



**KELLY ADRIANA RIBEIRO TAGLIAFERRO**

**ANÁLISES DE OXIDAÇÕES DE TRIAZINAS COM  $\text{H}_2\text{O}_2$  E  
CATALISADAS POR METALOPORIFIRINAS VIA CROMATOGRÁFIA  
GASOSA/ESPECTROMETRIA DE MASSA**

LIMEIRA/SP

2015





**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**Faculdade de Tecnologia**

**KELLY ADRIANA RIBEIRO TAGLIAFERRO**

**ANÁLISES DE OXIDAÇÕES DE TRIAZINAS COM  $H_2O_2$  E  
CATALISADAS POR METALOPORIFIRINAS VIA CROMATOGRÁFIA  
GASOSA/ESPECTROMETRIA DE MASSA**

Dissertação apresentada a Faculdade de Tecnologia da  
Universidade Estadual de Campinas como parte dos  
requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra  
em Tecnologia, na Área de Tecnologia e Inovação.

Orientadora: PROFA. DRA. MARIA APARECIDA CARVALHO DE MEDEIROS

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO  
FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA  
ALUNA KELLY ADRIANA RIBEIRO TAGLIAFERRO,  
E ORIENTADA PELA PROFA. DRA. MARIA  
APARECIDA CARVALHO DE MEDEIROS.

---

LIMEIRA/SP

2015

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca da Faculdade de Tecnologia  
Felipe de Souza Bueno - CRB 8/8577

T128a Tagliaferro, Kelly Adriana Ribeiro, 1987-  
Análises de oxidação de triazinas com  $H_2O_2$  e catalisadas por metaloporfirinas  
via cromatografia gasosa/espectrometria de massas / Kelly Adriana Ribeiro  
Tagliaferro. – Limeira, SP : [s.n.], 2015.

Orientador: Maria Aparecida Carvalho de Medeiros.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de  
Tecnologia.

1. Herbicidas triazínicos. 2. Metaloporfirinas. 3. Espectrometria de massas. I.  
Medeiros, Maria Aparecida Carvalho de, 1961-. II. Universidade Estadual de  
Campinas. Faculdade de Tecnologia. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Analysis of triazines oxidation with  $H_2O_2$  and catalyzed by  
metalloporphyrins by gas chromatography/mass spectrometry

**Palavras-chave em inglês:**

Triazines herbicides

Metalloporphyrins

Mass spectrometry

**Área de concentração:** Tecnologia e Inovação

**Titulação:** Mestra em Tecnologia

**Banca examinadora:**

Maria Aparecida Carvalho de Medeiros [Orientador]

Anne Hélène Fostier

Luiz Roberto Pimentel Trevisan

**Data de defesa:** 24-02-2015

**Programa de Pós-Graduação:** Tecnologia

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM TECNOLOGIA**  
**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: TECNOLOGIA E INOVAÇÃO**

Análises de Oxidações de Triazinas com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Catalisadas por Metaloporfirinas via  
Cromatografia Gasosa/Espectrometria de Massa

**Kelly Adriana Ribeiro Tagliaferro**

A Banca Examinadora composta pelos membros abaixo aprovou esta Dissertação:



---

Profa. Dra. Maria Aparecida Carvalho de Medeiros  
UNICAMP-FT  
Presidente



---

Profa. Dra. Anne Hélène Fostier  
UNICAMP-IQ



---

Dr. Luiz Roberto Pimentel Trevisan  
AGROSAFETY



## RESUMO

Os resíduos de herbicidas triazínicos são compostos com moderada toxicidade, altamente persistentes no ambiente, contaminando os mananciais e águas subterrâneas e são muito utilizados em várias culturas, inclusive da cana-de-açúcar. Os herbicidas atrazina e simazina foram oxidados com  $\text{H}_2\text{O}_2$  na presença de catalisadores biomiméticos (metaloporfirinas de ferro e rutênio) e os produtos gerados na reação foram analisados *via* cromatografia gasosa (GC, do inglês gás chromatography) associada à espectrometria de massas (MS, do inglês mass spectrometry), buscando elucidar os subprodutos. As reações de oxidação dos herbicidas triazínicos e os subprodutos gerados foram monitoradas por espectrofotometria na região do ultra violeta e visível (UV-Vis) e cromatografia gasosa (GC), utilizando-se o detector de captura de elétrons (ECD, do inglês elétron capture detector). Os rendimentos das reações de oxidação das triazinas com  $\text{H}_2\text{O}_2$  e catalisadas pelas metaloporfirinas de ferro (Fe(FTTPCI)) e rutênio (Ru(OCTTPP)), variaram de acordo com as condições de reações catalíticas. Foi observado que houve degradação significativa dos analitos (94,70% para a atrazina e 92,60% para a simazina utilizando a (Fe(FTTPCI)) e; 94,38% para a atrazina e 67,19% para a simazina utilizando a (Ru(OCTTPP))) e também foi observado a transformação dos herbicidas nos subprodutos desetilatraxina (DEA) e o deisopropilatraxina (DIA). Os dados de monitoramento das reações catalíticas por UV-Vis revelaram as estabilidades dos catalisadores (Fe(FTTPCI)) e (Ru(OCTTPP)), nas condições oxidantes das reações. Os resultados obtidos com a cromatografia gasosa acoplada com a espectrometria de massas (GC-MS), utilizando a técnica de ionização por impacto de elétrons – (EI, do inglês electron ionization), full scan, com o modo positivo ( $\text{EI}^+$ ), associado a este pico revelaram o pico do íon molecular ( $m/z = 215$ , associado ao herbicida atrazina  $[\text{M}]^+$  e os principais fragmentos ( $m/z$ ): 200(associado ao íon  $[\text{M} - \text{CH}_3]^+$ ), 173 e 138; sendo que o espectro de massa obtido após a reação de oxidação revelou o desaparecimento do pico associado aos herbicidas e formação de novos picos, associados a fragmentos de subprodutos. Similarmente, a identificação da simazina foi obtida com o modo positivo ( $\text{EI}^+$ ), tendo sido revelado o pico do íon molecular ( $m/z = 201$ ) e os principais fragmentos ( $m/z$ ): 186, 173 e 138.

Palavras-Chave: herbicidas triazínicos; metaloporfirinas, espectrometria de massas.





## ABSTRACT

Waste triazine herbicides are compounds with moderate toxicity, highly persistent in the environment, contaminating water sources and groundwater are widely used in various cultures, including the cane sugar. The atrazine and simazine herbicides were oxidized with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the presence of biomimetic catalysts (iron and ruthenium metalloporphyrins) and the products generated in the reaction were analyzed by gas chromatography (GC) associated with mass spectrometry (MS), to elucidate the by-products. The oxidation reaction of the triazine herbicide and by-products generated were monitored by spectrophotometry in the ultraviolet region and visible (UV-Vis) and gas chromatography (GC), using electron capture detector (ECD). Proceeds from the triazines oxidation reactions with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> catalyzed by iron and metalloporphyrins (Fe (FTTPCl)) and ruthenium (Ru (OCTTPP)), varied according to the conditions of catalytic reactions. It was observed that there was significant degradation of the analytes (94.70% to 92.60% for atrazine and simazine using the (Fe(FTTPCl)) and; 94.38% to 67.19% for atrazine and simazine using the (Ru(OCTTPP))) and was also observed the transformation of herbicides in desethyl atrazine products (DEA) and the deisopropil atrazine (DIA). The monitoring data of catalytic reactions by UV-Vis revealed the stability of the catalysts (Fe(FTTPCl)) and (Ru(OCTTPP)) in oxidizing conditions of the reactions. The results obtained with gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) using the electron impact ionization technique (EI), full scan, positive mode (EI<sup>+</sup>), associated this peak revealed molecular ion peak ( $m/z = 215$ , associated with atrazine  $[M]^+$  and major fragments ( $m/z$ ): 200 (associated with the ion  $[M - CH_3]^+$ ), 173 and 138, and the mass spectrum obtained after the oxidation reaction revealed the disappearance of the peak associated with the herbicides and formation of new peaks associated with byproducts fragments. Similarly, the identification of simazine was obtained in the positive mode (EI<sup>+</sup>) and been revealed molecular ion peak ( $m / z = 201$ ) and the principal fragments ( $m / z$ ): 186, 173 and 138.

Keywords: triazine herbicides; metalloporphyrins, mass spectrometry.



## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>2</b>
<b>3.</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>3</b>
3.1	HERBICIDAS.....	3
3.2	HERBICIDAS TRIAZÍNICOS .....	4
3.3	PROCESSOS OXIDATIVOS .....	7
3.4	CITOCROMO P450 E METALOPORFIRINAS.....	9
3.5	APLICAÇÃO DE CATALISADORES METALOPORFIRÍNICOS NO TRATAMENTO DE RESÍDUOS CONTENDO HERBICIDAS TRIAZÍNICOS .....	11
3.6	CROMATOGRAFIA GASOSA (GC).....	12
3.7	ESCOLHA DA FASE ESTACIONÁRIA .....	13
3.8	ESPECTROMETRIA DE MASSAS (MS) .....	14
3.9	ANALISADOR DE MASSAS: “ION TRAP” .....	15
3.10	ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM TANDEM (MS/MS) .....	16
3.11	ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS.....	20
3.12	DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS.....	20
<b>4.</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>23</b>
4.1	EQUIPAMENTOS, VIDRARIAS E REAGENTES.....	23
4.2	PROCEDIMENTO ANALÍTICO.....	25
4.2.1	Preparo das soluções padrões e das metaloporfirinas .....	25
4.2.2	Procedimento de Degradação .....	25
4.2.3	Análises via espectrofotometria UV-Vis.....	26
4.2.4	Análises via GC-ECD.....	27
4.2.5	Análises via GC-MS em parceria com a empresa Grandis.....	28
4.2.6	Análises via GC-MS/MS .....	30
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>32</b>
5.1	REAÇÕES VIA UV-VIS.....	32
5.2	REAÇÕES VIA GC-ECD.....	38
5.3	REAÇÕES VIA GC-MS .....	49
5.4	REAÇÕES VIA GC-MS/MS.....	57

<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>71</b>
<b>7. PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>71</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>72</b>
<b>ANEXO 01 – ANÁLISE DOS BRANCOS DE REAÇÃO (ANALITOS COM ADIÇÃO SOMENTE DAS METALOPORFIRINAS).....</b>	<b>79</b>

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiramente a Deus por cada vitória alcançada e por tudo o que sou. Agradeço aos meus pais pela dedicação, esforço e empenho em apoiar minhas escolhas e também ao meu esposo, pelo apoio e incentivo quanto à continuidade de meus estudos.

Agradeço a Profa. Maria Aparecida Carvalho de Medeiros, pela compreensão e pela dedicação em transferir seus conhecimentos e me auxiliar academicamente. Agradeço também a minha companheira de laboratório, Maria Aparecida Braga de Oliveira, pelas diversas vezes que dividimos o laboratório, reagentes e histórias...

Agradeço também a secretaria da pós-graduação, a Karen Tank Mercuri Macedo e Fátima Aparecida Alves pela ajuda e paciência. Agradeço a Faculdade de Tecnologia e a Pós-Graduação pela oportunidade de integrar a universidade no programa de mestrado e por todo o conhecimento transferido. Agradeço aos técnicos de laboratório Geraldo Dragoni e Josiane Vendemiatti, pelos auxílios quando precisei e pelo apoio ao trabalho desenvolvido.

Agradeço a empresa Grandis Assessoria e Análises Ambientais LTDA, representada pelo Sr. Venilton José Carraro, por ceder seu equipamento as pesquisas e me liberar do horário de trabalho para cursar as disciplinas do programa da pós-graduação, também pelo apoio e enriquecimento profissional que me proporcionou ao longo dos anos.



## Lista de Ilustrações

Figura 1. Fórmulas moleculares e estruturais da ATZ e SIM.....	4
Figura 2. Fórmulas moleculares e estruturais dos subprodutos DEA, DIA e DDA. ....	5
Figura 3. Vias de entrada dos agrotóxicos no ambiente aquático por aplicação direta ou por mobilização a partir do seu uso na agricultura. ....	6
Figura 4. Ferro (III)-protoporfirina IX). ....	9
Figura 5. Estruturas das metaloporfirinas de ferro e rutênio, respectivamente. ....	10
Figura 6. Diferentes vias reacionais possíveis na ativação de metaloporfirinas por H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ....	11
Figura 7. Esquema de um analisador ion-trap. ....	15
Figura 8. Ionização externa. ....	16
Figura 9. Desfragmentação do ion. ....	17
Figura 10. Princípio da espectrometria de massa tandem. ....	18
Figura 11. Esquema do reator utilizado no procedimento de degradação. ....	26
Figura 12. Espectro UV-Vis da metaloporfirina de rutênio ....	32
Figura 13. Espectro UV-Vis da metaloporfirina de ferro ....	33
Figura 14. Espectro UV-Vis da ATZ 1,00 mg L <sup>-1</sup> ....	33
Figura 15. Espectro UV-Vis da SIM 1,00 mg L <sup>-1</sup> ....	34
Figura 16. Sobreposição das reações de degradação da ATZ 1 mg L <sup>-1</sup> com a MetRu (100µL) e peróxido de hidrogênio 1:10 (800µL). ....	34
Figura 17. Sobreposição das reações de degradação da SIM 1 mg L <sup>-1</sup> com a MetRu (100µL) e peróxido de hidrogênio 1:10 (800µL). ....	35
Figura 18. Sobreposição das reações de degradação da solução equimolar ATZ+SIM 1 mg L <sup>-1</sup> com a MetRu (100µL) e peróxido de hidrogênio 1:10 (800µL). ....	35
Figura 19. Sobreposição das reações de degradação da ATZ 1 mg L <sup>-1</sup> com a MetFe (100µL) e peróxido de hidrogênio 1:10 (800µL). ....	36
Figura 20. Sobreposição das reações de degradação da SIM 1 mg L <sup>-1</sup> com a MetFe (100µL) e peróxido de hidrogênio 1:10 (800µL). ....	36
Figura 21. Sobreposição das reações de degradação da solução equimolar ATZ+SIM 1 mg L <sup>-1</sup> com a MetFe (100µL) e peróxido de hidrogênio 1:10 (800µL). ....	37
Figura 22. Cromatograma da replicata do branco de acetonitrila (ACN) no GC-ECD.....	39
Figura 23. Cromatograma da replicata da ATZ+SIM+DEA+DIA 0,500 mg L <sup>-1</sup> no GC-ECD. ....	39
Figura 24. Cromatograma da replicata da ATZ+SIM+DEA+DIA 1,000 mg L <sup>-1</sup> no GC-ECD. ....	40
Figura 25. Cromatograma da replicata da ATZ+SIM+DEA+DIA 2,500 mg L <sup>-1</sup> no GC-ECD. ....	40
Figura 26. Cromatograma da replicata da ATZ+SIM+DEA+DIA 5,000 mg L <sup>-1</sup> no GC-ECD. ....	41
Figura 27. Cromatograma da replicata da ATZ+SIM+DEA+DIA 10,000 mg L <sup>-1</sup> no GC-ECD. ....	41
Figura 28. Cromatograma da replicata da ATZ+SIM+DEA+DIA 15,000 mg L <sup>-1</sup> no GC-ECD. ....	42
Figura 29. Cromatograma da replicata da ATZ+SIM+DEA+DIA 20,000 mg L <sup>-1</sup> no GC-ECD. ....	42
Figura 30. Cromatograma da replicata da ATZ+SIM+DEA+DIA 25,000 mg L <sup>-1</sup> no GC-ECD. ....	43
Figura 31. Curvas analíticas dos herbicidas triazínicos e dos subprodutos de degradação obtidas no GC-ECD. ....	45
Figura 32. Cromatograma durante a reação de oxidação da mistura equimolar da atrazina e simazina. .	46
Figura 33. Cromatograma da solução equimolar ATZ+SIM+DEA+DIA 0,500 mg L <sup>-1</sup> no GC-MS. ....	49

Figura 34. Cromatograma da solução equimolar ATZ+SIM+DEA+DIA 0,750 mg L <sup>-1</sup> no GC-MS. ....	50
Figura 35. Cromatograma da solução equimolar ATZ+SIM+DEA+DIA 1,000 mg L <sup>-1</sup> no GC-MS. ....	50
Figura 36. Cromatograma da solução equimolar ATZ+SIM+DEA+DIA 2,500 mg L <sup>-1</sup> no GC-MS. ....	51
Figura 37. Cromatograma da solução equimolar ATZ+SIM+DEA+DIA 5,000 mg L <sup>-1</sup> no GC-MS. ....	51
Figura 38. Curvas analíticas dos herbicidas triazínicos e dos subprodutos de degradação obtidas no GC-MS. ....	53
Figura 39. Cromatogramas da reação da ATZ 1 mg L <sup>-1</sup> com a MetRu e peróxido de hidrogênio no GC-MS .....	54
Figura 40. Cromatogramas da reação da SIM 1 mg L <sup>-1</sup> com a MetRu e peróxido de hidrogênio no GC-MS. .....	54
Figura 41. Cromatogramas da reação da solução equimolar ATZ+SIM 1 mg L <sup>-1</sup> com a MetRu e peróxido de hidrogênio no GC-MS. ....	55
Figura 42. Cromatogramas da reação do MIX ATZ+SIM 10 mg L <sup>-1</sup> com a MetRu e peróxido de hidrogênio no GC-MS. Detalhe para a detecção dos subprodutos DIA e DEA na reação.....	56
Figura 43. Pico cromatográfico da ATZ e sua curva analítica. ....	57
Figura 44. Pico cromatográfico da SIM e sua curva analítica.....	57
Figura 45. Pico cromatográfico do DEA e sua curva analítica.....	58
Figura 46. Pico cromatográfico do DIA e sua curva analítica. ....	58
Figura 47. Cromatogramas da reação da ATZ 5 mg L <sup>-1</sup> com a MetFe e peróxido de hidrogênio no GC- MS/MS. ....	60
Figura 48. Cromatogramas da reação da ATZ 5 mg L <sup>-1</sup> com a MetRu e peróxido de hidrogênio no GC- MS/MS. ....	61
Figura 49. Identificação do pico da ATZ através de comparação do scan com a biblioteca NIST no GC- MS/MS Trace Thermo Finnigan. ....	62
Figura 50. Cromatogramas da reação da SIM 5 mg L <sup>-1</sup> com a MetRu e peróxido de hidrogênio no GC- MS/MS. ....	63
Figura 51. Identificação do pico da SIM através de comparação do scan com a biblioteca NIST no GC- MS/MS Trace Thermo Finnigan. ....	63
Figura 52. Cromatogramas da reação da solução equimolar ATZ+SIM 5 mg L <sup>-1</sup> com a MetRu e peróxido de hidrogênio no GC-MS/MS. ....	64
Figura 53. Cromatogramas da reação da solução equimolar ATZ+SIM 5 mg L <sup>-1</sup> com a MetFe e peróxido de hidrogênio no GC-MS/MS. ....	65
Figura 54. Identificação do pico do DEA na reação equimolar da ATZ+SIM 5 mg L <sup>-1</sup> com a MetFe e peróxido de hidrogênio através de comparação do scan com a biblioteca NIST no GC-MS/MS Trace Thermo Finnigan. ....	65
Figura 55. Possível rota de degradação da atrazina e simazina. ....	70
Figura 56. Monitoramento da reação da ATZ 1 mg L <sup>-1</sup> com adição apenas da MetRu e MetFe.....	79
Figura 57. Monitoramento da reação da SIM 1 mg L <sup>-1</sup> com adição apenas da MetRu e MetFe. ....	80
Figura 58. Cromatograma da reação após 80 minutos da ATZ 5 mg L <sup>-1</sup> com a MetFe .....	81
Figura 59. Cromatograma da reação após 80 minutos da ATZ 5 mg L <sup>-1</sup> com a MetRu. ....	81
Figura 60. Cromatograma da reação após 80 minutos da SIM 5 mg L <sup>-1</sup> com a MetFe.....	82
Figura 61. Cromatograma da reação após 80 minutos da SIM 5 mg L <sup>-1</sup> com a MetRu. ....	82



## Lista de Tabelas

Tabela 1. Propriedades da ATZ, SIM, DEA, DIA e DDA.....	5
Tabela 2. Potencial redox de algumas espécies.....	8
Tabela 3. Dados da programação do UV-Vis.....	27
Tabela 4. Rampa de programação de temperatura do GC-ECD.....	28
Tabela 5. Condições de temperatura de análise no GC-MS. ....	29
Tabela 6. Condições no MS. ....	29
Tabela 7. Condições no GC-MS. ....	29
Tabela 8. Rampa de programação no GC-MS.....	30
Tabela 9. Condições de temperatura de análise no MS/MS.....	30
Tabela 10. Condições no MS/MS.....	31
Tabela 11. Condições no GC. ....	31
Tabela 12. Rampa de programação no GC-MS/MS. ....	31
Tabela 13. Identificação das reações de degradação monitoradas via UV-Vis com as metaloporfirinas de rutênio e de ferro e peróxido de hidrogênio 1:10. ....	37
Tabela 14. Dados da inserção da curva analítica das triazinas no GC-ECD. ....	44
Tabela 15. Rendimento das reações de oxidações das triazinas catalisadas por metaloporfirinas com peróxido de hidrogênio, obtidos com o GC-ECD. ....	47
Tabela 16. Monitoramento do DEA e DIA ao longo das reações com a ATZ 1 mg L <sup>-1</sup> via GC-ECD. ....	47
Tabela 17. Monitoramento do DEA e DIA ao longo das reações com a SIM 1 mg L <sup>-1</sup> via GC-ECD. ....	48
Tabela 18. Monitoramento do DEA e DIA ao longo das reações com a solução equimolar ATZ+SIM 1 mg L <sup>-1</sup> via GC-ECD.....	48
Tabela 19. Dados da inserção da curva analítica das triazinas no GC-MS. ....	52
Tabela 20. Rendimento das reações de oxidação das triazinas catalisadas com a metaloporfirina de rutênio, obtidos com o GC-MS. ....	55
Tabela 21. Dados da inserção da curva analítica das triazinas no GC-MS/MS. ....	59
Tabela 22. Monitoramento da degradação da ATZ 5 mg L <sup>-1</sup> nas reações com a MetRu e MetFe via GC-MS/MS. ....	66
Tabela 23. Monitoramento da degradação da SIM 5 mg L <sup>-1</sup> nas reações com a MetRu via GC-MS/MS. .	67
Tabela 24. Monitoramento da degradação da solução equimolar da ATZ+SIM 5 mg L <sup>-1</sup> nas reações com a MetRu e MetFe via GC-MS/MS.....	67
Tabela 25. Quantificação do DEA detectado nas reações com a MetRu e MetFe na solução equimolar da ATZ+SIM 5 mg L <sup>-1</sup> via GC-MS/MS. ....	69



## Lista de Abreviaturas e Siglas

A – Absorbância

ACN – Acetonitrila

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATZ – Atrazina

*b* – Distância

*c* – Concentração

CID – Dissociação de Colisão Induzida (do inglês Collision Induced Dissociation)

CO<sub>2</sub> – Gás Carbônico

CV – Coeficiente de Variação

DC – Corrente Contínua

DDA – Desetildeisopropilatrazina

DEA – Desetilatrazina

DIA – Deisopropilatrazina

ECD – Detector de Captura de Elétrons (do inglês Electron Capture Detector)

EI – Impacto de Elétrons (do inglês Impact of Electrons)

FID – Detector de Ionização de Chama (do inglês Flame Ionization Detector)

FS – Varredura completa (do inglês Full Scan)

GC-MS – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (do inglês Gas Chromatography Mass Spectrometry)

SIM – Simazina

GC-MS/MS – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa/Massa (do inglês Gas Chromatography Mass-Mass Spectrometry)

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

H<sub>2</sub>O – Água

HO• – Radical Hidroxila

H<sup>+</sup> – Íon de Hidrogênio

ISO – Organização Internacional de Padronização (do inglês International Organization for Standardization)

ITMS – Espectrômetro de Massa Íon Trap (do inglês Ion Trap Mass Spectrometer)

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada (do inglês International Union Pure and Applied Chemistry)

$I$  – intensidade de radiação emergente

LD – Limite de Detecção

LLE – Extração Líquido-Líquido

LQ – Limite de Quantificação

$I_0$  – intensidade de radiação incidente

MetFe – Metaloporfirina de Ferro

MetRu – Metaloporfirina de Rutênio

$\text{mg L}^{-1}$  – Unidade de concentração

$m/z$  – Razão entre a Massa e a Carga

MS/MS – Espectrometria de Massa em Tandem

NIST – Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (do inglês National Institute of Standards and Technology)

$\text{O}_2$  – Oxigênio Molecular

PCI – Ionização Química Positiva (do inglês Positive Chemical Ionization)

POA's – Processos Oxidativos Avançados

$R^2$  – Coeficiente de Determinação

$\text{R}^\bullet$  – Radical Orgânico

RF – Rádiofrequência

RH – Compostos Orgânicos

$\text{RO}_2^\bullet$  – Radical Peroxila

$t_r$  – Tempo de Retenção

UV-Vis – Espectrofotometria Ultra Violeta Visível (do inglês Ultra Violet Visible)

USEPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (do inglês United States Environmental Protection Agency)

V – Volts

## 1. INTRODUÇÃO

O processo produtivo agrícola brasileiro está cada vez mais dependente dos agrotóxicos e fertilizantes químicos. A Lei 7.802 (Brasil, 1989) define que os agrotóxicos são “os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos” (CARNEIRO *et al.*, 2012).

De acordo com documento publicado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em 2012, na safra do segundo semestre de 2010 e primeiro semestre de 2011, o mercado nacional de venda de agrotóxicos movimentou 936 mil toneladas de produtos. A produção gerou 833 mil toneladas de agrotóxicos e a importação foi de 246 toneladas de produtos. Enquanto, nos últimos dez anos, o mercado mundial de agrotóxicos cresceu 93%, o mercado brasileiro cresceu 190%, sendo que, em 2008 o Brasil passou os Estados Unidos e assumiu o posto de maior mercado mundial de agrotóxicos (ANVISA, 2012).

Ainda de acordo com a ANVISA, os resíduos de herbicidas triazínicos pertencem à classe toxicológica III, sendo compostos com moderada toxicidade para seres humanos, porém altamente persistente no ambiente e perigosos aos organismos aquáticos. Esses resíduos vêm contaminando os mananciais e águas subterrâneas, caracterizando, portanto, uma exposição ambiental, além da ocupacional.

Os herbicidas triazínicos, como a atrazina e simazina, possuem características que permitem sua degradação por processos oxidativos catalisados por metaloporfirinas (Rebelo *et al.*, 2009; Gotardo *et al.*, 2006); sendo que recentemente foram estudadas as reações de oxidações *via* metaloporfirinas da simazina e atrazina (Santos & Medeiros, 2011), e a oxidação biomimética da simazina (Santos *et al.*, 2011).

As metaloporfirinas são empregadas como catalisadores de uma variedade de reações de oxidações, dentre as quais, muitas são de grande importância para aplicações ambientais, sobretudo aquelas com o doador de oxigênio peróxido de

hidrogênio, que é um dos oxidantes considerado mais versáteis e ambientalmente correto por idealmente mineralizar os contaminantes (MANSUY, 2007).

Neste contexto, o presente trabalho visa avaliar a oxidação dos herbicidas triazínicos com peróxido de hidrogênio utilizando as metaloporfirinas como catalisadores biomiméticos e identificar os subprodutos gerados, utilizando a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas em tandem (GC-MS/MS).

Para o monitoramento das reações catalíticas, pode-se dispor de vários equipamentos para a análise, elucidação e interpretação, tais como a espectrofotometria na região do ultravioleta e visível (UV-Vis), a cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons (GC-ECD), a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) e a cromatografia gasosa associada à espectrometria de massas em tandem (GC-MS/MS).

Nas análises utilizando a espectrofotometria UV-Vis, é possível monitorar a degradação das metaloporfirinas empregadas pela intensidade das absorbâncias das bandas características (DOLPHIN, 1978).

Nas análises utilizando-se o GC-ECD, é possível acompanhar a redução dos picos dos analitos de interesse (atrazina e simazina) e visualizar o surgimento de demais picos no cromatograma, os quais são provenientes dos subprodutos das reações, entretanto, não é possível realizar a identificação destes picos. Nesta etapa, pode-se determinar as eficiências catalíticas de degradação dos herbicidas pelas metaloporfirinas com o peróxido de hidrogênio.

Nas análises utilizando-se o GC-MS e GC-MS/MS, tem-se como diferencial a identificação dos novos picos formados através da comparação do espectro de massas (scan) com a biblioteca NIST.

## **2. OBJETIVOS**

O presente projeto tem como objetivo geral avaliar a eficiência de duas metaloporfirinas comerciais (cloreto de 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil) porfirina ferro(III) [Fe(TFPP)Cl] e rutênio octaetilporfirina (RuOCTP)) como catalisadores da

reação de oxidação de herbicidas triazínicos (atrazina e simazina) por peróxido de hidrogênio.

Como objetivos específicos, têm-se:

- A otimização de um método analítico para identificação/quantificação dos herbicidas triazínicos e dos seus produtos de degradação pela técnica de cromatografia gasosa associada a espectrometria de massa em tandem (GC-MS/MS);
- Propor um mecanismo de degradação da atrazina e da simazina com base nos resultados encontrados.

### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 HERBICIDAS**

O consumo mundial de herbicidas é quase 48% do uso total de agrotóxicos. Em aproximadamente duas últimas décadas, os herbicidas representaram a seção que mais rápido cresceu da indústria de pesticidas, em parte devido ao movimento nas práticas de monocultura e a mecanização das práticas agrícolas por causa do aumento dos custos trabalhistas (GUPTA, 2012).

Há centenas de herbicidas formulados em milhares de produtos comerciais em todo o mundo. Os ingredientes ativos dos herbicidas que são encontrados em diferentes países são variáveis por causa de restrições regulatórias, econômicas e agrícolas diferentes (DUKE e DAYAN, 2011).

Alguns herbicidas de largo espectro tornaram-se muito populares nos últimos anos, porque determinadas culturas foram geneticamente modificadas para serem resistentes a eles. Assim, um único herbicida pode ser utilizado para matar quase todas as ervas daninhas associadas a uma cultura transgênica, simplificando assim os protocolos de tratamento de ervas daninhas e evitando problemas como lesão da cultura (DUKE e DAYAN, 2011).

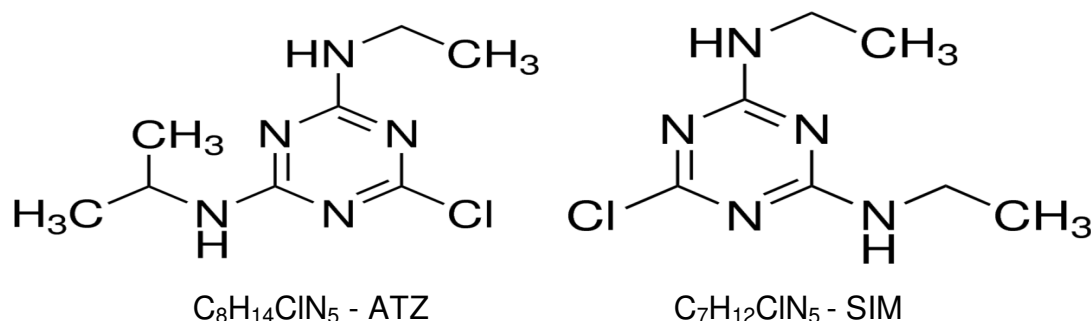
Outros herbicidas funcionam melhor se aplicados diretamente na folhagem da planta, conhecidos como herbicidas de contato. A maioria dos herbicidas atuam somente em um local alvo molecular para matar a planta. Além disso, existem herbicidas no solo, que são aplicados diretamente no solo ou incorporados ao solo a ser ocupado por sementes de ervas daninhas e mudas durante a germinação e desenvolvimento de plantas (DUKE e DAYAN, 2011).

### 3.2 HERBICIDAS TRIAZÍNICOS

Herbicidas triazínicos são inibidores da fotossíntese e incluem tanto as triazinas simétricas quanto às assimétricas. Exemplos de triazinas simétricas são cloro-s-triazinas (atrazina, simazina, propazina, terbutilazina e cianazina), o tiometil-S-triazinas (ametrina, prometrina e terbutrin), e os grupos metoxi-S-triazina (prometon). A triazina assimétrica utilizada é metribuzin (GUPTA, 2012).

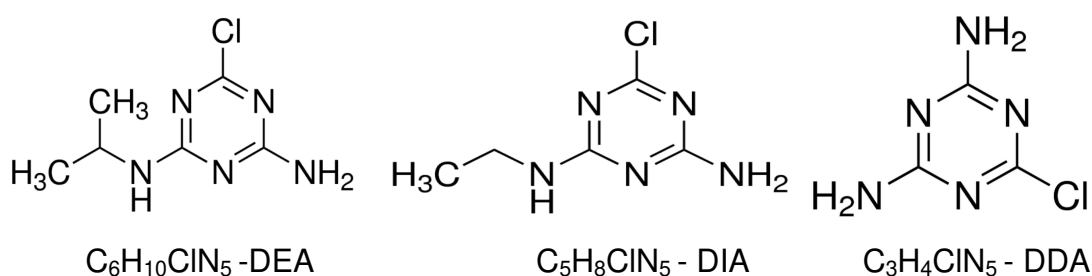
Os herbicidas atrazina (ATZ) e simazina (SIM) (Figura 1) são solúveis em alguns solventes orgânicos e são classificados como herbicidas sistêmicos, seletivos e utilizados no controle pré e pós-emergente de ervas daninhas de folhas largas (JAVARONI, LANDGRAF e REZENDE, 1999; KLEINSCHMITT, 2007).

De acordo com Javaroni, Landgraf e Rezende (1999) e Kleinschmitt (2007), os subprodutos gerados a partir da degradação destes herbicidas são a desetilatrazina (DEA), deisoproilatrazina (DIA) e a desetildeisopropilatrazina (DDA) (Figura 2).



**Figura 1.** Fórmulas moleculares e estruturais da ATZ e SIM. Fonte: Sigma Aldrich.





**Figura 2.** Fórmulas moleculares e estruturais dos subprodutos DEA, DIA e DDA. Fonte: SIGMA-ALDRICH (2015).

As propriedades da ATZ e SIM, e seus subprodutos estão apresentadas na Tabela 1, juntamente com o CAS NUMBER.

**Tabela 1.** Propriedades da ATZ, SIM, DEA, DIA e DDA. Fonte: adaptado SIGMA-ALDRICH (2015), Barceló e Hennion (1997) e Lima (2010).

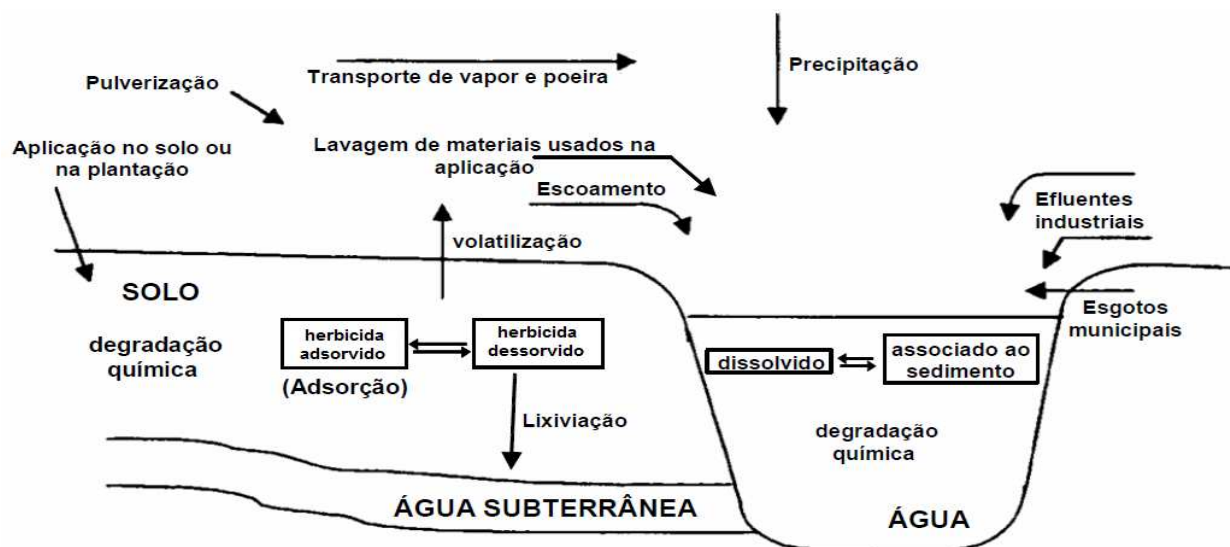
Composto	Fórmula	Massa Molar ( $\text{g mol}^{-1}$ )	CAS NUMBER
Atrazina	$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{ClN}_5$	215,68	1912-24-9
Simazina	$\text{C}_7\text{H}_{12}\text{ClN}_5$	201,66	122-34-9
Desetilatrazina	$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{ClN}_5$	187,63	6190-65-4
Deisopropilatrazina	$\text{C}_5\text{H}_8\text{ClN}_5$	173,60	1007-28-9
Desetil-Deisopropilatrazina	$\text{C}_3\text{H}_4\text{ClN}_5$	145,55	3397-62-4

O herbicida atrazina é um composto regulamentado desde os anos 90, tendo sido estabelecidos limites máximos para a sua detecção em águas de consumo em  $3 \mu\text{g L}^{-1}$  nos Estados Unidos, segundo o EPA. A detecção do herbicida atrazina em águas de consumo em níveis superiores aos limites estipulados pelo Conselho da União Europeia resultou na proibição do seu uso nos países, como França, Dinamarca, Finlândia, Alemanha, Áustria e Itália (LIMA, 2010). No Brasil, os limites estipulados pela Portaria 2914 do Ministério da Saúde de 2011 estabelece  $2 \mu\text{g L}^{-1}$  para os herbicidas atrazina e simazina.

Muitos fatores contribuem para a mobilidade destes herbicidas em solos e contaminação da água potável. Em primeiro lugar, eles não se ligam bem com as

partículas do solo devido às características dos solos (teor e tipo de matéria orgânica, composição, tamanho e distribuição das partículas do solo, pH e densidade do solo, tamanho e distribuição dos poros), por isso são facilmente levados dos campos de águas pluviais. Em segundo lugar, muitas áreas de aplicação têm alto teor de argila no solo. Solos argilosos têm taxas relativamente baixas de infiltração e, assim, promovem a mobilidade dos herbicidas no solo, durante eventos de tempestades ou inundações. Em terceiro lugar, muitas fazendas praticam o plantio direto, o que aumenta a mobilidade e a perda destes herbicidas devido à camada de solo plano que limita a infiltração. Finalmente, os períodos de aplicação dos herbicidas ocorrem tipicamente durante os meses que recebem a maior parte da chuva. (MORAIS, 2009; SANTANA, 2012).

As águas superficiais e subterrâneas podem ser contaminadas pelos herbicidas por meio de diversos mecanismos, como é mostrado na Figura 3. A contaminação direta é resultante do controle de ervas aquáticas, despejo de efluentes industriais e esgotos municipais. A contaminação indireta é devida a movimentação dos herbicidas após a sua aplicação no solo ou em uma plantação. Neste caso, a contaminação das águas superficiais pode ocorrer através do transporte de vapor e de poeira, de precipitação, escoamento superficial dos agrotóxicos pela água da chuva, lavagem dos materiais usados durante a aplicação dos herbicidas ou ainda pelo descarte inadequado de embalagens usadas (MORAIS, 2009).



**Figura 3.** Vias de entrada dos agrotóxicos no ambiente aquático por aplicação direta ou por mobilização a partir do seu uso na agricultura. Fonte: Adaptado de Moraes, 2009.

Na água superficial, os herbicidas podem simplesmente continuar dissolvidos ou serem adsorvidos pelos sedimentos, o que pode representar uma fonte de contaminação. Os herbicidas dissolvidos na água são passíveis de degradarem por fatores químicos, biológicos ou físicos ou permanecerem na sua forma original, disponíveis para os peixes e outros organismos aquáticos, podendo desta forma, ocorrer bioconcentração ou bioacumulação (MORAIS, 2009).

A degradação de um herbicida resulta em alterações em sua estrutura química, normalmente diminuindo a concentração do composto original no meio onde está ocorrendo a reação, podendo ocorrer a geração de subprodutos de degradação. O processo de degradação ideal seria aquele que resultasse em espécies inorgânicas como água e dióxido de carbono (MORAIS, 2009).

Entretanto, geralmente, os compostos resultantes são intermediários estáveis, que podem ter um impacto negativo sobre o meio ambiente se forem mais tóxicos que a molécula original. Por isso se torna importante o estudo de degradação destes compostos em micro escala para a elucidação dos subprodutos gerados (MORAIS, 2009).

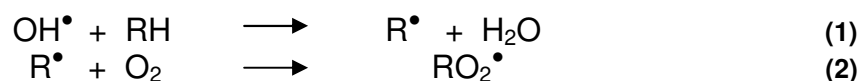
### **3.3 PROCESSOS OXIDATIVOS**

Por serem compostos persistentes e perigosos ao meio ambiente e a saúde humana, os herbicidas triazínicos necessitam de tratamento que possam removê-los ou transformá-los em espécies químicas de menor impacto ambiental, uma vez que apenas as metodologias convencionais de tratamento (coagulação, floculação, sedimentação e desinfecção) não são suficientes para a remoção desses compostos triazínicos (JIANG e ADAMS, 2006).

Os processos oxidativos avançados (POA) baseiam-se na geração de espécies altamente oxidantes, que permite destruir ou degradar compostos que resistem aos tratamentos convencionais. Uma das espécies oxidantes geradas nesse processo é altamente reativa e não seletiva: o radical hidroxila ( $\text{HO}^\bullet$ ). Em geral, essas tecnologias podem ser consideradas limpas, devido a utilização de produtos químicos em níveis de

concentração muito baixos, e por não necessitar, quase sempre, de sua remoção posterior (LIMA, 2010).

Os POA liberam radicais livres altamente reativos, principalmente radicais hidroxilas, sendo que esses processos, quando combinados, possibilitam a mineralização do poluente orgânico. Conforme Legrini *et al.* (1993), os radicais hidroxilas são capazes de oxidar os compostos orgânicos por abstração do hidrogênio, como exemplificado na equação 1. Essa reação gera radicais orgânicos que com a adição de oxigênio molecular geram radicais peroxilas, os intermediários formados na equação 2 são responsáveis por iniciar reações de degradação oxidativa, transformando idealmente a matéria em dióxido de carbono, água e sal inorgânico (SANTOS, 2011).



Esses processos caracterizam-se por transformar a grande maioria dos contaminantes orgânicos em dióxido de carbono, água e ânions inorgânicos, através de reações de degradação que envolve espécies oxidantes transitórias, principalmente os radicais hidroxilas. Esses radicais, tem potencial redox de 2,8V, sendo somente menor que o do flúor, que é de 3,03. Na Tabela 2 estão listados os potenciais redox de algumas espécies (LIMA, 2010).

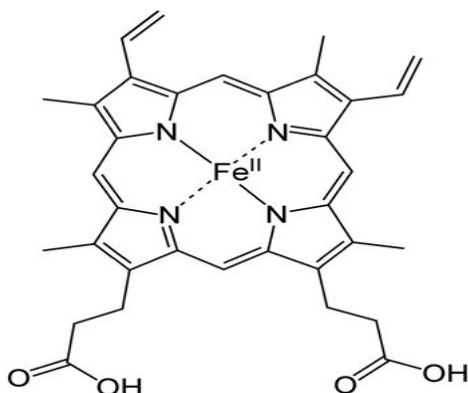
**Tabela 2.** Potencial redox de algumas espécies.

Espécie	Potencial Redox (V)
Flúor	3,03
<b><i>HO<sup>•</sup> (Radical Hidroxila)</i></b>	<b><i>2,80</i></b>
Oxigênio Atômico	2,42
Ozônio	2,08
Peróxido de Hidrogênio	1,71
Dióxido de Cloro	1,36
Bromo	1,09
Iodo	0,54

Fonte: Adaptado de Lima, 2010.

### 3.4 CITOCROMO P450 E METALOPORFIRINAS

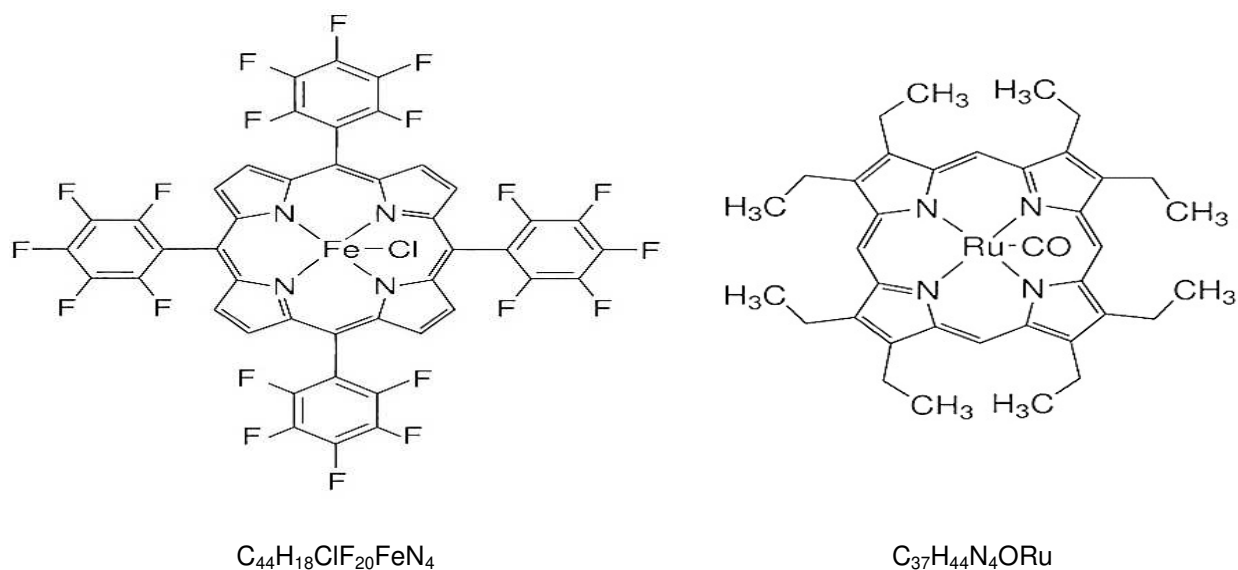
Nas últimas décadas, muitos complexos de metais de transição têm sido sintetizados para imitar os catalisadores naturais de oxidação, ou seja, as enzimas do citocromo P450 (CHEN *et al.*, 2013). As enzimas da família do citocromo P450 são naturalmente utilizadas pelos organismos vivos para catalisar oxidações seletivas de substratos orgânicos durante a evolução da vida. Essas enzimas possuem o potencial de ativar o oxigênio molecular por complexação no centro metálico (sítio ativo), ferro (III)-protoporfirina IX (Figura 4), que essas enzimas contêm, propiciando a catálise e seletividade aos processos de oxidação dos substratos orgânicos, uma vez que o oxigênio molecular naturalmente reage de forma lenta e com baixa seletividade com a maioria dos substratos orgânicos. O citocromo P450 possui, portanto, papel fundamental no metabolismo de drogas e xenobióticos como os herbicidas triazínicos (MANSUY, 2007).



**Figura 4.** Ferro (III)-protoporfirina IX. Fonte: Vinhado (2005).

A ferro (III)-protoporfirina IX é reduzida à ferro(II) para a complexação do oxigênio molecular no sítio ativo. A adição de elétron e dois íons H<sup>+</sup> promovem a monooxigenação do oxigênio molecular coordenado ao ferro (II), em seguida o átomo de oxigênio coordenado ao ferro (II) é transferido ao substrato orgânico alterando a estrutura molecular e produzindo os metabólitos. As metaloporfirinas têm o potencial de catalisar a transferência seletiva do átomo de oxigênio ao substrato orgânico (SANTOS,

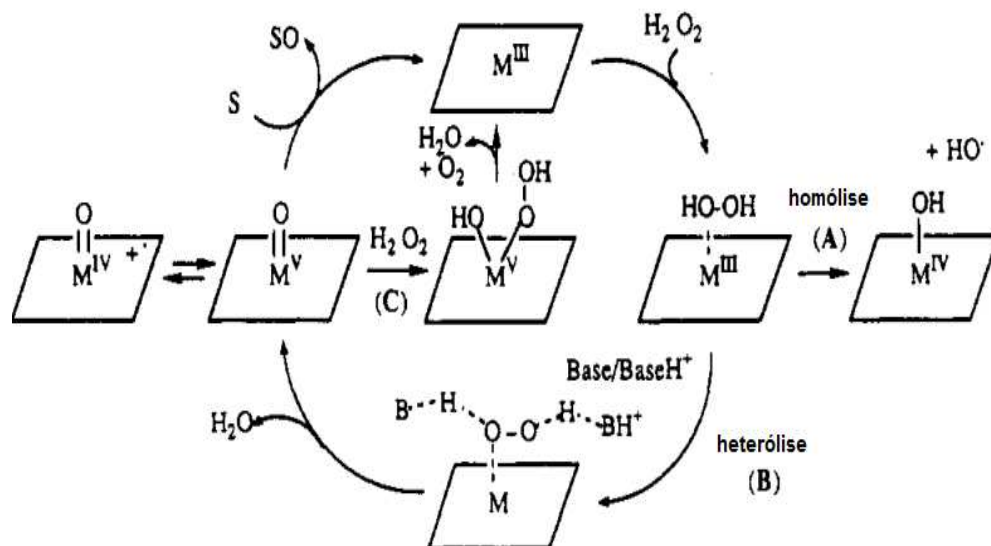
2011). A metaloporfirina de ferro – Fe (FTTPCI) possui massa molar de 1063,83 g/mol e a rutênio – Ru (OCTTPP) 661,84 g/mol, e as mesmas podem ser visualizadas na Figura 5.



**Figura 5.** Estruturas das metaloporfirinas de ferro e rutênio, respectivamente. Fonte: Adaptado de SIGMA ALDRICH (2014).

A via de ativação desejada das metaloporfirinas sintéticas é o modo heterocíclico que conduz a geração de um complexo porfirínico metal-oxo de alta valência e uma molécula de água através da heterólise (quebra de uma ligação química de um composto no qual se formam íons de cargas opostas – via B, Figura 6) (MEUNIER, 1992).

As duas vias indesejáveis são a clivagem homolítica (ruptura da ligação entre átomos de uma molécula, formando radicais livres) de  $H_2O_2$  (via A, Figura 6), ou a reação de uma segunda molécula de  $H_2O_2$  com o complexo metal-oxo para produzir oxigênio molecular e água (percurso da catálise – via C, Figura 7) (MEUNIER, 1992).



**Figura 6.** Diferentes vias reacionais possíveis na ativação de metaloporfirinas por  $\text{H}_2\text{O}_2$ : (A) = via homolítica com geração de  $\text{HO}^\bullet$ , (B) = via heterolítica com a geração de uma espécie de metal-oxo, e (C) = adição de uma segunda molécula de  $\text{H}_2\text{O}_2$  para produzir o oxigênio molecular e água (reação de catalase). Fonte: Adaptado de Meunier, 1992.

### 3.5 APLICAÇÃO DE CATALISADORES METALOPORFIRÍNICOS NO TRATAMENTO DE RESÍDUOS CONTENDO HERBICIDAS TRIAZÍNICOS

Uma alternativa de tratamento de resíduos de herbicidas que vêm sendo amplamente recomendada por diversos autores são os processos oxidativos avançados. De acordo com Miranda (2003), os processos de oxidação vêm sendo utilizados em etapas de tratamento de despoluição do ambiente aquático, podendo levar à mineralização do poluente. Uma variedade de processos oxidativos como reações catalíticas com metaloporfirinas (NELKENBAUN *et al.*, 2009), sistemas de Fenton (processos que consistem na geração do radical hidroxila a partir de uma mistura de peróxido de hidrogênio e sais ferrosos), (BALCI *et al.*, 2009), oxidação por  $\text{O}_3/\text{UV}$  (CHU *et al.*, 2006) e óxido de ferro/carvão ativado (CASTRO *et al.*, 2009), têm sido investigados.

Pesquisas realizadas por Héquet *et al.* (2000) utilizando sistemas catalíticos, abriram novas perspectivas para a recuperação da qualidade da água, através da

oxidação da atrazina por ação catalítica de complexos metálicos. O trabalho realizado por Gotardo *et al.* (2006) demonstrou a habilidade das metaloporfirinas em imitar a ação do citocromo P450 na oxidação de atrazina. Adicionalmente, também foi evidenciada a potencialidade para a aplicação destas porfirinas como uma importante ferramenta para a compreensão do metabolismo dos herbicidas.

Nelkenbaum *et al.* (2009), examinaram a transformação catalítica redutiva de cloro das atrazinas por porfirinas de cobalto e níquel, e compararam a eficiência dessas metaloporfirinas e diferentes agentes redutores, chegando a resultados de degradação completa da atrazina após 3 horas de experimento pela porfirina TP(OH)P-Co e o redutor citrato de Ti(III). Rebelo *et al.* (2009) realizaram um detalhado estudo de degradação de herbicidas triazínicos por oxidação com peróxido de hidrogênio na presença de metaloporfirinas. Condições distintas de reação foram estudadas, o sistema Mn(TDCPP)Cl/acetato de amônio/acetonitrila foi o mais eficiente para degradação de triazinas, com 83% de conversão do substrato após 15 horas de reação.

### **3.6 CROMATOGRAFIA GASOSA (GC)**

A cromatografia gasosa é uma técnica analítica que permite a separação, identificação e quantificação de espécies químicas de gases e substâncias volatilizáveis e termicamente estáveis através da distribuição dessas substâncias entre uma fase estacionária sólida ou líquida e uma fase móvel gasosa (COLLINS *et al.*, 2006).

A amostra é injetada na coluna cromatográfica contendo a fase estacionária, a temperatura programada no injetor permite a vaporização das substâncias contidas na amostra, cujo arraste pela coluna é realizado pela fase móvel, uma corrente de gás que passa continuamente pela coluna. Essas substâncias, de acordo com suas propriedades, interagem com a fase estacionária, sendo separadas, saindo da coluna em tempos diferentes e passando pelo detector com geração de um sinal elétrico proporcional à quantidade de material eluído (COLLINS *et al.*, 2006).

O registro deste sinal em função do tempo é o cromatograma, as substâncias aparecem nele como picos com área proporcional à sua massa, possibilitando a análise



quantitativa. A cromatografia gasosa tem um elevado poder de resolução, o que requer pequenas quantidades da amostra, e pode gerar resultados da ordem de picogramas a miligramas (COLLINS *et al.*, 2006).

A base do detector de ionização de chama (FID do inglês Flame Ionization Detector) é a de que o eluente da coluna, misturado com o hidrogênio é queimado ao ar, produz uma chama que tem energia suficiente para ionizar as moléculas do soluto que tenham potenciais de ionização baixos. Os íons assim produzidos são coletados por eletrodos e se mede a corrente iônica resultante, o jato do queimador é o eletrodo negativo, enquanto que o anodo é usualmente um filamento, ou uma grade, que atinge a ponta da chama. Já o detector de captura de elétrons (ECD) é baseado na captura de elétrons pelos compostos que tem afinidade por elétrons livres, o detector mede uma diminuição, e não um aumento, da corrente (VOGEL, 2002).

### **3.7 ESCOLHA DA FASE ESTACIONÁRIA**

Escolher a melhor fase estacionária é uma importante decisão quando se seleciona uma coluna capilar, porém, também é uma difícil e ambiciosa decisão. O método mais confiável é consultar a larga coleção de exemplos de aplicação fornecida pelos fabricantes de colunas. O conceito da seletividade e polaridade da fase estacionária é muito comum quando se está selecionando fases estacionárias. (AGILENT TECHNOLOGIES, 2012).

A seletividade é determinada pela interação físico-química das moléculas do soluto com a fase estacionária. A polaridade é determinada pela estrutura da fase estacionária. A seletividade pode representar uma das habilidades da fase estacionária para diferenciar entre duas moléculas do soluto pelas diferenças em suas propriedades físicas ou químicas. A separação obtida pela interação entre a fase estacionária e o soluto é diferente. Para fases líquidas ou de resinas (polisiloxanos e polietileno glicol), existem três interações principais: dispersão, dipolo-dipolo e pontes de hidrogênio (AGILENT TECHNOLOGIES, 2012).

Dispersão é a interação dominante para todas as fases estacionárias de polisiloxano e polietileno glicol. A dispersão pode ser simplificada pelo conceito da volatilidade. Em termos simples, quanto mais volátil o soluto, mais rápido ele irá eluir pela a coluna (ex: menor tempo de retenção). Entretanto, esta ordem pode ser alterada pelo efeito de polaridade do soluto e da fase estacionária, assim como interações. O ponto de ebulição do soluto é algumas vezes usado para determinar a volatilidade do composto. Isto é, os compostos eluem de acordo com o aumento do ponto de ebulição. Infelizmente, o ponto de ebulição não pode ser universalmente aplicado na interação de dispersão (AGILENT TECHNOLOGIES, 2012).

O ponto de ebulição é bastante aplicado quando se lida com estruturas similares ou grupos funcionais. Quando se lida com mistura (solução equimolar) de grupos funcionais, o ponto de ebulição com frequência simplesmente falha. Se a diferença dos pontos de ebulição dos compostos for maior que 30 °C, eles geralmente podem ser separados pela maioria das fases estacionárias (com algumas exceções). Se o ponto de ebulição for diferente por menos de 10 °C, ele se torna menos preciso e mais provável de erro (AGILENT TECHNOLOGIES, 2012).

Em adição à retenção, a polaridade da fase estacionária influencia em outras características da coluna. Há uma tendência geral entre a polaridade da fase estacionária e o tempo de vida da coluna, limite de temperatura, sangria e eficiência. O tempo de vida da coluna, temperatura limite e eficiência tendem a ser maiores na maioria das fases estacionárias apolares (AGILENT TECHNOLOGIES, 2012).

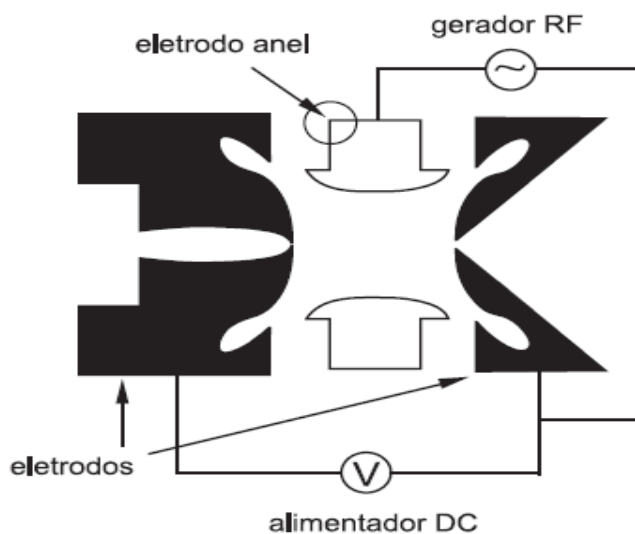
### **3.8 ESPECTROMETRIA DE MASSAS (MS)**

Nesta técnica de espectrometria de massas (MS), o material examinado é vaporizado em alto vácuo e o vapor é bombardeado por um feixe de elétrons de alta energia. Muitas moléculas do vapor sofrem fragmentações e formam íons de tamanhos diferentes. Estes íons podem ser identificados mediante a aceleração num campo elétrico, seguida pela deflexão num campo magnético, onde percorre trajetórias determinadas pela razão entre a massa e a carga ( $m/z$ ) e atingem o equipamento de

detecção e registro; cada espécie de íons provoca um pico no espectro de massas (VOGEL, 2002).

### 3.9 ANALISADOR DE MASSAS: “ION TRAP”

O espectrômetro de massa “ion trap” (ITMS, do inglês Ion Trap Mass Spectrometer) é um quadrupolo tridimensional que “captura” todos os íons que são introduzidos em seu interior e os mantém “aprisionados” até que uma determinada radiofrequência (RF) seja aplicada e torna os íons de certa razão  $m/z$  instáveis, de forma que são libertados do “trap”. A sequência de operação do ITMS se inicia com a injeção de um pulso de elétrons dentro do “ion trap” para ionizar a amostra gasosa. O eletrodo anel é mantido a uma baixa amplitude de RF para capturar todos os íons formados durante este pulso de ionização. A amplitude RF é então aumentada, e os íons de massa cada vez maiores são ejetados sequencialmente no “ion trap” e detectados com um multiplicador de elétrons. Um parâmetro chave na operação do “ion trap” é a pressão de gás de fundo, pois a colisão dos íons com um banho de gás amortece a trajetória do gás em direção ao centro do “ion trap”, provendo melhor resolução e sensibilidade (BUSCH *et al.*, 1988). O esquema de um analisador ITMS é mostrado na Figura 7, onde RF indica a radiofrequência e DC corrente contínua.

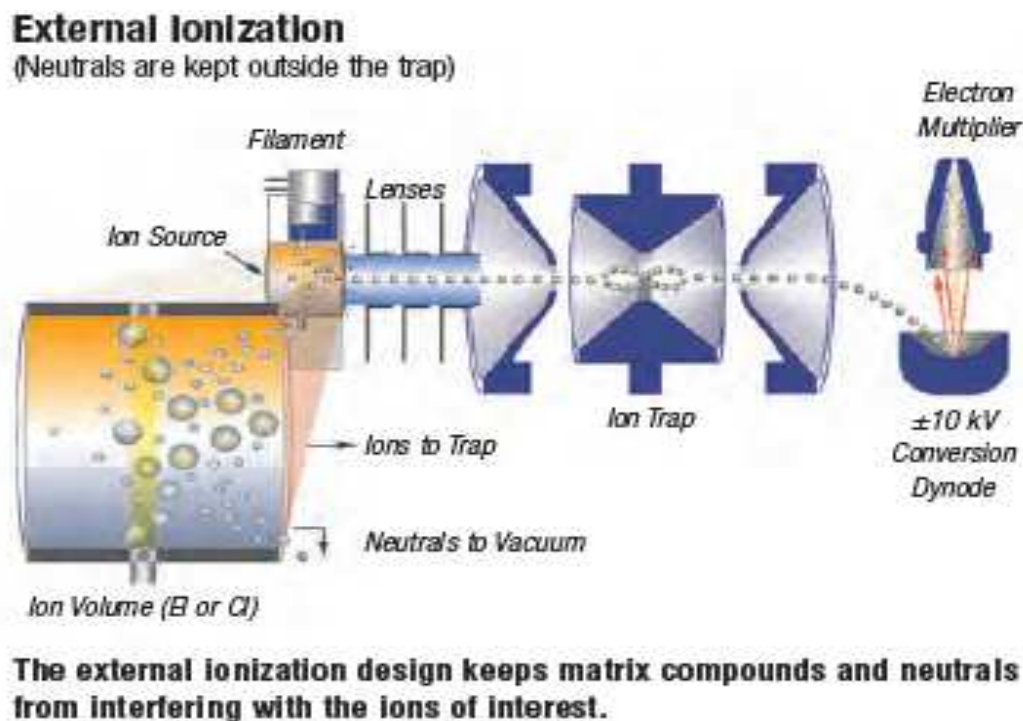


**Figura 7.** Esquema de um analisador ion-trap. Fonte: Chiaradia et al., 2008.

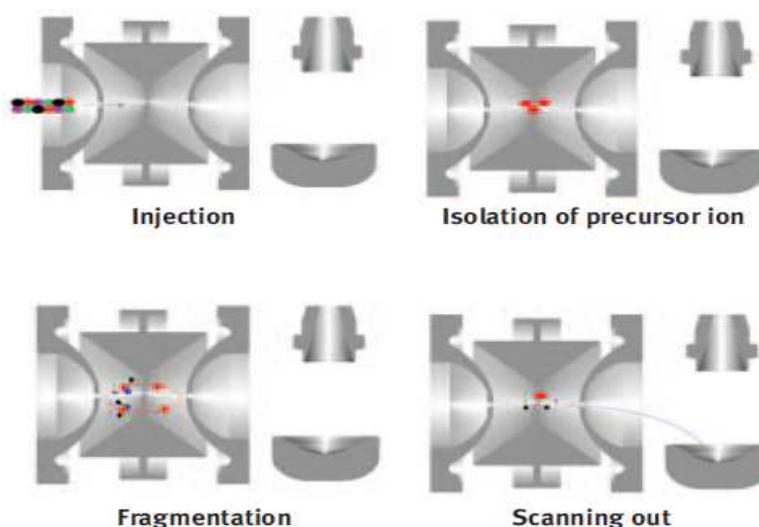
### 3.10 ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM TANDEM (MS/MS)

A espectrometria de massas em tandem (MS/MS) é a técnica espectrométrica que, ao invés de utilizar apenas um analisador de massas para separar os íons de mesma razão  $m/z$  gerados na fonte de ionização, utiliza dois estágios de espectrometria de massas ( $MS_1$  e  $MS_2$ ), em que um deles é usado para isolar o íon de interesse e o outro é usado para estabelecer uma relação entre este íon de interesse isolado e outros íons que foram gerados a partir da sua decomposição induzida (CHIARADIA *et al.*, 2008).

A análise de herbicidas tem sido tradicionalmente realizada através de um detector de captura de elétrons, com análise confirmatória por GC-MS usando varredura completa (FS, do inglês full scan). Uma abordagem alternativa é a espectrometria de massas em tandem, em que um íon composto alvo é isolado, a partir da matriz e depois fragmentado, gerando espectros muito singulares. Na Figura 8 é possível visualizar o sistema do “ion trap” e na Figura 9 a desfragmentação do íon (THERMO SCIENTIFIC, 2007).



**Figura 8.** Ionização externa. Fonte: Thermo Scientific (2012).



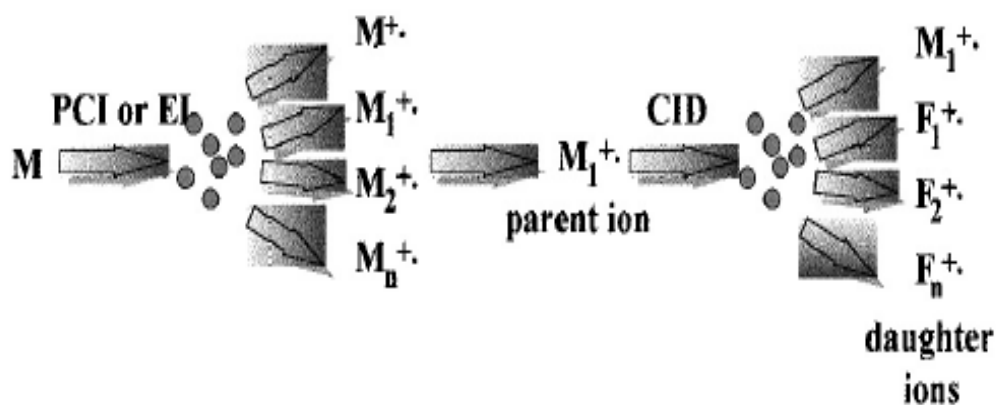
**Figura 9.** Desfragmentação do ion. Fonte: Thermo Scientific (2007).

A técnica da espectrometria de massas tandem é uma técnica universal e específica que permite a redução do efeito de matriz pela exclusão dos íons filhos do analito sob estudo (THERMO SCIENTIFIC, 2012). As vantagens do emprego desta técnica são:

- ⇒ Os íons são produzidos no “trap” e simultaneamente presos dentro dele;
- ⇒ O detector de íon trap possibilita a obtenção de ambos espectros de massa e espectro de massa-massa usando a técnica frequentemente chamada de “tandem-in-time”.

De acordo com Sauret *et al.* (2000), a operação da espectrometria de massas tandem é dividida em alguns estágios, como mostrado na Figura 10:

1. Ionização das moléculas da amostra pelo impacto de elétrons (EI, do inglês impact of electrons);
2. Seleção da massa dos íons filhos;
3. Dissociação de colisão induzida (CID, do inglês collision induced dissociation) dos íons filhos;
4. Detecção destes íons filhos.



**Figura 10.** Princípio da espectrometria de massa tandem. Ionização química positiva (PCI, do inglês Positive Chemical Ionization), EI e CID. Fonte: Sauret et al., (2000).

Pereira *et al.* (1990) utilizaram um cromatógrafo gasoso da Hewlett-Packard 5890 acoplado a um detector de espectrometria de massa “ion-trap” Finnigan Mat 800, utilizando uma coluna Durabond-5 da J&W Científica de 30m x 0,25mm x 0,25µm para a determinação de traços de herbicidas e seus produtos de degradação em águas superficiais do Rio Mississippi (Mississippi, Estados Unidos) e subterrâneas do centro de Nebraska, Estados Unidos. As amostras foram extraídas por extração líquido-líquido (LLE), utilizando diclorometano. O “ion trap” foi ajustado para análise dos espectros dos íons de interesse, dos quais 201 e 200 são respectivos à simazina e atrazina. Os padrões foram preparados a partir de compostos puros da Companhia Monsanto e diluídos em diclorometano grau HPLC da Burdick e Jackson. A calibração do equipamento permitiu a detecção de até 60 picogramas, com curva de calibração de 0,06 a 6 ng/µL, com recuperação de 99,9% para o padrão interno de terbutilazina.

Bruzzoniti *et al.* (2006) utilizaram um cromatógrafo gasoso da Thermo Finnigan Trace GC acoplado a um detector de espectrometria de massa quadrupolo Thermo Electron, utilizando uma coluna DB17ms da J&W Científica de 30m x 0,25mm x 0,17µm para a determinação de herbicidas por cromatografia gasosa com espectrometria de massa por extração em fase sólida de amostras de água de consumo e amostras de água bruta do Rio Po (Torino, Itália). As amostras foram extraídas pela técnica de extração em fase sólida (SPE, do inglês solid phase extraction) através das fases C18, CN, Fenil, SBD e Envi-Carb. Os padrões foram obtidos da AccuStandard com pureza de 98%, dissolvidos e diluídos em metanol. O detector foi ajustado para análise dos

espectros dos íons de interesse, dos quais 201 e 200 são respectivos a simazina e atrazina. A calibração foi feita com faixa de 25 – 50 – 100 – 150 e 200 µg/L.

Neste trabalho, Bruzzoniti *et al.* (2006) testaram 5 tipos de fases diferentes sendo C18, CN, Fenil, SBD e Envi-Carb para a extração dos analitos de interesse sobre a recuperação, sendo que a recuperação dos mesmos variou de 16 a 104% para a atrazina e 49 a 101% para a simazina. Eles também testaram a condição do solvente de eluição sobre a recuperação, variando entre misturas de acetona:acetona, acetona:metanol, metanol:metanol, acetona:acetona+metanol e metanol:acetona+metanol, variando de 64 a 113% para a atrazina e 66 a 111% para a simazina utilizando a fase C18.

Molina *et al.* (2013) utilizaram um cromatógrafo gasoso da Varian Inc CP-3800 acoplado a um detector de espectrometria de massa triplo-quadrupolo Varian 300-MS, utilizando uma coluna VF-5ms da Varian de 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm para o monitoramento dos poluentes orgânicos das estações de tratamento de efluentes de esgoto da Espanha. As amostras foram extraídas pela técnica de extração em líquido-líquido com n-hexano. O detector foi ajustado para análise dos espectros dos íons de interesse, dos quais 201 e 215 são respectivos a simazina e atrazina, respectivamente. A calibração foi feita com curva de calibração de 0,5 – 500 ng/L, com recuperação de 74 e 54% para a fortificação com 15 e 150 ng/L da atrazina e 25% para a fortificação com 150 ng/L para a simazina utilizando padrões diluídos em n-hexano.

Pitarch *et al.* (2007) utilizaram um cromatógrafo gasoso da Agilent 6890N acoplado a um detector de espectrometria de massa Quattro Micro GC triplo-quadrupolo QqQ, utilizando uma coluna HP-5ms da J&W Científica de 30m x 0,25mm x 0,25µm para a determinação de orgânicos micropoluentes prioritários em amostras de água da cidade de Valência, na Espanha por cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massa acoplada a um triplo quadrupolo. As amostras foram extraídas pela técnica de extração líquido-líquido utilizando acetato de etila:diclorometano (50:50), metanol e hexano. O detector foi ajustado para análise dos espectros dos íons de interesse, dos quais 201 e 200 são respectivos à simazina e atrazina. A calibração foi feita com curva de calibração de 10, 25 e 50 µg/L em nonoplicata com desvio padrão relativo menor que 10%, utilizando padrões diluídos em acetona grau HPLC, com recuperação de 124

e 101% para a fortificação com 25 e 250 ng/L da atrazina e 108% para a fortificação com 250 ng/L para a simazina.

### 3.11 ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS

A espectrofotometria UV-Vis é uma técnica analítica que utiliza a luz para medir as concentrações químicas. Quando a luz é absorvida por uma amostra, a energia radiante do feixe de luz diminui. O espectro é a representação gráfica de energia radiante, ou espectro eletromagnético (HARRIS, 2001).

A espectrofotometria está fundamentada na lei de Beer-Lambert (Equação 3), base matemática para medidas de absorção de radiação por amostras nas regiões ultravioleta, visível e infravermelho do espectro eletromagnético.

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \epsilon bc \quad (3)$$

Onde  $A$  é absorbância,  $I_0$  é intensidade da radiação que incide na amostra e  $I$  é a intensidade de radiação que emerge da amostra,  $\epsilon$  é absortividade molar característica da espécie absorvente que depende do comprimento de onda da radiação incidente,  $b$  é distância percorrida pelo feixe através da amostra e  $c$  é concentração da espécie absorvente (HARRIS, 2001; VOGEL, 2002).

### 3.12 DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

A validação de um método é feita para assegurar que uma metodologia analítica é exata, específica, reprodutível e robusta em uma faixa específica na qual o analito será analisado. Segundo a EURACHEM, a validação está frequentemente associada ao desenvolvimento de um método, pois muitos parâmetros de desempenho do método relacionados à validação do método podem ser avaliados durante o seu



desenvolvimento. Entretanto, os dois processos devem ser completamente separados (MORAIS, 2009).

O procedimento de validação é uma última etapa de um processo bem organizado, planejado e sistematicamente executado anteriormente, que inclui a adequação do laboratório, o desenvolvimento do método e estudos de pré-validação. O planejamento e a otimização do método não devem ser confundidos com a etapa de validação, na qual todos os parâmetros já devem estar otimizados e a probabilidade de ocorrência de desvios deve ser mínima (MORAIS, 2009).

A importância de validação de métodos cromatográficos desenvolvidos está refletida na necessidade de um controle de qualidade dos resultados obtidos. Nesse contexto, a validação do método cromatográfico é uma etapa que requer atenção e no presente projeto será realizada a validação do método desenvolvido para análise cromatográfica dos resíduos contendo herbicidas triazínicos (atrazina e simazina).

Os procedimentos de validação de métodos analíticos são fundamentados em atender as diretrizes da ISO 17025 e da EURACHEM/CITAC, as quais estabelecem requisitos gerenciais e técnicos para implementação de sistemas de gestão de qualidade em laboratórios de análises.

Os parâmetros de desempenho analítico geralmente utilizados para validação de métodos de separação, como os métodos cromatográficos, são, de acordo com Ribani *et al.* (2004) e Moraes (2009), os seguintes:

- ⇒ SELETIVIDADE: É a habilidade de um método em quantificar o analito sem equívocos na presença de componentes que podem estar presentes como impurezas, produtos de degradação e excipientes. Um método específico deve medir somente o composto desejado, sem a interferência de outros compostos, sendo que uma separação não é necessariamente requerida.
- ⇒ LIMITE DE DETECÇÃO: O limite de detecção (LD) representa a menor concentração do analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada como um valor exato. Outra definição relevante é dada pela IUPAC, de que o LD é a menor concentração do analito na amostra que pode ser distinguida

de zero com confiança. De acordo com o documento orientativo do INMETRO, o LD pode ser calculado pelas equações 3 e 4.

$$LD = \bar{X} + t_{(n-1, 1-\alpha)} \cdot s \quad (3)$$

onde  $\bar{X}$  = média dos valores do branco da amostra,  $t$  = é a distribuição de Student dependente do tamanho da amostra e o grau de confiança e  $s$  = desvio padrão amostral dos brancos da amostra.

$$LD = 0 + t_{(n-1, 1-\alpha)} \cdot s \quad (4)$$

onde  $t$  = é a distribuição de Student dependente do tamanho da amostra e o grau de confiança e  $s$  = desvio padrão amostral dos brancos da amostra com adição.

⇒ LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO: O limite de quantificação (LQ) é a menor concentração do analito em uma amostra que pode ser determinada com exatidão e precisão adequada. De acordo com o documento orientativo do INMETRO, o LQ pode ser calculado pela equação 5:

$$LQ = \bar{X} + 5s \text{ ou } LQ = \bar{X} + 6s \text{ ou } LQ = \bar{X} + 10s \quad (5)$$

onde  $\bar{X}$  = média dos valores do branco e  $s$  = desvio padrão amostral dos brancos.

⇒ LINEARIDADE E CURVA ANALÍTICA: A linearidade é a habilidade de um método analítico em produzir resultados que sejam diretamente proporcionais a concentração do analito em amostras, em uma dada faixa de concentração, determinada de faixa linear de trabalho ou intervalo de linearidade. No limite inferior da faixa de concentração, os fatores limitantes são os valores do LD e LQ. No limite superior, os fatores limitantes dependem do sistema de resposta do instrumento. Matematicamente, a estimativa dos coeficientes de uma curva analítica a partir de um conjunto de medições experimentais pode ser efetuada usando o método matemático conhecido como regressão linear. Além dos coeficientes de regressão  $a$  e  $b$ , também é possível calcular, a partir dos pontos experimentais, o coeficiente de correlação  $r$ . Este parâmetro permite uma estimativa da qualidade da curva obtida, pois quanto mais próximo de 1,0 menor a dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados. A

ANVISA recomenda um coeficiente de determinação igual a 0,99 e o INMETRO um valor acima de 0,90 (Moraes, 2009).

- ⇒ **EXATIDÃO, PRECISÃO E RECUPERAÇÃO:** A exatidão é o grau de concordância entre uma medida (expressa como um valor médio resultante de uma série de medidas) e o valor esperado. A exatidão do método pode ser avaliada através de estudos de porcentagem de recuperação do analito em amostras fortificadas com concentrações conhecidas. A precisão descreve o grau de concordância entre medidas independentes obtidas por meio de um procedimento analítico na análise de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condições definidas. A precisão está relacionada ao desvio aleatório e mede a dispersão ou espalhamento dos valores ao redor da média e é expressa como estimativa do desvio padrão relativo ou coeficiente de variação (CV). A repetibilidade refere-se a precisão avaliada sobre a mesma amostra (ou amostras semelhantes), utilizando o mesmo método, no mesmo laboratório ou em laboratórios diferentes, mas definindo exatamente quais as condições que irão variar (uma ou mais): analista, equipamento ou tempos diferentes (MORAIS, 2009).

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1 EQUIPAMENTOS, VIDRARIAS E REAGENTES**

- ✓ Simazina, AccuStandard Lote 120400AG-AC, validade 28/07/2015;
- ✓ Atrazina, AccuStandard Lote 5378, validade 28/07/2015;
- ✓ DIA (Atrazina Desisopropil) AccuStandard Lote 012308AG, validade 23/01/2018;
- ✓ DEA (Atrazina Desetil) AccuStandard Lote 031108AG-AC, validade 25/03/2018;
- ✓ DAA (Atrazina Desetil-Desisopropil) AccuStandard Lote 21120, validade 17/12/2013;
- ✓ Acetonitrila grau HPLC, J.T.Baker Lote K02C52;

- ✓ Porfirina de Ferro: ferro tretakis(pentafluorofenil)porfirina – Fe(FTTPCl): 5, 10, 15 , 20 –tetrakis(pentafluorofenil)-21H, 23H-Porfirina de Cloreto de Ferro(III) Sigma Aldrich;
- ✓ Porfirina de Rutênio: Rutêniooctaetilporfirina–Ru(OCTTPP): 2, 3, 7, 8, 12, 13, 17, 18-octaetil-21H, 23H-Porfirina de Rutênio(II)Carbonil Sigma Aldrich;
- ✓ Peróxido de Hidrogênio 30% Merck;
- ✓ Balança analítica Shimadzu AUW220D, Máx. 220g/82g Mín. 1mg;
- ✓ Espectrofotômetro UV-Vis GBC Cintra 6 com comprimento de onda de varredura variando de 190 a 800 nm;
- ✓ Cromatógrafo a gás GC-TRACE Thermo Finningan equipado com detector de ECD e FID, com coluna capilar OV-5 (com fase 5% de fenil e 95% de dimetilpolisiloxano) com 30 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e espessura da fase estacionária de 0,25 µm;
- ✓ Cromatógrafo a gás GC-3900/Saturn 2100T Varian - equipado com detector MS, com coluna capilar VF-5ms Varian com 30 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e espessura da fase estacionária de 0,25 µm;
- ✓ Cromatógrafo a gás GC-TRACE Thermo Finningan equipado com detector MS/MS, com coluna capilar TR-M5S (com fase 5% de fenil e 95% de polisilfenileno) com 30 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e espessura da fase estacionária de 0,25 µm;
- ✓ Micro-reator com frasco de vidro âmbar de capacidade de 25 mL, com tampa, sob agitação magnética em temperatura ambiente;
- ✓ Pipetadores de 1000 µL e 10000 µL da Eppendorf;
- ✓ Cubetas de Quartzo de 10 mm;
- ✓ Seringa de 10 mL;
- ✓ Agitador de tubos vortex;
- ✓ Microseringa de 10 µL para injeção no cromatógrafo.

## **4.2 PROCEDIMENTO ANALÍTICO**

### **4.2.1 Preparo das soluções padrões e das metaloporfirinas**

Para o preparo da solução das metaloporfirinas com concentração de  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , pesou-se, em balança analítica, 1 mg da metaloporfirina de ferro em um vial de 40 mL e acrescentou-se, com o auxílio de um pipetador Eppendorf, 10 mL de acetonitrila HPLC. Agitou-se o vial, utilizando-se um agitador de tubos vortex, para homogeneizar a solução. O mesmo procedimento foi utilizado no preparo da solução da metaloporfirina de rutênio. As soluções das metaloporfirinas foram mantidas protegidas da fotodegradação (vial âmbar protegido com papel alumínio) sob refrigeração.

Para o preparo da solução estoque dos analitos de interesse com concentração de  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , pesou-se, em balança analítica, 1 mg do analito (ATZ, SIM, DEA ou DIA) em um vial de 40 mL e acrescentou-se, com o auxílio de um pipetador Eppendorf, 10 mL de acetonitrila HPLC. Agitou-se o vial, utilizando-se um agitador de tubos vortex, para homogeneizar a solução. A partir da solução estoque dos analitos com concentração de  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , preparou-se as soluções de trabalho com concentrações de 0,100 – 0,250 – 0,500 – 0,750 – 1,000 – 1,250 – 1,500 – 1,750 – 2,000 – 2,500 – 5,000 – 10,000 – 15,000 – 20,000 e 25,000  $\text{mg L}^{-1}$  através do cálculo das diluições por  $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$ .

Para o preparo da solução de peróxido de hidrogênio 1:10, em um vial contendo 9 mL de acetonitrila HPLC, foi adicionado 1 mL de peróxido de hidrogênio comercial. Agitou-se o vial, utilizando-se um agitador de tubos vortex, para homogeneizar a solução. Todas as soluções preparadas foram mantidas sobre refrigeração, para preservação.

### **4.2.2 Procedimento de Degradação**

Após o preparo das soluções de trabalho dos analitos, do peróxido e das metaloporfirinas, as reações foram conduzidas através do seguinte procedimento:

- ✓ Adicionou-se 3 mL da solução do analito (ATZ, SIM ou solução equimolar ATZ+SIM) na concentração de estudo (1, 5, 10 ou 25 mg L<sup>-1</sup>) em um frasco âmbar de 20 mL;
- ✓ Ao frasco adicionou-se uma barra de agitação, e o mesmo foi colocado sobre um agitador magnético, montando desta forma o esquema do reator (Figura 11);



**Figura 11.** Esquema do reator utilizado no procedimento de degradação.

- ✓ Adicionou-se, com o auxílio de uma micropipeta, 100 µL da metaloporfirina (MetFe ou MetRu) e manteve-se o frasco sobre agitação;
- ✓ Ao frasco, adicionou-se, com o auxílio de uma micropipeta, 100 µL do peróxido de hidrogênio e o mesmo foi mantido sobre agitação. A cada 10 minutos de reação, adicionou-se 100 µL do peróxido de hidrogênio, totalizando uma adição final de 800 µL de peróxido de hidrogênio em 80 minutos de reação.

#### **4.2.3 Análises *via* espectrofotometria UV-Vis**

As análises de oxidação dos analitos (ATZ, SIM e solução equimolar ATZ+SIM) foram monitoradas a cada 10 minutos de reação através da leitura das amostras, com o auxílio de uma seringa de vidro de 5 mL para transferência de 2,8 mL do analito em reação para a cubeta de quartzo de 10 mm do UV-Vis e posterior devolução de seu volume ao frasco reacional.

Através do monitoramento das reações de degradação via UV-Vis espera-se observar o comportamento das metaloporfirinas no meio oxidante com peróxido de hidrogênio e a degradação dos compostos de interesse, assim como comparar os dados obtidos entre a metaloporfirina de ferro e rutênio. Os dados referentes à programação do UV-Vis para a obtenção das leituras de absorbância podem ser visualizados na Tabela 3.

**Tabela 3.** Dados da programação do UV-Vis

Comprimento de Onda	220 nm
Upper	800 nm
Lower	200 nm
Speed	1000 nm/min.
Step Size	0,427 nm
Slit Width	1,5 nm

#### 4.2.4 Análises *via* GC-ECD

Para confirmar o tempo de retenção ( $t_r$ ) de cada analito, os mesmos foram injetados isoladamente no GC-ECD na concentração de 25,00 mg L<sup>-1</sup>. Após a determinação do  $t_r$  de cada analito, injetou-se os padrões dos analitos em triplicata para obtenção das curvas analíticas. As análises de oxidação dos analitos (ATZ, SIM e solução equimolar ATZ+SIM) foram injetadas a cada 20 minutos de reação manualmente com microseringa de 10 µL. Os dados referentes à programação de temperatura para as análises no GC-ECD podem ser visualizados nas Tabelas 4, 5, 6 e 7.

**Tabela 4.** Condições de temperatura de análise no GC-ECD.

Item	Temperatura (°C)
Temperatura Base	250
Temperatura ECD	300
Temperatura Injetor	230

**Tabela 5.** Condições no ECD.

Split Flow	60 mL.min <sup>-1</sup>
Splitless Time	0,80 min
Reference Current	1,0 nA
Pulse Amplitude	1,0 V
Flow Makeup	3,0 mL.min <sup>-1</sup>

**Tabela 6.** Condições no GC-ECD.

Fluxo na coluna	1,0 mL.min <sup>-1</sup> (Nitrogênio)
Pressão	100 kPa

**Tabela 7.** Rampa de programação de temperatura do GC-ECD.

	Taxa de Aquecimento (°C/min)	Temperatura (°C)	Tempo de Espera (min.)
	-	90	0,50
<b>Rampa 1</b>	25,0	160	0,50
<b>Rampa 2</b>	3,0	180	0,50
<b>Rampa 3</b>	5,0	200	3,00

#### 4.2.5 Análises *via* GC-MS em parceria com a empresa Grandis

Para confirmar o tempo de retenção ( $t_r$ ) de cada analito, os mesmos foram injetados isoladamente no GC-MS na concentração de 5,00 mg L<sup>-1</sup> com posterior



confirmação dos analitos através da comparação do scan com a biblioteca NIST. As análises de oxidação dos analitos (ATZ, SIM e solução equimolar ATZ+SIM) foram injetadas a cada 20 minutos de reação com a ajuda do amostrador automático CombiPal do equipamento. Os dados referentes à temperatura das condições de análise, condições do MS, condições do GC e rampa de programação podem ser visualizados nas Tabelas 8, 9, 10 e 11, respectivamente.

**Tabela 8.** Condições de temperatura de análise no GC-MS.

Item	Temperatura (°C)
Trap	220
Manifold	80
Transferline	250

**Tabela 9.** Condições no MS.

Modo	Fill/MullDelay
Tempo de Varredura (3 $\mu$ S scans)	0,76 segundos/scan
Multiplicador OffSet	0+/- volts
Emissão Atual	10 $\mu$ amps
Contagem inicial	1 contagem
Alvo TIC	12000 contagem
Tempo máximo de ionização	25000 $\mu$ sec
Prescan Ionization Time	100 $\mu$ sec
Massa de fundo	45 m/z
Valor RF Dump	650,0 m/z

**Tabela 10.** Condições no GC-MS.

Fluxo na coluna	1,1 mL.min <sup>-1</sup> (Hélio)
Temperatura no injetor	250°C

**Tabela 11.** Rampa de programação no GC-MS.

	Taxa de Aquecimento (°C/min)	Temperatura (°C)	Tempo de Espera (min.)
	90	---	0,50
<b>Rampa 1</b>	160	25,0	0,50
<b>Rampa 2</b>	180	3,0	0,50
<b>Rampa 3</b>	200	5,0	3,00

#### 4.2.6 Análises *via* GC-MS/MS

Para confirmar o  $t_r$  de cada analito, os mesmos foram injetados isoladamente no GC-MS/MS na concentração de 5,00 mg L<sup>-1</sup> com posterior confirmação dos analitos através da comparação do scan com a biblioteca NIST. Após a determinação do  $t_r$  de cada analito, injetou-se os padrões dos analitos em triplicata para obtenção das curvas analíticas. As análises de oxidação dos analitos (ATZ, SIM e solução equimolar ATZ+SIM) foram injetadas a cada 20 minutos de reação com a ajuda do amostrador automático TriPlus do equipamento. Os dados referentes à temperatura das condições de análise, condições do MS/MS, condições do GC e rampa de programação podem ser visualizados nas Tabelas 12, 13, 14 e 15, respectivamente.

**Tabela 12.** Condições de temperatura de análise no MS/MS.

Item	Temperatura (°C)
Íon Source	250
Right PTV	280
MS Transferline	250

**Tabela 13.** Condições no MS/MS.

Modo	Full Scan
Início do Scan	2,50 min
Faixa de Massa	50 – 650
Tempo total Scan (sec)	0,58
Íons	Positivo
Microscans	3
Tempo máximo de ionização (ms)	25

**Tabela 14.** Condições no GC.

Fluxo da coluna	1,0 mL/min (Hélio)
Modo de Fluxo	Fluxo constante

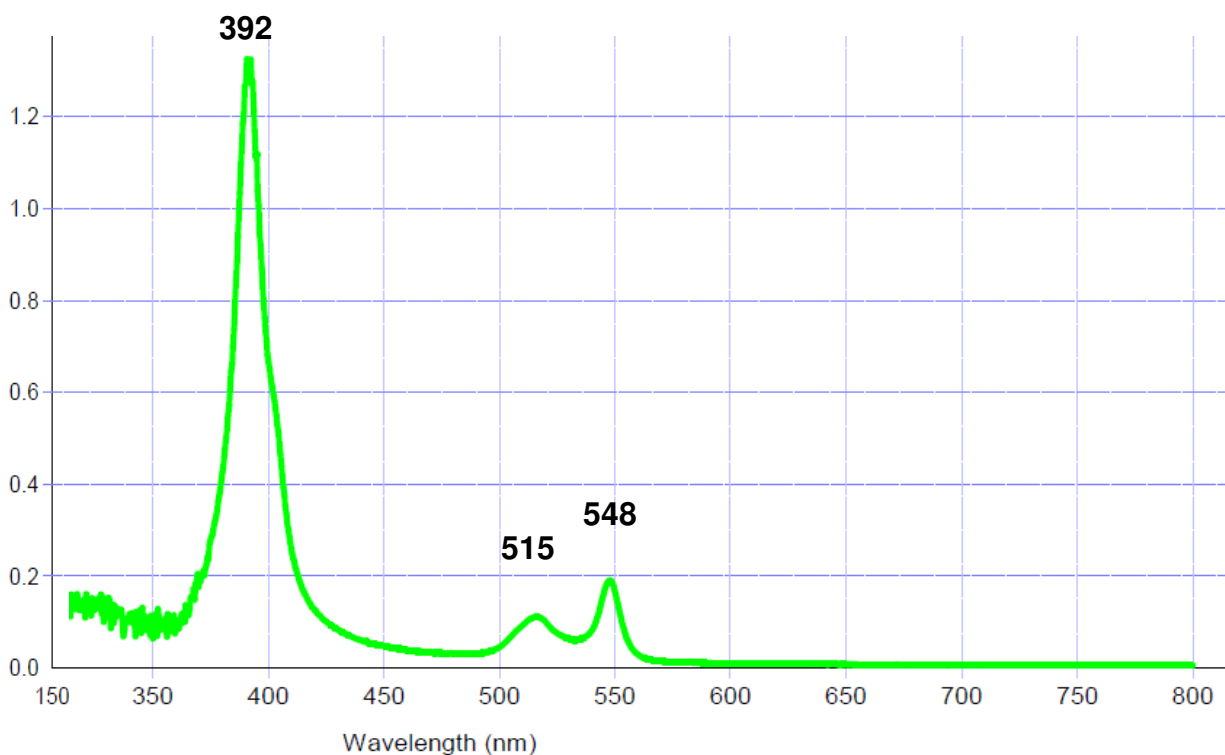
**Tabela 15.** Rampa de programação no GC-MS/MS.

	Taxa de Aquecimento (°C/min)	Temperatura (°C)	Tempo de Espera (min.)
	90	---	0,50
<b>Rampa 1</b>	160	25,0	0,50
<b>Rampa 2</b>	180	3,0	0,50
<b>Rampa 3</b>	200	5,0	3,00

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

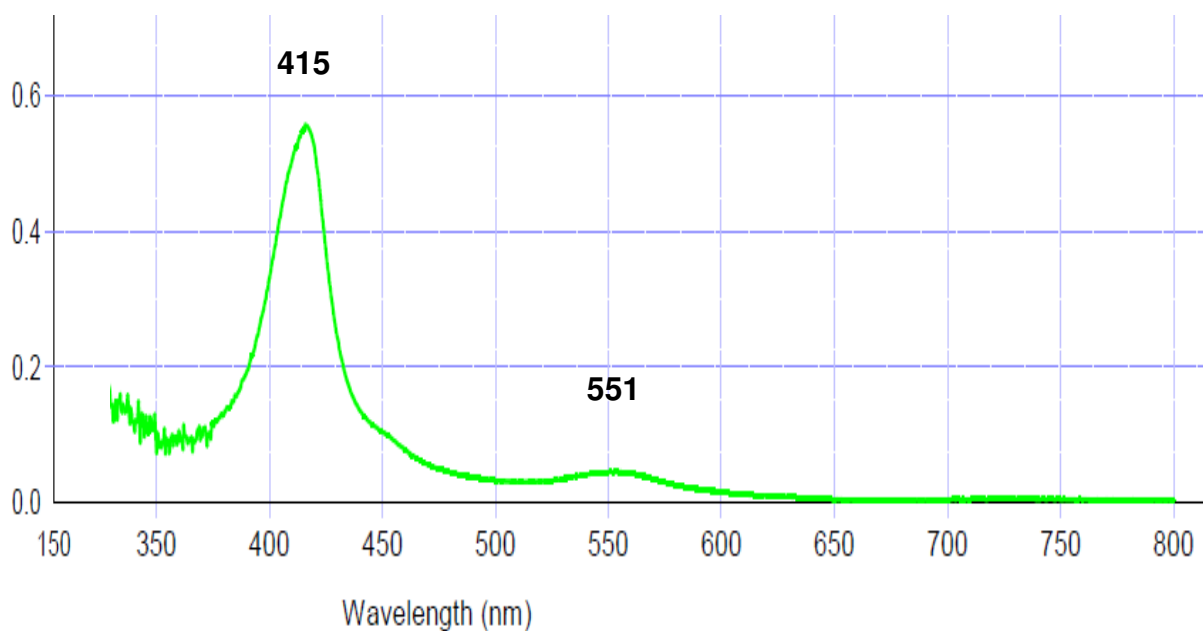
### 5.1 REAÇÕES *via* UV-Vis

O espectro UV-Vis da metaloporfirina de rutênio possui 3 bandas que a caracterizam, nos comprimentos de onda 392, 515 e 548 nm (Figura 12).



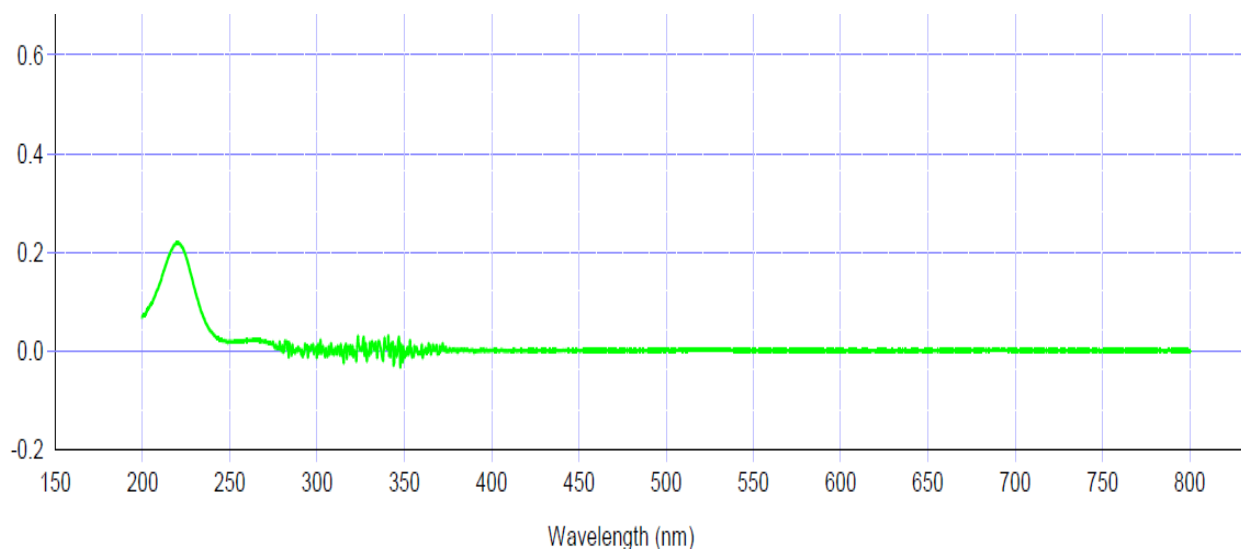
**Figura 12.** Espectro UV-Vis da metaloporfirina de rutênio e as suas bandas características em 392, 515 e 548 nm

O espectro UV-Vis da metaloporfirina de ferro possui 3 bandas que a caracterizam, nos comprimentos de onda 415 e 551 nm (Figura 13).

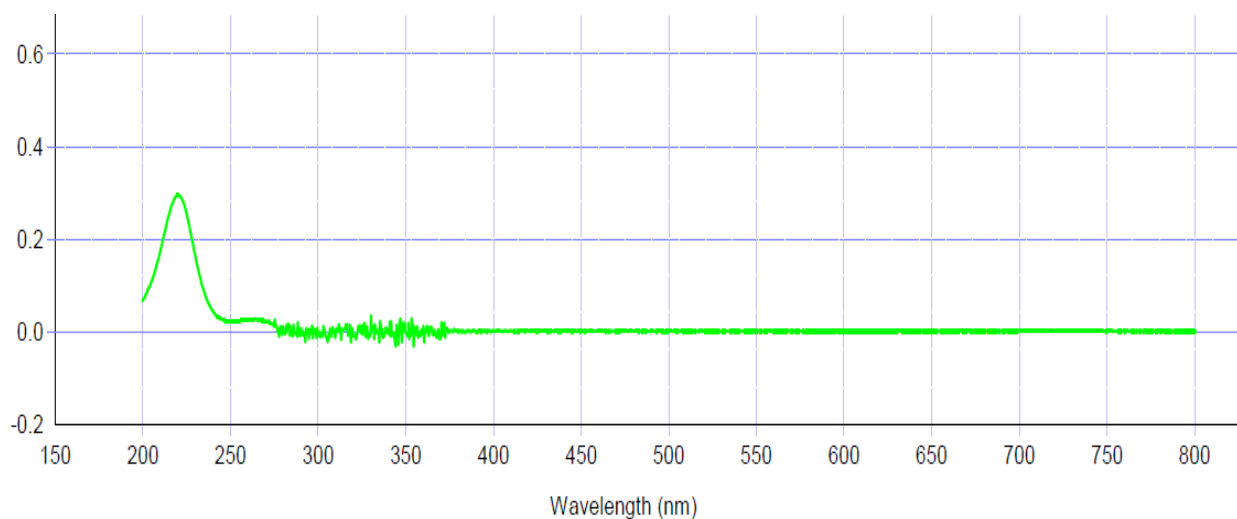


**Figura 13.** Espectro UV-Vis da metaloporfirina de ferro e as suas bandas características em 415 e 551 nm

Os espectros UV-Vis da atrazina e simazina possuem a banda que as caracterizam no comprimento de onda de 217-218 nm, respectivamente (Figura 14 e 15).

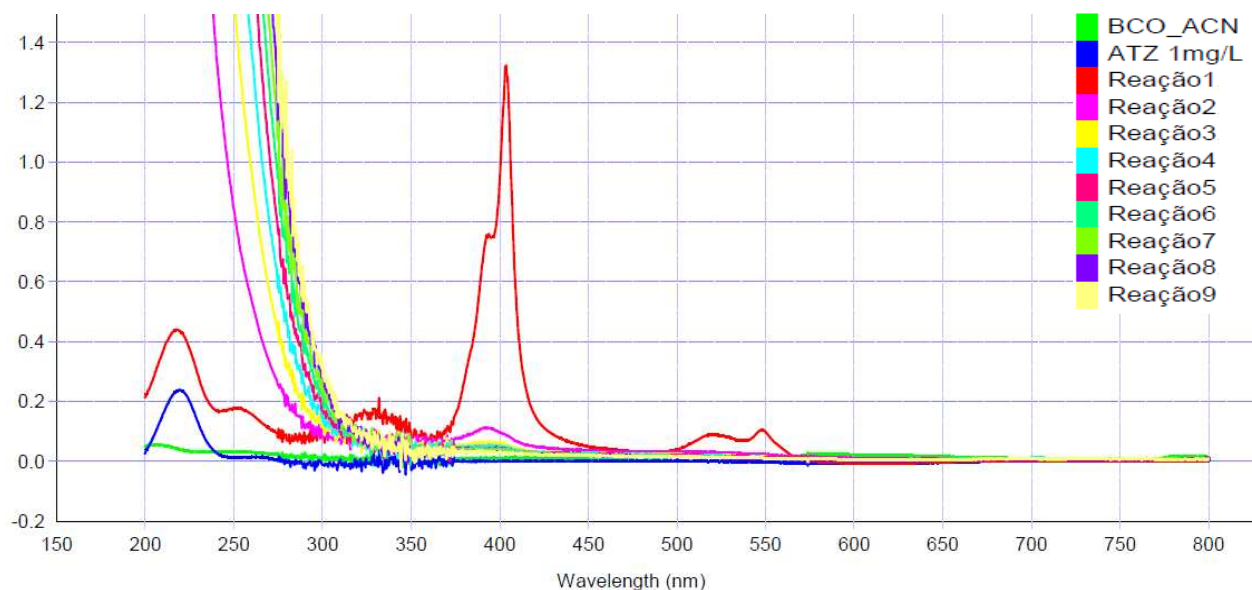


**Figura 14.** Espectro UV-Vis da ATZ 1,00 mg L<sup>-1</sup>.

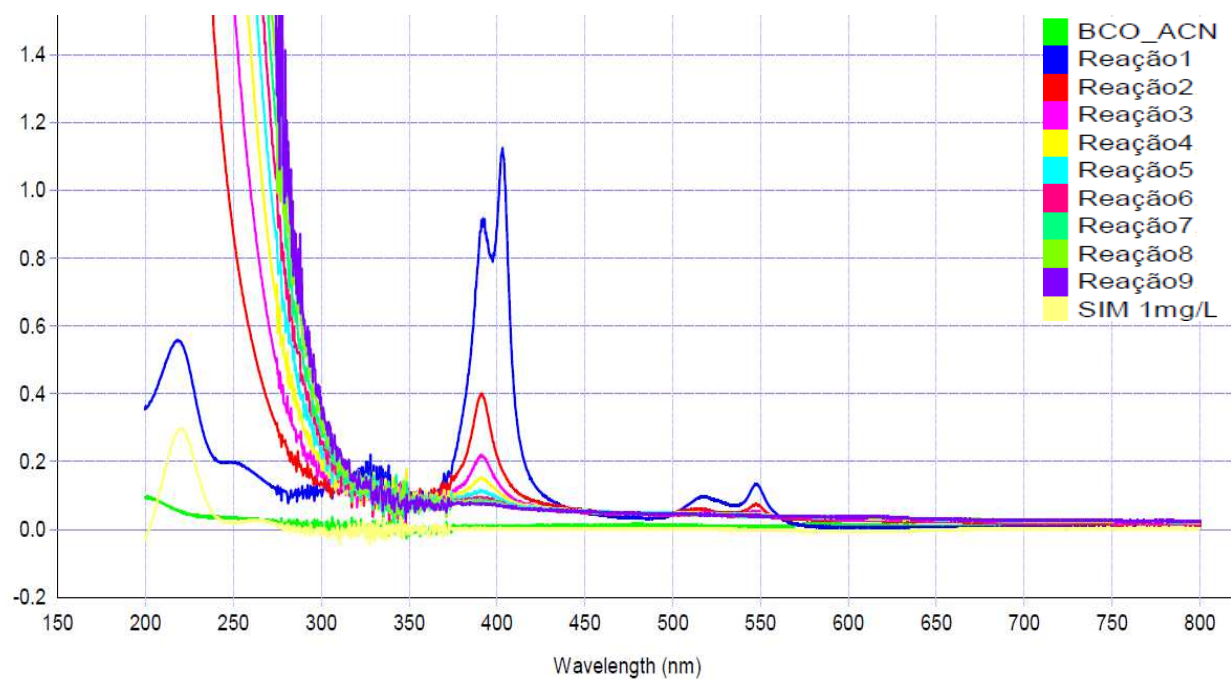


**Figura 15.** Espectro UV-Vis da SIM 1,00 mg L<sup>-1</sup>.

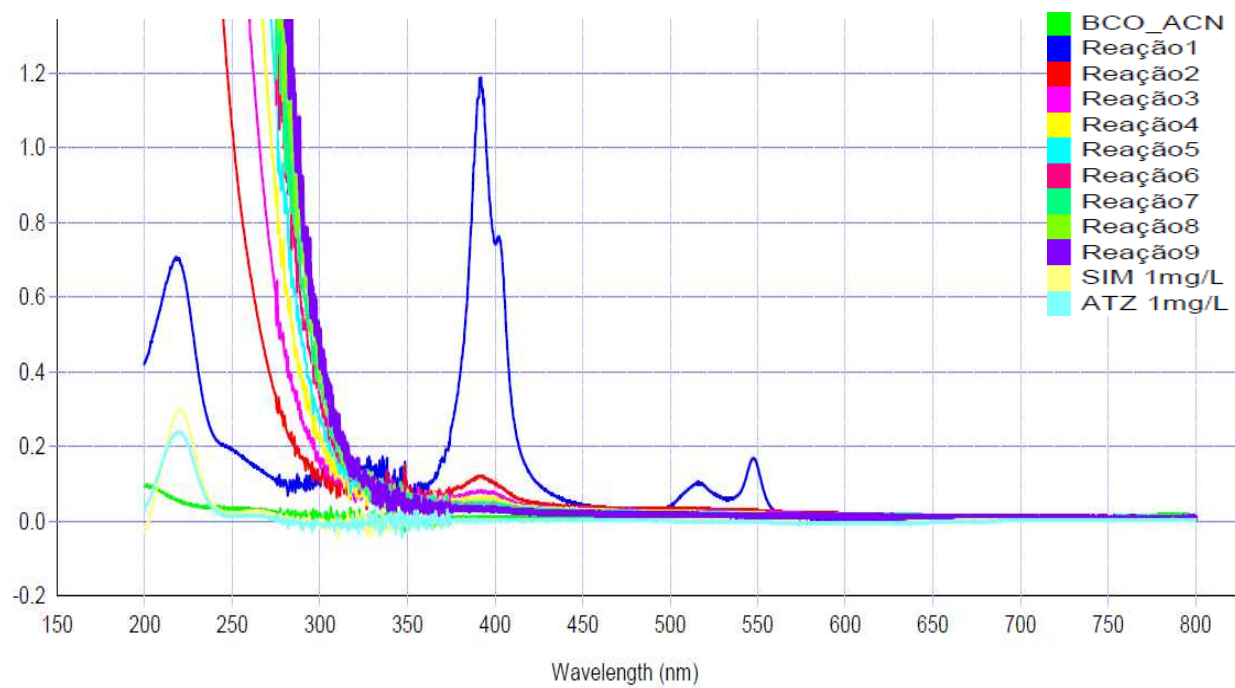
Com a adição do peróxido de hidrogênio ao meio reacional, pode-se observar a redução da absorbância das bandas das metaloporfirinas, as quais se aproximaram da linha de base ao final da reação, evidenciando que também ocorre a degradação das metaloporfirinas devido às fortes condições oxidantes da reação junto aos analitos de interesse (ATZ, SIM e solução equimolar ATZ+SIM). Nas Figuras 16, 17 e 18 é possível visualizar estas reduções para a MetRu e Figuras 19, 20 e 21 para a MetFe e na Tabela 16 estão listadas as identificações das reações monitoradas via UV-Vis.



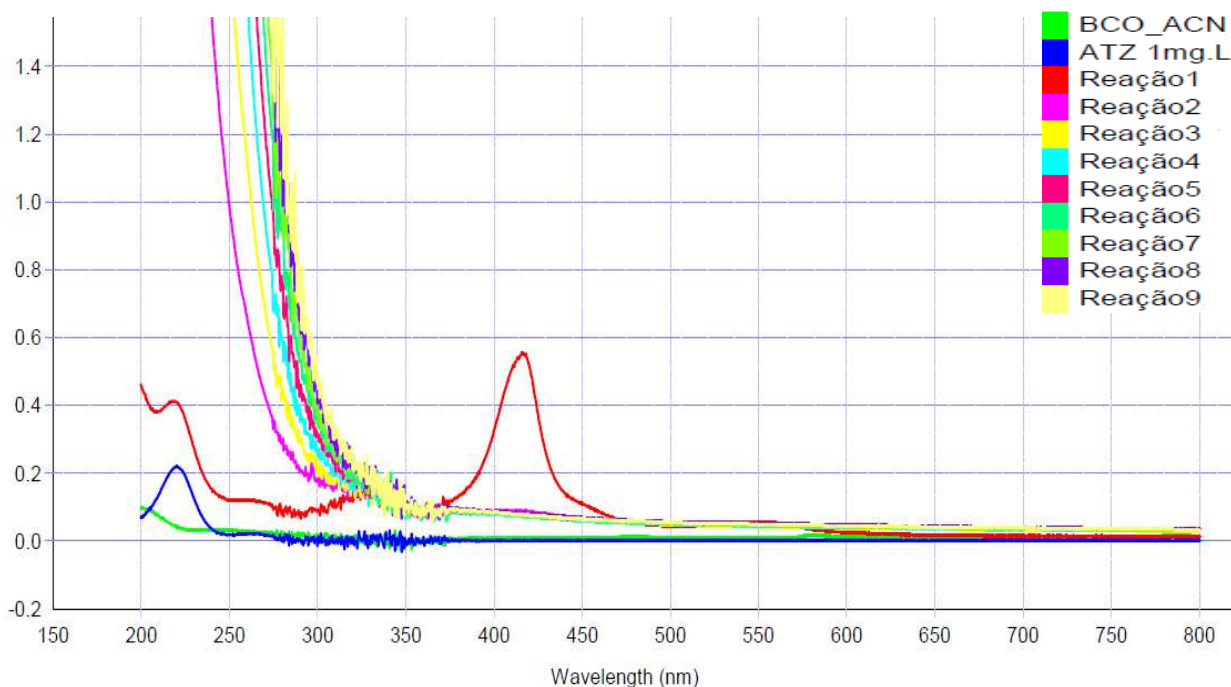
**Figura 16.** Sobreposição das reações de degradação da ATZ 1 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu (100μL) e peróxido de hidrogênio 1:10 (800μL).



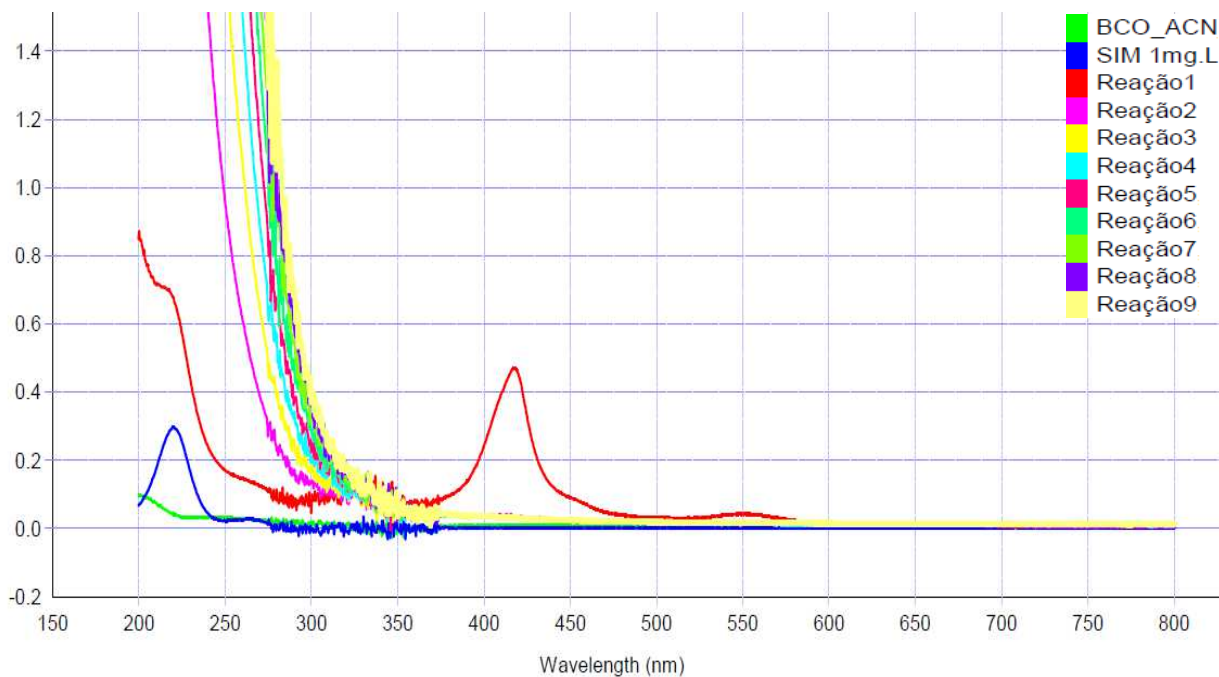
**Figura 17.** Sobreposição das reações de degradação da SIM 1 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu (100μL) e peróxido de hidrogênio 1:10 (800μL).



**Figura 18.** Sobreposição das reações de degradação da solução equimolar ATZ+SIM 1 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu (100μL) e peróxido de hidrogênio 1:10 (800μL).

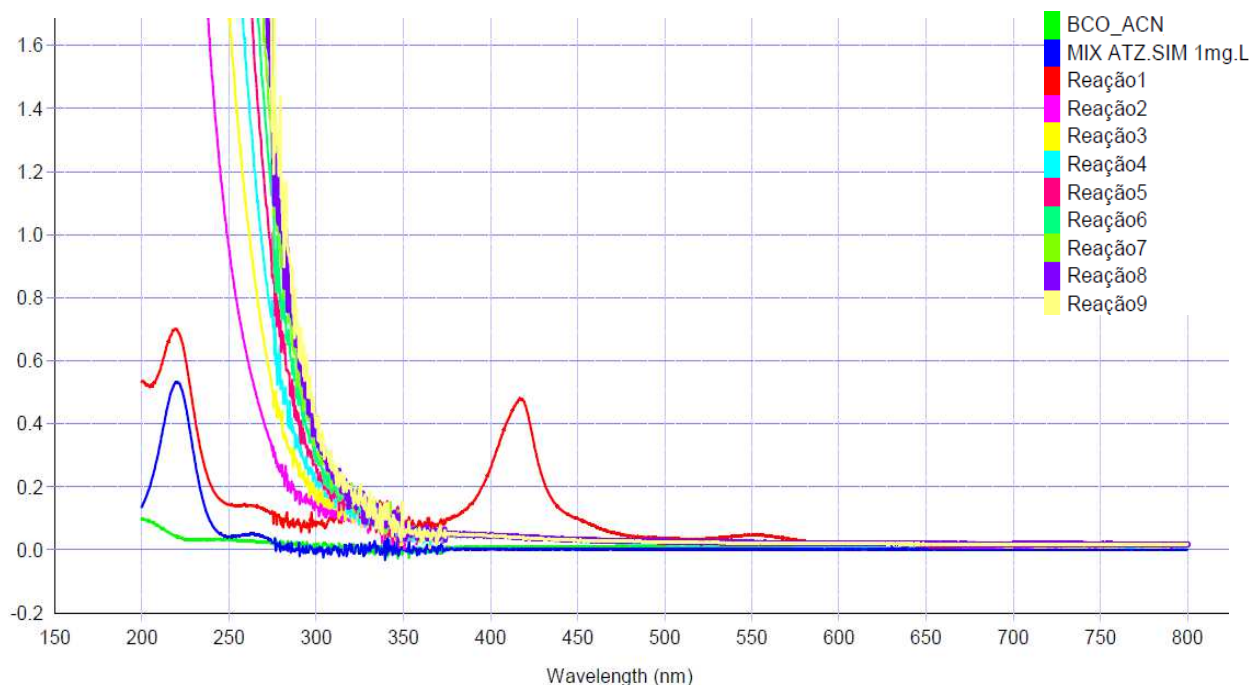


**Figura 19.** Sobreposição das reações de degradação da ATZ 1 mg L<sup>-1</sup> com a MetFe (100µL) e peróxido de hidrogênio 1:10 (800µL).



**Figura 20.** Sobreposição das reações de degradação da SIM 1 mg L<sup>-1</sup> com a MetFe (100µL) e peróxido de hidrogênio 1:10 (800µL).





**Figura 21.** Sobreposição das reações de degradação da solução equimolar ATZ+SIM 1 mg L<sup>-1</sup> com a MetFe (100µL) e peróxido de hidrogênio 1:10 (800µL).

**Tabela 16.** Identificação das reações de degradação monitoradas via UV-Vis com as metaloporfirinas de rutênio e de ferro e peróxido de hidrogênio 1:10.

ID*	Condições da reação			
	Volume Analito** (mL) C = 1 mg L <sup>-1</sup>	Adição de Metaloporfirina (µL)	Volume Peróxido (µL)	Tempo reação (min.)
BCO_ACN	-	-	-	-
Analito**	-	-	-	-
Reação 1	3	100	-	-
Reação 2			100	10
Reação 3			200	20
Reação 4			300	30
Reação 5			400	40
Reação 6			500	50
Reação 7			600	60
Reação 8			700	70
Reação 9			800	80

\* ID = Identificação / \*\* Analito = ATZ, SIM ou solução equimolar ATZ+SIM

Nas reações de degradação monitoradas via UV-Vis (e nas demais também: GC-ECD, GC-MS e GC-MS/MS) foi empregado como solvente apenas a acetonitrila pois, utilizando-se n-hexano grau HPLC como solvente foi observado que a simazina não apresentava boa solubilidade no mesmo e utilizando-se pentano como solvente, observou-se que devido a sua alta volatilidade, o solvente não era estável para o meio, mesmo sendo armazenado em temperaturas abaixo de 1°C.

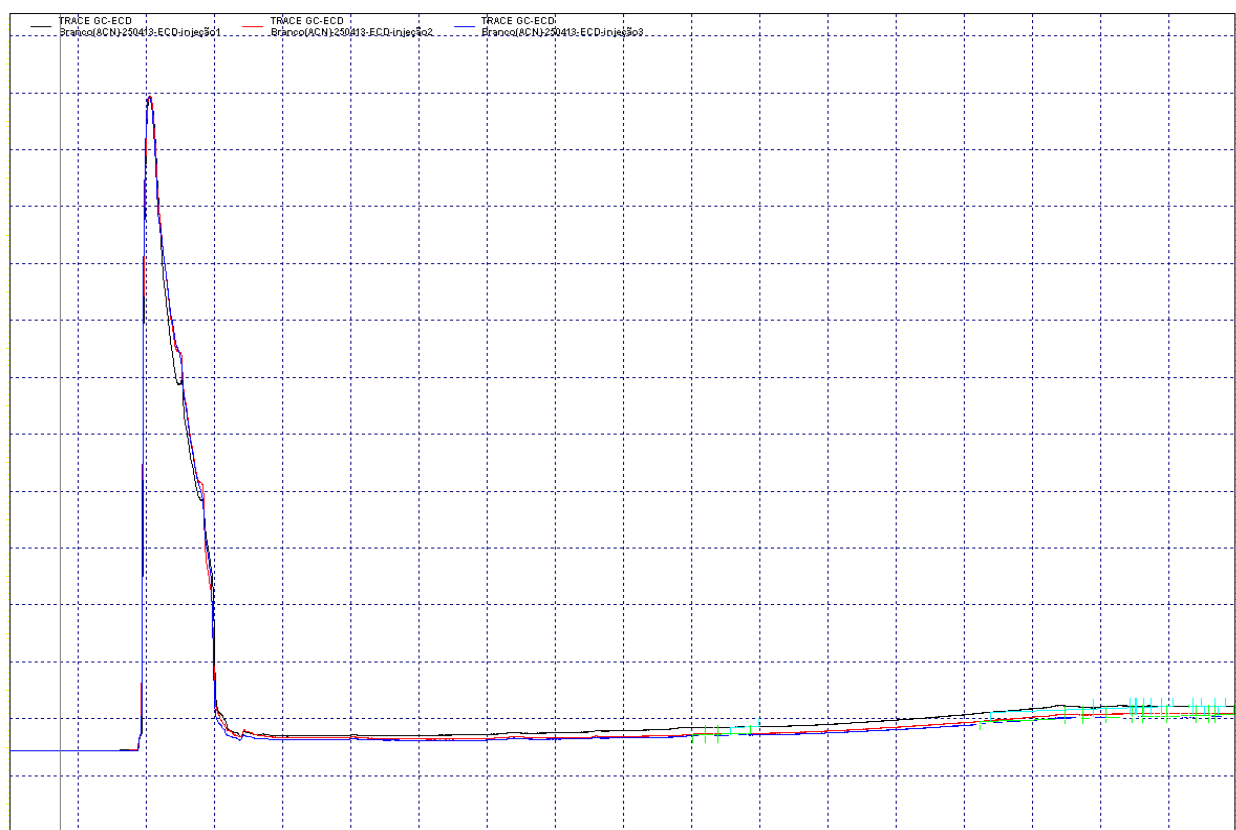
Através das análises das Figuras 36 à 41, observa-se que as metaloporfirinas utilizadas também se degradam no meio reacional devido ao poder oxidante do peróxido de hidrogênio. A metaloporfirina de rutênio apresentou, na banda de 392 nm, 95,10% de degradação para reação com a ATZ 1 mg L<sup>-1</sup> em 70 minutos de reação; 92,08% de degradação para a SIM 1 mg L<sup>-1</sup> em 80 minutos de reação e 97,21% de degradação para a solução equimolar ATZ+SIM 1 mg L<sup>-1</sup> em 70 minutos de reação.

Já a metaloporfirina de ferro apresentou, na banda de 416 nm, 86,50% de degradação para a ATZ 1 mg L<sup>-1</sup> em 60 minutos de reação; 93,75% de degradação para a SIM 1 mg L<sup>-1</sup> em 60 minutos de reação e 92,38% de degradação para a solução equimolar ATZ+SIM 1 mg L<sup>-1</sup> em 30 minutos de reação.

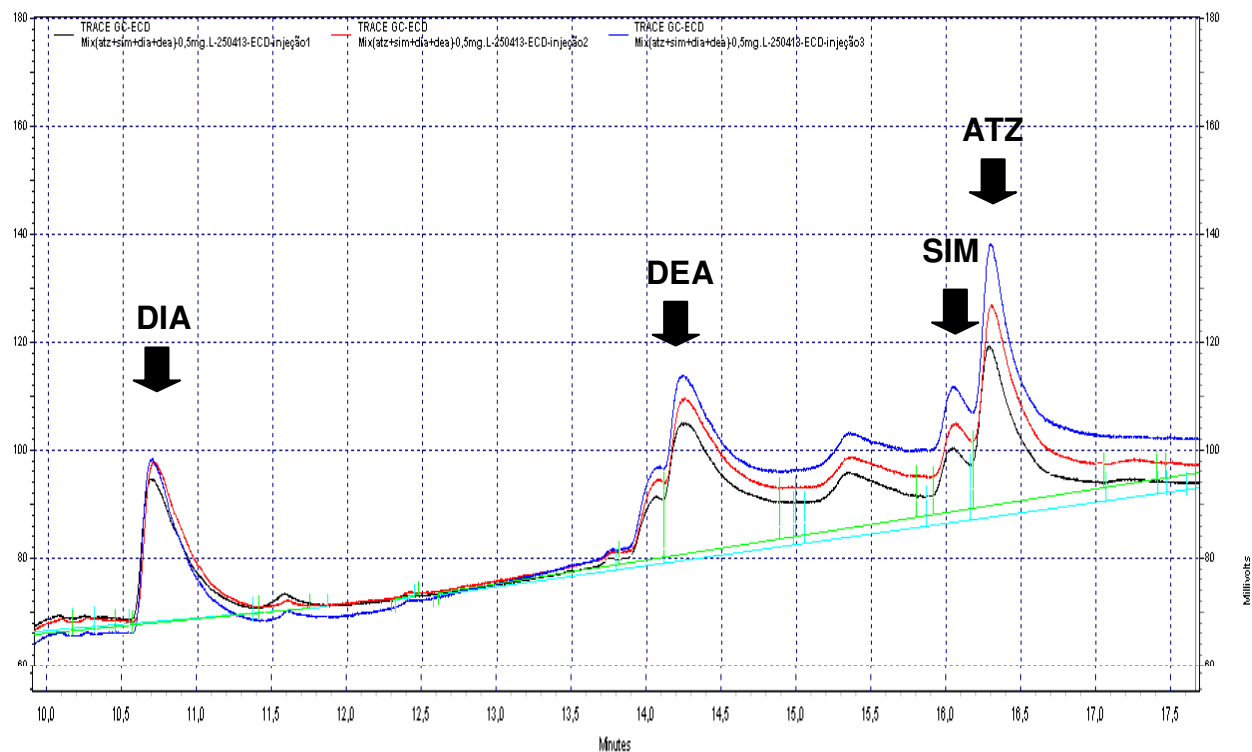
A diferença dos tempos para as melhores taxas de degradação se deve ao fato das interações nas reações de oxidação presentes no meio, que interferem na velocidade da reação e sua posterior oxidação.

## **5.2 REAÇÕES *via* GC-ECD**

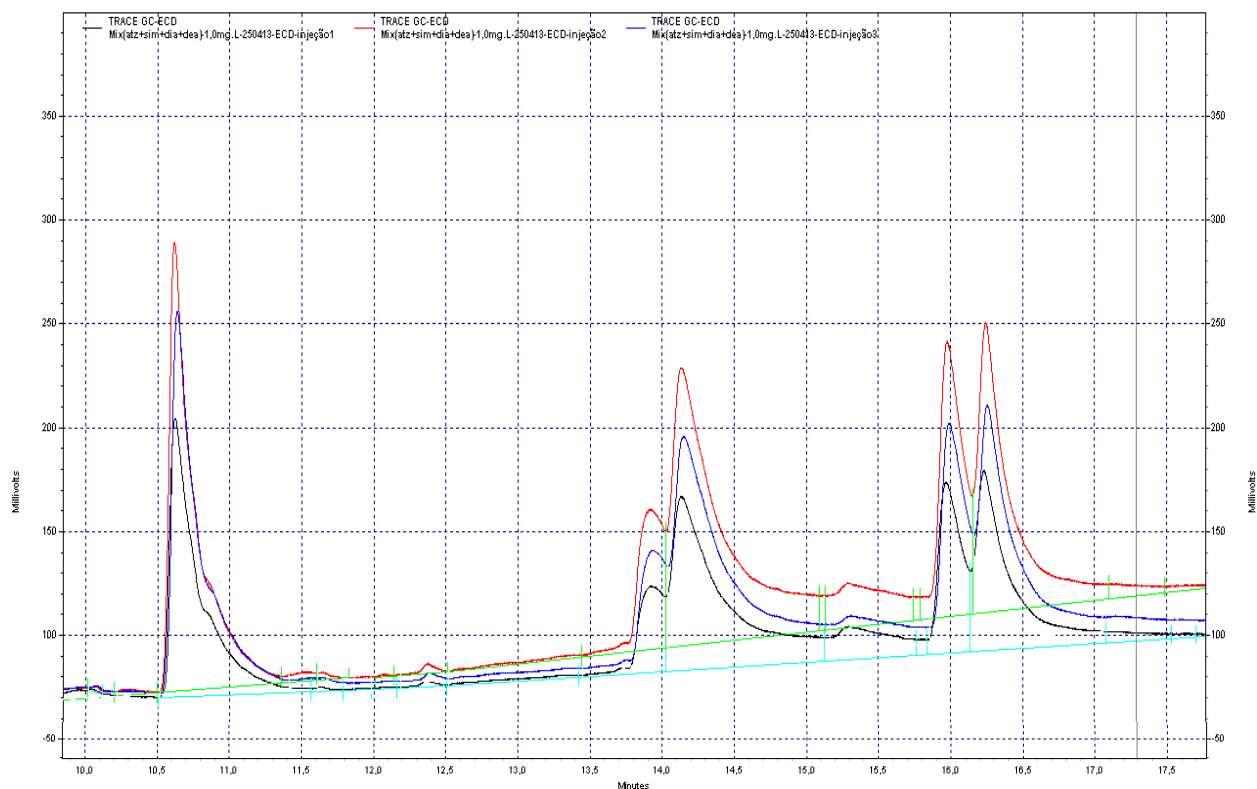
Para a obtenção das curvas analíticas no GC-ECD foram preparadas as seguintes soluções padrões dos analitos de interesse a partir das soluções estoques de 100 mg L<sup>-1</sup> em Acetonitrila HPLC: 0,500 – 1,000 – 2,500 – 5,000 – 10,000 – 15,000 – 20,000 e 25,000 mg L<sup>-1</sup>. Os padrões foram injetados em triplicata conforme Figuras 22 a 30.



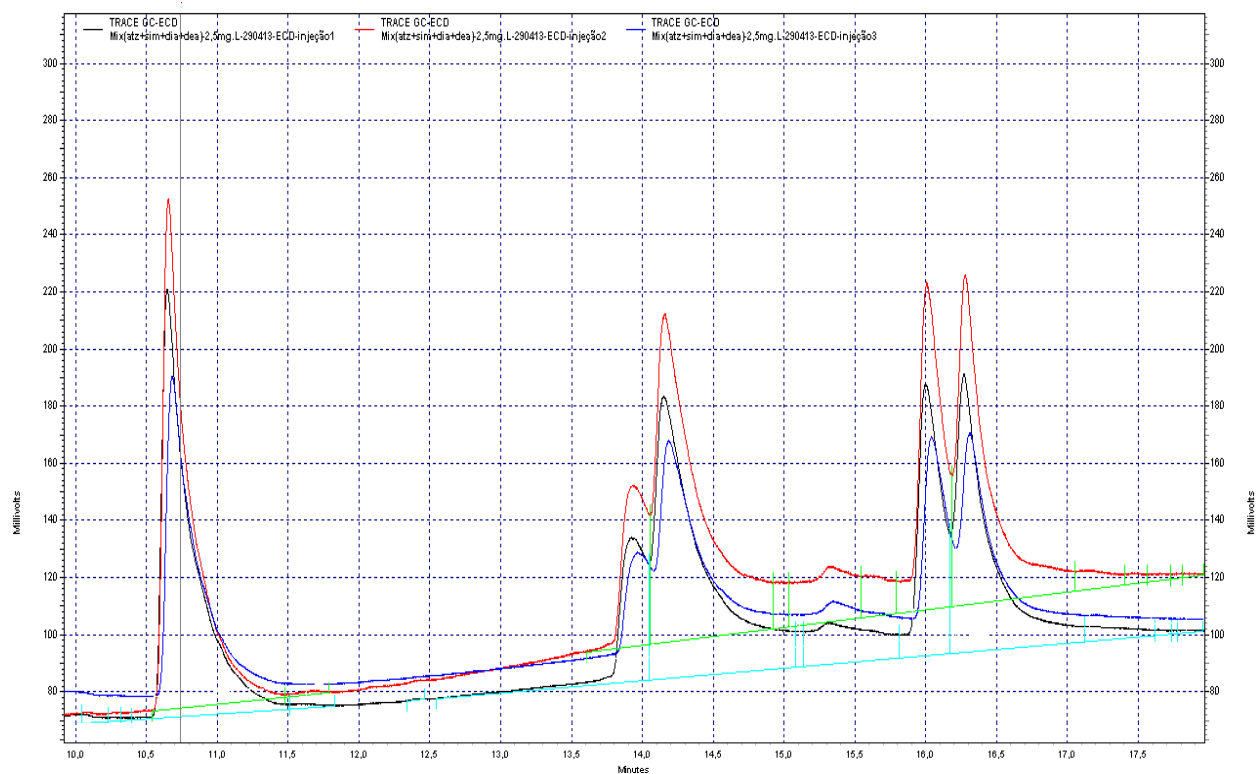
**Figura 22.** Cromatograma da replicata do branco de acetonitrila (ACN) no GC-ECD.



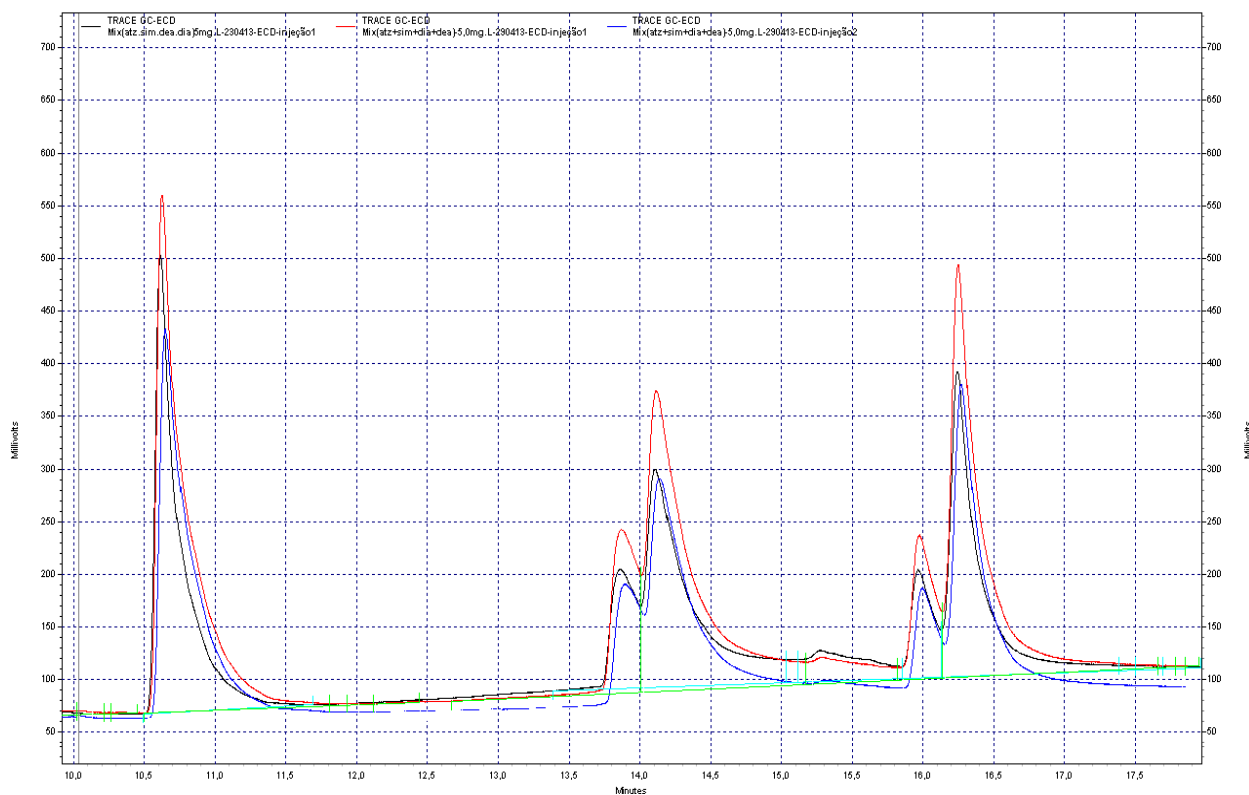
**Figura 23.** Cromatograma da replicata da ATZ+SIM+DEA+DIA 0,500 mg L<sup>-1</sup> no GC-ECD.



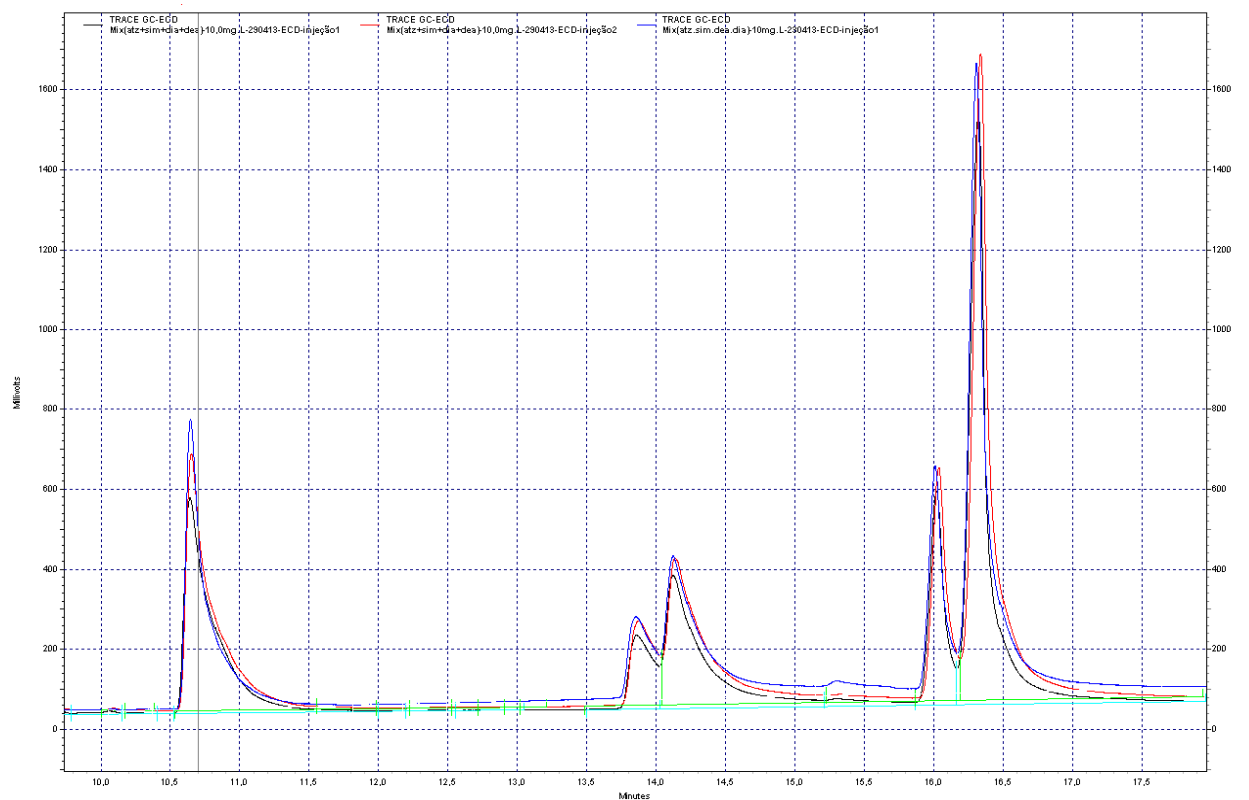
**Figura 24.** Cromatograma da replicata da ATZ+SIM+DEA+DIA 1,000 mg L<sup>-1</sup> no GC-ECD.



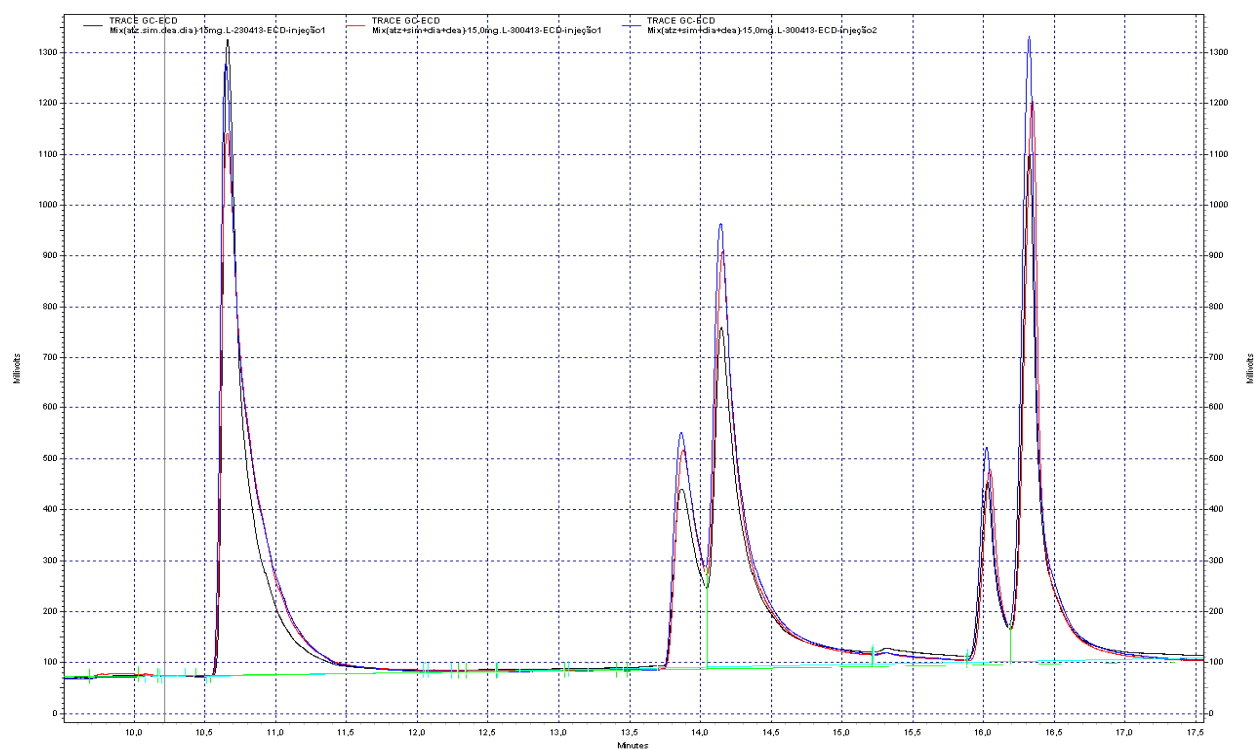
**Figura 25.** Cromatograma da replicata da ATZ+SIM+DEA+DIA 2,500 mg L<sup>-1</sup> no GC-ECD.



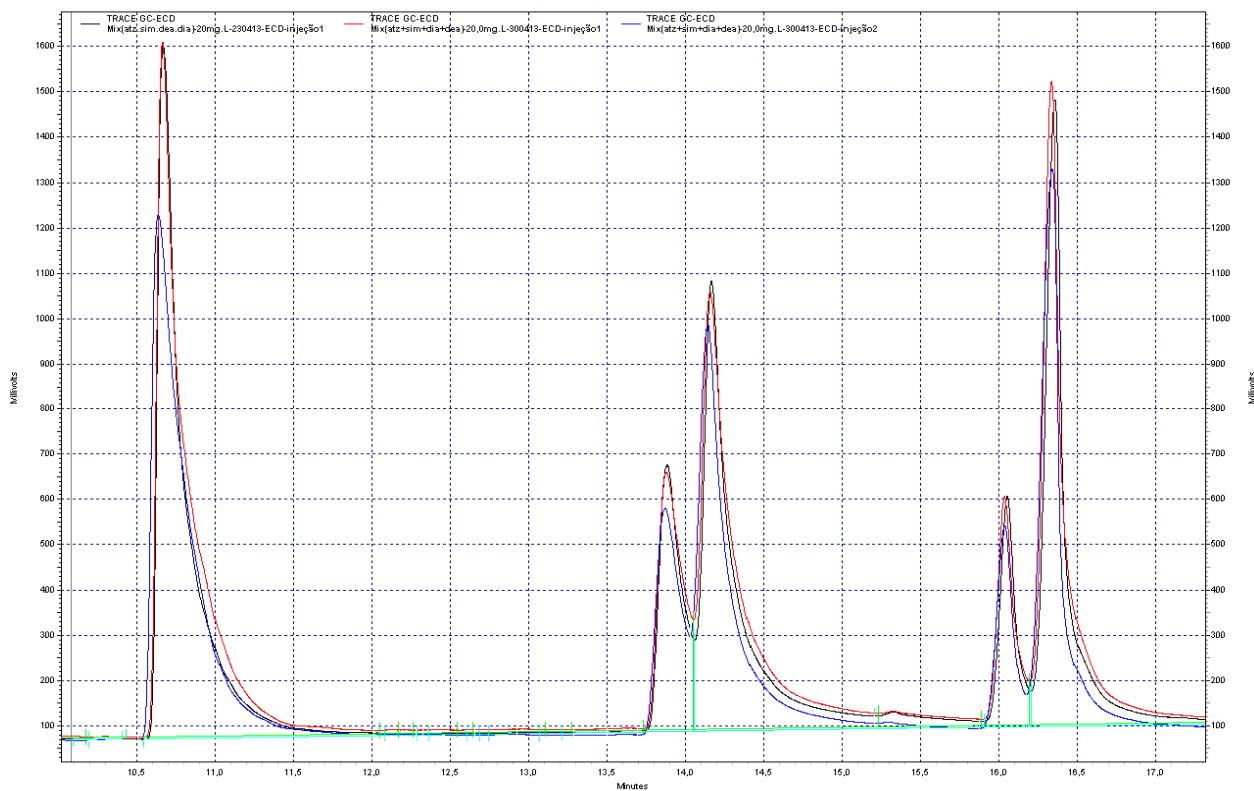
**Figura 26.** Cromatograma da replicata da ATZ+SIM+DEA+DIA 5,000 mg L<sup>-1</sup> no GC-ECD.



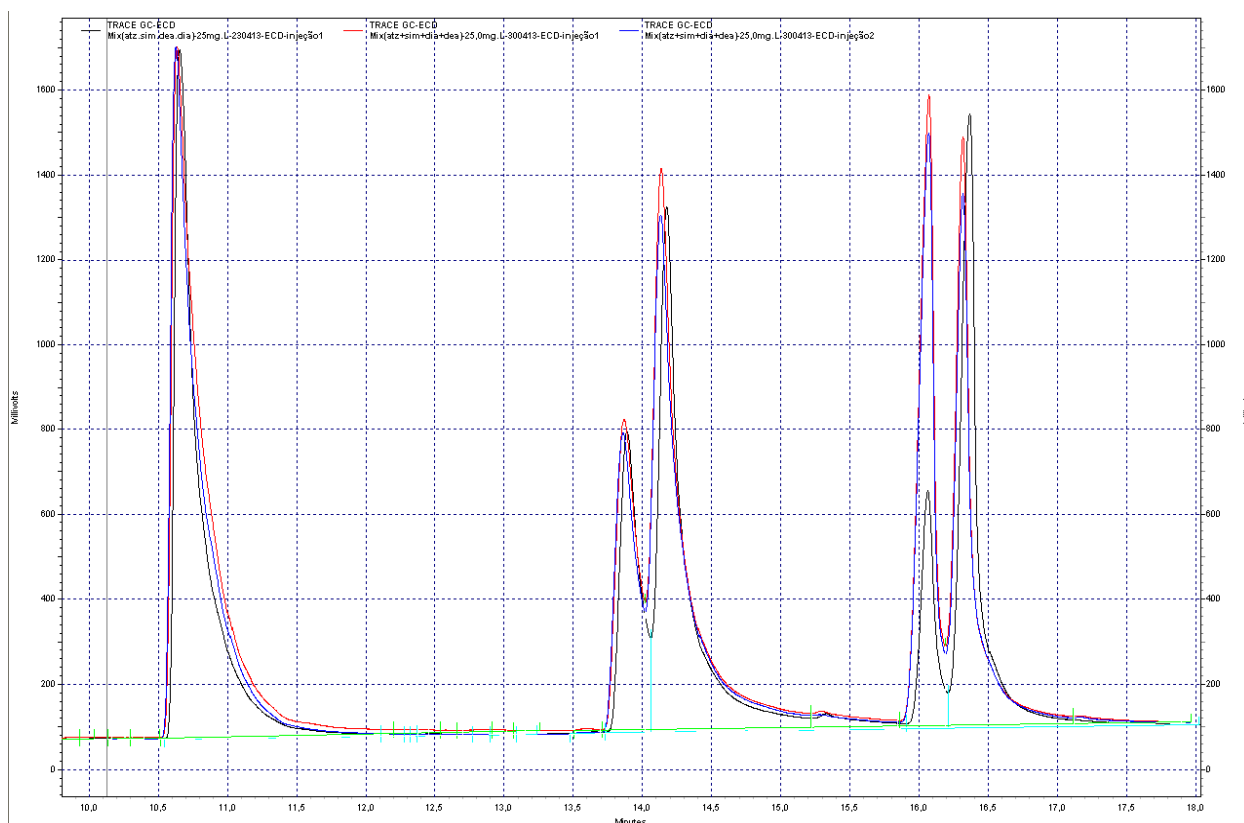
**Figura 27.** Cromatograma da replicata da ATZ+SIM+DEA+DIA 10,000 mg L<sup>-1</sup> no GC-ECD.



**Figura 28.** Cromatograma da replicata da ATZ+SIM+DEA+DIA 15,000 mg L<sup>-1</sup> no GC-ECD.



**Figura 29.** Cromatograma da replicata da ATZ+SIM+DEA+DIA 20,000 mg L<sup>-1</sup> no GC-ECD.



**Figura 30.** Cromatograma da replicata da ATZ+SIM+DEA+DIA 25,000 mg L<sup>-1</sup> no GC-ECD.

Os tempos de retenção encontrados para os analitos em estudo foram de: 10,641 minutos para o DIA; 14,147 minutos para o DEA; 15,986 minutos para a SIM e 16,291 minutos para a ATZ, totalizando 17,97 minutos de corrida.

No tempo de 13,817 minutos, antes do pico do DEA, apareceu um pico desconhecido. Mesmo injetando apenas o padrão de DEA, o pico continuava presente, entretanto, ao injetar os mesmos padrões no GC-MS, o pico não apareceu no cromatograma como interferente, impossibilitando seu reconhecimento. Na Tabela 17 estão listados os dados da inserção da curva analítica das triazíνας no CG-ECD.

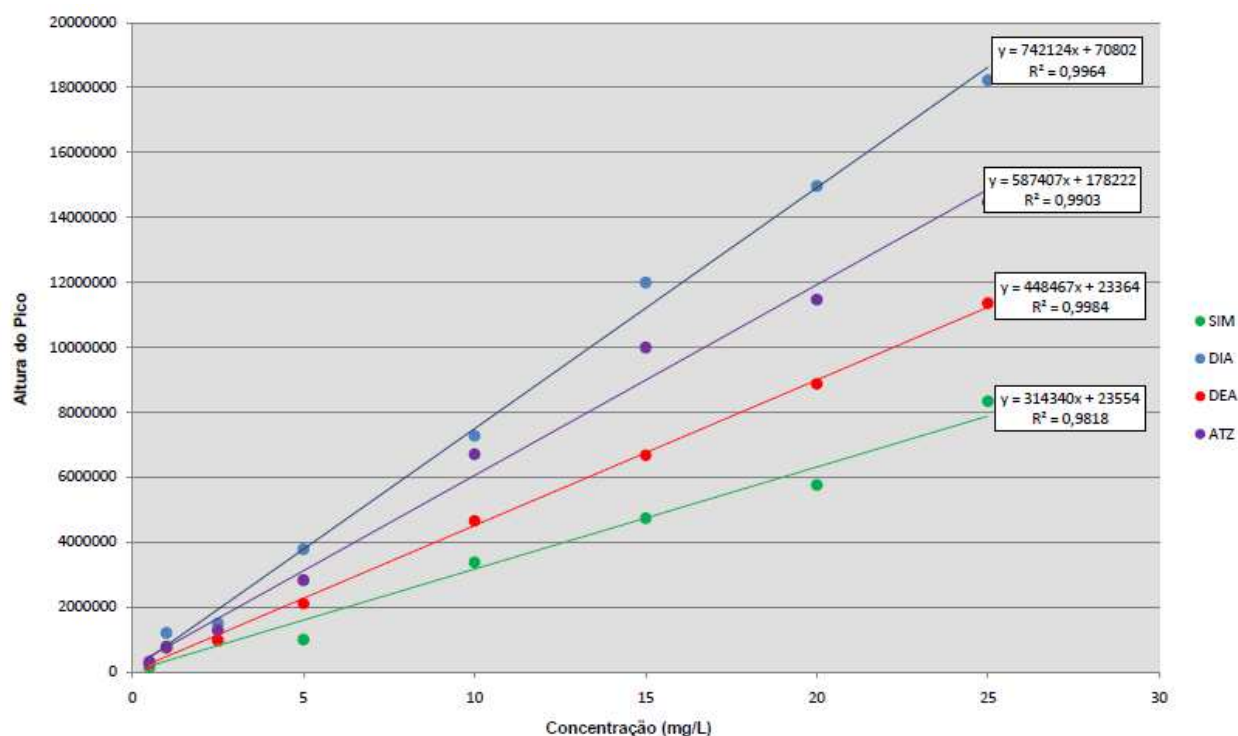
**Tabela 17.** Dados da inserção da curva analítica das triazínas no GC-ECD.

Analito	Concentração Preparada (mg L <sup>-1</sup> )	Leitura 1 (mg L <sup>-1</sup> )	Leitura 2 (mg L <sup>-1</sup> )	Leitura 3 (mg L <sup>-1</sup> )	Média das Leituras (mg L <sup>-1</sup> )	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação (%)
ATZ	0,500	0,501	0,502	0,505	0,503	0,002	0,380
	1,000	1,011	1,000	1,016	1,009	0,008	0,823
	2,500	2,525	2,482	2,492	2,500	0,022	0,883
	5,000	5,012	5,047	5,111	5,057	0,050	0,988
	10,000	9,982	9,971	10,047	10,000	0,041	0,409
	15,000	15,000	15,086	14,934	15,006	0,076	0,509
	20,000	20,116	20,000	20,270	20,129	0,136	0,673
	25,000	25,000	25,061	25,269	25,109	0,141	0,560
SIM	0,500	0,501	0,503	0,498	0,501	0,002	0,482
	1,000	1,011	1,000	1,014	1,008	0,007	0,746
	2,500	2,528	2,498	2,500	2,509	0,017	0,674
	5,000	5,018	5,074	5,073	5,055	0,032	0,637
	10,000	10,051	10,088	10,061	10,067	0,019	0,192
	15,000	15,018	15,000	15,046	15,021	0,023	0,155
	20,000	20,068	20,014	20,000	20,027	0,036	0,178
	25,000	25,076	24,764	25,235	25,025	0,240	0,958
DEA	0,500	0,502	0,503	0,495	0,500	0,005	0,917
	1,000	1,012	1,000	1,016	1,009	0,009	0,849
	2,500	2,515	2,498	2,495	2,503	0,010	0,419
	5,000	4,99	5,067	5,000	5,021	0,041	0,809
	10,000	10,000	10,044	10,052	10,032	0,028	0,281
	15,000	15,000	14,712	14,953	14,888	0,155	1,039
	20,000	20,042	20,058	20,076	20,059	0,017	0,084
	25,000	25,234	24,964	24,793	24,997	0,223	0,890
DIA	0,500	0,498	0,502	0,484	0,495	0,009	1,887
	1,000	1,005	1,000	1,005	1,003	0,003	0,307
	2,500	2,460	2,497	2,500	2,486	0,022	0,881
	5,000	4,947	4,965	4,983	4,965	0,018	0,359
	10,000	10,005	10,005	10,007	10,006	0,002	0,016
	15,000	15,067	15,092	15,000	15,053	0,047	0,315
	20,000	20,046	20,024	19,954	20,008	0,048	0,240
	25,000	25,000	25,251	25,323	25,191	0,170	0,673

Os LD (mg L<sup>-1</sup>) encontrados foram: DIA: 0,116; DEA: 0,065; SIM: 0,026; ATZ: 0,026 e os LQ (mg L<sup>-1</sup>) encontrados foram: DIA: 0,540; DEA: 0,525; SIM: 0,511; ATZ: 0,513.

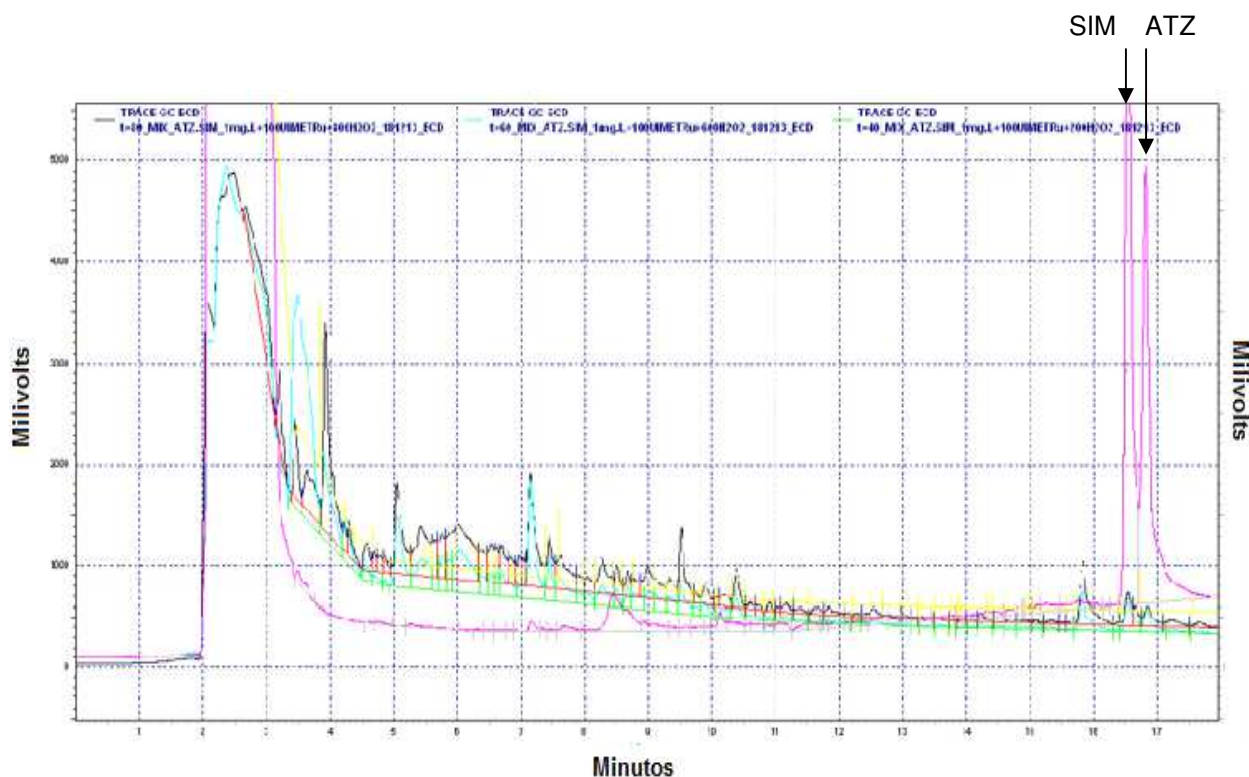


A média das leituras foi calculada com base na média das leituras 1, 2 e 3; o desvio padrão foi calculado com a média das leituras e o valor da concentração preparada e o coeficiente de variação foi calculado usando o desvio padrão calculado e a média dos valores. Os resultados obtidos para as curvas analíticas dos herbicidas triazínicos no GC-ECD estão apresentados na Figura 31. Nota-se que os coeficientes de correlação ( $r$ ) ficaram dentro dos valores recomendados pelos critérios de validação ( $R^2 \geq 0,90$ ; INMETRO), sendo  $R^2 = 0,9964$  para o DIA,  $R^2 = 0,9903$  para a ATZ,  $R^2 = 0,9984$  para o DEA e  $R^2 = 0,9818$  para a SIM.



**Figura 31.** Curvas analíticas dos herbicidas triazínicos e dos subprodutos de degradação obtidas no GC-ECD.

Após a inserção das curvas analíticas no equipamento e a sua validação, prosseguiu-se com as reações de degradação, conforme descrito no item 4.2.2 Procedimento de Degradação, injetando uma alíquota de 2  $\mu$ L com o auxílio de uma microseringa de 10  $\mu$ L no GC-ECD a cada 20 minutos de reação. Na Figura 32 pode-se observar os cromatogramas da reação para a solução equimolar de SIM+ATZ 1mg L<sup>-1</sup>, sendo oxidada com a MetRu com peróxido de hidrogênio.



**Figura 32.** Cromatograma durante a reação de oxidação da mistura equimolar da atrazina e simazina, sendo catalisada pela metaloporfirina de rutênio com peróxido de hidrogênio durante 80 minutos.

Legenda: reação  $t=0$ : solução equimolar ATZ+SIM  $1 \text{ mg L}^{-1}$  +  $100 \text{ }\mu\text{L}$  MetRu (linha rosa), reação  $t=20$ : solução equimolar ATZ+SIM  $1 \text{ mg L}^{-1}$  +  $100 \text{ }\mu\text{L}$  MetRu +  $200 \text{ }\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio (linha verde), reação  $t=40$ : solução equimolar ATZ+SIM  $1 \text{ mg L}^{-1}$  +  $100 \text{ }\mu\text{L}$  MetRu +  $400 \text{ }\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio (linha azul), reação  $t=60$ : solução equimolar ATZ+SIM  $1 \text{ mg L}^{-1}$  +  $100 \text{ }\mu\text{L}$  MetRu +  $600 \text{ }\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio (linha amarela) e reação  $t=80$ : solução equimolar ATZ+SIM  $1 \text{ mg L}^{-1}$  +  $100 \text{ }\mu\text{L}$  MetRu +  $800 \text{ }\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio (linha preta).

O rendimento máximo alcançado com a MetRu foi de 82,39% para a SIM na solução equimolar ATZ+SIM  $1 \text{ mg L}^{-1}$ , enquanto que o rendimento máximo alcançado com a MetFe foi de 94,37% para a ATZ. Os dados de rendimento em função do tempo de reação podem ser visualizados na Tabela 18.

Nota-se que houve redução da intensidade do pico dos herbicidas ATZ e SIM, assim como o surgimento de novos picos referentes aos subprodutos formados na reação, neste caso, os subprodutos DEA e DIA, que foram identificados pela comparação dos tempos de retenção por injeção das soluções padrões com os cromatogramas das reações. Os dados deste monitoramento podem ser visualizados nas Tabelas 19, 20 e 21.

**Tabela 18.** Rendimento das reações de oxidações das triazinas catalisadas por metaloporfirinas com peróxido de hidrogênio, obtidos com o GC-ECD.

Substrato	Analito	Metaloporfirina	Rendimento (%)	Tempo Reação (min)
ATZ 1 mg L <sup>-1</sup>	ATZ	Rutênio	77,51	80
SIM 1 mg L <sup>-1</sup>	SIM		77,00	80
solução equimolar ATZ+SIM 1 mg L <sup>-1</sup>	ATZ		75,80	80
	SIM		82,39	60
ATZ 1 mg L <sup>-1</sup>	ATZ	Ferro	94,37	80
SIM 1 mg L <sup>-1</sup>	SIM		67,18	40
solução equimolar ATZ+SIM 1 mg L <sup>-1</sup>	ATZ		75,25	40
	SIM		63,88	40

**Tabela 19.** Monitoramento do DEA e DIA ao longo das reações com a ATZ 1 mg L<sup>-1</sup> via GC-ECD.

Tempo (min.)	Analito	Metaloporfirina	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Metaloporfirina	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )
0	DIA	Rutênio	0,007	Ferro	0,002
	DEA		0,001		0,002
20	DIA		0,062		0,076
	DEA		0,241		0,062
40	DIA		0,133		0,160
	DEA		0,354		0,174
60	DIA		0,261		0,304
	DEA		0,498		0,192
80	DIA		0,225		0,327
	DEA		0,577		0,279

**Tabela 20.** Monitoramento do DEA e DIA ao longo das reações com a SIM 1 mg L<sup>-1</sup> via GC-ECD.

Tempo (min.)	Analito	Metaloporfirina	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Metaloporfirina	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )
0	DIA	Rutênio	0,106	Ferro	0,070
	DEA		0,183		0,126
20	DIA		0,135		0,073
	DEA		0,066		0,155
40	DIA		0,262		0,201
	DEA		0,377		0,122
60	DIA		0,343		0,050
	DEA		0,422		0,233
80	DIA		0,428		0,100
	DEA		0,395		0,260

**Tabela 21.** Monitoramento do DEA e DIA ao longo das reações com a solução equimolar ATZ+SIM 1 mg L<sup>-1</sup> via GC-ECD.

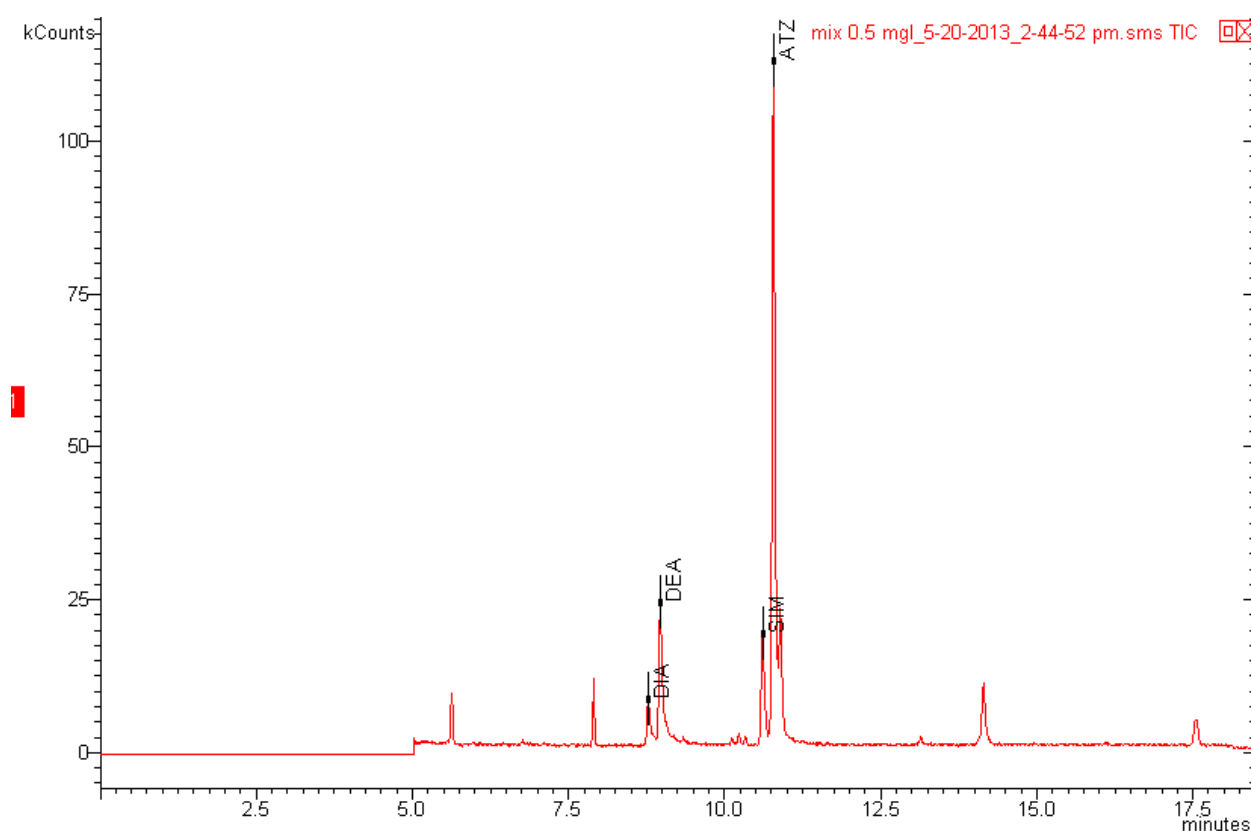
Tempo (min.)	Analito	Metaloporfirina	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Metaloporfirina	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )
0	DIA	Rutênio	0,018	Ferro	0,061
	DEA		0,466		0,219
20	DIA		0,137		0,086
	DEA		0,227		0,171
40	DIA		0,292		0,168
	DEA		0,446		0,111
60	DIA		0,454		0,222
	DEA		0,381		0,056
80	DIA		0,705		0,178
	DEA		0,393		0,079

As concentrações dos subprodutos DIA e DIA descritos nas Tabelas 19, 20 e 21 acima foram estimados tendo por base o tempo de retenção dos analitos no

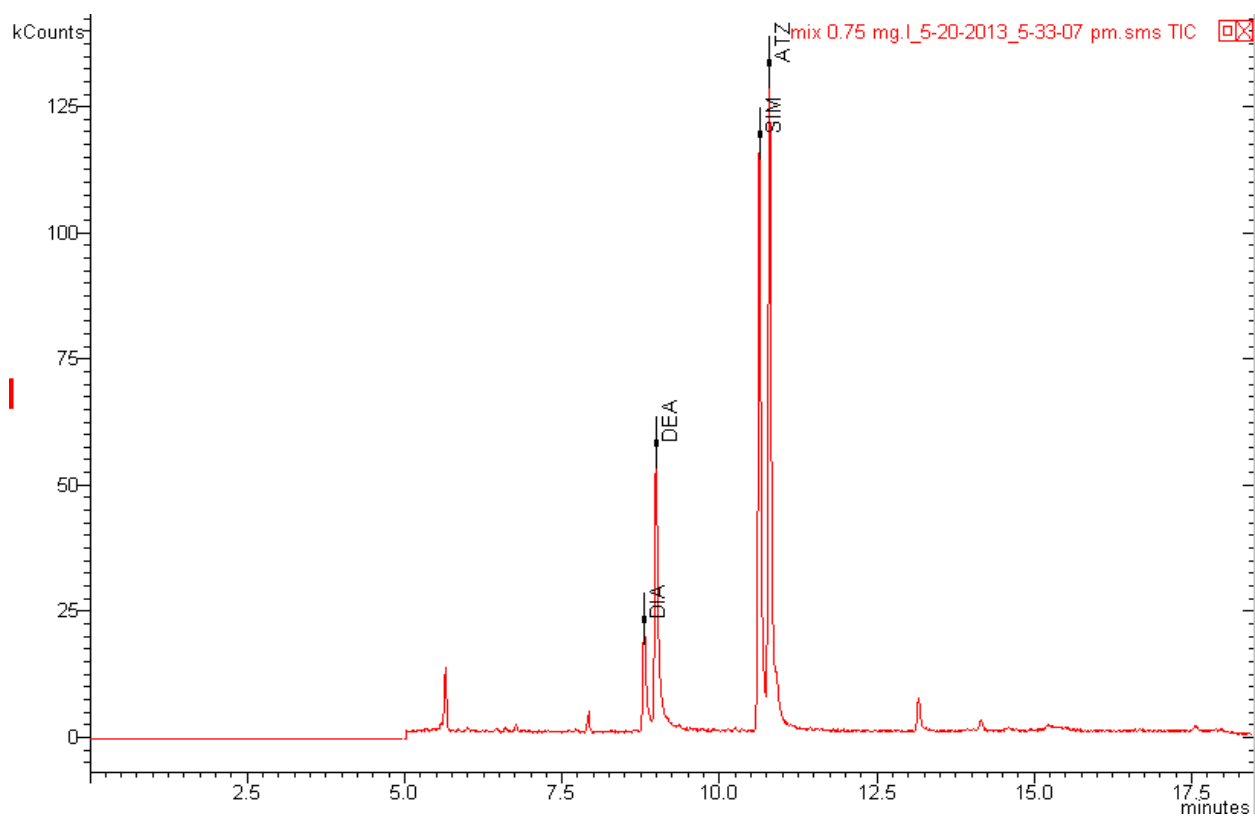
equipamento, sendo que a confirmação destes resultados só pode ser confirmada através das injeções no GC-MS ou GC-MS/MS.

### 5.3 REAÇÕES *via* GC-MS

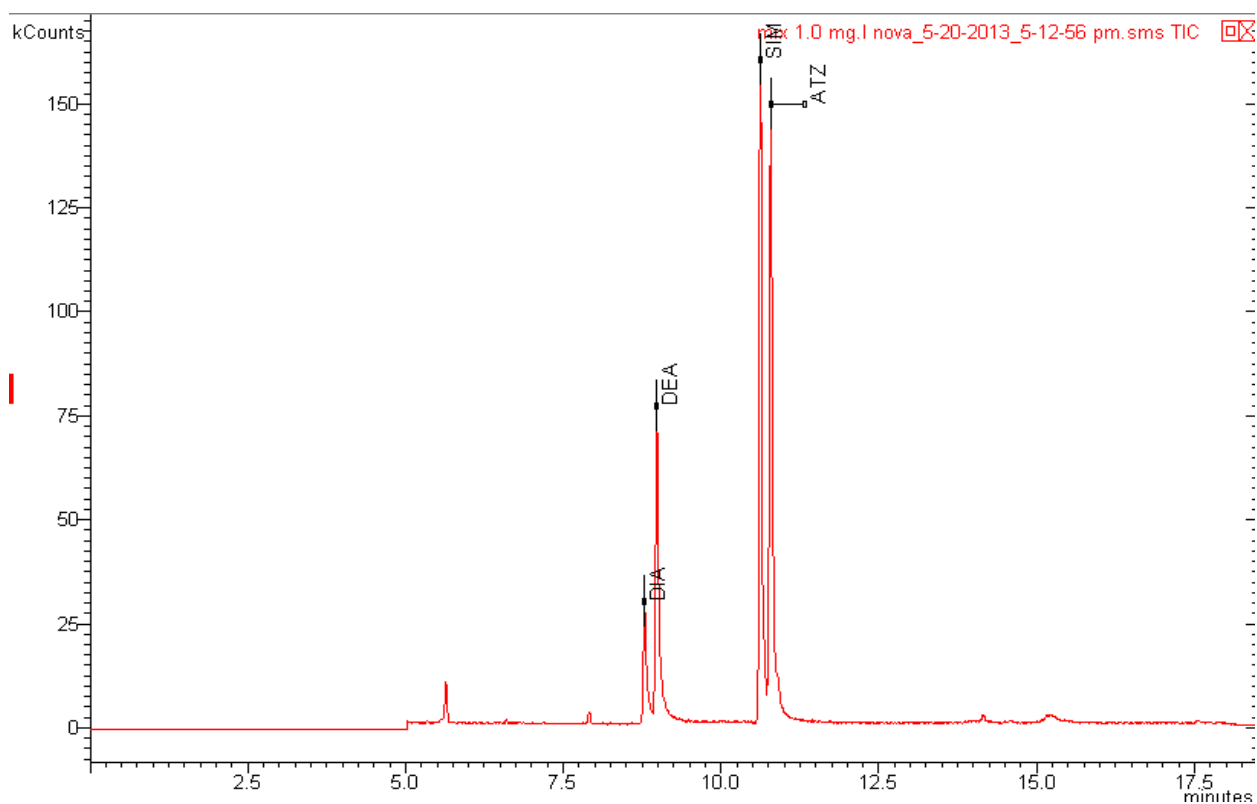
Para a obtenção das curvas analíticas no GC-MS foram preparadas as seguintes soluções padrões a partir das soluções estoques de 100 mg L<sup>-1</sup> em Acetonitrila HPLC: 0,500 – 0,750 – 1,000 – 2,500 e 5,000 mg L<sup>-1</sup>, conforme Figuras 33 a 37.



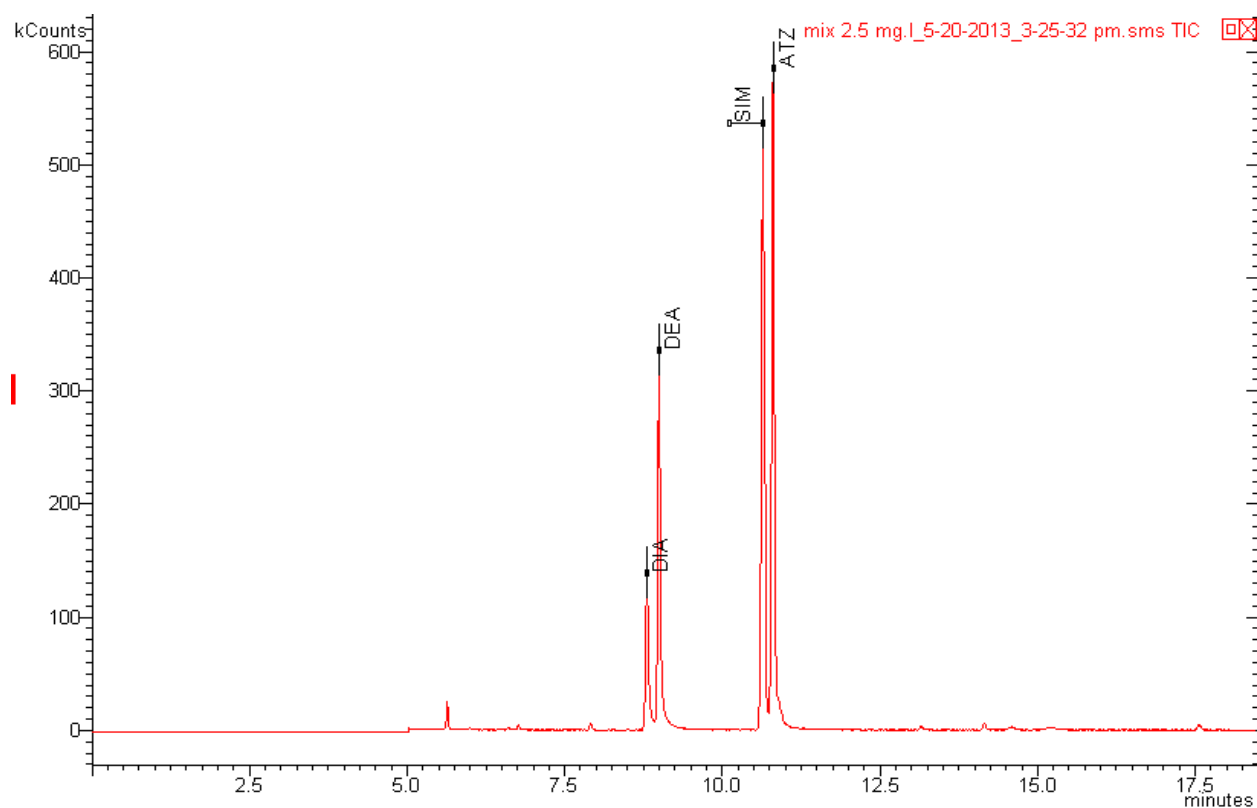
**Figura 33.** Cromatograma da solução equimolar ATZ+SIM+DEA+DIA 0,500 mg L<sup>-1</sup> no GC-MS.



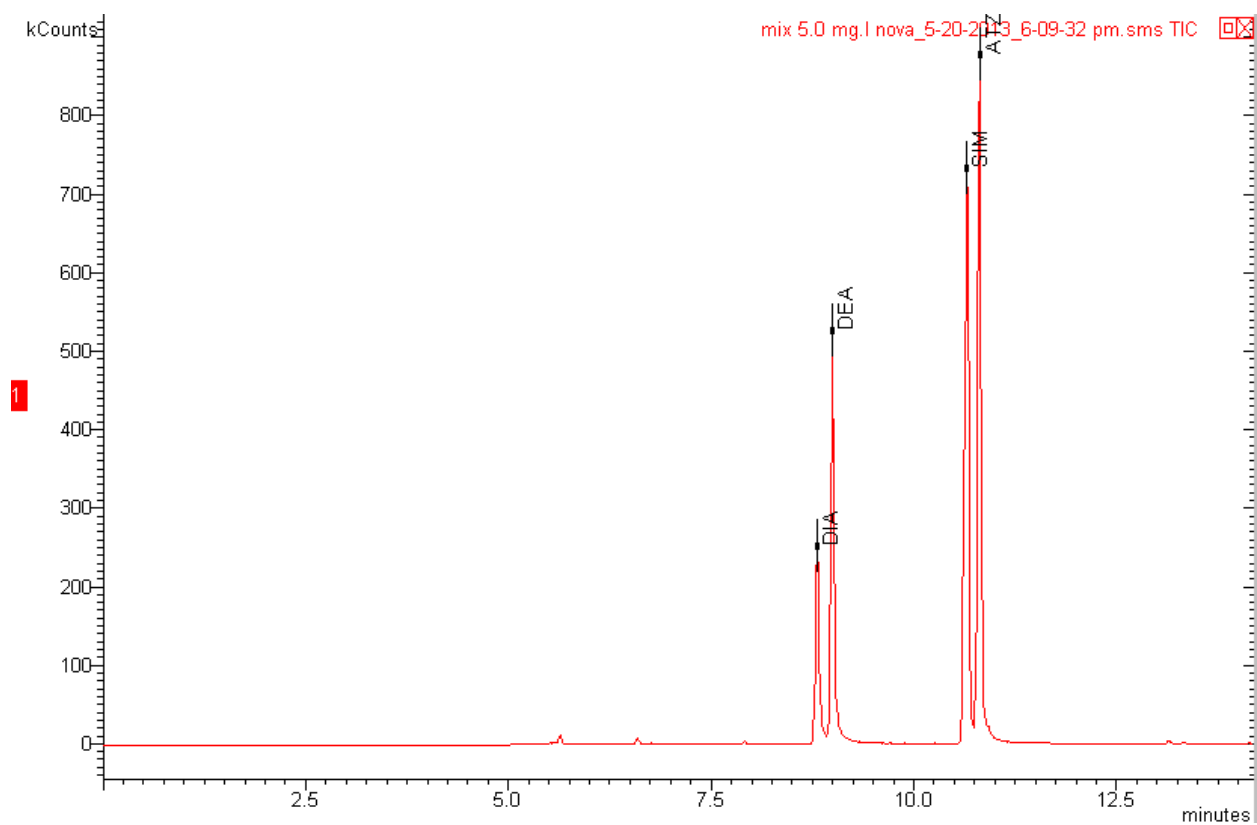
**Figura 34.** Cromatograma da solução equimolar ATZ+SIM+DEA+DIA 0,750 mg L<sup>-1</sup> no GC-MS.



**Figura 35.** Cromatograma da solução equimolar ATZ+SIM+DEA+DIA 1,000 mg L<sup>-1</sup> no GC-MS.



**Figura 36.** Cromatograma da solução equimolar ATZ+SIM+DEA+DIA 2,500 mg L<sup>-1</sup> no GC-MS.



**Figura 37.** Cromatograma da solução equimolar ATZ+SIM+DEA+DIA 5,000 mg L<sup>-1</sup> no GC-MS.

Os tempos de retenção encontrados para os analitos em estudo foram: 8,613 minutos para o DIA; 9,004 minutos para o DEA; 10,630 minutos para a SIM e 10,813 minutos para a ATZ, totalizando 17,97 minutos de corrida. Na Tabela 22 estão listados os dados da inserção da curva analítica das triazinas no CG-MS.

**Tabela 22.** Dados da inserção da curva analítica das triazinas no GC-MS.

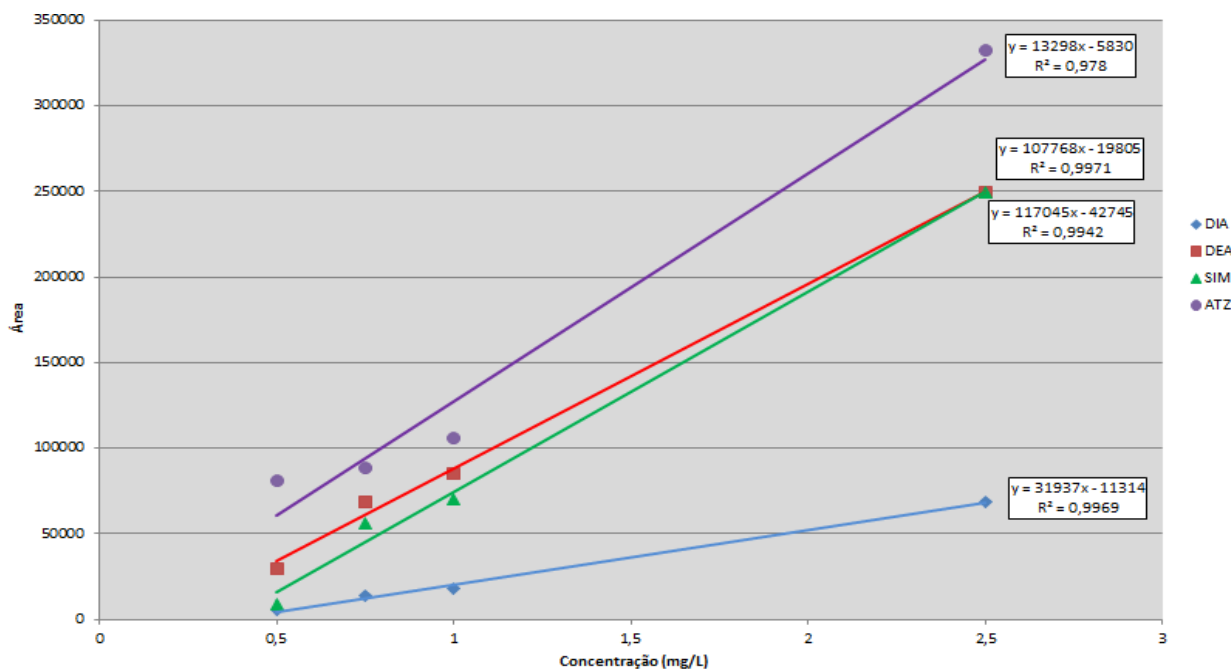
Analito	Concentração Preparada (mg L <sup>-1</sup> )	Leitura 1 (mg L <sup>-1</sup> )	Leitura 2 (mg L <sup>-1</sup> )	Leitura 3 (mg L <sup>-1</sup> )	Média das Leituras (mg L <sup>-1</sup> )	Desvio Padrão	Coeficiente de Variação (%)
DIA	0,500	0,511	0,526	0,5059	0,514	0,010	1,980
	0,750	0,800	0,824	0,7920	0,805	0,039	4,858
	1,000	0,940	0,968	0,9306	0,946	0,038	4,015
	2,500	2,593	2,671	2,5671	2,610	0,078	2,988
	5,000	5,200	5,356	5,1480	5,235	0,166	3,170
DEA	0,500	0,502	0,517	0,4970	0,505	0,004	0,748
	0,750	0,789	0,813	0,7811	0,794	0,031	3,940
	1,000	0,912	0,939	0,9029	0,918	0,058	6,309
	2,500	2,598	2,676	2,5720	2,615	0,082	3,118
	5,000	4,625	4,764	4,5788	4,656	0,243	5,227
SIM	0,500	0,470	0,484	0,4653	0,473	0,019	4,015
	0,750	0,859	0,885	0,8504	0,865	0,081	9,381
	1,000	0,973	1,002	0,9633	0,979	0,015	1,481
	2,500	2,436	2,509	2,4116	2,452	0,034	1,377
	5,000	4,951	5,100	4,9015	4,984	0,011	0,227
ATZ	0,500	0,575	0,592	0,5693	0,579	0,056	9,630
	0,750	0,647	0,841	0,6405	0,710	0,029	4,032
	1,000	0,811	1,054	0,8029	0,889	0,078	8,793
	2,500	2,951	2,934	2,9215	2,935	0,308	10,490
	5,000	3,967	6,347	3,9273	4,747	0,179	3,766

Os LD (mg L<sup>-1</sup>) encontrados foram: DIA: 0,024; DEA: 0,004; SIM: 0,067; ATZ: 0,167 e os LQ (mg L<sup>-1</sup>) encontrados foram: DIA: 0,550; DEA: 0,509; SIM: 0,576; ATZ: 0,840.

A média das leituras foi calculada com base na média das leituras 1, 2 e 3; o desvio padrão foi calculado com a média das leituras e o valor da concentração preparada e o coeficiente de variação foi calculado usando o desvio padrão calculado e a média dos valores. Os resultados obtidos para as curvas analíticas dos herbicidas



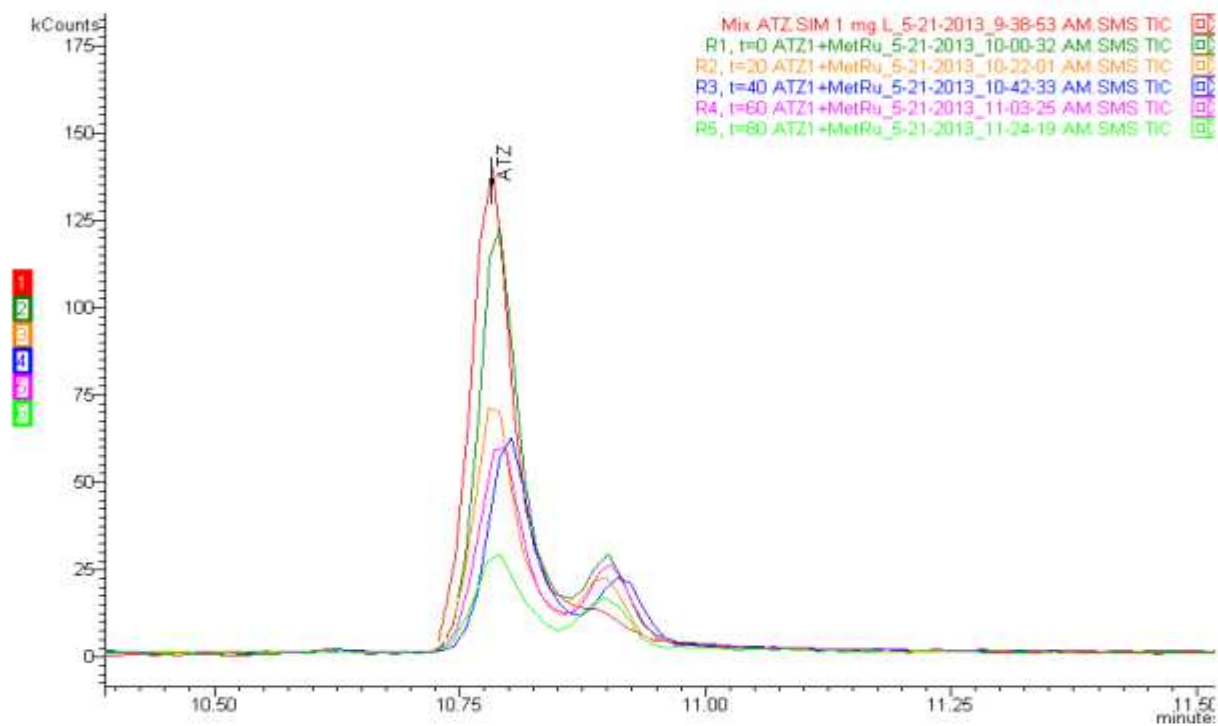
triazínicos no GC-MS estão apresentados na Figura 38. Nota-se que os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) ficaram dentro dos valores recomendados pelos critérios de validação ( $R^2 \geq 0,90$ ; INMETRO), sendo  $R^2 = 0,997$  para o DIA,  $R^2 = 0,978$  para a ATZ,  $R^2 = 0,997$  para o DEA e  $R^2 = 0,994$  para a SIM.



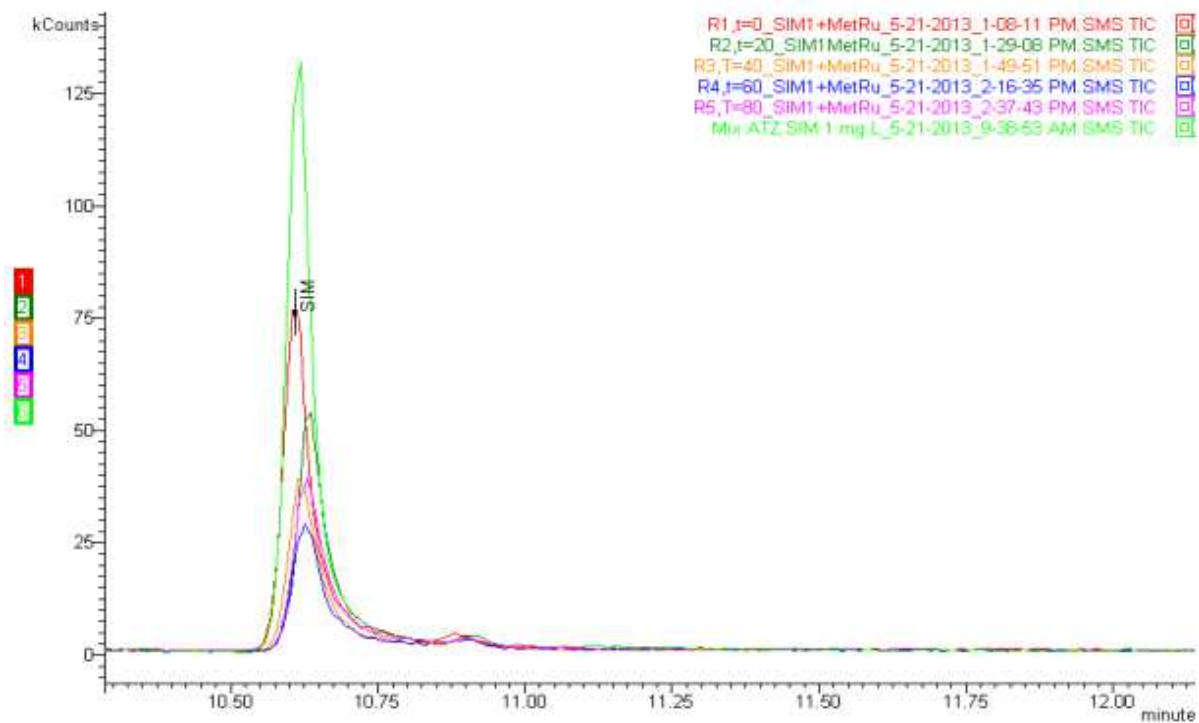
**Figura 38.** Curvas analíticas dos herbicidas triazínicos e dos subprodutos de degradação obtidas no GC-MS.

Após a inserção das curvas analíticas no equipamento e a sua validação, prosseguiu-se com as reações de degradação, conforme descrito no item 4.2.2 Procedimento de Degradação, injetando uma alíquota de 2  $\mu\text{L}$  com o auxílio do amostrador automático CombiPal com microseringa de 10  $\mu\text{L}$  no GC-MS a cada 20 minutos de reação.

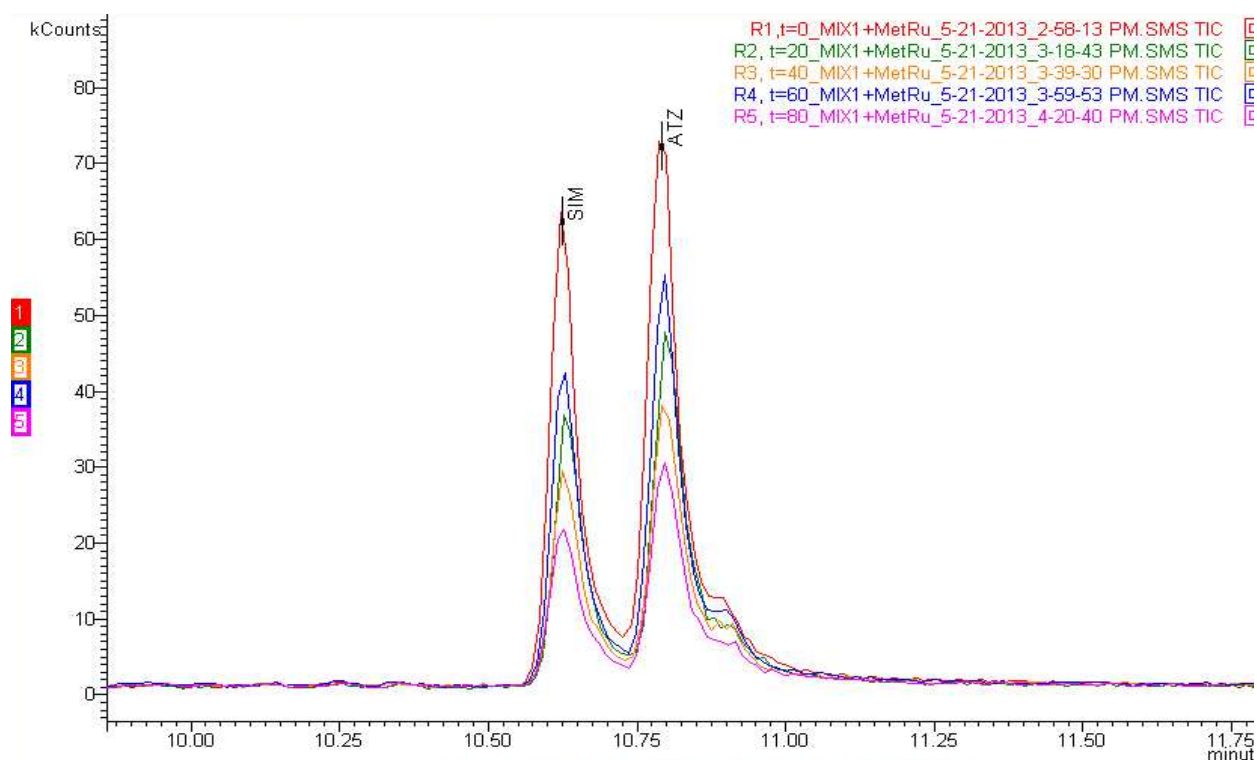
Na Figura 39 pode-se observar o cromatograma da reação da ATZ 1  $\text{mg L}^{-1}$  com a MetRu. Nota-se que houve diminuição das áreas dos picos da ATZ, durante o tempo de reação. O mesmo pode ser observado na Figura 40 para a reação da SIM 1  $\text{mg L}^{-1}$ , na Figura 41 para a reação equimolar da SIM+ATZ 1  $\text{mg L}^{-1}$ .



**Figura 39.** Cromatogramas da reação da ATZ 1 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu e peróxido de hidrogênio no GC-MS



**Figura 40.** Cromatogramas da reação da SIM 1 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu e peróxido de hidrogênio no GC-MS.



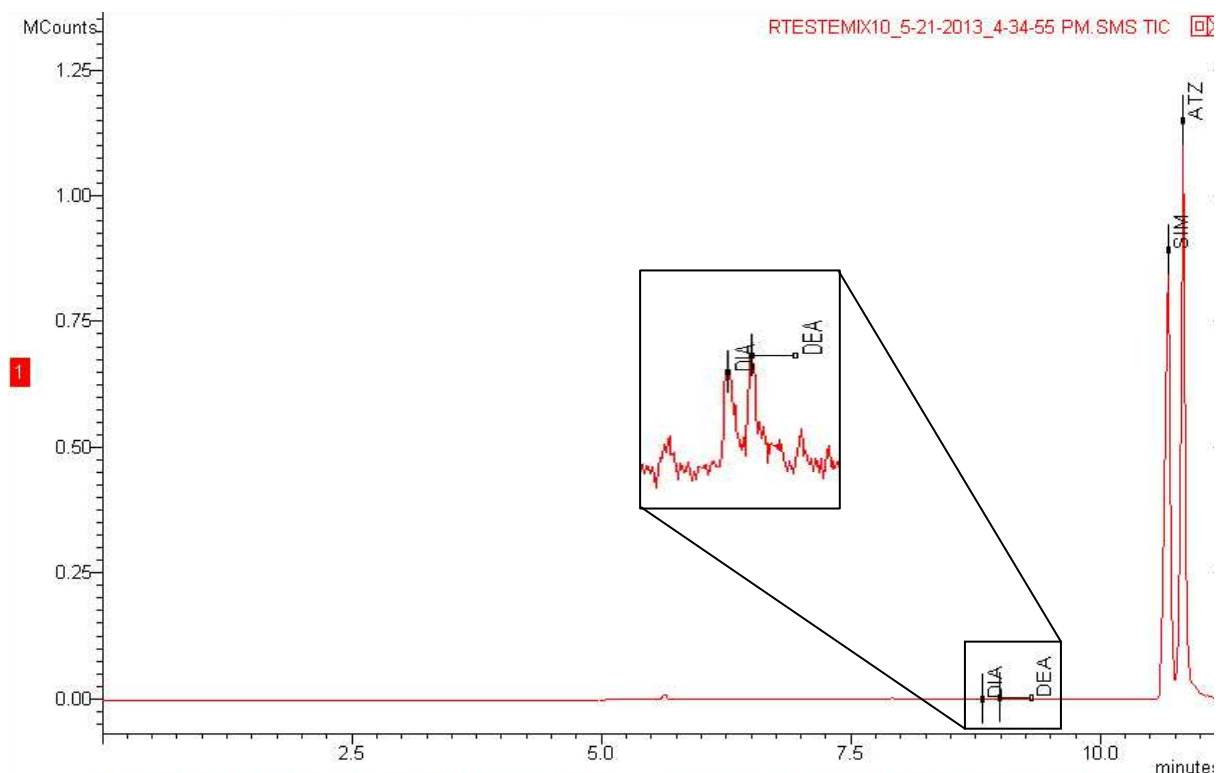
**Figura 41.** Cromatogramas da reação da solução equimolar ATZ+SIM 1 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu e peróxido de hidrogênio no GC-MS.

Como o equipamento foi cedido a pesquisa por curto período de tempo, não foi possível realizar as análises com a MetFe, nem foi possível realizar as análises na concentração de 5 mg L<sup>-1</sup> e suas devidas replicatas. O rendimento máximo alcançado com a MetRu foi de 85,00% para a SIM na solução equimolar ATZ+SIM 1mg L<sup>-1</sup>. Os dados de rendimento em função do tempo de reação podem ser visualizados na Tabela 23.

**Tabela 23.** Rendimento das reações de oxidação das triazinas catalisadas com a metaloporfirina de rutênio, obtidos com o GC-MS.

Substrato	Analito	Rendimento (%)	Tempo Reação (min)
ATZ 1 mg L <sup>-1</sup>	ATZ	80,30	80
SIM 1 mg L <sup>-1</sup>	SIM	70,80	80
solução equimolar ATZ+SIM 1 mg L <sup>-1</sup>	ATZ	78,80	80
	SIM	85,00	60

Na Figura 42, pode-se visualizar a identificação dos subprodutos DIA e DEA na reação da solução equimolar ATZ+SIM 10 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu. Não foi possível realizar as análises com a MetFe e nem foi possível realizar as análises em replicatas



**Figura 42.** Cromatogramas da reação do MIX ATZ+SIM 10 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu e peróxido de hidrogênio no GC-MS. Detalhe para a detecção dos subprodutos DIA e DEA na reação.

Nota-se na reação da solução equimolar ATZ+SIM 10 mg L<sup>-1</sup>, assim como a detecção dos subprodutos DIA e DEA, que foram identificados pela comparação dos tempos de retenção por injeção das soluções padrões com os cromatogramas das reações e biblioteca NIST, nas concentrações de 0,127 e 0,112 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, no final de 80 minutos de reação com a MetRu. As concentrações da ATZ e SIM caíram para 4,648 e 0,473 mg L<sup>-1</sup>, representando uma degradação de 53,52 e 95,27%, respectivamente.

## 5.4 REAÇÕES *via* GC-MS/MS

Para obtenção das curvas analíticas no GC-MS/MS foram preparadas as seguintes soluções padrões a partir das soluções estoques de 100 mg L<sup>-1</sup> em Acetonitrila HPLC: 0,100 – 0,250 – 0,500 – 0,750 e 1,000 e 25,000 mg L<sup>-1</sup> para a ATZ, SIM e DEA e para o DIA foram preparadas as concentrações de 0,750 – 1,000 – 1,250 – 1,500 – 1,750 e 2,000 mg L<sup>-1</sup>, conforme Figuras 43 a 46.

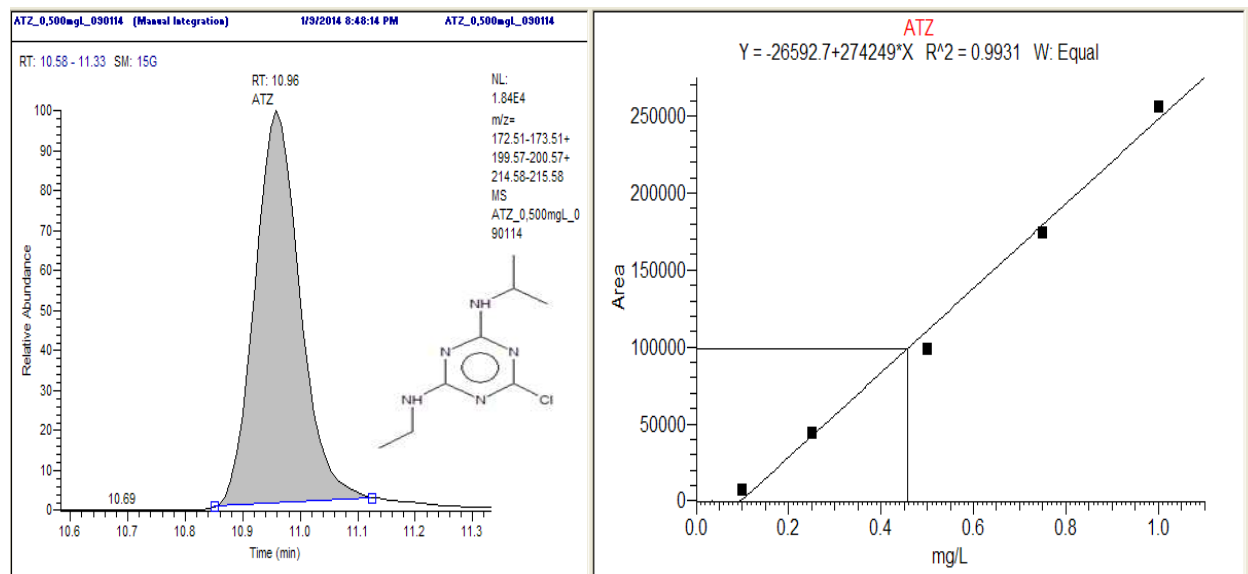


Figura 43. Pico cromatográfico da ATZ e sua curva analítica.

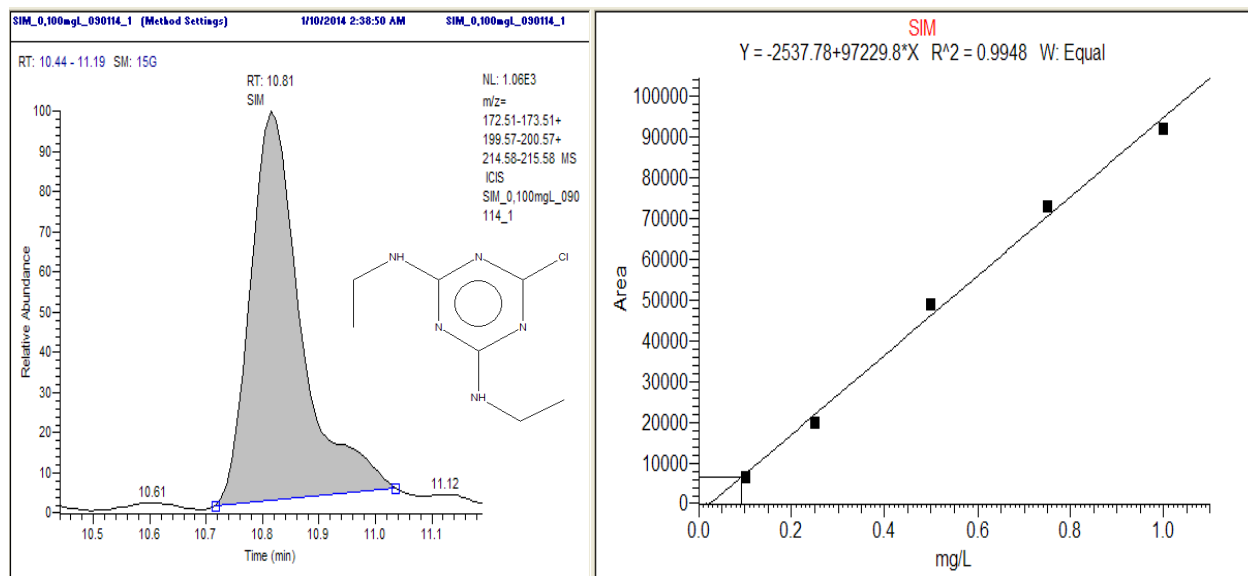
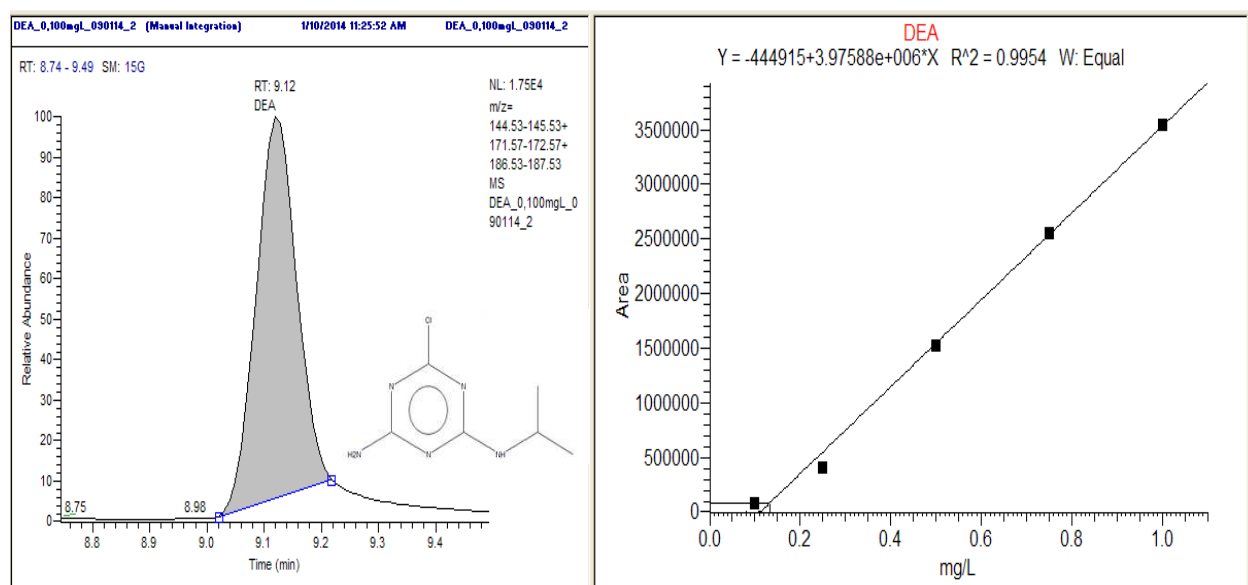
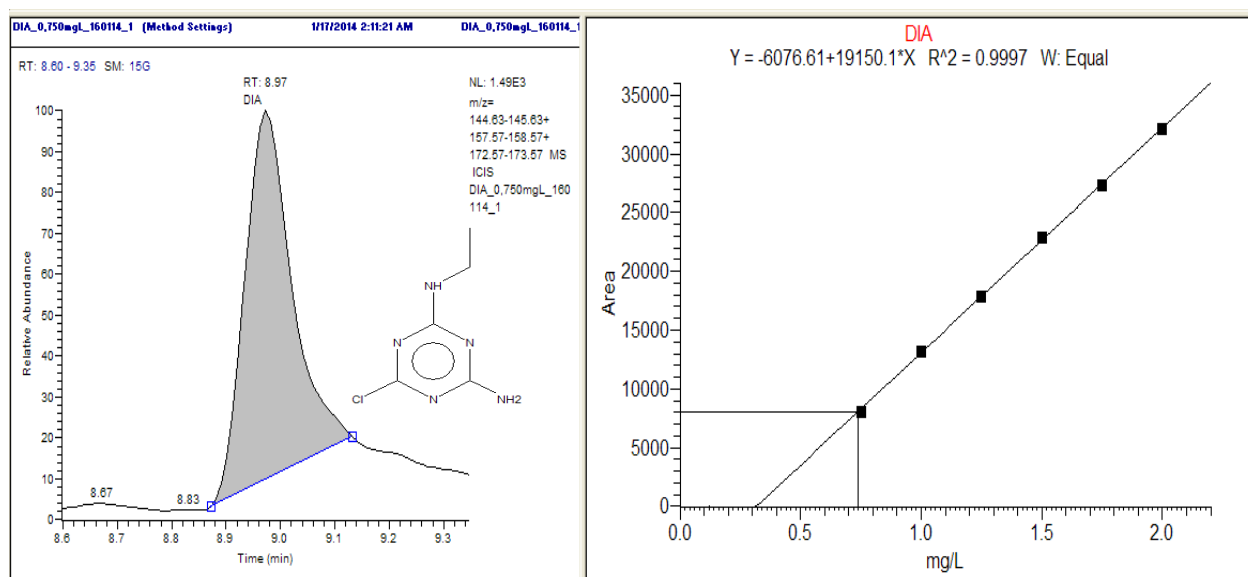


Figura 44. Pico cromatográfico da SIM e sua curva analítica.



**Figura 45.** Pico cromatográfico do DEA e sua curva analítica.



**Figura 46.** Pico cromatográfico do DIA e sua curva analítica.

Nota-se que os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) ficaram dentro dos valores recomendados pelos critérios de validação ( $R^2 \geq 0,90$ ; INMETRO), sendo  $R^2 = 0,999$  para o DIA,  $R^2 = 0,993$  para a ATZ,  $R^2 = 0,995$  para o DEA e  $R^2 = 0,995$  para a SIM. Os tempos de retenção encontrados para os analitos em estudo foram de 8,97 minutos para o DIA; 9,12 minutos para o DEA; 10,81 minutos para a SIM e 10,96 minutos para a ATZ, totalizando 17,97 minutos de corrida. Na Tabela 24 estão listados os dados da inserção da curva analítica das triazinas no CG-MS/MS.

**Tabela 24.** Dados da inserção da curva analítica das triazínas no GC-MS/MS.

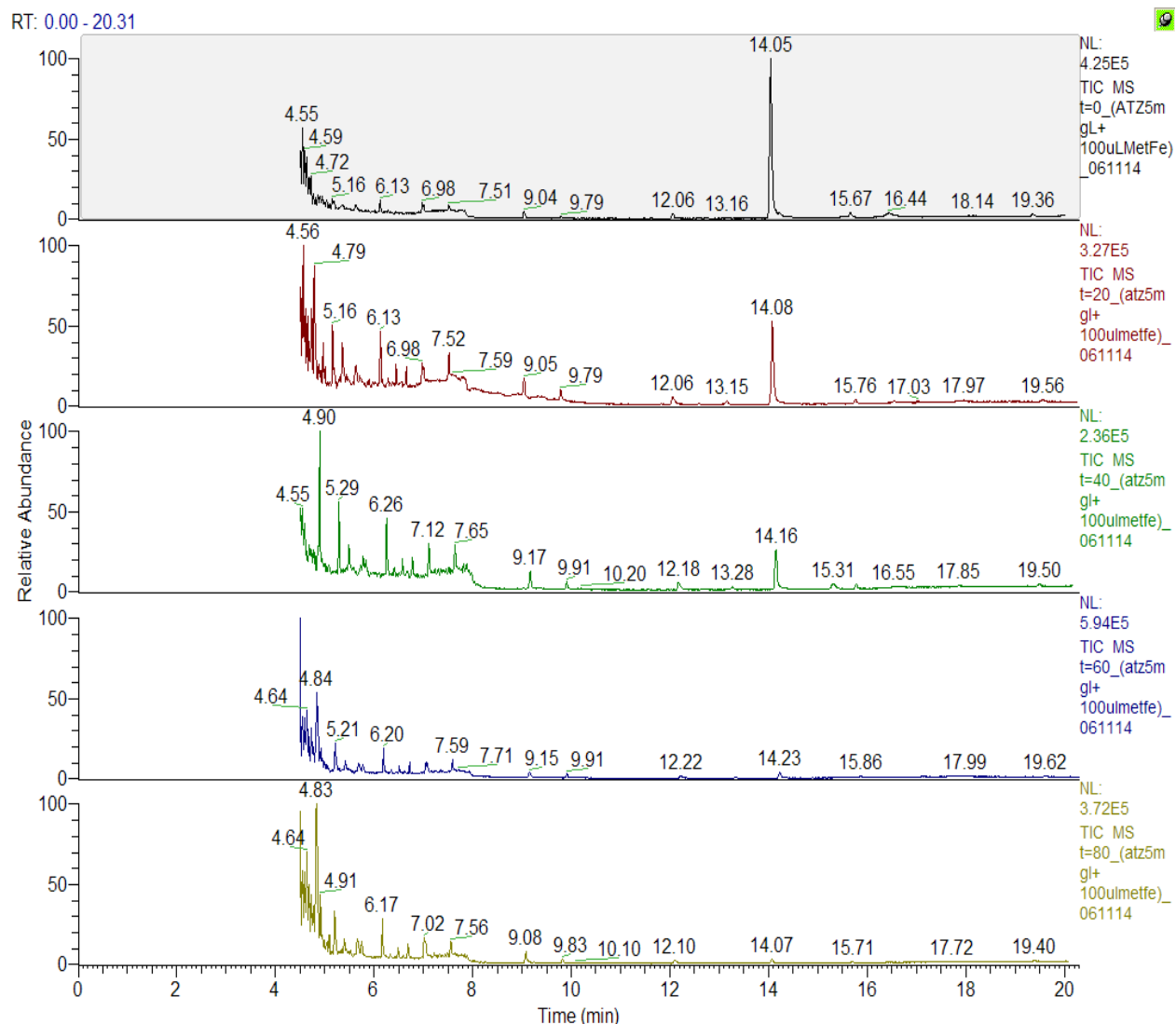
Analito	Concentração Preparada (mg L <sup>-1</sup> )	Leitura 1 (mg L <sup>-1</sup> )	Leitura 2 (mg L <sup>-1</sup> )	Leitura 3 (mg L <sup>-1</sup> )	Média das Leituras (mg L <sup>-1</sup> )	Desvio Padrão	Coeficiente de Variação (%)
ATZ	0,100	0,123	0,131	0,129	0,128	0,020	15,324
	0,250	0,257	0,252	0,246	0,252	0,001	0,468
	0,500	0,457	0,459	0,474	0,463	0,026	5,596
	0,750	0,732	0,718	0,71	0,720	0,021	2,946
	1,000	1,031	1,041	1,041	1,038	0,027	2,567
SIM	0,100	0,092	0,100	0,108	0,100	0,000	0,000
	0,250	0,231	0,232	0,243	0,235	0,010	4,407
	0,500	0,529	0,521	0,472	0,507	0,005	1,022
	0,750	0,777	0,794	0,797	0,789	0,028	3,524
	1,000	0,971	0,962	0,979	0,971	0,021	2,137
DEA	0,100	0,103	0,132	0,136	0,124	0,017	13,532
	0,250	0,228	0,213	0,236	0,226	0,017	7,625
	0,500	0,500	0,494	0,463	0,486	0,010	2,087
	0,750	0,803	0,755	0,75	0,769	0,014	1,777
	1,000	0,965	1,005	1,000	0,990	0,007	0,714
DIA	0,750	0,74	0,765	0,751	0,752	0,001	0,188
	1,000	1,007	0,999	1,003	1,003	0,002	0,211
	1,250	1,252	1,235	1,249	1,245	0,003	0,265
	1,500	1,509	1,487	1,493	1,496	0,003	0,173
	1,750	1,745	1,749	1,747	1,747	0,002	0,121
	2,000	1,996	2,015	2,009	2,007	0,005	0,235

Os LD (mg L<sup>-1</sup>) encontrados foram: DIA: 0,038; DEA: 0,057; SIM: 0,025; ATZ: 0,013 e os LQ (mg L<sup>-1</sup>) encontrados foram: DIA: 0,812; DEA: 0,214; SIM: 0,140; ATZ: 0,148.

A média das leituras foi calculada com base na média das leituras 1, 2 e 3; o desvio padrão foi calculado com a média das leituras e o valor da concentração preparada e o coeficiente de variação foi calculado usando o desvio padrão calculado e a média dos valores.

Após a inserção das curvas analíticas no equipamento e a sua validação, prosseguiu-se com as reações de degradação, conforme descrito no item 4.2.2

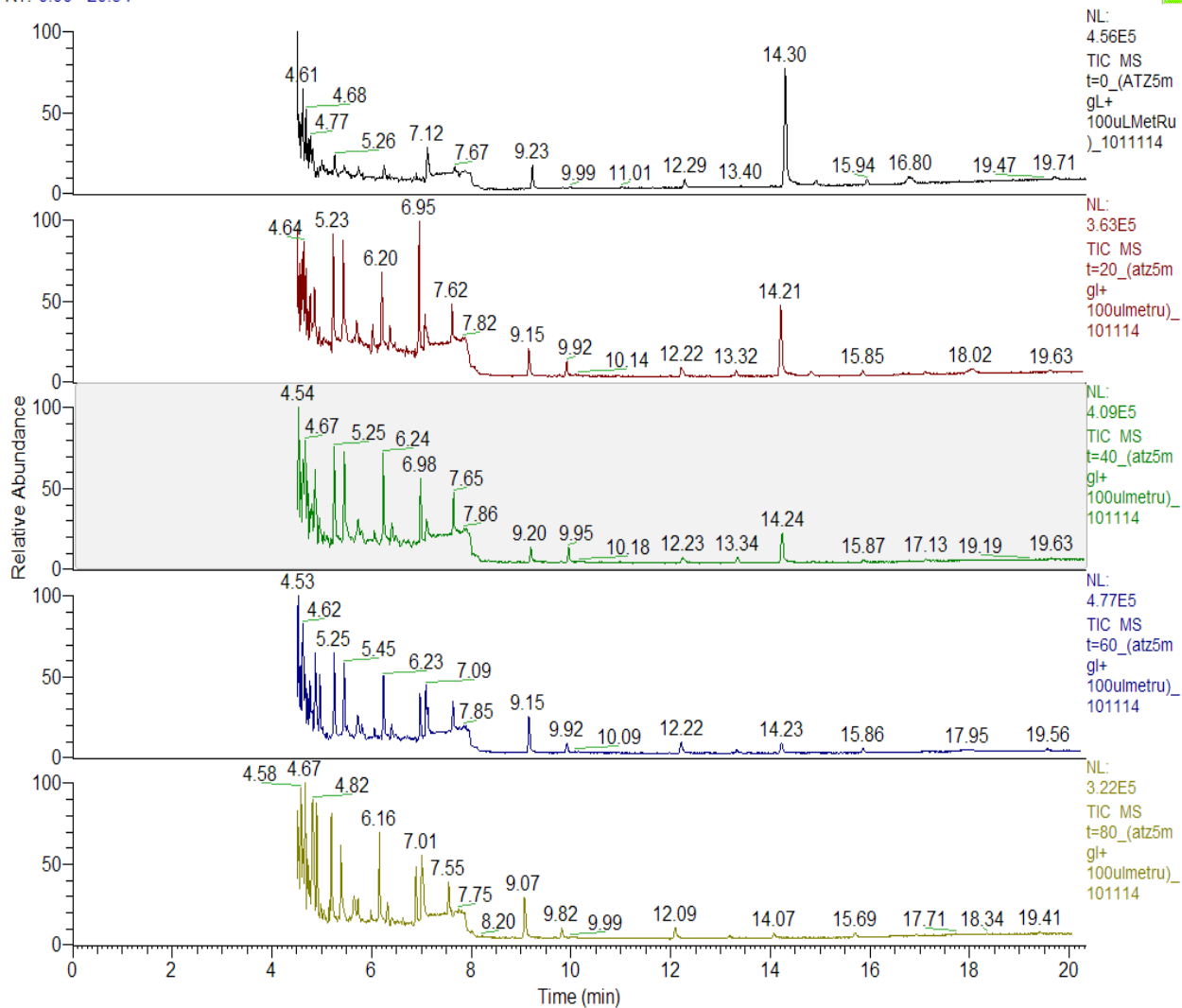
Procedimento de Degradação, injetando uma alíquota de 1  $\mu\text{L}$  com o auxílio do amostrador automático TriPlus com microseringa de 10  $\mu\text{L}$  no GC-MS/MS a cada 20 minutos de reação. Na Figura 47 pode-se observar o cromatograma da reação da ATZ 5  $\text{mg L}^{-1}$  com a MetFe e na Figura 48 o cromatograma da reação da ATZ 5  $\text{mg L}^{-1}$  com a MetRu.



**Figura 47.** Cromatogramas da reação da ATZ 5  $\text{mg L}^{-1}$  com a MetFe e peróxido de hidrogênio no GC-MS/MS.

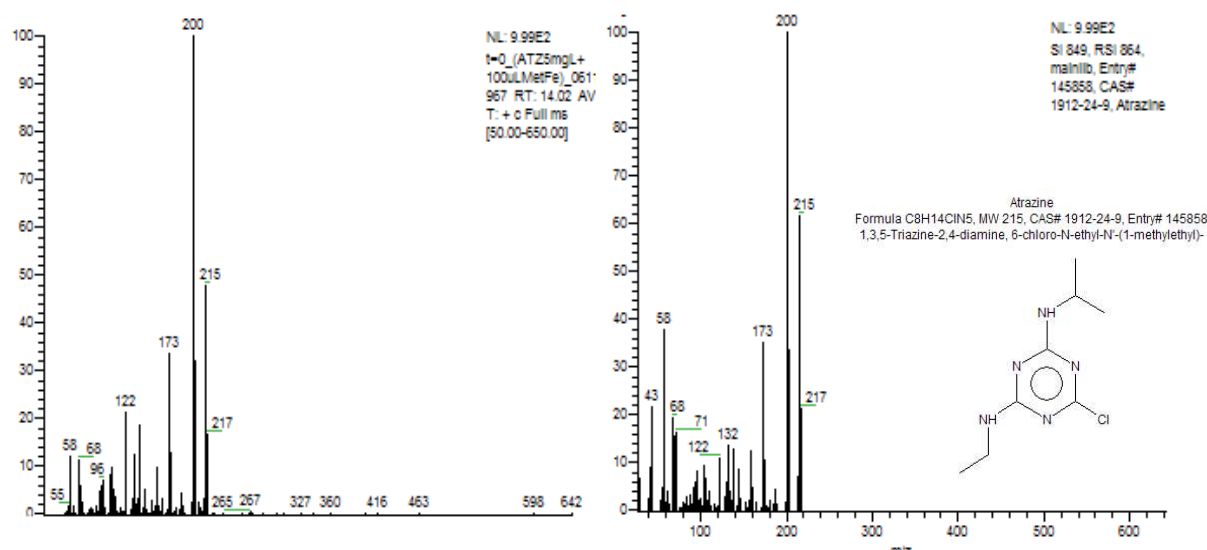


RT: 0.00 - 20.34



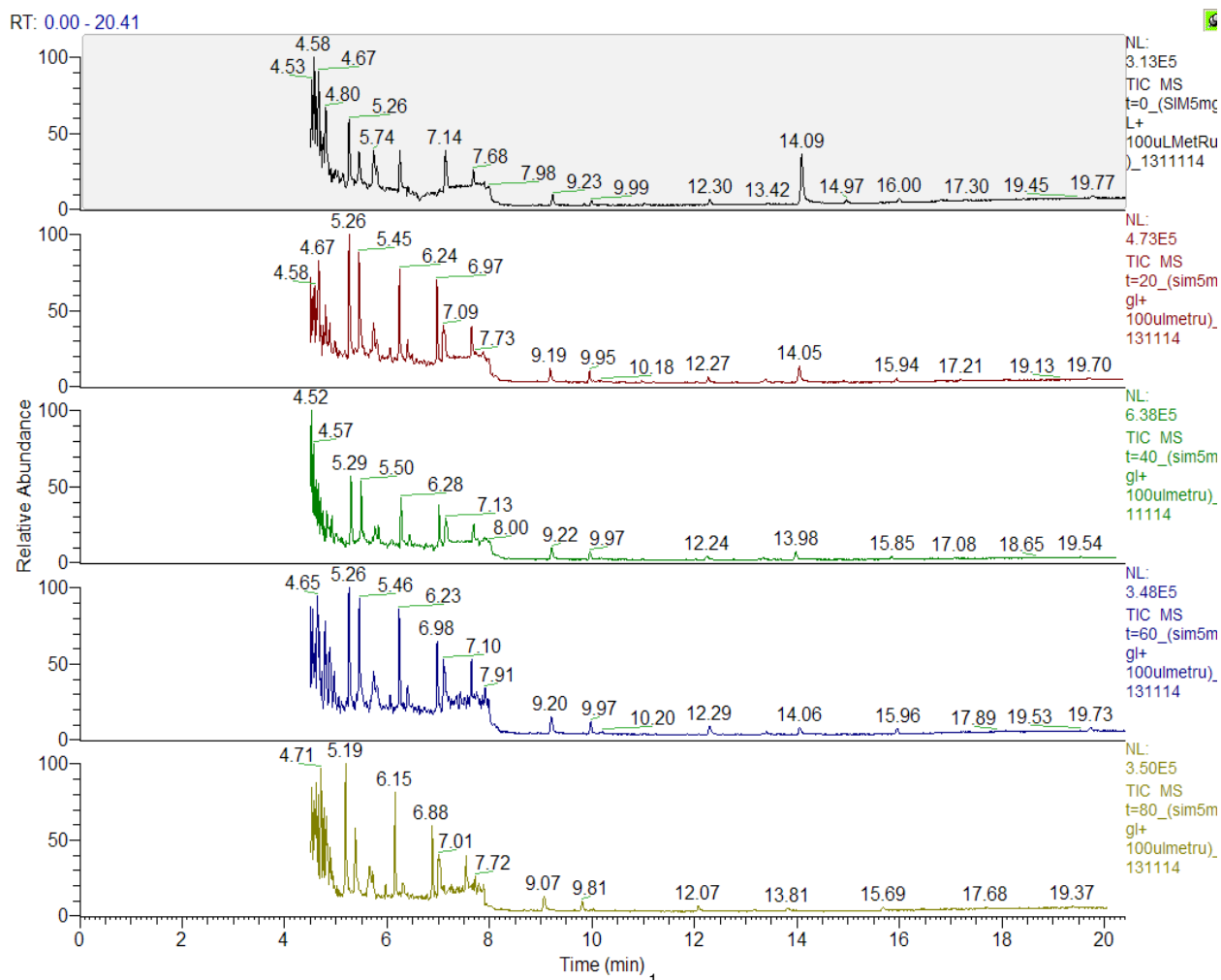
**Figura 48.** Cromatogramas da reação da ATZ 5 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu e peróxido de hidrogênio no GC-MS/MS.

Nota-se que houve diminuição das áreas dos picos da ATZ, durante o tempo de reação. A identificação da ATZ pode ser visualizada na Figura 49, utilizando a técnica de ionização por impacto de elétrons, full scan, com o modo positivo (EI<sup>+</sup>), tendo sido revelado o pico do íon molecular ( $m/z = 215$ , associado ao herbicida atrazina  $[M]^+$ ) e os principais fragmentos ( $m/z$ ): 200 (associado ao íon  $[M - CH_3]^+$ ), 173, 122, 132.

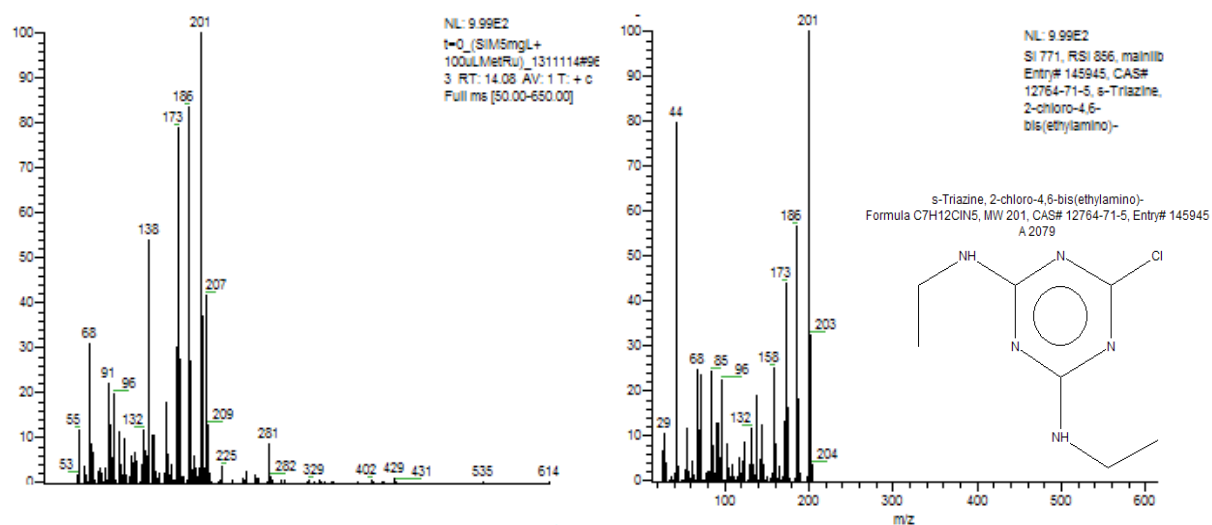


**Figura 49.** Identificação do pico da ATZ através de comparação do scan com a biblioteca NIST no GC-MS/MS Trace Thermo Finnigan.

Na Figura 50 pode-se observar o cromatograma da reação da SIM 5 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu. Nota-se que houve diminuição das áreas dos picos da SIM, durante o tempo de reação. A identificação da SIM com a MetRu pode ser visualizada na Figura 51, utilizando a técnica de ionização por impacto de elétrons (electron ionization) – EI, full scan, com o modo positivo (EI<sup>+</sup>), tendo sido revelado o pico do íon molecular ( $m/z$  = 215, associado ao herbicida atrazina [M]<sup>+</sup> e os principais fragmentos ( $m/z$ ): 201 (associado ao íon [M – CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 186, 173, 138.

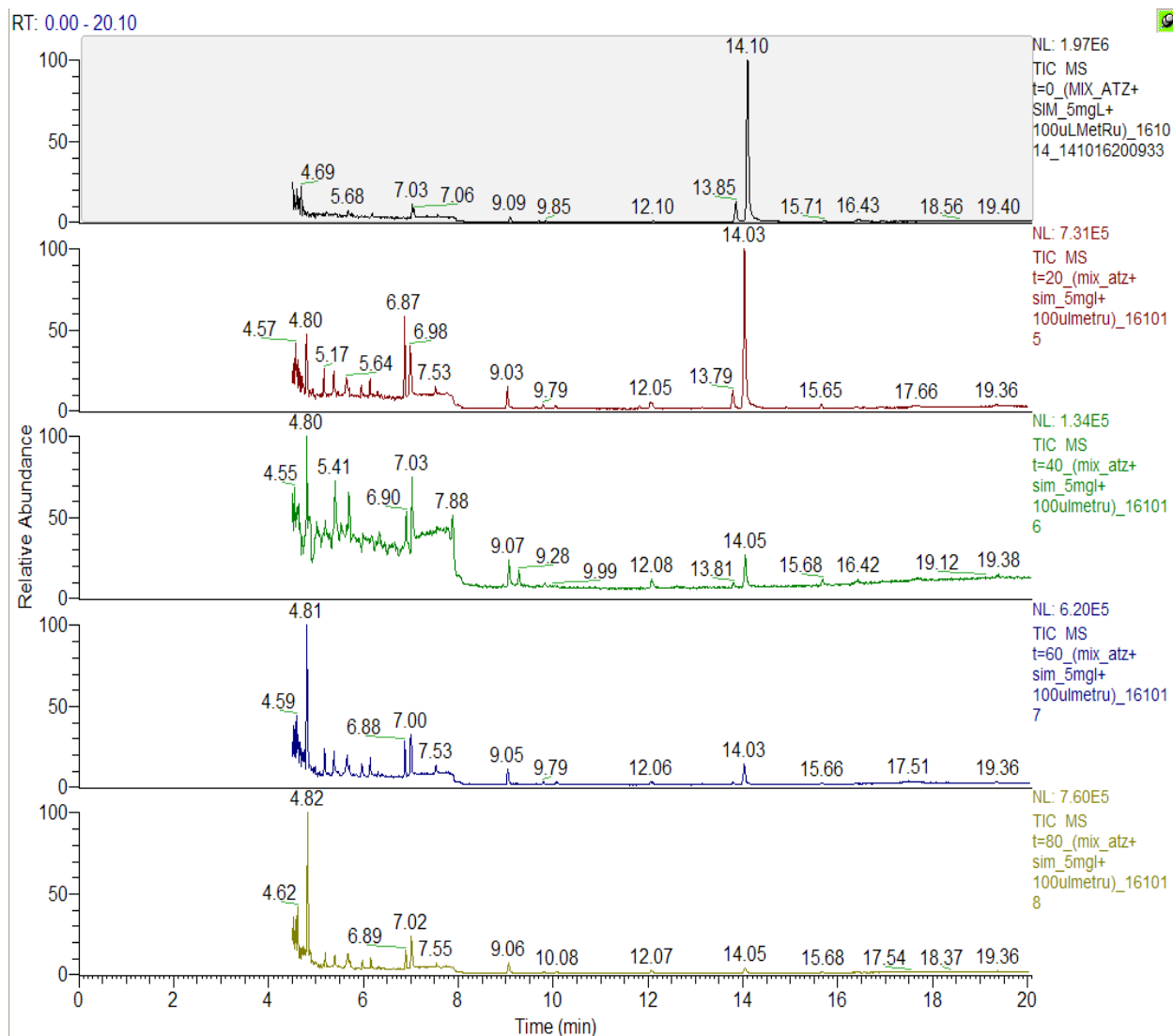


**Figura 50.** Cromatogramas da reação da SIM 5 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu e peróxido de hidrogênio no GC-MS/MS.

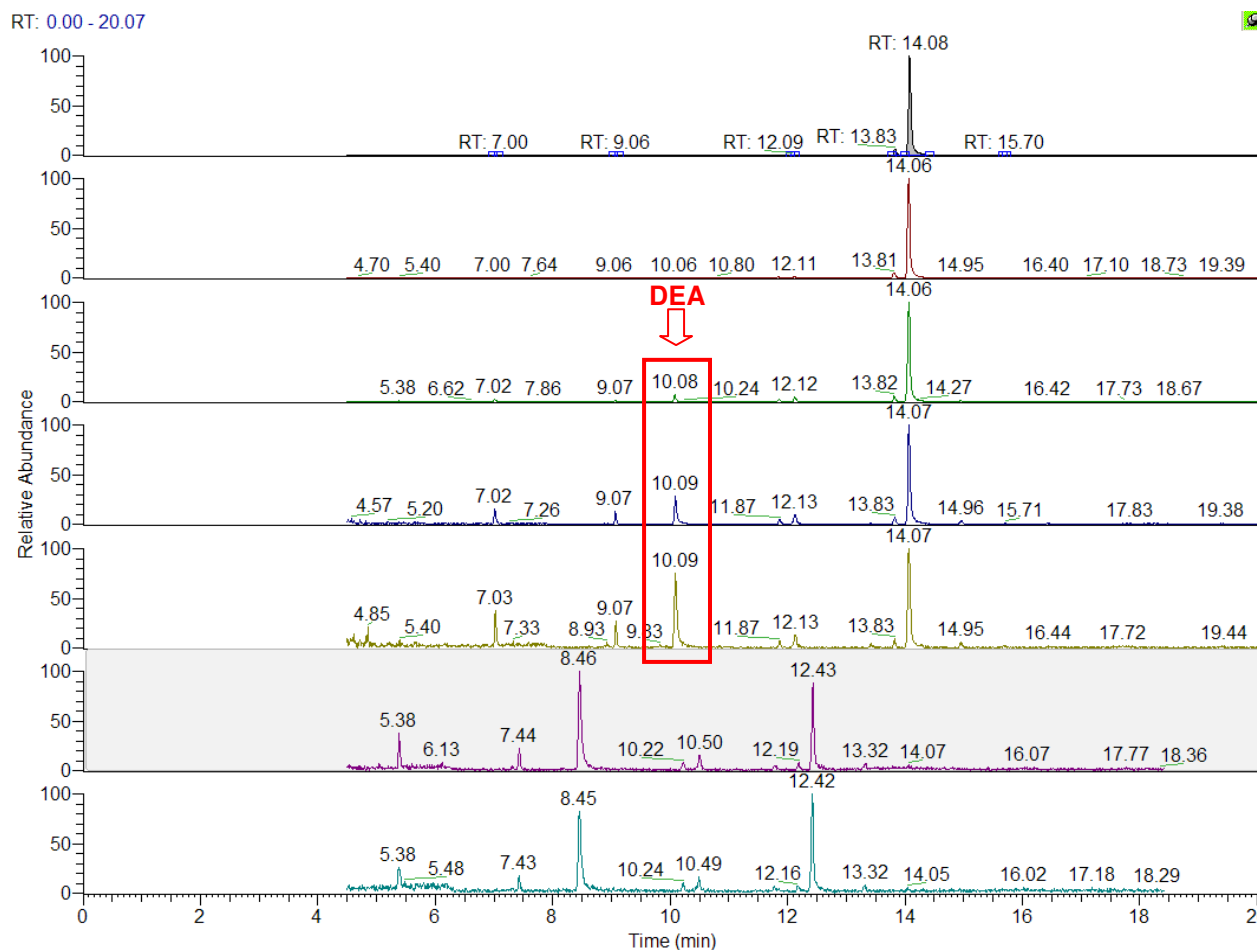


**Figura 51.** Identificação do pico da SIM através de comparação do scan com a biblioteca NIST no GC-MS/MS Trace Thermo Finnigan.

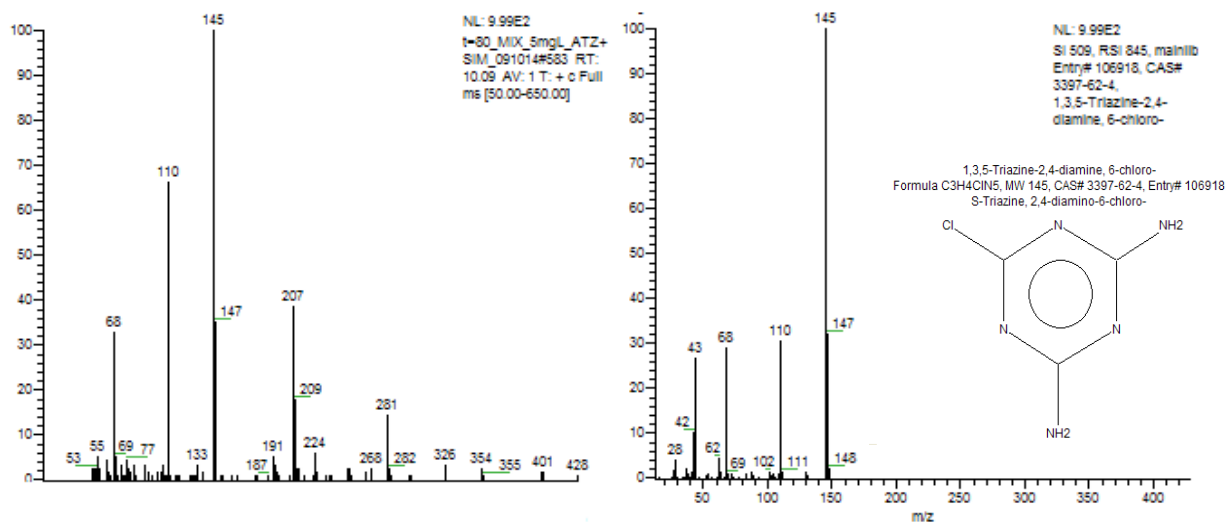
O mesmo pode ser observado na Figura 52 para a reação equimolar da SIM+ATZ 5 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu e na Figura 53 para a reação equimolar da SIM+ATZ 5 mg L<sup>-1</sup> com a MetFe, onde é possível visualizar os picos do DEA, onde a ATZ apresentou tempo de retenção igual a 14,08 minutos; a SIM de 13,83 minutos e o DEA de 10,08 minutos. A confirmação do DEA pode ser visualizada na Figura 54.



**Figura 52.** Cromatogramas da reação da solução equimolar ATZ+SIM 5 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu e peróxido de hidrogênio no GC-MS/MS.



**Figura 53.** Cromatogramas da reação da solução equimolar ATZ+SIM 5 mg L<sup>-1</sup> com a MetFe e peróxido de hidrogênio no GC-MS/MS.



**Figura 54.** Identificação do pico do DEA na reação equimolar da ATZ+SIM 5 mg L<sup>-1</sup> com a MetFe e peróxido de hidrogênio através de comparação do scan com a biblioteca NIST no GC-MS/MS Trace Thermo Finnigan.

As reações com a ATZ e SIM foram conduzidas de forma similar às etapas descritas anteriormente, ressaltando-se que também foi observado no decorrer das reações a redução dos picos dos analitos de interesse e o surgimento de outros picos no cromatograma, evidenciando-se a oxidação dos analitos de interesse pelo peróxido de hidrogênio, sendo catalisada pelas metaloporfirinas empregadas. Durante as reações, as determinações dos compostos de interesse (ATZ, SIM e DEA) mostraram reprodutibilidade nos tempos de retenção, sendo que os dados dos rendimentos podem ser visualizados nas Tabelas 25, 26 e 27.

**Tabela 25.** Monitoramento da degradação da ATZ 5 mg L<sup>-1</sup> nas reações com a MetRu e MetFe via GC-MS/MS.

Tempo (min.)	Analito	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Degradação (%)	Área
---		5,000*	---	6372583
0	ATZ+MetRu	0,919	81,61	1171507
20		0,432	91,35	550830
40		0,190	96,19	242655
60		0,210	95,78	268597
80		0,020	99,58	26234
0	ATZ+MetFe	1,183	76,33	1507946
20		0,476	90,46	607431
40		0,153	96,93	195234
60		0,049	99,01	62566
80		0,023	99,54	28958

\*Injeção do Padrão da ATZ 1 mg L<sup>-1</sup> para comparação da área do analito com os picos identificados nas reações.

Como pode ser observado na Tabela 25, a ATZ individualmente possui seletividade semelhante, pois tanto para a MetRu quanto para a MetFe, apresentou elevada taxa de degradação, sendo 99,58 % e 99,54 %, respectivamente.

**Tabela 26.** Monitoramento da degradação da SIM 5 mg L<sup>-1</sup> nas reações com a MetRu via GC-MS/MS.

Tempo (min.)	Analito	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Degradação (%)	Área
---		5,000*	---	1316239
0	SIM+MetRu	1,474	70,50	388277
20		0,787	84,24	207412
40		0,455	90,88	120012
60		0,241	95,16	63653
80		---	---	---

\*Injeção do Padrão da SIM 1 mg L<sup>-1</sup> para comparação da área do analito com os picos identificados nas reações.

Comparando-se a degradação da SIM e da ATZ com a MetRu, pode-se perceber que a MetRu apresentou melhores resultados na oxidação da SIM do que da ATZ, pois no tempo total de reação de 80 minutos o sinal da SIM foi tão baixo que o equipamento não conseguiu integrar a área do pico formado. Nas reações com os analitos individualmente, não foi detectado a presença dos subprodutos em estudo (DIA e DEA).

**Tabela 27.** Monitoramento da degradação da solução equimolar da ATZ+SIM 5 mg L<sup>-1</sup> nas reações com a MetRu e MetFe via GC-MS/MS.

Tempo (min.)	Analito	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Degradação (%)	Área
---		5,000*	---	9523532
0	Solução equimolar da ATZ+SIM +MetRu (ATZ)	3,345	33,08	6372583
20		0,141	97,17	268597
40		0,042	99,14	81205
60		0,042	99,15	80800
80		3,345	---	---
0	Solução equimolar da ATZ+SIM +MetFe (ATZ)	4,454	10,90	8484676
20		2,030	59,39	3867216
40		0,543	89,13	1034933
60		0,089	98,20	171122
80		0,031	99,37	59069

**Tabela 27.** Monitoramento da degradação da solução equimolar da ATZ+SIM 5 mg L<sup>-1</sup> nas reações com a MetRu e MetFe via GC-MS/MS (Continuação)

Tempo (min.)	Analito	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Degradação (%)	Área
---		5,000**	---	1316239
0	Solução equimolar da ATZ+SIM +MetRu (SIM)	2,981	40,36	784943
20		0,956	80,87	251780
40		---	---	---
60		---	---	---
0	Solução equimolar da ATZ+SIM +MetFe (SIM)	4,247	15,06	1118043
20		1,770	64,59	465992
40		0,390	92,19	102714
60		---	---	---
80		---	---	---

\*Injeção do Padrão da ATZ 1 mg L<sup>-1</sup> para comparação da área do analito com os picos identificados nas reações.

\*\* Injeção do Padrão da SIM 1 mg L<sup>-1</sup> para comparação da área do analito com os picos identificados nas reações

Comparando-se a degradação da SIM e da ATZ nas soluções equimolares, nota-se que a ATZ apresentou melhores resultados na oxidação tanto com a MetRu quanto com a MetFe, produzindo taxas de 99,15% e 99,37%, respectivamente, contra 92,19% da reação da MetFe com a SIM.

Em ambas as reações das soluções equimolares ATZ+SIM foi evidenciado o DEA, na reação com t=80 minutos com a MetRu e nas reações com t=40, 60 e 80 com a MetFe. Na Tabela 28 estão listados os sinais e as respectivas concentrações do DEA detectado.



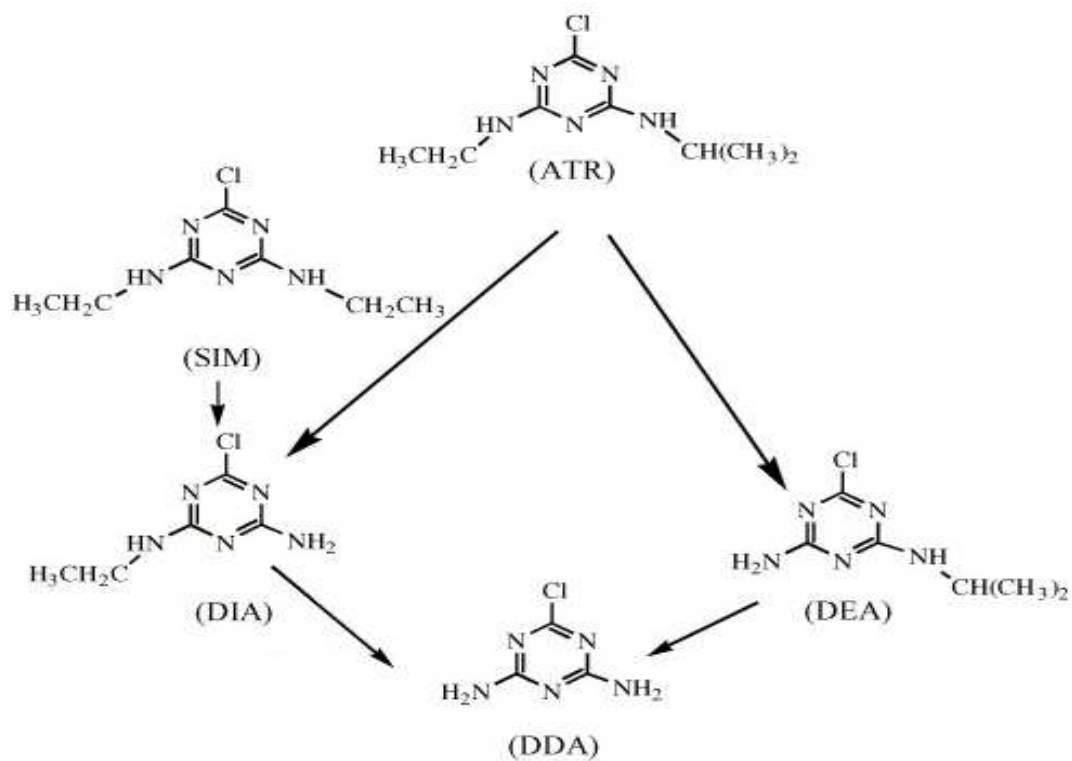
**Tabela 28.** Quantificação do DEA detectado nas reações com a MetRu e MetFe na solução equimolar da ATZ+SIM 5 mg L<sup>-1</sup> via GC-MS/MS.

Tempo (min.)	Reação	Analito	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Área
---	MetRu	DEA	1,000*	1281396
80			0,098	25307
40	0,129		33316	
60	MetFe		0,091	23546
80			0,075	19293

\*Injeção do Padrão do DEA 1 mg L<sup>-1</sup> para comparação da área do analito com os picos identificados nas reações.

Pode-se perceber pela Tabela 28 que, na reação com a MetRu, houve a detecção do DEA em uma baixa concentração. O mesmo acontece com a reação da MetFe, onde houve a detecção do DEA em 40, 60 e 80 minutos, como um pico de concentração e posterior degradação. Se a análise for continuada até 102 minutos, também pode ser observado que o pico do DEA desaparece. Cabe ressaltar que as reações foram conduzidas em um tempo total de 24 horas, sendo que não houve alteração dos valores de degradação obtidos com os tempos de 80 minutos.

Através das análises realizadas por GC-MS/MS, pode-se comparar os resultados obtidos com o modelo da rota de degradação da ATZ e SIM proposto por JIANG *et al.* (2005)(Figura 55), concluindo-se que houve coerência nos dados encontrados com o modelo proposto, sendo que, houve a geração do DEA e DIA nas reações de degradação da SIM e ATZ em solução equimolar e houve a geração do DEA nas reações de degradação da ATZ.



**Figura 55.** Possível rota de degradação da atrazina e simazina. Fonte: Adaptado de JIANG *et al.* (2005).

## 6. CONCLUSÕES

Os rendimentos das reações de oxidação das triazinas com peróxido de hidrogênio e catalisadas pelas metaloporfirinas de ferro e rutênio variam de acordo com as condições de reações para a simazina de 80,87% a 95,16% e para a atrazina de 99,15% a 99,58% utilizando a metaloporfirina de rutênio, sendo que para a metaloporfirina de ferro foi de 92,19% para a simazina e 99,37% a 99,54% para a atrazina. A degradação dos herbicidas foi confirmada pelo surgimento de novos picos no decorrer da reação, referentes aos subprodutos detectados (DEA e DIA).

Os dados de monitoramento das reações catalíticas por UV-Vis revelaram as estabilidades dos catalisadores metaloporfirínicos de ferro e de rutênio de forma decrescentes, no meio oxidante, até um tempo final de 80 minutos de reação.

Os resultados obtidos com a cromatografia gasosa acoplada com a espectrometria de massas tandem (GC-MS/MS), utilizando a técnica de ionização por impacto de elétrons, full scan, com o modo positivo ( $\text{EI}^+$ ), associado a este pico, revelaram os picos dos íons moleculares dos analitos de interesse, confirmando a identificação do DEA como subproduto gerado na degradação destes herbicidas. O que foi observado também é que, durante a degradação da solução equimolar da ATZ+SIM, pode-se ver a geração do DEA e ao mesmo tempo sua degradação junto ao meio reacional, o que demonstra uma capacidade da degradação do DEA através da oxidação com  $\text{H}_2\text{O}_2$  catalisadas pelas metaloporfirinas.

## 7. PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS

- ⇒ Otimização das condições das reações catalíticas, variando-se também as proporções de catalizador/substrato/oxidante e variando-se a proporção do catalisador;
- ⇒ Continuação dos estudos das reações catalíticas via GC-MS/MS buscando a elucidação dos mecanismos de degradação dos herbicidas triazínicos e as elucidações dos subprodutos gerados.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agilent J&W GC Column Selection Guide – **Speed your selection whit this one-stop resource** – Agilent Technologies, Inc. 2012.

ANVISA, **Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos. Resolução RE nº 899,** de 29/05/2003, disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/4983b0004745975da005f43fbc4c6735/RE\\_899\\_2003\\_Determina+a+publica%C3%A7%C3%A3o+do+Guia+para+valida%C3%A7%C3%A3o+de+m%C3%A9todos+anal%C3%ADticos+e+bioanal%C3%ADticos.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/4983b0004745975da005f43fbc4c6735/RE_899_2003_Determina+a+publica%C3%A7%C3%A3o+do+Guia+para+valida%C3%A7%C3%A3o+de+m%C3%A9todos+anal%C3%ADticos+e+bioanal%C3%ADticos.pdf?MOD=AJPERES). Acessado em Nov/2014.

ANVISA, **Notícias: Seminário volta a discutir mercado de agrotóxicos em 2012** <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/anvisa+portal/anvisa/sala+de+imprensa/menu+-+noticias+anos/2012+noticias/seminario+volta+a+discutir+mercado+de+agrotoxicos+em+2012>. Acessado em Nov/2014.

Application Note 10017 – **Comparasion of GC/MS/MS to GC/MS analysis of Pesticides in Vegetable** – Thermo Scientific, 2007.

BALCI, B.; OTURAN, N.; CHERRIER R.; OTURAN, N. A. Degradation of atrazine in aqueous medium by electrocatalytically generated hydroxyl radicals. A kinetic and mechanistic study. **Water Research**, Pages 1924–1934, 2009.

BARCELÓ, D.; HENNION, M.C. Trace determination of pesticides and their degradation products in water, techniques and instrumentation in analytical chemistry. New York: **Elsevier**, 1997. v. 19.

BOLOGNESI, C.; MERLO, F. D.; Pesticides: Human Health Effects. **Elsevier**, Encyclopedia of Environmental Health, Pages 438–453, 2011.

BUSCH, K. L.; GLISH, G. L.; MCLUCKEY S. A. **Mass Spectrometry/Mass Spectrometry Techniques and Applications of Tandem Mass Spectrometry**. Editora VCH Publishers, Inc. 333p, Estados Unidos da América, 1988.

BRUZZONITI, M. C.; SARZANINI, C.; COSTANTINO, G.; FUNGI, M – Determination of herbicides by solid phase extraction gas chromatography-mass spectrometry in drinking waters. **Elsevier**, *Analytica Chimica Acta*, Pages 241–249, 2006.

CASTRO, C. S.; GUERREIRO M. C.; GONÇALVES, M.; OLIVEIRA, L. C. A.; ANSTÁCIO, A. S. Activated carbon/iron oxide composites for the removal of atrazine from aqueous medium. **Journal of Hazardous Materials**. Vol 164, Pages 609–614, 2009

CHEN, T. H.; YUAN, Z.; CARVER, A.; ZHANG, R. Visible light-promoted selective oxidation of sulfides to sulfoxides catalyzed by ruthenium porphyrins with iodobenzene diacetate. **Applied Catalysis A: General** 478, Pages 275–282, 2013.

CHIARADIA, M. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada a espectrometria de massa na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química Nova**, Vol. 31, No. 3, Pages 623–636, 2008.

CHU, W.; CHAN K. H.; GRAHAM, N. J. D. Enhancement of ozone oxidation and its associated processes in the presence of surfactant: Degradation of atrazine. **Chemosphere** 64, Pages 931–936, 2006.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S.; **Fundamentos de cromatografia**. Editora da UNICAMP, Campinas, SP. 2006.

D. Dolphin (Ed.), **"The Porphyrins"**, Academic New York, Vol.1, Part A, Physical Chemistry, 1978.

DUKE, S. O.; DAYAN, F. E.; Bioactivity of Herbicides. **Elsevier**, *Comprehensive Biotechnology (Second Edition)*, Volume 4, Pages 23–35, 2011.

EURACHEM/CITAC. **Guide Traceability in Chemical Measurements. A guide to achieving comparable measurement results.** 2003.

GOTARDO, M. C. A. F.; MORAES, L. A. B.; ASSIS M. D.; Metalloporphirins as biomimetic models for cytochrome P-450 in the oxidation of Atrazine. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 54, Pages 10011–10018, 2006.

GOTARDO, M. C. A. **Metaloporfirinas como modelos biomiméticos do citocromo P450 na oxidação de pesticidas.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo – Departamento de Química de Ribeirão Preto, 2006.

GUENGERICH, F. P. 4.04 Cytochrome P450 Enzymes. **Elsevier** LTD, 2010.

GUPTA, P. K.; Toxicity of Herbicides. **Elsevier**, Veterinary Toxicology (Second Edition), Pages 631–652, 2012.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa.** 5ª Ed. Editora LTC. 862 p. Rio de Janeiro, 2001.

HÉQUET, V.; LE CLOIREC, P.; GONZALES, C.; MEUNIER, B. Photocatalytic degradation of atrazine by porphyrin and phthalocyanine complexes. **Chemosphere** 41 Pages 379–386, 2000.

INMETRO – INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Orientações sobre validação de métodos analíticos.** DQO-CGCRE-008, Revisão 04, 2011.

ISO/IEC 17025. **General Requirements for the Competence of Calibration and Testing Laboratories.** 2005.

JAVARONI, LANDGRAF e REZENDE. Comportamento dos Herbicidas Atrazina e Alaclor Aplicados em Solo Preparado Para o Cultivo de Cana-de-Açúcar. **Química Nova**, Scielo, Páginas 58–64, 1999.

JIANG, H., ADAMS, C.D., KOFFSKEY, W., Determination of chloro-s-triazines including didealkylatrazine using solid-phase extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry, **J. Chromatography A**, 1064, Pages 219–226, 2005.

JIANG, H.; ADAMS, C. Treatability of chloro-s-triazines by conventional drinking water treatment Technologies. **Water Research**, 40, Pages 1657–1667, 2006.

KLEINSCHMITT, A. R. B.; **Transporte e Retenção de Triazinas em Compartimentos Ambientais Terrestres e Aquáticos em Área de Milho no Sistema de Plantio Direto**. Tese de Doutorado. Faculdade de Agronomia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2007.

LIMA, V. F.; **Cinética do Processo de Degradação do Herbicida Atrazina pelo Processo Avançado de Oxidação H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-UVC**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, 2010.

**LEI 7.802 do Congresso Nacional**, publicada em 11/07/1989. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l7802.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l7802.htm). Acessado em: Mar/2015.

MALDANER, L.; JARDIM, I. C. S. F.; Determination of some organic contaminants in water samples by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Elsevier**, Talanta, Pages 38–44, 2012.

MANSUY, D. A brief history of the contribution of metalloporphyrins models to cytochrome P450 chemistry and oxidation catalysis. **C. R. Chimie**, 10, Pages 392–413, 2007.

MEUNIER, B. Metalloporphyrins as versatile catalysts for oxidation reactions and oxidative DNA cleavage. **Chem. Rev.**, 92 , Pages 1411–1456, 1992.

MIRANDA, J. T. G.; **Degradação do herbicida atrazina via processos avançados de oxidação**. Dissertação de Mestrado. Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2003.

MOLINA R. J.; LOPEZ, G. B.; REYES, G. F. J.; DIAZ, M. A; Gas chromatography triple quadrupole mass spectrometry method for monitoring multiclass organic pollutants in Spanish sewage treatment plants effluents. **Elsevier**, Talanta, Pages 196–205, 2013.

MORAIS, L. S. R.; **Desenvolvimento e Validação de Métodos para a Determinação de Agrotóxicos em Água e Solo das Áreas de Descarga do Aquífero Guarani, na Região do Rio Araguaia, MT/GO**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Campinas, Instituto de Campinas, 2009.

NELKENBAUN E.; DROR, I.; BERKOWITZ, B. Reductive dechlorination of atrazine catalyzed by metalloporphyrins. **Chemosphere**, 75, Pages 48–55, 2009.

NIST – **National Institute of Standards and Technology**. Disponível em: [www.nist.org](http://www.nist.org). Acessado em: Nov/2014.

PITARCH, E.; MEDINA, C.; PORTOLES, T.; LOPES, F. J.; HERNANDEZ, F.; Determination of priority organic micro-pollutants in water by gás chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. **Elsevier**, Analitical Chimica Acta, Pages 246–258, 2007.

PEREIRA, W. E.; ROSTAD, C. E.; LEIKER, T. J.; Determination of trace levels of herbicides and their degradation products in surface and grounds Waters by gas chromatography/ion-trap mass spectrometry. **Elsevier**, Analytica Chimica Acta, Pages 69–75, 1990.

**Portaria 2914 do Ministério da Saúde**, publicado em 12/12/2014. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/anexo/anexo\\_prt2914\\_12\\_12\\_2011.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/anexo/anexo_prt2914_12_12_2011.pdf). Acessado em: Mar/2015.

REBELO, S. L. H.; PEREIRA, M. M.; MONSANTO, P. V.; BURROWS, H. D. Catalytic oxidative degradation of s-triazine and phenoxyalkanoic acid based herbicides with metalloporphyrins and hydrogen peroxide: Identifications of two distinct reactions schemes. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, 297, Pages 35–43, 2009.



RIBANI, M.; BOTOLLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação de métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**. Vol. 27, No. 5, Pages 771–780, 2004.

SANTANA, D. C.; **Estudo da Lixiviação de Herbicidas Utilizados na Cultura da Cana de Açúcar com Plantas Bioindicadoras**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu, 2012.

SANTOS, F. F. S.; **Implantação do Plano de Gestão de Resíduos Químicos da FT-UNICAMP: Oxidação de Herbicidas Triazínicos com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Metaloporfirinas**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Tecnologia - Universidade Estadual de Campinas - FT/UNICAMP, 2011.

SANTOS, J. S., PALARETTI, V., FARIA, A. L., CREVELIN, E. J., MORAES, L. A. B., ASSIS, M. D., Biomimetic simazine oxidation catalyzed by metalloporphyrins, **Applied Catalysis A: General**, 408, Pages 163–170, 2011.

SAURET, N. ; MILLET, M. ; HERCKES, P. ; MIRABEL, P. ; WORTHAM, H. ; Analytical method using gas chromatography and ion trap tandem mass spectrometry for the determination of S-triazines and their metabolites in the atmosphere. **Elsevier, Environmental Pollution**, Pages 243–252, 2000.

**SIGMA-ALDRICH** – Estruturas das metaloporfirinas de ferro e rutênio. Disponível em: <http://www.sigmaaldrich.com>. Acessado em: Jan/2015.

Thermo Scientific ITQ Series Quadrupole Ion Trap GC/MS – **Otimized for real-worldsample analysis** – Thermo Scientific, 2012.

**USEPA (EPA)** – Informações básicas sobre atrazina na água potável. Disponível em: <http://water.epa.gov/drink/contaminants/basicinformation/atrazine.cfm> e <http://water.epa.gov/drink/contaminants/index.cfm#List>. Acessado em: Mar/2015.

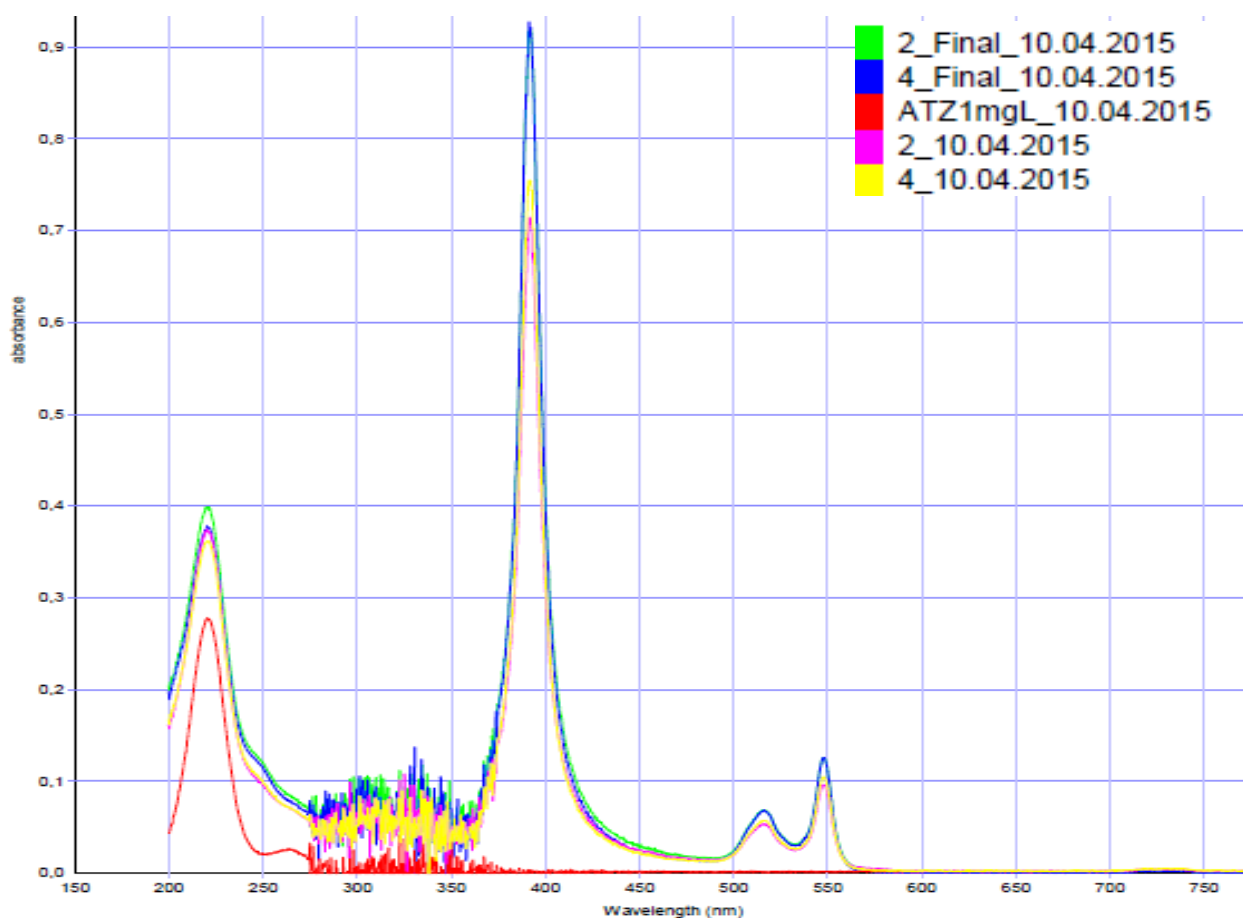
VINHADO, F. S. **Modelos químicos do citocromo P-450: Oxigenação de ligações C-H de alcanos catalisados por metaloporfirinas sintéticas.** Tese de Doutorado. Faculdade de Ciência e Letras de Ribeirão Preto - USP. 2005.

VOGEL, A. I. **Análise Química Quantitativa.** 6<sup>a</sup> Ed. Editora LTC. 462p. Rio de Janeiro, 2002.

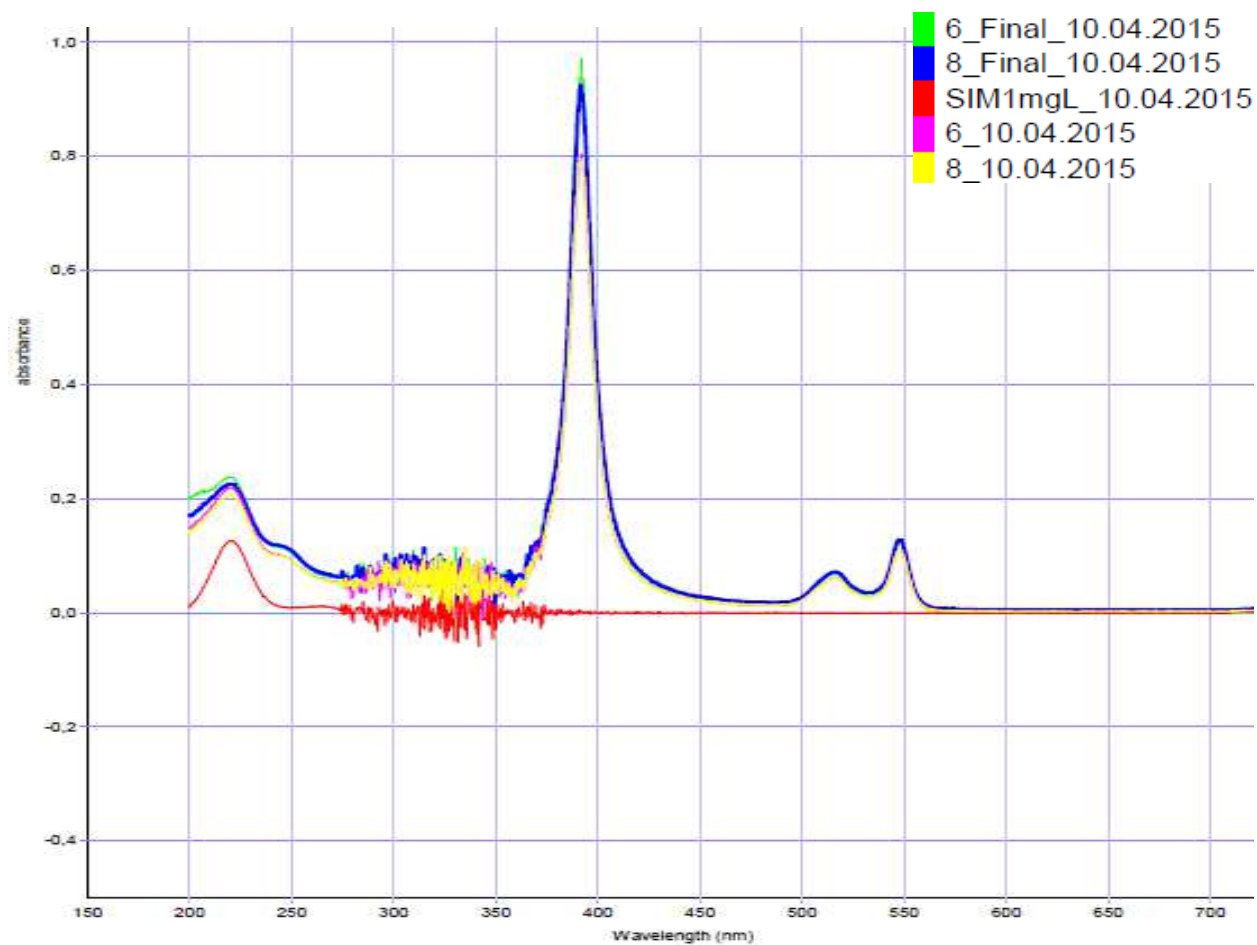
## ANEXO 01 – ANÁLISE DOS BRANCOS DE REAÇÃO (ANALITOS COM ADIÇÃO SOMENTE DAS METALOPORFIRINAS)

### 01. Análises *via* UV-VIS

A análise dos brancos de reação foram preparados através da adição das metaloporfirinas aos analitos (ATZ, SIM ou solução equimolar ATZ+SIM) sem a adição do peróxido de hidrogênio. Nas Figuras 56 e 57, pode-se visualizar que, sem a adição de peróxido de hidrogênio nas reações, não houve alterações nas intensidades das bandas características dos analitos e das metaloporfirinas de ferro e rutênio, evidenciando que não houve reações de degradação no meio reacional nestas condições após 80 minutos.



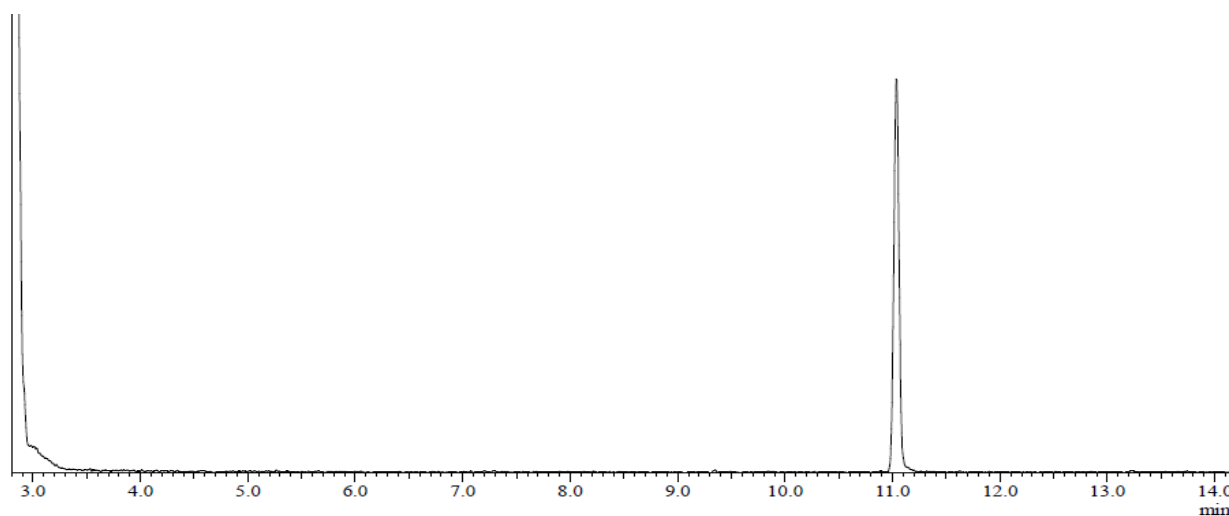
**Figura 56.** Monitoramento da reação da ATZ 1 mg L<sup>-1</sup> com adição apenas da MetRu e MetFe. Sendo 2 a reação inicial da ATZ 1 mg L<sup>-1</sup> com a MetFe e 4 reação inicial da ATZ 1 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu e 2 Final a reação inicial da ATZ 1 mg L<sup>-1</sup> com a MetFe após 80 minutos e 4 reação inicial da ATZ 1 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu após 80 minutos.



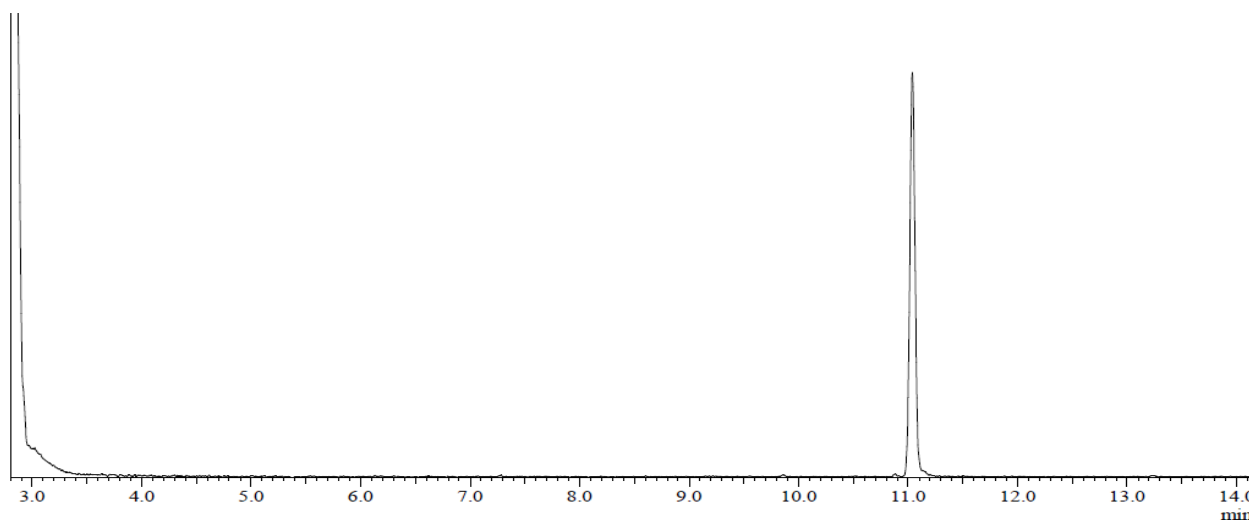
**Figura 57.** Monitoramento da reação da SIM 1 mg L<sup>-1</sup> com adição apenas da MetRu e MetFe. Sendo 2 a reação inicial da SIM 1 mg L<sup>-1</sup> com a MetFe e 4 reação inicial da SIM 1 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu e 2 Final a reação inicial da SIM 1 mg L<sup>-1</sup> com a MetFe após 80 minutos e 4 reação inicial da SIM 1 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu e 2 Final a reação inicial da SIM 1 mg L<sup>-1</sup> com a MetFe após 80 minutos e 4 reação inicial da SIM 1 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu após 80 minutos.

## 02. Análises via GC-MS

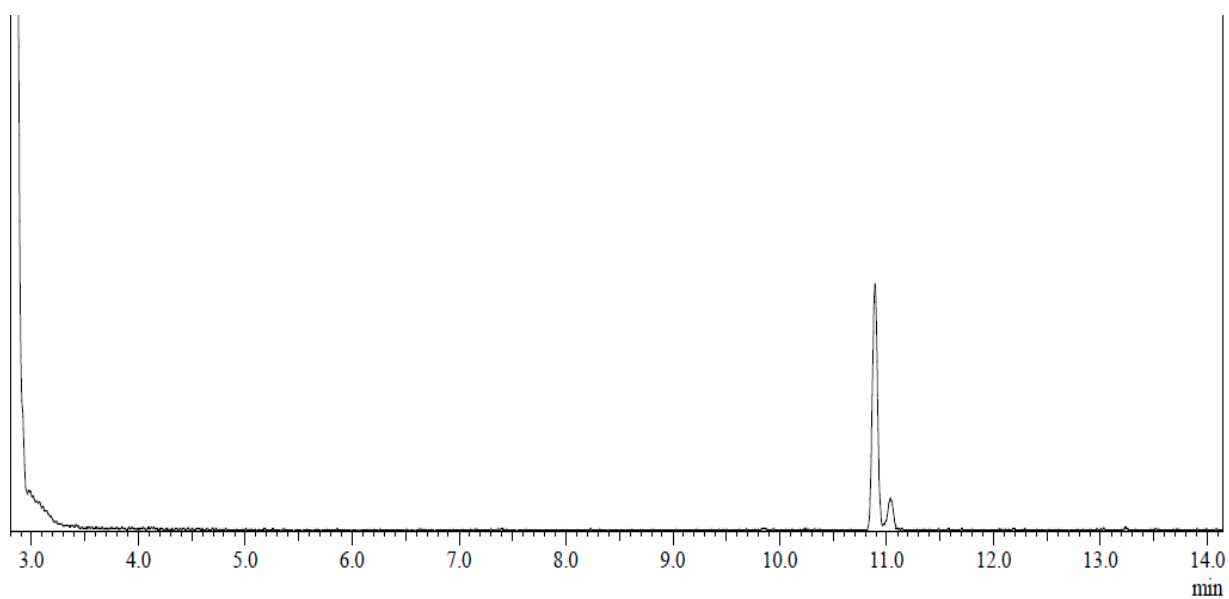
A análise dos brancos de reação foram preparados através da adição das metaloporfirinas aos analitos (ATZ, SIM ou solução equimolar ATZ+SIM) sem a adição do peróxido de hidrogênio. Nas Figuras 58 à 61, pode-se visualizar que, sem a adição de peróxido de hidrogênio nas reações, não houve alterações nas intensidades dos picos característicos dos analitos, considerando-se evidenciando que não houve reações de degradação no meio reacional nestas condições após 80 minutos.



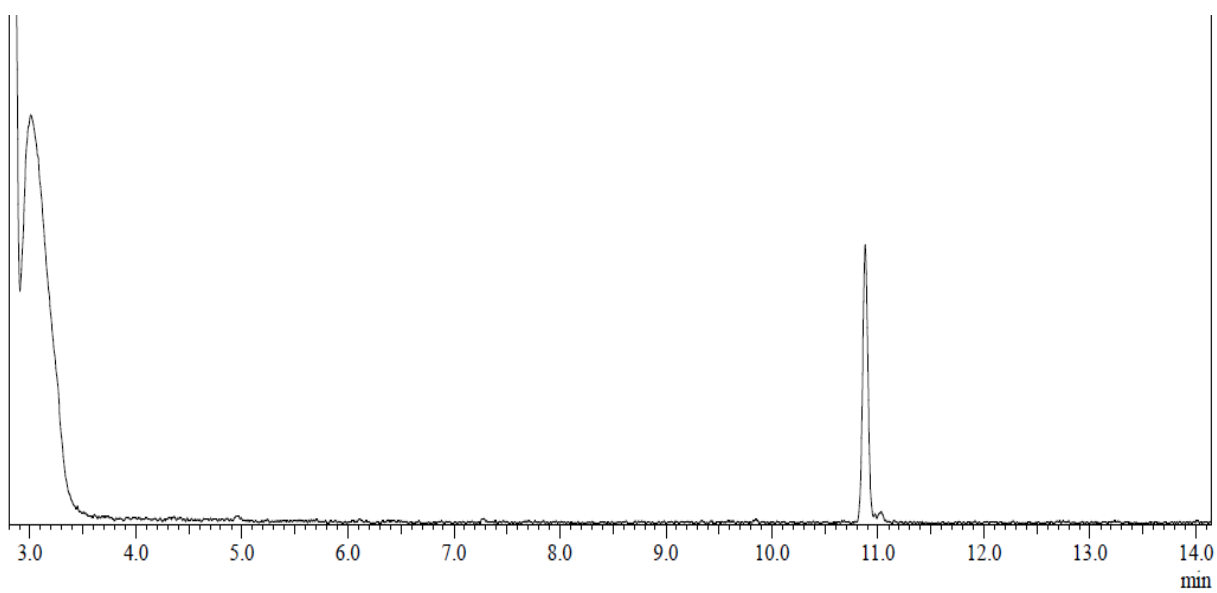
**Figura 58.** Cromatograma da reação após 80 minutos da ATZ 5 mg L<sup>-1</sup> com a MetFe.



**Figura 59.** Cromatograma da reação após 80 minutos da ATZ 5 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu.



**Figura 60.** Cromatograma da reação após 80 minutos da SIM 5 mg L<sup>-1</sup> com a MetFe.



**Figura 61.** Cromatograma da reação após 80 minutos da SIM 5 mg L<sup>-1</sup> com a MetRu.