

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA E BIOLOGIA
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS AMBIENTAIS

RUBIA MATOS DE LIMA

**ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DO PESTICIDA ORGANOFOSFORADO
CLORPIRIFÓS POR PROCESSOS FENTON E FOTO-FENTON**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Curitiba
2015

RUBIA MATOS DE LIMA

**ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DO PESTICIDA ORGANOFOSFORADO
CLORPIRIFÓS POR PROCESSOS FENTON E FOTO-FENTON**

Trabalho de conclusão de curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso do Curso Superior de Tecnologia em Processos Ambientais do Departamento Acadêmico de Química e Biologia – DAQBi – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinicius de Liz

Curitiba
2015

RUBIA MATOS DE LIMA

**ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DO PESTICIDA ORGANOFOSFORADO
CLORPIRIFÓS POR PROCESSOS FENTON E FOTO-FENTON**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial à obtenção do grau de TECNÓLOGO EM PROCESSOS AMBIENTAIS pelo Departamento Acadêmico de Química e Biologia (DAQBI) do Câmpus Curitiba da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, pela seguinte banca examinadora:

Membro 1 – Prof^a. Dr^a. Claudia Regina Xavier
Departamento Acadêmico de Química e Biologia, (UTFPR)

Membro 2 – Prof^a. Dr^a. Lucila Adriani Coral
Departamento Acadêmico de Química e Biologia, (UTFPR)

Orientador – Prof. Dr. Marcus Vinicius De Liz
Departamento Acadêmico de Química e Biologia, (UTFPR)

Coordenadora de Curso – Prof^a. Dr^a. Valma Martins Barbosa

Curitiba, 12 de fevereiro de 2015.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná pelo ensino público de qualidade, além da oportunidade de utilizar suas dependências e recursos, possibilitando a concretização deste trabalho.

Ao professor Marcus Liz por ter aceitado me orientar. Obrigada pela paciência, apoio e incentivo.

À professora Adriane Martins de Freitas pelas contribuições feitas durante o trabalho.

Às professoras Lucila Adriani Coral e Claudia Regina Xavier por aceitarem participar da banca de avaliação e pelas contribuições para a melhoria deste trabalho.

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

Às meninas do GPTEC, Mariana, Camila, Joicy, Larisa, Rafaela, Vanessa, Marília. Muito obrigada pelas risadas, conselhos, dicas, correções, almoços compartilhados, aniversários... “Ninguém consegue ser triste nesse laboratório”.

Thayse e Renata, minhas companheiras de angústias, risadas e sextas de gordices. Muito obrigada por tudo! Sou infinitamente feliz por tê-las conhecido e mais ainda por vocês terem conseguido me aguentar por tantos anos.

Muito obrigada àqueles que tenho a felicidade de poder chamar de amigos, são poucos, mas são os melhores que eu poderia ter tido a chance de conhecer. Obrigada por me aceitarem em suas vidas. Obrigada por compartilharem ideias, tardes de sol e de chuva e conversas sem sentido algum.



(Quino).

*A mente que se abre a uma nova ideia, jamais voltará ao seu tamanho original.
(Albert Einstein).*

RESUMO

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.

A presença do pesticida organofosforado clorpirifós em águas superficiais e de consumo indica a ineficiência dos processos convencionais de tratamento de água. O composto é conhecido por atuar na inibição da acetilcolinesterase e ser muito tóxico para organismos aquáticos. Portanto, faz-se necessária a adoção de tratamentos que possam remover esse tipo de micropolvente. Os Processos Avançados de Oxidação, em especial o processo Fenton, destacam-se por ser de fácil operação e de custo baixo, quando comparado aos demais processos avançados. O objetivo do trabalho foi avaliar a degradação do padrão do pesticida organofosforado clorpirifós por processos Fenton e foto-Fenton na remediação de soluções aquosas, em escala de bancada. A solução de clorpirifós 2 mg L^{-1} foi preparada em solução 80:20 de $\text{H}_2\text{O}:\text{ACN}$, devido à baixa solubilidade do composto em água. As quantidades iniciais e finais dos reagentes e formação de compostos fenólicos foram determinadas por metodologias espectrofotométricas. A concentração do clorpirifós foi monitorada por HPLC-DAD. A otimização da melhor condição de degradação foi realizada por planejamento fatorial 2^2 completo, com ponto central ensaiado em triplicata. As condições otimizadas encontradas foram de 15 mg L^{-1} de Fe^{2+} e 50 mg L^{-1} de H_2O_2 . Em ensaios de degradação realizados por 60 minutos, o processo Fenton apresentou uma degradação máxima do pesticida na ordem de 35%, com geração de compostos fenólicos que foram apenas parcialmente tratados. O processo foto-Fenton mostrou-se eficiente na degradação do padrão de clorpirifós, com redução de área maior que 99%, no entanto apresentou um aumento da ordem de 80% de compostos fenólicos.

Palavras-chave: Agrotóxico. Processos avançados de oxidação. Contaminante emergente. Micropolvente. HPLC-DAD.

ABSTRACT

LIMA. R. M. STUDY OF THE DEGRADATION OF ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDE CHLORPYRIFOS BY FENTON AND PHOTO-FENTON PROCESSES. 2015. 70f. Trabalho de Conclusão de Curso – Tecnologia em Processos Ambientais. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2015.

The presence of organophosphorus pesticide chlorpyrifos in drinking and superficial waters indicates the inefficiency in the conventional water treatment processes. The compound is known for acting in the inhibition of acetylcholinesterase and being extremely toxic for aquatic organisms. Therefore, the adoption of treatments that are able to remove this kind of micropollutants has become necessary. The Advanced Oxidation Processes, specially the Fenton process, stands out for its low cost and easy operation, when compared to other advanced processes. The aim of this work was to assess the potential of Fenton and photo-Fenton processes in the remediation of aqueous solutions containing analytical standard chlorpyrifos, in bench scale. The 2 mg L⁻¹ chlorpyrifos solution was prepared in 80:20 solution of water:acetonitrile, due to the compound's low solubility in water. The initial and final amounts of the reagents and the formation of phenolic compounds were determined by spectrophotometric methods. The concentration of chlorpyrifos was monitored by HPLC-DAD. The optimization of the best degradation condition was conducted by complete 2² factorial design, with central point tested in triplicate. The optimized conditions found were of 15 mg L⁻¹ of Fe²⁺ and 50 mg L⁻¹ of H₂O₂. In degradation tests conducted for 60 minutes, the Fenton process presented a maximum degradation in the order of 35%, with production of phenolic compounds that were only partially treated. The photo-Fenton process demonstrated to be efficient in the degradation of the analytical standard chlorpyrifos with area reduction greater than 99%, however it showed an increase in the order of 80% of phenolic compounds.

Keywords: Pesticides. Advanced oxidation processes. Emerging contaminant. Micropollutants. HPLC-DAD.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fórmula estrutural do clorpirifós.....	17
Figura 2: Processos físicos, químicos e microbiológicos de transformação dos agrotóxicos.....	18
Figura 3: Principais grupos químicos com uso irregular detectados em amostras insatisfatórias no ano de 2012.....	19
Figura 4: Principais ingredientes ativos com uso irregular detectados em amostras insatisfatórias no ano de 2012.....	20
Figura 5: Representação do reator fotoquímico de bancada.....	30
Figura 6: Espectro de absorção UV-Vis das soluções de clorpirifós de 25 mg L ⁻¹ com os solventes acetonitrila e metanol grau cromatográfico.....	34
Figura 7: Curva analítica do clorpirifós em acetonitrila grau cromatográfico no espectrofotômetro UV-Vis.....	35
Figura 8: Cromatograma 3D da condição inicial, eluição H ₂ O:ACN de 20:80, vazão de 1,0 mL min ⁻¹ e volume de injeção de 20 µL com solução de padrão de clorpirifós de 2 mg L ⁻¹	36
Figura 9: Sobreposição dos cromatogramas comparando as diferentes vazões da fase móvel para a eluição de 30:70 H ₂ O:ACN (v/v) em 230 nm (Solução de clorpirifós de 2 mg L ⁻¹ em ACN).....	37
Figura 10: Sobreposição dos cromatogramas comparando as diferentes vazões da fase móvel para a eluição de 20:80 H ₂ O:ACN (v/v) em 230 nm (Solução de clorpirifós de 2 mg L ⁻¹ em ACN).....	38
Figura 11: Sobreposição dos cromatogramas comparando as diferentes vazões da fase móvel para a eluição de 10:90 H ₂ O:ACN (v/v) em 230 nm (Solução de clorpirifós de 2 mg L ⁻¹ em ACN).....	38
Figura 12: Correlação entre a área cromatográfica obtida e o volume injetado (A) e sobreposição dos cromatogramas com os diferentes volumes injetados (5, 10, 20, 30 e 50 µL) (B). Eluição 20:80 H ₂ O:ACN (v/v), fluxo da fase móvel de 1,0 mL min ⁻¹ em 230 nm (Solução de clorpirifós de 2 mg L ⁻¹ em ACN).....	39
Figura 13: Curvas analíticas para os comprimentos de onda de 200 nm, 0,010 à 0,6 mg L ⁻¹ (A) e 0,8 à 5 mg L ⁻¹ (B) (Solução de clorpirifós em ACN).....	41
Figura 14: Curvas analíticas para os comprimentos de onda de 230 nm, 0,010 à 0,6 mg L ⁻¹ (A) e 0,8 à 5 mg L ⁻¹ (B) (Solução de clorpirifós em ACN).....	41
Figura 15: Curvas analíticas para os comprimentos de onda de 290 nm, 0,010 à 0,6 mg L ⁻¹ (A) e 0,8 à 5 mg L ⁻¹ (B) (Solução de clorpirifós em ACN).....	42
Figura 16: Cromatogramas resultantes do teste de estabilidade com a concentração de 4,0 mg L ⁻¹ de clorpirifós em ACN para 290 nm, dos dias 1; 3; 7; 14; 21 e 40.....	43

Figura 17: Gráfico de Pareto para o sistema Fenton.....	47
Figura 18: Superfície de contorno para otimização do sistema Fenton do clorpirifós (clorpirifós 2 mg L ⁻¹ ; tempo de análise: 7 minutos).....	48
Figura 19: Gráfico de Pareto para foto-Fenton.....	49
Figura 20: Superfície de contorno para otimização do sistema foto-Fenton do clorpirifós (clorpirifós 2 mg L ⁻¹ ; tempo de análise: 7 minutos).....	50
Figura 21: Comportamento da área cromatográfica do padrão de clorpirifós 2 mg L ⁻¹ para o sistema Fenton (condições iniciais: 15 mg L ⁻¹ de Fe ²⁺ , 50 mg L ⁻¹ de H ₂ O ₂ e pH 3,0).....	51
Figura 22: Evolução das formas de ferro (A), consumo de peróxido de hidrogênio (B) e concentração de polifenóis totais (C) no sistema Fenton	52
Figura 23: Comportamento da área cromatográfica do padrão de clorpirifós 2 mg L ⁻¹ para o sistema foto-Fenton (condições iniciais: 15 mg L ⁻¹ de Fe ²⁺ , 50 mg L ⁻¹ de H ₂ O ₂ e pH 3,0)	54
Figura 24: Evolução das formas de ferro (A), consumo de peróxido de hidrogênio (B) e concentração de polifenóis totais (C) no sistema foto-Fenton	55
Figura 25: Cromatogramas do padrão de clorpirifós nos tempos 0, 2, 5, 8, 10, 15, 30, 45, 60 e 90 minutos no sistema foto-Fenton (concentração inicial do clorpirifós: 2 mg L ⁻¹ ; condições iniciais: 15 mg L ⁻¹ de Fe ²⁺ , 50 mg L ⁻¹ de H ₂ O ₂ e pH 3,0)	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Teores de clorpirifós ($\mu\text{g L}^{-1}$) em amostras de água potável e dos riachos em três microbacias hidrográficas do Rio Grande do Sul	20
Tabela 2: Planejamento fatorial para avaliação do efeito das variáveis no processo de Fenton e foto-Fenton na degradação de clorpirifós	31
Tabela 3: Condições cromatográficas otimizadas para determinação de padrão de clorpirifós em acetonitrila por HPLC-DAD	40
Tabela 4: Limites de detecção e quantificação estimados através da equação de regressão para o padrão de clorpirifós por cromatografia em fase líquida de alta eficiência com detector DAD	42
Tabela 5: Valores obtidos para soluções de padrão de clorpirifós preparadas em água, quantificadas por HPLC-DAD. Volume de injeção 50 μL em 290 nm.	44
Tabela 6: Solubilidade do clorpirifós 2 mg L^{-1} em diferentes proporções de $\text{H}_2\text{O}:\text{ACN}$, quantificadas por HPLC-DAD. Volume de injeção 50 μL em 290 nm.....	45
Tabela 7: Matriz do planejamento fatorial completo 2^2 e degradações obtidas para as reações de Fenton	46
Tabela 8: Matriz do planejamento fatorial completo 2^2 e degradações obtidas para as reações de foto-Fenton	48

LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOP	Processos Oxidativos Avançados (do inglês <i>Advanced Oxidation Processes</i>)
CE	Concentração Efetiva para imobilizar 50% da população
CL ₅₀	Concentração Letal para 50% da população
DAD	Detector de Arranjo de Diodos
DL ₅₀	Dose Letal para 50% da população
EPA	Environmental Protection Agency
FLT	Faixa Linear de Trabalho
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
PARA	Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

A/A_0	área/área inicial
ACN	acetonitrila
g	grama
kg	quilograma
L	litro
m^3	metro cúbico
mAU	mili unidades de absorbância
mg	miligrama
min	minuto
mL	mililitro
ng	nanograma
nm	nanometros
pH	potencial hidrogeniônico
s	segundo
u.a.	unidade de área
UVA	ultravioleta A
UV-Vis	ultravioleta-visível
W	watts
μg	micrograma
μL	microlitro
λ	comprimento de onda

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
3.1 AGROTÓXICOS ORGANOFOSFORADOS	16
3.1.1 Clorpirifós.....	17
3.2 OS AGROTÓXICOS NO MEIO AMBIENTE.....	18
3.3 PROCESSOS AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO.....	22
3.3.1 Processo Fenton e foto-Fenton	23
3.3.2 Tratamento de organofosforados por processo Fenton e foto-Fenton	24
3.4 DETECÇÃO DE CLORPIRIFÓS POR CROMATOGRAFIA.....	25
3.4.1 Validação de método	27
4 METODOLOGIA	29
4.1 REAGENTES E INSUMOS.....	29
4.2 ENSAIOS PRELIMINARES	29
4.3 IMPLEMENTAÇÃO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE CLORPIRIFÓS	29
4.4 PROCESSOS FENTON E FOTO-FENTON	30
4.4.1 Otimização das condições experimentais.....	30
4.4.2 Estudos de degradação em tempos estendidos	31
4.5 CONTROLE ANALÍTICO	32
4.5.1 Determinação do Peróxido de Hidrogênio	32
4.5.2 Determinação de Fe ⁿ⁺	32
4.5.3 Determinação de fenóis totais	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	34
5.1 ANÁLISES PRELIMINARES.....	34
5.2 PARÂMETROS CROMATOGRÁFICOS	36
5.2.1 Otimização das condições cromatográficas (HPLC-DAD).....	36
5.2.2 Figuras de mérito para o método cromatográfico (HPLC-DAD).....	40
5.3 OTIMIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS DE RELEVÂNCIA PARA OS PROCESSOS FENTON E FOTO-FENTON	45
5.3.1 Otimização para as reações de Fenton	46
5.3.2 Otimização para as reações de foto-Fenton.....	48
5.4 DEGRADAÇÃO DO PADRÃO DE CLORPIRIFÓS EM TEMPOS ESTENDIDOS	50

5.4.1 Degradação em tempos estendidos pelo sistema Fenton	50
5.4.2 Degradação em tempos estendidos pelas reações de foto-Fenton.....	53
6 CONCLUSÃO	59
7 ETAPAS FUTURAS	60
REFERÊNCIAS	61
APÊNDICE A	67

1 INTRODUÇÃO

Grande parte da economia brasileira é baseada na atividade agrícola, tornando o país um dos maiores consumidores mundiais de defensivos agrícolas. Entretanto, cada vez mais esses compostos têm sido encontrados em compartimentos ambientais como ar, solo e águas e também como resíduo nos alimentos (RIBEIRO, *et al.*, 2007; CALDAS E SOUZA, 2000).

Resultados do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) de 2012 mostraram que o agrotóxico clorpirifós foi o mais detectado acima dos limites permitidos (ANVISA, 2013), corroborando com resultados que mostram sua presença em águas superficiais, subterrâneas e de consumo (SILVÉRIO, *et al.*, 2012; BORTOLUZZI, *et al.*, 2006).

A constante presença dos pesticidas nas águas de consumo, principalmente em regiões de elevada atividade agrícola, é agravada devido aos processos nas estações de tratamento de água serem ineficientes na remoção desses micropoluentes (ARQUES, *et al.*, 2007). Tendo em conta essa limitação, novos métodos de tratamento são pesquisados sendo os processos avançados de oxidação, do inglês AOP, os que mais se destacaram devido aos resultados promissores alcançados com micropoluentes diversos, em especial com diferentes tipos de pesticidas (BAGAL E GOGATE, 2014; ARQUES, *et al.*, 2007).

Os AOP baseiam-se na geração do radical hidroxila, um forte oxidante ($E^{\circ} = 2,8 \text{ V}$) que, em geral, conduz à completa mineralização dos compostos alvos (CORDEIRO, LEITE E DEZOTTI, 2004), usualmente com constantes de velocidade de mineralização da ordem de 10^6 a $10^9 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (MALATO, *et al.*, 2009).

Estudos envolvendo a degradação de pesticidas organofosforados empregando estas tecnologias estão disponíveis na literatura. Murillo *et al.* (2010) investigaram a degradação de clorpirifós por processos avançados de oxidação entre eles os processos Fenton e foto-Fenton com um sistema solar, e conseguiram uma degradação de 82% do pesticida após 5 minutos de reação. Derbalah, Nakatani e Sakugawa (2004) utilizaram o sistema foto-Fenton no tratamento de pesticidas organofosforados e alcançaram uma taxa de mineralização de 92% em 120 minutos de processo. Em uma mistura de 31 pesticidas diferentes, alguns sendo organofosforados, Moreira *et al.* (2012) compararam diversos AOPs e concluíram

que o sistema foto-Fenton implica nos melhores resultados em relação à degradação e mineralização dos pesticidas avaliados.

Em função dos argumentos acima, este projeto visa estudar a degradação do pesticida organofosforado clorpirifós por processos Fenton e foto-Fenton.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a degradação do pesticida organofosforado clorpirifós por processos Fenton e foto-Fenton na remediação de soluções aquosas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Implementar uma metodologia de análise do padrão de clorpirifós por meio de cromatografia em fase líquida de alta eficiência (HPLC) que permita determinar a eficiência do processo de tratamento proposto.

Otimizar as condições de tratamento do padrão de clorpirifós em solução aquosa através do estudo das variáveis concentração de íons ferrossos e peróxido de hidrogênio para os processos Fenton e foto-Fenton, em escala de bancada.

Realizar estudos de degradação do clorpirifós em solução aquosa em tempos estendidos nas reações de Fenton e foto-Fenton com monitoramento contínuo das concentrações das formas de ferro, peróxido de hidrogênio e compostos fenólicos.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 AGROTÓXICOS ORGANOFOSFORADOS

Segundo o EPA (20--),

Pesticidas são quaisquer substâncias ou mistura de substâncias que destinam-se a prevenir, destruir, repelir ou mitigar qualquer peste. Pestes podem ser insetos, ratos ou outros animais, plantas indesejáveis, fungos, ou microrganismos como bactérias e vírus. (EPA, 20--)

Os agrotóxicos foram idealizados para defenderem as 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 (MOSTAFALOU E ABDOLLAHI, 2013; PINHO, NEVES E QUEIROZ, 2009).

Uma classificação bem aceita dos pesticidas os divide em orgânicos e inorgânicos e, dentro dos orgânicos, eles podem ser diferenciados em clorados, clorofosforados, fosforados e carbamatos. Desde 1985, diversos organoclorados estão proibidos no Brasil, sendo substituídos por carbamatos e organofosforados (FLORES, *et al.*, 2004).

Os agrotóxicos organofosforados são compostos sintéticos, normalmente ésteres, amidas ou tióis derivados de ácido fosfórico, fosfônico, fosfortiamídicos ou fosforotióicos, caracterizados pela presença de uma ligação P=O ou P=S (IPCS-INCHEM, 20--).

Dentre todos os pesticidas utilizados na produção agrícola, mais de 50% são organofosforados. E mesmo com os pesticidas organoclorados, caracterizados pela elevada persistência no meio ambiente, tendo sido substituídos pelos organofosforados e carbamatos, preocupações como bioacumulação, toxicidade aguda e crônica ainda permanecem (HU, *et al.*, 2013).

3.1.1 Clorpirifós

Segundo classificação da ANVISA, o clorpirifós (O,O-dietil-O-3,5,6-tricloro-2-piridil fosforotioato) (Figura 1), pertencente ao grupo dos organofosforados e à classe dos inseticidas, formicidas e acaricidas, pode ser aplicado como pesticida foliar, localizado, no solo, como isca granulada no controle de formigas e como preservante de madeira (ANVISA, 20--).

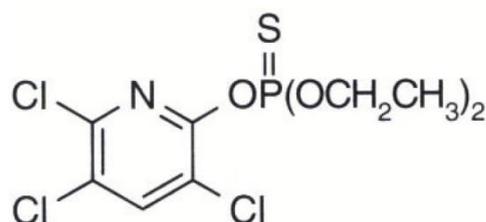


Figura 1: Fórmula estrutural do clorpirifós

Fonte: ANVISA, 20--

Segundo a literatura, sua solubilidade pode ir de $0,39 \text{ mg L}^{-1}$ à $19,5 \text{ °C}$ até $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ à 25 °C . Possui ponto de fusão entre 42 e 44 °C e massa molar de $350,6 \text{ g mol}^{-1}$. Possui meia vida de 72 dias à pH 5 e 7 e 16 dias em pH 9, foto-estabilidade de 30 à 40 dias em água de rio através de foto-transformação por luz natural e/ou artificial com conversão de cerca de 50% do composto (WHO, 2009; EC, 2005).

O clorpirifós é um composto altamente tóxico, sendo que em mamíferos essa toxicidade ocorre pela inibição da enzima acetilcolinesterase no sistema nervoso. Apresenta uma DL_{50} aguda oral de 229 mg kg^{-1} , DL_{50} aguda dermal $> 2000 \text{ mg kg}^{-1}$ e DL_{50} aguda por inalação de $0,385 \text{ mg L}^{-1}$ para ratos (ANVISA, 20--; WHO, 2009).

Diversos dados sobre a toxicidade desse composto testadas em outros organismos também encontram-se disponíveis na literatura. Apresenta 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*, CL_{50} aguda de $24 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para *Oncorhynchus mykiss* (peixe arco-íris), DL_{50} aguda oral de $0,12 \text{ } \mu\text{g abelha}^{-1}$ e DL_{50} aguda por contato de $0,11 \text{ } \mu\text{g abelha}^{-1}$ para *Apis mellifera* (abelha) (WHO, 2009).

O clorpirifós possui uma vasta aplicação, sendo utilizado na formulação de

mais de 900 diferentes pesticidas, como Dursban[®], Lorsban[®], Tricel[®], Dowco 179[®], Piridane[®] (ISMAIL, *et al.*, 2013).

3.2 OS AGROTÓXICOS NO MEIO AMBIENTE

A utilização de agrotóxicos na produção agrícola vem se intensificando. E quando aplicados, eles podem passar por diversos processos (Figura 2), fazendo com que sua presença seja detectada em diversos compartimentos ambientais e também nos alimentos (RIBEIRO, *et al.*, 2007).

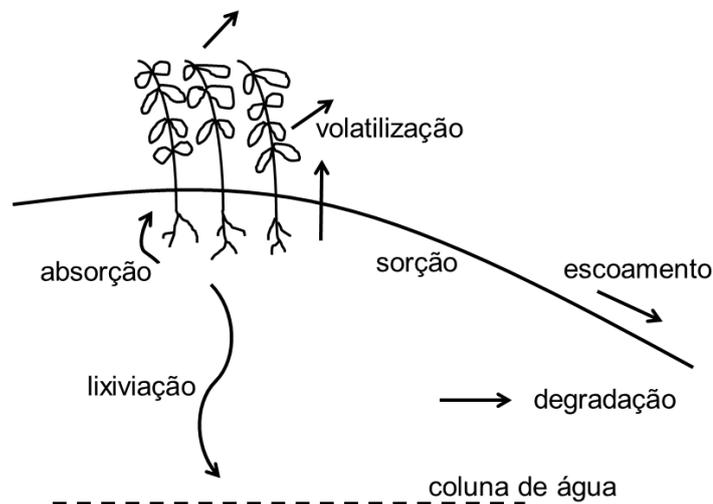


Figura 2: Processos físicos, químicos e microbiológicos de transformação dos agrotóxicos
Fonte: adaptado de Ribeiro *et al.*, (2007)

Visando avaliar e promover a qualidade dos alimentos em relação ao uso de defensivos agrícolas, a ANVISA criou o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), com o objetivo de identificar e quantificar a presença dos pesticidas nos alimentos (ANVISA, 2013).

Os resultados do PARA de 2012 mostraram que o grupo químico dos organofosforados foi o que apresentou o maior número de amostras irregulares (Figura 3). Amostras irregulares são aquelas em que são encontrados pesticidas não autorizados para a cultura, pesticidas em quantidades acima do permitido ou ambos os casos. O clorpirifós foi o que mais apresentou amostras irregulares, indicando que ele possui um uso intenso no país (Figura 4) (ANVISA, 2013).

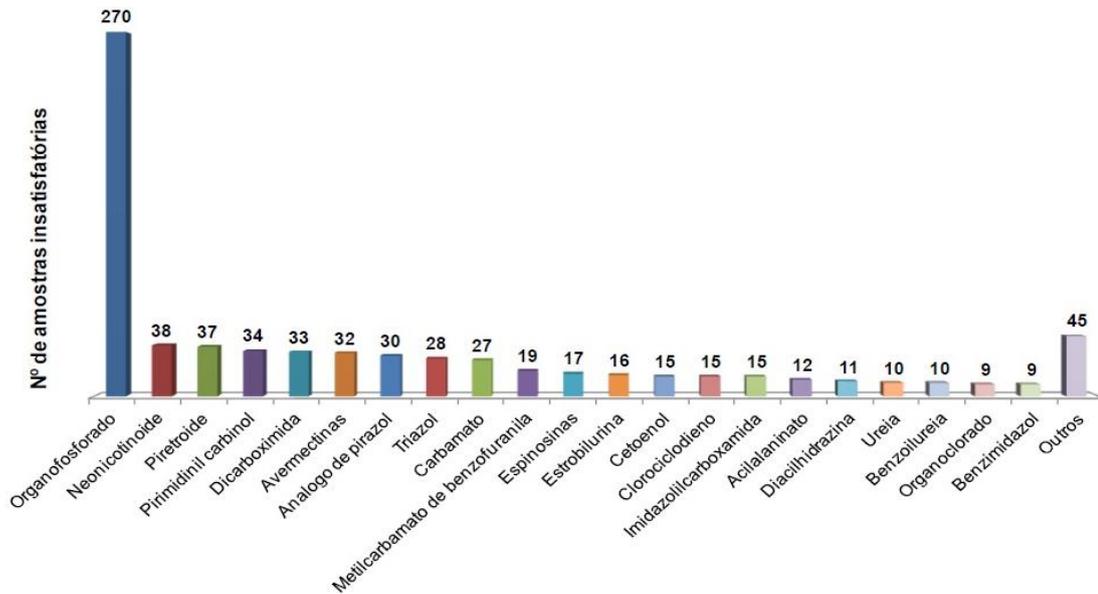


Figura 3: Principais grupos químicos com uso irregular detectados em amostras insatisfatórias no ano de 2012

Fonte: ANVISA (2013)

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.*, 2014).

Como esperado, devido ao uso amplamente diversificado, resíduos de pesticidas, incluso o clorpirifós, foram identificados em diversos compartimentos ambientais, pois possuem capacidade de movimentar-se além do seu ponto de aplicação atingindo ciclos hidrológicos (COUPE, *et al.*, 2000; LACORTE E BARCELÓ, 1995).

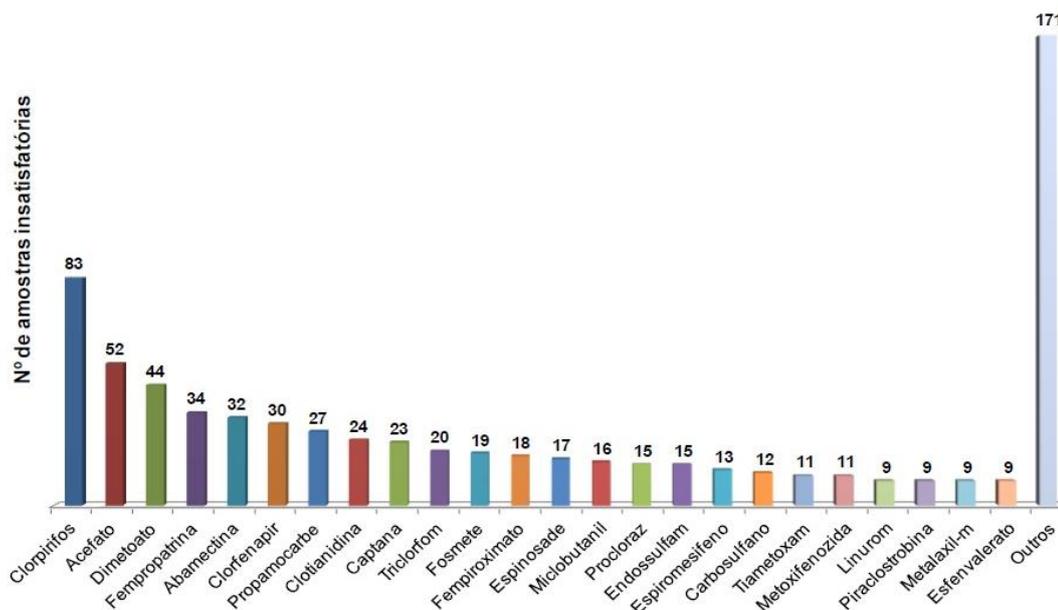


Figura 4: Principais ingredientes ativos com uso irregular detectados em amostras insatisfatórias no ano de 2012

Fonte: ANVISA (2013)

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 $30 \mu\text{g L}^{-1}$ para água para consumo.

Bortoluzzi *et al.* (2006) identificaram a presença de clorpirifós em 3 microbacias hidrográficas no Rio Grande do Sul (Tabela 1), em amostras de riachos e na água potável distribuída à população da região.

Tabela 1: Teores de clorpirifós ($\mu\text{g L}^{-1}$) em amostras de água potável e dos riachos em três microbacias hidrográficas do Rio Grande do Sul

Microbacia hidrográfica de Agudo	
Água Potável	Riacho
0,093	0,075
Microbacia hidrográfica de Arvorezinha	
Água Potável	Riacho
0,132	0,183
Microbacia hidrográfica de Cristal	
Água Potável	Riacho
0,190	0,133

Fonte: adaptada de Bortoluzzi *et al.* (2006)

Os valores encontrados por Bortoluzzi *et al.* (2006) estão abaixo do máximo permitido, no entanto, segundo o autor, a detecção do clorpirifós é verificada ocasionalmente quando do seu uso como tratamento fitossanitário nas plantações do entorno, sendo maior em épocas de safra.

No estudo realizado por Silva (2006), foram quantificados pesticidas, incluindo o clorpirifós, em poços artesianos (água subterrânea) dentro de propriedades agrícolas e também em dois pontos de água superficial no entorno da região no norte fluminense (Quadro 1).

Amostra	Clorpirifós ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Poço 5	22
Poço 6	51
Poço 7	36
Poço 9	900
Poço 13	59
Poço 47	440
Riacho	540
Poço 8, 16, 41 e Lagoa	n.d.

Quadro 1: Concentração do pesticida clorpirifós encontrado em amostras de água subterrâneas dentro de propriedades agrícolas e em dois pontos de água superficial do entorno na região do norte fluminense

Fonte: adaptado de Silva (2006)

Nota: n.d. – não detectado

Os resultados obtidos por Silva (2006) indicam que o pesticida clorpirifós foi quantificado em níveis acima do permitido pela Portaria nº 2914/2011 em 5 dos 9 poços artesianos verificados e também no riacho da região. Segundo o autor, as elevadas concentrações encontradas devem-se à utilização indiscriminada do pesticida nas plantações locais, assim como também do descarte inapropriado das embalagens do pesticida.

A presença de pesticidas no meio aquático causa transtornos às populações de peixes e outros animais silvestres. Na exposição de humanos, pode levar ao desenvolvimento de câncer de diversos tipos, inibição da acetilcolinesterase, efeitos negativos no desenvolvimento neurológico de crianças, problemas nos sistemas reprodutores, sistema nervoso e imunológico (KOUREAS, *et al.*, 2012; MARTÍN, *et al.*, 2009).

Além disso, a presença dos agrotóxicos em amostras de água potável comprova a ineficiência dos sistemas convencionais de tratamento na remoção desses poluentes.

3.3 PROCESSOS AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO

Grande parcela dos micropoluentes (poluentes presentes em baixas concentrações no meio), incluindo os agrotóxicos, presentes nas águas, são resistentes aos processos convencionais de tratamento de água, e por isso outros métodos de tratamento vêm sendo estudados como alternativas para uma melhora na qualidade das águas tratadas, proporcionando um menor risco à saúde humana.

Nos sistemas convencionais, as técnicas mais utilizadas são as de separação de fases, o que elimina o contaminante da matriz original, mas ainda há um problema em relação à eliminação final.

Dentre os novos métodos estudados, os processos avançados de oxidação (AOP) são os de maior destaque e os que constituem a melhor opção devido à grande reatividade e melhores rendimentos quando comparados a outros processos (MALATO, *et al.*, 2009; ESPLUGAS, *et al.*, 2002; ANDREOZZI, *et al.*, 1999).

Os AOP são caracterizados pela produção *in situ* de radicais HO[•], espécies de elevada reatividade que alcançam constantes de velocidade na ordem de 10⁶ até 10⁹ L mol⁻¹ s⁻¹ na degradação de diversas espécies de compostos devido à sua baixa seletividade como oxidante (MALATO, *et al.*, 2009; ANDREOZZI, *et al.*, 1999).

Sistemas Homogêneos		Sistemas Heterogêneos	
Com irradiação	Sem irradiação	Com irradiação	Sem irradiação
H ₂ O ₂ /UV	O ₃ /H ₂ O ₂	TiO ₂ /UV	Eletrofenton
O ₃ /UV	Fe ²⁺ /H ₂ O ₂ -Fenton	TiO ₂ /H ₂ O ₂ /UV	Fe ⁰
O ₃ /H ₂ O ₂ /UV		Fotoeletrocatalise	Processos eletroquímicos
Feixe de Elétrons		<i>Like</i> Fenton com Fe imobilizado	<i>Like</i> Fenton com Fe imobilizado
Fe ⁺² / H ₂ O ₂ / UV – foto-Fenton			

Quadro 2: Classificação dos sistemas de Processos Avançados de Oxidação

Fonte: adaptado de Liz (2013)

Existem diversas maneiras de se obter o radical hidroxila, o que leva à diversos sistemas de reação, como mostrado pelo Quadro 2. Devido a essa grande variedade, eles são muito utilizados no tratamento de matrizes contaminadas com compostos recalcitrantes e tóxicos (MALATO, *et al.*, 2009; ANDREOZZI, *et al.*, 1999).

Como principais vantagens da utilização dos AOP pode-se incluir a não transferência de fase do contaminante, com a mineralização ou transformação em subprodutos, e efetividade mesmo em micropoluentes.

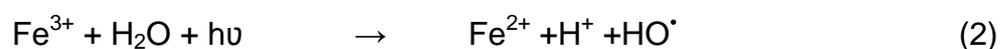
3.3.1 Processo Fenton e foto-Fenton

Dentre as formas de AOP existentes, grande destaque tem sido dado aos processos Fenton e foto-Fenton pela sua eficiência na degradação, podendo levar à mineralização de diversos contaminantes, baixo custo, fácil operação e manutenção e ausência de toxicidade dos seus reagentes, ferro e peróxido de hidrogênio.

As reações de Fenton baseiam-se na formação de radicais hidroxila pela dissociação do peróxido de hidrogênio catalisada pelo ferro, num meio ácido. O mecanismo de formação do radical hidroxila para o sistema Fenton é mostrado na Equação 1 (NIDHEESH E GANDHIMATHI, 2012; NEYENS E BAEYENS, 2003; ANDREOZZI, *et al.*, 1999).



Quando os reagentes do sistema Fenton são expostos à irradiação UV-Vis, um novo radical hidroxila é gerado a partir da redução dos íons férricos (Equação 2), proporcionando uma maior velocidade no processo de degradação dos contaminantes. A reação dos íons ferrosos proporciona a formação de um ciclo catalítico, permitindo que a reação de degradação ocorra por um período maior de tempo (VILAR, *et al.*, 2012; NAVARRO, *et al.*, 2011).



3.3.2 Tratamento de organofosforados por processo Fenton e foto-Fenton

Alguns trabalhos da literatura têm demonstrado a capacidade dos AOP atuando sozinhos ou em processos combinados na degradação de pesticidas.

Estudos envolvendo a degradação de pesticidas organofosforados empregando processos Fenton e foto-Fenton mostram que a capacidade de biodegradação aumenta após um curto período de tratamento (LAPERTOT, *et al.*, 2006).

Murillo *et al.* (2010) compararam processos avançados de oxidação na degradação do clorpirifós, utilizando processos homogêneos (foto-Fenton, O_3/H_2O_2 e O_3) e heterogêneo (TiO_2/H_2O_2). Uma solução aquosa de 30 mg L^{-1} de clorpirifós foi usada em todos os experimentos. Os processos de degradação com foto-Fenton foram realizados numa câmara de irradiação artificial e também com um sistema solar. Com 5 minutos de reação, a taxa de degradação foi de 91% para o sistema com irradiação artificial e 82% no sistema solar e, após 30 minutos foi possível considerar a completa degradação do clorpirifós para as duas situações. Para o sistema com Ti, após 20 minutos de reação já não foi mais possível detectar o clorpirifós na solução, assim como no sistema com O_3/H_2O_2 . No entanto, quando só o ozônio foi utilizado, foram necessários 30 minutos para completa degradação. Junto com a análise do clorpirifós, também foi monitorado um dos seus principais sub produtos, o clorpirifós-oxon, considerado mais tóxico que o clorpirifós, que atinge sua concentração máxima ($80 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) com 10 minutos de reação, mas desaparece depois de 30 minutos. Foi realizado um levantamento dos custos e o processo foto-Fenton com sistema solar demonstrou ser o mais econômico de todos, com um custo de $0,19 \text{ €/m}^3$ contra $0,40 \text{ €/m}^3$ do TiO_2/H_2O_2 , $0,68 - 0,99 \text{ €/m}^3$ do O_3 e $0,85 - 1,15 \text{ €/m}^3$ do O_3/H_2O_2 .

Derbalah, Nakatani e Sakugawa (2004) compararam o efeito na degradação do pesticida organofosforado, fenitrotion, nas reações com $Fe^{2+}/H_2O_2/UV$ (foto-Fenton), com ausência de Fe^{2+} (H_2O_2/UV) e outro com ausência de H_2O_2 (Fe^{2+}/UV), tendo como concentração inicial do pesticida $0,5 \text{ mg L}^{-1}$. O trabalho demonstrou que a reação de foto-Fenton foi mais eficiente e rápida do que os outros dois processos comparados. Em 120 minutos de reação, os processos com Fe^{2+}/UV e H_2O_2/UV tiveram uma degradação de 34% e 24%, respectivamente, enquanto no sistema com $Fe^{2+}/H_2O_2/UV$ a degradação foi de 92% a partir da concentração inicial do composto.

Os processos de Fenton e foto-Fenton apresentam os melhores resultados em pH ácido (FAN, TSUI E LIAO, 2011). No entanto como a maioria das contaminações ocorre em ambiente natural, muitas vezes o ajuste de pH antes do tratamento pode tornar-se um inconveniente na prática diária dos tratamentos.

Mesmo assim Fan, Tsui e Liao (2011) decidiram conduzir seus experimentos em pH neutro (7) buscando avaliar a degradação de um organofosforado. Com uma concentração inicial de 20 mg L^{-1} do pesticida paration, concentrações de Fe^{2+} de 0,5, 1,0 e 1,5 mM e razões dos reagentes ($[\text{H}_2\text{O}_2]/[\text{Fe}^{2+}]$) de 4, 3 e 2, as reações resultaram, respectivamente, em remoções de 19%, 48% e 36% do pesticida, mostrando que o processo de remoção em pH neutro ocorre, mas em taxas menores do que quando o pH é ajustado.

Moreira *et al.* (2012) usaram sistema combinado por reator biológico de leito fixo/planta piloto com sistema solar utilizando diversos AOP no tratamento de um efluente resultante da lavagem de embalagens de 31 diferentes pesticidas, incluindo pesticidas organofosforados. Quando aplicado ao efluente, o sistema Fenton e foto-Fenton atingiu velocidades de reação de 8,4 e 8,7 vezes maiores do que utilizando $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ em pH ácido e 5,1 vezes maior que do processo $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ em pH neutro. Com uma concentração inicial de $140 \text{ mg Fe}^{2+} \text{ L}^{-1}$, o sistema foto-Fenton necessitou de quatro vezes menos tempo de exposição (120 min) para a mesma taxa de degradação (56%) que o sistema Fenton (475 min), mostrando que o sistema foto-Fenton é mais efetivo que o sistema Fenton.

Como citado, nem sempre o tratamento por AOP leva à mineralização completa do substrato, podendo ser gerados subprodutos, tais como os compostos fenólicos, fazendo-se necessário o seu monitoramento.

3.4 DETECÇÃO DE CLORPIRIFÓS POR CROMATOGRAFIA

Dados da literatura (Quadro 3), demonstram ser possível a detecção de diferentes compostos do clorpirifós e alguns de seus subprodutos por cromatografia, tendo como matriz alimentos, solos e águas superficiais, subterrâneas e minerais.

	RICE, 1984	LAGANA, <i>et al.</i> , 1997	HÉRNÁNDEZ, <i>et al.</i> , 1998	CHÁFER- PERICÁS, CAMPÍNS- FALCÓ e PRIETO- BLANCO, 2008	HE, <i>et al.</i> , 2009	WU E LINDEN, 2010
Solução Estoque	Acetonitrila	Metanol	Acetona	n.i.	metanol	Metanol
Solução de trabalho	Metanol	Metanol	Acetona	n.i.	água bidestilada	n.i.
Técnica	HPLC-UV	HPLC-DAD	LC-DAD	HPLC-DAD	LC-UV-Vis	HPLC-DAD
Tipo de coluna	C18	C18 fase reversa	Sílica	C18	VP-ODS	C18 fase reversa
Tamanho da coluna	100 mm x 5,0 mm	250 mm x 4,6 mm	150 mm x 3,9 mm	50 mm x 4,6 mm	150 mm x 4,6 mm	150 mm x 7,5 mm
Diâmetro da partícula (µm)	5	5	4	4	5	n.i.
Volume da injeção (µL)	10	25	n.i.	n.i.	25	50
Fase móvel	acetonitrila /água (85:15)	acetonitrila/água (acetonitrila 28 a 39% em 20 min e até 88% em 40 min)	n-hexano e n-hexano/acetato de etil	acetonitrila/água	metanol/água (75:25 v/v)	acetonitrila /água (80:20)
Fluxo da fase móvel	2mL min ⁻¹	1mL min ⁻¹	1mL min ⁻¹	n.i.	1mL min ⁻¹	1mL min ⁻¹
Comprimento de onda (nm)	313	230	280	230	254	n.i.
Limite de detecção (LD)		12 – 13 ng g ⁻¹	4 – 8 ng g ⁻¹	n.i.	5,0 µg L ⁻¹	n.i.
Faixa Linear de Trabalho (FLT)	0,5 – 100 mg L ⁻¹	n.i.	n.i.	n.i.	27,2 – 1089,0 µg L ⁻¹	n.i.
Composto	Clorpirifós	Clorpirifós-metil Clorpirifós-etil	Clorpirifós	Clorpirifós	Clorpirifós	Clorpirifós

Quadro 3: Dados referentes à detecção de clorpirifós e alguns de seus metabólitos por cromatografia em fase líquida de alta eficiência, compilados a partir da literatura

Nota: n.i. – não informado

Entre os trabalhos acima, destaque pode ser dado ao trabalho de Wu e Linden (2010) onde o monitoramento do clorpirifós foi realizado com fase móvel H₂O:ACN 20:80 (v/v), fluxo da fase móvel 1 mL min⁻¹ em um HPLC-DAD. Esta é a que mais se aproxima das condições possíveis de serem realizadas no presente trabalho.

3.4.1 Validação de método

Tendo em consideração as fontes de variação presentes nas análises cromatográficas, a validação de método torna-se uma etapa essencial, garantindo a qualidade e a confiabilidade dos resultados (LANÇAS, 2004).

Na validação de métodos cromatográficos de análise, as características do desempenho incluem seletividade, precisão, exatidão, linearidade, faixa de trabalho, limite de detecção e limite de quantificação (LANÇAS, 2004; RIBANI *et al.*, 2004).

Seletividade é o parâmetro que garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse. Tal critério é avaliado comparando-se o cromatograma da matriz isenta da substância de interesse e da matriz adicionada do padrão em questão (RIBANI *et al.*, 2004).

Precisão é a medida dos erros aleatórios da análise e representa a dispersão dos resultados obtidos em uma série de medidas. Um dos meios de avaliação é através da reprodutibilidade, expresso pelo desvio padrão relativo, ou coeficiente de variação. O coeficiente de variação é calculado pela divisão do desvio padrão pela concentração média calculada (Equação 3) (ANVISA, 2003).

$$\text{Coeficiente de variação} = \frac{\text{desvio padrão}}{\text{concentração média}} \times 100 \quad (3)$$

Exatidão é expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica (Equação 4) (ANVISA, 2003).

$$\text{Exatidão} = \frac{\text{concentração média experimental}}{\text{concentração teórica}} \times 100 \quad (4)$$

Linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado, sendo expressa por uma equação de reta chamada de curva analítica, formada por no mínimo 5 concentrações diferentes. O critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r^2) deve ser = 0,99 (ANVISA, 2003).

Faixa de trabalho ou faixa de aplicação corresponde ao intervalo de concentração que permite uma variação aceitável na resposta da espécie de interesse. As recomendações da ANVISA (2003) e da Conferência Internacional de Harmonização (ICH, 1995), sugerem uma variação máxima de $\pm 20\%$ em relação ao valor declarado ou esperado.

Limite de detecção pode ser tido como a menor quantidade do composto alvo presente em uma amostra que pode ser detectado, porém, não necessariamente quantificado (ANVISA, 2003). Para determinação do limite de detecção, segundo Ribani *et al.* (2004) é recomendável que se use a razão entre a estimativa do erro do coeficiente linear e a inclinação da curva multiplicada por três (Equação 5).

$$\text{Limite de detecção} = \frac{\text{estimativa do erro do coeficiente linear (Sa)}}{\text{inclinação da curva (b)}} \times 3 \quad (5)$$

Limite de quantificação é tido como a menor concentração do composto alvo em uma amostra que pode ser quantitativamente determinado (ANVISA, 2003). Para cálculo do limite de quantificação, deve-se usar a mesma razão do limite de detecção, porém multiplicada por dez (Equação 6) (RIBANI *et al.*, 2004).

$$\text{Limite de quantificação} = \frac{\text{estimativa do erro do coeficiente linear (Sa)}}{\text{inclinação da curva (b)}} \times 10 \quad (6)$$

4 METODOLOGIA

4.1 REAGENTES E INSUMOS

O substrato padrão de clorpirifós (Sigma-Aldrich), pureza > 97%, foi utilizado no preparo da solução estoque em acetonitrila grau HPLC.

Nos processos Fenton foi utilizado sulfato ferroso (ISO FAR) e Peróxido de Hidrogênio (Peróxidos do Brasil). Os solventes metanol e acetonitrila (J.T. Backer), foram de grau cromatográfico. Os demais reagentes necessários (ácidos, bases e sais) foram de grau analítico.

4.2 ENSAIOS PRELIMINARES

Foram conduzidos ensaios preliminares em espectrofotômetro UV-Vis para escolha do solvente orgânico (metanol ou acetonitrila) que apresentasse melhor resposta, obtenção de um espectro de absorção do composto na faixa de absorção de 190 à 800 nm e construção de uma curva analítica, com concentrações variando entre 2 e 100 mg L⁻¹.

4.3 IMPLEMENTAÇÃO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE CLORPIRIFÓS

A determinação do clorpirifós foi realizada por cromatografia em fase líquida de alta eficiência (HPLC), utilizando um cromatógrafo Agilent 1260, equipado com detector de arranjo de diodos (DAD) e coluna C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm).

As condições da corrida foram otimizadas em relação à proporção de solvente água:acetonitrila (30:70, 20:80 e 10:90) (v/v), velocidade da fase móvel (0,8; 1,0; 1,2 mL min⁻¹), volume de injeção (5, 10, 20, 30 e 50 µL) e melhor comprimento de absorção na faixa de 190 à 400 nm.

Através de curvas analíticas, parâmetros de mérito como limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), faixa linear de trabalho (FLT), exatidão e coeficiente de variação (CV) foram determinados.

Foram conduzidos testes de estabilidade em solvente orgânico por até 40 dias, avaliando cinco diferentes concentrações, 0,3, 0,5, 0,8, 1,0 e 4,0 mg L⁻¹ e testes de solubilidade em água utilizando diferentes proporções de água:acetonitrila, devido à baixa solubilidade do padrão em água.

4.4 PROCESSOS FENTON E FOTO-FENTON

Foi utilizado um reator fotoquímico convencional de bancada (250 mL de capacidade), equipado com refrigeração por água e agitação magnética (Figura 5). Para os sistemas assistidos por radiação artificial, uma lâmpada de alta pressão de vapor de mercúrio de 125 W, sem o bulbo protetor, foi inserida na solução por meio de um bulbo de vidro Pyrex (UVA).

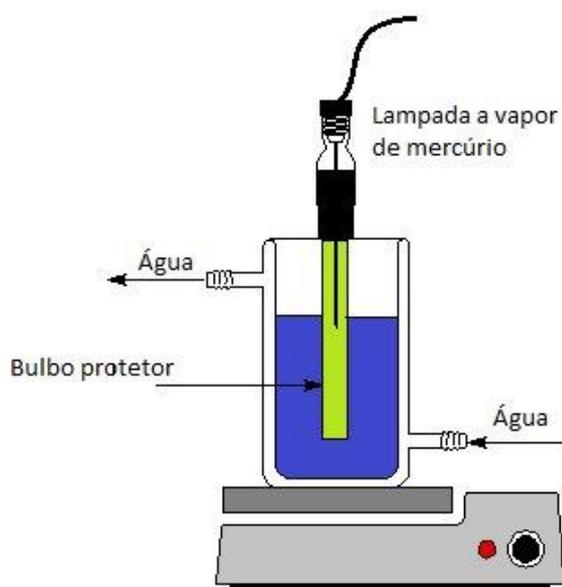


Figura 5: Representação do reator fotoquímico de bancada

Fonte: adaptado de Liz (2013)

4.4.1 Otimização das condições experimentais

O efeito das variáveis experimentais de relevância (concentração de peróxido de hidrogênio e de íons ferrosos) na eficiência de degradação do clorpirifós pelos processos Fenton foi avaliado utilizando um sistema de planejamento fatorial de ex-

perimentos 2², acrescidos de um ponto central ensaiado em triplicata, conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2: Planejamento fatorial para avaliação do efeito das variáveis no processo de Fenton e foto-Fenton na degradação de clorpirifós

	Variáveis (mg L ⁻¹)	
	Fe ²⁺	H ₂ O ₂
nível (-)	5	50
nível (0)	10	100
nível (+)	15	150
Experimento		
1	-	-
2	+	-
3	-	+
4	+	+
5	0	0
6	0	0
7	0	0

Fonte: Autoria própria.

As condições foram otimizadas utilizando-se 250 mL de solução de clorpirifós, como substrato padrão, na concentração de 2 mg L⁻¹, pH 3 (MALATO, *et al.*, 2009) e tempo de reação de 7 minutos. Após esse tempo, uma alíquota da amostra foi levada para análise por cromatografia. A escolha da melhor condição levou em conta a percentagem de degradação do clorpirifós, obtida pela redução da área do pico cromatográfico.

Visando parar a reação de degradação, para a quantificação do clorpirifós das alíquotas retiradas durante a otimização e nas degradações em tempos estendidos, foi utilizada uma solução de bissulfito de sódio 10 g L⁻¹, adicionado estequiometricamente à quantidade de peróxido residual (MARTIN, *et al.*, 1989).

4.4.2 Estudos de degradação em tempos estendidos

Uma vez estabelecidas as melhores condições de trabalho, foram realizados os estudos de degradação do clorpirifós em tempos estendidos, buscando avaliar a influência de cada variável no processo (íons ferrosos e peróxido de hidrogênio).

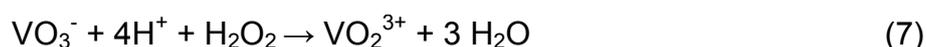
As degradações foram avaliadas por até 90 minutos, com alíquotas retiradas nos tempos 0, 2, 5, 8, 10, 15, 30, 45, 60 e 90 minutos. Cada alíquota retirada

permitia a quantificação da quantidade residual de peróxido de hidrogênio, íons ferrosos, íons férricos, clorpirifós e formação de compostos fenólicos.

4.5 CONTROLE ANALÍTICO

4.5.1 Determinação do Peróxido de Hidrogênio

Os níveis de peróxido de hidrogênio residual foram avaliados através de metodologia espectrofotométrica adaptada de Oliveira *et al.* (2001). O método baseia-se na reação entre o íon vanadato e peróxido de hidrogênio em meio ácido, como indicado na Equação 7.



O cátion peroxovanadato formado leva à uma coloração vermelha, confirmando a presença de peróxido de hidrogênio. As leituras das concentrações de peróxido de hidrogênio foram realizadas em espectrofotômetro (Varian – Cary 50 Bio) na faixa de absorção de 446 nm.

4.5.2 Determinação de Fe^{n+}

As determinações de $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}_{\text{total}}$ foram realizadas através de metodologia baseada na complexação do Fe^{2+} com 1,10-ortofenantrolina, e redução de Fe total a Fe^{2+} em presença de hidroquinona (APHA, 2005).

Foram utilizadas soluções de hidroquinona, citrato de sódio, o-fenantrolina e solução padrão de ferro. A determinação de Fe^{n+} foi realizada através de curva analítica, onde foram obtidas as concentrações de Fe^{2+} e Fe total das alíquotas amostradas. As leituras das concentrações de ferro foram realizadas em espectrofotômetro (Varian – Cary 50 Bio) na faixa de absorção de 508 nm.

4.5.3 Determinação de fenóis totais

A determinação de espécies fenólicas totais formadas durante a degradação foi realizada pelo procedimento de Folin-Ciocalteu (APHA, 2005).

A determinação dos fenóis totais foi realizada através de curva analítica de ácido gálico, compreendida entre 0,5 e 50 mg L⁻¹, sendo o resultado expresso em mg L⁻¹ equivalente de ácido gálico. As leituras das concentrações foram realizadas em espectrofotômetro (Varian – Cary 50 Bio) na faixa de absorção de 700 nm.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 ANÁLISES PRELIMINARES

Tendo como base os trabalhos de Rice (1984) em que foi utilizado metanol, Cháfer-Pericas, Campíns-Falcó e Prieto-Blanco (2008) em que foi utilizado acetonitrila, Hernández *et al.* (1998) utilizando acetona e de Lagana *et al.* (1997) em que foram comparados metanol e acetonitrila, o solvente a ser utilizado no preparo das soluções estoque e nas soluções da curva de calibração testados foram metanol e acetonitrila.

Quando comparados os espectros de absorção no espectrofotômetro UV-Vis das soluções de 25 mg L^{-1} , o solvente que apresentou a melhor resposta foi a acetonitrila (Figura 6). Esses resultados estão de acordo com as observações realizadas por Lagana *et al.* (1997).

Pelo resultado espectrofotométrico, também foi possível distinguir máximos de absorção para o clorpirifós em 200, 230 e 290 nm. Esses resultados também foram observados em outros trabalhos citados na literatura (HE, *et al.*, 2009; CHÁFER-PERICÁS, CAMPÍNS-FALCÓ e PRIETO-BLANCO, 2008; HÉRNÁNDEZ, *et al.*, 1998; LAGANA, *et al.*, 1997).

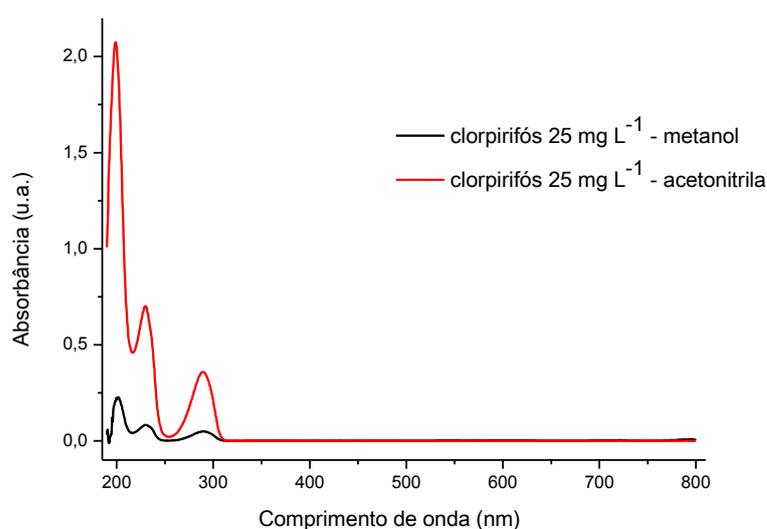


Figura 6: Espectro de absorção UV-Vis das soluções de clorpirifós de 25 mg L^{-1} com os solventes acetonitrila e metanol grau cromatográfico

Fonte: Autoria própria.

Dessa forma, com base nos dados apresentados e as informações encontradas na literatura (LAGANA *et al.*, 1997), a acetonitrila foi o solvente escolhido para ser utilizado no preparo das soluções para construção de uma curva analítica para o clorpirifós, com concentrações variando entre 2 mg L^{-1} e 100 mg L^{-1} pela medida de absorvância entre 190 e 330 nm (Figura 7).

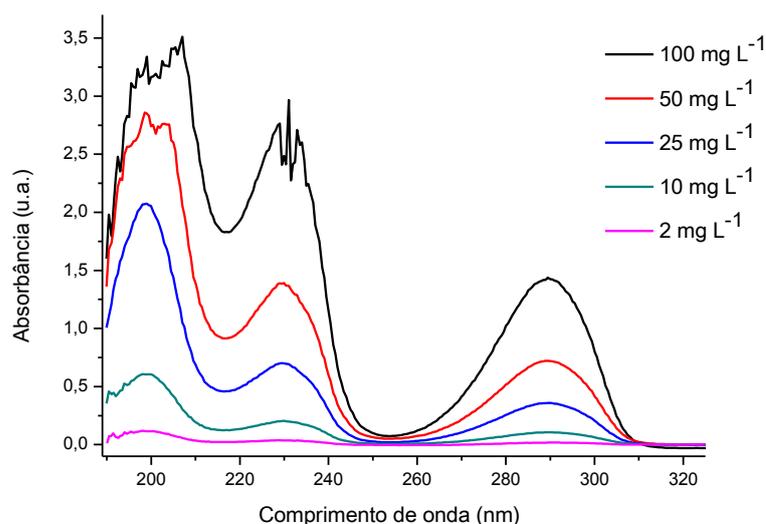


Figura 7: Curva analítica do clorpirifós em acetonitrila grau cromatográfico no espectrofotômetro UV-Vis

Fonte: Autoria própria.

Através da Figura 7 é possível observar que os diferentes comprimentos de onda (200, 230 e 290 nm) apresentam diferentes valores de absorvância molar, com maior sensibilidade para o comprimento de onda de 200 nm. Entretanto, os valores de concentração determinados encontram-se muito acima de limites de detecção relatados para o método por HPLC-DAD.

Além disso, por tratar-se de um micropoluente ambiental, sua concentração no meio é da ordem de $0,075$ à $900 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, fazendo-se necessário o uso de uma técnica analítica mais sensível para seu controle.

5.2 PARÂMETROS CROMATOGRÁFICOS

5.2.1 Otimização das condições cromatográficas (HPLC-DAD)

As análises cromatográficas foram iniciadas a partir de dados da literatura que envolvem a quantificação de clorpirifós por HPLC-DAD (WU E LINDEN, 2010).

Como condição inicial de eluição foi escolhida a proporção de 20:80 H₂O:ACN (v/v), vazão de 1,0 mL min⁻¹, volume de injeção de 20 µL e concentração da solução padrão de 2 mg L⁻¹ em acetonitrila. A análise do cromatograma 3D obtido (Figura 8) confirmou a possibilidade do monitoramento do clorpirifós em 200, 230 e 290 nm, em acordo com os dados obtidos no espectrofotômetro UV-Vis (Figura 7).

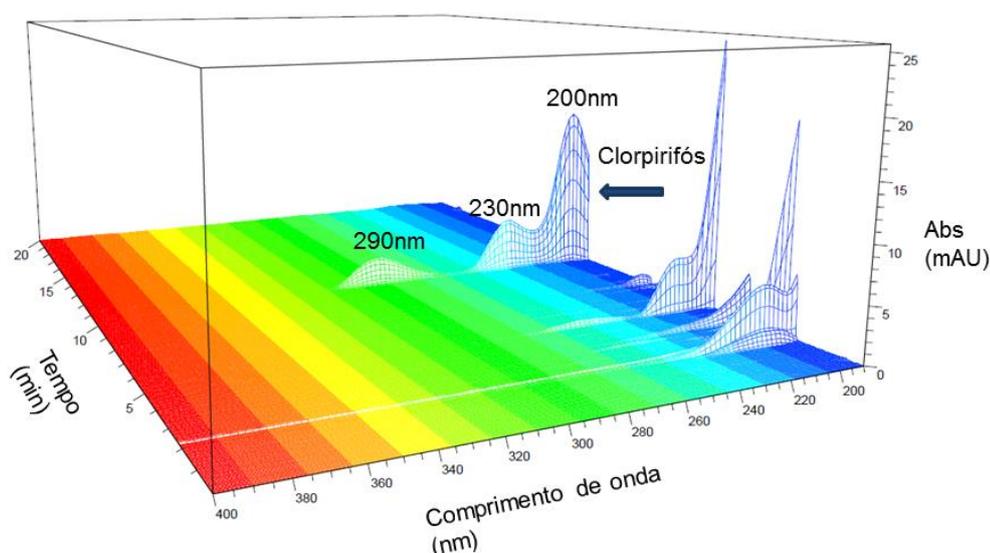


Figura 8: Cromatograma 3D da condição inicial, eluição H₂O:ACN de 20:80, vazão de 1,0 mL min⁻¹ e volume de injeção de 20 µL com solução de padrão de clorpirifós de 2 mg L⁻¹

Fonte: Autoria própria.

Assim como visto no espectro de absorção (Figura 7), quanto menor é o comprimento de onda analisado, maior é a intensidade de absorção do composto. No entanto, maior é o número de outros compostos presentes na amostra que absorvem na mesma faixa, podendo interferir nas análises. Assim se optou pelo λ intermediário sendo medida a absorbância em 230 nm.

Partindo da condição inicial, os parâmetros eluição e vazão da fase móvel foram testados. As eluições variaram em 30:70, 20:80 e 10:90 (H₂O:ACN) (v/v) e os

fluxos em 0,8; 1,0 e 1,2 mL min⁻¹ (Figuras 9, 10 e 11), sendo apresentados somente os dados em 230 nm.

Na Figura 9 são apresentados os cromatogramas sobrepostos da eluição de 30:70 H₂O:ACN (v/v) para os três valores da vazão da fase móvel utilizados (0,8; 1,0 e 1,2 mL min⁻¹). Na vazão de 1,2 mL min⁻¹, o clorpirifós apresentou um tempo de retenção de 17 minutos, já para as vazões de 0,8 e 1,0 mL min⁻¹ não foi possível observar o composto com até 20 minutos de corrida cromatográfica. Esses valores devem estar relacionados à baixa polaridade do composto, associada às condições dos solventes utilizados, retardando a saída do clorpirifós da coluna cromatográfica.

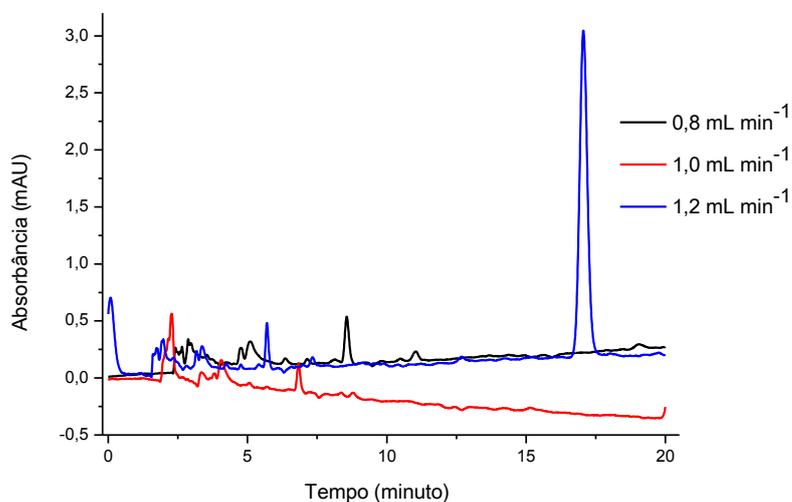


Figura 9: Sobreposição dos cromatogramas comparando as diferentes vazões da fase móvel para a eluição de 30:70 H₂O:ACN (v/v) em 230 nm (Solução de clorpirifós de 2 mg L⁻¹ em ACN)

Fonte: Autoria própria.

Para as eluições 20:80 (Figura 10) e 10:90 (Figura 11) de H₂O:ACN (v/v), todas as situações testadas proporcionaram tempos de retenção menores que 20 minutos.

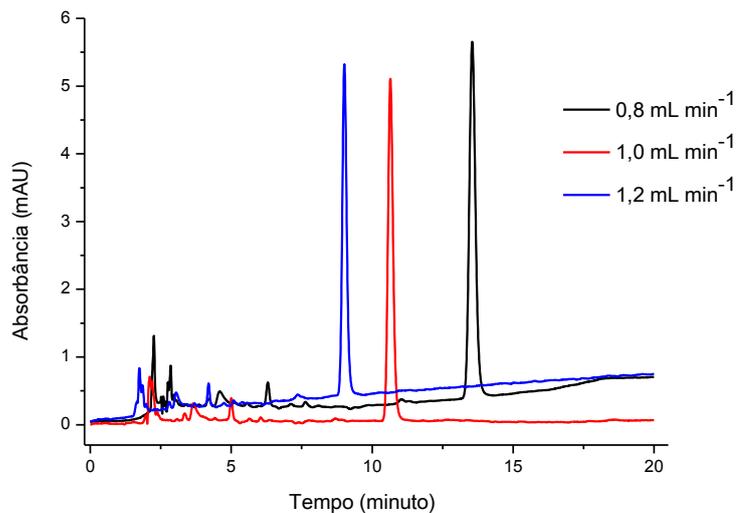


Figura 10: Sobreposição dos cromatogramas comparando as diferentes vazões da fase móvel para a eluição de 20:80 H₂O:ACN (v/v) em 230 nm (Solução de clorpirifós de 2 mg L⁻¹ em ACN)

Fonte: Autoria própria.

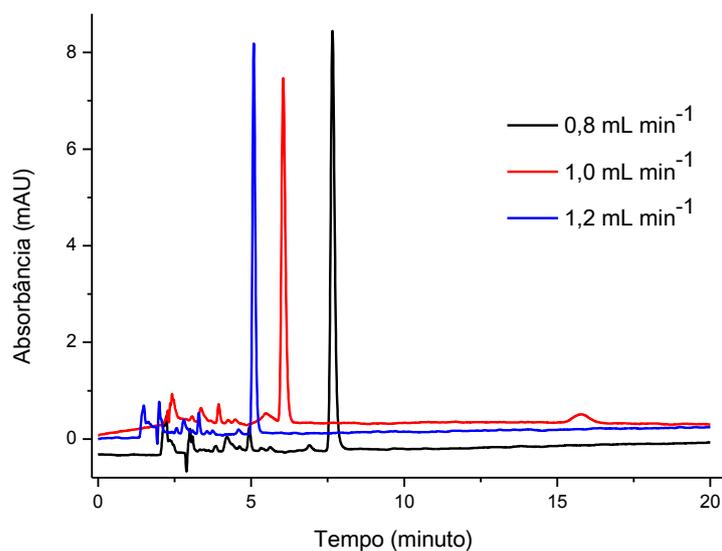


Figura 11: Sobreposição dos cromatogramas comparando as diferentes vazões da fase móvel para a eluição de 10:90 H₂O:ACN (v/v) em 230 nm (Solução de clorpirifós de 2 mg L⁻¹ em ACN)

Fonte: Autoria própria.

Quando comparadas, as Figuras 10 e 11 mostram que os tempos de retenção apresentam uma redução significativa quanto maior a força do eluente, ou seja, quanto maior a percentagem de ACN. Maiores vazões da fase móvel também levaram à menores tempos de retenção do clorpirifós.

A situação que apresentou o menor tempo de retenção foi a eluição de 10:90 H₂O:ACN e vazão de 1,2 mL min⁻¹, com tempo de retenção de 5 minutos.

Em relação ao volume de injeção, foram realizadas injeções de 5 µL, 10 µL, 20 µL, 30 µL e 50 µL com as condições iniciais, eluição de 20:80 H₂O:ACN (v/v), fluxo de 1,0 mL min⁻¹ e solução padrão de 2 mg L⁻¹. A Figura 12 apresenta a correlação entre a área obtida e o volume injetado (12A) e os cromatogramas obtidos (12B).

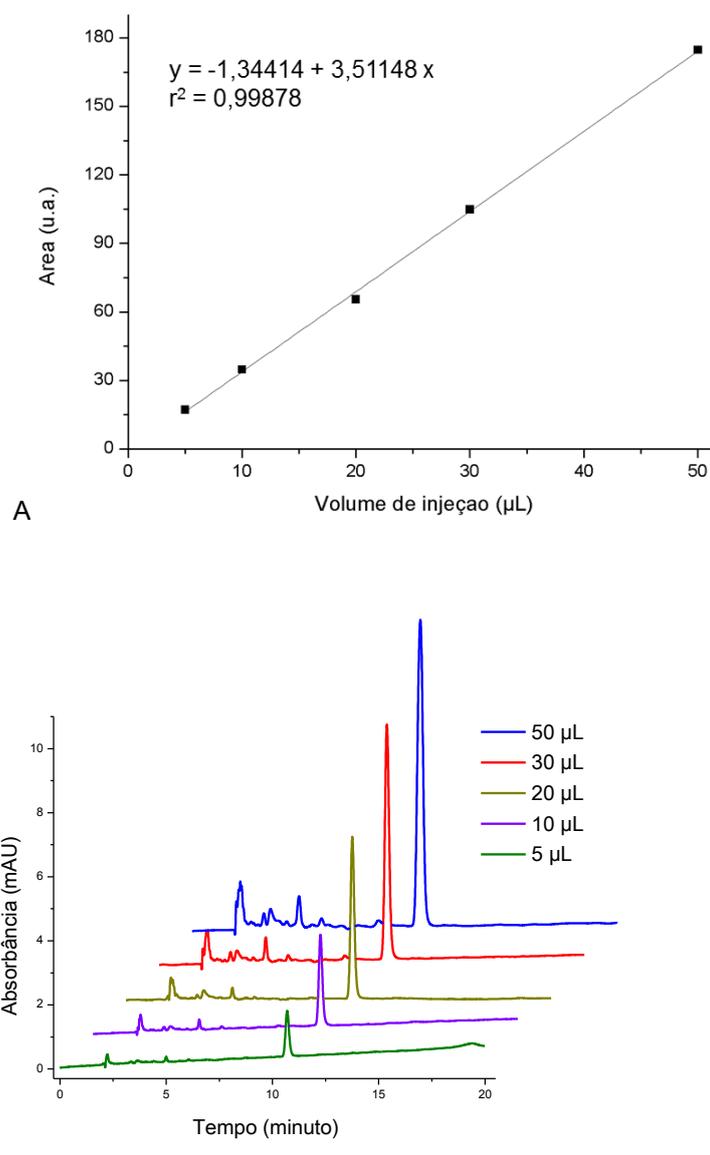


Figura 12: Correlação entre a área cromatográfica obtida e o volume injetado (A) e sobreposição dos cromatogramas com os diferentes volumes injetados (5, 10, 20, 30 e 50 µL) (B). Eluição 20:80 H₂O:ACN (v/v), fluxo da fase móvel de 1,0 mL min⁻¹ em 230 nm (Solução de clorpirifós de 2 mg L⁻¹ em ACN)

Fonte: Autoria própria.

A relação entre volume injetado e área cromatográfica obtida apresentou um coeficiente de correlação (r^2) superior a 0,99 (Figura 12A), assim como a análise dos diferentes volumes injetados mostrou ser possível a injeção de até 50 μL sem distorção do pico analítico (Figura 12B). O aumento na intensidade do sinal cromatográfico, possibilita a detecção de concentrações mais baixas de clorpirifós.

Diante dos resultados obtidos adotou-se como condição para os estudos posteriores os valores expostos na Tabela 3.

Tabela 3: Condições cromatográficas otimizadas para determinação de padrão de clorpirifós em acetonitrila por HPLC-DAD

Parâmetros otimizados	Eluição	Velocidade da fase móvel (mL min^{-1})	Volume de injeção (μL)	Comprimento de onda (nm)
Condição	10:90 ($\text{H}_2\text{O}:\text{ACN}$)	1,2	50	200, 230 e 290

Fonte: Autoria própria.

5.2.2 Figuras de mérito para o método cromatográfico (HPLC-DAD)

Nas condições otimizadas, foram elaboradas quatro curvas analíticas que, após submetidas à análise cromatográfica, permitiram a determinação das figuras de mérito: faixa linear de trabalho, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), coeficiente de correlação, exatidão e coeficiente de variação (CV).

Nas Figuras 13, 14 e 15 são apresentadas as curvas analíticas incluindo as regressões lineares elaboradas em duas faixas de concentração, 0,010 à 0,6 mg L^{-1} (A) e 0,8 à 5 mg L^{-1} (B) utilizando os parâmetros otimizados da Tabela 3, para os comprimentos de onda (λ) de 200, 230 e 290, respectivamente.

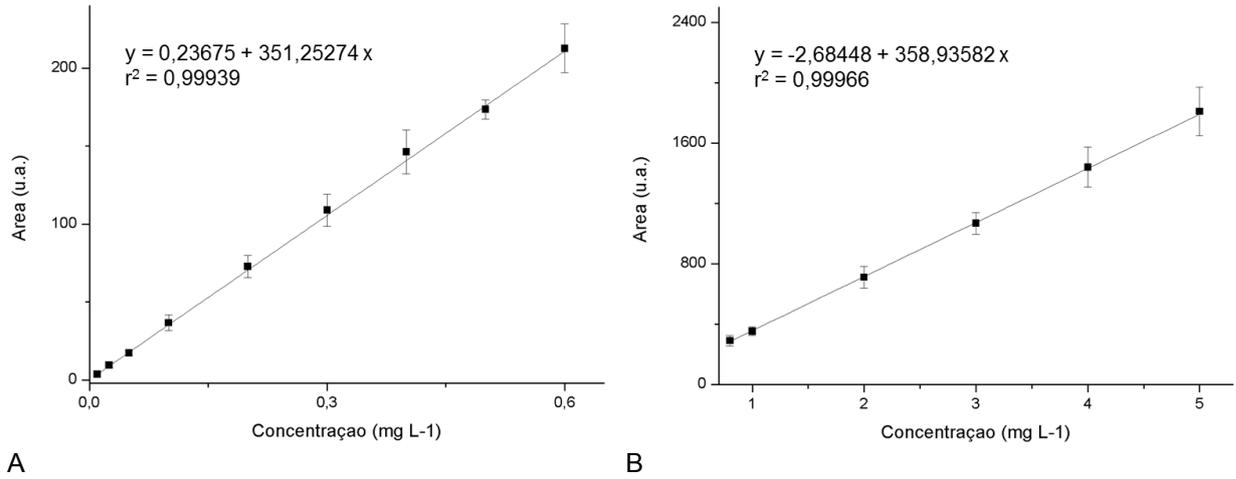


Figura 13: Curvas analíticas para os comprimentos de onda de 200 nm, 0,010 à 0,6 mg L⁻¹ (A) e 0,8 à 5 mg L⁻¹ (B) (Solução de clorpirifós em ACN)

Fonte: Autoria própria.

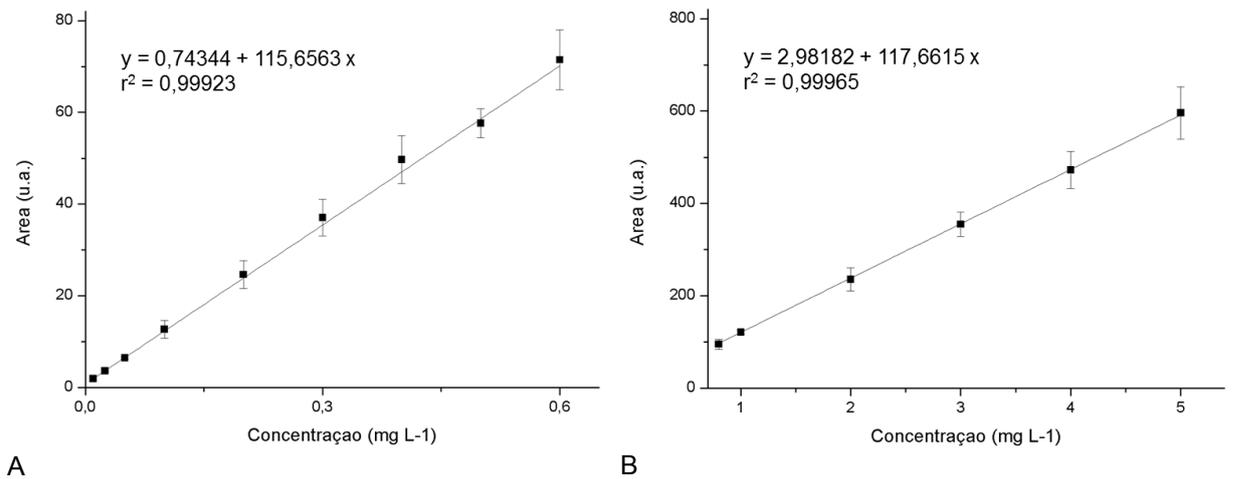


Figura 14: Curvas analíticas para os comprimentos de onda de 230 nm, 0,010 à 0,6 mg L⁻¹ (A) e 0,8 à 5 mg L⁻¹ (B) (Solução de clorpirifós em ACN)

Fonte: Autoria própria.

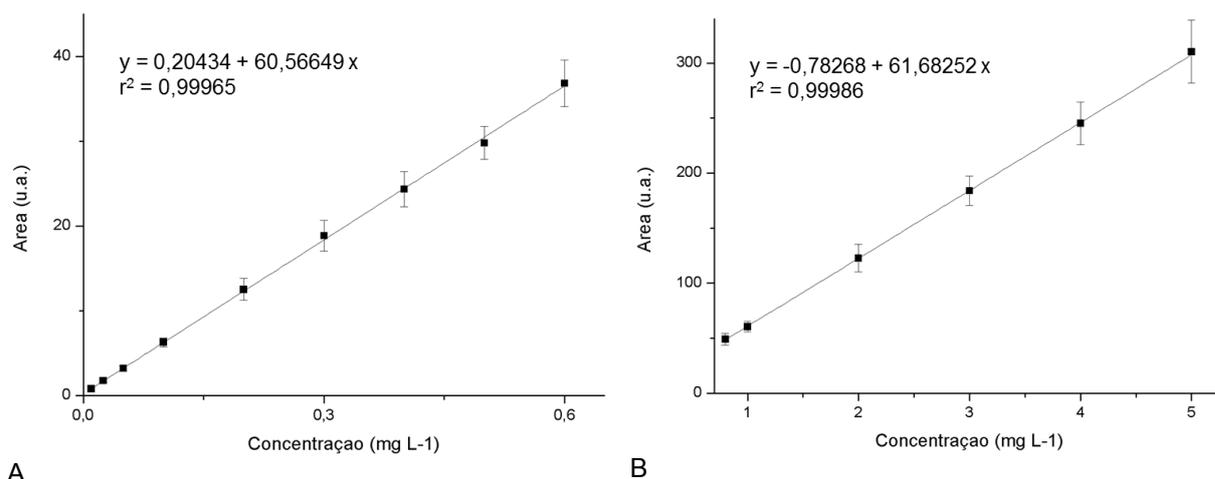


Figura 15: Curvas analíticas para os comprimentos de onda de 290 nm, 0,010 à 0,6 mg L⁻¹ (A) e 0,8 à 5 mg L⁻¹ (B) (Solução de clorpirifós em ACN)

Fonte: Autoria própria.

Nos três casos as curvas apresentaram uma boa linearidade, com um coeficiente de correlação (r^2) superior a 0,99.

Os valores de estimativa do erro do coeficiente linear são, 0,23815, 0,0342 e 0,0203 para 200, 230 e 290 nm, respectivamente.

Os valores de LD e LQ obtidos são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Limites de detecção e quantificação estimados através da equação de regressão para o padrão de clorpirifós por cromatografia em fase líquida de alta eficiência com detector DAD

Comprimento de onda (nm)	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$) (estimado)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$) (Adotado)
200	2,03	6,78	10,0
230	0,89	2,95	10,0
290	1,01	3,35	10,0

Fonte: Autoria própria.

Os valores de LD estão de acordo com os obtidos por He *et al.* (2009), de 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ em comprimento de onda de 290 nm.

Para a faixa linear de trabalho foi possível observar que menores desvios entre o valor estimado pela curva para os próprios pontos da curva analítica e a concentração preparada, foram menores no comprimento de onda de 290 nm. Esses desvios podem estar relacionados à maior probabilidade de interferências de outros compostos na faixa de 200 nm, porém, nenhum estudo mais aprofundado foi

realizado nesse sentido. Os valores são apresentados no APÊNDICE A.

Em relação ao coeficiente de variação foram obtidos valores entre 3,55 e 18,53 para 200 nm, 0,0 e 16,24 para 230 nm e entre 0,0 e 11,24 para 290 nm. As tabelas completas são apresentadas no APÊNDICE A.

Devido a essa melhor previsibilidade, para estudos posteriores priorizou-se os valores de absorvâncias medidos a 290 nm.

Além dos parâmetros acima, também foi avaliado para o clorpirifós a sua estabilidade em ACN.

Esses testes foram realizados por 40 dias, em concentrações de 0,3; 0,5; 0,8 1,0 e 4,0 mg L⁻¹. Maiores variações foram observadas somente para a amostra de 4,0 mg L⁻¹. Esses resultados permitiram observar que até o quadragésimo dia o aumento da área do pico foi da ordem de 5%, tendo sido mais pronunciado após o vigésimo dia (Figura 16).

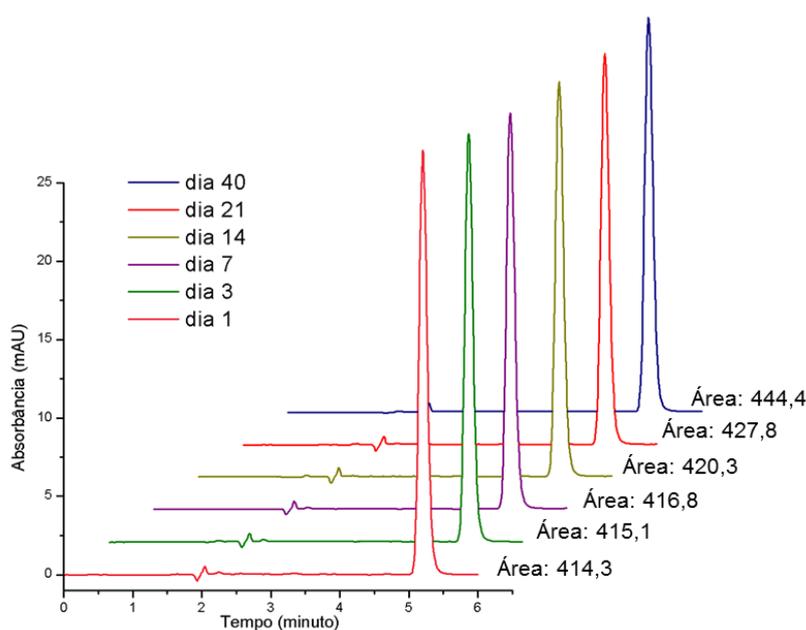


Figura 16: Cromatogramas resultantes do teste de estabilidade com a concentração de 4,0 mg L⁻¹ de clorpirifós em ACN para 290 nm, dos dias 1; 3; 7; 14; 21 e 40

Fonte: Autoria própria.

O aumento da área pode ser atribuído à volatilização do solvente utilizado, proporcionando um aumentando da concentração da solução. Entretanto, não foram observados novos picos que pudessem ser atribuídos à formação de subprodutos.

Até onde se pode investigar não há relatos de estudos de estabilidade do

padrão puro em ACN. Entretanto, em relação à estabilidade em água do produto comercial, estudos apontam para degradações após 16 dias em pH 9,0 e 72 dias em pH 5 e 7, com essas degradações em pH maior sendo atribuídas a maior presença de microrganismos nessas condições (EC, 2005).

Na tentativa de comparação do padrão com os dados da European Commission (2005) buscou-se avaliar a estabilidade do padrão em solução aquosa, onde constatou-se uma baixa solubilidade do clorpirifós em água (Tabela 5).

Tabela 5: Valores obtidos para soluções de padrão de clorpirifós preparadas em água, quantificadas por HPLC-DAD. Volume de injeção 50 µL em 290 nm.

Concentração preparada (mg L ⁻¹)	Valor estimado (mg L ⁻¹)
2,00	0,24
1,00	0,25
0,30 ¹	0,10 ± 0,030
0,10 ¹	0,03 ± 0,004

¹: experimento realizado em triplicata

Fonte: Autoria própria.

Dados da literatura citam a solubilidade do clorpirifós em água variando de 0,39 mg L⁻¹ à 1,4 mg L⁻¹ (EC, 2005; WHO, 2009). Entretanto, não foi possível atingir esses valores na prática.

Mori (2006) também tentou a dissolução de concentrações maiores do clorpirifós padrão em água e constatou a necessidade do uso de solvente orgânico para este fim. A melhor proporção encontrada no estudo foi de 70:30 (água:acetoneitrila) para as concentrações de 280 mg L⁻¹ e 560 mg L⁻¹.

Devido a dificuldade na dissolução do clorpirifós em água não avaliou-se sua estabilidade nesse solvente.

Por outro lado, como os processos avançados de oxidação são realizados em meio aquoso, fez-se necessário a determinação da quantidade necessária de solvente (ACN) para a solubilização do clorpirifós em água, de forma a atingir concentrações da ordem de 2 mg L⁻¹. Essa concentração foi escolhida para estudos posteriores de degradação para que os testes fossem realizados sem a necessidade de usar etapas de pré-concentração da amostra tratada. Além disso, valores muito superiores a esse afastam-se demais das concentrações encontradas em amostras reais.

Utilizando uma solução 2 mg L^{-1} , foram realizados testes com proporções de 95:5; 90:10; 80:20, 70:30 e 60:40 $\text{H}_2\text{O}:\text{ACN}$ (v/v) para verificar a solubilidade atingida. A Tabela 6 apresenta os valores percentuais dissolvidos de clorpirifós encontrados para as soluções com diferentes proporções de ACN.

Tabela 6: Solubilidade do clorpirifós 2 mg L^{-1} em diferentes proporções de $\text{H}_2\text{O}:\text{ACN}$, quantificadas por HPLC-DAD. Volume de injeção $50 \mu\text{L}$ em 290 nm .

Acetonitrila (%)	0	5	10	20	30	40
Solubilidade (%)	52	50	81	99,5	101	101

Fonte: Autoria própria.

Maiores concentrações de acetonitrila levaram a melhores resultados, sendo que os valores a partir de 20% de acetonitrila apresentam boa solubilidade.

Devido a esses resultados a proporção escolhida no preparo de clorpirifós para estudos de degradação foi de 80:20 $\text{H}_2\text{O}:\text{ACN}$ (v/v).

5.3 OTIMIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS DE RELEVÂNCIA PARA OS PROCESSOS FENTON E FOTO-FENTON

Foram realizadas as otimizações das variáveis de relevância, concentração de íons ferrosos e peróxido de hidrogênio, para as reações de foto-Fenton e Fenton.

Os valores mínimo e máximo de ferro e peróxido de hidrogênio utilizados no planejamento são embasados em dados da literatura (SALVADOR, JÚNIOR e PERALTA-ZAMORA, 2012), entretanto alguns autores defendem que a otimização destas variáveis seja realizada em todos os experimentos em função da natureza do poluente e da geometria do reator (MALATO, *et al.*, 2009).

Durigan, Vaz e Peralta-Zamora (2012) afirmam que um aumento na concentração de peróxido de hidrogênio pode trazer uma melhora para o processo até um certo limite. Em excesso, o radical começa a provocar uma diminuição na eficiência do processo.

Utilizando o planejamento fatorial apresentado na Tabela 2, obtiveram-se diferentes valores de degradação que permitiram o cálculo do efeito das variáveis, avaliação da significância dos efeitos, representados pelos gráficos de Pareto e a elaboração de modelos de resposta em função das variáveis estudadas.

5.3.1 Otimização para as reações de Fenton

Buscando-se trabalhar nas melhores condições de degradação do clorpirifós foram realizados ensaios preliminares para otimizar as condições de degradação para os processos Fenton. Esses ensaios foram realizados através de planejamento fatorial 2^2 com ponto central em triplicata.

Na Tabela 7 são apresentados os valores dos níveis de Fe^{2+} e H_2O_2 utilizados nos experimentos, assim como os valores de degradação obtidos. Os experimentos foram realizados em escala de bancada empregando 250 mL de solução 2 mg L^{-1} do padrão de clorpirifós em solução aquosa contendo 20% de ACN, por um período de 7 minutos, em pH 3,0.

Tabela 7: Matriz do planejamento fatorial completo 2^2 e degradações obtidas para as reações de Fenton

Ensaio	Variáveis independentes		Variável dependente
	Fe^{2+} (mg L^{-1})	H_2O_2 (mg L^{-1})	Degradação (%)
1	5	50	21,23
2	15	50	24,51
3	5	150	22,50
4	15	150	23,77
5/6/7 ¹	10	100	22,71 \pm 0,59

¹: ponto central em triplicata.

Fonte: Autoria própria.

Uma maneira de avaliação do efeito das variáveis no experimento é através do cálculo do erro padrão dos efeitos e análise da significância dos efeitos, utilizando a tabela t Student. Graficamente, essa análise é apresentada através do gráfico de Pareto, onde os valores que ultrapassam a linha vermelha são considerados relevantes para o processo.

No gráfico de Pareto (Figura 17) são apresentados os efeitos das variáveis íons ferrosos e peróxido de hidrogênio para o sistema Fenton.

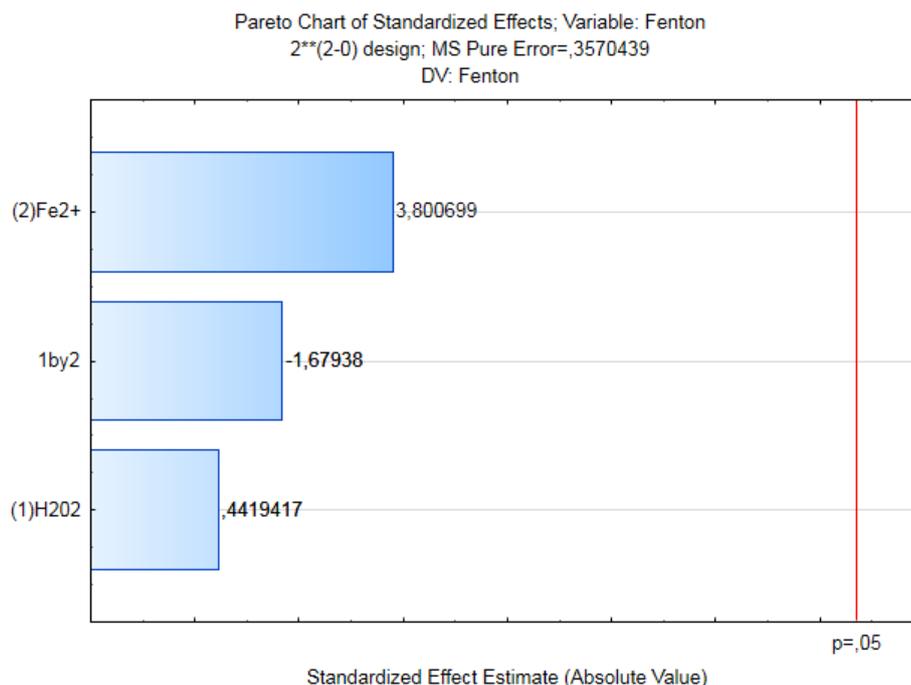


Figura 17: Gráfico de Pareto para o sistema Fenton

Fonte: Autoria própria.

Na Figura 17 pode-se verificar que nas condições avaliadas, nenhuma das variáveis foi significativa para a degradação nas reações de Fenton. A pouca diferença entre as degradações obtidas dificulta uma melhor interpretação dos resultados. Os processos Fenton costumam ocorrer de forma mais lenta que os processos foto-Fenton e, geralmente, com baixo consumo de peróxido de hidrogênio. Dessa forma, acredita-se que o H₂O₂ esteve em excesso no meio reacional, fazendo com que a reação dependesse mais da concentração de Fe²⁺, conforme demonstrado no gráfico de Pareto (Figura 17).

No entanto, quando observada a superfície de contorno gerada (Figura 18), nota-se que a região onde se tem a maior concentração de íons ferrosos e menor concentração de peróxido de hidrogênio é a de maior degradação.

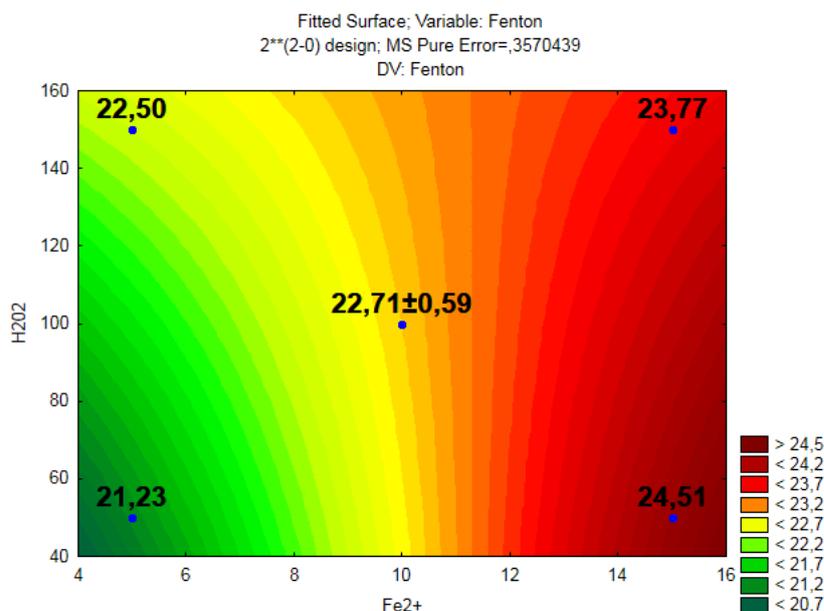


Figura 18: Superfície de contorno para otimização do sistema Fenton do clorpirifós (clorpirifós 2 mg L⁻¹; tempo de análise: 7 minutos)

Fonte: Autoria própria.

Sendo assim, as condições do ensaio 2 foram as escolhidas como condições ótimas para realização dos ensaios de degradação em tempo estendido.

5.3.2 Otimização para as reações de foto-Fenton

Os níveis de Fe²⁺ e H₂O₂ e as condições de análise testadas para o sistema foto-Fenton foram os mesmos do sistema Fenton. Os resultados de degradação após 7 minutos de reação são mostrados na Tabela 8.

Tabela 8: Matriz do planejamento fatorial completo 2² e degradações obtidas para as reações de foto-Fenton

Ensaio	Variáveis independentes		Variável dependente
	Fe ²⁺ (mg L ⁻¹)	H ₂ O ₂ (mg L ⁻¹)	Degradação (%)
1	5	50	40,67
2	15	50	45,32
3	5	150	45,42
4	15	150	36,65
5/6/7 ¹	10	100	44,05 ± 0,15

¹: ponto central em triplicata.

Fonte: Autoria própria.

No gráfico de Pareto (Figura 19) são apresentados os efeitos das variáveis íons ferrosos e peróxido de hidrogênio para o sistema foto-Fenton.

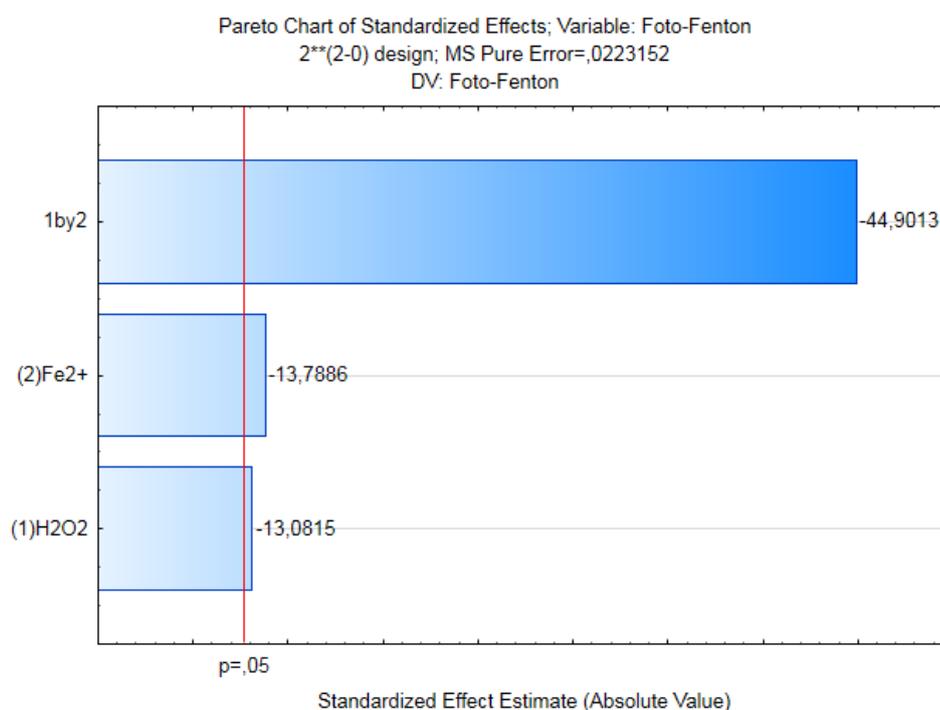


Figura 19: Gráfico de Pareto para foto-Fenton

Fonte: Autoria própria.

Na Figura 19 pode-se observar que para esse caso, todas as variáveis foram significativas. Entretanto, os resultados do Gráfico de Pareto indicam que um aumento nas concentrações de Fe^{2+} ou de H_2O_2 desfavorecem o processo de degradação. Em relação ao efeito combinado, observa-se um forte efeito negativo entre os fatores.

A análise da superfície de contorno (Figura 20) mostra que há duas regiões de maior degradação, sendo uma delas em maior concentração de íons ferrosos e menor concentração de peróxido de hidrogênio, e outra oposta, em menor concentração de Fe^{2+} e maior concentração de H_2O_2 .

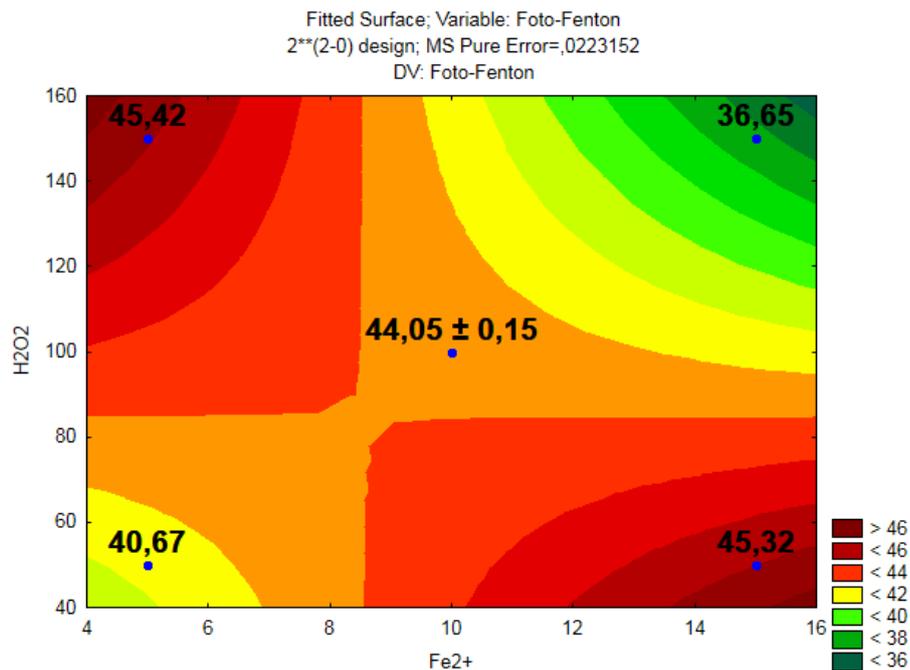


Figura 20: Superfície de contorno para otimização do sistema foto-Fenton do clorpirifós (clorpirifós 2 mg L⁻¹; tempo de análise: 7 minutos)

Fonte: Autoria própria.

Desta forma, com o objetivo de comparação futura com as degradações obtidas pela reação Fenton, as condições do ensaio 2, maior concentração de Fe²⁺ e menor concentração de H₂O₂, foram as escolhidas como condições ótimas para realização dos ensaios de degradação em tempo estendido.

5.4 DEGRADAÇÃO DO PADRÃO DE CLORPIRIFÓS EM TEMPOS ESTENDIDOS

5.4.1 Degradação em tempos estendidos pelo sistema Fenton

Os estudos de degradação em tempo estendido utilizando o sistema Fenton foram realizados com as condições otimizadas (50 mg L⁻¹ de H₂O₂ e 15 mg L⁻¹ de Fe²⁺) em 250 mL de clorpirifós 2 mg L⁻¹, pH 3 e 90 minutos de reação.

Na Figura 21 é apresentado o monitoramento da redução da área cromatográfica de clorpirifós durante o tratamento para o sistema Fenton.

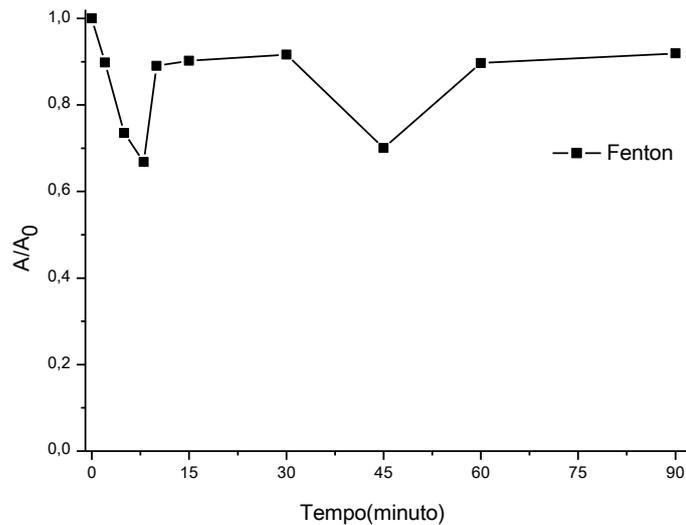


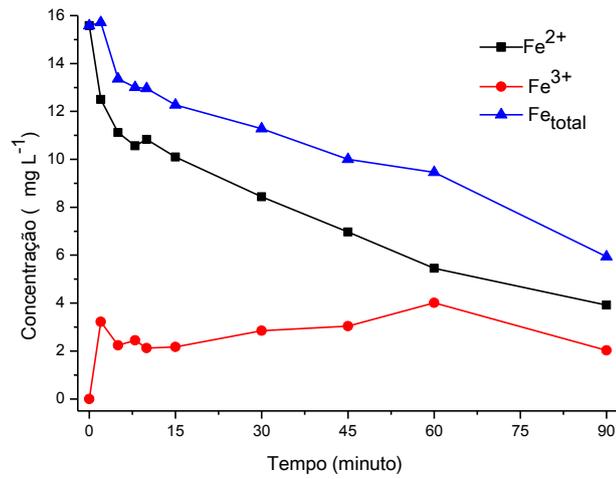
Figura 21: Comportamento da área cromatográfica do padrão de clorpirifós 2 mg L⁻¹ para o sistema Fenton (condições iniciais: 15 mg L⁻¹ de Fe²⁺, 50 mg L⁻¹ de H₂O₂ e pH 3,0)

Fonte: Autoria própria.

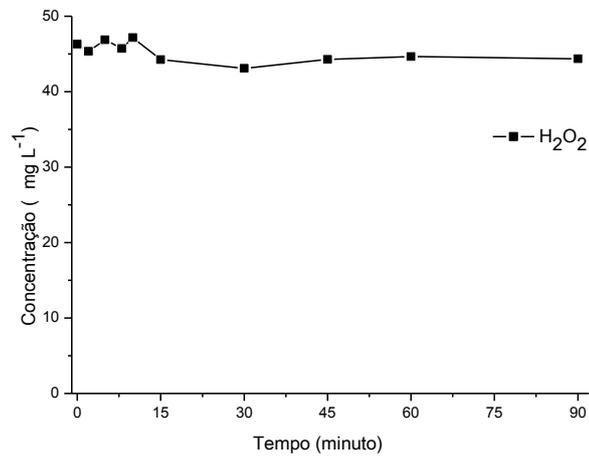
Inicialmente, houve uma degradação do composto chegando a uma redução na área cromatográfica de quase 35%. No entanto, na maior parte do período analisado a degradação observada foi de aproximadamente 10% para o sistema Fenton (Figura 21).

Devido à baixa degradação propiciada pelo sistema Fenton, não foram avaliados os efeitos individuais das variáveis ferro e peróxido de hidrogênio na degradação do clorpirifós.

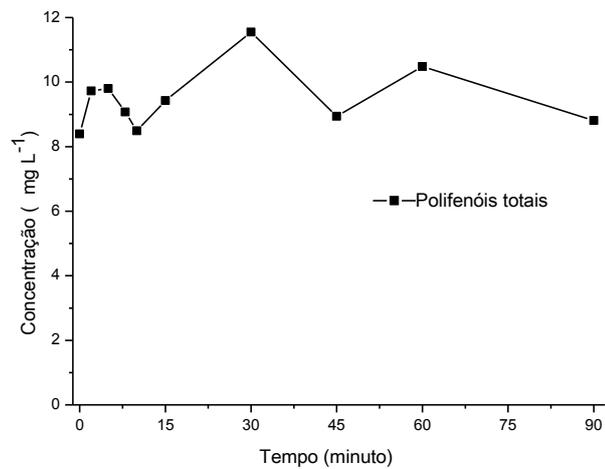
A Figura 22 apresenta a evolução das concentrações de Fe²⁺, Fe³⁺ e Fe_{total} (22A), consumo de H₂O₂ (22B) e concentração de polifenóis totais (22C) ao longo da reação de Fenton.



A



B



C

Figura 22: Evolução das formas de ferro (A), consumo de peróxido de hidrogênio (B) e concentração de polifenóis totais (C) no sistema Fenton

Fonte: Autoria própria.

Em relação ao ferro, até 60 minutos de reação é possível observar a oxidação dos íons ferrosos a íons férricos. No entanto, durante todo o processo há um decréscimo da concentração de Fe_{total} .

Tal fato pode ser atribuído à precipitação do ferro pela formação de complexos entre ácidos mono e dicarboxílicos e íons férricos (MALATO, *et al.*, 2009). Também, por se tratar de uma solução com 20% em volume de ACN, existe a possibilidade da formação de complexos ferrocianetos, principalmente hexacianoferrato e ferrocianeto férrico, um complexo estável e insolúvel em água (SCHNEIDER, 2009). Ao final da reação, após um período de repouso era possível a observação de um precipitado no reator.

Nas Figuras 21 e 22C é possível observar que a redução na área cromatográfica do clorpirifós, indicando a degradação do composto, levou à formação de compostos fenólicos. Esses compostos foram degradados durante o processo, passando de concentrações de $11,6 \text{ mg L}^{-1}$ para $8,81 \text{ mg L}^{-1}$. No entanto, a determinação de compostos fenólicos pode sofrer interferência de outras substâncias redutoras de natureza não fenólica, tais como Fe^{2+} , sulfeto e cianeto.

Observa-se também um baixo consumo de H_2O_2 (Figura 22C), coerente com dados da literatura que indicam um baixo consumo para o sistema Fenton (SALVADOR, JÚNIOR e PERALTA-ZAMORA, 2012).

5.4.2 Degradação em tempos estendidos pelas reações de foto-Fenton

Os estudos de degradação em tempo estendido utilizando o sistema foto-Fenton foram realizados com as condições otimizadas (50 mg L^{-1} de H_2O_2 e 15 mg L^{-1} de Fe^{2+}) em 250 mL de clorpirifós 2 mg L^{-1} , pH 3, 90 minutos de reação.

Na Figura 23 pode-se observar o monitoramento das concentrações de clorpirifós durante o tratamento para o sistema foto-Fenton.

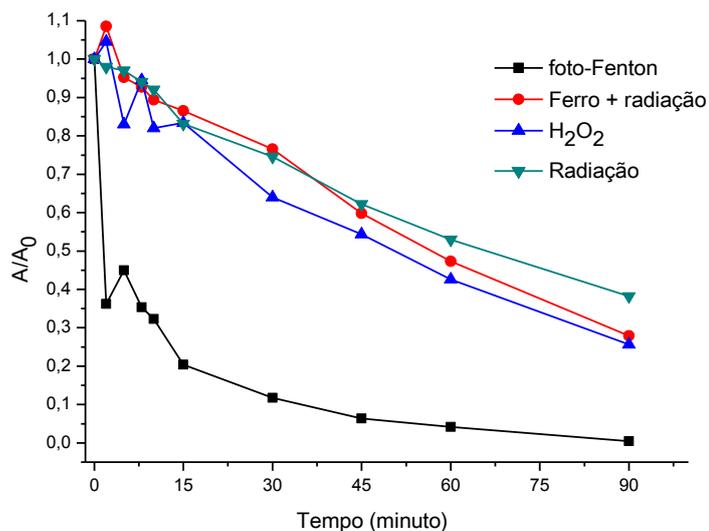


Figura 23: Comportamento da área cromatográfica do padrão de clorpirifós 2 mg L^{-1} para o sistema foto-Fenton (condições iniciais: 15 mg L^{-1} de Fe^{2+} , 50 mg L^{-1} de H_2O_2 e pH 3,0)

Fonte: Autoria própria.

A aplicação do sistema foto-Fenton propiciou uma redução de mais de 99% na área do clorpirifós e reduções de 62% para o sistema utilizando somente radiação artificial, 72% para o processo com ferro e radiação e 75% quando utilizado somente peróxido de hidrogênio e radiação (Figura 23).

Apesar de não atingir valores tão altos quanto do sistema foto-Fenton, os processos empregando radiação (Fe/UV, $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e somente UV) (Figura 23), mostram um forte efeito da fotólise proporcionada pela fonte de radiação utilizada. Tal fato pode ser explicado pelo espectro de absorção UV-Vis (Figura 7), onde é mostrado que o clorpirifós absorve acima dos 300 nm, faixa de radiação fornecida pelo sistema foto-Fenton.

O comportamento está de acordo com dados da literatura que mostram o clorpirifós como um composto foto-sensível (EC, 2005).

Na Figura 24 tem-se apresenta a evolução das concentrações de Fe^{2+} , Fe^{3+} e Fe_{total} (24A), consumo de H_2O_2 (24B) e concentração de polifenóis totais (24C) ao longo da reação de foto-Fenton.

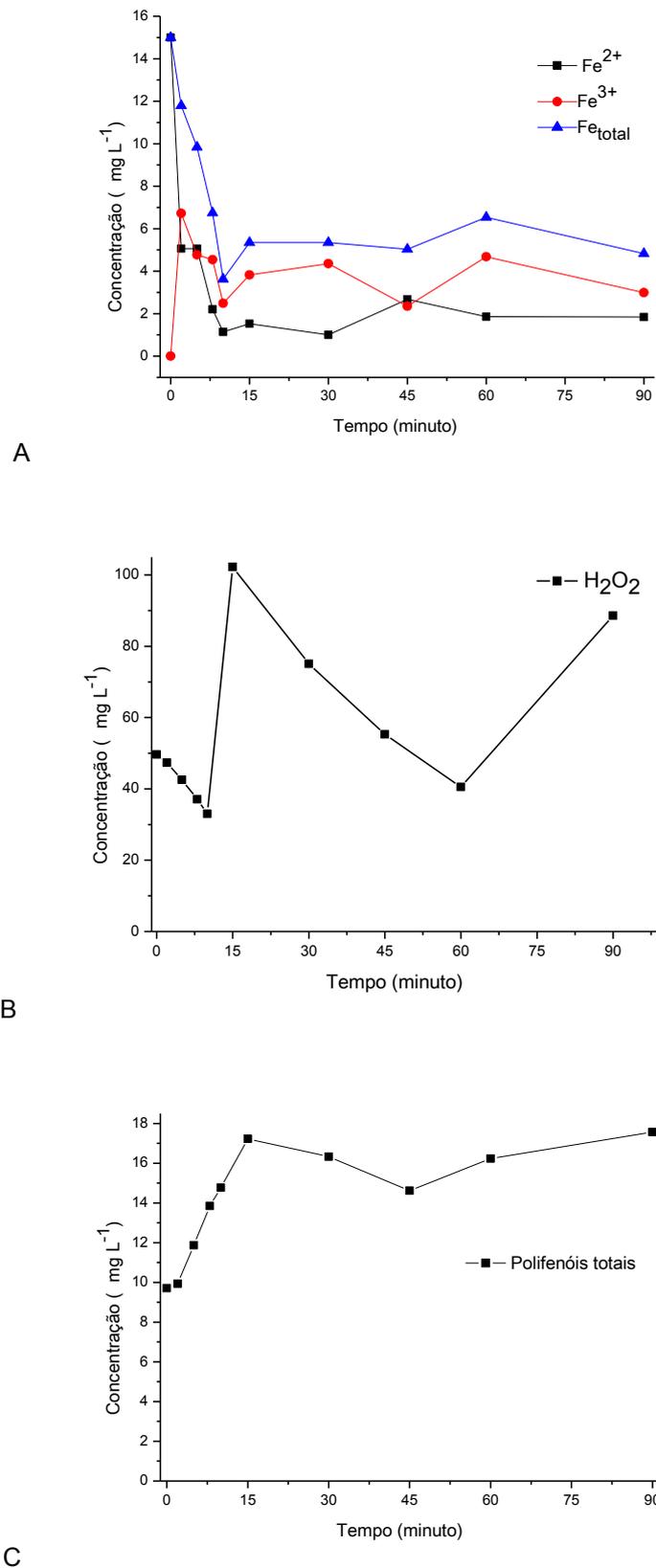


Figura 24: Evolução das formas de ferro (A), consumo de peróxido de hidrogênio (B) e concentração de polifenóis totais (C) no sistema foto-Fenton

Fonte: Autoria própria.

A Figura 24 (A) mostra que grande parte dos íons ferrosos são oxidados à íons férricos nos primeiros 10 minutos de reação, período em que há um moderado consumo de peróxido de hidrogênio (B) e rápida formação de grande quantidade de equivalentes de compostos fenólicos (C).

Devido a esses resultados, e sabendo que as reações de foto-Fenton são caracterizadas por um rápido consumo inicial de H_2O_2 , foram realizadas duas reinjeções (50 mg L^{-1}) de peróxido de hidrogênio na solução, em 10 e 60 minutos. Com isso também buscou-se criar condições para a regeneração das formas ferrosas com conseqüente geração de maiores quantidades de radical hidroxila, permitindo tratar os compostos fenólicos gerados.

Após as reinjeções observou-se uma contínua degradação do clorpirifós, com tendência de estabilidade na concentração de compostos fenólicos, e um aumento na concentração de substâncias férricas e ferrosas.

Assim como no sistema Fenton, a concentração de Fe_{total} decresce durante todo o processo, e esse comportamento pode ser atribuído à formação de complexos de cianeto e de ácidos carboxílicos de cadeias curtas (MALATO, *et al.*, 2009; SCHNEIDER, 2009). Estima-se que os cianocomplexos férrico e ferroso, com constantes de estabilidade de 43,9 e 36,9, respectivamente, sejam estáveis mesmo em altas temperaturas e baixo pH (SILVA, 2005).

Devido ao aumento na concentração de peróxido após a primeira reinjeção foi observado um aumento na quantidade de Fe^{2+} e Fe^{3+} disponíveis em solução, possivelmente devido à reação do radical hidroxila com os complexos formados.

Dessa forma, após os 90 minutos de reação o processo foto-Fenton propiciou uma degradação eficiente (acima de 99%) do pesticida clorpirifós, mas em relação aos compostos fenólicos gerados durante o processo, observou-se um aumento da ordem de 80% na sua concentração, chegando a quase 18 mg L^{-1} ao final do processo.

Acredita-se que tenha ocorrido reação dos radicais hidroxilas gerados com a ACN adicionada à solução, em detrimento da reação com os compostos fenólicos, uma vez que essa encontra-se em uma quantidade muito maior. Há também a possibilidade dos interferentes associados à análise de fenólicos, cianetos, sulfetos e Fe^{2+} , presentes na solução, terem aumentado a resposta.

A Resolução nº 357/2005 (CONAMA, 2005) estabelece como valor máximo

admitido em águas doces classe I, classe destinada ao abastecimento humano, $3 \mu\text{g L}^{-1}$ de fenóis totais. Sendo os valores obtidos nas degradações dos sistemas Fenton e foto-Fenton superiores ao permitido.

Compostos fenólicos estão associados à ecotoxicidade de corpos hídricos (SANTOS, 2009). No entanto, para este trabalho não foram realizados testes de ecotoxicidade para a avaliação da redução ou aumento da ecotoxicidade após o tratamento.

Por fim, na Figura 25 tem-se a sobreposição dos cromatogramas obtidos durante o tratamento pelo sistema foto-Fenton, com a concentração inicial de 2 mg L^{-1} de clorpirifós, representado pelo tempo zero (t_0).

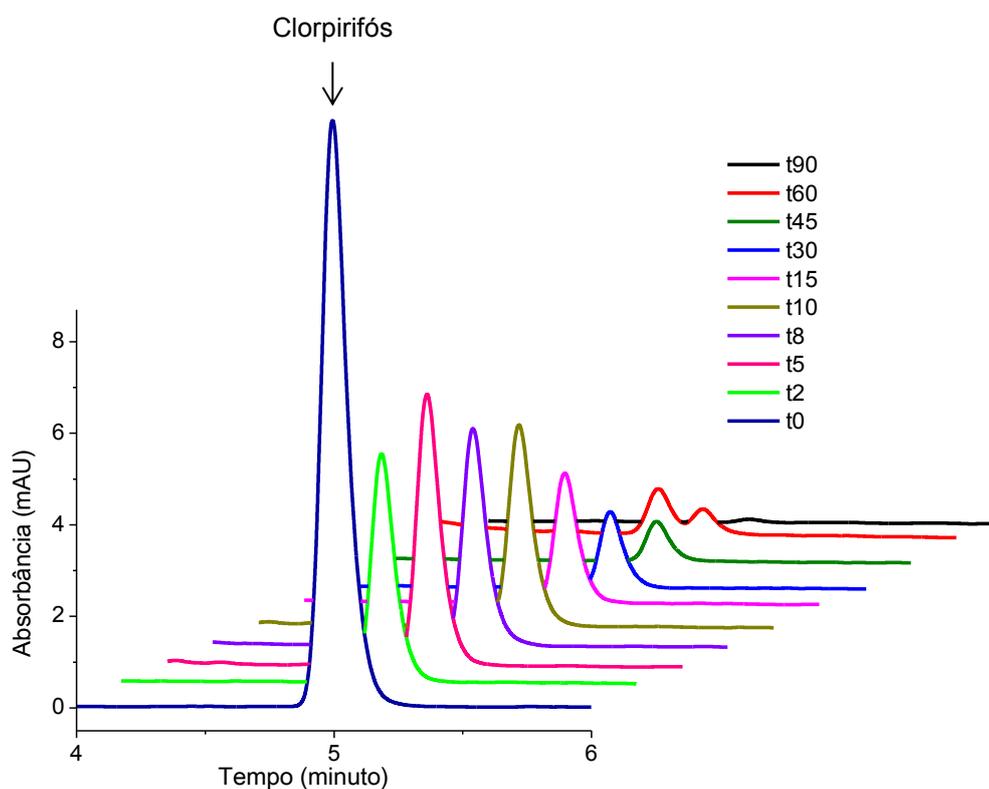


Figura 25: Cromatogramas do padrão de clorpirifós nos tempos 0, 2, 5, 8, 10, 15, 30, 45, 60 e 90 minutos no sistema foto-Fenton (concentração inicial do clorpirifós: 2 mg L^{-1} ; condições iniciais: 15 mg L^{-1} de Fe^{2+} , 50 mg L^{-1} de H_2O_2 e pH 3,0)

Fonte: Autoria própria.

Para o sistema foto-Fenton, é possível observar a formação de um segundo pico, com um tempo de reação de 60 minutos, que apresenta um tempo de retenção menor que o clorpirifós. Ele já não é observado no próximo ponto (90 minutos), indi-

cando a sua eliminação da solução submetida ao tratamento. Esse pico secundário pode estar relacionado à formação de algum produto de degradação do clorpirifós. No entanto, não foi possível aprofundar os estudos para a confirmação dessa hipótese.

Comparando-se ambos os processos pode-se afirmar que o sistema foto-Fenton apresentou melhor desempenho na degradação do padrão de clorpirifós quando comparado ao sistema Fenton. Foi observada uma redução na área cromatográfica superior à 99% frente à cerca de 10% do sistema Fenton.

6 CONCLUSÃO

A metodologia implementada para a detecção por HPLC-DAD, permitiu uma rápida análise do composto e determinação em três diferentes comprimentos de onda, 200, 230 e 290 nm, atingindo limites de quantificação que permitiram seu efetivo monitoramento durante o processo.

Destaque é dado para a baixa solubilidade do composto em água, sendo necessária a adição de solvente orgânico para sua solubilização. No entanto, tal acréscimo pode ter prejudicado a eficiência dos processos Fenton pela perda de ferro na forma de complexos.

Foi evidenciado a capacidade do sistema foto-Fenton na remediação de soluções aquosas contendo padrão do pesticida clorpirifós operando sob condições otimizadas (15 mg L^{-1} de Fe^{2+} e 50 mg L^{-1} de H_2O_2), atingindo uma degradação acima de 99%. No entanto, a mesma eficiência não foi atingida para o processo Fenton, com degradação de cerca de 10%.

Entretanto, apesar da eficiência do processo foto-Fenton, pode ser observado um aumento na quantidade equivalente de compostos fenólicos, os quais podem levar a um aumento na toxicidade dos compostos gerados devendo ser analisado mais atentamente em etapas futuras.

7 ETAPAS FUTURAS

Acompanhamento das degradações do padrão de clorpirifós, comportamento das formas de ferro, consumo de peróxido de hidrogênio e concentração de fenóis totais por períodos maiores que 90 minutos.

Avaliação das formas de ferro na presença de acetonitrila em solução aquosa.

Estudos ecotoxicológicos da solução padrão de clorpirifós antes, durante e após as degradações em tempos estendidos.

REFERÊNCIAS

- 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. **Agrotóxicos e Toxicologia – Monografia de Agrotóxicos**. 20---. Disponível em: <<http://s.anvisa.gov.br/wps/s/r/i>>. Acessado em nov. de 2014.
- _____. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) – Relatório de atividades de 2011 e 2012**. 2013. Disponível em: <portal.anvisa.gov.br>. Acesso em: out. 2014.
- _____. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Resolução RE nº 899. 2003.
- APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21st edition, American Public Health Association, Washington, D.C. 2005.
- ARQUES, A.; AMAT, A. M.; GÁRCIA-RIPOLL, A.; VICENTE, R. **Detoxification and/or increase of the biodegradability of aqueous solutions of dimethoate by means of solar photocatalysis**. *Journal of Hazardous Materials*, 146, p. 447-452, 2007.
- BAGAL, M. V.; GOGATE, P. R. **Wastewater treatment using hybrid treatment schemes based on cavitation and Fenton chemistry: A review**. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21, p. 1-14, 2014.
- BORTOLUZZI, E. C.; RHEINHEIMER, D. S.; GONÇALVES, C. S.; PELLEGRINI, J. B.R.; ZANELLA, R.; COPETTI, A. C.C. **Contaminação de águas superficiais por agrotóxicos em função do uso do solo numa microbacia hidrográfica de Agudo, RS**. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 10, n. 4, p. 881-887, 2006.
- CALDAS, E. D.; SOUZA, L. C. K. R. **Avaliação de risco crônico da ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira**. *Revista de Saude Pública*, 34, n. 5, p. 529-537, 2000.
- CHÁFER-PERICÁS, C.; CAMPÍNS-FALCÓ, P. PRIETO-BLANCO, M. C. **Automatic in-tube SPME and fast liquid chromatography: A cost-effective method for the estimation of dibutyl and di-2-ethylhexyl phthalates in environmental water samples**. *Analytica Chimica Acta*, 610, p. 268-273, 2008.
- CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. 2005.
- CORDEIRO, A. C. S.; LEITE, S. G. F.; DEZOTTI, M. **Inativação por oxidação fotocatalítica de *Escherichia coli* e *Pseudomonas* sp.** *Química Nova*, 27, n. 5, p. 689-694, 2004.

COUPE, R. H.; MANNING, M. A.; FOREMAN, W. T.; GOOLSBY, D. A.; MAJEWSKI, M. S. **Occurrence of pesticides in rain and air in urban and agricultural areas of Mississippi, April-September 1995.** *The Science of the Total Environment*, 248, p. 227-240, 2000.

DERBALAH, A. S.; NAKATANI, N.; SAKUGAWA, H. **Photocatalytic removal of fenitrothion in pure and natural waters by photo-Fenton reaction.** *Chemosphere*, 57, p. 635–644, 2004.

DURIGAN, M. A. C.; VAZ, S. R.; PERALTA-ZAMORA, P. **Degradação de poluentes emergentes por Processos Fenton e foto-Fenton.** *Química Nova*, 35, p. 1381–1387, 2012.

EPA – Environmental Protection Agency. About pesticides. 20---. Disponível em: <epa.gov/pesticides/about/index.htm>. Acessado em dez. de 2013.

ESPLUGAS, S.; GIMÉNEZ, J.; CONTRERAS, S.; PASCUAL, E.; RODRÍGUEZ, M. **Comparison of different advanced oxidation processes for phenol degradation.** *Water Research*, 36, p. 1034–1042, 2002.

EC – EUROPEAN COMMISSION, Health & Consumer Protection. **Report for the active substance chlorpyrifos**, 2005. Disponível em: <http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/existactive/list_chlorpyrifos.pdf>. Acesso em: ago. 2014.

FAN, C.; TSUI, L.; LIAO, M. **Parathion degradation and its intermediate formation by Fenton process in neutral environment.** *Chemosphere*, 82, p. 229–236, 2011.

FISPQ - Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico. DOW AgroSciences. 2012.

FLORES, A. V.; RIBEIRO, J. N.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, E. L. R. **Organoclorados: um problema de saúde pública.** *Ambiente & Sociedade*, 7, n. 2, p. 111-124, 2004.

HE, L.; LUO, X.; XIE, H.; WANG, C.; JIANG, X.; LU, K. **Ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction followed high-performance liquid chromatography for the determination of organophosphorus pesticides in water sample.** *Analytica Chimica Acta* 655, p. 52–59, 2009.

HÉRNÁNDEZ, F.; SERRANO, R.; PITARCH, E.; LÓPEZ, F. J. **Automated sample clean-up procedure for organophosphorus pesticides in several aquatic organisms using normal phase liquid chromatography.** *Analytica Chimica Acta*, 374, p. 215-229, 1998.

HU, C.; HE, M.; CHEN, B.; HU, B. **A sol-gel polydimethylsiloxane/ polythiophene coated stir bar sorptive extraction combined with gas chromatography-flame photometric detection for the determination of organophosphorus pesticides in environmental water samples.** *Journal of Chromatography A*, 1275, p. 25-31, 2013.

ICH. Conferência Internacional de Harmonização. **Harmonised Tripartite Guideline Text on Validation of Analytical Procedures**, 1995.

IPCS-INCHEM - International Programme on Chemical Safety. **Organophosphorus Insecticides: A general introduction**. Environmental Health Criteria. 20--. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc63.htm>>. Acesso em: dez. 2014.

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.

KOUREAS, M. TSAKALOF, A.; TSATSAKIS, A.; HADJICHRISTODOULOU, C. **Systematic review of biomonitoring studies to determine the association between exposure to organophosphorus and pyrethroid insecticides and human health outcomes**. Toxicology Letters, 210, p. 155– 168, 2012.

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.

LANÇAS, F. M. **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise**. 1ª Edição. São Carlos: Editora Rima, 2004.

LAPERTOT, M.; PULGARÍN, C.; FÉRNANDEZ-IBÁÑEZ, P.; MALDONADO, M. I.; PÉREZ-ESTRADA, L.; OLLER, I.; GERNJAK, W.; MALATO, S. **Enhancing biodegradability of priority substances (pesticides) by solar photo-Fenton**. Water Research, 40, p. 1086-1094, 2006.

LI, R.; YANG, C.; CHEN, H.; ZENG, G.; YU, G.; GUO, J. **Removal of triazophos pesticide from wastewater with Fenton reagent**. Journal of Hazardous Materials, 167, p. 1028-1032, 2009.

LIZ, M. V. **Estudo da potencialidade da fotocatalise heterogênea (TiO₂ 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.

MALATO, S.; FÉRNANDEZ-IBÁÑEZ, P.; MALDONADO, M. I.; BLANCO, J.; GERNJAK, W. **Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends**. Catalysis Today, 147, p. 1-59, 2009.

MARTIN, L. R.; EASTON, M. P.; FOSTER, J. W.; HILL, M. W. **Oxidation of hydroxymethanesulfonic acid by fenton's reagent.** Atmospheric Environment, 23, n. 3, p. 563-568, 1989.

MARTÍN, M. M. B.; PÉREZ, J. A. S.; LÓPEZ, J. L. C.; OLLER, I.; RODRÍGUEZ, S. M. **Degradation of a four-pesticide mixture by combined photo-Fenton and biological oxidation.** Water Research, 43, p. 653-660, 2009.

MOREIRA, F. C.; VILAR, V. J.P.; FERREIRA, A. C.C.; SANTOS, F. R.A.; DEZOTTI, M.; SOUZA, M.A.; GOLÇALVES, C.; BOAVENTURA, R. A.R. *et al.* **Treatment of a pesticide-containing wastewater using combined biological and solar-driven AOPs at pilot scale.** Chemical Engineering Journal, 209, p. 429-441, 2012.

MORI, M. N. **Descontaminação de embalagens de clorpirifós utilizando o processo de oxidação avançada por radiação ionizante.** 2006. 66f. Tese de Mestrado (Ciência na Área de Tecnologia Nuclear) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2006.

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

MURILLO, R.; SARASA, J.; LANAO, 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.

NEYENS, E.; BAEYENS, J. **A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique.** Journal of Hazardous Materials, B98, p. 33-50, 2003.

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

OLIVEIRA, M. C.; NOGUEIRA, R. F. P.; GOMES-NETO, J. A.; JARDIM, W. F.; ROHWEDDER, J. J. R. **Sistema de Injeção em fluxo espectrofotométrico para monitorar peróxido de hidrogênio em processo de fotodegradação por reação foto-Fenton.** Química Nova, 24, p. 188-190, 2001.

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.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. **Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos.** Química Nova, 27, p. 771-780, 2004.

RIBEIRO, M. L.; LOURENCETTI, C.; PEREIRA, S. Y.; MARCHI, M. R. R. **Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: avaliação preliminar.** Química Nova, 30, n. 3, p. 688-694, 2007.

RICE, L. G. **Rapid separation of pesticides by high-performance liquid chromatography with 3- μ m columns.** Journal of Chromatography, 317, p. 523-536, 1984.

SALVADOR, T.; JÚNIOR, L. H. M.; PERALTA-ZAMORA P. **Degradação de corantes têxteis e remediação de resíduos de tingimento por processos Fenton, foto-Fenton e eletro-Fenton.** Química Nova, 35, n. 5, p. 932-938, 2012.

SANTOS, E. R. **Caracterização química, microbiológica e toxicidade do lodo de esgoto da estação mangueira, Pernambuco, Brasil.** 2009. 69f. Dissertação de mestrado (Desenvolvimento de Processos Ambientais) – Universidade Católica de Pernambuco, Recife, 2009.

SCHNEIDER, I. L. **Modo alternativo de tratamento de efluentes com presença de cianeto.** 2009. 42f. Trabalho de Conclusão de Curso (Química Industrial) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

SILVA, I. L. A. **Monitoração de pesticidas em ambientes de intensa atividade agrícola na região do norte fluminense.** 2006. 43f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciamento em Química) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2006.

SILVA, R. S. **Determinação de cianocomplexos metálicos em correntes de refinaria por cromatografia de íons com supressão de condutividade.** 2005. 61f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2005.

SILVÉRIO, F. O.; SILVA, J. G. S.; AGUIAR, M. C. S.; CACIQUE, A. P.; PINHO, G. P. **Análise de agrotóxicos em água usando extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura por cromatografia líquida de alta eficiência.** Química Nova, 35, n. 10, p. 2052-2056, 2012.

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, L.; OHISHI, T.; AKANE, H.; SHIRAKI, A; ITAHASHI, M; MITSUMORI, K; SHIBUTANI, M. **Reversible effect of developmental exposure to chlorpyrifos on late-stage neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus in mouse offspring.** Reproductive Toxicology, 38, p. 25-36, 2013.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Specifications and evaluations for public health pesticides chlorpyrifos.** 2009. Disponível em: <http://www.who.int/whopes/quality/Chlorpyrifos_WHO_specs_eval_Mar_2009.pdf>. Acesso em: dez. 2014.

WU, C.; LINDEN, K. G. **Phototransformation of selected organophosphorus pesticides: Roles of hydroxyl and carbonate radicals.** *Water Research*, 44, p. 3585-3594, 2010.

ZHANG, W.; ASIRI, A. M.; LIU, D.; DU, D.; LIN, Y. **Nanomaterial-based biosensors for environmental and biological monitoring of organophosphorus pesticides and nerve agents.** *Trends in Analytical Chemistry*, 54, p. 1-10, 2014.

APÊNDICE A – Coeficientes de variação e exatidão para todas as concentrações testadas das curvas analíticas em 200, 230 e 290 nm de clorpirifós em HPLC-DAD

Coeficiente de variação e exatidão para 200 nm

Concentração preparada (mg L ⁻¹)	Concentração estimada pela curva (mg L ⁻¹)	Coeficiente de variação (%)	Exatidão (%)
0,010	0,010002	6,04	100,02
0,025	0,025992	18,53	103,97
0,050	0,048578	8,47	97,16
0,10	0,103667	13,71	103,67
0,20	0,206371	9,82	103,19
0,30	0,309288	9,61	103,10
0,40	0,416191	9,68	104,05
0,50	0,493557	3,55	98,71
0,60	0,605015	7,36	100,84
0,80	0,824942	11,66	103,12
1,0	1,004514	8,09	100,45
2,0	2,02052	10,11	101,03
3,0	3,041082	6,73	101,37
4,0	4,102497	9,12	102,56
5,0	5,152809	8,96	103,06

Coeficiente de variação e exatidão para 230 nm

Concentração preparada (mg L ⁻¹)	Concentração estimada pela curva (mg L ⁻¹)	Coeficiente de variação (%)	Exatidão (%)
0,010	0,010000	0,00	100,00
0,025	0,024699	4,95	98,79
0,050	0,049485	4,40	98,97
0,10	0,103164	16,24	103,16
0,20	0,206487	12,53	103,24
0,30	0,313918	11,19	104,64
0,40	0,423293	10,69	105,82
0,50	0,491888	5,55	98,38
0,60	0,611567	9,22	101,93
0,80	0,782059	11,82	97,76
1,0	1,003881	3,79	100,39
2,0	1,978499	10,68	98,92
3,0	2,990512	7,54	99,68
4,0	3,989352	8,54	99,73
5,0	5,041098	9,55	100,82

Coefficiente de variação e exatidão para 290 nm

Concentração preparada (mg L ⁻¹)	Concentração estimada pela curva (mg L ⁻¹)	Coefficiente de variação (%)	Exatidão (%)
0,010	0,010000	0,00	100,00
0,025	0,025520	11,21	102,08
0,050	0,049461	11,24	98,92
0,10	0,100231	8,86	100,23
0,20	0,203424	10,61	101,71
0,30	0,307854	9,65	102,62
0,40	0,398664	8,50	99,67
0,50	0,488647	6,58	97,73
0,60	0,604636	7,47	100,77
0,80	0,808700	10,63	101,09
1,0	0,993112	7,71	99,31
2,0	2,001502	10,15	100,08
3,0	2,994490	7,19	99,82
4,0	3,987883	7,92	99,70
5,0	5,042882	9,17	100,86