

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**Degradação de atrazina por processo foto- Fenton monitorado
por injeção seqüencial e cromatografia a líquido de alta eficiência**

MAGDA DIAS GONÇALVES RIOS

Tese de Doutorado

Orientador: Prof. Dr. JORGE CESAR MASINI

SÃO PAULO

06 de outubro de 2006

DEDALUS - Acervo - CQ



30100012296

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Rios, Magda Dias Gonçalves
R586d Degradação de atrazina por processo foto-Fenton monitorado
por injeção seqüencial e cromatografia a líquido de alta
eficiência / Magda Dias Gonçalves Rios. -- São Paulo, 2006.
118p.

Tese (doutorado) – Instituto de Química da Universidade
de São Paulo. Departamento de Química Fundamental.
Orientador: Masini, Jorge Cesar

1. Química analítica 2. Análise por injeção seqüencial :
Química 3. Cromatografia líquida de alta eficiência : Química
analítica I. T. II. Masini, Jorge Cesar, orientador.

543 CDD

“Degradação de atrazina por processo foto-Fenton monitorado por injeção seqüencial e cromatografia a líquido de alta eficiência”

MAGDA DIAS GONÇALVES RIOS

Tese de Doutorado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Química - Área: Química Analítica.

Aprovado(a) por:

Prof. Dr. JORGE CESAR MASINI
(Orientador e Presidente)

Prof. Dr. FÁBIO RODRIGO PIOVEZANI ROCHA
IQ – USP

Prof. Dr. RENATO SANCHES FREIRE
IQ – USP

Prof. Dr. JORGE MOREIRA VAZ
IPEN – SP

Profa. Dra. LIGIA BICUDO DE ALMEIDA MURADIAN
FCF – USP

SÃO PAULO
06 DE OUTUBRO 2006

"Os jovens são mais aptos para inventar do que para julgar, mais aptos para a execução do que para o assessoramento, e mais aptos para novos projetos do que para atividades já estabelecidas; porque a experiência da idade em coisas que estejam ao alcance dessa idade os dirige; mas em coisas novas, os maltrata. (...) Os jovens, na conduta e na administração dos atos, abraçam mais do que podem segurar, agitam mais do que podem acalmar; voam para o fim sem consideração para com os meios e os graus; perseguem absurdamente alguns princípios com que toparam por acaso; não se importam em "(isto é, em como)" inovar, o que provoca transtornos desconhecidos. (...) Os homens maduros fazem objeções demais, demoram-se demais em consultas, arriscam-se muito pouco, arrependem-se cedo demais e raramente levam o empreendimento até o fim, mas se contentam com uma mediocridade de sucesso. Não há dúvida de que é bom forçar o emprego de ambos (...), porque as virtudes de qualquer um deles poderão corrigir os defeitos dos dois."

Francis Bacon

Dedico esta Tese:

*Aos meus pais, sentido maior da minha
existência. Obrigada!*

*Euclides Gonçalves Rios e
Elza Dias Rios*

*E aos meus irmãos Sandra, Ronaldo e Fernanda
Meus eternos incentivadores*

Agradecimentos

A Deus por me tornar uma pessoa forte e perseverante;

Ao Professor Jorge, meu orientador, que durante estes anos foi um grande incentivador do meu trabalho;

A Fernanda pela revisão e apoio;

Ao Arrari por sua importante presença nos momentos finais do doutoramento;

Aos amigos que tornaram ainda melhores os dias de trabalho: Carlos, Gilberto, Luciana, Zé Carlos, Alexandre e Sandro.

A Leila, bibliotecária do Conjunto das Químicas pela revisão das referências bibliográficas;

Aos colegas do setor de pós-graduação do IQ pela atenção e simpatia;

Ao CNPq pelo apoio financeiro;

E a todos que, direta ou indiretamente contribuíram para que fosse possível a realização do presente trabalho.

RESUMO

Processos de fotodegradação de compostos orgânicos tóxicos têm sido bastante estudados. Este trabalho trata da aplicação do processo foto-Fenton para a degradação de atrazina em água (composto modelo). O efeito das concentrações dos seguintes compostos foi avaliado: peróxido de hidrogênio (2 a 6 mmol L⁻¹) e ferrioxalato de potássio (0,2 a 1 mmol L⁻¹). Os experimentos foram realizados em um reator com lâmpada UV - 8W (254nm). O processo de fotodegradação foi monitorado por medidas de espectrofotometria de absorção molecular automatizada por injeção seqüencial (SIA) para determinação de peróxido de hidrogênio e por cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE) para determinação de atrazina e metabólitos. Os experimentos demonstram que o processo de foto-Fenton é viável para o tratamento de atrazina em água.

Abstract

Photo-degradation processes of toxic organic compounds have been widely studied. This work describes the application of the photo-Fenton process for degradation of atrazine in water. Atrazine was used as a model compound. The effects of the concentration of the following substances were evaluated: hydrogen peroxide (1 to 6 mmol L⁻¹) and potassium ferrioxalate (0.2 to 1 mmol L⁻¹). The experiments were accomplished in a reactor with an 8W UV lamp at 254 nm. The photo-degradation was monitored by molecular absorption spectrophotometry automated by sequential injection analysis (SIA) for determination of hydrogen peroxide and by high performance liquid chromatography (HPLC) for determination of atrazine and its metabolites. Experimental results demonstrated that the photo-Fenton process is feasible for the treatment of atrazine.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE ABREVIATURAS.....	i
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	ii
1 - INTRODUÇÃO.....	01
1.1 - Aspectos Gerais.....	01
1.2 - Poluentes.....	02
1.2.1 - Pesticidas.....	02
1.3- Processos oxidativos avançados.....	04
1.3.1- A reação foto-Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$).....	04
2 - REVISÃO DA LITERATURA.....	06
2.1 - Agrotóxicos: Histórico, justificativa do uso, consumo.....	06
2.2 - Herbicidas: Caracterização, atrazina, toxicidade, impacto no meio ambiente.....	09
2.3 - Processos oxidativos avançados.....	16
2.4 - Metodologias analíticas.....	20
2.4.1 - Determinação de peróxido de hidrogênio.....	20
2.4.2 - Análise por injeção seqüencial (SIA) para o monitoramento de peróxido de hidrogênio.....	22
2.4.3 - Técnicas analíticas para determinação de pesticidas.....	27
2.4.4 - Análise quantitativa.....	31
2.4.5 - Validação de métodos analíticos.....	33
2.4.5.1- Linearidade.....	34
2.4.5.2- Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).....	35
2.4.5.3- Exatidão.....	38
2.4.5.4- Precisão.....	40
2.4.5.5- Sensibilidade.....	41
2.4.5.6- Seletividade.....	41
2.4.5.7- Robustez.....	42

3 - OBJETIVOS.....	44
4 - PARTE EXPERIMENTAL.....	45
4.1 - Equipamentos e acessórios de uso geral.....	45
4.2 - Desenvolvimento de metodologia de Análise por Injeção Seqüencial para Determinação Espectrofotométrica de H ₂ O ₂	46
4.2.1- Reagentes.....	46
4.2.2- Aparelhagem.....	46
4.2.3- Procedimento.....	47
4.3- Determinação cromatográfica de atrazina, desetilatrazina, desisopropilatrazina e hidroxiatrazina.....	50
4.3.1- Aparelhagem.....	50
4.3.2- Reagentes.....	50
4.3.3- Preparo das Soluções Padrão.....	51
4.3.4- Condições cromatográficas.....	52
4.4 - Fotodegradação da Atrazina.....	52
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
5.1 - Monitoramento do H ₂ O ₂	55
5.1.1 - Velocidade de Reação – O efeito de uma Parada de Fluxo.....	55
5.1.2 - Volume de Amostra e Reagente.....	58
5.1.3 - Curvas Analíticas.....	64
5.1.4 - Limites de Detecção e de Quantificação.....	67
5.1.5 - Efeito de Memória.....	69
5.1.6- Variações da faixa de resposta linear.....	71
5.1.7 - Precisão.....	72
5.1.8 - Interferências.....	73
5.2 - Desenvolvimento do método CLAE para determinação de AT, DEA, DIA e HAT.....	75
5.2.1- Alguns Parâmetros de Validação do Método Cromatográfico.....	76
5.3 Estudo da aplicação do processo foto-fenton na degradação de atrazina.....	82
5.3.1 - Influência da concentração do reagente de fenton na remoção de H ₂ O ₂	82

5.3.2 - Efeito da reação foto- Fenton na degradação de atrazina.....	87
6 - CONCLUSÕES.....	98
7 - PERSPECTIVAS FUTURAS.....	99
8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	10
9 - CURRICULUM VITAE.....	11

LISTA DE ABREVIATURAS

ACN	Acetonitrila
ANDEF	Agência Nacional de Defesa Vegetal
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
AT	Atrazina
BCR	Community Bureau of Reference
C-18	Fase adsorvente de octadecil-sílica
C-8	Fase adsorvente de octil-sílica
CG-MS	Cromatografia a Gás Acoplada a Espectrômetro De Massa
CLAE	Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CV	Coefficiente de Variação
DDAT	Didealquil-atrazina
DDT	Dicloro-difenil-tricloroetano
DEA	Desetil-atrazina
DIA	Desisopropil-atrazina
D _L	Dose letal
<i>E</i>	Potencial
E.D.P.	Estimativa do Desvio Padrão
E.D.R.	Desvio Padrão Relativo
EC	Comunidade Européia
EPA	Agência de Proteção Ambiental Americana
FE	Fase Estacionária
FeOx	Ferrioxalato de Potássio
FIA	Análise por Injeção Em Fluxo
FM	Fase Móvel
GARP	Associação Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas
CG	Cromatografia a Gás

HAT	Hidróxi-atrazina
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IHC	International Conference on Harmonization
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MAC	Maximum Admissible Concentration
MET	Metanol
<i>NIDA</i>	National Institute of Drug Abuse
NIST	National Institute of Standards and Technology
POAs	Processos Oxidativos Avançados
RSD	Estimativa do Desvio Padrão Relativo
<i>RV</i>	Válvula Seletora
SAI	Sistema de Injeção Seqüencial
SINDAG	Sindicato Nacional da Indústria de Defensivos Agrícolas
<i>Sy</i>	Desvio Padrão da Regressão
U.A.	Unidade de Absorbância
UP	Ultra Puro
UV	Ultravioleta
VA	Volume de Amostra
VR	Volumes de Reagente
λ	Comprimento de Onda

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

	Página
Figura 1 - Estruturas dos herbicidas (a) s-triazina e (b) atrazina.....	14
Figura 2 - Estruturas moleculares de alguns metabólitos de atrazina.....	16
Figura 3 - Sistema básico de injeção seqüencial.....	25
Figura 4 - Sistema Análise por Injeção Seqüencial para determinação de peróxido de hidrogênio.....	49
Figura 5 - Fluxograma do tratamento de amostra de água contendo atrazina por fotodegradação e quantificação dos compostos por SIA e CLAE.....	54
Figura 6 - Efeito de uma etapa de parada de fluxo de 10 s utilizando o sistema SIA.....	57
Figura 7 - Registros obtidos em função de diferentes volumes de amostra aspirado entre duas zonas de 100 µL de reagente.....	60
Figura 8 - Registros obtidos em função de diferentes volumes de amostra, VA (A) aspirado após uma zona de 50 µL de reagente.....	62
Figura 9 - Registros obtidos para uma solução de $H_2O_2 = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em função de diferentes volumes de Reagente.....	63
Figura 10 - Magnitude dos sinais de branco em função do volume de reagente aspirado, mantendo-se fixo em 250 µL o volume de amostra.....	64
Figura 11 - Registro de sinais de absorvância subtraídos do registro do branco obtidos para concentrações de H_2O_2 entre 0,10 e $4,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	65
Figura 12 - Curva analítica obtida a partir das alturas máximas de pico médias obtidas na Figura 7 em função da concentração de H_2O_2	66

Figura 13 -	Triplicata de sinais obtidos para soluções de baixa concentração visando investigar os limites de detecção e de quantificação do método.....	69
Figura 14 -	Avaliação do efeito de memória	71
Figura 15 -	Determinação por CLAE de pesticidas em águas.....	75
Figura 16 -	Influência do tempo de reação no sinal analítico de H ₂ O ₂	84
Figura 17 -	Decaimento da concentração de H ₂ O ₂ com tempo de 80 minutos de fotodegradação.....	87
Figura 18 -	Determinação por CLAE de pesticidas em águas Condições: [AT] ₈₀ 100 µg L ⁻¹ ; [H ₂ O ₂] ₀ = 2x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ [FeOx] ₀ = 0,2x 10 ⁻³ mol L ⁻¹	92
Figura 19 -	Determinação por CLAE de pesticidas em águas. Condições: [AT] ₈₀ 100 µg L ⁻¹ ; [H ₂ O ₂] ₀ = 5 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ [FeOx] ₀ = 0,5 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹	93
Figura 20 -	Rotas de degradação da atrazina por reação de foto-Fenton proposta por Arnold <i>et al.</i> (1995).....	96

TABELAS

	Pág
Tabela 1 - Classificação toxicológica dos agrotóxicos em função do DL ₅₀	10
Tabela 2 - Grau de toxicidade de alguns herbicidas	10
Tabela 3 - Níveis permitidos para alguns pesticidas selecionados, presentes em águas potáveis, segundo a EPA.....	12
Tabela 4 - Níveis permitidos para alguns pesticidas selecionados, presentes em águas potáveis, segundo o Brasil.....	12
Tabela 5 - Alguns trabalhos empregando CLAE em fase reversa para determinação de atrazina e metabólitos em água.....	30
Tabela 6 - Características dos padrões dos herbicidas e metabólitos estudados.....	51
Tabela 7 - Parâmetros estatísticos das curvas analíticas obtidas em diferentes dias de trabalho	67
Tabela 8 - Estimativa da precisão (repetitividade) de peróxido de hidrogênio relativos as alturas de picos obtidas para cada nível de concentração.....	72
Tabela 9 - Efeito de diversas substâncias no sinal analítico de uma solução de H ₂ O ₂ 1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹	73
Tabela 10 - Curva analítica e intervalo de linearidade para as soluções padrão dos herbicidas.....	77
Tabela 11 - Valores de limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para as soluções padrão dos herbicidas.....	78
Tabela 12 - Parâmetros de precisão obtidos para os herbicidas DIA, HAT, DEA e AT relativos as áreas obtidas para cada nível de concentração.....	79
Tabela 13 - Parâmetros de precisão relativos aos tempos de retenção (T _R) para DIA, HAT, DEA e AT obtidas para cada nível de concentração.....	80

Tabela 14 -	Resumo dos parâmetros de validação do método para determinação de desisopropil-atrazina(DIA) em água.....	81
Tabela 15 -	Resumo dos parâmetros de validação do método para determinação de hidróxi-atrazina em água (HAT).....	81
Tabela 16	Resumo dos parâmetros de validação do método para determinação de desetil-atrazina (DEA) em água.....	81
Tabela 17	Resumo dos parâmetros de validação do método para determinação de atrazina (AT) em água.....	82
Tabela 18 -	Consumo de peróxido de hidrogênio no processo de fotodegradação de atrazina. Condições: $[H_2O_2]_0 = 5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[FeOx]_0 = 0,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$...	85
Tabela 19 -	Consumo de peróxido de hidrogênio durante fotodegradação de atrazina . Condições: $[H_2O_2]_0 = 6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[FeOx]_0 = 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	86
Tabela 20 -	Influência do tempo de irradiação na degradação de atrazina sob irradiação artificial = 60 minutos. Condições: $[H_2O_2]_0 = 6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[FeOx]_0 = 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	88
Tabela 21 -	Influência do tempo de irradiação na degradação de atrazina sob irradiação artificial = 80 minutos. Condições: $[H_2O_2]_0 = 2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[FeOx]_0 = 0,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	89
Tabela 22-	Influência do tempo de irradiação na degradação de atrazina sob irradiação artificial = 80 minutos. Condições: $[H_2O_2]_0 = 5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[FeOx]_0 = 0,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	90

1 - INTRODUÇÃO

1.1 – Aspectos Gerais

O crescente avanço dos processos tecnológicos em benefício da agricultura, resultante do aumento substancial na necessidade de produção de alimentos, tem sido apontado como fator determinante na larga aplicação de insumos e praguicidas nos processos agrícolas.

Devido a grande preocupação em relação à contaminação das águas por compostos orgânicos potencialmente tóxicos, estudos relacionados com a degradação de pesticidas, dentre eles os compostos triazínicos, têm sido realizados.

As triazinas são degradadas por processos químicos e biológicos. Em águas e solos, a degradação das triazinas ocorre devido à hidrólise, radiação UV, oxidação e microorganismos. Os principais produtos de degradação formados na água são os metabólitos desalquilados (Durand e Barceló, 1991; Sabik *et al.*, 1995). De acordo com Sabik *et al.* (1995), os produtos de degradação apresentados, possuem significativa toxicidade, devendo ser avaliados os impactos ambientais a eles associados. Desetil-atrazina e desisopropil-atrazina são compostos fitotóxicos, sendo que o primeiro pode ser considerado quase tão tóxico como a atrazina (Graymore *et al.*, 2001). Um grande número de trabalhos envolvendo a atrazina tem sido publicados, todavia, na maioria dos casos não são incluídos os principais metabólitos (Berg *et al.*, 1995; Graymore *et al.*, 2001).

1.2– Poluentes

1.2.1 – Pesticidas

Os pesticidas são denominados de agrotóxicos, defensivos agrícolas, produtos fitossanitários ou praguicidas. O objetivo do seu uso é aumentar a produção de alimentos, evitando a proliferação das pragas. São largamente empregados na agricultura e para muitos outros propósitos, tendo mais de 10.000 formulações comerciais.

O uso desses compostos em larga escala iniciou-se por volta de 1940, difundindo-se rapidamente por todo mundo. Atualmente, os pesticidas estão entre os poluentes mais encontrados em tecidos humanos e animais, solos, alimentos, águas subterrâneas, rios e lagos, principalmente nos países mais avançados tecnologicamente. Apresentam dispersão muito fácil, em especial através da atmosfera e oceanos (Alloway e Ayres, 1997).

Os principais grupos que compõem a classe dos pesticidas são: ❶ inseticidas - organoclorados, organofosforados e carbamatos; ❷ herbicidas - ácidos fenoxiacéticos, toluidinas, triazinas, feniluréias, bipiridilas, glicinas, entre outros; ❸ fungicidas - compostos inorgânicos e de metais pesados, ditiocarbamatos (grupo dos não sistêmicos) e antibióticos, benzimidazóis e pirimidinas (grupo dos sistêmicos), (Dórea, 1999; Alloway e Ayres, 1997) podendo-se citar ainda os acaricidas.

Embora o uso de pesticidas seja importante no combate de pragas, bem como no controle de vetores de diversas doenças, eles também carregam o risco inerente de toxicidade e estabilidade ao meio ambiente por meses ou até anos, que aliado ao acúmulo pelo uso indiscriminado, pode ter conseqüências muito prejudiciais (Tomita e Beyruty, 2002).

Uma vez lançados, os pesticidas podem alcançar o ambiente aquático através de diversos processos (migração, escoamento superficial, etc.) e interagir com o meio e com os organismos, de acordo com o movimento da água, turbulência, temperatura e características dos compostos e dos organismos (Tomita e Beyruty, 2002). Visando preservar principalmente as reservas de água potável, grandes esforços vêm sendo tomados pela União Européia e pela Agência de Proteção Ambiental Americana (EPA), no sentido da criação de programas de monitoramento e do estabelecimento de limites mais rigorosos de concentrações máximas permitidas (Dean *et al.*, 1996). Outra medida de fundamental importância é a correta aplicação desses produtos na agricultura, colaborando para minimizar a contaminação dos solos, águas, alimentos, animais e do próprio homem.

O consumo de pesticidas no Brasil é extremamente elevado; em 2004 o país consumiu U\$ 4,2 bilhões em agrotóxicos. Desta forma, considerando-se o consumo em dez países que representam 70% do mercado mundial de agrotóxicos, o Brasil aparece em 4º lugar do "ranking" (ABIQUIM, 2006). Contudo, poucos pesticidas apresentam limites de tolerância estabelecidos pela legislação nacional, podendo-se citar o herbicida atrazina cujo nível permitido é de $2 \mu\text{g L}^{-1}$ (CONAMA, 2004).

1.3 – Processos oxidativos avançados

Entre os novos processos atualmente em desenvolvimento para o tratamento de águas e efluentes, os processos oxidativos avançados (POAs) são considerados as alternativas mais promissoras aos processos convencionais devido à alta eficiência e versatilidade, uma vez que uma grande variedade de classes de compostos pode ser totalmente mineralizada.

Os POAs englobam uma série de tecnologias que tem em comum o uso do radical hidroxila ($\text{HO}\cdot$), os quais reagem rápida e indiscriminadamente com muitos compostos orgânicos, ou por adição à dupla ligação ou por abstração do átomo de hidrogênio em moléculas orgânicas alifáticas (Safarzadeh-Amiri *et al.*, 1997, Ziolli e Jardim, 1998).

Vários processos de produção do radical hidroxila têm sido estudados, geralmente utilizando ozônio, peróxido de hidrogênio, semicondutores e reagente de Fenton (Freire *et al.*, 2000).

1.3.1 – A reação foto-Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$)

O radical hidroxila também pode ser gerado através da reação de Fenton, processo este que tem permitido a degradação eficiente de poluentes (Sedlak e Andren, 1991; Arnold *et al.*, 1995).

Recentemente, melhoras importantes na eficiência do processo têm sido reportadas, recorrendo-se à utilização de sistemas assistidos por radiação ultravioleta. A reação foto-Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$) tem atraído grande interesse

no tratamento de efluentes devido ao alto poder oxidante do radical hidroxila (Chen *et al.*, 1997; Bauer e Fallmann, 1997).

Sua atuação baseia-se na decomposição de peróxido de hidrogênio em meio ácido na presença de íons Fe(II), sob irradiação UV-Visível.

A fotólise de complexos de Fe(III), como o ferrioxalato de potássio, gera íons Fe(II) em soluções ácidas, que em combinação com H₂O₂ dão origem ao reagente de Fenton (Oliveira *et al.* 2001). Sua absorção até comprimentos de onda de 500 nm o faz especialmente interessante, especialmente quando a energia solar é utilizada no tratamento de águas e efluentes, principalmente em países tropicais como o Brasil, onde esta fonte de energia é abundante.

Certamente, uma das principais vantagens do sistema Fenton foto-assistido está representada pela necessidade de fontes de irradiação menos energéticas. Enquanto a geração de radical hidroxila a partir de H₂O₂ requer energia correspondente a comprimentos de onda da ordem de 254 nm, o sistema foto-Fenton pode se processar com radiação visível (410 nm) (Huston e Pignatello, 1999).

2 - REVISÃO DA LITERATURA

2.1 - Agrotóxicos: Histórico, justificativa do uso, consumo

Agrotóxicos, defensivos agrícolas, praguicidas e pesticidas têm despertado cada vez mais a atenção da população brasileira. Se de um lado permitem que a produção de alimentos cresça (por necessidade da expansão demográfica e evitando a proliferação de pragas), por outro causam problemas ao ambiente (solos, rios, lençóis freáticos), rompendo o ecossistema natural ou, principalmente, atingindo diretamente (aplicadores e operários das indústrias produtoras de pesticidas) ou indiretamente (consumidores de alimentos) a saúde do ser humano.

A grande maioria dos compostos químicos usados como pesticidas foi desenvolvida na década de 1930. Porém, o pesticida DDT (*diclorodifenil tricloroetano*) foi inicialmente sintetizado por Othmar Zeidler em 1872, mas a aplicabilidade deste composto como inseticida foi verificada pelo químico suíço Paul H. Müller apenas em 1939. O DDT foi muito usado em programas de saúde pública no combate a malária, tifo, febre amarela e outras doenças infecciosas. O desenvolvimento desse produto conferiu o prêmio Nobel em medicina a Paul H. Müller em 1948 (Enciclopédia Britannica, 2006). Nos primeiros anos de uso, o DDT foi elogiado pela grande contribuição à saúde da humanidade, entretanto, pouco tempo mais tarde, algumas análises químicas apontaram traços de DDT em gordura animal e, posteriormente, em gordura humana. Em razão da sua baixa solubilidade em água e alta solubilidade em lipídios, houve o favorecimento da retenção do DDT em tecidos gordurosos (D'Amato *et al.*, 2002).

A degradabilidade e o modo de dispersão deste pesticida tornaram-se grandes problemas para o ambiente e a saúde, levando-o a ser proibido comercialmente nos Estados Unidos em 1972 e, nove anos depois, no Brasil (ETO, 1974).

As primeiras substâncias introduzidas na agricultura para combater pragas e doenças foram inorgânicas, tais como enxofre, compostos a base de cobre, cianeto e arsênio. No Brasil estes produtos foram usados principalmente após a crise de 1929 em lavouras como algodão, milho e cana-de-açúcar. As culturas de café e algodão foram as responsáveis pela introdução dos inseticidas sintéticos. Foi na década de 1970, porém, que houve a grande expansão na produção e uso de pesticidas no Brasil, em razão dos incentivos para a produção agrícola e a política de exportação (Pinheiro *et al.*, 1998).

A vasta utilização de pesticida implica em alguns riscos como: prejuízos ao meio ambiente, como comprometimento dos solos, das águas superficiais e subterrâneas e efeitos tóxicos a diversos sistemas biológicos e aos seres humanos, decorrentes da contaminação de alimentos. Entretanto, sem o uso de pesticidas muitas lavouras seriam improdutivas e inviáveis economicamente. Nas lavouras, plantas daninhas e plantas cultivadas competem por nutrientes do solo, água e luz solar, diminuindo assim a produtividade das lavouras e podendo obstruir as colheitadeiras, causando enormes prejuízos. Nas áreas urbanas, essas ervas daninhas degradam o patrimônio público e servem de abrigo para roedores e insetos transmissores de doenças. Nas estradas, a praga invade os acostamentos e atrapalha a sinalização e a drenagem, podendo causar enchentes (Karan *et al.*, 2006).

Pelo volume de pesticidas utilizados na agricultura brasileira, a preocupação com o nível de resíduos torna-se justificável.

O país é responsável pelo consumo de cerca de 50% da quantidade de agrotóxicos utilizados na América Latina, o que envolveu um comércio estimado em cerca de US\$ 2,56 bilhões em 1998 (SINDAG, 1999). O consumo de agrotóxicos na região Sudeste está estimado, de acordo com a revisão de Moreira *et al.* (2001), em 12 kg de agrotóxico/trabalhador/ano. Em outro trabalho, Meyer *et al.* (1999) mostra que este valor é bastante acentuado, sendo estimado em 52 kg de agrotóxico/trabalhador/ano para a região sudeste, a qual contribui com cerca de 40% de todo o consumo de pesticidas no Brasil (SINDAG, 2002).

Um dos principais grupos que compõe a classe dos pesticidas são os herbicidas. No Brasil as principais culturas de consumo de herbicidas são: soja, milho, cana-de-açúcar, café, arroz, citros, feijão, algodão e trigo (Martins, 1995; Queiroz e Lanças, 1997; Sindag, 1998). No Brasil o consumo médio é de 2,5 kg/hectare, nos Estados Unidos é utilizado 10 kg/hectare e, no Japão, 5 kg/hectare (Sindag, 1998). No território norte-americano, o emprego de herbicidas representa por volta de 60% do total de pesticidas (Hatrik e Tekel, 1996) ao passo que no Brasil, esse número fica ao redor de 50% (Sindag, 1998).

No início da década de 1940, as substâncias químicas empregadas como herbicidas, eram em geral não seletivas, e incluíam o clorato de sódio, arsenito de sódio, boratos, produtos de despejo industrial, pulverizações a óleo e o sulfamato de amônio (Shreve e Brink, 1980). Um herbicida de grande

importância, que desencadeou o crescimento desse mercado, foi o ácido 2,4-diclorofenoxiacético. Este herbicida diminuiu a necessidade da capina manual, e após 24 horas de aplicação, as folhas das ervas daninhas murchavam e secavam; os brotos que se desenvolviam em 48 horas morriam; contudo, permaneciam intactos os pés de maçãs; ou seja, era um herbicida seletivo (Shreve e Brink, 1980).

O grupo de herbicidas das triazinas ou s- triazinas (triazinas simétricas), foi introduzido em 1954, através da clorazina, seguida da simazina em 1955 (Dean *et al.*, 1996). Atualmente, duas formulações mais comumente utilizadas em nível mundial são a atrazina e a simazina, podendo-se citar como exemplo, o consumo de 31 a 33 mil toneladas de atrazina nos Estados Unidos em 1995 (Environmental Research Foundation, 1997).

2.2 - Triazinas: Caracterização, toxicidade, impacto no meio ambiente

A maioria dos herbicidas é tóxica, sendo que alguns oferecem menores riscos aos seres humanos e animais. Pode-se citar entre eles o glifosato (Alloway e Ayres, 1997). A ingestão de alguns herbicidas pode causar febre, náuseas, convulsões, coma, danos renais, entre outros males.

A toxicidade da maioria dos agrotóxicos é expressa em termos do valor da Dose Letal (DL_{50}), por via oral, representada por miligramas do produto tóxico por quilo de peso vivo, necessários para matar 50% da população de ratos, ou de outros animais testes.

Assim, para fins de prescrição das medidas de segurança contra riscos para a saúde humana, os produtos são enquadrados em função do DL₅₀, inerente a cada um deles, conforme mostram as *Tabelas 1 e 2*.

Tabela 1 – Classificação toxicológica dos agrotóxicos em função do DL₅₀. (Associação Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas (GARP); Manual de Resíduos de Pesticidas em Alimentos, 1999).

Classe Toxicológica	Descrição
I	Extremamente tóxicos (DL ₅₀ < 50 mg/kg de peso vivo)
II	Muito tóxicos (DL ₅₀ – 50 a 500 mg/kg de peso vivo)
III	Moderadamente tóxicos (DL ₅₀ – 500 a 5000 mg/kg de peso vivo)
IV	Pouco tóxicos (DL ₅₀ >5000 mg/kg de peso vivo)

Tabela 2 - Grau de toxicidade de alguns herbicidas (Budavari et al., 1989).

Herbicida / grupo	DL₅₀ - (mg kg⁻¹)
Ametrina / triazinas	590 ^a
Atrazina / triazinas	1750 ^b
Simazina / triazinas	5000 ^a
Simetrina / triazinas	1830 ^a
2,4-D / fenoxiácidos	368 ^b
MCPA / fenoxiácidos	700 ^a
Bromoxinil / benzonitrilas	111 ^b
Isoproturon / feniluréias	3350 ^b
Metolaclor / amidas	2780 ^a
Glifosato / organofosforados	4873 ^a

^a administração via oral em ratos; ^b administração via oral em camundongos.

A ocorrência do transporte de pesticidas para águas superficiais e subterrâneas é muito grande, órgãos internacionais como a “*Environmental Protection Agency*”, EPA, dos Estados Unidos e a comunidade Européia (EC) iniciaram um controle, estabelecendo limites em relação às concentrações de pesticidas encontradas em águas. Além disso, estes órgãos também organizam listas de periculosidade de tais compostos.

Os níveis permitidos pela EC são determinados pela Drinking Water Directive (EEC, 1980), que estabeleceu que a concentração máxima tolerável (Maximum Admissible Concentration, MAC) de um pesticida individual não deve exceder $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ e que a concentração total de pesticidas não deve exceder $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ em água potável (EEC, 1980). Na *Tabela 3* estão os níveis permitidos para alguns pesticidas presentes em água potável, segundo EPA (EPA, 2001).

O Brasil apresenta uma legislação que também regulamenta os níveis máximos de pesticidas em água potável, baseados em sua periculosidade, similares a EPA. A *Tabela 4* apresenta os dados da Portaria n° 518, de 25 de março de 2004, que estabelece os padrões de potabilidade para substâncias químicas que representam riscos à saúde (CONAMA, 2004).

Tabela 3 – Níveis permitidos para alguns pesticidas selecionados, presentes em águas potáveis, segundo a EPA (EPA, 2001).

<i>Pesticida</i>	<i>Nível /$\mu\text{g L}^{-1}$</i>	<i>Pesticida</i>	<i>Nível/ $\mu\text{g L}^{-1}$</i>
Alaclor	2	Diquate	20
Aldicarbe	10	Endotal	100
Aldicarbe sulfóxido	10	Endrin	2
Aldicarbe sulfone	10	Glifosato	700
Atrazina	3	Metomil	200
Bromacil	80	Metilparationa	2
Carbofurano	40	Metalaclor	10
Clorotalonil	2	Oxamil	200
Cianazina	9	Picloram	500
2,4-D	70	Simazina	4
Dalapon	200	Trifluralina	2
Dinosed	7	-----	-----

Tabela 4 – Níveis permitidos para alguns pesticidas selecionados, presentes em águas potáveis, segundo o Brasil (Conama, 2004).

<i>Pesticida</i>	<i>Nível/ $\mu\text{g L}^{-1}$</i>	<i>Pesticida</i>	<i>Nível/ $\mu\text{g L}^{-1}$</i>
Alaclor	20	Hexaclorobenzeno	1
Aldrin e Dieldrin	0,03	Lindano	2
Atrazina	2	Metacloro	10
Bentazona	300	Metoxicloro	20
Clordano	0,2	Molinato	6
2,4-D	30	Pendimetalina	20
DDT	2	Pentaclorofenol	9
Endossulfan	20	Permetrina	20
Endrin	0,6	Propanil	20
Glicosato	500	Simazina	2
Heptacloro	0,03	Trifluralina	20

Entre os herbicidas mais utilizados as triazinas estão entre os poluentes mais comuns que são monitorados pelas autoridades responsáveis por águas, principalmente devido ao enorme uso na agricultura. Além das águas, o monitoramento deve ser efetuado em solos e plantas (Dean *et al.*, 1996).

Os herbicidas s-triazinicos são pouco solúveis em água e muito solúveis em solventes orgânicos, com exceção da simazina. Os herbicidas do grupo das triazinas são sólidos, apresentam baixa pressão de vapor na temperatura ambiente e solubilidade em água entre 5 e 750 ppm. Essa última característica é dependente do substituinte localizado na posição R3, conforme estrutura (a) da *Figura 1*. A prometona R3 = -OCH₃; prometrina R3 = -SCH₃ e a propazina R3 = -Cl; apresentam solubilidades em água de 750; 48 e 8,6 mg L⁻¹, respectivamente. Outro ponto a ser destacado, é a terminação dos nomes das triazinas, que é indicativo do substituinte localizado na posição R3. Por exemplo -azina; -etrina e -tona; indicam átomo de Cl; grupo metil e grupo metóxi, respectivamente (Dean *et al.*, 1996).

A atrazina (6 - cloro- N - etil - N - isopropil - [1,3,5] triazina- 2,4 diamina) (*Figura 1b*) apresenta boa seletividade sendo largamente empregada na agricultura, nas mais variadas culturas; em margens de rodovias e linhas férreas, e em campos de golfe (Loos e Niessner, 1999). No Brasil as culturas que fazem uso da atrazina são: cana-de-açúcar, milho, sorgo, soja, abacaxi, frutas cítricas, sisal e seringueira (Queiroz e Lanças, 1997; Javaroni *et al.*, 1999).

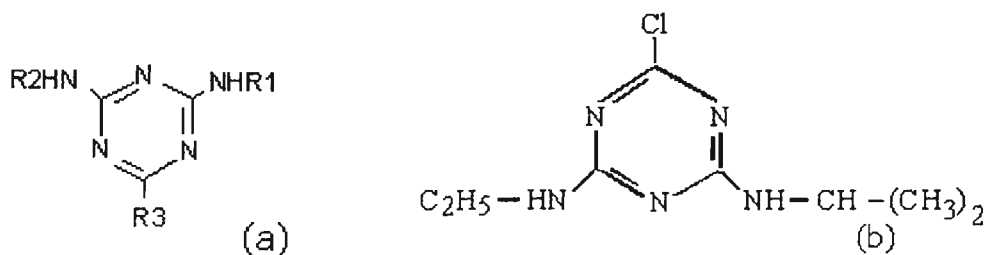


Figura 1 - Estruturas herbicidas (a) s-triazina e (b) atrazina

A atrazina é um composto polar, massa molecular – 215,68 g mol⁻¹, solubilidade em água a 25 °C – 70 mg L⁻¹, sendo bastante solúvel em éter – 12.000 mg L⁻¹, metanol – 18.000 mg L⁻¹ e clorofórmio – 52.000 mg L⁻¹ (Budavari *et al.*, 1989).

Devido ao grande uso, alta persistência e solubilidade relativamente alta em água, esse composto é frequentemente encontrado em rios, lagos, águas superficiais e subterrâneas. Em função desse grave problema ambiental, a Alemanha proibiu o uso da atrazina desde 1991, sendo, contudo, detectados seus resíduos muito tempo depois (Loos e Niessner, 1999). É encontrada na maior parte da água de consumo na região do meio oeste dos Estados Unidos, sendo mensurável no milho, leite, carne de vaca e outros alimentos (Environmental Research Foundation, 1997). Uma forma de minimizar esse impacto ambiental é gerenciar a aplicação do produto bem como a irrigação, o que causa diminuição significativa no processo de lixiviação (Asare *et al.*, 2001).

A atrazina no meio ambiente pode ser degradada química e biologicamente. Seus principais produtos de degradação química são a hidróxi-atrazina, desetildeisopropilatrazina e amelina (Saltmiras e Lembey, 2002).

O trabalho de Kolpin *et al.* (2000) consistiu em analisar 328 amostras de águas subterrâneas, amostradas de 131 poços municipais, sendo constatada a presença de atrazina (AT), desetil-atrazina (DEA), desisopropil-atrazina (DIA) e hidróxi-atrazina (HAT) em 37,4; 32,1; 21,4 e 11,4% das amostras, respectivamente. Isso indica que mesmo a atrazina sendo um composto relativamente persistente, seus produtos de degradação podem ser encontrados em águas subterrâneas, sugerindo que além dos herbicidas, deveriam ser avaliados os efeitos prejudiciais dos metabólitos. Embora a hidrólise da AT seja a reação que ocorre mais rápido com a formação da HAT, os compostos desalquilados como DEA e DIA, são talvez mais importantes para a qualidade de águas subterrâneas, devido suas maiores solubilidades em água (Steinheimer, 1993). Conforme esse autor as solubilidades ($\mu\text{g L}^{-1}$) da AT, DEA, DIA e HAT são, respectivamente: 33, 340, 650 e 7, em água a temperatura ambiente. A DEA é o metabólito detectado com maior frequência em amostras de água, devido à facilidade de degradação microbiana da atrazina, e alta solubilidade da DEA. Vários autores sugerem utilizar a razão DEA/AT como parâmetro indicativo de contaminação e de tempo de aplicação da AT bem como, para traçar o deslocamento da AT (Townsend e Young, 2000). A *Figura 2* mostra as estruturas de alguns dos metabólitos da atrazina.

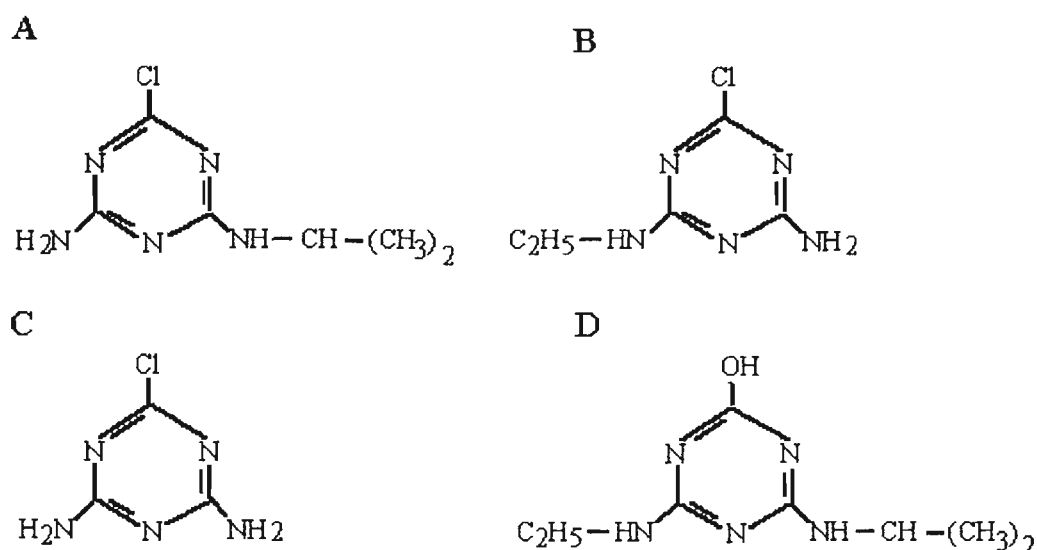


Figura 2 - Estruturas moleculares de alguns metabólitos da atrazina. A – desetil-atrazina (DEA); B – desisopropil-atrazina (DIA); C - didealkuil-atrazina (DDAT) D – hidróxi-atrazina (HAT).

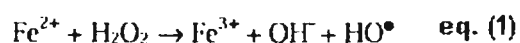
2.3 - Processos Oxidativos Avançados

Como vimos anteriormente, as regulamentações relacionadas com a qualidade das águas vêm se tornando cada vez mais restritivas, principalmente em função da constatação definitiva da vulnerabilidade deste recurso essencial (Chamarro *et al.*, 2001). Em função de ineficiência, elevado custo e complexidade operacional dos tratamentos existentes no momento, as tecnologias alternativas têm recebido bastante atenção nos últimos anos. Entre elas, o tratamento de poluentes orgânicos por Processos Oxidativos Avançados (POAs) tem se mostrado uma alternativa bastante promissora (Freire *et al.*, 2000).

Processos Oxidativos Avançados (POA) englobam uma série de tecnologias, que tem em comum o uso do radical hidroxila (HO•) na oxidação de contaminantes presentes em matrizes de interesse ambiental.

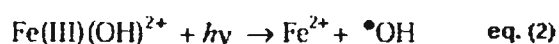
Dentre os vários processos para a obtenção destes radicais livres, destacam-se a utilização de ozônio, peróxido de hidrogênio, mistura destes (O₃/H₂O₂ ou O₃/H₂O₂/UV), fotocatalise e o reagente de Fenton (Freire, 2000; Nogueira, 1998; Ziolli e Jardim, 1998).

Dentre os POAs, a reação de Fenton, baseada na decomposição catalítica de peróxido de hidrogênio em meio ácido (Fe⁺²/H₂O₂) eq. (1), constitui um processo de grande potencialidade para o tratamento de efluentes. A reação de Fenton tem sido estudada na oxidação de fenóis, clorofenóis, nitrobenzeno entre outros compostos. (Tang e Chen, 1996; Bigda, 1995; Lipczynska-Kochany, 1995; Micaroni *et al.* 2004).



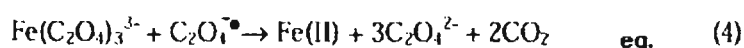
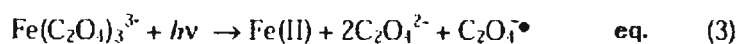
Tem sido observado que o poder oxidante da reação de Fenton é fortemente aumentado quando utilizado em combinação com irradiação ultravioleta UV ou UV/visível, chamada de foto-Fenton. Esta reação (Fe²⁺/H₂O₂/UV) tem atraído grande interesse no tratamento de efluentes devido ao alto poder oxidante dos radicais hidroxila, que são capazes de oxidar uma grande variedade de compostos orgânicos (Lu *et al.*, 1994; Pignatello, 1992; Zepp, 1992; Chen *et al.*, 1997; Bauer e Fallmann, 1997).

Este aumento da eficiência é atribuído principalmente: 1) à fotorredução de íons Fe(III) formando íons Fe(II) que reagem com H₂O₂; 2) ao aumento da decomposição de H₂O₂ pela absorção da luz UV e 3) fotólise de complexos orgânicos de Fe(III) gerados durante a decomposição. Além destes fatores, a fotólise de hidroxocomplexos de Fe(III) é uma fonte adicional de $\cdot\text{OH}$ conforme a equação (2):



Sua absorção até comprimentos de onda de 580nm o faz especialmente interessante quando a energia solar é utilizada no tratamento de águas e efluentes, principalmente em países tropicais como o Brasil, onde esta fonte de energia é abundante. No entanto, processos fotoquímicos que utilizem a irradiação solar como fonte de energia têm sido pouco explorados até hoje.

A fotossensibilidade de complexos carboxilatos de Fe(III) já é conhecida há muitos anos (Balzani e Carassiti, 1970). Policarboxilatos (oxalato, malonato e citrato) formam fortes complexos com Fe(III) que sofrem rápida reação fotoquímica sob irradiação solar gerando Fe(II) (Faust e Zepp, 1993; Feng, 2000). Entre estes carboxilatos de Fe(III), o trioxalato (ferrioxalato) tem sido amplamente utilizado como actinômetro químico para determinação de intensidade luminosa (eq. 3 e 4) (Hatchard e Parker, 1956).



Policarboxilatos de ferro absorvem radiação na região do UV-visível, de 250 a 580 nm, gerando íons Fe(II), que na presença de H₂O₂ resulta na formação do reagente de Fenton. Esta característica espectral dos policarboxilatos é interessante no caso de utilização da luz solar, pois a radiação visível compreende a maior parte do espectro solar.

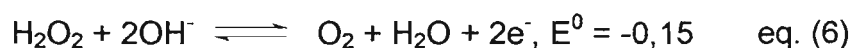
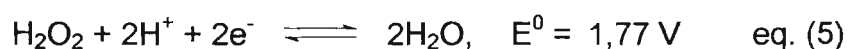
O processo foto-Fenton utilizando ferrioxalato como mediador e luz solar foi comparado à degradação de poluentes orgânicos quando da utilização de Fe(II)/H₂O₂/UV e TiO₂/H₂O₂/UV e foi observada eficiência 25-45 vezes maior (Safarzadeh-Amiri *et al*, 1996). Os principais parâmetros (pH, concentração de H₂O₂ e de ferrioxalato) que influenciam a eficiência da fotodegradação de compostos organoclorados por processo foto-Fenton mediado por ferrioxalato foram recentemente avaliados, observando-se que existe uma faixa estreita de pH 2,5 a 2,8 em que a eficiência da reação é máxima (Nogueira e Guimarães, 2000).

Esse processo apresenta, além da sua alta eficiência, algumas vantagens com relação a outros processos como o baixo custo e pronta disponibilidade comercial do oxidante, baixo investimento capital e, por apresentar características espectrais que permitem utilizar aproximadamente 18 % da energia solar incidente, pode reduzir a zero os custos com energia, tornando-se mais atraente para aplicação industrial. Ao final do processo, apesar de o ferro não ser um elemento tóxico, íons presentes podem ser facilmente separados da água residual por precipitação com elevação do pH, enquanto o peróxido de hidrogênio é consumido durante a irradiação (Nogueira e Guimarães, 2000).

2.4 - Metodologias analíticas

2.4.1 - Determinação de peróxido de hidrogênio

O peróxido de hidrogênio é um dos oxidantes mais versáteis, superior ao cloro, dióxido de cloro e permanganato de potássio; através de catálise, o H₂O₂ pode ser convertido em radical hidroxila ([•]OH) com reatividade inferior apenas ao flúor. Entre os oxidantes mais poderosos e associando-os aos seus respectivos potenciais padrão de redução (em V) tem-se: flúor (3,0), radical hidroxila (2,8), ozônio (2,1), peróxido de hidrogênio (1,77), permanganato de potássio (1,7), dióxido de cloro (1,5) e cloro (1,4). Além de agente oxidante (eq. 5) o peróxido de hidrogênio pode também ser empregado como agente redutor (eq. 6) (Everse *et al.*, 1991).



Apesar do poder de reação, peróxido de hidrogênio é um metabólito natural em muitos organismos, e quando decomposto, resulta em oxigênio molecular e água. É formado pela ação da luz solar na água (foto-reação) em presença de substâncias húmicas (Price *et al.*, 1992; Suffet e Mac Carthey, 1989). É reconhecidamente citado como o oxidante mais eficiente na conversão de SO₂ em SO₄²⁻, um dos maiores responsáveis pela acidez das águas de chuva (Peña *et al.*, 2001; Deng e Zuo, 1999). De acordo com Lee *et al.* (1990) e Taniai *et al.* (2000) amostras de águas de chuva coletadas antes e após temporal com raios e trovões apresentaram dados de H₂O₂ iguais a 3 e 15 μmol L⁻¹ respectivamente.

A primeira comercialização de H_2O_2 data de 1800, e sua produção mundial aumenta a cada ano. Acredita-se que o peróxido de hidrogênio, na forma isolada ou combinada (principalmente) seja um dos reagentes mais empregados nas mais diversas aplicações (Cooper *et al.*, 1988).

O peróxido de hidrogênio é empregado nos processos de controle da poluição, muitas vezes com ênfase ao monitoramento ambiental (Oliveira *et al.*, 2001), o branqueamento nas indústrias têxtil, de papel e celulose (Freire, 2000). Também a determinação de peróxido de hidrogênio tem grande importância na área médica, pois sua presença deve ser monitorada para se evitar que as células sofram estresse (Ciolino e Levine, 1997 ; Nagababu *et al.*, 2000).

Como apresentado anteriormente, os processos mais eficazes no tratamento de efluentes são aqueles denominados POAs (Nogueira, 1998). Estes são baseados na geração do radical hidroxila ($\cdot OH$) que tem alto poder oxidante e pode promover a degradação de vários compostos poluentes em pouco tempo (Silva, 2004; Nogueira e Modé, 2002).

O H_2O_2 pode ser determinado por volumetria (Didenko e Pugach, 1994; Klasssen, *et al.*, 1994), espectrofotometria (Clapp *et al.*, 1998, Vieira e Fatibello-Filho, 1998; Oliveira *et al.*, 2001), fluorimetria (Holm, *et al.*, 1987), quimiluminescência (Qin *et al.*, 1998; Navas *et al.*, 1999), algumas vezes com o emprego de fibra óptica (Fernandez-Romero e Castro, 1993; Zhou e Arnould, 1995), cromatografia (Pinkernell *et al.*, 1997) e por métodos eletroquímicos (Tatsuma *et al.*, 1992; Zhang *et al.*, 1999).

Os métodos espectrofotométricos têm sido muito citados visando a determinação de peróxido de hidrogênio. São baseados na oxidação de metais, reação com reagentes cromogênicos (na presença de catalisador) ou formação de complexos.

Huang *et al.* (1999; 1997) reportaram a determinação de H_2O_2 empregando várias enzimas e reagentes, tais como 4-aminoantipiridina e N,N-dietilanilina, porfirina entre outros.

Recentemente, Oliveira *et al.* (2001) apresentaram uma proposta bastante versátil para o monitoramento de H_2O_2 . O método foi baseado na reação entre o íon vanadato e H_2O_2 em meio ácido, levando a formação de uma solução de coloração vermelha, devido à formação do cátion peroxovanádio. Demonstrou-se que o método é de baixo custo e relativamente simples para o monitoramento de processos.

2.4.2 - Análise por Injeção Sequencial (SIA) para o monitoramento de peróxido de hidrogênio

Sejam nas utilizações do peróxido de hidrogênio ou nas suas considerações no meio ambiente, observa-se que é importante que se desenvolvam procedimentos para a sua determinação e/ou monitoramento. Com o emprego de um detector espectrofotométrico para determinação de H_2O_2 , pode-se monitorar sua concentração durante um processo de oxidação em linha e, conseqüentemente, incrementar o controle de qualidade de um efluente industrial (Oliveira *et al.*, 2001).

A concentração residual de peróxido de hidrogênio é um parâmetro crucial no processo de fotodegradação de contaminantes por reação foto-Fenton, visto que uma vez consumido, a reação não prossegue, sendo necessária a sua reposição. Um método simples e rápido para monitorar H_2O_2 em linha é de extrema importância, pois permite otimizar a eficiência da fotodegradação.

Análise por Injeção em Fluxo (FIA) é atualmente uma técnica bem estabelecida para mecanização e automação de análises químicas com boa precisão e alta frequência de amostragem (Ruzicka e Hansen, 1988). A técnica apresenta versatilidade, acomodando várias metodologias analíticas. Análises complexas que requerem o uso de vários reagentes, ou que se baseiam no monitoramento da velocidade de reação, ou ainda que envolvem métodos de separação como troca iônica, diálises, extração com solventes, etc., têm sido descritas em sua modalidade de injeção em fluxo (Fang, 1993).

A fim de avaliar a influência da concentração de H_2O_2 no tratamento de fotodegradação de organoclorados, Oliveira *et al.* (2001) utilizou o sistema FIA com determinação espectrofotométrica obtendo resultados satisfatórios.

Ruzicka e Marshall (1990) propuseram a técnica de Injeção Seqüencial (SIA). Nesta técnica o equipamento consiste, basicamente, de uma bomba peristáltica ou de pistão, um único canal de fluxo e uma válvula seletora, conforme esquematizado na *Figura 3*. O consumo de reagentes e amostra no sistema SIA é bem reduzido em relação aos métodos de análise por injeção em fluxo contínuo. Isto se deve a programação do sistema de propulsão, que aspira quantidades pré-determinadas de amostra, reagentes

e solução transportadora somente no momento da análise. No sistema FIA convencional isto não ocorre, uma vez que a utilização da bomba peristáltica promove o fluxo contínuo das soluções utilizadas. Vale lembrar que no sistema SIA se faz necessário o uso de um computador interfaceado ao sistema de bombeamento e à válvula seletora. Um software apropriado é utilizado para controlar a direção, velocidade e tempo de rotação da bomba, assim como a posição da válvula giratória e aquisição de dados do detector. A alta precisão da bomba de pistão, controlada pelo software, faz do SIA uma ferramenta adequada para medidas na modalidade "stopped-flow", que permite o acompanhamento da velocidade da reação (Ruzicka e Hansen, 1988; Christian, 1994; Gubeli *et al.*, 1991).

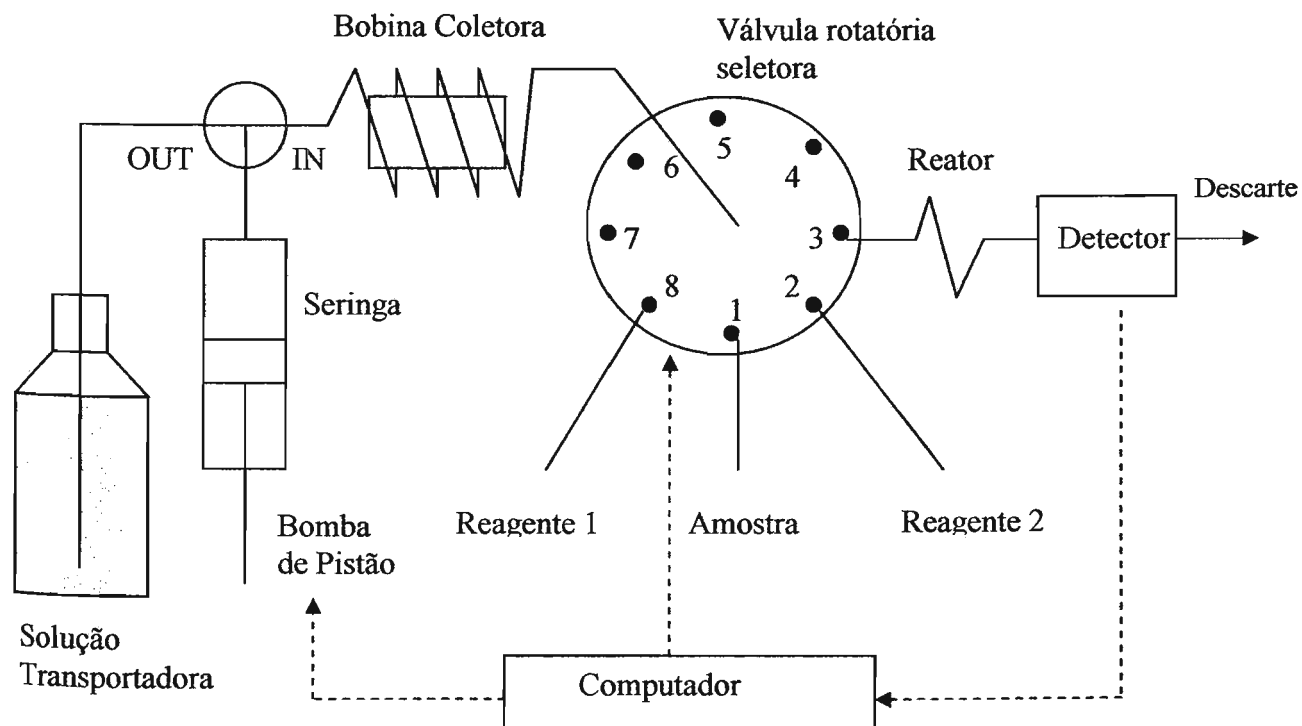


Figura 3 - Sistema básico de Injeção Seqüencial .

A utilização do sistema de Injeção Seqüencial encontra-se bem difundida na área de determinações analíticas, tendo despertado o interesse para determinações no que diz respeito ao monitoramento ambiental (Cerdá *et al.*, 1999; Oliveira e Masini, 1998).

Em água residual, é proposto o monitoramento da demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBQ), amônio, nitrato, nitrito, nitrogênio total, ortofosfato, detergentes, entre outros. Para cada espécie a ser determinada utiliza-se reagentes específicos que são dispostos nas diversas portas existentes na válvula seletora, utilizando-se uma seqüência de operações pré-estabelecidas, gerenciadas pelo programa do computador. A importância da determinação e monitoramento destas espécies em rios e reservatórios está relacionada ao crescimento de algas que prejudicam a qualidade de água destinada ao consumo público (Robards *et al.*, 1994).

van Staden & van der Merwe (1998) utilizaram SIA para a determinação seqüencial de nitrito e nitrato, utilizando o reagente de Griess-Ilosvay. A especiação de nitrito e nitrato tem sido obtida através da redução de nitrato a nitrito utilizando-se micro-coluna de cádmio cobreado (Cerdá *et al.*, 1998, Galhardo e Masini, 2000). Para a quantificação de amônia, sistema de membrana difusora de gás tem mostrado grande eficiência (Luo *et al.*, 1995).

Gómez *et al.* (1995) determinaram íons cálcio e magnésio em água residual, utilizando o reagente cromogênico 4-(2-piridilazo) rezorcinol (PAR), com o qual são formados os complexos Mg-PAR e Ca-PAR que são determinados espectrofotometricamente.

Araújo *et al.* (1999) propuseram a determinação de chumbo em água natural através da pré-concentração da amostra utilizando-se o polímero poli (vinilpirrolidina) (PVP).

Assim como o chumbo, cromo hexavalente também possui grande importância ambiental por tratar-se de um metal pesado de grande toxicidade. Sua determinação foi proposta através do monitoramento da absorbância de um produto intermediário transiente resultante da oxidação do alcalóide brucina pelos íons Cr(VI) em meio ácido, contendo ácido oxálico com catalisador. O intermediário possui grande absorvidade molar na faixa de 510-540 nm (Oliveira e Masini, 1998).

2.4.3 - Técnicas analíticas para determinação de herbicidas

Devido ao grande uso e a toxicidade da atrazina, vários métodos têm sido empregados para a sua determinação. Os métodos físico-químicos são mais aplicáveis às determinações desse composto, pois são geralmente precisos, rápidos e econômicos. Nesta categoria estão incluídos os métodos espectrofotométricos (Oliveira *et al.*, 2001, Kesari & Gupta, 1998) e cromatográficos (Ghauch & Suptil, 2000; Ghauch, *et al.*, 1999; Monson *et al.*, 1998).

Os métodos espectrofotométricos são mais utilizados para análises de alimentos e determinados efluentes industriais, não sendo satisfatoriamente utilizados para análise de águas contaminadas de sistemas aquáticos, em função da presença de substâncias interferentes (Kesari & Gupta, 1998).

Dentre os modernos métodos de análise química, a cromatografia ocupa um lugar de destaque, quando se refere à separação, identificação e quantificação de espécies químicas (Dórea, 1999).

Embora a maioria das técnicas instrumentais para determinar herbicidas da classe das triazinas utilize a cromatografia a gás de alta resolução (CG) em função dos menores limites de detecção (Dean *et al.*, 1996), a técnica de cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE) tem sido bastante utilizada, principalmente empregando detector UV, devido aos elevados valores dos coeficientes de absorvidade molar desses compostos (Chan e Chu, 2003; Saltmiras e Lembey, 2002). Além disso, metabólitos como hidróxi-atrazina, requerem processo de derivatização para uso de CG, o que dificulta seu emprego, favorecendo a utilização de CLAE (Lerch e Donald, 1994; Dean *et al.*, 1996).

A separação e quantificação da atrazina e seus metabólitos efetuada por CLAE, utiliza fase reversa, ou seja, a fase estacionária é apolar, e a fase móvel polar, ao contrário da fase normal. A grande maioria das determinações desses compostos é efetuada utilizando como fase estacionária, colunas de octadecil-silano (C-18), ou octil-silano (C-8). As fases móveis são geralmente compostas

por acetonitrila ou metanol com solução aquosa de acetato de sódio em pH ao redor de 4,5 ou hidrogeno-fosfato de potássio em pH por volta de 7.

A detecção feita na região ultra-violeta (UV) em um único comprimento de onda, ou em vários comprimentos de onda utilizando um detector de arranjo de diodos (DAD), atende às determinações em níveis de concentrações de atrazina e metabólitos compatíveis com amostras ambientais. A detecção eletroquímica (Santos, 2006; Santos *et al.*, 2004) e por espectrometria de massas (Bossi, *et al.*, 2002) também é comum na literatura. A *Tabela 5* mostra alguns dos trabalhos voltados para separação e quantificação por CLAE em fase reversa disponíveis na literatura.

Tabela 5 – Alguns trabalhos empregando CLAE em fase reversa para determinação de atrazina e metabólitos em água.

Finalidade do método	Observações	Resultados	Referência
Determinação de AT em água de chuva por LC-MS-MS	As amostras foram extraídas com a coluna OÁSIS HLB. O método desenvolvido foi validado para 53 pesticidas	A AT foi encontrada em concentrações em torno de 0,1 ng L ⁻¹ durante o período de uso na agricultura	Bossi <i>et al.</i> , 2002
Determinação de HAT e DDAT; AT, DEA e DIA por EFS e CLAE em águas	CLAE/DAD foi o sistema usado para a separação, identificação e quantificação de todos os analitos	O LD obtido foi de 0,1 µg L ⁻¹ para DIHA e DEDIA e 0,02 µg L ⁻¹ para os outros analitos	Martinez <i>et al.</i> , 2002
Avaliar a degradação da AT pelo tratamento de Fenton	CLAE/UV foi utilizado com sistema gradiente	Foram determinados 8 pesticidas AT, e 7 produtos de degradação (DEA, DIA, DEIA, HA, DEHA e DIHA)	Salmiras e Lemley, 2002
Determinar a AT e produtos de degradação após tratamento fotoquímico de degradação	CLAE/UV utilizando coluna C18 e sistema gradiente	O CLAE foi utilizado para o monitoramento da degradação da AT	Arnold <i>et al.</i> , 1995
Determinar a cinética da reação de AT após processo de oxidação	As amostras foram determinadas por CLAE/UV e sistema isocrático	O LD obtido foi de 1,59 µM para AT em 3,5 min.	Chan e Chu, 2003
Determinar AT, DEA, DIA	As os analitos foram determinados por UV a 210 e 230 em série	A recuperação dos analitos foi de 53-75%	Farber <i>et al.</i> , 1994
Monitorar herbicidas e metabólitos HAT, DEHA, DIHA, DDHA	A HAT foi determinada em uma corrida distinta dos demais (isocrático)	A recuperação foi de ≅ 90; 96; 86; 60 %	Lerch e Donald, 1994

AT – atrazina; DEA – desetil-atrazina; DIA – desisopropil-atrazina; HAT – hidróxi-atrazina; DEHA – desetil-hidróxi-atrazina; DIHA – desisopropil-hidróxi-atrazina; DDHA – dideálquil-hidróxi-atrazina; DDAT – dideálquil-atrazina.

2.4.4 - *Análise quantitativa*

O objetivo principal da análise quantitativa é determinar quanto de cada espécie está presente na amostra analisada. Um procedimento quantitativo, geralmente irá envolver as seguintes etapas: amostragem, preparo da amostra, análise, integração e cálculos. Todas essas etapas podem introduzir erros nos resultados.

A amostragem tem por objetivo separar uma pequena quantidade de amostra que seja representativa de uma população, isto é, que contenha as características básicas aplicáveis a todas as outras espécies daquela população. A escolha de uma amostra inadequada, ou que esteja contaminada, irá introduzir erros, os quais irão acumular-se ao longo da análise.

O preparo da amostra tem por objetivo deixá-la numa forma adequada para a análise cromatográfica. Para isto, dependendo da natureza da amostra, ela deverá sofrer uma série de processos físicos e químicos, dentre estas: trituração, liofilização, derivatização, filtração, extração, diluição e concentração. Uma vez que esta etapa pode envolver diferentes manipulações com a amostra, é passível de contaminação com certa facilidade. Além disto, deve-se ter cuidado de forma a evitar-se perdas de amostra durante as transferências assim como modificações na sua natureza química, devido a processos térmicos.

É durante a análise cromatográfica que ocorre a separação dos componentes da amostra a ser analisada. Cada uma das partes do sistema

cromatográfico pode introduzir erros no procedimento, daí a importância que as condições cromatográficas ideais sejam selecionadas com cuidado.

Entre estas condições tem-se: colunas de dimensões ideais com fase estacionária apropriada para a separação desejada, temperatura ideal, fluxo de gás de arraste ótimo, entre outras.

A integração de um pico cromatográfico visa relacionar a área do pico com a concentração da amostra. Dentre os métodos de integração existentes, o método de integração eletrônica é o mais rápido e preciso e tem sido amplamente utilizado na quantificação de picos em cromatografia a líquido. A saída do detector do cromatógrafo é conectada a um conversor analógico digital (A/D), o qual envia uma seqüência de pulsos. A integração é efetuada somando-se estes pulsos. Um circuito lógico determina o início, o máximo e o fim do pico, monitorando ainda a inclinação. Um microprocessador calcula e estoca o tempo de retenção e gera informações para registrador e impressora.

A impressora produz um gráfico (cromatograma), o qual mostra as informações acerca das características cromatográficas dos picos (número, tempo de retenção, altura) além da área e porcentagem de cada pico presente. Os integradores eletrônicos possuem boa sensibilidade, ampla faixa dinâmica de sinal (de microvolts até Volts), ótima precisão e exatidão, porém apresentam um elevado custo inicial, às vezes comparável ao preço de um cromatógrafo.

Após obter-se as áreas dos picos por um dos métodos de integração, é necessário relacioná-las com a concentração. Dentre os procedimentos utilizados, pode-se citar o método do padrão externo (LANÇAS, 1993).

O método de padrão externo consiste em comparar as áreas correspondentes às quantidades conhecidas dos analitos com a área para a mesma substância na amostra e cuja concentração se deseja determinar. Inicia-se o processo injetando no cromatógrafo quantidades exatas do analito e se obtém as áreas dos picos.

A partir destes dados elabora-se uma curva analítica, na qual se representa graficamente a área do pico em função da concentração; a seguir, injeta-se a amostra de concentração desconhecida e obtém-se a área do analito. Com a área deste, obtém-se no gráfico a concentração do analito.

Este método não assume que todos os componentes da amostra injetada sejam eluídos da coluna, porém requer o uso de padrões extremamente puros e o conhecimento exato dos volumes injetados.

2.4.5 - Validação de métodos analíticos

O objetivo da validação de uma metodologia analítica é demonstrar que esta é favorável para a aplicação analítica pretendida. Documentação completa da validação de um método analítico é uma parte integral de qualquer documento submetido às agências governamentais e reguladoras.

Para dar-se credibilidade aos dados nas análises quantitativas, deve-se estar atento a determinadas características do método empregado, uma vez que estas vão determinar a confiabilidade da metodologia proposta para a aplicação analítica de interesse.

Dessa forma, toda vez que for desenvolvido um procedimento, o mesmo deve ser validado. Existem vários parâmetros para validação de métodos: linearidade, exatidão, precisão, limites de detecção e quantificação, sensibilidade, especificidade, robustez e estabilidade. Esses termos são conhecidos como parâmetros de desempenho analítico e, algumas vezes como figuras analíticas de mérito. Muitos desses termos são familiares e usados diariamente em laboratório.

A seguir serão definidos os principais parâmetros de validação.

2.4.5.1 - Linearidade

A linearidade corresponde a faixa ou intervalo de concentração no qual o sinal produzido pelo detector é diretamente, ou por transformação matemática bem definida, proporcional à concentração do analito (Franconette *et al.*, 1996). A linearidade está normalmente relacionada com a variação da inclinação da linha de regressão, obtida da resposta do detector em função da concentração, através da equação linear (eq.7):

$$y = \underline{a} x + \underline{b} \quad \text{eq. (7)}$$

onde, y é a resposta dada em termos de área do pico, ou altura do pico se ele for simétrico, x é a concentração, \underline{a} é o coeficiente angular (inclinação) e \underline{b} o coeficiente linear (intersecção). O coeficiente angular deve ser reprodutível e o coeficiente linear não deve ser significativamente diferente de zero. A regressão linear deve apresentar um coeficiente de correlação (r) maior que 0,99 (ANVISA, 2003).

A linearidade é determinada pela análise de uma série de padrões, ou seja, soluções de diferentes concentrações, abrangendo a faixa de concentração de interesse no trabalho, sendo que esta varia em função da finalidade da análise. Por exemplo, em análise de drogas de abuso em amostras biológicas, a faixa de concentração dos padrões deve abranger desde o limite de quantificação (LQ) até três ordens de magnitude, ou seja, 1 a 1000 ng mL^{-1} , se o LD for de 1 ng mL^{-1} . Por outro lado, em análises de resíduos de herbicidas a faixa de concentração pode abranger apenas uma ordem de magnitude, uma vez que se espera encontrar níveis muito baixos de concentração (Chasin *et al.*, 1998). O número de padrões é definido em função da faixa de concentração de interesse, devendo ser de no mínimo, cinco. Cada nível de concentração na curva deve ser a média de três medidas.

2.4.5.2 - Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

O limite de detecção (LD) é a menor concentração do analito a qual pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, com um certo nível de confiança, utilizando um determinado método analítico.

O LD pode ser calculado de três maneiras diferentes: método visual, método relação sinal-ruído, método baseado em parâmetros da curva analítica (Ribani, *et al.*, 2004; CHASIN *et al.*, 1998, Snyder e Kirkland, 1979):

O método visual é utilizado para determinar o LD utilizando a matriz com adição de concentrações conhecidas da substância de interesse, de tal modo que se possa distinguir entre ruído e sinal analítico pela visualização da menor concentração visível (detectável). Este procedimento também pode ser feito

através do instrumento utilizando parâmetros de detecção no método de integração (Ribani *et al.*, 2004).

O método relação sinal-ruído pode ser aplicado somente em procedimentos analíticos que mostram o ruído da linha de base. Para determinar a relação sinal-ruído, é feita a comparação entre a medição dos sinais de amostras em baixas concentrações conhecidas do composto de interesse na matriz e um branco (matriz isenta do composto de interesse) desta amostra (GARP, 1999). Assim é estabelecida uma concentração mínima na qual a substância pode ser facilmente detectada. A relação sinal-ruído pode ser de 3:1 ou 2:1, proporções geralmente aceitas como estimativas do limite de detecção (Ribani *et al.*, 2004).

Para o cálculo do LD baseado em parâmetros da curva analítica, o limite de detecção (LD) pode ser expresso como (eq. 8):

$$LD = 3 \times \frac{S}{\text{Coef. Angular}} \quad (\text{eq.8})$$

Onde S é a estimativa do desvio padrão da resposta, que pode ser a estimativa do desvio padrão do branco, da equação da linha de regressão ou do coeficiente linear da equação. O denominador da equação 8 é o coeficiente angular ou inclinação ("slope") da curva analítica.

Para calcular estes dados, uma curva analítica deverá ser feita utilizando a matriz contendo o composto de interesse na faixa de concentração próxima ao limite de detecção (Ribani *et al.*, 2004).

O limite de quantificação (LQ) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser medida, utilizando um determinado procedimento experimental (INMETRO, 2003).

Os mesmos critérios de LD podem ser adotados para o LQ, utilizando a relação 10:1, ou seja, o LQ pode ser calculado utilizando o método visual, a relação sinal-ruído ou a relação entre a estimativa do desvio padrão da resposta (S) (que pode ser a estimativa do desvio padrão do branco, da equação da linha de regressão ou do coeficiente linear da equação) e a inclinação da curva analítica, em níveis próximos ao LQ, a partir da equação 9:

$$LQ = 10 \times \frac{S}{\text{Coef. Angular}} \quad (\text{eq.9})$$

O método mais utilizado é o da relação sinal-ruído para técnicas analíticas em geral, porém em técnicas analíticas de separação, como as cromatográficas, a medida sinal-ruído não é trivial e às vezes subjetiva (já que a curva analítica é construída com área e não somente o sinal do detector). Além disso, tanto o LD quanto o LQ podem ser afetados pelas condições cromatográficas. Picos maiores aumentam a relação sinal-ruído, resultando em LD e LQ mais baixos.

De acordo com Ribani *et al.* (2004) o melhor caminho para se calcular o LD e LQ é utilizando o método baseado nos parâmetros da curva analítica, que é estatisticamente mais confiável. A curva analítica deve conter a concentração correspondente ao LQ.

2.4.5.3 - Exatidão

A exatidão representa o grau de concordância entre o valor real presente na amostra e o valor obtido na análise. A exatidão reflete o erro analítico, ou seja, o quanto o resultado obtido afasta-se do real (Chasin *et al.*, 1998).

Ela é sempre considerada dentro de certos limites, a um dado nível de confiança (ou seja, aparece sempre associada a valores de precisão). Estes limites podem ser estreitos em níveis de concentração elevados e mais amplos em baixos níveis de concentração (Ribani, 2004).

A baixa exatidão é proveniente de erros sistemáticos que contribuem para desvios ou tendências nos resultados. Assim, a exatidão pode mostrar uma tendência de, por exemplo, $\pm 2\%$, associada ao valor médio, significando que os resultados estão 2% acima ou abaixo do valor real.

Os erros sistemáticos ocorrem, em geral, pelas seguintes causas: perda da substância devido à baixa recuperação da extração; solução padrão inadequada; medidas volumétricas inexatas; falta de aferição de balanças acarretando erros de pesagem; reagentes contaminados ou presença de substâncias interferentes na amostra (Chasin *et al.*, 1998).

Em análises toxicológicas, onde as concentrações de interesse estão em níveis de traços ($\mu\text{g L}^{-1}$ ou mg L^{-1}), exatidão de até 20% são aceitáveis (Chasin *et al.* 1998).

A exatidão deve ser verificada em testes intra e interlaboratoriais.

Ela também pode ser expressa como a porcentagem de recuperação (R) de quantidades conhecidas do analito adicionado ou fortificado na matriz limpa da amostra (branco), ou em outras palavras, recuperação é definida como a relação entre a concentração determinada para uma amostra fortificada e a concentração adicionada na fortificação, expressa pela equação 10:

$$R (\%) = \frac{\text{média do valor obtido}}{\text{média do valor adicionado}} \times 100 \quad (\text{eq. 10})$$

Embora níveis de recuperação de aproximadamente 100% sejam desejáveis em análise de resíduos, onde se trabalha com concentrações em nível de $\mu\text{g L}^{-1}$, a recuperação de um analito que se encontra em concentrações abaixo de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ é considerada aceitável dentro do intervalo de 60 a 120%, com precisão de até $\pm 20\%$ (GARP, 1999). Em concentrações acima de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ o intervalo aceito é de 70 a 120% (Jenke, 1998).

Existem dois tipos de amostras para avaliar a exatidão de um método analítico:

- *Materiais de referência certificados*: são amostras que foram submetidas à análise por laboratórios credenciados, de renome internacional, em que, após estudo estatístico, são estabelecidos a concentração esperada e a incerteza associada. As amostras certificadas podem ser fornecidas por instituições como o *National Institute of Drug Abuse* (NIDA) o *Community Bureau of Reference* (BCR), o *National Institute of Standards and Technology* (NIST) (Chasin *et al.*, 1998).

- *Amostras adicionadas de padrão*: são amostras livres do analito, nas quais é adicionado o padrão, seguindo-se a aplicação do método de análise. Deve-se escolher amostra de concentração conhecida do analito, uma vez que podem existir diferenças de interação entre o analito e a matriz

2.4.5.4 - Precisão

A precisão representa o grau de repetitividade entre os resultados de análises quando o procedimento é aplicado diversas vezes em uma mesma amostra homogênea, em idênticas condições de análise. O termo empregado para avaliar a precisão é o coeficiente de variação (CV), ou estimativa do desvio padrão relativo (RSD), em um número significativo de amostras (Chasin *et al.*, 1998), obtido através da equação (11):

$$RSD = \frac{100 \times S}{\bar{X}} \quad (\text{eq. 11})$$

Onde, S = estimativa do desvio padrão e \bar{X} = média das medidas em replicata.

A precisão, expressa em termos de CV, deve ser menor que 15%, sendo que este valor pode atingir até 20%, dependendo da complexidade da matriz e da finalidade a que se propõe a análise (Jenke *et al.*, 1998).

A precisão deve ser medida em três diferentes níveis:

- *Precisão intralaboratorial ou Repetitividade*: corresponde aos resultados obtidos para várias análises de amostras homogêneas, usando o

mesmo método, o mesmo laboratório, o mesmo equipamento, feito pelo mesmo analista em um curto intervalo de tempo. Essa determinação deve ser realizada a partir de um mínimo de nove determinações (ex. três níveis, três repetições cada um).

- *Precisão intermediária*: expressa o efeito das variações dentro do laboratório em diferentes dias.
- *Reprodutibilidade*: refere-se aos resultados obtidos em colaboração com outros laboratórios, envolvendo diferentes analistas, diferentes dias e usando diferentes equipamentos.

2.4.5.5 - Sensibilidade

A sensibilidade pode ser definida como sendo a capacidade de um método distinguir, com determinado nível de confiança, duas concentrações próximas. A forma de se estabelecer a sensibilidade é através da inclinação da curva analítica que possibilita a medida em qualquer ponto (Chasin *et al.*, 1998). O gráfico é obtido colocando-se o valor observado, área ou altura do pico, na ordenada como função da concentração do analito (abscissa).

2.4.5.6 - Seletividade

A seletividade de um método representa sua capacidade de avaliar o analito na presença de componentes que poderiam interferir com a sua determinação em matrizes complexas. Corresponde ao grau de interferência de espécies como impurezas e produtos de degradação, garantindo que o pico de resposta seja exclusivamente de um componente simples, isto é, que não existam outras eluições simultâneas (Swart e Krull, 1998; Krull e Swartz, 1997).

2.4.5.7 - Robustez

Corresponde a capacidade de um método de não ser afetado por uma pequena modificação em seus parâmetros operacionais e ambientais. A robustez do método é avaliada através de parâmetros modificados como a composição orgânica da fase móvel, pH, força iônica, temperatura, colunas de diferentes procedências etc. De acordo com ICH (International Conference on Harmonization), a robustez deve ser considerada nos primeiros passos do desenvolvimento do método. Se os resultados do método ou outras medidas são sensíveis à variação dos parâmetros, estes devem ser adequadamente controlados.

Para determinar a robustez de um método, o INMETRO recomenda o teste de *Youden* (GARP, 1999). Trata-se de um teste que permite não só avaliar a robustez do método, como também ordenar a influência de cada uma das variações nos resultados finais, indicando qual o tipo de influência de cada uma dessas variações. Por este teste são realizados oito ensaios com uma combinação de efeitos que apresentam variações.

Em cromatografia a líquido de alta eficiência, a robustez pode ser avaliada, por exemplo, variando o conteúdo de metanol na fase móvel em $\pm 2\%$, o pH da fase móvel em 0,1 unidades de pH ou a temperatura da coluna em ± 5 ° C. Se estas mudanças estiverem dentro dos limites de exatidão, e precisão e seletividade aceitáveis, então o método possui robustez e tais variações podem ser incorporadas ao procedimento (Ribani *et al.*, 2004).

Em trabalhos nos quais há mudanças de fornecedores, marcas ou equipamentos ao longo do desenvolvimento e validação das metodologias, sem alteração significativa nos resultados, pode-se dizer que o método possui uma robustez intrínseca, pois manteve sua resposta em meio a mudanças de ambiente de análise (Ribani *et al.*, 2004).

3- OBJETIVOS

- ↳ Avaliar o processo oxidativo avançado (foto-Fenton) aplicado na fotodegradação de atrazina objetivando a obtenção de quantidades de pesticidas inferiores aos limites de detecção exigidos pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente (COMANA) e Environmental Protection Agency (EPA) para águas potáveis.

- ↳ Otimizar técnicas experimentais espectrofotométricas relativas à determinação e monitoramento de peróxido de hidrogênio com rapidez, seletividade, sensibilidade e precisão utilizando o acoplamento com sistemas automatizados, com destaque para o sistema de injeção seqüencial (SIA).

- ↳ Otimizar as técnicas experimentais relativas à determinação de atrazina e produtos de degradação utilizando a cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE).

4 - PARTE EXPERIMENTAL

4.1 - Equipamentos e acessórios de uso geral

- ◆ Balança analítica da marca Mettler H10 com resolução de 0,1 mg para pesagem dos padrões de herbicidas e metabólitos;
- ◆ Balança semi-analítica Marte com resolução de 1 mg para pesagens dos demais reagentes;
- ◆ Balões volumétricos, pipetas e outros materiais;
- ◆ Dispositivo para filtração de solvente ou água usados como fase móvel nos experimentos envolvendo CLAE;
- ◆ Frascos de 2 mL, dotado de septo de Teflon e silicone;
- ◆ Micropipetas Gilson (Middleton, WI, Estados Unidos) com volumes variáveis de 20–100 μL ; 200–1000 μL e de 1–5 mL;
- ◆ Potenciômetro Metrohm 654 (Herisau, Suíça) com precisão de 0,1 mV ou 0,001 unidades de pH, dotado de eletrodo de vidro combinado Mettler Toledo 405NS-S7/80, Ag/AgCl;
- ◆ Seringa para CLAE Hamilton com capacidade de 100 μL ;
- ◆ Degaseificador Gás He – ultra puro (UP) – Air Products (São Paulo, SP, Brasil) marca Shimadzu (Tóquio, Japão) DGU-2A;
- ◆ Sistema purificador de água Simplicity 185 da marca Millipore (São Paulo, SP, Brasil).
- ◆ Unidades filtrantes com membranas para filtração de solventes orgânicos ou aquosos da marca Millipore de 47 mm de diâmetro (FHLC04700) em PTFE modificado, com poros de 0,45 μm .
- ◆ Banho termostático Ética (São Paulo, Brasil) modelo CDC 44
- ◆ Lâmpada UV 8W modelo UVLMS-38 ~ 60HZ (20 cm de comprimento e 5 cm de largura).

4.2 - Desenvolvimento de metodologia de Análise por Injeção Seqüencial para Determinação Espectrofotométrica de H_2O_2

4.2.1- Reagentes

A solução do reagente vanadato de amônio foi preparada dissolvendo-se 1,170 g de NH_4VO_3 (Merck) em 6 mL de H_2SO_4 9 mol L^{-1} e completando-se o volume para 100,00 mL em um balão volumétrico.

As soluções de peróxido de hidrogênio foram preparadas por diluição apropriada do reagente 30% com densidade 1,11 g cm^{-3} da Merck (Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Inicialmente preparou-se 100,00 mL de uma solução 0,10 mol L^{-1} e, a partir desta solução, foram preparadas as soluções de trabalho nas concentrações 50, 100, 200, 400, 600, 1000, 2000 e 4000 $\mu mol L^{-1}$ por diluições apropriadas em balões volumétricos. Estas soluções foram utilizadas para calibração do sistema de injeção seqüencial.

4.2.2 - Aparelhagem

O monitoramento do peróxido de hidrogênio foi realizado em sistema de análise por injeção seqüencial FIALab-3500 da FIALab Instruments (Bellevue, WA, USA), constituído por uma bomba de pistão com seringa Cavro de capacidade de 5 mL, uma válvula seletora com 8 portas (Valco Instruments, Houston TX, USA), tendo a porta comum acesso às demais portas. O pistão e a válvula foram controlados pelo software FIALab-3500, utilizando-se um computador Pentium II. Para a detecção foi utilizado espectrofotômetro Micronal B 382 com cela de fluxo Hellma com volume interno de 80 μL . A aquisição dos dados do espectrofotômetro foi feita

com uma interface PC-LPM-16 da National Instruments (Austin, TX, EUA). Em alguns experimentos foi utilizado o registrador Micronal B342II para aquisição dos sinais. O sistema utilizado é ilustrado na *Figura 4*. A conexão entre a válvula da seringa e a porta comum da válvula seletora foi feita pela bobina helicoidal coletora (BC), construída com 3 m de tubo de Teflon com diâmetro interno de 0,8 mm. A bobina helicoidal de reação (BR) foi feita com 75 cm de tubo de Teflon com 0,5 mm de diâmetro interno. As conexões entre as portas da válvula e as soluções de reagente (R), amostra (A), padrões de calibração (P) e descarte auxiliar foram feitas com tubos de Teflon com 0,5 mm de diâmetro interno com o menor comprimento possível.

4.2.3 - Procedimento

O procedimento descrito a seguir é baseado no esquema do sistema de injeção seqüencial mostrado na *Figura 4*. Inicialmente, a bobina coletora, a bobina de reação e a cela de fluxo foram preenchidas com a solução transportadora, no caso, água destilada. O tubo conectado à porta 1 dos sistema foi preenchido com a solução do reagente e o tubo da porta 2 foi preenchido com amostra, ou padrão. O excesso das soluções que atingem o interior da bobina coletora é descartado pela porta auxiliar número 6 da válvula seletora (RV). As medidas foram efetuadas em 446 nm.

Para início da análise, a válvula da seringa é acionada para posição IN e 1500 μL de solução transportadora são aspirados para o interior da seringa a uma vazão de $250 \mu\text{L s}^{-1}$. Em seguida, a válvula da seringa muda para posição OUT, conectando a seringa com a válvula seletora, que é posicionada na porta 2. A bomba de pistão aspira um volume de 300 μL de amostra ou padrão para

o interior da bobina coletora a uma vazão de $250 \mu\text{L s}^{-1}$. Em seguida a válvula seletora muda para a posição 6 e a bomba de pistão descarta $500 \mu\text{L}$ de solução transportadora com a mesma vazão anterior. Este procedimento preenche o pedaço de tubo que conecta a válvula seletora e o frasco de amostra/padrão com solução representativa da solução a ser analisada, descartando a solução remanescente da amostra anterior e eliminando o problema de contaminação entre duas análises. Em seguida, a válvula rotatória posiciona-se na porta 1 e a bomba de pistão aspira $50 \mu\text{L}$ de reagente para a bobina coletora a uma vazão de $100 \mu\text{L s}^{-1}$, vazão esta que será mantida em todas as operações posteriores do procedimento. Na próxima etapa, a válvula seletora posiciona-se na porta 2 e a bomba de pistão aspira $250 \mu\text{L}$ de amostra/padrão para a bobina coletora. Vale ressaltar que enquanto a válvula seletora muda de posição, a bomba de pistão permanece parada para evitar alterações de pressão que poderiam acarretar o aparecimento de bolhas de ar e de contaminação. Finalmente, a placa de aquisição de dados é acionada, a válvula seletora posiciona-se na porta 5, e a bomba de pistão injeta a zona de amostra através da bobina de reação até a cela de detecção a uma vazão de $100 \mu\text{L s}^{-1}$. Neste caminho, ocorre a interpenetração das zonas de reagente e amostra por processos de dispersão axial e radial, levando à formação do produto da reação.

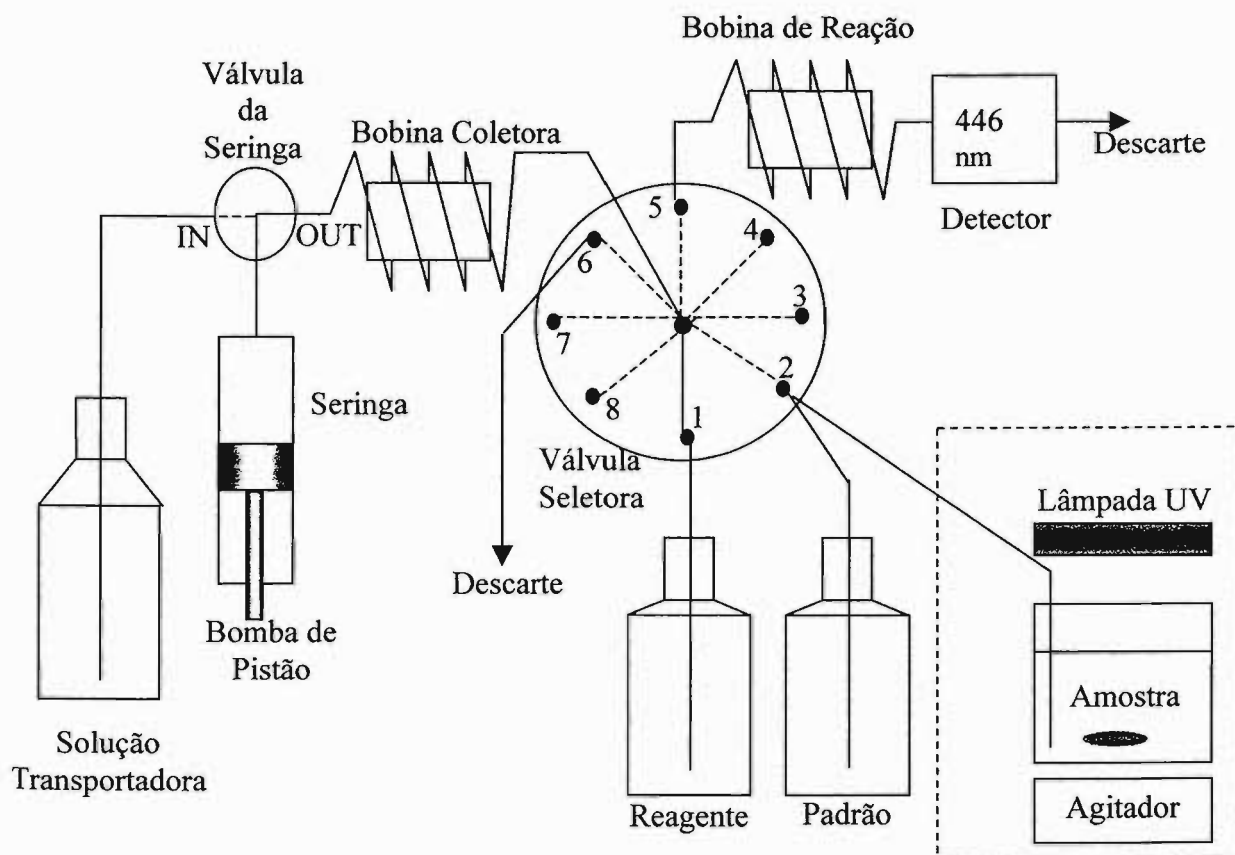


Figura 4 - Sistema Análise por Injeção Sequencial para determinação de peróxido de hidrogênio. O reagente é constituído por uma solução de NH_4VO_3 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,54 \text{ mol L}^{-1}$. A bobina coletora é feita com 3 m de tubo de Teflon com 0,8 mm de diâmetro interno, enquanto a bobina de reação é feita com 75 cm de tubo de Teflon com 0,5 mm de diâmetro interno. A válvula da seringa é mostrada com a posição OUT acionada, conectando a seringa com a válvula seletora, a qual é mostrada com a porta central conectada à porta 1. As demais posições possíveis nas duas válvulas são mostradas com linhas tracejadas. A porta 2 da válvula seletora é mostrada conectada ao frasco de solução padrão. No caso do monitoramento on-line, a porta 2 é conectada ao reator (ilustrado dentro do retângulo tracejado na parte inferior direita da figura).

4.3 - *Determinação cromatográfica de atrazina, desetil-atrazina, desisopropil-atrazina e hidróxi-atrazina*

4.3.1 - *Aparelhagem*

As determinações dos pesticidas por CLAE foram realizadas em cromatógrafo a líquido de alta eficiência da marca Shimadzu LC-9A (Tóquio, Japão), composto de bomba (LC-9A), injetor manual (Rheodyne 20 μ L), detector de UV-VIS (SPD 6AV) e computador com o programa LC Workstation Class-LC10 para aquisição dos dados.

A coluna cromatográfica utilizada foi de fase-reversa da marca Zorbax-HP SB C-18 de 150 x 4,6 mm com partículas de 3,5 μ m, conectada a uma pré-coluna C-18 marca Phenomenex (Torrance, CA, USA).

4.3.2 - *Reagentes*

Os reagentes utilizados na preparação das diversas fases móveis foram: metanol e acetonitrila (grau de pureza para cromatografia), acetato de amônio, ácido acético e ácido sulfúrico todos da marca Merck.

Os padrões do herbicida atrazina (6-cloro-N-etil N-isopropil-[1,3,5] triazina – 2, 4 – diamina) e metabólitos: Hidróxi-atrazina (6-hidróxi-N-isopropil-[1,3,5] triazina-2,4-diamina); Desetil-atrazina (6-cloro-N-isopropil-[1,3,5] triazina-2,4-diamina); Desisopropil-atrazina (6-cloro-N-etil-[1,3,5] triazina-2,4-diamina) foram adquiridos da marca Riedel – de Haën (Seelze, Alemanha) acondicionados em frascos de 250 mg.

Algumas características dos padrões dos herbicidas e metabólitos estudados são mostradas na *Tabela 6*.

Tabela 6 - Características dos padrões dos herbicidas e metabólitos estudados

Herbicida	Símbolo	Massa Molecular (g mol ⁻¹)	Grau de pureza*	Solubilidade em água (mg L ⁻¹)	pKa
Atrazina	AT	215,68	99,2	70	1,68
Desisopropil-atrazina	DIA	173,68	99,9	650	1,58
Desetil-atrazina	DEA	187,68	99,9	340	1,65
Hidróxi-atrazina	HAT	197,23	99,9	7	5,15

4.3.3 - Preparo das Soluções Padrão

Soluções padrão individuais de cada herbicida foram preparadas com uma concentração de 1000 mg L⁻¹ em metanol e estocadas em freezer. A HAT, foi previamente dissolvida com 1 mL de HCl 1 mol L⁻¹. Essa forma de dissolução dos padrões segue as recomendações comumente citadas na literatura (Steinheimer, 1993; Sabik *et al.*, 1995; Berg *et al.*, 1995). De modo análogo aos padrões sólidos, essas soluções estoque foram mantidas em congelador a -18°C.

A partir destas, foram preparadas soluções estoque de 500 µg mL⁻¹ em solução tampão de ácido acético/acetato de amônio 2,5 x 10⁻³ mol L⁻¹ pH 4,5 e estocadas em geladeira (4°C). Para solução de trabalho foi preparada uma solução padrão com a mistura de volumes apropriados das soluções individuais diluídas na solução tampão para o volume desejado.

4.3.4 - Condições cromatográficas

Para a determinação foram testados métodos cromatográficos de fase reversa. O método de fase reversa proposto por Sabik *et al.* (1995) utilizou sistema isocrático, coluna C₁₈, 25 cm x 4,6 mm com partículas de 5 µm de diâmetro. Para testar este método, foi utilizada uma coluna com especificações similares, porém com partículas de 3,5 µm. A fase móvel foi composta de tampão ácido acético/acetato de amônio $2,5 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ (pH= 4,5) e acetonitrila na proporção 65:35 (v/v), vazão de 1 mL min⁻¹. Foi utilizado o detector UV a λ 220 nm para a determinação da atrazina e dos metabólitos.

4.4 - Fotodegradação da Atrazina

Os experimentos de fotodegradação foram baseados nos procedimentos de Oliveira *et al.* (2001), bem como nos experimentos de Gallard e Laat (2000), com modificações.

Nos experimentos utilizou-se como fonte de irradiação artificial uma lâmpada UV com 8W de potência. A *Figura 4* mostra o sistema utilizado durante os experimentos com irradiação artificial, onde a lâmpada está colocada sobre o reator na posição horizontal. O reator opera com agitação da solução com amostragens no reservatório em tempos determinados pelo sistema de análise por injeção seqüencial.

Antes do início dos experimentos, o pH da solução do herbicida foi ajustado para 2,8 com solução de H₂SO₄ 3 mol L⁻¹, pH ótimo para fotodegradação segundo Gallard e Laat (2000). Ao reator, foram adicionados volumes apropriados de solução estoque de 0,25 mol L⁻¹ de ferrioxalato de potássio e de solução 30% (v/v) de H₂O₂ a 400 mL de solução de atrazina (100 µg L⁻¹) sob

agitação de modo a resultar em concentração $0,50 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ e $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{H}_2\text{O}_2$. Após o acionamento da lâmpada UV (254nm), a solução foi irradiada por um período de 80 minutos. O monitoramento da concentração de H_2O_2 foi feito “on-line” em alguns casos e “off-line” em outros, sendo que em todas as situações, o procedimento descrito no item 4.2.3 foi seguido. As determinações de atrazina e de metabólitos por CLAE foram feitas “off-line”, com amostragem pelo sistema SIA em tempos previamente programados.

A *Figura 5* mostra um fluxograma do procedimento de fotodegradação:

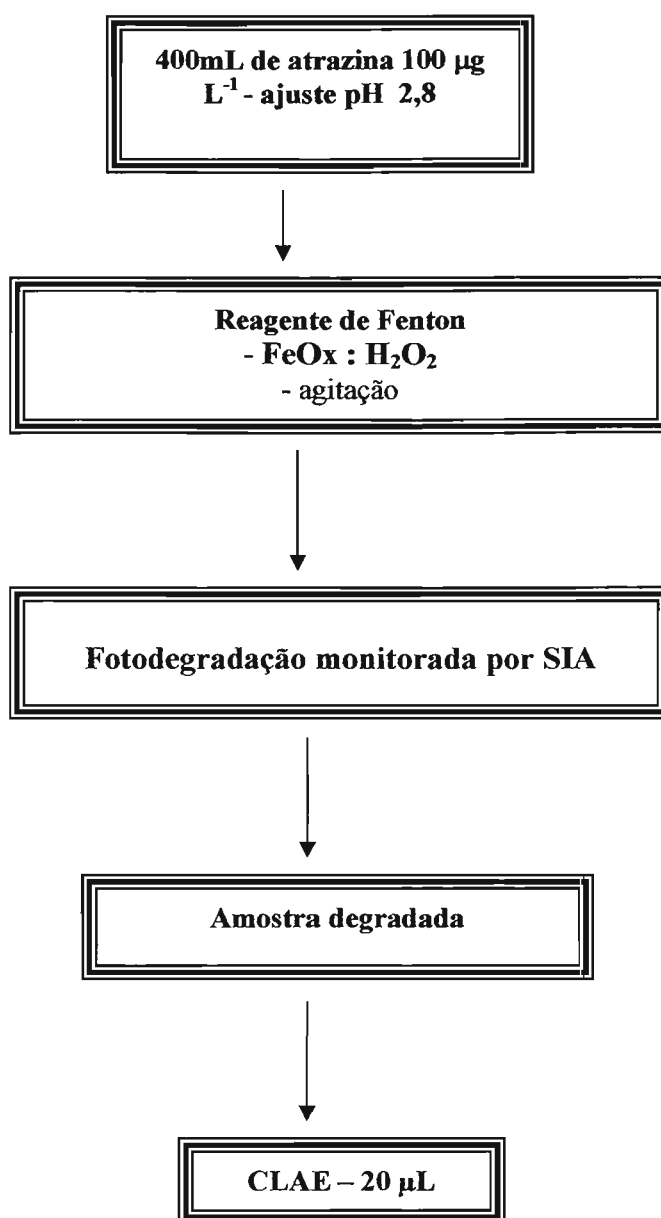


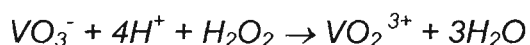
Figura 5 - Fluxograma do tratamento de amostra de água contendo atrazina por fotodegradação e quantificação dos compostos por SIA e CLAE.

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 - Monitoramento do H_2O_2

O método para determinação e monitoramento de peróxido de hidrogênio foi baseado nos procedimentos de Oliveira *et al.* (2001), com modificações.

A determinação de H_2O_2 baseou-se na reação do íon vanadato e peróxido de hidrogênio em meio ácido, estando representado pela reação química descrita a seguir:



Na reação ocorre a formação do cátion peroxovanádio, que possui coloração vermelha.

5.1.1 - Velocidade de Reação – O efeito da Parada de Fluxo

O primeiro parâmetro estudado no estabelecimento da metodologia foi o efeito do tempo de residência da zona de amostra dentro do sistema de fluxo. Este parâmetro se torna especialmente importante para reações lentas. Nestes casos, visando aumentar a extensão com que a reação ocorre, e, portanto, aumentar o sinal analítico, busca-se um aumento de tempo de residência. O aumento deste tempo pode ser obtido por várias estratégias, tais como aumento do percurso analítico, diminuição da vazão, análise em fluxo monossegmentado (Pasquini e Oliveira, 1985), fluxo intermitente (Krug *et al.*, 1986), ou ainda pela retenção da zona de amostra “zone trapping” (Krug *et al.*, 1983). O tempo de residência pode ser aumentado, aumentando-se o percurso analítico, ou seja, usando-se uma bobina de reação de maior comprimento. O inconveniente desta estratégia é o aumento da dispersão da amostra, de modo

que para uma reação lenta, o ganho de sinal obtido pelo maior tempo de reação pode ser anulado pelo efeito de maior dispersão causado pelo percurso analítico mais longo. Uma segunda maneira de aumentar o tempo de residência é diminuindo-se a vazão, sendo que o caso extremo seria a parada de fluxo por um tempo pré-determinado, permitindo a reação proceder em extensão adequada para gerar um sinal analítico mensurável (Ruzicka e Hansen, 1988). Quando o fluxo está parado a dispersão da zona da amostra se dá apenas por difusão molecular, que nas condições usuais de um sistema de fluxo, é bastante lenta, sendo muitas vezes desprezível. Com isso, elimina-se o problema mencionado com o uso de bobinas de reação mais longas.

No caso da reação de H_2O_2 com NH_4VO_3 , registrou-se o sinal de absorvância em condições de fluxo parado por um intervalo de 10 s, sendo a parada realizada 8, 9 e 10 s após o início da injeção da zona de reação em direção ao detector (*Figura 6*), visando explorar diferentes relações de concentração entre analito e reagente. Para os tempos de 9 e 10 s se observou que, durante a parada de fluxo, o sinal de absorvância permaneceu estável, indicando que a reação é rápida, praticamente se completando no tempo de residência definido pela vazão de $100 \mu\text{L s}^{-1}$ e bobina de reação com 75 cm de comprimento e 0,5 mm de diâmetro. A parada de fluxo após 8 s da injeção apresentou um sinal com altura máxima de pico um pouco maior do que nas condições anteriores, indicando um favorecimento da cinética da reação nas condições de mistura e relação de concentrações obtida. Entretanto, rapidamente o sinal estabiliza e o ganho obtido na altura máxima de pico é de apenas 12 % em relação aos experimentos realizados sem a parada de fluxo. Com isso, se optou por trabalhar sem parada de fluxo, visando manter uma alta

freqüência de amostragem no sentido de permitir um detalhado monitoramento das concentrações de H_2O_2 durante a fotodegradação. Além disso, a estabilidade do sinal durante a parada de fluxo (Figura 6) permite verificar também que o produto da reação é estável, não se decompondo na cela de fluxo (Ruzicka e Hansen, 1988).

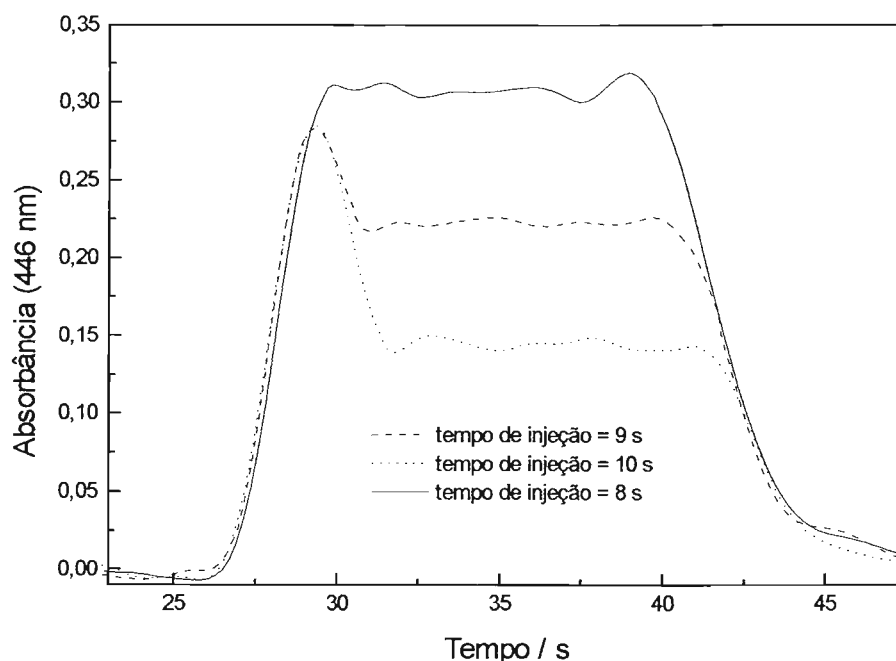


Figura 6 - Efeito de uma etapa de parada de fluxo de 10 s utilizando o sistema SIA mostrado na Figura 4. A zona de amostra foi formada aspirando-se seqüencialmente $50 \mu\text{L}$ de reagente e $250 \mu\text{L}$ de uma solução de H_2O_2 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Antes e após a parada de fluxo a vazão utilizada foi de $100 \mu\text{L s}^{-1}$. Os volumes injetados antes da parada de fluxo foram: 800, 900 e 1000 μL , respectivamente (tempos de injeção 8, 9 e 10 s). Os sinais do branco foram subtraídos em todos os registros.

5.1.2 - *Volumes de Amostra e Reagente*

O volume de amostra é o principal parâmetro que influencia a dispersão em sistemas de fluxo (Ruzicka e Hansen, 1988). Quanto maior o volume de amostra, menor é a dispersão dentro do sistema e maior será a sensibilidade das medidas, desde que todos os elementos de fluido contendo a amostra recebam reagente em excesso com relação à quantidade estequiométrica. Em sistemas de análise por injeção em fluxo em que o reagente é adicionado por confluência, o volume de amostra pode ser aumentado de modo a atingir baixos coeficientes de dispersão, entre 1 e 2, dependendo da relação de vazões de solução transportadora, onde a amostra é injetada, e da vazão do reagente (Reis *et al.*, 1989).

Em injeção sequencial, por utilizar um sistema de linha única em que sobreposição das zonas de reagente e amostra ocorre apenas pelos processos de dispersão axial e radial, a seleção do volume de amostra é crítico para definir a sensibilidade das medidas (Gubeli *et al.*, 1991). No presente trabalho, buscou-se encontrar um compromisso entre a sensibilidade e a frequência de amostragem. Para isso estudou-se a influência dos volumes de amostra e de reagente, bem como o efeito de intercalar uma alíquota de amostra entre duas de reagente.

Inicialmente, estudou-se a influência do volume de amostra quando este foi aspirado para a bobina coletora entre duas zonas de reagente. Para isso fixou-se o volume de reagente em 100 μL e variou-se o volume de amostra entre 50 e 750 μL . Os registros de absorvância em função do tempo são mostrados na *Figura 7A*, já descontados os sinais de branco, devidos à absorvância do reagente no comprimento de onda medido. Observa-se que os

sinais aumentam até o volume de 500 μL , mantendo-se constante para o volume de 750 μL . Não se observou a formação picos duplos, indicativos de que porções centrais da zona de amostra não estejam recebendo solução de reagente, fato este que pode ser explicado pela alta concentração do reagente utilizada. A *Figura 7B* mostra as absorvâncias no máximo de pico e a frequência de amostragem em função do volume de amostra. Verifica-se que o aumento de volume de amostra de 50 para 750 μL provoca uma diminuição da frequência de amostragem de 120 para cerca de 90 determinações por hora.

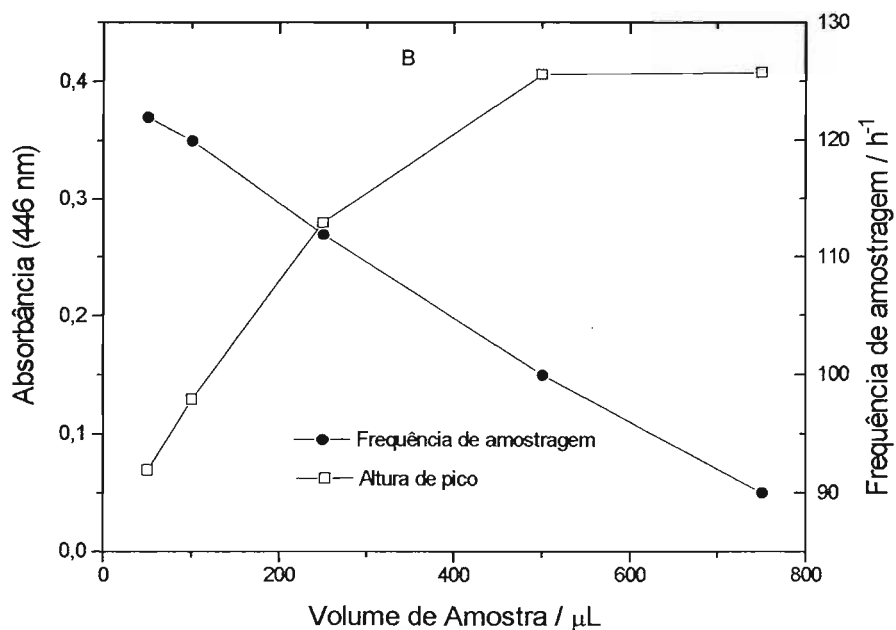
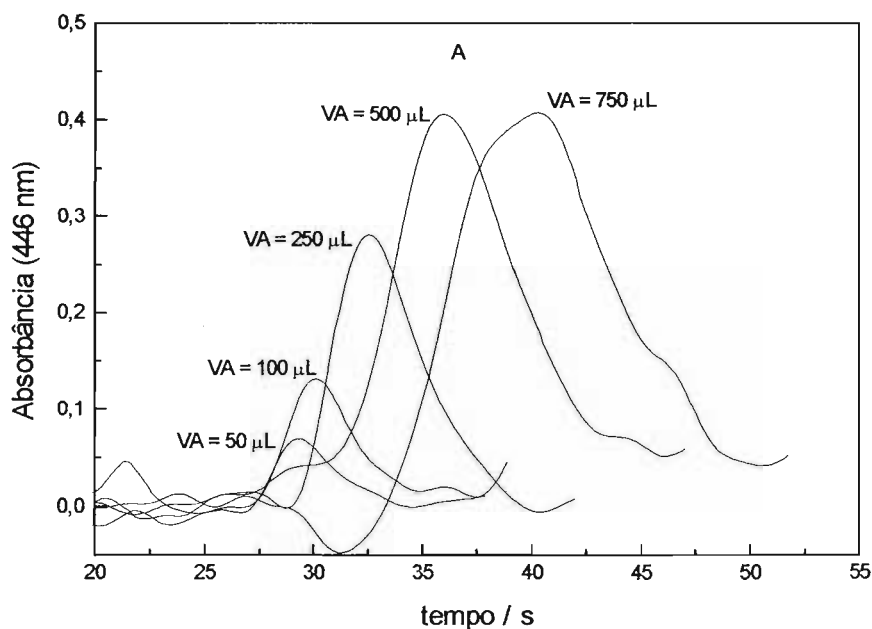


Figura 7 - Registros obtidos em função de diferentes volumes de amostra, VA (A) aspirado entre duas zonas de 100 μL de reagente. Vazão utilizada = 100 $\mu\text{L s}^{-1}$. As absorbâncias no máximo de pico e a frequência de amostragem em função do volume de amostra são mostradas em B. Concentração de $\text{H}_2\text{O}_2 = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Os sinais do branco foram subtraídos em todos os registros.

O sinal do branco utilizando duas zonas de 100 μL é bastante pronunciado. Para tentar minimizar este problema, investigou-se a possibilidade de aspirar apenas uma alíquota de reagente de 50 μL . O estudo da influência do volume de amostra nestas condições é mostrado na *Figura 8*. Neste caso, a bomba de pistão aspirou inicialmente 50 μL de reagente e em seguida os diferentes volumes da amostra. A partir da *Figura 8*, fica claro que o aumento significativo de sinal analítico se dá até o volume de 250 μL , estabilizando a partir daí. Neste caso é provável que parte da amostra não recebam reagente em quantidade estequiométrica, especialmente para volumes maiores que 250 μL , explicando o formato do gráfico mostrado na *Figura 8B*. Quando se utiliza um volume de amostra de 250 μL nesta configuração o sinal de absorbância é de 0,265 (*Figura 8B*), enquanto que aspirando-se os 250 μL cercados por 100 μL de reagente, o sinal de absorbância no máximo de pico aumenta apenas para 0,280 (*Figura 7B*). Como o aumento é pouco pronunciado, chegando inclusive a não ser estatisticamente diferente optou-se por continuar os trabalhos aspirando-se apenas uma zona de reagente de 50 μL . Um ganho de intensidade de sinal poderia ser obtido trabalhando-se com o volume de amostra de 500 μL entre duas zonas de 100 μL de reagente, uma vez que a absorbância na altura máxima de pico da solução de H_2O_2 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi de 0,406. Entretanto, optou-se pela configuração de 50 μL de reagente e 250 μL de amostra como um compromisso entre intensidade de sinal analítico e frequência de amostragem. No primeiro caso tem-se uma frequência de amostragem de 100 h^{-1} , enquanto no segundo esta frequência sobe para 124 h^{-1} (*Figuras 7A e 7B*). Além disso, o volume de amostra menor provoca menor alteração no volume do reator durante o monitoramento "on-line".

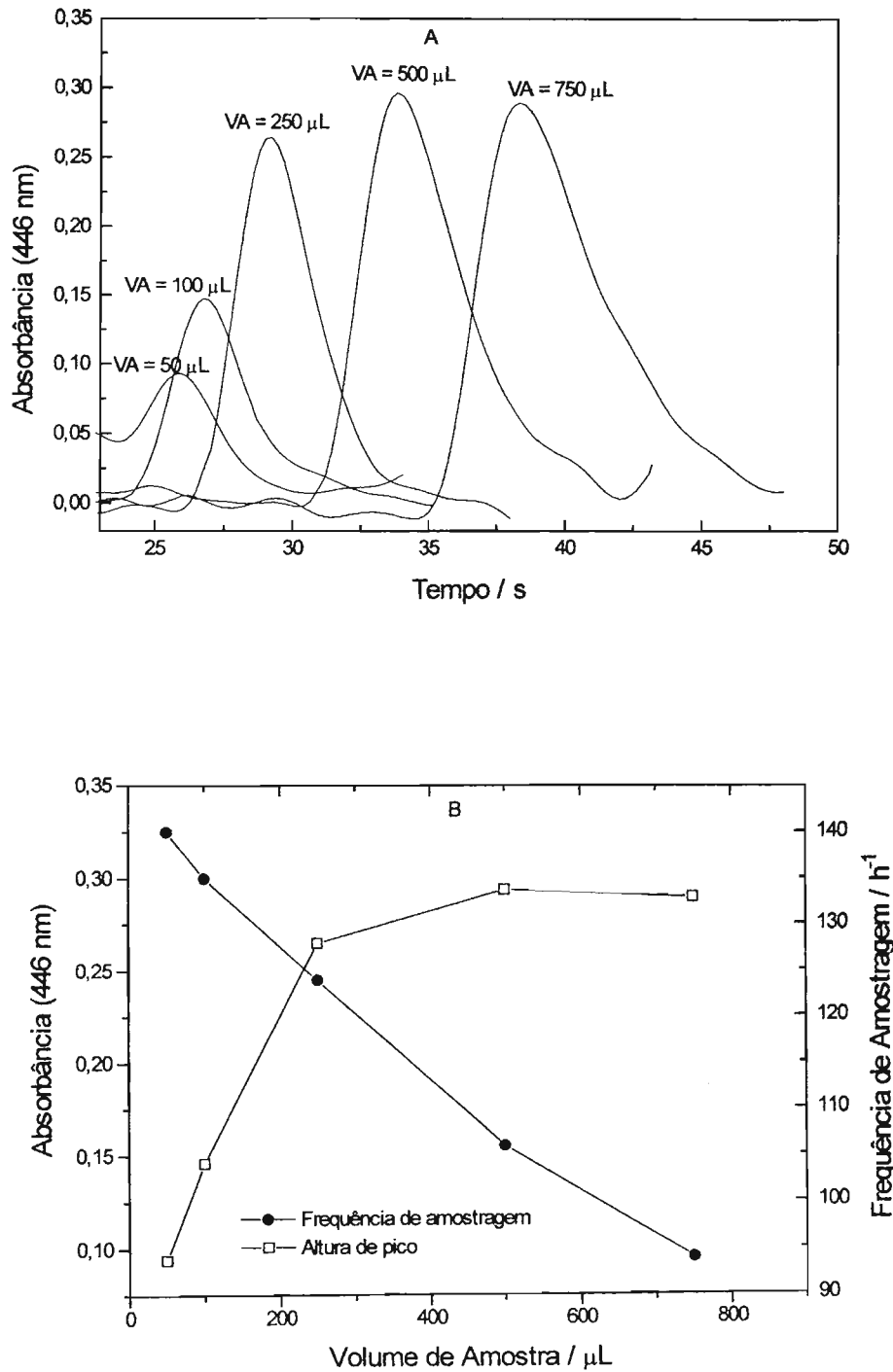


Figura 8 - Registros obtidos em função de diferentes volumes de amostra, VA (A) aspirado após uma zona de 50 μL de reagente. Vazão utilizada = 100 $\mu\text{L s}^{-1}$. As absorbâncias no máximo de pico e a frequência de amostragem em função do volume de amostra são mostradas em B. Concentração de $\text{H}_2\text{O}_2 = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Os sinais do branco foram subtraídos em todos os registros.

Para verificar a influência do volume de reagente considerando a configuração baseada na aspiração de uma alíquota deste, manteve-se fixo o volume de amostra em 250 μL e utilizou-se os seguintes volumes de reagente: 25, 50 e 100 μL , conforme mostra os resultados da *Figura 9*.

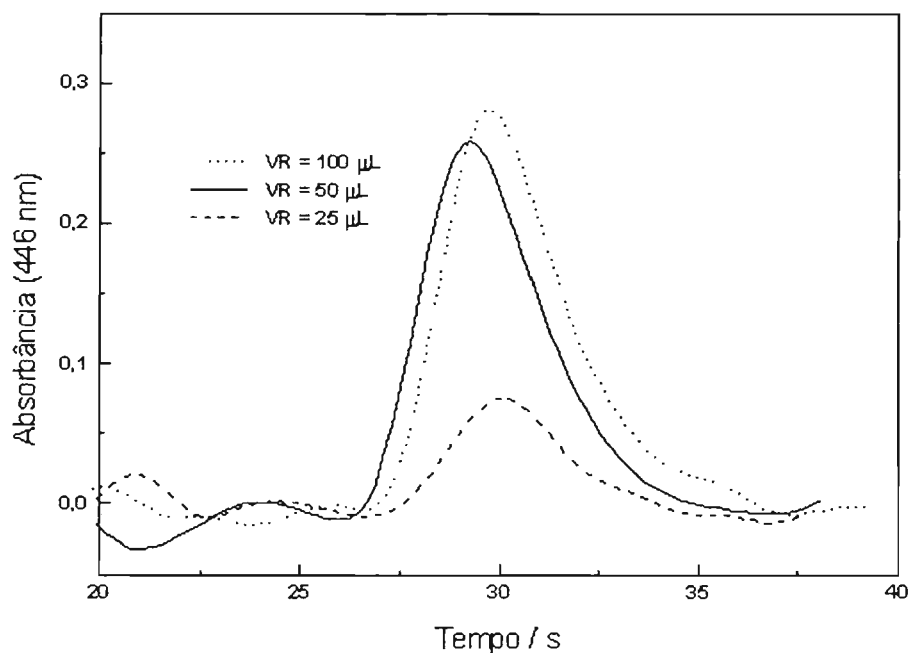


Figura 9 - Registros obtidos para uma solução de $\text{H}_2\text{O}_2 = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em função de diferentes volumes de Reagente, VR, aspirado antes de uma zona de 250 μL de amostra. Vazão utilizada = 100 $\mu\text{L s}^{-1}$. Os sinais do branco foram subtraídos em todos os registros.

Para o volume de reagente de 25 μL fica claro que falta reagente na zona de amostra para levar a uma formação apreciável do produto. Entretanto, a diferença entre as alturas de pico aspirando-se 50 ou 100 μL de reagente é pequena, sendo que as absorbâncias medidas nos máximos de pico foram 0,259 para 50 μL e 0,280 para 100 μL . Em função deste pequeno aumento de sinal mediante o dobro de volume de reagente, optou-se por continuar os

trabalhos utilizando o volume de reagente de 50 μL . Conforme é mostrado na *Figura 10*, a escolha deste volume se dá também pelo menor sinal de branco gerado.

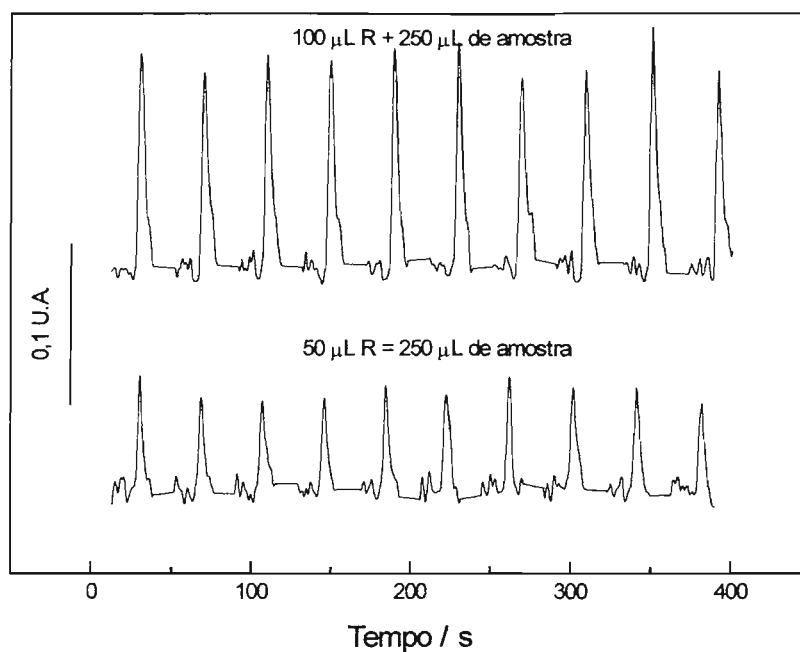


Figura 10 - Magnitude dos sinais de branco em função do volume de reagente aspirado, mantendo-se fixo em 250 μL o volume de amostra (água destilada neste caso).

5.1.3 - Curvas Analíticas

Após definir os volumes de amostra e reagente, bem como as condições de tempo de residência, foram construídas curvas analíticas seguindo o procedimento descrito no item 4.2.3 da Parte Experimental. Foram utilizadas as seguintes concentrações de H_2O_2 : 0,10; 0,20; 0,40; 0,60; 1,0; 2,0 e 4,0 $\times 10^{-3}$ mol L^{-1} preparadas por diluição da solução estoque em água destilada. A

Figura 11 apresenta os registros obtidos para uma duplicata de injeção de cada um dos padrões mencionados.

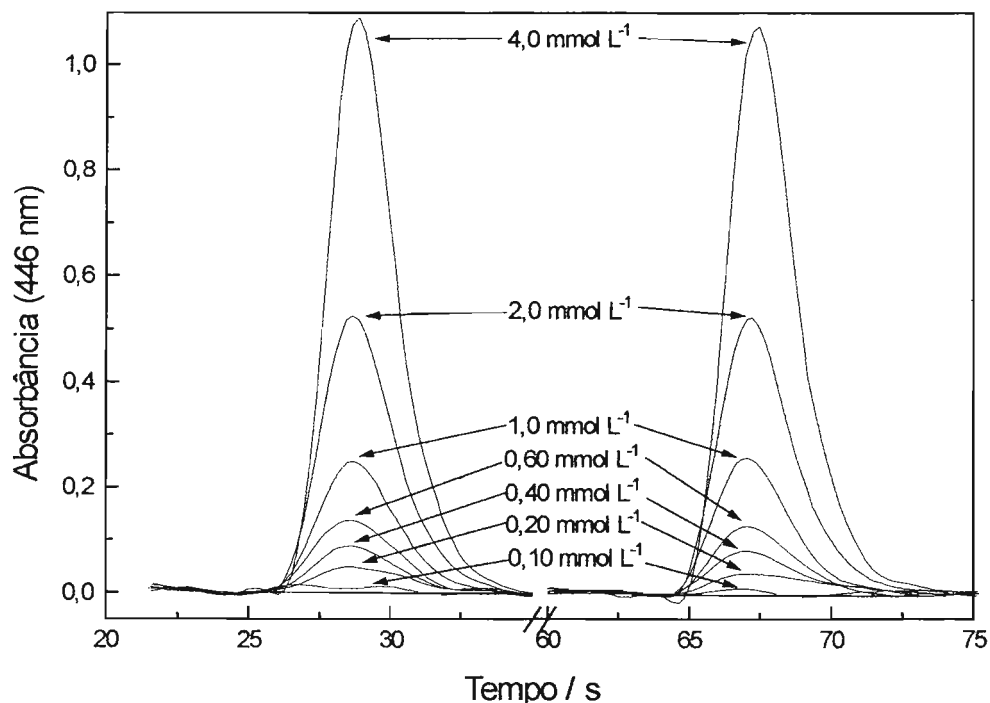


Figura 11 - Registro de sinais de absorbância subtraídos do sinal do branco obtidos para concentrações de H_2O_2 entre $0,10$ e $4,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. A seqüência de eventos se baseia na aspiração de $50 \mu\text{L}$ de reagente, seguidos por $250 \mu\text{L}$ de amostra e posterior transporte da zona reação em direção ao detector a uma vazão de $100 \mu\text{L s}^{-1}$. As demais condições experimentais são dadas na Figura 4 e no item 4.2.3.

As alturas máximas de pico em função da concentração de H_2O_2 ajustaram-se a uma função linear, conforme mostrado na Figura 12. Curvas analíticas obtidas em diferentes dias de trabalho com diferentes soluções de H_2O_2 preparadas diariamente, utilizando uma mesma solução do reagente NH_4VO_3 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,54 \text{ mol L}^{-1}$, apresentaram os parâmetros estatísticos mostrados na Tabela 7. Pode-se verificar que os coeficientes

angulares apresentaram um desvio padrão relativo de 5,7 %, denotando uma boa estabilidade das curvas analíticas. Esta estabilidade é decorrente das condições reprodutíveis de mistura e de tempo de residência, que nos sistemas de injeção seqüencial, são definidos pelo percurso analítico fixo, mas principalmente pela alta reprodutibilidade das vazões e volumes permitidos pela bomba de pistão (Ivaska e Ruzicka, 1993; Silva *et al.*,2001).

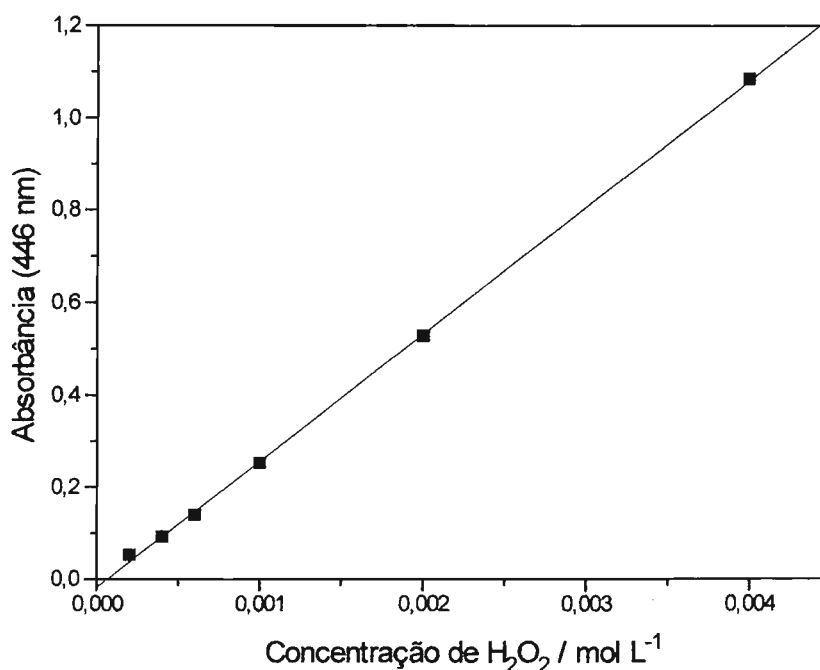


Figura 12 - Curva analítica obtida a partir das alturas máximas de pico médias obtidas na Figura 7 em função da concentração de H₂O₂. Os dados experimentais ajustaram-se à equação linear: $Abs_{446nm} = (273 \pm 3)C_{H_2O_2} - (0,014 \pm 0,005)$, com $R = 0,9998$.

Tabela 7 - Parâmetros estatísticos das curvas analíticas obtidas em diferentes dias de trabalho utilizando 6 soluções de H_2O_2 com concentrações 0,20; 0,40; 0,60, 1,0; 2,0 e $4,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Curva	Coef. Angular/ L mol ⁻¹	Coef. Linear / U.A.	R	S _y
1	240 ± 3	0,016 ± 0,006	0,9995	0,011
2	273 ± 3	-0,014 ± 0,005	0,9997	0,009
3	253 ± 3	0,009 ± 0,003	0,9997	0,005
4	250 ± 7	0,004 ± 0,007	0,998	0,012
5	243 ± 4	0,004 ± 0,007	0,9993	0,008
6	274 ± 3	-0,016 ± 0,005	0,9998	0,009

* S_y = desvio padrão da regressão

5.1.4 - Limites de Detecção e de Quantificação

A partir dos dados da *Tabela 7*, pode-se estimar um coeficiente angular médio de $(256 \pm 14) \text{ L mol}^{-1}$ e um coeficiente linear médio de $0,008 \pm 0,012$. O termo S_y é o desvio padrão da regressão e permite estimar o limite de detecção do procedimento, como definido por Miller e Miller (1988):

$$LD = \frac{3S_y}{m}$$

onde LD é o limite de detecção e m o coeficiente angular da curva analítica. A partir dos dados da *Tabela 7*, pode-se verificar um LD médio de $0,10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ para H_2O_2 , com uma faixa de variação entre $0,059$ e $0,14 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Por outro lado, usando a definição baseada na medida do desvio padrão do branco no lugar de S_y , chega-se a um LD de $0,070 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Este valor foi calculado a partir das medidas das alturas de pico do branco (*Figura 10*), que resultaram em $0,063 \pm 0,006$, ou seja, as dez medidas do branco levam a um desvio padrão de 0,006. Multiplicando-se este valor por 3 e dividindo o resultado pelo coeficiente angular médio das curvas analíticas ($256 \pm 14 \text{ L mmol}^{-1}$) chega-se o LD de $0,070 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Adotando-se a definição de limite de quantificação (LQ) como sendo a concentração resultante no sinal correspondente a dez vezes o sinal do branco dividido pelo coeficiente angular da curva analítica, chega-se a concentração de $0,23 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ para o LQ .

Os registros de sinais obtidos em baixas concentrações (*Figura 13*) permitem avaliar que os valores de LD e LQ obtidos a partir do desvio padrão do branco são coerentes com os dados experimentais. A *Figura 13* permite visualizar que a solução $0,10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de H_2O_2 é claramente detectável, ou seja, distingue-se do branco, ao contrário da solução $0,050 \text{ mol L}^{-1}$. Do mesmo modo, como se pode verificar pelas *Figuras 12 e 13*, o sinal referente à solução de H_2O_2 $0,20 \text{ mmol L}^{-1}$ já faz parte do intervalo de resposta linear, podendo ser considerado o limite de quantificação do método.

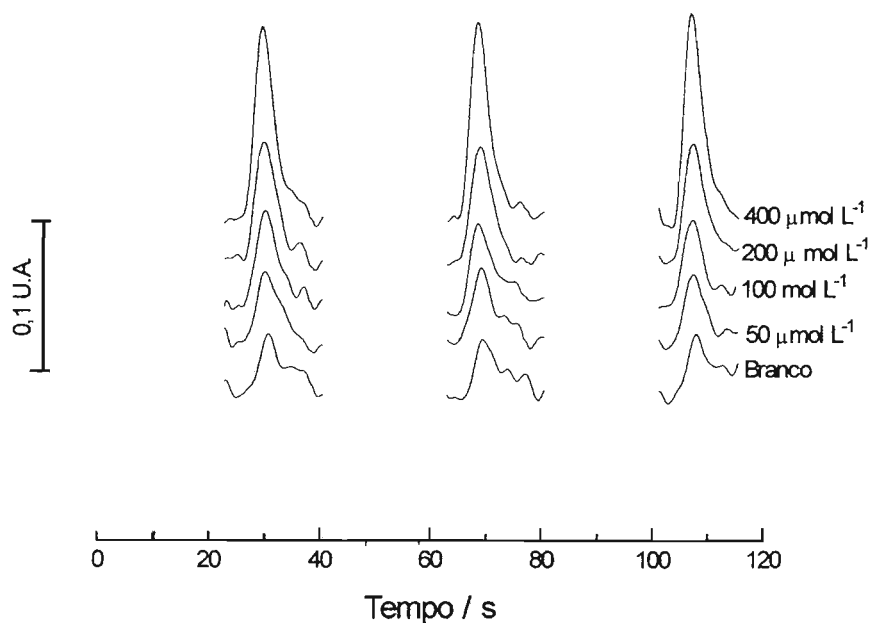


Figura 13. Triplicata de sinais obtidos para soluções de baixa concentração visando investigar os limites de detecção e de quantificação do procedimento. Condições usadas: volume de reagente = 50 μL ; volume de amostra = 250 μL , vazão = 100 $\mu\text{L s}^{-1}$; comprimento de onda = 446 nm.

5.1.5 - Efeito de Memória

Um aspecto importante do monitoramento on-line é a amostragem de alíquota representativa da solução no interior do reator. Para isso, o tubo que conecta o reator com a porta da válvula seletora do sistema SIA deve ser lavado com solução da amostra antes de cada análise. Com isso elimina-se o efeito de memória, que seria a determinação do analito em uma solução remanescente de uma amostragem anterior, ou seja, com defasagem de tempo. Quando o sistema SIA é utilizado para análises seriais “off-line” procura-se utilizar um tubo de amostragem com as menores dimensões

possíveis (curtos e de pequeno diâmetro interno), visando minimizar o tempo e o volume de lavagem (Gubeli *et al.*, 1991). Entretanto, para o monitoramento “on-line” existe uma restrição por causa das dimensões do reator e de sua distância em relação à válvula seletora do sistema SIA. Com isso foi necessário usar um tubo de amostragem mais longo do que usualmente. Para contornar o possível efeito de memória, o programa foi elaborado considerando a lavagem do tubo de amostragem com 300 μL de solução do reator, seguido por descarte de 500 μL pela porta auxiliar da válvula seletora (porta 6, Figura 1). Estas operações foram realizadas com uma vazão de 250 $\mu\text{L s}^{-1}$, consumindo 3,2 s do tempo total de análise. A *Figura 14* mostra a eficiência deste procedimento, uma vez que apresenta os registros obtidos em seqüência de amostragens de soluções de concentrações bastante distintas ($6,0 \times 10^{-4}$ e $2,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1}). Não se verifica efeito de memória significativo mediante variações grandes de concentração das amostras.

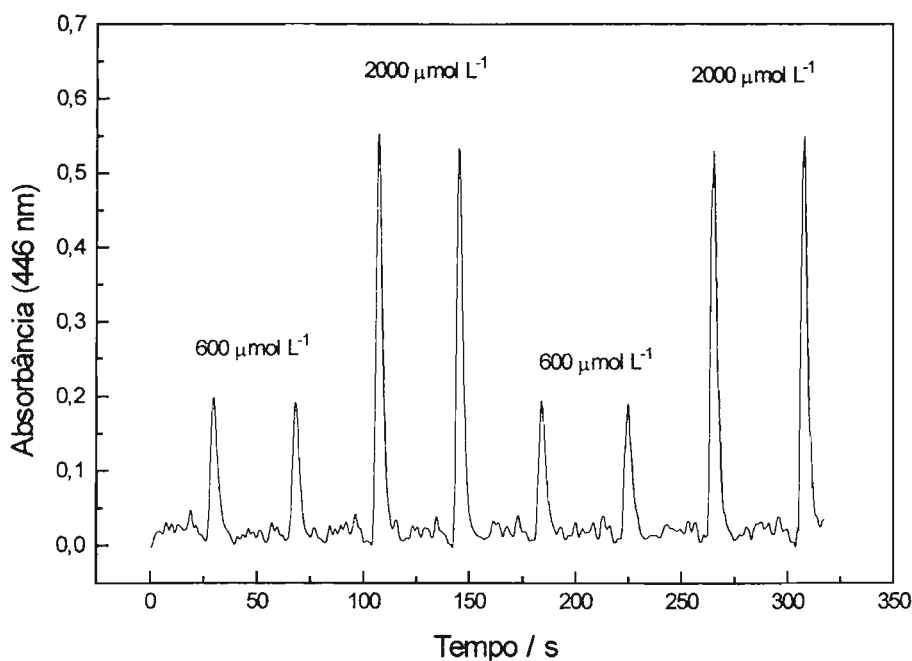


Figura 14. Avaliação do efeito de memória

5.1.6 - Variações da faixa de resposta linear

Um aspecto interessante dos sistemas modernos de análise em fluxo, entre os quais se inclui a análise por injeção seqüencial, é a possibilidade de variar parâmetros físicos do sistema sem necessidade de reconfiguração mecânica. Assim, a faixa de resposta linear e a sensibilidade das medidas podem ser alteradas modificando-se a relação de volumes de amostra e de reagente apenas modificando-se estes parâmetros no programa que controla o sistema. Um exemplo desta flexibilidade pode ser dado pela alteração do volume de amostra de 250 µL para 100 µL, que altera a faixa de resposta linear para concentrações de H₂O₂ entre 1,0 x 10⁻³ e 1,0 x 10⁻² mol L⁻¹.

5.1.7 - Precisão

A *Tabela 8* mostra os resultados do estudo de precisão do procedimento para quatro níveis de concentração. Em todas as concentrações estudadas o desvio padrão relativo das alturas máximas de picos não excederam 5 %, denotando a boa precisão do método.

Tabela 8 - Estimativa da precisão (repetitividade) na determinação de peróxido de hidrogênio relativos as alturas de picos obtidas para cada nível de concentração.

H ₂ O ₂	0,60 mmol L ⁻¹	1,0 mmol L ⁻¹	2,0 mmol L ⁻¹	4,0 mmol L ⁻¹
	0,126	0,218	0,521	1,110
	0,139	0,213	0,523	1,090
ALTURA	0,133	0,219	0,509	1,052
	0,130	0,239	0,533	1,073
	0,135	0,229	0,542	1,080
MÉDIA	0,133	0,224	0,526	1,081
E.D.P.	0,005	0,010	0,013	0,021
D.P.R. / %	3,71	4,64	2,38	1,98

E.D.P = Estimativa do Desvio Padrão; D.P.R. = Desvio Padrão Relativo

5.1.8 - Interferências

Para o estudo de interferência optou-se por estudar os efeitos da própria atrazina e de possíveis metabólitos, tais como a hidroxí-atrazina (HAT), a desetil-atrazina (DEA), a desisopropil-atrazina (DIA) e a didesalquil-atrazina (DDAT), além de espécies inorgânicas como nitrato e Fe^{3+} . A *Tabela 9* mostra os resultados obtidos, sendo que os valores de absorvância apresentados referem-se às medidas no máximo de pico para uma solução de H_2O_2 $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} na presença dos diversos compostos estudados.

Tabela 9 - Efeito de diversas substâncias no sinal analítico de uma solução de H_2O_2 $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} . O desvio foi calculado em relação ao sinal de uma solução de H_2O_2 pura, que foi de $0,238 \pm 0,015$. As medidas foram realizadas em triplicata.

Espécie	Concentração	Absorvância	Desvio / %
AT	1,0 mg L^{-1}	$0,235 \pm 0,008$	-1,3
HAT	1,0 mg L^{-1}	$0,222 \pm 0,004$	-6,7
DIA	1,0 mg L^{-1}	$0,225 \pm 0,001$	-5,4
DEA	1,0 mg L^{-1}	$0,226 \pm 0,01$	-5,0
DDAT	1,0 mg L^{-1}	$0,236 \pm 0,017$	-0,84
NO_3^-	1,0 mg L^{-1}	$0,237 \pm 0,002$	-0,004
Fe^{3+}	0,010 mol L^{-1}	$0,277 \pm 0,005$	+16,3
Fe^{3+}	0,005 mol L^{-1}	$0,243 \pm 0,002$	+2,1
Oxalato de potássio	0,015 mol L^{-1}	$0,248 \pm 0,004$	+ 4,3

Os resultados mostrados na *Tabela 9* indicam que não ocorre interferência significativa dos metabólitos estudados, principalmente considerando-se que a concentração de interferente estudada foi cerca de 1,0 mg L⁻¹ e a concentração inicial de atrazina no reator é de 100 µg L⁻¹. Os valores sistematicamente negativos observados para AT e para todos outros metabólitos (HAT, DIA, DEA e DDAT) podem ser explicados pela reação direta entre o composto e H₂O₂, sendo que esta reação, entretanto, teria ocorrido em baixa extensão, causando um pequeno decréscimo do sinal para H₂O₂. A formação de nitrato em uma eventual mineralização da amostra de atrazina, também não causaria interferência. Ferro trivalente em concentração de 0,010 mol L⁻¹ causa interferência, provavelmente de origem espectral, aumentando o sinal do branco. Entretanto, na concentração de 5,0 x 10⁻³ mol L⁻¹, a interferência positiva de íons Fe³⁺ foi de apenas 2,4%. Íons oxalato também causam apenas um pequeno aumento do sinal analítico (4,3%) não constituindo uma interferência significativa, se for considerado o nível de ± 5% como o limite aceitável de interferência.

5.2. Desenvolvimento do método CLAE para determinação de AT, DEA, DIA e HAT

Neste trabalho foram encontradas as condições cromatográficas mais apropriadas para a análise simultânea de atrazina e três metabólitos em água após a amostra sofrer o processo de fotodegradação. Em função dos melhores resultados obtidos para a determinação dos herbicidas, estabeleceu-se como a fase móvel ótima para o método a composta de uma solução tampão de ácido acético/acetato de amônio $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (pH= 4,5) e acetonitrila na proporção de 65:35. Na *Figura 15* está apresentado um dos perfis cromatográficos dos padrões de AT, HAT, DEA e DIA nas concentrações 1,0; 2,5; 5,0; 6,0; 40,0; 120,0 e 400,0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

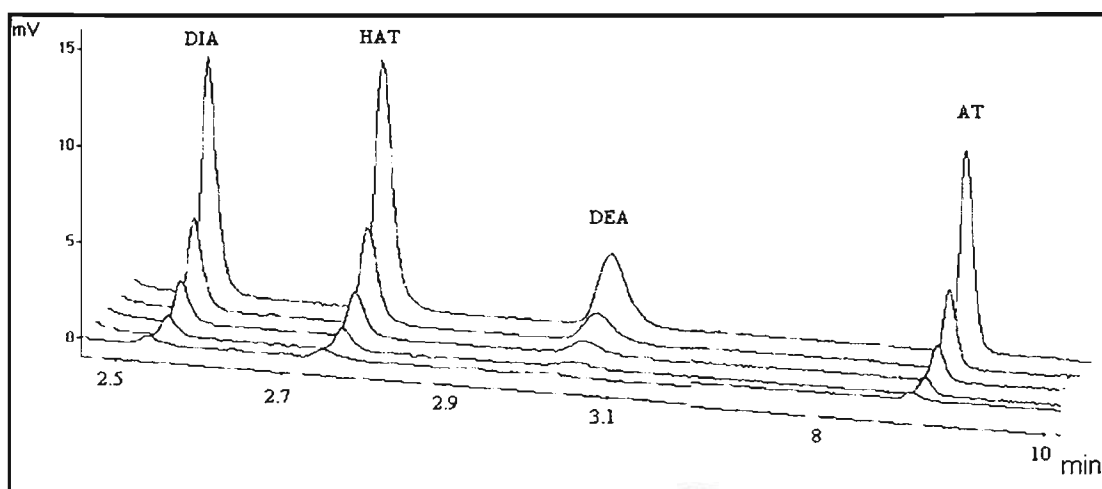


Figura 15. Determinação por CLAE de pesticidas em águas. Soluções padrão de pesticida em cinco níveis de concentração (conforme faixa linear de cada pesticida) condições: FM = 35% ACN e 65% água, sendo em meio de tampão ácido acético/acetato de amônio $2,5 \text{ mmol L}^{-1}$ pH 4,5; 12 minutos de corrida; vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$; $\lambda = 220 \text{ nm}$; volume de amostra = $20 \mu\text{L}$.

Observando-se os cromatogramas da *Figura 15* pode-se verificar que as condições cromatográficas estabelecidas proporcionaram uma excelente separação para os padrões de DIA, HAT, DEA e AT.

A separação dos compostos foi executada facilmente sendo que a corrida cromatográfica foi de 12 minutos, com a vantagem de que com uma única corrida isocrática ter sido possível determinar tanto a atrazina quanto os três produtos de degradação. Concentrações de acetonitrila menores do que 35% (v/v) foram estudadas visando diminuir o consumo deste solvente. Entretanto, quando concentrações de 5 a 10% (v/v) foram testadas, o tempo de retenção da atrazina aumentou para 40 min. Com isso, o consumo de solvente não foi diminuído e o tempo de análise tornou-se muito longo, de modo que se manteve a utilização da fase móvel contendo 35% (v/v) de acetonitrila. A utilização do sistema isocrático torna a técnica mais acessível à maioria dos laboratórios de análises, pois o sistema cromatográfico é mais simples e de menor custo.

5.2.1. Alguns Parâmetros de Validação do Método Cromatográfico

A *Tabela 10* apresenta os intervalos de linearidade e os parâmetros da curva analítica para os herbicidas estudados. Através dos valores obtidos evidenciou-se uma boa linearidade, com valores de coeficiente de correlação superiores a 0,995.

Tabela 10 - Curva analítica e intervalo de linearidade para as soluções padrão dos herbicidas.

Herbicida	a	b	r	Intervalo de linearidade ($\mu\text{g L}^{-1}$)
DIA	172,28	85,83	0,9994	1 – 40
HAT	120,08	14,917	0,9995	5 – 120
DEA	206,11	- 117,67	0,9950	2,5 – 40
AT	177,45	1636,7	0,9997	6 – 400

a = coeficiente angular; b = coeficiente linear e r= coeficiente de correlação

Os limites de detecção e de quantificação foram determinados segundo Moreno e Salvado (2000), IUPAC (2004) e Ribani *et al.* (2004). Para o cálculo do LD utilizou-se o método baseado em parâmetros da curva analítica.

A partir dos dados da *Tabela 10*, pode-se utilizar os coeficientes angulares para o cálculo dos limites de detecção (LD) utilizando a equação :

$$LD = 3 \times \frac{S}{\text{Coef. Angular}}$$

Para calcular estes dados, curvas analíticas foram feitas utilizando a matriz contendo o composto de interesse na faixa de concentração próxima ao limite de detecção (Ribani *et al.*, 2004).

Os mesmos critérios de LD foram adotados para o LQ, utilizando a relação entre a estimativa do desvio padrão da resposta (S) (que foi estimativo

a partir do desvio padrão do branco e da inclinação da curva analítica, em níveis próximos ao LQ, a partir da equação :

$$LQ = 10 \times \frac{S}{\text{Coef. Angular}}$$

Sabe-se que método mais utilizado é o da relação sinal-ruído para técnicas analíticas em geral, porém neste caso, a medida sinal-ruído seria subjetiva (já que a curva analítica foi construída com área e não com o sinal do detector). Além disso, tanto o LD quanto o LQ poderiam ser afetados pelas condições cromatográficas.

A *Tabela 11* apresenta a detectabilidade dos compostos triazínicos quando do emprego da CLAE.

Tabela 11 - Valores de limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para as soluções padrão dos herbicidas.

Herbicida	LD / $\mu\text{g L}^{-1}$	LQ / $\mu\text{g L}^{-1}$
Deisopropil-atrazina	0,3	0,9
Hidróxi-atrazina	1,4	4,7
Desetil-atrazina	0,7	2,3
Atrazina	1,8	6,0

* valores obtidos para o instrumento

O limite de detecção encontrado para a atrazina foi de $1,8 \mu\text{g L}^{-1}$, o qual é inferior ao nível máximo de contaminantes exigido pela *Environmental Protection Agency* (EPA) para águas potáveis e ao exigido pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA, 2004) no Brasil.

A precisão foi determinada em condições de repetitividade em dois parâmetros: tempo de retenção (T_R) e área do pico (Lanças, 2004). A precisão dos resultados obtida com o procedimento analítico usado para a determinação de herbicidas por CLAE foi determinada por 5 repetições da injeção dos padrões analíticos nas concentrações de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ para a atrazina e $40 \mu\text{g L}^{-1}$ para os produtos de degradação. A precisão foi avaliada para níveis de concentração do herbicida estudado. As precisões calculadas em termos de repetitividade, são mostradas nas *Tabelas 12 e 13*.

Tabela 12 - Parâmetros de precisão obtidos para os herbicidas DIA, HAT, DEA e AT relativos as áreas obtidas para cada nível de concentração. E.D.P. = Estimativa de Desvio Padrão; D.P.R. = Desvio Padrão Relativo

Herbicida	DIA $20 \mu\text{g L}^{-1}$	HAT $60 \mu\text{g L}^{-1}$	DEA $20 \mu\text{g L}^{-1}$	AT $100 \mu\text{g L}^{-1}$
	3334	7151	3618	18369
	3335	7482	3575	18371
ÁREA $\times 10^{-3}$	3347	7417	3601	18216
	3356	7274	3580	18356
	3341	7241	3605	18624
MÉDIA	3343	7313	3600	18400
E.D.P.	9	134	18	147
D.P.R. / %	0,3	1,8	0,5	0,8

Tabela 13 - Parâmetros de precisão relativos aos tempos de retenção (T_R) para DIA, HAT DEA e AT obtidas para cada nível de concentração.

Herbicida	DIA	HAT	DEA	AT
	20 $\mu\text{g L}^{-1}$	60 $\mu\text{g L}^{-1}$	20 $\mu\text{g L}^{-1}$	100 $\mu\text{g L}^{-1}$
	2,697	2,808	3,023	9,327
Tempo de	2,599	2,822	3,027	9,338
Retenção	2,598	2,815	3,027	9,345
T_r / min	2,599	2,856	3,024	9,351
	2,597	2,848	3,041	9,357
MÉDIA	2,62	2,83	3,028	9,34
E.D.P.	0,04	0,02	0,007	0,01
D.P.R./ %	1,53	0,71	0,231	0,11

EDP = estimativa do desvio padrão; D.P.R. = desvio padrão relativo

Os valores do D.P.R. referentes às áreas e aos tempos de retenção para os analitos de interesse, apresentados nas *Tabelas 12 e 13*, são inferiores a 3%. Tais valores indicam que o procedimento analítico desenvolvido para a determinação de AT, DIA, DEA e HAT por cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE) com detector UV, mostra uma boa precisão (GARP, 1999). Tais valores são considerados aceitáveis pelos órgãos governamentais e também pela comunidade internacional.

As *Tabelas 14, 15, 16 e 17* apresentam um resumo dos valores encontrados para as diversos parâmetros utilizados na validação do procedimento analítico para a determinação de DIA, HAT, DEA, AT em água por CLAE.

Tabela 14. Resumo dos parâmetros de validação do método para determinação de desisopropil-atrazina (DIA) em água.

PARÂMETROS	VALORES
LINEARIDADE	1 – 40 $\mu\text{g L}^{-1}$
PRECISÃO	1,5%
LD	0,3 $\mu\text{g L}^{-1}$
LQ	0,9 $\mu\text{g L}^{-1}$

LD = Limite de detecção LQ = Limite de quantificação

Tabela 15 - Resumo dos parâmetros de validação do método para determinação de hidróxi-atrazina em água (HAT)

PARÂMETROS	VALORES
LINEARIDADE	5 a 120 $\mu\text{g L}^{-1}$
PRECISÃO	1,8%
LD	1,4 $\mu\text{g L}^{-1}$
LQ	4,7 $\mu\text{g L}^{-1}$

LD = Limite de detecção LQ = Limite de quantificação

Tabela 16 - Resumo dos parâmetros de validação do método para determinação de desetil-atrazina (DEA) em água.

PARÂMETROS	VALORES
LINEARIDADE	2,5 – 40 $\mu\text{g L}^{-1}$
PRECISÃO	0,5%
LD	0,7 $\mu\text{g L}^{-1}$
LQ	2,3 $\mu\text{g L}^{-1}$

LD = Limite de detecção LQ = Limite de quantificação

Tabela 17 - Resumo dos parâmetros de validação do método para determinação de atrazina (AT) em água.

PARÂMETROS	VALORES
LINEARIDADE	6 – 400 $\mu\text{g L}^{-1}$
PRECISÃO	0,8%
LD	1,8 $\mu\text{g L}^{-1}$
LQ	6,1 $\mu\text{g L}^{-1}$

LD = Limite de detecção LQ = Limite de quantificação

5.3. Estudo da aplicação do processo foto-Fenton na degradação de atrazina

5.3.1. Influência da concentração do reagente de fenton na remoção de peróxido de hidrogênio.

Neste trabalho estudou-se aplicabilidade do processo foto-Fenton utilizando irradiação artificial no tratamento de amostras de águas artificialmente contaminadas com atrazina.

A fim de avaliar a influência da concentração do reagente de Fenton no tratamento da água contendo atrazina, foram feitos experimentos de fotodegradação em concentrações iniciais de H_2O_2 de 2,0, 5,0 e 6,0 $\times 10^{-3}$ mol L^{-1} . Como fonte de ferro foi utilizada solução de ferrioxalato de potássio (FeOx) nas concentrações de 0,20, 0,50 e 1,0 $\times 10^{-3}$ mol L^{-1} , respectivamente.

As reações foto-Fenton foram realizadas em reatores de 600 mL (conforme sistema (Figura 4) mantidos a 25° C.

Os testes, a pH 2,8, entre tempos de 60 e 80 minutos de reação, foram realizados variando-se a concentração do reagente de Fenton.

Como a eficiência do processo foto-Fenton está sendo determinada neste trabalho em função da degradação da atrazina por CLAE, é importante determinar a concentração residual de peróxido de hidrogênio, uma vez que alguns autores citam o peróxido de hidrogênio residual como um parâmetro importante no processo de fotodegradação, visto que uma vez consumido, a reação de fotodegradação torna-se mais lenta ou não prossegue (Oliveira (2001) e Silva (2004)).

A *Figura 16* mostra e a influência do tempo de reação e da concentração do reagente de Fenton no sinal analítico para a determinação de peróxido de hidrogênio.

Observa-se que a velocidade de decomposição do H_2O_2 foi dependente do aumento da concentração de H_2O_2 , sendo maior para a concentração de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

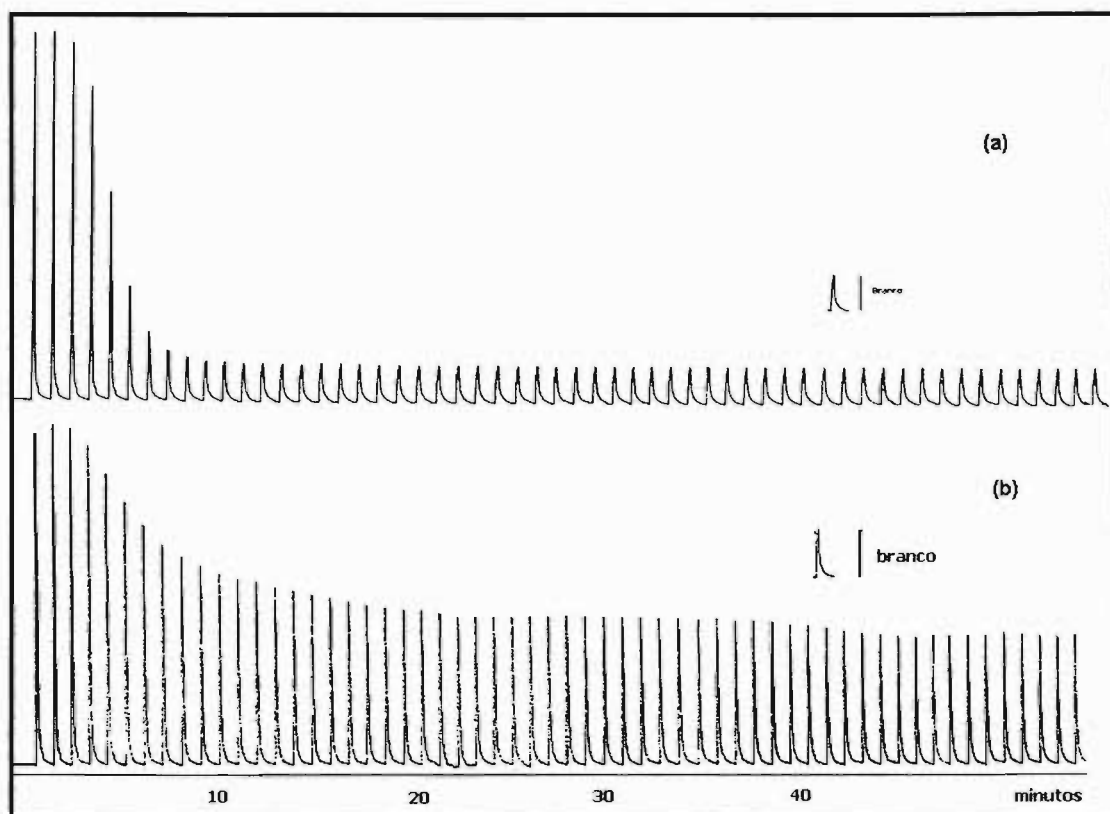


Figura 16 - Influência do tempo de reação no sinal analítico de H_2O_2 . (a) condições: solução padrão de atrazina $100 \mu\text{g L}^{-1}$ pH 2,8; reagente Fenton (Ferrioxalato de Potássio $0,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, H_2O_2 $2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, lâmpada (8 W UV 254 nm)); registro do sinal de peróxido de hidrogênio (446nm). (b) condições: solução padrão de atrazina $100 \mu\text{g L}^{-1}$ pH 2,8; reagente Fenton (Ferrioxalato de Potássio $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, H_2O_2 $6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; lâmpada (8 W UV 254 nm)); registro do sinal de peróxido de hidrogênio (446nm).

A Tabela 18 mostra o peróxido de hidrogênio totalmente consumido após 6 minutos de fotodegradação quando se utilizou a concentração inicial de $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de H_2O_2 e $0,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de FeOx e 10 minutos quando se utilizou a concentração inicial de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de H_2O_2 e $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de FeOx.

Tabela 18 – Consumo de peróxido de hidrogênio no processo de fotodegradação de atrazina (A) Condições: $[AT]_0 = 100 \mu\text{g L}^{-1}$; $[H_2O_2]_0 = 2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[FeOx]_0 = 0,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $pH=2,8$; Lamp UV 254 nm. (B) : $[AT]_0 = 100 \mu\text{g L}^{-1}$; $[H_2O_2]_0 = 5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[FeOx]_0 = 0,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $pH=2,8$; Lamp UV 254 nm.

Tempo / min	(A) Concentração / mmol L ⁻¹	(B) Concentração / mmol L ⁻¹
1	1,72 ± 0,1	4,3 ± 0,1
2	1,71 ± 0,04	4,3 ± 0,2
3	1,6 ± 0,1	4,13 ± 0,1
4	1,49 ± 0,07	4,08 ± 0,1
5	0,45 ± 0,08	3,78 ± 0,07
6	0,3 ± 0,1	2,4 ± 0,1
7	<LD	1,1 ± 0,1
8	<LD	0,71 ± 0,1
9	<LD	0,5 ± 0,1
10	<LD	<LD
40	<LD	<LD
80	<LD	<LD

*média de três determinações

Para a concentração de $6,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, a concentração de H_2O_2 foi reduzida para $1,43 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (Tabela 19), o que correspondeu ao consumo de proximadamente 76 %, sendo os resultados similares aos de Oliveira *et al.*(2001) que obtiveram 73% do peróxido de hidrogênio consumido na fotodegradação de ácido dicloroacético.

Tabela 19 - Consumo de peróxido de hidrogênio durante fotodegradação de atrazina. Condições: $[\text{AT}]_0 = 100 \mu\text{g L}^{-1}$; $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 = 6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{FeOx}]_0 = 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $\text{pH}=2,8$; Lamp UV 254 nm.

Tempo / min	Concentração /mmol L ⁻¹
1	4,9 ± 0,1
5	4,07 ± 0,07
10	2,74 ± 0,04
15	2,51 ± 0,04
20	2,16 ± 0,04
25	2,11 ± 0,04
30	2,08 ± 0,02
40	1,91 ± 0,04
80	1,43 ± 0,04

*média de três determinações

A Figura 17 mostra que o decaimento do peróxido de hidrogênio aumentou com o aumento da relação $[H_2O_2]: [FeOx]$.

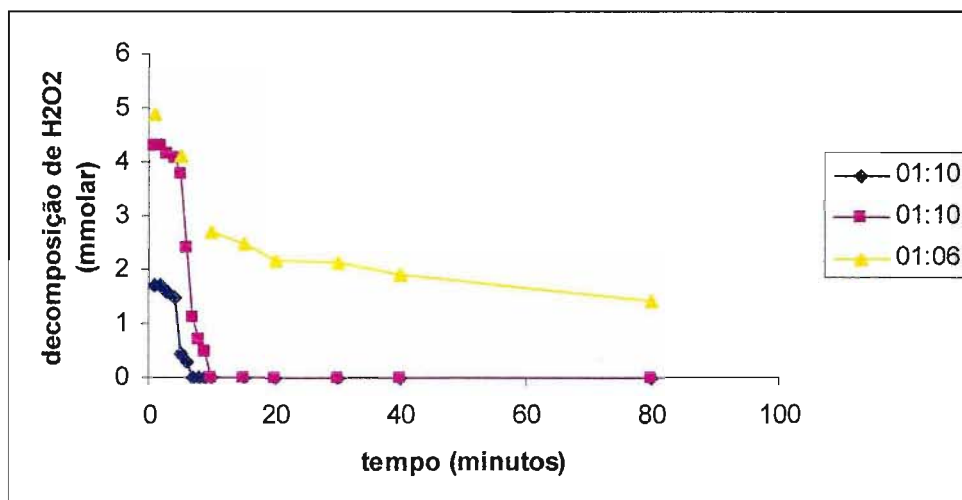


Figura 17 – Decaimento da concentração de H_2O_2 com tempo de fotodegradação, em $[H_2O_2]: [FeOx]$: 2: $0,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; 5: $0,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e 6: $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

5.3.2. Efeito da reação foto-Fenton na degradação de atrazina

Utilizando-se condições otimizadas foi estudada a degradação da atrazina, cujos resultados são apresentados nas Figuras 18 e 19.

Na tabela 20, observa-se uma diminuição da concentração de atrazina em toda região monitorada, nos primeiros 10 minutos, com diminuição progressiva nos tempos restantes. Estudos cromatográficos indicam a oxidação de 57% de atrazina após 60 minutos do monitoramento, mostrando a presença de substâncias intermediárias (DIA e DEA), normalmente relacionadas com os primeiros intermediários formados a partir da degradação de atrazina por processos oxidativos (Saltmiras e Lembey, 2002; Arnold et al.;1995).

Tabela 20 - Influência do tempo de irradiação na degradação de atrazina sob irradiação artificial = 60 minutos. Condições: $[AT]_0 = 100 \mu\text{g L}^{-1}$; $[H_2O_2]_0 = 6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[FeOx]_0 = 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $pH=2,8$; Lamp UV 254 mm.

Tempo min	Concentração / $\mu\text{g L}^{-1}$			
	AT	HAT	DIA	DEA
0	99,00 \pm 0,02	< LD	< LD	< LD
10	76,11 \pm 0,03	< LQ	2,91 \pm 0,08	2,22 \pm 0,03
20	61,05 \pm 0,08	< LQ	3,25 \pm 0,02	2,31 \pm 0,01
30	47,2 \pm 0,2	< LQ	4,22 \pm 0,05	2,84 \pm 0,02
60	43,1 \pm 0,4	< LQ	4,9 \pm 0,07	3,14 \pm 0,03

*expressam a média de quatro experimentos

As Tabelas 21 e 22 mostram a oxidação de atrazina utilizando 2,0 e 5,0 mmol L^{-1} de H_2O_2 e 0,20 e 0,50 mmol L^{-1} de FeOx, respectivamente.

Com relação a oxidação quando se usa $2,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de H_2O_2 e $0,20 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ FeOx houve perdas de 88% da concentração de atrazina após 60 segundos do processo (Tabela 22), esses resultados se apresentaram similares aos de Gallard *et al.* (1999) que obtiveram 90% de degradação em 40 segundos de fotodegradação em condições similares ao estudo. Após 80 minutos de fotodegradação 98% de atrazina foi degradada (Arnold *et al* 1995) e foram detectados os metabólitos desetil-atrazina (DEA), desisopropil-atrazina (DIA) e hidróxi-atrazina.

Tabela 21 - Influência do tempo de irradiação na degradação de atrazina sob irradiação artificial. Condições: $[AT]_0 = 100 \mu\text{g L}^{-1}$; $[H_2O_2]_0 = 2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[FeOx]_0 = 0,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $pH=2,8$; Lamp UV 254 nm.

Tempo Min	Concentração / $\mu\text{g L}^{-1}$			
	AT	DIA	HAT	DEA
0	99,6 ± 0,1	< LD	< LD	< LD
1	11,4 ± 0,5	< LD	< LD	11,6 ± 0,5
10	4,74 ± 0,2	7,2 ± 0,1	< LD	9,34 ± 0,05
20	<LQ	5,61 ± 0,08	<LQ	6,98 ± 0,04
30	<LQ	4,18 ± 0,08	<LQ	6,51 ± 0,08
40	< LD	3,78 ± 0,05	<LQ	5,54 ± 0,05
50	< LD	3,28 ± 0,08	<LQ	5,45 ± 0,05
60	< LD	3,21 ± 0,03	<LQ	5,28 ± 0,03
70	< LD	3,98 ± 0,03	<LQ	4,52 ± 0,05
80	< LD	4,03 ± 0,04	<LQ	4,32 ± 0,08

*expressam a média de quatro degradações

Tabela 22 - Influência do tempo de irradiação na degradação de atrazina sob irradiação artificial = 80 minutos. Condições: $[AT]_0 = 100 \mu\text{g L}^{-1}$; $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 = 5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{FeOx}]_0 = 0,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $\text{pH}=2,8$; Lamp UV 254 nm.

Tempo min	Concentração / $\mu\text{g L}^{-1}$			
	AT	DIA	HAT	DEA
0	85 ± 1	<LD	<LD	<LD
10	70 ± 2	<LD	<LQ	$2,18 \pm 0,1$
20	64 ± 2	$3,5 \pm 0,8$	<LQ	$3,2 \pm 0,5$
30	55 ± 1	$4,8 \pm 0,1$	<LQ	$6,97 \pm 0,05$
40	41 ± 3	$5,2 \pm 0,1$	< LQ	$7,3 \pm 0,1$
50	31 ± 1	$3,1 \pm 0,2$	< LQ	$4,9 \pm 0,2$
60	23 ± 1	$2,3 \pm 0,2$	< LQ	$3,1 \pm 0,2$
70	15 ± 1	<LD	< LQ	$3,1 \pm 0,2$
80	<LD	<LQ	< LD	<LQ

* média de três determinações

O efeito da concentração de peróxido de hidrogênio na oxidação de compostos orgânicos tem sido discutido por diversos autores, que têm encontrado resultados contraditórios.

Segundo Saltimiras *et al.* (2002) para relações molares $[\text{Fe}^{2+}]$: $[\text{H}_2\text{O}_2]$ 1:10 a oxidação de atrazina aumenta.

À medida que aumenta a concentração de peróxido de hidrogênio e a relação $[\text{FeOx}]:[\text{H}_2\text{O}_2]$ verificou-se maior degradação de atrazina. Nos experimentos em que se utiliza a relação do reagente de Fenton 1:10 foi observado o consumo total de H_2O_2 em no máximo 10 minutos, este consumo não influenciou na velocidade de oxidação da atrazina, pois mesmo após seu consumo a reação prosseguiu.

Em relação à formação dos produtos de degradação: hidróxi-atrazina, desisopropil-atrazina e de desetil-atrazina, a oxidação desses compostos foi dependente da concentração de H_2O_2 , (*Figura 18*) sendo maior para a concentração de $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (*Figura 19*).

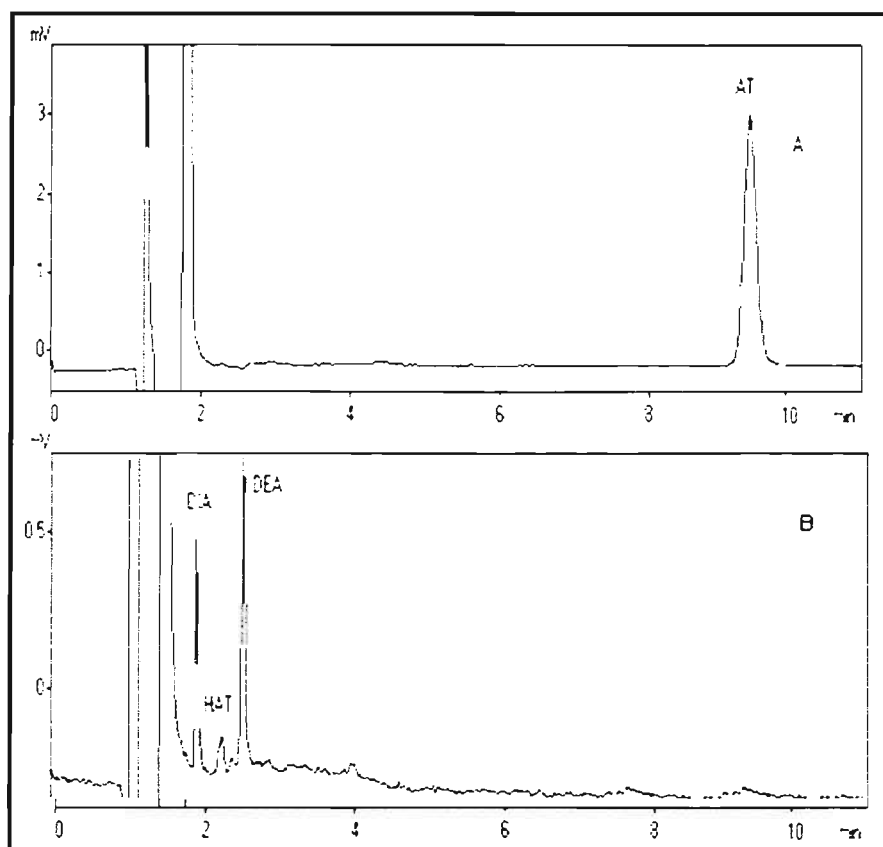


Figura 18. Determinação por CLAE de pesticidas em águas. (A) soluções padrão de atrazina $[AT]_0$ $100 \mu\text{g L}^{-1}$. Condições: FM = 35% ACN e 65% água, sendo em meio de tampão ácido acético/acetato de amônio $2,5 \text{ mmol L}^{-1}$ pH 4,5; 12 minutos de corrida; vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$; $\lambda = 220 \text{ nm}$; volume de amostra = $20 \mu\text{L}$. (B) cromatograma da amostra fotodegradada Condições: $[AT]_0$ $100 \mu\text{g L}^{-1}$; $[H_2O_2]_0 = 2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ $[FeOx]_0 = 0,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; pH=2,8; Lamp UV 254 nm.

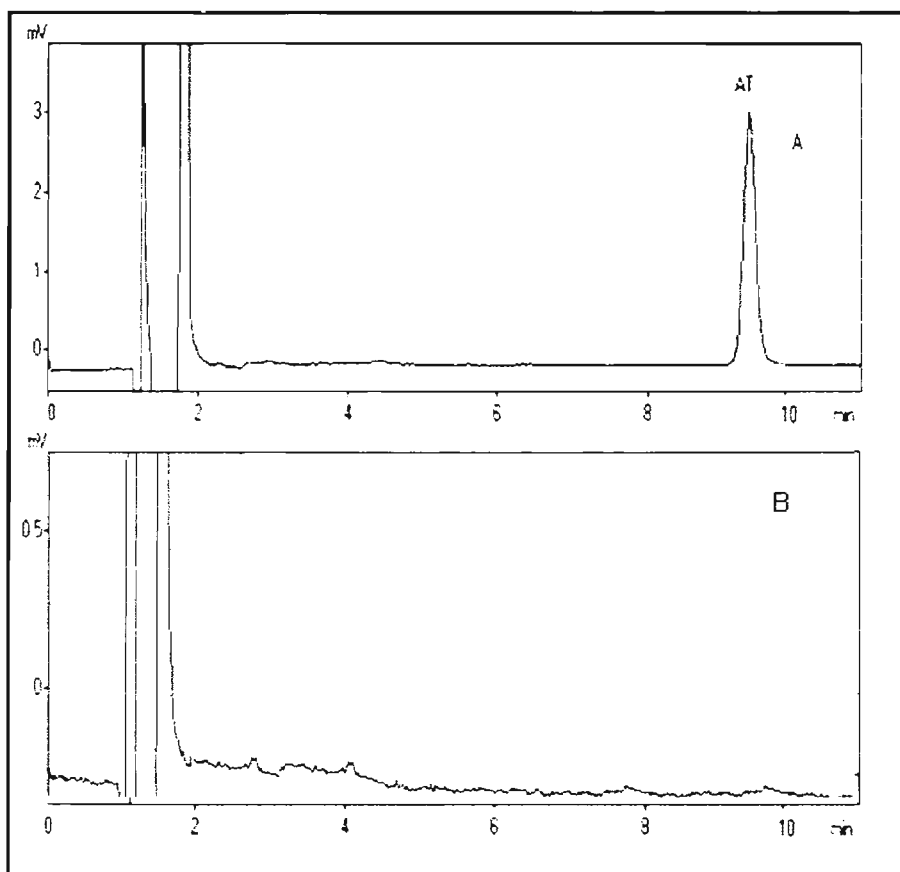


Figura 19. Determinação por CLAE de pesticidas em águas. (A) soluções padrão de atrazina $[AT]_0$ $100 \mu\text{g L}^{-1}$. Condições: FM = 35% ACN e 65% água, sendo em meio de tampão ácido acético/acetato de amônio $2,5 \text{ mmol L}^{-1}$ pH 4,5; 12 minutos de corrida; vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$; $\lambda = 220 \text{ nm}$; volume de amostra = $20 \mu\text{L}$. (B) cromatograma da amostra fotodegradada. Condições: $[AT]_0$ $100 \mu\text{g L}^{-1}$; $[H_2O_2]_0 = 5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[FeOx]_0 = 0,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; pH=2,8; Lamp UV 254 mm.

Com relação à oxidação quando se usa $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de H_2O_2 e $0,50 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ FeOx houve perdas de 30% da concentração de atrazina após 10 minutos do processo (Tabela 22). Após 80 minutos de fotodegradação 98% de atrazina foi oxidada (Arnold *et al.* 1995) e os metabólitos DEA e DIA não foram detectados.

O primeiro produto de degradação formado foi de DEA seguido de DIA, esses resultados se apresentaram similares aos de Saltmiras e Lembey (2002) e também estão de acordo com Arnold *et al.* (1995). Estes últimos autores propuseram várias rotas de degradação da atrazina, conforme mostrado na *Figura 20*. Em uma destas rotas o radical HO• ataca a atrazina inicialmente no carbono secundário da cadeia etilamino, removendo um átomo de H e produzindo um radical livre (RNHC•CH₃). Oxigênio molecular reage com este radical dando um radical peróxido de atrazina (RNHC(OO•)HCH₃) que é reduzido por Fe²⁺ para formar um hidroperóxido (RNHC(OOH)HCH₃), que por sua vez forma uma amida pela oxidação do carbono secundário com perda de H₂O (rota a, *Figura 20*). Hidrólise ácida cliva a amida (rota f, *Figura 20*), promovendo a desalquilação e formação de DEA. A desalquilação pode ocorrer também por retirada do H do carbono secundário da cadeia etilamino ou isopropilamino, seguida pela introdução de um átomo de O do radical HO•, ou de alguma espécie de oxi-hidróxido de Fe (III), formando um álcool adjacente a um átomo de N eletronegativo. Este álcool é instável e decompõe-se em um aldeído e em uma triazina desalquilada (rotas b e d, *Figura 20*). Ainda, a hidroxilação pode ocorrer por ataque do radical HO• ao anel triazínico na posição ocupada pelo átomo de cloro, oxidando o anel aromático triazínico da atrazina.

Assim, a rota de degradação pode ser proposta levando-se em consideração a natureza química dos produtos formados. Para propor as rotas descritas na *Figura 20*, Arnold *et al.* (1995) se basearam especialmente em medidas feitas por CG-MS e por HPLC-MS-MS. Hidroxilação (perda de cloro), oxidação de cadeias laterais e/ou clivagem ocorrem paralelamente,

gerando atrazina amida, DEA, simazina amida, DIA, hidroxi-atrazina amida (rotas a – e, *Figura 20*) como primeiros produtos de degradação. Estes produtos iniciais podem sofrer outras reações de oxidação e ou clivagem para formar desisopropil-atrazina amida e clorodiamino-s-triazina (reações j, l e m, *Figura 20*). Reações similares ocorrem com a simazina amida e DIA, resultando nos mesmos compostos (rotas h, i, k, m e n, *Figura 20*). Uma série análoga de reações é esperada com produtos hidroxilados (rota p, *Figura 20*). Segundo Arnold *et al.* (1995) a perda de cloro dos derivados desalquilados tem grande potencial para ocorrer, pois o tratamento dos produtos terminais desisopropil atrazina amida e clorodiamino-s-triazina resultou em pequenas transformações, gerando produtos desaminados e/ou hidroxilados, tais com o a amelina (2,4-diamino-6-hidroxi-s-triazina). Arnold *et al.* (1995) verificaram ainda que as amidas formadas são instáveis, sendo facilmente clivadas, formando DEA, DIA e clorodiamino-s-triazina (também denominada didesalquil-atrazina).

Os resultados obtidos na presente tese estão concordantes com os mecanismos propostos por Arnold *et al.* (1995), uma vez que se verificou a formação de DEA e DIA, que seriam os principais produtos de degradação com estabilidade química suficiente no meio reacional para serem detectados por CLAE. Entretanto, conforme a reação de Fenton procede, DEA e DIA também são degradados no meio reacional. Os dados experimentais aqui obtidos não permitem inferir sobre a natureza dos produtos finais obtidos.

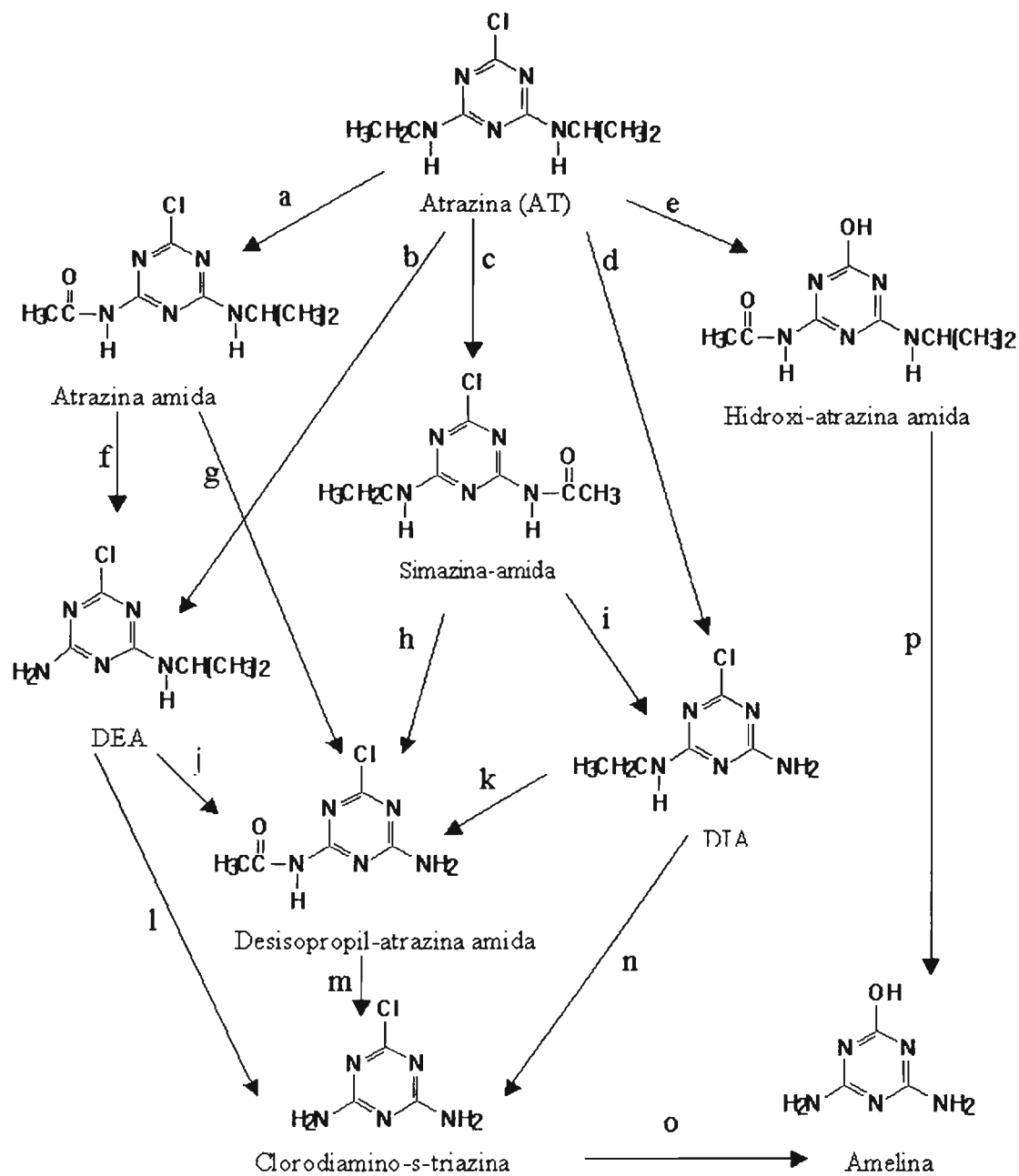


Figura 20. Rotas de degradação da atrazina por reação de foto-Fenton proposta por Arnold et al. (1995).

A partir das informações da literatura, pode-se inferir que o processo de foto-Fenton não leva à mineralização da atrazina, ou seja, esta não é decomposta a CO_2 , H_2O , NO_3^- e Cl^- . Compostos com DEA e DIA, que têm toxicidade similar a atrazina são degradados no processo. Coerentemente com o mecanismo proposto por Arnold *et al.* (1995), a formação de HAT não foi observada em nossos experimentos.

6. CONCLUSÕES

O sistema de injeção seqüencial se mostrou adequado para a determinação e monitoramento de peróxido de hidrogênio, gerando baixos volumes de resíduos no final de cada determinação.

O método cromatográfico utilizando coluna de fase reversa e eluição isocrática foi adequado para a resolução dos pesticidas em um tempo de corrida de 12 minutos. O método permitiu separar facilmente os compostos estudados, bem como, quantificar concentrações da ordem de $5 \mu\text{g L}^{-1}$. O limite de detecção alcançado de $1,8 \mu\text{g L}^{-1}$ para a atrazina está de acordo com os limites exigidos por órgãos de proteção ambiental (EPA - $3 \mu\text{g L}^{-1}$ e CONAMA - $2 \mu\text{g L}^{-1}$), indicando a potencialidade de aplicação do método.

Foram encontradas condições importantes para a fotodegradação de atrazina utilizando processo de foto-Fenton, sendo observada a proporção molar de 1:10 do reagente de Fenton como melhor para a oxidação da atrazina, hidróxi-atrazina, desisopropil-atrazina e de desetil-atrazina.

A simplicidade e o baixo custo são características importantes do processo proposto e podem viabilizar a sua aplicação no tratamento de águas de lavagens de frutas, verduras e na remediação de corpos d' água já contaminados. Esse depende basicamente do pH da solução, irradiação, da fonte de ferro e do peróxido de hidrogênio que foi a variável de maior influência ao processo.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

As metodologias desenvolvidas nesta tese poderão ser aplicadas, em diferentes trabalhos sobre oxidação de pesticidas (atrazina e metabólitos) e na decomposição de peróxido de hidrogênio. Estes estudos podem fornecer informações sobre as cinéticas de decomposição desses compostos. Estas informações podem ser de grande utilidade no gerenciamento de processos de fotodegradação de recuperação de ambientes contaminados.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ↵ ABIQUIM. **A indústria química em 2005**. Associação Brasileira da Indústria Química. Disponível em: [http:// www.abiquim.org.br](http://www.abiquim.org.br). Acesso em 22 jun.2006.
- ↵ ALLOWAY, B.J.; AYRES, D.C. **Chemical principles of environmental pollution**. 2.ed. London, New York: Blackie Academic Professional, 1997. 395p.
- ↵ ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. **Resolução RE n.899, de 29 de maio de 2003**. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos"; fica revogada a Resolução RE n.475, de 19 de março de 2002. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=15132&word=>. Acesso em: 22 jun. 2006.
- ↵ ARAÚJO, A.N.; COSTA, R.C.C.; LIMA, J.L.F.C. Application of sequential injection analysis to the assay of lead retention characteristics by poly (vinylpyrrolidone): trace analysis of lead in waters. **Analytical Sciences**, v.15, n.10, p.991, 1999.
- ↵ ARNOLD, S.M.; HICKEY, W.J.; HARRIS, R.F. Degradation of atrazine by Fenton's reagent: condition optimization and product quantification. **Environmental Science & Technology**, v.29, n.8, p.2083-2089, 1995.
- ↵ ASARE, D.K.; SAMMIS, T.W.; SMEAL, D.; ZHANG, H.; SITZE, D.O. Modeling an irrigation management strategy for minimizing the leaching of atrazine. **Agricultural Water Management**, v.48, p.225-238, 2001.
- ↵ BALZANI, V.; CARASSITI, V. **Photochemistry of coordination compounds**. London, New York: Academic Press, 1970. 432p.
- ↵ BAUER, R.; FALLMANN, H. The photo-fenton oxidation- a cheap and efficient wastewater treatment method. **Research on Chemical Intermediates**, v.23, p.341-354, 1997.

- ↳ BERG, M.; MÜLLER, S.R.; SCHWARZENBACH, R.P. Simultaneous determination of triazines including atrazine and their major metabolites hydroxyatrazine, deethylatrazine, and deisopropylatrazine in natural waters. **Analytical Chemistry**, v.67, p.1860-1865, 1995.
- ↳ BIGDA, R.J. Consider Fenton's chemistry for wastewater treatment. **Chemical Engineering Progress**, v.91, p.62-66, 1995.
- ↳ BOSSI, R.K.V.; VEJRUP, K.V.; MOGENSEN, B.B.; ASMAN, W.A.H. Analysis of polar pesticides in rainwater in Denmark by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography, A**, v.957, n.1, p.27-36, 2002.
- ↳ BUDAVARI, S., O'NEIL, M.J., SMITH, A., HECKELMAN, P.E. (editors), 1989. **The Merck Index**, eleventh edition, Merck & CO., Inc.
- ↳ CERDÁ, A.; OMN, M.T.; FORTEZA, R.; CERDÁ, V. Sequential injection sandwich technique for the simultaneous determination of nitrate and nitrite. **Analytica Chimica Acta**, v.371, p.63, 1998.
- ↳ CHAMARRO, E.; MARCO, A.; ESPLUGAS, S. Use of Fenton reagent to improve organic chemical biodegradability. **Water Research**, v.35, n.4, p.1047-1051, 2001.
- ↳ CHAN, K.H.; CHU, W. The system of atrazine oxidation by catalytic oxidation process through a kinetic. **Water Research**, v.37, p.3997-4003, 2003.
- ↳ CHASIN, A.A.M.; NASCIMENTO, E.S.; RIBEIRO NETO, L.M.; SIQUEIRA, M.E.P.B.; ADRAUS, M.H.; SALVADOR, M.C.; FARNÍCOLA, N.A.G.; GORNI, R.; SOLCEDO, S. Validação de métodos em análise toxicológicas: uma abordagem geral. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v.11, p.1-6, 1998.
- ↳ CHEN, J.; RULKENS, W.H.; BRUMING, H. Photochemical elimination of phenols and COD in industrial wastewaters. **Water Science and Technology**, v.35, n.4, p.103-110, 1997.
- ↳ CHRISTIAN, G.D. Sequential injection analysis for electrochemical measurements and process analysis. **Analyst**, v.199, p.2309, 1994.

- ↵ CIOLINO, H.P.; LEVINE, R.L. Modification of proteins in endothelial cell death during oxidative stress. **Free Radical Biology & Medicine**, v.22, n.7, p.1277-1282, 1997.
- ↵ CLAPP, P.A.; EVANS, D.F.; SHERIFF, T.S.S. Spectrophotometric determination of hydrogen peroxide after extraction with ethyl acetate. **Analytica Chimica Acta**, v.218, p.331-334, 1989.
- ↵ CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. **Portaria n.518, de 25 de março de 2004**. Estabelece procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=22322&word=>. Acesso em: 22, jun.2006.
- ↵ COOPER, W.J.; ZIKA, R.G.; PETASNE, R.G.; PLANE, J.M.C. Photochemical formation of H₂O₂ in natural water exposed to sunlight. **Environmental Science & Technology**, v.22, p.1156-1160. 1988.
- ↵ D'AMATO, C.; TORRES, J.P.M.; MALM, O. DDT (dicloro difenil tricloroetano): toxicidade e contaminação ambiental: uma revisão. **Química Nova**, v.25, n.6, p.995-1002, 2002.
- ↵ DEAN, J.R.; WADE, G.; BARNABAS, I.J. Determination of triazine herbicides in environmental samples. **Journal of Chromatography, A**, v.733, p.295-335, 1996.
- ↵ DENG, Y.; ZUO, Y. Factors affecting the levels of hydrogen peroxide in rainwater. **Atmospheric Environment**, v.33, n.9, p.1469-1478, 1999.
- ↵ DIDENKO, Y.T.; PUGACH, S.P. Spectra of water sonoluminescence. **Journal of Physical Chemistry A**, v.98, n.39, p.9742-9749, 1994.
- ↵ DÓREA, H.S. **Análise multiresíduos de pesticidas organofosforados e piretróides em frutas por CG, após extração com fluido supercrítico.Comparação com LLE, SPE e MSPD**. São Carlos, 1999.

182p. Tese de Doutorado - Instituto de Química de São Carlos - Universidade de São Paulo.

- ↵ DURAND, G.; BARCELÓ, D. Confirmation of chlorotriazine pesticides, their degradation products and organophosphorus pesticides in soil samples using gas chromatography-mass spectrometry with electron impact and positive and negative-ion chemical ionization. **Analytica Chimica Acta**, v.243, p.259-271, 1991.
- ↵ EEC Drinking Water Guideline, 80/779/EEC, EEC n°. L229/11-29, Brussels, 1980. *apud* RISSATO, S.R.; LIBÂNIO, M.; GIAFFERIS, G.P.; GERENUTTI, M. Determinação de pesticidas organoclorados em água de manancial, água potável e solo na região de Bauru (SP). *Química Nova*, v.27, n.5, p.739-743, 2004.
- ↵ ENCICLOPAEDIA BRITANNICA. 2006 **Muller, Paul Hermann**. Disponível em: http://www.britannica.com/nobel/micro/409_42.html. Acesso em: 20 maio 2006.
- ↵ Environmental Law Institute Research Report on Opportunities for Advancing Environmental Justice: An Analysis of US-EPA Statutory Authorities, EPA, Washington, novembro 2001.
- ↵ Environmental Research Foundation, 1997. Informativo via internet
- ↵ ETO, M. **Organophosphorus pesticides**; organic and biological chemistry. Cleveland: CRC, 1974. 387p.
- ↵ EVERSE, J.; EVERSE, K.E.; GRISHAM, M.B.; **Peroxidases in chemistry and biology**. Boca Raton: CRC Press, 1991. 2v.
- ↵ FANG, Z. **Flow injection separation and preconcentration**. Weinheim, New York: VCH, 1993. 259p.
- ↵ FÄRBER, H.; NICK, K.; SCHÖLER, H.F. Determination of hydroxy-s-triazines in water using HPLC or GC-MS. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v.350, p.145-149, 1994.
- ↵ FAUST, B.C.; ZEPP, R.G. Photochemistry of aqueous iron(III)-polycarboxylate complexes: roles in the chemistry of atmospheric and

- surface waters. **Environmental Science & Technology**, v.27, p.2517-2522, 1993.
- ↵ FENG, W.; NANSHENG, D. Photochemistry of hidrolytic iron (III) species and photoinduced degradation of organic compounds: a minireview. **Chemosphere**, v.41, p.1137-1147, 2000.
- ↵ FERNANDEZ ROMERO, J.M.; LUQUE DE CASTRO, M.D. Optical biosensor based on the permanent immobilization of an enzyme and transient retention of a reation product. **Analytical Chemistry**, v.65, p.3048-3052, 1993.
- ↵ FRANCOTTE, E.; DAVATZ, A.; RICHERT, P. Development and validation of chiral high-performance liquid chromatographic methods for the quantitation of valsartan and of the tosylate of valinebenzyl ester. **Journal Chromatography, B: Biomedical Sciences and Applications**, v.686, n.1, p.77-83, 1996.
- ↵ FREIRE, S.R.; PELEGRINE, R.; KUBOTA, L.; DURAN, N.; PERALTA-ZAMORA, P. Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas. **Química Nova**, v.23, n.4., p.504-511, 2000.
- ↵ GALHARDO, C.X.; MASINI, J.C. Sequential injection analysis as a tool for in situ monitoring of Fe(II), Fe(III), NO₃⁻ and NO₂⁻ in natural and waste waters. **Analytica Chimica Acta**, v.438, n.1/2, p.39-48, 2001.
- ↵ GALHARDO, C.X.; MASINI, J.C. Spectrophotometric determination of phosphate and silicate by sequential injection using molybdenum blue chemistry. **Analytica Chimica Acta**, v.417, n.2, p.191-200, 2000.
- ↵ GALLARD H., DE LAAT., J. Kinetic modeling of Fe (III)/H₂O₂ oxidation reactions in dilute aqueous solution using atrazine as a model organic compound. **Water Research**, v.34, p-3107-3116, 2000.
- ↵ GARP Associação Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas. **Manual de resíduos de pesticidas em alimentos**, 1999.

- ↵ GHAUCH, A., RIMA, J., AMINE, C., MARTIN-BOUYER, M. Rapid treatment of water contaminated with atrazine and parathion with zero-valent iron. **Chemosphere**, v.39, n.8, p.1309-1315, 1999.
- ↵ GHAUCH, A., SUPTIL, J. Remediation of s-triazines contaminated water in a laboratory scale apparatus using zero-valent iron powder. **Chemosphere**, v.41, p.1835-1843, 2000.
- ↵ GÓMEZ , E.; TOMÁS, C.; CLADERA, A.; ESTELA, J.M.; CERDÀ, V. Multicomponent techniques in sequential injection. **Analyst**, v.120, p.1181, 1995.
- ↵ GRAYMORE, M.; STAGNITTI, F.; ALLINSON, G. Impacts of atrazine in aquatic ecosystems. **Environment International**, v.26, p.483-495, 2001.
- ↵ GUBELI, T., CHRISTIAN, G.D., RUZICKA, J. Fundamentals of sinusoidal flow sequential injection spectrophotometry. **Analytical Chemistry**, v.63, , n.21, p.2407-2413, 1991.
- ↵ HATCHARD, C.G.; PARKER, C.A. A new sensitive chemical actinometer II. Potassium ferrioxalate as a standard chemical actinometer. **Proceedings of the Royal Society of London, Series A**, v.A235, p.518-536, 1956.
- ↵ HATRÍK, S., TEKEL, J. Extraction methodology and chromatography for the determination of residual pesticides in water. **Journal of Chromatography, A**, v.733, n.1/2, p.217-233, 1996.
- ↵ HIGASKI, K. Relatório do XV Encontro Nacional de Analistas de Resíduos de Pesticidas. São Paulo, 1991, 68.
- ↵ HOLM, T.R.; GEORGE, G.K.; BARCELONA, M.J. Fluorometric determination of hydrogen peroxide in groundwater. **Analytical Chemistry**, v.59, p.582-586, 1987.
- ↵ HUANG, X.M.; ZHU, M.; MAO, L.Y.; SHEN, H.X. Catalytic determination of hydrogen peroxide by using the molybdenum-porphyrin complex as a mimetic enzyme of peroxidase. **Analytical Sciences**, v.13, n.1, p.145-147, 1997.
- ↵ HUANG, Y.P.; CAI, R.X.; MAO, L.Y.; LIU, Z.H.; HUANG, H.P. Spectrophotometric determination of hydrogen peroxide using β -CD-hemin

- as a mimetic enzyme of peroxidase. **Analytical Sciences**, v.15, n.9, p.889-894, 1999.
- ↵ HUSTON, P.L.; PIGNATELLO, J.J. Degradation of selected pesticide active ingredients and commercial formulations in water by the photo-assisted Fenton reaction. **Water Research**, v.33, n.5, p.1238-1246, 1999.
- ↵ INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**: DOQ – CGCRE-008. S.I.: INMETRO, 2003. 36p. Disponível em: http://www.farmacia.ufmg.br/lato/downloads/validacao_inmetro.pdf. Acesso em: 22 jun. 2006.
- ↵ IVASKA, A.; RUZICKA, J. From flow injection to sequential injection: comparison of methodologies and selection of liquid drives. **Analyst**, v.118, n.7, p.885-889, 1993.
- ↵ JENKE, D.R. Chromatographic method validation: a review of current practices and procedures. Part II. Guidelines for primary validation parameters. **Instrumentation Science & Technology**, v.26, n.1, p.1-18, 1998.
- ↵ KARAM, D.; MELHORANÇA, A.L. Plantas daninhas. In: BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistemas de Produção. **Milho**: Sistema de Produção: Cultivo do Milho. 2006. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho/plantasdaninhas.htm>. Acesso em: 22 jun. 2006.
- ↵ KESARI, R.; GUPTA, V.K. A simple method for the spectrophotometric determination on atrazine using p-aminoacetophenone and its application in environmental and biological samples. **Talanta**, v.47, p.1085-1092, 1998.
- ↵ KLASSEN, N.V.; MARCHINGTON, D.; MCGOVAN, H.C.E. H₂O₂ determination by the I₃⁻ method and by KMnO₄ titration. **Analytical Chemistry**, v.66, p.2921, 1994.

- ↳ KOLPIN, D.W.; THURMAN, E.M.; LINHART, S.M. Finding minimal herbicide concentrations in ground water? Try looking for their degradates. **Science of the Total Environment**, v.248, p.115-122, 2000.
- ↳ KRUG, F.J.; BERGAMIN, H.; ZAGATTO, E.A.G. Commutation in flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, v.179, p.103-117, 1986.
- ↳ KRUG, F.J.; REIS, B.F.; GINÉ, M.F.; ZAGATTO, E.A.G.; FERREIRA, J.R.; JACINTHO, A.O. Zone trapping in flow injection analysis. Spectrophotometric determination of low levels of ammonium ions in natural waters. **Analytica Chimica Acta**, v.151, n.1, p.39-48, 1983.
- ↳ KRULL, I.; SWARTZ, M.E. Validation viewpoint: introduction: national and international guidelines. **LC-GC**, v.15, n.6, p.534-540, 1997.
- ↳ LANÇAS, F.M. **Cromatografia em fase gasosa**. São Carlos: ACTA, 1993. p.185-203.
- ↳ LANÇAS, F.M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Carlos: Rima, 2004. 62p. (Métodos cromatográficos de análise, v.6).
- ↳ LEE, J.H.; TANG, I.N.; WEINSTEIN-LLOYD, J.B. A non-enzymatic method for the determination of hydrogen peroxide in atmospheric samples. **Analytical Chemistry**, v.62, n.21, p.2381-2384, 1990.
- ↳ LEITE, F. **Validação em análise química**. Campinas: Átomo, 1996. p.124.
- ↳ LERCH, R.N.; DONALD, W.W. Analysis of hydroxylated atrazine degradation products in water using solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.42, p.922-927, 1994.
- ↳ LIPCZYNSKA-KOCHANY, E.; APRAH, G.; HARMS, S. Influence of some groundwater and surface waters constituents on the degradation of 4-chlorophenol by the Fenton reaction. **Chemosphere**, v.30, p.9-20, 1995.
- ↳ LOOS, R.; NIESSNER, R. 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, p.217-229, 1999.

- ✦ LU, M.C.; ROAM, G.D.; CHEN, J.N.; HUANG, C.P. Photocatalytic oxidation of dichlorvos in the presence of hydrogen peroxide and ferrous ion. **Water Research**, v.30, p.29-38, 1994.
- ✦ LUO, Y.; AL-OTHMAN, R.; CHRISTIAN, G.D.; RUZICKA, J. Flow/sequential injection determination of gaseous ammonia with a glass diffusion denuder. **Talanta**, v.42, n.10, p.1545-1551, 1995.
- ✦ MARTINEZ, C. R.; RODRÍGUEZ-GONZALO, E.; HERRERO-HERNÁNDEZ, E.; SÁNCHEZ-SAN ROMÁN, F.J.; PRADO FLORES, M.G. Determination of herbicides and metabolites by solid-phase extraction and liquid chromatography: evolution of pollution due to herbicides in surface and groundwaters. **Journal of Chromatography, A**, v.950, n.1/2, p.157-166, 2002.
- ✦ MARTINS, D.I. **Destilação a vapor e cromatografia em fase gasosa na determinação de resíduos de herbicidas em alimentos**. São Paulo, 1995. 62p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.
- ✦ MEYER, A.; SARCINELLI, P.N.; MOREIRA, J.C. Estarão alguns grupos populacionais brasileiros sujeitos à ação de disruptores endócrinos? **Cadernos de Saúde Pública**, v.15, n.4, p.845-850, 1999.
- ✦ MICARONI, R.C.C.M., BUENO, M.I.M.S.; JARDIM, W.F. Degradation of acetonitrile residues using oxidation processes. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.15, n.4, p.509-513, 2004.
- ✦ MILLER, J.C.; MILLER, J.N. **Statistics for analytical chemistry**. 2.ed. Chichester, New York: Ellis Horwood Press, 1988. 227p. (Ellis Horwood series in analytical chemistry).
- ✦ MONSON, S.J.; MA, L.; CASSADA, D.A.; SPALDEING, R.F. Confirmation and method development for dechlorinated atrazine from reductive dehalogenation of atrazine with Fe⁰. **Analytica Chimica Acta**, v.373, p.153-160, 1998.
- ✦ MOREIRA, G.M. **Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburga**,

- R.J.. Rio de Janeiro: CESTEJ/ ENSP/ FIOCRUZ/UNIRIO / UFRJ/ DBCG / IBRAG / UERJ, 2001. [Apostila].
- ↵ MORENO, P.; SALVADÓ, V. Determination of eight water and fat-soluble vitamins in mult vitamin pharmaceutical formulations by high performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography, A**, v.870, p.207-215, 2000.
- ↵ NAGABABU, E.; CHREST, F.J.; RIFKIND, J.M. The origin of red cell fluorescence caused by hydrogen peroxide treatment. **Free Radical Biology & Medicine**, v.29, p.659-663, 2000.
- ↵ NAVAS, M.J.; JIMÉNEZ, A.M.; GALÁN, G. Air analysis: determination of hydrogen peroxide by chemiluminescence. **Atmospheric Environment**, v.33, n.14, p.2279-2283, 1999.
- ↵ NOGUEIRA, R.F.P.; GUIMARÃES, J.R. Photodegradation of dichloroacetic acid and 2,4-dichlorophenol by ferrioxalate/H₂O₂ system. **Water Research**, v.34, p.895-901, 2000.
- ↵ NOGUEIRA, R.F.P.; JARDIM, W.F. A fotocatalise heterogênea e sua aplicação ambiental. **Química Nova**, v.21, n.1, p.69-72, 1998.
- ↵ NOGUEIRA, R.F.P.; MODÉ, D.F. Fotodegradação de fenol e clorofenóis por processo foto-fenton mediado por ferrioxalato. **Eclética Química**, v.27, n.espe., p.169-185, 2002.
- ↵ OLIVEIRA, M.C.; NOGUEIRA, R.F.P.; GOMES-NETO, J.A.; JARDIM, W.F.; ROHWEDDER, J.J.R. Sistema de injeção em fluxo espectrofotométrico para monitorar peróxido de hidrogênio em processo de fotodegradação por reação foto-fenton. **Química Nova**, v.24, n.2, p.188-190, 2001.
- ↵ OLIVEIRA, P.C.C.; MASINI, J.C. Sequential injection determination of chromium (VI) by transient oxidation of brucine with spectrophotometric detection and in-line dilution. **Analyst**, v.123, n.10, p.2085-2090, 1998.
- ↵ PASQUINI, C.; OLIVEIRA, W.A. Monosegmented system for continuous flow analysis. Spectrophotometric determination of chromium (VI), ammonia and phosphorus. **Analytical Chemistry**, v.57, p.2575-2579, 1985.

- ✦ PEÑA, R.M.; GARCIA, S.; HERRERO, C.; LUCAS, T. Measurements and analysis of hydrogen peroxide rainwater levels in a northwest region of Spain. **Atmospheric Environment**, v.35, p.209-219, 2001.
- ✦ PIGNATELLO, J.J. Dark and photoassisted Fe^{3+} - catalyzed degradation of chlorophenoxy herbicides by hydrogen peroxide. **Environmental Science & Technology**, v.26, p.944-951, 1992.
- ✦ PINHEIRO, S.; NASR, N.Y.; LUZ, D. **Agricultura ecológica e a máfia dos agrotóxicos no Brasil**. Fundação Junqueira/Candiru. Rio de Janeiro: , 1998.
- ✦ PINKERNELL, U.; EFFKEMANN, S.; KARST, U. Simultaneous HPLC determination of peroxyacetic acid and peroxide hydrogen. **Analytical Chemistry**, v.69, p.3623-3627, 1997.
- ✦ PRICE, D.; WORSFOLD, P.J.; MANTOURA, R.; Fauzi, C. Hydrogen peroxide in the marine environment: cycling and methods of analysis. **TrAC, Trends in Analytical Chemistry**, v.11, n.10, p.379-384, 1992.
- ✦ QIN, W.; ZHANG, Z.; LI, B.; LIU, S. Chemiluminescence flow-sensing system for hydrogen peroxide with immobilized reagents. **Analytica Chimica Acta**, v.372, p.357-363, 1998.
- ✦ QUEIROZ, M.E.C.; LANÇAS, F.M. HRGC study of sorption and desorption of atrazine, ametryn and metolachlor on Brazilian soils. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.8, n.1, p.1-6, 1997.
- ✦ REIS, B.F.; GINÉ, M.F.; KRONKA, E.A.M. A análise química por injeção em fluxo contínuo. **Química Nova**, v.12, p.82-91, 1989.
- ✦ RIBANI, M. Conceitos de validação em métodos cromatográficos, aplicados na determinação de omeprazol e impurezas em cápsulas e comprimidos. **Tese de mestrado**, Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas, 96p., 2004.
- ✦ RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F.; MELO, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v.27, n.5, p.771-780, 2004.

- ↳ ROBARDS, K.; MCKELVIE, I.D.; BENSON, R.; WORSFOLD, P.J.; BLUNDELL, N.J.; CASEY, H. Determination of carbon, phosphorus, nitrogen and silicon species in waters. **Analytica Chimica Acta**, v.287, p.147, 1994.
- ↳ RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. **Flow injection analysis**. 2.ed. New York: John Wiley, 1988. 498p. (Chemical analysis, v.62). JAVARONI, R.C.A.; LANDGRAF, M.D.; REZENDE, M.O.O. Comportamento dos herbicidas atrazina e alaclor aplicados em solo preparado para o cultivo de cana-de-açúcar. **Química Nova**, v.22, v.1, p.58-64, 1999.
- ↳ RUZICKA, J.; MARSHALL, G.D. Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. **Analytica Chimica Acta**, v.237, p.329, 1990.
- ↳ SABIK, H.; COOPER, S.; LAFRANCE, P.; FOURNIER, J. Determination of atrazine, its degradation products and metolachlor in runoff water and sediments using solid-phase extraction. **Talanta**, v.42, n.5, p.717-724, 1995.
- ↳ SAFARZADEH-AMIRI, A.; BOLTON, J.R.; CARTER, S.R. Ferrioxalate-mediated solar degradation of organic contaminants in water. **Solar Energy**, v.56, p.439-444, 1996.
- ↳ SAFARZADEH-AMIRI, S.A.; BOLTON, R.J.; CATER, R.S. Ferrioxalated photodegradation of organic pollutants in contaminated water. **Water Research**, v.31, n.4, p.787-798, 1997.
- ↳ SALTMIRAS, A.D.; LEMLEY, T.A. Atrazine degradation by anodic Fenton treatment. **Water Research**, v.36, p.5113-5119, 2002.
- ↳ SANTOS, B.O.L. **Desenvolvimento de metodologias para a determinação de resíduos de atrazina em solos e águas naturais empregando técnicas eletroanalíticas**. São Paulo, 2006. 138p. Tese de Doutorado – Instituto de Química - Universidade de São Paulo.
- ↳ SANTOS, B.O.L.; ABATE, G.; MASINI, J.C. Determination of atrazine using square wave voltammetry with the hanging Mercury Drop Electrode (HMDE). **Talanta**, v.62, p.667-674, 2004.

- ↳ SEDLAK, D.L.; ANDREN, A.W. Aqueous-phase oxidation of polychlorinated biphenyls by hydroxyl radicals. **Environmental Science & Technology**, v.25, p.1419-1427, 1991.
- ↳ SHREVE, R.N., BRINK Jr., J.A. **Indústrias de processos químicos**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1980. 717p.
- ↳ SILVA, M.R.A., OLIVEIRA, M.C., NOGUEIRA, R.F.P. Estudo da aplicação do processo foto-fenton solar na degradação de efluentes de indústria de tintas. **Eclética**, v.29, n.2, p.19-26, 2004.
- ↳ SILVA, M.S.P.; SILVA, I.S.; ABATE, G.; MASINI, J.C. Spectrophotometric determination of acid volatile sulfide in river sediments by sequential injection analysis exploiting the methylene blue reaction. **Talanta**, v.53, n.4, p.843-850, 2001.
- ↳ SINDAG, 1998. Sindicato Nacional da Indústria de Defensivos Agrícolas. Informativo via Internet. *apud* ABATE, G; MASINI, J.C.; **Propriedades de complexação e adsorção de partículas de interesse ambiental na presença e ausência de ácido húmico. 1. Adsorção de Cd(II) e Pb(II) em vermiculita. 2. Adsorção de atrazina e metabólitos em solo**. São Paulo, 2003. 197p. Tese de Doutorado – Instituto de Química – Universidade de São Paulo.
- ↳ SINDAG, 1999. Sindicato Nacional da Indústria de Defensivos Agrícolas. Informativo via Internet. *apud* ABATE, G; MASINI, J.C.; **Propriedades de complexação e adsorção de partículas de interesse ambiental na presença e ausência de ácido húmico. 1. Adsorção de Cd(II) e Pb(II) em vermiculita. 2. Adsorção de atrazina e metabólitos em solo**. São Paulo, 2003. 197p. Tese de Doutorado – Instituto de Química – Universidade de São Paulo.
- ↳ SINDAG, 2002. Sindicato Nacional da Indústria de Defensivos Agrícolas. Informativo via Internet. [http: www. Sindag.com.br](http://www.Sindag.com.br). Acesso em 14 fev.2002.
- ↳ SNYDER, L.R.; KIRKLAND, J.J. **Introduction of modern liquid chromatography**. 2.ed. New York: Wiley, 1979. 863p.

- ↵ STEINHEIMER, T.R. HPLC determination of atrazine and principal degradates in agricultural soils and associated surface and ground water. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.41, p.588-595, 1993.
- ↵ SUFFET, I.H.; MACCARTHY, P., eds. **Aquatic humic substances: influence on fate and treatment of pollutants**. Washington: American Chemical Society, 1989. 864p. (Advances in chemistry series, 219).
- ↵ SWART, M.E.; KRULL, L.S. Validação de métodos cromatográficos. **Pharmaceutical Technology, Edição Brasileira**, v.2, p.12, 1998.
- ↵ TANG, W.Z.; CHEN, R.Z. Decolorization kinetics and mechanisms of commercial dyes by H₂O₂/iron powder system. **Chemosphere**, v.32, p.947-958, 1996.
- ↵ TANIAI, T.; SAKURAGAWA, A.; OKUTANI, T. Monitoring of hydrogen peroxide, nitrate and nitrite in rain water. **Analytical Sciences**, v.16, n.3, p.275-281, 2000.
- ↵ TATSUMA, T.; GONDAIRA, M.; WATANABE, T. Peroxidase-incorporated polypyrrole membrane electrodes. **Analytical Chemistry**, v.64, p.1183-1187, 1992.
- ↵ TOMITA, R.Y.E.; BEYRUTH, Z. Toxicologia de agrotóxicos em ambientes aquáticos. **Biológico**, v.64, n.2, p.135-142, 2002.
- ↵ TOWNSEND, M.A.; YOUNG, D.P. Atrazine and its metabolites as indicators of stream-aquifer interaction in Kansas, USA. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v.78, n.1, p.9-23, 2000.
- ↵ VAN STADEN, J.F.; TALJAARD, R.E. Determination of sulphate in natural waters and industrial effluent streams using sequential injection analysis. **Mikrochimica Acta**, v.128, p.223, 1998.
- ↵ VAN STADEN, J.F.; VAN DER MERWE, T.A. On-line monitoring of nitrite in fertilizer process streams, natural and waste effluent with sequential injection analysis. **Mikrochimica Acta**, v.129, n.1/2, p.33, 1998.
- ↵ VIEIRA, I.C.; FATIBELLO FILHO, O. Flow injection spectrometric determination of hydrogen peroxide using a crude extract of zucchini

(*Cucurbita pepo*) as a source of peroxidase. **Analyst**, v.123, n.9, p.1809-1812, 1998.

- ✦ ZEPP, R.G.; FAUST, B.C.; HOIGNÉ, J. Hydroxyl radicals formation in aqueous reactions (pH3-8) of iron (II) with hydrogen peroxide: the photo-Fenton reaction. **Environmental Science & Technology**, v.26, p.313-319, 1992.
- ✦ ZHANG, J.; LI, B.; WANG, Z.; CHENG, G.; DONG, S. Functionalized inorganic-organic composite material derivated by sol-gel for construction of mediated amperometriic hydrogen peroxide biosensor. **Analytica Chimica Acta**, v.388, p.71-78, 1999.
- ✦ ZHOU, X.; ARNOLD, M.A. Internal enzyme fiber-optic biosensors for hydrogen peroxide and glucose. **Analytica Chimica Acta**, v.304, p.147-156, 1995.
- ✦ ZIOLLI, R.L.; JARDIM, W.F. Mecanismo de fotodegradação de compostos orgânicos catalisada por TiO₂. **Química Nova**, v.21, n.3, p.319-325, 1998.
- ✦ ZUO, Y.; HOIGNÉ, J. Formation of hydrogen peroxide and depletion of oxalic acid in atmospheric water by photolysis of iron(III)oxalato complexes. **Environmental Science & Technology**, v.26, p.1014-1022, 1992.