

DEGRADAÇÃO DA ATRAZINA PELO PROCESSO UV/H₂O₂ E OZÔNIO,
IDENTIFICAÇÃO DOS INTERMEDIÁRIOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ESTROGÊNICA

Samanta Vieira Pereira

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia Química.

Orientador: Márcia Walquíria de Carvalho
Dezotti
Carmen Sans Mazon

Rio de Janeiro
Fevereiro de 2011

DEGRADAÇÃO DA ATRAZINA PELO PROCESSO UV/H₂O₂ E OZÔNIO,
IDENTIFICAÇÃO DOS INTERMEDIÁRIOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ESTROGÊNICA

Samanta Vieira Pereira

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO LUIZ
COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA (COPPE) DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM
CIÊNCIAS EM ENGENHARIA QUÍMICA.

Examinada por:

Prof^a. Márcia Walquíria de Carvalho Dezotti, D.Sc.

Prof. Tito Livio Moitinho Alves, D.Sc.

Prof. Renato Sanches Freire, D.Sc.

Prof^a. Juacyara Carbonelli Campos, D.Sc.

Prof. Luiz Alberto Cesar Teixeira, Ph.D.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

FEVEREIRO DE 2011

Pereira, Samanta Vieira

Degradação da Atrazina pelo Processo UV/H₂O₂ e Ozônio, Identificação dos Intermediários e Avaliação da Atividade Estrogênica/ Samanta Vieira Pereira. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2011.

XVI, 168 p.: il.; 29,7 cm.

Orientador: Márcia Walquíria de Carvalho Dezotti
Carmen Sans Mazon

Tese (doutorado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Química, 2011.

Referências Bibliográficas: p. 145-161.

1. Atrazina. 2. Processos Oxidativos Avançados. 3. Efluentes. 4. Atividade Estrogênica. I. Dezotti, Márcia Walquíria de Carvalho *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Química. III. Título.

“Você precisa fazer aquilo que pensa que não é capaz de fazer.

A melhor maneira de prever o futuro é inventá-lo. Nada de grande se cria de repente.

O importante é isso: Estar pronto para, a qualquer momento, sacrificar o que somos pelo que poderíamos vir a ser.

“O futuro pertence àqueles que acreditam na beleza de seus sonhos.”

Eleanor Roosevelt

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos que se fizeram presentes nesse período tão importante da minha vida. Agradecer pela força, pelas palavras, pelo afago, pelo ombro amigo, pela distração, pelos ensinamentos, pelos sorrisos, pelas lágrimas enfim, pelo apoio e carinho de todos que me ajudaram a persistir e atingir mais um sonho. Levo comigo ensinamentos não só acadêmicos mas lições de vida que aprendi pelos lugares onde passei e com todos que conheci. Agradecer na verdade é reconhecer que sozinhos não somos capazes de ir a lugar nenhum.

Agradeço a Deus que ilumina e guia meus passos, meu caminho, dia a dia me reerguendo sempre que preciso e dando força e alegria para continuar lutando por todos meus objetivos por maiores que sejam os obstáculos. Aquele que ensinou que crer e trabalhar, esforçar-se no bem, lutar e ter fé compensa e traz bons frutos.

A professora Marcia Dezotti, pela ajuda em todos os momentos, tanto pessoais quanto profissionais, pela sua amizade, seu tempo doado com dedicação, pelas oportunidades, por seu cuidado e principalmente pela confiança durante a realização desse trabalho. A professora Carmen Sans e ao professor Santiago Esplugas, pela acolhida, pelos ensinamentos, pela amizade e apoio em todo tempo que estive em Barcelona.

Meus sinceros agradecimentos.

Aos meus amigos do LabPol, Amanda, Bárbara, Bianca, Bruno, Cláudia, Claudinei, Elis, Felipe, Isabelli, João Paulo, Luciana, Milene, Rafael e Thiago, aos técnicos do laboratório, Antônio, Bruna, Elisângela e Lívia, à secretária Marcela, por estarem comigo nos momentos difíceis e nos momentos de descontração, pela palavra amiga, pela ajuda nos experimentos, pelo incentivo e por fazerem parte de uma fase importante na minha vida, por formarmos a família LabPol. Gostaria de agradecer em especial ao meu amigo de tempos, coisinha – Gustavo, que foi um dos grandes incentivadores para que eu realizasse meu doutorado na COPPE, me acolheu, apoiou, me trouxe para o Rio e principalmente ensinou a todos nós uma grande lição de vida, perseverança e dedicação ao trabalho, amigos e a família. Gostaria também de registrar

meu imenso afeto por toda família Krause, “esse trabalho é de vocês também, com muito carinho”.

Ao meu amigo e companheiro de laboratório em Barcelona Renato, sem ele tudo seria mais difícil, sempre incansável e disposto a ajudar na realização do trabalho, paper e congressos, não tenho palavras para agradecer todo apoio e amizade. Aos amigos da UB, Bea, Ana, Marc, Oscar, María del Mar, Ángel, Carlos, Marta, Bruno D., Ywann, Roger, Sergi, Silvia, Eliana, Albert e Blaia, pessoas incríveis que tive a felicidade de conhecer e compartilhar um precioso tempo de aprendizado e de vida.

Ao “meu Gui”, que esteve presente com paciência, me apoiando, incentivando e encorajando sempre com muito carinho e compreensão, acreditando no meu sucesso, me proporcionando momentos de alegria, sorrisos, felicidade e amor quando mais precisei. És um exemplo de luta e dedicação aos estudos e carreira, tenho orgulho de estar ao teu lado e compartilhar todos esses momentos com uma pessoa tão especial.

Agradeço as minhas amigas “de sempre e para sempre”, que compartilharam um tempo feliz das nossas vidas, Ive, Luana, Sophie, Alice e Isabelli. Obrigada por estarem comigo quando mais precisei, sendo minha família aqui no Rio, dividindo não só a casa como todos os sentimentos e as dificuldades de estar longe da família. Aos meus amigos do Sul e do Rio, vocês compartilharam todos os momentos, me dando força e apoio obrigado por fazer parte da minha vida.

Agradeço imensamente a minha família, a base de tudo, minha sustentação, minha inspiração, meu desejo de que tudo de certo. A meus pais, Neida e Carlos, se não fosse eles que me deram todo amor, carinho, dedicação, que me ensinaram a nunca desistir, acreditar e que lutaram pela minha educação desde sempre, com todo sacrifício e vontade de que eu tivesse um futuro melhor, sem eles esse trabalho não teria sido concluído. Mãe, pai e família fizeram das suas vidas a minha, minhas dificuldades as suas, minha felicidade, tenho certeza, também é a de vocês. Ainda que viva infinitas vidas jamais conseguirei agradecer e retribuir tudo que fizeram por mim. A vocês dedico este trabalho com todo meu amor.

Aos professores Leda e Tito, pela participação nas bancas de seminário de acompanhamento, obrigada pelas orientações oportunas durante os seminários.

Aos funcionários da secretaria e do prédio anexo da COPPE.

A CAPES e CNPq, obrigada pelo apoio financeiro.

Aos membros da minha banca, professores Tito, Renato, Juacyara e Luiz Alberto obrigada pela disponibilidade e por todas as contribuições apresentadas.

Resumo da Tese apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (D.Sc.)

DEGRADAÇÃO DA ATRAZINA PELO PROCESSO UV/ H₂O₂ E OZÔNIO,
IDENTIFICAÇÃO DOS INTERMEDIÁRIOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ESTROGÊNICA

Samanta Vieira Pereira

Fevereiro/2011

Orientador: Márcia Walquíria de Carvalho Dezotti
Carmen Sans Mazon

Programa: Engenharia Química

Os micropoluentes são encontrados na água em baixas concentrações e, mesmo assim, podem ser considerados nocivos devido a sua biomagnificação, bioacumulação e efeitos biológicos. Os herbicidas triazínicos estão entre os pesticidas mais utilizados no mundo. O principal composto desta família é a atrazina (ATZ), encontrada em vários compartimentos ambientais, contaminando solo e fontes de água. A ATZ está incluída na lista de poluentes prioritários da União Européia. A Terbutilazina (TBZ), é usada como um substituto para ATZ em vários países da Europa. Foi estudada a degradação da ATZ e TBZ por ozonização e UV/H₂O₂ em diferentes concentrações e matrizes e avaliou-se a atividade estrogênica. Para água ultrapura (20 mgATZ/L) obteve-se uma remoção superior a 95% para ambos processos. Para concentrações de com 0,5 e 20 mgATZ/L em água ultrapura e UV/H₂O₂ a remoção foi superior a 98%. O estudo cinético da ozonização (20 mgATZ/L) mostrou a importante contribuição dos radicais OH (43,86%) na degradação da ATZ em água ultrapura, já em efluente a contribuição do ozônio molecular foi 61,43%. Os resultados mostraram que os tratamentos são apropriados para remover ATZ e que os intermediários formados pela ozonização provavelmente possuem atividade estrogênica.

Abstract of Thesis presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D.Sc.)

DEGRADATION OF THE ATRAZINE FOR THE UV/H₂O₂ AND OZONATION
PROCESS, IDENTIFICATION OF THE INTERMEDIATE AND EVALUATION OF
ESTROGENIC ACTIVITY

Samanta Vieira Pereira

February/2011

Advisor: Márcia Walquíria de Carvalho Dezotti

Carmen Sans Mazon

Department: Chemical Engineering

The micropollutants are found in the water in very low concentrations and they can be considered harmful due its biomagnification, bioaccumulation and biological effects. The atrazine (ATZ) was included in the list of priority pollutants of Union European and belong the herbicide class more extensively used. ATZ can be easily found in the environment, especially in soil and waters sources. The terbutilazine (TBZ) is considered a substitute of the ATZ in some countries of Europe. The degradation of both compounds, ATZ and TBZ, was performed using two oxidative processes, ozonation and UV/H₂O₂, in different matrices and concentrations. In addition, the ATZ estrogenic activity was evaluated. The ATZ degradation in ultrapure water (20 mgATZ/L) reached an excellent removal, higher than 95%, for both processes. The ATZ degradation ($[ATZ]_0 = 0.5$ and 20 mg/L) in ultrapure water by UV/H₂O₂ reached an excellent removal higher than 98%. The kinetic study for ozone degradation in ultrapure water showed a important contribution of the radicals OH (43.86%), in the other hand, the molecular ozone contribution in degradation of ATZ in secondary effluent was 61.43%. The results obtained in this study showed that the treatments used are appropriate to remove ATZ and also that the intermediate formed during ozonation probably are estrogens.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
2.1. Pesticidas.....	6
2.1.1. Uso de Pesticidas.....	6
2.1.2. Histórico do Uso de Pesticidas no Mundo.....	11
2.1.3. Classificação dos Pesticidas.....	12
2.1.4. Contaminação do Solo e da Água por Pesticidas.....	13
2.1.5. Danos à Saúde e Toxicidade.....	15
2.2. Desreguladores Endócrinos.....	17
2.2.1. Definição de Desreguladores Endócrinos.....	17
2.2.2. Substâncias Consideradas DE e Seus Efeitos.....	19
2.2.3. Mecanismo de Ação.....	21
2.2.4. Atividade Estrogênica.....	22
2.2.5. Pesticidas Classificados como Desreguladores Endócrinos.....	24
2.3. Atrazina.....	29
2.3.1. Características da Atrazina.....	32
2.3.2. Ocorrência da Atrazina e Legislação.....	34
2.3.3. Toxicidade da Atrazina.....	40
2.4. Processos Oxidativos Avançados.....	43
2.4.1. Processo UV/H ₂ O ₂	50
2.4.2. Ozonização.....	53
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	60
3.1. Materiais.....	60
3.1.1. Preparo das Soluções.....	61
3.2. Metodologia Analítica.....	62
3.2.1. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC).....	62
3.2.2. Teor de Carbono Orgânico Total.....	62
3.2.3. Identificação Intermediários.....	63
3.3. Metodologia Experimental.....	63

3.3.1.	Unidade Experimental 1 – Laboratório de Processos Oxidativos Avançados – Universidade de Barcelona (UB).....	64
3.3.2.	Unidade Experimental 2 – Laboratório de Controle de Poluição das Águas (LabPol) – Universidade Federal do Rio de Janeiro	78
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	85
4.1.	Características do Efluente Secundário	87
4.2.	Determinação e Quantificação do Pesticida	88
4.2.1.	Extração em Fase Sólida.....	88
4.2.2.	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC).....	89
4.3	Processo de Ozonização da Atrazina	92
4.3.1	Espectrometria de UV para Ozonização.....	95
4.3.2	Ozonização da Atrazina em Efluente Secundário	97
4.3.3	Cinética da Reação de Ozonização.....	100
4.3.4	Ozonização da Atrazina em Baixa Concentração.....	104
4.3.5	Intermediários Formados Durante a Ozonização	106
4.3.6	Teste YES	115
4.3.7	Ensaio de Toxicidade por Bioluminescência (Microtox®).....	120
4.4	Processo UV/ H ₂ O ₂	121
4.4.1	Espectrometria de UV para UV/H ₂ O ₂	127
4.4.2	Cinética do Processo UV/H ₂ O ₂	130
4.5	Degradação da Atrazina em Efluente Secundário	132
4.5.1	Cinética do Processo UV e UV/H ₂ O ₂ para Efluente Secundário	136
4.6	UV/H ₂ O ₂ da Atrazina e Terbutilazina em Baixa Concentração	138
5.	CONCLUSÕES E SUGESTÕES	142
5.4	Conclusões	142
5.5	Sugestões	144
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	145

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Efeitos dos pesticidas na reprodução feminina. Fonte: BRETVELD <i>et al.</i> (2006).	28
Figura 2.2 Estrutura Química da Atrazina.....	29
Figura 2.3 Estrutura Química da Terbutilazina	30
Figura 3.1 Fluxograma simplificado do roteiro utilizado na realização dos experimentos para unidade experimental 1.....	65
Figura 3.2 Esquema simplificado da metodologia utilizada nos experimentos com concentração inicial de 20 mg/L de atrazina.	66
Figura 3.3 Esquema simplificado da metodologia utilizada nos experimentos com concentração inicial de 0,5 mg/L de atrazina.	67
Figura 3.4 Esquema da unidade de UV/H ₂ O ₂	70
Figura 3.5 Reator utilizado para as reações de UV/H ₂ O ₂	71
Figura 3.6 Foto do sistema utilizado para EFS.....	72
Figura 3.7 Reator utilizado na Ozonização (A), Sonda (B) e Analisadores de ozônio de entrada e saída (C).	73
Figura 3.8 Unidade experimental de ozonização (acima) e esquema (abaixo)	75
Figura 3.9 Fluxograma simplificado da metodologia utilizada na unidade experimental 2.	78
Figura 3.10 Fluxograma simplificado da metodologia utilizada para ozonização.	79
Figura 3.11 Unidade de Ozonização para Baixas Concentrações.	80
Figura 4.1 Exemplo de cromatograma obtido para o pesticida atrazina em solução preparada com água ultrapura. Condições: 60%(v/v) acetonitrila e 40%(v/v) água, injeção= 20 µL, fluxo= 1 mL/min e λ= 220 nm.	90
Figura 4.2 Curvas padrão obtidas a partir das injeções dos pesticidas atrazina (A) UB (B) UFRJ e terbutilazina (C) UB e (D) UFRJ realizadas por HPLC.....	91

Figura 4.3 Ozonização da atrazina em diferentes valores de pH. $[ATZ]_0 = 20$ mg/L, $[O_3]_0 = 8,7$ mg/L e pH livre (~6).	92
Figura 4.4 Evolução da concentração relativa da ATZ em função da dosagem de ozônio aplicada. $[ATZ]_0 = 20$ mg/L e pH livre (~6).	94
Figura 4.5 Evolução da concentração relativa do carbono orgânico total em função do tempo de ozonização. $[ATZ]_0 = 20$ mg/L, $[O_3]_0 = 8,7$ mg/L e pH livre (~6).	95
Figura 4.6 Espectros de absorvância das amostras aquosas de atrazina ozonizadas em diferentes tempos. $[ATZ]_0 = 20$ mg/L, pH livre (~6) e $[O_3]_0 = 8,7$ mg/L.	96
Figura 4.7 Remoção da ATZ em efluente secundário em função da dosagem de ozônio aplicada. $[ATZ]_0 = 20$ mg/L e pH livre (~8).	98
Figura 4.8 Remoção do COT durante a ozonização da atrazina em efluente secundário em função da dosagem de ozônio. $[ATZ]_0 = 20$ mg/L e pH livre (~8).	99
Figura 4.9 Constantes da taxa de reação para a ozonização da ATZ em água ultrapura (●) K_{tot} e (■) K_{mol} . $[ATZ]_0 = 20$ mg/L, pH = 7,9 e $[O_3]_0 = 8,7$ mg/L.	101
Figura 4.10 Constantes da taxa de reação de pseudo primeira ordem para a ozonização da ATZ em efluente secundário (●) K_{tot} e (■) K_{mol} . $[ATZ]_0 = 20$ mg/L, pH = 7,9 e $[O_3]_0 = 8,7$ mg/L.	102
Figura 4.11 Constantes cinéticas para as contribuições individuais, reação via ozônio molecular (k_{mol}) ou reação via radical (k_{rad}), e constante de reação total (k_{tot}) para o processo de ozonização da ATZ em água ultrapura e em efluente secundário. $[ATZ]_0 = 20$ mg/L, pH ~7,9 e $[O_3]_0 = 8,7$ mg/L.	103
Figura 4.12 Remoção da atrazina em água ultrapura em função da dosagem de ozônio aplicada $[ATZ]_0 = 0,5$ mg/L, $[O_3]_0 = 4$ mg/L e pH livre (~7).	105
Figura 4.13 Cromatogramas obtidos para ozonização da atrazina (A) antes da reação, (B) 1 min, (C) 2 min, (D) 3 min, (E) 4 min e (F) 5 min de ozonização. $[ATZ]_0 = 0,5$ mg/L, $[O_3]_0 = 4$ mg/L e pH livre (~7).	108
Figura 4.14 Degradação da atrazina e formação dos produtos de degradação por radicais OH e por ozônio. Linhas contínuas: reações com ozônio molecular; Linhas tracejadas: Reações com radicais OH. Adaptado de ACERO <i>et al.</i> (2000).	112

Figura 4.15 Estrutura molecular dos pesticidas atrazina (ATZ) e terbutilazina (TBZ).	116
Figura 4.16 (A) Ensaio YES das soluções com consumo de 0,004 gO ₃ /L (A e C) e com 0,008 gO ₃ /L (E e G). As fileiras B, D, F, H são brancos. (B) 0,012 gO ₃ /L (A e C) e 0,016 gO ₃ /L (E e G). As fileiras B, D, F, H são brancos. (C) 0,02 gO ₃ /L (A e C) e curva padrão do 17-β estradiol (E e G). As fileiras B, D, F, H são brancos. [ATZ] ₀ = 0,5 mg/L em água ultrapura e pH livre (~7).	117
Figura 4.17 Evolução da relação de concentração da ATZ em função da energia acumulada via reação UV/H ₂ O ₂ . (x) UV, (Δ) pH11, (○) pH livre (~7,9), (□) pH7, (◇) pH3, [ATZ] ₀ =20 mg/L e [H ₂ O ₂] ₀ =50 mg/L.	123
Figura 4.18 (A) Evolução da relação de concentração da ATZ com o tempo via reação UV/H ₂ O ₂ . (B) Evolução da concentração do COT durante o processo UV/ H ₂ O ₂ . (x) UV (Δ) pH11, (○) pH livre (~7,9), (□) pH7, (◇) pH3, [ATZ] ₀ =20mg/L e [H ₂ O ₂]=50 mg/L.	124
Figura 4.19 Concentração de H ₂ O ₂ em função da energia fornecida ao sistema no processo UV/H ₂ O ₂ em diferentes valores de pH. (◇) pH3, (○) pH livre (~7,9), (□) pH7, (Δ) pH11, [ATZ] ₀ = 20 mg/L e [H ₂ O ₂] ₀ = 50 mg/L.	125
Figura 4.20 Espectros de absorvância das amostras de atrazina após o processo UV/H ₂ O ₂ em diferentes tempos de reação. [ATZ] ₀ = 20 mg/L, pH livre (~7,9) e [H ₂ O ₂] ₀ = 50 mg/L.	128
Figura 4.21 Espectro UV–vis para atrazina e seus produtos de degradação formados durante a irradiação por UV. Adaptado de CHEN <i>et al.</i> (2009).	129
Figura 4.22 Constante da taxa de reação de pseudo primeira ordem para a degradação da ATZ pelo processo UV/H ₂ O ₂ (A) e para radiação UV (B) para ATZ em água ultrapura. [ATZ] ₀ = 20 mg/L, [H ₂ O ₂] ₀ = 50 mg/L e pH livre (~7,9).	131
Figura 4.23 Evolução da relação de concentração da ATZ com o tempo de radiação (A) e versus Energia Acumulada (B) em efluente secundário para o tratamento via radiação UV e via UV/H ₂ O ₂ . [ATZ] ₀ = 20 mg/L [H ₂ O ₂]=50 mg/L e pH livre (~8).	133

Figura 4.24	Concentração de COT versus tempo de radiação (A) e versus energia acumulada (B) para o tratamento via radiação UV e via UV/H ₂ O ₂ em efluente secundário. [ATZ] ₀ = 20 mg/L [H ₂ O ₂] ₀ =50 mg/L e pH livre (~8).	134
Figura 4.25	Evolução da relação da concentração de H ₂ O ₂ versus energia acumulada para o processo UV/H ₂ O ₂ . [ATZ] ₀ = 20 mg/L [H ₂ O ₂] ₀ = 50 mg/L e pH livre (~8).	135
Figura 4.26	Constante da taxa de reação de pseudo primeira ordem para a degradação da ATZ por UV/H ₂ O ₂ (A) e UV (B) em efluente secundário. [ATZ] ₀ = 20 mg/L, [H ₂ O ₂] ₀ =50 mg/L e pH livre (~8).	136
Figura 4.27	Constantes das taxas de reação de pseudo primeira ordem para a degradação da ATZ através da radiação UV e UV/H ₂ O ₂ em efluente secundário. [ATZ] ₀ = 20 mg/L [H ₂ O ₂] ₀ = 50 mg/L e pH livre (~8).	137
Figura 4.28	Evolução da concentração da ATZ em função da energia aplicada ao sistema (A) e versus tempo (B) para UV/H ₂ O ₂ (□) e Fotólise (◇). [ATZ] ₀ = 0,5 mg/L, [H ₂ O ₂] = 2 mg/L e pH livre (~8).	139
Figura 4.29	Evolução da concentração da TBZ em função da energia aplicada ao sistema (A) e versus tempo (B) para UV/H ₂ O ₂ (□) e Fotólise (◇) [TBZ] ₀ = 0,5 mg/L, [H ₂ O ₂] = 2 mg/L e pH livre (~8).	140
Figura 4.30	Evolução da concentração da TBZ em função da dose de ozônio (A) e da relação da concentração versus tempo (B). [TBZ] ₀ = 0,5 mg/L, [O ₃] ₀ = 4 mg/L e pH livre (~8).	141

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 Valor Máximo Permitido (VMP) em µg/L para pesticidas em água para consumo humano. Adaptado de FERNANDES NETO e SARCINELLI (2009).....	10
Tabela 2.2 Substâncias Consideradas Desreguladores Endócrinos. Adaptado de COLBORN <i>et al.</i> (1993) <i>apud</i> MEYER <i>et al.</i> (1999).....	25
Tabela 2.3 Pesticidas com Atividade DE e Mecanismos de Ação. Adaptado de MCKINLAY <i>et al.</i> (2007).....	27
Tabela 2.4 Parâmetros Físico-Químicos da Atrazina e Terbutilazina.....	33
Tabela 2.5 Trabalhos Encontrados na Literatura com a Ocorrência e Níveis de Pesticidas Triazínicos no Meio Ambiente.....	38
Tabela 2.6 Potenciais de oxidação de alguns oxidantes. Adaptado de Beltrán <i>et al.</i> 1997.....	44
Tabela 2.7 Trabalhos Utilizando Processos Oxidativos Avançados na Degradação de Pesticidas.....	45
Tabela 4.1 Características do Efluente Secundário.....	87
Tabela 4.2 Recuperação da atrazina para o procedimento de extração em fase sólida.....	89
Tabela 4.3 Intermediários Propostos para Ozonização da Atrazina em Baixa Concentração.....	109
Tabela 4.4 Estrutura química da atrazina e de seus principais produtos de degradação. Adaptado de ACERO <i>et al.</i> (2000).....	113
Tabela 4.5 Equivalentes de 17β-estradiol para as soluções de ATZ ozonizadas.	118
Tabela 4.6 Equivalentes de 17β-estradiol para as soluções de TBZ ozonizadas.....	119

1. INTRODUÇÃO

Nos dias atuais há uma crescente preocupação com a qualidade ambiental devido ao aumento da produção de compostos sintéticos, muitas vezes tóxicos, e que são introduzidos no meio ambiente por meio de descarte de resíduos industriais, derramamentos ambientais e aplicação de pesticidas. Existem diversas outras possíveis rotas da entrada de substâncias sintéticas no meio ambiente que podem ocorrer durante sua produção, utilização (até mesmo por produtos de uso pessoal) e disposição. Muitas destas substâncias são lançadas no mercado consumidor, doméstico ou industrial, sem conhecimento prévio de seus impactos ambientais de médio e longo prazo.

A contaminação das águas, por esses poluentes, vem sendo alvo de estudo por pesquisadores em todas as partes do mundo devido à sua escassez agravada pela má gestão dos recursos hídricos. Embora o Brasil seja privilegiado por possuir em seu território as mais extensas bacias hidrográficas do mundo a maioria delas encontra-se muito distante dos centros populacionais. Além disso, a água é amplamente utilizada como insumo em muitos processos industriais e cada vez mais ameaçada pela falta de controle dessas atividades e deficiência no tratamento e disposição dos seus efluentes e resíduos acarretando uma séria degradação da sua qualidade.

Sabe-se que muitos desses efluentes contêm substâncias químicas orgânicas tóxicas, cuja resistência à biodegradação favorece a sua permanência por longos períodos de tempo no meio ambiente. Essas substâncias são denominadas poluentes orgânicos persistentes (POPs) e são responsáveis por fenômenos como a biomagnificação na cadeia alimentar. Muitas dessas substâncias estão presentes em baixíssimas concentrações, na ordem de $\mu\text{g/L}$ e ng/L , são os chamados micropoluentes. A preocupação com esses compostos vem aumentando nos últimos anos pois percebeu-se que muitos deles tem uma ação tóxica mais acentuada quando estão presentes nessas concentrações.

Os pesticidas podem ser considerados POPs devido à sua reconhecida persistência no meio ambiente. Alguns pesticidas são, também, considerados

desreguladores endócrinos, pois são suspeitos de causarem efeitos adversos no sistema reprodutivo de humanos e animais, mesmo em baixas concentrações.

Recentemente muitos estudos vêm sendo realizados devido a presença dos pesticidas no meio ambiente, tanto no solo, ar e principalmente na água. Sabe-se que as atividades humanas, sejam industriais, serviços, lazer ou agrícolas, consomem uma grande quantidade de água. Porém, de acordo com o Fundo Mundial para a Natureza (WWF, 1998), 69% da água de superfície e subterrânea é usada na agricultura, 23% na indústria e apenas 8% no uso doméstico. Portanto, a agricultura é responsável pela maior consumo de água no mundo. O enorme consumo pela agricultura é irreversível, pois embora muitos esforços para uma melhor utilização da água estejam sendo feitos, é fato que a agricultura intensiva e crescente, devido à demanda causada pelo crescimento populacional do planeta, afeta negativamente as reservas hídricas.

Portanto, além de utilizar uma grande quantidade de água, a agricultura também causa a contaminação dos corpos hídricos devido às grandes quantidades de pesticidas que são aplicadas para garantir boas colheitas. A intensa atividade agrícola no Brasil, por exemplo, necessita do uso de grandes quantidades de pesticidas bem como de nutrientes (fertilizantes), que proporcionam um aumento significativo na produtividade. Apesar do grande benefício que estas substâncias trazem, o seu uso intensivo tem um papel fundamental na contaminação ambiental tanto dos solos quanto das águas, superficiais e subterrâneas. Além disso, os pesticidas carregam o risco inerente de toxicidade para inúmeros organismos do meio aquático e do solo. Outro problema é que resíduos dos pesticidas podem ficar nos alimentos, que são na sua maioria, potencialmente tóxicos ao homem, podendo causar efeitos adversos ao sistema nervoso central, ter ação imunodepressora, ser cancerígeno, entre outros males.

Diante do exposto, criou-se a necessidade de um monitoramento constante dos níveis de concentração desses compostos em receptáculos ambientais e a busca de tratamentos eficientes para sua degradação, pois vários estudos constataram que alguns pesticidas podem ser considerados desreguladores endócrinos. Um interferente endócrino ou desregulador endócrino é a substância exógena, natural ou sintética, que causa efeitos adversos na saúde de um organismo ou sua descendência, como resultado de distúrbios na função hormonal (ALVES *et al.*, 2007 e LANDRIGAN *et al.*, 2003).

Em todo mundo sempre houve uma preocupação com a qualidade da água potável, e vários países estão investindo em pesquisas para determinar a ocorrência, o lançamento e a destinação ambiental de substâncias com atividade endócrina.

Neste sentido, estudos para monitoramento dos níveis de pesticidas em sistemas aquáticos vêm sendo realizados durante as últimas décadas. A maioria dos países europeus e os EUA possuem uma legislação bastante restritiva no que se refere ao limite de concentração de pesticidas em fontes de água para consumo, principalmente nas águas subterrâneas que são fonte principal de água para consumo nestes países (D'ARCHIVIO *et al.*, 2006).

Dentre os pesticidas mais utilizados no mundo está a classe dos herbicidas triazínicos que estão na lista de poluentes químicos que precisam ser monitorados devido à sua toxicidade, persistência e acúmulo no meio ambiente (ZHAO *et al.*, 2008). Eles vêm sendo empregados na agricultura para o controle de ervas daninhas, por inibir a fotossíntese, e são utilizados principalmente em culturas de milho, cana-de-açúcar e soja.

A atrazina (ATZ) é um dos pesticidas que apresentam risco significativo ao ambiente aquático e foi incluído na lista de poluentes prioritários da União Européia (União Européia, 2001). Na Alemanha seu uso está proibido desde 1991, entretanto, nos EUA, Brasil e Argentina, é um dos herbicidas mais utilizados em plantações de grãos. De acordo com TRAGHETTA *et al.* (1996), na década de 90, nos EUA e Europa, a concentração de atrazina atingiu níveis superiores ao permitido (3,0 µg/L - EUA; 0,5 µg/L - Europa) em águas superficiais e foi encontrada em aquíferos. No Brasil, há uma grande dificuldade em se obter dados desta natureza.

Apesar de não ser mais utilizada na maioria dos países europeus, a ATZ ainda vem sendo encontrada em vários compartimentos ambientais, contaminando solo e fontes de água. A terbutilazina (TBZ) vem sendo apontada como principal substituto para a ATZ, nos países onde o pesticida foi proibido e, por esse motivo, tornou-se interessante obter dados de ocorrência, conhecer o seu comportamento durante os processos de oxidação, sua toxicidade e principalmente verificar se essa é a melhor opção para substituição da atrazina que já é reconhecidamente considerada uma

substância nociva aos seres humanos. Pesquisas sobre a TBZ, sua degradação, toxicidade e de seus subprodutos ainda são incipientes.

A presença de pesticidas e outros desreguladores endócrinos em plantas de tratamento de esgoto e água evidencia a necessidade da avaliação dos processos empregados na degradação dessas substâncias, pois os mesmos são pouco eficientes na sua remoção. Portanto, a baixa biodegradabilidade desses compostos faz com que se torne necessário desenvolver e estudar técnicas alternativas que degradem esses contaminantes, levando, se possível, até sua completa mineralização. Os processos oxidativos avançados (POAs) são uma tecnologia promissora que vem sendo estudada como alternativa para degradação desses compostos.

A ozonização é um dos processos oxidativos avançados mais amplamente utilizados devido ao fato de não adicionar nenhum outro tipo de produto químico ao processo, no entanto, nem sempre leva a mineralização completa dos micropoluentes, de forma que é importante determinar os subprodutos formados durante a oxidação, bem como avaliar a sua toxicidade. A atividade estrogênica da atrazina é um dado não muito encontrado na literatura, embora suspeitas e alguns indícios sejam bastante explorados. Seus produtos de degradação igualmente vêm sendo identificados, pois podem ser tão ou mais tóxicos do que a molécula precursora.

Devido ao exposto, fica claro a importância de se conhecer as substâncias que possuem atividade estrogênica e avaliar processos para sua degradação, já que muitas dessas substâncias são constantemente descartadas e permanecem no meio ambiente. Um outro ponto é que a maioria das operações convencionais de tratamento, seja de efluente ou água, não são capazes de degradá-las ou removê-las completamente. Além disso, existem poucos trabalhos que verificam a eficiência do tratamento para a degradação de pesticidas aliadas a avaliação da atividade estrogênica.

O presente trabalho tem como objetivo contribuir para o estudo de degradação da atrazina, pesticida que foi amplamente utilizado na Europa e atualmente utilizado em grandes quantidades no Brasil e outros países da América.

O objetivo geral do trabalho foi investigar a degradação dos pesticidas atrazina e terbutilazina pelos processos oxidativos avançados de ozonização e H_2O_2/UV e avaliar a atividade estrogênica das duas substâncias e das soluções obtidas após sua ozonização com o intuito de verificar se os intermediários da reação possuem essa característica e, também, se é apropriada a substituição que vem sendo realizada por países da Europa onde a TBZ está sendo utilizada no lugar da ATZ. O trabalho possui os seguintes objetivos específicos:

- Estudar a degradação do pesticida atrazina por processos oxidativos avançados, especificamente ozônio e UV/H_2O_2 em diferentes valores de pH;
- Avaliar a degradação do pesticida em alta concentração (20 mg/L) e em uma concentração ambientalmente relevante (0,5 mg/L);
- Estudar a ozonização do pesticida terbutilazina em baixas concentrações e comparar com os dados obtidos para atrazina;
- Avaliar a toxicidade da atrazina e terbutilazina (composto puro) e das soluções contendo atrazina ozonizadas por ensaio de inibição da bioluminescência (Microtox®);
- Obter os espectros de varredura na região ultravioleta para as soluções após a ozonização e UV/H_2O_2 para verificar a abertura do anel aromático da atrazina;
- Identificar os intermediários formados durante a ozonização da atrazina em baixa concentração;
- Avaliar a degradação da atrazina nas matrizes água ultrapura e efluente secundário verificando a sua degradação por ozônio molecular e radicais hidroxila e determinar a cinética de reação para ambas vias de oxidação;
- Analisar comparativamente a atividade estrogênica para soluções de atrazina e terbutilazina após a ozonização.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Pesticidas

A agricultura no Brasil, e no mundo de um modo geral, se tornou bastante dependente do uso de insumos químicos dentre os quais estão os pesticidas, mais comumente denominados de agrotóxicos ou defensivos agrícolas.

O Fundo Mundial para a Natureza (WWF), em 1998, estimou que aproximadamente 69% da utilização de água era destinada as atividades agrícolas, enquanto 23% era utilizada na indústria e apenas 8% destinava-se ao uso residencial. A agricultura é a atividade que mais consome água doce no mundo.

Por outro lado o crescimento do uso de compostos sintéticos, dentre eles os pesticidas, é responsável pela contaminação não só das águas, mas também de outros compartimentos ambientais, tais como solo e ar. Essa contaminação decorre do descarte de resíduos industriais, derramamentos acidentais e da aplicação dos pesticidas na agricultura. Os pesticidas orgânicos são persistentes no meio ambiente e, também apresentam altos níveis de toxicidade em mamíferos e seres humanos.

Estes compostos apresentam comprovada periculosidade a saúde humana, devido a sua bioacumulação e biomagnificação e, por esse motivo, se tornam fundamentais os estudos visando a sua degradação no meio ambiente e de processos que possam degradá-los em águas e efluentes.

2.1.1. Uso de Pesticidas

A legislação brasileira adotou e definiu o termo pesticida (Lei 7.802/89 e Decretos 98.816/90 e 4.074/2002) como: "Entende-se por pesticidas as substâncias, ou mistura de substâncias, de natureza química quando destinadas a prevenir, destruir ou repelir, direta ou indiretamente, qualquer forma de agente patogênico ou de vida animal

ou vegetal, que seja nociva às plantas e animais úteis, seus produtos e subprodutos e ao homem" (SPADOTTO *et al*, 2004).

A Lei Federal nº 7.802 de 11/07/89, regulamentada pelo Decreto 98.816, no seu Artigo 2º, Inciso I, define o termo agrotóxico como sendo "Os produtos e os componentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou implantadas e de outros ecossistemas e também em ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora e da fauna, a fim de preservá-la da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como substâncias e produtos empregados como desfolhantes, desseccantes, estimuladores e inibidores do crescimento".

O termo agrotóxico vem sendo utilizado no lugar do termo defensivo agrícola, no Brasil, para denominar os venenos agrícolas, após grande mobilização da sociedade civil organizada. Isto porque mais do que uma mudança da terminologia, esse termo coloca em evidência a toxicidade desses produtos ao meio ambiente e à saúde humana. São ainda genericamente denominados praguicidas ou pesticidas. Pesticida é um termo mais genérico que identifica uma gama de compostos sintéticos com atividade biocida utilizados no mundo inteiro para exterminar ervas daninhas, fungos e insetos tendo como finalidade aumentar a produtividade agrícola.

O uso de pesticidas, como dito anteriormente, atende a necessidade de eliminar e/ou reduzir para níveis aceitáveis a incidência de pragas, plantas daninhas e doenças, visando uma boa produtividade e o retorno econômico da atividade agrícola. Na agricultura é utilizado para eliminação de insetos, parasitas, fungos; na indústria é empregado na conservação de produtos têxteis, papel, tinta; na construção é utilizado na conservação ou desinfecção de madeiras e também é muito utilizado na destruição de ervas daninhas ao longo das vias de transporte (vias férreas, estradas).

Durante muito tempo os problemas enfrentados na agricultura eram resolvidos através de soluções alternativas, como por exemplo, a rotação de culturas e o controle biológico de pragas. Produtos como fertilizantes e pesticidas melhoraram

significativamente as perspectivas nesse setor, causando um aumento na produtividade, porém causaram uma forte dependência destes produtos.

No Brasil há uma grande dificuldade em se obter dados sobre o uso de pesticidas. Segundo a certificação digital – PUC Nº 0511121/CA só foi possível obter uma listagem dos pesticidas mais usados nas lavouras de Nova Friburgo (Estado do Rio de Janeiro), por exemplo, através de fotografias e perguntas feitas aos habitantes do local onde havia a lavoura, pois o Brasil não possui esses dados estatísticos.

De acordo com FERREIRA *et al.* (2006) o Brasil atua no mercado de pesticidas como um dos principais consumidores do mundo e o maior da América do Sul. Foi considerado, em 2006, o segundo maior consumidor de pesticidas do mundo pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Entram na estatística tanto aqueles de uso agrícola como os domésticos e os utilizados em campanhas de saúde pública.

A ANVISA realizou em março de 2010, em Brasília/DF, o seminário: Mercado de Agrotóxicos e Regulação. O professor Victor Pelaez, do Departamento de Economia da Universidade Federal do Paraná, apresentou um estudo sobre a concentração do mercado de pesticidas e a evolução do setor nos últimos anos. Segundo Pelaez o mercado em 1990 vendeu mais de US\$ 25 bilhões de dólares enquanto que em 2008 o valor aumentou para US\$ 40 bilhões, a taxa de crescimento foi de aproximadamente 60%. Em 2007 as vendas de agrotóxicos na Europa somavam 32% do total, a Ásia ficou com 23%, a NAFTA com 22%, a América Latina contava com 19% do total e o restante dos países do mundo somavam os outros 4%. Dos 19% da América Latina 16% foi a participação do Brasil enquanto que os demais países somaram apenas 3%. O Brasil, em 2007, importou mais de 800 milhões (US\$) e estava entre os principais importadores de pesticidas no mundo junto com França, Alemanha, Canadá, USA e Reino Unido.

O consumo de pesticidas no país é bastante significativo nos cultivos de soja, citros, cana de açúcar, hortaliças (tomate e batata), arroz, algodão, cereais, café, milho e frutas, sendo que as culturas responsáveis pelo maior consumo de pesticidas são as de soja, milho e cana-de-açúcar. A distribuição das áreas das principais culturas no Brasil em 2005 foram soja (35%), milho (20%), cana de açúcar (9%) (SINDAG, 2007).

Para se ter uma idéia do consumo de ingrediente ativo no país, de acordo com SPADOTTO (2004), em 1964 o consumo foi de 16 mil toneladas enquanto que em 1998 foi de 128 mil toneladas, já a área ocupada com lavouras no Brasil foi de 28 milhões de hectares em 1960 e de aproximadamente 50 milhões de hectares em 1998. Portanto, a área com culturas agrícolas aumentou 78%, enquanto o aumento no consumo de pesticidas foi de 700% nesse período.

Segundo TEIXEIRA e CANELA (2007), estão sendo produzidos novos pesticidas para aplicações específicas no campo visando, principalmente, a sua rápida degradação. No Brasil, há no comércio mais de 300 princípios ativos e 1200 formulações de defensivos agrícolas.

Na Europa em 2001, a Espanha era o terceiro país, da União Européia, em vendas de pesticidas (35,7 ton), os primeiros eram França e Itália, sendo que os herbicidas eram a maior parcela com 34%, seguidos pelos inseticidas (33%), pelos fungicidas (22%) e por outros inseticidas (11%) (PLANAS *et al.*, 2006).

A atual legislação brasileira de potabilidade de água, Portaria MS nº 518/2004, regulamenta 54 substâncias químicas que representam riscos à saúde humana, dentre as quais 22 são pesticidas (FERNANDES NETO e SARCINELLI, 2009). A Tabela 2.1 apresenta os valores de *Maximum Contaminant Level* (MCL), ou seja, o Valor Máximo Permitido (VMP), apresentados no estudo da avaliação de risco realizada por FERNANDES NETO e SARCINELLI (2009) para pesticidas em água para consumo humano.

Tabela 2.1 Valor Máximo Permitido (VMP) em µg/L para pesticidas em água para consumo humano. Adaptado de FERNANDES NETO e SARCINELLI (2009).

Pesticida	Portaria MS n°518	Guias OMS	EPA	Healt Canadá
Alaclor	20	20	2	-
Aldrin/Dieldrin	0,03	0,03	-	0,7
Atrazina	2	2	3	5
Bentazona	300	-	-	-
Clordano	0,2	0,2	2	-
2,4D	30	30	70	100
DDT	2	1	-	-
Endossulfan	20		-	-
Endrin	0,6	0,6	2	-
Glifosato	500	-	700	280
Heptacloro	0,03	-	0,4 e 0,2	-
Hexaclorobenzeno	1	-	1	-
Lindano	2	2	0,2	-
Metolacloro	10	10	-	50
Metoxicloro	20	20	40	900
Molinato	6	6	-	-
Pendimetalina	20	20	-	-
Pentaclorofenol	9	9	1	60
Permetrina	20	300	-	-
Propanil	20	-	-	-
Simazina	2	2	4	10
Trifuralina	20	20	-	45

A Comunidade Européia publicou a diretiva 91/414/CEE com o objetivo de instaurar um controle sobre a utilização destas substâncias e até mesmo proibir o uso de alguns pesticidas de maior impacto ambiental e elevada periculosidade ao ser humano. Na Espanha o Real Decreto - RD 140/2003 estabelece uma concentração máxima de pesticidas em águas de consumo humano de 0,1 µg/L para a substância ativa individual e 0,5 µg/L para o total de pesticidas dissolvidos.

O Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (SINDAG) traça, anualmente, o panorama de venda de pesticidas no país. Dados do SINDAG do ano de 2006 mostram que as vendas de pesticidas no Brasil totalizaram US\$3.920 milhões, sendo que dados do ano de 1991 apontavam US\$ 988 milhões o que representa um incremento de cerca de 296,76% (SINDAG, 2007). Segundo o Sindicato, as vendas de pesticidas continuam em crescimento sendo que, no ano de 2009 foram movimentados US\$6.559 milhões, quase o dobro de 2006 (SINDAG, 2010).

2.1.2. Histórico do Uso de Pesticidas no Mundo

O uso de pesticidas para impedir danos às culturas agrícolas data de aproximadamente 500 aC., sendo o enxofre o primeiro pesticida conhecido (acaricida e fungicida). Vários elementos químicos, como arsênio e mercúrio, começaram a ser usados no combate a pragas por volta do século XV.

No Século XVIII usava-se petróleo, querosene, creosoto e terebentina como inseticida. A partir do mesmo século o sulfato de cobre e a nicotina começaram a ser usados como pesticidas. Em meados de 1908 havia recomendações para preparação e uso de compostos de arsênico para combater insetos mastigadores.

Em 1825 Faraday sintetizou o BHC (Hexaclorociclohexano – HCH ou BHC), porém suas propriedades inseticidas foram descobertas somente entre 1933 e 1942 por pesquisadores americanos, franceses e ingleses. Scharader em 1942 sintetizou o primeiro organofosforado denominado Shradan (na forma gasosa) para ser usado na guerra e após a guerra inicia-se seu uso como pesticida. Após a Segunda Guerra Mundial organoclorados foram empregados no combate de epidemias como malária.

Em 1939 Paul Müller descobriu que o DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano) era um inseticida eficaz e em pouco tempo tornou-se o pesticida mais usado no mundo, sendo utilizado até mesmo para controle de piolhos em humanos em 1941 na Suíça. Porém, na década de 60 foi descoberto que o mesmo causava sérios danos a saúde de diversas espécies de aves, prejudicando sua reprodução e oferecendo grandes riscos para biodiversidade. Atualmente, o DDT é proibido em pelo menos 86 países.

2.1.3. Classificação dos Pesticidas

De acordo com a Fundação Nacional de Saúde (1998) os pesticidas podem ser classificados como:

a) Inseticidas: possuem ação de combate a insetos, larvas e formigas. Os inseticidas pertencem a quatro grupos químicos:

- Organofosforados: são compostos orgânicos derivados do ácido fosfórico, do ácido tiofosfórico ou do ácido ditiofosfórico. Alguns exemplos são: diazinon, metilparation, metolaclor e paration.
- Carbamatos: são derivados do ácido carbâmico. Alguns exemplos de pesticidas carbamatos: aldicarb, carboulfan (carbofuran) e carbaril.
- Organoclorados: são compostos à base de carbono, com átomos de cloro. Foram muito utilizados na agricultura como inseticidas, porém seu emprego tem sido progressivamente restringido ou mesmo proibido. Alguns exemplos de pesticidas organoclorados são: 4,4´DDD, 4,4´DDT, aldrin, clordano, dieldrin, endosulfan, endrin, heptacloro, trifluarina e γ BHC (lindano).
- Piretróides: são compostos sintéticos que apresentam estruturas semelhantes à piretrina, substância existente nas flores do *Chrysanthemum (Pyrethrum) cinerariifolium*. Alguns desses compostos são: aletrina, resmetrina e cipermetrina.

b) Fungicidas: ação de combate a fungos. Os principais grupos químicos são: etileno-bis-ditiocarbamatos; Trifenil estânico; Captan e hexaclorobenzeno.

c) Herbicidas: combatem ervas daninhas. Nas últimas duas décadas, esse grupo tem tido uma utilização crescente na agricultura. Seus principais representantes são: paraquat, Glifosato ou Round-up; pentaclorofenol; derivados do ácido fenoxiacético como o 2,4 diclorofenoxiacético (2,4 D) e 2,4,5 triclorofenoxiacético (2,4,5 T). Os herbicidas do grupo das triazinas vêm sendo bastante empregados na agricultura para o

controle de ervas daninhas em razão da capacidade de inibir a fotossíntese. O principal composto dessa família é a atrazina.

d) Outros grupos importantes compreendem: raticidas utilizados no combate a roedores; acaricidas utilizados na ação de combate a ácaros diversos; nematicidas utilizados na ação de combate a nematóides; molusquicidas utilizados na ação de combate a moluscos (contra o caramujo da esquistossomose) e fumigantes utilizados na ação de combate a insetos.

2.1.4. Contaminação do Solo e da Água por Pesticidas

É de grande importância o estudo da interação dos pesticidas com o solo, pois a partir do solo acontece a maior parte da distribuição destes compostos aos demais compartimentos ambientais como, por exemplo, as águas subterrâneas, superficiais, atmosfera e, também, organismos vivos (VIEIRA *et al.*, 1999).

A utilização de pesticidas e fertilizantes em lavouras é um dos principais fatores de poluição do solo e subsolo, principalmente nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil que são as regiões responsáveis por quase toda a produção agrícola para consumo interno e exportação do país. No Brasil são usados, em média, duas vezes mais pesticidas do que no resto do mundo, entre eles os organoclorados e organofosforados que são de uso restrito ou proibido em vários países devido a sua toxicidade e permanência no ambiente.

Segundo PIMENTEL e LEVITAN (1986) a quantidade de pesticidas que realmente atinge a praga ou patógeno é extremamente pequena, menos que 1% do total aplicado, o que significa que 99% ou mais da aplicação tem potencial para se mover em diferentes compartimentos ambientais, tais como o solo e águas residuais e subterrâneas.

Após a entrada de determinado pesticida no solo, vários processos físicos, químicos e biológicos determinam seu comportamento (SPADOTTO *et al.*, 2001). A degradação e retenção dos pesticidas pelo solo podem ser influenciadas pelo pH,

umidade, capacidade de troca catiônica, temperatura, matéria orgânica, etc (TONI, *et al.*, 2006).

As principais propriedades dos pesticidas que determinam sua dinâmica no ambiente (solo, água e ar) são: pressão de vapor, coeficiente de partição ao carbono orgânico (K_{oc}), constante de Henry (H_c), tempo de meia-vida ($t_{1/2}$), solubilidade em meio aquoso e coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}). A pressão de vapor é uma medida da tendência de evaporação de um líquido, quanto maior mais volátil será o líquido. O K_{oc} expressa a tendência do herbicida adsorver no carbono orgânico do solo. O tempo de meia-vida é definido como o tempo necessário para que a metade da concentração de uma substância degrade independentemente da sua concentração inicial no meio. A lei de Henry (H_c) é usada para descrever a tendência dos produtos químicos em mover-se da fase aquosa para a fase de gás. O K_{ow} , ou coeficiente de partição octanol-água, representa a tendência da distribuição de um produto químico orgânico entre as fases orgânica e aquosa. Para baixos valores de K_{ow} a substância é considerada hidrofílica e possui uma baixa solubilidade em gorduras, elevada solubilidade em água e pequena adsorção em solo/sedimento (IEH, 2004).

Sabe-se que as propriedades físicas desse sistema, responsáveis pelos processos de adsorção e translocação, podem ser medidas facilmente, porém a análise da capacidade de degradação química e bioquímica é complexa.

Segundo JAVARONI *et al.* (1999), a adsorção pela matéria orgânica do solo é o principal mecanismo que rege a persistência, a degradação, a biodisponibilidade, a lixiviação e volatilidade dos pesticidas. De acordo com CARABIAS-MARTINEZ *et al.* (2003) fatores como a topografia do terreno e a frequência de precipitação são bastante importantes para determinar o índice de pesticidas encontrado no meio ambiente. Sabe-se que o nível do aquífero também é um fator relevante para avaliação da contaminação da água por pesticidas, pois sua profundidade determina a espessura da coluna de solo pela qual os pesticidas deverão percorrer até atingir a porção superior do aquífero, contaminando-o.

O pesticida atrazina, por exemplo, em condições de baixa temperatura, se torna bastante estável, e tem um baixo potencial de adsorção, o que lhe permite movimentar-se rapidamente através do solo (EGLER, 2002).

Alguns solos, com maior teor de matéria orgânica, podem reter maior quantidade de pesticidas na camada superficial o que diminui sua movimentação. Além disso, solos com alto teor de matéria orgânica possuem maior atividade microbiana, possibilitando uma via de degradação dos pesticidas. Alguns pesticidas possuem baixa afinidade com a matéria orgânica do solo e, portanto, apresentam alto potencial de lixiviação devido a uma menor retenção pelo solo. Ainda assim, as pesquisas para monitoramento da presença de resíduos de pesticidas em aquíferos no Brasil são incipientes (FARIA, 2004 e REVISTA RURAL, 2003).

Para se ter idéia da mobilidade dos pesticidas nos diversos compartimentos ambientais um estudo publicado no ano de 2000, envolvendo 10 países europeus, mostrou que, de um total de 99 pesticidas monitorados, 48 pesticidas diferentes foram detectados na água da chuva. De acordo com o mesmo estudo alguns desses pesticidas detectados não eram utilizados nas áreas agrícolas em que as amostras da água da chuva foram coletadas, indicando que existe o transporte a grandes distâncias desses compostos pela atmosfera (FARIA, 2004).

2.1.5. Danos à Saúde e Toxicidade

Os principais efeitos adversos para a saúde causados por pesticidas são dificuldades na respiração, dores de cabeça, efeitos neurológicos ou psicológicos, irritação da pele e das membranas mucosas, declínio da função do sistema imunológico, câncer e efeitos nos sistemas reprodutores (BRETVELD *et al.*, 2006).

Segundo a agência de proteção ambiental dos Estados Unidos (EPA, 2010) existem mais de 1055 ingredientes ativos registrados que são utilizados na formulação de milhares de pesticidas disponíveis naquele país. A EPA avalia tanto os riscos dos novos produtos lançados no mercado, quanto os dos pesticidas mais antigos, já em

utilização nas lavouras do país. A avaliação de risco proposta pela EPA utiliza quatro etapas descritas pelo Conselho Nacional de Pesquisa dos Estados Unidos para avaliar o risco a saúde humana, são eles: Identificação de Perigos, Avaliação da Dose-Resposta, Avaliação da Exposição e Caracterização de Risco.

Na primeira etapa da avaliação, denominada processo de avaliação de risco, são identificados os efeitos potenciais sobre a saúde que podem ocorrer em diferentes tipos de exposição a pesticidas, ou seja, é avaliada a toxicologia do produto. São diversos os efeitos avaliados, desde irritação dos olhos e pele até defeitos congênitos em animais de laboratório. Na segunda etapa é feita uma avaliação da dose resposta pois sabe-se que a quantidade de um produto químico a que uma pessoa é exposta é muito importante.

Sabe-se que os seres humanos podem ser expostos a pesticidas por três maneiras: inalação, absorção pela pele (via dérmica) e pela exposição oral (boca) ou aparelho digestivo. Desta forma a exposição pode se dar pelo contato com alimentos cultivados com o uso de pesticidas que podem deixar resíduos no interior ou na superfície dos mesmos; no uso pessoal tanto no controle de pragas nos jardins como na proteção dos animais domésticos por exemplo, ou até mesmo usados como repelentes para insetos; por sua presença no sistema de água potável, pois alguns pesticidas podem chegar até as fontes de águas subterrâneas ou de superfície, mesmo que em pequenas quantidades, contaminando assim as fontes de água para uso humano; os próprios trabalhadores que aplicam os pesticidas em plantações ou mesmo aqueles que trabalham na colheita podem ser contaminados pela exposição aos pesticidas. A última etapa constitui na caracterização do risco. Este processo combina as avaliações de perigo, dose-resposta e exposição para descrever o risco geral de um pesticida.

A EPA exige alguns testes de toxicidade para pesticidas, são eles:

- Toxicidade aguda: é a exposição que se dá a curto prazo ou mesmo com uma única exposição. Realizados para exposição oral, dérmica e inalação; irritação nos olhos; a irritação da pele; sensibilização da pele e neurotoxicidade.

- Toxicidade sub-crônica: é a exposição intermediária, repetida durante um longo período de tempo (ou seja, 30-90 dias). Realizados para exposição oral, dérmica e inalação e neurotoxicidade (lesões do sistema nervoso).
- Toxicidade crônica: resulta da exposição contínua a determinada substância. Destina-se a determinar os efeitos de um pesticida após exposições prolongadas e repetidas. São eles os efeitos crônicos e carcinogênicos (câncer).

Alguns pesticidas, devido a sua alta persistência e risco a saúde humana, foram banidos de alguns países. Os 151 países que aceitaram a Convenção de Estocolmo (maio/2004) precisam desenvolver medidas efetivas para banir 12 produtos orgânicos persistentes (POP). São nove pesticidas: aldrin, clordano, DDT, dieldrin, endrin, heptacloro, hexaclorobenzeno, mirex e toxafeno. Dois produtos químicos industriais (PCB (bifenilpoliclorado) e hexaclorobenzeno) e subprodutos, como as dioxinas e os furanos. Essas substâncias, comprovadamente, podem causar sérios distúrbios à saúde humana (FAPESP, 2005).

Os metabólitos ou produtos de degradação dos pesticidas devem ser levados em conta também, já que o comportamento ambiental, a toxicidade e ecotoxicidade dos produtos de degradação podem diferir enormemente da molécula precursora e podem ser mais tóxicos que o ingrediente ativo original (SPADOTTO *et al.*, 2004).

2.2. Desreguladores Endócrinos

2.2.1. Definição de Desreguladores Endócrinos

Os compostos com atividade endócrina, desreguladores endócrinos, eco-hormônios, substâncias com atividade hormonal ou xerormônios foram definidos no sentido mais amplo como "qualquer substância exógena que interfere com a síntese, armazenamento/liberação, transporte, metabolismo, atividade conjugadora ou eliminação de hormônios naturais na corrente sanguínea que são responsáveis pela

regulação da homeostase e pelo desenvolvimento" ou "qualquer substância exógena que causa efeitos adversos à saúde, secundários a alterações da função endócrina em organismos intactos, ou na sua prole" (KOIFMAN e PAUMGARTTEN, 2002).

Existem várias denominações diferentes, na língua portuguesa, para os compostos desreguladores endócrinos. A tradução do termo “endocrine disrupting chemicals” também não é simples, sendo que existem cinco possíveis traduções: perturbadores endócrinos, interferentes endócrinos, desreguladores endócrinos, disruptores endócrinos e interferentes hormonais. Os termos mais usados são perturbadores endócrinos e desreguladores endócrinos (BILA e DEZOTTI, 2007).

A agência de proteção ambiental dos Estados Unidos (Environmental Protection Agency – EPA) possui um comitê responsável somente pela avaliação e diagnóstico de interferentes endócrinos ("Endocrine Disrupter Screening and Testing Advisory Committee – EDSTAC"). O comitê descreve um desregulador endócrino como uma substância ou mistura química exógena que altera uma ou mais funções do sistema endócrino, bem como a sua estrutura, causando efeitos adversos tanto sobre um organismo e sua descendência, como em populações ou sub populações de organismos, tendo como base estudos científicos, dados, evidências de peso e princípios de precaução. Em 1998 o comitê concluiu que o programa deve considerar efeitos humanos e ecológicos. Deve incluir não somente efeitos estrogênicos, mas também efeitos anti-estrogênicos, androgênicos, anti-androgênicos e efeitos na tireóide (GOLDMAN, 1998).

Sabe-se que tais substâncias podem ser de origem antrópica, também denominada xenoestrogênio, ou de origem natural, como por exemplo, os fitoestrogênios. Segundo MEYER *et al.* (1999), somente após a realização de estudos que associaram a exposição a essas substâncias a problemas de saúde (aumento de certos tipos de cânceres de mama e/ou do sistema reprodutivo, redução da fertilidade masculina, anormalidades no desenvolvimento sexual, entre outros) uma maior atenção foi dada ao tema.

De acordo com BROSSA *et al.* (2003) os compostos, desreguladores endócrinos, incluem uma grande variedade de poluentes, tais como pesticidas, hidrocarbonetos

aromáticos policíclicos, plastificantes (ftalatos), alquilfenóis e os hormônios naturais e sintéticos. Segundo GHISELLI e JARDIM (2007) a maioria das substâncias classificadas como DE são pesticidas.

2.2.2. Substâncias Consideradas DE e Seus Efeitos

Alguns produtos, como hormônios presentes em cosméticos, anabolizantes utilizados em rações animais, fitoestrógenos e poluentes orgânicos persistentes (POP) se destacam entre os produtos químicos que possuem atividade estrogênica. Conforme MEYER *et al.* (1999) as substâncias sintéticas com ação desreguladora, são geralmente persistentes no ambiente. Elas acumulam no solo e nos sedimentos e são transportadas facilmente podendo, assim, vir a acumular ao longo da cadeia trófica, expondo os animais superiores a maiores riscos.

MCKINLAY *et al.* (2007), em seu estudo sobre a avaliação dos riscos de pesticidas desreguladores endócrinos, comenta que este efeito é uma descoberta recente e a compreensão dos riscos à saúde dos seres humanos e outros organismos ainda são mínimos porém, muitos pesticidas já são considerados desreguladores endócrinos e são suspeitos de causar efeitos em doses abaixo do que geralmente é registrado por avaliações de risco.

O número de publicações que relatam o aumento da incidência de disfunções no sistema endócrino de seres humanos e, mais significativamente, efeitos fisiológicos adversos observados em espécies animais para as quais a relação causa/efeito é mais evidente vem aumentando nos últimos anos. Estudos envolvendo moluscos, crustáceos, peixes, répteis, pássaros e alguns mamíferos têm sugerido que possíveis alterações na saúde humana envolvendo o sistema reprodutivo tais como o câncer de mama e de testículo, podem estar relacionadas à exposição a essas substâncias (BIRKETT e LESTER, 2003).

De acordo com ALVES *et al.* (2007) as substâncias desreguladoras endócrinas podem, mesmo em pequenas quantidades, ter seu efeito biomagnificado através da ascensão na cadeia alimentar e, como elas pertencem a diferentes classes, não existe um

único mecanismo que explique a ação desses interferentes. Ainda, segundo o mesmo autor, diversos compostos químicos de uso doméstico, industrial e agrícola possuem comprovada atividade hormonal. Porém, o grau de exposição e os efeitos dos milhares de produtos com os quais tem-se contato diariamente ainda são desconhecidos.

Para o ser humano, as consequências dos efeitos dos desreguladores endócrinos sobre o sistema endócrino podem ser variadas: alterações das funções de reprodução masculina: anomalias no esperma (da qualidade e quantidade); má formação do sistema reprodutor; inversão de sexo; perturbações da função reprodutora feminina: anomalias na diferenciação sexual, na função ovariana, fertilidade, implantação e gestação; aumento de frequência de certos tumores, como: testículos, mama, próstata; alteração do sistema imunológico e perturbação da função tireóide (PILLIÈRE, 2005).

Algumas substâncias que apresentam efeitos de desreguladores sobre o sistema endócrino são: as dioxinas e furanos (geradas a partir da produção de cloro e compostos clorados, como os pesticidas clorados); os PCB, atualmente proibidos; vários pesticidas como o DDT, endosulfan e herbicidas contendo a estrutura triazina entre outros, os alquilfenóis, antioxidantes presentes no poliestireno modificado e no PVC, bisfenol-A, de amplo uso na indústria alimentícia (normalmente recobrando o interior de embalagens metálicas de estanho) e também usado em resinas odontológicas.

De acordo com SANTAMARTA (2008) diversas populações de animais já foram afetadas por essas substâncias. Os desreguladores endócrinos acarretam sérios problemas como: a disfunção da tireóide em aves e peixes; a diminuição da fertilidade em aves, peixes e crustáceos e mamíferos; a diminuição do sucesso da incubação em aves, peixes e tartarugas bem como deformidades de nascimento; anormalidades metabólicas em aves, peixes e mamíferos; anormalidades de comportamento em aves; desmasculinização e feminilização de peixes, aves e mamíferos machos; desfeminização e masculinização de peixes e aves fêmeas; e alterações nos sistemas imunológicos de aves e mamíferos.

Em seres humanos, é motivo de preocupação a crescente frequência de anormalidades genitais em crianças, como: testículos não descendidos (criptorquidia), alterações no pênis, além de hipospádias (a uretra que transporta a urina não se prolonga

até o final do pênis). Também foi detectado aumento da incidência de ovários policísticos nas mulheres. Alguns estudos com animais mostraram que a exposição a essas substâncias, hormonalmente ativas, durante o período pré-natal ou na idade adulta, aumenta a vulnerabilidade a tipos de câncer sensíveis aos hormônios, como os tumores malignos na mama, próstata, ovários e útero. Também foram observadas a masculinização de moluscos, feminização, atraso no desenvolvimento de testículos, atraso na maturação sexual e insuficiência reprodutiva em peixes, dificuldades no acasalamento de gaivotas devido a feminização dos machos.

A água potável é uma fonte de exposição muito significativa, já que as águas superficiais e de subsolo, que são as principais fontes de água potável, podem ser contaminadas pela infiltração dessas substâncias químicas através do solo, na agricultura ou em áreas urbanas, ou no descarte de efluentes industriais e domésticos, pois grande parte dessas substâncias não são removidas pelos processos tradicionais de tratamento de água efluentes (BILA, 2005).

2.2.3. Mecanismo de Ação

O sistema endócrino é um dos mais complexos do corpo humano, consiste de várias glândulas em diferentes áreas do corpo, incluindo o pâncreas, a tireóide, os órgãos reprodutores (ovários e testículos), o hipotálamo, a pituitária (hipófise), a paratireóide, a supra-renal, que produzem hormônios com diferentes funções. Essas glândulas secretam hormônios que são ativos em receptores de tecidos e órgãos ao longo do corpo (BILA, 2005).

Essas substâncias, com características de desreguladores endócrinos, podem atuar como antagonistas efetivos de um hormônio, onde ligam-se a um sítio receptor e impedem a ligação do hormônio natural agindo como bloqueador. Podem atuar, também, como agonistas, onde a ligação do desregulador endócrino a um sítio específico desencadeia a mesma ação que ocorreria com a ligação do hormônio natural, ou seja, age como mimetizador, imitando a ação de um determinado hormônio (ARAÚJO, 2005).

De acordo com GHISELLI e JARDIM (2007), outros efeitos que podem ocorrer no sistema endócrino são alterações na síntese e na remoção dos hormônios de seus respectivos receptores e, ainda, interações com sistemas multi-hormonais. O estudo dos possíveis mecanismos de ação dos desreguladores endócrinos tem sido dirigido principalmente à sua interação com os receptores hormonais. Porém, devido a complexidade do sistema endócrino, é possível a existência de outros mecanismos de desregulação.

2.2.4. Atividade Estrogênica

Um desregulador endócrino possui vários mecanismos de ação, como foi exposto anteriormente, sendo que uma das formas destas substâncias causarem alteração no sistema endócrino é pela capacidade de acoplar-se ao receptor (RE) e elucidar uma resposta estrogênica. Geralmente faz-se uma comparação com a estrutura química do 17- β estradiol com as substâncias que também apresentam atividade estrogênica.

O estradiol (E_2) está diretamente relacionado com o crescimento, desenvolvimento e comportamento (na puberdade) da mulher, são também responsáveis pela regulação no ciclo reprodutivo (menstruação e gravidez) e afetam muitas outras partes do corpo humano tais como, ossos, pele, cérebro e etc. É considerada a molécula mais abundante e mais potente dos hormônios estrogênicos e por esse motivo representa o padrão pelo qual a atividade estrogênica é medida.

Há uma significativa diferença na afinidade das diferentes substâncias químicas pelo RE, com isso, há substâncias que apresentam estrogenicidade fraca ou forte. O 17- β estradiol é usado como controle positivo em ensaio *in vitro*, para avaliar a atividade estrogênica das substâncias químicas simples ou amostras complexas (BILA, 2005).

Existem quatro tipos de estrogênios: os que ocorrem naturalmente no organismo; os que são sintetizados para serem ingeridos como medicamento; os xenoestrogênios, gerados pelas indústrias químicas e presentes em produtos de uso doméstico e os fitoestrogênios presentes em plantas alimentícias, em sua maioria trazem importantes benefícios à saúde.

Os estrogênios naturais fazem parte de um grupo de vários hormônios esteróides lipossolúveis produzidos, primariamente nos ovários femininos e nos testículos masculinos (mas também em outros centros do organismo) em humanos e outros vertebrados, originários do colesterol ou acetil coenzima-A. Somente três estrogênios estão naturalmente presentes em quantidades significativas: estradiol, estrona e estriol.

Os estrogênios sintéticos são geralmente encontrados em produtos farmacêuticos como a pílula anticoncepcional, que são produzidas com diferentes quantidades e potências de estrogênios sintéticos, progestinas ou ambos.

Xenoestrogênios ou xenobióticos são substâncias sintéticas, que confundem os receptores celulares dos estrogênios no organismo, interferindo nas mensagens bioquímicas naturais do nosso corpo. Muitas substâncias químicas utilizadas em todo mundo possuem ação hormonal, imitando a ação do hormônio estrogênio, além de efeitos tóxicos e carcinogênicos. Os xenoestrogênios agem como estrogênios potentes porque tem estrutura molecular semelhante ao hormônio feminino e conseguem se acoplar aos receptores de estrogênio, presentes nas células do corpo. Xenoestrogênios também podem se fixar em receptores de andrógenos como testosterona, competindo com o hormônio masculino e reduzindo a sua ação. Originam-se de derivados de petróleo, pesticidas, plásticos e hormônios.

Os xenoestrogênios dificilmente são excretados, são lipossolúveis, acumulando-se nos tecidos gordurosos. Eles são encontrados na gordura animal e, portanto podem ser ingeridos através da carne vermelha gorda e laticínios integrais. O gado é freqüentemente engordado pela adição de hormônios em sua alimentação e, além disso, as pastagens e a ração podem estar contaminadas por herbicidas e pesticidas organoclorados, os mesmos se depositam em nossos tecidos ricos em gordura, como o cérebro, fígado e mamas. Alguns exemplos de xenobióticos potentes são DDT, DDE, PCB (bifenila policlorada), bisfenol A, dioxinas, os mesmos se depositam no corpo por toda a vida. De acordo com GHISELLI e JARDIM (2007), a atrazina pode ser considerada um destes compostos que são persistentes no meio ambiente devido, principalmente, a sua estabilidade química e elevada lipofilicidade, podendo ser facilmente bioacumulados.

Muitos ensaios *in vivo e in vitro* têm sido desenvolvidos com a finalidade de quantificar e analisar os efeitos endócrinos de algumas substâncias DE em humanos e animais.

Ensaio *in vivo* utilizam vários parâmetros como, por exemplo, peso de órgãos sexuais, diferenciação celular, expressão de proteínas e atividades enzimáticas (GRAY *et al.*, 1997 e BAKER, 2001 *apud* BILA, 2005). Os ensaios *in vitro* baseiam-se em mecanismos de ação que elucidam respostas e utilizam a interação com receptores hormonais, proliferação de células entre outros mecanismos para analisar a atividade estrogênica de substâncias químicas (BILA, 2005).

O teste YES (yeast estrogen-inducible expression system ou recombinant yeast estrogenic system) é um ensaio em que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* contendo REh (receptor estrogênico humano) para identificar substâncias estrogênicas pela interação com o receptor é utilizada para identificar tanto a atividade hormonal agonista como antagonista de substâncias químicas.

2.2.5. Pesticidas Classificados como Desreguladores Endócrinos

Sabe-se que muitos pesticidas podem interferir na função hormonal o que pode conduzir a efeitos negativos no sistema reprodutivo prejudicando o seu funcionamento. Atualmente existem muitos estudos sobre a interferência com o receptor hormonal estrogênico e/ou androgênico e também sobre as diferentes formas que estes compostos podem atuar no corpo humano. Até o momento, a maioria das substâncias classificadas como desreguladores endócrinos são pesticidas (GHISELLI e JARDIM, 2007).

MCKINLAY *et al.* (2007), em sua pesquisa na literatura, identificou 127 pesticidas com propriedade de desregulador endócrino. Esses pesticidas foram usados extensamente nos últimos 50 anos e as incidências das doenças ligadas a eles aumentaram. Devido a esse excesso de doenças no mesmo período muitos cientistas sugeriram uma conexão, apesar da dificuldade inerente em provar que há uma relação entre o uso dos pesticidas e os dados epidemiológicos.

Existem relatos científicos de ação de vários pesticidas sobre o sistema endócrino, ou seja, podem ser considerados desreguladores endócrinos. Entre eles estão herbicidas como: 2,4-D; alacloro; atrazina; trifluralin; hexaclorobenzeno; carbaril; clordano; dicofol; dieldrin; DDT e metabólitos; endosulfan; heptacloro; lindano; metoxicloro; parationa; piretróides; toxafeno e aldicarb (MEYER *et al.*, 1999).

A Tabela 2.2 mostra algumas substâncias químicas bastante utilizadas e com relatos científicos de ação sobre o sistema endócrino.

Tabela 2.2 Substâncias Consideradas Desreguladores Endócrinos. Adaptado de COLBORN *et al.* (1993) *apud* MEYER *et al.* (1999).

Pesticidas	Substância Química
Herbicidas	2,4-D; 2,4,5-T; alacloro; amitrole; atrazina; metribuzin; nitrofen; trifluralin.
Fungicidas	Benomil; hexaclorobenzeno (uso proibido); mancozeb; maneb; metiram; zineb; ziram.
Inseticidas	β -HCH; carbaril; clordano; dicofol; dieldrin; DDT e metabólitos; endosulfan; heptacloro; lindano (γ -HCH); metoxicloro; mirex; oxiclordano; parationa; piretróides; toxafeno
Nematocidas	Aldicarb; DBCP.

Dos pesticidas mais utilizados nos cultivos de soja, milho e cana-de-açúcar, maiores culturas do Brasil, os que podem ser considerados desreguladores endócrinos, de acordo com a Tabela 2.2 são 2,4D, atrazina, alacloro, endosulfan, metribuzin, trifluralin e carbaril.

Pesquisadores do mundo todo têm desenvolvido estudos com a finalidade de determinar quais substâncias possuem a característica de DE, por outro lado, das

milhares de substâncias sintéticas com potencial deletério para o sistema hormonal, apenas algumas foram estudadas e testadas. Segundo SANTAMARTA (2008) vários pesticidas, alguns proibidos e outros em uso, como o DDT e seus produtos de degradação, o lindano, o metoxicloro, piretróides sintéticos, herbicidas triazínicos, dieldrin, vinclozolina, dicofol e clordano entre outros são considerados desreguladores endócrinos.

Vários estudos mostram que alguns pesticidas estão no meio ambiente, tanto na água como em alimentos e até mesmo nos seres humanos. De acordo com PITARCH *et al.* (2003) os pesticidas DDT, dieldrin, endosulfan e toxafeno foram encontrados no sangue de humanos na Espanha. OH *et al.* (2007), investigaram a atividade estrogênica de nove pesticidas encontrados no reservatório de Pal-dang em Seoul (Korea) utilizando o ensaio *in vitro* com células MCF-7 (carbaril, DBCP, diazinon, fenitroton, fenobucarb, flutolanil, iprobenfos, isoprotilana e parationa). Os autores verificaram que, dos nove pesticidas estudados, apenas o flutolanil e o isoprotilana possuem atividade estrogênica para o teste.

A Tabela 2.3 mostra alguns pesticidas que apresentam desregulação endócrina, efeitos e mecanismos de ação. Segundo MCKINLAY *et al.* (2007), há evidências que muitos desreguladores endócrinos, inclusive pesticidas, são mais ativos a níveis muito mais baixos (partes por bilhão ou partes por trilhão) do que nos níveis usados em testes padrões de toxicologia durante os testes de segurança (partes por mil ou partes por milhão).

Tabela 2.3 Pesticidas com Atividade DE e Mecanismos de Ação. Adaptado de MCKINLAY *et al.* (2007)

Pesticida/Usos	Efeito no Hormônio	Mecanismo	Referência
Organoclorado/ Inseticidas	Androgênio, Estrogênio, Prolactina	Inibidor competitivo dos receptores andrógenos. Alguns induzem a produção de aromatase, uma enzima que converte androgênio em estrogênio	DAXENBERGER (2002), LEMAIRE <i>et al.</i> (2004), SEIPPO (2004), SONNENSCHNEIN e SOTO (1998), STORRS e KIESECKER (2004)
Organofosfatos/ Em sua maioria inseticidas e alguns herbicidas	Estrogênios e hormônios da tireóide	Aumentam a expressão dos genes que respondem ao estrogênio e evita a ligação no receptor hormonal da tireóide	GWINN <i>et al.</i> (2005), JEONG <i>et al.</i> (2006), KANG <i>et al.</i> (2004)
Carbamatos/ Herbicidas e fungicidas	Androgênio, Estrogênio, esteróides	Bastante desconhecido. Podem afetar os mecanismos dependendo dos receptores androgênicos	DAXENBERGER (2002), GOAD <i>et al.</i> (2004), LU <i>et al.</i> (2004), MORINAGA <i>et al.</i> (2004)
Triazinas/ Herbicidas	Androgênio	Inibe o ligante natural que une os receptores androgênicos e as proteínas. Alguns aumentam ou inibem a produção de aromatase, uma enzima que converte androgênio em estrogênio	HAYES <i>et al.</i> (2002), HISHIHARA <i>et al.</i> (2003), MEULENBERG (2002)
Piretroides/ Inseticidas	Estrogênio e progesterona	Diferentes compostos aumentam ou diminuem a ação do estrogênio tendo um efeito no receptor do estrogênio. Alguns inibem a ação da progesterona tendo um efeito no próprio hormônio	GAREY e WOLFF (1998), KIM <i>et al.</i> (2004)

BRETVELD *et al.* (2006), pesquisaram sobre as maneiras com que os pesticidas podem interferir na função hormonal, principalmente os seus efeitos no ciclo ovariano, efeitos toxicológicos e epidemiológicos. Conforme os autores, alguns pesticidas podem interferir na função hormonal das mulheres, que pode conduzir a efeitos negativos no sistema reprodutivo alterando seu funcionamento. O foco de sua revisão está em particular no ciclo ovariano. O fluxograma apresentado na Figura 2.1 traz um resumo dos efeitos que a exposição a pesticidas podem causar na reprodução feminina.

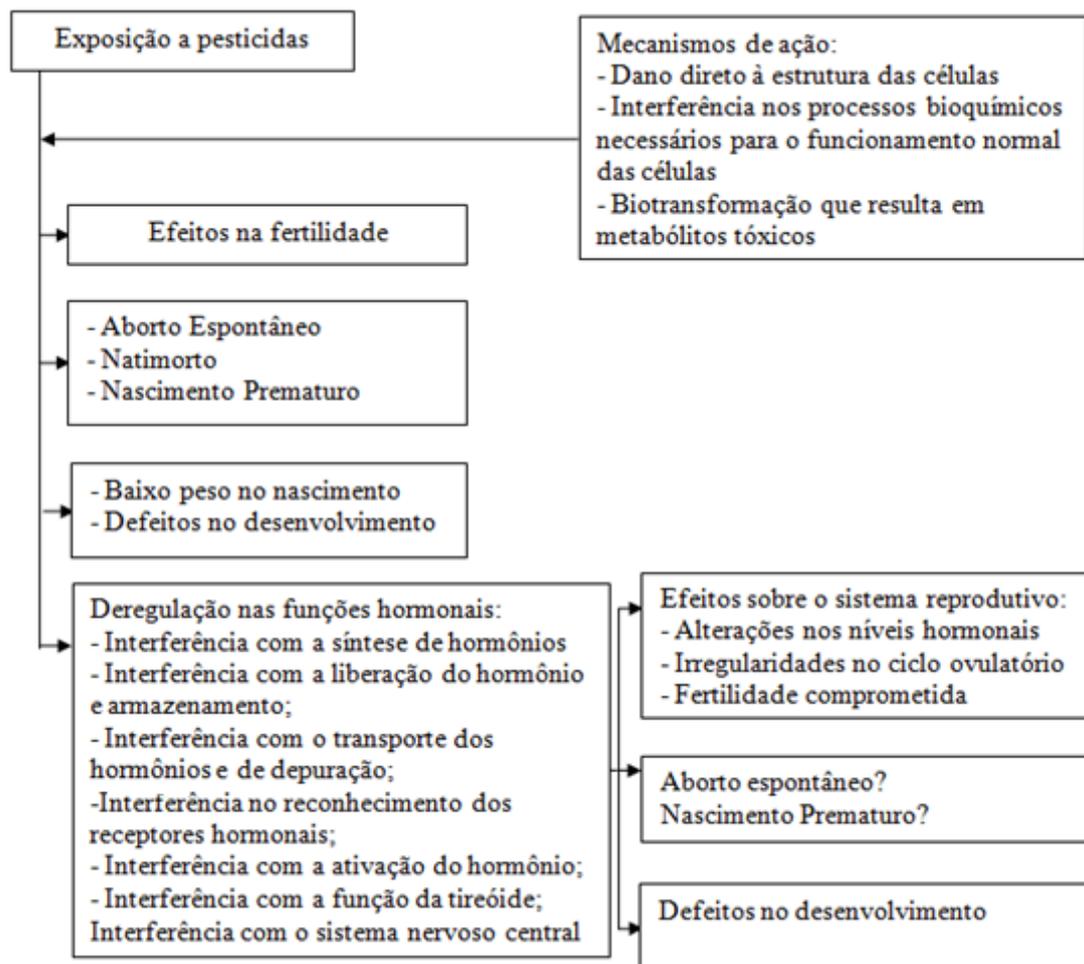


Figura 2.1 Efeitos dos pesticidas na reprodução feminina. Fonte: BRETVELD *et al.* (2006).

2.3. Atrazina

As propriedades das triazinas foram descobertas em 1952, com estudos realizados no crescimento seletivo de plantas (JAVARONI *et al.*, 1998). Esses compostos foram introduzidos como herbicidas em 1954, sendo que o primeiro produto estudado foi a clorazina, utilizada na destruição da vegetação que crescia nos cultivos de algodão, tomate, cebola e batata. Posteriormente, foram introduzidas outras triazinas como a simazina, atrazina, terbutilazina, propazina e prometrona. De acordo com SANLAVILLE *et al.* (1996), os herbicidas triazínicos estão entre os pesticidas mais usados no mundo e a atrazina é o principal composto desta família.

O herbicida atrazina 6-cloro-*N*-etil-*N*'-isopropil-1,3,5-triazina-2,4-diamina (IUPAC) é um dos herbicidas mais utilizados no mundo principalmente nos países produtores de grãos, como Argentina, Estados Unidos e Brasil. Seu mecanismo de ação se dá pela inibição da reação de Hill, na fotossíntese (RODRIGUES e ALMEIDA, 1995). É classificado como herbicida sistêmico, seletivo e utilizado no controle pré e pós-emergente de ervas de folhas largas, principalmente nas culturas de milho, cana-de-açúcar e soja (OCHI, 2006; JAVARONI *et al.*, 1999).

Segundo VASCONCELOS (2007) a principal ação dos herbicidas do grupo das triazinas é determinada pelo constituinte -Cl na posição 2 do anel heterocíclico que também determina seu nome comercial com a terminação “-azina” sendo que as outras s-triazinas podem ocorrer -SCH₃ (“trina”) e -OCH₃ (-tona). No Brasil existem cerca de vinte formulações comerciais registradas com o ingrediente ativo atrazina. A Figura 2.2 apresenta a estrutura química do pesticida atrazina.

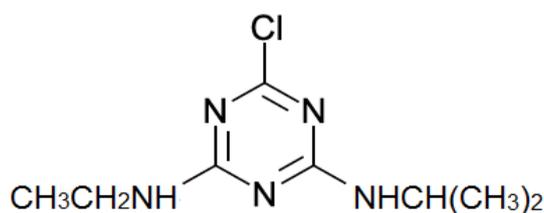


Figura 2.2 Estrutura Química da Atrazina

Muitos estudos realizados com o pesticida atrazina (ATZ) indicam sua possível toxicidade e ação como desregulador endócrino e atualmente o pesticida terbutilazina (TBZ) vem sendo utilizado em seu lugar em vários países da Europa. Segundo ACKERMAN (2007), a atrazina foi proibida na Itália e Alemanha no ano de 1991 e, ainda, de acordo com LOOS e NIESSNER (1999) na Alemanha foi substituída pela terbutilazina neste mesmo ano, porém atrazina e seus produtos de degradação ainda são detectados nas águas desses países. De acordo com a Unidade de Pesquisa do Meio Ambiente e Agricultura AERU-UK (2009), a atrazina, que foi introduzida em 1957 na Europa e em 1975 nos EUA, estava sendo utilizada por 8 países da União Européia enquanto que a terbutilazina, que foi introduzida em 1967, estava sendo utilizada em 20 países no ano de 2009.

A terbutilazina (C₉H₁₆ClN₅), 2-(tert-butilamina)-4-cloro-6-(etilamina)-s-triazina, possui um pK_b de 1,9 a 21°C e uma solubilidade 11,5 mg/L. A estrutura química do pesticida terbutilazina é apresentada na Figura 2.3.

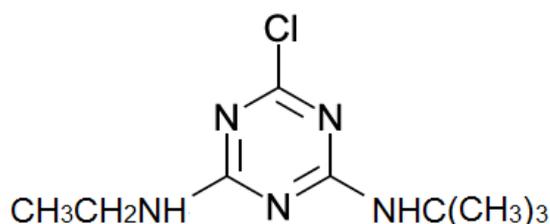


Figura 2.3 Estrutura Química da Terbutilazina

Em testes de toxicidade aguda com ratos (Oral LD50), segundo a EPA (1995), a terbutilazina foi classificada como classe III com LD50 > 2000 mg/kg. Em um estudo da irritação ocular em coelhos se classificou como classe IV de toxicidade. Segundo PLANAS *et al.* (2006) a terbutilazina está na lista prioritária (RD 995/2000 – legislação espanhola) e como desregulador endócrino SEC (2004) 1372 (Pesticides with evidence or potential endocrine disruption).

De acordo com BILA (2005) os estrogênios são caracterizados por um anel fenólico (denominado anel A), o qual tem o grupamento hidroxila no carbono 3 que lhe confere a atividade biológica, neste caso a atividade estrogênica, e uma cetona ou um

grupamento hidroxila no carbono 17. Muitas vezes, faz-se uma comparação entre a estrutura química do 17- β estradiol com as substâncias que também apresentam atividade estrogênica.

De acordo com BIRKETT e LESTER (2003) a posição relativa do grupo OH no anel A é considerada crucial para a alta afinidade da ligação com o receptor de estrogênio e a estrogenicidade *in vivo*. ROUTLEDGE e SUMPTER (1996) observaram que devido a estrutura similar com o anel fenólico do 17- β estradiol, algumas substâncias químicas estão sendo relacionadas com a atividade estrogênica. Isso leva a crer que a estrogenicidade destes compostos advém do anel aromático, de forma que é importante determinar a estrogenicidade dos dois compostos estudados no presente trabalho já que ambos possuem um anel aromático heterocíclico clorado.

O Brasil emprega elevadas quantidades de herbicidas triazínicos nas culturas da cana-de-açúcar e milho. Das 150.000 toneladas/ano dos pesticidas consumidos, somente a cultura de cana-de-açúcar vem consumindo acima de 20.000 toneladas, que representa em torno de 13% do total. Nos Estados Unidos os herbicidas triazínicos, atrazina, simazina, propazina e ametrizina são usados há mais de 30 anos e representam 12% de todos os pesticidas empregados em culturas de milho, sorgo, cana-de-açúcar e abacaxi segundo WINTERLIN *et al.* (1989) *apud* UETA *et al.* (2007).

A atrazina se tornou um pesticida de grande interesse ambiental por possuir uma baixa biodegradabilidade e alto potencial de contaminação de águas superficiais e subterrâneas. Segundo DOMBECK *et al.* (2004) estes herbicidas são relativamente persistentes no ambiente e seguidamente encontrados em fontes de água potável.

Além disso, possui uma elevada persistência no solo e sedimentos devido a sua alta capacidade de adsorção em argilas e materiais carbonáceos. Portanto, o comportamento e os processos envolvidos na degradação dos compostos triazínicos têm sido extensivamente estudados já que a sua toxicidade e a provável atuação como desregulador endócrino causam grande preocupação atualmente.

Segundo ACKERMAN (2007) a atrazina é muito utilizada nos EUA na produção de milho e conseqüentemente é o pesticida encontrado mais frequentemente

nas águas subterrâneas deste país. Segundo o autor também foi encontrada nas águas subterrâneas da Europa, nos anos em que era utilizado e, por esse motivo, alguns países da União Européia baniram o uso da atrazina. Enquanto isso, os Estados Unidos renovaram o registro da atrazina devido ao grande benefício econômico que o pesticida traz para as lavouras de milho do país. Ainda de acordo com o autor a atrazina é uma possível causa de vários tipos de câncer, e segundo alguns pesquisadores, é considerado um desregulador endócrino, com efeitos como hermafroditismo em sapos, mesmo em níveis extremamente baixos de exposição.

2.3.1. Características da Atrazina

A atrazina possui um peso molecular de 215,69 g/mol e sua solubilidade em água é de 33 mg/L. De acordo com JAVARONI *et al.* (1999) é um composto polar, fracamente básico e sua estabilidade pode ser explicada pela configuração eletrônica de seu anel heterocíclico. É solúvel em alguns solventes orgânicos como éter, acetona, benzeno, clorofórmio, etanol e acetato de etila. A Tabela 2.4 apresenta as principais características da atrazina e da terbutilazina.

Tabela 2.4 Parâmetros Físico-Químicos da Atrazina e Terbutilazina

Parâmetro	Atrazina	Terbutilazina
Solubilidade em Água (20°C)	33 mg/L	11,5 mg/L
Pressão de Vapor	$3,0 \times 10^{-7}$ mmHg	$1,12 \times 10^{-6}$ mmHg
Constante de Henry	$2,69 \times 10^{-9}$ atm m ³ /mol	$3,72 \times 10^{-8}$ atm m ³ /mol
Adsorção em solos (K _{OC})	103 mg/L	219 mg/L
log K _{OW}	2,34	3,21
Toxicidade	LD50 oral ratos =1869 mg/Kg	LD50 oral ratos =1500 mg/Kg
	LC50 inalação > 5,8mg/L LC50 dérmica > 2000 mg/Kg	LC50 inalação > 5,8mg/L LC50 dérmica > 2000 mg/Kg

De acordo com SANLAVILLE *et al.* (1996) a terbutilazina, como dito anteriormente, é apresentada como substituta para a atrazina, de modo que se torna interessante determinar seu comportamento durante processos de oxidação ou na presença de compostos naturais tais como substâncias húmicas. A terbutilazina possui uma solubilidade menor que a atrazina e os dois compostos apresentam baixo potencial de volatilização e adsorção em solo moderada.

Os processos oxidativos avançados (POAs) vêm sendo estudados e aplicados como alternativa para oxidação de compostos considerados recalcitrantes, como por exemplo a atrazina, que mesmo em baixas concentrações são de longa permanência e difícil degradação no meio ambiente, já que os organismos presentes em sistemas biológicos de tratamento, utilizados nos processos de tratamento tradicionais, não conseguem degradá-los e conseqüentemente são lançados nos corpos receptores. Sabe-se também que, grande parte desses compostos, utilizados na agricultura, podem

contaminar fontes de água que serão utilizadas para o abastecimento humano e as estações de tratamento de água não tem capacidade de remover essas substâncias.

Alguns trabalhos avaliam a oxidação do pesticida atrazina por meio dos processos de oxidação avançada. Os produtos de degradação ou metabólitos da atrazina mais comuns, segundo BARREIRO (2005) são desetilatrazina (DEA) e desisopropilatrazina (DIA).

KRAHENBUHL *et al.* (2008) estudaram a interação do solo com a atrazina e dois de seus principais metabólitos (desetilatrazina e hidroxiatrazina), tanto em solos utilizados para plantio direto quanto em solos de mata nativa nunca usados na prática agrícola. Os autores observaram que a maior capacidade de reter os compostos associados ao solo não significa que este solo não apresente perigo de contaminação do lençol freático, já que a adsorção está associada principalmente aos sítios da matéria orgânica e pode ser revertida. De acordo com ARAÚJO *et al.* (2004), algumas moléculas de pesticidas de alta persistência podem permanecer no ambiente sem sofrer qualquer alteração por um longo período, sendo estas adsorvidas nas partículas de solo, desorvidas dessas, sofrendo lixiviação até atingir os lençóis subterrâneos ou serem carregadas para as águas superficiais.

2.3.2. Ocorrência da Atrazina e Legislação

Sabe-se que os pesticidas estão presentes nos diversos compartimentos ambientais como solo, ar, água etc. Segundo WINTERLIN *et al.* (1989) *apud* UETA *et al.* (2007) a atrazina é um contaminante potencial da água em virtude de suas características: alto potencial de escoamento, elevada persistência em solos, hidrólise lenta, baixa pressão de vapor, solubilidade baixa para moderada em água e adsorção moderada em matéria orgânica e argila.

A atrazina é considerada uma base fraca com características polares. No meio ambiente sofre hidrólise, produzindo a 2-hidroxitriazina, sendo a desalquilação a principal reação de degradação biológica. Em águas naturais as triazinas podem ser degradadas a compostos menos tóxicos mediante reações de fotólise (LÁNY e DINYA,

2005; LÁNY e DINYA, 2003) que as transformam em alquilderivados, através de um consórcio microbiano, bactérias (*pseudomonas* ou *corynebacterium*) ou fungos (*aspergillus*, *fusarium* e *penicillium*).

Em sistemas anaeróbios e meios aquosos ou não, a substituição do cloro por um grupo hidroxila precede a clivagem do anel até uma lenta e completa degradação do composto. A atrazina, devido às suas características relativamente recalcitrantes, tem sido encontrada em concentrações no intervalo entre 0,02 a 0,54 µg/L em águas de superfície e subterrâneas (SANCHES *et al.*, 2003).

A atrazina é encontrada em muitos compartimentos ambientais, contaminando solos e reservas de água. Isto levou muitos países da Europa a limitar ou até mesmo interditar seu uso (CHAN e CHU, 2005; SANLVILLE *et al.*, 1996; ACKERMAN, 2007). De acordo com TRAGHETTA *et al.* (1996) na década de 90, nos EUA e Europa, a atrazina atingiu níveis superiores ao permitido (3,0 µg/L - EUA; 0,5 µg/L - Europa) em aquíferos, sendo que na Alemanha seu uso está proibido desde 1991.

Segundo MONTGOMERY (1997) a molécula da atrazina apresenta baixos valores de coeficiente de sorção e meia vida que pode ser superior a 100 dias dependendo do tipo de solo. Além disso, a molécula da atrazina é muito pouco mineralizada possuindo um tempo de meia vida ($t_{1/2}$) de mineralização de 9,5 e 28,3 anos (GOSWAMI e GREEN, 1971; SKIPPER e VOLK, 1972). O tempo de mineralização é bastante importante já que um dos principais metabólitos da atrazina, a desetilatraxina, também é fitotóxico e apresenta maior toxicidade para animais e humanos do que a própria molécula original (MOREAU e MOUVET, 1997).

A atrazina pode ser degradada no meio ambiente e os compostos provenientes dessa degradação podem ser até mesmo mais tóxicos do que o próprio pesticida, como foi dito anteriormente. Alguns desses compostos, de acordo com GRAYMORE *et al.* (2001) são: didealquilatraxina, hidroxiatraxina, dietilhidroxiatraxina, desisopropilhidroxiatraxina, didealquilhidroxiatraxina, sendo que os principais produtos de degradação, segundo Barreiro (2005), são desetilatraxina (DEA) e desisopropil atraxina (DIA). Sabe-se que a molécula de ATZ é formada por um anel aromático

heterocíclico clorado e N-alquilado e não é facilmente biodegradada. O anel heterocíclico semelhante ao do benzeno explica a estabilidade destes compostos.

A Portaria do Ministério da Saúde nº518/2004 regulamenta os valores máximos de pesticidas na água que não representam risco a saúde. Segundo a portaria, que impõe níveis máximos permitidos a apenas 22 princípios ativos de pesticidas no Brasil, os níveis máximos de atrazina que podem ser encontrados nas águas são de 2 µg/L.

De acordo com ARMAS *et al.* (2007) a legislação brasileira apenas define padrões individuais para pesticidas, determinados a partir da abordagem toxicológica para definição de diretrizes de qualidade de água potável da OMS. Desta forma, é permitida a ocorrência de 22 moléculas em uma mesma amostra de água desde que seus níveis individuais não sejam atingidos. Isto propiciaria a presença de uma carga de até 1 mg/L de pesticidas nas águas distribuídas à população, além de levar em conta um pequeno número de moléculas, frente à realidade brasileira. Segundo o padrão de potabilidade adotado pela Comunidade Européia, valores mais restritivos que a Portaria 518/04 do MS são empregados, de modo a não ultrapassar 0,1 µg/L por pesticida e 0,5 µg/L para a soma de todos os pesticidas.

No Brasil, ARMAS *et al.* (2007), em seu estudo sobre a ocorrência de pesticidas nas águas superficiais e nos sedimentos do Rio Corumbataí (São Paulo) e principais afluentes, verificaram que as triazinas foram os herbicidas presentes em níveis mais elevados (ametrina > atrazina >> simazina), o que era previsível em virtude de sua mobilidade, persistência, solubilidade em água e adsorção relativamente pequena ao solo, que favorecem o seu transporte via escoamento superficial, lixiviação e deposição atmosférica, além do seu amplo uso. Foram observados níveis quantificáveis de ametrina, atrazina e simazina variando entre 0,7-2,9 µg/L, 0,6-2,7 µg/L e 0,3-0,6 µg/L, respectivamente. Os níveis de atrazina foram observados acima do padrão CONAMA 357/05 que é de 2 µg/L de ATZ na água doce.

Por se tratar de um dos pesticidas mais encontrados em lençóis de água em diversos países devido ao seu amplo uso na agricultura, segundo CORREIA *et al.* (2007) e, também, por ser um provável desregulador endócrino escolheu-se a atrazina para estudo no presente trabalho. Além disso, sabe-se que é de grande interesse o

desenvolvimento de estudos sobre processos mais eficientes na degradação de compostos com baixa degradabilidade, como é o caso deste pesticida.

A maioria dos países europeus e os EUA possuem uma legislação bastante restritiva no que se refere ao uso de pesticidas e também ao limite destes em fontes de água, principalmente nas águas subterrâneas que são fonte principal de água para consumo em alguns desses países. Uma diretiva da Comunidade Europeia limita os níveis de pesticidas permitidos em água para consumo humano em 0,1 µg/L para compostos individuais e alguns de seus produtos de degradação e 0,5 µg/L para a soma de todo os compostos (D'ARCHIVIO *et al.* (2006); ZHAO *et al.* (2008)). CARABIAS-MARTINEZ *et al.* (2003) complementam dizendo que os níveis permitidos pela Comunidade Europeia para águas superficiais é de 1-3 µg/L.

Segundo CURINI *et al.* (2000) para avaliar o impacto dos pesticidas em ecossistemas aquáticos são exigidos a sua determinação rotineira em concentrações bastante baixas nas amostras de água (traços). A presença dos pesticidas podem ser detectadas em diferentes quantidades, pois estão sujeitas as flutuações climáticas (como por exemplo a precipitação) dos períodos em que foram coletadas as amostras.

De acordo com a EPA (2009), em seu programa de monitoramento para atrazina em sistemas de água, valores acima de 3 ppb em água bruta, a longo prazo, são considerados um risco a saúde humana.

Pesquisadores do mundo todo tentam monitorar os níveis de pesticidas de suas águas, tanto de superfície quanto subterrâneas. A Tabela 2.5 traz alguns trabalhos realizados neste sentido.

Tabela 2.5 Trabalhos Encontrados na Literatura com a Ocorrência e Níveis de Pesticidas Triazínicos no Meio Ambiente

Autor/Localização	Substâncias	Monitoramento/Concentração encontrada
BARBINA, 1993/ Friuli (Veneza)	Terbutilazina	As amostras de água para consumo de sete poços foram analisadas entre outubro 1991 e abril 1992 e a terbutilazina foi detectada em 7 de um total de 200 amostras: 3 amostras apresentaram concentrações entre 0,1 e 0,2 µg/L de terbutilazina e 4 apresentaram níveis acima de 0,2 µg/L.
BRAMBILLA, 1993/ Rio Po (Itália)	Terbutilazina	Os níveis de terbutilazina foram monitorados de 1988-1991. As concentrações observadas atingiram um máximo de 0,3 µg/L.
WOLTER, 1993/Alemanha	Terbutilazina	Foi realizado um estudo durante os anos de 1990 a 1992. De 9565 amostras analisadas, 94,2% deram negativo, 5,3% deram positivo (com valores abaixo de 0,1µg/L), e 0,4% possuíam o herbicida em concentrações acima de 0,1 µg/L. As amostras foram de água potável, água subterrânea, e água de superfície. Entre as amostras da água potável, 0,7% eram positivos. O limite de detecção esteve em torno de 0,01 µg/L.
CURINI <i>et al.</i> 2001/ Região da Calábria	Atrazina e Terbutilazina	Monitoraram a presença de 16 dos pesticidas mais usados no sul da Itália em 10 águas de superfície. Em maio, quando houveram muitas chuvas, a concentração foi menor do que nos meses de junho e julho. A terbutilazina foi detectada em uma concentração de 70 µg/L que pode se considerar bastante alta se comparada aos outros pesticidas que atingiram no máximo 28 µg/L (2,4DB).
CARABIAS- MARTINEZ <i>et al.</i> 2003/ Zamorra e Salamanca (Espanha)	Atrazina	A atrazina foi encontrada em 35% das amostras de águas de superfície e subterrâneas. As concentrações mais elevadas de atrazina (0,6 µg/L) foram encontradas no rio Gamo, que pertence à bacia de Almar na Espanha.

OCHI <i>et al.</i> , 2006/ Iracemópolis, SP	Atrazina, Simazina e Ametrina	Foram detectadas nas amostras coletadas a presença de simazina, atrazina e ametrina na represa Morro Azul, a microbacia do Ribeirão Cachoeirinha teve valores de concentração 0,5199 ng/μL, 0,0956 ng/μL e 0,6184 ng/μL, respectivamente, em uma das coletas efetuadas, evidenciando uma possível contaminação com os herbicidas estudados. Uma hipótese para os valores encontrados seria o arraste superficial dos herbicidas, possivelmente pela ação das chuvas.
PLANAS <i>et al.</i> 2006/Espanha	Atrazina e Terbutilazina	Nesta pesquisa, realizada para o ministério público espanhol, os autores estudaram a ocorrência de pesticidas em águas de superfície em alguns períodos que se iniciaram no ano de 2000. Analisaram águas de superfície coletadas em junho/julho e em setembro/novembro de 2004, avaliando a concentração e a ocorrência de alguns inseticidas. Eles verificaram que quatro pesticidas foram encontrados em mais de 50% das amostras analisadas e quatro compostos foram detectados acima do nível de concentração de 1 μg/L (atrazina, terbutilazina, 3,4 dicloroanilina e fenitrotion) no verão. Já no outono a porcentagem da detecção ficou abaixo de 50% para todos os pesticidas e somente a terbutilazina excedeu 1 μg/L.

<p>HIDELBRANDT <i>et al.</i>, 2008/Áreas agrícolas dentro das bacias dos rios Ebro, Duero e Miño (Espanha).</p>	<p>Atrazina e Terbutilazina</p>	<p>Três triazinas e seus produtos da degradação, foram monitorados durante 18 meses em 63 locais. A atrazina foi o pesticida detectado com mais frequência considerando todas as amostras (superfície e subterrânea). Analisando todos os resultados, e levando em consideração o limite residual máximo da União Européia (UE) de pesticidas na água subterrânea, somente 12% das amostras excederam o limite de 0,1 µg/L. Entretanto, níveis máximos de 2,46 µg/L de atrazina na água subterrânea e 0,63 mg/L na água de superfície do rio Duero foram detectados. Para terbutilazina foi detectado até 1,27 µg/L na água subterrânea do rio Duero e na água de superfície foi de até 0,24 µg/L (rio Ebro).</p>
<p>HLADIK <i>et al.</i>, 2008/EUA</p>	<p>Atrazina</p>	<p>Água potável proveniente de 12 ETA dos EUA foram coletadas entre 2003 e 2004. Durante o período de amostragem, a atrazina foi o herbicida encontrado com a concentração média mais elevada (77 ng/L); outras triazinas foram encontradas em concentrações mais baixas (6 ng/L). Durante o período de amostragem na primavera, a ATZ foi novamente o herbicida com a concentração média mais elevada (780 ng/L); a concentração para a simazina foi de 15 ng/L.</p>

2.3.3. Toxicidade da Atrazina

Embora a atrazina tenha sido reclassificada recentemente como provável “não carcinogênico humano” pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA), alguns estudos desenvolvidos no país demonstraram que o herbicida e alguns compostos relacionados estão envolvidos na feminização de rãs. A EPA continua a regular a atrazina, monitorando as águas de abastecimento e restringindo sua concentração (LESAN *et al.*, 2004). Segundo o Illinois Department of Public Health - IDPH (2006) não há evidências de que a atrazina cause câncer em seres humanos, porém é

classificada como carcinogênico potencial em humanos devido ao registro da incidência dos tumores em ratos.

De acordo com PÉREZ *et al.* (2006) a atrazina possui uma toxicidade moderada para peixes e é altamente tóxica aos invertebrados aquáticos: EC50 (48 h) para *Daphnia magna* de 87 mg/L; EC50 (72 h) para as algas (*pseudokirchneriella subcapitata*) 0,012 mg/L e para *Desmodemus subspicatus* de 0,043 mg/L. É um herbicida persistente com uma meia vida no solo e na água de 41 e 55 dias, respectivamente.

Sabe-se que alguns pesticidas possuem a habilidade de inibir a biosíntese do hormônio estrogênio através da inibição da aromatase CY19 (enzima necessária à formação de estrogênio) (VINGGAARD *et al.*, 2000). Vários estudos vêm sendo desenvolvidos com a finalidade de confirmar a atividade estrogênica desse composto. CONNOR (1996) investigou a atividade estrogênica da atrazina e da simazina em testes *in vivo* em útero de fêmeas de rato da espécie Sprague-Dawley e *in vitro* utilizando células de câncer de mama humano (MCF-7), os resultados, dos dois ensaios, indicaram que os efeitos estrogênicos e antiestrogênicos que ocorreram não são mediados pelo receptor estrogênico. SANDERSON (2000) pesquisou um mecanismo “alternativo” para estrogenicidade e observou que, herbicidas 2 cloro-s-triazina tais como a atrazina, simazina e propazina, são capazes de induzir atividade na enzima aromatase (CYP19), convertendo androgênio em estrogênio.

Segundo GHISELLI e JARDIM (2007) a atrazina é considerada um desregulador endócrino da classe dos xenoestrogênios (substâncias produzidas para utilização nas indústrias, na agricultura e para os bens de consumo), ou seja, uma substância química que pode interferir no funcionamento natural do sistema endócrino de espécies animais, incluindo os seres humanos.

ORTON *et al.* (2009), utilizou o teste YES para detectar a atividade (anti-) estrogênica e (anti-) androgênica associada ao receptor (escala de concentração: 0,01-1000 μ M), e os óvulos de *Xenopus* cultivados foram usados para medir efeitos na resposta ovulatória e esteroidogênese ovarianas (escala de concentração: 0,00625-62,5 μ M) de alguns pesticidas. Onze pesticidas foram ativos em pelo menos um ensaio (atrazina, simazina, isoproturon, diuron, linuron, MCPA, mecoprop, PCP, trifluralin e

bentazona), e um não teve nenhum efeito (2,4,D). Segundo o autor a atrazina possui uma atividade antiestrogênica (YAS) e não possui uma resposta positiva para o teste YES.

A EPA concluiu, em 2002, que os pesticidas atrazina, simazina, propazina e seus três produtos de degradação deveriam ser incluídos em um mesmo grupo, por possuírem um mecanismo comum, ou seja, induzem um efeito tóxico comum pelo mesmo mecanismo de toxicidade, e por possuírem uma avaliação de risco cumulativa. Nos estudos realizados em animais, as triazinas compartilham de um mecanismo de toxicidade neuroendócrino comum que conduz a efeitos no desenvolvimento e reprodutivos.

Pode se dizer que os pesticidas possuem “um mecanismo comum de toxicidade” - *common mechanism group* - (CMG) atuando da mesma maneira no corpo, isto é, o mesmo efeito tóxico ocorre no mesmo órgão ou tecido, essencialmente pela mesma seqüência de eventos bioquímicos.

A EPA concluiu que a atrazina, a simazina, a propazina e os metabólitos desetil-s-atrazina (DEA), o desisopropil-s-atrazina (DIA) e o diaminoclorotriazina (DACT) devem ser considerados como um CMG devido a sua habilidade de causar efeitos neuroendócrinos e endócrinos, reprodutivos e carcinogênicos. Segundo a EPA (2002) a atrazina é considerada carcinogênica para mamíferos.

O site desenvolvido pelo *Agriculture & Environment Research Unit* (AERU) da Universidade de Hertfordshire, que consiste em uma base de dados físico-químicos e ecotoxicológicos de pesticidas (PPDB - *Pesticide Properties Database*) utilizado em toda Europa, diz que a atrazina é considerada carcinogênica e suspeita de ser um desregulador endócrino. Porém, segundo o mesmo site não há classificação quanto a ação carcinogênica da terbutilazina e sua atividade endócrina também não foi avaliada.

2.4. Processos Oxidativos Avançados

Atualmente, a preocupação de pesquisadores que estudam a exposição aos micropoluentes é determinar as concentrações em que estas substâncias produzem um efeito tóxico, se estas substâncias estão presentes ambientalmente em concentrações relevantes (efeito tóxico para seres humanos ou animais), mas principalmente o desenvolvimento de processos capazes de degradar estes poluentes presentes em tão baixas concentrações. Grande parte desses contaminantes possuem uma baixa biodegradabilidade fazendo com que os tratamentos convencionais de efluentes, como o tratamento biológico, sejam ineficazes para sua degradação. O mesmo pode ocorrer com os processos tradicionais para tratamento de água destinada ao abastecimento.

Neste contexto, a oxidação química pode ser a forma mais adequada de transformar moléculas ambientalmente indesejáveis em outras moléculas menos tóxicas, de maneira que possam ser mais facilmente assimiladas no meio ambiente. Alguns compostos como os pesticidas, que são de difícil degradação e, muitas vezes presentes em concentrações bastante baixas, não são removidos ou são degradados apenas parcialmente nas plantas de tratamento de água (por estarem presentes em fontes de água como rios, etc), efluentes domésticos e industriais que utilizam o processo biológico.

Os processos oxidativos avançados (POAs) são uma alternativa para o tratamento de efluentes que possuem esse tipo de compostos, micropoluentes recalcitrantes. Esses processos podem ser usados em combinação com os tratamentos convencionais ou até mesmo para polimento de efluentes com a finalidade de alcançar os limites de descarte necessários.

Segundo DOMÈNECH *et al.* (2001) os POAs são especialmente úteis como pré-tratamento, antes de um tratamento biológico para contaminantes resistentes a biodegradação, e como processo de pós tratamento para um polimento das águas antes do descarte nos corpos receptores. O que explica a eficiência destas técnicas é uma velocidade de oxidação incrementada pela presença dos radicais hidroxila. Esta espécie possui propriedades adequadas para atacar a maior parte das moléculas orgânicas e reagir de 10^6 - 10^{12} vezes mais rápido que oxidantes como o O_3 . Os radicais OH podem

reagir com uma grande variedade de classes de compostos promovendo sua total mineralização levando a CO₂ e água. Também são aplicáveis no tratamento de contaminantes em concentrações muito baixas (na ordem de ppb) (DOMÈNECH *et al.*, 2001). A Tabela 2.6 apresenta potenciais de oxidação de alguns oxidantes.

Tabela 2.6 Potenciais de oxidação de alguns oxidantes. Adaptado de Beltrán *et al.* 1997

Nome	E ⁰ (V)
Flúor	3,03
Radical hidroxila	2,80
Ozônio	2,07
Peróxido de Hidrogênio	1,77
Permanganato de potássio	1,67
Ácido hipocloroso	1,50
Dióxido de cloro	1,49
Cloro	1,36
Oxigênio	1,20*

Entre algumas das desvantagens dos POAs está a formação de subprodutos de reação, que em alguns casos podem ser mais tóxicos que os próprios compostos de origem, sendo necessário um acompanhamento da toxicidade. Uma outra desvantagem se refere aos custos, como por exemplo de energia, pois em vários processos é necessário o emprego de radiação.

A Tabela 2.7 apresenta alguns trabalhos relevantes sobre processos oxidativos avançados para degradação da ATZ e TBZ, expondo as condições de operação (tipo de reator, lâmpada, concentrações dos pesticidas e das substâncias utilizadas, e a técnica para degradação dos pesticidas). As formas com que os autores apresentam os

resultados são bastante distintas, sendo às vezes em função do COT residual, do tempo de reação necessário para completa remoção do pesticida e outros.

Tabela 2.7 Trabalhos Utilizando Processos Oxidativos Avançados na Degradação de Pesticidas

Processo/ Referência	Observações
Fotocatálise da Atrazina TiO ₂ /UV/PELIZZETTI <i>et al.</i> , 1990	Utilizaram uma lâmpada de xenônio com filtro de corte em 340 nm. Foi utilizada uma concentração de atrazina de $1,16 \times 10^{-4}$ mol/L e [TiO ₂]= 5 mg/L. A atrazina foi totalmente degradada em 20 min de reação.
UV/H ₂ O ₂ e UV da Atrazina/BELTRÁN <i>et al.</i> , 1993.	A oxidação da atrazina em água por fotólise direta em 254 nm e UV/H ₂ O ₂ em um reator de 850 cm ³ foi estudada. A influência de íons bicarbonato/carbonato e de uma substância húmica na taxa da oxidação foram avaliadas. A concentração de atrazina utilizada na degradação com UV/H ₂ O ₂ foi de $4,8 \times 10^{-5}$ mol/L e concentração de H ₂ O ₂ de 6×10^{-4} mol/L e foram necessários 10 min para que C/Ca ₀ = 0. Para o UV apenas utilizou uma concentração inicial de ATZ de $4,5 \times 10^{-5}$ mol/L e após 20 min a relação C/Ca ₀ = 0.
Ozonização da Atrazina/BELTRÁN <i>et al.</i> , 1994.	Foram testadas diferentes concentrações de ATZ de $4,2 \times 10^{-5}$ a $7,3 \times 10^{-5}$ M, pressão de ozônio de 500 a 2000 Pa, T= 3, 10 e 20°C, pH 2, 7 e 12. A constante da taxa de reação direta com ozônio obtida pelos autores foi considerada muito baixa ($6,3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ a 20°C).
Estudo da cinética de degradação da atrazina por UV/H ₂ O ₂ /ARÁNTEGUI <i>et al.</i> , 1995.	A taxa de fotodecomposição e oxidação das soluções aquosas de atrazina seguiram uma cinética de primeira ordem. No caso do H ₂ O ₂ /UV, um efeito sinérgico foi observado.

<p style="text-align: center;">UV/H₂O₂ e TiO₂/UV/SANLAVILLE <i>et al.</i>,1996.</p>	<p>Utilizaram um reator de 850 cm³ e uma lâmpada de Hg de baixa pressão ($\lambda= 254$ nm) na degradação da terbutilazina em uma concentração de 2,18x10⁻⁵ mol/L. Após 5 min de reação a concentração de atrazina era de aproximadamente zero e o subproduto amelina foi formado. Utilizaram também um reator de 100 mL e uma lâmpada de xenônio (290 nm) para fotocatalise com uma concentração de TiO₂ de 72 mg/L e de terbutilazina de 2,5x10⁻⁵ mol/L, sendo que o tempo para que a terbutilazina fosse degradada foi de 30 min, obtendo a formação do ácido cianúrico.</p>
<p style="text-align: center;">Ozonização da atrazina em diferentes matrizes (água ultrapura, água de rio e água de um reservatório). Ozonização direta da atrazina ou combinada com H₂O₂ ou UV/BELTRÁN <i>et al.</i>, 2000.</p>	<p>Dos resultados experimentais obtidos para ozonização, verificaram que as conversões da ATZ são dependentes da natureza da água onde a remoção em água pura > água do reservatório > água do rio. Tanto a remoção da atrazina quanto a oxidação dos intermediários, foram maiores quando se combinou o ozônio com a radiação UV. Os modelos cinéticos confirmam que a oxidação da ATZ se deu principalmente devido as reações envolvendo radicais OH. Os principais intermediários formados na ozonização foram a desetilatraxina (DEA), desisopropilatraxina (DIA) e desetildeisopropilatraxina (DEIA).</p>
<p style="text-align: center;">Processo de Oxidação Catalítica (COP)/ CHAN e CHU, 2003.</p>	<p>Dependendo da relação Fe(II)/H₂O₂ os autores obtiveram uma degradação de 15 a 98% da atrazina.</p>
<p style="text-align: center;">Decomposição da atrazina por Fenton em uma reação com H₂O₂/ferrihidrita/BARREIRO <i>et al.</i>, 2005.</p>	<p>Foi pesquisada a decomposição da atrazina pela reação de Fenton na presença de minerais (solo) goet-hita, ferrihidrita e lepidocrocita e de alguns ácidos húmicos provenientes do solo. Verificaram que a taxa de oxidação depende fortemente do pH e que foi maior no pH 4-3 que é a escala de pH onde a dissolução da ferrihidrita é aumentada fortemente.</p>

foto-Fenton/Ozônio e Fotocatálise-TiO ₂ /Ozônio/ FARRÉ <i>et al.</i> , 2005.	Foram estudadas as reações de foto-Fenton/Ozônio e TiO ₂ /Ozônio dos pesticidas pentaclorofenol, isoproturon, diuron, alaclor, atrazina e clorofeninfos. Os melhores resultados de mineralização dos pesticidas foram obtidos quando se utilizou foto-Fenton/Ozônio, sendo que em 12 min do processo praticamente não havia mais atrazina em solução. Já para a reação com TiO ₂ /Ozônio em 10 min a ATZ foi totalmente degradada.
Degradação fotocatalítica da ATZ com filme de TiO ₂ / MCMURRAY <i>et al.</i> , 2006.	Identificaram os intermediários formados. Verificaram uma redução do COT de 40% em 300 min de reação.
Fotocatálise em filme com partículas de TiO ₂ na degradação da ATZ/MCMURRAY <i>et al.</i> , 2006.	A remoção completa do pesticida se deu após 150 min de tratamento. A degradação seguiu uma cinética de pseudo primeiro ordem. O COT diminuiu 40%, de 10,6 mg/L para 6,3 mg/L após 300 min. Foi sugerida a formação de desisopropilatrazina, 2-hidroxisisopropil atrazina e 2-hidroxi-4-amino-6-(1-metil-1-etanol) amino- 1,3,5-triazina.
TiO ₂ /UV e foto-Fenton da Atrazina/PÉREZ <i>et al.</i> , 2006.	Utilizaram radiação solar (30 W/m ²) com uma concentração de [TiO ₂]= 200 mg/L e de atrazina [ATZ] ₀ = 25 mg/L A relação de COT/COT ₀ chegou a 3/8 em 380 min e a concentração de atrazina chegou a zero com 50 min de tratamento, sendo que com 10 horas chegaram ao ácido cianúrico. Já para o foto-Fenton também com radiação solar (30W/m ²), [ATZ] ₀ = 25 mg/L e [Fe ²⁺]= 55 mg/L a relação COT/COT ₀ =3/8 em 100 min.
Combinação do ozônio e foto-Fenton no pré-tratamento da pentaclorofenol, isoproturon, diuron, alaclor e ATZ com posterior tratamento biológico/FARRÉ <i>et al.</i> , 2007.	Obtiveram bons resultados para as três técnicas utilizadas na degradação do isoproturon, do diuron, do alaclor e da atrazina, porém para o pentaclorofenol obtiveram soluções não biodegradáveis e tóxicas após os tratamentos. Após 12 min de tratamento fotocatalítico com ozônio praticamente não havia mais atrazina na solução. Apenas 30% do COT foi removido após 150 min de reação.

<p>Degradação da ATZ por fotocatalise heterogênea utilizando filme de $\text{TiO}_2\text{:Ag}$ (0,15%Ag)/COSTA <i>et al.</i>, 2007.</p>	<p>Observaram uma elevada taxa de degradação após 24 h de irradiação de uma solução de ATZ 5 mg/L usando $\text{TiO}_2\text{:Ag/UV}$.</p>
<p>Oxidação da ATZ na presença de H_2O_2 e ferridrita em concentrações e em diferentes valores de pH/BARREIRO <i>et al.</i>, 2007.</p>	<p>A diminuição na concentração de ATZ ($[\text{ATZ}]_0 = 37 \mu\text{M}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 2 \text{ mM}$, $[\text{ferridrita}] = 0,2\text{g/L}$) em pH 3 foi seguida pelo aumento em concentração de três intermediários. Durante 8 dias, uma redução de ATZ de 21% foi seguida pela formação de DEA (5,1%), DIA (3,4%) e ATZ-OH (2,1%) e parte (10,5%) como produtos não identificados da oxidação.</p>
<p>Biodegradação da Atrazina na microbacia de Espraiado (Ribeirão Preto-SP)/UETA <i>et al.</i>, 2007.</p>	<p>As amostras de solo foram coletadas a profundidades diferentes (0-20 e 80-90 cm) e incorporadas com atrazina (1 mg/mL em suspensão de solo). As suspensões foram plaqueadas revelando populações diversas de microrganismos que isolados foram testados em sua habilidade para metabolizar atrazina. Para monitorar a degradação de ATZ os microrganismos foram incubados em meio líquido contendo como única fonte de carbono a atrazina (10 $\mu\text{g/mL}$). Observaram a degradação total da ATZ após 26 dias de incubação.</p>
<p>foto-Fenton da Atrazina e outros pesticidas/LAPERTOT <i>et al.</i>, 2007.</p>	<p>Utilizaram foto-Fenton para degradação dos pesticidas alaclor, atrazina, clorfenvinfos, diuron, isoproturon. Foram necessários 0,94 h para degradar 100% de uma solução de ATZ de 30 mg/L. Para remover o 80% do COT foram necessários 3,5 h de irradiação.</p>
<p>Ocorrência e remoção de herbicidas em água potável durante o processo convencional de tratamento de água/HLADIK <i>et al.</i>, 2008</p>	<p>Remoções significativas foram obtidas (média de 40% para todos os compostos) somente nas amostras que empregaram o carvão ativado.</p>
<p>Bioreator de membrana com microorganismo modificado/LIU <i>et al.</i>, 2008.</p>	<p>Uma remoção eficiente da atrazina foi verificada após a passagem de efluente doméstico e sintético por um bioreator de membrana (MBR) com um microorganismo geneticamente projetado (GEMA) e a eficiência da remoção ficou acima de 90%.</p>

Fotocatálise TiO ₂ /UV e TiO ₂ /UV/carvão ativado/JAIN <i>et al.</i> , 2009.	Pesquisaram a degradação da atrazina [ATZ] ₀ (1,39x10 ⁻⁴ mol/L) utilizando uma lâmpada de baixa pressão de Hg ($\lambda= 254$ nm) e 32°C. Analisando os resultados através de HPLC LC-MS e COT obtiveram uma concentração igual a zero (ou não detectável) em 120 min de reação. Para reação com carvão ativado utilizaram as mesmas condições citadas anteriormente com uma concentração de carvão ativado de 1 g/L e [TiO ₂] ₀ = 1 g/L. Obtiveram a degradação total do pesticida em 240 min e uma eliminação do COT de 90%.
Estudo da degradação da ATZ por radicais OH formados a partir do processo foto-Fenton/ BALCI <i>et al.</i> , 2009.	Identificaram e verificaram a evolução de sete principais intermediários aromáticos e de quatro ácidos carboxílicos por HPLC. Obteve-se uma mineralização de 82%.
Degradação de 9 contaminantes emergentes, entre eles Atrazina, por Solar foto-Fenton e TiO ₂ /KLAMERTH <i>et al.</i> , 2009.	Foto-Fenton foi mais eficaz do que TiO ₂ para degradar os contaminantes. Após 200 min 88% da atrazina foi removida por fotocatalise.
Degradação da atrazina em efluente por fotocatalise utilizando um sistema UV/FeZSM-5/H ₂ O ₂ /GRCIC <i>et al.</i> , 2009	Obtiveram uma constante de pseudo-primeiro-ordem para degradação da ATZ com $k= 2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$.

A partir da Tabela 2.7, fica claro que os pesticidas atrazina e terbutilazina causam bastante preocupação devido ao número de trabalhos relacionados à sua degradação encontrados na literatura. Pode-se observar que muitos desses trabalhos utilizam os radicais hidroxila como oxidante principal para degradação da ATZ e TBZ, sendo que UV/H₂O₂ e a fotocatalise se mostraram bastante eficientes. Em alguns casos os autores preocuparam-se em identificar os intermediários. Porém, trabalhos que aliam a avaliação dos processos para sua degradação bem como a atividade estrogênica das soluções resultantes e identificação dos intermediários ainda são incipientes.

2.4.1. Processo UV/H₂O₂

Um dos processos oxidativos avançados extensamente estudado e há muito empregado é o método UV/H₂O₂. Este processo é utilizado com êxito na remoção de contaminantes presentes em águas e efluentes industriais, incluindo organoclorados alifáticos, aromáticos, fenóis (clorados e substituídos) e pesticidas.

Sabe-se que a luz UV pode ser utilizada de duas formas para fotodegradação de poluentes. A primeira seria a fotodegradação direta onde se dá a excitação direta do poluente pela luz UV. Na segunda a foto-oxidação a luz leva ao processo oxidativo iniciado pelos radicais hidroxila. Este último processo envolve o uso de um oxidante que gera os radicais OH que atacam os poluentes orgânicos e iniciam a oxidação. Os três oxidantes mais usados são: peróxido de hidrogênio, ozônio e sistema foto-Fenton (Fe⁺³/H₂O₂).

O processo UV/H₂O₂, que combina a radiação ultravioleta (UV) com peróxido de hidrogênio H₂O₂, é baseado em duas etapas principais: a formação de radicais hidroxila pela fotólise direta de H₂O₂ e as reações de oxidação das moléculas orgânicas pelos radicais OH.

O mecanismo mais aceito atualmente para fotólise do H₂O₂ é a clivagem da molécula de H₂O₂ por fótons com energia superior a da ligação O-O (48,5 kcal/mol) apresentado na Equação 2.1. Este mecanismo tem um rendimento quântico quase unitário produzindo quase quantitativamente dois HO• por cada molécula de H₂O₂.



Os passos seguintes do mecanismo de oxidação compreendem uma série de reações de propagação de radicais livres até a oxidação completa do poluente, que se traduz na conversão das moléculas a CO₂ e H₂O. As reações de oxidação das moléculas orgânicas pelos radicais, segundo BRAUN e OLIVEROS (1997) podem ser descritas pelas Equações 2.2, 2.3 e 2.4.

Abstração de Hidrogênio



Adição a ligações insaturadas



Transferência de elétrons



Sabe-se que com um aumento da concentração de H_2O_2 há um aumento da taxa de degradação que pode ser explicado pela produção adicional de radicais OH. Porém com excesso de peróxido e altas concentrações de $\text{HO}\bullet$, reações competitivas podem inibir a degradação. Os radicais $\text{HO}\bullet$ são suscetíveis a recombinar-se ou reagir de acordo com as reações 2.5, 2.6, 2.7 e 2.8.



Este efeito *scavenging* (sequestrante) do radical OH, onde os radicais livres reagem com o peróxido de hidrogênio diminuindo assim a sua contribuição para a reação, pode levar a rendimentos mais baixos das taxas de degradação. Portanto, as reações com peróxido necessitam de uma quantidade ótima, pois acima da mesma (um excesso) o rendimento pode decair devido a essas reações (DANESHVAR *et al.*, 2005).

A estabilidade do H_2O_2 varia em função do pH e da temperatura. Maiores temperaturas e pH básico favorecem sua decomposição em H_2O e O_2 conforme a Equação 2.9 (LIRA, 2006 ; CHU *et al.*, 2000).



CHU (2000) em seu estudo sobre a degradação do herbicida 2,4D verificou que as taxas de degradação observadas em valores de pH neutros e elevados eram mais baixas do que aquelas em baixo pH. A auto-decomposição do peróxido contribui em parte para isto, segundo o autor, porque a taxa da auto-decomposição é fortemente dependente do pH.

Segundo TUHKANEN (2004), a taxa de eliminação dos compostos orgânicos tem pelo menos duas contribuições: a fotólise direta do composto e o ataque via radicais hidroxila, que pode ser descrita de acordo com a Equação 2.10.

$$-\frac{d[C]}{dt} = I_0 \phi_{CFC} (1 - \exp(-A_t)) + k_{OH,C} [OH][C] \quad (2.10)$$

Onde $k_{OH,C}$ é a constante de segunda ordem da taxa de reação do radical OH com o composto C. Porém, é comum utilizar uma constante de pseudo primeira ordem para taxa de reação. A mesma pode ser obtida a partir da equação Equação 2.11.

$$-\ln \frac{C}{C_0} = k' t \quad (2.11)$$

Onde k' = constante de pseudo primeira ordem, s^{-1} .

Diversos autores estudaram o processo UV/H₂O₂ para vários compostos diferentes como fármacos, corantes, pesticidas e efluentes de maneira geral. MURUGANANDHAM e SWAMINATHAN (2004) estudaram a foto-oxidação da clorotriazina com reativo azo na presença de UV/H₂O₂. Estudaram o efeito do pH, dose de H₂O₂, potência da lâmpada UV. Estes parâmetros influenciaram fortemente a descoloração e a degradação das substâncias. Segundo os autores as cinéticas da descoloração e da degradação seguiram uma equação de pseudo-primeira ordem. Verificaram que o processo foi mais eficiente em meio ácido (pH 2-4).

ALHAMEDI *et al.* (2009) em seu estudo sobre a degradação da Rodamina B verificou que a taxa de descoloração foi mais baixa em pH alcalino se comparado ao meio ácido. A foto-oxidação da Rodamina B foi realizada na presença de H₂O₂/UV. Os efeitos da concentração do corante, do pH, da dose H₂O₂ e do tempo de irradiação

foram estudados. É interessante observar que os autores verificaram que aumentando a concentração do H_2O_2 fez com que, igualmente, aumentasse a descoloração até um determinado limite depois do qual começa a diminuir. As condições ótimas encontradas para o experimento foram $[\text{corante}] = 10\mu\text{M}$ e $[\text{H}_2\text{O}_2] = 1,67\text{ mM}$ em pH 7. Sob estas circunstâncias, uma máxima descoloração de 73% foi obtida.

ARÁNTGUI *et al.* (1994) estudaram a degradação da ATZ por UV/ H_2O_2 utilizando uma lâmpada de mercúrio emitindo em 240-540 nm com fluxo do fotônico de 78,2 $\mu\text{einstein/s}$. De acordo com os autores apenas a fotólise não degradou completamente a atrazina. Avaliaram a influência do pH onde os resultados para pH 7 e 9 foram bastante parecidos e foram necessários aproximadamente 90 e 120 min, respectivamente, para degradar o pesticida.

BELTRÁN *et al.* (1993) também estudaram a degradação da atrazina por UV/ H_2O_2 e por fotólise direta em 254 nm. Pesquisaram a influência de íons bicarbonato/carbonato e de uma substância húmica comercial na oxidação do pesticida. Obteveram conversões maiores que 99% para atrazina para ambos os tipos de oxidação em menos de 15 min de tratamento, dependendo da concentração inicial de ATZ utilizada. A taxa da oxidação foi mais rápida utilizando a radiação UV/ H_2O_2 . A substância húmica quando adicionada a reação retardou as taxas de ambos os processos, pois absorveu a radiação e agiu como sequestrante de radicais OH. A concentração ótima de H_2O_2 foi de 0,01 M, acima da qual a taxa da oxidação da atrazina diminuiu. A constante da taxa de oxidação pelo radical OH foi de $1,8 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

2.4.2. Ozonização

O ozônio é um gás incolor a temperatura ambiente com fórmula molecular O_3 e massa molar de 48 g/mol e, em altas concentrações, é um gás tóxico. É instável em água, apresentando uma meia-vida de minutos, devendo, portanto, ser produzido *in-situ* (AZEVEDO, 2003).

O ozônio pode ser gerado a partir de descargas elétricas nas moléculas de O_2 . As reações 2.12 e 2.13 mostram a formação do ozônio a partir da molécula de O_2 .



É um poderoso oxidante e eficiente bactericida, aplicado há muitos anos como desinfetante em diversos países do mundo (EIGER *et al.*, 1998; DOMÉNECH, 2001). Porém, segundo EIGER *et al.* (1998) no Brasil, seu uso se limita no tratamento de determinadas categorias de efluentes industriais e processos de tratamento de água visando aplicações específicas em processos industriais, não tendo sido reportado nenhuma aplicação direta no tratamento de águas de abastecimento. De acordo com DOMÉNECH (2001) seu uso melhora o gosto, cor e características de filtração.

A ozonização é um dos processos oxidativos onde o ozônio pode reagir tanto de forma direta com um substrato orgânico como a partir de uma reação via radical OH que é favorecida em meio alcalino. As Equações 2.14 e 2.15 mostram a decomposição do ozônio gerando radicais hidroxila ($\cdot\text{OH}$).



Os tratamentos utilizando ozônio vem sendo estudados como alternativa para tratamento de efluentes, nos últimos anos, por apresentar uma série de vantagens como por exemplo o alto potencial de oxidação do O_3 mesmo a baixas concentrações, a alta geração de radicais OH em pH básico aumentando assim sua eficiência na decomposição da matéria orgânica e, também possui baixa sensibilidade a alterações de temperatura.

Diversos fatores influenciam na decomposição do ozônio incluindo alguns parâmetros da água como força iônica, pH e temperatura. O ozônio molecular é um agente oxidante mais fraco e mais seletivo do que o radical livre $\cdot\text{OH}$ (RICE, 1996; VON GUNTEN, 2003).

A oxidação dos compostos orgânicos via ozônio pode ocorrer via ozônio molecular ou radicais OH ou uma combinação dos dois (VON GUNTEN, 2003). Como exposto anteriormente o pH do meio afeta diretamente a ação sobre a matéria orgânica,

diretamente via ozônio molecular ou indiretamente via radical OH. Estes caminhos de reação diferentes conduzem a produtos de oxidação diferentes e são controlados por modelos cinéticos diferentes.

Em baixo pH, o ozônio reage principalmente com compostos com grupos funcionais específicos, como reações de adição eletrofílica, nucleofílica ou dipolar (reação direta, O₃). Por outro lado, em meio básico, o ozônio se decompõe em radicais hidroxila, que são espécies que reagem não seletivamente de uma maneira mais ampla com compostos orgânicos. Geralmente, em condições ácidas (pH<4) a oxidação via ozônio molecular é predominante. Com pH entre 4 e 9 ambos agem em conjunto (radical OH e ozônio molecular) e acima de 9 o caminho preferencial é o indireto, via radicais OH (DANTAS, 2005).

Para determinação das cinéticas de reação geralmente são usados capturadores de radicais (*scavengers*) com a finalidade de se realizar a reação diretamente via ozônio molecular. O 2-metil 2-propanol (t-butanol) é o *scavenger* mais utilizado para eliminar a interferência dos radicais OH na reação, ele possui uma constante de reação de 6x10⁸ M⁻¹s⁻¹ (BUXTON *et al.*, 1988) para os radicais OH e 3x10⁻³ M⁻¹s⁻¹ (HOIGNÉ e BADER, 1983), para o ozônio molecular.

De acordo com VON GUNTEN (2003), para a quantificação da oxidação pelo ozônio e por radicais OH durante um processo de ozonização é necessário estudar a cinética para a reação. Segundo PILLAI *et al.* (2009) e VON GUNTEN (2003) a taxa total de degradação (r_{tot} , mol cm⁻³s⁻¹) de um composto é a soma das contribuições da taxa de reação pelo ozônio molecular (r_{mol} , mol cm⁻³s⁻¹) e da taxa da reação devido aos radicais do •OH (r_{rad} , mol cm⁻³s⁻¹). Assim, esta relação é descrita pelas Equações 2.16 e 2.17.

$$r_{tot} = r_{mol} + r_{rad} \quad (2.16)$$

$$r_{tot} = K_{mol}[A][O_3]^m + K_{rad}[A][\bullet OH]^n \quad (2.17)$$

Onde o K_{mol} e os K_{rad} são as constantes cinéticas de segunda ordem (mol cm⁻³ s⁻¹), *m* e *n* são as ordens de reação no que diz respeito a O₃ e aos radicais •OH,

respectivamente. Conseqüentemente, a Equação 2.17 pode ser escrita como as Equações 2.18, 2.19 e 2.20.

$$r_{\text{tot}} = K'_{\text{mol}}[A] + K'_{\text{rad}}[A] \quad (2.18)$$

$$r_{\text{tot}} = (K'_{\text{mol}} + K'_{\text{rad}})[A] \quad (2.19)$$

$$r_{\text{tot}} = K'_{\text{tot}}[A] \quad (2.20)$$

Onde $K'_{\text{mol}} = (K_{\text{mol}}[\text{O}_3]^m)$ e $K'_{\text{rad}} = (K_{\text{rad}}[\bullet\text{OH}]^n)$

São as constantes cinéticas de pseudo primeira ordem em s^{-1} para as reações via ozônio molecular e via radical $\bullet\text{OH}$, respectivamente. $K'_{\text{tot}} (\text{s}^{-1})$ é a constante cinética de pseudo primeira ordem total para ozonização. Assim, a equação da constante cinética pode ser descrita pela Equação 2.21.

$$K'_{\text{tot}} = K'_{\text{mol}} + K'_{\text{rad}} \quad (2.21)$$

De acordo com VON GUNTEN (2003) a degradação do ozônio em águas naturais são caracterizadas por uma diminuição inicial rápida do ozônio, seguida por uma segunda fase em que ozônio diminui de acordo com uma cinética de pseudo primeira ordem. A estabilidade do ozônio depende em grande parte da matriz aquosa, do seu pH, do tipo e teor de matéria orgânica natural (NOM) e de sua alcalinidade. A decomposição do ozônio pode ser acelerada pelo aumento do pH, pela adição de peróxido de hidrogênio ou por luz UV. Um dos principais fatores e que, por sua vez merece especial atenção para a estabilidade do ozônio é o pH, uma vez que os íons hidroxila iniciam o processo de decomposição do ozônio como pode se observar nas Equações 2.22, 2.23 e 2.24.



RICE (1996) cita algumas aplicações do ozônio em tratamento de efluentes, são elas: reúso de água de aquários marinhos (BOD_5 , NH_3 , desinfecção), efluentes de unidade de eletrodeposição (remoção cianeto), indústrias têxteis (remoção de cor e de surfactantes), refinarias de petróleo (remoção de matéria orgânica – particularmente fenóis).

Muitos micropoluentes já foram oxidados por ozônio, fármacos e pesticidas estão entre os mais estudados. Em geral as reações de degradação dos compostos orgânicos pelo ozônio ocorrem preferivelmente com compostos insaturados como alcenos, alcinos, anéis aromáticos, etc (LANGLAIS *et al.*, 1991)

ACERO *et al.* (2000) investigaram a degradação da atrazina pelo ozônio molecular e pelos radicais OH durante a ozonização e identificaram os principais produtos de degradação. As condições utilizadas foram pH 7, 20°C, $[O_3]_0 = 10$ mg/L, [t-Butanol]= 2 mM, $[ATZ]_0 = 4,55$ μ M. Foram necessários 120 min para que se alcançasse sua degradação completa.

CHU e MA (2000) fizeram uma avaliação quantitativa da ozonização direta e oxidação indireta do radical OH de corantes e avaliaram a cinética de reação. Segundo os autores a reação seguiu uma cinética de pseudo primeira ordem e as constantes da taxa diminuíram quando a relação corante/ozônio aumentou. Para todos os corantes as taxas de degradação aumentaram com o aumento do pH inicial da solução. Utilizaram um sequestrante de radicais OH e verificaram que a ozonização dos corantes em um pH elevado teve uma maior contribuição dos radicais OH.

PRADO e ESPULGAS (1999) estudaram a oxidação da atrazina por diferentes processos oxidativos e em diferentes valores de pH e, assim como os demais autores, comprovaram que existem duas formas de degradação via ozônio e que dependem diretamente do pH. Obtiveram os melhores resultados em pH 11 onde, com 30 min de reação, o composto não era mais detectado no meio.

FARRÉ *et al.* (2007) utilizaram uma combinação de ozônio e foto-Fenton como tratamento de soluções aquosas dos pesticidas pentaclorofenol, isoproturon, diuron, alaclor e atrazina (todos pertencem a lista de prioridade de poluentes da União

Européia). A intenção dos autores foi gerar intermediários que poderiam ser degradados por um posterior tratamento biológico. Foram determinadas a biodegradabilidade e a toxicidade das soluções tratadas a fim de avaliar o acoplamento entre o processo químico e o biológico. Os resultados obtidos pelos autores com as três técnicas se mostraram eficientes para a remoção do isoproturon, do diuron, do alaclor e da atrazina, mas não para o pentacloropenol, pois as soluções obtidas não eram biodegradáveis e, além disso, eram mais tóxicas do que a solução original.

ORMAD *et al.* (2008) realizou um estudo bastante interessante sobre a eficácia dos tratamentos utilizados em estações de tratamento de água da Espanha para degradar 44 pesticidas detectados na bacia do rio Ebro. Os pesticidas estudados foram: atrazina, alaclor, aldrin, ametrin, clorfenvinfos, clorpirifos, *pp'*-DDD, *op'*-DDE, *op'*-DDT, *pp'*-DDT, desetilatrazina, 3,4 dicloroanilina, 4,4' diclorobenzofenona, dicofol, dieldrin, dimetoato, diuron, α -endossulfan, endossulfansulfato, endrina, α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH, heptacloro, heptacloro epóxido A, heptacloro epóxido B, hexaclorobenzeno, isodrin, 4-isopropilanilina, isoproturon, metolaclor, metoxiclor, molinato, metil paration, etil paration, prometon, prometrin, propazina, simazina, terbutilazina, terbutrin, tetradifon e trifluralin. As técnicas aplicadas foram: pré-oxidação por cloro ou ozônio, precipitação química com sulfato de alumínio e adsorção em carvão ativado.

A oxidação pelo cloro removeu 60% dos pesticidas, porém os autores verificaram que ao combinar esta técnica com um processo de coagulação-floculação e decantação a remoção foi mais eficaz. A oxidação por ozônio removeu 70% dos pesticidas. Embora a combinação com um processo subsequente de coagulação-floculação-decantação não tenha melhorado a eficiência do processo, a combinação com o processo da adsorção com carvão ativado aumentou a remoção para 90% dos pesticidas avaliados. Esta técnica foi sugerida pelos autores como a mais eficiente entre as técnicas estudadas para degradar/remover a maioria dos pesticidas estudados.

Segundo VON GUNTEN (2003), a mais baixa reatividade com ozônio observada para pesticidas é com endrin, que é um composto cíclico com uma ligação dupla clorosubstituída. A atrazina, que contém um anel aromático com heteroátomo possui constante cinética baixa, assim como o alaclor, enquanto que a constante para o carbofuran é mais elevada. A constante cinética da reação direta com ozônio molecular

para atrazina, a temperatura ambiente, foi de $6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ e tempo de meia vida de 96 min, já para a reação indireta com radicais OH a constante cinética é de $3 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. A constante cinética do Endrin, a mais baixa dentre os pesticidas foi $< 0,02 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ com tempo de meia vida > 20 dias e para reação com ozônio molecular foi de $1 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

WERT *et al.* (2009) estudaram a oxidação do ozônio para amostras de efluentes contaminadas com 31 contaminantes orgânicos que incluem a desreguladores endócrinos e fármacos. Foram avaliadas a presença de matéria orgânica presente no efluente (EfOM), nitrito e alcalinidade na decomposição do ozônio. Verificaram a influência do radical OH e que estavam disponíveis para degradação dos contaminantes durante o estágio inicial da decomposição do O_3 ($t < 30$ s). Verificou que a reatividade da EfOM interferiu na remoção dos contaminantes. Alguns contaminantes seguiram uma taxa de reação de segunda ordem cujas constantes foram $K_{\text{O}_3} > 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ e $K_{\text{OH}} > 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ incluindo o carbamazepine, diclofenaco, naproxeno, sulfametoxazol e triclosan, sendo que estes apresentaram remoções superiores a 95%. A remoção dos contaminantes atrazina, iopromida, diazepam e ibuprofeno apresentaram constantes $K_{\text{O}_3} < 10 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ e $K_{\text{OH}} > 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo é apresentada uma descrição da metodologia experimental empregada no trabalho. São descritos os reagentes e o preparo das soluções utilizadas bem como as metodologias analíticas utilizadas para determinação das concentrações do pesticida, do carbono orgânico total, da atividade estrogênica, da toxicidade e da identificação dos intermediários. Serão descritos também os processos de ozonização, UV e UV/H₂O₂ utilizados para degradação do pesticida.

3.1. Materiais

Neste trabalho foram utilizadas atrazina (99% de pureza) e terbutilazina (99% de pureza) obtidas de Fluka/Sigma Aldrich (Espanha e Brasil). Acetonitrila, diclorometano, metanol, ácido sulfúrico, NaOH, KI, peróxido de hidrogênio (30% P/V) foram adquiridos da Panreac Química S.A. (Espanha) e Merck (Brasil). A Catalase de fígado bovino foi obtida de Sigma Aldrich. Os tampões Na₂HPO₄, H₃PO₄ e KH₂PO₄ de Panreac Química S.A. (Espanha).

17β-estradiol (98%), KH₂PO₄, (NH₄)₂SO₄, MgSO₄, Fe₂(SO₄)₃, L-leucina, L-histidina, adenina, L-arginina-HCl, L-metionina, L-tirosina, L-isoleucina, L-lisina-HCl, L-fenilalanina, L-ácido glutâmico, L-valina, L-serina, tiamina, piridoxina, pantetonato de cálcio, inositol, D-glucose, ácido aspártico, L-treonina, sulfato de cobre (II) e KOH peletes foram obtidos da Sigma-Aldrich. Biotina e Etanol absoluto foram adquiridos da Merck. Hexano, Metanol, Acetona e 2-metil-2-propanol (t-butanol) da Panreac Química S.A. (Espanha) e, também, em Merck (Brasil). CPRG (clorofenol vermelho-β-D-galactopiranosida) foi adquirido da Roche Diagnostics GmbH.

A água ultrapura foi obtida a partir de um sistema de filtração Mili-Q (Millipore, USA). Também foi utilizado, como matriz real, o efluente proveniente do tratamento secundário da estação de tratamento de esgoto de Gavà-Viladecans (Barcelona, Espanha). Este efluente foi filtrado em membranas de 10 µm e armazenado a uma temperatura de 4°C por no máximo 5 dias.

3.1.1. Preparo das Soluções

As soluções de atrazina utilizadas nos experimentos de ozonização, UV e UV/H₂O₂ foram preparadas com água ultrapura (livre de matéria orgânica, sais e microorganismos) ou com efluente secundário. As soluções com uma concentração inicial de atrazina de 20 mg/L e de 10 mg/L foram preparadas no dia anterior pois necessitaram a passagem por ondas de ultrassom e, posteriormente, agitação magnética por 24 h para garantir sua total solubilização. O procedimento utilizado na preparação das soluções foi o mesmo quando se utilizou como matriz a água ultrapura ou o efluente.

As soluções com concentração inicial de 0,5 mg/L eram preparadas no mesmo dia em que seriam utilizadas. Estas foram preparadas a partir de soluções estoque de 10 mg/L de atrazina em água ultrapura que era estocada por no máximo uma semana a 4°C.

As soluções de terbutilazina com concentração inicial de 0,5 mg/L eram preparadas da mesma forma que as soluções de atrazina. Foram preparadas a partir de soluções estoque de 8 mg/L de terbutilazina em água Mili-Q ultrapura que era estocada por no máximo uma semana a 4°C.

A catalase de fígado bovino, utilizada para decompor o excesso de peróxido após as reações de UV/H₂O₂, foi preparada em soluções entre 40000 - 60000 unidades/mg de proteína. Sabe-se que 1 unidade decompõe 1 μmol de H₂O₂.

A solução de 17β-estradiol foi preparada a uma concentração de 100 mg/L em etanol, devido sua baixa solubilidade em água, e estocada a 4°C. As soluções utilizadas posteriormente no teste YES foram obtidas a partir desta solução estoque.

3.2. Metodologia Analítica

Foram utilizadas, como metodologia analítica, a detecção por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) para a determinação das concentrações do pesticida. A determinação do carbono orgânico total foi realizada através do Analisador de Carbono Orgânico Total da marca *Shimadzu 5055* ®. A atividade estrogênica foi avaliada pelo ensaio *in vitro* YES que seguiu o procedimento descrito por Routledge e Sumpter (1996). A toxicidade foi realizada através de testes com um sistema denominado *Microtox* ®.

3.2.1. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

Para quantificação do pesticida foi utilizada a cromatografia líquida de alta resolução (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) com um detector de fotodiodo, *Waters*™ 996 Photodiode Array Detector da *Waters Corporation*, Massachusetts (USA), equipado com coluna C-18 Tracer Extrasil ODS2, fornecida por *Teknokroma*®. Os cromatogramas foram obtidos através do software *Millenium*.

Utilizou-se como fase móvel 60:40% (v/v) de acetonitrila e água ultrapura respectivamente. Foram injetados 20 µL de solução a um fluxo de 1 mL/min, utilizou-se o sistema de auto-injeção. O comprimento de onda para detecção foi de 220 nm e o tempo de retenção foi de 7 minutos.

3.2.2. Teor de Carbono Orgânico Total

O carbono orgânico total (COT) é a quantidade de carbono ligado a um composto orgânico e é medido através da diferença entre o carbono total existente na amostra e o carbono inorgânico, referente aos carbonatos e bicarbonatos. Como esse carbono ao se oxidar consome o oxigênio dissolvido na água, a quantificação do carbono orgânico total é um bom indicador, intimamente relacionado com a matéria

orgânica existente nos meios hídricos e muito empregado para avaliar a eficiência da degradação de compostos orgânicos e também de tratamento de efluentes industriais.

A medida das concentrações de carbono orgânico total (COT) nas amostras foi realizada através de um analisador *Shimadzu TOC-VCSN*. Esse sistema baseia-se no princípio da combustão por oxidação catalítica das amostras utilizando um método de detecção por infravermelho não dispersivo. O gás de arraste utilizado foi ar sintético ultrapuro e a temperatura de combustão é de 680°C.

3.2.3. Identificação Intermediários

Os intermediários formados durante o processo de ozonização da reação da atrazina com concentração inicial 0,5 mg/L com ozônio foram identificados por meio da análise em um Cromatógrafo Líquido acoplado a um Espectrofotômetro de Massas com analisador de massa/carga (LC/MS-TOF) do Laboratório de Espectroscopia de Massas da Universidade de Barcelona. A mistura de eluente H₂O-Acetonitrila (40:60) era direcionada para o detector de eletro spray (ESI) trabalhando no modo de íons positivo (M-H⁺). As condições utilizadas no MS foram temperatura capilar ajustada a 250°C com uma tensão de 215 V e uma tensão do pulverizador de 4,5 kVA.

Utilizou-se para o Cromatógrafo Líquido o modo isocrático tendo como fase móvel 60% (v/v) de acetonitrila e 40% (v/v) de água. Foram injetados 20 µL de solução a um fluxo de 1 mL/min, utilizou-se o sistema de auto-injeção. O comprimento de onda para detecção foi de 220 nm e o tempo de retenção foi de 7 minutos.

3.3. Metodologia Experimental

Os experimentos utilizando o processo UV/H₂O₂ e a ozonização foram realizadas em duas unidades experimentais. A primeira localizada no Laboratório de Processos Oxidativos Avançados da Universidade de Barcelona e a segunda no Laboratório de Controle de Poluição das Águas da Universidade Federal do Rio de

Janeiro. Foram realizados experimentos utilizando concentrações de 20 mg/L e 0,5 mg/L sendo que para concentração mais alta a degradação da atrazina foi observada em duas matrizes diferentes, foram elas água ultrapura e no efluente proveniente do tratamento secundário da estação de tratamento de esgoto de Gavà-Viladecans (Barcelona, Espanha).

3.3.1. Unidade Experimental 1 – Laboratório de Processos Oxidativos Avançados – Universidade de Barcelona (UB)

A maior parte dos experimentos foi realizada na Universidade de Barcelona. O Laboratório de Processos Oxidativos Avançados faz parte do grupo de Fotoquímica e Oxidação Avançada da Universidade de Barcelona e tem por objetivo realizar pesquisas sobre os diversos processos oxidativos avançados para aplicação em tratamento de águas residuais. Tem especial interesse no estudo de contaminantes do tipo organoclorados, que são resistentes aos processos tradicionais de tratamento biológico, tendo como objetivo sua mineralização ou aumento de sua biodegradabilidade. No laboratório existem unidades para Ozonização, UV/H₂O₂, Fenton, foto-Fenton e métodos que utilizam radiação ultravioleta associada a semicondutores como, por exemplo, TiO₂, células eletroquímicas, etc. Também trabalham com a combinação dos processos oxidativos e biológicos.

A metodologia utilizada na execução dos experimentos realizados na Universidade de Barcelona está representada no fluxograma simplificado apresentado na Figura 3.1.

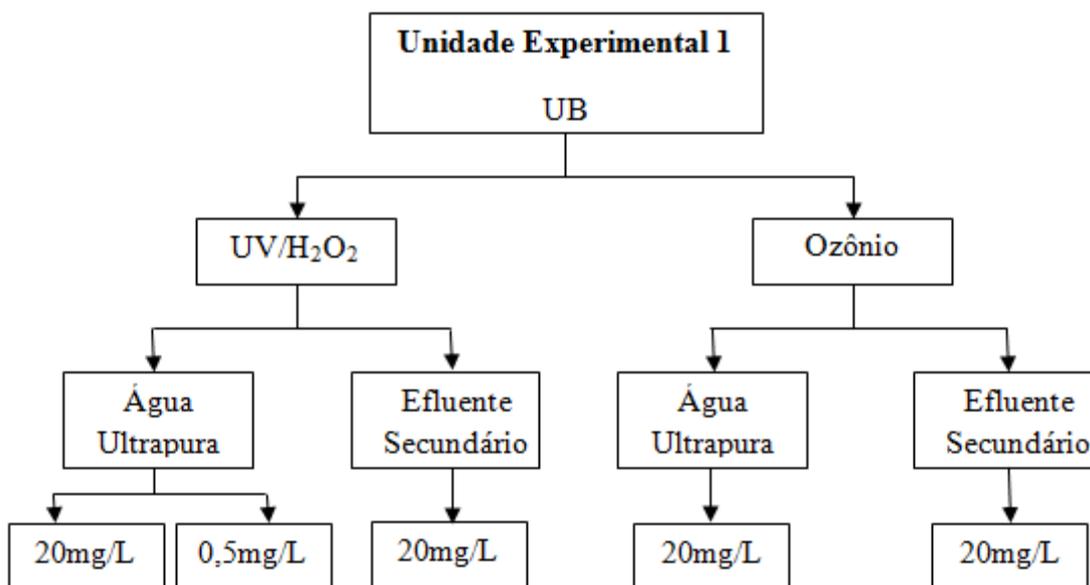


Figura 3.1 Fluxograma simplificado do roteiro utilizado na realização dos experimentos para unidade experimental 1.

3.3.1.1. Processo UV/H₂O₂

Os experimentos utilizando o processo UV/H₂O₂ foram realizados com duas concentrações diferentes de atrazina, 20 mg/L e 0,5 mg/L. A concentração mais alta, foi utilizada para avaliar a degradação do pesticida bem como a remoção da matéria orgânica frente a diferentes valores de pH pois com concentrações mais baixas como por exemplo a utilizada nos demais experimentos (0,5 mg/L) haveria uma grande dificuldade na determinação da quantidade de carbono da amostra. Como a atrazina apresenta uma solubilidade em água de até 33 mg/L foi possível testar essas duas concentrações sendo que a mais baixa foi escolhida afim de se avaliar a atividade estrogênica das amostras após os tratamentos e, também, de aproximar as concentrações utilizadas das encontradas ambientalmente.

Para o processo utilizando 20 mg/L de atrazina se estabeleceu uma concentração de 50 mg/L de H₂O₂ e os experimentos foram realizados a pH livre (~6) e valores de pH em torno de 3, 7 e 11 (ajustados com um tampão apropriado). Durante os experimentos foram retiradas amostras a tempos distintos (0, 5, 10, 15, 30, 45 e 60 minutos) para acompanhamento da concentração do pesticida em cromatografia líquida (HPLC) e teor

de carbono orgânico no detector de Carbono Orgânico Total (COT). Nas alíquotas utilizadas para determinação da concentração do pesticida (em HPLC) utilizou-se uma solução de bissulfito de sódio para destruir o H₂O₂ residual, já para as alíquotas retiradas para determinação do COT utilizou-se a catalase bovina com a mesma finalidade.

A Figura 3.2 apresenta o esquema simplificado para metodologia utilizada nos experimentos de UV e UV/H₂O₂ para a concentração inicial de 20 mg/L de ATZ.

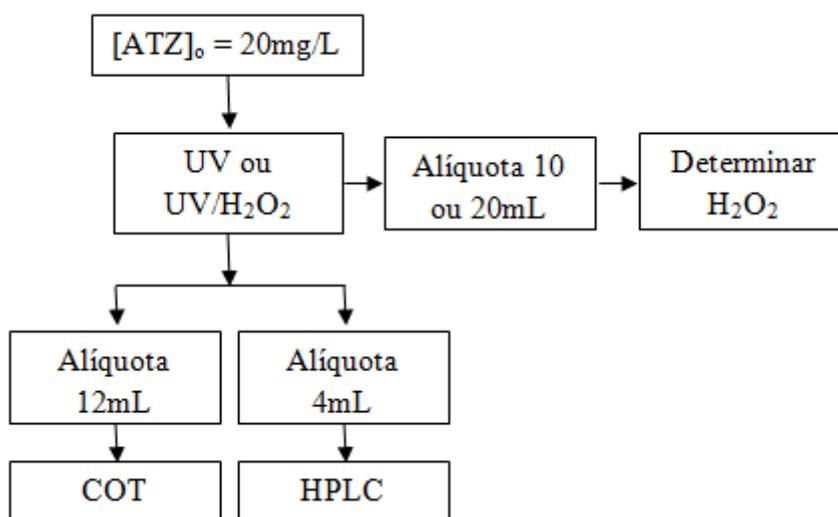


Figura 3.2 Esquema simplificado da metodologia utilizada nos experimentos com concentração inicial de 20 mg/L de atrazina.

Para concentração de atrazina de 0,5 mg/L foi utilizada uma concentração de 2 mg/L de H₂O₂. As reações se deram a pH livre (~6) e cada reação consistia em uma amostra de 1L. Portanto, para cada ponto da curva, a um tempo pré determinado, se realizou um experimento. Foram realizados experimentos para acompanhamento da concentração de atrazina para os tempos de 1, 2, 3, 4 e 5 min

A Figura 3.3 apresenta o fluxograma simplificado para metodologia utilizada nos experimentos de UV e UV/H₂O₂ para a concentração inicial mais baixa de ATZ igual a 0,5 mg/L.

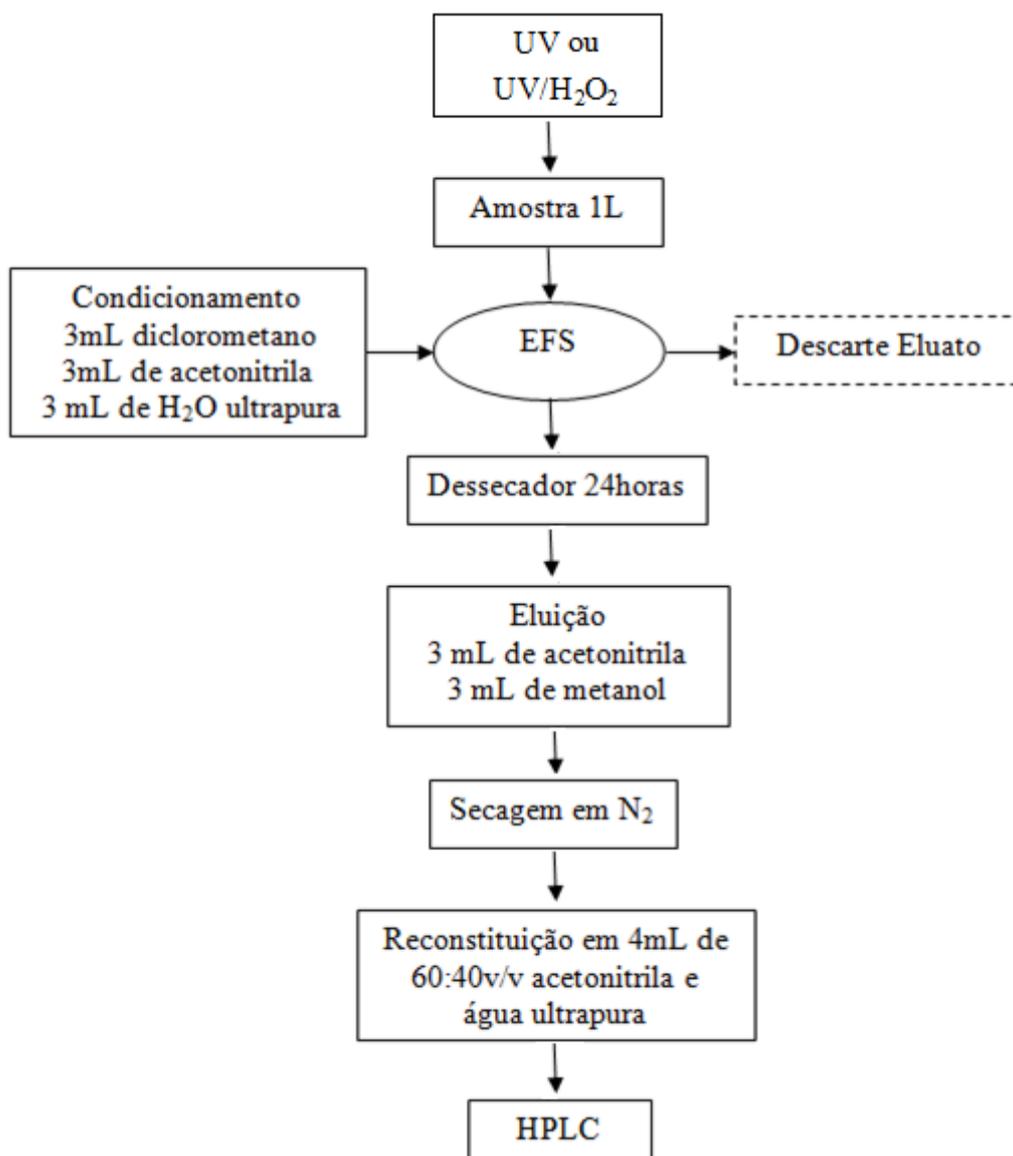


Figura 3.3 Esquema simplificado da metodologia utilizada nos experimentos com concentração inicial de 0,5 mg/L de atrazina.

A determinação do H_2O_2 residual durante os experimentos foi realizada a partir de uma titulação iodométrica, que é um método bastante utilizado para determinação de vários agentes oxidantes e foi executado em tempos pré determinados para cada experimento. O método se baseia na reação do iodeto em excesso com o H_2O_2 em meio ácido formando o ânion I_3^- (Equação 3.1) tendo como indicador uma solução de amido. A titulação com tiosulfato de sódio é utilizada para determinar a quantidade de iodo (I_3) formado e conseqüentemente a concentração de H_2O_2 . O amido forma um complexo com o íon tri iodeto de cor azul escuro que vira para transparente no momento em que o

tiosulfato reage por completo com o ânion I_3^- para produzir de novo o íon I^- (Equação 3.2) (3.2).



Para a titulação retirou-se uma amostra de 10 mL no início da reação, pois ainda havia uma quantidade considerável de H_2O_2 e, posteriormente, com a redução da concentração, a alíquota retirada foi maior (20 mL). Adicionou-se 20 mL de H_2SO_4 (1M) para que o meio estivesse ácido e 25 mL de KI (0,2 M). Esta mistura foi mantida por 30 minutos em um erlenmeyer fechado, a temperatura ambiente e no escuro até que a reação de oxi-redução tivesse se completado. Após este período adicionou-se 2 mL de amido e se realizou a titulação com $Na_2S_2O_3$ (0,01 N) onde o ponto final se deu quando a solução voltou a ser transparente. Em cada teste se fez um branco contendo apenas os reagentes da iodometria para verificar o efeito destes nas amostras, porém verificou-se que o efeito é desprezível.

A concentração de H_2O_2 foi determinada levando-se em conta que o número de equivalentes de peróxido de hidrogênio presente na solução é igual, no ponto de equivalência, ao número de equivalentes de tiosulfato gasto na titulação. O cálculo da concentração de peróxido residual se dá pela Equação 3.3.

$$C_{H_2O_2} \text{ (mg/L)} = \frac{170 \times V_{S_2O_3^{2-}} \text{ (mL)}}{V_{amostra} \text{ (mL)}} \quad (3.3)$$

Para se ter a concentração precisa de H_2O_2 se fez necessário deter a reação e para isso utilizou-se 2 gotas de uma solução de 200 mg/L de catalase preparada com água ultrapura. Esta solução deve ser utilizada em no máximo 2 dias. Antes de adicionar a catalase foi necessário ajustar o pH da amostra entre 6 e 7, pois a mesma é inativa em valores de pH superiores a 8 e inferiores a 5.

Para o processo UV/ H_2O_2 é importante a realização da actinometria química, que é o procedimento utilizado para determinar a taxa de incidência de fótons em reator fotoquímico. Para tal utilizou-se uma solução preparada com um composto sensível à

luz e a medida da degradação do mesmo foi feita por titulação a tempos pré determinados.

A actinometria trata-se de uma reação fotoquímica que através de diversas etapas consegue a decomposição do ácido oxálico (composto sensível a luz) em monóxido e dióxido de carbono graças a absorção de um fóton. Conhecendo-se a quantidade de ácido oxálico que desaparece em uma mistura deste ácido (0,05 mol/L) e de nitrato de uranilo (0,01 mol/L) se conhece a quantidade de fótons que chegam ao meio reacional e assim determina-se as condições de trabalho das lâmpadas.



Para actinometria preparou-se 2,03 L de solução cuja concentração em ácido oxálico foi de 0,05 mol/L e de uranilo 0,01 mol/L. Todo procedimento de preparo das soluções foi realizado protegido da luz. Depois que ligou-se as lâmpadas começou-se a marcar o tempo e a retirada de amostras a tempos pré determinados. Foram retiradas amostras de 10 mL em triplicata e as mesmas foram adicionadas a um erlenmeyer contendo um meio ácido composto por 200 ml de água e 10 ml de ácido sulfúrico 98% com a finalidade de deter o avanço da reação devido a presença da luz ambiente. A titulação foi realizada com permanganato de potássio. Com a titulação determinou-se a quantidade de ácido oxálico que permanece no meio e quando comparada com a obtida na amostra inicial obteve-se a quantidade consumida desde o início da reação. Pode-se dizer que o rendimento quântico é a quantidade de moles de ácido oxálico consumidos expresso em moles de fótons ou einsteins absorvidos pelo meio por unidade de tempo. Este valor permite conhecer as condições em que trabalham as lâmpadas no reator empregado para os experimentos de UV e UV/H₂O₂.

A Figura 3.4 mostra um esquema da unidade onde foram realizadas as reações de UV e UV/H₂O₂ na unidade experimental 1 da Universidade de Barcelona.

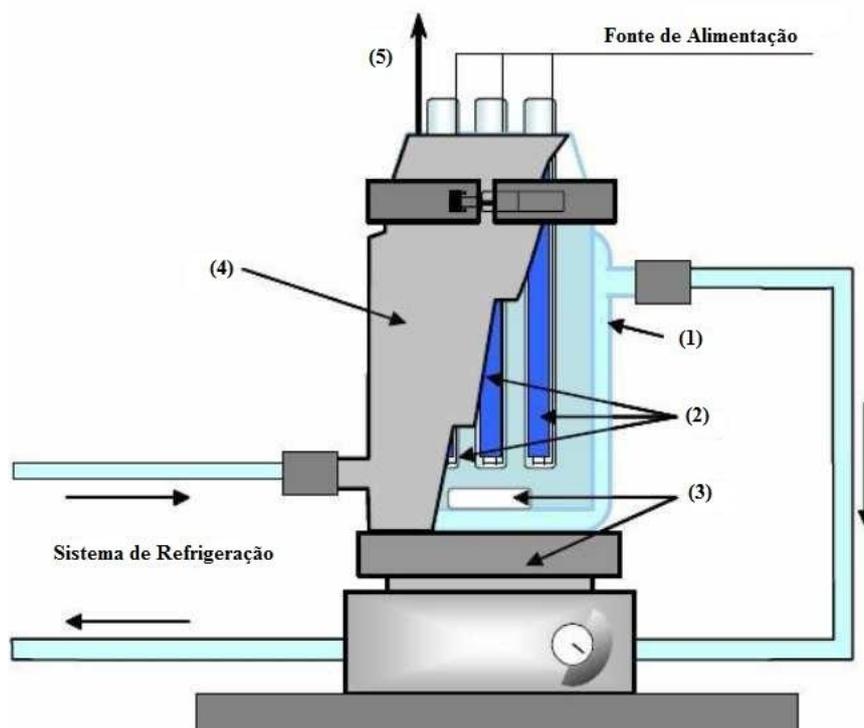


Figura 3.4 Esquema da unidade de UV/H₂O₂

Os experimentos utilizando o processo UV/H₂O₂ se deram em um reator com capacidade para 2,05 L (1) equipado com três lâmpadas de mercúrio de baixa pressão (*Philips TUV8W, G8T5*) com comprimento de onda de 254 nm e fluxo fotônico de $1,49 \times 10^5$ Einteins s⁻¹. O sistema era refrigerado e se manteve a aproximadamente 25°C durante toda a reação através de um controlador de temperatura acoplado ao mesmo.

O sistema possuía ainda um agitador magnético com a finalidade de assegurar uma reação homogênea (3). O reator foi protegido por papel alumínio (4) para evitar o contato direto com a radiação UV já que a mesma é prejudicial aos olhos. As amostras foram retiradas pelas aberturas localizadas na parte superior do reator (5).

A Figura 3.5 mostra o aparato experimental utilizado na realização dos experimentos de UV/H₂O₂.



Figura 3.5 Reator utilizado para as reações de UV/H₂O₂

3.3.1.2. Extração em Fase Sólida

A extração em fase sólida (EFS) é uma metodologia bastante utilizada para pré-concentração de amostras que se encontram abaixo do limite de detecção dos equipamentos. O processo consiste basicamente na ativação do sorvente por um solvente apropriado que condicione a superfície do sólido, remoção do solvente responsável pela ativação, aplicação da amostra (o analito de interesse fica retido na fase sólida), lavagem da fase sólida para retirada de algum possível interferente sem eliminar os analitos de interesse e, por fim, eluição dos analitos por meio de um solvente.

Para a extração em fase sólida utilizou-se cartuchos OASIS HLB de 200 mg da Waters com capacidade para 6 mL (6cc). Os cartuchos passaram por um condicionamento baseado na metodologia descrita por D'ARCHIVIO *et al.* (2005). Foram utilizados 3 mL de diclorometano, 3 mL de acetonitrila e 3 mL de água ultrapura. As amostras de 1L contendo os pesticidas passaram pelos cartuchos a um

fluxo de aproximadamente 10 mL/min. Logo após este processo os cartuchos foram lavados com uma mistura de água ultrapura e metanol (95:5 v/v). Os analitos retidos foram eluidos com 3 mL de acetonitrila e 3 mL de metanol. Em seguida passaram por uma secagem com nitrogênio e o resíduo foi reconstituído em 4 mL de uma mistura de acetonitrila e água ultrapura na mesma composição da fase móvel do HPLC (60:40 v/v).

Foram realizados, também, experimentos com a finalidade de avaliar a recuperação dos cartuchos no processo de extração. Para isso preparou-se soluções de atrazina com concentrações conhecidas dentro da faixa esperada para os experimentos (0,5 – 0,001 mg/L). Estas soluções passaram pelos cartuchos OASIS HLB e suas concentrações foram determinadas após este procedimento através da cromatografia líquida (HPLC).

A Figura 3.6 apresenta o sistema utilizado na realização dos experimentos de extração em fase sólida (EFS).



Figura 3.6 Foto do sistema utilizado para EFS.

3.3.1.3. Ozonização

Os experimentos de Ozonização foram realizados com uma concentração inicial de atrazina de 20 mg/L tanto para água ultrapura e efluente secundário. Foram realizados em um reator com capacidade para 1 L. O processo foi realizado utilizando-se um ozonizador da marca *Labor Ozonisor Sander 301.19*.

Os experimentos foram realizados a pH livre (~5), e valores de pH em torno de 3, 7 e 11 (ajustados com um tampão apropriado) e uma concentração de 20 mg/L de atrazina. Utilizou-se para todos os experimentos a mesma concentração de ozônio (8,7 mg/L). O conteúdo do reator esteve em constante agitação. Durante o experimento foram retiradas amostras a tempos distintos (0, 5, 10, 15, 30, 45 e 60 minutos) para acompanhamento da concentração do pesticida em cromatografia líquida (HPLC) e teor de carbono orgânico total (COT). A Figura 3.7 mostra o reator de 1 L utilizado nos experimentos de ozonização.

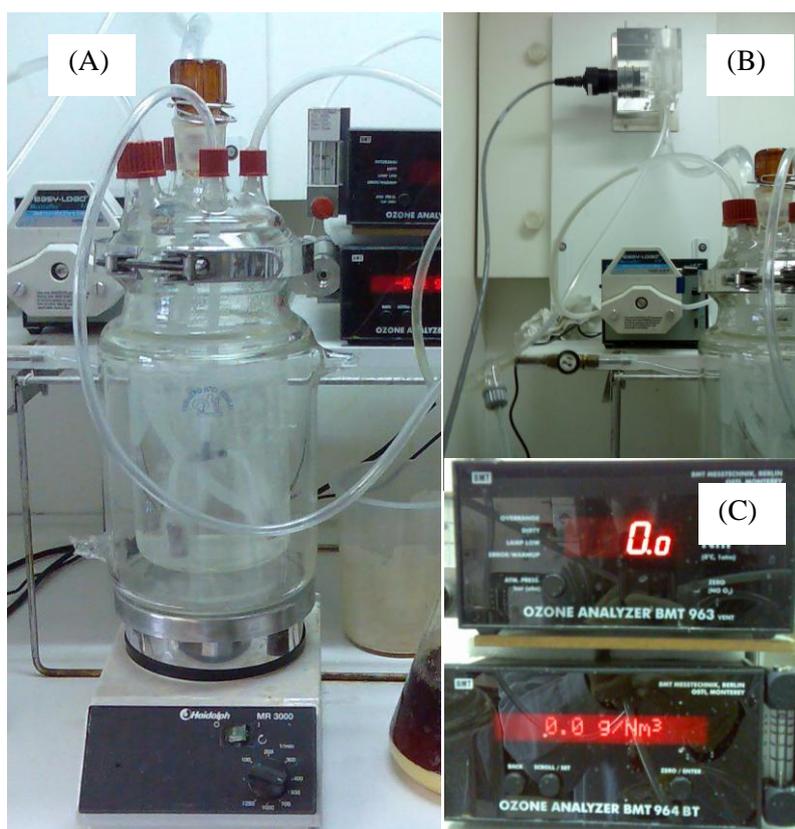


Figura 3.7 Reator utilizado na Ozonização (A), Sonda (B) e Analisadores de ozônio de entrada e saída (C).

Na Figura 3.7 (A) pode se observar que o reator é um recipiente encamisado, de capacidade de 1L, fechado com uma tampa contendo 5 bocas. A corrente de oxigênio e ozônio é inserida na solução através de difusores metálicos. Uma segunda boca constitui a saída do gás excedente (que não reage) que era encaminhado a um *killer* onde foi eliminado. Em uma terceira abertura, se dava a tomada das amostras para determinação da concentração (HPLC) e matéria orgânica (COT) através de uma seringa. A quarta abertura está ocupada por um termômetro que indica a temperatura no interior do reator e a quinta boca se encontra fechada. A reação permanece em agitação por todo tempo do processo. A Figura 3.8 apresenta uma foto e um esquema do sistema utilizado para a ozonização na unidade experimental 1.

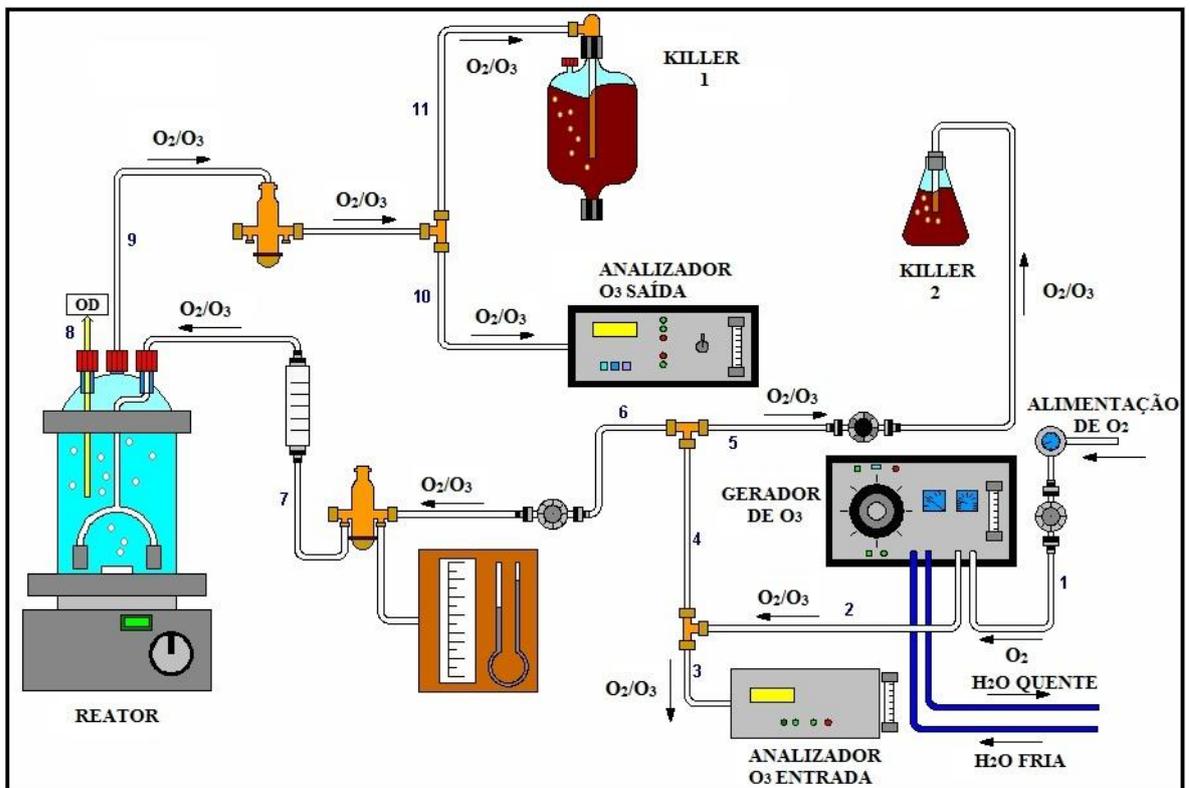
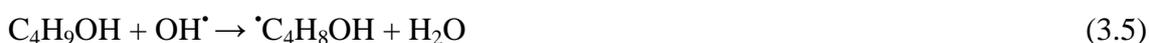


Figura 3.8 Unidade experimental de ozonização (acima) e esquema (abaixo)

Foram realizados, também, testes com o objetivo de determinar a cinética para o ozônio molecular e para os radicais hidroxila tanto em água ultrapura quanto no efluente secundário proveniente da estação de tratamento de Barcelona com a finalidade de determinar a influência da matéria orgânica nas reações com ozônio. Desta forma, realizou-se uma série de experimentos utilizando um agente capturador de radicais OH, o t-butanol.

O t-butanol possui uma alta constante de reação com radical hidroxila $6 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (BUXTON *et al*, 1988) e tem o papel de reagir com os radicais OH mas não com o ozônio molecular. A reação entre os radicais OH e o t-butanol resulta no término da reação radicalar e é apresentada na Equação 3.5.



Os testes foram realizados com e sem t-butanol sendo que o mesmo foi adicionado as soluções antes do início da reação. Foram preparadas soluções de 1 L com uma concentração de 20 mg/L de atrazina em água ultrapura e também em efluente. Para simular os mesmos efeitos o pH da água ultrapura foi ajustado para aproximadamente 7,9 (pH aproximado do efluente) com o auxílio de um tampão apropriado. Nos experimentos realizados para cinética do ozônio molecular foram adicionados 0,1 mL de t-butanol. Utilizou-se a mesma concentração de ozônio para todos os experimentos (8,7 g/L). Foram retiradas amostras nos primeiros 10 minutos de reação (de 1 em 1 minuto) e todos os experimentos foram realizados em triplicata.

3.3.1.4. Ensaio de Toxicidade por bioluminescência (Microtox®)

O Microtox® é um teste de toxicidade rápido, sensível, reprodutível, de relevância ecológica e custo razoável. A aplicação mais comum é para misturas químicas complexas tais como efluentes industriais (brutos ou tratados), avaliação de águas subterrâneas quanto à possível presença de contaminantes tóxicos, determinação do risco potencial de novas substâncias químicas, em caso de acidentes ambientais como, por exemplo, mortandade de peixes etc.

O procedimento emprega a bactéria marinha bioluminescente *Vibrio fischeri* como organismo teste. As bactérias são expostas a uma escala de concentrações do material que está sendo testado. A redução na intensidade da luz emitida pelas bactérias é medida junto com soluções padrão e amostras de controle. A mudança na emissão de luz (saída) e a concentração do agente tóxico produzem uma relação dose/resposta. Os resultados são normalizados e o EC50 (concentração que produz uma redução de 50% na emissão de luz) é calculado.

Primeiramente as bactérias, que são mantidas congeladas liofilizadas, foram colocadas em contato com um reconstituente não tóxico.

Foram realizadas diluições de cada uma das amostras a 45%, 22,50%, 11,25% e 5,63%. Após este procedimento as bactérias foram adicionadas as amostras e permanecem atuando por 15 minutos. Posteriormente se compara a diferença de luz emitida pelas amostras e pelos brancos (contendo apenas o diluente).

O espectrofotômetro indica a diferença de luminiscência em um sinal elétrico mostrando assim seu valor no visor na parte frontal. A diferença entre a luz emitida pelos brancos e pela emitida pelas amostras é associada ao efeito que estas últimas tem sobre os microorganismos. A EC50,15min (Concentração Efetiva, EC) é a porcentagem (% v/v) da dissolução inicial que causa 50% de redução da bioluminescência durante os 15 minutos de contato. Estes resultados também podem ser expressos como o inverso desta porcentagem em forma de unidades de toxicidade (UT). Quanto maior a UT, mais tóxica é a amostra para estas bactérias.

3.3.1.5. Espectrometria de UV

A absorvância em 254 nm é utilizada como medida para quantidade de ligações insaturadas em uma solução. Permite obter informações sobre o grau de aromaticidade dos compostos presentes na amostra. Este procedimento foi utilizado tanto para o acompanhamento das reações de UV/H₂O₂ e de ozonização da atrazina em água ultrapura a concentração inicial de 20 mg/L. As varreduras foram realizadas em um

espectrofotômetro da marca *Perkin Elmer UV/VIS*. Alíquotas foram retiradas durante os processos em tempos pré definidos e foram analisadas no espectrofotômetro.

3.3.2. Unidade Experimental 2 – Laboratório de Controle de Poluição das Águas (LabPol) – Universidade Federal do Rio de Janeiro

A segunda parte dos experimentos, realizada no LabPol, visaram a avaliação da atividade estrogênica dos pesticidas tanto para as soluções puras (contendo apenas o princípio ativo) quanto para as soluções obtidas após a ozonização. Foram realizados experimentos utilizando a concentração mais baixa (0,5 mg/L) para se aproximar das concentrações ambientalmente encontradas. A metodologia utilizada na unidade experimental 2 está representada no fluxograma simplificado apresentado na Figura 3.9.

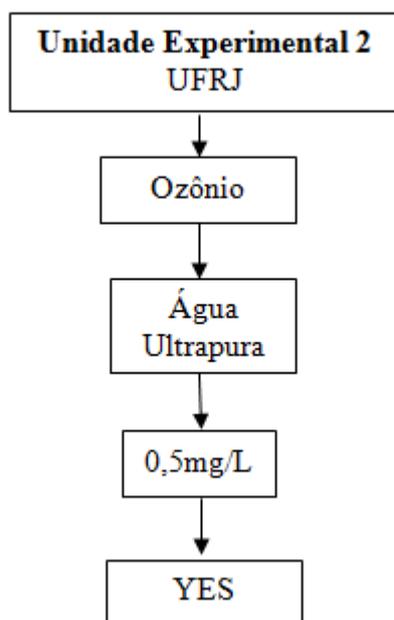


Figura 3.9 Fluxograma simplificado da metodologia utilizada na unidade experimental 2.

3.3.2.1. Ozonização

Os experimentos utilizando ozônio realizados no LabPol, assim como os de UV/H₂O₂, foram realizados com baixa concentração de atrazina (0,5 mg/L) em água ultrapura. Utilizou-se uma concentração de ozônio de 4,24 mg/L e a reação com ozônio ocorreu durante os tempos de 1, 2, 3, 4 e 5 min. Ao final da reação as amostras de 1L passaram pela extração em fase sólida (item 3.3.1.2) e por fim a concentração foi analisada em HPLC e uma alíquota foi avaliada pelo teste YES. A Figura 3.10 mostra um esquema simplificado da metodologia experimental utilizada no processo de ozonização da unidade experimental 2.

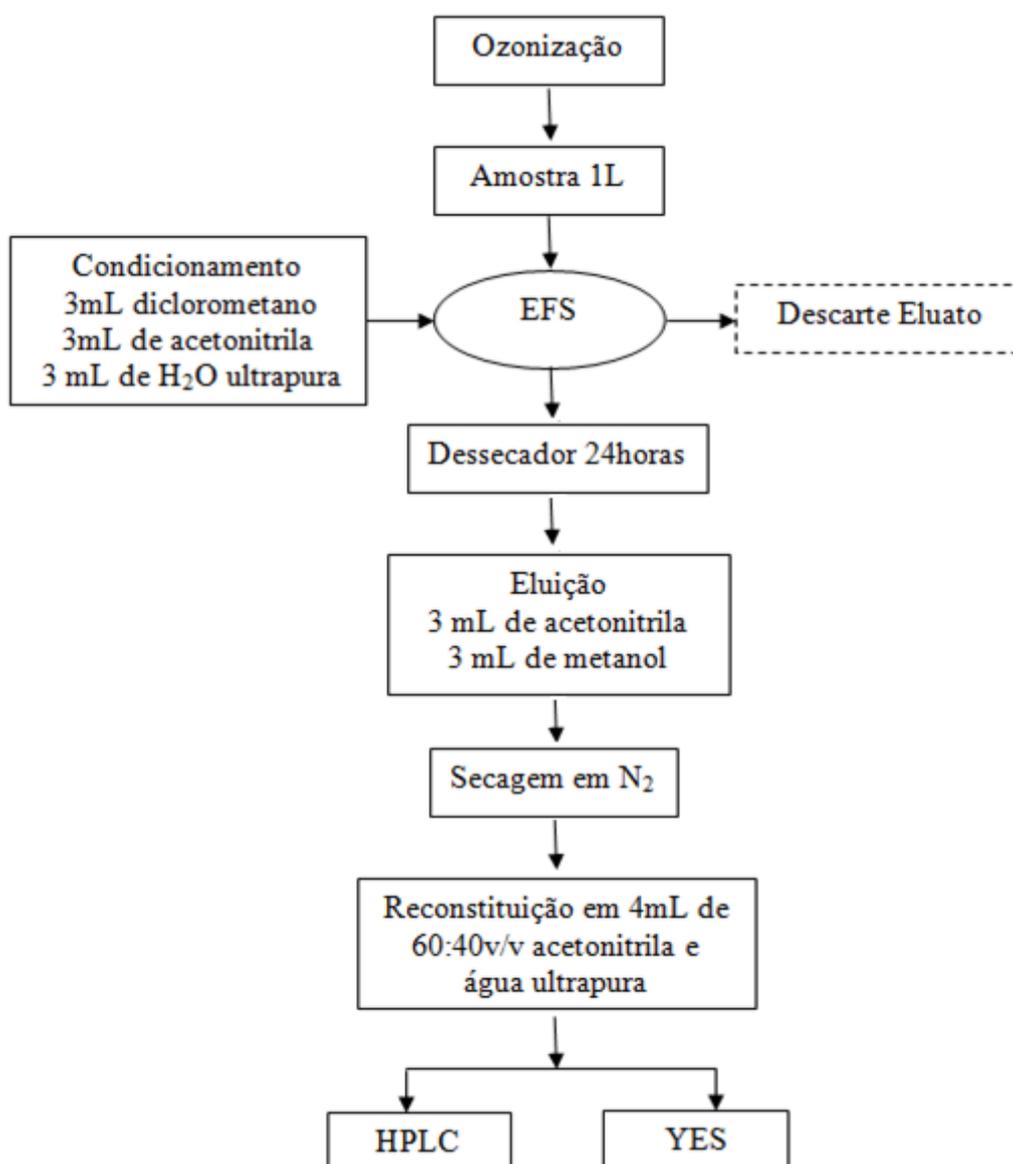


Figura 3.10 Fluxograma simplificado da metodologia utilizada para ozonização.

Os intermediários da reação foram determinados após conhecido o resultado do teste YES por cromatografia líquida acoplada a um espectrofotômetro de massas.

A Figura 3.11 apresenta uma foto da unidade de ozonização utilizada nos experimentos.



Figura 3.11 Unidade de Ozonização para Baixas Concentrações.

3.3.2.2. Teste YES

Routledge e Sumpter (1996) desenvolveram o teste YES – “Yeast Estrogen Screen” que é uma metodologia que permite identificar substâncias químicas que são capazes de mimetizar a atividade do estrogênio pela interação com o Reh. Este teste *in vitro* utiliza uma cepa de levedura *Saccharomyces Cerevisiae* modificada geneticamente e que possui o gene com receptor humano.

- **Cepa de Levedura Recombinante**

O Departamento de Genética da Glaxo desenvolveu uma cepa de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), modificada geneticamente, para ser usada no teste com a finalidade de identificar as substâncias que podem interagir com o Reh.

A cepa utilizada para o ensaio YES no LabPol foi doada pelo Prof. J. P. Sumpter da Universidade de Brunel, Uxbridge, UK. A levedura foi repicada para ser utilizada nos testes e, algumas amostras, foram congeladas a -4°C em um meio com 15% de glicerol. Essas amostras podem ser conservadas até 4 meses, após esse tempo um novo repique é feito e congelado e assim é realizada a conservação da cepa de *Saccharomyces cerevisiae*.

Como as células de leveduras não contêm um receptor de estrogênio a seqüência de DNA do REh foi integrada no principal cromossomo da levedura. A ligação do estrogênio ao receptor causa expressão do gene receptor da Lac-Z e a enzima β -galactosidase é sintetizada e excretada ao meio, onde metaboliza o substrato cromogênico CPRG (clorofenol vermelho- β -D-galactopiranosida) que é normalmente amarelo em um produto vermelho. Essa mudança de coloração é medida por absorbância a 540 nm.

- **Preparação do meio de cultivo**

O meio mínimo (pH 7,1) foi preparado pela adição de 13,61 g de KH_2PO_4 , 1,98g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 4,2 g de KOH peletes, 0,2 g de MgSO_4 , 1 mL de solução de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (40 mg/50 mL H_2O), 50 mg de L-leucina, 50 mg de L-histidina, 50 mg de adenina, 20 mg de L-arginina-HCl, 20 mg de L-metionina, 30 mg de L-tirosina, 30 mg de L-isoleucina, 30 mg de L-lisina-HCl, 25 mg de L-fenilalanina, 100 mg de L-ácido glutâmico, 150 mg de L-valina, e 375 mg L-serina para 1 L de água. A solução foi armazenada em frascos de vidro, esterilizadas a 121°C por 10 min e estocadas em temperatura ambiente.

A solução de vitamina foi preparada pela adição de 8 mg de tiamina, 8 mg de piridoxina, 8 mg de pantetonato de cálcio, 40 mg de inositol e 20 mL de solução de biotina (2 mg/100 mL H_2O) em 180 mL de água. Essa solução foi filtrada e esterilizada

em membrana de 0,2 µm estéril, e estocada em alíquotas de 10 mL a 4°C em frascos de vidro esterilizados.

Uma solução de 20% p/v de glicose e outra de 4 mg/mL de ácido aspártico foram preparadas e esterilizadas em alíquotas de 20 mL a 121°C por 10 min e estocada em temperatura ambiente. Também foi preparada uma solução estoque de 24 mg/mL de L-treonina e esterilizada em alíquotas de 5 mL a 121°C por 10 min e estocada a 4°C.

Uma solução de 20 mM de sulfato de cobre (II) foi preparada, filtrada e esterilizada em membrana de 0,2 µm esterilizada. A solução foi estocada a temperatura ambiente em frascos de vidro esterilizados. A solução estoque de 10 mg/mL de CPRG foi preparada em água estéril e estocada a 4°C em frascos de vidro esterilizados.

- **Cultivo da cepa de levedura de *Saccharomyces cerevisiae***

O meio de cultivo foi preparado pela adição de 5 mL de solução de glicose, 1,25 mL de solução de ácido L-aspartico, 0,5 mL de solução de vitamina, 0,4 mL de solução de L-treonina, e 125 µL de solução de sulfato de cobre (II) em 45 mL de meio mínimo.

O cultivo foi realizado inoculando-se, com 100 µL da solução estoque da levedura, 10 mL de meio de cultivo e incubado a 28°C por aproximadamente 24 h a 100 rpm em um agitador orbital (Modelo N° G 24, New Brunswick Scientific). Esse procedimento foi realizado com 3 dias de antecedência do teste pois a levedura deve ser propagada por no mínimo 3 vezes antes de ser utilizada. Para propagação o procedimento descrito acima foi repetido a cada 24 horas.

- **Preparação do meio de análise**

Para o meio de análise utilizou-se 25 mL de meio de cultivo e 250 µL do substrato cromogênico CPRG. O meio foi inoculado com $4 \cdot 10^7$ células de levedura de uma cultura que foi descongelada e propagada por 3 dias.

- **Preparação das amostras**

Após os tratamentos das soluções de atrazina na concentração inicial de 0,5 mg/L por ozonização (1,2,3,4 e 5 min) e UV/H₂O₂ (2 e 5 min) foram coletadas amostras de 1 L para posterior análise da concentração por cromatografia líquida e, também, para avaliação da atividade estrogênica através do teste YES. Estas amostras passaram pelo processo de extração descrito no item 3.3.1.2 onde as amostras passam pelos cartuchos para posteriormente os analitos serem eluídos, secos e reconstituídos por uma mistura de 60/40% v/v de acetonitrila e água (mesma utilizada na cromatografia líquida). O teste YES foi realizado no mesmo dia em que as amostras foram reconstituídas.

- **Procedimento para o teste YES**

O procedimento utilizado no ensaio de atividade estrogênica foi realizado segundo o método descrito Routledge e Sumpter (1996), com algumas modificações.

Os testes foram realizados em capela de fluxo laminar para evitar ao máximo qualquer tipo de contaminação. Primeiramente foram realizadas as diluições consecutivas com etanol, onde se adicionou 100 µL do mesmo em todos os poços (menos no primeiro) da placa de 96 poços estéreis da marca TPP. Posteriormente se adicionou ao primeiro e segundo poço 100 µL da amostra a ser analisada e a partir do segundo foram passadas, poço a poço, 100 µL da amostra do poço anterior até o último.

Em seguida transferiu-se 10 µL de cada poço da placa de diluição para uma outra placa (placa de análise). Aguardou-se por alguns minutos até a total evaporação do etanol e então adicionou-se 200 µL do meio de análise preparado previamente. A placa possui 8 fileiras e as fileiras com amostras são intercaladas com fileiras com o branco que possui 10 µL de etanol e a mesma quantidade de meio de análise, 200 µL.

A placa foi lacrada com fita, agitada vigorosamente por 2 min em um agitador (modelo CERTOMAT II, B. Braun Biotech International) e colocada a 30°C por 72 h em uma estufa (modelo 410, Nova Ética).

O controle foi feito utilizando o 17β estradiol e o procedimento é o mesmo descrito para as amostras. Após a incubação, as microplacas foram agitadas e

permaneceram em repouso por um período de 1 hora. A absorvância foi medida a 540 nm (para a cor) e 620 nm (para a turbidez) usando uma Leitora para microplacas de 96 poços (THERMO Max, Molecular Devices).

- **Análise dos Dados**

Nestes ensaios, para corrigir a resposta estrogênica de cada amostra analisada para turbidez ($A_{\text{corrAmostra}}$), a correção apresentada na Equação 3.6 foi aplicada para os dados de cada poço da microplaca.

$$A_{\text{corrAmostra}} = (A_{540 \text{ Amostra}} - A_{540 \text{ Branco}}) - (A_{620 \text{ Amostra}} - A_{620 \text{ Branco}}) \quad (3.6)$$

A atividade estrogênica das amostras oxidadas pode ser expressa como equivalentes de 17- β estradiol. O EQ-E2 (equivalente de 17- β estradiol) é definido como a concentração de 17- β estradiol que elucida a mesma resposta da amostra oxidada, no ensaio YES. Os valores de CE50 (concentração que elucida 50 % da atividade) foram obtidos por meio de regressão sigmoidal não linear.

A curva concentração-resposta foi obtida por meio de regressão sigmoidal não linear e a Equação 3.7 mostra o ajuste sigmoidal.

$$y = \frac{A_1 - A_2}{1 + \left(\frac{x}{x_0}\right)^p} + A_2 \quad (3.7)$$

Onde: y corresponde ao valor de $A_{\text{corrAmostra}}$, A_1 é o limite de detecção, A_2 é a máxima indução da atividade estrogênica, x é a concentração da substância estrogênica no ensaio, X_0 é o valor de CE50 e p é a inclinação da região mediana da curva como estimado de uma regressão linear/log da parte linear da curva dose-resposta.

Para determinar a CE50 e a inclinação p das curvas padrões, a curva concentração resposta foi ajustada de acordo com a Equação 12, com a resposta expressa em porcentagem na qual A_1 e A_2 foram fixados em 0 e 100%, respectivamente.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Como mencionado anteriormente o estudo da degradação de micropoluentes é de grande relevância atualmente, pois sabe-se que alguns desses compostos, de longa permanência no meio ambiente, causam graves problemas ambientais e mesmo em baixas concentrações podem ser nocivos a saúde humana devido não só a sua biomagnificação e bioacumulação, mas principalmente pelo possível efeito de desregulação endócrina e carcinogênico. Os processos de tratamento de água e efluentes não são eficientes na remoção desses compostos, que estão presentes tanto em águas superficiais, subterrâneas e até mesmo em efluentes domésticos, de forma que o estudo de novos processos capazes de degradar ou aumentar a degradabilidade destes poluentes é de extrema importância.

Os pesticidas são grande parte destes compostos encontrados frequentemente nas águas subterrâneas e superficiais. A atrazina foi muito utilizada na Europa, e por esse motivo ainda é encontrada nas águas de diversos países. É, da mesma forma, amplamente utilizado nos dias de hoje no Brasil e EUA e por esse motivo a avaliação da remoção deste pesticida em água e em matrizes como o efluente secundário é um estudo bastante interessante.

Os processos oxidativos avançados (POAs) vêm sendo estudados e aplicados como uma alternativa para degradação destes compostos. Aliado a esse processo, a utilização do teste YES, realizado com a solução obtida ao final do tratamento proporciona um diagnóstico quanto ao potencial estrogênico de subprodutos derivados do composto principal, neste caso a atrazina.

Estudar a cinética da degradação da atrazina em uma matriz com elevado teor de matéria orgânica (efluente secundário) e comparar com água ultrapura, assim como estudar a sua degradação em baixas concentrações, concentrações mais próximas das ambientalmente encontradas e, por fim, avaliar a toxicidade e atividade estrogênica das amostras tratadas foram realizadas neste trabalho. O trabalho teve o intuito de contribuir para a pesquisa sobre este a degradação deste pesticida, já que a literatura não apresenta

estudos dos processos associados utilizados no presente trabalho (degradação da ATZ, identificação dos intermediários e teste YES).

Os processos utilizados para degradação da atrazina neste trabalho foram ozonização e UV/ H₂O₂. Para ambos processos foi realizado um estudo da influência do pH na degradação do pesticida. Também realizou-se o tratamento apenas com a radiação UV com o intuito de verificar sua contribuição na remoção do pesticida. A ozonização foi estudada mais amplamente. Além de verificar a influência do pH determinou-se as constantes cinéticas de degradação para pH~7,9, que é o pH encontrado no efluente secundário, e verificou-se a atuação dos dois oxidantes: o ozônio molecular e os radicais OH. Sabe-se que para pH baixos (~3) a oxidação via ozônio molecular é favorecida e que este é um oxidante mais seletivo. Aumentando o pH o O₃ se decompõe em radicais OH, sendo esse o principal agente oxidante da reação, de forma que para valores de pH acima de 10 a oxidação ocorre exclusivamente via OH. Já em pH 7, ambos oxidantes podem estar atuando.

Para o caso de uma matriz real, um efluente proveniente do tratamento secundário da estação de tratamento de esgoto foi utilizado e acompanhou-se a remoção do COT além da concentração da atrazina por cromatografia líquida (HPLC).

Foram estudados dois processos oxidativos avançados, ozonização e UV/H₂O₂, na degradação dos pesticidas terbutilazina e da atrazina em baixas concentrações. A terbutilazina é o pesticida utilizado como substituto da atrazina em praticamente todos os países europeus onde a atrazina foi banida. Após a ozonização de soluções de ATZ e de TBZ, a uma concentração inicial de 0,5 mg/L, realizou-se o teste YES.

Um outro tópico de grande relevância no estudo da degradação de pesticidas, bem como de compostos que possuem toxicidade, é a identificação dos intermediários formados que, neste trabalho, foi realizada para a atrazina.

4.1. Características do Efluente Secundário

Amostras do efluente secundário proveniente da estação de tratamento de esgoto de Gavà-Viladecans (Barcelona, Espanha) foram analisadas aproximadamente uma hora após a coleta. Dentre as características mais importantes estão os sólidos solúveis totais (SST) que correspondem ao resíduo filtrável da amostra, portanto, são sólidos que permanecem após ser separados da amostra por filtração e submetidos à secagem; a turbidez, onde se mediu a quantidade de luz dispersada a 90° por um feixe de luz que atravessa a amostra líquida e, por fim, a absorvância no UV₂₅₄ que complementa o COD (carbono orgânico dissolvido) já que este fornece o teor de carbono de uma amostra, enquanto que o UV₂₅₄ faz uma distinção com relação à natureza dos compostos orgânicos presentes. As características físico-químicas do efluente secundário são apresentadas na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 Características do Efluente Secundário

Parâmetro	Valor
pH	7,9
SST (mg/L ¹)	63,5
SSV (mg/L)	31,5
Turbidez (NTU)	13,6
UV ₂₅₄	0,512
COT (mg/L)	18,2
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	0,13
COD (mg/L)	95
Alcalinidade (mg HCO ⁻³ /L)	507

A alcalinidade elevada demonstra a presença de sais inorgânicos que podem atuar como capturadores de radicais OH tanto na ozonização quanto no processo UV/H₂O₂. A turbidez pode interferir na penetração da radiação UV quando se realiza a

fotólise e o processo UV/H₂O₂, portanto torna-se um parâmetro importante para reações de fotodecomposição.

4.2. Determinação e Quantificação do Pesticida

4.2.1. Extração em Fase Sólida

A extração em fase sólida (EFS) é a metodologia mais utilizada na pré concentração de amostras de micropoluentes por ser um método relativamente rápido e que requer pequenas quantidades de solvente. Muitas vezes é utilizada antes da cromatografia líquida afim de concentrar amostras que normalmente não estariam na faixa de limite de detecção do equipamento, neste caso HPLC.

Esta etapa é importante quando se realizam experimentos com compostos presentes em solução em concentrações tão baixas que geralmente não seriam detectadas pelos métodos de identificação e quantificação utilizados. Como visto anteriormente, no capítulo 3, esse processo envolve várias etapas. Seu sucesso pode ser verificado através da determinação da recuperação do cartucho, ou seja, a quantidade do composto que é detectada (recuperada) após todas as etapas da EFS utilizando-se soluções padrão. A quantidade eluída ao final do processo de extração é analisada por cromatografia líquida (HPLC) e comparada com o valor da solução padrão.

É imprescindível a determinação do erro para essa etapa tão importante para todo o processo. A avaliação do processo de extração em fase sólida da ATZ e da TBZ foi realizada para diferentes concentrações, partindo da concentração inicial utilizada nos experimentos e posteriormente com concentrações mais baixas, já que os processos reduzem a concentração dos compostos nas soluções finais. Para isso foram preparadas algumas soluções com diferentes concentrações dos pesticidas, a partir das soluções estoque, e a pré-concentração das amostras foi realizada para 1L de solução.

A metodologia de extração, descrita por D'ARCHIVIO *et al.* (2007), para extração da atrazina e adaptada a este trabalho mostrou-se bastante adequada na pré

concentração dos dois pesticidas nas amostras investigadas, obtendo os valores para a porcentagem de recuperação da ATZ e TBZ apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 Recuperação da atrazina para o procedimento de extração em fase sólida.

Composto	Cartucho Oasis HLB				
	Concentração mg/L	0,5	0,01	0,005	0,001
Atrazina	Concentração mg/L	0,5	0,01	0,005	0,001
	R%	93±2	91±3	92±3	69±4
Terbutilazina	Concentração mg/L	0,5	0,01	0,005	0,001
	R%	94±1	97±2	95±5	85±3

Os resultados mostraram que tanto a adsorção dos pesticidas no cartucho como sua posterior eluição foram eficientes. Segundo o fabricante dos cartuchos existem substâncias químicas onde a recuperação chega a apenas 50% sendo este um valor tido com excelente dependendo da natureza do composto. Portanto, os valores obtidos para porcentagem de recuperação (%) podem ser considerados bons e validam a metodologia empregada.

4.2.2. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

A cromatografia líquida é um método de grande sensibilidade e confiabilidade para determinação de micropoluentes em amostras ambientais. Muitas metodologias já foram pesquisadas e testadas na identificação de pesticidas já que em grande parte dos países um controle é realizado, pois a concentração limite em suas águas é restrita e sujeita as legislações impostas por cada país.

A Figura 4.1 apresenta o cromatograma obtido com o HPLC da Waters Corporation (Massachusetts, USA) na Universidade de Barcelona. Pode-se observar o pico da ATZ a direita e os comprimentos de onda característicos do composto puro a esquerda (220,8 e 262,0 nm).

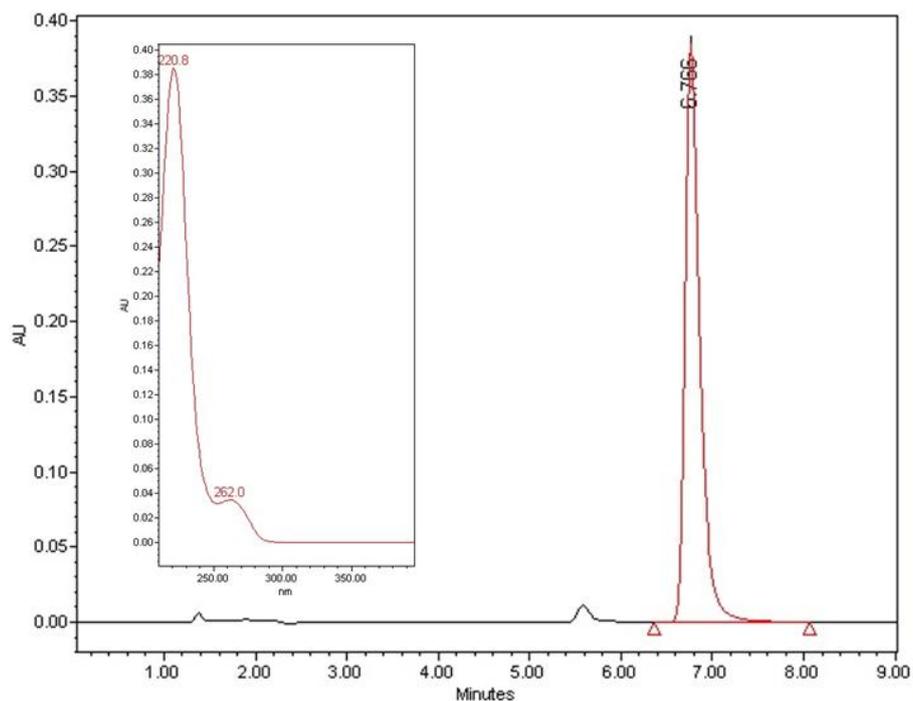


Figura 4.1 Exemplo de cromatograma obtido para o pesticida atrazina em solução preparada com água ultrapura. Condições: 60%(v/v) acetonitrila e 40%(v/v) água, injeção= 20 μ L, fluxo= 1 mL/min e λ = 220 nm.

A Figura 4.2 apresenta as curvas padrão para os pesticidas ATZ e TBZ obtidas a partir da cromatografia líquida (HPLC) no laboratório de Processos Oxidativos Avançados da UB e no Laboratório de Controle de Poluição das Águas da COPPE/UFRJ.

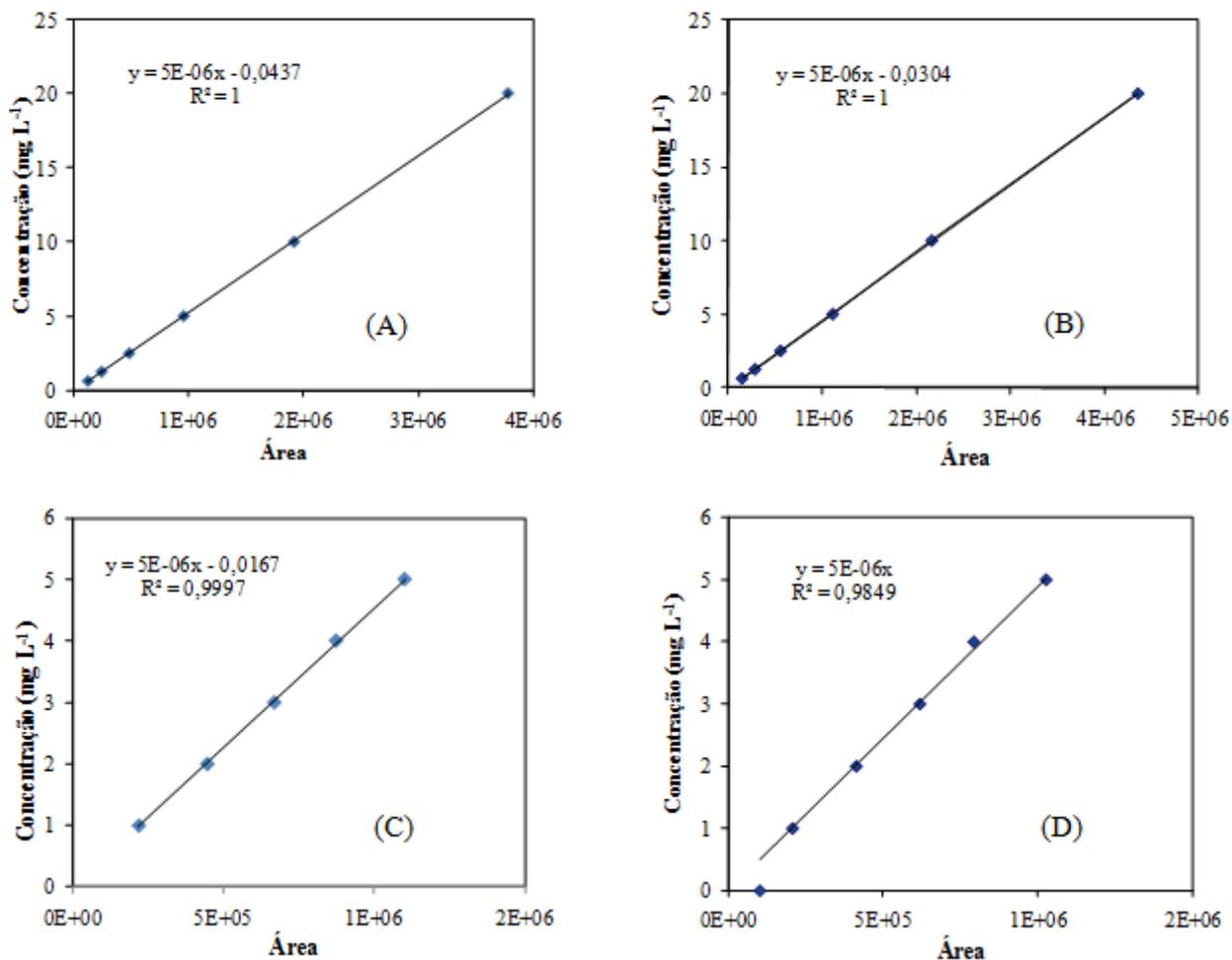


Figura 4.2 Curvas padrão obtidas a partir das injeções dos pesticidas atrazina (A) UB (B) UFRJ e terbutilazina (C) UB e (D) UFRJ realizadas por HPLC.

Pode se verificar uma pequena variação devido aos equipamentos utilizados nas duas universidades. Essas curvas foram frequentemente checadas e a partir delas determinou-se as concentrações dos pesticidas nas soluções que foram utilizadas para cada experimento.

4.3 Processo de Ozonização da Atrazina

Sabe-se que na ozonização dois oxidantes principais podem atuar na degradação do poluente de acordo com o pH da reação (PRADO e ESPULGAS,1999). Quando o pH é básico a formação de radicais OH é favorecida sendo este o oxidante principal atuando menos seletivamente no ataque dos compostos orgânicos. Já a baixos valores de pH o ozônio molecular, que é mais seletivo, reage rapidamente com grupamentos específicos. De acordo com VON GUNTEN (2003) a oxidação de micropoluentes orgânicos pelo O₃ é um processo eficiente somente para compostos que contém grupos amino, sistemas aromáticos como, por exemplo, fenólicos ou duplas ligações. Segundo CHU e MA (2000) os radicais OH gerados a partir do ozônio, na solução aquosa, podem levar a abertura dos anéis aromáticos. A Figura 4.3 mostra o efeito do pH na ozonização da atrazina.

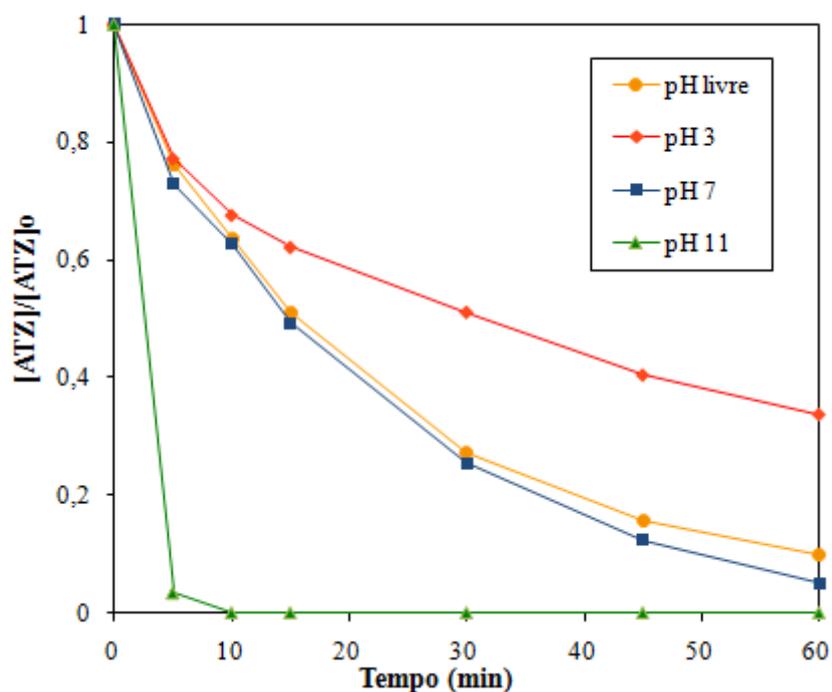


Figura 4.3 Ozonização da atrazina em diferentes valores de pH. [ATZ]₀= 20 mg/L, [O₃]₀= 8,7 mg/L e pH livre (~6).

Pode-se observar uma maior degradação do pesticida com o aumento do pH. Segundo PRADO e ESPULGAS (1999) existem duas formas de degradação via ozônio. Na primeira o ozônio reage diretamente com o soluto como um eletrófilo e a reação é

bastante seletiva. Pela segunda maneira a reação se dá via radical OH (reação indireta), sendo uma reação mais rápida e não seletiva. Os autores estudaram a oxidação da atrazina por diferentes processos oxidativos e em diferentes valores de pH. Em seu estudo em água ultrapura, os autores obtiveram os melhores resultados em pH 11 onde, com 30 min de reação, o composto não era mais detectado no meio. Para pH igual a 4,74 e 6,88 e 90 min de ozonização ainda restava pesticida na solução final. Segundo os autores isso vem comprovar que a oxidação direta com o ozônio é menos eficiente que a reação indireta (via radicais hidroxila formados) na degradação da ATZ. Vale ressaltar que os autores, não identificaram os intermediários formados e também não avaliaram a toxicidade da solução final (após o tratamento) que é um ponto bastante importante, pois sabe-se que muitas vezes os subprodutos da reação são mais tóxicos que a própria molécula precursora. O presente trabalho abordará o assunto no item que trata da ozonização em baixas concentrações, avaliando a atividade estrogênica e identificando os intermediários para a ozonização da atrazina.

De acordo com a Figura 4.3 a degradação da atrazina em pH 11 foi completa, ou seja, 10 min de ozonização foram suficientes para degradação da atrazina. Verificou-se também que o pH exerce uma forte influência na reação de ozonização. Em pH livre e pH 7 não houve a degradação total do composto em 60 min de reação, porém a degradação foi bastante eficiente. Em pH 3 a degradação não se mostrou tão eficiente, porém os resultados também foram bons, obteve-se 67% de remoção da atrazina.

A partir desses resultados pode-se confirmar que a ozonização depende fortemente do pH e ocorre mais rapidamente por radicais OH. A Figura 4.4 mostra a remoção da ATZ em função dosagem de ozônio. Em pH 3 com uma dose de 0,9 mg/L de ozônio, a concentração de atrazina ainda era de 6,54 mg/L.

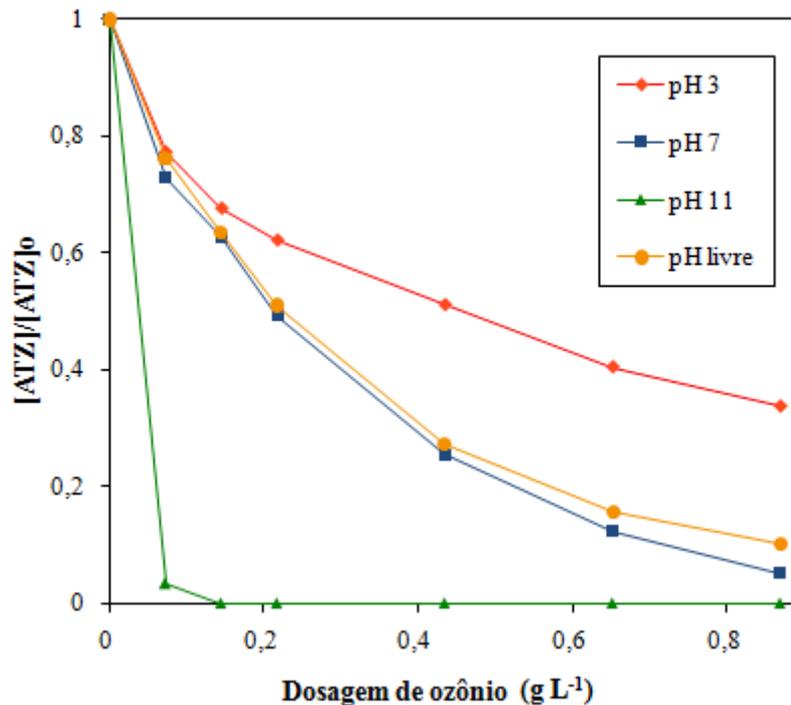


Figura 4.4 Evolução da concentração relativa da ATZ em função da dosagem de ozônio aplicada. $[ATZ]_0 = 20$ mg/L e pH livre (~ 6).

Os resultados mostram que a ozonização promoveu uma remoção rápida da ATZ desde os primeiros minutos de reação. Com 0,07 g/L de ozônio aplicado (5 min) houve uma remoção de 96,63% de atrazina (concentração final = 0,67 mg/L) no pH 11, no qual a oxidação ocorre predominantemente via radicais OH. Após 60 min de ozonização, com 0,9 g/L de ozônio, houve uma remoção da ATZ de 94% em pH 7 e 89% em pH livre (~ 6). É importante ressaltar que no pH neutro há uma menor contribuição do radical OH na oxidação da ATZ. A taxa de oxidação praticamente dobrou quando se aumentou o pH de 3 para 7, sendo que em pH 3 a reação se dá via ozônio molecular. Embora no pH 11 os pontos experimentais não permitissem o cálculo exato da taxa da oxidação, observa-se que a ATZ foi removida 12 vezes mais rápido que no pH neutro. Esses resultados mostram que a oxidação da atrazina ocorre muito mais rapidamente via radicais OH.

A Figura 4.5 apresenta a evolução da concentração relativa de carbono orgânico total (COT) para a degradação da ATZ via ozonização.

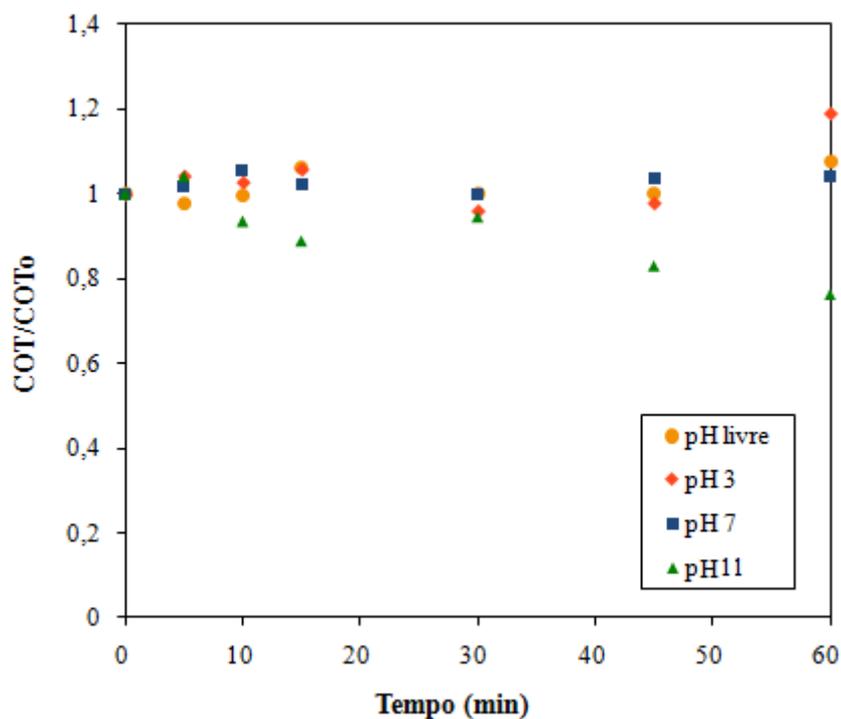


Figura 4.5 Evolução da concentração relativa do carbono orgânico total em função do tempo de ozonização. $[ATZ]_0 = 20$ mg/L, $[O_3]_0 = 8,7$ mg/L e pH livre (~ 6).

Pode se verificar que praticamente não houve variação na taxa de remoção do COT nos valores de pH 3, 7 e livre (~ 6). Quando a reação foi realizada em pH 11 houve uma remoção de aproximadamente 23,91% do COT após 60 min de ozonização e de 0,9 g/L de ozônio. Portanto, a via de oxidação mais efetiva para remoção do carbono orgânico é em pH básico, assim como a remoção da ATZ. De acordo GERALD (1994) a ozonização raramente leva a mineralização completa, mas leva a produtos de oxidação, como ácidos orgânicos, aldeídos e cetonas onde o oxigênio é introduzido em alguns sítios carbonados dentro da molécula, geralmente aumentando a sua biodegradabilidade.

4.3.1 Espectrometria de UV para Ozonização

Sabe-se que as bandas de absorvância de uma substância na faixa de comprimento de onda de aproximadamente 200 a 300 nm representam as ligações

duplas e triplas conjugadas da molécula. A Figura 4.6 apresenta o espectro de absorvância da atrazina em água ultrapura para diferentes tempos de ozonização.

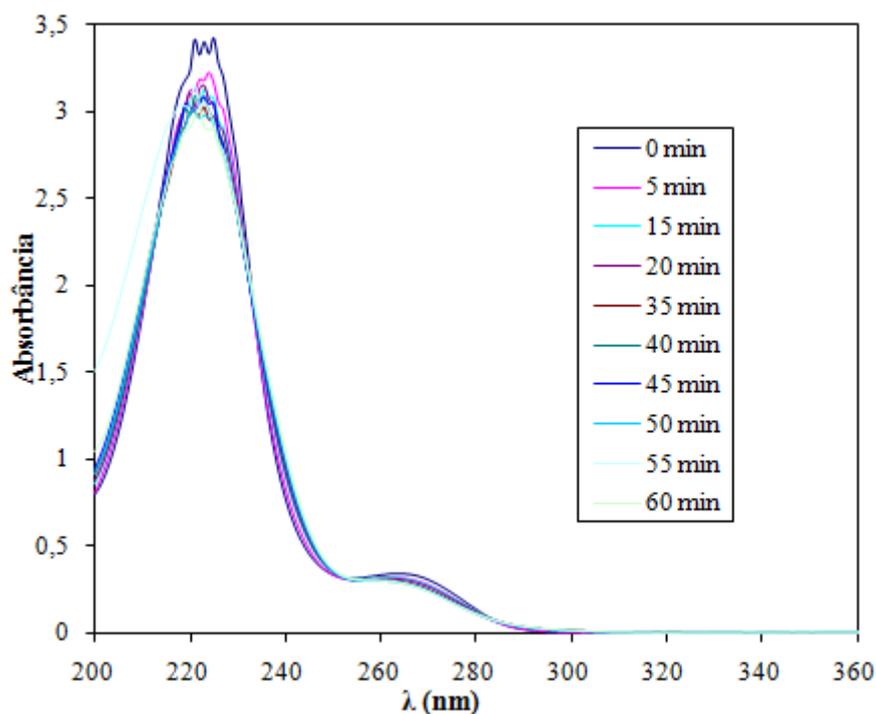


Figura 4.6 Espectros de absorvância das amostras aquosas de atrazina ozonizadas em diferentes tempos. $[ATZ]_0 = 20$ mg/L, pH livre (~ 6) e $[O_3]_0 = 8,7$ mg/L.

O espectro de absorvância da atrazina indica que sua molécula apresenta um máximo de absorção característico em $\lambda = 220$ nm e uma pequena banda de absorvância em aproximadamente $\lambda = 262$ nm.

A Figura 4.6 mostra um pequeno decréscimo das bandas de absorvância da atrazina com diferentes tempos de ozonização o que indica rompimento do anel aromático presente na molécula da ATZ. Porém, como pode se observar, não houve uma diminuição significativa o que leva a crer que uma degradação mais efetiva da atrazina deve ocorrer com tempos de reação bem mais elevados ou uma maior dosagem de ozônio. Sabe-se que o anel heterocíclico semelhante ao benzeno explica a estabilidade da atrazina (CAMPOS, 2009). Esse anel aromático clorado e N-alkilado faz com que a molécula não seja facilmente biodegradada.

Uma outra possibilidade, que explicaria a pequena diminuição das bandas de absorvância, é a formação de intermediários que possuem anel aromático e ligações

duplas em sua molécula. Vale ressaltar que no pH em que a reação ocorre (~6) tanto a via molecular quanto radicalar estão atuando na degradação do pesticida. Posteriormente, quando os espectros para o processo UV/H₂O₂ forem apresentados essa discussão será retomada.

4.3.2 Ozonização da Atrazina em Efluente Secundário

Diversos estudos vem sendo realizados com o intuito de desenvolver tecnologias capazes de minimizar a toxicidade e até mesmo o volume de efluentes a serem descartados pelas indústrias, permitindo a remoção inclusive de micropoluentes e se possível levando a sua mineralização. Como dito anteriormente, os processos de tratamento tradicionais que utilizam sistemas biológicos para a degradação desses efluentes, não são capazes de degradar a maioria desses compostos. Os pesticidas podem estar presentes tanto em plantas de tratamento de água (por serem encontrados em águas superficiais e subterrâneas) como em plantas de tratamento de esgoto, em menor quantidade de acordo com (KONG *et al.*, 2008).

A ozonização, bem como outros processos oxidativos avançados, é uma alternativa para degradar ou aumentar a biodegradabilidade desses compostos e se mostra bastante eficaz nesta função. Nesta seção será apresentado o estudo da remoção do pesticida atrazina em água ultrapura e em efluente secundário proveniente da estação de tratamento de esgoto. Uma avaliação da cinética de degradação do pesticida nas duas matrizes foi realizada. A análise da interferência da matéria orgânica é um estudo interessante, pois indica o efeito da mesma na remoção do composto.

A Figura 4.7 mostra a ozonização da atrazina em efluente secundário com uma concentração inicial de 20 mg/L a pH livre (~7,9) e com até 120 min de tratamento.

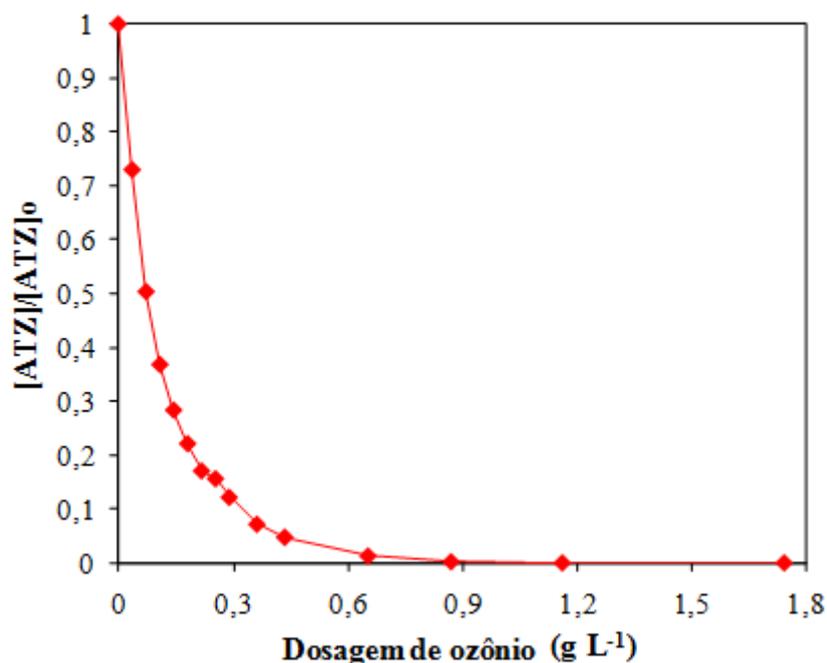


Figura 4.7 Remoção da ATZ em efluente secundário em função da dosagem de ozônio aplicada. $[ATZ]_0 = 20 \text{ mg/L}$ e pH livre (~ 8).

A Figura 4.7, mostra que foram necessários aproximadamente $1,16 \text{ g L}^{-1}$ de ozônio (80 min) para remoção total do pesticida. Sabe-se que, embora o ozônio seja um oxidante seletivo, reage principalmente com grupos específicos, como anéis aromáticos e aminas desprotonadas, pode oxidar a matéria orgânica presente no efluente já que esta pode conter diversos compostos orgânicos com diferentes grupos funcionais que seriam atacados pelo ozônio. Conseqüentemente, a dosagem de ozônio necessária para completa remoção da ATZ é maior quando comparado com a ozonização em água ultra pura.

Como o pH era de aproximadamente 8 havia a presença dos dois oxidantes, radicais OH e ozônio molecular. A remoção observada com uma dose de ozônio de $0,9 \text{ g/L}$ (60 min) foi de 99,79%.

Comparando-se com os resultados de degradação da ATZ em água ultrapura e em efluente secundário, pode-se observar uma semelhança, embora se esperasse que em efluente a degradação fosse um pouco mais lenta devido a presença da matéria orgânica. Essa fato pode ter ocorrido devido a seletividade do ozônio molecular, que ataca primeiro grupos mais específicos (neste caso a molécula de atrazina) e apenas

posteriormente reagiria com a matéria orgânica presente no efluente ou porque os experimentos foram realizados em épocas diferentes com a unidade experimental (na Universidade de Barcelona) modificada. A unidade de ozônio estava em processo de melhoria quando ocorreram os primeiros experimentos, com água ultrapura, e quando se realizaram os experimentos com efluente a unidade já estava otimizada.

Avaliando-se os resultados obtidos para degradação da atrazina e para a remoção do COT, apresentada na Figura 4.8, pode-se observar, também, que possivelmente a atrazina foi degradada e apenas posteriormente deu-se o início do declínio da concentração da matéria orgânica. Porém esse fato será esclarecido posteriormente na seção que trata do estudo cinético da ozonização. Com uma dose de ozônio aplicada de 0,22 g/L (15 min) para 0,43 g/L (30 min) a remoção do COT passou de 5% para 10%, enquanto que a remoção da ATZ em 15 minutos já era de 83% e em 30 min era de 95% com as mesmas dosagens de ozônio.

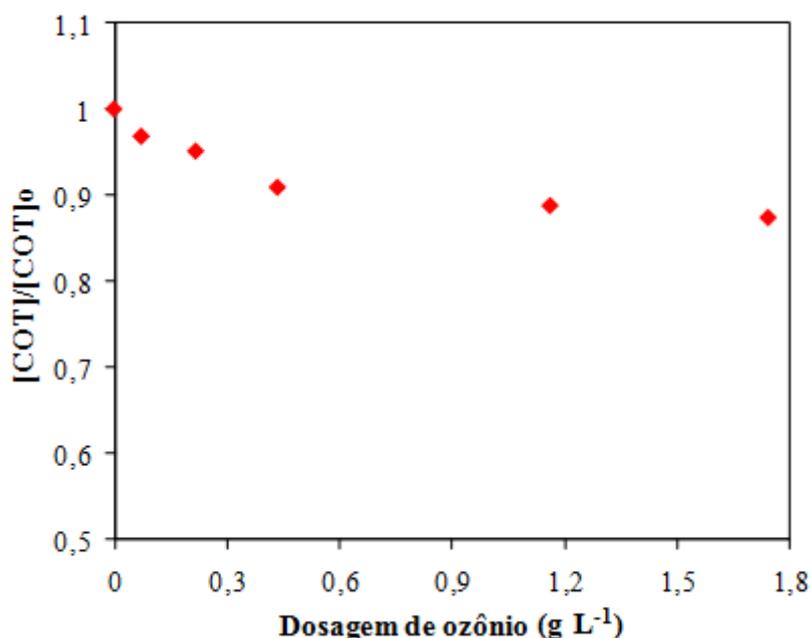


Figura 4.8 Remoção do COT durante a ozonização da atrazina em efluente secundário em função da dosagem de ozônio. [ATZ]₀=20mg/L e pH livre (~8).

A análise do COT para ATZ em água ultrapura não mostrou uma remoção dos produtos de reação (apenas em pH 11 observou-se uma remoção de COT relevante), por outro lado, comparativamente, a remoção de COT para o efluente secundário contendo

ATZ foi de aproximadamente 12% após 2 h de ozonização com 1,74 mg/L de ozônio, porém, deve-se levar em consideração, neste caso, a presença de matéria orgânica presente no efluente e que também está sendo removida pelo tratamento contribuindo com uma parcela nesta porcentagem.

A Figura 4.8 mostra a relação do carbono orgânico total por dosagem de ozônio consumido. Observa-se que provavelmente não houve mineralização dos subprodutos da atrazina, a redução de aproximadamente 12% é pequena. A mineralização da matéria orgânica presente no efluente secundário (EfOM) confirma a competição com a ATZ na reação com o ozônio e os radicais OH (gerados pela decomposição do ozônio), diminuindo assim a quantidade de ozônio disponível para reagir com o micropolvente, neste caso a ATZ.

4.3.3 Cinética da Reação de Ozonização

A avaliação das constantes cinéticas da reação via ozônio molecular e via indireta por radicais hidroxila foi realizada para atrazina tanto em água ultrapura como em efluente secundário com uma concentração inicial de ATZ de 20 mg/L. A cinética foi determinada para pH 7,9 que, geralmente, está na faixa de pH do efluente secundário. Para simular os mesmos efeitos o pH da água ultrapura foi ajustado para aproximadamente 7,9 com o auxílio de um tampão apropriado.

Utilizou-se um capturador de radicais OH (*scavenger*), neste caso, t-butanol e as análises foram feitas nos primeiros minutos da reação. A degradação da atrazina em presença de t-butanol é baseada na reação direta com ozônio molecular e, portanto se determina a constante cinética da reação com O₃. Quando se realiza a reação sem a presença do t-butanol a constante total de reação é determinada e, de acordo com PILLAI *et al.* (2009), quando se faz a diferença entre esta constante e a constante para reação direta com ozônio molecular se obtém a constante para a reação via radical OH.

Este estudo é de grande importância pois determina a influência da matéria orgânica na remoção da ATZ em efluentes secundários, as constantes cinéticas para a oxidação da ATZ pelo radical hidroxila e o ozônio molecular em água ultrapura e no

efluente. De acordo com PILLAI *et al.* (2009) a taxa total da degradação de um composto (r_{tot} , mol de $\text{cm}^{-3}\text{s}^{-1}$) é a soma das contribuições da taxa da reação do ozônio molecular (r_{mol} , mol de $\text{cm}^{-3}\text{s}^{-1}$) e da taxa da reação via radicais OH (r_{rad} , mol de $\text{cm}^{-3}\text{s}^{-1}$). Assim, a constante cinética pode ser descrita de acordo com a Equação 4.1.

$$k'_{tot} = k'_{mol} + k'_{rad} \quad (4.1)$$

A Figura 4.9 apresenta as constantes cinéticas de pseudo primeira ordem para a oxidação da atrazina por ozônio molecular (presença de t-butanol) e por ozônio molecular e radicais OH conjuntamente (sem t-butanol) em água ultra pura.

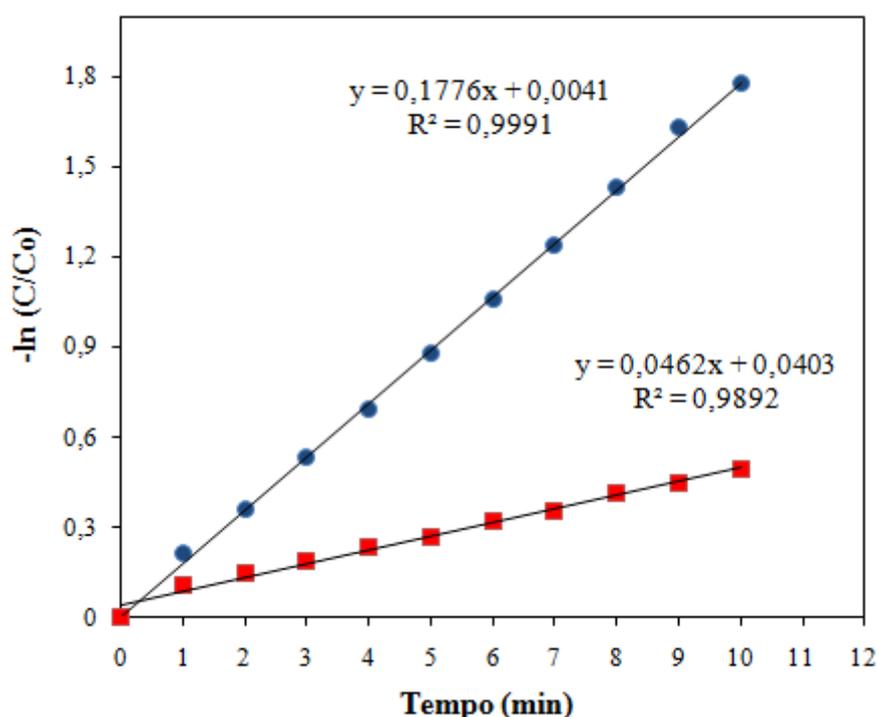


Figura 4.9 Constantes da taxa de reação para a ozonização da ATZ em água ultrapura (●) K_{tot} e (■) K_{mol} . $[ATZ]_0 = 20$ mg/L, $\text{pH} = 7,9$ e $[O_3]_0 = 8,7$ mg/L.

Como pode se observar na Figura 4.9, que mostra o logaritmo neperiano da concentração relativa versus o tempo de ozonização, a constante cinética de pseudo primeira ordem total para reação de ozonização em água ultrapura é de $0,1776 \text{ min}^{-1}$ e a constante cinética para oxidação via ozônio molecular é de $0,0462 \text{ min}^{-1}$ e, conseqüentemente, a constante cinética referente a contribuição dos radicais OH é igual a $0,1341 \text{ min}^{-1}$.

A Figura 4.10 apresenta a taxa de reação de pseudo primeira ordem para a degradação da ATZ em efluente secundário.

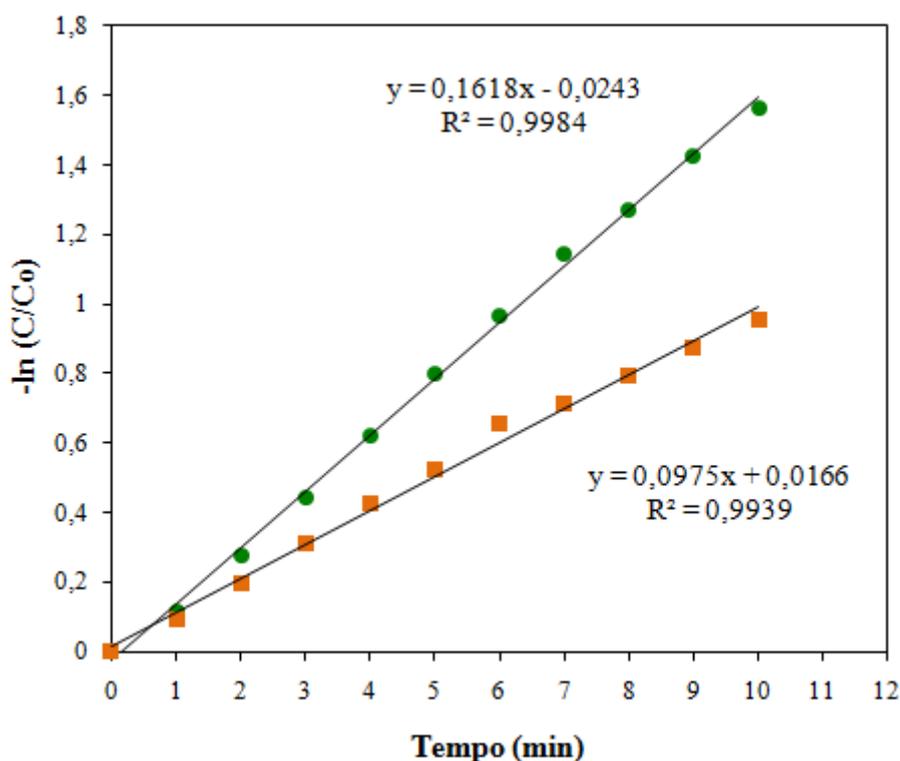


Figura 4.10 Constantes da taxa de reação de pseudo primeira ordem para a ozonização da ATZ em efluente secundário (●) K_{tot} e (■) K_{mol} . $[ATZ]_0 = 20$ mg/L, $pH = 7,9$ e $[O_3]_0 = 8,7$ mg/L.

Como pode se observar a partir da Figura 4.10 a constante de pseudo primeira ordem total para reação de ozonização em efluente secundário é de $0,1618 \text{ min}^{-1}$ e a constante para contribuição do ozônio molecular é de $0,0975 \text{ min}^{-1}$, conseqüentemente a constante cinética referente a contribuição dos radicais OH é igual a $0,0643 \text{ min}^{-1}$.

A Figura 4.11 apresenta um diagrama de blocos com as constantes cinéticas obtidas a partir da reação via ozônio molecular (k_{mol}), da reação via radical (k_{rad}) e a constante de reação total (k_{tot}) para o processo de ozonização da ATZ em água ultrapura e em efluente secundário.

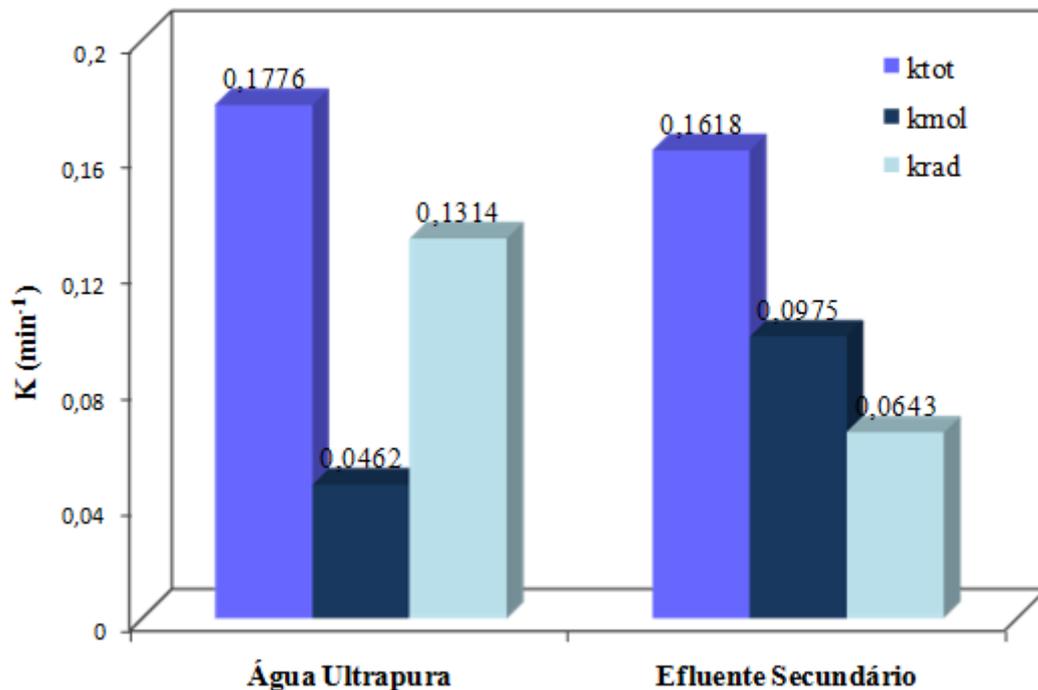


Figura 4.11 Constantes cinéticas para as contribuições individuais, reação via ozônio molecular (k_{mol}) ou reação via radical (k_{rad}), e constante de reação total (k_{tot}) para o processo de ozonização da ATZ em água ultrapura e em efluente secundário. $[ATZ]_0 = 20$ mg/L, pH ~7,9 e $[O_3]_0 = 8,7$ mg/L.

A Figura 4.11 mostra que para reação da atrazina em água ultrapura os radicais OH tiveram uma grande contribuição, representando 74% da degradação da ATZ. Por outro lado, quando o pesticida foi ozonizado em efluente secundário, ou seja, na presença de uma quantidade maior de matéria orgânica e outros compostos, a oxidação via ozônio molecular foi favorecida, com uma contribuição do O_3 de 63%, confirmando o resultado obtido para o experimento apresentado na Figura 4.7.

A diferença entre as constantes cinéticas do radical hidroxila para água ultrapura e para o efluente secundário pode ser atribuída a remoção da matéria orgânica. Consequentemente, pode-se verificar que, mesmo que uma elevada remoção da ATZ pelo radical esteja ocorrendo, a remoção do micropoluinte neste caso está ocorrendo preferencialmente via ozônio molecular. É comum se obter altas constantes das taxas de reação para a oxidação com radicais OH, isso demonstra que a remoção de compostos orgânicos por esse oxidante é bastante rápida.

Estes resultados, confrontados com os obtidos para a ozonização, descrita anteriormente na Figura 4.7, nas mesmas condições por 2 h, confirmam que, realmente, a via molecular é a mais eficiente na remoção da atrazina em efluente, ou seja, na presença de matéria orgânica.

4.3.4 Ozonização da Atrazina em Baixa Concentração

Os experimentos com concentrações mais baixas de ATZ foram realizados com a finalidade de aproximar um pouco mais a concentração inicial de atrazina, utilizada nos experimentos, às concentrações encontradas ambientalmente e avaliar a estrogenicidade da solução final após cada minuto de tratamento.

De acordo com ALMEIDA *et al.* (2004) diversos estudos mostraram que o ozônio é capaz de reagir com inseticidas organofosforados, pesticidas organoclorados e organonitrogenados, sendo efetivo na degradação destes, sobretudo quando a reação é conduzida em meio alcalino. No entanto, se torna necessário um estudo mais profundo e direcionado para avaliar a habilidade do ozônio na redução da toxicidade destes compostos, visto que nos ensaios de ozonização realizados por ORMAD *et al.* (1997), por exemplo, os subprodutos formados foram mais tóxicos que os originalmente presentes.

Foram realizados experimentos com uma concentração inicial de atrazina de 0,5 mg/L e posteriormente realizou-se a avaliação da atividade estrogênica das soluções. A Figura 4.12 mostra os resultados obtidos para ozonização da atrazina em água ultrapura e baixa concentração.

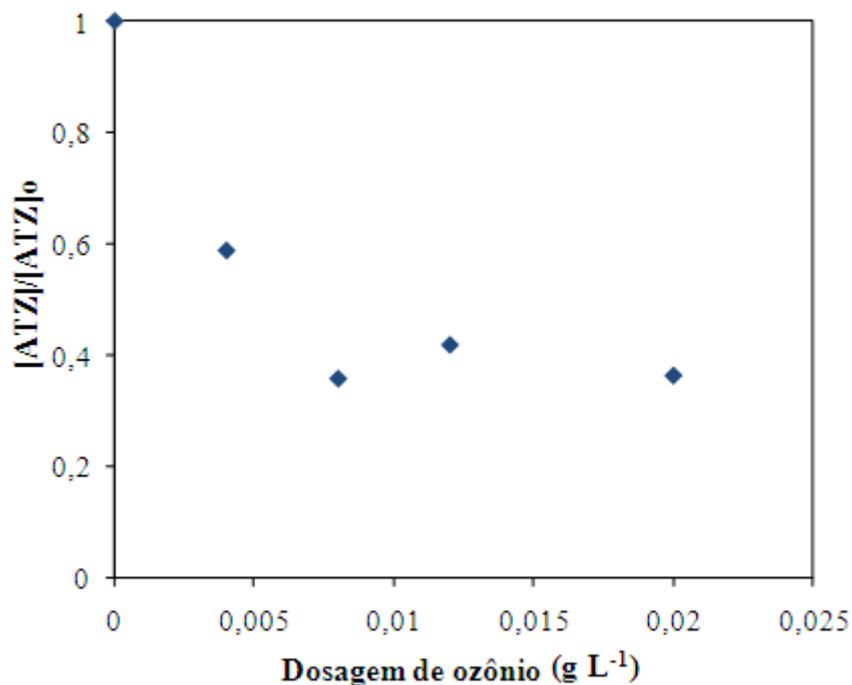


Figura 4.12 Remoção da atrazina em água ultrapura em função da dosagem de ozônio aplicada $[ATZ]_0 = 0,5$ mg/L, $[O_3]_0 = 4$ mg/L e pH livre (~ 7).

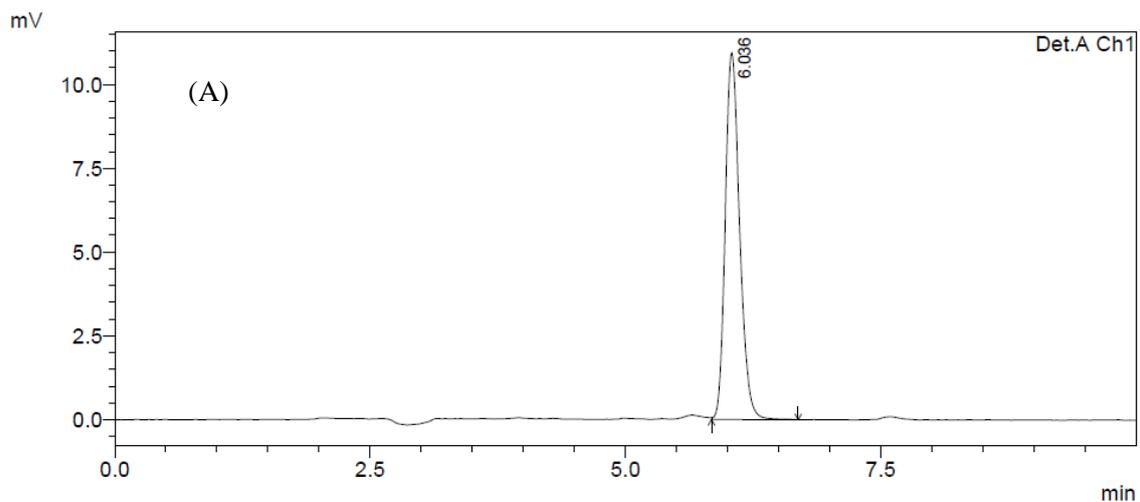
Os experimentos foram realizados com água ultrapura e a pH livre (~ 7). No primeiro minuto de reação houve uma remoção da atrazina de aproximadamente 41% para 0,004 g/L de ozônio. Pela Figura 4.12 pode-se observar que com uma dose de ozônio de 0,008 g/L (2 min de ozonização) não houve uma variação significativa na concentração da atrazina que praticamente se manteve constante e ao final da ozonização a remoção foi de 63% com 0,02g/L de ozônio (5 min de ozonização).

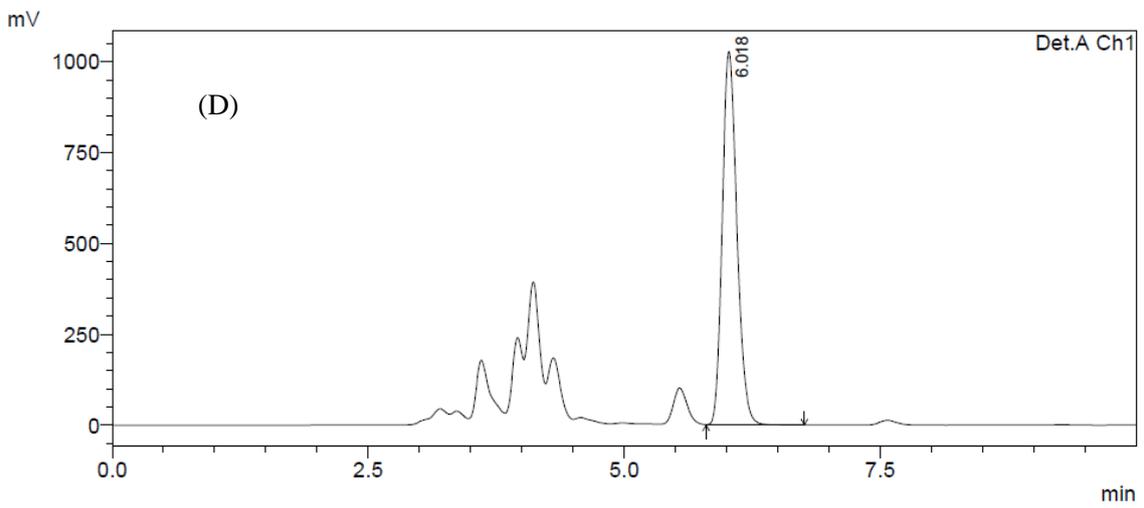
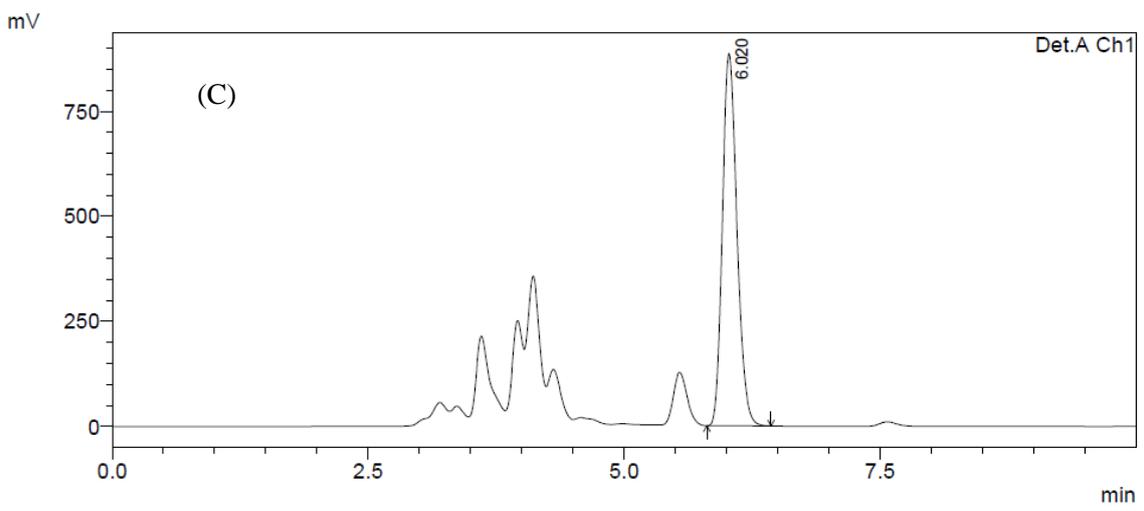
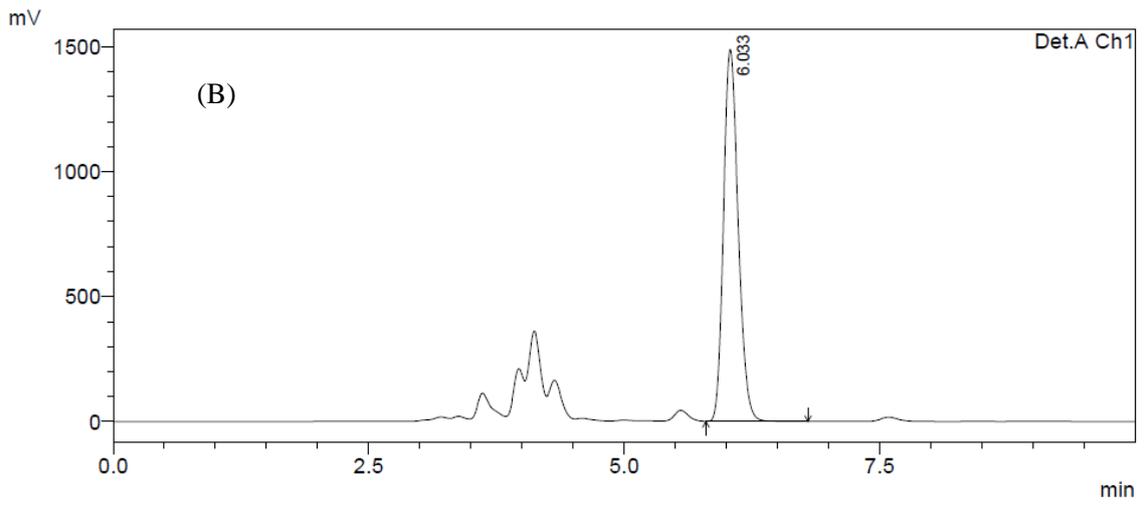
Para concentração mais alta de atrazina (20 mg/L) também não houve uma remoção total do pesticida ao final do tratamento em pH livre. Verificou-se que após 60 min de ozonização, com 0,9 g/L de dosagem do ozônio, houve uma remoção da ATZ de 94% em pH 7 e 89% em pH livre (~ 6). No caso da concentração mais baixa (0,5 mg/L) também não se eliminou toda a ATZ, sua remoção alcançou apenas 63%, ou seja, a concentração final foi de 0,17 mg/L de atrazina na solução. Estes resultados confirmam a dificuldade de remover essas substâncias quando estão presentes em baixas concentrações.

4.3.5 Intermediários Formados Durante a Ozonização

No presente trabalho ficou claro que o ozônio foi capaz de degradar a atrazina em ambas matrizes testadas, no entanto, seria necessário um estudo para avaliar a habilidade do ozônio na redução da toxicidade deste composto visto que nos ensaios de atividade estrogênica realizados após o tratamento com ozônio (ATZ em baixa concentração) observou-se uma resposta positiva para o teste YES, ou seja, os intermediários provavelmente possuem atividade estrogênica para esse teste, embora o composto puro não apresente resposta para o mesmo.

A Figura 4.13 apresenta os cromatogramas obtidos antes da reação, apenas com o pico da ATZ, e após diferentes períodos de ozonização com os picos referentes aos intermediários formados. Pode-se verificar, a esquerda do pico da atrazina (pico mais acentuado no tempo de retenção de aproximadamente 6 min), a presença dos intermediários da reação de degradação.





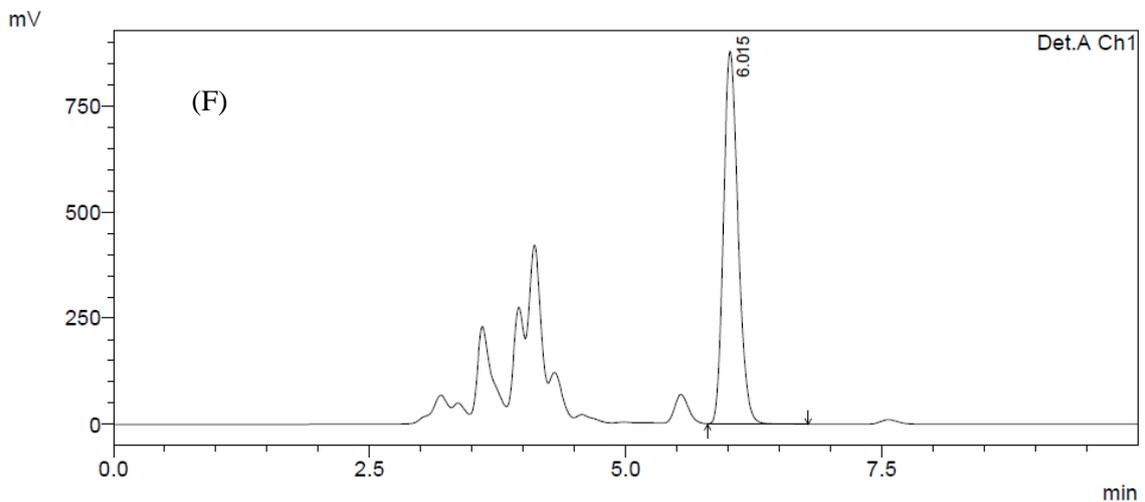
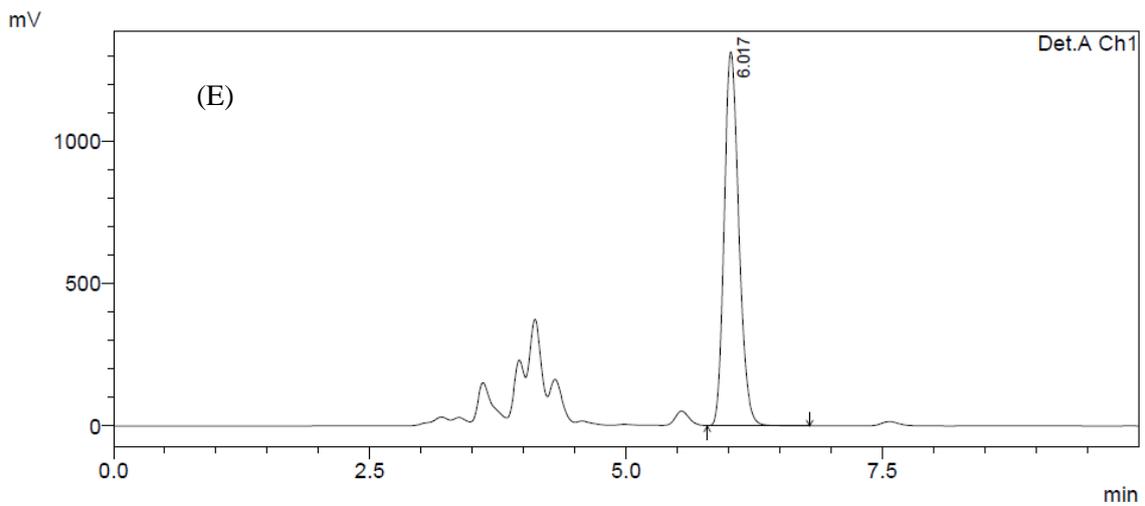
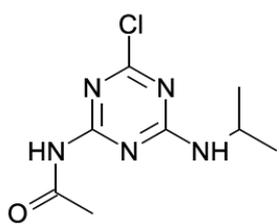
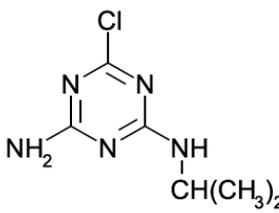
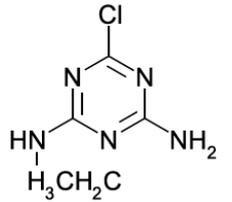
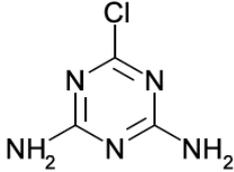


Figura 4.13 Cromatogramas obtidos para ozonização da atrazina (A) antes da reação, (B) 1 min, (C) 2 min, (D) 3 min, (E) 4 min e (F) 5 min de ozonização. $[ATZ]_0 = 0,5$ mg/L, $[O_3]_0 = 4$ mg/L e pH livre (~ 7).

A Tabela 4.3 mostra os possíveis intermediários formados durante a ozonização onde o teste YES acusou positivo, ou seja, onde há uma possível atividade estrogênica que pode ser devido a um destes intermediários.

Tabela 4.3 Intermediários Propostos para Ozonização da Atrazina em Baixa Concentração

Fórmula	ESI-MS (m/z)	Composto	Fórmula Estrutural	Tempo de Ozonização (min)		
				2	3	4
C ₈ H ₁₅ Cl N ₅ O ₂	248,09	CMIT + O		✓		
C ₈ H ₁₅ Cl N ₅ O	232,09	(CMIT) 2-cloro-4-(1-metiletanolamino)-6-(isopropilamino)-s-triazina		✓	✓	
C ₈ H ₁₃ N ₅ Cl O	230,08	(CDIT) 2-cloro-4-acetamido-6-(isoproplamino)-s-triazina ou (CDDT) 2-cloro-4,6-diacetamido-s-triazina		✓	✓	✓
C ₇ H ₁₁ Cl N ₅	200,07	ATZ menos metila		✓	✓	✓
C ₆ H ₁₁ Cl N ₅	188,07	(DEA) Desetilatrazina 2-chloro-4-amino-6-etilamino-1,3,5-triazina		✓	✓	✓
C ₅ H ₉ Cl N ₅	174,05	(DIA) Desisopropilatrazina 2-cloro-4-etilamino-6-amino-1,3,5-triazina		✓	✓	✓
C ₄ H ₅ Cl N ₅	158,02	(OEAT) 2-hidroxi-4-(etilamino)-6-amino-s-triazina		✓		

$C_3 H_5 Cl N_5$	146,02	(DEIA) Desetildesisopropilatrazina 2-cloro-4,6-amino-1,3,5-triazina		✓	✓	✓
$C_7 H_{13} Cl N_5$	202,08	(CIMT) 2-cloro-4-isopropilamino-6-metilamino-s-triazina ou (CDDT) 2-cloro-4,6-diacetamido-s-triazina			✓	✓
$C_5 H_7 Cl N_5$	172,04					✓

Os espectros de massa para os subprodutos da degradação da ATZ em água ultrapura para o processo de ozonização obtidos através de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC/MSD-TOF), onde o teste YES acusou a coloração mais intensa, ou seja, onde supõe-se a maior resposta para atividade estrogênica no teste, estão apresentados no ANEXO 1.

Apesar de vários intermediários serem formados na ozonização da atrazina, alguns deles não puderam ser identificados, comparando suas massas a dados da literatura com intermediários propostos por outros autores, somente alguns intermediários puderam ser propostos. Pode-se verificar a presença dos intermediários CMIT, CDIT, DEA, DIA e DEIA com 2, 3 e 4 min de ozonização. Alguns intermediários como o $C_4H_5ClN_5$ que, possivelmente, é o composto denominado OEAT (2-hidroxi-4-(etilamino)-6-amino-s-triazina) foi encontrado também por CHAN e CHU (2005) como intermediário para reação de Fenton onde os radicais OH são os oxidantes principais da reação. Vale ressaltar que o pH das amostras ozonizadas para identificação dos intermediários foi aproximadamente 7 onde devem estar atuando tanto o ozônio molecular quanto os radicais OH e por esse motivo os produtos para ambas as vias de reação deveriam ser encontrados, como aconteceu com o OEAT também obtido por CHAN e CHU (2005).

De acordo com CAMPOS (2009), a atrazina pode se degradar em vários metabólitos, que variam em persistência no ambiente e em toxicidade. Os metabólitos mais comuns são a hidroxiatrazina (HA), dietilatrazina (DEA), desisopropilatrazina (DIA), didequilatrazina (DDA) e desetilhidroxiatrazina (DEHA). Segundo o autor, DIA, DEA e DDA podem ser formados durante a biodegradação, enquanto HA e DEHA podem ser formados tanto por reações químicas quanto por ação biológica. DEA e DIA são fitotóxicos e o DEA é o metabólito de maior interesse, pois é considerado quase tão tóxico quanto a atrazina. A formação do DIA e do DEA foi observada no presente trabalho, e podem ser responsáveis pela atividade estrogênica, uma vez que possuem um anel aromático substituído com cloro.

ACERO *et al.* (2000) investigaram a degradação da atrazina pelo ozônio molecular e pelos radicais OH durante a ozonização e identificaram os principais produtos da degradação. Além da desalquilação e do grupo amida entre os produtos de degradação (6-amino-2-cloro-4-isopropilamino-s-triazina, 6-amino-2-cloro-4-(etilamino)-s-triazina, 4-acetamida-2-cloro-6-isopropilamino-s-triazina, 4-acetamida-6-amino-2-cloro-s-triazina e clorodiamina s-triazina), dois produtos novos de degradação com um grupo imina foram identificados (2-cloro-4-etilimina-6-isopropilamina-s-triazina e 6-amino-2-cloro-4-etilimina-s-triazina). A contribuição dos diferentes oxidantes (ozônio molecular e radicais OH) ao processo de degradação também foi determinada pelos autores, e as constantes da taxa de reação da atrazina foram igualmente determinadas e serão abordadas posteriormente.

No trabalho desses autores, para estudar as reações com ozônio molecular (O_3), o pH foi mantido constante em 7 para mimetizar a água potável e utilizaram o t-butanol como capturador de radicais OH. A concentração inicial de O_3 foi variada de 5 a 10 mg/L a fim conseguir uma degradação completa da atrazina e dos vários produtos de degradação. As condições utilizadas foram pH 7, 20°C, $[O_3]_0 = 10$ mg/L, [t-Butanol] = 2 mM, $[ATZ]_0 = 4,55$ μ M. Os autores assumiram que durante os primeiros minutos da reação, o ozônio ataca principalmente a ATZ e a reação com os produtos da degradação ocorre somente quando ATZ foi degradada parcialmente. Estas investigações conduziram ao esquema da reação apresentado na Figura 4.14 (linhas contínuas). As porcentagens representam a fração de ATZ oxidada a um produto particular.

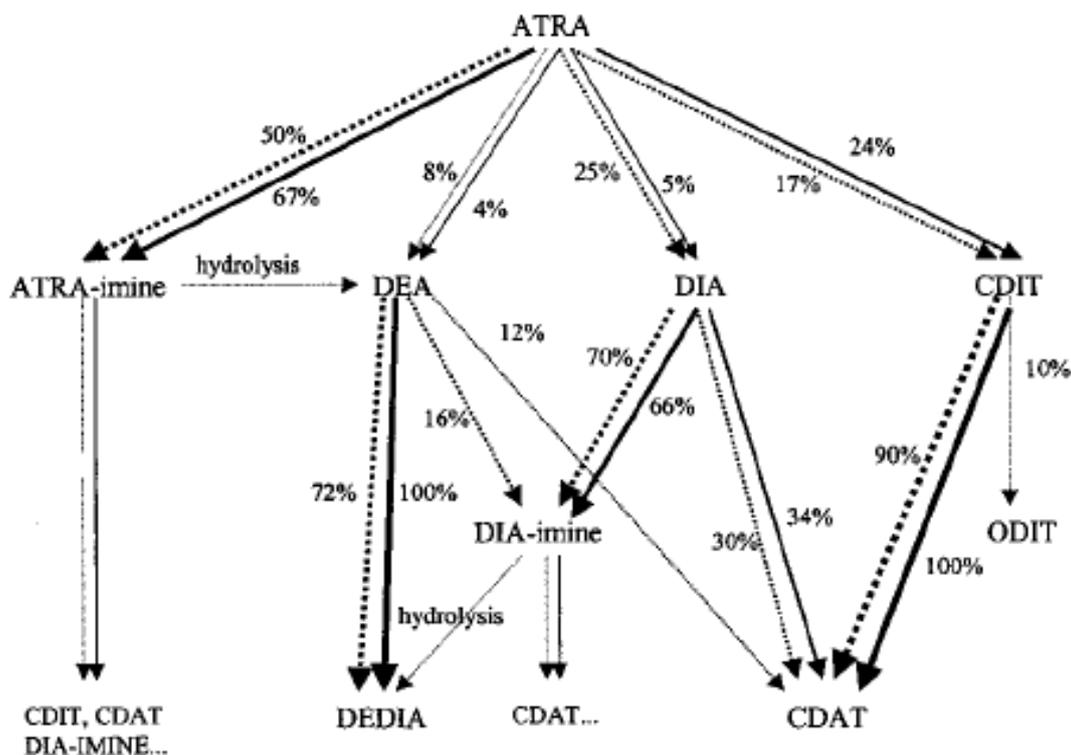
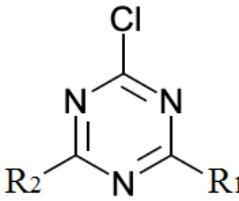


Figura 4.14 Degradação da atrazina e formação dos produtos de degradação por radicais OH e por ozônio. Linhas contínuas: reações com ozônio molecular; Linhas tracejadas: Reações com radicais OH. Adaptado de ACERO *et al.* (2000).

Os autores observaram, também, que a degradação do ATRA-imina pelo ozônio é lenta, e levou a formação dos compostos CDIT, DIAimina, e CDAT, e alguns subprodutos não identificados. A reação do ozônio molecular com CDIT conduziu à formação do CDAT. A ozonização do DEA levou à formação de DEDIA, assim a dealquilação é o resultado do ataque do ozônio ao grupo isopropila. Durante ozonização direta do DIA houve a formação de DIA-imina e acetamida predominantemente, 66 e 34%, respectivamente. CDAT e DEDIA se mostraram resistentes ao ataque pelo ozônio e, conseqüentemente, ambos foram identificados como produtos finais. Nenhum derivado hidroxilado foi encontrado e isso concorda com alguns resultados publicados para ozonização da atrazina. Os autores verificaram que para a reação com radicais OH os subprodutos de reação obtidos foram similares com pequenas variações, porém entre os produtos primários de degradação estavam também o ATRA-imina, CDIT, DEA e DIA.

Segundo ACERO *et al.* (2000) os subprodutos encontrados em maior quantidade durante a degradação da atrazina por ozonização e por radicais OH são apresentados na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 Estrutura química da atrazina e de seus principais produtos de degradação. Adaptado de ACERO *et al.* (2000)

Estrutura Química da Atrazina e de seus Produtos de Degradação		
		
atrazina (ATZ)	R ₁ : NHCH ₂ CH ₃	R ₂ : NHCH(CH ₃) ₂
4-acetamido-2-cloro-6-isopropilamino-s-triazina (CDIT)	R ₁ : NHCOCH ₃	R ₂ : NHCH(CH ₃) ₂
4-acetamido-2-cloro-6-etilamino-s-triazina (CDET)	R ₁ : NHCOCH ₃	R ₂ : NHCH ₂ CH ₃
desetilatrazina (DEA)	R ₁ : NH ₂	R ₂ : NHCH(CH ₃) ₂
desisopropilatrazina (DIA)	R ₁ : NHCH ₂ CH ₃	R ₂ : NH ₂
4-acetamido-6-amino-2-cloro-s-triazina (CDAT)	R ₁ : NHCOCH ₃	R ₂ : NH ₂
desetildesisopropilatrazina (DEDIA)	R ₁ : NH ₂	R ₂ : NH ₂
2-cloro-4-etilimino-6-isopropilamino-s-triazina (ATZ-imina)	R ₁ : N=CHCH ₃	R ₂ : NHCH(CH ₃) ₂
6-amino-2-cloro-4-etilimino-s-triazina (DIA-imina)	R ₁ : N=CHCH ₃	R ₂ : NH ₂

Comparando os resultados obtidos no presente trabalho com os resultados obtidos por ACERO *et al.* (2000) uma similaridade entre os produtos pode ser observada. Verificou-se a formação dos subprodutos CDIT, DEA e DIA que foram igualmente propostos pelos autores, sendo que o CDIT foi obtido via ozônio molecular. Além dos compostos citados anteriormente, o presente trabalho propõe como compostos da degradação da ATZ pelo processo de ozonização os compostos CMIT, OEAT e DEIA.

De acordo com ACERO *et al.* (2000) o ATRA-imina e o CDIT foram os produtos predominantes da degradação quando realizaram a degradação da atrazina apenas por ozônio, utilizando um capturador de radicais OH, ou seja, quando a via direta por ozônio molecular era utilizada na oxidação do pesticida. Segundo os autores o CMIT provavelmente pode ser degradado a DEA por oxidantes mais fracos, que não o radical OH, presentes durante a ozonização (como por exemplo (HOO• e O₂•). Esse fato justifica a presença dos dois compostos na ozonização da atrazina mesmo com os baixos tempos de reação utilizados neste trabalho.

BALCI *et al.* (2009) estudaram a degradação da atrazina através dos radicais OH pelo processo Fenton, identificando os sete principais intermediários aromáticos e quatro ácidos carboxílicos em uma solução contendo inicialmente 0,25 mM de ATZ. Os intermediários propostos foram DEIHA, DIA, DIHA, HA, DEIA, DEA e DEHA. Nos primeiros minutos de reação foram detectados DIA, HA e o DEA. Os autores acompanharam também o desaparecimento dos intermediários e observaram que o DIA e o HA não foram mais detectados após 20 e 30 min de reação respectivamente, e o total desaparecimento do DEA exigiu 140 min. A degradação a ácido cianúrico, que seria o produto final da degradação da ATZ, necessitou 18 h de tratamento. Mais uma vez pode-se observar a presença dos compostos DEA, DIA e DEIA sendo que DIA e DEA foram obtidos nos primeiros minutos de reação, como foi verificado também no presente trabalho.

CHAN e CHU (2005) também estudaram a degradação da atrazina via radicais OH com processo Fenton (Fe⁺²/H₂O₂). A remoção de até 98% ATZ foi obtida pelo processo. Os intermediários identificados no processo foram: met-CMIT, CDIT, CIAT (ou DEA), OIET, CEAT (ou DIA), CDET, OAAT ou amelina, ODIT, ODET, CDAT,

ODAT, OIAT, CAAT (ou DEIA) e OEAT. Todos os intermediários detectados foram obtidos a partir da desalquilação da ATZ em níveis ou em posições diferentes. A partir dos resultados obtidos por CHAN e CHU (2005) e BALCI *et al.* (2009) conclui-se que os subprodutos DIA, DEA e DEIA são resultado da contribuição da reação via radicais OH.

CHEN *et al.* (2009) estudou a fotodecomposição da atrazina por UV 254 nm para identificação dos intermediários da degradação do pesticida. Os experimentos de fotodecomposição foram realizados em um reator com capacidade de 250 mL com uma lâmpada de vapor de mercúrio de baixa pressão de 8 W. A intensidade UV foi de 0,96 mWcm⁻². A concentração inicial de atrazina utilizada foi de 10 mg/L. Os autores verificaram que os produtos principais da degradação foram OIET, CMIT, CVVT, CEAT (ou DIA), OIMT e ODET e alguns produtos decloro-hidrogenados que ainda não haviam sido relatados anteriormente na literatura por fotólise direta, IEST e OOST. A partir dos trabalhos discutidos neste item pode-se observar que é bastante favorável a formação do DIA, pois observou-se tanto para ozonização quanto para fotólise a presença deste intermediário.

4.3.6 Teste YES

A atrazina foi bastante utilizada no mundo todo por muitos anos e, por esse motivo, ainda é encontrada nos rios e águas subterrâneas de diversos países, como dito anteriormente. É encontrada a baixíssimas concentrações, porém sabe-se que devido a sua toxicidade, mesmo para as concentrações encontradas, pode ser considerada nociva. Muitos países da Europa que utilizavam a atrazina a substituíram por um outro pesticida da família das triazinas, a terbutilazina (TBZ). A similaridade dos compostos pode ser verificada na Figura 4.15, onde o círculo vermelho mostra a diferença entre as moléculas da ATZ e TBZ.

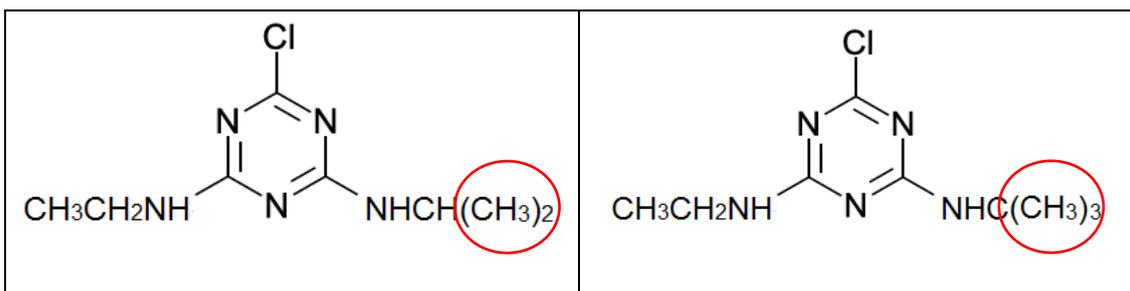


Figura 4.15 Estrutura molecular dos pesticidas atrazina (ATZ) e terbutilazina (TBZ).

Como pode se observar na Figura 4.15, a única diferença entre as moléculas está no radical metila a mais presente na molécula da TBZ.

Como exposto anteriormente os estrogênios são caracterizados por um anel aromático, o qual tem o grupamento hidroxila no carbono 3 que lhe confere a atividade biológica, neste caso a atividade estrogênica. A semelhança das estruturas de ambos pesticidas leva a crer que essas substâncias podem possuir atividade estrogênica.

Para verificar a possível atividade estrogênica, foram realizados alguns testes YES utilizando baixas concentrações para ambos pesticidas e nas soluções ozonizadas.

No ensaio YES, o potencial estrogênico de substâncias químicas ou amostras pode ser medido colorimetricamente pela mudança de cor do substrato cromogênico (CPRG) presente no meio reacional. O substrato é metabolizado pela enzima β -galactosidase produzida como resposta à ligação da substância estrogênica no RE da levedura. Assim, quando uma substância estrogênica está presente no ensaio YES, a coloração do meio de análise muda de amarelo para rosa (BILA, 2005).

4.3.6.1 Teste YES para Atrazina

A Figura 4.16 apresenta fotos das placas dos testes realizados em diferentes condições e que indicam uma resposta fracamente estrogênica, principalmente após 3 e 4 minutos de ozonização. Pode-se observar visualmente a mudança de cor, mostrando a presença de substâncias estrogênicas nas amostras.

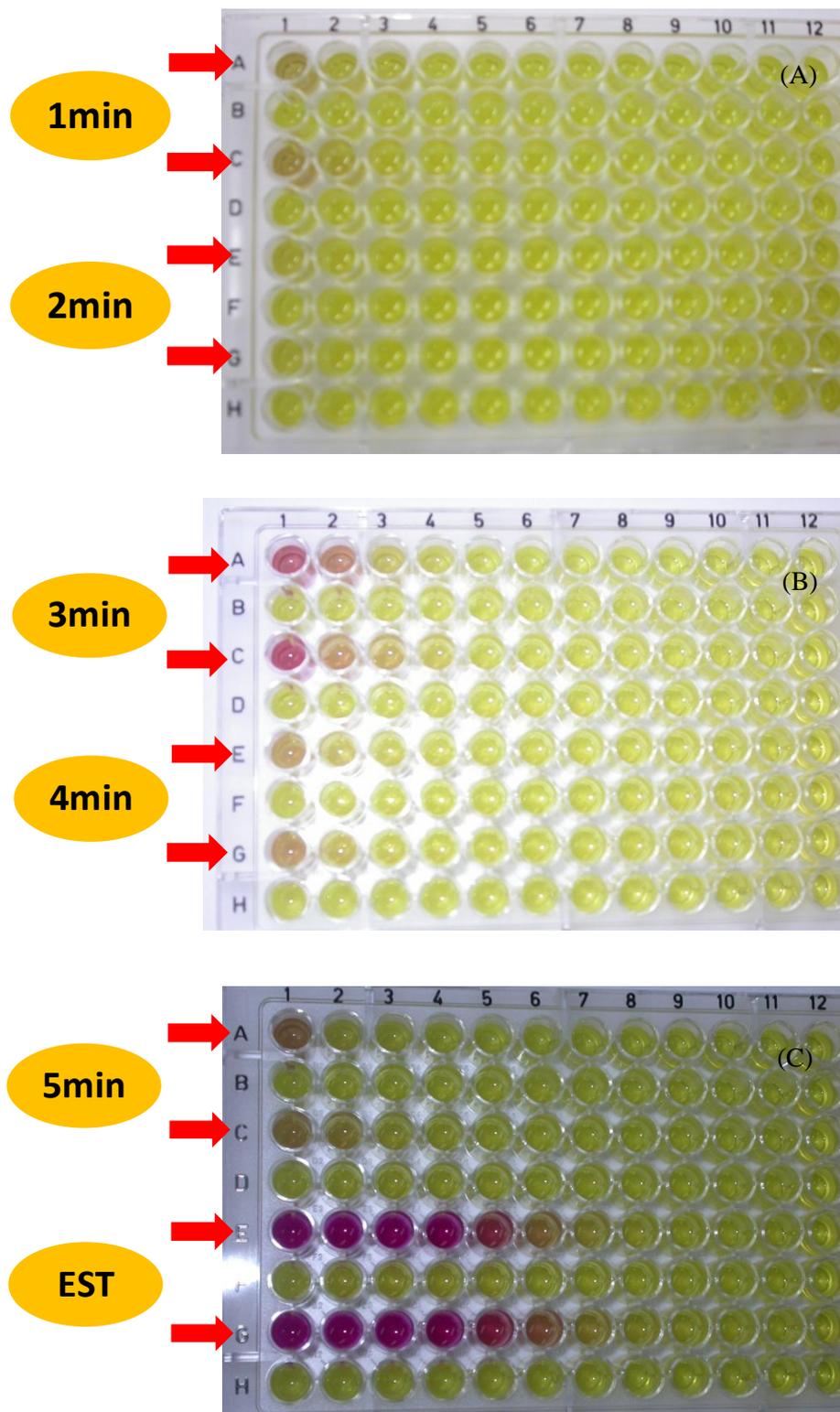


Figura 4.16 (A) Ensaio YES das soluções com consumo de $0,004 \text{ gO}_3/\text{L}$ (A e C) e com $0,008 \text{ gO}_3/\text{L}$ (E e G). As fileiras B, D, F, H são brancas. (B) $0,012 \text{ gO}_3/\text{L}$ (A e C) e $0,016 \text{ gO}_3/\text{L}$ (E e G). As fileiras B, D, F, H são brancas. (C) $0,02 \text{ gO}_3/\text{L}$ (A e C) e curva padrão do $17\text{-}\beta$ estradiol (E e G). As fileiras B, D, F, H são brancas. $[\text{ATZ}]_0 = 0,5 \text{ mg/L}$ em água ultrapura e pH livre (~ 7).

Verificou-se que o teste YES teve uma resposta estrogênica mais pronunciada com 3 min de ozonização, ou seja, provavelmente a reação de ozonização estaria formando subprodutos capazes de elucidar uma resposta para esse teste. Pode-se visualizar também que após os 3 min a coloração rósea, que indica atividade estrogênica, diminui o que leva a crer que os intermediários que possuem essa característica podem ter sido degradados (ou consumidos) pela reação. De acordo com PHYU *et al.* (2005) e LAWTON *et al.* (2005) a atrazina e seus metabólitos são considerados desreguladores endócrinos. Porém, não há relatos na literatura de que seus metabólitos possuem atividade estrogênica, pois até mesmo para a ATZ há dificuldades em se obter dados que confirmem a característica estrogênica do pesticida.

A Tabela 4.5 apresenta o equivalente de 17 β -estradiol obtido para as amostras ozonizadas de atrazina.

Tabela 4.5 Equivalentes de 17 β -estradiol para as soluções de ATZ ozonizadas.

Tempo de Ozonização (min)	Equivalente de 17 β -estradiol (g/L)		
	1°Poço	2°Poço	3°Poço
1	1,005x10 ⁻⁸	-	-
2	-	-	-
3	1,04x10 ⁻⁸	9,91x10 ⁻⁹	9,70x10 ⁻⁹
4	1,01x10 ⁻⁸	9,88x10 ⁻⁹	-
5	1,01x10 ⁻⁸	9,99x10 ⁻⁹	-

Observa-se, que as soluções de ATZ ozonizadas são fracamente estrogênicas e apresentam um equivalente de estradiol na ordem de nanogramas/L, concentração que provoca efeitos em peixes quando se refere ao 17 β -estradiol.

4.3.6.2 Teste YES para Terbutilazina

A Tabela 4.6 apresenta os valores de equivalente de 17 β -estradiol em g/L para a terbutilazina.

Tabela 4.6 Equivalentes de 17 β -estradiol para as soluções de TBZ ozonizadas.

Tempo de Ozonização(min)	Equivalente de 17 β -estradiol (g/L)			
	1°Poço	2°Poço	3°Poço	4°Poço
1	1,03x10 ⁻⁸	-	-	-
2	1,18x10 ⁻⁸	1,09x10 ⁻⁸	1,06x10 ⁻⁸	1,03x10 ⁻⁸
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	1,10x10 ⁻⁸	1,03x10 ⁻⁸	1,00x10 ⁻⁸	-

Verifica-se que os intermediários formados durante a ozonização da TBZ são um pouco mais estrogênicos, como observa-se para o tempo de 2 min, onde houve resposta até o 4° poço da microplaca. Posteriormente a atividade estrogênica diminui e com 5 min há novamente a formação de intermediários que elucidam resposta ao teste YES. Esses testes foram repetidos 4 vezes com o objetivo de confirmar estes resultados e em todas as amostras ozonizadas pelos mesmos períodos de tempo, bem com a repetição dos testes YES apresentaram os mesmos resultados, de forma que permitem a conclusão da formação de intermediários que elucidam uma resposta no teste YES.

A partir desses resultados é possível concluir que a terbutilazina não seria o substituto mais adequado para atrazina já que seus produtos de degradação provavelmente possuem atividade estrogênica (elucidam resposta para o teste YES). Como mencionado anteriormente vários países na Europa vem utilizando o pesticida no lugar da atrazina, porém não existem muitos estudos sobre a toxicidade do pesticida e seus produtos de degradação. Portanto, fica evidente a necessidade de se aprofundar os

estudos para se conhecer os produtos de oxidação formados, principalmente com consequência da ação do meio ambiente.

4.3.7 Ensaio de Toxicidade por Bioluminescência (Microtox®)

Foram realizados testes em amostras de atrazina (20 mg/L) e terbutilazina (10 mg/L) e também nas amostras contendo ATZ após a ozonização (20 mg/L). Não foi observada inibição na emissão de luz pelo microrganismo-teste tanto para a solução de ATZ como para a solução de TBZ, assim como para as amostras ozonizadas. Portanto, o resultado pode ser relatado como ausência de efeito tóxico das amostras analisadas, nas condições do teste.

BOGAERTS *et al.* (2001) obteve uma resposta positiva para atrazina no ensaio por bioluminescência (Microtox®) com uma concentração de 149 mg/L. Avaliando o trabalho dos autores pode-se concluir que para elucidar uma resposta positiva para o ensaio deveria ter utilizado concentrações mais altas dos pesticidas. No entanto, a concentração de ATZ utilizada pelo autor está muito distante daquelas estudadas neste trabalho.

LAPERTOT *et al.* (2007) testou o ensaio Microtox® como uma ferramenta para a avaliação da biodegradabilidade de soluções tratadas de pesticidas usando os processos foto-assistidos com Fe^{3+} e TiO_2 . Segundo os autores, os produtos de degradação para foto-Fenton mostraram uma resposta tóxica para o ensaio (concentração de atrazina aproximadamente 20 mg/L) e a toxicidade aumentou durante o processo, porém diminuiu após mais algum tempo de reação. Para o processo foto-Fenton os intermediários podem ser considerados tóxicos o que não aconteceu no presente trabalho para os intermediários da ozonização dos pesticidas.

4.4 Processo UV/ H₂O₂

Para se obter bons resultados no sistema UV/H₂O₂ é necessário considerar as características da solução ou efluente que se está tratando e as condições operacionais em que se realiza o tratamento. Características como pH e concentração do contaminante são importantes para o processo. A estabilidade do processo depende fortemente do pH, sendo que em pH básico há uma decomposição do H₂O₂ em O₂ e H₂O diminuindo a sua eficiência.

Inicialmente foram realizados experimentos com atrazina em água ultrapura e uma concentração inicial de 20 mg/L, variando o pH, e com uma concentração inicial de 50 mg/L de H₂O₂. Posteriormente, diminuiu-se a concentração de atrazina em água ultrapura para 0,5 mg/L e também a concentração de H₂O₂ para 2 mg/L. Por último foram feitos experimentos com atrazina em efluente secundário para verificar a interferência da matéria orgânica na sua degradação, utilizou-se as mesmas condições dos primeiros experimentos, 20 mg/L de atrazina, 50 mg/L de H₂O₂ e pH livre (~7,9). Para todos os experimentos também foram realizados igualmente apenas o tratamento com radiação UV.

Alguns parâmetros são importantes para definir a eficiência de processos que utilizam fotodecomposição de substâncias químicas. A absorção da radiação UV por compostos presentes no efluente ou mesmo por um composto específico e a geração de radicais hidroxila no caso da combinação do UV com H₂O₂, são alguns deles.

O coeficiente de extinção molar ϵ é um parâmetro importante de ser calculado, pois denota a intensidade de absorção em um determinado comprimento de onda pela substância. Este parâmetro pode ser obtido através da lei de Beer-Lambert, $\epsilon = A/cl$, baseado no caminho óptico da cela de absorção (l), absorbância (A) e concentração da amostra (LIRA, 2006). Sabe-se que, por exemplo, o coeficiente de extinção molar do H₂O₂ cresce gradualmente em comprimentos de onda menores e que não absorve radiações em comprimentos de onda maiores do que 300 nm (LEGRINI *et al.*, 1993).

Portanto, as características de emissão e geometria da fonte luminosa são fatores importantes para o projeto de um reator fotoquímico e para a eficiência do processo. O

coeficiente de extinção molar para os experimentos realizados no presente trabalho foi de $3420,52 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Este valor está bem próximo ao encontrado por BOLTON e STEFAN (2002) que obtiveram um coeficiente de extinção molar para atrazina de $3683 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Como comentado anteriormente nem toda a radiação emitida pelas lâmpadas é absorvida pela solução no reator, mas é importante determinar a quantidade de radiação fornecida à solução, para tanto, realizou-se a actinometria para as lâmpadas.

A actinometria química é uma medida simples da taxa de incidência de fótons em um reator fotoquímico de geometria específica e para um domínio espectral luminoso bem definido (BRAUN *et al.*, 1991). Esta medida é feita com uma solução preparada com um composto sensível à luz. A degradação é medida por titulação em tempos pré determinados. A quantidade de composto degradada por tempo é uma medida para a quantidade de radiação absorvida por litro de solução. Calcula-se então o fluxo fotônico emitido pela lâmpada. A medida do fluxo fotônico no reator permite avaliar a absorção de fótons no volume reacional e seu impacto quanto à taxa de degradação dos poluentes. Assim, o fluxo fotônico incidente obtido, para o presente trabalho, através da actinometria foi de $1,49 \cdot 10^{-5} \text{ Einteins s}^{-1}$.

Outro dado importante quando se trata de reatores fotoquímicos é o rendimento quântico. Segundo BELTRÁN *et al.* (1993), o rendimento quântico e a constante da taxa de reação entre radicais OH e as substâncias orgânicas nos processos fotocatalíticos são os parâmetros mais importante a serem estimados.

De acordo com CHU (2000), o rendimento quântico mostra a eficiência da reação fotoquímica ou a quantidade de moléculas decomposta por fóton absorvido. O rendimento quântico ou pode ser calculado de acordo com a Equação 4.4.

$$\phi_D = \frac{K_D}{2,303 I_{0,\lambda} \epsilon_{D,\lambda} l} \quad (4.4)$$

Onde Φ_D é o rendimento quântico, k_D é a constante cinética de pseudo primeira ordem do composto, $I_{0,\lambda}$ é a intensidade da incidência da luz a 254 nm, $\epsilon_{D,\lambda}$ absorvidade molar a 254 nm e l é o comprimento do trajeto da incidência da luz. O

valor obtido para o rendimento quântico no presente trabalho (20 mg/L de ATZ) foi de 0,017 mol/fóton.

BELTRÁN *et al.* (1993) em seu estudo da oxidação da atrazina (2 mg/L) por fotodecomposição direta (UV 254 nm) e combinada com H₂O₂ verificou que o rendimento quântico foi de 0,05 mol/fóton. HESSLER *et al.* (1993) *apud* BOLTON e STEFAN (2002) mediu o rendimento quântico para atrazina que variou de 0,047 a 0,038, para uma escala de concentrações 3 a 33 µM de atrazina. No presente trabalho utilizou-se 92 µM (20 mg/L) de atrazina e obteve-se um valor de 0,017 mol/fóton. Deve-se ressaltar que o rendimento quântico depende da lâmpada utilizada e formato do reator, portanto diferem de um trabalho para outro.

A Figura 4.17 mostra a degradação da atrazina pelo processo processo UV/H₂O₂ em função da quantidade de energia fornecida ao sistema.

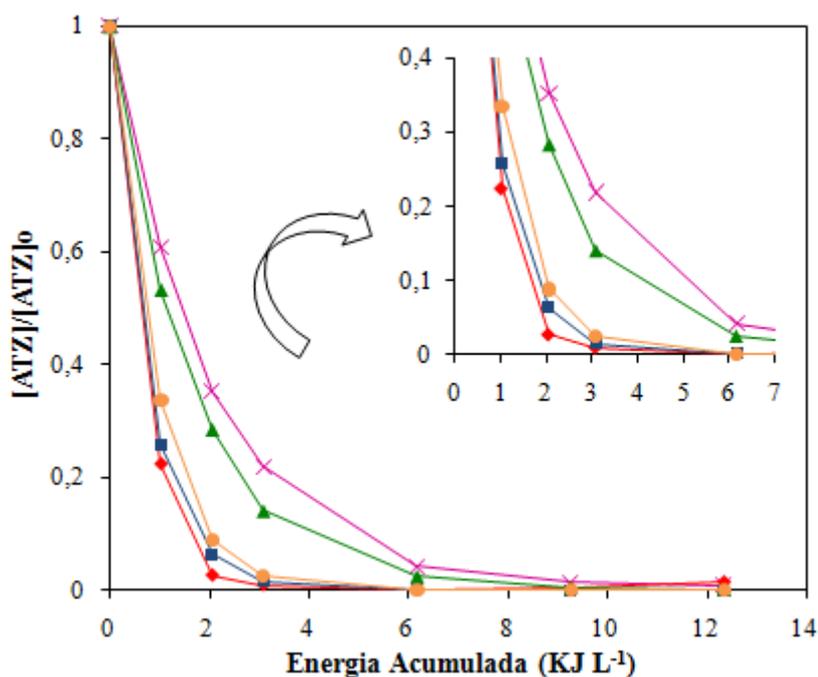


Figura 4.17 Evolução da relação de concentração da ATZ em função da energia acumulada via reação UV/H₂O₂. (x) UV, (Δ) pH11, (○) pH livre (~7,9), (□) pH7, (◇) pH3, [ATZ]₀=20 mg/L e [H₂O₂]₀=50 mg/L.

Pode-se observar que houve remoção total do pesticida com 45 min de reação (energia acumulada de 9,25 KJ/L), sendo que para o pH 3 a degradação completa ocorreu em 15 min (energia acumulada de 3,08 KJ/L). De acordo com a Figura 4.17 observa-se que a fotólise tem uma contribuição importante para degradação da atrazina.

A Figura 4.18 (A) apresenta a evolução da relação de concentração da ATZ com o tempo via reação UV/H₂O₂ e a Figura 4.18 (B) mostra a evolução da remoção do COT ao longo do tempo de reação.

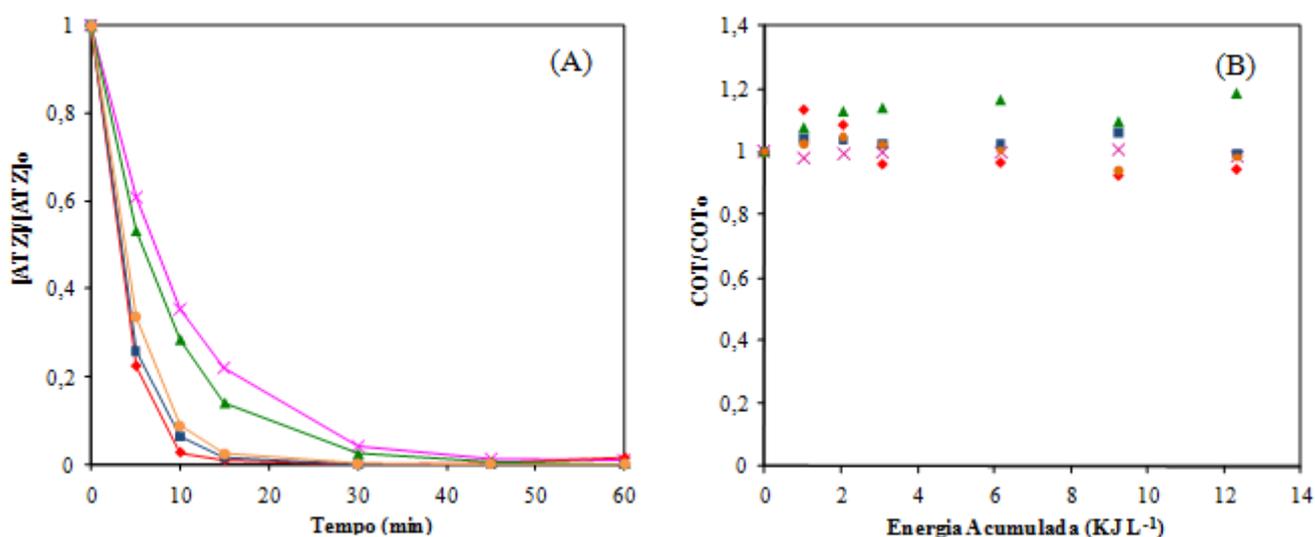


Figura 4.18 (A) Evolução da relação de concentração da ATZ com o tempo via reação UV/H₂O₂. (B) Evolução da concentração do COT durante o processo UV/ H₂O₂. (x) UV (Δ) pH11, (○) pH livre (~7,9), (□) pH7, (◇) pH3, [ATZ]₀=20mg/L e [H₂O₂]=50 mg/L.

O COT ao longo da reação praticamente permanece constante, mostrando que para mineralização da atrazina seria necessário, provavelmente, maiores concentrações de peróxido. Mesmo em pH 3, no qual obteve-se a mais rápida remoção da ATZ, o COT não reduziu significativamente.

A Figura 4.19 apresenta a concentração de H₂O₂ ao longo do tempo de reação no processo UV/ H₂O₂ em diferentes valores de pH.

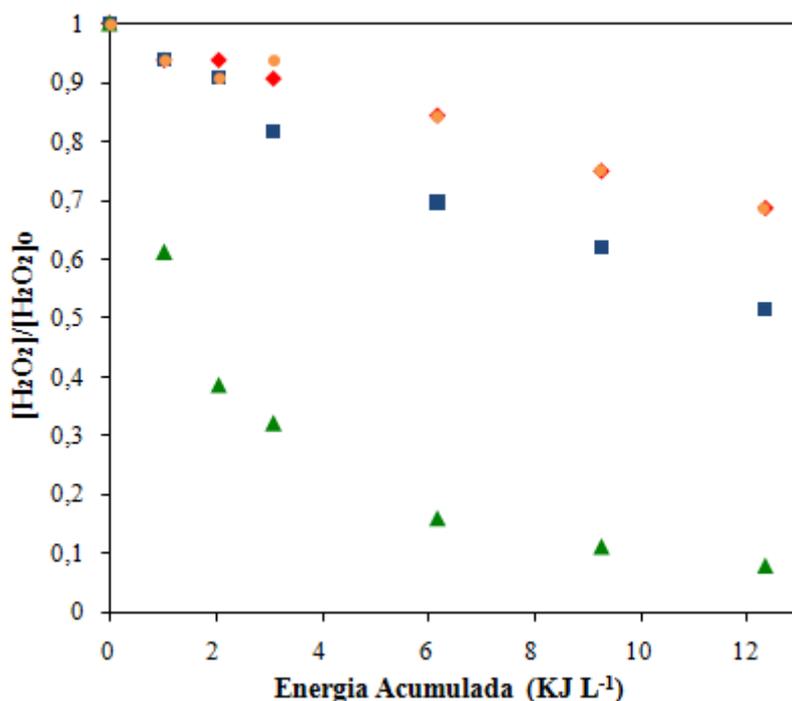


Figura 4.19 Concentração de H₂O₂ em função da energia fornecida ao sistema no processo UV/H₂O₂ em diferentes valores de pH. (◇) pH3, (○) pH livre (~7,9), (□) pH7, (Δ) pH11, [ATZ]₀= 20 mg/L e [H₂O₂]₀= 50 mg/L.

Observou-se, anteriormente, que as reações realizadas em pH 3 e livre foram as mais eficientes para a degradação da atrazina, assim como em pH 7, e que em pH 11 a degradação foi mais lenta. Pela Figura 4.19 pode-se verificar que em pH livre (~7,9), pH 3 e pH 7 o consumo de peróxido foi semelhante, sendo que para o pH 7 após 60 minutos de radiação foram consumidos 48% do peróxido, já em pH 11 o consumo foi de 91%. O maior consumo de peróxido em pH 11 já era esperado, uma vez que neste pH ocorre a sua decomposição.

MURUGANANDHAM e SWAMINATHAN (2004) estudaram a foto-oxidação da clorotriazina com reativo azo (corante Reactive Orange 4) na presença de H₂O₂/UV. Realizaram um estudo do efeito do pH, dose de H₂O₂, potência da lâmpada UV. Estes parâmetros influenciaram fortemente a descoloração e a degradação das substâncias. Segundo os autores as cinéticas da descoloração e da degradação seguiram uma equação de pseudo-primeira ordem. Verificaram que o processo foi mais eficiente em meio ácido (pH 2-4). Aumentando o pH de 1 para 3 houve um aumento na descoloração de 10,32 a

88,68% e da degradação da clorotriazina de 0 a 59,85%. Aumentando o pH de 3 para 8 a descoloração diminuiu de 88,68 para 10,22% e a degradação da clorotriazina de 59,85 para 5,26% com 150 min de reação.

ALHAMEDI *et al.* (2009) em seu estudo sobre a degradação da Rodamina B também verificou que a taxa de descoloração foi menor em pH alcalino se comparado ao meio ácido. Ambos autores, MURUGANANDHAM e SWAMINATHAN (2004) e ALHAMEDI *et al.* (2009), explicam que a redução da taxa de remoção em pH alcalino é devida a uma redução da concentração de radicais OH, já que nestas condições o H₂O₂ se fotodecompõe a H₂O e O₂.

Os autores explicam, também, que no meio alcalino os ânions HO₂⁻ são oxidados (HO₂⁻ é a base conjugada do H₂O₂). Este ânion pode reagir tanto com o H₂O₂ residual como com os radicais OH diminuindo a taxa de degradação do composto desejado de acordo com as Equações 4.5 e 4.6.



CHU (2000) em seu estudo sobre a degradação pelo processo UV/H₂O₂ do herbicida 2,4D verificou que as taxas de degradação observadas em valores de pH neutros e elevados eram mais baixas do que aquelas em baixo pH. A auto-decomposição do peróxido (em água e oxigênio) contribui em parte para isto, segundo o autor, porque a taxa da auto-decomposição é fortemente dependente do pH e é maior em valores de pH alcalinos.

Sabe-se, também, que os radicais OH são suscetíveis a recombinar-se ou reagir de acordo com as Equações 4.7 e 4.8.



Este efeito *scavenging* (sequestrante) do radical OH, onde os radicais livres reagem com o peróxido de hidrogênio diminuindo a sua contribuição para a reação, pode levar a menores rendimentos das taxas de degradação. Portanto, as reações com peróxido necessitam de uma quantidade ótima, pois acima desta o rendimento pode diminuir devido as reações (4.7) e (4.8).

BELTRÁN *et al.* (1993) em seu estudo da degradação da ATZ pelo processo UV/H₂O₂, verificaram que acima da concentração de 0,01 M de H₂O₂ houve uma inibição dos radicais OH na oxidação da ATZ e as taxas de reação obtidas foram menores do que as verificadas para a fotólise direta, devido ao efeito capturador de radicais OH para concentrações que ultrapassam a concentração ótima.

4.4.1 Espectrometria de UV para UV/H₂O₂

A Figura 4.20 apresenta os espectros UV-visível obtidos para as soluções de ATZ tratadas com UV/H₂O₂ com diferentes tempos de radiação.

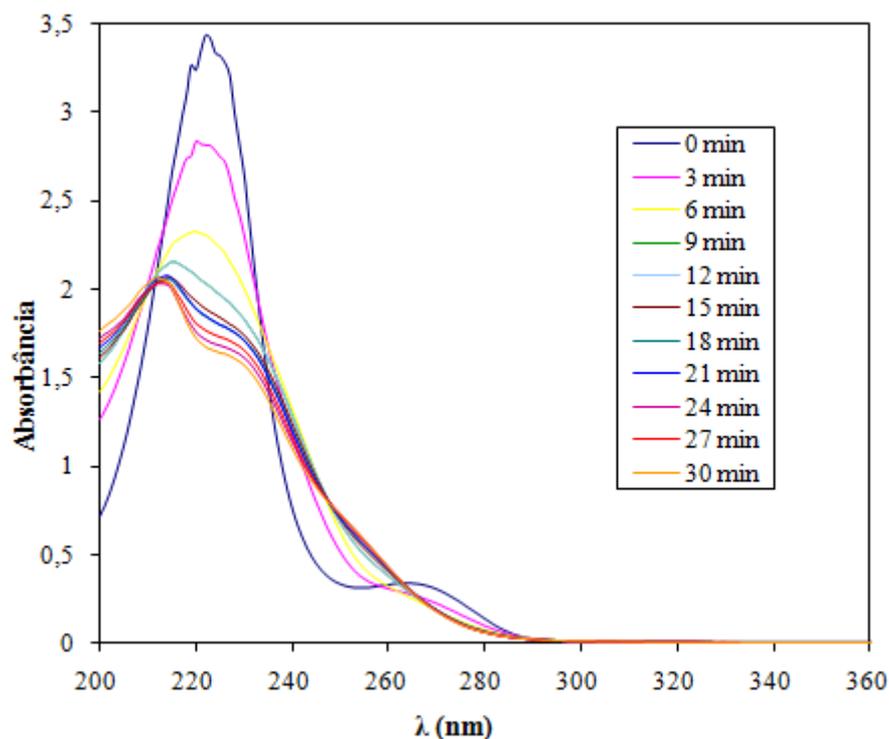


Figura 4.20 Espectros de absorvância das amostras de atrazina após o processo UV/H₂O₂ em diferentes tempos de reação. [ATZ]₀ = 20 mg/L, pH livre (~7,9) e [H₂O₂]₀ = 50 mg/L.

Observa-se a partir da Figura 4.20 o decaimento do pico de absorção em 220 nm com o tempo de radiação. Com 30 min de radiação, onde praticamente não se detectava mais o pesticida, há a formação de um pico em aproximadamente 210 nm e um outro, mais suave, em aproximadamente 240 nm. Este fato também foi observado por outros autores na literatura, como por exemplo, ARÁNTGUI *et al.* (1995), e pode ser atribuído ao fato da formação de intermediários.

Como dito anteriormente, as bandas de absorvância de uma substância na faixa de comprimento de onda de 190 a 300 nm representam as ligações duplas e triplas conjugadas da molécula, a diminuição dessas bandas indica a degradação do composto, com a abertura do anel aromático. Ao observar-se o espectro da ATZ verifica-se também que a banda entre 260 e 280 nm, onde provavelmente se encontra a banda do anel fenólico da molécula, segundo LIU e LIU (2004), diminui com o aumento do tempo de reação o que pode indicar o rompimento do anel aromático da molécula de ATZ, porém isso não indica uma mineralização do pesticida pois provavelmente há

formação de intermediários bastante resistentes podendo inclusive conter anel fenólico em sua molécula.

De acordo com CHEN *et al.* (2009) em seu estudo sobre a foto-decomposição da atrazina por radiação UV (254 nm), a ATZ pode se decompor em algumas substâncias ácidas, tais como o ácido cianúrico, amelida e amelina. O comprimento de onda de absorção da ATZ e seus intermediários principais variaram de 200 a 300 nm. A Figura 4.21 apresenta o espectro obtido por CHEN *et al.* (2009).

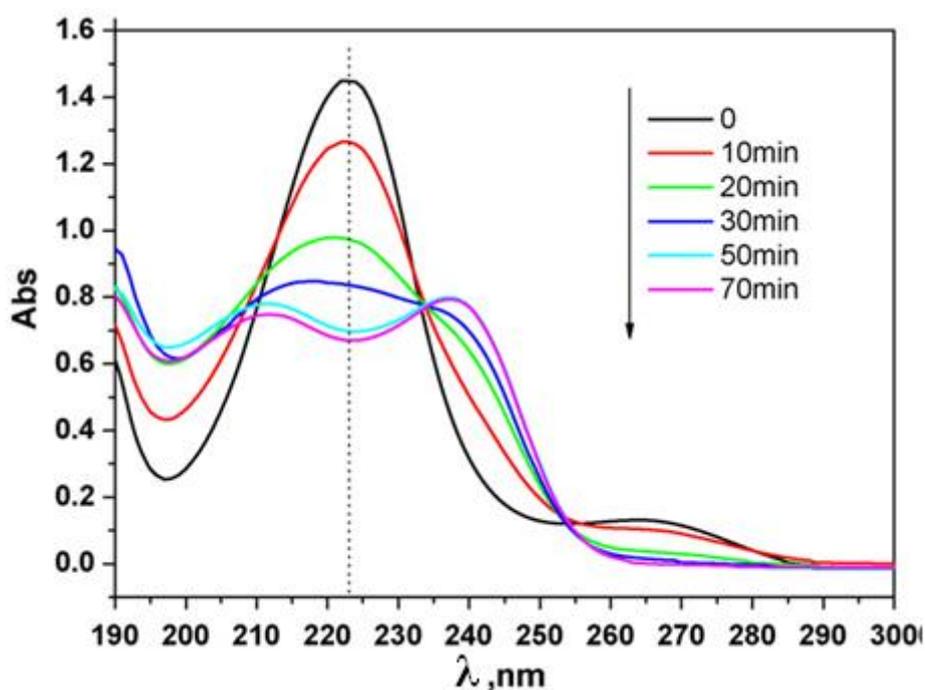


Figura 4.21 Espectro UV-vis para atrazina e seus produtos de degradação formados durante a irradiação por UV. Adaptado de CHEN *et al.* (2009).

De acordo com os autores, havia uma banda intensa em torno de 220 nm e outra um pouco mais fraca ao redor 265nm, como pode se observar na Figura 4.21. A banda em 220 nm foi atribuída a transição π a π^* , e em 265nm foi atribuído a n a π^* . Nos primeiros 30 min, a absorção no comprimento de onda de 220 nm diminuiu gradualmente, indicando que a irradiação UV induziu a decomposição rápida da atrazina. As bandas de absorção iniciais desapareceram após 50 min de irradiação e dois pequenos picos em aproximadamente 210 e 240 nm foram formados. Segundo os autores, o pico em 210 nm pode ser devido a formação do ácido cianúrico, da amelida e da amelina.

Para o presente trabalho observou-se que após 3 min já havia a redução do pico de 220 nm indicando a decomposição da ATZ e que após aproximadamente 12 min já se inicia a formação dos picos em aproximadamente 210 nm e um pico menor em 240 nm o que indica a formação dos produtos de degradação. Vale ressaltar que CHEN *et al.* (2009) avaliaram a fotodegradação da ATZ enquanto que o presente trabalho avaliou o espectro após o tratamento com UV/H₂O₂ o que acarretou uma degradação mais rápida do pesticida e a possível formação de diferentes intermediários. Porém, assim como os autores, observou-se uma diminuição da banda de 220 nm indicando que a fotólise tem contribuição importante na degradação do pesticida. Ao observar-se o espectro obtido para ozonização nota-se que essa mesma banda diminui muito pouco. Isso leva a crer que as vias de degradação, com abertura do anel aromático, mais efetivas para atrazina são os radicais OH e a fotólise.

ARÁNTGUI *et al.* (1995) também obtiveram o espectro de absorção de uma solução de atrazina antes e depois de sua degradação (até não mais detectável). A absorção inicial em 220 nm para solução contendo 0,084 M de ATZ foi observada e após sua degradação dois picos foram formados, semelhantes aos encontrados no presente trabalho e também por CHEN *et al.* (2009) na fotodecomposição da atrazina por radiação UV.

4.4.2 Cinética do Processo UV/H₂O₂

Segundo TUHKANEN (2004) o mecanismo da oxidação das reações por UV/H₂O₂ foi estudado extensivamente e atribuiu-se à fotólise do H₂O₂ a formação de radicais OH. Portanto, a taxa de degradação dos compostos orgânicos tem pelo menos duas contribuições: a fotólise direta do composto e o ataque via radicais OH.

É comum utilizar-se uma constante de pseudo primeira ordem para taxa de reação e a constante da taxa pode ser descrita pela Equação 2.11.

Através da Figura 4.22 (A) pode-se observar que a degradação da atrazina possui um comportamento exponencial indicando uma cinética de pseudo primeira ordem. A constante cinética pode ser calculada através da regressão linear do modelo cinético de

pseudo primeira ordem. O valor obtido para constante cinética de pseudo primeira ordem foi de $0,2191 \text{ min}^{-1}$. A Figura 4.22 (B) apresenta a cinética de pseudo primeira ordem obtida para o processo utilizando apenas radiação UV.

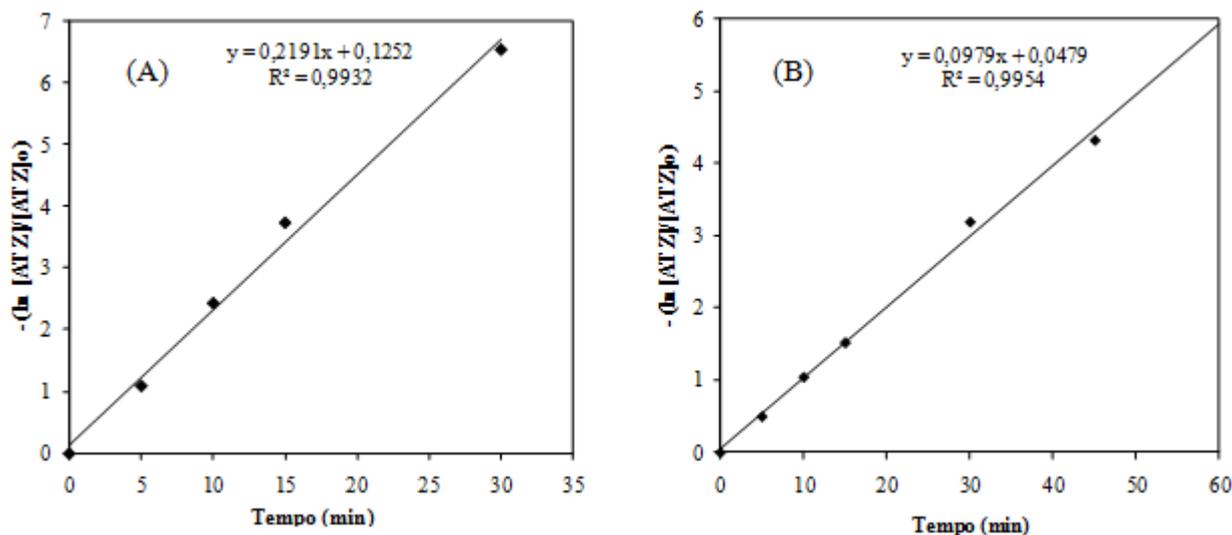


Figura 4.22 Constante da taxa de reação de pseudo primeira ordem para a degradação da ATZ pelo processo UV/H₂O₂ (A) e para radiação UV (B) para ATZ em água ultrapura. $[ATZ]_0 = 20 \text{ mg/L}$, $[H_2O_2]_0 = 50 \text{ mg/L}$ e pH livre ($\sim 7,9$).

A constante cinética de pseudo primeira ordem obtida para a fotólise da atrazina em água ultrapura foi de $0,0979 \text{ min}^{-1}$.

Pode-se observar a partir das constantes cinéticas, que a fotólise da atrazina em água ultrapura é praticamente a metade do valor encontrado para a constante cinética do processo UV/H₂O₂. Portanto, a fotólise é responsável por grande parte da degradação do pesticida pelo processo UV/H₂O₂.

CHEN *et al.* (2009) estudaram a fotodecomposição da atrazina por radiação UV (254 nm). Os autores utilizaram um reator com 250 mL equipado com uma lâmpada de mercúrio de 8 W e intensidade de $0,96 \text{ mWcm}^{-2}$. A atrazina foi degradada rapidamente, nos primeiros 30 min, com uma remoção de 70%. Após esse tempo a degradação se deu lentamente alcançando 90% com 50 min de radiação. A fotodegradação da ATZ seguiu uma cinética de primeira ordem e sua constante de degradação foi de $0,0411 \text{ min}^{-1}$. Quando se compara os resultados obtidos por CHEN *et al.* (2009) com os resultados obtidos para o presente trabalho verificar-se uma concordância entre eles, pois obteve-se

uma remoção praticamente duas vezes mais rápida do pesticida, uma vez que se utilizou três lâmpadas de 8 W cada uma, enquanto que CHEN *et al.* (2009) utilizaram apenas uma e obtiveram uma degradação mais lenta.

BELTRÁN *et al.* (1993) estudaram a oxidação da atrazina por fotólise direta (254 nm) e combinada com H₂O₂ e obtiveram até 99% da degradação do pesticida. Os autores verificaram que há uma concentração inicial ótima para o H₂O₂ (0,01 M), acima do qual a taxa de oxidação da atrazina diminui. As condições experimentais utilizadas no processo foram um reator de 850 mL, uma lâmpada de baixa pressão de mercúrio de 15 W e 254 nm, o fluxo de radiação de $1,6 \times 10^{-6}$ Einstein l⁻¹s⁻¹. A constante cinética de reação com radicais OH obtida pelos autores foi de $1,8 \times 10^{10}$ M⁻¹s⁻¹.

4.5 Degradação da Atrazina em Efluente Secundário

Assim como foi realizado para o processo de ozonização, a degradação da ATZ pelo processo UV/H₂O₂ também foi avaliada em efluente secundário. Utilizou-se uma concentração inicial de atrazina de 20 mg/L, pH livre e 50 mg/L de H₂O₂, mesmas condições das utilizadas para os experimentos com água ultrapura. Esses resultados são mostrados na Figura 4.23.

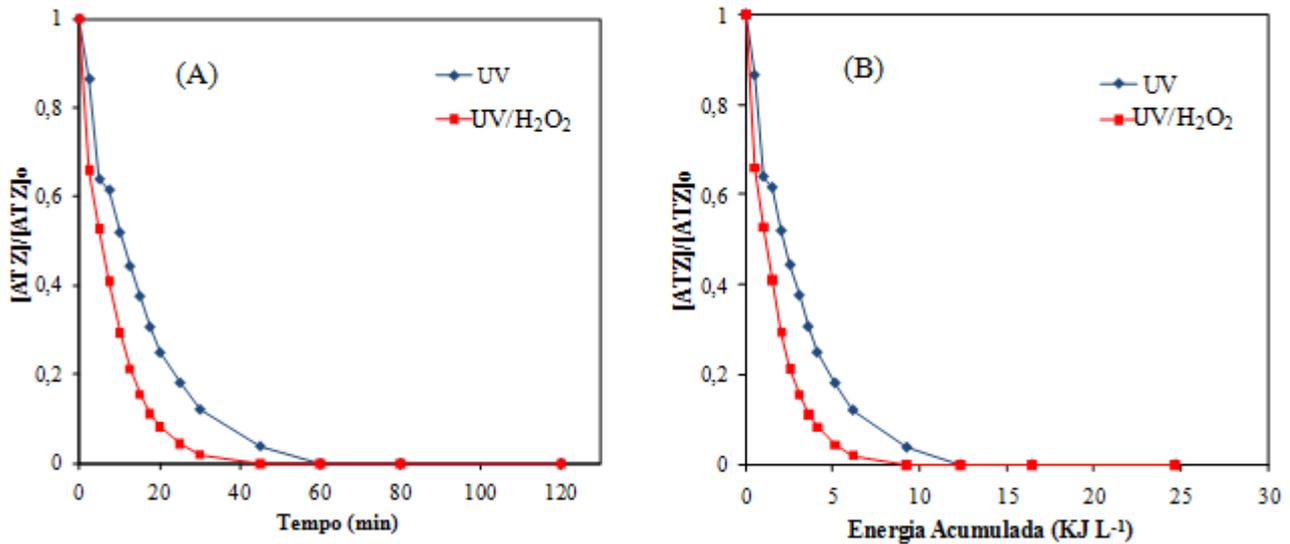


Figura 4.23 Evolução da relação de concentração da ATZ com o tempo de radiação (A) e versus Energia Acumulada (B) em efluente secundário para o tratamento via radiação UV e via UV/H₂O₂. [ATZ]₀ = 20 mg/L [H₂O₂]=50 mg/L e pH livre (~8).

Observa-se que a fotólise é a principal responsável pela remoção da ATZ e que após 45 min tratamento obteve-se uma remoção de 96% e após 60 min a ATZ não foi mais detectada na solução final.

Para o processo combinando a radiação UV com H₂O₂ verificou-se que com 30 min houve uma degradação de 98% do pesticida para 6,16 KJ/L de energia acumulada. Com 45 min o pesticida não foi mais detectado na solução final. Assim como em água ultrapura, em efluente secundário também observou-se que a radiação UV tem papel importante na degradação do pesticida. Posteriormente, as cinéticas de degradação da ATZ em água ultrapura e em efluente secundário serão comparadas.

Esses resultados permitem concluir que a remoção da ATZ é mais lenta em efluente secundário do que em água ultrapura, como já era esperado, devido a matéria orgânica presente no efluente e que concorre na reação com os radicais OH formados pela fotólise do H₂O₂.

ARÁNTGUI *et al.* (1994) estudaram a degradação da ATZ por UV/H₂O₂ utilizando uma lâmpada de mercúrio emitindo em 240-540 nm com fluxo do fotônico de 78,2 μ einstein s⁻¹. De acordo com os autores, apenas a fotólise não foi capaz de

degradar completamente a atrazina. Também testaram a degradação apenas na presença do H_2O_2 e não houve qualquer mudança na concentração da atrazina em diversas amostras em diferentes valores de pH, ou seja, apenas o peróxido não é capaz de degradar o pesticida.

A Figura 4.24 mostra que não houve remoção de COT apenas pela fotólise da ATZ, enquanto que para o processo UV/ H_2O_2 houve uma remoção de aproximadamente 9% após 15 min de reação, para 30 min foi de aproximadamente 16% e ao final de 2 h de tratamento foi de 23%. A remoção do COT para os experimentos com ATZ em efluente secundário pela ozonização foi de 10% após 2 h de tratamento. Dessa forma, pode-se concluir que o processo UV/ H_2O_2 foi mais efetivo na remoção do COT.

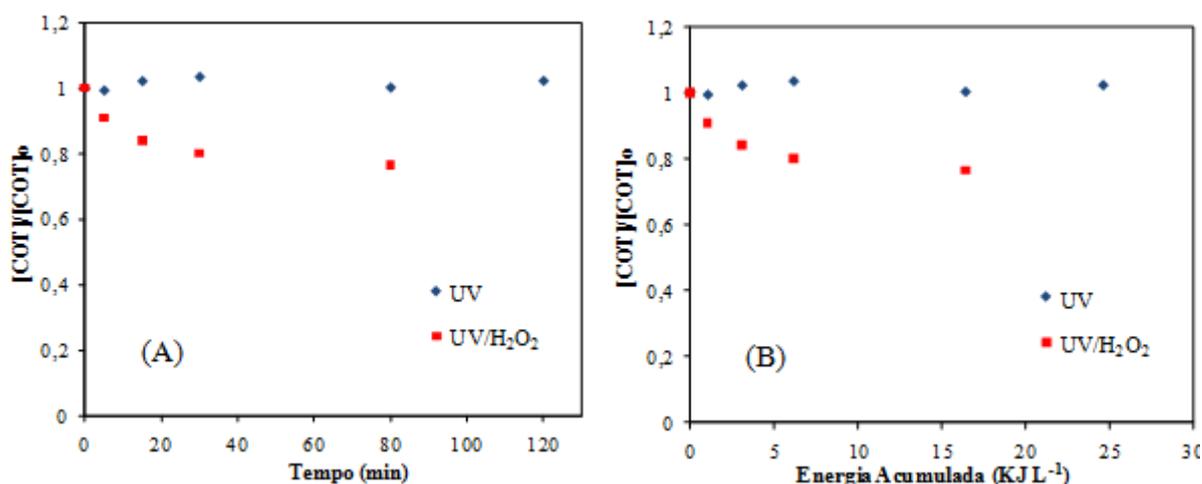


Figura 4.24 Concentração de COT versus tempo de radiação (A) e versus energia acumulada (B) para o tratamento via radiação UV e via UV/ H_2O_2 em efluente secundário. $[\text{ATZ}]_0 = 20 \text{ mg/L}$ $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 = 50 \text{ mg/L}$ e pH livre (~ 8).

Ao contrário do que se pode concluir em relação a ozonização da ATZ onde possivelmente o pesticida é degradado e apenas posteriormente se dá o início do consumo da matéria orgânica, no caso das reações com UV/ H_2O_2 , onde o principal oxidante é o radical OH, tanto a remoção da ATZ quanto a do COT se dão paralelamente, porém em uma proporção bem menor para o COT.

A Figura 4.25 apresenta a evolução da concentração de H_2O_2 versus energia acumulada para o processo UV/ H_2O_2 .

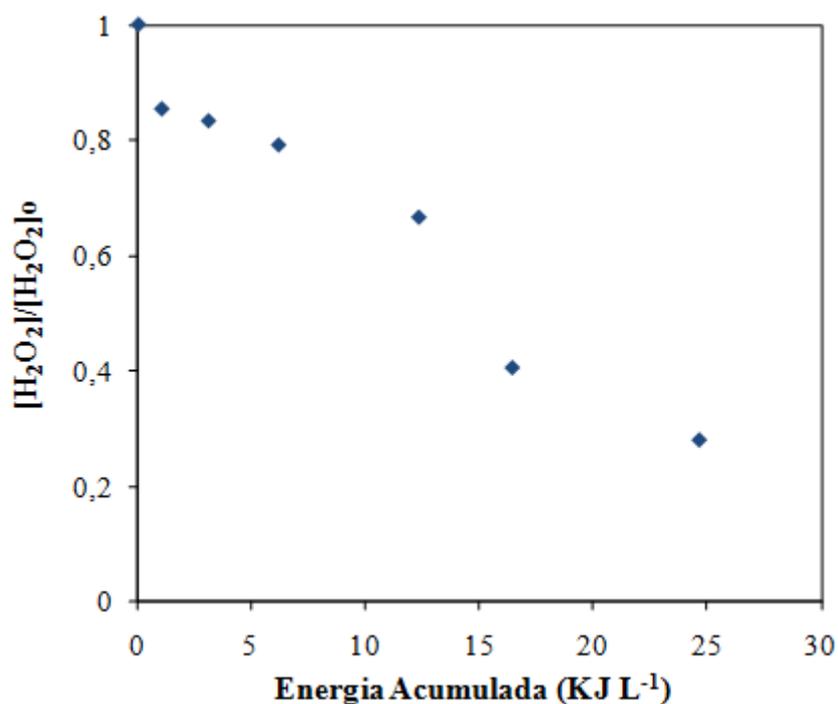


Figura 4.25 Evolução da relação da concentração de H_2O_2 versus energia acumulada para o processo UV/ H_2O_2 . $[\text{ATZ}]_0 = 20 \text{ mg/L}$ $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 = 50 \text{ mg/L}$ e pH livre (~8).

O consumo de peróxido para o processo UV/ H_2O_2 na oxidação da ATZ em efluente secundário partindo de uma concentração de H_2O_2 de 50 mg/L após 2 h de reação foi de 71%.

Embora o consumo de H_2O_2 tenha sido elevado, a remoção do COT não foi tão efetiva quanto a quantidade de peróxido consumida pela reação. Isto leva a crer que pode estar ocorrendo uma degradação dos intermediários pelos radicais OH formados já que a mineralização do pesticida é bastante lenta, assim como da matéria orgânica presente no efluente secundário.

4.5.1 Cinética do Processo UV e UV/H₂O₂ para Efluente Secundário

Sabe-se que o mecanismo de oxidação por UV/H₂O₂ é atribuído a fotólise do H₂O₂ que leva a formação de radicais OH e, por sua vez, a taxa de remoção dos compostos orgânicos tem pelo menos duas contribuições: a fotólise direta do composto e o ataque via radicais OH. Nas reações de degradação utilizando o processo UV/H₂O₂ deve-se considerar, portanto, a fotodecomposição e também o ataque ao composto pelo radical OH, de acordo com a Equação 2.10 descrita anteriormente.

Foram calculadas as constantes cinéticas para a fotodecomposição e para a combinação da radiação UV com H₂O₂ na degradação da ATZ.

As curvas de degradação da ATZ em água ultrapura e em efluente secundário seguiram o mecanismo de pseudo primeira ordem para o cálculo das constantes cinéticas aparentes (k). Para obter os valores de k, traçou-se o logaritmo neperiano da concentração versus tempo de irradiação e a inclinação da reta resultante representa o k. Esses resultados são importantes, pois permitem verificar a influência da matéria orgânica no processo UV/H₂O₂ e UV. A Figura 4.26 apresenta as taxas de oxidação da ATZ pelo processo UV e UV/H₂O₂.

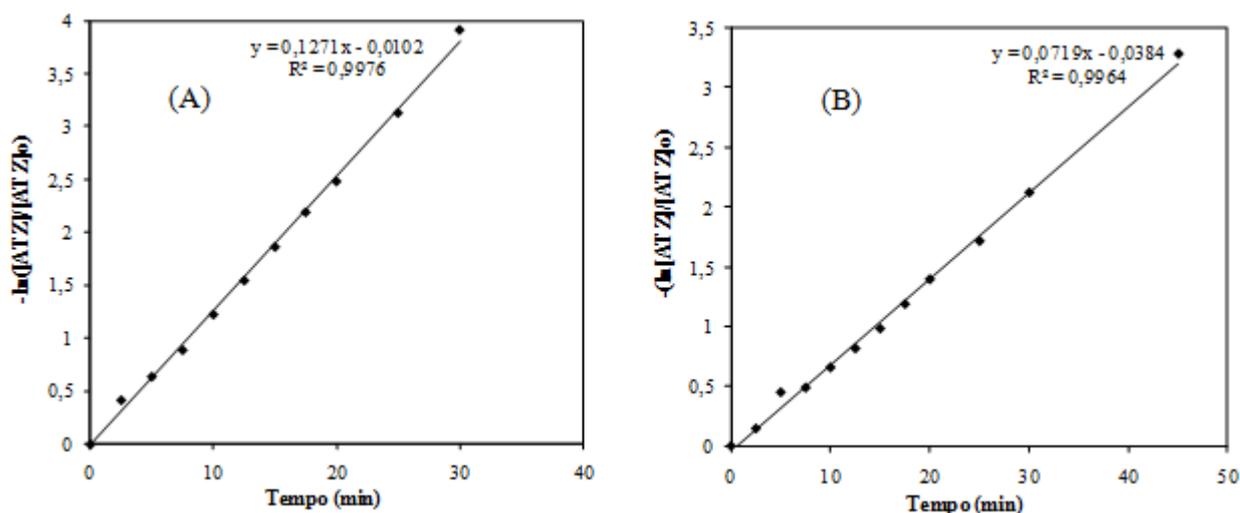


Figura 4.26 Constante da taxa de reação de pseudo primeira ordem para a degradação da ATZ por UV/H₂O₂ (A) e UV (B) em efluente secundário. [ATZ]₀= 20 mg/L, [H₂O₂]₀=50 mg/L e pH livre (~8).

A constante cinética de pseudo primeira ordem obtida para o processo UV/H₂O₂ da ATZ em efluente secundário foi de 0,1271min⁻¹, enquanto que para fotólise a constante cinética foi de 0,0719 min⁻¹.

A Figura 4.27 mostra uma comparação dos resultados obtidos para as constantes cinéticas do processo UV e UV/H₂O₂ tanto para água ultrapura quanto para o efluente secundário.

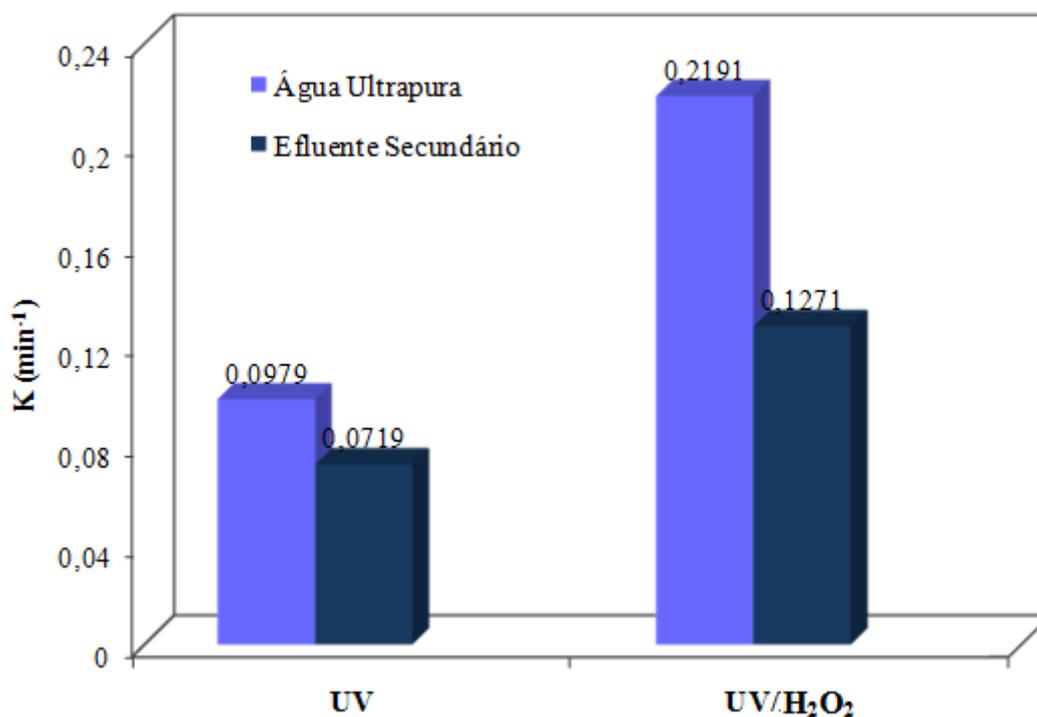


Figura 4.27 Constantes das taxas de reação de pseudo primeira ordem para a degradação da ATZ através da radiação UV e UV/H₂O₂ em efluente secundário. [ATZ]₀ = 20 mg/L [H₂O₂]₀ = 50 mg/L e pH livre (~8).

Como exposto anteriormente, verifica-se novamente a partir da Figura 4.27, que a radiação UV é bastante efetiva na degradação do pesticida e deve ser levada em consideração na degradação da ATZ pelo processo UV/H₂O₂. Pode-se verificar que a constante cinética para a remoção da ATZ em efluente secundário utilizando UV/H₂O₂ é mais baixa do que a constante cinética obtida para o tratamento em água ultrapura. Esse comportamento era esperado tendo em vista a presença de matéria orgânica no efluente secundário e que compete com a ATZ pela reação com os radicais OH.

A presença da matéria orgânica no efluente reduziu aproximadamente 42% a taxa da remoção de ATZ durante a degradação por UV/H₂O₂. Esta inibição era esperada e pode ser explicada pelo efeito capturador de radicais OH exercido por alguns componentes inorgânicos presentes no efluente secundário, como a amônia e nitrito, e também pelo consumo de radicais OH pelo carbono orgânico dissolvido presente no efluente. Como o pH do efluente é de aproximadamente 7,9 é provável a atuação de carbonatos como capturadores de radicais, pois sabe-se que para alta alcalinidade eles atuam desta forma (WERT *et al.*, 2007).

Nas condições experimentais utilizadas neste trabalho, a matéria orgânica presente no efluente secundário causou uma maior inibição na taxa de remoção da ATZ no tratamento por UV/H₂O₂ do que na ozonização. Esta diferença poderia residir no fato de que o radical OH tem um caráter não seletivo, assim seu consumo pela matéria orgânica presente no efluente seria maior do que do ozônio molecular. O consumo dos radicais OH por outros compostos orgânicos/inorgânicos presentes no efluente levaria a uma menor remoção do micropolvente. No caso do ozonização, embora no pH utilizado a presença de radicais OH fosse considerável, a concentração é muito menor do que a concentração presente na oxidação por UV/H₂O₂.

A fotólise direta é eficiente na remoção da ATZ como constatou-se a partir da Figura 4.17, porém percebe-se uma interferência da matéria orgânica na penetração da irradiação UV. Este efeito pode ser relacionado a turbidez do efluente (13,6 NTU) e a cor. Uma redução de aproximadamente 26% na taxa da degradação da ATZ por UV foi observada, mostrando que a turbidez e a cor devem ser levadas em consideração na remoção de microcontaminantes em efluentes por métodos fotocatalíticos de oxidação.

4.6 UV/H₂O₂ da Atrazina e Terbutilazina em Baixa Concentração

Como dito anteriormente, a atrazina foi bastante utilizada no mundo todo e ainda hoje é encontrada nos rios e águas subterrâneas de diversos países. É encontrada em concentrações muito baixas e não por isso deixa de ser nociva. Assim, é importante

avaliar processos capazes de degradar o pesticida não só a concentrações mais altas, como foi tratado anteriormente, mas também em condições mais próximas as que podem ser encontradas no meio ambiente.

A Figura 4.28 mostra os resultados obtidos para a degradação da ATZ em concentrações menores, ambientalmente relevantes, via UV/H₂O₂.

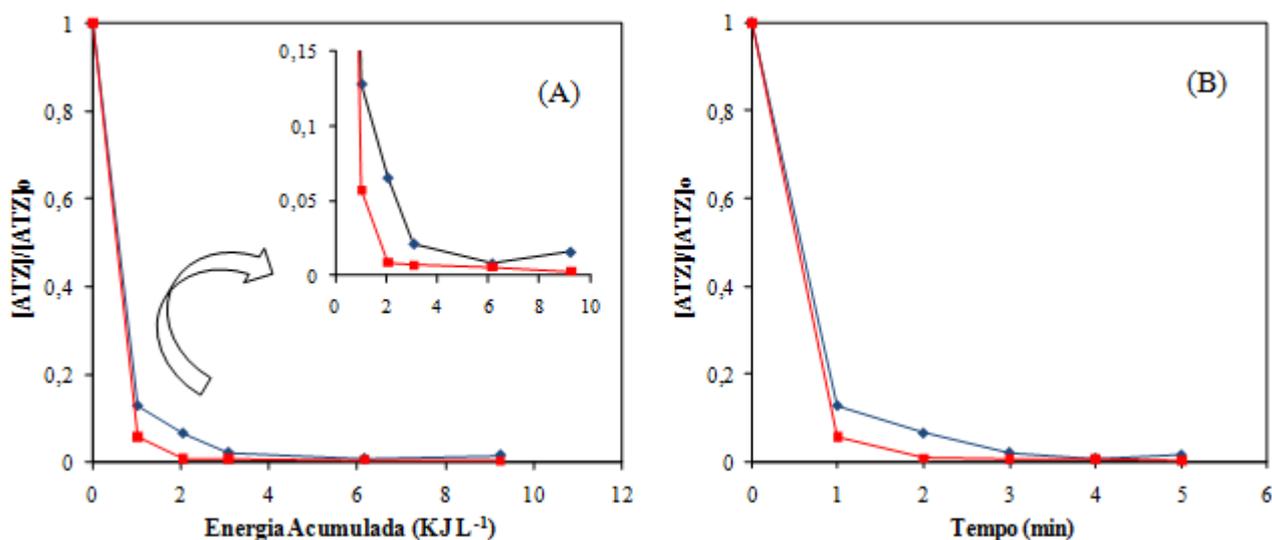


Figura 4.28 Evolução da concentração da ATZ em função da energia aplicada ao sistema (A) e versus tempo (B) para UV/H₂O₂ (□) e Fotólise (◇). [ATZ]₀ = 0,5 mg/L, [H₂O₂] = 2 mg/L e pH livre (~8).

Mais uma vez é interessante notar a importância da contribuição da radiação UV na degradação da ATZ que foi de 87% para 1 min de exposição e 98,4% com 5 min de exposição. Observa-se que, já no primeiro minuto de reação, houve uma remoção de 94% da ATZ presente na solução para o processo UV/H₂O₂ e ao final dos 5 min de reação 99,7% da ATZ foi degradada.

O mesmo experimento foi realizado para terbutilazina, utilizando as mesmas condições, e o resultado pode ser observado na Figura 4.29.

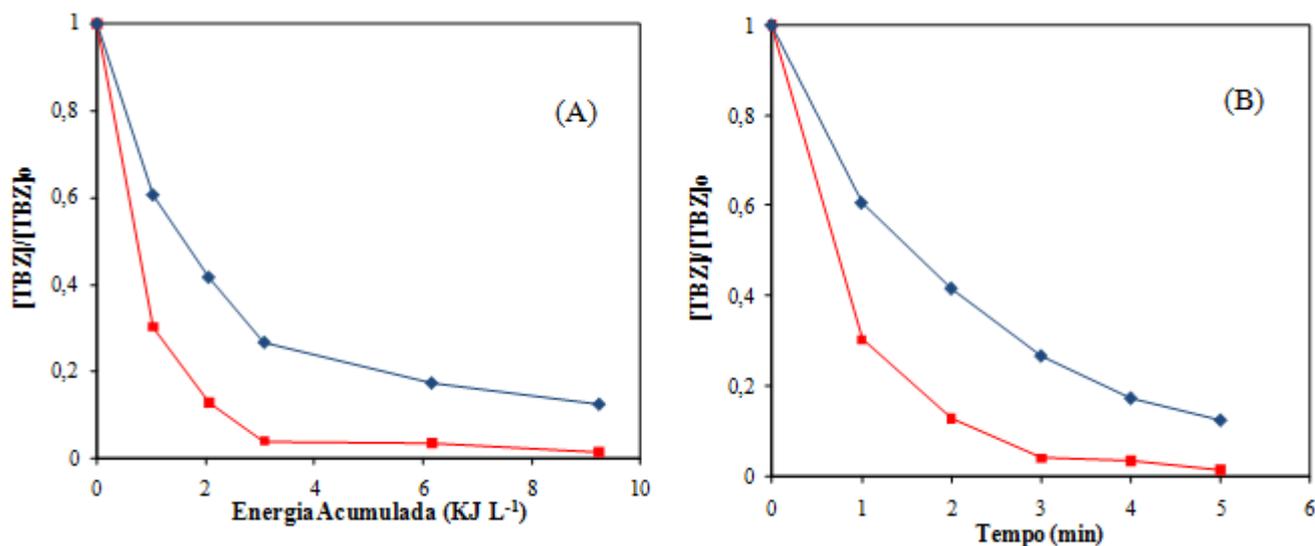


Figura 4.29 Evolução da concentração da TBZ em função da energia aplicada ao sistema (A) e versus tempo (B) para UV/ H_2O_2 (\square) e Fotólise (\diamond) $[TBZ]_0 = 0,5 \text{ mg/L}$, $[H_2O_2] = 2 \text{ mg/L}$ e pH livre (~ 8).

A degradação da TBZ se mostrou mais lenta que da ATZ tanto para a fotólise como para o processo UV/ H_2O_2 . Com 1 min de radiação apenas 39% da TBZ presente na solução foi degradada. Já para 1 min de tratamento com UV/ H_2O_2 houve uma redução de 69,7% na concentração da TBZ, e ao final dos 5 min a remoção foi de 98,6%.

Comparando a degradação da ATZ com a da TBZ pode-se observar que a ATZ degradou 10,8% a mais com a exposição a radiação UV e praticamente houve a mesma degradação para o tratamento com UV/ H_2O_2 . Isso demonstra que a sensibilidade à fotólise para a ATZ é maior do que para TBZ, em baixas concentrações. Como exposto anteriormente a diferença entre os dois pesticidas está em um radical metila que a terbutilazina possui a mais que a atrazina. Isso leva a crer que, o que pode estar aumentando essa estabilidade da molécula da terbutilazina é a presença do radical metila.

Realizou-se também a ozonização da terbutilazina a fim de verificar o comportamento do pesticida frente a reação com ozônio. Os resultados são apresentados na Figura 4.30.

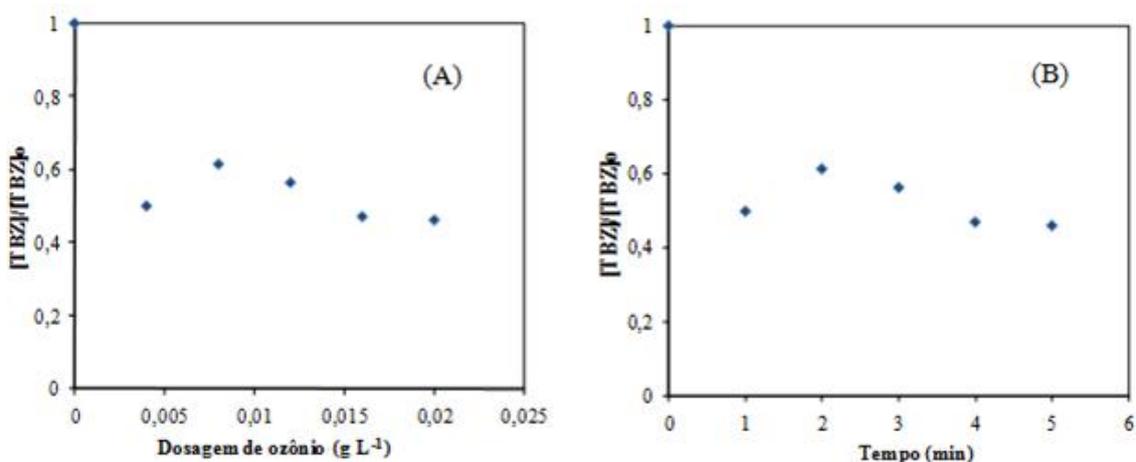


Figura 4.30 Evolução da concentração da TBZ em função da dose de ozônio aplicada (A) e da relação da concentração versus tempo (B). $[TBZ]_0 = 0,5 \text{ mg/L}$, $[O_3]_0 = 4 \text{ mg/L}$ e pH livre (~ 8).

Os resultados obtidos após o primeiro minuto de reação com o ozônio são praticamente constantes o que indica que para total degradação da TBZ necessitaria um tempo de reação maior do que o testado neste trabalho. Deve-se ressaltar que a degradação ocorre muito lentamente, se confundindo com o erro analítico.

Este fato também ocorreu para ATZ, porém pode-se observar que depois de 5 min de tratamento 63% da ATZ e 53% da TBZ foram degradadas pela ozonização. Portanto, a atrazina sofre uma maior degradação pela ozonização, o mesmo ocorre para o UV/H₂O₂, comprovando a maior estabilidade da TBZ frente aos processos empregados no presente trabalho. Pode-se considerar que talvez a terbutilazina não seja o pesticida mais apropriado para substituir a atrazina, desta vez pelo ponto de vista de sua degradação mais lenta.

A partir do que foi exposto fica claro a dificuldade em degradar esses micropoluentes quando estão presentes em baixas concentrações. Observa-se também que a fotólise age com mais eficiência com concentrações mais elevadas, diferentemente das baixas concentrações onde a diferença entre a degradação pela fotólise ou pelos radicais OH formados pela reação de UV/H₂O₂ não foi tão pronunciada.

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Neste capítulo são apresentadas as principais conclusões obtidas no presente trabalho, assim como algumas sugestões para trabalhos futuros.

5.4 Conclusões

- ✓ A ozonização foi eficiente na degradação da atrazina, principalmente em pH 11 onde a degradação do pesticida foi completa com 10 min de reação. Praticamente não houve remoção do COT, estes resultados concordam com alguns dados encontrados na literatura que afirmam que a ozonização dificilmente leva a mineralização completa.
- ✓ Na ozonização da atrazina em efluente secundário o tempo necessário para remoção total do pesticida foi maior do que para água ultrapura, como era esperado. Ao analisar-se a remoção do COT observou-se que primeiro houve a remoção do pesticida para posteriormente ocorrer a remoção da matéria orgânica, fato que pode ser explicado pela seletividade do ozônio.
- ✓ Verificou-se que na ozonização da ATZ em água ultrapura os radicais OH tiveram uma grande contribuição. Por outro lado, quando o pesticida foi ozonizado em efluente secundário, a oxidação via ozônio molecular foi favorecida. Acredita-se que quando o processo foi aplicado ao efluente, devido a presença de uma maior quantidade de matéria orgânica, o caráter seletivo do ozônio atuou preferencialmente degradando primeiro o micropoluinte e posteriormente degradou o pesticida, o que já se havia concluído em um teste preliminar.
- ✓ No caso da concentração mais baixa de ATZ verificou-se que a remoção alcançou uma menor porcentagem do que a atingida para a concentração mais alta. Estes resultados confirmam a dificuldade de remover essas substâncias quando estão presentes em baixas concentrações.

- ✓ Durante a ozonização da atrazina identificou-se 10 intermediários. Provavelmente, alguns deles devem possuir atividade estrogênica já que as amostras ozonizadas foram levemente estrogênicas para o teste YES, enquanto que a amostra pura do pesticida não elucidou resposta para o referido teste.
- ✓ O teste YES para a TBZ (substância pura) não apresentou resposta positiva, porém, as amostras ozonizadas elucidaram resposta ao teste. Isso leva a crer que foram formados intermediários que possuem atividade estrogênica, para ambos os pesticidas, dessa forma pode-se concluir que talvez a terbutilazina não seja o substituto mais adequado para atrazina.
- ✓ Para o processo UV/H₂O₂ as reações realizadas em pH 3 apresentaram os melhores resultados. Observou-se que para concentração de 20 mg/L de ATZ a contribuição da fotólise foi muito importante para degradação do pesticida. O COT permaneceu praticamente constante em todos os valores de pH testados.
- ✓ Os valores obtidos para as constantes cinéticas de pseudo primeira ordem para a degradação da atrazina pelo processo UV/H₂O₂ confirmaram que a fotólise tem uma grande contribuição na degradação da ATZ quando está em concentrações mais altas.
- ✓ O processo UV/H₂O₂ foi eficiente para remoção da ATZ em efluente secundário sendo que se observou novamente a grande contribuição da fotólise na degradação do pesticida. Não houve remoção de COT pela fotólise, porém, para UV/H₂O₂ houve uma remoção de aproximadamente 23% do COT com 2 h de tratamento.
- ✓ Verificou-se que a matéria orgânica presente no efluente secundário causou uma maior inibição na taxa de remoção da ATZ no tratamento por UV/H₂O₂ do que na ozonização.
- ✓ Verificou-se que a TBZ possui maior estabilidade a degradação frente aos tratamentos utilizados e que os intermediários para reação de ozonização da TBZ são tão tóxicos quanto os obtidos para ATZ e, portanto, pode-se considerar

que talvez a terbutilazina não seja o pesticida mais apropriado para substituir a atrazina.

5.5 Sugestões

Os seguintes pontos poderão ser estudados em trabalhos futuros:

- ✓ Como exposto anteriormente, ficou claro que o ozônio foi capaz de degradar a atrazina em ambas matrizes e concentrações testadas, no entanto, seria necessário um estudo para avaliar a habilidade do ozônio na redução da toxicidade deste composto visto que nos ensaios de atividade estrogênica realizados após o tratamento com ozônio a baixa concentração de ATZ obteve-se uma resposta positiva para o teste YES, ou seja, os intermediários provavelmente possuem atividade estrogênica para esse teste, embora o composto puro não apresente resposta para o mesmo.
- ✓ Vários países na europa vem utilizando o TBZ no lugar da ATZ, porém não existem muitos estudos sobre a toxicidade do TBZ e seus produtos de degradação. Portanto, fica evidente a necessidade de se aprofundar os estudos para se conhecer os produtos de oxidação formados, principalmente como consequência da ação do meio ambiente. Portanto, seria de grande valia determinar os intermediários formados a partir da reação de UV.
- ✓ Determinar a toxicidade (genotoxicidade) e atividade estrogênica das amostras após os processos de ozonização e UV/H₂O₂ para ambos os pesticidas e também dos seus produtos de degradação, individualmente, se possível.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACERO, J., STEMMLER, K., VON GUNTEN, U., 2000, Degradation Kinetics of Atrazine and Its Degradation Products with Ozone and OH Radicals: A Predictive Tool for Drinking Water Treatment, *Environ. Sci. Technol.*, v. 34, pp. 591-597.
- ACKERMAN, F., 2007, The Economics of Atrazine. *International Journal Occupational Environmental Health*, v. 13, n. 4, pp.441-449.
- ACPO - Associação de Consciência à Prevenção Ocupacional. Disponível na internet URL: http://www.acpo.org.br/int_hormonais.htm. Acesso em 26/02/2008.
- AERU-UK, 2009, Agriculture & Environment Research Unit, Unidade de Pesquisa do Meio Ambiente e Agricultura, Universidade de Hertfordshire, Disponível na Internet. URL: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/es/index.htm>. Acesso em 10/01/2009.
- ALHAMEDI, F. H., RAUF, M. A., ASHRAF, S. S., 2009, Degradation studies of Rhodamine B in the presence of UV/H₂O₂, *Desalination*, v. 239, pp. 159–166.
- ALMEIDA. E, ASSALIN, M. R., ROSA, M. A., 2004, Tratamento de efluentes industriais por processos oxidativos na presença de ozônio. *Química Nova*, v. 27, n. 5, pp. 818-824.
- ALVES, C., FLORES, C. L., CERQUEIRA, S. T., *et al*, 2007, Exposição ambiental a interferentes endócrinos com atividade estrogênica e sua associação com distúrbios puberais em crianças. Environmental exposure to endocrine disruptors with estrogenic activity and the association with pubertal disorders in children, *Cadernos de Saúde Pública*, v. 23, n. 5, Rio de Janeiro.
- ANVISA, 2006, Resíduos de agrotóxicos em alimentos. *Revista Saúde Pública*. n. 2, p. 361-3.

- ANVISA, 2010, Monitoramento do Mercado de Agrotóxicos. Observatório da Indústria de Agrotóxicos, Brasília, março/2010, Disponível na internet. URL: <http://portal.anvisa.gov.br>. Acesso em 18/11/2010.
- APHA, AWWA, WEF, 2005, Standard methods for the examination of water and wastewater, 18th ed, American Public Health Association/American Water Works Association/ Water Environment Federation, Washington DC, USA;
- ARÁNTGUI, J., PRADO, J., CHAMARRO, E., *et al.*, 1995, Kinetics of the UV degradation of atrazine in aqueous solution in the presence of hydrogen peroxide, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, v. 88, pp. 65-74.
- ARAÚJO, A.B., FELIX, E.P., BRITO, N.M., *et al.*, 2004, Interações e destino de pesticidas no ambiente. In: Bacia Hidrográfica: diversas abordagens em pesquisa, v. 3 pp.17-32. RIMA Editora, São Carlos.
- ARAÚJO, L. S., 2005, *Ratos Wistar expostos aos inseticidas lambda-cialotrina, carbaril e metamidofós em testes reprodutivos de curta e longa duração*. Dissertação de M.Sc., UFPR, Curitiba.
- ARMAS, E. D., MONTEIRO, R. T. R., 2005, Uso de agrotóxicos em cana-de-açúcar na bacia do rio corumbataí e o risco de poluição hídrica, *Química Nova*, v. 28, n. 6, pp.975-982.
- ARMAS, E. D., MONTEIRO, R. T. R., ANTUNES, P. M., *et al.*, 2007, Diagnóstico espaço-temporal da ocorrência de herbicidas nas águas superficiais e sedimentos do rio corumbataí e principais afluentes, *Química Nova*, v. 30, n. 5, pp.1119-1127.
- AZEVEDO, E. B., *Identificação e Toxicidade de Intermediários Formados na Degradação Fotocatalítica e na Ozonização de Fenol em Meio Salino*, Tese de D.Sc., UFRJ, Rio de Janeiro.
- BALCI, B., OTURANA, N., CHERRIER, R., *et al.*, 2009, Degradation of atrazine in aqueous medium by electrocatalytically generated hydroxyl radicals. A kinetic and mechanistic study, *Water Research*, v. 43, pp. 1924–1934.

- BARBINA, M. T., 1993, Pesticide residues in groundwater in Friuli-Venezia Giulia. Proceedings of the IX Symposium on Pesticide Chemistry, 11–13 Outubro 1993, Piacenza, pp. 729-738.
- BARREIRO, J. C., 2005, *Estudo do mecanismo de oxidação do herbicida Atrazina na presença de minerais e substâncias húmicas em ambiente anaeróbio*, Tese de D.Sc., Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- BARREIRO, J. C., CAPELATO, M. D., MARTIN-NETO, L., *et al.*, 2007, Oxidative decomposition of atrazine by a Fenton-like reaction in a H₂O₂/ferrihydrite system, *Water Research*, v. 41, pp. 55–62.
- BELTRÁN, F. J., GARCÍA-ARAYA, J. F., ACEDO, B., 1994, Advanced oxidation of atrazine in water. Ozonation, *Water Research*, v. 28, n. 10, pp. 2153-2164.
- BELTRÁN, F. J., GONZÁLEZ, M., ACEDO, B., *et al.*, 2000, Kinetic modelling of aqueous atrazine ozonation processes in a continuous flow bubble contactor, *Journal of Hazardous Materials B*, v. 80, pp. 189–206.
- BELTRÁN, F. J., OVEJERO, G., ACEDO, B., 1993, Oxidation of atrazine in water by ultraviolet radiation combined with hydrogen peroxide, *Water Research*, v. 27, n. 6, pp. 1013-1021.
- BILA, D. M., DEZOTTI, M., 2007, Desreguladores Endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. *Química Nova*, v. 30, n. 3, pp. 651-666.
- BILA, M. D., 2005, *Estudo da degradação e remoção da atividade estrogênica do desregulador endócrino, 17β estradiol, pela ozonização*. Tese de D.Sc. UFRJ, Rio de Janeiro.
- BIRKETT, J. W., LESTER, J. N., 2003, *Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes*, IWA Publishing and Lewis Publishers, Washington D.C., pp. 285.

- BOGAERTS, P. BOHATIER, J., BONNEMOY, F., 2001, Use of the Ciliated Protozoan *Tetrahymena pyriformis* for the Assessment of Toxicity and Quantitative Structure-Activity Relationships of Xenobiotics: Comparison with the Microtox Test, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 49, pp. 293-301.
- BOLTON, J. R., STEFAN M. I., 2002, Fundamental photochemical approach to the concepts of • uence (UV dose) and electrical energy efficiency in photochemical degradation reactions. *Res. Chem. Intermed.*, v. 28, n. 7–9, pp. 857–870.
- BRAMBILLA, A., 1993, The fate of atrazine pesticides in River Po water. *Science of the total environment*, v. 132, pp.339-348.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. PORTARIA N.º 518, DE 25 DE MARÇO DE 2004. Disponível na internet. URL: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/portaria_518_2004.pdf Acesso em Setembro de 2010.
- BRAUN, A. M., OLIVEROS, E., 1997, How to Evaluate Photochemical Methods for Water Treatment. *Water Science Technology*, v. 35, p. 17-23.
- BRAUN, A. M.; MAURETTE, M. T.; OLIVEROS, E., 1991, *Photochemical Technology*; John Wiley and Sons: England, pp. 343.
- BRETVELD, R. W, THOMAS C. M. G., SCHEEPERS, P.T.J., *et al.*, 2006, Pesticide exposure: the hormonal function of the female reproductive system disrupted? *Reproductive Biology and Endocrinology*, 4:30.
- BROSSA, L., MARCE, M. R., BORRULL, F., *et al.*, 2003, Determination of endocrine-disrupting compounds in water samples by on-line solid-phase extraction–programmed-temperature vaporisation–gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v. 998, pp. 41–50.
- BUXTON, G. V, GREENSTOCK, C. L., HELMAN, W. P., *et al.*, 1988, Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl

radicals in aqueous solution. *Journal Physical and Chemical Reference Data* (17), pp. 513-886.

CAMPOS, M. M. C., 2009, *Estudo da remoção e toxicidade dos pesticidas atrazina e oxifluorfem pela cianobactéria microcystis novacekii em condições de cultivo, dissertação de mestrado*, UFMG, Belo Horizonte , MG.

CARABIAS-MARTINEZ, R., RODRÍGUEZ-GONZALO E., REVILLA-RUIZ P., 2006, Determination of endocrine-disrupting compounds in cereals by pressurized liquid extraction and liquid chromatography–mass spectrometry Study of background contamination, *Journal of Chromatography A*, v.1137, pp.207–215.

CHAN, K.H., CHU W., 2005, Model applications and mechanism study on the degradation of atrazine by Fenton's system, *Journal of Hazardous Materials B*, v.118, pp. 227–237.

CHAN, K.H., W. CHU, W., 2003, The system design of atrazine oxidation by catalytic oxidation process through a kinetic approach, *Water Research*, v. 37, pp. 3997–4003.

CHANG, E. E., CHIANG, P. C., KO, Y. W., *et al.*, 2001, Characteristics of organic precursors and their relationship with disinfection by-products, *Chemosphere*, v. 44, pp. 1231-1236.

CHENG. C., YANGA, S., GUO, Y., SUN, C., *et al.*, 2009, Photolytic destruction of endocrine disruptor atrazine in aqueous solution under UV irradiation: Products and pathways, *Journal of Hazardous Materials*, v. 172, pp. 675–684.

CHU, W., 2001, Modeling the quantum yields of herbicide 2,4D decay in UV/H₂O₂ process. *Chemosphere*, v.44, pp. 935-941.

CHU, W., MA, C.-W., 2000, Quantitative prediction of direct and indirect dye ozonation kinetics, *Water Research*, v. 34, n^o. 12, p. 3153-3160.

- CONNOR, K., HOWELL, J., CHEN, I., LIU, *et al.*, 1996, Failure of chloro-S-triazine-derived compounds to induce estrogen receptor-mediated responses in vivo and in vitro, *Fundamental and applied Toxicology*, v. 30, pp. 93-101.
- CORREIA, F. V. MERCANTE, F. M., FABRÍCIO, A. C., *et al.*, 2007, Infiltração de atrazina em Latossolo submetido aos sistemas de plantio direto e convencional. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.42, n.11, p.1617-1625.
- COSTA, M. A. F., BRITO, M. N., ARAÚJO, A. B., 2007, Análise e degradação de atrazina por fotocatalise heterogênea utilizando filme de TiO₂:Ag (0,15%Ag), II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica, João Pessoa, PB.
- CURINI, R., GENTILI, A., MARCHESE, S., *et al.*, 2000, Solid phase extraction followed by high-performance liquid chromatography-ionspray interface-mass spectrometry for monitoring of herbicides in environmental water. *Journal Chromatography A.*, v. 874, n. 2, pp. 187-198.
- D'ARCHIVIO, A. A., FANELLI, M., MAZZEO, P., *et al.*, 2007, Comparison of different sorbents for multiresidue solid-phase extraction of 16 pesticides from groundwater coupled with high-performance liquid chromatography. *Talanta*, v. 71, pp. 25–30.
- DANESHVAR, N., ALEBOYEH, A., KHATAEE, A.R., 2005, The evaluation of electrical energy per order (EEO) for photooxidative decolorization of four textile dye solutions by the kinetic model, *Chemosphere*, v. 59, pp. 761–767.
- DANTAS, R. F., 2005, *Ozonation of Emergents Contaminants*, Tese de D.Sc., UB, Barcelona, Espanha.
- DOMBEK, T., DAVIS, D., STINE, J., KLARUP, D., 2004, Degradation of terbutylazine (2-chloro-4-ethylamino-6-terbutylamino-1,3,5-triazine), deisopropyl atrazine (2-amino-4-chloro-6-ethylamino-1,3,5-triazine), and chlorinated dimethoxy triazine (2-chloro-4,6-dimethoxy-1,3,5-triazine) by zero

valent iron and electrochemical reduction, *Environmental Pollution*, v. 129, pp. 267–275.

DOMÈNECH, X.; JARDIM, W. F.; LITTER, M. I. Procesos avanzados de oxidación para la eliminación de contaminantes. Disponível na internet. URL: <http://www.psa.es/webeng/solwater/files/CYTED01/06cap01.pdf> acesso em 11/04/2008;

EGLER, M., 2002, *Utilizando a Comunidade de Macroinvertebrados Bentônicos na Avaliação da Degradação de Ecossistemas de Rios em Áreas Agrícolas*. Escola Nacional de Saúde Pública, FIOCRUZ, Dissertação de M.Sc., Rio de Janeiro.

EIGER, S.; FILHO, S. S. F.; FILHO, F. A. L., 1998, Modelagem Matemática de Sistemas de Ozonização de Contato – Parte I e Parte II – Revista ABES.

EPA, 2001, “The Incorporation of Water Treatment Effects on Pesticide Removal and Transformations in Food Quality Protection Act (FQPA)”. Drinking Water Assessments - Office of Pesticide Programs, Washington.

EPA, 2002, “Triazine Cumulative Risk Assessment” Disponível na internet. URL: <http://www.epa.gov/pesticides/cumulative/triazines/triazinescommonmech.pdf>. Acesso em Agosto de 2010.

EPA, 2006, “Triazine Cumulative Risk Assessment”. HED Human Health Risk Assessment in Support of the Reregistration Eligibility Decisions for Atrazine, Simazine and Propazine. 67p. Washington. 28/Março/2006.

EPA, 2010 “New Atrazine Evaluation Junho/2010” Disponível na internet. URL: http://www.epa.gov/opp00001/reregistration/atrazine/atrazine_update.htm Acesso em: 27. Agosto de 2010.

FAPESP, 2005, FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO - Agência FAPESP. Disponível na internet. URL: <http://www.inovacaotecnologica.com.br/noticias/noticia.php?artigo=010125050502>. Acesso em 20/02/2008.

- FARIA, L. J. S., 2004, *Avaliação de diferentes sorventes na extração em fase sólida de pesticida em água. Desenvolvimento e Validação de Metodologi*, Dissertação M.Sc., UNICAMP, Campinas, SP, Brasil.
- FARRÉ, M. J., FRANCH, M. I., AYLLÓN, *et al.*, 2007, Biodegradability of treated aqueous solutions of biorecalcitrant pesticides by means of photocatalytic ozonation, *Desalination*, v. 211, pp. 22–33.
- FERNANDES NETO, M. L.; SARCINELLI, P. N., 2009, Pesticides in drinking water: a risk assessment approach and contribution to the Brazilian legislation updating process. *Engenharia Sanitária Ambiental*, v.14, n.1, pp. 69-78.
- FERREIRA, P. A., CUNHA, N.L.C., WERMELINGER, D.E., *et al.*, 2006, Impacto de pesticidas na atividade microbiana do solo e sobre a saúde dos agricultores, *Revista Baiana de Saúde Pública*, v. 30, n. 2, pp. 309-321.
- GERALD, R., 1994, UV-O₃, UV-H₂O₂, UV-TiO₂ and the photofenton reaction comparison of advanced oxidation processes for wastewater treatment, *Chemosphere*, v. 28, pp.1447–1454.
- GHISELLI, G., JARDIM, F. W., 2007, Interferentes Endócrinos no Ambiente. *Química Nova*, v. 30, n. 3, pp. 695-706.
- GOLDMAN, L. R., 1998, “Two Decades of Progress in the Evaluation of Environmental Risks to Male Reproductive Health”. Hazardous Substances and Male Reproductive Health International Conference The New York Academy of Medicine New York, NY. Disponível na internet. URL: http://www.epa.gov/oppt/library/pubs/archive/oppts_speeches/malerepf.htm acesso em 13/11/2010.
- GOSWAMI K. P. AND GREEN R. E., 1971, Microbial Degradation of the Herbicide Atrazine and Its 2-Hydroxy Analog in Submerged Soils. *Environmental Science & Technology*, v. 5, n. 5, pp. 426-429.

- GRAYMORE, M., STAGNITTI, F., ALLINSON, G., 2001, Impacts of atrazine in aquatic ecosystems. *Environment International*, v. 26, pp. 483-495.
- GRCIC, I., MUZIC, M., VUJEVIC, D., *et al.*, 2009, Evaluation of atrazine degradation in UV/FeZSM-5/H₂O₂ system using factorial experimental design, *Chemical Engineering Journal*, v. 150, pp. 476–484.
- GUIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DA FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 1998, Intoxicações por Agrotóxicos. ed.4. Cap 5.15.
- HILDEBRANDT, A., GUILLAMÓN, M., LACORTE, S., TAULER, R., BARCELÓ, D., 2008, Impact of pesticides used in agriculture and vineyards to surface and groundwater quality (North Spain). *Water Research*, v.42, pp.3315–3326.
- HLADIK, M. L., BOUWER, E. J., ROBERTS, A. L., 2008, Neutral degradates of chloroacetamide herbicides: Occurrence in drinking water and removal during conventional water treatment, *Water Research*, v. 42, pp. 4905–4914.
- HOIGNE, J., BADER, H., 1983, Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water. I. Non-dissociating organic compounds. *Water Research*, v.17, pp.173-183.
- IEH, 2004, “A Screening Method for Ranking Chemicals by their Fate and Behaviour in the Environment and Potential Toxic Effects in Humans Following Non-occupational Exposure” (Web Report W14), Leicester, UK, MRC Institute for Environment and Health, Disponível na internet. URL: <http://www.le.ac.uk/ieh/>
Acesso em 26/03/2008
- INEA, 2005, *Qualidade da Água*, Resolução CONAMA nº 357, Instituto Estadual do Ambiente, Rio de Janeiro, Brasil.
- JAIN S., YAMGAR R., JAYARAM R. V., 2009, Photolytic and photocatalytic degradation of atrazine in the presence of activated carbon. *Chemical Engineering Journal*, v.148, pp.342-347.

- JAVARONI, A. C. R.; LANDGRAF, D. M.; REZENDE, O. O. M., 1999, Comportamento dos Herbicidas Atrazina e Alaclor aplicados em solo preparado para o cultivo de cana-de-açúcar. *Química Nova*, v. 22.
- KLAMERTH, N., MIRANDA, N., MALATO, S., *et al.*, 2009, Degradation of emerging contaminants at low concentrations in MWTPs effluents with mild solar photo-Fenton and TiO₂, *Catalysis Today*, v. 144, pp. 124–130.
- KOIFMAN, S., PAUMGARTTEN, F. O, 2002, Impacto dos desreguladores endócrinos ambientais sobre a saúde pública. *Cadernos de Saúde Pública*. v.18, n.2, Rio de Janeiro.
- KONG, X.-J, LI, D., CAO, L.-Q, *et al.*, 2008, Evaluation of municipal sewage treatment systems for pollutant removal efficiency by measuring levels of micropollutants, *Chemosphere*, v.72, p.59–66.
- KRAHENBUHL, M. F., NASSER, B. C. L., SANTOS, V. R., *et al.*, 2008, Adsorção de Atrazina, desetilatrazina e hidroxiatrazina em Latossolo Vermelho escuro sob cerrado e sob plantio direto no Distrito Federal. Disponível na internet. URL www.upf.br/rbherbicidas/download/RBH237.pdf . Acesso em 16/04/2008.
- LANDRIGAN P, GARG A, DROLLER D.B.J., 2003, Assessing the effects of endocrine disruptors in the National Children's Study. *Environ Health Perspect.* v.11, pp. 1678-82.
- LANGLAIS, B., RECKHOW, D. A., BRINK, D. R., 1991, Ozone in water treatment: Application and Engineering. *Lewis Publishers*, Chelsea, England.
- LÁNY K., DINYA Z., 2003, Photodegradation study of some triazine-type herbicides. *Microchemical Journal*, v. 75, pp.1-14.
- LÁNY K., DINYA Z., 2005, Photodegradation study for assessing the environmental fate of some triazine-, urea- and thiolcarbamate-type herbicides, *Microchemical Journal*, v. 80, pp.79-87.

- LAPERTOT, M., EBRAHIMI, S., OLLER, I., *et al.*, 2008, Evaluating Microtox as a tool for biodegradability assessment of partially treated solutions of pesticides using Fe³⁺ and TiO₂ solar photo-assisted processes, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 69, pp. 546–555.
- LAPERTOT, M., EBRAHIMI, S., DAZIO, S., *et al.*, 2007, Photo-Fenton and biological integrated process for degradation of a mixture of pesticides, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, v. 186, pp. 34–40.
- LAWTON, J.C., PENNINGTON, P.L., CHUNG, K.W., *et al.*, 2005. Toxicity of atrazine to the juvenile hard clam, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 65, pp. 388–394.
- LEGRINI, O., OLIVEROS, E., BRAUN, A. M., 1993, Photochemical Processes for Water Treatment, *Chemical Reviews*, v. 93, pp. 159-166.
- LESAN, H.M.; BHANDARI, A., 2004, Contact-time-dependent atrazine residue formation in surface soils. *Water Research*, v.38, pp.4435–4445.
- LIRA, D. C. B., 2006, Estudo da degradação fotoquímica para reuso de águas de processo em complexo industrial petroquímico, USP, Dissertação M.Sc., São Paulo.
- LIU, B., LIU, X., 2004, Direct Photolysis of Estrogens in Aqueous Solutions, *Science of the Total Environment*, v. 320, pp. 269-274.
- LIU, C., HUANG, X., WANG, H., 2008, Start-up of a membrane bioreactor bioaugmented with genetically engineered microorganism for enhanced treatment of atrazine containing wastewater, *Desalination*, v. 231, pp.12–19.
- LOOS, R., NIESSNER, R., 1999, Analysis of atrazine, terbutylazine and their *N*-dealkylated chloro and hydroxy metabolites by solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry and capillary electrophoresis–ultraviolet detection. *Journal of Chromatography A*, v.835, pp. 217–229.

- MCKINLAY, R., PLANT, A. J., BELL, B. N. J., *et al.*, 2007, Endocrine disrupting pesticides: Implications for risk assessment, *Environment International*, Artigo impresso, 2007.
- MCMURRAY, T. A., DUNLOP, P. S. M., BYRNE, J. A., 2006, The photocatalytic degradation of atrazine on nanoparticulate TiO₂ films. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, v. 182, pp. 43–51.
- MEYER, A., SARCINELLI, N. P., MOREIRA, C. J., 1999, Estarão alguns grupos populacionais brasileiros sujeitos à ação de disruptores endócrinos? Are some Brazilian population groups subject to endocrine disrupters? *Cadernos de Saúde Pública*, v.15, n.4, pp. 845-850, Rio de Janeiro.
- MONTGOMERY, J. M., 1997, Groundwater Chemicals Desk References, CRC Press, Boca Raton, FL.
- MOREAU, C., MOUVET, C., 1997, Sorption and desorption of atrazine, deethylatrazine, and hydroxyatrazine by soil and aquifer solids, *Journal of Environmental Quality*, v. 26, n. 2, pp. 416-424
- MURUGANANDHAM, M., SWAMINATHAN, M., 2004, Photochemical oxidation of reactive azo dye with UV–H₂O₂ process, *Dyes and Pigments*, v. 62, pp. 269–275.
- OCHI, B. C., BRITO, V. F., MEDEIROS, M. A. C., 2006, Avaliação da contaminação de águas superficiais por herbicidas e nutrientes e em áreas com o cultivo de cana-de-açúcar no município de iracemápolis, UNICAMP/CESET, Campinas.
- OH, Y. J., JUNG, Y. J., KANG, J-W., *et al.*, 2007, Investigation of the estrogenic activities of pesticides from Pal-dang reservoir by *in vitro* assay. *Science of the Total Environment*, v. 388, pp. 8–15.
- ORMAD M. P., MIGUEL, N., CLAVER, A., *et al.*, 2008, Pesticides removal in the process of drinking water production, *Chemosphere*, v.71, pp. 97–106.

- ORMAD, P., CORTES, S., PUIG, A. Y, *et al.*, 1997, Degradation of organochloride compounds by O₃ and O₃/H₂O₂. *Water Research*, v. 31, pp. 2387-2391.
- PELIZZETTI E., MAURINO V., MINERO C., *et al.*, 1990, Photocatalytic degradation of atrazine and other s-triazine herbicides, *Environmental Science Technology*, v.24, pp.1559-1565.
- PÉREZ, M. H., PEÑUELA G., MALDONADO M. I., *et al.*, 2006, Degradation of pesticides in water using solar advanced oxidation processes. *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 64, 272-281.
- PHYU, Y. L., WARNE, M.ST.J., LIM, R.P., 2005, The toxicity and bioavailability of atrazine and molinate to *Chironomus tepperi* larvae in laboratory and river water in the presence and absence of sediment, *Chemosphere*, v. 58, pp. 1231–1239.
- PILLAI, K. C., KWON,T. O., MOON, I. L., 2009, Degradation of wastewater from terephthalic acid manufacturing process by ozonation catalyzed with Fe²⁺, H₂O₂ and UV light: Direct versus indirect ozonation reactions, *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 91, pp. 319–328.
- PILLIERE, F., 2005, Perturbateurs endocriniens et risques professionnels Endocrine disruptors and occupational risks, *EMC-Toxicologie Pathologie*, v. 2, pp. 43–53.
- PIMENTEL, D., LEVITAN, L., Pesticides: amounts applied and amounts reaching pests, *Bioscience*, washington, V. 36, N. 2, PP. 86-91, 1986.
- PITARCH, E., SERRANO, R., LOPEZ, F.J., *et al.*, 2003, Rapid multiresidue determination of organochlorine and organophosphorus compounds in human serum by solid-phase extraction and gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.*, v.376, pp. 189– 197.
- PLANAS, C., PUIG, A., RIVERA, J., CAIXACH, J., 2006, Analysis of pesticides and metabolites in Spanish surface waters by isotope dilution gas chromatography/mass spectrometry with previous automated solid-phase

extraction Estimation of the uncertainty of the analytical results, *Journal of Chromatography A*, v.1131, pp.242–252.

PRADO, J., ESPLUGAS, S., 1999, Comparison of different advanced oxidation processes involving ozone to eliminate atrazine. *Ozone: Science and Engineering*, v. 21, pp. 39–52.

PUC Rio certificação Digital nº0511121/CA – Revisão, 2007, Disponível na internet. URL: www.maxwell.lambda.ele.puc-rio.br/cgi-bin/PRG_0599.EXE/10607_2.PDF?NrOcoSis=34098&CdLinPrg=pt - Acesso em 27/11/2007

REVISTA RURAL, 2008, Produtor deve evitar contaminação do solo e da água. *Revista Rural*, nº 70, outubro 2003. Disponível na internet. URL: http://www.revistarural.com.br/Edicoes/2003/Artigos/rev70_produtor.htm acesso em 19/02/2008

RICE, R. P., 1996, Applications of Ozone for Industrial Wastewater Treatment. *Ozone Science & Engineering*, v. 18, pp. 477-515.

ROUTLEDGE, E. J., SUMPTER, J. P., 1996, Estrogenic Activity of Surfactants and Some of their Degradation Products Assessed Using a Recombinant Yeast Screen. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 15, pp. 241-248.

SANCHES, S. M., SILVA, C. H.T. P., CAMPOS, S. X., *et al.*, 2003, Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. *Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v. 13, p. 53-58, Curitiba.

SANDERSON, J. T., WILLEM, S., GIESY, J. P., *et al.*, 2000, 2-Chloro-s-Triazine Herbicides Induce Aromatase (CYP19) Activity in H295R Human Adrenocortical Carcinoma Cells: A Novel Mechanism for Estrogenicity? *Toxicological Sciences*, v. 54, pp.121–127.

SANIDES, S.; DEGEN, R.; OBELIN, W. Hormônios - Estrogênios ambientais podem ser causa de infertilidade masculina e câncer. *Revista FOCUS*, fev/1994.

- Disponível na internet URL:
<http://www.nossofuturoroubado.com.br/castracao.htm>. Acesso em 28/02/2008;
- SANLAVILLE, Y., GUITTONNEAU, S., MANSOUR, M., *et al.*, 1996, Photosensitized Degradation of Terbutylazine Water, *Chemosphere*, v. 33, n. 2, pp. 353-362.
- SANTAMARTA, J., 2008, A ameaça dos disruptores endócrinos. Disponível na internet. URL: http://www.pronaf.gov.br/dater/arquivos/agrotox_santamarta1.pdf acesso em 11/04/2008;
- SANTAMARTA, J., 2001, Por um futuro sem contaminantes orgânicos persistentes. *Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável*, v.2, n.1, Porto Alegre.
- SINDAG, 2007 - Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola. Disponível na internet URL:
http://www.sindag.com.br/noticia.php?News_ID=534. Acesso em 30/10/2007.
- SINDAG, 2010 - Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola. Disponível na internet URL:
http://www.sindag.com.br/conexao/anteriores/conexao_n22.pdf. Acesso em 02/08/2010.
- SKIPPER, H. D., VOLK V. V., 1972, Biological and Chemical Degradation of Atrazine in Three Oregon Soils. *Weed Science Society of America*, v. 20, n.4, pp. 344-347.
- SONNENSCHNEIN, C. SOTO, A. M., 1998, An Updated Review of Environmental Estrogen and Androgen Mimics and Antagonists, *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, v. 65, n. 1-6, pp. 143-150.
- SPADOTTO, A. C., GOMES, F. A. M., LUCHINI, C. L., *et al.*, 2004, Monitoramento do Risco Ambiental de Agrotóxicos: princípios e recomendações. Embrapa Meio Ambiente. Documentos - 42. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente.

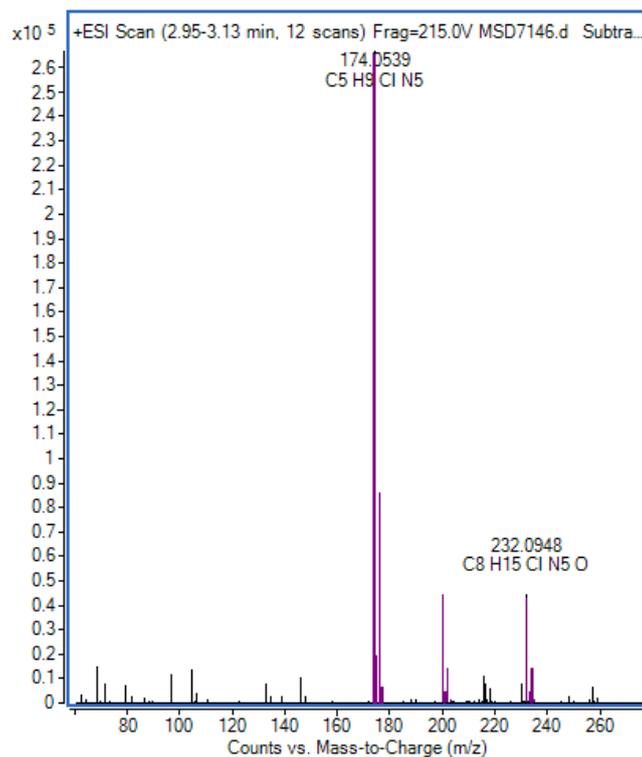
- SPADOTTO, A. C.; FILIZOLA, H.; GOMES, F. A. M., 2001, Avaliação do Potencial de Lixiviação de Pesticidas em Latossolo da Região de Guaíra, SP. *Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v. 11, Curitiba.
- TEIXEIRA, G. C. S., CANELA, C. M. Degradação do pesticida Padron por processos fotoquímicos utilizando luz artificial e solar. *Química Nova*. Disponível na internet URL: quimicanova.sbq.org.br/qn/No%20Prelo/Artigos/AR06347.pdf - acesso 05/12/2007;
- TONI, L. R. M., SANTANA, H., ZAIA, D. A. M., 2006, Adsorção de Glifosato sobre Solos e Minerais. *Química Nova*, v. 29, n. 4, pp.829-833.
- TRAGHETTA, D. G., VAZ, C. M. P., MACHADO, S. A. S. *et al.*, 1996, Mecanismos de sorção da atrazina em solos: estudos espectroscópicos e polarográficos. Comunicado Técnico EMBRAPA. n. 14, pp.1-7.
- TUHKANEN, T. A., 2004, *Advanced Oxidation Processes for Water and Wastewater Treatment*. IWA Publishing, ISBN: 1 84339 017 5. London, UK.
- UETA, J., PEREIRA, N. L., SHUHAMA, I. K. *et al.*. Biodegradação de Herbicidas e Biorremediação Microrganismos degradadores do herbicida Atrazina Disponível na internet. URL: www.rsa.ind.br/midia/biodegrada%E7%E3o_biorremedia%E7%E3o.pdf Acesso em 25/04/2008.
- UNIÃO EUROPÉIA, 2001, Decision N°. 2455/2001/EC of the European Parliament and of the Council of 20 November 2001 establishing the list of priority substances in the field of water policy and amending, Directive 2000/60/EC, *Off. J. Eur. Commun.* (December 15, 2001) 331/1.
- VASCONCELOS, F. C. W., 2007, *Transporte de atrazina influenciado por calagem e adubação fosfatada em ambientes de Latossolos da Bacia do Rio das Mortes (MG)*, Tese D.Sc., Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

- VIEIRA, M. E., PRADO, S. G. A., LANDGRAF, D. M., *et al.*, 1999, Estudo da sorção/dessorção do ácido 2,4 Diclorofenóxiacético (2,4D) em solo na ausência e presença de matéria orgânica. *Química Nova*, v. 22, n.3, pp.305-308.
- VINGGAARD, A. M., HNIDA, C., BREINHOLT, V., *et al.*, 2000, Screening of Selected Pesticides for Inhibition of CYP19 Aromatase Activity In Vitro *Toxicology in Vitro*, v. 14, pp. 227-234.
- VON GUNTEN, U., 2003, Ozonation of drinkingwater: Part II. Disinfection and by-product formation in presence of bromide, iodide or chlorine, *Water Research*, v. 37, pp.1469–1487.
- WERT, E. C., ROSARIO-ORTIZ, F. L., SNYDER, S. A., 2009, Effect of ozone exposure on the oxidation of trace organic contaminants in wastewater, *Water Research*, v. 43, pp. 1005–1014.
- WOLTER, R., 1993, Pflanzenschutzmittel-Funde im Wasser. Seminar des WABOLU, 12 October/1993.
- WWF, 1998, Fundo Mundial para a Natureza, In SARDI, M. FENAE., Edição 8, Ano 1 n. 8, p. 12-19.
- ZHAO, R-S, YUAN, J-P, JIANG,T, SHI, J-B, *et al.*, 2008, Application of bamboo charcoal as solid-phase extraction adsorbent for the determination of atrazine and simazine in environmental water samples by high-performance liquid chromatography-ultraviolet detector, *Talanta*,v.76, pp.956–959.

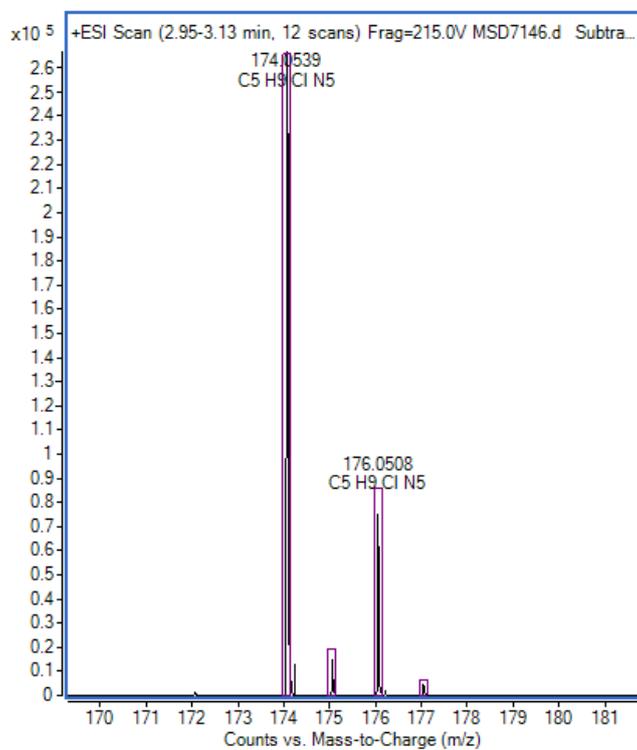
ANEXO 1

Cromatogramas das Amostras Submetidas à Espectrometria de Massas

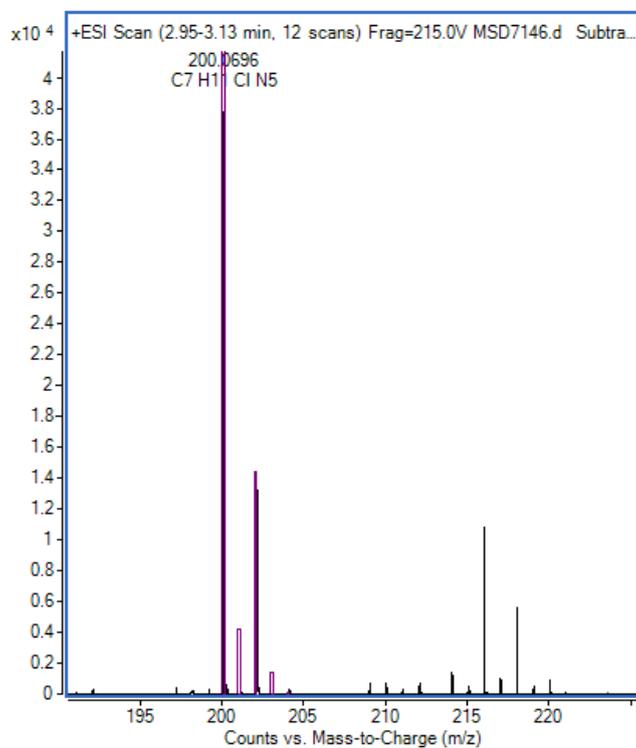
1. Espectro de massa obtido por (LC/MSD-TOF) do subproduto $C_8H_{15}ClN_5O$ (CMIT) para 3 minutos de ozonização. $[ATZ]_0=0,5\text{mg/L}$ $[O_3]_0=4\text{mg/L}$
Fluxo=1L/min



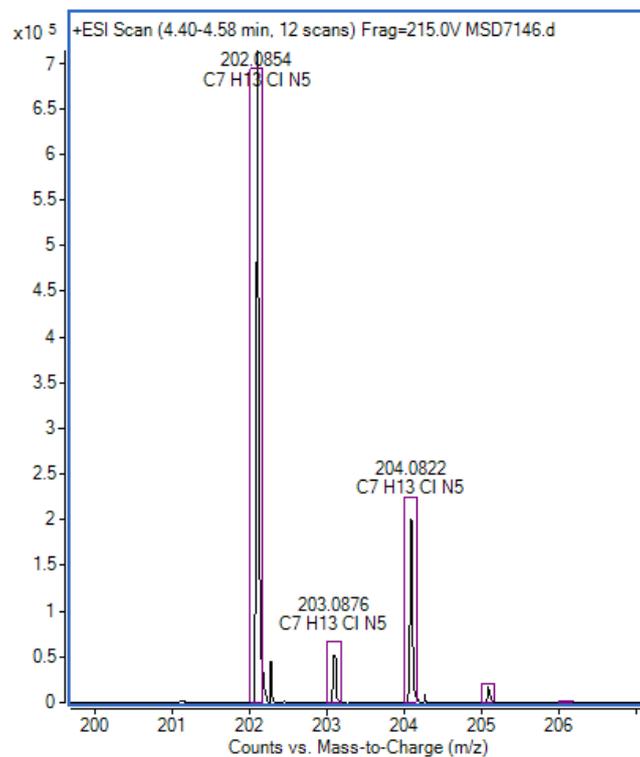
2. Espectro de massa obtido por (LC/MSD-TOF) do subproduto $C_5H_9ClN_5$ (DIA) para 3 minutos de ozonização. $[ATZ]_0=0,5mg/L$ $[O_3]_0=4mg/L$ Fluxo=1L/min.



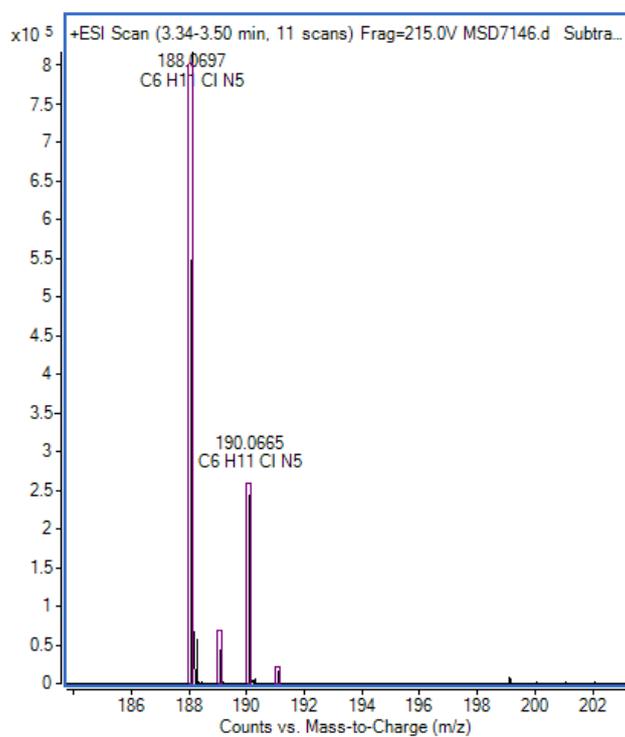
3. Espectro de massa obtido por (LC/MSD-TOF) do subproduto $C_7H_{11}ClN_5$ para 3 minutos de ozonização. $[ATZ]_0=0,5\text{mg/L}$ $[O_3]_0=4\text{mg/L}$ Fluxo= 1L/min .



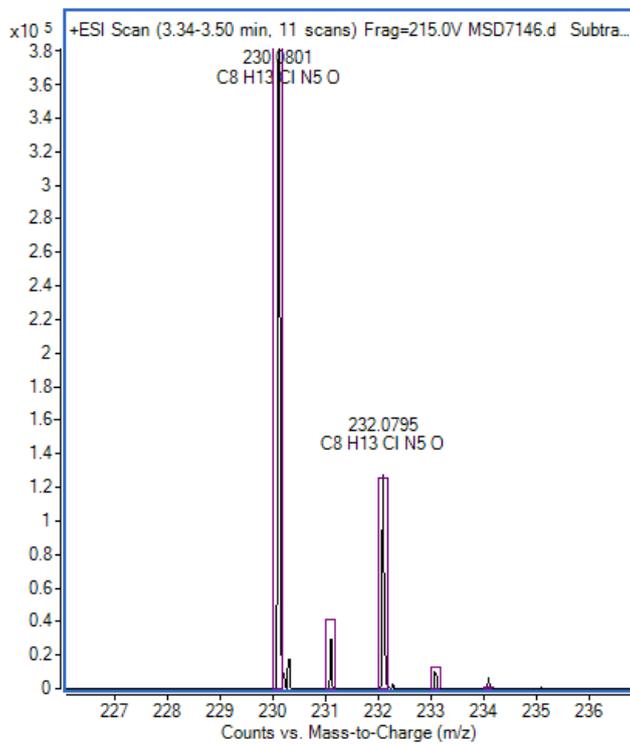
4. Espectro de massa obtido por (LC/MSD-TOF) do subproduto $C_7H_{13}ClN_5$ (CIMT) para 3 minutos de ozonização. $[ATZ]_0=0,5mg/L$ $[O_3]_0=4mg/L$
Fluxo=1L/min



5. Espectro de massa obtido por (LC/MSD-TOF) do subproduto $C_6H_{11}ClN_5$ (DEA) para 3 minutos de ozonização. $[ATZ]_0=0,5mg/L$ $[O_3]_0=4mg/L$ Fluxo=1L/min



6. Espectro de massa obtido por (LC/MSD-TOF) do subproduto $C_8H_{13}N_5ClO$ (CDIT ou CDDT) para 3 minutos de ozonização. $[ATZ]_0=0,5\text{mg/L}$ $[O_3]_0=4\text{mg/L}$ Fluxo=1L/min.



7. Espectro de massa obtido por (LC/MSD-TOF) do subproduto $C_3H_5ClN_5$ (DEIA) para 3 minutos de ozonização. $[ATZ]_0=0,5mg/L$ $[O_3]_0=4mg/L$ Fluxo=1L/min.

