warren, N.; Allan, I.J.; Carter, J.E.; House, W.A.; Parker, A. **(2003)**. Pesticides and other micro-organic contaminants in freshwater sedimentary environments – a review, *Applied Geochemistry* 18, 159-194.
- 45 - Koulombous, V. N.; Tsiipi, D. F.; Hiskia, A. E.; Nikolic, D.; van Breeman, R. B. **(2003)**. Identification of photocatalytic degradation products in TiO<sub>2</sub> aqueous suspensions using GC/MS/MS and LC/MS with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Journal of American Chemistry Society Mass Spectrometry*, 14, 803.

## ***Capítulo 6***

***“Conclusão”***

**6.1 – CONCLUSÃO GERAL**

Nesta tese, os seguintes estudos foram realizados: (i) aplicação de um método SPME-GC/MS, para análise de resíduos de agrotóxicos em amostras de água coletadas nas Bacias do Rio São Francisco e Rio das Velhas; (ii) utilização da técnica SPME-GC/MS para se monitorar a degradação de alguns agrotóxicos, organoclorados, organofosforados e piretróides, submetidos às condições usuais utilizadas em estações de tratamento de água; e (iii) monitoramento da degradação do pesticida diazinon em meio aquoso utilizando a técnica de espectrometria de massas com ionização electrospray (ESI/MS).

A aplicação do método SPME-GC/MS para a análise das amostras coletadas, das Bacias dos Rios São Francisco e das Velhas, não levou à detecção de resíduos de nenhum dos agrotóxicos avaliados. Possíveis explicações para tal resultado devem-se, provavelmente, a problemas relacionados à coleta e armazenamento inadequados das amostras. Deste modo, não foi possível averiguar se a presença de tais substâncias nos corpos d'água destas duas bacias poderia estar vinculada a possíveis problemas ambientais ou estar causando impactos indesejáveis à saúde das populações ribeirinhas.

No segundo estudo, investigou-se a influência de alguns fatores (concentração de hipoclorito de sódio, pH da solução, e tempo de exposição à luz UV), os quais foram selecionados visando simular as condições usuais utilizadas nas estações de tratamento de água, na degradação de alguns agrotóxicos, das classes dos organoclorados, organofosforados e piretróides. Visando-se maximizar as taxas de degradação, fez-se uso de planejamentos fatoriais e superfícies de resposta. Observou-se que, dentre os três parâmetros investigados, o tempo de exposição à radiação UV foi o que apresentou a maior influência. Além disso, verificou-se que os agrotóxicos organoclorados foram os menos afetados indicando que os compostos desta classe são muito resistentes às condições empregadas nas estações de tratamento de água.

Finalmente, o monitoramento por ESI-MS da reação do diazinon com hipoclorito de sódio e ozônio em meio aquoso permitiu a elaboração de uma rota de degradação inédita para esta substância. Um resultado igualmente importante foi

verificado a partir de ensaios com artemias salinas: os produtos de degradação são menos tóxicos que o agrotóxico original.

Em suma, o conhecimento gerado pelos estudos aqui descritos pode, além de fornecer dados relevantes para as ciências ambientais, de águas destinadas ao consumo humano. Deve-se ressaltar, também, a importância de se utilizar técnicas analíticas versáteis, sensíveis e seletivas, como SPME-GC/MS e ESI-MS, para a obtenção de resultados confiáveis.

***Anexos***

***Anexo 1***

**“ARTIGO DE REVISÃO”**

## Studies of the Analysis of Pesticide Degradation in Environmental Samples

Amauri G. Souza<sup>1</sup>, Leiliane C.A. Amorim<sup>2</sup> and Zenilda L. Cardeal<sup>\*1</sup>

<sup>1</sup>Chemistry Department, ICEx, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil; <sup>2</sup>Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil

**Abstract:** This article presents an overview of the different analytical methods available for performing pesticide degradation studies in water and environmental samples by different processes. How long the pesticide remains in the environment depends on how strongly it is bounded by other components and how readily it is degraded. It is also depends on the environmental conditions at the time of application, pH, temperature, soil and water content. The degree of mineralization achieved under advanced oxidation processes (AOP), photo-Fenton reactions [FR], and ozonation processes, and the identity of by-products of a large number of compounds belonging to the major pesticide families pyrethroids, organochlorides and organophosphorus compounds are presented. Critical comments are aimed at emphasizing the lack of suitable analytical methods adequate to determine the kinetics of both the formation and disappearance of by-products and to identify their chemical structures. More specifically, the crucial role of gas chromatography and liquid chromatography in combination with mass spectrometry is described. In the following manuscript, an overview of the pesticide degradation phenomena is given, and an attempt is made to predict how factors and conditions influence the phenomena. SPME and GC/MS are sufficiently accurate methods to support the identification of pesticides in different degradation processes.

**Keywords:** Degradation process of pesticides, Methods of extraction, Water analysis, Environmental analysis.

### 1. INTRODUCTION

Pesticides are groups of artificially synthesized substances, toxic and non-biodegradable in the environment, that persists after application and are subject to some chemical processes of degradation, hydrolysis, oxidation, and photolysis by the ecosystem [1, 2]. According to Law 7802 of 11 July 1989, pesticides and similar substances are defined as those products and agents of physical, chemical or biological processes intended for use in the production, storage and processing of agricultural products, in pastures, in the protection of native or implanted forests and other ecosystems, and also in urban, aqueous and industrial environments, whose purpose is to change the composition of the flora or fauna, to preserve them from the harmful action of living organisms considered to be harmful [3]. This group of substances can be classified according to the purpose for which they are intended, the mode or period of action, or the chemical function such as: insecticide (insects), fungicide (fungi), rodenticide (rodents), molluscicide (snails), defoliant (leaf harvesting), dissecting (foliage). They are extensively used as insecticides, herbicides and nematocides, and they are included in the classes of organochlorides, organophosphates, and pyrethroids [4]. More than 500 different formulations of pesticides have been used in the environment, largely in agricultural activities, for many decades [5]. Pesticides are widely studied as environmental contaminants because of their extensive use in the control of pests affecting agricultural crops, homes, and gardens. Because of their chemical char-

acteristics, they represent a type of pollutant that shows variable persistence and biochemical and photochemical degradation [4].

Some studies show that, of the total quantity of pesticides used in agriculture, less than 1% reaches its target. The remainder contaminates soil and other environmental compartments, air, and surface and groundwater. The fact that they are not biodegradable, together with their continued use, makes them a significant problem and a critical issue, with potentially damaging and unforeseen consequences for the future [5-7]. In 1995, US \$1.6 million in actual pesticides were sold in Brazil. That amount increased to \$2.5 million in 2007 [9]. The use of pesticides in the world has increased five fold in the last 30 years [10]. According to the World Health Organization (WHO), approximately three million people are intoxicated each year as a result of the use of pesticides. In addition to the toxicity to human health, the presence of these products in the environment poses a risk to water quality and the ecosystem [8]. When applied to the soil, they can reach other levels as a result of mobility, sorption, volatilization, erosion, and leaching, thereby contaminating various environments [9-10], as is shown in Fig. (1).

Other important aspects to be considered are the products of pesticide transformation (TP). There is great interest in studies on the formation of pesticide sub products in the environment, since they can present a greater risk to the ecosystem than the original pesticides [10-13]. On the other hand, some pesticide TP may present lower toxicity than the original substances from which they are formed [14]. Thus, the results of pesticide use have not been completely elucidated because most studies are focused principally on the primary residues and not on their transformation products [15].

\*Address correspondence to this author at the Chemistry Department, ICEx, Federal University of Minas Gerais, Avenida Antonio Carlos 6627, 31270-901 Belo Horizonte, MG, Brazil; Tel: 55-3134095725; Fax: 55-3134095700; E-mail: zenilda@ufmg.br

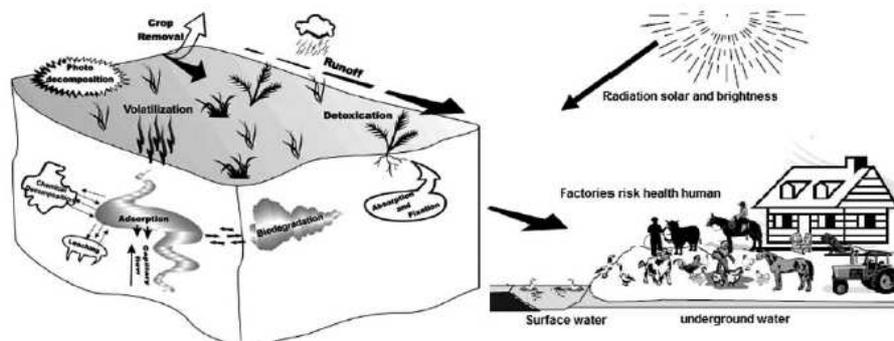


Fig. (1). Pesticide contaminants in the environment (adapted) [15, 16].

Some pesticides are considered to be persistent organic pollutants (POP) in the environment [16]. These POP possess long half-lives and can accumulate in the environment and in organisms, being transferred throughout the food chain until they reach human beings [17]. On the other hand, many pesticides can be degraded. The degradation processes generate a large number of sub products in low concentrations that are considered to be beneficial for the systems for treatment and disinfection of crops, soils and groundwater, but hinder chemical analysis. Even in low concentrations, these residues can be prejudicial to human health and the environment because of the accumulative effect [5, 6]. Pesticides are degradable by microbiological or chemical processes. Chemical degradation occurs by photolysis, oxidation-reduction reactions [18], while biological degradation occurs through the action of environmental microorganisms [10, 18, 19]. The microorganisms are usually distributed in the first few centimeters of the earth's surface, where the largest quantity of the organic compounds that serve as food, including the pesticides, exist [20-22].

The extensive presence of pesticides in the water and soil has stimulated interest in finding solutions for the treatment and/or removal of residues from the environment. Many techniques, such as adsorption, filters, biological treatment, and degradation by advanced oxidation systems (AOP) that utilize  $\text{TiO}_2/\text{UV}$  as a catalyst, photo-Fenton reagents (FR) [23], and ozonation processes with  $\text{O}_3$ ,  $\text{O}_3/\text{UV}$ , and  $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$  [24], are presently being studied for removal of pesticides.

Several analytical methods have been developed for the identification and quantification of pesticide residues and their by-products. Among the most widely used techniques are gas chromatography (GC) and liquid chromatography (LC), both in combination with mass spectrometry (MS) detectors [25]. In conventional GC/MS methods for the determination of pesticides in environmental waters, solid phase extraction (SPE) and liquid-liquid extraction (LLE) are used as sample preparation methods. However, these methods require large volumes of organic solvents [26-28]. Therefore, several other extraction methods have been proposed, among them the technique of solid phase microextraction (SPME) [29-31], which will be emphasized in this study. This review describes the current studies on degrada-

tion of pesticides and the aspects involved in the analysis of pesticides and their sub products, sample preparation, methods of determination, and analytical techniques.

## 2. ENVIRONMENTAL RISK AND THE USE OF PESTICIDES

Environmental pollution by pesticides depends on several variables, including the type and quantity of the products employed. The factors that influence the transport of these compounds to surface waters are their physical-chemical and biological properties and their capacity for degradation. These factors include solubility, vapor pressure, the partition coefficient of organic carbon with water ( $K_{oc}$ ), and the octanol-water partition coefficient ( $K_{ow}$ ). Compounds with a high solubility and low adsorption have resulted in major contamination of surface and groundwater. In addition, the pH and soil temperature, climatic conditions, landscape characteristics, including topography and the presence of drainage, and appropriate practices, also influence the pesticide content of water. Pesticides with a high solubility in water can easily contaminate surface and ground water. The increase of organic matter in the soil increases the capacity for adsorption of pesticides by reducing leaching. For example, cationic pesticides are strongly adsorbed by electrostatic interactions with negative charges in the soil surface. The weak bases with pKa values close to the soil pH are strongly adsorbed. The acid pesticides are ionized, forming negative charges, and are not adsorbed by minerals in the soil because the negative charges cause repulsion in the interactions with soil organic matter [32, 33].

The process of pesticide degradation plays an important role in the removal of their residues from the aquatic environment to mitigate the problem of pollution. This process is governed by biotic and abiotic factors (including enzymatic catalysis by microorganisms) that can cause very complex reactions involving a variety of interactions of pesticides with microorganisms that are soil constituents [33]. The adsorption also plays a key role in the dynamics of transmission, persistence, transformation, and bioaccumulation of pesticides [34, 35]. It depends on the characteristics of these compounds and the organic matter in the soil [36-38]. The pesticides that bind covalently to humic soil matter have

functions similar to the components of humus, and the processes of interaction with organic matter are generally governed by oxidative reactions. Microorganisms have always been reported as mediators in both the interaction of pesticides with the soil and their degradation [39, 40]. The adsorption of weakly acid organic pesticides in the soil depends on the composition of the soil and its pH [41-43], and may sometimes favor the leaching by surface and groundwater.

Some studies have shown major interactions between the adsorption and degradation of pesticides [33, 39], since the chemical adsorption reduces the access of microorganisms, thereby limiting the degradation and transport of these compounds [44-46]. In studies assessing the rates of microbial degradation of these substances, the authors concluded that, under certain conditions of temperature and pH, the pesticides may deteriorate even before being adsorbed by the soil [47-51]. In a study that involved the evaluation of the degradation of 2,4-D in ten types of natural soils, a high degree of adsorption was observed to be associated with high microbial activity [48]. The penetration of pesticides into the soil and groundwater can be realized by galleries and by infiltration [52]. Infiltration is more common and represents a potent source of environmental pollution of groundwater. Some of the properties that favor the environmental contamination by adapted pesticides are presented in Table 1 [15].

Table 1. Pesticide Properties, Indicating their High Potential for Groundwater Contamination

Parameter	Value
Water solubility	> 30mg/L
$K_{oc}^*$	< 5, usually < 1
$K_{ow}^*$	< 300
Speciation	Negatively, fully or partially charged at ambient pH
Hydrolysis half-life	> 25 weeks
Photolysis half-life	> 1 week
Field dissipation half-life	> 3 weeks

\* $K_{oc}$ = organic carbon content/ water partition coefficient

\* $K_{ow}$ = octanol-water partition coefficient

### 3. DEGRADATION PROCESSES

The degradation processes described in the literature demonstrate a great efficiency in the decontamination of systems contaminated by pesticides. Several factors influence the rate of degradation, such as the chemical structure of the pollutants, pH, iron concentration, hydrogen peroxide and the organic load. Because of the great potential of contamination by pesticide residues and the variation in the time necessary for natural degradation, it is necessary to discover those processes that accelerate the decontamination of the affected environment. Thus, several degradation processes such as photocatalytic degradation, advanced oxidative processes, phytoremediation, bioremediation, ozonation and

photo-Fenton reactions have been proposed. All these systems are considered to be efficient for pesticide degradation.

Microorganisms are considered to be the principal agents for the degradation of pesticides in bioremediation processes. Considering that the earth is the home for an uncountable number of microorganism species, the pesticides applied to these soils probably suffer an accelerated degradation by these organisms [52]. Bhalero *et al.* [53], were able to remove the pesticide endosulfan from the environment. They isolated 16 microorganismos from the soil for this purpose. *Aspergillus* of the *fungi* kingdom totally removed endosulfan after incubating the mushroom for 12 days with the pesticide. The levels evaluated were between 35.0 and 350.0 mg L<sup>-1</sup>. The results demonstrated that *Aspergillus* is a potent and easily acquired bioremediating agent that could be used to remove other pollutants from water and even soils.

Wyss *et al.* [54], isolated and characterized the bacterium *Pseudomonas sp* for the hydrolysis of atrazine. This microorganism used atrazine as a nitrogen, citrate and carbon source, and for the production of electron donor molecules under aerobic conditions. The degradation of approximately 100.0 mg L<sup>-1</sup> of atrazine occurred. The *Pseudomonas sp* was first cultivated in flasks under aerobic conditions previous to the experiments. The authors observed that concentrations of atrazine above 100.0 mg L<sup>-1</sup> were toxic to *Pseudomonas sp*. Giacomazzi and Cochet [55], studied the transformation of the herbicide diuron in water by microorganisms present in the soil. The reaction was catalyzed by OH<sup>-</sup> and H<sup>+</sup> with organic and inorganic matter from soil dissolved in the aqueous phase. The proposed system presented good results for the chemical degradation of diuron. The authors suggest that microorganisms could be used to promote the biological treatment of polluted sewage water.

Phytoremediation is a degradation process that uses plants to degrade or assimilate contaminants through natural processes. The success of this process is largely the result of the photosynthetic activity and growth rate of plants. Olette *et al.* [56] investigated the potential of the phytoremediation process to remove pesticides in water bodies. The ability of three aquatic plants - *Lemnos minor*, *Elodea canadensis* and *Cabomba aquatic*, to degrade pesticides by exposing the plants to five concentrations varying from 0 to 1.0 mg L<sup>-1</sup>. *L. minor* was observed to be the most efficient for the capture of pesticides, followed by *E. canadensis* and finally *C. aquatic*. The percentage removal of pesticides ranged from 2.5% to 50% during four days of incubation and reached 100% after seven days of incubation.

In another study, Bouldin *et al.* [57] investigated the removal of atrazine and lambda-cyhalothrin from water and sediment by hydroponics. They used *Juncus effusus* and *Luwigia peploides*. In this study, 98% degradation in just 48 hours of exposure of the pesticide to plants was observed. The results obtained by Bouldin and Olleta demonstrate the potential of efficient phytoremediation processes for removal of pesticide residues from the environment. Xia and Xiangjuan [58] investigated the disappearance of the persistent pesticide ethion from water by the process of phytoremediation. They used the plant *Eichlornia crassipes*, which was able to degrade 98% of the ethion. The authors concluded that this plant could be used as an efficient, economical, and

ecological alternative to hasten the removal and degradation of ethion in groundwater, industrial waste and other systems, together with other types of pesticides. Amaya-Chavez *et al.* [72] studied the efficiency of removal of methyl parathion from water and sediments by the plant *Typhya latifolia*. This plant was able to reduce the content of pesticides in the concentration range of 0 to 200.0 mg.L<sup>-1</sup>, reaching 100% degradation during 10 days of exposure. Thus, *Typhya latifolia* may be a good candidate for phytoremediation of systems contaminated with methyl parathion.

Photocatalytic oxidation is a very advanced process used to remove and degrade pesticide residues from various environments such as soil, water and food. In recent years, several studies and reviews on advanced oxidative processes (AOP) [60-62], which use UV light and a titanium dioxide semiconductor is used extensively in most of these studies. It is one of the most extensively used processes among those mentioned because it is a readily available reagent, chemically robust and durable [23, 63-68]. Moctezuma *et al.* [69] studied the photocatalytic degradation of methyl parathion pesticides, using TiO<sub>2</sub> in aqueous suspension. The final products were phosphoric acid and CO<sub>2</sub>. Furthermore, Mahalakshmi *et al.* [4] demonstrated that the combination of TiO<sub>2</sub> and ZnO<sub>2</sub> were very effective in the photocatalytic mineralization reactions of carbofuran in water samples under solar radiation. They also assessed the total quantity of organic carbon (TOC) to confirm the extent and effectiveness of the mineralization process used in this study. Four intermediate products of the carbofuran pesticide were formed after only six hours of reaction. Various pathways for degradation of this compound were proposed.

Shemer and Linden *et al.* [70] studied the degradation and the degradation products of diazinon using photocatalyzed reactions with the application of UV light and catalyst UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The addition of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was very effective in this process, increasing the rate of removal of diazinon from aqueous samples. Upon photolysis, the hydrogen peroxide leads to the formation of strongly oxidant species such as the hydroxyl radical, which accelerates the degradation process. Chiron *et al.* [43] used AOP to remove diazinon from aquatic environments. Similar to other studies, the hydrogen peroxide was very effective and efficient in reducing the burden of diazinon in the environment.

Barceló *et al.* [71] studied the degradation of endosulfan in water samples using photocatalyzed reactions with (FeCl<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and (TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). The degradation was studied with a concentration of 35.0 g.L<sup>-1</sup>, and the results showed that both catalysts were effective for the removal of pesticides and can be applied to other situations and environmental compartments. Arbeli and Fuentes [72] investigated the process of complete mineralization in the accelerated degradation of methyl parathion, parathion, diazinon and cypermethrin pesticides using ozonation reactions. The complete mineralization was assessed by intermediate products and the formation of CO<sub>2</sub>. Ozonation has become a safe and promising process for the removal of pesticides from water samples, plant surfaces, and domestic waste

### 3.1. Kinetic Study of Degradation

The time for degradation of pesticides is important to assess whether pollutants are persistent in the environment.

The disappearance of these compounds is related to several factors such as pH, temperature, light, oxygen, and quantity of organic matter, which alter the kinetics of degradation. The kinetic studies to assess degradation of organic pollutants can be performed and assessed by the rate of mineralization [49]. The rate of mineralization is determined by monitoring of inorganic compounds such as CO<sub>2</sub>, Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>. The most common method of analysis to assess mineralization is the determination of total organic carbon (TOC). It is a rapid measurement of high reliability and sensitivity to the level of pg.L<sup>-1</sup>.

Several authors have dedicated to the study of the degradation kinetics to evaluate the persistence of the pesticides in the environment. Penuela and Barcelo [73] described the use of TOC to monitor the products of catalytic degradation of triazophos with TiO<sub>2</sub> catalyst. The results showed that the triazophos absorbs light in the presence of TiO<sub>2</sub> and is degraded in 4.5 hours. The rate of carbon dioxide formation is an indication of the disappearance of the pesticide. Prevot and Pramauro [74], also observed the complete disappearance of 2,3,6-trichlorobenzoic acid after 60 minutes of irradiation in the presence of TiO<sub>2</sub>. The degradation of this substance increased considerably at pH = 3, while the rates were lower at other pH values. Blanco *et al.* [75] studied the degradation kinetics of pesticides in water samples by ultraviolet light. They observed that the degradation became effective after irradiation for a period longer than five hours. In another study, Konstantinou *et al.* [76] investigated the photochemical degradation of herbicides (atrazine, prometryn and propazine) in different types of natural waters (river, sea and lake) and soil. The monitoring showed that the compounds exhibited degradation kinetics with very different periods of irradiation, being greater than 10 hours for the three types of matrices. Hermam *et al.* [77] investigated the degradation kinetics of methyl pirimiphos in water with different photocatalytic irradiation times. The results showed that over 98% of the pesticide disappeared with 10 minutes of irradiation with 1.5x10<sup>17</sup> photons per second. Complete (100%) degradation of the pesticide occurred upon irradiation with 1.4x10<sup>16</sup> photons per second over a longer period of irradiation (30 minutes). Shankar *et al.* [78] studied the influence of pH on the degradation kinetics of pesticides in aqueous solutions. The results indicated that the degradation was rapid in solutions at pH between 2 and 7, reaching 100% degradation. At pH above 7, the degradation rates were below 60%. A similar study was conducted by Kuo *et al.* [79], who investigated the kinetics of degradation of the carbofuran pesticide between pH 4 and 7, using TiO<sub>2</sub> as the catalyst. The results showed that the degradation was slow at pH above 7. Uygun *et al.* [80], studied the rate of degradation of pesticides in stored carrots. The studies were performed under sunlight and ultraviolet light of 280-300 nm. The degradation of pesticides occurred after 3 to 5 hours of solar irradiation, while the degradation by UV radiation required 10 hours. Rafqah *et al.* [81] investigated the rate of degradation of sulfuron methyl by a photocatalytic process in the presence of two different titanium dioxides, Degussa P<sub>25</sub> and Millennium PC<sub>500</sub>. The times necessary for the disappearance of the pesticide in the presence of Degussa P<sub>25</sub> and Millennium PC<sub>500</sub> were 20 and 80 minutes, respectively, the efficiency of TiO<sub>2</sub> (P<sub>25</sub>) being the greater. Wang and Lemley [82], studied the

rate of degradation of the pesticide 2,4-D in natural water by treatment with Fenton, combined with the photocatalytic degradation of pesticides with  $\text{TiO}_2$ . Rapid degradation by the Fenton reaction occurred in the presence of hydrogen peroxide; otherwise, the process was very slow.

#### 4. ENVIRONMENTAL ANALYSES OF THE PESTICIDES AND THEIR SUB-PRODUCTS

The intensive use of pesticides and the consequent contamination of surface water, soil, flora, fauna and groundwater by their residues, including the products and degradation by-products, require the use of reliable, sensitive methods for the analysis of contamination by these pesticides. Several analytical methods were developed for identification and quantification of pesticides and their degradation products in the environment. Among the main analytical techniques used are high performance liquid chromatography (HPLC) and gas chromatography (GC), since they possess the selectivity, sensitivity and high capacity necessary for identification and quantification of pesticides and their degradation by-products [13, 82-89].

##### 4.1. Sample Preparation

The methods for extraction of pesticides and clean-up of environmental samples are extremely important for their quantitative determination in the matrices of interest. The extraction techniques used to concentrate the analytes include liquid-liquid extraction (LLE), solid phase extraction (SPE) and solid phase microextraction (SPME). The SPME technique is promising and has the advantage of not using a solvent for extraction.

The LLE extraction is based on the partition of the sample between two immiscible phases (organic and aqueous) and was used in the analysis of pesticides in water and food samples [83]. It was used for many years as an official technical of the U.S. Environmental Protection Agency (U.S. EPA) [90]. It is a classical technique based on repeated extraction of 1.0 or 0.5 L of sample with organic solvents using a separation funnel. Its main advantage is the ability to extract a wide range of compounds with a wide range of polarities.

Solid phase extraction (SPE) is a technique commonly used as a method for pretreatment of samples in trace analysis of micro-contaminants in aqueous samples. It was introduced in mid 1970 [91], and it was marketed in 1978 as an alternative to LLE. The analytes contained in an aqueous matrix are extracted together with the interfering compounds after passage through a sorbent cartridge. A selective organic solvent is commonly used to extract the analytes of interest. The selection of the SPE method depends on the physico-chemical properties of the pesticides and their concentrations, so as to process the ideal volume of solvent [92]. Sasan *et al.* [84], determined the pesticides and herbicides in aqueous samples using SPE. The efficiency of the extraction method for the identification of 30 compounds was demonstrated. Using the same extraction method Chariots *et al.* [89] analyzed pesticides in samples of sea water using SPE. The technique was very efficient for the extraction of analytes at  $\text{ng.L}^{-1}$  concentrations, allowing rapid preparation of the sample at the local of collection with good performance.

Other studies have focused on the triazines and their degradation products extracted by this technique [93, 94]. Penuela *et al.* [95] performed the analysis of endosulfan in water samples using SPE with C18 cartridges, which permitted the study of its isomers at low concentrations. In another study, Penuela *et al.* [73] used SPE to monitor the kinetics of degradation of Alachlor in water. The method was efficient for the extraction of pesticides, including for various degradation products. The pre-concentration with SPE in studies of photodegradation is a good technology, making it possible to measure the organic pollutants and identify the degradation products in low concentrations. Faria *et al.* [87] proposed a new method for extraction of pesticides. To do so, they associated the SPE with a polymer supported on silica. The new system presented a high potential for extraction at  $\text{g.L}^{-1}$  concentrations. However, alternative methods reduce or eliminate the use of solvents in the preparation of samples for chromatographic analysis [96]. This is being one of the limitations of this technique compared to more traditional methods.

Sabik *et al.* [85] used SPE and SPME to analyze triazines in water samples. They discussed the advantage of SPME over SPE, since it dispenses the use of solvent. However, a large number of pesticides, including triazines and their degradation products, are easily determined and monitored efficiently at trace concentrations ( $\text{ng.L}^{-1}$ ) in water samples with SPE.

Chiron *et al.* [97] highlighted SPME, a widely used extraction method, because it does not require the use of solvents and is simple, fast and efficient. Jigu *et al.* [82] analyzed residues of some pesticides in plant samples using SPME with a PDMS fiber. The results showed that it is a technique capable of extracting traces of pesticides from aqueous solutions and from the surface of plants under domestic conditions. Sabik *et al.* [85] measured pesticides in surface water and groundwater using SPME as the extraction method; PDMS-DVB, CW-DVB and PA fibers were tested. The CW-BVB fiber in saline solutions was more efficient for atrazine and its degradation products and was suitable for extraction of more polar compounds.

There is a discussion about the difficulty of the quantitative analysis using SPME, conversely, the studies shown below presented good results with SPME quantitative determinations. Miega and Dugay [98] analyzed pesticides in aqueous samples using SPME. The most adequate fiber was PDMS (100 mm), which was able to extract organochlorine pesticides of low solubility and some organophosphates. The PA fiber was shown to be ideal for the extraction of pesticides containing nitrogen and phosphorus. The data indicated that the measurable limits were from 5.0 to 100.0  $\text{ng.L}^{-1}$ . Navalón *et al.* [99] developed a method for determination of the herbicide oxidiazon in water, soil, wine and human urine samples, using the HS-SPME and PDMS fiber. The best responses were obtained by extraction for 25 minutes at a temperature of 100 °C.

Carvalho *et al.* [100] determined organochlorine pesticides in sediments and studied their strong interaction with organic matter using SPME in headspace mode (HS-SPME) with a PDMS fiber. The method presented detection limits of 0.005 to 0.11  $\text{ng.g}^{-1}$  of sediment and a good linearity in the

range 6.0 to 1000.0 ng.g<sup>-1</sup>. Xiang *et al.* [101] investigated SPME using a new polythiophene (PTH) fiber to determine organochlorine pesticides in water. The results proved the ability of the new fiber to extract these compounds from aqueous samples. The detection limit was 0.5 to 10.0 ng.L<sup>-1</sup>, and the calibration curve was linear in the appropriate range, 10.0 to 100.0 ng.L<sup>-1</sup> (R<sup>2</sup> > 0.982). The method had the advantage that the fiber is robust, with a long durability compared to the PDMS fiber used by Carvalho [100].

Gupta *et al.* [102] proposed an improved SPME method using a DVB/CAR/PDMS fiber with a PTFE tube for the analysis organophosphate pesticides. The proposed combination presented good linearity in the range from 0.03 to 150.0 µg.L<sup>-1</sup>, with 78% recovery and detection limits between 6.1 to 21.8 ng.L<sup>-1</sup>. The method is efficient, but requires a longer time to process the samples than the conventional SPME method. Also looking for innovation, Djozan and Ebrahimi [103] covered the fiber with methacrylic acid and ethylene glycol by means of copolymerization for the analysis of atrazine and triazines in water by SPME. The new fiber was highly efficient, even for the analysis of rice and garlic. Similarly, Zeng *et al.* [104] used ceramic material and carbon of high thermal stability as a support for SPME fibers for the analysis of organophosphorus pesticides in water samples. The method presented an LOD of 5.2 to 34.6 ng.L<sup>-1</sup> and a good linearity between 0.05 to 200.0 ng.mL<sup>-1</sup>.

Silva *et al.* [105] developed a method for the determination of organophosphorus pesticides in water samples using SPME. A good linearity of the method was obtained in the 0.20 to 20.0 ng.L<sup>-1</sup> range, with correlation coefficients above 0.999. The accuracy of the method was 5.7 to 10.2% for all the pesticides evaluated, resulting in lower limits of detection, from 0008 to 0020 ng.L<sup>-1</sup>. Capobianco and Cardeal [106], proposed a method for the analysis of organophosphorus pesticides (co-ral, DDVP, Di-syston, phorate, phosdrin and malathion) in freshwater fish, water and food samples by applying the SPME technique. The correlation coefficients for the curve obtained were between 0.997 and 0.999, with a relative standard deviation of 4.40 to 15.13%. The detection limits ranged from 0.05 µg.L<sup>-1</sup> to 8.37 µg.L<sup>-1</sup>, and the measurable limits were 0.09 µg.L<sup>-1</sup> to 8.70 µg.L<sup>-1</sup>.

Among the techniques mentioned, SPME extraction preserves all the advantages of SPE, such as simplicity, low cost, and easy automation, and eliminates the disadvantages such as clogging of the cartridge and use of solvents. All the studies for the analysis of pesticides by SPME furnished good results. This fact indicates that this approach is recommended for the analysis of trace organic compounds in environmental samples. Other studies [107] have proposed changes in methods and alternatives for the analysis of other undesirable compounds in ecosystems.

Basher *et al.* [108] compared the efficiency of extraction of organophosphorus pesticides from groundwater by SPME and by liquid phase microextraction (LPME). The SPME method was more effective at higher concentrations (LOD between 3.1-120.5 ng.L<sup>-1</sup>), while the LPME method was more effective at low concentrations (LOD between 0.3-11.4 ng.L<sup>-1</sup>). Lambropoulou *et al.* [109] has developed successfully a LPME method to determine traces of some insecticide (dichlorvos, mevinphos, ethoprophos, carbofuran, chlorpyri-

fos methyl, phenthoate, methidathion and carbofenothion) in samples water. Their methodology exhibited good linearity. The detection limits were in the range of 0.001 to 0.072 µg.L<sup>-1</sup> with relative recoveries from 80 to 104%. In other work, also using LPME Xiong and Hun [110] analyzed organosulfur pesticides (malation, chlorpyrifos, buprofezin, triazophos, carbosulfan and pyridaben) in environmental samples of water. The method showed good linearity (0.80 to 850 µg.L<sup>-1</sup>) and coefficient correlation 0.9901 to 0.9988, with limits of detection of the 0.21 to 3.05 µg.L<sup>-1</sup>. Thus, LPME is a promising technique for environmental analysis at trace levels.

## 4.2. Analytical Techniques

The analytical techniques for determination of the pesticides in environmental samples request appropriate sensibility and precision. Among the more used are gaseous chromatography coupled to the spectrometry of masses. This analytical tool has been allowing the quantification of pesticides and yours sub products in the ppt level.

Gennaro *et al.* [83] investigated the process of degradation of the pesticide carbofuran using photocatalyzed reactions. The progress of the degradation of the pesticide was monitored using the techniques of HPLC and GC both being coupled to mass spectrometer (MS) detectors. The intermediate products from carbofuran could only be identified by the GC/MS method because it presented greater selectivity, specificity, and capacity for identification.

Sasano *et al.* [84], proposed the analysis of pesticides in water samples using the GC/MS technique. The authors used an automated system that consisted of pneumatic valves that introduced the sample directly into the sample injector, with rapid evaporation of the solvent. They determined 29 pesticides and herbicides. The system achieved a recovery of over 75% and a relative standard deviation (n = 6) of 10%. Xiang *et al.* [101] described the determination of herbicides of triazines group and their degradation products in water samples using the GC/MS, LC-UV and LC/MS techniques. The technique was relevant because it made it possible to propose reaction pathways for the degradation of atrazine.

Nélieu *et al.* [111] analyzed the atrazine degradation products by LC and HPLC using UV and MS detectors. The results indicated that mass spectrometry is a more efficient detector. Some of the degradation products were not identified by LC/MS or HPLC/MS/MS. Sandra *et al.* [88] investigated the degradation of the organophosphate methyl pirimiphos in water by artificial light. The analysis of the intermediate degradation products was achieved by GC/MS, HPLC-UV, LC/MS analysis and total organic carbon (TOC) techniques. The best results were obtained by GC/MS, and it was possible to identify all the degradation products of methyl pirimiphos. The formation of inorganic ions was verified through TOC. Prevot *et al.* and Ravelo-Perez *et al.* [112, 113], investigated the photocatalytic degradation of acid solutions of 2,3,6-trichlorobenzoic acid (2,3,6-TBA) in the presence of TiO<sub>2</sub>. Several aromatic intermediates were detected by GC/MS with HS-SPME extraction. These intermediates have indicated the occurrence of hydroxylation, dechlorination, decarboxylation and oxidation-reduction reactions. Pereira *et al.* [86] identified a number of pesticides

including atrazine, alachlor, and metoxichlor and their degradation products in surface water using gas chromatography and mass spectrometry with an ion trap analyzer. The method resulted in the determination of approximately 1.0 ng.L<sup>-1</sup>, with detection limits of up to 60.0 pg.L<sup>-1</sup>.

Faria *et al.* [87], proposed a method of analysis for six pesticides (imazethapyr, imazaquin, metsulfuron-methyl, bentazone, chlorimuron-ethyl and tebuconazole), by GC and HPLC with mass spectrometer detectors. The method involved the immobilization of the pesticides on a silica support immersed in water. The proposed system presented a good potential for extraction and concentration of pesticides in aqueous samples. It had the advantage of being a low-cost extraction method.

Faria *et al.* and Sandra *et al.* [87, 88] developed a GC/MS method for the analysis of two metabolites of the herbicide chlorotriazine and 11 pesticides in water samples. The recovery index for all the analytes studied was 105-116% for concentrations in the range of 0.5 -1.0 ng.mL<sup>-1</sup>, with detection limits of 0.05 ng.mL<sup>-1</sup>.

In another study, Charreterre *et al.* [89], determined pesticides in water samples using sequential GC/MS with Ion trap analyzers, in electron impact (EI) and chemical ionization (CI) modes. In this study, the detection limits for both types of ionization were 0.2 to 5.0 ng.L<sup>-1</sup>. The selectivity increased significantly with the use of EI/MS/MS, compared to PCI. Steen *et al.* [114], analyzed triazines using the working conditions of Charreterre. Magnuson *et al.* [115], also determined the degradation products of triazines by GC/MS, but noted a problem of co-elution of the two main products, deethylatrazine (DEA) and deisopropylatrazine (DIA). The strategy to avoid co-elution was to combine the products with two different compounds, octadecyl and annelide, so as to increase the polarity of the molecule.

Uygun *et al.* [80] investigated the degradation of chlorvenvifos by GC/MS, HPLC/UV and gel permeation chromatography (GPC) techniques. The main degradation product in all the samples was trichloroacetophenone, and the GC/MS technique was the only one able to identify this compound. The results also indicated that the degradation of chlorvenvifos is significantly lower at temperatures below 5 °C.

Penuela and Barcelo [73] studied the degradation of endosulfan in water samples using the GC/MS and GC/ECD techniques. The endosulfan sulfate was determined in only a few samples because the proposed method indicated that the degree of recovery was low (70-86%) and the limit of detection was high (0.5-540.0 ng.L<sup>-1</sup>) for the levels under study.

Penuela and Barcelo [95], studied the degradation of Alachlor in water samples by GC/ECD and GC/MS. Three products were identified (2-hydroxy-2,6'-diethyl-N-methylacetanilide, 8-ethyl-1-methoxymethyl-4-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetraquionoline and hydroxyalachlor). The pesticide was highly stable when exposed to irradiation by natural light during a period of 120 h. However, in the presence of 15.0 mg.L<sup>-1</sup> of FeCl<sub>3</sub> catalyst, the method became very effective for the destruction of Alachlor.

Bandala *et al.* [4], studied the degradation of aldrin, and its products were analyzed by GC/MS. Three degradation products were identified: dieldrin, chlordane and 12-

hydroxydieldrin. In the presence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 93% degradation of aldrin was achieved.

A review on methods for the determination of pesticides and their degradation products in environmental samples using different types of detectors shows that the methods most used in the analysis were GC with an electron capture detector (ECD), nitrogen and phosphorus detector (NPD) or mass spectrometry (MS) detector and the technique of liquid chromatography with UV and MS detectors. The best detector among the studies discussed was the mass spectrometer. A summary of some studies described in the literature regarding the pesticides examined, types of samples and techniques used are presented in Table 2.

Kouloumbos *et al.* [116] investigated the products of photocatalytic degradation of diazinon in suspensions aqueous using GC/MS/MS and LC/MS/MS. The photocatalytic degradation of diazinon catalysed by titanium dioxide was observed to proceed essentially through a hydroxylation mechanism. The results show that the combination of GC/MS/MS with EI, positive and negative ion CI, and LC/MS/MS with electrospray ionization represent a powerful analytical approach for the confirmation of the structure of photocatalytic intermediates.

Kowal *et al.* [117] developed an ultra-performance liquid chromatography-tandem spectrometry (UPLC/MS) method for the analysis of metabolites of pesticide N,N-dimethylsulfamide (DMS) in aqueous matrices. More than 600 samples of drinking water, surface water, and groundwater have been examined successfully with this method. The method showed relative standard deviation of 15% (n=10) and limit of detection of 10.0 ng.L<sup>-1</sup>.

Hernández *et al.* [118] investigated the metabolites of pesticides in food and water by liquid chromatography with time-of-flight mass spectrometry (LC/TOFMS). This technique has been successfully applied in multi-residue target analysis, and has allowed the safe identification of metabolites in samples, as well as their quantification.

In other study, Jeannot and Sauvard [119] determined pesticides in water samples using HPLC/MS/MS-APCI in positive mode. The method showed good linearity from 0.05 to 10.0 ng.L<sup>-1</sup>, correlation coefficients from 0.9993 to 1.0 and detection limits from 0.02 to 0.1 µg.L<sup>-1</sup>. The study shows analysis identification and quantification of pesticides and their conversion products in drinking water.

Comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCxGC) is a relatively new technique, developed in the nineties and has great power of separation for complex samples, such as multi residue analyses of pesticides. Banerjee *et al.* [120], optimized method for multi-residue analysis of pesticides in grapes using a comprehensive GCxGC/TOFMS and GC/TOFMS. The method resolved the co-elution problems as observed in full scan one-dimensional analysis and allowed chromatography separation of 51 pesticides within 24 min run time with mass-spectrometry confirmation. The detection limits for GC-TOFMS from 2.0 to 19.0 ng.g<sup>-1</sup> and detection limits for GCxGC/TOFMS from 0.2 to 3.0 ng.g<sup>-1</sup>. Multiresidue analysis by GCxGC/TOFMS gave distinct advantages over the GC/TOFMS analysis. The technique shows promise and good separation of all co-eluted as well

**Table 2. Studies of the Determination of Pesticides and their Degradation Products in Environmental Samples.**

Pesticides	Degradation Products	Analytical Technique	Extraction Method	References
Aldrin	Dieldrin, chlordane and 1,2-hydroxy-dieldrin	GC/MS e GC/ECD	LLE	Omad,1997 [1]
Carbofuran	2,3-dicloro-2,2-dimetilbenzofuran-7-carbonato , carbofuranfenol and benzofuran	HPLC,UV-vis and GC/MS	LLE	Mahalakshmi, 2007 [3]
Phenylurea	Aromatic isocyanathes and amine aliphaticas	GC/MS	LLE	Bandala,2002 [6]
36 kinds of different pesticides studied	Their respective degradation products	GC/ECD,GC/MS, GC/NPD, LC/MS and LC/UV	LSE/SPME	Veiga, 2006 [8]
Propan, terbutiron, propiclor, chlortoluron, thiran, ácido fenoxiacético, 2,4,5-triclorofenoxido, uracil, 5 bromuracil and bromotimol	Propham, propachlor, 3-3(3-hydroxy-4-methylphenyl)-1,1-dimethylurea, chloro-4-methylphenyl urea, 3-3chloro-4-methylphenylamine e chlortoluron	GC/MS	SPME	Ghadiri, 2001 [19]
Mechlorprop , dichlorprop, 2,4-D, 4-chloro-2-methylphenol, 2,4-dichlorophenol, bentazon, bromoxynil, yonyxil, dicamba dinoseb and DNOC	4-chloro-2-methyl phenol CMP) and 2,4-dichlorophenol, (DCP)	GC/MS	SPME	Olette, 2008 [56]
29 kinds of pesticides and herbicides	-	GC/MS	SPE	Bouldin, 2006 [57]
Triazines	Chloromethoxy , methylthiotriazines, Metribuzin, metamitron, triazinones and hexazinone,Triazinone and hexazinone	GC/MS, LC/MS, GC/MS, LC-UV	SPME	Herrmann, 1999 [77]
Primifós metil	4-hydroxy derivate, phosphorothioic acid, O.O.S-trimetyllester	GC/MS, GC/MS/MS	LLE/SPME	Shankar, 2004 [78]
Atrazine	Deethylatrazine and deisopropyl atrazine	GC/MS/MS	SPME	Kuo, 2002 [79]
Primiphos-methyl	Phosphate, sulfate and nitrate anions	GC, HPLC, GC/MS, TOC and LC/MS	SPE	Uygun,1997 [80]
2,3,6-Trichlorobenzoic	Dichlorobenzene isomers, 1,2,5-trichlorobenzene, 2,3,5-trichlorophenol, 2,3,6-trichlorophenol, 2,3,6-trichlorohydroquinone,2,3,6-	GC/MS	LLE	Rafqah, 2005 [81]
Chlorfenviphos	1-(2,4-dichlorophenyl)ethan-1-ol, 2,4-dichlorobenzoic acid and 2,2-dichloro-1-(2,4-dichlorophenyl) vinyl alcohol	GC/MS	LLE	Wang, 2001 [82]
Endosulfan	Endosulfan diol, endosulfan ether, endosulfan lactone, endosulfan hydroxyether and endosulfan dialdehyde	GC/MS	SPE	Gennaro, 2001 [83]
Alachlor	2-hydroxy-2,6-diethyl-N-methylacetanilide, 8-ethyl-1-methoxymethyl-4-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetraquionline and hydroxyalachlor	GC/MS	SPE	Sabik, 2000 [85]
Parathion, atrazine e alachloro	Atrazine amide, deethylatrazine, simazine amide, deisopropylatrazine, hidroxyatrazine amide, chlorodiamino-s-triazine and deisopropylatrazine amide	GC/MS, LC/MS	LLE	Pichon,1998 [91]

(Table 2) contd...

Pesticides	Degradation Products	Analytical Technique	Extraction Method	References
Triazines, phenoxyacids and organophosphorus compounds	Atrazine amide, deethylatrazine, deisopropylatrazine amide deisopropylatrazine simazine amide, chlorodiamino-s-triazine, ammelie and hydroxyatrazine amide	GC/MS, LC/MS/MS	LSE/LLE	Chiron, 1993 [97]
Diazinon	2-isopropil-6-metil-pirimidin-4-ol (IMP) and 2-isopropil-6-metilpirimidin-4-il fosfato (dizoxon)	UV-vis, GC/MS	LSE/SPME	[16, 70, 116]

as closely eluted compounds high sensitivity analysis of pesticides studied.

Khummueng *et al.* [121], determined residues of nine fungicides in vegetable samples using GCxGC/NPD. The studied concentrations range from 1.0 to 1000.0  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Excellent linearity was observed for these standards, from 0.001 to 25.0  $\text{mg.L}^{-1}$ . The limit of detection (LOD) and limit of quantification were less than about 74 and 246  $\text{ng.L}^{-1}$ . Identified degradation of one fungicide (ioprodine) was readily observed by the characteristic band response in the 2D plot, between the parent and the decomposition product. The study shows that GCxGC/NPD has a potential for the routine analysis of fungicides in food and vegetables samples, providing a low LOD and LOQ and a good repeatability and reproducibility of peak response. Dalluge *et al.* [122] too determined 58 of pesticides in food extracts using GCxGC/TOFMS. All pesticides of interest could be identified using their full-scan mass spectra. This determination of pesticides in vegetables extracts as an example, it was demonstrated that GC-GC improves the separation dramatically and very suitable for the analysis of complex food samples. The authors discuss when using GCxGC, the analytes of interest can be better separated from each other but, what is more important, also from matrix compounds, which tend to seriously interfere in 1D-GC/MS procedure. Consequently, the quality of the TOF/MS mass spectra obtained by GCxGC is much better than those obtained with 1D-GC, as was illustrated in this study for serious pesticides. Zrostliková *et al.* [123], determined trace level residues 20 of pesticides in complex food matrices, using GCxGC/TOFMS. The repeatability of retention time as R.S.D. ranged from 0.28 to 0.56% and 0.29 to 0.78% in the first and second dimensions, respectively. Good linearity ( $R^2 = 0.9982-0.9996$ ) was achieved in the concentration range of 5-500  $\text{ng. mL}^{-1}$  for standards in ethyl acetate. In this study compared with Dalluge show again GCxGC/TOFMS has been demonstrated as a powerful tool for solving the problems with reliable confirmation of pesticides residues at very low concentration levels as required for the analysis of some types of samples such as baby food.

## CONCLUSION

The degradation methods have been extensively used and proposed as an alternative for the complete destruction of pesticide residues, or to obtain less harmful compounds in different environmental matrices and especially in water. The main methods proposed include photoirradiation, ad-

vanced oxidative processes (AOP), phytoremediation and bioremediation. AOP allied with Irradiation was efficient in the elimination of harmful pesticide residues and has also been used to study the degradation products to determine the kinetics of formation and disappearance of more toxic products and to establish the routes of degradation and their relative importance.

Chromatographic techniques such as gas chromatography with mass spectrometer detectors are proposed for the determination of pesticide residues and their degradation products because of the selectivity, sensitivity and relative speed of analysis. However, liquid chromatography techniques with mass spectrometer detectors are more suitable for the analysis of more polar compounds, because the samples are analyzed directly without the need for derivatization.

Commonly used extraction processes involving analytical methods such as LLE, SPE or SPME are associated with the chromatographic techniques. Considering the use of solvents and the formation of residues by LLE and SPE methods, methods using SPME are considered more advantageous. Moreover, several studies have shown that the SPME technique is selective, rapid and of low cost.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the Brazilian agencies CNPq and FAPEMIG for financial support.

## REFERENCES

- [1] Ormad, P.; Cortes, S.; Puig, A.; Ovelheiro, J.L. Degradation of organochloride compounds by  $\text{O}_3$  and  $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ . *Water Res.*, 1997, 31, 2387-2391.
- [2] Arias-Estevéz, M.; Lopez-Periágo, E.; Martínez-Carballo, M.; Simal-Gandara, J.; Mejuto, J.C.; Garcia-Rio, L. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 2008, 123, 247-260.
- [3] Mahalakshmi, M.; Arabindoo, B.; Palanichamy, A.; Murugesan, V. Photocatalytic degradation of carbofuran using semiconductor oxides. *J. Hazard. Mater.*, 2007, 143, 240-245.
- [4] Bandala, E.R.; Gelover, S.; Leal, M.T.; Bulnes, C.A.; Jimenez, A.; Estrada, C.A. Solar photocatalytic degradation of Aldrin. *Catal. Today*, 2007, 76, 189-199.
- [5] Kapustka, L.A.; Williams, B.A.; Fairbrother, A. Evaluating risk predictions at population and community levels in pesticide registration - hypotheses to be tested. *Environ. Toxicol. Chem.*, 1996, 15, 427-31.
- [6] Bandala, E.R.; Octaviano, J.A.; Albitzer, V.; Torres, L.G.; Wickramanayake, G.B.; Hinchee, R.E. Solar photocatalytic degradation of Aldrin. *Catal. Today*, 2002, 76, 189-199.

- [7] Acero, J.L.; Benitez, F.J.; Real, F.J.; Gonzalés, M.; Chlorination of organophosphorus pesticides in natural waters. *J. Hazard. Mater.*, 2008, *153*, 320-328.
- [8] Veiga, M.M.; Silva, D.M.; Veiga, L.B. E. Pesticide pollution in water systems in a small rural community in Southeast Brazil. *Cadernos de saúde pública / Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública*, 2006, *22*, 2391-2399.
- [9] Andreu, V.; Picó, Y. Determination of pesticides and their degradation products in soil: critical review and comparison of methods. *Trac-Trends Anal. Chem.*, 2004, *23*, 772-789.
- [10] Nawab, A.; Aleem, A.; Malik, A. Determination of organochlorine pesticides in agricultural soil with special reference to  $\gamma$ -HCH degradation by *Pseudomonas* strains. *Biores. Technol.*, 2003, *88*, 41-46.
- [11] Sinclair, C.J.; Boxall, A.B. Assessing the ecotoxicity of pesticide transformation products. *Environ. Sci. Technol.*, 2003, *37*, 4617-4625.
- [12] Pozo, O.; Pitarch, E.; Sancho, J.V.; Hernandez, F. Determination of the herbicide 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid and its main metabolite, 4-chloro-2-methylphenol in water and soil by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 2001, *923*, 75-85.
- [13] Sabik, H.; Jeannot, R.; Rondeau, B. Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters. *J. Chromatogr. A*, 2000, *885*, 217-236.
- [14] Borga, K.; Gabrielsen, G.W.; Shaare, J.U. Biomagnification of organochlorines along a Barents Sea food chain. *Environ. Pollut.*, 2001, *113*, 187-198.
- [15] Strandberg, B.; Strandberg, L.; Bergqvist, P.; Falandysz, J.; Rappe, C. Concentrations and biomagnification of 17 chlordanes compounds and other organochlorines in harbor porpoise (*Phocoena phocoena*) and herring from the southern Baltic Sea. *Chemosphere*, 1998, *37*, 2513-2523.
- [16] Bavcon, M.; Trebese, P.; Zupancic-Kralj, L. Investigations of the determination and transformations of diazinon and malathion under environmental conditions using gas chromatography coupled with a flame ionization detector. *Chemosphere*, 2002, *50*, 595-601.
- [17] Kodaka, R.; Sugano, T.; Katagi, T.; Takimoto, Y. Clay-catalyzed nitration of a carbamate fungicide diethofencarb. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, *51*, 7730-7737.
- [18] Sassman, S.A.; Lee, L.S.; Bischoff, M.; Turco, R.F. Assessing N,N'-Dibutylurea (DBU) Formation in Soils after Application of n-Butylisocyanate and Benlate Fungicides. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, *52*, 747-754.
- [19] Ghardiri, H.; Rose, C.W. Degradation of endosulphan in clay soil from cotton farms of western Queensland. *J. Environ. Manag.*, 2001, *62*, 155-69.
- [20] Navarro, S.; Vela, N.; Garcia, C.; Navarro, G. Persistence of Simazine and Terbutylazine in a Semiarid Soil after Organic Amendment with Urban Sewage Sludge. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, *51*, 7359-65.
- [21] Li, Z.Y.; Zhang, Z.C.; Zhou, Q.L.; Gao, R.Y.; Wang, Q.S. Fast and precise determination of phenthoate and its enantiomeric ratio in soil by the matrix solid-phase dispersion method and liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 2002, *977*, 17-25.
- [22] Monkiedje, A.; Spittler, M.; Bester, K. Degradation of racemic and enantiopure metalaxyl in tropical and temperate soils. *Environ. Sci. Technol.*, 2003, *37*, 707-712.
- [23] Legrimi, O.; Oliveros, E.; Braun, A.M. Photochemical processes for water treatment. *Chem. Rev.*, 1993, *93*, 671-98.
- [24] Masten, S.J.; Davies, S.H.R. The use of ozonization to degrade organic contaminants in wastewaters. *Environ. Sci. Technol.*, 1994, *28*, 180A-185A.
- [25] Arnold, S.M.; Tallat, R.E.; Hickey, W.J.; Harris, R.F. Identification of Fenton's reagent-generated atrazine degradation products by high-performance liquid chromatography and megaflow electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.*, 1995, *30*, 452-460.
- [26] Louter, A.J.H.; van Beekvelt, C.A.; Montanes, P.Cid.; Slobodnik, J.; Vreuls, J.J.; Brinkman, U.A. Analysis of microcontaminants in aqueous samples by fully automated online solid-phase extraction-gas chromatography-mass selective detection. *J. Chromatogr. A*, 1996, *725*, 67-83.
- [27] Hyotylainen, T.; Jauho, K.; Riekkola, M. Analysis of pesticides in red wines by online coupled reversed-phase liquid chromatography-gas chromatography with vaporizer/precolumn solvent split/gas discharge interface. *J. Chromatogr. A*, 1998, *813*, 113-119.
- [28] Jongenotter, G.A.; Kerkhoff, M.A.T.; van der Knaap, H.C.M.; Vandeginste, B.G.M. Automated online GPC-GC-FPD involving co-solvent trapping and the on-column interface for the determination of organophosphorus pesticides in olive oils. *J. High Resol. Chromatogr.*, 1999, *22*, 17-23.
- [29] Louch, D.; Motlagh, S.; Pawliszyn, J. Dynamics of organic compound extraction from water using liquid-coated fused silica fibres. *Anal. Chem.*, 1992, *64*, 1187-1199.
- [30] Zhang, Z.; Yang, M.J.; Pawliszyn, J. Solid-phase microextraction. A solvent-free Alternative for Sample preparation. *Anal. Chem.*, 1994, *66*, 844A-854A.
- [31] Doong, R.A.; Liao, P.L. Determination of organochlorine pesticides and their metabolites in soil samples using headspace solid-phase microextraction. *J. Chromatogr. A*, 2001, *918*, 177-188.
- [32] Jinno, K.; Muramatsu, T.; Kiso, Y.; Magdic, S.; Pawliszyn, J. Analysis of pesticides in environmental water samples by solid-phase micro-extraction high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 1996, *754*, 137-144.
- [33] Guo, L.; Jury, W.A.; Wagenet, R.J.; Flury, M. Dependence of pesticide degradation on sorption: nonequilibrium model and application to soil reactors. *J. Contam. Hydrol.*, 2000, *43*, 45-62.
- [34] Jonge, R.J.; Breure, A.M.; Andel, J.G. Reversibility of adsorption of aromatic compounds onto powdered activated carbon (PAC). *Water Res.*, 1996, *30*, 883-892.
- [35] Gao, J.P.; Spitzner, J.; Kettrup, A. Sorption of pesticides in the sediment of the Teufelsweiher pond (Southern Germany). I: equilibrium assessments, effect of organic carbon content and pH. *Water Res.*, 1998, *32*, 1662-1672.
- [36] Spark, K.M.; Swift, R.S. Effect of soil composition and dissolved organic matter on pesticide sorption. *Sci. Environ.*, 2002, *298*, 147-161.
- [37] Coquet, Y. Sorption of pesticide atrazine, isoproturon, and metamitron in the Vadose Zone. *Vadose Zone J.*, 2003, *2*, 40-51.
- [38] Ahmad, R.; Nelson, P.N.; Kookana, R.S. The molecular composition of soil organic matter as determined by  $^{13}\text{C}$  NMR and elemental analyses and correlation with pesticide sorption. *Eur. J. Soil Sci.*, 2006, *57*, 883-893.
- [39] Gevaio, B.; Semple, K.T.; Jones, K.C. Bound pesticide residues in soils: a review. *Environ. Pollut.*, 2000, *108*, 3-14.
- [40] Dubus, I.G.; Barriuso, E.; Calvet, R. Sorption of weak organic acids in soils: clofencet 2,4-D and salicylic acid. *Chemosphere*, 2001, *45*, 767-774.
- [41] Clausen, L.; Fabricius, I. Atrazine, isoproturon, mecoprop, 2,4-D, and bentazone adsorption onto iron oxides. *J. Environ. Qual.*, 2002, *30*, 858-869.
- [42] Boivin, A.; Cherrier, R.; Perrin-Ganier, C.; Schiavon, M. Time effect on bentazone sorption and degradation in soil. *Pest. Manag. Sci.*, 2004, *60*, 809-814.
- [43] Wauchope, R.D.; Yeh, S.; Linders, J.B.H.; Kloskowski, R.; Tanaka, K.; Katayama, A.; Kordel, W.; Gerstl, Z.; Lane, M.; Unsworth, J. Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitations and reliability. *Pest. Manag. Sci.*, 2002, *58*, 419-445.
- [44] Selim, H.M.; Ma, L.; Zhu, H. Predicting solute transport in soils: second-order two site models. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1999, *63*, 768-777.
- [45] Koskinen, W.C.; Cox, L.; Yen, P.Y. Changes in sorption/bioavailability of imidacloprid metabolites in soil with incubation time. *Biol. Fertil. Soils*, 2001, *33*, 546-550.
- [46] Moyer, J.R.; Hance, R.J.; McKone, C.E. The effects of adsorbents on the rate of degradation of herbicides incubated with soil. *Soil Biol. Biochem.*, 1972, *4*, 307-311.
- [47] Park, J.H.; Feng, Y.C.; Ji, P.S.; Voice, T.C.; S.A. Boyd, S.A. Assessment of bioavailability of soil-sorbed atrazine. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, *69*, 3288-3298.
- [48] Bolan, N.S.; Baskaran, S. Biodegradation of 2,4-D herbicide as affected by its adsorption-desorption behaviour and microbial activity of soils. *Aust. J. Soil Res.*, 1996, *34*, 1041-1053.
- [49] Dyson, J.S.; Beulke, S.; Brown, C.D.; Lane, M.C.G. Adsorption and degradation of the weak acid mesotrione in soil and environmental fate implications. *J. Environ. Qual.*, 2002, *31*, 613-618.

- [50] Elliott, J.A.; Cesna, A.J.; Best, K.B.; Nicholaichuk, W.; Tollefson, L.C. Leaching rates and preferential flow of selected herbicides through tilled and untilled soil. *J. Environ. Qual.*, 2000, 29, 1650-1656.
- [51] Roulier, S.; Jarvis, N. Modeling macropore flow effects on pesticide leaching: Inverse parameter estimation using microlysimeters. *J. Environ. Qual.*, 2003, 32, 2341-2353.
- [52] Worrall, F.; Besien, T.; Kolpin, D.W. Groundwater vulnerability: interactions of chemical and site properties. *Sci. Total Environ.*, 2002, 299, 131-143.
- [53] Bhalerao, T. S.; Puranik, P. R. Biodegradation of organochlorine pesticide, endosulfan, by a fungal soil isolate, *Aspergillus niger*. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 2007, 59, 315-321.
- [54] Wyss, I.; Boucher, J.; Montero, A.; Marison, I. Micro-encapsulated organic phase for enhanced bioremediation of hydrophobic organic pollutants. *Enzyme Microb. Technol.*, 2006, 40, 25-31.
- [55] Giacomazzi, S.; Cochet, N. Environmental impact of diuron transformation: a review. *Chemosphere*, 2004, 56, 1021-1032.
- [56] Olette, R.; Couderchet, M.; Biagianni, S.; Eullaffroy, P. Toxicity and removal of pesticides by selected aquatic plants. *Chemosphere*, 2008, 70, 1414-1421.
- [57] Bouldin, J. L.; Farris, J. L.; Moore, M. T.; Smith, S. J.; Cooper, C. M. Hydroponic uptake of atrazine and lambda-cyhalothrin in *Juncus effusus* and *Ludwigia peploides*. *Chemosphere*, 2006, 65, 1049-1057.
- [58] Xia, H.; Xiangjuan, M. Phytoremediation of ethion by water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) from water. *Biores. Technol.*, 2006, 97, 1050-1054.
- [59] Amaya-Chavés, A.; Martínez, T. L.; López, L. E.; Galard, M. M. Methyl parathion toxicity to and removal efficiency by *Typha latifolia* in water and artificial sediments. *Chemosphere*, 2006, 63, 1124-1129.
- [60] Wu, J. G.; Luan, T. G.; Lan, C. Y.; Lo, T. W. H.; Chan, G. Y. S. Removal of residual pesticides on vegetable using ozonated water. *Food Control*, 2007, 18, 466-472.
- [61] Lasa, H.; Serrano, B.; Salaces, M. *Photocatalytic Reaction Engineering*. Springer, Germany, 2005, 263.
- [62] Carp, O.; Huisman, C. L.; Reller, A. Photoinduced reactivity of titanium dioxide. *Prog. Solid State Chem.*, 2004, 32, 33-177.
- [63] Kabra, K.; Chaudhary, R.; Sawheney, R. L. Treatment of Hazardous Organic and Inorganic Compounds through Aqueous-Phase Photocatalysis: a review. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2004, 43, 7683-7696.
- [64] Leyva, E.; Moctezuma, E.; Ruiz, M. G.; L. M.; Torres-Martínez, L. M. Photodegradation of phenol and 4-chlorophenol by BaO-Li<sub>2</sub>O-TiO<sub>2</sub> catalysts. *Catal. Today*, 1998, 40, 367-376.
- [65] Oh, Y.; Li, X.; Cubbage, J. W.; Jenks, W. S. Mechanisms of catalyst action in the TiO<sub>2</sub>-mediated photocatalytic degradation and cis-trans isomerization of maleic and fumaric acid. *Appl. Catal. B Environ.*, 2004, 54, 105-114.
- [66] Moctezuma, E.; Leyva, E.; Monreal, E.; Villegas, N.; Infante, D. Photocatalytic degradation of the herbicide "paraquat". *Chemosphere*, 1999, 39, 511-517.
- [67] Chen, D.; Ray, A. K. Photodegradation kinetics of 4-nitrophenol in TiO<sub>2</sub> suspension. *Water Res.*, 1998, 32, 3223-3234.
- [68] Canle-Lopez, M.; Santaballa, J. A.; Vulliet, E. On the mechanism of TiO<sub>2</sub>-photocatalyzed degradation of aniline derivatives. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 2005, 175, 192-200.
- [69] Moctezuma, E.; Leyva, E.; Palestino, G.; Lasa, H.; Photocatalytic degradation of methyl parathion: Reaction pathways and intermediate reaction products. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 2007, 186, 71-84.
- [70] Shemer, H.; Linden, K. G. Degradation and by-product formation of diazinon in water during UV and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment. *J. Hazard. Mater.*, 2006, 136, 553-559.
- [71] Chiron, S.; Fernandez-Alba, A. R. Pesticide Chemical oxidation processes: an analytical approach. *Trac-Trends Anal. Chem.*, 1997, 16, 518-527.
- [72] Arbeli, Z.; Fuentes, C. L. Accelerated biodegradation of pesticides: An overview of the phenomenon, its basis and possible solutions; and a discussion on the tropical dimension. *Crop Prot.*, 2007, 26, 1733-1746.
- [73] Penuela, G. A.; Barceló, D. Application of C18 disks followed by gas chromatography techniques to degradation kinetics, stability and monitoring of endosulfan in water. *J. Chromatogr. A*, 1998, 795, 93-104.
- [74] Prevot, A. B.; E. Pramauro, E. Analytical monitoring of photocatalytic treatments. Degradation of 2,3,6-trichlorobenzoic acid in aqueous TiO<sub>2</sub> dispersions. *Talanta*, 1999, 48, 847-857.
- [75] Blanco, J.; Minero, C.; Pelizzetti, E.; Malato, S. Large solar plant photocatalytic water decontamination degradation of atrazine. *Solar Energy*, 1996, 56, 411-419.
- [76] Konstantinou, I. K.; Zarkadis, A. T.; Albanis, T. A. Photodegradation of selected herbicides in various natural waters and soils under environmental conditions. *J. Environ. Qual.*, 2001, 30, 121-130.
- [77] Herrmann, J. M.; Guillard, C.; Arguello, M.; Guera, A.; Tejedor, A.; L. Piedra, L.; Fernández-Alba, A. Photocatalytic degradation of pesticide pirimiphos-methyl. Determination of the reaction pathway and identification of intermediate products by various analytical methods. *Catal. Today*, 1999, 54, 353-367.
- [78] Shankar, M. V.; Anandan, S.; Venkatachalam, N.; Arabindoo, B.; Murugesan, V. Novel thin-film reactor for photocatalytic degradation of pesticides in aqueous solutions. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 2004, 79, 1279-1285.
- [79] Kuo, W. S. Photocatalytic oxidation of pesticide rinsate. *J. Environ. Sci. Health, Part B: Pesticides, Food Contam. Agric. Wastes*, 2002, 37, 65-74.
- [80] Uygun, U. Degradation of chlorfenvinphos in carrots during storage. *Food Chemistry*, 1997, 60, 479-487.
- [81] Rafiqah, S.; Wong-Wah-Chung, P.; Aamili, A.; Sarakha, M. Degradation of metsulfuron methyl by heterogeneous photocatalysis on TiO<sub>2</sub> in aqueous suspensions Kinetic and analytical studies. *J. Mol. Catal. A Chem.*, 2005, 237, 50-59.
- [82] Wang, Q.; Lemley, A. T. Kinetic Model and Optimization of 2,4-D degradation by nodic Fenton Treatment. *Environ. Sci. Technol.*, 2001, 35, 4509-4514.
- [83] Gennaro, M. C.; E. Marengo, E.; Gianotti, V.; Maurino, V. New strategies for the determination of phenylurea pesticides by gas chromatography with hot splitless inlet systems. *J. Chromatogr. A*, 2001, 910, 79-86.
- [84] Sasano, R.; Hamada, T.; Kurano, M.; Furuno, M. On-line coupling of solid-phase extraction to gas chromatography with fast solvent vaporization and concentration in an open injector liner. Analysis of pesticides in aqueous samples. *J. Chromatogr. A*, 2000, 896, 41-49.
- [85] Nelieu, S.; Stobiecki, M.; Einhorn, J. Tandem solid-phase extraction of atrazine ozonation products in water. *J. Chromatogr. A*, 2000, 866, 195-201.
- [86] Pereira, W. E.; Rostad, C. E.; Leiker, T. J. Determination of trace levels of herbicides and their degradation products in surface and ground waters by gas chromatography/ion-trap mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 1990, 228, 69-75.
- [87] Faria, A. M.; Maldaner, L.; Santana, C. C.; Jardim, I. C. S. F.; Collins, C. H. Poly(methyltetradecylsiloxane) immobilized onto silica for extraction of multiclass pesticides from surface waters. *Anal. Chim. Acta*, 2007, 582, 34-40.
- [88] Sandra, P.; Beltran, J.; David, F. Enhanced selectivity in the determination of triazines in environmental samples by benchtop GC-MS-MS. *J. High Resol. Chromatogr.*, 1995, 18, 545-50.
- [89] Carreteru, C.; Kerbaol, N.; Peron, J. J. Contribution to the analysis of triazines in water by gas chromatography and ion trap tandem mass spectrometry. *Analisis*, 1996, 24, 336-343.
- [90] Watts, C. D.; Clark, L.; Hennings, S.; Moore, K.; Parker, C.; Craithorne, B.; Angeletti, G. Pesticides: analytical requirements for compliance with EEC directives. *Water Pollut. Res.*, 1989, 16-34.
- [91] Pichon, V. Multiresidue solid-phase extraction for trace-analysis of pesticides and their metabolites in environmental water. *Analisis*, 1998, 26, M91-M98.
- [92] Thurman, E. M.; Meyer, M.; Pomes, M.; Perry, C. A.; Schwab, P. Enzyme-Linked-Immunoassay Compared with Gas-Chromatography Mass-Spectrometry for the Determination of Triazine Herbicides in water. *Anal. Chem.*, 1990, 62, 2043-2048.
- [93] Pichon, V.; Hennion, M. C.; Determination of pesticides in environmental waters by automated online trace-enrichment and liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 1994, 665, 269-81.
- [94] Dugay, J.; Miegue, C.; Hennion, M. C. Effect of the various parameters governing solid-phase microextraction for the trace-determination of pesticides in water. *J. Chromatogr. A*, 1998, 795, 27-42.
- [95] Penuela, G. A.; Barceló, D. Comparative degradation kinetics of alachlor in water by photocatalysis with FeCl<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub> and photoly-

- sis, studied by solid-phase disk extraction followed by gas chromatographic techniques. *J. Chromatogr. A*, 1996, 754, 187-195.
- [96] Chiron, S.; Fernandez-Alba, A.; Rodriguez, A.; Garcia-Calvo, E. Pesticide chemical oxidation: state-of-the-art. *Water Res.*, 2000, 34, 366-377.
- [97] Chiron, S.; Fernandez-Alba, A.; Barcelo, D. Comparison of on-line solid-phase disk extraction to liquid-liquid extraction for monitoring selected pesticides in environmental waters. *Environ. Sci. Technol.*, 1993, 27, 2352-2359.
- [98] Miese, C.; J. Dugay. Solide-phase microextraction and gas chromatography for rapid analysis of pesticides. *Analyst*, 1998, 26, M137-M143.
- [99] Navalon, A.; Prieto, A.; Aratijo, L.; Vilchez, L.J. Determination of oxadiazon residues by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 2002, 946, 239-245.
- [100] Carvalho, P. N.; Rodrigues, P. N.; Alves, F.; Evangelista, R.; Basto, M.C.P.; Vasconcelos, M.T.S.D.; An expeditious method for the determination of organochlorine pesticides residues in estuarine sediments using microwave assisted pre-extraction and automated headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *Talanta*, 2008, 76, 1124-1129.
- [101] Xiang, L.; Li, C.; Chen, J.; Li, C.; Sun, C. Polythiophene as a novel fibre coating for solid-phase microextraction. *J. Chromatogr. A*, 2008, 1199, 7-13.
- [102] Gupta, M.; Pillai, A.K.K.V.; Jain, A.; Verma, K.K. Coupled in-tube and on-fibre solid-phase microextractions for cleanup and preconcentration of organic micropollutants from aqueous samples and analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 2008, 618, 61-69.
- [103] Djozan, D.; Ebrahimi, B. Preparation of new solid phase micro extraction fiber on the basis of atrazine-molecular imprinted polymer. Application for GC and GC-MS screening of triazine herbicides in water, rice and onion. *Anal. Chim. Acta*, 2008, 616, 152-159.
- [104] Zeng, J.; Yu, B.; Chen, W.; Lin, Z.; Zhang, L.; Lin, Z.; Chen, X.; Wang, X. Application of ceramic/carbon composite as a novel coating for solid-phase microextraction. *J. Chromatogr. A*, 2008, 1188, 26-33.
- [105] Silva, F.C.; Cardeal, Z.L. Determination of organophosphorus pesticides in water using SPME-GC-MS. *Quim. Nova*, 1999, 22, 197-200.
- [106] Capobianco, H.L.V.; Cardeal, Z.L. A solid-phase microextraction method for the chromatographic determination of organophosphorus pesticides in fish, water, potatoes, guava and coffee. *J. Braz. Chem. Soc.*, 2005, 16, 907-914.
- [107] Fernandez-Alvarez, M.; Llompert, M.; Lamas, J. P.; Lores, M.; Garcia-Jares, C.; Cela, R.; Dagnac, T. Development of a solid-phase microextraction gas chromatography with microelectron-capture detection method for a multiresidue analysis of pesticides in bovine milk. *Anal. Chim. Acta*, 2008, 617, 37-50.
- [108] Basheer, C.; Alnediary, A. A.; Rao, B.S.M.; Lee, H. K. Determination of organophosphorus pesticides in wastewater samples using binary-solvent liquid-phase microextraction and solid-phase microextraction: A comparative study. *Anal. Chim. Acta*, 2007, 605, 147-152.
- [109] Lambropoulou, D.; Albanis, T. A. Application of hollow fiber liquid phase microextraction for the determination of insecticides in water. *J. Chromatogr. A*, 2005, 1072, 55-61.
- [110] Xiong, J.; Hu, B. Comparison of hollow fiber liquid phase microextraction and dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of organosulfur pesticides in environmental and beverage samples by gas chromatography with flame photometric detection. *J. Chromatogr. A*, 2008, 1193, 7-18.
- [111] Nêlieu, S.; Stobiecki, M.; Einhorn, J. Tandem solid-phase extraction of atrazine ozonation products in water. *J. Chromatogr. A*, 2000, 866, 195-201.
- [112] Prevot, A.B.; Pramauro, E. Analytical monitoring of photocatalytic treatments. Degradation of 2,3,6-trichlorobenzoic acid in aqueous TiO<sub>2</sub> dispersions. *Talanta*, 1999, 48, 847-857.
- [113] Ravelo-Pérez, R. M. L.; Borges, J. H.; Miquel, T. M.B.; Delgado, M. A. R. Pesticides analysis in tomatoes by solid-phase microextraction and micellar electrokinetic chromatography. *J. Chromatogr. A*, 2008, 1185, 151-154.
- [114] Steen, R.J.C.A.; Freriks, I.L.; Cofino, W.P.; Brinkman, U.A. Large-volume injection in gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry for the determination of pesticides in the marine environment at the low ng/l level. *Anal. Chim. Acta*, 1997, 353, 153-163.
- [115] Magnuson, M.L.; Speth, T.F.; Kely, C.A. Determination of interfering triazine degradation products by gas chromatography-ion trap mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 2000, 868, 115-119.
- [116] Kouloumbos, V. N.; Tsiipi, D. F. Identification of photocatalytic degradation products of diazinon in TiO<sub>2</sub> aqueous suspensions using GC-MS-MS and LC-MS with quadrupole time-of-line mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 2003, 14, 803-817.
- [117] Kowal, S.; Balsaa, P.; Werres, F. Determination of the polar pesticide degradation product N,N-dimethylsulfamide in aqueous matrices by UPLC-MS-MS. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2009, 395, 1787-1794.
- [118] Hernández, F.; Sancho, J.V.; Ibáñez, M. Gimalt, S. Investigation of pesticide metabolites in food and water by LC-TOF-MS. *Trac-Trends Anal. Chem.*, 2008, 27, 862-872.
- [119] Jeannot, R.; Sauvard, E. High-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry applied to analyses of pesticides in water. Results obtained in HPLC-MS-MS-APCI in positive mode. *Analysis*, 1999, 27, 271-280.
- [120] Banerjee, K.; Patil, S. H.; Dasgupta, S.; Oulkar, D. P.; Patil, S. B.; Savant, R. Adsule, P. Optimization of separation and detection conditions for the multiresidue analysis of pesticides in grapes by comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 2008, 1190, 350-357.
- [121] Khummueng, W.; Trenerry, C.; Rose, G.; Marriott, P. J. Application of comprehensive two-dimensional gas chromatography with nitrogen-selective detection for the analysis of fungicide residues in vegetable samples. *J. Chromatogr. A*, 2006, 1131, 203-214.
- [122] Dalluge, J.; Rijn, M. V.; Beens, J.; Vreuls, J. J.; Brinkman, U.A. T. Comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry detection applied to the determination of pesticides in food extracts. *J. Chromatogr. A*, 2002, 965, 207-217.
- [123] Zrostlíková, J.; Hajslová, J.; Cajka, T. Evaluation of two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry for the determination of multiple pesticide residues in fruit. *J. Chromatogr. A*, 2003, 1019, 173-186.

*Anexo 2*

**“ARTIGO DE DEGRADAÇÃO”**

## Degradation of Prototype Pesticides Submitted to Conventional Water Treatment Conditions: The Influence of Major Parameters

Amauri G. Souza · Leticia M. Costa ·  
Rodinei Augusti · Zenilda L. Cardeal

Received: 20 August 2009 / Accepted: 7 December 2009 / Published online: 13 January 2010  
© Springer Science+Business Media B.V. 2009

**Abstract** The behavior of several pesticides in aqueous solution, namely bifenthrin, amethrin (pyrethroid insecticides), endosulfan and endosulfan sulfate (organochlorine pesticides), disulfoton, methyl pyrimiphos, and phorate (organophosphorus pesticides), submitted to the conditions typically employed in water treatment stations was investigated. Continuous pesticide depletion was monitored by solid-phase microextraction sampling followed by gas chromatography–mass spectrometry analysis. The influence of major parameters (sodium hypochloride concentration, solution pH, and exposure time to ultraviolet (UV) light) was, thus, adequately established via two complementary approaches: factorial ( $2^3$ , three variables—two levels) and Doehlert designs. Hence, the sodium hypochloride concentration and the solution pH produced distinct effects depending on the pesticide evaluated (for instance, acidic and basic media caused increasing rates of degradation for the organophosphorus/pyrethroid and organochlorine pesticides, respectively). Conversely, higher rates of degradation were achieved for all of the pesticides investigated when increased exposure times to UV radiation were employed. Finally, the exposure time

to UV radiation that lead to complete degradation of disulfoton and endosulfan sulfate (organophosphorus and organochlorine pesticides, respectively) in aqueous media under ordinary conditions employed in water treatment stations was established; disulfoton and endosulfan sulfate were completely degraded after 10 and 40 h, respectively.

**Keywords** Organochlorine · Organophosphorus · Pyrethroid pesticides · Degradation · Sodium hypochloride · pH · UV irradiation

### 1 Introduction

Uncontrolled use of agrochemicals, many of which are banned in numerous countries, has generated increasing concern throughout the world as a result of the irreparable damages to the environment these substances may cause. It is disconcerting that the traditional treatment processes are not adequately efficient at removing these pesticides completely from the water supplies; therefore, they are distributed and consumed by the population (Miltner et al. 1989).

Studies have shown that ultraviolet (UV) radiation (usually employed to mimic solar effects) is capable of degrading many organic contaminants, including pesticides (Lunak and Sedlak 1992; Rosenfeldt and Linden 2007). UV radiation can initiate numerous chemical reactions, primarily hydrolysis, photolysis, and oxidation (Pelizzetti 1995). Alternatively, it can

A. G. Souza · L. M. Costa · R. Augusti · Z. L. Cardeal (✉)  
Chemistry Department, ICEx,  
Federal University of Minas Gerais,  
Avenida Antonio Carlos 6627,  
31270-901 Belo Horizonte, MG, Brazil  
e-mail: zenilda@ufmg.br

be absorbed by other molecules (usually water) to produce highly reactive species, such as hydroxyl radicals ( $\text{OH}\cdot$ ), solvated electrons, and molecular oxygen, that promptly attack and destroy target contaminants (Baxter and Carey 1983). Many pesticides have been degraded upon exposure to UV radiation yielding products with lower toxicity and with lesser capability to cause remarkable environmental injuries than the primary precursor (Legrini et al. 1993; Chiron et al. 1997; Fernandez-Alvarez et al. 2008). Usually, these UV-stimulated degradation reactions are favored in acidic aqueous solutions (Liao and Gurol 1995; Ince and Gonenc 1997).

Organophosphorus pesticides (OP), which characteristically bear the reactive P=O or P=S functionalities in their structures, are quickly and easily degraded in aqueous media under ordinary conditions. For instance, Gratzel et al. (1990) and Doong and Chang (1997) observed that some organophosphorus pesticides were completely mineralized in an aqueous acidic solution (pH 4.5) after 2 h of exposure to UV light at ambient temperature. In an analogous report, Saïen and Khezrianjoo (2008) verified that the organophosphorus fungicide, carbezini, underwent complete mineralization in an aqueous solution (pH 6.73) after 75 min of exposure from a UV lamp. Additionally, the organophosphorus pesticide, dimethoate, was completely degraded by a number of microorganisms yielding environmentally harmless products (Tago et al. 2006; Liu et al. 2004).

Organochlorine pesticides (OC), which contain highly condensed aromatic rings, carbon–chlorine bonds, and/or quaternary carbon atoms in their chemical structures, usually exhibit lower solubility in water as well as higher stability and resistance toward degradation than organophosphorus agrochemicals (Kerzhentsev et al. 1996; Malato et al. 1999). Additionally, organochlorine pesticides and their metabolites usually possess extremely high toxicity as they may inhibit a number of vital enzymatic processes. Recent studies have elucidated the effects of UV radiation and pH on the degradation of this class of pesticides (Duirk and Collete 2006). For instance, Yu et al. (2007) verified that the organochlorine pesticides,  $\alpha$ -BHC,  $\beta$ -BHC,  $\delta$ -BHC,  $\gamma$ -BHC, cipermetrine, and dicophol, in aqueous media were completely converted into  $\text{CO}_2$  and HCl at ambient temperature after 60 min of exposure to UV light. The authors suggested that the process of

degradation proceeded via attack of the reactive hydroxyl ( $\text{OH}\cdot$ ) and hydroperoxyl ( $\text{OOH}\cdot$ ) radicals, generated in situ upon interaction of UV light with  $\text{H}_2\text{O}$  and atmospheric  $\text{O}_2$ , on the target compounds. In a related report, Oancea and Oncescu (2008) also verified that in situ generated radicals (including  $\text{O}_2\cdot$ ,  $\text{CO}_3\cdot^-$ , and  $\text{HCO}_3\cdot$  among many others) could promote rapid mineralization of numerous organochlorine pesticides in aqueous media. The relevance of this subject is verified by other examples in recent literature that describe the role of UV light and solution pH on the depletion of organochlorine pesticides in aqueous media. Studies include, for example, the research by Masten and Davies (1994), Zhang and Pehkonen (1999), Oancea and Oncescu (2008), and Ballesteros Martín et al. (2008).

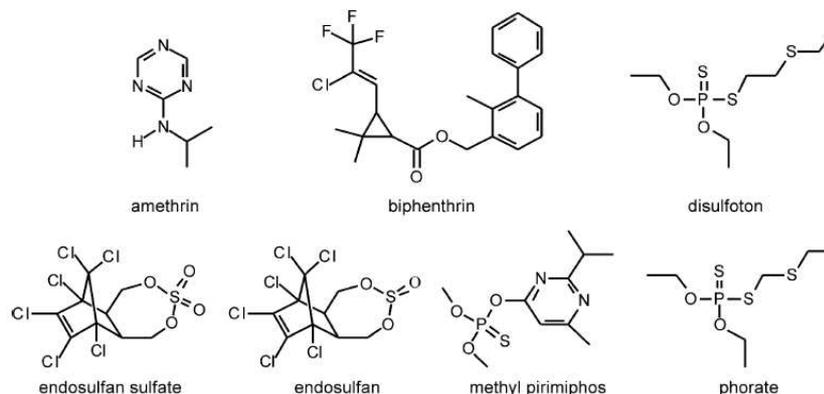
In the present paper, degradation of the prototype organophosphorus, organochlorine, and pyrethroid pesticides (the chemical structures of the pesticides evaluated herein are shown in Scheme 1) in aqueous solution induced by important factors employed in a conventional water treatment station (sodium hypochloride concentration, solution pH, and UV light exposure time) is investigated. The reactions are monitored by inserting a solid-phase microextraction (SPME) fiber directly into the reaction vessel and analyzing the extracted materials by gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS). To determine the predominant effects of these factors, as well as possible interactions between them, a  $2^3$  factorial design (two levels for each of the three factors) with a central point is constructed. In addition, the experimental data is also used to build response surfaces (via the Doehlert approach), which aim to estimate the optimized conditions that furnish the maximum rate of degradation for each pesticide. Finally, the exposure time to UV radiation that yields complete degradation of disulfoton and endosulfan sulfate (organophosphorus and organochlorine pesticides, respectively) in aqueous media under the ordinary conditions employed in water treatment stations is established.

## 2 Methodology

### 2.1 Chemicals

The pesticides, bifenthrin, amethrin, endosulfan, endosulfan sulfate, disulfoton, methyl pyrimiphos,

**Scheme 1** Chemical structures of the pesticides studied in this paper



and phorate, were purchased from Supelco (Bellefonte, USA) and were used as received. Stock solutions of each pesticide were prepared at concentrations of  $200 \text{ mg L}^{-1}$  with chromatographic grade ethanol (Merck, Germany).

## 2.2 Reactions

Stock solutions were diluted with ultrapure Milli-Q (Milford, MA, USA) water to final concentrations of  $20 \text{ mg L}^{-1}$ . Diluted solutions ( $50 \text{ mL}$ ) were then transferred to glass beakers, and their pH was adjusted by dropping phosphoric acid,  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  (Synth, São Paulo, Brazil), or sodium hydroxide,  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  (Synth, São Paulo, Brazil). Specific amounts of pure sodium hypochlorite (Synth, São Paulo, Brazil) were added to these solutions to achieve the concentrations as per the factorial designs (see following in this paper). The resulting solutions were then transferred to a fabricated chamber where a UV lamp ( $254 \text{ nm}$ ,  $15 \text{ W}$ , Philips TUV G5T8) was installed. Under constant stirring, the solutions were subsequently exposed to UV radiation for specified times (see following in this paper).

## 2.3 Sampling

A  $100\text{-}\mu\text{m}$  polydimethylsiloxane fiber (Supelco, Bellefonte, PA, USA) was selected for the present study as consistent results were obtained from our laboratory in previous works (Silva et al. 1999; Capobianco and Cardeal 2005; Cardeal and Paes 2006). The fiber was directly immersed into the aqueous solutions ( $15 \text{ mL}$ , placed in  $20\text{-mL}$  flasks tightly closed with

Teflon stopcocks) for  $30 \text{ min}$  at  $40^\circ\text{C}$  under magnetic stirring. To promote desorption of the analytes (the pesticides and likely their degradation products), the fiber was inserted into the chromatograph injector (set at  $250^\circ\text{C}$  and running in splitless mode) for  $5 \text{ min}$ .

## 2.4 Instrumentation

The analyses were conducted on a GC–MS (Trace Ultra and Polaris-Q Ion Trap, respectively) (Thermo-Electron, San Jose, CA). The mass spectrometer was adjusted to operate in the electron ionization (positive) mode (at  $70 \text{ eV}$ ) with a scan range of  $m/z$   $50\text{--}650$ . The source and transfer line temperatures were set to  $200^\circ\text{C}$  and  $275^\circ\text{C}$ , respectively. The helium flow rate was  $1.2 \text{ mL min}^{-1}$ . A HP-5MS capillary column (Agilent, Germany) with dimensions of  $30 \text{ m}$  (length)  $\times$   $0.25 \text{ mm}$  (internal diameter)  $\times$   $0.25 \mu\text{m}$  (film thickness) was used. The temperature program was as follows:  $60^\circ\text{C}$  for  $2 \text{ min}$ ,  $15^\circ\text{C min}^{-1}$  up to  $160^\circ\text{C}$  (hold time of  $10 \text{ min}$ ),  $20^\circ\text{C min}^{-1}$  up to  $280^\circ\text{C}$  (hold time of  $10 \text{ min}$ ),  $10^\circ\text{C min}^{-1}$  up to  $300^\circ\text{C}$  (hold time of  $2 \text{ min}$ ). The quantification was performed by a calibration curve with standard solutions in a range of  $0.1$  to  $20 \mu\text{g L}^{-1}$ .

## 2.5 Factorial Design

To establish the effects of the three most significant variables, i.e., the sodium hypochlorite concentration ( $C_{\text{NaClO}}$ ), solution pH, and exposure time to UV radiation ( $\text{UV}_{\text{time}}$ ), on the degradation of the above-mentioned pesticides (Scheme 1) in aqueous medium,  $2^3$  full factorial designs for all of the pesticides were

constructed. These factorials consisted of 11 experiments that comprised combinations of the variables at their maximum (+1), minimum (−1), and central point (0) levels (see, for instance, Table 1 that shows the whole set of data regarding the pesticide, phorate). For the  $C_{\text{NaClO}}$  (sodium hypochlorite concentration), the three levels evaluated were: 0 (−1), 2.0 (+1), and 1.0 (0)  $\text{mg L}^{-1}$ . pH values of 4 (−1), 10 (+1), and 7 (0) were chosen as the minimum, maximum, and central points, respectively. The exposure time to UV radiation ( $UV_{\text{time}}$ ) evaluated were: 30 (−1), 120 (+1), and 75 (0) min. The degradation rates (responses) were calculated as the reduction in the GC–MS peak area in relation to that of the initial solution of the pesticides. To estimate experimental error, experiments at the central points were performed in triplicate.

Based on the results of the factorial designs, Doehlert matrices were built to obtain surface responses (chromatographic peak area as a function of pH and  $UV_{\text{time}}$ ) for all of the pesticides (Table 2 displays, for instance, the data regarding the pesticide, phorate). In all of these experiments,  $C_{\text{NaClO}}$  was maintained constant at 2  $\text{mg L}^{-1}$  (its highest level).

**Table 1** Full factorial design ( $2^3$ ) showing the responses (chromatographic peak area) for the pesticide phorate in aqueous solution degraded under assorted conditions

Number	pH <sup>a</sup>	$C_{\text{NaClO}}$ ( $\text{mg L}^{-1}$ ) <sup>b</sup>	$UV_{\text{time}}$ (min) <sup>c</sup>	Area (mV)
1	4 (−1)	0 (−1)	30 (−1)	1,335,783
2	10 (+1)	0 (−1)	30 (−1)	1,239,905
3	4 (−1)	2 (+1)	30 (−1)	7,646
4	10 (+1)	2 (+1)	30 (−1)	762,802
5	4 (−1)	0 (−1)	120 (+1)	763,055
6	10 (+1)	0 (−1)	120 (+1)	1,040,700
7	4 (−1)	2 (+1)	120 (+1)	1,064,813
8	10 (+1)	2 (+1)	120 (+1)	777,701
9	7 (0)	1 (0)	75 (0)	759,528
10	7 (0)	1 (0)	75 (0)	762,019
11	7 (0)	1 (0)	75 (0)	2,486

The values between parenthesis refer to the coded values of the variables at their minimum (−1), maximum (+1), and central points (0)

<sup>a</sup>  $C_{\text{NaClO}}$  = sodium hypochlorite concentrate

<sup>b</sup> pH = solution pH

<sup>c</sup>  $UV_{\text{time}}$  = exposure time to the UV radiation

The experiments (such as the ones shown in Tables 1 and 2) were performed in random order. A confidence interval of 95% was used to determine the most significant effects. The calculations, including Pareto's plots and response surfaces, were carried out by Statistica software, version 6.0.

### 3 Results and Discussion

Full factorial designs ( $2^3$ ) were built to directly estimate the influence of the most significant parameters (variables), i.e., the sodium hypochlorite concentration ( $C_{\text{NaClO}}$ ), solution pH (pH), and exposure time to the UV radiation ( $UV_{\text{time}}$ ), on the degradation of the pesticides, bifenthrin, amethrin (pyrethroids), endosulfan sulfate, endosulfan (organochlorines), disulfoton, pyrimiphos-methyl, and phorate (organophosphorus), in aqueous media.

A typical full factorial design ( $2^3$ ) and the corresponding responses (chromatographic peak areas) for the pesticide, phorate, is shown in Table 1. Identical factorial designs (not shown) were also built for the other pesticides. The values for the three variables were chosen aiming to simulate a water treatment station or even to mimic the conditions found in a natural environment.

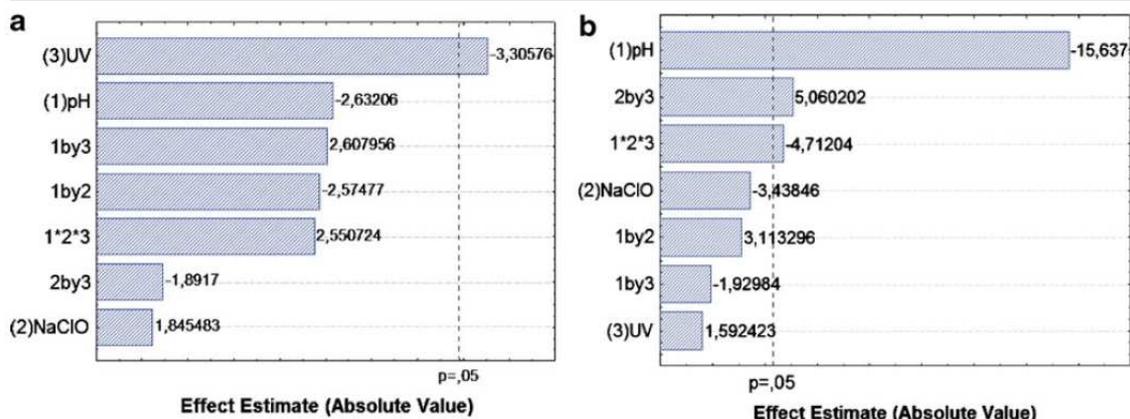
From the data of such factorial designs, Pareto's plots for each pesticide were obtained (see, for instance, Fig. 1 that shows Pareto's plots obtained for the pesticides, endosulfan and phorate). Pareto's

**Table 2** Doehlert matrix showing the real and coded (between parenthesis) variables ( $UV_{\text{time}}$  and pH) with the respective responses (chromatographic peak area) for the pesticide phorate

Number	$UV_{\text{time}}$ (min) <sup>a</sup>	pH <sup>b</sup>	Area (mV)
1	90 (−0.5)	7 (+0.866)	104,821
2	150 (+0.5)	7 (+0.866)	50,833
3	60 (−1)	4.5 (0)	553,296
4	180 (+1)	4.5 (0)	175,624
5	90 (−0.5)	2 (−0.866)	197,715
6	150 (+0.5)	2 (−0.866)	190,506
7	120 (0)	4.5 (0)	174,639
8	120 (0)	4.5 (0)	51,603
9	120 (0)	4.5 (0)	32,786

<sup>a</sup>  $UV_{\text{time}}$  = exposure time to the UV radiation

<sup>b</sup> pH = solution pH



**Fig. 1** Pareto's graphs related to the degradation of the following pesticides in aqueous media: (a) phorate and (b) endosulfan. These plots were constructed based on the results

graph indicates the magnitude and significance of the effects of each single variable, as well as higher interactions, and contains a reference line so that any effect that goes beyond this line is potentially important (a confidence level of 95% was used herein). The results show that each pesticide analyzed has a unique behavior. Hence, for bifenthrin (pyrethroid) and disulfoton (OP), a negative effect of  $C_{NaClO}$  (the only significant variable) indicated that higher values of  $C_{NaClO}$  yielded lower degradation rates (higher chromatographic peak areas). For methyl pyrimiphos (OP), a positive effect of pH (again the unique significant variable) on the response meant that lower degradation yields (greater chromatographic peak areas) were achieved at higher pH values (basic medium). On the other hand, the degradation of endosulfan (OC) was significantly affected by pH (higher values of pH, basic media, enable higher rates of degradation), by the secondary interaction  $UV_{time} \times C_{NaClO}$ , and also by the tertiary interaction  $UV \times C_{NaClO} \times pH$ . A negative effect was observed for  $UV_{time}$  for phorate (OP), which means that higher degradation rates (lower chromatographic peak areas) are obtained by increasing the exposure time to UV radiation. The other pesticides evaluated (amethrin and endosulfan sulfate) appeared not to be significantly affected by any variables, at least in this experimental domain.

As revealed by the results herein described, the effects of pH,  $UV_{time}$ , and  $C_{NaClO}$  were not identical for each pesticide. To gain new insight into this

achieved from the factorial design of each pesticide (see, for instance, Table 1 that shows the data matrix for the pesticide, phorate)

matter, Doehlert matrices were, thus, constructed, and surface responses (degradation rate as a function of pH and  $UV_{time}$ ) were drawn to determine the values of both parameters to maximize the rate of degradation for each pesticide within the experimental scope investigated. In these experiments, a  $C_{NaClO}$  of  $2 \text{ mg L}^{-1}$ , the same concentration commonly used in water treatment stations was employed. Furthermore, the experimental ranges chosen (Table 2) for the pH variables, from pH 2 (acidic) to 7 (neutral), and a high amount of  $UV_{time}$ , from 90 to 150 min, reflect the conditions commonly found in water resources in a tropical country, such as Brazil. Table 2 comprises a Doehlert matrix with the corresponding responses (chromatographic peak area) for the degradation of the pesticide, phorate. Identical designs (not shown) were also built for the other pesticides. Based on these data, response surfaces were then obtained for each pesticide, and the result for phorate is shown in Fig. 2.

Note that, in Fig. 2, a point of minimum (corresponding to a maximum of degradation) in the surface response was observed with the following coordinates:  $pH=4$  and  $UV_{time}=140$  min. This finding is consistent with the results described in a previous study (Acero et al. 2008), which reported that organophosphorus pesticides (including phorate) were more easily degraded in acidic media when exposed to more UV light. Contrary to the result obtained for phorate, the response surfaces for the other pesticides (not shown) displayed no apexes. However, as a general trend, these surfaces indicated that the

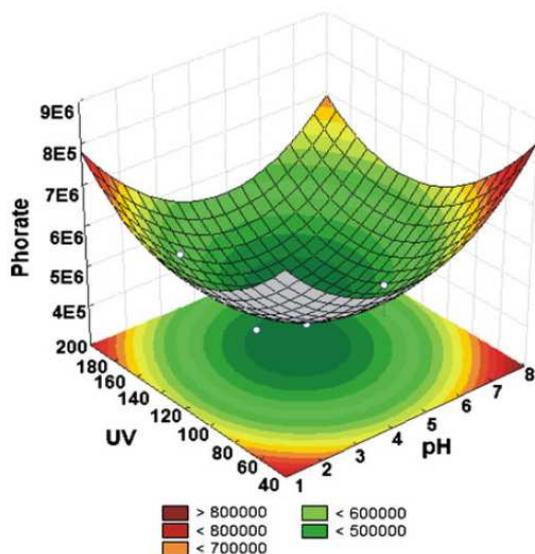


Fig. 2 Response surface (chromatographic peak area as a function pH and  $UV_{time}$ ) for the pesticide phorate

degradation of all of the pesticides was favored by longer  $UV_{time}$ . Furthermore, these drawings also revealed that the degradation of pyrethroid (amethrin and bifenthrin) and organophosphorus (methyl pyrimiphos and disulfoton) pesticides tend to be improved in acidic conditions. Conversely, the depletion of the organochlorine pesticide (endosulfan sulfate) seemed to be enhanced at a higher pH (slightly basic medium). Finally, the attainment of surfaces with top points (truly optimized responses) for all of the pesticides would demand the execution of additional

assays with an expanded experimental scope. These extra trials were not performed herein.

### 3.1 Complete Degradation of the Prototype Organochlorine and Organophosphorus Pesticides under the Typical Conditions Employed in Water Treatment Stations

Experiments with typical conditions employed in water treatment systems were conducted to determine the exposure time to UV radiation that would produce complete degradation of prototype pesticides in aqueous solution. The following pesticides were selected for this study: endosulfan sulfate and disulfoton (organochlorine and organophosphorus, respectively). Aqueous solutions of these pesticides at pH 2, 4.5, and 7 and with a sodium hypochlorite concentration of  $2 \text{ mg L}^{-1}$  were prepared and were irradiated with UV light. The depletion of these pesticides was continuously monitored during 60 h (via the SPME–GC/MS approach as described in the Section 2), and the results are shown in Fig. 3.

The results indicated that complete degradation of each pesticide was achieved roughly at the same time regardless of the solution pH. In addition, complete degradation of disulfoton was reached in a much shorter exposure time (ca. 10 h) than endosulfan sulfate (ca. 40 h). Similar results were reported by other authors (Bali et al. 2003), who also verified that under identical experimental conditions (in an acidic media) organophosphorus pesticides tend to be much more susceptible to degradation than organochlorine varieties. The explanation for this unusual behavior is

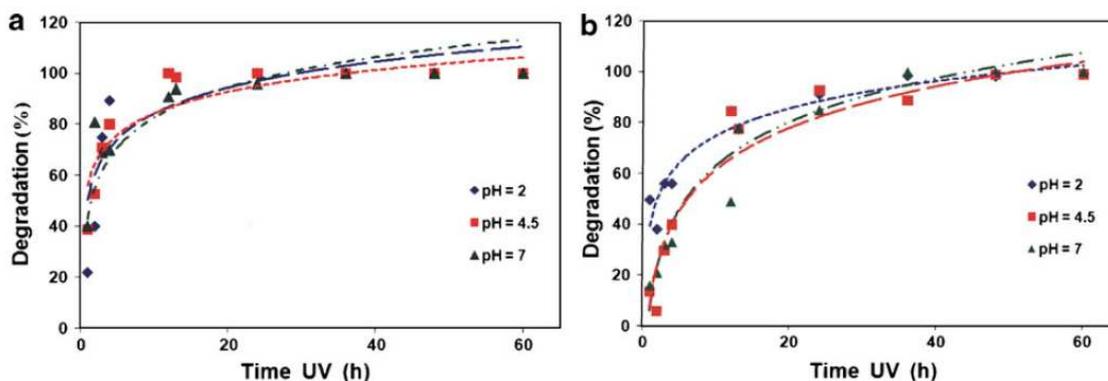


Fig. 3 Degradation of the pesticides, disulfoton (a) and endosulfan sulfate (b), in aqueous solution (at pH 2, 4.5, and 7) monitored as a function of exposure time to the UV radiation. The sodium hypochlorite concentration used in all of these assays was  $2 \text{ mg L}^{-1}$

probably related to the the P=O and P=S functionalities, present in the chemical structures of the former pesticides, which can be easily attacked by a number of reactive species, such as hydroxyl radicals, probably formed under these reaction conditions (Acero et al. 2008).

However, Acero et al. (2008) apparently obtained a distinct result during the investigation of the degradation of three organophosphorus pesticides (chlorpyrifos, chlorphenvinfos, and diazinon) by gaseous chlorine in aqueous solution at slightly basic and acidic conditions and in a temperature range from 11 to 30°C. After 4 h of exposure to an UV source, the pesticides were completely destroyed. The authors concluded that the species, HOCl (hypochlorous acid), formed under these mild conditions upon the reaction between Cl<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O, played a major role in this process. This noticeable discrepancy relative to the results obtained herein is certainly associated to the distinct conditions employed in both experimental designs.

#### 4 Conclusions

The influence of major parameters (sodium hypochlorite concentration, solution pH, and exposure time to UV light), which are proven to be essential in attaining pure water in treatment stations, on the degradation of the following prototype pesticides: bifenthrin, amethrin (pyrethroid), endosulfan, endosulfan sulfate, (organochlorine), disulfoton, methyl pyrimiphos, and phorate (organophosphorus), was evaluated. Depletion of the pesticides was conveniently monitored by SPME–GC/MS, which proved to be a sensitive and reproducible approach. The experiments were rationally planned by applying factorial designs to evaluate the influence of each variable. Response surfaces (degradation rate as a function of pH and UV<sub>time</sub>) were also drawn via the construction of Doehlert matrices. As a general trend, these data indicated that the degradation of the pesticides was favored by longer exposure times to UV radiation. Conversely, the degradation of the pyrethroid/organophosphorus and organochlorine pesticides appeared to be improved by acidic and basic media, respectively. The total degradation of two prototype organochlorine and organophosphorus pesticides (endosulfan sulfate and disulfoton, respectively)

under the conditions usually employed in water treatment stations was also accomplished. The results revealed that the organochlorine pesticide was much more persistent than the organophosphorus agrochemical. The present study, thus, demonstrated that the degradation of the pesticides in natural waters, especially when submitted to lower pH and exposed to solar radiation, can be strongly enhanced.

**Acknowledgments** Funding for this study was provided by the Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

#### References

- Acero, J. L., Benite, F. J., Real, F. J., & Gonzalez, M. (2008). Chlorination of organophosphorus pesticides in natural waters. *Journal of Hazardous Materials*, *153*, 320–328.
- Bali, U., Catalkaya, E. C., & Senguel, F. (2003). Photochemical degradation and mineralization of phenol; a comparative study. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, *A38*(10), 2259–2275.
- Ballesteros Martín, M. M., Sánchez Pérez, J. A., García Sánchez, J. L., Montes de Oca, L., Casas López, J. L., Oller, I. M., et al. (2008). Degradation of alachlor and pyrimethanil by combined photo-Fenton and biological oxidation. *Journal of Hazardous Materials*, *155*(1–2), 342–349.
- Baxter, R. M., & Carey, J. H. (1983). Evidence for photochemical generation of superoxide ion in humic waters. *Nature*, *306*, 575–578.
- Capobianco, H. L. V., & Cardeal, Z. L. (2005). A solid-phase microextraction method for the chromatographic determination of organophosphorus pesticides in fish, potatoes, guava and coffee. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, *16*(5), 907–914.
- Cardeal, Z. L., & Paes, C. M. C. (2006). Analysis of organophosphorus pesticides in whole milk by solid phase microextraction gas chromatography method. *Journal of Environmental Science and Health. Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, *41*(4), 369–375.
- Chiron, S., Fernandez-Alba, A. R., & Rodriguez, A. (1997). Pesticide chemical oxidation processes: an analytical approach. *TrAC, Trends in Analytical Chemistry*, *16*(9), 518–527.
- Doong, R., & Chang, W. (1997). Photoassisted titanium dioxide mediated degradation of organophosphorus pesticides by hydrogen peroxide. *Journal of Photochemistry and Photobiology, A: Chemistry*, *107*(1–3), 239–244.
- Duirk, S. E., & Collete, T. W. (2006). Degradation of chlorpyrifos in aqueous chlorine solutions: pathways, kinetics, and modeling. *Environmental Science & Technology*, *40*(2), 546–551.
- Fernandez-Alvarez, M., Llompant, M., Lores, M., Garcia-Jares, C., Cela, R., & Dagnac, T. (2008). The photochemical

- behaviour of five household pyrethroid insecticides and a synergist as studied by photo solid phase microextraction. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388(5–6), 1235–1247.
- Gratzel, C. K., Jirousek, M., & Gratzel, M. (1990). Decomposition of organophosphorus compounds on photoactivated TiO<sub>2</sub> surfaces. *Journal of Molecular Catalysis*, 60(3), 375–387.
- Ince, N. H., & Gonenc, D. T. (1997). Treatability of a textile azo dye by UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Environmental Technology*, 18(2), 179–185.
- Kerzhentsev, M., Guilhard, C., Hermann, J. M., & Pichat, P. (1996). Photocatalytic pollutant removal in water at room temperature: case study of the total degradation of the insecticide fenitrothion (phosphorothioic acid o, o-dimethyl-o-(3-methyl-4-nitro-phenyl) ester). *Catalysis Today*, 27(1–2), 215–220.
- Legrini, O., Oliveros, E., & Braun, A. M. (1993). Photochemical processes for water treatment. *Chemical Reviews*, 93, 671–698.
- Liao, C. H., & Gurol, M. D. (1995). Chemical oxidation by photolytic decomposition of hydrogen peroxide. *Environmental Science & Technology*, 29(12), 3007–3014.
- Liu, Y. H., Liu, Y., Chen, Z. S., Lian, J., Huang, X., & Chung, Y. C. (2004). Purification and characterization of a novel organophosphorus pesticide hydrolase from *Penicillium lilacinum* BP 303. *Enzyme and Microbial Technology*, 34(3–4), 297–303.
- Lunak, S., & Sedlak, P. (1992). Photoinitiated reactions of hydrogen peroxide in the liquid phase. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 68(1), 1–33.
- Malato, S., Blanco, J., Richter, C., Milow, B., & Maldonado, M. I. (1999). Solar photocatalytic mineralization of commercial pesticides: Methamidophos. *Chemosphere*, 38(5), 1145–1156.
- Masten, S. J., & Davies, H. R. (1994). The use of ozonation to degrade organic contaminants in wastewaters. *Environmental Science & Technology*, 28(4), A180–A185.
- Miltner, R. J., Baker, D. B., Speth, T. F., & Fronk, C. A. (1989). Treatment of seasonal pesticides in surface waters. *Journal American Water Works Association*, 81(1), 43–52.
- Oancea, P., & Oncescu, T. (2008). The Photocatalytic degradation of dichlorvos under solar irradiations. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 199(1), 8–13.
- Pelizzetti, E. (1995). Concluding remarks on heterogeneous solar photocatalysis. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 38(1–4), 453–457.
- Rosenfeldt, E. J., & Linden, K. G. (2007). The ROH-UV concept you characterize the model UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process in natural waters. *Environmental Science & Technology*, 41(7), 2548–2553.
- Saien, J., & Khezrianjoo, S. (2008). Degradation of the fungicide carbezin in aqueous solutions with UV/TiO<sub>2</sub> process optimization, kinetics and toxicity studies. *Journal of Hazardous Materials*, 157(2–3), 269–276.
- Silva, F. C., Carvalho, C. R., & Cardeal, Z. L. (1999). Determination of organophosphorus pesticides in water using SPME-GC-MS. *Química Nova*, 22(2), 197–200.
- Tago, K., Yonezawa, S., Ohkouchi, T., Hashimoto, M., & Hayatsu, M. (2006). Purification and characterization of fenitrothion hydrolase from *Burkholderia* sp. NF 100. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(1), 80–82.
- Yu, B., Zeng, J., Cong, L., Zhang, M., Zhang, L., & Chen, X. (2007). Investigation of the photocatalytic degradation of organochlorine pesticides on a nano-TiO<sub>2</sub> coated film. *Talanta*, 72(5), 1667–1674.
- Zhang, Q., & Pehkonen, S. O. (1999). Oxidation of diazinon by aqueous chloride: kinetics, mechanisms and product studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(4), 1760–1766.

