

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

RUBIA MATOS DE LIMA

**AVALIAÇÃO DA RADIAÇÃO UVC, PROCESSOS UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> E FOTO-  
FENTON NA DEGRADAÇÃO DO AGROTÓXICO CLORPIRIFÓS COM  
ACOMPANHAMENTO DA ECOTOXICIDADE**

DISSERTAÇÃO

CURITIBA

2017

RUBIA MATOS DE LIMA

**AVALIAÇÃO DA RADIAÇÃO UVC, PROCESSOS UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> E FOTO-FENTON NA DEGRADAÇÃO DO AGROTÓXICO CLORPIRIFÓS COM ACOMPANHAMENTO DA ECOTOXICIDADE**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Ambientais, do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental – PPGCTA – Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinicius de Liz  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriane Martins de Freitas

Curitiba  
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

---

L732a  
2017

Lima, Rubia Matos de

Avaliação da radiação UVC, processos UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e fotofenton na degradação do agrotóxico clorpirifós com acompanhamento da ecotoxicidade / Rubia Matos de Lima. -- Curitiba, PR : 2017.

91 f. : il. ; 30 cm.

Texto em português com resumo em inglês.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Curitiba, 2017.

Bibliografia: f. 79-87

1. Agricultura – Aspectos ambientais. 2. Ecossistemas – Preservação. 3. Produtos químicos agrícolas. 4. Pesticidas – Avaliação de riscos. 5. Tecnologia ambiental – Dissertações. I. Liz, Marcus Vinícius de, orient. II. Freitas, Adriane Martins de, co-orient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental. IV. Título.

CDD: Ed. 23. – 363.7

## TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação n° 079

AVALIAÇÃO DA RADIAÇÃO UVC, PROCESSOS UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> E FOTO-FENTON NA DEGRADAÇÃO DO AGROTÓXICO CLORPIRIFÓS COM ACOMPANHAMENTO DA ECOTOXICIDADE

Por

RUBIA MATOS DE LIMA

Dissertação apresentada às 14 horas do dia 28 de março de 2017, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL, na área de concentração Tecnologias e Processos Ambientais, linha de pesquisa Controle e Monitoramento Ambiental, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Curitiba. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

### Banca examinadora:

---

Prof. Dr. Marcus Vinicius de Liz (Orientador)  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lucia Regina Rocha Martins  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

---

Prof. Dr. Patricio Guillermo Peralta Zamora  
Universidade Federal do Paraná – UFPR

Visto da Coordenação:

---

Prof. Dr. Fernando Hermes Passig  
Coordenador do PPGCTA

*À minha querida tia Clema (in memoriam),  
que sempre me encorajou a alçar voos mais altos.*

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná pela oportunidade de utilizar suas dependências e recursos, possibilitando a concretização deste trabalho.

Ao CNPq pelo recurso oferecido através do projeto de pesquisa “Monitoramento de pesticidas em águas naturais, remediação por processos oxidativos avançados e avaliação da remoção da toxicidade”.

À CAPES pelo incentivo à pesquisa através da bolsa proporcionada.

Ao professor Marcus Vinícius de Liz e professora Adriane Martins de Freitas pela orientação. Obrigada pela paciência, apoio e incentivo.

À professora Lucia Regina Martins e ao professor Patrício Peralta Zamora por aceitarem participar da banca de avaliação e pelas contribuições para a melhoria deste trabalho.

À Bianca do Amaral por ter contribuído na minha qualificação.

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental.

À toda a minha família, em especial aos meus pais e minha irmã, que sempre me incentivaram e me apoiaram.

Às meninas dos laboratórios de Ecotox e GPTec: Camis, Renata, Mariana, Joicy, Larisa, Amanda, Carina, Monike e Eliane. Muito obrigada por todo o companheirismo, ajuda, conselhos, dicas, correções. Amizades que foram construídas aqui e espero que nunca acabem.

Camis, não existem palavras para expressar o quão grata sou pela nossa amizade. Algo que começou despretensiosamente e se tornou tão bonito. Que essa parceria nunca tenha fim.

Thayse e Renata, muito obrigada por tudo! Sou eternamente agradecida pela amizade de vocês que mesmo a distância continua a mesma.

Obrigada aos que sempre me apoiaram e incentivaram. Que entenderam que eu não poderia ir a todas as festas ou a todas as trilhas. Que nem todos os feriados ou férias eu poderia viajar. Que nem todos os finais de semana seriam tranquilos.

Muito obrigada àqueles que tenho a felicidade de poder chamar de amigo, são poucos, mas são os melhores que eu poderia ter tido a chance de conhecer. Alguns estão aqui a tantos anos que parece que toda uma vida foi compartilhada. Alguns acabaram de chegar, mas já mudaram a minha vida. E aos que já foram, muito obrigada pela companhia enquanto estiveram aqui. Obrigada por me aceitarem em suas vidas.

*O começo de todas as ciências é o espanto de as coisas serem o que são.*

*(Aristóteles)*

## RESUMO

LIMA, R. M. **Avaliação da radiação UVC, processos UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton na degradação do agrotóxico clorpirifós com acompanhamento da ecotoxicidade.** 2017. 91f. Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2017.

Atividades antrópicas, como a agricultura, têm provocado uma perda na qualidade dos ecossistemas. Devido a processos físicos, químicos e biológicos que ocorrem no meio, após a aplicação dos agrotóxicos grande parte não atinge seu objetivo principal e acabam por contaminar o meio ambiente. O clorpirifós é um dos agrotóxicos mais utilizados no mundo devido ao seu amplo espectro de atuação. A presença de agrotóxicos em fontes de água potável é um indício da ineficiência dos processos de tratamento convencionais de águas na sua remoção e uma alternativa são os processos avançados de oxidação (AOPs). Apesar das elevadas taxas de remoção obtidas com os AOPs, faz-se necessário também a avaliação da eficiência dos tratamentos através de ensaios de ecotoxicidade. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a radiação UVC, processos UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton na degradação do agrotóxico clorpirifós e acompanhar a ecotoxicidade. Os ensaios de degradação foram conduzidos em reatores de bancada utilizando como fonte de radiação uma lâmpada de alta pressão de vapor de mercúrio de 125 W. O clorpirifós foi detectado e quantificado por HPLC-DAD. Os organismos utilizados nos ensaios de ecotoxicidade aguda foram *L. sativa*, *D. magna* e *A. aegypti*. Uma avaliação da ecotoxicidade de solventes orgânicos em solução aquosa através de ensaios com *L. sativa* e *D. magna* constatou que o melhor solvente para solubilização do clorpirifós foi a acetona. A quantificação de clorpirifós após as degradações foi feita através de uma etapa de extração líquido-líquido, que apresentou coeficientes de recuperação entre 92,11 e 101,63 %. Com a solução comercial do clorpirifós (Lorsban®), após 180 minutos de reação foram alcançadas remoções superior a 99,18, 99,18 e 98,72% com os processos UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, foto-Fenton e fotólise, respectivamente. Os mesmos processos aplicados ao clorpirifós padrão analítico resultaram em degradações de 96,47, 94,34 e 84,92% com os processos UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, foto-Fenton e fotólise, respectivamente. Em relação aos testes de ecotoxicidade, a semente de *L. sativa* se mostrou pouco sensível às amostras pré e pós tratamentos. Em apenas uma das amostras (Lorsban® após 180 min de UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) da *D. magna* houve uma redução na ecotoxicidade, com fator de toxicidade de 16. Nas demais amostras em todas as diluições houve imobilidade superior a 10%, com fator de toxicidade maior que 16. Com a larva do *A. aegypti* das amostras de Lorsban®, houve uma redução na toxicidade de 26,7, 18,5 e 17% com a fotólise, foto-Fenton e UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, respectivamente. Nas amostras do clorpirifós padrão analítico não houve redução da toxicidade. A utilização de condições abrandadas possibilitou a avaliação da cinética das reações, alcançando elevadas percentagens de degradação, no entanto, não foram observadas grandes reduções na ecotoxicidade e efeito larvicida das soluções analisadas, possivelmente devido à concentração residual de clorpirifós, superior aos limites considerados tóxicos.

**Palavras-chave:** AOP. HPLC-DAD. Pesticida organofosforado. Atividade larvicida.

## ABSTRACT

LIMA, R. M. **Evaluation of UVC radiation, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and photo-Fenton process in the degradation of the chlorpyrifos with ecotoxicity evaluation.** 2017. 91 pages. Dissertation – Post-Graduation Program in Environmental Science and Technology. Federal University of Technology - Paraná. Curitiba, 2017.

Anthropogenic activities, such as agriculture, have led to a loss of ecosystem quality. Due to physical, chemical and biological processes that occur, after a pesticide application, much of it does not reach its main goal and ends up contaminating the environment. Chlorpyrifos is one of the most widely used pesticide in the world due to its broad spectrum of performance. The presence of pesticides in potable water sources indicates the inefficiency in the conventional water treatment processes and an alternative are the advanced oxidation processes (AOPs). Despite the high removal rates obtained with AOPs, there is also need an evaluation of the treatments' efficiency through ecotoxicity assays. The aim of this work was to evaluate the UVC, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and photo-Fenton processes in the degradation of the chlorpyrifos and evaluate ecotoxicity. The degradation were performed in bench scale using reactors and as a radiation source a high pressure lamp of mercury vapor (125 W). Chlorpyrifos concentration was monitored by HPLC-DAD. The organisms used in the ecotoxicity assays were *L. sativa*, *D. magna* and *A. aegypti*. An evaluation of the ecotoxicity of organic solvents in aqueous solution through assays with *L. sativa* and *D. magna* found that the most indicated solvent for solubilization of chlorpyrifos is acetone. Chlorpyrifos quantification after degradation was performed with a liquid-liquid phase extraction reaching recovery coefficients between 92.11 and 101.63%. In the degradation tests conducted for 180 minutes with Lorsban®, the UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, photo-Fenton process and photolysis achieved removals at > 99.18, 99.18 and 98.72 % respectively. The same procedures applied to analytical standard chlorpyrifos resulted in degradations of 96.47, 94.34 and 84.92%. Regarding the ecotoxicity tests, the *L. sativa* seeds showed to be less sensitive to pre and post-treatment samples. Only in one of the samples (Lorsban® after 180 minutes of UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) of *D. magna* occur a reduction in ecotoxicity with a toxicity factor to 16. In all other samples in all dilutions the immobility was greater than 10% with toxicity factor greater than 16. With *A. aegypti* larvae the toxicity reduction were 26.7, 18.5 and 17% with photolysis, photo-Fenton and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process, respectively. In analytical standard chlorpyrifos samples there was no reduction of toxicity. The use of light conditions allowed an evaluation of the kinetics of the reactions, reaching high percentages of degradation, however, no significant reductions were observed in the ecotoxicity and larvicidal effect of the analyzed solutions, possibly due to the residual chlorpyrifos concentration, higher than the toxic limits.

**Keywords:** AOP. HPLC-DAD. Organophosphorus pesticide. Larvicidal activity.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fórmula estrutural do clorpirifós.....	18
Figura 2: Cromatograma 3D da condição inicial, eluição ACN:H <sub>2</sub> O de 80:20, vazão de 1,0 mL min <sup>-1</sup> e volume de injeção de 20 µL com solução de padrão de clorpirifós de 2 mg L <sup>-1</sup> .....	19
Figura 3: Principais rotas de degradação do clorpirifós por processos físico-químicos.....	21
Figura 4 - Mecanismos de degradação de compostos orgânicos por fotólise.....	27
Figura 5: Fórmula estrutural dos subprodutos de degradação do clorpirifós, clorpirifós-oxon (a) e TCP (b). ....	32
Figura 6 – Fluxograma das etapas desenvolvidas no projeto. ....	35
Figura 7 - Representação do reator fotoquímico de bancada .....	37
Figura 8: Concentração de clorpirifós ao longo da degradação (C/C <sub>0</sub> ) (a) e os cromatogramas com os fatores de concentração (b) da solução de Lorsban® submetida à fotólise (eluição ACN:H <sub>2</sub> O de 90:10, vazão 0,4 mL min <sup>-1</sup> e monitoramento em 290 nm). ....	57
Figura 9: Concentração de clorpirifós (C/C <sub>0</sub> ) e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ao longo da degradação (a) e os cromatogramas com os respectivos fatores de concentração (b) da solução de Lorsban® submetida ao processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (eluição ACN:H <sub>2</sub> O de 90:10, vazão 0,4 mL min <sup>-1</sup> e monitoramento em 290 nm). ....	58
Figura 10: Concentração de clorpirifós (C/C <sub>0</sub> ) e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ao longo da degradação (a) e os cromatogramas com os respectivos fatores de concentração (b) da solução de Lorsban® submetida ao processo foto-Fenton (eluição ACN:H <sub>2</sub> O de 90:10, vazão 0,4 mL min <sup>-1</sup> e monitoramento em 290 nm). ....	60
Figura 11: Comportamento das espécies de ferro durante o processo foto-Fenton para a degradação do Lorsban®.....	61
Figura 12: Concentração de clorpirifós ao longo da degradação (C/C <sub>0</sub> ) (a) e os cromatogramas com os respectivos fatores de concentração (b) da solução de clorpirifós padrão analítico submetida à fotólise (eluição ACN:H <sub>2</sub> O de 90:10, vazão 0,4 mL min <sup>-1</sup> e monitoramento em 290 nm). ....	62
Figura 13: Concentração de clorpirifós (C/C <sub>0</sub> ) e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ao longo da degradação (a) e os cromatogramas com os respectivos fatores de concentração (b) da	

solução de clorpirifós padrão analítico submetida ao processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (eluição ACN:H <sub>2</sub> O de 90:10, vazão 0,4 mL min <sup>-1</sup> e monitoramento em 290 nm). .....	64
Figura 14: Concentração de clorpirifós (C/C <sub>0</sub> ) e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (a) e os cromatogramas com seus fatores de concentração (b) da solução de clorpirifós padrão analítico submetida ao processo foto-Fenton (eluição ACN:H <sub>2</sub> O de 90:10, vazão 0,4 mL min <sup>-1</sup> e monitoramento em 290 nm). .....	65
Figura 15: Comportamento das espécies de ferro durante o processo foto-Fenton para a degradação do clorpirifós padrão analítico. ....	66
Figura 16: Concentração de clorpirifós ao longo das degradações (C/C <sub>0</sub> ) das soluções de Lorsban® (a) e clorpirifós padrão analítico (b) submetidas à fotólise, processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e foto-Fenton.....	67
Figura 17: Gráficos de 1 <sup>a</sup> e 2 <sup>a</sup> ordem das cinéticas de degradação do Lorsban® por fotólise (a), processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (b) e foto-Fenton (c) .....	68
Figura 18: Gráficos de 1 <sup>a</sup> e 2 <sup>a</sup> ordem das cinéticas de degradação do clorpirifós padrão analítico por fotólise (a), processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (b) e foto-Fenton (c).....	69

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parâmetros de regressão da curva analítica .....	40
Tabela 2: Valores de precisão e exatidão do método de quantificação do clorpirifós por HPLC-DAD.....	40
Tabela 3: Resultados dos ensaios de fitotoxicidade com sementes de <i>Lactuca sativa</i> dos solventes acetonitrila, acetona e metanol na concentração 0,2 % sem tratamento, pós fotólise, processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e foto-Fenton (n=3).....	48
Tabela 4: Fator de toxicidade das amostras submetidas aos processos de degradação por 180 minutos, dos solventes sem tratamento e das amostras-controle (n=3).....	52
Tabela 5: Concentrações das amostras de clorpirifós (concentração nominal 200 µg L <sup>-1</sup> ) antes e após filtração com fibra de vidro e membrana de acetato de celulose de porosidade de 0,45 µm analisadas por HPLC-DAD (eluição ACN:H <sub>2</sub> O de 90:10, vazão 0,4 mL min <sup>-1</sup> e monitoramento em 290 nm). ....	54
Tabela 6: Concentrações das amostras de Lorsban® de concentração nominal 200 µg L <sup>-1</sup> após filtração com membrana de fibra de vidro de porosidade de 0,45 µm analisadas por HPLC-DAD (eluição ACN:H <sub>2</sub> O de 90:10, vazão 0,4 mL min <sup>-1</sup> e monitoramento em 290 nm). ....	55
Tabela 7: Resultado do processo de ELL para soluções de clorpirifós feitas a partir do Lorsban® e padrão analítico analisadas por HPLC-DAD (eluição ACN:H <sub>2</sub> O de 90:10, vazão 0,4 mL min <sup>-1</sup> e monitoramento em 290 nm). ....	56
Tabela 8: Constante da velocidade de reação (k) e tempo de meia vida (t <sub>1/2</sub> ) do clorpirifós para a fotólise, processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e foto-Fenton.....	70
Tabela 9: Resultados dos ensaios de fitotoxicidade com <i>Lactuca sativa</i> das amostras de Lorsban® submetidas à fotólise, processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e foto-Fenton por 60, 120 e 180 minutos, além do controle negativo e de uma amostra na inicial de concentração nominal 200 µg L <sup>-1</sup> (n=3).....	72
Tabela 10: Resultados dos ensaios de fitotoxicidade com <i>Lactuca sativa</i> das amostras de clorpirifós padrão analítico submetidas à fotólise, processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e foto-Fenton por 60, 120 e 180 minutos, além do controle negativo e de uma amostra inicial de concentração nominal 200 µg L <sup>-1</sup> (n=3).....	74
Tabela 11: Resultados do teste de ecotoxicidade com <i>Daphnia magna</i> das amostras de Lorsban® e clorpirifós padrão analítico submetidas à fotólise,	

processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton por 60, 120 e 180 minutos, controle negativo e amostra inicial de concentração nominal 200 µg L<sup>-1</sup> (n=3).....75

Tabela 12: Resultados do teste de ecotoxicidade com *Aedes aegypti* das amostras de Lorsban® e clorpirifós padrão analítico submetidas à fotólise, processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton por 60, 120 e 180 minutos, controle negativo e amostra inicial de concentração nominal 200 µg L<sup>-1</sup> (n=3).....76

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	15
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	<b>16</b>
3.1 AGROTÓXICOS.....	16
3.1.1 Agrotóxico organofosforado clorpirifós .....	18
3.2 PROCESSOS AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO .....	23
3.2.1 Processo foto-Fenton .....	25
3.2.2 Processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	26
3.3 FOTÓLISE.....	27
3.4 DEGRADAÇÃO DE CLORPIRIFÓS POR PROCESSOS AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO E FOTÓLISE .....	27
3.6 ECOTOXIDADE COMO PARÂMETRO DE AVALIAÇÃO PARA PROCESSOS AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO .....	30
3.7 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE CLORPIRIFÓS APÓS PROCESSOS DE DEGRADAÇÃO.....	31
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	<b>34</b>
4.1 ESTRATÉGIA DE TRABALHO .....	34
4.2 REAGENTES E INSUMOS .....	35
4.2.1 Soluções de clorpirifós .....	36
4.3 ENSAIOS DE DEGRADAÇÃO .....	36
4.3.1 Degradação dos solventes orgânicos em solução aquosa.....	37
4.3.2 Degradação do Lorsban® e clorpirifós padrão analítico.....	38
4.4 CONTROLE ANALÍTICO.....	39
4.4.1 Análise quantitativa do clorpirifós por HPLC-DAD.....	39
4.4.2 Extração líquido-líquido .....	40
4.4.3 Avaliação das cinéticas de degradação .....	41
4.4.4 Quantificação do peróxido de hidrogênio .....	42
4.4.5 Quantificação de Fe <sup>n+</sup> dissolvido.....	42
4.5 BIOENSAIOS .....	42
4.5.1 Fitotoxicidade com sementes de alface ( <i>Lactuca sativa</i> ) .....	43
4.5.2 Ecotoxicidade aguda com <i>Daphnia magna</i> .....	44
4.5.3 Atividade larvicida em <i>Aedes aegypti</i> .....	45
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>47</b>
5.1 ECOTOXICIDADE DE SOLVENTES ORGÂNICOS EM SOLUÇÃO AQUOSA ..	47
5.1.1 Fitotoxicidade aguda em <i>Lactuca sativa</i> .....	47
5.1.2 Ecotoxicidade aguda em <i>Daphnia magna</i> .....	51
5.2 ENSAIOS DE RECUPERAÇÃO .....	53
5.3 DEGRADAÇÃO DO LORSBAN® POR PROCESSOS AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO E RADIAÇÃO UVC.....	56
5.3.1 Aplicação da fotólise na degradação do Lorsban® .....	57
5.3.2 Aplicação do processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> na degradação do Lorsban®.....	58
5.3.3 Aplicação do processo foto-Fenton na degradação do Lorsban®.....	59
5.4 DEGRADAÇÃO DO CLORPIRIFÓS POR PROCESSOS AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO E RADIAÇÃO UVC.....	61
5.4.1 Aplicação da fotólise na degradação da solução do padrão de clorpirifós .....	62
5.4.2 Aplicação do processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> na degradação do clorpirifós .....	63

5.4.3 Aplicação do processo foto-Fenton na degradação do clorpirifós .....	65
5.6 CINÉTICAS DE DEGRADAÇÃO .....	67
5.7 AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE DO LORSBAN® E DO CLORPIRIFÓS APÓS PROCESSOS DE DEGRADAÇÃO .....	71
5.7.1 Fitotoxicidade em <i>Lactuca sativa</i> das soluções de Lorsban® pós tratamento .	71
5.7.2 Fitotoxicidade em <i>Lactuca sativa</i> das soluções padrão clorpirifós pós tratamento .....	73
5.7.3 Ecotoxicidade aguda do Lorsban® e clorpirifós em <i>Daphnia magna</i> .....	75
5.7.4 Atividade larvívica do Lorsban® e clorpirifós em <i>Aedes aegypti</i> .....	76
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>78</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>79</b>
<b>APÊNDICE A .....</b>	<b>88</b>
<b>APÊNDICE B .....</b>	<b>90</b>
<b>ANEXO A .....</b>	<b>91</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O aumento das atividades agroindustriais tem acarretado numa diminuição da qualidade dos nossos ecossistemas. Um dos maiores problemas associado ao uso de agrotóxicos são os processos químicos, físicos e/ou biológicos que os agrotóxicos passam após sua aplicação, grande parte não atinge seu objetivo principal e acabam por contaminar o meio ambiente, principalmente corpos d'água e solos (REMUCAL, 2014, SAINI; KUMAR, 2016).

Uma das classes de agrotóxicos mais utilizada são os compostos organofosforados, os quais foram sintetizados em substituição ao uso dos organoclorados, muito mais tóxicos e persistentes. O clorpirifós é um dos agrotóxicos mais utilizados no mundo devido ao seu amplo espectro de atuação na agricultura, uso doméstico e produtos de proteção animal (MAURIZ et al., 2006).

A presença de agrotóxicos em geral em fontes de água potável é um indício da contaminação ambiental. E uma das alternativa para o efetivo tratamento de água são os processos baseados na oxidação química. Exemplos de processos de oxidação química são os processos avançados de oxidação (AOPs) que tem se destacado por atingirem elevadas taxas de remoção de agrotóxicos de soluções contaminadas (RIZZO, 2011, CRUZ et al., 2012).

Os AOPs são baseados na geração de radicais hidroxila *in situ*, responsáveis pela oxidação dos compostos tratados. A diversidade dos meios de produção desses radicais acarreta na existência de múltiplos AOPs com suas taxas de produção de radicais hidroxila, velocidades e mecanismos de reação únicos. São exemplos de AOPs: Fenton ( $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ ), foto-Fenton ( $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ),  $\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$ , fotocatalise heterogênea ( $\text{TiO}_2/\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$ ) e processos com ozônio (AMALRAJ; PIUS, 2015, RIBEIRO et al., 2015).

Contudo, apesar das possíveis elevadas taxas de remoção obtidas com os AOPs, é importante que a toxicidade final do efluente tratado seja avaliada (RIZZO, 2011, DÍAZ-GARDUÑO et al., 2016).

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar processos avançados de oxidação na remoção do agrotóxico clorpirifós avaliando a ecotoxicidade final das soluções tratadas.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a radiação UVC, processos UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton na degradação do agrotóxico clorpirifós com acompanhamento da ecotoxicidade.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estabelecer métodos analíticos de determinação do clorpirifós em solução (Lorsban® e clorpirifós padrão analítico);

Avaliar a degradação do clorpirifós (Lorsban® e clorpirifós padrão analítico) por fotólise, processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton;

Monitorar o efeito larvicida e ecotoxicidade aguda das soluções pré e pós tratamento através de bioensaios com larva de *Aedes aegypti*, semente de *Lactuca sativa* e *Daphnia magna*.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 AGROTÓXICOS

Agrotóxico refere-se a um grupo de compostos químicos utilizados para o controle de pragas e doenças em plantas. Eles podem ser utilizados para proteção de florestas e pastagens e beneficiamento de produtos de agrícolas (BRAIBANTE; ZAPPE, 2012).

Segundo a Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989 (BRASIL, 1989),

Agrotóxicos e afins são: a) produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos e b) substâncias e produtos, empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento. (BRASIL, 1989)

Eles foram criados como forma de defender plantações de doenças e pragas, por vezes, sendo utilizados mais de um tipo num mesmo plantio e visando sempre um acréscimo nas produções. No entanto, hoje eles são os maiores responsáveis pela contaminação ambiental no mundo e mesmo assim, o seu uso em diversas partes do globo não é controlado. Cada vez mais, novas formulações, mais potentes e tóxicas são desenvolvidas (PINHO; NEVES; QUEIROZ, 2009, MOSTAFALOU; ABDOLLAHI, 2013).

A utilização de agrotóxicos em diversas culturas, sejam eles de forma isolada ou conjunta, pode levar além da contaminação ambiental, ao surgimento de espécies resistentes (SALEEM et al., 2016).

Num estudo conduzido durante 3 anos por Saleem et al., (2016), foram avaliados 10 agrotóxicos de diferentes classes, incluindo o clorpirifós (Lorsban®) quanto à resistência da lagarta *Spodoptera litura*. Os animais foram coletados em diversas regiões do Paquistão e ao fim do estudo foram constatadas variações na

resistência desde baixo até muito alto, com um aumento ao longo do tempo de estudo.

O aumento na resistência de insetos aos agrotóxicos leva a um descontentamento por parte da população agricultora que por falta de conhecimento ou na busca por soluções imediatas, acaba por utilizar doses de agrotóxicos cada vez maiores e em intervalos menores nas suas culturas. Tal situação agrava ainda mais o problema da contaminação ambiental por agrotóxicos, pois além do aporte de quantidades normais utilizadas nas culturas controladas, ainda existe esse aporte extra por parte de agricultores mal orientados (DUAN et al., 2016, SALEEM et al., 2016).

O consumo de agrotóxicos no Brasil vem crescendo de forma exponencial nas últimas décadas, seja pelo aumento da área dedicada ao cultivo, adoção de novas tecnologias de plantio e/ou aparecimento de novas pragas mais difíceis de controlar, sendo que em 2008 o país alcançou a marca de maior consumidor mundial de agrotóxicos (GOMES; BARIZON, 2014).

Os processos de transferência dos agrotóxicos após sua aplicação para outros compartimentos ambientais são dependentes de mudanças químicas, físicas e biológicas que possam ocorrer. Retenção pelas plantas, adsorção e dessorção, volatilização, degradação química e/ou biológica, escoamento superficial e lixiviação são exemplos dessas transformações (REMUCAL, 2014, SAINI; KUMAR, 2016).

Uma pesquisa publicada por Derbalah, Ismail e Shaheen (2013), detectou a presença de nove agrotóxicos organofosforados em concentrações variando de 0,070 até 2,95  $\mu\text{g L}^{-1}$ , sendo que o agrotóxico mais abundante foi o clorpirifós (de 0,50 até 1,88  $\mu\text{g L}^{-1}$  na primavera e 0,17 até 2,7  $\mu\text{g L}^{-1}$  no verão). O estudo foi realizado coletando amostras antes e após estações de tratamento de água (ETA). Na maioria das amostras coletadas após os processos de tratamento, a concentração de agrotóxicos é menor ao valor de entrada. No entanto, deve-se levar em consideração que a presença de diversos agrotóxicos pode resultar num efeito sinérgico muito maior do que o efeito isolado, além dos riscos associados à exposição crônica.

Os agrotóxicos podem ser classificados segundo seu modo de ação (inibição da acetilcolinesterase, inibidor de fotossíntese, disruptores de membrana), espécies alvo (pesticida, acaricida, formicida) e classe química baseada na sua composição (clorados, clorofosforados, fosforados e carbamatos). Os carbamatos e

organofosforados foram desenvolvidos para substituir o uso dos organoclorados, proibidos no Brasil desde 1985. Apesar da substituição dos organoclorados, caracterizados pela elevada persistência no meio ambiente, pelos organofosforados e carbamatos, preocupações como bioacumulação, toxicidade aguda e crônica ainda permanecem (LAGANA et al., 1997, FLORES et al., 2004, SAINI; KUMAR, 2016).

### 3.1.1 Agrotóxico organofosforado clorpirifós

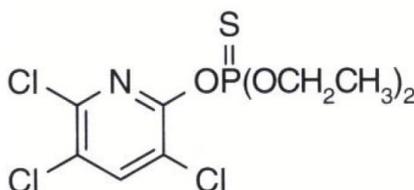
A utilização de agrotóxicos da classe dos organofosforados foi uma alternativa aos agrotóxicos organoclorados, conhecidos pela elevada toxicidade, capacidade de bioacumulação e persistência no meio ambiente por longos períodos. Os organofosforados são tidos como mais eficientes e de baixa persistência no meio ambiente, quando comparado aos organoclorados e carbamatos (WANG et al., 2010, DERBALAH; ISMAIL; SHAHEEN, 2013).

Os organofosforados são moléculas sintetizadas derivadas de ácido fosfórico, fosfônico, fosfortiamídicos ou fosfortióicos com funções ésteres, amidas ou tióis, caracterizados pela presença de uma ligação P=O ou P=S (IPCS, 2016).

A toxicidade aguda dos organofosforados é atribuída principalmente à capacidade das substâncias em inibir a atividade da enzima acetilcolinesterase, atacando o sistema nervoso, além da geração de radicais livres e estresse oxidativo (WANG et al., 2010, COLOVIC et al., 2011).

O clorpirifós (O,O-dietil-O-3,5,6-tricloro-2-piridil fosfortioato) (Figura 1) sintetizado em 1965, é um dos agrotóxicos organofosforados mais utilizados no mundo devido ao seu amplo espectro de atuação. Ele já foi registrado em mais de 900 fórmulas diferentes no mundo todo e seu uso continua crescendo.

**Figura 1: Fórmula estrutural do clorpirifós**



**Fonte:** Amalraj; Pius, 2015

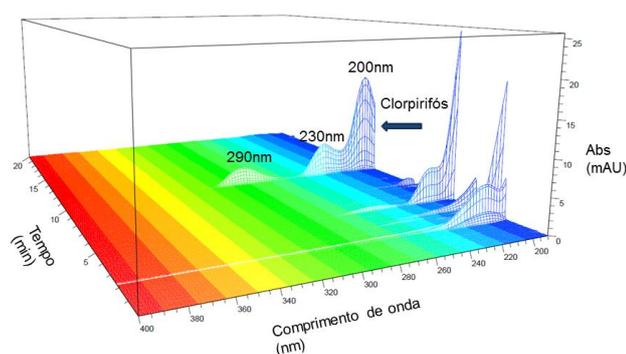
No Brasil seu emprego é autorizado na aplicação foliar das culturas de algodão, batata, café, cevada, citros, feijão, maçã, milho, pastagem, soja, sorgo, tomate e trigo, proteção localizada na cultura da banana, aplicação no solo nas culturas de batata e milho. Sendo o limite máximo permitido como resíduo (LMR) nos alimentos entre  $0,01 \text{ mg Kg}^{-1}$  para a soja e a banana e  $5 \text{ mg kg}^{-1}$  para a pastagem e a ingestão diária aceitável (IDA) de  $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso corporal (ANVISA, 2017).

Pertencente à classe dos inseticidas, formicidas e acaricidas, é utilizado no controle de insetos em culturas agrícolas e hortícolas (MAURIZ et al., 2006). Sendo que em conformidade ao estabelecido na Resolução-RDC nº 206 de 23/08/04 o registro do clorpirifós foi suspenso, assim como a concessão de novos registros, para produtos saneantes domissanitários (desinfestantes). Ficando seu uso doméstico limitado a iscas para combate a formigas e baratas.

O clorpirifós (CP) possui massa molar de  $350,6 \text{ g mol}^{-1}$ , sua solubilidade varia entre  $0,39 \text{ mg L}^{-1}$  a  $19,5 \text{ °C}$  até  $1,4 \text{ mg L}^{-1}$  a  $25 \text{ °C}$  com meia vida em pH 5 de 72 dias e em pH 9 de 16 dias, coeficiente de adsorção ( $K_{oc}$ ) de 9,93 e coeficiente de partição ( $\log K_{ow}$ ) entre 4,7 e 5,11. Quando exposto à luz sofre foto-transformação pela luz natural e/ou artificial com conversão de cerca de 50% do composto com cerca de 30 a 40 dias em água de rio. (EC, 2005, WHO, 2009, PAN, 2017).

Os comprimentos de onda ( $\lambda$ ) de maior absorção do clorpirifós padrão analítico (200, 230 e 290 nm) é apresentado pelo cromatograma 3D (Figura 2). Quanto maior o  $\lambda$ , menor a absorção, no entanto menos interferentes são observados (LIMA, 2015).

**Figura 2:** Cromatograma 3D da condição inicial, eluição ACN:H<sub>2</sub>O de 80:20, vazão de  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$  e volume de injeção de  $20 \text{ }\mu\text{L}$  com solução de padrão de clorpirifós de  $2 \text{ mg L}^{-1}$ .



**Fonte:** Lima (2015)

A faixa de absorção do composto (Figura 2) o torna suscetível a processos de fotólise de forma mais intensa pelos comprimentos de onda presentes na radiação UVC (200 – 280 nm) e UVB (280 – 320 nm).

A exposição humana ao CP e seus metabólitos, afeta o sistema nervoso pela inibição da enzima acetilcolinesterase. Sintomas da intoxicação aguda por clorpirifós incluem dor de cabeça, náusea, contração muscular e convulsões, podendo levar ao óbito. A exposição crônica está associada ao aparecimento de diversos tipos de câncer, alterações no sistema reprodutor masculino, defeitos congênitos, doenças do sistema respiratório como asma e a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) (AMALRAJ; PIUS, 2015, POZO et al., 2016).

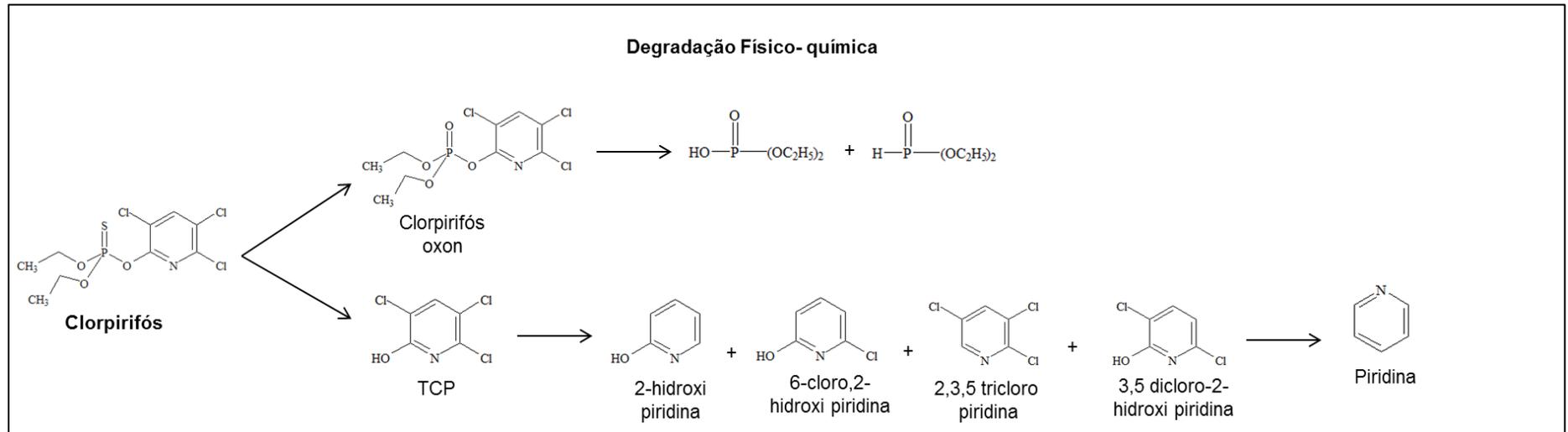
O clorpirifós também tem efeitos severos sobre outras espécies, sendo classificado como altamente tóxico com valores de  $DL_{50}$  aguda oral de  $229 \text{ mg kg}^{-1}$  e  $DL_{50}$  aguda por inalação de  $0,385 \text{ mg L}^{-1}$  para ratos,  $CE_{50}$  aguda de  $0,16 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  e  $CL_{50}$  crônica de  $0,06 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  para *Daphnia magna* (WHO, 2009, IPCS, 2016).

Quando submetido à oxidação, um dos subprodutos gerados é o clorpirifós oxon (CPO), resultante da substituição da ligação do enxofre (P=S) pelo oxigênio (P=O), de maior potencial tóxico. O CPO é mais solúvel em água do que o CP, mas possui menor estabilidade sendo rapidamente degradado a outros subprodutos (SINDI et al., 2016, SOGORB et al., 2016).

Outro subproduto formado é o 3,5,6-tricloro-2-piridinol (TCP), resultante da hidrólise direta do clorpirifós ou da hidrólise do clorpirifós oxon. O TCP não apresenta elevada ecotoxicidade como o clorpirifós e o clorpirifós oxon, no entanto possui elevada persistência podendo dificultar processos de mineralização, além de ser mais solúvel em água (SLOTKIN et al., 2009, SINDI et al., 2016, SOGORB et al., 2016).

A figura 3 apresenta as principais rotas de degradação do clorpirifós por processos físico-químicos (UTZIG, 2016). Segundo dados da EC (2005), não ocorrem processos de degradação biológica com o CP no meio ambiente.

Figura 3: Principais rotas de degradação do clorpirifós por processos físico-químicos



Fonte: adaptado de UTZIG, 2016.

Existe uma grande variedade de produtos comerciais cujo ativo principal é o clorpirifós, como o Dursban<sup>®</sup>, Lorsban<sup>®</sup>, Tricel<sup>®</sup>, Dowco 179<sup>®</sup>, Spannit<sup>®</sup>, Talon, Piridane<sup>®</sup> (MURILLO et al., 2010).

O Decreto nº4074/20002 obriga que empresas produtoras de agrotóxicos no Brasil apresentem semestralmente relatórios de comercialização destes produtos para acompanhamento do volume comercializado no país. A partir desses dados, o Ibama elabora relatórios anuais sobre produção, importação, exportação e venda de agrotóxicos no Brasil. O último boletim divulgado, 2014 (atualizado em 04/16), mostra que o clorpirifós é o 5º ingrediente ativo (IA) mais vendido no país, com uma comercialização anual de 16.452,77 toneladas de IA, ficando atrás do glifosato e seus sais, 2,4-D, acefato e óleo mineral (IBAMA, 2017).

Assim como há um acompanhamento da produção e consumo, visando avaliar e promover a segurança dos alimentos em relação ao uso dos agrotóxicos, a ANVISA criou em 2001 o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), com o objetivo de identificar e quantificar a presença de resíduos de agrotóxicos nos alimentos. O programa visa contribuir com informações para a adoção de boas práticas agrícolas (BPA) (ANVISA, 2016).

Entre 2013 e 2015 foram analisadas 12.051 amostras de 25 tipos diferentes de alimentos de origem vegetal, categorizados em cereais/leguminosas, frutas, hortaliças folhosas, hortaliças não folhosas e raízes, tubérculos e bulbos. Os resultados do último relatório divulgado mostraram que de todas as amostras, 19,7% apresentaram um resultado insatisfatório, seja pela detecção do agrotóxico não permitido pela cultura, acima do LMR ou por ambos os fatores (ANVISA, 2016).

Com base nas culturas escolhidas e seus agrotóxicos permitidos, os agrotóxicos mais utilizados e alguns agrotóxicos de uso proibido no país, as amostras foram analisadas para 232 agrotóxicos diferentes (ANVISA, 2016).

Considerando todas as amostras avaliadas (resíduo permitido para a cultura em concentração menor que o LMR; resíduo não autorizado para a cultura e resíduo acima do LMR), o clorpirifós foi o 7º agrotóxico mais detectado e o carbendazim o mais encontrado. Das amostras consideradas irregulares, o CP foi o segundo mais detectado, principalmente em culturas nas quais ele não é permitido, indicando seu intenso uso no país (ANVISA, 2016).

Um dos maiores problemas, é que a exposição humana não está restrita ao consumo de alimentos, pois pesticidas são encontrados também no ar, solos e água (ZHANG et al., 2011).

Em consequência à intensa aplicação, existem relatos de monitoramento do CP em que foram encontrados no solo traços do agrotóxico a 24 km do local de aplicação (AMALRAJ; PIUS, 2015). Pozo et al., (2016) relatou a presença de CP na atmosfera chilena, na região de Araucanía durante diferentes períodos do ano, com a concentração variando de 0,3 até 14.600 pg m<sup>-3</sup>. Além de estar presente no solo e ar, também é possível detectar o clorpirifós em águas superficiais (PAPADAKIS et al., 2015, WESTON; CHEN; LYDY, 2015)

Segundo a Portaria nº 2914/2011 do Ministério da Saúde o valor máximo permitido somando as concentrações de clorpirifós e clorpirifós-oxon, um de seus subprodutos, é de 30 µg L<sup>-1</sup> para água para consumo. Na União Europeia o valor máximo permitido (VMP) de clorpirifós em água para consumo humano é de 0,1 µg L<sup>-1</sup>, nos Estados Unidos de 10 µg L<sup>-1</sup> e no Canadá de 90 µg L<sup>-1</sup> (PAN, 2017).

Os métodos utilizados na detecção do CP em matrizes ambientais incluem cromatografia a gás com detector fotométrico de chama (GC-FPD) (DUAN et al., 2016, NAYAK et al., 2016), cromatografia a gás com detector de espectrometria de massas (GC-MS) (MURILLO et al., 2010, DERBALAH, ISMAIL; SHAHEEN, 2013, PINTO et al., 2015), cromatografia em fase líquida com detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD) (SLOTKIN et al, 2009, WU; LINDEN, 2010) e cromatografia em fase líquida com detector UV (HPLC-UV) (FEMIA et al., 2013).

### **3.2 PROCESSOS AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO**

A presença de agrotóxicos no meio ambiente, principalmente em corpos d'água remete à necessidade de processos de tratamento que sejam capazes de remover tais compostos do meio ambiente. Devido a esse fato, métodos de tratamento alternativos aos convencionais vêm sendo estudados (ZHANG et al., 2011).

Existe uma vasta quantidade de técnicas que podem ser utilizadas no tratamento de compostos recalcitrantes, envolvendo processos físicos, químicos ou biológicos, além da combinação destes (LOURES et al., 2013).

Processos com base em oxidação química podem ser utilizados no tratamento desses compostos, seja como pré ou pós-tratamento de processos biológicos convencionais, seja para diminuir toxicidade ou adequar o efluente a padrões permitidos pela legislação (CRUZ et al., 2012, RIZZO, 2011). Diante desse cenário, os processos avançados de oxidação (AOP, do inglês *advanced oxidation process*) ganham relevância por cumprirem o objetivo proposto (MURCIA et al., 2015).

Os AOPs são processos baseados na produção *in situ* de radicais hidroxila ( $\text{HO}\cdot$ ) que, num cenário ideal, podem levar à mineralização dos compostos orgânicos presentes nos efluentes (AMALRAJ; PIUS, 2015, RIBEIRO et al., 2015).

Os radicais hidroxila apresentam elevado poder de oxidação ( $E^0 = 2,80 \text{ V}$ ), alta reatividade e baixa seletividade, sendo que os processos que se utilizam da sua geração são considerados como processos limpos no tratamento de contaminantes presentes em águas (WANG; LIU, 2014, RIBEIRO et al., 2015).

A produção de radicais hidroxila pode ser feita de diversas formas o que leva uma variedade de AOPs como exemplificado no quadro 1. A escolha do processo deve levar em conta as características do efluente, do contaminante, sua concentração e objetivo do tratamento (RIBEIRO et al., 2015).

**Quadro 1: Variedade dos AOPs e sua classificação com base na forma de produção dos radicais hidroxila e presença de radiação.**

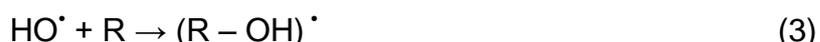
Sistemas Homogêneos		Sistemas Heterogêneos	
Com irradiação	Sem irradiação	Com irradiação	Sem irradiação
$\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$	$\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$	$\text{TiO}_2/\text{UV}$ – Fotocatálise	Processos eletroquímicos
$\text{O}_3/\text{UV}$	$\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ – Fenton	$\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ – Fotocatálise	$\text{Fe}^0/\text{H}_2\text{O}_2$
$\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$	$\text{Fe}^{3+}/\text{H}_2\text{O}_2$ – like Fenton	Foto-eletrocatalise	
Sono-foto-Fenton	Ultrassom/ $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ – sono-Fenton	Like-Fenton	
$\text{Fe}^{+2}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ – foto-Fenton	Eletrofenton		

Fonte: adaptado de Ribeiro et al. (2015) e Liz (2013)

A grande vantagem dos AOPs quando comparado a outros processos utilizados no tratamento de águas, tais como filtração, adsorção, separação por membranas, osmose inversa, é a não transferência de fase do contaminante que

gera um resíduo sólido final sem tratamento e com elevadas concentrações de contaminantes (LOURES et al., 2013, AMALRAJ; PIUS, 2015, REDDY; KIM, 2015).

A degradação dos compostos orgânicos pode ocorrer de três formas principais: transferência de elétrons (equação 1), abstração de hidrogênio (equação 2) e adição radicalar (equação 3).



Esses mecanismos levam à formação de espécies instáveis que se fragmentam até sua mineralização.

### 3.2.1 Processo foto-Fenton

Ribeiro et al. (2015) fizeram um levantamento das publicações da última década (a partir de 2004) dos processos aplicados no tratamento do grupo de substâncias definidas na Diretiva 2013/39/EU e constataram que processos baseados nas reações de Fenton são os mais aplicados (31%) dentre os AOPs no estudo das remoções desses compostos dos efluentes.

Os processos Fenton tem se destacado pela sua eficiência na degradação de compostos recalcitrantes, baixo custo quando comparado a outros AOPs, fácil operação e manutenção e ausência de toxicidade dos seus reagentes, ferro e peróxido de hidrogênio (ANDREOZZI et al., 1999, RIBEIRO et al., 2015).

O processo Fenton é capaz de produzir radicais hidroxila pela dissociação do peróxido de hidrogênio catalisada pelo ferro, num meio ácido (equação 4) (NIDHEESH; GANDHIMATHI, 2012, WANG; LIU, 2014).



Quando expostos à radiação UV-Vis os reagentes de Fenton são capazes de produzir um novo radical hidroxila (equação 5) levando a maiores constantes de

velocidades de reação (NAVARRO et al., 2011, VILAR et al., 2012, WANG; LIU, 2014).



A capacidade do processo de regenerar o catalisador, leva à formação de um ciclo catalítico, fazendo com que a reação de degradação ocorra sem a necessidade da adição de grandes quantidades de reagentes e por um período maior de tempo (NAVARRO et al., 2011, VILAR et al., 2012).

### 3.2.2 Processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

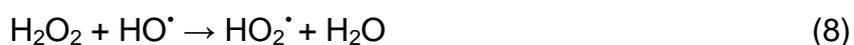
Outro AOP também utilizado no tratamento de águas é o processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no qual a energia fornecida pela radiação UV-C (200-280 nm), principalmente 254 nm, é capaz de clivar a ligação O-O do peróxido de hidrogênio formando 2 radicais hidroxila para cada mol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (equação 6) (REDDY; KIM, 2015).



No entanto, o excesso de radicais HO<sup>•</sup> pode levar a recombinação desses com formação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (equação 7) (RODRÍGUEZ et al., 2013).



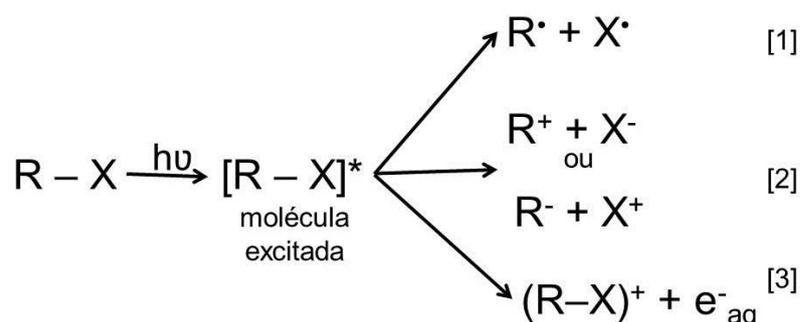
Também quando em excesso, o peróxido de hidrogênio é capaz de reagir com os radicais hidroxila levando à geração do radical hidroperoxila (equação 8), que além de possuir menor potencial de oxidação pode consumir radicais hidroxila na formação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> (equação 9) (LOURES et al., 2013).



### 3.3 FOTÓLISE

A fotólise pode ocorrer pela absorção de radiação de forma direta pelo grupo cromóforo presente na estrutura do composto. Ocorre a formação de uma molécula excitada e essa pode passar por processos de degradação como homólise [1], heterólise [2] ou fotoionização [3] (figura 4) (REMUCAL, 2014, REDDY; KIM, 2015).

Figura 4 - Mecanismos de degradação de compostos orgânicos por fotólise



Fonte: Adaptado de Reddy e Kim (2015)

A formação de subprodutos que não absorvem o comprimento de onda ( $\lambda$ ) da radiação fornecida impede que ocorra a mineralização dos compostos submetidos à fotólise (REDDY; KIM, 2015).

Já a absorção de forma indireta ocorre quando uma molécula fotossensível absorve a radiação, ativa a molécula do composto orgânico e então ele passa pelos processos homólise [1], heterólise [2] ou fotoionização [3] como na fotólise direta (REMUCAL, 2014, REDDY; KIM, 2015).

### 3.4 DEGRADAÇÃO DE CLORPIRIFÓS POR PROCESSOS AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO E FOTÓLISE

A disponibilidade de trabalhos na literatura que tratam da degradação do CP por processos avançados de oxidação e fotólise é limitada. A seguir são apresentados trabalhos dos últimos 8 anos que tratam do assunto.

Slotkin et al. (2009) avaliaram a degradação de soluções de clorpirifós padrão analítico por fotólise utilizando um reator colimado em escala de bancada equipado com quatro lâmpadas de Hg de baixa pressão, emissão a 254 nm. Para a

solubilização do clorpirifós padrão analítico foi utilizado metanol. Partindo de uma solução de concentração inicial de 15,83 mM, após 60 e 120 minutos cerca de 50% e 70% da concentração inicial do CP havia sido removida, respectivamente. Utilizando um GC/MS foram identificados os subprodutos clorpirifós-oxon, TCP, além de outros.

Murillo et al. (2010) avaliaram a eficiência dos processos foto-Fenton (radiação artificial e radiação solar),  $O_3/H_2O_2$ ,  $O_3$  e  $TiO_2/H_2O_2$  foram comparadas partindo de uma solução aquosa de 30 mg L<sup>-1</sup> de CP padrão analítico. Foram atingidas taxas de remoção de 91% para o sistema com radiação artificial e 82% no sistema solar com 5 minutos de reação, sendo que após 30 minutos foi possível considerar a completa degradação do CP para ambos. Com 20 minutos de reação, no processo heterogêneo já não era mais possível detectar o CP, assim como para o processo  $O_3/H_2O_2$ . No entanto, foram necessários mais 10 minutos de reação quando só o ozônio foi utilizado.

Wu e Linden (2010) avaliaram a fotodegradação dos agrotóxicos clorpirifós e paration na ausência e presença de  $H_2O_2$  utilizando um reator de feixe colimado com quatro lâmpada de baixa pressão de vapor de Hg (254 nm). Foi observado que somente a fotólise não teve efeito na degradação dos agrotóxicos, sendo que a adição de  $H_2O_2$  eleva as taxas de degradação dos compostos devido à formação dos radicais hidroxila. No entanto, a degradação não aumenta de forma linear junto com o aumento da concentração inicial de  $H_2O_2$ , devido aos processos de recombinação dos radicais que reduzem a quantidade disponível para os processos de oxidação. A cinética do processo foi avaliada pelo modelo de 2ª ordem com uma constante de reação de  $4,9 \pm 0,1 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ .

Samet, Hmani e Abdelhédi (2012) compararam os processos Fenton e foto-Fenton solar na redução da demanda química de oxigênio (DQO) de soluções preparadas a partir do composto comercial de clorpirifós utilizando um reator tipo CPC. Foram degradados 1000 mL de solução com um fluxo de recirculação de 140 mL min<sup>-1</sup> sob condições otimizadas de pH 3, 120 mg min<sup>-1</sup> de  $H_2O_2$ , 5 mM de  $Fe^{2+}$ , DQO inicial de 1330 mg L<sup>-1</sup> e 35° C. Com o processo Fenton, após 40 minutos de reação foi observada uma redução de 90% no teor de DQO, sendo que com o processo foto-Fenton solar a mesma taxa de redução foi alcançada na metade do tempo, reduzindo em 50% o consumo de  $H_2O_2$  durante o processo.

Derbalah, Ismail e Shaheen (2013) investigaram a eficiência dos processos nano *like* foto-Fenton ( $\text{Fe}_2\text{O}_3(\text{nano})/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ), oxidação com zinco em nano partículas combinada com  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $\text{ZnO}(\text{nano})/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ), foto-Fenton ( $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ), oxidação com zinco e  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $\text{ZnO}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ) e um processo de biodegradação na remoção do clorpirifós padrão analítico ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) em água potável seguido de ensaios de toxicidade em ratos.

Todos os tratamentos foram eficientes quanto à remoção do clorpirifós das soluções e não houve efeito tóxico em relação ao organismo testado, após os tratamentos. Porém enquanto o processo biológico precisou de 3 semanas, o AOP conseguiu alcançar a mesma taxa de remoção em menos de 50 minutos de reação (DERBALAH, ISMAIL; SHAHEEN, 2013)

Utilizando uma solução comercial, Femia et al., 2013 avaliaram a eficiência do processo  $\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$  na degradação do clorpirifós e remoção da toxicidade, com *V. fischeri*. Utilizando um reator anular de quartzo e uma lâmpada BTE Model 6,169 KV de emissão em 253,7 nm e 20 W soluções de clorpirifós comercial de  $15 \text{ mg L}^{-1}$  foram submetidas a degradações por 240 minutos. Avaliando 9 diferentes concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (0 –  $910 \text{ mg L}^{-1}$ ), após 20 minutos de reação foram obtidas percentagens de remoção de 37%, 60% e 93% com as concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$  de 0, 100 e  $450 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente.

Nayak et al. (2016) avaliaram a remoção do clorpirifós e diuron submetidos à fotólise indireta utilizando frutose como molécula fotossensível. A partir de uma solução estoque de  $1 \text{ g L}^{-1}$  de padrão analítico em acetonitrila, as degradações iniciaram com uma solução de  $2 \text{ mg L}^{-1}$ , em água deionizada. Foi constatada que a adição da frutose acelera a degradação do CP. As constantes de velocidades de reação para as degradações sem a adição de frutose, adição de 300 mM e 500 mM foram de  $0,04 \pm 0$ ,  $0,05 \pm 0,01$  e  $0,07 \pm 0$ , respectivamente, mostrando que quanto maior foi a adição, mais rápida foi a degradação do clorpirifós. A maior concentração de frutose, 500 mM levou a um tempo de meia vida ( $t_{1/2}$ ) de 10,04 min, comparado a um  $t_{1/2}$  de 18,7 min na fotólise direta. Ao final dos 20 minutos de reação, a adição de 500 mM de frutose levou a uma redução de cerca de 80% na concentração do CP.

### 3.6 ECOTOXIDADE COMO PARÂMETRO DE AVALIAÇÃO PARA PROCESSOS AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO

Bioensaios são ferramentas de avaliação que auxiliam na determinação do efeito de agentes físicos e químicos sob organismos testes. Os efeitos destas substâncias podem variar desde mortalidade até alterações fisiológicas dependendo das características químicas da substância, concentração, tempo e frequência de exposição, do organismo e da fase do ciclo de vida do organismo submetido aos testes (RIZZO, 2011, DÍAZ-GARDUÑO et al., 2016).

Deve-se levar em conta que um único organismo não é capaz de demonstrar todos os efeitos de uma substância, é preciso que se utilizem espécies com funções ecológicas relevantes, chamadas espécies modelo (USEPA, 2002, MORALES et al., 2004).

Também é importante que os organismos escolhidos pertençam a diferentes níveis tróficos, fator que auxilia na compreensão geral dos efeitos tóxicos dos compostos e/ou soluções avaliadas, assim como também facilita a comparação de trabalhos realizados em diferentes áreas de estudo (DÍAZ-GARDUÑO et al., 2016).

Os bioensaios podem auxiliar na avaliação da eficiência de um processo de tratamento, pois nem sempre quando um AOP é aplicado a um efluente, a mineralização completa é alcançada (MORALES et al., 2004, DERBALAH; ISMAIL; SHAHEEN, 2013).

Ensaio de ecotoxicidade aguda com *Daphnia* sp. já são bem estabelecidos sendo internacionalmente normatizados por entidades como a Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD - *Organisation for Economic Co-operation and Development*), pelo teste agudo de imobilização nº 202 de 2004, Organização Internacional para Padronização (ISO - *International Organization for Standardization*), com a norma nº 6341 de 2012 e no Brasil pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) pela NBR 12.713 de 2016 (ABNT, 2016).

O processo de germinação das plantas envolve uma série de reações, nas quais a composição do meio e os fatores ambientais são de extrema importância para o sucesso da etapa. Nessa fase inicial de desenvolvimento, valores não ótimos de pH, excesso ou escassez de umidade e luminosidade, temperaturas extremas, presença de compostos tóxicos, podem interferir de maneira expressiva na

germinação das sementes e crescimento das radículas. Mesmo não sendo uma espécie representativa de ecossistemas aquáticos, mas por ser de fácil e rápida germinação, ensaios com *Lactuca sativa* (alface) são amplamente utilizados na avaliação da sensibilidade da espécie a diversos compostos tanto em água quanto em solos e sedimento (CHARLES et al., 2011, GIORGETTI et al., 2011, MEHRAFARIN et al., 2011, CHAPMAN et al., 2012, YOUNG et al., 2012, BAMGBOSE; ANDERSON, 2015, KASTURY et al., 2015, UTZIG, 2016, BIRUK et al., 2017).

Segundo protocolo da Organização Mundial da Saúde (WHO - *World Health Organization*), a determinação da suscetibilidade e/ou resistência a inseticidas pode ser realizada em ensaios que utilizam larva do mosquito *Aedes aegypti* (WHO, 1981). A literatura conta com trabalhos que avaliam a atividade larvicida de agrotóxicos (OCAMPO et al., 2011, SERRANO et al., 2014, ROCHA et al., 2015, THONGWAT; BUNCHU, 2015), amidas sintetizadas (TSIKOLIA et al., 2013) e óleos essenciais (DUARTE et al., 2015). No entanto, não há relato de trabalhos que utilizaram a larva do *A. aegypti* como sinalizador da redução ou acréscimo da atividade larvicida antes e após tratamento por AOPs.

### **3.7 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE CLORPIRIFÓS APÓS PROCESSOS DE DEGRADAÇÃO**

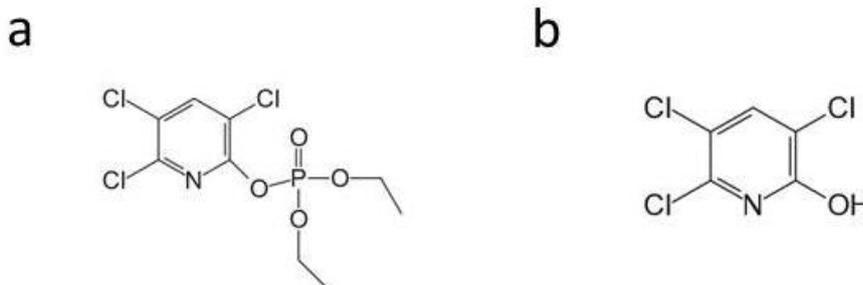
Assim como a literatura que trata da degradação do clorpirifós por processos avançados de oxidação é limitada, os trabalhos que trabalham com a avaliação da toxicidade após os tratamentos é tão mais escassa quanto. A seguir são apresentados trabalhos que fizeram esse tipo de investigação.

A avaliação da neurotoxicidade de soluções de clorpirifós após fotólise foi realizada por Slotkin et al. (2009) utilizando células PC12 como modelo, que permitem a detecção de efeitos danosos ao ciclo celular. Metanol foi utilizado para solubilização do padrão analítico de clorpirifós, e a mesma quantidade foi adicionada nas soluções controle. Partindo de soluções de concentração inicial 10 e 30  $\mu\text{M}$ , após 60 e 120 minutos cerca de 50% e 70% da concentração inicial do CP havia sido removida, respectivamente. A exposição da solução de clorpirifós ao menor tempo de tratamento não só não foi suficiente para uma redução na toxicidade frente

aos parâmetros testados como não apresentou praticamente nenhuma alteração, indicando a formação de subprodutos de maior toxicidade, fato comprovado pela análise das amostras em GC/MS, que identificou o subproduto clorpirifós-oxon. Importante destacar que também foi constatado um efeito tóxico no controle após o tratamento, possivelmente devido à formação dos subprodutos formaldeído e ácido fórmico devido à presença do metanol.

Zhang et al. (2011) avaliaram a toxicidade com *Vibrio qinghaiensis* sp. Nov-Q67 após degradação por ultrassom de soluções de clorpirifós e diazinon preparadas a partir dos seus padrões analíticos. Soluções estoque foram preparadas em acetona e posteriormente diluídas em água para concentrações iniciais de 2 e 3 mg L<sup>-1</sup>. A análise por GC-MS das soluções de clorpirifós após tratamento detectou a presença de dois subprodutos, clorpirifós oxon (Figura 5a), com maior potencial tóxico que o clorpirifós, e do TCP (3,5,6-tricloro-2-piridinol) (Figura 5b).

**Figura 5: Fórmula estrutural dos subprodutos de degradação do clorpirifós, clorpirifós-oxon (a) e TCP (b).**



Fonte: Muñoz et al., 2014

As análises de toxicidade após 30 e 60 minutos de tratamento, com remoções de 65 e 72%, respectivamente, mostraram um aumento na taxa de inibição de 19 e 33%, quando comparadas à amostra sem tratamento. As amostras após 60 minutos de tratamento apresentaram um aumento na área do pico cromatográfico do clorpirifós oxon de 1,3 em relação a área obtida após 30 minutos, o que justificaria o aumento da toxicidade.

Partindo da solução comercial de clorpirifós, Femia et al. (2013) avaliaram a toxicidade com *V. fischeri*. Eles constataram que após 20 minutos de tratamento por UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, a toxicidade diminuiu 60%, mas aumenta para 95% após 40 minutos,

possivelmente devido à geração de compostos de maior toxicidade derivados do clorpirifós ou das interações com os demais compostos presentes na formulação comercial. O processo foi conduzido por até 300 minutos sendo que ao final a taxa de inibição caiu para 10%.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 ESTRATÉGIA DE TRABALHO

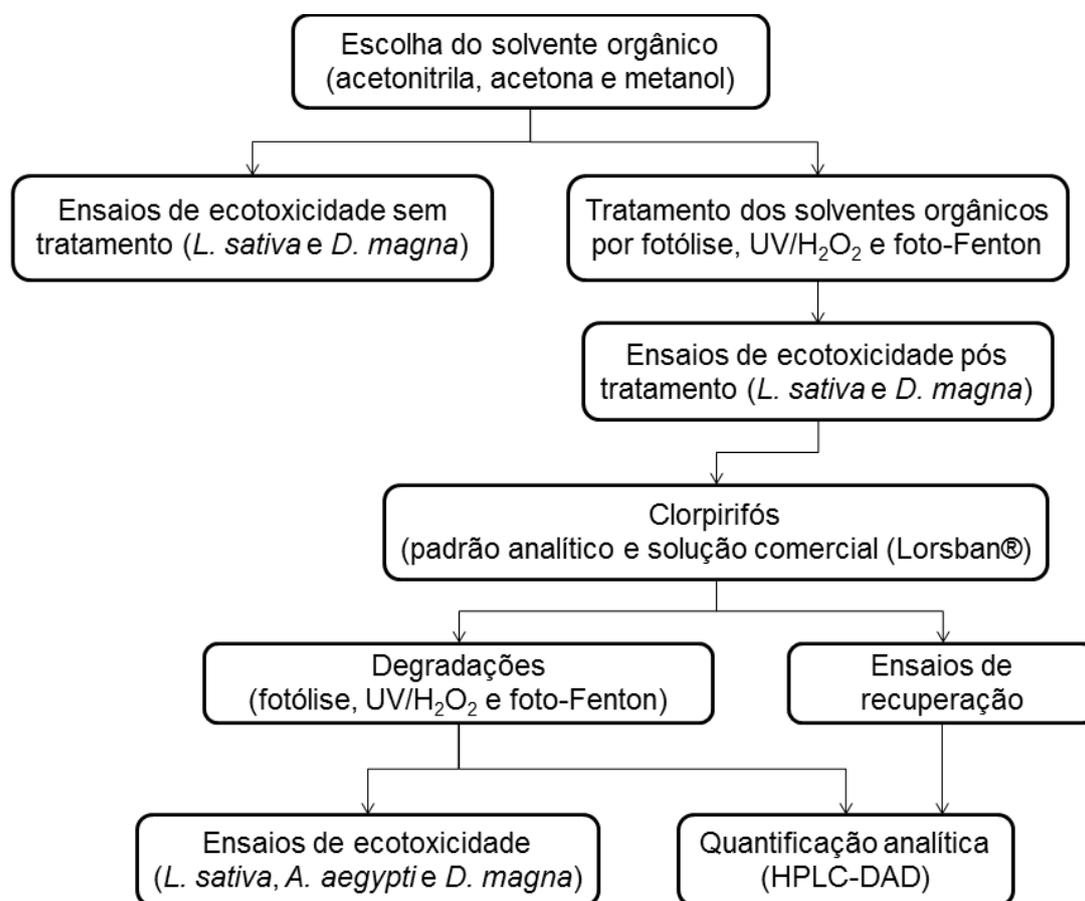
Estudos preliminares desenvolvidos no grupo mostraram a necessidade do uso de solventes para melhor solubilização do clorpirifós. No entanto, não ficou claro o efeito dos solventes orgânicos testados em relação à toxicidade final do analito tratado. Em função desse precedente o presente trabalho iniciou-se com a realização de uma avaliação dos solventes orgânicos acetonitrila, acetona e metanol quanto a sua capacidade de solubilizar o padrão analítico de clorpirifós e verificar sua toxicidade frente aos organismos testados, *Lactuca sativa* e *Daphnia magna*, nos ensaios de ecotoxicidade pós tratamento do solvente por radiação UVC e pelos processos UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton. Em paralelo, iniciaram-se os estudos de degradação com a solução comercial do composto (Lorsban®) com posterior teste de ecotoxicidade com *Lactuca sativa*, *Daphnia magna* e *Aedes aegypti*.

Após definição do solvente, foi realizada a degradação do clorpirifós padrão analítico com posterior teste de ecotoxicidade com os mesmos organismos testados com o Lorsban®.

Também foram testados métodos de extração que permitissem realizar a determinação quantitativa do clorpirifós (padrão e solução comercial de Lorsban®) por HPLC-DAD (cromatografia líquida acoplada a detector de arranjo de diodos).

A figura 6 traz um fluxograma apresentando as atividades realizadas no decorrer do trabalho.

Figura 6 – Fluxograma das etapas desenvolvidas no projeto.



## 4.2 REAGENTES E INSUMOS

As soluções de clorpirifós foram preparadas utilizando o composto comercial Lorsban® 48% (m/v) (Dow AgroSciences) e o padrão analítico grau Pestanal® (Sigma-Aldrich).

Outros reagentes utilizados neste trabalho foram sulfato ferroso 99% (Vetec), peróxido de hidrogênio 35% (Peróxidos do Brasil), catalase de fígado bovino 2000 – 5000 unidades  $\text{mg}^{-1}$  (Sigma-Aldrich) solução de concentração 1% (m/v) preparada em água de osmose, acetonitrila, metanol e acetona todos grau HPLC (J.T. Baker), acetato de etila grau HPLC (Panreac), água de osmose reversa (Quimis) e água ultrapura (MegaPurity). Os demais reagentes (ácidos, bases e sais) foram de grau analítico. Para ajuste de pH foram usadas soluções de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e  $\text{NaOH}$ .

### 4.2.1 Soluções de clorpirifós

Segundo o fabricante, o Lorsban® (suspensão do composto comercial de clorpirifós) é um concentrado emulsionável cuja composição é de 48% (m/v) de clorpirifós, 53,6% (m/v) de mistura de hidrocarbonetos aromáticos e 11,49% (m/v) de outros ingredientes. Os ensaios foram feitos sempre levando em consideração apenas a concentração do princípio ativo, o clorpirifós.

Da suspensão do composto comercial, foi preparada uma solução de concentração nominal de 240 mg L<sup>-1</sup> em água ultra-pura, chamada de solução estoque. Devido à instabilidade da amostra em solução aquosa, após intensa homogeneização, a solução foi separada em tubos de vidro de 10 mL e as porções foram armazenadas a -4 °C (freezer) na ausência de luz. As soluções de trabalho (200 µg L<sup>-1</sup>) foram preparadas em água de osmose reversa no dia de uso a partir da diluição da solução estoque.

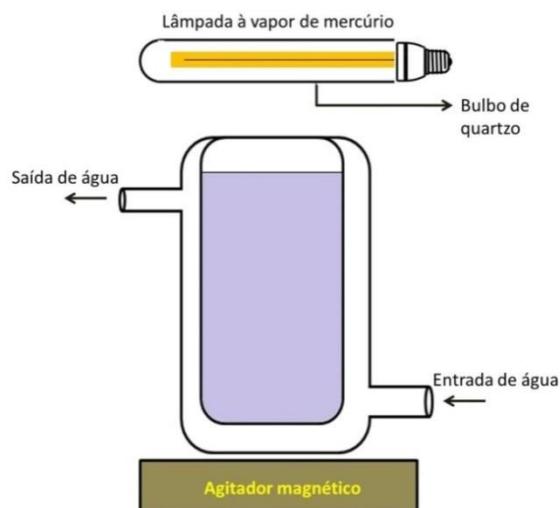
Para as soluções utilizando o padrão analítico, foi preparada uma solução estoque de 40 mg L<sup>-1</sup> em acetona com posterior diluição em água de osmose reversa para 200 µg L<sup>-1</sup>.

### 4.3 ENSAIOS DE DEGRADAÇÃO

Os ensaios foram feitos utilizando um reator fotoquímico convencional de bancada (600 mL de capacidade), equipado com refrigeração por água e agitação magnética (Figura 7).

Para os sistemas fotoassistidos por radiação artificial, uma lâmpada de alta pressão de vapor de mercúrio de 125 W, sem o bulbo protetor, foi posicionada a 10 cm da borda do reator protegida por um bulbo de vidro Pyrex (radiação UVA) para o processo foto-Fenton e por um bulbo de quartzo (radiação UVC) para a fotólise e o processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

**Figura 7 - Representação do reator fotoquímico de bancada**



Fonte: Utzig (2016)

#### 4.3.1 Degradação dos solventes orgânicos em solução aquosa

As degradações foram feitas em soluções aquosas com 0,2% (v/v) de solvente orgânico (acetonitrila, acetona e metanol).

Os ensaios de fotólise foram conduzido por 180 minutos, sendo retirada uma alíquota final para a realização dos bioensaios.

Para os ensaios UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi estabelecida em 12 mg L<sup>-1</sup> e utilizado pH natural da solução (entre 5 e 6) (UTZIG, 2016). O processo foi avaliado por 180 minutos, sendo retirada uma alíquota final para a realização dos bioensaios.

Nos ensaios foto-Fenton a concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi fixada em 12 mg L<sup>-1</sup> e a concentração de Fe<sup>2+</sup> foi baseada no trabalho de Affam, Chaudhuri e Kutty (2012) que fez uma avaliação da degradação de três agrotóxicos entre eles o clorpirifós, em que foi estabelecida uma razão H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe<sup>2+</sup> ideal de 6. Portanto a concentração de Fe<sup>2+</sup> utilizada foi de 2 mg L<sup>-1</sup>. O pH das soluções antes da adição dos reagentes era ajustado para 2,8 (MALATO et al., 2009). O processo foi avaliado por 180 minutos, sendo retirada uma alíquota final, para a realização dos bioensaios.

#### 4.3.2 Degradação do Lorsban® e clorpirifós padrão analítico

Os mesmos procedimentos de degradação empregados para os solventes orgânicos foram repetidos para degradação das soluções de Lorsban® e clorpirifós padrão analítico, entretanto com retiradas de amostras em tempos intermediários, para acompanhamento da degradação do analito de interesse.

Na fotólise a degradação foi realizada por 180 minutos, sendo retiradas alíquotas nos tempos 5, 10, 20, 30, 45, 60, 120 e 180 minutos para quantificação do clorpirifós por HPLC-DAD após processo de extração líquido-líquido.

Além da quantificação cromatográfica, com as amostras dos tempos 60, 120 e 180 minutos foram realizados os bioensaios.

Para o processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a concentração inicial aplicada de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi calculada a partir do valor de carbono orgânico total (COT) utilizando a razão ( $r = C_{\text{H}_2\text{O}_2}/C_{\text{OCOT}}$ ) de 26 (FEMIA et al., 2013).

Em uma solução de Lorsban® contendo 20 mg L<sup>-1</sup> de clorpirifós, equivalente a 6,2 mg L<sup>-1</sup> de carbono, o valor obtido para o COT foi de 31 mg L<sup>-1</sup>, indicando que 80% do COT na solução de Lorsban era proveniente dos demais ingredientes presentes em solução, que não o clorpirifós.

Sendo a concentração de clorpirifós na solução de trabalho de 200 µg L<sup>-1</sup> (310 µg de COT), a quantidade de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> estabelecida foi de 8 mg L<sup>-1</sup>.

Foram retiradas alíquotas nos tempos 5, 10, 20, 30, 45, 60, 120 e 180 minutos para quantificação do clorpirifós por HPLC-DAD após processo de extração líquido-líquido e quantificação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> residual.

Além da quantificação cromatográfica, com as amostras dos tempos 60, 120 e 180 minutos foram realizados os bioensaios.

Para os estudos de foto-Fenton buscou-se trabalhar com a mesma concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> usada no processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, fixa em 8 mg L<sup>-1</sup>. Desta forma a concentração de Fe<sup>2+</sup> utilizada foi de 1,3 mg L<sup>-1</sup> (AFFAM; CHAUDHURI; KUTTY, 2012). Previamente à adição dos reagentes, o pH era ajustado para 2,8 (MALATO et al., 2009).

O processo foi realizado por 180 minutos, sendo retiradas alíquotas nos tempos 5, 10, 20, 30, 45, 60, 120 e 180 minutos, com quantificação do clorpirifós por

cromatografia a líquido após processo de extração líquido-líquido. Também foi realizada a quantificação do  $\text{H}_2\text{O}_2$  residual, do  $\text{Fe}^{2+}$  e ferro total dissolvido.

Além da quantificação cromatográfica, com as amostras dos tempos 60, 120 e 180 minutos foram realizados os bioensaios.

## 4.4 CONTROLE ANALÍTICO

### 4.4.1 Análise quantitativa do clorpirifós por HPLC-DAD

A concentração de clorpirifós foi determinada por HPLC-DAD em método validado em trabalho anterior do grupo de pesquisa (UTZIG, 2016). Uma vez que os trabalhos foram executados de forma sucessiva e utilizando o mesmo equipamento e coluna cromatográfica, não foi necessária a implementação e validação de um novo método para detecção e quantificação do clorpirifós.

As condições cromatográficas são apresentadas no quadro 2.

**Quadro 2: Condições cromatográficas e do método estabelecidas para detecção e quantificação do agrotóxico clorpirifós em solução aquosa com 0,2% de acetonitrila.**

Coluna cromatográfica	Poroshell 120 EC-C18 (Agilent Technologies) 4,6 × 150 mm; 2,7 $\mu\text{m}$
Fase móvel	Acetonitrila:H <sub>2</sub> O
Proporção da fase móvel	90:10 (v/v)
Vazão da fase móvel	0,4 mL min <sup>-1</sup>
Tipo de eluição	Isocrática
Volume de injeção	50 $\mu\text{L}$
Comprimento de onda monitorado	290 nm
Limite de quantificação	15,48 $\mu\text{g L}^{-1}$
Limite de detecção	5,11 $\mu\text{g L}^{-1}$
Faixa linear do método	15 – 200 $\mu\text{g L}^{-1}$
Tempo de retenção	8 minutos
Tempo do método	20 minutos

Fonte: Utzig (2016)

Foi utilizado um cromatógrafo líquido marca Agilent (modelo 1260 Infinity), equipado com os seguintes módulos: bomba quaternária G1311B, injetor automático

G1329B e detector DAD G4212B. Os cromatogramas foram registrados pelo software Chemstation.

Parâmetros da regressão da curva analítica são apresentados na tabela 1.

**Tabela 1: Parâmetros de regressão da curva analítica**

Parâmetro	Valor
Coefficiente linear	0,20659
Desvio do coeficiente linear	0,15893
Coefficiente angular	0,10262
Desvio do coeficiente angular	0,00381
Coefficiente de correlação	0,99868

Fonte: UTZIG (2016)

Os valores de precisão, expressos pelo cálculo do coeficiente de variação (CV) e exatidão são apresentados na tabela 2.

**Tabela 2: Valores de precisão e exatidão do método de quantificação do clorpirifós por HPLC-DAD.**

Controles de qualidade	CV (%)	Exatidão (%)
CQB (44,8 $\mu\text{g L}^{-1}$ )	3,03	95,22
CQM (102,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ )	7,96	91,45
CQA (160,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ )	2,59	98,65

Fonte: UTZIG (2016)

#### 4.4.2 Extração líquido-líquido

O processo de extração líquido-líquido (ELL) foi baseado na metodologia de Nayak et al. (2016), com adaptações.

Em funil de separação de 250 mL, foram adicionados 100 mL de amostra e 4 x 10 mL de acetato de etila grau HPLC. A cada adição, a mistura foi agitada vigorosamente e separadas as fases aquosa e orgânica. Ao fim das sucessivas adições de acetato de etila, foi obtido um fator de concentração (FC) da amostra de 2,5 vezes. Na continuidade das análise, era retirada uma alíquota da fase orgânica, conforme o fator de concentração (FC) que se desejava obter ao final do processo, evaporada em fluxo de nitrogênio e reconstituída em água com 0,2% de acetonitrila, mesma condição usada por Utzig (2016) para validação do método de análise.

Devido ao limite superior do método de quantificação ser o mesmo da concentração inicial de clorpirifós nas degradações, as amostras degradadas por menor tempo, foram concentradas por um fator de 1,25 vezes para a análise cromatográfica, enquanto as amostras que sofreram maior eficiência de remoção foram concentradas por um fator de 10 vezes para a análise cromatográfica.

Lembrando que inicialmente, na extração líquido-líquido houve um FC de 2,5 vezes, para as amostras com menor eficiência de tratamento ou as amostras provenientes de tempos iniciais, foi coletado 1 mL da fase orgânica, evaporado e reconstituído em 2 mL de água com 0,2% de acetonitrila, proporcionando ao processo como um todo um FC de 1,25 vezes. Para as amostras tratadas por mais tempo e/ou com maior eficiência de degradação do composto, foram coletados 2 mL de fase orgânica, evaporados e reconstituído para 0,5 mL de água com 0,2% de acetonitrila, proporcionando um FC igual a 10 vezes.

Com os FC de 1,25 e 10, os limites de quantificação do clorpirifós passaram a ser 12 e 1,5  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente.

Na validação da extração líquido-líquido foram utilizadas três concentrações de clorpirifós padrão analítico e Lorsban, concentração alta (CA), concentração média (CM) e concentração baixa (CB) de analito, definidos em função da linearidade da curva analítica, 15 a 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Os valores de CA, CM e CB foram de 180, 112 e 45  $\mu\text{g L}^{-1}$  (ANVISA, 2003).

#### **4.4.3 Avaliação das cinéticas de degradação**

As cinéticas das degradações foram avaliadas para primeira e segunda ordem. Para as cinéticas de primeira ordem, os gráficos foram feitos pelo cálculo de  $\ln$  de  $(C/C_0)$ , onde  $C$  é a concentração residual e  $C_0$  é a concentração inicial, versus tempo. Da inclinação da reta obtida pela análise linear, é obtido o valor da constante de velocidade da reação ( $k$ ). O cálculo do tempo de meia vida ( $t_{1/2}$ ) é dado pela fórmula  $t_{1/2} = 0,693/k$  (LACORTE, 1995, MUHAMAD, 2010, ISMAIL et al., 2013).

Para as cinéticas de segunda ordem, o eixo y é dado por  $[(1/C) - (1/C_0)]$  e o eixo x, tempo de reação em minutos. O tempo de meia vida é dado pela fórmula  $t_{1/2} = 1/(k \times C_0)$  (SAMET; HMANI; ABDELHÉDI, 2012).

#### 4.4.4 Quantificação do peróxido de hidrogênio

A quantificação do peróxido de hidrogênio foi feita por metodologia espectrofotométrica com o uso do reagente Allper® (Peróxidos do Brasil). O método é baseado na formação do complexo peróxido de titânio (IV) na presença de ácido sulfúrico (BRANDHUBER; KORSHIN, 2009).

A quantificação foi feita por meio de calibração externa com a curva analítica, feita em triplicata (0,5 até 10 mg L<sup>-1</sup>, com coeficiente de correlação de 0,999). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Varian – Cary 50 Bio) na faixa de absorção de 495 nm.

#### 4.4.5 Quantificação de Fe<sup>n+</sup> dissolvido

As determinações de Fe<sup>2+</sup> e Fe<sub>total</sub> dissolvidos foram realizadas por metodologia espectrofotométrica. A metodologia é baseada na redução de Fe total à Fe<sup>2+</sup> em presença de hidroquinona e complexação do Fe<sup>2+</sup> com 1,10-ortofenantrolina (APHA, 2005). O Fe<sup>3+</sup> é calculado pela diferença entre Fe<sub>total</sub> dissolvido e Fe<sup>2+</sup>.

A quantificação foi feita por meio de calibração externa, em triplicata, (0,2 até 4,0 mg L<sup>-1</sup>, com coeficiente de correlação de 0,999). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Varian – Cary 50 Bio) na faixa de absorção de 508 nm.

### 4.5 BIOENSAIOS

Foram adotados três organismos diferentes para a realização dos bioensaios: sementes de *Lactuca sativa* (alface) para avaliação da fitotoxicidade; *Daphnia magna* (microcrustáceo) para avaliação da ecotoxicidade aguda; e larvas de *Aedes aegypti* (mosquito da dengue) para avaliação da atividade larvicida.

Para a realização dos bioensaios, as amostras foram coletadas nos tempos indicados, o pH foi ajustado para 7 e, quando necessário, catalase (1%) foi adicionada para remover o peróxido de hidrogênio residual (para os processos que contavam com a adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (FEMIA et al., 2013).

As amostras foram preservadas seguindo NBR 15469 para coleta, preservação e preparo de amostras (ABNT, 2015).

#### 4.5.1 Fitotoxicidade com sementes de alface (*Lactuca sativa*)

Os ensaios de fitotoxicidade das soluções pré e pós tratamento foram baseados na metodologia descrita por Sobrero e Ronco (2004) e Young et al. (2012).

As sementes utilizadas nos bioensaios pertenciam à variedade Boston branca (Isla Pak®), lote 36444-S2, livre de agrotóxicos, com índice de germinação entre 87 e 99,5% (dados indicados pelo fabricante).

O teste consistiu na disposição de 15 sementes em cada placa de Petri (10 cm de diâmetro), colocadas sobre um papel filtro (80 g m<sup>2</sup>, Unifil) além de 4 mL de amostra. As placas foram seladas com filme plástico e incubadas a 20±2 °C sem fotoperíodo por 120 horas em incubadora tipo BOD (Solab). Como controle negativo foi utilizado água de osmose reversa (mesma água utilizada para preparo das soluções submetidas às degradações) e como controle positivo solução de glifosato comercial (48% m/v) a 6%. Todas as amostras assim como os controles foram feitos em triplicata.

Após o período de exposição, o comprimento das radículas foi medido com régua (cm), com uma casa decimal. Radículas com crescimento inferior a 0,3 cm foram consideradas não germinadas.

Foram calculadas as médias de comprimento de cada replicata, assim como o desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV). Somente foram aceitos os ensaios cujo CV do controle negativo foi menor que 30% e a taxa de germinação maior que 90%.

Os resultados foram avaliados através do índice de crescimento relativo (ICR), índice de germinação (IG) e teste de Tukey, após verificação da normalidade pelo teste de Kruskal-Wallis. O ICR e IG foram calculados conforme as equações 10 e 11, respectivamente.

$$ICR = \frac{\text{média do comprimento das radículas da amostra}}{\text{média do comprimento das radículas do controle negativo}} \quad (10)$$

$$IG = \frac{\text{m\u00e9dia da germina\u00e7\u00e3o de cada r\u00e9plica da amostra}}{\text{m\u00e9dia da germina\u00e7\u00e3o de cada r\u00e9plica do controle negativo}} \times 100 \quad (11)$$

De acordo com Young et al. (2012), conforme o valor obtido para o ICR, a amostra \u00e9 classificada do seguinte modo:

- inibi\u00e7\u00e3o do crescimento da rad\u00edcula (I):  $0 < ICR < 0,8$
- sem efeito significativo (SES):  $0,8 \leq ICR \leq 1,2$
- estimula\u00e7\u00e3o do crescimento da rad\u00edcula (E):  $ICR > 1,2$

Os dados foram submetidos ao teste Tukey usando o software BioEstat 5.0. As amostras que n\u00e3o foram consideradas significativamente diferentes receberam letras iguais. O teste compara amostras dois a dois.

#### 4.5.2 Ecotoxicidade aguda com *Daphnia magna*

Os ensaios com as solu\u00e7\u00f5es de Lorsban\u2122 e clorpirif\u00f3s padr\u00e3o anal\u00edtico pr\u00e9 e p\u00f3s tratamento e dos solventes org\u00e2nicos em solu\u00e7\u00e3o aquosa foram realizados seguindo a NBR 12713/2016 (ABNT, 2016).

Dez organismos neonatos (2-26h) foram colocados em b\u00e9queres contendo 20mL das amostras e/ou controles. Todas as amostras e controles foram testados em triplicata (n=3). As amostras foram dilu\u00eddas na \u00e1gua de dilui\u00e7\u00e3o (ANEXO A) de *D. magna* utilizando a solu\u00e7\u00e3o inicial e suas dilui\u00e7\u00f5es: 50, 25, 12,5 e 6,25% (v/v). O controle negativo foi feito com \u00e1gua de dilui\u00e7\u00e3o de *D. magna*. As amostras foram incubadas a  $20 \pm 2$  \u00b0C e ap\u00f3s 24 e 48h foram contabilizados os organismos im\u00f3veis em cada frasco. Os resultados foram expressos em fun\u00e7\u00e3o do fator de toxicidade (FT).

O FT, expresso pelo fator de dilui\u00e7\u00e3o (FD) (quadro 3), \u00e9 a maior concentra\u00e7\u00e3o ou menor dilui\u00e7\u00e3o na qual n\u00e3o \u00e9 observado um efeito de imobilidade maior que 10% nos organismos testados (ABNT, 2016).

**Quadro 3: Percentagens das soluções testes utilizadas nos ensaios e o seu fator de diluição para ensaios com *Daphnia magna*.**

Solução-teste (%)	Fator de diluição
100	1
50	2
25	4
12,5	8
6,25	16

Fonte: adaptado de ABNT, 2016

#### 4.5.3 Atividade larvicida em *Aedes aegypti*

Os ensaios com as soluções de Lorsban® e clorpirifós padrão analítico pré e pós tratamento foram realizados seguindo a metodologia para determinação da suscetibilidade ou resistência da larva de mosquito a inseticidas, determinado pelo WHO (1981), com adaptações de Utzig (2016).

Utilizou-se ovos sadios de *Aedes aegypti* da linhagem Rockefeller cedidos pelo Laboratório de Fisiologia e Controle de Artrópodes Vetores (LAFICAVE, Fundação Oswaldo Cruz – RJ).

Para a eclosão, os ovos foram colocados em béquer com 500 mL de água mineral e mantidos a 28 °C com fotoperíodo de 16h de luz e 8h de escuro em uma incubadora tipo BOD (Solab). Para alimentação das larvas foi utilizada ração para peixe (Alcom Basic® – MEP 200 Complex).

Para os bioensaios, foram utilizadas larvas no 3º ou início do 4º estágio de desenvolvimento, que foi acompanhado com o auxílio de um microscópio óptico (Zeiss Primo Star®). A definição do estágio foi feita com base no desenvolvimento do abdômen, papila anal, sifão respiratório e tórax de acordo com Bar e Andrew (2013), cerca de 96h após eclosão dos ovos.

Os bioensaios foram realizados em béqueres de 50 mL contendo 25 mL de solução e 20 organismos por réplica. O teste preliminar foi feito em duplicata (n=4); já o teste definitivo e demais amostras foram feitos em triplicata (n=3). O controle negativo foi feito com água de osmose. Todos os béqueres foram mantidos a 23 °C sem fotoperíodo em incubadora tipo BOD por 24 h.

Após 24 h de exposição das larvas às soluções, foi verificada a mortalidade das mesmas e o resultado obtido foi expresso em % de mortalidade. Os ensaios com mortalidade superior a 20% no controle negativo foram invalidados e repetidos e quando o controle negativo apresentava mortalidade entre 5% e 20%, o resultado foi corrigido com a fórmula de Abbott (equação 12) (WHO, 1981).

$$\frac{\% \text{ mortalidade do ensaio} - \% \text{ mortalidade do controle}}{100 - \% \text{ mortalidade do controle}} \times 100 \quad (12)$$

Ao final dos ensaios todas as larvas foram expostas a uma solução de hipoclorito de sódio 10% (v/v), garantindo sua morte.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ECOTOXICIDADE DE SOLVENTES ORGÂNICOS EM SOLUÇÃO AQUOSA

Devido à baixa solubilidade de diversos compostos submetidos aos processos avançados de oxidação em água, por vezes é necessário que seja feita uma solução estoque em solvente orgânico com sua posterior diluição em água.

Em trabalho anterior recente (UTZIG, 2016) observou-se que a acetonitrila, solvente utilizado na solubilização do agrotóxico clorpirifós, apresentou ecotoxicidade para a *Lactuca sativa*, *Daphnia magna* e *Aedes aegypti* após tratamento pela radiação UVC (fotólise) e pelo processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, utilizando a menor concentração testada para solubilização do mesmo (0,2 %). Tal efeito tóxico pode ser devido à formação dos íons cianato e cianeto durante a sua fotodegradação (AUGUGLIARO et al., 2004).

Por este motivo, o presente trabalho se propôs a avaliar três solventes geralmente utilizados na solubilização de compostos de baixa solubilidade em água, acetonitrila, acetona e metanol. Estes solventes orgânicos foram submetidos à fotólise e aos processos UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton por 180 minutos, em condições similares às utilizadas no trabalho citado (UTZIG, 2016) e submetidos aos testes de ecotoxicidade com *Lactuca sativa* e *Daphnia magna*. O mesmo não pode ser realizado com o *Aedes aegypti*, pois o teste ainda não estava implementado.

Os resultados serão apresentados nas próximas seções, separadas por organismo.

#### 5.1.1 Fitotoxicidade aguda em *Lactuca sativa*

Com a medida do comprimento das radículas e sementes germinadas, após o período de incubação, foram possíveis os cálculos do coeficiente de variação (CV), a média de crescimento das radículas (CRad) e seu respectivo desvio padrão, índice de germinação (IG) e o índice de crescimento relativo (ICR), para cada processo e solvente.

Os AOP contam com a adição de reagentes que podem influenciar nos resultados obtidos. Visando avaliar possíveis interferências, foram feitos ensaios com amostras chamadas de amostras-controle.

As amostras-controle consistiram na adição de todos os reagentes utilizados nos processos de degradação, exceto o composto alvo, neste caso, os solventes. As amostras foram submetidas aos AOPs e então realizados os ensaios com as sementes de *L. sativa*.

Como esperado pela sua função herbicida, em todos os testes do controle positivo (glifosato 6%) não houve germinação.

Previamente aos cálculos da média do comprimento, ICR, IG e teste de Tukey, os dados foram submetidos à análise de normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Todas as amostras apresentaram distribuição normal.

Os resultados dos ensaios são mostrados na tabela 3.

**Tabela 3: Resultados dos ensaios de fitotoxicidade com sementes de *Lactuca sativa* dos solventes acetonitrila, acetona e metanol na concentração 0,2 % sem tratamento, pós fotólise, processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton (n=3).**

Amostra	CV (%)	CRad (cm) ± DP	IG (%)	ICR	Efeito	
Controle Negativo <sup>a</sup>	21,2	3,0 ± 0,6	100	1,0	na	
Sem tratamento	Acetonitrila 0,2 % <sup>ab</sup>	24,2	2,6 ± 0,6	100	0,9	NS
	Acetona 0,2 % <sup>abc</sup>	19,4	2,8 ± 0,5	98	0,9	NS
	Metanol 0,2 % <sup>d</sup>	43,7	1,9 ± 0,8	96	0,6	I
Pós fotólise	Acetonitrila <sup>abce</sup>	22,7	2,8 ± 0,6	100	0,9	NS
	Acetona <sup>bcef</sup>	20,4	2,4 ± 0,5	102	0,8	NS
	Metanol <sup>dg</sup>	46,8	1,7 ± 0,8	87	0,6	I
Pós processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Acetonitrila <sup>dgh</sup>	29,0	1,5 ± 0,4	92	0,5	I
	Acetona <sup>bdfi</sup>	22,1	2,3 ± 0,5	94	0,8	NS
	Metanol <sup>ghj</sup>	12,8	1,5 ± 0,2	94	0,5	I
Pós processo foto-Fenton	Acetonitrila <sup>dghik</sup>	27,6	1,9 ± 0,5	102	0,6	I
	Acetona <sup>dfgikl</sup>	20,1	2,1 ± 0,4	102	0,7	I
	Metanol <sup>hj</sup>	37,5	1,1 ± 0,4	94	0,4	I
Amostra controle	UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> <sup>bdfiklm</sup>	27,2	2,2 ± 0,6	96	0,8	NS
	Foto-Fenton <sup>bdfiklm</sup>	27,9	2,3 ± 0,6	96	0,8	NS

**Nota:** CV: coeficiente de variação; CRad: média do comprimento da radícula; DP: desvio padrão; IG: índice de germinação; ICR: índice de crescimento relativo; na: não aplicável; NS: não significativo; I: inibição.

Os solventes acetonitrila e acetona na concentração de 0,2 % em solução aquosa, não submetidos a nenhum processo, apresentaram ICR de 0,9 classificando o seu efeito como não significativo para o crescimento das radículas. O teste de Tukey confirmou esse resultado indicando que não há diferença significativa entre as amostras e o controle.

O mesmo não ocorre para o metanol que apresenta ICR de 0,6, sendo o seu efeito classificado como inibitório. Aliado a esse resultado, está o fato das sementes que entraram em contato com o metanol terem apresentado um aspecto mais frágil e coloração escura, reforçando o efeito negativo do metanol no desenvolvimento das sementes.

Esse efeito negativo do metanol em sementes já havia sido relatado por Waris et al. (2016) em que as sementes de *Triticum aestivum* L. (trigo) e *Zea mays* (milho) quando expostas ao extrato aquoso de *Camellia sinensis* (chá da Índia) tiveram uma redução na germinação e crescimento enquanto que no extrato metanólico a germinação foi totalmente suprimida, revelando o efeito inibitório do metanol.

Da mesma forma, sementes de *Trigonella foenum-graecum* (feno-grego) quando expostas a concentrações superiores a 4%, tiveram sua germinação e crescimento inibidos, decorrentes do dano ou morte do embrião (MEHRAFARIN et al., 2011).

O teste de Tukey indica que o único solvente que difere estatisticamente do controle negativo, indicando um efeito inibitório, é o metanol, resultado que concorda com os valores de ICR apresentados (Tabela 3). Além de diferir do controle negativo, o metanol sem tratamento também é estatisticamente diferente das demais amostras, exceto pela amostra do metanol pós fotólise.

Quando submetido à fotólise por 180 minutos, o metanol, com um ICR de 0,6, apresentou um efeito inibitório no crescimento das radículas da *L. sativa*. Observa-se que a amostra foi capaz de influenciar o índice de germinação que ficou em 87% acarretando numa elevação do coeficiente de variação (46,8 %), resultante das diversas sementes não germinadas. Também vale ressaltar que visualmente as

sementes em contato com o metanol se apresentavam mais frágeis, quebrando com facilidade no momento da medição.

A acetonitrila e acetona pós fotólise apresentaram um efeito não significativo, de acordo com seu ICR, no entanto o único solvente pós fotólise que não difere significativamente do controle negativo é a acetonitrila, concordando com o valor de ICR de efeito não significativo. Assim como no teste dos solventes sem tratamento, o metanol difere das demais amostras submetidas ao mesmo tratamento, corroborando para a confirmação do seu efeito negativo sob as sementes de alface.

Um estudo realizado por Laat et al, (1999) concluiu que as perdas por volatilização e mineralização da acetona ( $58 \text{ mg L}^{-1}$ ) submetida a fotólise são insignificantes não ultrapassando 3% de perda no teor de carbono orgânico dissolvido após 120 minutos de irradiação com uma lâmpada de baixa pressão de vapor de mercúrio (emissão a 253,7 nm), fato que ajudaria a reforçar que a amostra de acetona pós-fotólise não apresentou efeito negativo nas sementes de *L. sativa*, sendo semelhante à amostra de acetona sem tratamento.

Dos solventes pós processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, a acetona apresentou um efeito não significativo (ICR de 0,8) enquanto que a acetonitrila e metanol apresentaram ICR de 0,5, indicando um efeito negativo para o desenvolvimento das sementes de alface. Apesar da acetona apresentar um ICR indicando um efeito não significativo, o teste de Tukey mostrou que todos os solventes submetidas ao processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diferem do controle negativo.

O efeito negativo da acetonitrila após o processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, pode ser justificado pela eficiência do processo quando comparado à fotólise gerando uma maior quantidade de subprodutos tóxicos capazes de sensibilizarem as sementes de alface a ponto de inibirem seu crescimento.

Visto que a lâmpada de alta pressão de vapor de Hg utilizada nas reações emite entre 200 e 700nm (CAVICCHIOLI; GUTZ, 2003), a fotólise não tem um efeito muito expressivo na degradação da acetonitrila devido ao seu espectro de absorção UV-Vis, no qual apenas abaixo de 200 nm ocorre absorção (LIMA, 2014).

No processo foto-Fenton, todos os solventes apresentaram ICR inferior a 0,7, mostrando um efeito inibitório nas radículas da *L. sativa*. O efeito nas sementes expostas ao metanol foi mais expressivo do que os efeitos dos demais solventes, com um ICR de 0,4 e média de crescimento de radícula de  $1,1 \pm 0,4 \text{ cm}$ . Assim

como com as amostras pós processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, o teste de Tukey mostra que todas as amostras pós foto-Fenton diferem do controle negativo (Tabela 4).

Apesar do teste de Tukey indicar diferença entre as amostras-controle e o controle negativo, elas apresentaram ICR de 0,8, indicando um efeito não significativo nas radículas das sementes.

Tendo em conta os resultados apresentados, pode-se constatar que o metanol apresentou toxicidade em todos os ensaios com *L. sativa*, inclusive no ensaio com o solvente não tratado, podendo ser considerado o mais tóxico para o organismo testado.

Apesar dos testes de Tukey indicarem diferenças significativas após as degradações entre as amostras de acetona e o controle negativo, levando em consideração o valor médio do comprimento das radículas e do ICR, a acetona foi o solvente que apresentou as menores diferenças podendo ser considerada, entre os solventes testados, o mais indicado para a solubilização de compostos pouco solúveis em água e posterior teste de fitotoxicidade.

### **5.1.2 Ecotoxicidade aguda em *Daphnia magna***

Assim como para os ensaios com a *L. sativa*, os testes de ecotoxicidade aguda com a *D. magna* foram feitos com as amostras dos solventes submetidos aos tratamentos, amostras dos solventes a 0,2% sem tratamento e amostras-controle. Para cada análise foram feitas as seguintes diluições: amostra bruta, 50%, 25%, 12,5% e 6,25%.

Com a percentagem de imobilidade dos organismos nas diluições, foi possível calcular o fator de toxicidade (FT). O FT, expresso pelo fator de diluição (FD), é a maior concentração ou menor diluição na qual não é observado um efeito de imobilidade maior que 10% nos organismos testados (ABNT, 2016). A tabela 4 apresenta os valores dos fatores de toxicidade das amostras.

Quando não submetidos a nenhum processo de degradação, o FT para a acetonitrila e acetona foi de 2 e para o metanol foi de 4, indicando que para a anulação do efeito tóxico do metanol, é preciso que o mesmo seja diluído mais vezes do que a acetonitrila e acetona.

**Tabela 4: Fator de toxicidade das amostras submetidas aos processos de degradação por 180 minutos, dos solventes sem tratamento e das amostras-controle (n=3).**

Processo de degradação	Amostra			
	Acetonitrila	Acetona	Metanol	Amostra-controle
Nenhum	2	2	4	-
Fotólise	2	2	2	-
UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2	2	2	2
Foto-Fenton	4	2	16	2

Os resultados obtidos nas análises mostram que em todos os ensaios em que os organismos foram expostos às amostras sem diluição, houve toxicidade e exceto no processo foto-Fenton, nos demais tratamentos a toxicidade diminuiu após a primeira diluição (de 100 para 50% de amostra), resultando num FT de 2.

Vale ressaltar que as amostras de acetonitrila e metanol após as degradações por foto-Fenton imobilizaram os organismos com 24h de exposição nas amostras menos diluídas, indicando um efeito tóxico muito maior do que na amostra de acetona.

Assim como para a *L. sativa*, o metanol apresentou maior toxicidade nos ensaios com a *D. magna*, inclusive, antes do tratamento. Isso pode ser explicado pela sua metabolização, pois mesmo sendo considerado um composto de baixa toxicidade, sua oxidação produz formaldeído e ácido fórmico, compostos reconhecidamente tóxicos. Segundo MacAllister et al. (2011) esse processo pode ocorrer através de três diferentes mecanismos:

- transferência de elétron via NADPH levando à oxidação direta;
- catálise pela enzima catalase ou reagentes de Fenton com produção de radicais HO• responsáveis pela sua oxidação;
- oxidação via NAD<sup>+</sup> catalisada pela enzima álcool desidrogenase presente no fígado.

O metanol é considerado um agente narcótico, de rápida absorção, seja por ingestão, inalação e contato, e lenta eliminação, com efeitos severos ao sistema nervoso, principalmente o óptico, mucosas, podendo levar à perda de consciência, parada respiratória e cardíaca (PEREIRA; ANDRADE, 1998, KATZ; RUHA; CURRY, 2004, MacALLISTER et al., 2011).

Do mesmo modo que os resultados da fitotoxicidade com semente de *L. sativa* pode-se dizer que o processo foto-Fenton gerou subprodutos mais tóxicos para os organismos testados, com exceção da acetona que apresentou um FT de 2.

Os resultados de ecotoxicidade com *D. magna* dos solventes orgânicos testados (Tabela 4) sugerem que a acetona seria o solvente mais indicado para solubilizar os compostos de baixa solubilidade em água com posterior tratamento por fotólise e processos UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton.

Posto isto, perante os resultados de ecotoxicidade apresentados nos itens (5.1.1 e 5.1.2), a acetona foi o solvente eleito para coadjuvar na solubilização do padrão de clorpirifós em água para realização dos processos de degradação com posterior análise de ecotoxicidade e determinação analítica.

## 5.2 ENSAIOS DE RECUPERAÇÃO

Por conter partículas que podem danificar o injetor e a coluna do HPLC utilizado na detecção e quantificação do clorpirifós nas soluções de Lorsban®, a filtração é um método eficiente para minimizar problemas decorrentes da presença desses nas amostras.

A fim de avaliar possíveis perdas do analito nesse processo, foram feitos experimentos de filtração com diferentes membranas com soluções feitas a partir da solução comercial e do padrão analítico.

Inicialmente utilizando uma solução de clorpirifós, de concentração nominal de 200 µg L<sup>-1</sup>, foram testadas as membranas de acetato de celulose e fibra de vidro, ambas de porosidade de 0,45 µm. A tabela 5 traz os valores das concentrações encontradas após análise cromatográfica, bem como a média, desvio padrão e coeficiente de variação.

Os valores apresentados na tabela 5 indicam que ocorre uma perda muito acentuada de padrão quando utilizada a membrana de acetato de celulose, além do alto valor do coeficiente de variação. O mesmo não ocorre para a membrana de fibra de vidro.

Resultados de perdas de analito no processo de filtração são discutidos na literatura, mostrando interferência da membrana no processo de filtração (HAN; QIU; GAO, 2010).

**Tabela 5: Concentrações das amostras de clorpirifós (concentração nominal 200 µg L<sup>-1</sup>) antes e após filtração com fibra de vidro e membrana de acetato de celulose de porosidade de 0,45 µm analisadas por HPLC-DAD (eluição ACN:H<sub>2</sub>O de 90:10, vazão 0,4 mL min<sup>-1</sup> e monitoramento em 290 nm).**

Ensaio	Amostra não filtrada (µg L <sup>-1</sup> )	Amostra filtrada	
		Fibra de vidro (µg L <sup>-1</sup> )	Acetato de celulose (µg L <sup>-1</sup> )
1	143,18	132,46	7,54
2	133,44	100,31	17,48
3	121,74	130,51	< LD
4	152,93	130,51	< LD
5	166,57	-	< LD
Média ± DP	143,57 ± 17,29	123,45 ± 15,45	12,51 ± 7,03
CV (%)	12,04	12,52	56,18

**Nota:** DP: desvio padrão; CV: coeficiente de variação; -: amostra não analisada; LD: limite de detecção do método cromatográfico.

Em virtude dos valores obtidos para as amostras não filtradas e filtradas em fibra de vidro se sobreporem, foi realizado o teste t para comparação entre as médias. O valor de t para 95% de confiança é de 2,365 e o t calculado foi de 1,841, indicando com 95% de confiança que as médias obtidas não diferem. Mediante este resultado, pode-se afirmar que não ocorrem perdas na filtração quando utilizada a fibra de vidro para a solução de clorpirifós feita a partir do padrão analítico.

Após definição da utilização da membrana de fibra de vidro para filtração do padrão de CP, foram realizados testes com as soluções de Lorsban®, a fim de verificar se as recuperações e variações obtidas com a solução feita a partir do padrão analítico de clorpirifós se repetiriam.

Da solução de Lorsban® preparada conforme descrito no item 4.2.1, alíquotas de concentração nominal 200 µg L<sup>-1</sup> foram filtradas em membrana de fibra de vidro e quantificadas por cromatografia.

As concentrações obtidas são apresentadas na tabela 6.

**Tabela 6: Concentrações das amostras de Lorsban® de concentração nominal 200 µg L<sup>-1</sup> após filtração com membrana de fibra de vidro de porosidade de 0,45 µm analisadas por HPLC-DAD (eluição ACN:H2O de 90:10, vazão 0,4 mL min<sup>-1</sup> e monitoramento em 290 nm).**

Ensaio	Fibra de vidro (µg L <sup>-1</sup> )
1	81,79
2	63,28
3	74,97
Média ± DP	73,35 ± 9,36
CV (%)	12,77

**Nota:** DP: desvio padrão; CV: coeficiente de variação.

Com os valores obtidos, é possível calcular uma perda na quantificação do clorpirifós de 63,3% quando a solução de Lorsban® é filtrada em membrana de fibra de vidro.

Em razão do resultado apresentado na tabela 6, foi constatado que a solução de Lorsban® não poderia ser filtrada em membrana de fibra de vidro devido às perdas que ocorrem durante a filtração. Portanto para a quantificação do clorpirifós durante as degradações do Lorsban®, a solução deveria passar por outro procedimento, tal como a extração.

Portanto, com o objetivo de obter um processo com o qual não ocorressem perdas consideráveis de clorpirifós, solução padrão ou solução comercial, para sua posterior quantificação, foi avaliado um processo de extração líquido-líquido (ELL) para soluções de clorpirifós com o padrão analítico e Lorsban®.

Foram analisadas 3 diferentes concentrações de clorpirifós, dentro da faixa linear do método, tanto para soluções feitas a partir do Lorsban®, quanto do padrão analítico. Os valores de recuperação para as concentrações são mostrados na tabela 7.

Segundo a Associação de Química Analítica (AOAC, 2002) são admitidas percentagens de recuperação entre 70 e 125% para concentrações na faixa de µg L<sup>-1</sup>, portanto o método proposto de extração líquido-líquido para o clorpirifós apresentou valores dentro dos limites aceitáveis.

**Tabela 7: Resultado do processo de ELL para soluções de clorpirifós feitas a partir do Lorsban® e padrão analítico analisadas por HPLC-DAD (eluição ACN:H<sub>2</sub>O de 90:10, vazão 0,4 mL min<sup>-1</sup> e monitoramento em 290 nm).**

Amostra		Recuperação do método + DP (%)	CV (%)
Lorsban®	CB	101,63 ± 5,5	5,42
	CM	99,56 ± 10,3	10,38
	CA	95,75 ± 12,4	12,94
Clorpirifós (padrão analítico)	CB	101,49 ± 9,6	9,50
	CM	92,11 ± 13,8	14,96
	CA	96,29 ± 13,8	14,31

**Nota:** DP: desvio padrão; CV: coeficiente de variação.

Os valores de recuperação para a solução de Lorsban® também indicam que os aditivos presentes na solução do composto comercial não interferem na extração do clorpirifós.

Com o teste de recuperação por extração líquido-líquido foi possível obter um método de avaliação da concentração após as degradações em que a perda de clorpirifós não fosse tão acentuada como no processo de filtração por membrana de fibra de vidro.

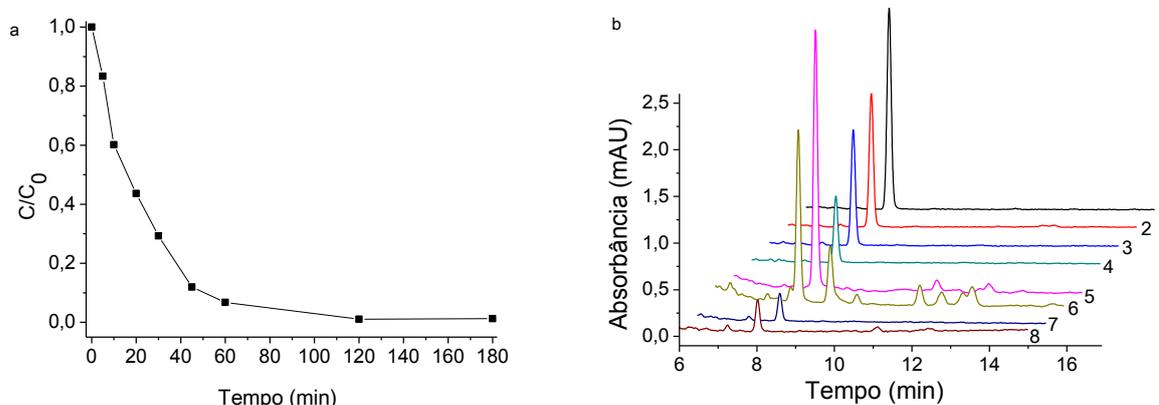
### **5.3 DEGRADAÇÃO DO LORSBAN® POR PROCESSOS AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO E RADIAÇÃO UVC**

Antes de iniciar os processos de degradação, foram preparadas 10 soluções de Lorsban®, conforme item 4.2.1, com concentração nominal de 200 µg L<sup>-1</sup> de clorpirifós. Após processo de ELL, o clorpirifós presente nas soluções foi quantificado por HPLC-DAD, apresentando uma média de concentração de 182,89 ± 14,9 µg L<sup>-1</sup>. Esta média foi utilizada como valor inicial para todos os ensaios subsequentes das soluções submetidas aos processos de degradação, pois realizar a quantificação inicial do clorpirifós em todas as soluções antes do processo de degradação não seria viável devido ao processo de ELL. Os resultados de cada processo são apresentados nos próximos itens.

### 5.3.1 Aplicação da fotólise na degradação do Lorsban®

O experimento de fotólise foi executado conforme exposto no item 4.3.2. Na figura 8 é apresentado o monitoramento da redução da concentração de clorpirifós ao longo da degradação  $C/C_0$  (a) e os cromatogramas com os respectivos fatores de concentração, monitorados em 290 nm (b). Os valores das concentrações após a fotólise são apresentadas no apêndice A.

**Figura 8: Concentração de clorpirifós ao longo da degradação ( $C/C_0$ ) (a) e os cromatogramas com os respectivos fatores de concentração (b) da solução de Lorsban® submetida à fotólise (eluição ACN:H<sub>2</sub>O de 90:10, vazão 0,4 mL min<sup>-1</sup> e monitoramento em 290 nm).**



**Nota:** Figura b – cromatogramas na ordem: 5 min, 10 min, 20 min e 30 min com FC de 1,25x; 45 min, 60 min, 120 min e 180 min com FC de 10x.

Com o emprego da extração líquido-líquido, foi possível a quantificação do agrotóxico por até 180 minutos, tempo estabelecido para o acompanhamento da degradação.

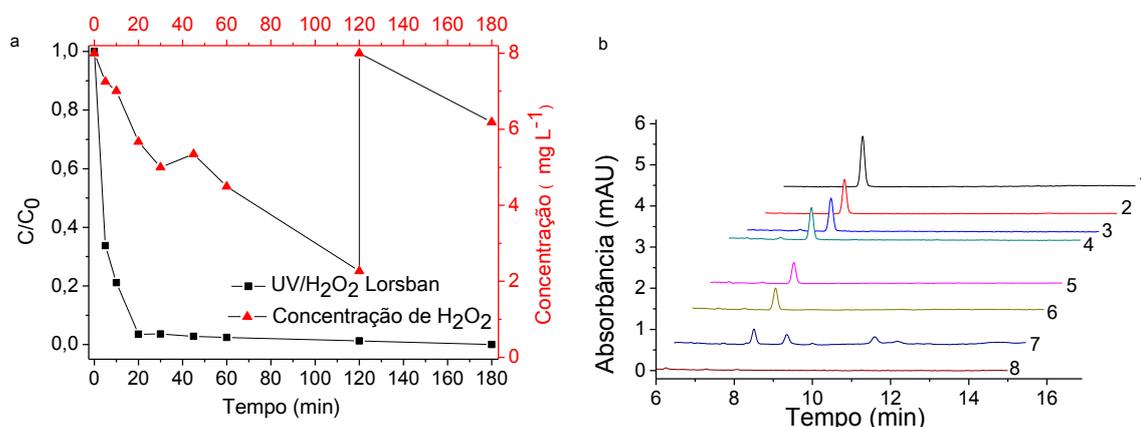
Na figura 8a é possível observar o decaimento da concentração de clorpirifós ao longo da degradação. Com 5 minutos de reação, 16,6% da concentração inicial de clorpirifós já havia degradado. Após 45 minutos do início do processo, essa taxa já estava em 88%, alcançando 98,7% após 180 minutos.

Utilizando um reator anular de quartzo e uma lâmpada BTE Model 6,169 KV de emissão em 253,7 nm e 20 W, Femia et al. (2013) submeteram soluções de clorpirifós comercial de 15 mg L<sup>-1</sup> a degradações por 240 minutos. Similar ao obtido no presente trabalho, os resultados apresentados mostram que após 120 minutos de reação, cerca de 90% do clorpirifós havia sido degradado.

### 5.3.2 Aplicação do processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na degradação do Lorsban®

Assim como para a fotólise, a degradação pelo processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi conduzida conforme exposto no item 4.3.2. A figura 9 exibe os resultados obtidos durante o monitoramento da reação. Nela são apresentados os valores de C/C<sub>0</sub>, o decaimento da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (a) e os cromatogramas (b). Os valores das concentrações após o processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> são apresentadas no apêndice A.

**Figura 9:** Concentração de clorpirifós (C/C<sub>0</sub>) e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ao longo da degradação (a) e os cromatogramas com os respectivos fatores de concentração (b) da solução de Lorsban® submetida ao processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (eluição ACN:H<sub>2</sub>O de 90:10, vazão 0,4 mL min<sup>-1</sup> e monitoramento em 290 nm).



**Nota:** Figura b – cromatogramas na ordem: 5 min e 10 min com FC de 1,25x; 20 min, 30 min; 45 min, 60 min, 120 min e 180 min com FC de 10x.

Com 20 minutos de reação, foi alcançada uma degradação do clorpirifós de 96,4%, superando 98% com 120 minutos e já não sendo mais possível a sua detecção em 180 minutos (Figura 9a).

Os valores de degradação obtidos no processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> comparados à fotólise são maiores e/ou atingidos em menor tempo devido aos coeficientes de absorção a 254 nm. Esse valor para o clorpirifós é de 2.0 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> e do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> é 36,8 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, indicando que a radiação é preferencialmente absorvida pelo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para geração de radicais hidroxila (FEMIA et al., 2013).

Em relação ao consumo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, com 60 minutos de reação a concentração residual ficava pouco acima dos 4 mg L<sup>-1</sup> (43,8% de consumo), justificando a acentuada remoção do clorpirifós no início do processo. Em 120 minutos o consumo superava 70% da concentração inicial adicionada ao processo. Devido ao elevado

consumo, restando cerca apenas  $\frac{1}{4}$  da concentração inicial adicionada, foi optado por realizar uma reinjeção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em 120 minutos de reação, voltando à concentração utilizada no início do processo,  $8 \text{ mg L}^{-1}$ .

Com a medição do  $\text{H}_2\text{O}_2$  residual em 180 minutos foi possível notar que mais 22% havia sido consumido, além dos 70% consumidos até 120 minutos, levando a degradação do clorpirifós a níveis não quantificáveis pelo método utilizado.

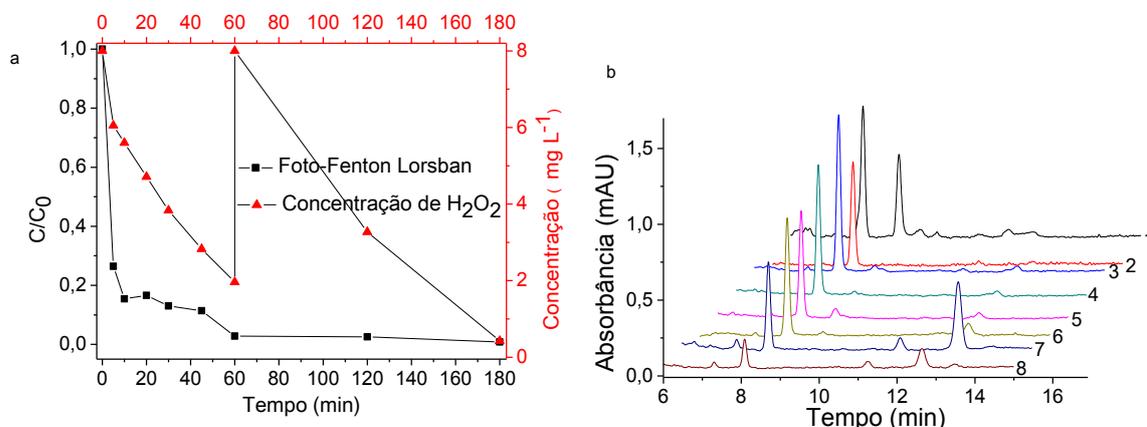
No trabalho realizado por Femia et al. (2013), após 40 minutos de reação, a degradação do clorpirifós superava 99%, utilizando concentração inicial de clorpirifós de  $15 \text{ mg L}^{-1}$  de uma solução comercial. Cabe ressaltar que foi utilizado um reator anular em que a solução ficava diretamente exposta à radiação fornecida pela lâmpada enquanto que no presente trabalho a radiação foi abrandada dispondo a lâmpada a 10 cm da borda do reator.

### **5.3.3 Aplicação do processo foto-Fenton na degradação do Lorsban®**

A degradação pelo processo foto-Fenton foi realizada conforme exposto no item 4.3.2. Nas figuras 10 e 11 são apresentados os resultados obtidos durante o monitoramento da reação. Nelas são exibidos os valores de  $C/C_0$ , o comportamento da concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , os cromatogramas (Figura 10a e 10b) e a variação das espécies de ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Fe}_t$  dissolvido) (Figura 11). Os valores das concentrações após o processo foto-Fenton são apresentadas no apêndice A.

Nos 5 minutos iniciais de reação, ocorre uma rápida remoção do clorpirifós da solução, superando 70% de degradação. No entanto, mesmo após 180 minutos de reação ainda é possível a quantificação do agrotóxico, com uma taxa de remoção de 99% ao final do acompanhamento da reação (Figura 10a).

**Figura 10: Concentração de clorpirifós ( $C/C_0$ ) e  $H_2O_2$  ao longo da degradação (a) e os cromatogramas com os respectivos fatores de concentração (b) da solução de Lorsban® submetida ao processo foto-Fenton (elução ACN:H<sub>2</sub>O de 90:10, vazão 0,4 mL min<sup>-1</sup> e monitoramento em 290 nm).**



**Nota:** Figura b – cromatogramas na ordem: 5 min, 10 min, 20 min, 30 min; 45 min com FC de 1,25x; 60 min, 120 min e 180 min com FC de 10x.

Geralmente a remoção do composto submetido aos AOP ocorre a taxas mais elevadas nos primeiros minutos de reação, sendo que num segundo momento essa taxa decai devido ao consumo dos radicais hidroxila que foram gerados e à baixa concentração residual do analito (ALALM; TAWFIK; OOKAWARA, 2015).

Assim como para o processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, no processo foto-Fenton também foi feita uma reinjeção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Devido à presença do ferro como catalisador, o processo é mais eficiente na geração de radicais hidroxila levando a um consumo mais rápido de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> do que no processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Restando cerca de 25% do peróxido inicial aos 60 minutos de degradação, foi realizada uma reinjeção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 6 mg L<sup>-1</sup> para alcançar novamente os 8 mg L<sup>-1</sup> iniciais.

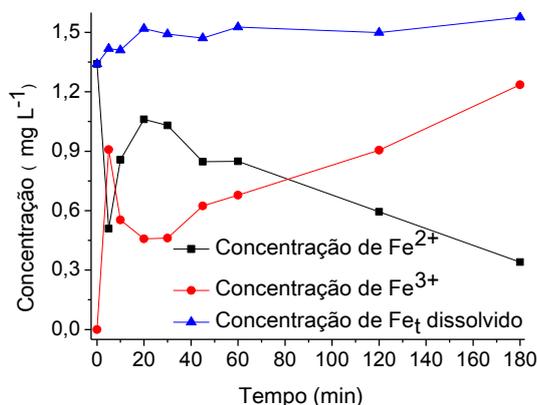
Em 120 minutos observou-se que aproximadamente 60% do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> readicionado foi consumido, restando pouco mais de 5% após 180 minutos de reação.

Samet, Hmani e Abdelhédi (2012), analisaram a remoção de clorpirifós pelos processos Fenton e foto-Fenton solar de soluções de clorpirifós comercial (Dursban®, Agrosiences). O processo foi baseado na redução da demanda química de oxigênio (DQO). As condições foram otimizadas com o processo Fenton e aplicadas para o foto-Fenton solar. A comparação dos dois processos mostra que o

processo foto-Fenton solar necessita 50% menos tempo e consome 50% menos  $\text{H}_2\text{O}_2$  para alcançar o mesmo percentual de redução da DQO (90%).

O acompanhamento de parâmetros como DQO e COT durante as degradações não foi possível devido à concentração de clorpirifós empregada ( $200 \mu\text{g L}^{-1}$ ), valor inferior aos limites de quantificação dos métodos disponíveis.

**Figura 11: Comportamento das espécies de ferro durante o processo foto-Fenton para a degradação do Lorsban®.**



Durante o andamento do processo, a quantidade de ferro total na forma disponível permanece constante, indicando que não ocorrem processos de precipitação do ferro dissolvido presente em solução. Em relação às formas  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ , verifica-se a oscilação entre as formas férrica e ferrosa, decorrente dos processos de oxidação e redução do ferro, inerentes ao processo foto-Fenton.

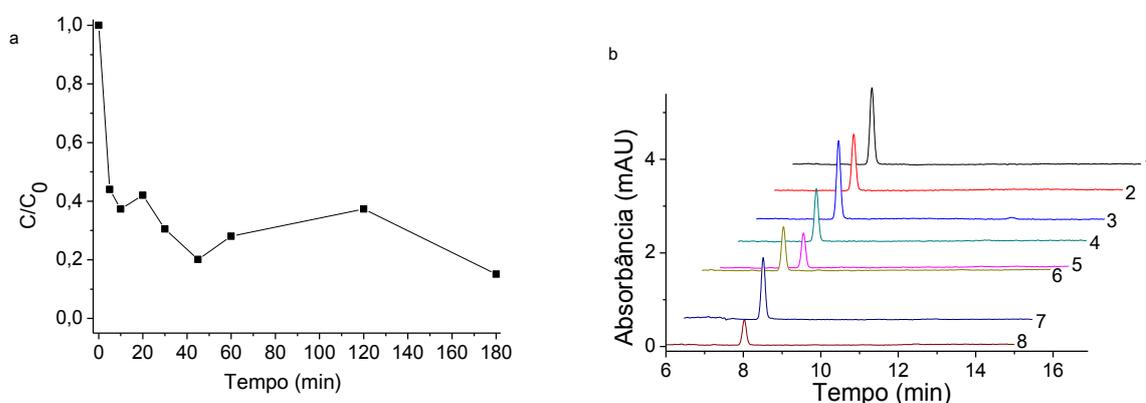
#### 5.4 DEGRADAÇÃO DO CLORPIRIFÓS POR PROCESSOS AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO E RADIAÇÃO UVC

Soluções de clorpirifós, preparadas conforme item 4.2.1, na concentração nominal de  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ , foram submetidas aos processos de degradação. Os resultados de cada processo são apresentados nos próximos itens.

### 5.4.1 Aplicação da fotólise na degradação da solução do padrão de clorpirifós

O experimento de fotólise foi executado conforme exposto no item 4.3.2. Na figura 12 é apresentado o monitoramento da redução da concentração de clorpirifós ao longo da degradação. Os valores das concentrações após a fotólise são apresentadas no apêndice A.

**Figura 12: Concentração de clorpirifós ao longo da degradação ( $C/C_0$ ) (a) e os cromatogramas com os respectivos fatores de concentração (b) da solução de clorpirifós padrão analítico submetida à fotólise (eluição ACN:H<sub>2</sub>O de 90:10, vazão 0,4 mL min<sup>-1</sup> e monitoramento em 290 nm).**



**Nota:** Figura b – cromatogramas na ordem: 5 min, 10 min, 20 min, 30 min; 45 min, 60 min, 120 min e 180 min com FC de 1,25x.

É possível constatar que nos minutos iniciais da reação, a degradação do clorpirifós ocorre de forma acelerada, chegando a 62% em apenas 10 minutos. Embora ocorra essa vertiginosa queda na concentração de clorpirifós, ao fim dos 180 minutos da reação a degradação não ultrapassou 85%, diferentemente da degradação do Lorsban® que alcança um valor próximo em menos de 45 minutos de reação.

Utilizando condições similares, lâmpada de alta pressão de vapor de mercúrio de 125 W e suspensa a 10 cm da solução e concentração inicial de clorpirifós padrão analítico de 200 µg L<sup>-1</sup>, Utzig (2016) alcançou uma taxa de remoção do clorpirifós de 97,5% com 60 minutos de reação, acima do obtido no presente trabalho.

Taxa de remoção similar foi obtida por Pinto et al. (2015), que também avaliaram a fotólise do clorpirifós padrão analítico (1 mg L<sup>-1</sup>) utilizando uma lâmpada

de média pressão de vapor de mercúrio, com faixa de emissão de 200 a 400 nm e observaram a completa degradação do clorpirifós após 60 minutos de irradiação da solução.

Quando comparada à fotólise do Lorsban®, a remoção mais eficiente do clorpirifós da solução comercial pode ser devido às substâncias presentes na formulação do composto que podem ter auxiliado no processo de degradação.

Wu e Linden (2010) avaliaram a influência de radicais carbonato na degradação dos pesticidas paration e clorpirifós e chegaram à conclusão de que os radicais carbonato atuam como sequestrantes de radicais hidroxila, mas que também contribuem na remoção dos agrotóxicos da solução com constantes de reação na ordem de  $2,8 \pm 0,2 \times 10^6$  e  $8,8 \pm 0,4 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente.

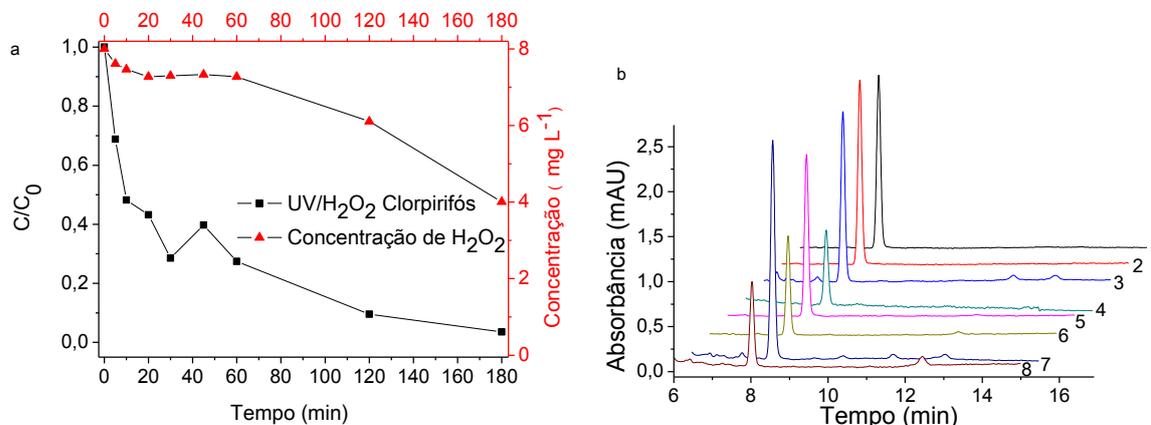
Nayak et al., (2016) avaliaram a presença da frutose como auxiliar na fotólise do clorpirifós e constataram que a adição de 500 mM de frutose leva a uma redução de 80% na concentração do agrotóxico após 20 minutos de reação, indicando que a presença de moléculas fotossensíveis podem auxiliar na degradação da matéria orgânica presente em solução pela absorção de energia e geração de radicais.

Devido à menor eficiência do processo para a solução do padrão, quando comparada com a solução do produto comercial, a quantificação de todas as alíquotas retiradas durante o processo foi feita utilizando FC de 1,25. Tal fato, pode justificar a ausência de subprodutos gerados durante o processo na análise dos cromatogramas apresentados na figura 12b.

#### **5.4.2 Aplicação do processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na degradação do clorpirifós**

Tal como feito na fotólise, o processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi conduzido conforme exposto no item 4.3.2. Os resultados obtidos durante o monitoramento da reação são apresentados na figura 13, nela são exibidos os valores de C/C<sub>0</sub>, o decaimento da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (a) e os cromatogramas obtidos para os tempos de coleta realizados para a degradação UH/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (b). Os valores das concentrações após o processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> são apresentadas no apêndice A.

**Figura 13:** Concentração de clorpirifós ( $C/C_0$ ) e  $H_2O_2$  ao longo da degradação (a) e os cromatogramas com os respectivos fatores de concentração (b) da solução de clorpirifós padrão analítico submetida ao processo UV/ $H_2O_2$  (elução ACN: $H_2O$  de 90:10, vazão 0,4 mL min<sup>-1</sup> e monitoramento em 290 nm).



**Nota:** Figura b – cromatogramas na ordem: 5 min, 10 min, 20 min, 30 min; 45 min, 60 min com FC de 1,25x; 120 min e 180 min com FC de 10x.

Assim como na fotólise, mas não tão acentuada, uma rápida degradação ocorre nos minutos iniciais do processo alcançando pouco mais 50% em 10 minutos. A remoção de clorpirifós supera os 90% em 120 minutos, chegando em 96% com 180 minutos de reação (Figura 13a).

Quanto ao  $H_2O_2$ , em 60 minutos de reação o consumo não ultrapassava 10%, chegando a quase 50% somente após 180 minutos. Em virtude do baixo consumo, não foi realizada nenhuma reinjeção de  $H_2O_2$ .

Diferente do mesmo processo aplicado à solução de Lorsban®, com o padrão analítico foi possível a quantificação do agrotóxico por até 180 minutos, possivelmente devido ao reduzido consumo do  $H_2O_2$  responsável pela geração dos radicais hidroxila que oxidam a matéria orgânica presente em solução.

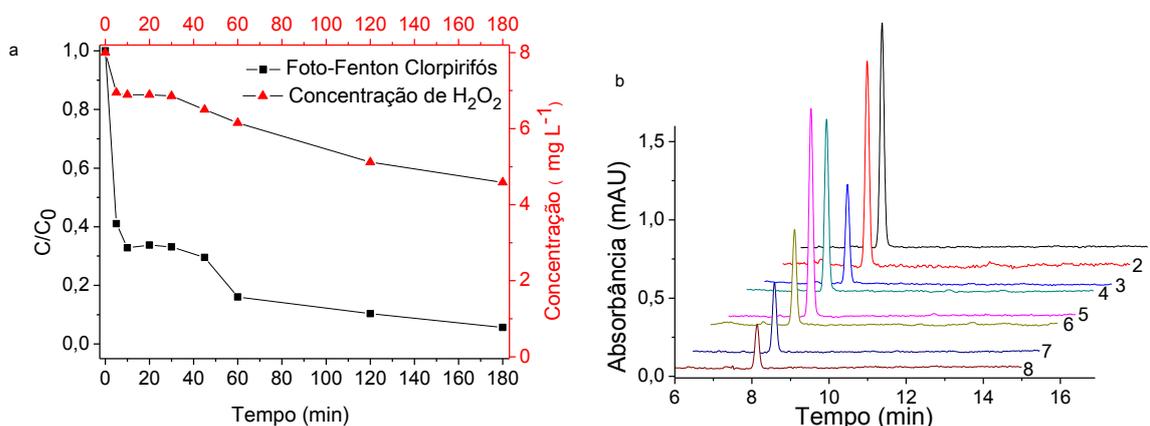
No trabalho de Utzig (2016), utilizando uma concentração inicial de  $H_2O_2$  de 12 mg L<sup>-1</sup>, após 20 minutos de reação não foi mais possível a quantificação do clorpirifós, indicando uma degradação de 97%. Em relação ao consumo de  $H_2O_2$ , após 180 minutos de reação, cerca de 60% havia sido consumido.

Como esperado, a presença do UV/ $H_2O_2$ , faz do processo UV/ $H_2O_2$  um processo de degradação mais eficiente, quando comparado à fotólise.

### 5.4.3 Aplicação do processo foto-Fenton na degradação do clorpirifós

O processo foto-Fenton foi realizado de acordo com o apresentado no item 4.3.2. A seguir são apresentados os resultados obtidos durante o monitoramento da reação, os valores de  $C/C_0$  e comportamento da concentração de  $H_2O_2$  (Figura 14a), os cromatogramas (Figura 14b) e as espécies de ferro ( $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  e  $Fe_t$  dissolvido) (Figura 15). Os valores das concentrações após o processo foto-Fenton são apresentadas no apêndice A.

**Figura 14:** Concentração de clorpirifós ( $C/C_0$ ) e  $H_2O_2$  (a) e os cromatogramas com seus fatores de concentração (b) da solução de clorpirifós padrão analítico submetida ao processo foto-Fenton (eluição ACN:H<sub>2</sub>O de 90:10, vazão 0,4 mL min<sup>-1</sup> e monitoramento em 290 nm).



**Nota:** Figura b – cromatogramas na ordem: 5 min, 10 min, 20 min, 30 min; 45 min, 60 min, 120 min e 180 min com FC de 1,25x.

Após 10 minutos de reação, a remoção de clorpirifós chega a 67%, taxa que se mantém praticamente constante até 45 minutos. Depois de 60, 120 e 180 minutos a degradação chega a 83, 89 e 94%, respectivamente.

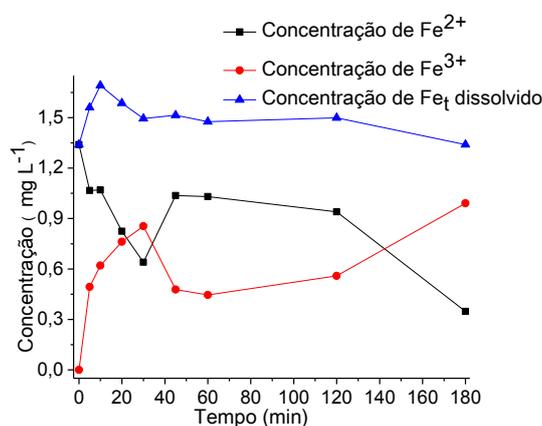
Derbalah, Ismail e Shaheen (2013), avaliaram 4 tratamentos, entre eles *like* foto-Fenton, na degradação de soluções de clorpirifós padrão analítico (5 mg L<sup>-1</sup>). Foi utilizada uma lâmpada de UV de mercúrio modelo VL-4 (80 W) com emissão entre 254 e 365 nm, disposta a 15 cm acima da superfície da solução. O ensaio foi conduzido por até 320 minutos. A completa degradação do clorpirifós foi atingida após 160 minutos de reação.

Utilizando uma câmara solar, Murillo et al. (2010), realizaram a degradação do clorpirifós (30 mg L<sup>-1</sup>), avaliando diferentes concentrações de  $H_2O_2$  e ferro, e

também o efeito do catalisador,  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ , a fim de obter a melhor condição ( $10 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Fe}^{3+}$  e  $340 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Assim que os dados foram obtidos, o mesmo experimento foi conduzido utilizando radiação solar. Após 5 minutos de reação, a degradação era de 91% e 82% com a câmara solar e a radiação solar, respectivamente, chegando a degradação completa nos dois processos após 30 minutos.

Do mesmo modo que no processo UV/ $\text{H}_2\text{O}_2$ , houve um baixo consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , não havendo necessidade de uma reinjeção. Com 60 minutos, o consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi de 23%, não ultrapassando 50% após 180 minutos de reação.

**Figura 15: Comportamento das espécies de ferro durante o processo foto-Fenton para a degradação do clorpirifós padrão analítico.**



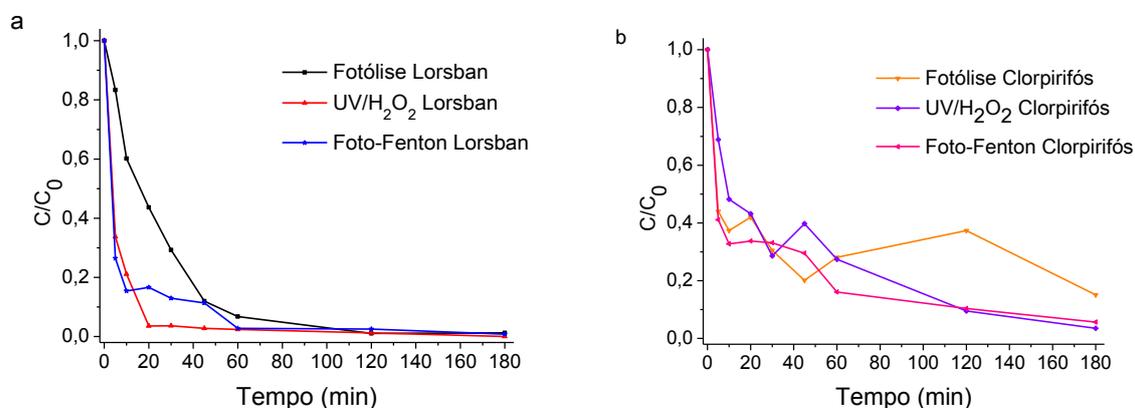
Através da figura 15 é possível observar que a quantidade total de ferro na forma dissolvida não sofre reduções durante o processo, indicado que não ocorrem processos de precipitação. Assim como no processo com o Lorsban®, pode-se observar a alternância entre as formas  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ .

Como esperado, a reação de consumo inicial do  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi muito mais rápida para o processo foto-Fenton Lorsban® do que no mesmo processo para o clorpirifós padrão analítico, podendo ser explicada pelo comportamento do ferro em solução. No sistema com o padrão analítico (Figura 15) o ápice da concentração do  $\text{Fe}^{3+}$ , resultante da clivagem homolítica do  $\text{H}_2\text{O}_2$  e oxidação do  $\text{Fe}^{2+}$ , ocorreu após 30 minutos de reação, enquanto no processo com o Lorsban® o mesmo ocorreu nos primeiros 5 minutos (Figura 11).

## 5.6 CINÉTICAS DE DEGRADAÇÃO

Para uma comparação entre os processos avaliados na degradação do clorpirifós nas soluções de Lorsban® e clorpirifós padrão analítico, a figura 16 apresenta o monitoramento da redução da concentração de clorpirifós ao longo da degradação ( $C/C_0$ ).

**Figura 16: Concentração de clorpirifós ao longo das degradações ( $C/C_0$ ) das soluções de Lorsban® (a) e clorpirifós padrão analítico (b) submetidas à fotólise, processo UV/ $H_2O_2$  e foto-Fenton.**

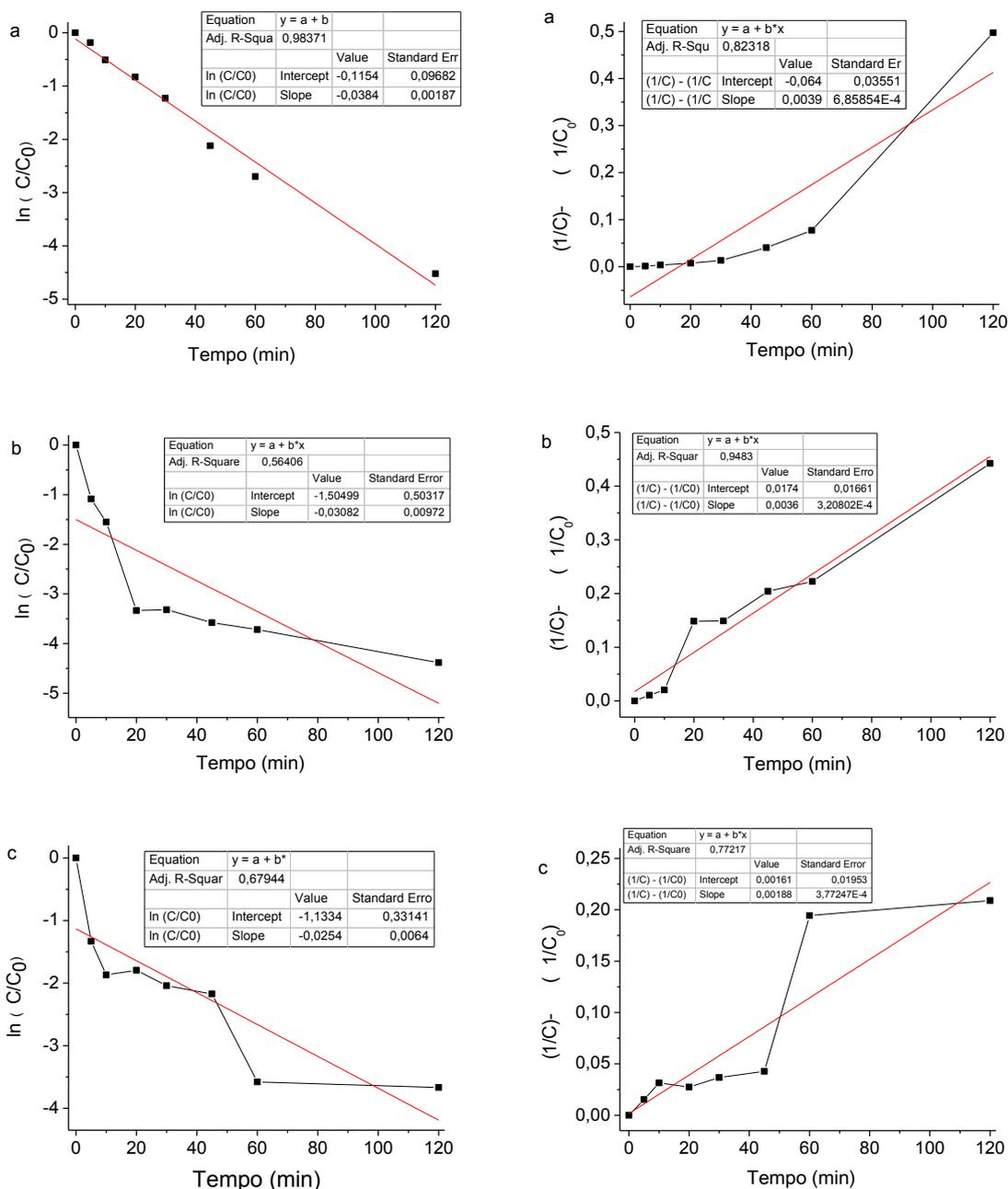


Apesar de ao final dos 180 minutos de acompanhamento, todos os processos terem alcançado taxas de remoção do clorpirifós acima de 94%, exceto pela fotólise do clorpirifós padrão analítico (84,9 %), pela observação da figura 16 é possível notar que as degradações acontecem seguindo diferentes estágios.

Após 20 minutos de reação, o processo UV/ $H_2O_2$  com o Lorsban já havia removido 96% do clorpirifós enquanto a fotólise do Lorsban e o processo UV/ $H_2O_2$  do padrão analítico tinham removido apenas 56%.

Para uma melhor comparação da eficiência de remoção do analito entre os processos, foi realizada a avaliação das cinéticas de degradação de 1ª e 2ª ordem. Os gráficos de cada processo para o Lorsban® são apresentados na figura 17 e para o clorpirifós padrão analítico na figura 18.

Figura 17: Gráficos de 1ª e 2ª ordem das cinéticas de degradação do Lorsban® por fotólise (a), processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (b) e foto-Fenton (c)

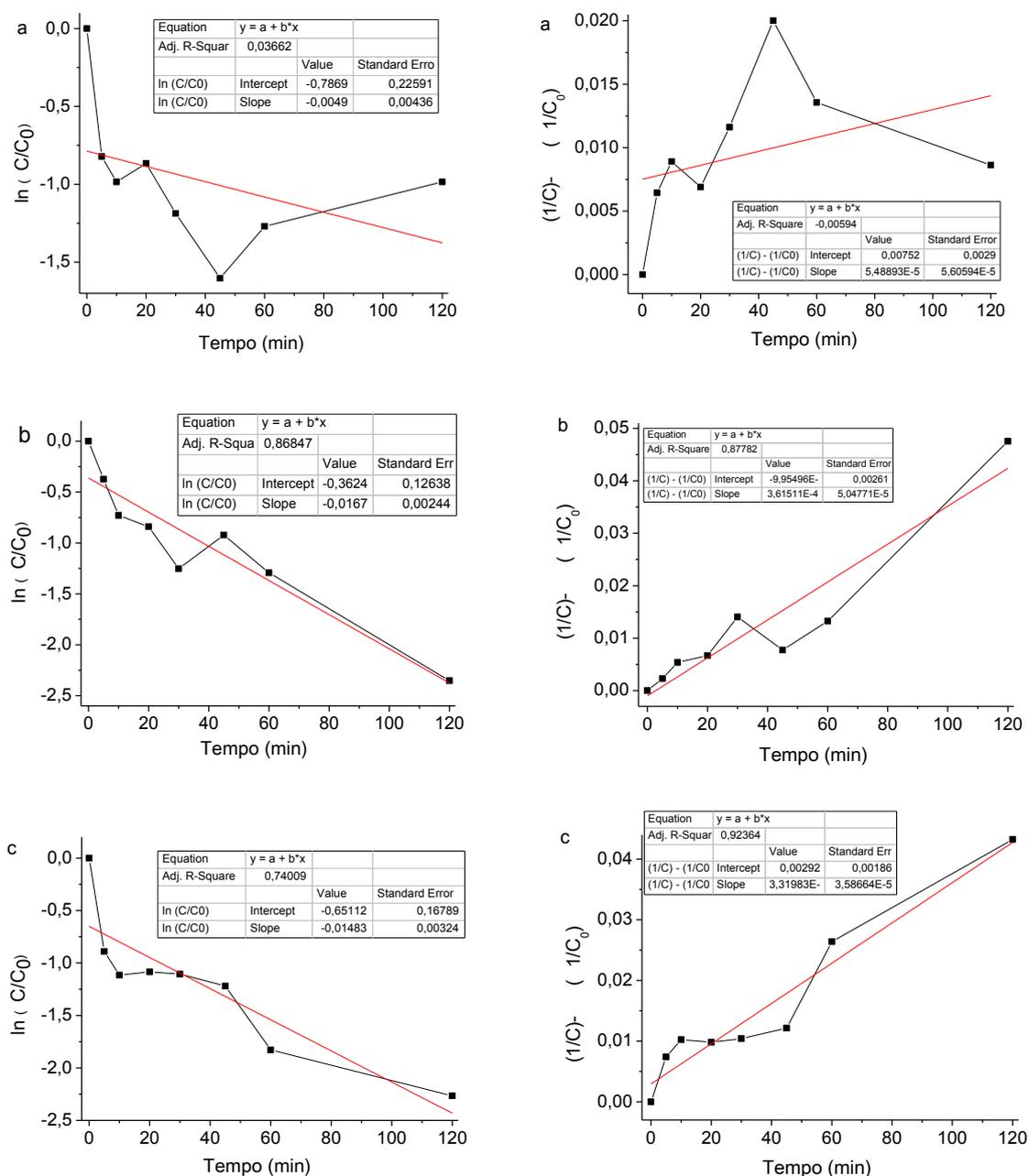


O gráfico  $\ln (C/C_0)$  versus tempo da fotólise do Lorsban® apresenta um comportamento linear ( $r^2 = 0,98$ ), indicando que a reação ocorre seguindo uma cinética de primeira ordem, em acordo com dados disponíveis na literatura (KRALJ; FRANKO; TREBSE, 2007, PINTO et al., 2015). A correlação obtida para a 2ª ordem foi de 0,82.

Segundo a literatura (BADAWY et al., 2006, WU; LINDEN, 2010), o processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> segue uma cinética de pseudo primeira ordem, no entanto como observado

na figura 17b, o modelo que apresenta o melhor ajuste é o de 2ª ordem ( $r^2 = 0,94$ ), frente ao obtido no gráfico de 1ª ordem ( $r^2 = 0,56$ ), o que demonstra que o processo é mais complexo e deve constar de etapas que são independentes e diferentes. O mesmo ocorre com o processo foto-Fenton na degradação do Lorsban®, no qual o gráfico de 2ª ordem apresenta  $r^2$  de 0,77 e 1ª ordem 0,67.

**Figura 18: Gráficos de 1ª e 2ª ordem das cinéticas de degradação do clorpirifós padrão analítico por fotólise (a), processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (b) e foto-Fenton (c)**



Com os valores dos coeficientes de correlação de 1ª e 2ª ordem obtidos para a fotólise de 0,04 e -0,006, respectivamente, não foi possível ajustar o processo em nenhum dos modelos.

Para o processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> com a solução de clorpirifós padrão analítico, os modelos de 1ª e 2ª ordem apresentaram valores de coeficientes de correlação muito próximos, 0,87 e 0,88, respectivamente.

No processo foto-Fenton, o melhor ajuste foi obtido com o gráfico de 2ª ordem ( $r^2 = 0,92$ ). O gráfico de pseudo 1ª ordem do mesmo processo apresentou coeficiente de correlação de 0,74.

Apesar de nem todos os processos se ajustarem aos modelos de primeira e segunda ordem, os valores da constante de velocidade da reação (k) e tempo de meia vida ( $t_{1/2}$ ) do clorpirifós foram calculados para cada um dos processos de acordo com o item 4.4.3. Os valores são apresentados na tabela 8.

**Tabela 8: Constante da velocidade de reação (k) e tempo de meia vida ( $t_{1/2}$ ) do clorpirifós para a fotólise, processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton.**

Substrato	Processo de degradação	Constante da velocidade de reação (min <sup>-1</sup> )		Tempo de meia vida (min)	
		1ª ordem	2ª ordem	1ª ordem	2ª ordem
Lorsban®	Fotólise	0,038	0,0039	18,0	1,4
	UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,031	0,0036	22,5	1,5
	Foto-Fenton	0,025	0,0018	27,2	3,0
Clorpirifós padrão analítico	Fotólise	0,005	0,00005	141,1	100,0
	UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,017	0,00036	41,3	13,9
	Foto-Fenton	0,015	0,00033	46,7	15,2

Tendo em conta os melhores coeficientes de correlação obtidos na análise das degradações apresentados nas Figuras 17 e 18, o processo com o menor  $t_{1/2}$  para o clorpirifós foi o UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> do Lorsban®, com 1,5 min. Com o mesmo processo aplicado ao clorpirifós padrão analítico obteve-se um  $t_{1/2}$  de 13,9 minutos.

A degradação pelo processo foto-Fenton das soluções de Lorsban® e clorpirifós padrão analítico apresentaram  $t_{1/2}$  de 3,0 e 15,2 minutos, respectivamente.

Os menores tempos de meia vida encontrados na degradação das soluções feitas a partir do produto comercial levam a crer que os componentes da solução de Lorsban® tem um efeito sinérgico na degradação do clorpirifós.

Excetuando a fotólise do clorpirifós padrão analítico, os valores obtidos experimentalmente em todos os processos (Tabela 8) das constantes da velocidade de reação e os tempos de meia-vida estão próximos aos valores disponíveis na literatura na degradação do agrotóxico clorpirifós.

Para a fotólise é possível encontrar valores da constante de velocidade de  $0,053 \text{ min}^{-1}$  e  $t_{1/2}$  de 12,9 min (UTZIG, 2016),  $0,10$  até  $0,21 \text{ min}^{-1}$  e  $t_{1/2}$  de 3 até 7 min (PINTO et al., 2015),  $t_{1/2}$  de 13,3 min (KRALJ; FRANKO; TREBSE, 2007).

Com o processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> temos valores para a constante de velocidade de  $0,119$  com  $t_{1/2}$  de 5,8 min (UTZIG, 2016) e  $0,127 \text{ min}^{-1}$  (FEMIA et al., 2013).

Alalm, Tawfik e Ookawara (2015) obtiveram uma constante de velocidade de reação de  $0,0118 \text{ min}^{-1}$  analisando a degradação do clorpirifós pelo processo foto-Fenton solar. Samet, Hmani e Abdelhédi (2012) compararam os processo Fenton e foto-Fenton solar, e obtiveram constantes de velocidade de  $0,50$  e  $1,06$ , respectivamente, considerando as cinéticas dos processos como de pseudo segunda ordem e avaliando a remoção da demanda química de oxigênio (DQO) na degradação do clorpirifós.

Outros processos como a fotocatalise com TiO<sub>2</sub> conseguiram valores para a constante de velocidade de  $0,050$  até  $0,060 \text{ min}^{-1}$ , variando a concentração de clorpirifós de 2 ate  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , e  $t_{1/2}$  de 9,7 até 11,2 minutos (AMALRAJ; PIUS, 2015), a comparação entre os processos UV/TiO<sub>2</sub> e UV/TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solar na degradação do clorpirifós ( $200 \text{ mg L}^{-1}$ ) resultaram em coeficientes de velocidade de  $0,0073$  e  $0,0083$ , respectivamente (ALALM; TAWFIK; OOKAWARA, 2015).

## **5.7 AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE DO LORSBAN® E DO CLORPIRIFÓS APÓS PROCESSOS DE DEGRADAÇÃO**

### **5.7.1 Fitotoxicidade em *Lactuca sativa* das soluções de Lorsban® pós tratamento**

Neste item serão apresentados os resultados dos testes de fitotoxicidade realizados com semente de *Lactuca sativa* (alface) com as amostras de Lorsban® submetidas aos processos de degradação: fotólise, processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton.

Todas as amostras apresentaram distribuição normal de acordo com o teste de Kolmogorov-Smirnov.

Foram realizados os cálculos dos coeficientes de variação (CV), média de crescimento das radículas (CRad) e seu respectivo desvio padrão, índice de germinação (IG) e índice de crescimento relativo (ICR) com o seu efeito, além do teste de Tukey

Como esperado pela sua função herbicida, em todos os testes do controle positivo (glifosato 6%) não houve germinação.

A tabela 9 apresenta os resultados dos ensaios, com os valores do CV, CRad, IG e ICR com seu respectivo efeito e teste de Tukey.

**Tabela 9: Resultados dos ensaios de fitotoxicidade com *Lactuca sativa* das amostras de Lorsban® submetidas à fotólise, processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton por 60, 120 e 180 minutos, além do controle negativo e de uma amostra na inicial de concentração nominal 200 µg L<sup>-1</sup> (n=3).**

Amostra	CV (%)	CRad (cm) ± DP	IG (%)	ICR	Efeito	
Controle Negativo <sup>a</sup>	21,1	2,9 ± 0,6	100	1,0	na	
Lorsban® (200 µg L <sup>-1</sup> ) <sup>b</sup>	40,3	2,4 ± 0,9	94	0,8	NS	
Pós fotólise	60 minutos <sup>abc</sup>	19,8	2,7 ± 0,5	102	0,9	NS
	120 minutos <sup>bcd</sup>	28,3	2,2 ± 0,6	102	0,7	I
	180 minutos <sup>bcde</sup>	30,4	2,3 ± 0,6	102	0,8	NS
Pós processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	60 minutos <sup>bcdef</sup>	24,9	2,4 ± 0,6	106	0,8	NS
	120 minutos <sup>abcdefg</sup>	23,5	2,6 ± 0,6	102	0,9	NS
	180 minutos <sup>abcdefgh</sup>	22,6	2,5 ± 0,6	104	0,9	NS
Pós processo foto-Fenton	60 minutos <sup>abcdefghi</sup>	27,4	2,5 ± 0,7	104	0,8	NS
	120 minutos <sup>abcdefghij</sup>	25,8	2,5 ± 0,6	98	0,9	NS
	180 minutos <sup>abcdetghij</sup>	22,9	2,6 ± 0,6	94	0,9	NS

**Nota:** CV: coeficiente de variação; CRad: média do comprimento da radícula; DP: desvio padrão; IG: índice de germinação; ICR: índice de crescimento relativo; na: não aplicável; NS: não significativo; I: inibição.

De acordo com o estabelecido por Young et al. (2012), exceto pela amostra de Lorsban após 120 minutos de fotólise que apresentou um efeito inibitório, todas as demais amostras apresentaram ICR acima de 0,8 indicando um efeito não significativo no desenvolvimento das radículas das alfaces.

Este resultado indica que não houve formação de subprodutos que apresentassem toxicidade para o organismo a ponto de afetar seu crescimento.

O teste de Tukey indica para as amostras de Lorsban®, na concentração inicial ( $200 \mu\text{g L}^{-1}$ ), que as amostras pós fotólise 120 e 180 minutos e pós UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 60 minutos diferem da amostra controle negativo.

Em relação ao índice de germinação, não foram observados diferenças significativas entre as amostras e o controle negativo.

### **5.7.2 Fitotoxicidade em *Lactuca sativa* das soluções padrão clorpirifós pós tratamento**

Neste item serão apresentados os resultados dos testes de fitotoxicidade realizados com semente de *Lactuca sativa* (alface) com as amostras de clorpirifós padrão analítico submetidas aos processos de degradação: fotólise, processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton.

Como esperado pela sua função herbicida, em todos os testes do controle positivo (glifosato 6%) não houve germinação.

Todas as amostras apresentaram distribuição normal de acordo com o teste de Kolmogorov-Smirnov.

A tabela 10 apresenta os resultados dos ensaios, com os valores do CV, IG e ICR com seu respectivo efeito, além do teste de Tukey.

**Tabela 10: Resultados dos ensaios de fitotoxicidade com *Lactuca sativa* das amostras de clorpirifós padrão analítico submetidas à fotólise, processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton por 60, 120 e 180 minutos, além do controle negativo e de uma amostra inicial de concentração nominal 200 µg L<sup>-1</sup> (n=3).**

Amostra	CV (%)	CRad (cm) ± DP	IG (%)	ICR	Efeito
Controle Negativo <sup>a</sup>	29,6	2,6 ± 0,7	100	1,0	na
Clorpirifós (200 µg L <sup>-1</sup> ) <sup>ab</sup>	28,1	2,5 ± 0,7	96	1,0	NS
60 minutos <sup>c</sup>	38,6	2,0 ± 0,7	90	0,8	NS
Pós fotólise					
120 minutos <sup>abcd</sup>	29,5	2,3 ± 0,7	96	0,9	NS
180 minutos <sup>abde</sup>	15,5	2,6 ± 0,4	106	1,0	NS
60 minutos <sup>abcdef</sup>	18,7	2,4 ± 0,6	102	0,9	NS
Pós processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>					
120 minutos <sup>abdefg</sup>	23,4	2,4 ± 0,6	102	0,9	NS
180 minutos <sup>abcdefgh</sup>	27,1	2,3 ± 0,6	98	0,9	NS
60 minutos <sup>abdefghi</sup>	24,7	2,5 ± 0,6	96	0,9	NS
Pós processo foto-Fenton					
120 minutos <sup>abdefghij</sup>	22,4	2,6 ± 0,6	96	1,0	NS
180 minutos <sup>abegij</sup>	15,5	2,7 ± 0,4	104	1,0	NS

**Nota:** CV: coeficiente de variação; CRad: média do comprimento da radícula; DP: desvio padrão; IG: índice de germinação; ICR: índice de crescimento relativo; na: não aplicável; NS: não significativo; I: inibição.

De acordo os dados da tabela 10, todas as amostras apresentaram ICR acima de 0,8, indicando um efeito não significativo no crescimento das radículas da *L. sativa*.

O teste de Tukey indica que somente a amostra pós fotólise 60 minutos é estatisticamente diferente do controle negativo, indicando um possível efeito inibitório da amostra.

Assim como nas amostras do item anterior, a taxa de germinação não foi afetada pelas amostras.

Os resultados dos testes de fitotoxicidade com as soluções de Lorsban® e clorpirifós padrão analítico mostram que em sua maioria, as amostras não apresentaram um efeito tóxico nos organismos, similar ao encontrado por Biruk et al. (2017), em que somente as amostras obtidas pelo extrato aquoso apresentaram ICR menor que 0,8. Demonstrando a necessidade de testes de ecotoxicidade complementares para assegurar a redução da toxicidade após os tratamentos.

### 5.7.3 Ecotoxicidade aguda do Lorsban® e clorpirifós em *Daphnia magna*

A  $CE_{50}$  da *D. magna* para o Lorsban® ficou em  $1,4 \times 10^{-4} \mu\text{g L}^{-1}$ . Esse resultado indica que os compostos presentes na composição da solução comercial, além do clorpirifós, levam a uma maior sensibilidade por parte do organismo, pois valores na literatura para o padrão analítico para *D. magna* variam entre  $0,16 \mu\text{g L}^{-1}$  (WHO, 2009) e  $0,19 \mu\text{g L}^{-1}$  (KIKUCHI; SASAKI; WAKABAYASHI, 2000), superiores ao valor encontrado.

Na tabela 11 são apresentados os resultados dos testes realizados com as soluções de Lorsban® e clorpirifós submetidas às degradações. Os resultados foram expressos em termos de fator de toxicidade (FT).

**Tabela 11: Resultados do teste de ecotoxicidade com *Daphnia magna* das amostras de Lorsban® e clorpirifós padrão analítico submetidas à fotólise, processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton por 60, 120 e 180 minutos, controle negativo e amostra inicial de concentração nominal 200  $\mu\text{g L}^{-1}$  (n=3).**

Amostras de Lorsban®		FT	Amostras de clorpirifós padrão analítico		FT
Lorsban® (200 $\mu\text{g L}^{-1}$ )		> 16	Clorpirifós padrão analítico (200 $\mu\text{g L}^{-1}$ )		> 16
	60 minutos	> 16		60 minutos	> 16
Pós fotólise	120 minutos	> 16	Pós fotólise	120 minutos	> 16
	180 minutos	> 16		180 minutos	> 16
	60 minutos	> 16		60 minutos	> 16
Pós processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	120 minutos	> 16	Pós processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	120 minutos	> 16
	180 minutos	16		180 minutos	> 16
	60 minutos	> 16		60 minutos	> 16
Pós processo foto-Fenton	120 minutos	> 16	Pós processo foto-Fenton	120 minutos	> 16
	180 minutos	> 16		180 minutos	> 16

**Nota:** FT: fator de toxicidade.

Por ser um organismo mais sensível, exceto pela amostra pós processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, em todas as demais amostras o FT apresentou-se com valor maior que 16, pois até na menor das diluições utilizadas (6,25% de amostra), houve imobilidade superior a 10%. Os valores das imobilizações obtidos em todos os ensaios são apresentados no Apêndice B.

Mesmo com degradações na ordem de 99%, a concentração residual de clorpirifós estaria em torno de  $2 \mu\text{g L}^{-1}$ , o que na menor das diluições, 6,25% de

amostra, significaria  $0,12 \mu\text{g L}^{-1}$ , valor este que é próximo ao valor da  $CE_{50}$  disponível na literatura para o clorpirifós padrão analítico, mas ainda muito superior ao valor de  $CE_{50}$  obtida para o Lorsban®, que é de  $0,14 \text{ ng L}^{-1}$ . Além disso, a presença de subprodutos pode contribuir para os resultados encontrados.

#### **5.7.4 Atividade larvicida do Lorsban® e clorpirifós em *Aedes aegypti***

A  $CE_{50}$  24h do clorpirifós utilizando a solução de Lorsban® para a larva do *Aedes aegypti* foi de  $2,24 \mu\text{g L}^{-1}$ . Segundo Utzig (2016), a  $CE_{50}$  para o clorpirifós padrão analítico foi de  $0,84 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Ao contrário do observado com a *D. magna*, os demais constituintes presentes na solução do produto comercial (Lorsban®) parecem não apresentar efeito negativo com as larvas do *A. aegypti*, pois o mesmo apresentou um valor de  $CE_{50}$  maior do que do padrão analítico.

A seguir na tabela 12 serão apresentados os resultados dos testes realizados conforme item 4.5.3 com as soluções de Lorsban® e clorpirifós padrão analítico submetidas às degradações. São mostrados os valores da média de mortalidade e percentagem de mortalidade dos organismos.

As amostras de Lorsban® após os tratamentos apresentaram reduções nas taxas de mortalidade, embora não tão acentuadas. A maior redução ocorreu com a amostra pós fotólise 180 minutos, com um decréscimo de 26,7%, seguido do foto-Fenton 180 minutos com 18,5% e UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> com 17%.

**Tabela 12: Resultados do teste de ecotoxicidade com *Aedes aegypti* das amostras de Lorsban® e clorpirifós padrão analítico submetidas à fotólise, processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton por 60, 120 e 180 minutos, controle negativo e amostra inicial de concentração nominal 200 µg L<sup>-1</sup> (n=3).**

Amostras de Lorsban®			MM	Mortalidade (%)	Amostras de clorpirifós padrão analítico			MM	Mortalidade (%)
Controle negativo			0	0	Controle negativo			1	5
Lorsban® (200 µg L <sup>-1</sup> )			20	100	Clorpirifós padrão analítico (200 µg L <sup>-1</sup> )			20	100
60 minutos			20	100	60 minutos			20	100
Pós fotólise	120 minutos		18,5	92,5	Pós fotólise	120 minutos		20	100
	180 minutos		14,7	73,3		180 minutos		20	100
60 minutos			20	100	60 minutos			20	100
Pós processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	120 minutos		17	85	Pós processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	120 minutos		20	100
	180 minutos		16,6	83		180 minutos		20	100
60 minutos			20	100	60 minutos			20	100
Pós processo foto-Fenton	120 minutos		19	95	Pós processo foto-Fenton	120 minutos		20	100
	180 minutos		16,3	81,5		180 minutos		20	100

**Nota:** MM: média de mortalidade.

Apesar de não ser mais possível a detecção e quantificação do clorpirifós na amostra pós UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 180 minutos (concentração residual menor que 1,5 µg L<sup>-1</sup>), o elevado potencial larvicida da solução aponta para a geração de subprodutos mais tóxicos que o clorpirifós, pois o valor residual encontra-se abaixo da CE<sub>50</sub> para a solução de Lorsban®.

Em nenhuma amostra de clorpirifós padrão analítico pôde ser observada uma redução na atividade larvicida, tal efeito também pode estar associado à eficiência do processo na degradação do clorpirifós. Mesmo com uma redução de 96% (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) na concentração do clorpirifós, a quantidade restante (8 µg L<sup>-1</sup>), ainda estaria bem acima do valor tóxico para o organismos, estabelecido em 0,84 µg L<sup>-1</sup>.

A redução na ação larvicida das soluções de Lorsban® após os tratamentos pode ser atribuída ao tratamento dos outros compostos presentes em solução, uma vez que o tratamento do clorpirifós padrão analítico não gerou reduções da atividade larvicida.

## 6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho mostram que apesar das elevadas taxas de remoção do agrotóxico clorpirifós, após a fotólise, processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton, nem sempre é observada uma redução na toxicidade das soluções.

Os processos de degradação foram eficientes quanto à remoção do clorpirifós, alcançando remoções de 84,92% até mais de 99,18% (< LD).

A falta de ajuste ao modelo de pseudo primeira ordem dos processos UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton com o Lorsban®, é um indício da complexidade dos tratamentos, que apresentaram os melhores coeficientes de correlação no ajuste de 2ª ordem.

Levando em conta os melhores ajustes, os processos de degradação com as soluções de Lorsban® apresentaram os maiores coeficientes de velocidade de reação, indicando que os demais componentes presentes na solução comercial agem de forma positiva na remoção do clorpirifós das soluções.

Os testes de ecotoxicidade foram de grande importância para o trabalho, pois ajudaram a mostrar que além de taxas de remoção, quando submetemos soluções de micropoluentes a processos de degradação, é preciso considerar outros parâmetros para uma melhor avaliação e julgamento das eficiências obtidas.

## REFERÊNCIAS

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15469** – Ecotoxicologia – Coleta, preservação e preparo de amostras. Rio de Janeiro, 2015.

\_\_\_\_\_. **NBR 12713** - Ecotoxicologia aquática – toxicidade aguda – método de ensaio com *Daphnia* spp (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro, 2016.

AFFAM, A. C.; CHAUDHURI, M.; KUTTY, S. R. M. Fenton treatment of chlorpyrifos, cypermethrin and chlorothalonil pesticides in aqueous solution. **Journal of Environmental Science and Technology**, 5, p. 407-418, 2012.

ALALM, M. G., TAWFIK, A., OOKAWARA, S. Comparison of solar TiO<sub>2</sub> photocatalysis and solar photo-Fenton for treatment of pesticides industry wastewater: Operational conditions, kinetics, and costs. **Journal of Water Process Engineering**, 8, p. 55-63, 2015.

AMALRAJ, A.; PIUS, A. Photocatalytic degradation of monocrotophos and chlorpyrifos in aqueous solution using TiO<sub>2</sub> under UV radiation. **Journal of Water Process Engineering**, 7, p. 94-101, 2015.

ANDREOZZI, R.; CAPRIO, V.; INSOLA, A.; MAROTTA, R. Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. **Catalysis Today**, 53, p. 51–59, 1999.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Monografias autorizadas de agrotóxicos** – C20 Clorpirifós. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/monografia-de-agrotoxicos/autorizadas>. Acesso em: março/2017.

\_\_\_\_\_. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). **Relatório das Análises de Amostras Monitoradas no Período de 2013 a 2015**. 2016. Disponível em: <[portal.anvisa.gov.br](http://portal.anvisa.gov.br)>. Acesso em: março/2017.

\_\_\_\_\_. **Resolução nº 899**, 2003.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **AOAC Guidelines for single laboratory validation of chemical methods**. 2002

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21<sup>st</sup> edition, **American Public Health Association**, Washington, D.C. 2005.

AUGUGLIARO, V.; PREVOT, A. B.; VÁSQUEZ, J. C.; LÓPEZ, E. G.; IRICO, A.; LODDO, V.; RODRÍGUEZ, S. M.; MARCÌ, G. et al. Photocatalytic oxidation of acetonitrile in aqueous suspension of titanium dioxide irradiated by sunlight. **Advances in Environmental Research**, 8, p. 329-335, 2004.

BADAWY, M. I., GHALY, M. Y., GAD-ALLAH, T. A. Advanced oxidation processes for

the removal of organophosphorus pesticides from wastewater. **Desalination**, 194, p. 166-175, 2006.

BAMGBOSE I.; ANDERSON, T. A. Phytotoxicity of three plant-based biodiesels, unmodified castor oil, and Diesel fuel to alfalfa (*Medicago sativa* L.), lettuce (*Lactuca sativa* L.), radish (*Raphanus sativus*), and wheat grass (*Triticum aestivum*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 122, p. 268–274, 2015.

BAR, A.; ANDREW, J. Morphology and morphometry of *Aedes aegypti* larvae. **Annual Review & Research in Biology**, 3, p. 1–21, 2013.

BIRUK, L. N.; MORETTON, J.; IORIO, A. F.; WEIGANDT, C.; ETCHEVERRY, J.; Toxicity and genotoxicity assessment in sediments from the Matanza- Riachuelo river basin (Argentina) under the influence of heavy metals and organic contaminants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 135, p. 302–311, 2017.

BRAIBANTE, M. E. F., ZAPPE, J. A. A química dos agrotóxicos. **Química Nova na Escola**, 34, p. 10-15, 2012.

BRANDHUBER, P. J.; KORSHIN, G. Methods for the detection of residual concentrations of hydrogen peroxide in advanced oxidation processes. Alexandria, VA. **WateReuse Foundation**, 2009.

BRASIL, **Lei nº 7.802**, de 11 de julho de 1989. Que “Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências.”

CAVICCHIOLI, A; GUTZ, I. G. R. O uso de radiação ultravioleta para o pré-tratamento de amostras em análise inorgânica. **Química Nova**, 26, p. 913-921, 2003.

CHAPMAN, E. E. V.; HELMER, S. H.; DAVE, G.; MURIMBOH, J. D. Utility of bioassays (lettuce, red clover, red fescue, Microtox, MetSTICK, Hyalella, bait lamina) in ecological risk screening of acid metal (Zn) contaminated soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 80, p. 161–171, 2012.

CHARLES, J. SANCEY, B.; MORIN-CRINI, N.; BADOT, P.; DEGIORGI, F.; TRUNFIO, G.; CRINI, G. Evaluation of the phytotoxicity of polycontaminated industrial effluents using lettuce plant (*Lactuca sativa*) as a bioindicator. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 74, p. 2057-2064, 2011.

COLOVIC, M.; KRSTIC, D.; USCUMLIC, G.; VASIC, V. Single and simultaneous exposure of acetylcholinesterase to diazinon, chlorpyrifos and their photodegradation products. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 100, 2011.

CRUZ, N. D. L.; GIMÉNEZ, J.; ESPLUGAS, S.; GRANDJEAN, D.; ALENCASTRO, L. F.; PULGARÍN, C. Degradation of 32 emergent contaminants by UV and neutral

photo-Fenton in domestic wastewater effluent previously treated by activated sludge. **Water Research**, 46, p. 1947-1957, 2012.

DERBALAH, A.; ISMAIL, A.; SHAHEEN, S. Monitoring of organophosphorus pesticides and remediation technologies of the frequently detected compound (chlorpyrifos) in drinking water. **Polish Journal of Chemical Technology**, 15, p. 25-34, 2013.

DÍAZ-GARDUÑO, B.; RUEDA-MÁRQUEZ, J. J.; MANZANO, M. A.; GARRIDO-PÉREZ, C.; MARTÍN-DÍAZ, M. L. Are combined AOPs effective for toxicity reduction in receiving marine environment? Suitability of battery of bioassays for wastewater treatment plant (WWTP) effluent as an ecotoxicological assessment. **Marine Environmental Research**, 114, p. 1-11, 2016.

DUAN, Y.; GUAN, N.; LI, P.; LI, J.; LUO, J. Monitoring and dietary exposure assessment of pesticides residues in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) in Hainan, China. **Food Control**, 59, p. 250-255, 2016.

DUARTE, J. L.; AMADO, J. R. R.; OLIVEIRA, A. E. M. F. M.; CRUZ, R. A. S.; FERREIRA, A. M.; SOUTO, R. N. P.; FALCÃO, D. Q.; CARVALHO, J. C. T. et al. Evaluation of larvicidal activity of a nanoemulsion of *Rosmarinus officinalis* essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 25, p. 189-192, 2015.

EC – EUROPEAN COMMISSION, **Health & Consumer Protection**. Report for the active substance chlorpyrifos, 2005.

FEMIA, J.; MARIANI, M.; ZALAZAR, C.; TISCORNIA, I. Photodegradation of chlorpyrifos in water by UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment: toxicity evaluation. **Water Science & Technology**, 68, p. 2279-2286, 2013.

FLORES, A. V.; RIBEIRO, J. N.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, E. L. R. Organoclorados: um problema de saúde pública. **Ambiente & Sociedade**, 7, p. 111-124, 2004.

GIORGETTI, L.; TALOUIZTE, H.; MERZOUKI, M.; CALTAVUTURO, L.; GERI, C.; FRASSINETTI, S. Genotoxicity evaluation of effluents from textile industries of the region Fez-Boulmane, Morocco: A case study. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 74, p. 2275-2283, 2011.

GOMES, M. A. F.; BARIZON, R. R. M. Panorama da contaminação ambiental por agrotóxicos e nitrato de origem agrícola no Brasil: cenário 1992/2011. Jaguariúna, **Embrapa Meio Ambiente**, 2014.

HAN, J. QIU, W. GAO, W. Adsorption of estrone in microfiltration membrane filters. **Chemical Engineering Journal**, 165, p. 819-826, 2010.

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Boletim anual de produção, importação, exportação e venda de agrotóxicos no Brasil**. Disponível em: <<http://ibama.gov.br>>. Acesso em: fevereiro/2017.

IPCS – INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY.

Organophosphorus Insecticides: A general introduction. **Environmental Health Criteria**. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc63.htm>>. Acesso em: agosto 2016.

ISMAIL, M.; KHAN, H. M.; SAYED, M.; COOPER, W. J. Advanced oxidation for the treatment of chlorpyrifos in aqueous solution. **Chemosphere**, 93, p. 645-651, 2013.

KASTURY, F. JUHASZ, A.; BECKMANN, S.; MANEFIELD, M. Ecotoxicity of neutral red (dye) and its environmental applications. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 122, p. 186-192, 2015.

KATZ, K. D.; RUHA, A. M.; CURRY, S. C. Aniline and methanol toxicity after shoe dye ingestion. **The Journal of Emergency Medicine**, 27, p. 367-369, 2004.

KIKUCHI, M.; SASAKI, Y.; WAKABAYASHI, M. Screening of organophosphate insecticide pollution in water by using *Daphnia magna*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 47, p. 239-245, 2000.

KRALJ, M. B., FRANKO, M., TREBSE, P. Photodegradation of organophosphorus insecticides – investigations of products and their toxicity using gas chromatography-mass spectrometry and AChE-thermal lens spectrometric bioassay. **Chemosphere**, 67, p. 99-107, 2007.

LAAT, J., GALLARD, H. ANCELIN, S., LEGUBE, B. Comparative study of the oxidation of atrazine by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV, Fe(III)/UV, Fe(III)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV and Fe(II) or Fe(III)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **Chemosphere**, 39, p. 2693-2706, 1999.

LACORTE, S.; BARCELÓ, D. Determination of organophosphorus pesticides and their transformation products in river waters by automated on-line solid-phase extraction followed by thermospray liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 712, p. 103-112, 1995.

LAGANA, A.; ASCENZO, G. D.; FAGO, G.; MARINO, A. Determination of Organophosphorus Pesticides and Metabolites in Crops by Solid-Phase Extraction Followed by Liquid Chromatography/Diode Array Detection. **Chromatographia**, 46, p. 256-264, 1997.

LIMA, R. M. Estudo da degradação de compostos organofosforados por processos Fenton e foto-Fenton. 2014. 20F. **Relatório Final de Atividades** (Programa de Iniciação Científica) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

LIMA, R. M. Estudo da degradação do pesticida organofosforado clorpirifós por processos Fenton e foto-Fenton. 2015. 70F. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Tecnologia em Processos Ambientais) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

LIZ, M. V. Estudo da potencialidade da fotocatalise heterogênea (TiO<sub>2</sub> e ZnO) e dos processos Fenton para remediação de águas contaminadas pelos estrogênios estrona, 17β-estradiol e 17α- etinilestradiol. 2013. 197f. **Tese de Doutorado** (Química) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

LOURES, C. C. A.; ALCÂNTARA, M. A. K.; IZÁRIO FILHO, H. J.; TEIXEIRA, A. C. S. C.; SILVA, F. T.; PAIVA, T. C. B.; SAMANAMUD, G. R. L. Advanced Oxidative Degradation Processes: Fundamentals and Applications. **International Review of Chemical Engineering**, 5, p. 102-120, 2013.

MacALLISTER, S. L.; CHOI, J.; DEDINA, L.; O'BRIEN. Metabolic mechanisms of methanol/formaldehyde in isolated rat hepatocytes: Carbonyl-metabolizing enzymes versus oxidative stress. **Chemico-Biological Interactions**, 30, p. 308-314, 2011.

MALATO, S.; FÉRNANDEZ-IBÁÑEZ, P.; MALDONADO, M. I.; BLANCO, J.; GERNJAK, W. Wastewater treatment using hybrid treatment schemes based on cavitation and Fenton chemistry: A review. **Catalysis Today**, 147, p. 1-59, 2009.

MAURIZ, E.; CALLE, A.; LECHUGA, L. M.; QUINTANA, J.; MONTOYA, A.; MANCLÚS, J. J. Real-time detection of chlorpyrifos at part per trillion levels in ground, surface and drinking water by a portable surface plasmon resonance immunosensor. **Analytica Chimica Acta**, 561, p. 40-47, 2006.

MEHRAFARIN, A.; BADI, H. N.; NOORMOHAMMADI, G.; ZAND, E.; REZAZADEH, S.; QADERI, A. Effects of environmental factors and methanol on germination and emergence of Persian Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). **African Journal of Agricultural Research**, 6, p. 4631-4641, 2011.

MORALES, G. C.; BÁEZ, M. C. D.; GRANADOS, Y. P.; RONCO, A.; SOBRERO, C.; ROSSINI, G. B.; FEOLA, G.; FORGET, G. et al. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. México, **IMTA**, 2004.

MOSTAFALOU, S.; ABDOLLAHI, M. Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. **Toxicology and Applied Pharmacology**, 268, p. 157-177, 2013.

MUÑOZ, A., RÓDENAS, M., BORRÁS, E., VÁSQUEZ, M., VERA, T. The gas-phase degradation of chlorpyrifos and chlorpyrifos-oxon towards OH radical under atmospheric conditions. **Chemosphere**, 111, p. 522-528, 2014.

MURCIA, M. D.; VERSHININ, N. O.; BRIANTCEVA, N.; GOMEZ, M.; GOMEZ, E.; CASCALES, E.; HIDALGO, A. M. Development of a kinetic model for the UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> photodegradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. **Chemical Engineering Journal**, 266, p. 356-367, 2015.

MURILLO, R.; SARASA, J.; LANA O, M.; OVELLEIRO, J.L. Degradation of chlorpyrifos in water by advanced oxidation processes. **Water Science & Technology: Water Supply**, 10.1, p. 1-6, 2010.

NAVARRO, S.; FENOLL, J.; VELA, N.; RUIZ, E.; NAVARRO, G. Removal of ten pesticides from leaching water at pilot plant scale by photo-Fenton treatment. **Chemical Engineering Journal**, 167, p. 42-49, 2011.

NAYAK, S. MUNIZ, J.; SALES, C. M.; TIKEKAR, R. V. Fructose as a novel photosensitizer: Characterization of reactive oxygen species and an application in degradation of diuron and chlorpyrifos. **Chemosphere**, 144, p. 1690-1697, 2016.

NIDHEESH, P.V.; GANDHIMATHI, R. Trends in electro-Fenton process for water and wastewater treatment: An overview. **Desalination**, 299, p. 1-15, 2012.

OCAMPO, C. B.; TERREROS, M. J. S.; MINA, N. J. McALLISTER, J. BROGDON, W. Insecticide resistance status of *Aedes aegypti* in 10 localities in Colombia. **Acta Tropica**, 118, p. 37-44, 2011.

PAN – Pesticide Action Network. **Pesticide Database**. Disponível em: <<http://www.pesticideinfo.org/>>. Acesso em: fevereiro/2017.

PAPADAKIS, E. N., VRYZAS, Z., KOTOPOULO, A., KINTZIKOGLU, K., MAKRIS, K. C., PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, E. A pesticide monitoring survey in rivers and lakes of northern Greece and its human and ecotoxicological risk assessment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 116, p. 1-9, 2015.

PEREIRA, P. A. de P.; ANDRADE, J. B. Fontes, reatividade e quantificação de metanol e etanol na atmosfera. **Química Nova**, 21, n. 6, p. 744-754, 1998.

PINHO, G. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R. Análise de resíduos de agrotóxicos em tomates empregando dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) e cromatografia gasosa. **Química Nova**, 32, n. 1, p. 92-98, 2009.

PINTO, M. I., SALGADO, R., COTTRELL, B. A., COOPER, W. J., BURROWS, H. D., VALE, C., SONTAG, G., NORONHA, J. P. Influence of dissolved organic matter on the photodegradation and volatilization kinetics of chlorpyrifos in coastal waters. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 310, p. 189-196, 2015.

POZO, K., LLANOS, Y., ESTELLANO, V., CORTÉS, S., JORQUERA, H., GERLI, L., POZO, K., ENCINA, F. et al. Occurrence of chlorpyrifos in the atmosphere of the Araucanía Region in Chile using polyurethane foam-based passive air samples. **Atmospheric Pollution Research**, 7, p. 706-710, 2016.

REDDY, P. V. L.; KIM, K. A review of photochemical approaches for the treatment of a wide range of pesticides. **Journal of Hazardous Materials**, 285, p. 325-335, 2015.

REMUCAL, C. K. The role of indirect photochemical degradation in the environmental fate of pesticides: a review. **Environmental Science: Processes & Impacts**, 16, p. 628-653, 2014.

RIBEIRO, A. R.; NUNES, O. C.; PEREIRA, M. F. R.; SILVA, A. M. T. Na overview on the advanced oxidation processes for the treatment of water pollutants defined in the recently launched Directive 2013/39/EU. **Environment International**, 75, p. 33-51, 2015.

RIZZO, L. Bioassays as a tool for evaluating advanced oxidation process in water

and wastewater treatment. **Water Research**, 45, p. 4311-4340, 2011.

ROCHA, H. D. R.; PAIVA, M. H. S.; SILVA, N. M.; ARAÚJO, A. P.; CAMACHO, D. R. R. A.; MOURA, A. J. F.; GÓMEZ, L. F.; AYRES, C. F. J. et al. Susceptibility profile of *Aedes aegypti* from Santiago Island, Cabo Verde, to insecticides. **Acta Tropica**, 152, p. 66-73, 2015.

RODRÍGUEZ, L. P.; SPASIANO, D.; OLLER, I.; CALDERERO, I. F.; AGUERA, A.; MALATO, S. Solar photo-Fenton optimization for the treatment of MWTP effluents containing emerging contaminants. **Catalysis Today**, 209, p. 188-194, 2013.

SAINI, R. KUMAR, P. Optimization of chlorpyrifos degradation by Fenton oxidation using CCD and ANFIS computing technique. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 4, p. 2952-2963, 2016.

SALEEM, M.; HUSSAIN, D.; GHOUSE, G.; ABBAS, M.; FISHER, S. W. Monitoring of insecticide resistance in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) from four districts of Punjab, Pakistan to conventional and new chemistry insecticides. **Crop Protection**, 79, p. 177-184, 2016.

SAMET, Y., HMANI, E., ABDELHÉDI, R. Fenton and solar photo-Fenton processes for the removal of chlorpyrifos insecticide in wastewater. **Water SA**, 38, p. 537-542, 2012.

SERRANO, R. M.; CAMARGO, D. G.; GARCIA, G. P.; FLORES, A. E. Susceptibility to insecticides and resistance mechanisms in *Aedes aegypti* from the Colombian Caribbean Region. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 116, p. 63-73, 2014.

SINDI, R. A., HARRIS, W., ARNOTT, G., FLASKOS, J., MILLS, C. L., HARGREAVES, A. J. Chlorpyrifos- and chlorpyrifos oxon-induced neurite retraction in pre-differentiated N2a cells is associated with transient hyperphosphorylation of neurofilament heavy chain and ERK 1/2. **Toxicology and Applied Pharmacology**, 308 p. 20-31, 2016.

SLOTKIN, T. A.; SEIDLER, F. J.; WU, C.; MacKILLOP, E. A.; LINDEN, K. G. Ultraviolet photolysis of chlorpyrifos: Developmental neurotoxicity modeled in PC12 cells. **Environmental Health Perspectives**, 117, p. 338-343, 2009.

SOBRERO, M. S.; RONCO, A. Ensayo de Toxicidad aguda con semillas de lechuga. Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad del Agua: Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. In: MORALES, G. C.; BÁEZ, M. C. D.; GRANADOS, Y. P.; RONCO, A.; SOBRERO, C.; ROSSINI, G. B.; FEOLA, G.; FORGET, G. et al. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. México, **IMTA**, 2004. p. 71-79.

SOGORB, M. A., FUSTER, E., RÍO, E. D., ESTÉVEZ, J., VILANOVA, E. Effects of mipafox, paraoxon, chlorpyrifos and its metabolite chlorpyrifos-oxon on the expression of biomarker genes of differentiation in D3 mouse embryonic stem cells. **Chemico-Biological Interactions**, 259, p 368-373, 2016.

THONGWAT, D.; BUNCHU, N. Susceptibility to temephos, permethrin and deltamethrin os *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Muang district, Phitsanulok Province, Thailand. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, p. 14-18, 2015.

TSIKOLIA, M.; BERNIER, U. R.; COY, M. R.; CHALAIRE, K. C.; BECNEL, J. J.; AGRAMONTE, N. M.; TABANCA, N.; WEDGE, D. E. et al. Insecticidal, repellent and fungicidal properties of novel trifluoromethylphenyl amides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 107, p. 138-147, 2013.

USEPA – US Environmental Protection Agency. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. Environmental Monitoring Systems Laboratory, Office of Research and Development. 5ª edição. **US Environmental Protection Agency**, Washington, DC. 2002.

UTZIG, L. Avaliação da fitotoxicidade, ecotoxicidade e genotoxicidade de clorpirifós após tratamento por radiação UVC e processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. 2016. 129f. **Dissertação de Mestrado** (Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

VILAR, V. J. P.; MOREIRA, F. C.; FERREIRA, A. C. C.; SOUSA, M. A.; GONÇALVES, C.; ALPENDURADA, M. F.; BOAVENTURA, R. A. R. Biodegradability enhancement of a pesticide-containing bio-treated wastewater using a solar photo-Fenton treatment step followed by a biological oxidation process. **Water Research**, 46, p. 4599-4613, 2012.

WANG, C. e LIU, C. Decontamination of alachlor herbicide wastewater by a continuous dosing mode ultrasound/Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process. **Journal of Environmental Science**, 26, p. 1332-1339, 2014.

WANG, F.; YAO, J.; CHEN, H.; CHEN, K.; TREBSE, P.; ZARAY, G. Comparative toxicity of chlorpyrifos and its oxon derivatives to soil microbial activity by combined methods. **Chemosphere**, 78, p. 319-326, 2010.

WARIS, A.; WARIS, L.; KHAN, M. A.; SHAD, A. A. Allelopathic effect of methanol and water extracts of *Camellia sinensis* L. on seed germination and growth of *Triticum aestivum* L. and *Zea mays* L.. **Journal of Bioresource Management**, 3, 2016.

WESTON, D. P., CHEN, D., LYDY, M. J. Stormwater-related transport of the insecticides bifenthrin, fipronil, imidacloprid, and chlorpyrifos into a tidal wetland, San Francisco Bay, California. **Science of the Total Environment**, 527-528, p. 18-25, 2015.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides**. 1981.

WHO. **Specifications and evaluations for public health pesticides chlorpyrifos**. 2009.

WU, CHANGLONG; LINDEN, K. G. Degradation and byproduct formation of

parathion in aqueous solutions by UV and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment. **Water Research**, 42, p. 4780-4790, 2008

YOUNG, B. J.; RIERA, N. I.; BEILY, M. E.; BRES, P. A.; CRESPO, D. C.; RONCO, A. E. Toxicity of the effluent from a anaerobic bioreactor treating cereal residues on *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 76, p. 182-186, 2012.

ZHANG, Y.; HOU, Y.; CHEN, F.; XIAO, Z.; ZHANG, J.; HU, X. The degradation of chlorpyrifos and diazinon in aqueous solution by ultrasonic irradiation: effect of parameters and the degradation pathway. **Chemosphere**, 82, p. 1109-1115, 2011.

**APÊNDICE A – Concentração residual e percentagem de degradação do clorpirifós após processos de degradação**

**Lorsban® pós fotólise**

Tempo de degradação (minutos)	Concentração residual ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Degradação (%)
5	152,44	16,65
10	110,05	39,83
20	79,84	56,34
30	53,53	70,73
45	21,92	88,02
60	12,32	93,26
120	1,99	98,91
180	2,33	98,72

**Lorsban® pós processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Tempo de degradação (minutos)	Concentração residual ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Degradação (%)
5	61,67	66,28
10	38,61	78,89
20	6,52	96,43
30	6,62	96,38
45	5,11	97,21
60	4,43	97,58
120	2,28	98,75
180	< 1,5	> 99,18

**Lorsban® pós processo foto-Fenton**

Tempo de degradação (minutos)	Concentração residual ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Degradação (%)
5	48,36	73,56
10	28,22	84,57
20	30,38	83,39
30	23,75	87,01
45	20,83	88,61
60	5,11	97,21
120	4,67	97,45
180	1,50	99,18

**Clorpirifós padrão analítico pós fotólise**

Tempo de degradação (minutos)	Concentração residual ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Degradação (%)
5	87,98	56,01
10	74,67	62,67
20	84,09	57,96
30	61,02	69,49
45	40,24	79,88
60	56,15	71,92
120	74,67	62,67
180	30,17	84,92

**Clorpirifós padrão analítico pós processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Tempo de degradação (minutos)	Concentração residual ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Degradação (%)
5	137,68	31,16
10	96,43	51,79
20	86,36	56,82
30	57,13	71,44
45	79,54	60,23
60	54,85	72,57
120	19,04	90,48
180	7,06	96,47

**Clorpirifós padrão analítico pós processo foto-Fenton**

Tempo de degradação (minutos)	Concentração residual ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Degradação (%)
5	82,14	58,93
10	65,57	67,21
20	67,52	66,24
30	66,22	66,89
45	59,07	70,46
60	32,11	83,94
120	20,75	89,63
180	11,33	94,34

**APÊNDICE B – Valores de imobilização para *Daphnia magna* com amostras de Lorsban® e clorpirifós padrão analítico após processos de degradação**

**Lorsban® pós processos de degradação fotólise, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton**

Diluição (%)	Amostra					
	Pós fotólise		Pós UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		Pós foto-Fenton	
	120 minutos	180 minutos	120 minutos	180 minutos	120 minutos	180 minutos
Imobilidade (%)						
CN	0	0	0	0	0	0
AB	100	100	100	100	100	100
50	100	100	100	100	100	100
25	100	100	100	100	100	100
12,5	100	100	100	50,0	100	100
6,25	100	100	63,3	0	100	16,7

**Nota:** CN: controle negativo; AB: amostra bruta

**Clorpirifós padrão analítico pós processos de degradação fotólise, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton**

Diluição (%)	Amostra					
	Pós fotólise		Pós UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		Pós foto-Fenton	
	120 minutos	180 minutos	120 minutos	180 minutos	120 minutos	180 minutos
Imobilidade (%)						
CN	0	0	0	0	0	0
AB	100	100	100	100	100	100
50	100	100	100	100	100	100
25	100	100	100	100	100	100
12,5	100	100	100	100	100	100
6,25	100	100	100	93,3	100	100

**Nota:** CN: controle negativo; AB: amostra bruta

## ANEXO A – Composição da água de diluição de *Daphnia magna*

### Soluções para preparo da água reconstituída para cultivo e diluição – Meio M4.

Solução	Reagente	Quantidade (g)	Preparo
1	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	73,5	Dissolver e adicionar água processada para completar 1000 mL
2	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	123,3	Dissolver e adicionar água processada para completar 1000 mL
3	KCl	5,8	Dissolver e adicionar água processada para completar 1000 mL
4	NaHCO <sub>3</sub>	64,8	Dissolver e adicionar água processada para completar 1000 mL

Fonte: ABNT, 2016

Para o preparo de 1 L de água de diluição, utilizar os volumes apresentados a seguir a partir das soluções 1 a 4 descritas acima e completar com água processada

### Volume das soluções para o preparo da água de diluição.

Solução	1	2	3	4
Volume (mL)	3,2	0,8	0,8	0,8

Fonte: ABNT, 2016

A água deve ser aerada para solubilização total dos sais, saturação do oxigênio dissolvido e estabilização do pH durante pelo menos 12 h, antes da sua utilização. Caso o pH da água não esteja entre 7,6 e 8,0, ajustar com soluções de ácido clorídrico (HCl) ou hidróxido de sódio (NaOH).