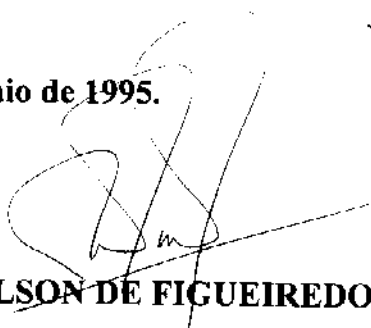


**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**"Este exemplar corresponde a redação final da tese, defendida por SANDRA GOMES DE MORAES, e aprovada pela comissão julgadora".**

**Campinas, 10 de maio de 1995.**



**Prof. Dr. WILSON DE FIGUEIREDO JARDIM**

**FOTODEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS ORGANOCLORADOS  
AROMÁTICOS: CARACTERIZAÇÃO E TOXICIDADE DE  
INTERMEDIÁRIOS**

**TESE DE MESTRADO**

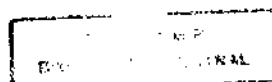


**SANDRA GOMES DE MORAES**

**Orientador: Prof. Dr. WILSON DE FIGUEIREDO JARDIM**

**Maio**

**1995**



Com.00071544-1

UNIDADE	IQ
Nº CHAMADA:	
	UNICAMP
	M791F
	24 984
	433/95
	D   y
	089.11.00
	30/06/95
Nº CPD	

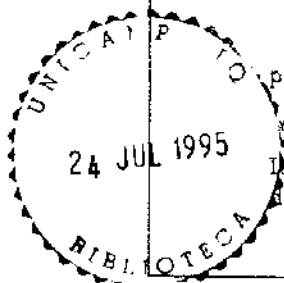
FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA  
UNICAMP

Moraes, Sandra Gomes de  
M791f Fotodegradação de compostos organoclorados aromáti-  
cos : caracterização e toxicidade de intermediários / Sandra  
Gomes de Moraes. -- Campinas, SP - [s.n.], 1995.

Orientador: Wilson de Figueiredo Jardim.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Cam-  
pinas. Instituto de Química.

1. Toxicidade. 2. Identificação. 3. Dióxido de titânio.  
I. Jardim, Wilson de Figueiredo. II. Universidade Estadual  
de Campinas. Instituto de Química. III. Título.



**"Tão insuperável quanto à luz do dia que desaparece nas trevas da noite, assim é o tempo. Devora tudo que foi criado; nada lhe é sagrado; nem monumentos célebres, nem obras de arte, nem beleza, nem poder; ele passa insensível, imutável e tudo se aniquila. Tudo, menos uma coisa, também tenaz, tão eterna quanto o próprio tempo: a Alma, princípio da Vida."**

**À minha família, por todo o carinho, compreensão  
e incentivo sempre constantes,  
o meu muito obrigada.**

## **Agradecimentos**

Ao Prof. Dr. Wilson de Figueiredo Jardim pela orientação dispensada à este trabalho de pesquisa.

Aos amigos de laboratório Marco, Tuca, Célio, Jarbas, Ivo, Ronei, Sônia, Vera, Raquel, Ileana, Cristina, Airton (Skin), Soraya, Roberta, Pedro, Martha, Claudia e Fabiana, pela agradável convivência e amizade, e também pela troca de experiência a qual me foi muito valiosa.

À Rosana por toda a paciência e disponibilidade nas discussões e organização da tese.

Ao Prof. Dr. Nelson Durán, por toda ajuda e empenho na parte microbiológica deste trabalho.

À Kátia, Maria Alice e ao Ágassi, pela agradável convivência do dia a dia.

Aos amigos Patrício e Marcelo por toda a ajuda e por sempre me incentivarem.

Aos amigos Guerrero e Axé, pela colaboração nas análise de CG/EM.

À amiga Soninha, pela colaboração nas análise de CLAE.

À amiga Cláudia, pelas análise de UV.

À D. Iara e Paula, pela montagem final da tese.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro.

Aos Professores e Funcionários do Instituto de Química da UNICAMP que, direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

O meu muito OBRIGADA.

## RESUMO

### FOTODEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS ORGANOCORADOS AROMÁTICOS: CARACTERIZAÇÃO E TOXICIDADE DE INTERMEDIÁRIOS.

Autora: Sandra Gomes de Moraes

Orientador: Prof. Dr. Wilson de Figueiredo Jardim

A fotodegradação de compostos organoclorados foi investigada na presença de uma suspensão 0,1 % (p/v) de dióxido de titânio como catalisador. Como fonte de irradiação foi utilizada uma lâmpada a vapor de mercúrio de alta pressão imersa num reator de borosilicato.

Vários compostos orgânicos clorados foram estudados: Pentaclorofenol (PCP); 2,3,5-Triclorofenol (2,3,5-TCP); 2,4,6-Triclorofenol (2,4,6-TCP); Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D); 2,4-Diclorofenol (2,4-DCP) e 3,5-Diclorofenol (3,5-DCP). Hidroquinonas e benzoquinonas cloradas foram identificadas como as principais espécies intermediárias formadas durante a fotooxidação catalítica.

O estudo da toxicidade destas espécies intermediárias foi feito através da medida da inibição na respiração da bactéria *Escherichia coli* pelo método FIA-Conducométrico. Foi determinada a toxicidade do composto de partida e também dos compostos formados durante o processo. A toxicidade destes compostos intermediários, em alguns casos, foi maior que a toxicidade do composto de partida.

Para o 3,5-DCP; 2,4-DCP; 2,4-D; 2,4,6-TCP, a mineralização ocorreu num tempo menor que 50 min de fotodegradação, quando presentes numa concentração entre 0,3 a 0,5 mmol.L<sup>-1</sup>. Para os compostos PCP e 2,3,5-TCP, o tempo de mineralização foi de 120 min na mesma faixa de concentração. Os tempos de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) obtidos para os vários compostos durante a fotodegradação das soluções variou em função da concentração inicial.

## ABSTRACT

### Photodegradation of Aromatic Chlorinated Compounds : Toxicity and Characterization of Intermediates

Author : Sandra Gomes de Moraes

Supervisor : Prof. Dr. Wilson de Figueiredo Jardim

The photodegradation of aromatic chlorinated compounds was investigated in the presence of a 0.1 % (w/v) suspension of titanium dioxide as catalyst. A high-pressure mercury lamp immersed in a borosilicate reactor was used as an irradiation source.

Several chlorinated organic compounds such as pentachlorophenol (PCP); 2,3,5-trichlorophenol (2,3,5-TCP); 2,4,6-trichlorophenol (2,4,6-TCP); 2,4-dichlorophenol (2,4-DCP), 3,5-dichlorophenol (3,5-DCP) and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) were studied. Hydroquinone and benzoquinone were the main reaction intermediates identified during the photocatalytic oxidation.

The toxicity study of the intermediate species was carried out monitoring the inhibition in the respiration of *Escherichia coli* by Flow Injection Analysis (FIA). The toxicity of original compounds as well as those of the intermediates formed during photocatalytic process was determined. In some cases, the toxicity of the intermediates compounds was higher than the toxicity of the original compounds.

For 3,5-DCP; 2,4-DCP; 2,4-D and 2,4,6-TCP, at initial concentrations of 0.3 and 0.5 mmol/L mineralization occurred within 250 minutes. For the PCP and 2,3,5-TCP, total mineralization occurred after 360 minutes when in the same concentration range. The half-life time ( $t_{1/2}$ ) obtained for these compounds during the photodegradation of the solutions changed as a function of the initial concentration.

## ÍNDICE

	pág.
<b>Capítulo I : INTRODUÇÃO</b>	
Introdução Geral	1
1 - Processos de Tratamento de Efluentes	5
1.1 - Técnicas Não-Destrutivas	5
1.2 - Técnicas Destrutivas	6
1.2.1 - Processos Oxidativos Avançados (POA)	6
1.2.2 - Fotocatálise Heterogênea	7
1.2.2.1 - Geração de Radicais	10
1.3 - Estudo da Toxicidade em Organismos Vivos	12
1.3.1 - Biodegradação e Toxicidade do Pentaclorofenol	15
1.4 - Objetivos do Trabalho de Pesquisa	16
<b>Capítulo II : PARTE EXPERIMENTAL</b>	
2.1 - Reagentes e Soluções	18
2.1.1 - Reagentes Utilizados para Preparar o Meio de Cultura	18
2.1.2 - Soluções Aquosas Submetidas à Irradiação	18
2.1.3 - Outros Reagentes	18
2.2 - Equipamentos e Acessórios	19
2.3 - Fotodegradação de Compostos Aromáticos Clorados	20
2.4 - Técnicas Instrumentais Utilizadas para Análise	21
2.4.1 - Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	21



2.4.2 - Determinação de Carbono Orgânico Total	23
2.4.3 - Análise por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massa	23
2.4.4 - Análise por Espectrofotometria UV - Visível	24
2.4.5 - Determinação de Dióxido de Carbono Total pelo Sistema de Análise por Injeção em Fluxo Contínuo	24
2.4.5.1 - Padrões de Carbonato	26
2.5 - Teste de Toxicidade Utilizando <i>E.coli</i> ATCC 25922	26
2.5.1 - Meio de Cultura	27
2.5.2 - Procedimento do Teste de Toxicidade	27
2.5.2.1 - Monitoramento de CO <sub>2</sub> por FIA-Conducométrico	27
2.5.2.1.1 - Ciclo da Fermentação da Glicose pela <i>E. coli</i>	28
2.5.2.2 - Monitoramento da Biomassa por Turbidimetria	28
2.5.2.3 - Determinação do Consumo de Oxigênio	29
2.6 - Estudo da Perda da Concentração Inicial do Composto de Partida	29
2.7 - Compostos Aromáticos Clorados Testados	31

### **Capítulo III : RESULTADOS E DISCUSSÃO**

3.1 - Cinética de Destruição de Clorofenóis	33
3.2 - Fotodegradação de Compostos Organoclorados e Toxicidade dos Intermediários de Reação	36
3.2.1 - Pentaclorofenol	36
3.2.2 - 2,3,5-Triclorofenol	47
3.2.3 - 2,4,6-Triclorofenol	50
3.2.4 - Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético	56

3.2.5 - 2,4-Diclorofenol	61
3.2.6 - 3,5-Diclorofenol	65

#### **Capítulo IV : CONCLUSÃO**

4- Conclusão	73
--------------	----

#### **Capítulo V : REFERÊNCIAS**

5- Referências	76
----------------	----

## LISTA DE ABREVIATURAS

2,4-D	Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético
2,4,5-T	Ácido 2,4,5-Triclorofenoxiacético
EPA	Agência de Proteção Ambiental
ATCC	American Type Culture Collection
FIA	Análise por Injeção em Fluxo
PCBs	Bifenils Policlorados
COT	Carbono Orgânico Total
CMI	Concentração Mínima Inibitória
K	Constante de Velocidade
CG/EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
3,5-DCP	3,5-Diclorofenol
2,4-DCP	2,4-Diclorofenol
DDT	Dicloro-Difenil-Tricloroetano
TiO <sub>2</sub>	Dióxido de Titânio
PCP	Pentaclorofenol
POA	Processos Oxidativos Avançados
t <sub>1/2</sub>	Tempo de meia-vida
2,3,5-TCP	2,3,5-Triclorofenol
2,4,6-TCP	2,4,6-Triclorofenol
THM's	Tri-halometanos
Us	Ultrassom
UV	Ultravioleta

**CAPÍTULO I**  
**INTRODUÇÃO**

## 1 - INTRODUÇÃO GERAL

A ação antrópica sobre o meio ambiente é uma das principais responsáveis por alterações na qualidade da água, e a crescente contaminação de águas naturais é um dos maiores problemas da sociedade moderna.

O aumento na produção de resíduos (efluentes) descartados no ambiente físico é preocupante, devido principalmente ao descontrolado desenvolvimento industrial e populacional.

Os esgotos urbanos contribuem principalmente com compostos orgânicos, algumas indústrias com uma série de compostos sintéticos e metais pesados, enquanto que a agricultura é responsável pela presença de pesticidas e excesso de fertilizantes na água.

Estima-se que mais de 2000 produtos clorados e outros halogenados de origem natural são descartados dentro de nossa biosfera por plantas, organismos marinhos, insetos, bactérias, fungos, e mamíferos. Processos enzimáticos, térmicos e outros processos naturais estão constantemente ocorrendo nos oceanos, na atmosfera e solo, o que levam à formação de fenóis e outros produtos clorados. Estes processos naturais têm produzido compostos clorados e têm sido um componente vital para nosso ecossistema. Infelizmente, a liberação de compostos organo-halogenados a partir de fontes naturais soma-se às contribuições antrópicas, gerando, com relativa frequência, situações em que as concentrações de alguns destes compostos excede os níveis permitidos (Gribble, 1994). Ocorrências deste tipo representam um sério risco às comunidades biológicas, incluindo o homem, uma vez que trata-se de compostos químicos de reconhecida ação tóxica.

Poluição ambiental tem sido definida como uma alteração não favorável ao ambiente por efeitos da troca de padrão energético, níveis de radiação, constituição química e física, ou abundância e diversidade de organismos. Os efeitos dos poluentes podem se estender além da região na qual ele foi lançado porque os mesmos são transportados pelo ar ou água. Alguns poluentes são muito persistentes e podem continuar presentes no ambiente muito tempo após seu lançamento. Concentrações baixas de poluentes - muitas vezes menor que uma parte por milhão - podem ser suficientes para produzir detectáveis efeitos adversos. Muitos poluentes são também concentrados biologicamente de modo que suas concentrações na biota pode exceder grandemente sua concentração média no ambiente.

A utilização de compostos orgânicos sintéticos na agricultura data de 1868. O primeiro composto químico usado como um pesticida comercial, foi o Paris green,

também conhecido como acetoarsenito de cobre. Um maior avanço foi feito em 1939, com a descoberta das propriedades inseticidas do Dicloro-Difenil-Tricloroetano (DDT). O DDT foi o primeiro de um número de hidrocarbonetos clorados desenvolvido para ação pesticida. Na segunda guerra mundial o DDT foi usado no controle do tifo e malária. Os herbicidas Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético - 2,4-D ( $C_8H_6O_3Cl_2$ ) e o Ácido 2,4,5-Triclorofenoxiacético - 2,4,5-T ( $C_8H_5O_3Cl_3$ ) também foram descobertos durante a segunda guerra mundial. Os principais herbicidas usados em florestas foram o "agente laranja", uma mistura do 2,4-D e 2,4,5-T e o "agente branco", uma mistura do 2,4-D e picloram. Alguns microrganismos são capazes de utilizar o 2,4-D como sua única fonte de carbono e o mesmo é degradado rapidamente no ambiente (World Health Organization, 1989). Dentre os herbicidas e inseticidas utilizados, os mais comuns são o 2,4-D e o 2,4,5-T que levam de 20 até 300 dias para biodegradarem no ambiente aquático (Porto *et alii*, 1991). Desde 1972, o uso de pesticidas nos EUA tem sido regulado pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA), a qual tem proibido o uso de importantes pesticidas utilizados na agricultura, tais como: DDT, aldrin, dieldrin e compostos mercúricos (Hodges, 1977).

Os pesticidas podem ser classificados de diferentes maneiras: por seu alvo (inseticidas, herbicidas, fungicidas, algicidas, moluscicidas, acaricidas, nematocidas, etc.); por sua natureza química (compostos orgânicos naturais, compostos inorgânicos, organoclorados, organofosforados, carbamatos e outros); por seu estado físico (pó, soluções dissolvidas, suspensão, sólidos voláteis, e outros estados); ou por seu modo de ação no ser humano (veneno estomacal, cutâneo, fulminante, e outros).

Dentre os compostos organoclorados utilizados como pesticidas, maior importância é dada à classe de clorofenóis. Estes são introduzidos no ambiente como produtos da manufatura química, através do uso de biocidas, ou como subproduto de, por exemplo, líquido branqueador da polpa, desinfecção de água ou resultante da incineração de lixo. Além disso, clorofenóis podem ser formados no ambiente como produtos químicos e biológicos decorrentes de outros xenobióticos clorados, tal como, herbicidas clorofenóxidos (Mäklén *et alii*, 1993). Surpreendentemente, muito destes poluentes prioritários e outros clorofenóis são produzidos naturalmente. O fungo do solo *Penicillium sp* produz o 2,4-DCP e certo tipo de gafanhoto secreta 2,5-DCP o qual é repelente para formiga. O feromônio sexual da fêmea *Amblyomma americanum* é o 2,6-DCP. O verme *Ptychodera bahamensis* produz 13 fenóis halogenados incluindo 3,4-DCP e 3,5-DCP (Gribble, 1994).

Os compostos clorofenólicos correspondem a uma grande família de espécies químicas de acentuado caráter tóxico, grande estabilidade em sistemas aquáticos e

difundida utilização agrícola, principalmente como pesticidas, herbicidas e inseticidas. Como consequência, muitos clorofenóis estão presentes na lista de poluentes prioritários elaborada pela EPA.

Muitos estudos têm sido realizados com a finalidade de se avaliar a toxicidade de compostos fenólicos. Estudos biológicos, utilizando bactérias, algas, peixes e roedores, têm mostrado que se trata de espécies químicas tóxicas e capazes de provocar importantes efeitos nocivos na biomassa (Jaworska e Schultz, 1991).

Em bioensaios com ratos, o 2,4,6-Triclorofenol apresentou uma LD<sub>50</sub> (dose letal para 50 % da população) de 820 mg/kg de peso do animal e mostrou-se cancerígeno (composto que provoca o crescimento descontrolado das células). O pentaclorofenol (PCP), também conhecido como pó-da-China, é um possível teratogênico (composto que provoca defeitos congênitos) e é tóxico, apresentando uma LD<sub>50</sub> de 50 mg/kg de peso do animal (Sigma-Aldrich, 1985).

Ruckdeschel e colaboradores (1987) apresentaram resultados da determinação da atividade antibacteriana de clorofenóis. Muitos destes compostos foram encontrados em plantas, animais e seres humanos, como metabólitos do PCP. Produtos da transformação deste e outros produtos da degradação fotoquímica e microbiológica também foram encontrados em solos. A ação bactericida do PCP e de muitos de seus metabólitos foram testados junto à seleção de 30 cepas de várias espécies. A Concentração Mínima Inibitória (CMI em  $\mu\text{mol/mL}$ ) do PCP e de alguns metabólitos para *E.coli* ATCC (American Type Culture Collection) 25922 encontrada pelos autores é apresentada na Tabela I.

O PCP é um dos pesticidas mais amplamente utilizado no controle de insetos, fungos, algas e como agente preservante de madeira e biocida em torres de distribuição de água. Em meados de 1980, em função de seu caráter tóxico, tanto o uso como a produção de PCP foram restritas pela EPA, (Svenson e Kaj, 1989; Larsen *et alii*, 1991; Hoffmann e Mills, 1993; Middaugh *et alii*, 1993). Observa-se pela Tabela I, que o PCP apresenta um acentuado caráter tóxico, o que se torna ainda mais crítico em função da maior toxicidade de alguns dos seus metabólitos.

Frente a este quadro, tornou-se necessário desenvolver tecnologias adequadas para o controle destes contaminantes. Com isto, novas tecnologias de tratamento de águas e efluentes, que destroem ou imobilizam compostos orgânicos tóxicos, vêm sendo direcionadas para estratégias onde o tratamento de poluentes seja o mais efetivo e econômico possível.

Dentro do conjunto de procedimentos concebidos com a intenção de eliminar o risco provocado pela presença de organo-halogenados, destacam-se os processos de

fotomineralização catalítica mediada por semicondutores, processos que tendem a se expandir rapidamente, em função da sua capacidade para a destoxificação de águas e efluentes, onde o produto mineral resultante do processo é inofensivo para o meio ambiente.

O sucesso da degradação fotocatalítica para inseticidas organoclorados e organofosforados impulsiona a realização de estudos futuros, devido a estes compostos serem quimicamente sintetizados e dificilmente degradados por tratamento biológico (Tanaka *et alii*, 1990).

A biodegradação de clorofenóis tem sido minuciosamente estudada. O 2,4-DCP, por exemplo, é rapidamente metabolizado em solos, e um exaustivo estudo mecanístico da degradação deste composto a cloreto e CO<sub>2</sub> pelo fungo *Chrysosporium sp* tem sido relatado. Este versátil e notável fungo é capaz de degradar outros fenóis clorados, como DDT, pentaclorofenol e PCBs. Muitas pesquisas mostram que a maioria dos compostos fenólicos halogenados encontrados em águas oceânicas e extratos de solo (ex. 2,4,6-TCP), são de origem biogênica, produto dos processos de halogenação natural como consequência da reação entre ácido húmico e micróbios presentes no solo (Gribble, 1994).

Tabela I - CMI ( $\mu\text{mol.mL}^{-1}$ ) do Pentaclorofenol e de Alguns Metabólitos para *E.coli* ATCC 25922

COMPOSTO	CMI ( $\mu\text{mol.mL}^{-1}$ )
PCP	1
2,4-Diclorofenol	1
3,5-Diclorofenol	0,062
2,3,5-Triclorofenol	0,25
2,4,6-Triclorofenol	4
2,3,5,6-Tetraclorofenol	1
2,3,5,6-Tetracloro-1,4-Hidroquinona	4
2,4,5,6-Tetracloro-1,3-Hidroquinona	4
3,4,5,6-Tetracloro-1,2-Hidroquinona	1



## 1 - PROCESSOS DE TRATAMENTO DE EFLUENTES

As tecnologias desenvolvidas com o objetivo de tratar águas e efluentes industriais contendo compostos orgânicos tóxicos, estão fundamentadas em dois princípios básicos. O primeiro corresponde a um conjunto de técnicas não-destrutivas que permitem eliminar os compostos tóxicos por transferência e imobilização em solventes adequados, enquanto que o segundo permite a destruição destas espécies, atingindo, em condições otimizadas, sua completa mineralização.

### 1.1 - TÉCNICAS NÃO-DESTRUTIVAS

Alguns dos processos utilizados em tratamento de rejeitos industriais para a remoção de contaminantes orgânicos incluem a adsorção em carbono ativado e "air stripping". A adsorção em carbono ativado é um processo de separação sólido-líquido, cujas aplicações envolvem controle de gosto e odor, além da remoção de compostos orgânicos específicos tais como organoclorados e aromáticos. Embora o carbono ativado apresente boa capacidade de adsorção para aromáticos halogenados, a frequente necessidade de reativação do carbono pode tornar este processo caro e inconveniente. "Air-stripping" é um processo de separação líquido-gás, eficiente para a remoção de compostos orgânicos voláteis (Alberici, 1992).

Embora eficientes e bastante utilizados, estes processos apresentam uma grande desvantagem: os contaminantes são apenas transferidos de uma fase para outra (Suri *et alii*, 1993). Procedimentos deste tipo solucionam os problemas de tratamento, mas criam a inconveniente necessidade de armazenar ou tratar estas novas fases em que os contaminantes encontram-se concentrados.

## 1.2 - TÉCNICAS DESTRUTIVAS

Os processos destrutivos fundamentam-se na oxidação ou redução dos compostos orgânicos de interesse, visando a sua completa destruição.

As tecnologias destrutivas em uso atualmente, tal como cloração, ozonização e UV-ozonização para tratamento de águas potáveis e efluentes utilizam oxidantes fortes e perigosos, e, portanto, indesejáveis para a natureza (Mills *et alii*, 1993), também são formados subprodutos tóxicos como os tri-halometanos (THM's). Processos biológicos onde se utiliza microrganismos específicos ou consórcio de microrganismos são muito utilizados, mas apresentam desvantagem, o tempo de degradação é muito longo.

Em função deste fato, novos métodos de purificação têm sido desenvolvidos. Estes métodos, chamados de processos oxidativos avançados (POA), têm recebido grande atenção por serem capazes de converter poluentes em espécies químicas inócuas sem a utilização de agentes agressivos.

### 1.2.1 - Processos Oxidativos Avançados (POA)

Os POA são definidos como processos de oxidação onde radicais hidroxila ( $\text{OH}\cdot$ ) são gerados em quantidade suficiente para atuarem como principais agentes oxidantes.

Muitos sistemas são qualificados dentro desta ampla definição de POA. Dentre estes destacam-se a radiólise, a fotólise homogênea e a fotólise heterogênea. A maioria destes sistemas usam a combinação de oxidantes fortes, tais como  $\text{O}_3$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; catalisador, metal de transição ou fotocatalisadores; irradiação ultravioleta (UV), ultrassom (us). A Tabela II lista os sistemas típicos dos POA atualmente encontrado na literatura (Huang *et alii*, (1993), Matthews, 1992).

No processo da radiólise, utiliza-se uma fonte de radiação de alta energia (raios gama, raios X) para gerar as espécies reativas responsáveis pela degradação do composto orgânico. Este método não é aplicado em escala técnica devido ao seu alto custo energético.

O potencial de destruição de hidrocarbonetos halogenados por fotólise homogênea foi recentemente demonstrado (Ku e Ho, 1990). A associação UV/ $\text{H}_2\text{O}_2$  e UV/ $\text{O}_3$  é bastante atrativa, mas apresenta algumas desvantagens, tais como a alta concentração de

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na água tratada (imprópria ao consumo humano) e o alto custo na produção de O<sub>3</sub> (Alberici, 1992).

Tabela II - Alguns exemplos de POA.

Sistemas Homogêneos	Sistemas Heterogêneos
<b>Com Irradiação</b>	<b>Com Irradiação</b>
O <sub>3</sub> / ultravioleta (uv) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / uv feixe de elétrons ultrassom (us) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / us uv / us	TiO <sub>2</sub> / O <sub>2</sub> / ultravioleta (uv) TiO <sub>2</sub> / H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / ultravioleta (uv)
<b>Sem Irradiação</b>	<b>Sem Irradiação</b>
O <sub>3</sub> / H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> O <sub>3</sub> / OH <sup>-</sup> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / Fe <sup>2+</sup>	Elétron - Fenton

### 1.2.2 - FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA

Processos oxidativos usando um semicondutor combinado com a radiação UV têm proporcionado, com sucesso, a destruição de muitos poluentes presentes em águas e efluentes. O semicondutor que tem atraído muita atenção para mediar a fotomineralização de compostos orgânicos é o dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>). Este composto apresenta boa

estabilidade química sobre uma grande faixa de pH, é barato, insolúvel, fotoestável, não tóxico, pode ser suportado como um filme fino sob um suporte sólido e pode ser ativado pela luz solar (Alberici e Jardim, 1994).

O  $\text{TiO}_2$  pode ser encontrado em três modificações cristalinas: anatase, brookite e rutilo. As três formas ocorrem naturalmente. O rutilo é a forma mais comum de ser encontrada. Todas podem ser preparadas sinteticamente. Dados cristalográficos mostram que em todas elas o átomo de Titânio está coordenado octaedricamente por seis átomos de oxigênio equidistantes, e cada átomo de oxigênio por três átomos de Titânio. O rutilo e a anatase possuem estrutura tetragonal e o brookite ortorrômbica (Alberici, 1992). Na Tabela III são apresentadas algumas propriedades físicas do semicondutor  $\text{TiO}_2$ .

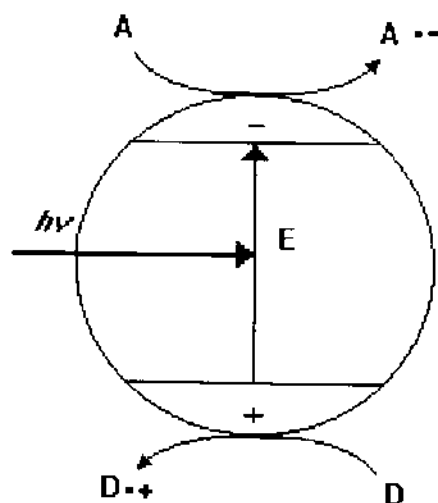
Embora o  $\text{TiO}_2$ , possa ser encontrado comercialmente sob várias marcas, o Degussa P25 tem sua natureza bem definida (predominantemente na forma Anatase, não poroso, área superficial (BET)  $(55 \pm 15) \text{ m}^2/\text{g}$ , tamanho médio da partícula de 30 nm e substancial atividade fotocatalítica por unidade de massa) (Mills *et alii*, 1993).

Tabela III - Propriedades físicas das formas alotrópicas do  $\text{TiO}_2$ .

PROPRIEDADES	ANATASE	BROOKITE	RUTILO
Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	3,9	4,13	4,27
P. de Fusão (°C)	muda para rutilo	muda para rutilo	1855
Dureza (Esc. Mohs)	5,5 - 6,0	5,5 - 6,0	7,0 - 7,5
Energia da banda gap (eV)	3,2	-	3,0

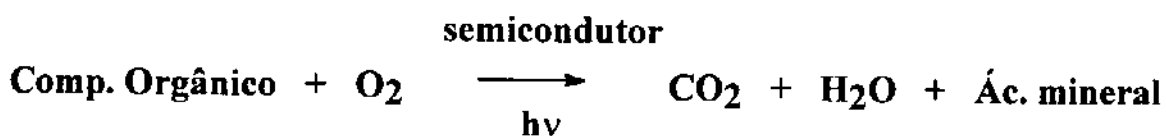
Tanto a forma anatase como rutilo são ativas em reações fotocatalíticas. Mesmo apresentando energias da banda gap similares, a forma anatase apresenta uma maior atividade fotocatalítica. É possível que a baixa atividade fotocatalítica do rutilo esteja associada a alta taxa de recombinação elétrons-lacuna e a baixa capacidade de adsorção de oxigênio ( Matthews, 1991).

Processos fotocatalíticos envolvem transferência de carga e energia. A Figura 1 mostra o desenho que é frequentemente utilizado para ilustrar processos fotocatalíticos (Wolff *et alii*, 1991). Fótons podem ativar uma partícula de semicondutor e causar transição eletrônica da banda de valência (bv) para a banda de condução (bc), gerando lacunas na banda de valência ( $h^+$ ). Estes elétrons e lacunas, então, migram para a superfície da partícula e ficam envolvidos em reações redox ou recombinam-se e simplesmente liberam calor. Elétrons da banda de condução são consumidos em reações de redução, enquanto lacunas são preenchidas na oxidação de compostos orgânicos (Prairie *et alii*, 1993).



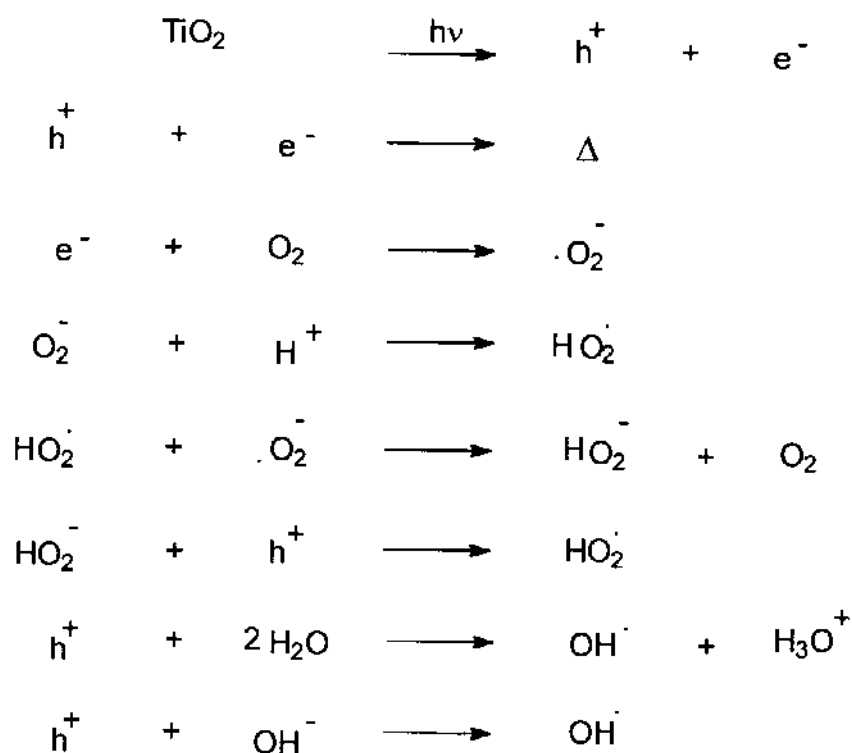
**Figura 1** - Representação esquemática da geração elétron/lacuna na superfície do semicondutor empregado como fotocatalisador, onde A é a espécie receptora e D é a espécie doadora de elétrons.

\* Esquema geral da fotodegradação de compostos orgânicos utilizando  $TiO_2$  como semicondutor.



### 1.2.2.1 - Geração de Radicais

Acredita-se que o passo inicial nas oxidações fotocatalisadas por  $\text{TiO}_2$  seja a formação de radicais hidroxila e íons superóxido,



onde  $\text{h}^+$  é a lacuna gerada na banda de valência e  $\Delta$  representa a energia decorrente da recombinação do par elétron/lacuna.

Ambos  $\text{h}^+$  e  $\text{OH}^\cdot$  são as espécies radicais oxidantes responsáveis pelo ataque inicial sobre as moléculas orgânicas (Gary *et alii*, 1991).

Na fotocatalise, o catalisador é ativado por um fóton na região do UV-próximo. A Tabela IV apresenta as energias da banda gap e os comprimentos de onda correspondentes, para alguns semicondutores comuns (Alberici, 1992).

Tabela IV - Alguns semicondutores e suas energias da banda gap (pH=0) e correspondentes comprimentos de onda

SEMICONDUCTORES	BANDA GAP (eV)	$\lambda$ (nm)
TiO <sub>2</sub>	3,2	388
ZnO	3,2	388
CdS	2,4	516
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	2,3	539
WO <sub>3</sub>	2,8	443
CdSe	1,7	729

A geração de radicais hidroxila pode se dar pela oxidação da água na banda de valência do TiO<sub>2</sub>. É necessário a presença de um receptor de elétron (geralmente O<sub>2</sub>) em suspensão aquosa de TiO<sub>2</sub> à temperatura ambiente para impedir a recombinação elétron/lacuna e assim permitir a sucessiva geração de radicais hidroxila (Brezová *et alii*, 1991). Para aumentar a eficiência na geração do radical OH· têm-se realizado estudos que consistem do uso de oxidantes auxiliares, tais como H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, WO<sub>3</sub>, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Tanaka *et alii*, 1990).

A completa mineralização de uma variedade de hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos clorados via fotocatalise heterogênea sob TiO<sub>2</sub> tem sido muito estudada (Hoffmann e Mills, (1993), Manilal *et alii*, (1992), Huang e Tseng, (1991), Matthews, (1990), Pelizzetti *et alii*, 1990). Os resultados experimentais indicam a quase completa oxidação de muitos compostos orgânicos para dióxido de carbono. A formação de CO<sub>2</sub> é de grande significância no tratamento de águas porque evidencia a destruição total de compostos orgânicos. Uma vez que é possível a formação de intermediários parcialmente oxidados ou de produtos que podem ser mais tóxicos que o poluente original, o

desaparecimento dos compostos orgânicos e a formação de CO<sub>2</sub> é esperada para comprovar a mineralização do composto (Hsieh *et alii*, 1992).

Pesquisas feitas por Mills e colaboradores (1993), revelaram evidências da formação de inúmeros intermediários antes do processo de mineralização ser finalizado. Resultados obtidos na fotomineralização de 4-clorofenol catalisada por TiO<sub>2</sub>, foram relatados num estudo detalhado dos intermediários formados durante o processo.

É possível atingir a completa mineralização quando fatores como a intensidade luminosa, tipo de catalisador e sua fotoatividade, geometria do reator, mudança nas condições do processo tal como pH, e a adição de oxidantes como peróxido, são otimizados (Ollis *et alii*, 1991). Os produtos da degradação incompleta podem ser suficientemente inócuos ou ainda estarem presentes em concentrações onde seja permitido o descarte para futuros tratamentos biológicos. Entretanto, é muito difícil identificar todos os produtos intermediários rumo à completa mineralização (Manilal *et alii*, 1992). Muitos estudos têm sido feitos sobre a fotodegradação de várias classes de compostos orgânicos, especialmente poluentes, com a finalidade de identificar as espécies intermediárias formadas durante o processo de degradação. Para alguns sistemas, foram identificados produtos intermediários da reação e mecanismos foram propostos. Hoffmann e Mills (1993) e Wong e Crosby (1981) propuseram e discutiram mecanismos via radical livre para a destruição do pentaclorofenol.

A oxidação fotocatalítica é considerada um processo promissor para a descontaminação de poluentes orgânicos tóxicos. Este processo tem potencial aplicação no tratamento de águas e esgotos. A técnica apresenta a vantagem de permitir eficiente degradação de uma variedade de compostos orgânicos, utilizando pequenas quantidades de catalisador (TiO<sub>2</sub>). A possibilidade de reutilizar o catalisador e substituir a radiação artificial por luz solar faz com que o processo se torne mais econômico, e portanto, viável para aplicações a nível industrial.

### 1.3 - ESTUDO DA TOXICIDADE EM ORGANISMOS VIVOS

Os testes de toxicidade com organismos aquáticos têm sido utilizados desde a década de 40 para prever o impacto do lançamento de agentes tóxicos em recursos hídricos. Ao longo dos anos 70, alguns pesquisadores nos Estados Unidos e na Inglaterra



observaram que as concentrações estabelecidas para os diversos agentes tóxicos isoladamente poderiam não preservar, efetivamente, a qualidade da água necessária para a manutenção da vida aquática devido à mistura desses agentes. Isto tornou-se mais evidente ao estabelecer padrões de emissão para efluentes industriais e domésticos que, geralmente, contém um grande número de agentes químicos potencialmente tóxicos (Bertoletti, 1990).

Partindo dessas observações, e através dos testes de toxicidade e análises químicas, vários pesquisadores intensificaram os estudos para identificação das possíveis interações entre os agentes tóxicos presentes em efluentes e seus efeitos sobre a biota. A toxicidade química para uma bactéria pode também ser usada para estimar a toxicidade de outra bactéria ou para organismos mais resistentes, tal como peixes (Blum e Speece, 1991). Determinações preliminares de toxicidade baseadas em testes com bactérias podem ser vantajosas em relação aos testes com organismos mais resistentes pelo fato de serem significativamente mais baratos e consumirem menos tempo.

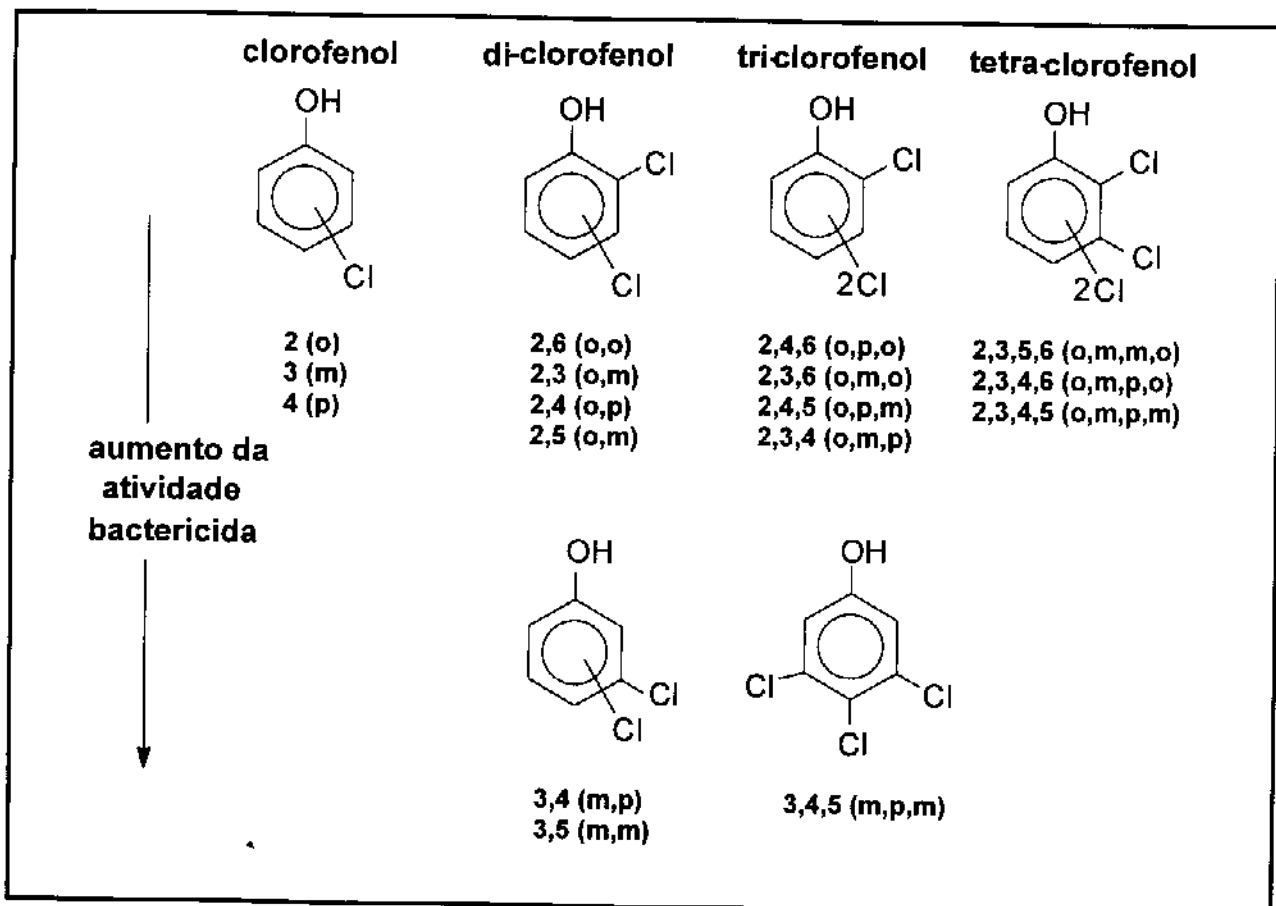
Segundo Bertoletti (1990), no Brasil o controle de efluentes industriais com a finalidade de reduzir os teores de substâncias tóxicas nos recursos hídricos tem se baseado, predominantemente, nas análises químicas desses descartes, tendo como referência os padrões numéricos de emissão. Durante anos as estimativas da toxicidade através de análises químicas foram insatisfatórias.

Devido à crescente utilização dos testes de toxicidade com organismos vivos para controle da poluição, é importante correlacionar os seus resultados com os das análises químicas normalmente utilizadas na caracterização de efluentes industriais complexos. No estudo feito por Bertoletti (1990), foi constatado que uma estimativa da toxicidade através de análises químicas de substâncias isoladas pode fornecer dados imprecisos sobre o efeito tóxico de misturas complexas, tais como efluentes industriais, sobre organismos aquáticos.

De acordo com Mäklnem e colaboradores (1993), a biodegradabilidade de clorofenóis é bem conhecida. Portanto, a biorremediação é uma alternativa atrativa tanto quando da aplicação do tratamento "in situ" quanto em meio aquoso. Os autores observaram que a sensibilidade da bactéria frente a clorofenóis varia acentuadamente para clorofenóis semelhantes, assim como entre as espécies de bactérias. A Figura 2 indica a conexão entre atividade antibacteriana de monoclorofenóis e as posições dos átomos de cloro no anel. A ordem de atividade antibacteriana para os 3 isômeros de clorofenol aumenta de orto-(o) < meta-(m) < para-(p). A correlação o < m < p é também encontrada para os isômeros di, tri e tetraclorofenóis (Ruckdeschel *et alii*, 1987). Desta forma os

processos de tratamento biológico necessitam ser cuidadosamente monitorados para prevenir efeitos tóxicos sobre os micróbios responsáveis pela degradação.

Muitos testes microbiológicos estão sendo usados para avaliar a toxicidade e/ou tratabilidade biológica. Estes incluem testes respirométricos, os quais medem o efeito de um agente tóxico ou resíduo (esgoto) através do oxigênio liberado pelo teste de culturas puras ou misturadas. Em outros ensaios, a função da inibição microbiana pela nitrificação por *Nitrobacter* ou pela perda da mobilidade do *Spirillum volutans* tem sido usada como indicador para toxicidade. Um outro indicador para toxicidade é a bioluminescência onde ocorre a inibição da emissão de luz pela bactéria *Photobacterium Phosphoreum*.



**Figura 2** - Correlação entre atividade bactericida e as posições dos átomos de cloro no anel (Ruckdeschel *et alii*, 1987).

### 1.3.1 - Biodegradação e Toxicidade do Pentaclorofenol

Os produtos da biodegradação do PCP pertencem à classe de fenóis clorados, anisóis, benzenodióis, metoxifenóis, dimetoxibenzeno, benzoquinonas e fenil acetato. Estas substâncias podem também desempenhar o papel na ação antibacteriana do PCP.

Middaugh e colaboradores (1993), estudaram a biodegradação de PCP através de uma bactéria gram negativa, *Pseudomonas sp* linhagem SR3, que foi isolada do solo. A habilidade desta bactéria para degradar PCP foi confirmada pelo crescimento de células num meio basal salino no qual o PCP foi a única fonte de carbono e energia. A degradação de uma concentração inicial de 39-40  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para 0,0006  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  foi observada com 120 h de incubação de células de *Pseudomonas sp* na presença de PCP. Teste de toxicidade utilizando o Microtox, revelou que inicialmente as soluções aquosas foram tóxicas, e que no final a amostra biodegradada não apresentou toxicidade nenhuma. Os autores também realizaram bioensaios com embriões de *Menidia beryllina*, com o objetivo de confirmar a toxicidade indicada pelo teste Microtox e verificaram que a amostra biodegradada foi embriotóxica ou teratogênica. Os resultados mostraram que enquanto a biodegradação não foi completa, metabólitos intermediários do processo de degradação foram tóxicos ou teratogênicos. O bioensaio com *M. beryllina* permite uma avaliação extremamente sensível da toxicidade associada a poluentes ambientais biodegradados e pode ser um critério usual para determinar se a água ou solo biorremediados são seguros para a descarga no ambiente.

#### 1.4 - OBJETIVOS DO TRABALHO DE PESQUISA

O objetivo deste trabalho de pesquisa é verificar a eficiência da destruição de compostos organoclorados, através de um sistema de fotodegradação utilizando  $\text{TiO}_2$  como catalisador. Partindo-se da fotodegradação destes compostos, procurou-se identificar as espécies intermediárias formadas durante o processo e fez-se um estudo da toxicidade das mesmas através de testes biológicos utilizando como organismo teste a bactéria *Escherichia coli*.

Os compostos escolhidos para a realização deste estudo foram: Pentaclorofenol (PCP), 2,4-Diclorofenol (2,4-DCP), 3,5-Diclorofenol (3,5-DCP), 2,3,5-Triclorofenol (2,3,5-TCP), 2,4,6-Triclorofenol (2,4,6-TCP) e o Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D), que correspondem a espécies bastante representativas da família dos organoclorados, mostrando elevada toxidez e extensa utilização como pesticidas.

## **CAPÍTULO II**

### **PARTE EXPERIMENTAL**

## 2.1 - REAGENTES E SOLUÇÕES

### 2.1.1 - REAGENTES UTILIZADOS PARA PREPARAR O MEIO DE CULTURA PARA O CRESCIMENTO DA BACTÉRIA *E. coli* ATCC 25922

- Fosfato de Potássio Monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) SYNTH.
- Fosfato de Potássio Dibásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) SYNTH.
- Citrato de Sódio ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) CETUS.
- Sulfato de Amônio ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) Ecibra.
- Sulfato de Magnésio ( $\text{MgSO}_4$ ) Fisher Scientific Company.
- D(+)- Glucose Anidra pa. ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ) Vetec.

### 2.1.2 - SOLUÇÕES AQUOSAS DOS COMPOSTOS QUE FORAM SUBMETIDOS À IRRADIAÇÃO

- Pentaclorofenol ( $\text{C}_6\text{HOC}_5$ ) Aldrich
- 2,4-Diclorofenol ( $\text{C}_6\text{H}_4\text{OC}_2$ ) Chem. Service
- 3,5-Diclorofenol ( $\text{C}_6\text{H}_4\text{OC}_2$ ) Aldrich
- 2,3,5-Triclorofenol ( $\text{C}_6\text{H}_3\text{OC}_3$ ) Aldrich
- 2,4,6-Triclorofenol ( $\text{C}_6\text{H}_3\text{OC}_3$ ) Aldrich
- Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético ( $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_3\text{Cl}_2$ ) Poly Science Corp. Evanston III

### 2.1.3 - OUTROS REAGENTES

- Hidróxido de Sódio ( $\text{NaOH}$ ) Merck.
- Ácido Sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) Merck.
- Solução estoque de Carbonato de Sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 0,1 M.
- Diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) Merck.

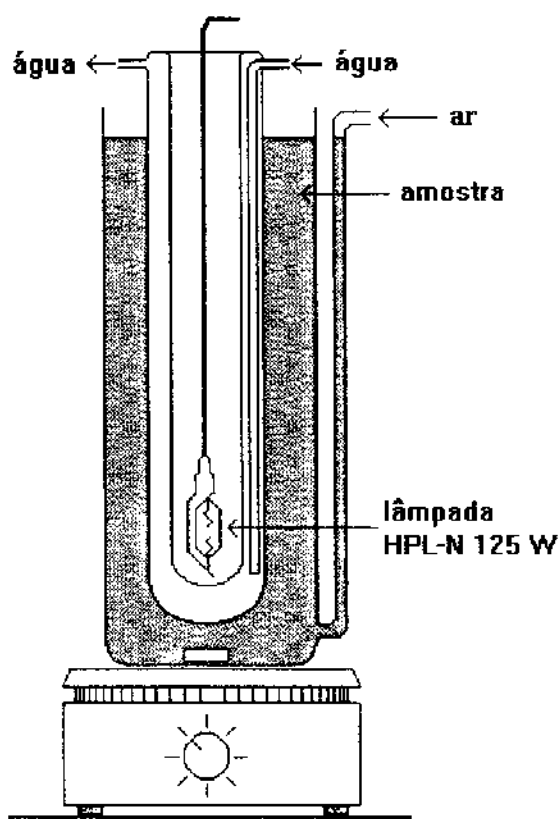
- Álcool Metílico para HPLC (CH<sub>3</sub>OH) Carlo Erba.
- Éter Etilico (C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O) Merck.
- Dióxido de Titânio (TiO<sub>2</sub> - Anatase) Degussa AGP (25)

## 2.2 - EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS

- Analisador de Carbono Orgânico Total Shimadzu TOC-5000.
- pHmetro PROCYON digital, modelo PHD-10.
- Eletrodo de vidro combinado Orion, modelo 8104-Ross.
- Bomba peristáltica Ismatec, modelo IPS-12.
- Condutivímetro Digimed, modelo CD-20.
- Registrador ECB, modelo RB-201.
- Lâmpadas a vapor de mercúrio de alta pressão (125W)GE.
- Banho Maria, modelo 100 - Fanem.
- Micropipetas (20-1000 ul) Merck.
- Reator de Vidro para Fotólise.
- Cromatógrafo Líquido Varian- Detector UV-VIs modelo 9050; Bomba modelo 9010
- Cromatógrafo Gasoso modelo HP 5890.
- Detector de massa seletiva modelo HP 5970.
- Microcomputador HP
- Espectrofotômetro DMS-100 Varian.
- Oxígrafo YSI 5331 Oxigen Probe, Yellow Springs.
- Coluna C18 MCH 10 Varian para HPLC (4 mm x 30 cm), tamanho da partícula: 10µm.
- Injetor Rheodyne, volume 10 µl.
- Coluna para CG/EM HP ultra 1 (25 m x 0,2 m x 0,33 mm) metil siloxano.
- Coluna de resina mista, Merck.
- Comutador e cela de difusão.
- Cela de Condutividade
- Membrana de Teflon PTFE Thread Scalant Tape 1/2"x 520".
- Membrana filtrante ME24 0,2 µm e 47 mm de diâmetro.
- Potenciômetro DIGIMED, modelo DMPH - 3.
- Microseringa para HPLC (25µl) Sigma.
- Bomba de vácuo primar, tipo 2vc, modelo 141.

### 2.3 - FOTODEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS AROMÁTICOS CLORADOS

Os compostos foram irradiados em um reator típico de vidro mostrado na Figura 3. O sistema é composto de uma lâmpada à vapor de mercúrio de alta pressão de 125 W de potência, com bulbo removido. Esta é introduzida na solução através da camisa interna do reator, que também é utilizada para a refrigeração ( Kondo, 1990). O recipiente que contém a amostra apresenta uma entrada para borbulhamento de ar.



**Figura 3** - Reator utilizado nos experimentos de fotodegradação. Volume de amostra no reator: 800 mL; vazão de ar: 560 mL.min<sup>-1</sup>.

Antes de iniciar a irradiação adicionou-se 0,1% (p/v) do catalisador TiO<sub>2</sub>, formando assim, uma suspensão aquosa. Utilizou-se esta percentagem de TiO<sub>2</sub> em todos



os experimentos de fotocatalise, a qual foi determinada através de testes preliminares. Os clorofenóis foram irradiados em intervalos de tempo variados, sob borbulhamento constante de ar numa vazão de 560 mL/min e agitação. O volume da solução colocada no reator foi de 800 mL. As alíquotas (20 mL) após retiradas do reator em tempos pré-determinados, foram filtradas em membranas de 0,2 µm de porosidade.

Foram feitos testes para verificar se ocorriam perdas do composto orgânico de partida para a atmosfera, assim como por adsorção sobre a superfície do TiO<sub>2</sub>. Estes testes foram realizados utilizando o composto 2,3,5-TCP (0,2 mmol.L<sup>-1</sup>) na ausência de luz, com e sem borbulhamento de ar e na presença de TiO<sub>2</sub>.

O monitoramento da fotodegradação dos compostos organoclorados foi realizado quantificando-se o Carbono Orgânico Total (COT) bem como por análise em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Posteriormente, foram realizados testes de respiração bacteriana através de ensaios utilizando *E.coli* ATCC 25922 como organismo teste e análise por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa (CG/EM) para identificação de possíveis intermediários formados.

Todas as soluções foram irradiadas em pH na faixa de 6,0 a 7,5. Soluções que apresentavam valores de pH superiores a 7,5, como por exemplo a solução de PCP, sofreram ajuste de pH.

## 2.4 - TÉCNICAS INSTRUMENTAIS UTILIZADAS PARA ANÁLISE

### 2.4.1 - Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A cromatografia é uma técnica que permite separar, isolar e identificar os componentes de uma mistura de espécies químicas. A amostra é distribuída entre duas fases, uma estacionária e outra móvel, de tal forma que cada um dos componentes da mistura é seletivamente retido pela fase estacionária.

A cromatografia líquida é em essência uma técnica de separação e não de identificação. A obtenção de informações do tipo qualitativo, em geral, envolve a utilização de técnicas auxiliares. Identificação segura somente pode ser conseguida com a utilização de por exemplo, espectrometria de massa, ressonância magnética nuclear, etc.

No que diz respeito à problemas relacionados com o monitoramento ambiental, a técnica é bastante utilizada na determinação de poluentes aquosos, tais como pesticidas, inseticidas, larvicidas, herbicidas, etc. (McNair e Esquivel, 1973). A principal vantagem desta técnica é a possibilidade de injeção direta da amostra em meio aquoso, sem a necessidade de qualquer processo de extração. As condições para análise em CLAE utilizadas diferem de um composto para outro e são descritas na Tabela V. A quantidade de amostra injetada foi de 10 µL. A mistura metanol - água, usada como fase móvel, foi previamente desgaseificada num ultrassom, a melhor proporção de fase móvel foi determinada através do aumento do fator de retenção, ou seja, diminuindo a força da fase móvel (aumento da concentração da água). Com o objetivo de tornar a análise mais rápida, utilizou-se o fluxo maior que o ótimo, uma vez que não houve perda de resolução e nenhum aumento excessivo da pressão. Para a quantificação de cada composto foi realizada a construção de uma curva de calibração. Todas as amostras foram filtradas antes da injeção.

Tabela V - Condições de fase móvel, vazão e detecção utilizadas para os diferentes compostos.

<p><b>2.4.1 - Pentaclorofenol</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>. Fase móvel - 95% metanol / 5% água</li> <li>. Vazão da fase móvel - 1,2 mL / min.</li> <li>. Detecção - 254 nm.</li> </ul>	<p><b>2.4.2 - 2,4-Diclorofenol</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>. Fase móvel - 80% metanol / 20% água</li> <li>. Vazão da fase móvel - 1,2 mL / min.</li> <li>. Detecção - 284 nm.</li> </ul>
<p><b>2.4.3 - 3,5-Diclorofenol</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>. Fase móvel - 90% metanol / 10% água</li> <li>. Vazão da fase móvel - 2,0 mL / min.</li> <li>. Detecção - 280 nm.</li> </ul>	<p><b>2.4.4 - 2,4,6-Triclorofenol</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>. Fase móvel - 85% metanol / 15% água</li> <li>. Vazão da fase móvel - 1,0 mL / min.</li> <li>. Detecção - 220 nm.</li> </ul>
<p><b>2.4.5 - 2,3,5-Triclorofenol</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>. Fase móvel - 85% metanol / 15% água</li> <li>. Vazão da fase móvel - 1,0 mL / min.</li> <li>. Detecção - 220 nm.</li> </ul>	<p><b>2.4.6 - 2,4-D</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>. Fase móvel - 70% metanol / 30% água</li> <li>. Vazão da fase móvel - 1,0 mL / min.</li> <li>. Detecção - 280 nm.</li> </ul>

#### 2.4.2 - Determinação de Carbono Orgânico Total

O carbono orgânico presente em águas e esgotos é formado por uma variedade de compostos orgânicos em vários estados de oxidação. Para determinar a quantidade de carbono orgânico, as moléculas orgânicas podem ser quebradas para unidades de carbono simples e convertida para uma forma molecular única, que pode ser medida quantitativamente. Métodos de medida COT utilizam calor e oxigênio, irradiação ultravioleta, oxidantes químicos, ou combinações destes oxidantes para converter carbono orgânico em dióxido de carbono. O  $\text{CO}_2$  pode ser medido diretamente por um analisador de infravermelho não-dispersivo, ou ser titulado quimicamente, ou pode ser ainda reduzido para metano e medido com um detector de ionização em chama. No analisador de Carbono Orgânico Total utilizado neste trabalho a determinação de CT é feita através do método de oxidação com aquecimento ( $680^\circ\text{C}$ ), catalisada por platina adsorvida em óxido de alumínio. A quantificação do Carbono Orgânico Total (COT) se dá por meio de um analisador infravermelho não-dispersivo. O Carbono Inorgânico da amostra é convertido a  $\text{CO}_2$  quando o mesmo reage com a solução acidificada pelo reagente para determinação de carbono inorgânico. A quantificação se dá de maneira semelhante ao CT. O Carbono Orgânico Total é determinado por diferença.

#### 2.4.3 - Análise por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massa (CG/EM)

A cromatografia não é uma técnica apropriada para análise qualitativa. Assim, ela é frequentemente combinada com outros métodos. A combinação mais bem sucedida tem sido a cromatografia gasosa (CG) com espectrometria de massa (EM). A CG é habilitada para separação de materiais e EM é habilitada para identificação. Estas técnicas fazem a combinação única das mais poderosas técnicas analíticas avaliadas hoje (Miller, 1988).

- Condições analíticas utilizadas nos experimentos :

a) coluna ultra-1 (25 m x 0,2 mm de diâmetro interno)

b) temperatura programada - rampa de  $100^\circ\text{C}$  até  $250^\circ\text{C}$  em  $10^\circ\text{C} / \text{min}$ .

- c) temperatura do injetor - 250°C
- d) temperatura da interface - 280°C
- e) gás de arraste - He
- f) volume injetado - 0,5 µL
- g) faixa de massa - 33 a 400 g
- h) modo de varredura - SCAN

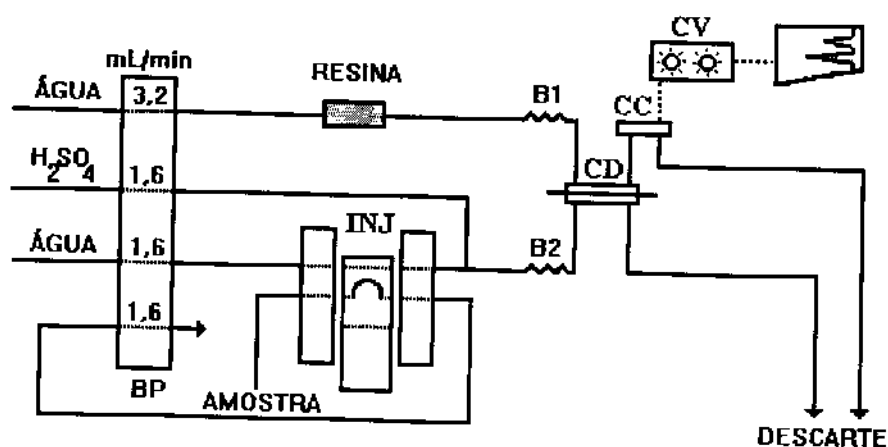
Diclorometano e éter etílico foram utilizados como solventes para extrair os compostos orgânicos da solução aquosa. Um volume de amostra de 50 mL foi extraído 3 vezes com um volume de 10 mL do solvente adequado ao composto em estudo.

#### **2.4.4 - Análise por Espectrofotometria UV - VISÍVEL**

A análise foi feita no comprimento de onda de máxima absorção para cada composto orgânico fotodegradado. Também foi feita leitura fazendo uma varredura cuja faixa de comprimento de onda foi de 190 a 400 nm. As amostras analisadas foram retiradas em diferentes tempos de irradiação.

#### **2.4.5 - Determinação de Dióxido de Carbono Total pelo Sistema de Análise por Injeção em Fluxo Contínuo nos Testes de Toxicidade**

O procedimento experimental utilizado na determinação de CO<sub>2</sub> foi baseado no trabalho de Guimarães (1990). O esquema do sistema FIA condutométrico é mostrado na Figura 4.

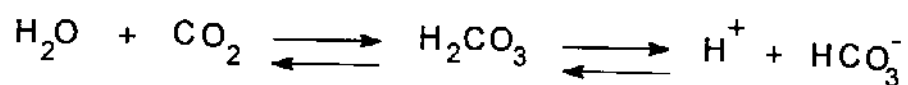


**Figura 4** - Esquema do funcionamento do sistema FIA-Conducométrico. CD - célula de difusão; CC - célula de condutividade; CV - condutivímetro; BP - bomba peristáltica.

Neste procedimento, um volume determinado da amostra ( $135 \mu\text{L}$ ) contendo as espécies carbônicas ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^-$  e  $\text{CO}_3^{2-}$ ) é injetado num fluxo carregador (água deionizada) o qual conflui com outro fluxo de ácido sulfúrico diluído ( $0.2 \text{ mol.L}^{-1}$ ). O meio ácido favorece o equilíbrio no sentido da formação do  $\text{CO}_2$  (equação I).

O gás formado ( $\text{CO}_2$ ), no meio ácido, ao passar pela cela de difusão, permeia por uma membrana de teflon e atinge um fluxo de água deionizada, deslocando o equilíbrio para a formação dos íons bicarbonato e carbonato. A condutividade deste fluido que vinha sendo monitorado constantemente, é então alterada devido ao  $\text{CO}_2$  presente na amostra. A mudança na condutância é proporcional à concentração total de  $\text{CO}_2$  presente na amostra.

### Equação I



#### 2.4.5.1 - Padrões de Carbonato

Os padrões de carbonato foram obtidos a partir da diluição de uma solução estoque de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ( $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$ ). O carbonato de sódio foi previamente aquecido a  $300^\circ\text{C}$  por 1 hora e colocado em dessecador para resfriar até temperatura ambiente. Pesou-se uma quantidade suficiente do sal para a concentração desejada e diluiu-se com água destilada em balão volumétrico. A solução foi transferida para um frasco de polietileno e fechado imediatamente para evitar absorção do  $\text{CO}_2$  do ar. A retirada de alíquotas para preparação de padrões foi feita sem o contato com o ar.

## 2.5 - TESTE DE TOXICIDADE

Testes de toxicidade são baseados no uso de material vivo para definir a natureza e o grau de efeitos nocivos produzido por agentes tóxicos. Estes testes são utilizados no gerenciamento de águas naturais e no controle de águas poluídas.

Os organismos comumente utilizados em testes de toxicidade são algumas espécies de peixes, moluscos, insetos, plânctons e bactérias.

Bactérias têm um ciclo de vida relativamente curto e respondem rapidamente à mudança no ambiente. O  $\text{CO}_2$  que participa ativamente do metabolismo microbiano, principalmente como produto da respiração, pode ser utilizado como parâmetro no monitoramento da atividade metabólica de microorganismos (Guimarães, 1990). Para a realização dos ensaios biológicos neste estudo foi utilizada a bactéria *Escherichia coli* linhagem ATCC 25922, cedida pelo Laboratório de Microbiologia do Hospital das Clínicas da UNICAMP.

### 2.5.1 - Meio de Cultura

O meio de cultura utilizado para o crescimento da bactéria foi preparado pela adição de 7,0 g de  $K_2HPO_4$ , 3,0 g de  $KH_2PO_4$ , 0,5 g de citrato de sódio, 1,0 g de  $(NH_4)_2SO_4$ , 0,2 g de  $MgSO_4 \cdot H_2O$  para cada litro de meio de cultura. A concentração de glicose utilizada foi de 2% p/v. O pH foi ajustado para 7,2 com solução de KOH. A esterilização do meio foi feita em forno de microondas.

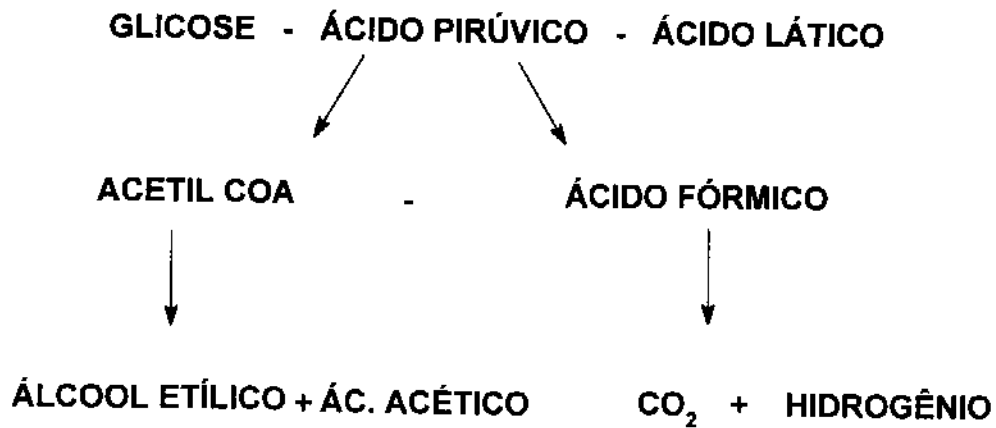
### 2.5.2 - Procedimento do Teste de Toxicidade

#### 2.5.2.1 - Monitoramento do $CO_2$ por FIA-Conducométrico

O meio de cultura foi contaminado com *E.coli* (organismo teste) e a concentração do  $CO_2$  produzida pela respiração microbiana e presente no meio líquido foi monitorada até atingir  $0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ . O frasco foi mantido em banho termostático à  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ . Aliquotas de 40,0 mL do meio foram transferidas para erlenmeyers de 125,0 mL e contaminadas com 10,0 mL das alíquotas retiradas nos diferentes tempos durante a fotodegradação. O pH das alíquotas retiradas do reator durante a fotodegradação foi ajustado previamente para 7,0. Foi feito um controle do crescimento bacteriano na ausência da amostra fotodegradada, onde 10,0 mL de água destilada foram adicionados para completar o volume final. A concentração de  $CO_2$  nos diversos frascos foi obtida por interpolação na curva de calibração. As determinações foram feitas a cada 15 minutos através do sistema FIA-Conducométrico. O procedimento experimental utilizado foi baseado no trabalho de Guimarães (1990).

A glicose é fermentada por muitas bactérias, segundo vias diferentes. A fermentação da glicose pela *E.coli* resulta numa mistura de produtos ácidos, gases e um produto neutro. A seguir é apresentado o ciclo da fermentação da glicose pela bactéria *E. coli*.

2.5.2.1.1 - Ciclo da Fermentação da Glicose pela Bactéria *E. coli*



Determinou-se a toxicidade dos compostos aromáticos clorados já citados anteriormente em várias concentrações e também de seus produtos intermediários formados durante a destruição por fotocatalise.

2.5.2.2 - Monitoramento da biomassa bacteriana por Turbidimetria

Alguns inconvenientes encontrados na avaliação da toxicidade dos compostos 2,4,6-TCP e 2,4-D representados pelo aumento excessivo do teor de CO<sub>2</sub> em relação ao controle, levaram a substituir a técnica FIA-Conducométrica pela técnica Turbidimétrica de monitoramento da biomassa. A determinação deste parâmetro foi realizado seguindo um procedimento análogo ao monitoramento de CO<sub>2</sub>, realizando-se leituras de Absorbância em 610 nm, em intervalos de 30 minutos.



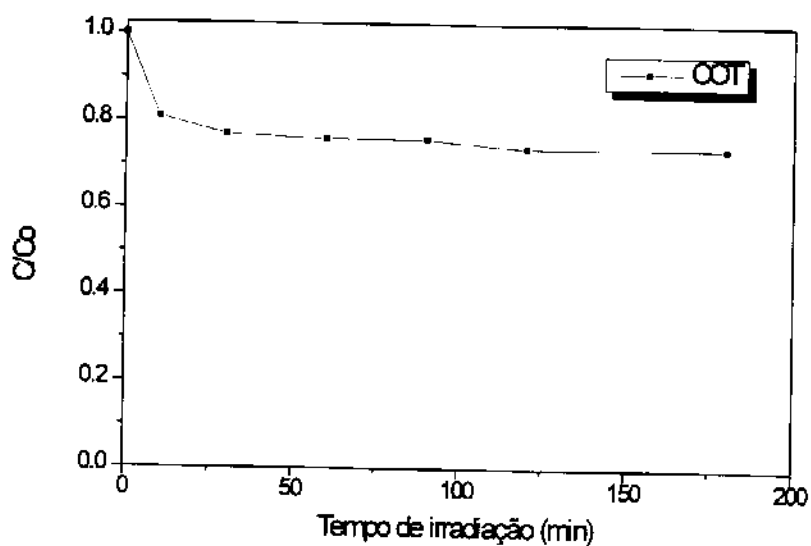
### 2.5.2.3 - Determinação do Consumo de Oxigênio

A avaliação da atividade metabólica também pode ser feita através da determinação de oxigênio. Esta quantificação convenientemente realizada através de técnicas polarográficas, permite a obtenção de um parâmetro que se correlaciona inversamente com a massa da população bacteriana, uma vez que o oxigênio é consumido no processo de respiração.

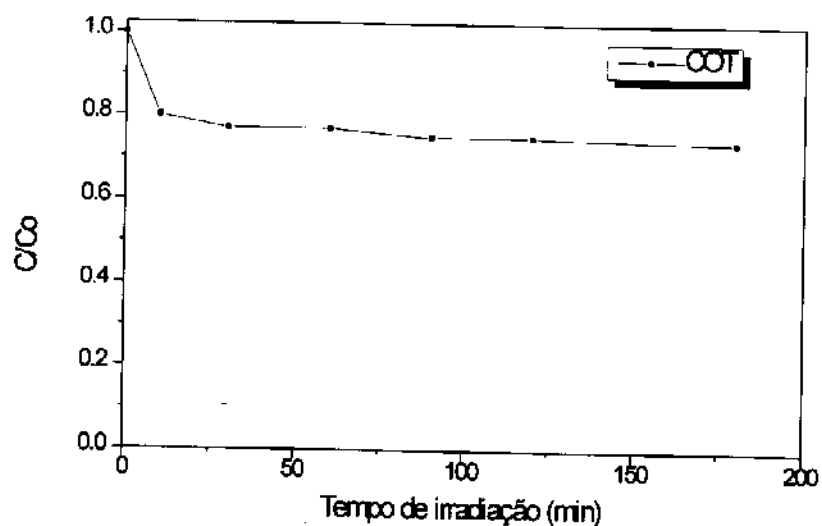
Este método avalia o consumo de oxigênio decorrente da respiração bacteriana e foi utilizado para confirmar o teste de toxicidade feito por FIA-Conducométrico. O sistema é constituído por uma sonda de oxigênio que é um sistema polarográfico. Contém um cátodo de platina, um ânodo de prata e uma solução de KCl ajuda a fixar ao redor o eletrodo por uma membrana de teflon fixada com um anel ("O"). Quando uma voltagem polarizada é aplicada através da sonda, todo oxigênio na sonda é consumido (reduzido) no cátodo e a corrente flui em razão estequiométrica direta à velocidade de consumo do oxigênio. O oxigênio então, difunde através da membrana na velocidade proporcional à pressão do oxigênio fora da sonda. A pressão do oxigênio na sonda é próxima de zero. Um volume de 2,0 mL de amostra (meio de cultura incubado + clorofenol) foi colocado no tubo onde introduziu-se o eletrodo, manteve-se agitando a solução até o final do experimento, monitorou-se o consumo de oxigênio por 4 hora.

## 2.6 - ESTUDO DA DIMINUIÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DO COMPOSTO DE PARTIDA

O composto utilizado para o teste foi o 2,3,5-TCP. Primeiramente, no experimento feito borbulhando ar dentro do reator e na ausência de luz e na presença do catalisador  $\text{TiO}_2$ , notou-se uma diminuição na concentração inicial deste composto de 25% após 3 horas. No experimento somente com  $\text{TiO}_2$ , sem luz e ar, ocorreu também uma diminuição de 25%. Portanto, não se observaram perdas para a atmosfera por decorrência do arraste de gás, mas sim por adsorção do composto na superfície do catalisador. Estes resultados são apresentados nas Figuras 5 e 6.



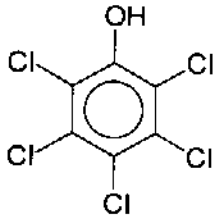
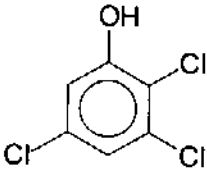
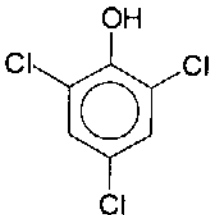
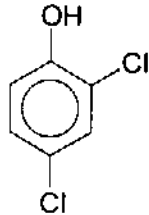
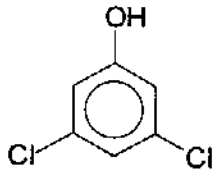
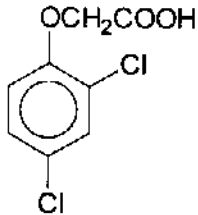
**Figura 5-** Teste para verificar a possível diminuição da concentração do composto por arraste devido ao borbulhamento de ar.



**Figura 6 -** Teste para verificar a adsorção do composto no  $TiO_2$ .

## 2.7 - COMPOSTOS AROMÁTICOS CLORADOS TESTADOS

Tabela VI - Estruturas dos compostos e concentrações utilizadas para a fotodegradação.

<p>2.7.1 - <b>PENTACLOROFENOL</b> utilizado nas concentrações 0,3; 0,5; 0,6; 1,0 e 1,5 mmol/L.</p> 	<p>2.7.2 - <b>[2,3,5]-TRICLOROFENOL</b> utilizado nas concentrações de 0,1; 0,15; 0,25; 0,5; 0,7 e 1,0 mmol/L.</p> 
<p>2.7.3 - <b>[2,4,6]-TRICLOROFENOL</b> utilizado nas concentrações 0,5; 1,0 e 2,5 mmol/L.</p> 	<p>2.7.4 - <b>[2,4]-DICLOROFENOL</b> utilizado nas concentrações 0,25 e 0,3 mmol/L.</p> 
<p>2.7.5 - <b>[3,5]-DICLOROFENOL</b> utilizado nas concentrações 0,1; 0,15; 0,2; 0,5; 0,7; 1,0 e 1,5 mmol/L.</p> 	<p>2.7.6 - <b>ÁCIDO - 2,4DICLOROFENOXIACÉTICO</b> utilizado nas concentrações 0,5 e 0,9 mmol/L.</p> 

Para a preparação das soluções de PCP foi necessário dissolvê-lo em meio básico devido à sua baixa solubilidade em água em pH neutro (<8 mg/100mL de H<sub>2</sub>O).

Os compostos 3,5-DCP, 2,4-DCP e 2,4-D foram preparados sem ajuste de pH, enquanto que os compostos 2,3,5-TCP e 2,4,6-TCP foram preparados em valores de pH alcalino, após ajuste com solução de NaOH.

## **CAPÍTULO III**

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### 3.1 - CINÉTICA DE DESTRUÇÃO DE CLOROFENÓIS

O modelo cinético de Langmuir-Hinshelwood (L-H) tem sido usado em muitos estudos de velocidade de degradação fotocatalítica. A primeira dedução da isoterma de Langmuir foi cinética, supondo que as moléculas são adsorvidas e aderem na superfície do adsorvente em sítios definidos e localizados, cada sítio pode acomodar uma entidade adsorvida, a energia da entidade adsorvida é a mesma em todos os sítios da superfície e não dependem da presença ou ausência de outras entidades adsorvidas nos sítios vizinhos. Vários são os fatores que afetam a velocidade de reação em processos fotocatalíticos. A presença de oxigênio ou outros agentes oxidantes, como  $H_2O_2$  (eficiente sequestrador de elétrons na banda de condução), o aumento da intensidade luminosa sempre leva a um aumento da velocidade de reação, o pH da solução (tamanho da partícula, cargas na superfície e posição das bandas são fortemente influenciadas pelo pH), a massa do semiconductor (a disponibilidade de sítios ativos aumenta com o aumento da carga de  $TiO_2$ , mas a penetração de luz na suspensão diminui devido à problemas de espalhamento), e ainda, os produtos característicos da reação, como HCl são considerados inibidores de reação. É observado repetidamente, na oxidação fotocatalítica de solutos orgânicos sobre  $TiO_2$  que a cinética de L-H descreve a dependência, tanto da velocidade da reação como da concentração do soluto, no desaparecimento do soluto e formação de  $CO_2$ . Isto é uma forte evidência de que as reações fotocatalíticas ocorrem na superfície do catalisador. Para algumas concentrações mais altas, a velocidade da reação é independente da concentração do soluto, já para concentrações mais baixas, a velocidade da reação é aproximadamente diretamente proporcional à concentração do soluto, e para concentrações intermediárias há uma proporcionalidade complexa entre a velocidade da reação e a concentração do soluto. Os produtos intermediários da decomposição têm a mesma propriedade de equilíbrio de adsorção na superfície como o composto de partida e eles são totalmente oxidados a  $CO_2$  (Matthews, 1988 e 1990).

Segundo Huang e Tseng (1991) a degradação de clorofenóis é muito rápida e segue uma expressão da cinética de 1ª ordem em termos da concentração do composto de partida.

A Tabela VII apresenta os valores da constante de velocidade (K) e respectivos tempos de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) calculados para os clorofenóis em diferentes concentrações. O decaimento da concentração durante a fotodegradação foi acompanhado por análise de CLAE para determinação da cinética da reação. Neste estudo, foi observada uma relação

linear entre  $\ln(C/C_0)$  e o tempo de iluminação para os compostos 2,3,5-TCP, 2,4,6-TCP, 2,4-DCP, 2,4-D; para algumas concentrações de 3,5-DCP e para uma concentração de PCP.

Tabela VII - Concentração, Constante de velocidade (K) e Tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) para os compostos fotodegradados

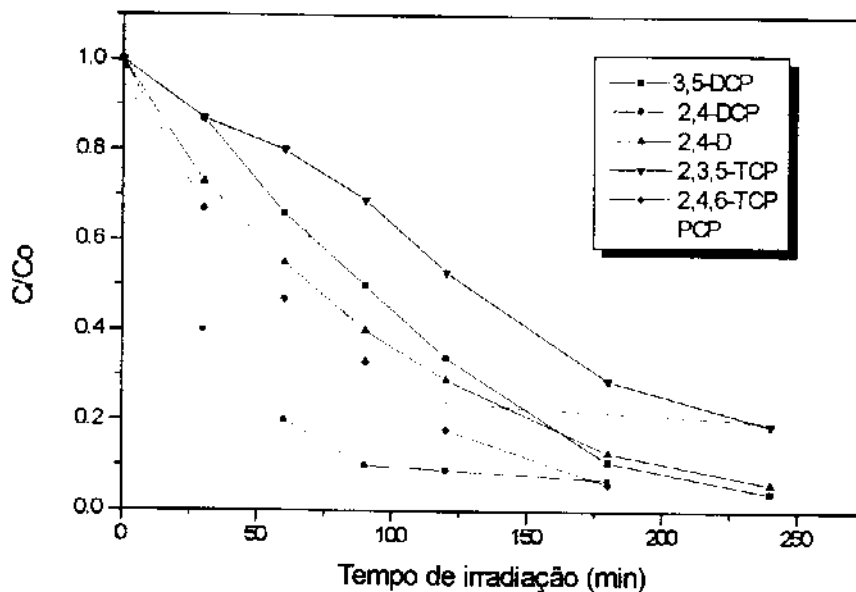
Composto	Conc. Inicial (mmol.L <sup>-1</sup> )	pH Inicial	K	T <sub>1/2</sub> (min)	Ordem de Reação
PCP	0,6	7,4	0,0188	36,7	1
	1,5	7,0	0,0046	105,7	0
2,3,5-TCP	1,0	7,0	0,0054	127	1
2,4-DCP	0,3	6,0	0,0328	21,6	1
3,5-DCP	0,2	7,2	0,0165	42	1
	0,5	7,2	0,0217	31,9	1
	0,7	7,0	0,0037	145	0
	1,0	7,0	0,0031	165	0
	1,5	7,0	0,0030	228,4	1
2,4,6-TCP	0,5	7,0	0,0155	44,5	1
	1,0	7,3	0,0155	44,5	1
2,4-D	0,5	7,3	0,0329	21	1
	0,9	7,2	0,0147	46,8	1

\* K para ordem zero em mmol/L.min<sup>-1</sup>

\* K para ordem 1 em min<sup>-1</sup>

Os resultados da decomposição fotocatalítica dos compostos di-, tri-, e penta-clorofenol são apresentados na Figura 7. Os valores  $C/C_0$ , que correspondem à relação entre a concentração do composto-mãe num tempo  $t$  qualquer, pela concentração inicial, foram obtidos a partir dos resultados da análise de carbono orgânico total.

Também observou-se, para todos os compostos, que o COT diminui com o tempo de irradiação. O tempo necessário para degradar 50% da concentração inicial varia de um composto para outro. Comparando os compostos de mesma concentração, observou-se que o 2,4,6-TCP exigiu menor tempo de irradiação (180 min) para degradar ~ 97% do carbono orgânico total, enquanto que o 2,4-D e o 3,5-DCP exigiram maior tempo (240 min) para degradar a mesma porcentagem. Já os compostos 2,3,5-TCP e PCP, para o mesmo tempo de irradiação (240 min), foram fotodegradados em ~ 80%. A análise de COT foi utilizada como uma medida da mineralização de clorofenóis para avaliar a eficiência do processo fotocatalítico.



**Figura 7** - Destruição de di-, tri-, e penta-clorofenol e do ácido 2,4-D com UV/TiO<sub>2</sub>. Condições experimentais: concentração dos compostos orgânicos: 0,5 mmol.L<sup>-1</sup> exceto para o 2,4-DCP (0,3 mmol.L<sup>-1</sup>); TiO<sub>2</sub> = 0,1 % (p/v); pH inicial entre 6,5 e 7,0.

Para PCP foi observada uma ordem de reação zero, que foi comprovada através da linearidade do gráfico  $C \times t_{\text{irradiação}}$ . Neste caso, a cinética de ordem zero pode ser correlacionada provavelmente à baixa solubilidade do composto e à formação de agregados devido à variação do pH. Estes podem estar adsorvidos na superfície do semicondutor, causando uma menor atividade fotocatalítica, o que proporciona um tempo de meia-vida maior (reação mais lenta). Já para o composto 3,5-DCP, para algumas concentrações como 0,2, 0,5 mmol.L<sup>-1</sup> observou-se uma reação de 1ª ordem, e para concentrações mais altas como 0,7, 1,0 mmol.L<sup>-1</sup> observou-se uma reação de ordem zero, para a concentração de 1,5 mmol.L<sup>-1</sup> foi observada uma pseudo-primeira ordem. Como já comentado, para concentrações mais altas a velocidade da reação é independente da concentração do soluto, e para concentrações mais baixas, a velocidade de reação é aproximadamente diretamente proporcional à concentração do soluto.

Tanaka e colaboradores (1990) observaram que a ordem da taxa de degradação para compostos clorados foi de Cl<sub>2</sub> > Cl<sub>3</sub> > Cl<sub>4</sub>. A ordem de degradação encontrada neste estudo para uma concentração ~ 0,5 mmol.L<sup>-1</sup> foi : 2,4-D > 3,5-DCP > PCP > 2,4,6-TCP. Pode-se observar que 2,4-D reage mais rápido que 3,5-DCP, embora ambos possuam 2 átomos de Cl. Isto pode ser explicado pelo fato que átomos de Cl nas posições *orto* e *para* reagem mais rapidamente devido a maior ativação do anel aromático nestas posições.

Clorofenóis são compostos considerados potencialmente tóxicos. Quando fotodegradados podem formar produtos intermediários, como hidroquinonas e benzoquinonas, muitas vezes mais tóxicos que os compostos originais. Quando a fotodegradação é total, os compostos de partida e seus intermediários são mineralizados a CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O e íons Cl<sup>-</sup>.

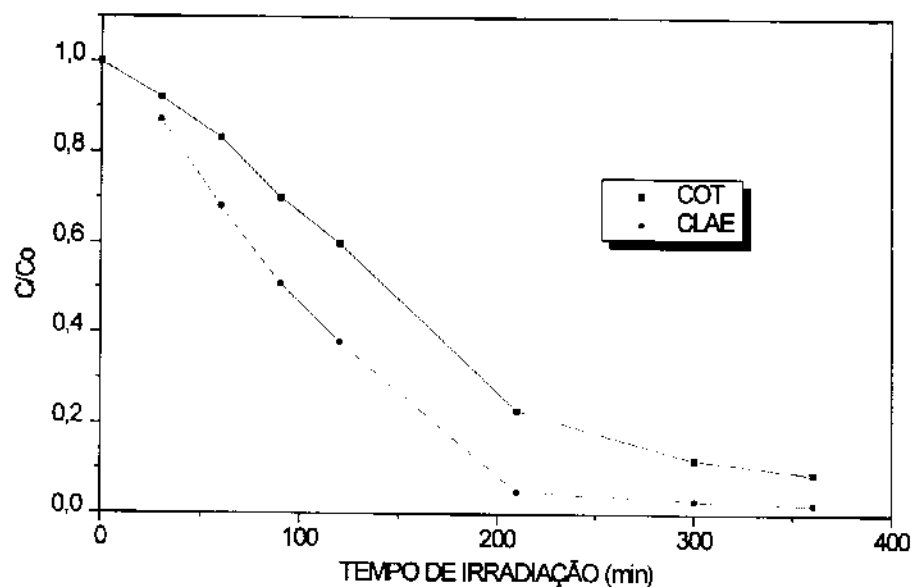
## **3.2 - FOTODEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS ORGANOCLORADOS E TOXICIDADE DOS INTERMEDIÁRIOS DE REAÇÃO**

### **3.2.1 - PENTACLOROFENOL**

O tratamento fotocatalítico do PCP para uma concentração 1,5 mmol.L<sup>-1</sup> na presença de luz e TiO<sub>2</sub> exigiu 6 horas para alcançar 99% de destruição. A Figura 8 mostra os resultados de fotodegradação do PCP através da análise por CLAE e a



mineralização através da análise de COT. Observa-se que, não havendo sobreposição das curvas, o carbono orgânico determinado por COT não corresponde ao composto de partida.

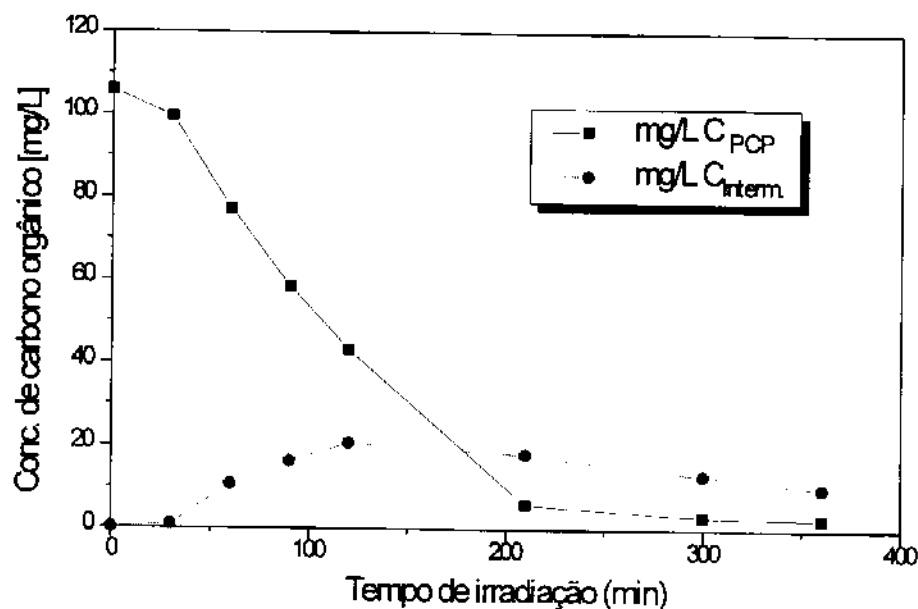


**Figura 8** - Diminuição na concentração de COT e de PCP ( $1,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) durante o tempo de irradiação.

Já foi constatado por outros autores a formação de espécies intermediárias durante a decomposição fotocatalítica de compostos organoclorados e organofosforados tais como, PCP, 4-clorofenol, 2,4-DCP e outros (Hsieh e Ku, 1992; Huang, 1994; Hoffmann e Mills, 1993; Wong e Crosby, 1981).

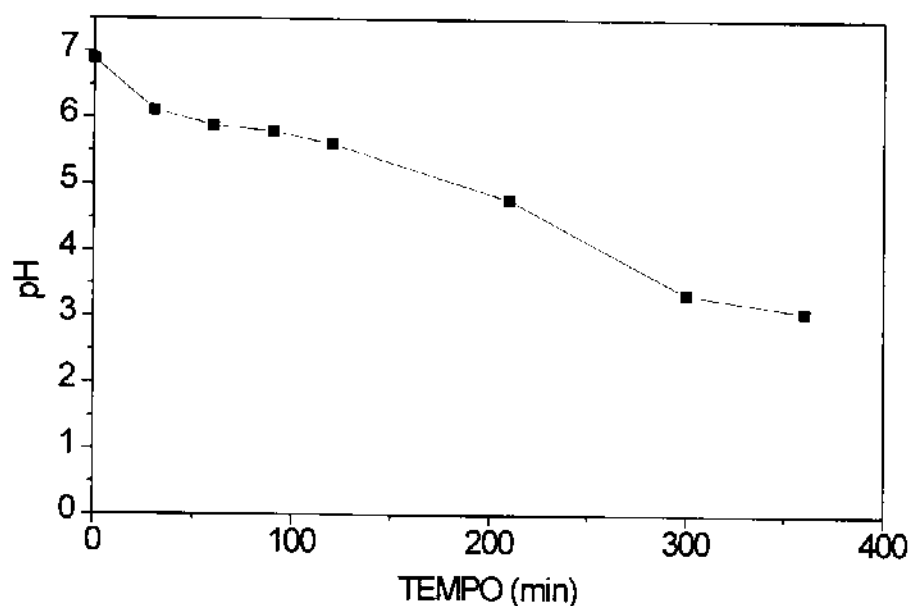
Neste estudo, a concentração de carbono das espécies intermediárias foi calculada através da diferença entre a concentração do composto de partida obtido por CLAE e a concentração de carbono orgânico obtido por COT. Na Figura 9 é mostrado o decaimento da concentração inicial de PCP (CLAE) em função da formação de produtos intermediários (COT - CLAE). Analisando-se o tempo de irradiação referente a 300 min., o composto de partida encontra-se quase que completamente mineralizado, enquanto resta aproximadamente 15 % de carbono orgânico proveniente de intermediários formados durante o processo. Nota-se, além deste fato, que o tempo para completa degradação do

composto de partida não é o mesmo que o tempo de degradação das espécies intermediárias.



**Figura 9** - Fotodestruição do PCP e concomitante aparecimento de produtos intermediários formados durante a irradiação da solução  $1,5 \text{ mmol.L}^{-1}$  do composto mãe. Valores expressos em termos da concentração de carbono orgânico.

A variação no pH da solução foi igual para todas as concentrações degradadas variando em até 3 unidades de pH (7,0 - 4,0), que é decorrente da liberação de espécies  $\text{H}^+$  no meio reacional. Esta variação comprova a mineralização do composto. O valor do pH das soluções aquosas afeta significativamente a carga na superfície do semiconductor. O tamanho da partícula, as cargas na superfície e a posição das bandas de condutância e de valência, são fortemente influenciadas pelo pH (Mills *et alii*, 1993). Na Figura 10 é apresentada a variação do pH durante o tratamento fotocatalítico para o PCP. A liberação de  $\text{H}^+$  e consequente variação de pH foi também observada na fotodegradação dos demais clorofenóis.

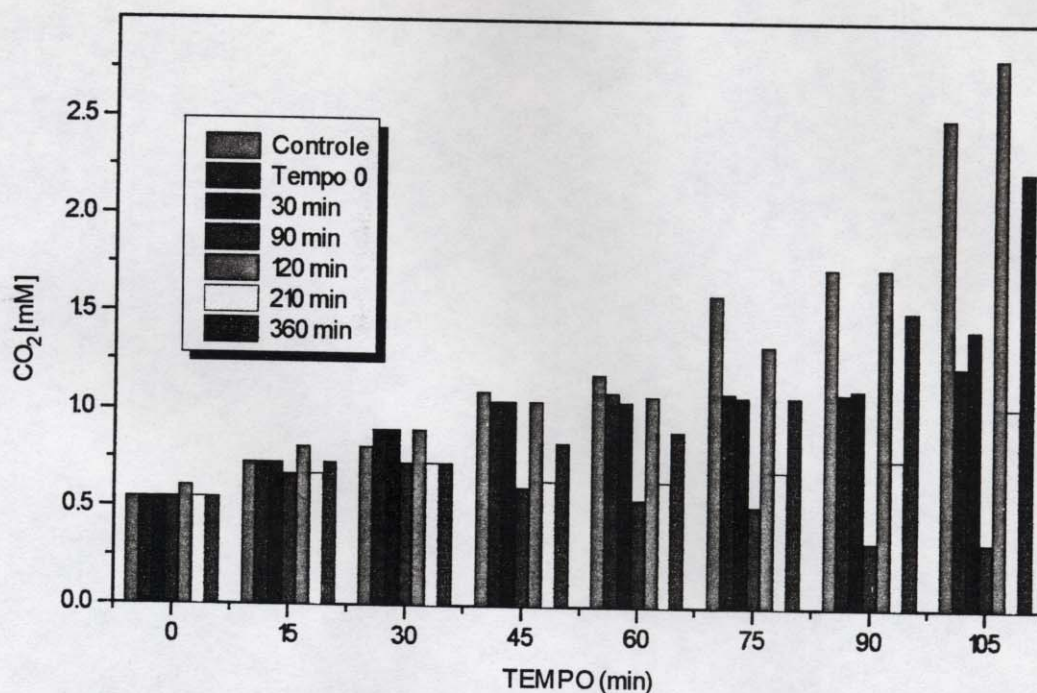


**Figura 10** - Variação no pH durante o processo de destruição fotocatalítica do PCP.

A Figura 11 mostra a resposta microbiana frente ao composto de partida e aos compostos intermediários formados na fotodegradação do PCP. Nas ordenadas está representada a concentração de  $\text{CO}_2$  ( $\text{mmol.L}^{-1}$ ), enquanto que nas abcissas está representado o tempo de monitoramento do bioensaio. A concentração de  $\text{CO}_2$  é função do crescimento bacteriano (tempo de incubação). Na legenda, o controle representa o crescimento da bactéria na ausência de agente estressante, enquanto que nos demais houve a adição de agente estressante a partir das alíquotas retiradas nos diferentes tempos de degradação.

Observou-se que no início do experimento (tempo 0), o composto de partida é tóxico, pois há inibição da atividade bacteriana. Observou-se também que a toxicidade aumenta acentuadamente até 90 min de irradiação, provavelmente, devido à formação de espécies intermediárias. Em 120 min estas espécies foram degradadas havendo um aumento da atividade. Em 210 min, novamente houve formação de espécies tóxicas inibindo o crescimento da bactéria. Já em 360 min de irradiação, observou-se pouca inibição do crescimento bacteriano.

Resultados semelhantes foram encontrados por Manilal e colaboradores (1992), que observaram em seus estudos, flutuações na toxicidade durante a degradação fotocatalítica do PCP, utilizando  $\text{TiO}_2$ . Um aumento na toxicidade do PCP após 6 h de tratamento foi observado, que é provavelmente devido a formação de intermediários tóxicos.



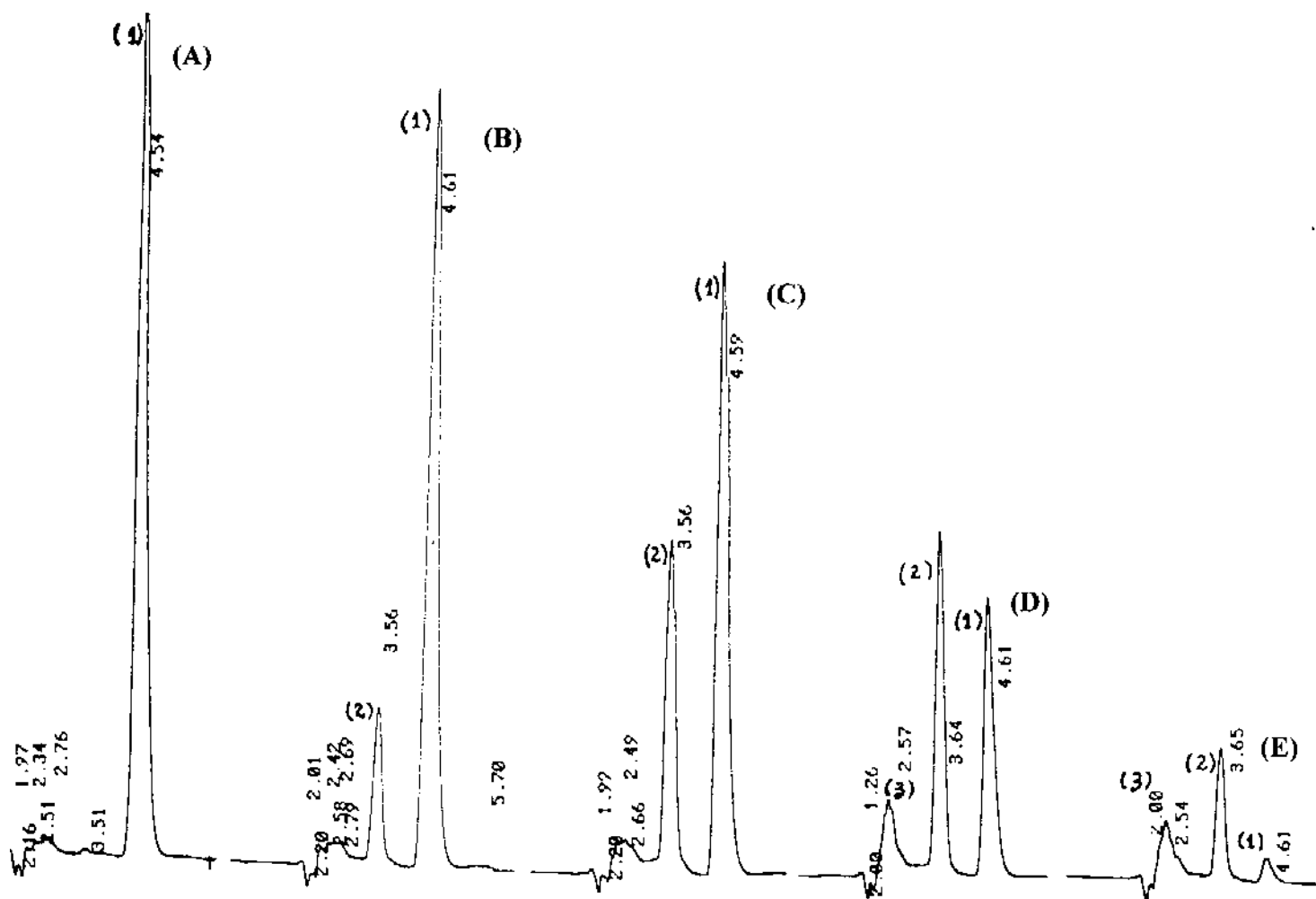
**Figura 11** - Produção de CO<sub>2</sub> (respiração) nas culturas de *E. coli* 25922 contaminadas com amostras retiradas em intervalos de tempo regulares de irradiação de PCP (1,5 mmol.L<sup>-1</sup>).

Na Figura 12 são apresentados os cromatogramas (CLAE) da solução de PCP que mostram a presença de alguns intermediários de reação. Porém, como pode se observar nos cromatogramas, a concentração diminuiu com o decorrer da fotodegradação, o que mostra que estas espécies também são fotodegradadas.

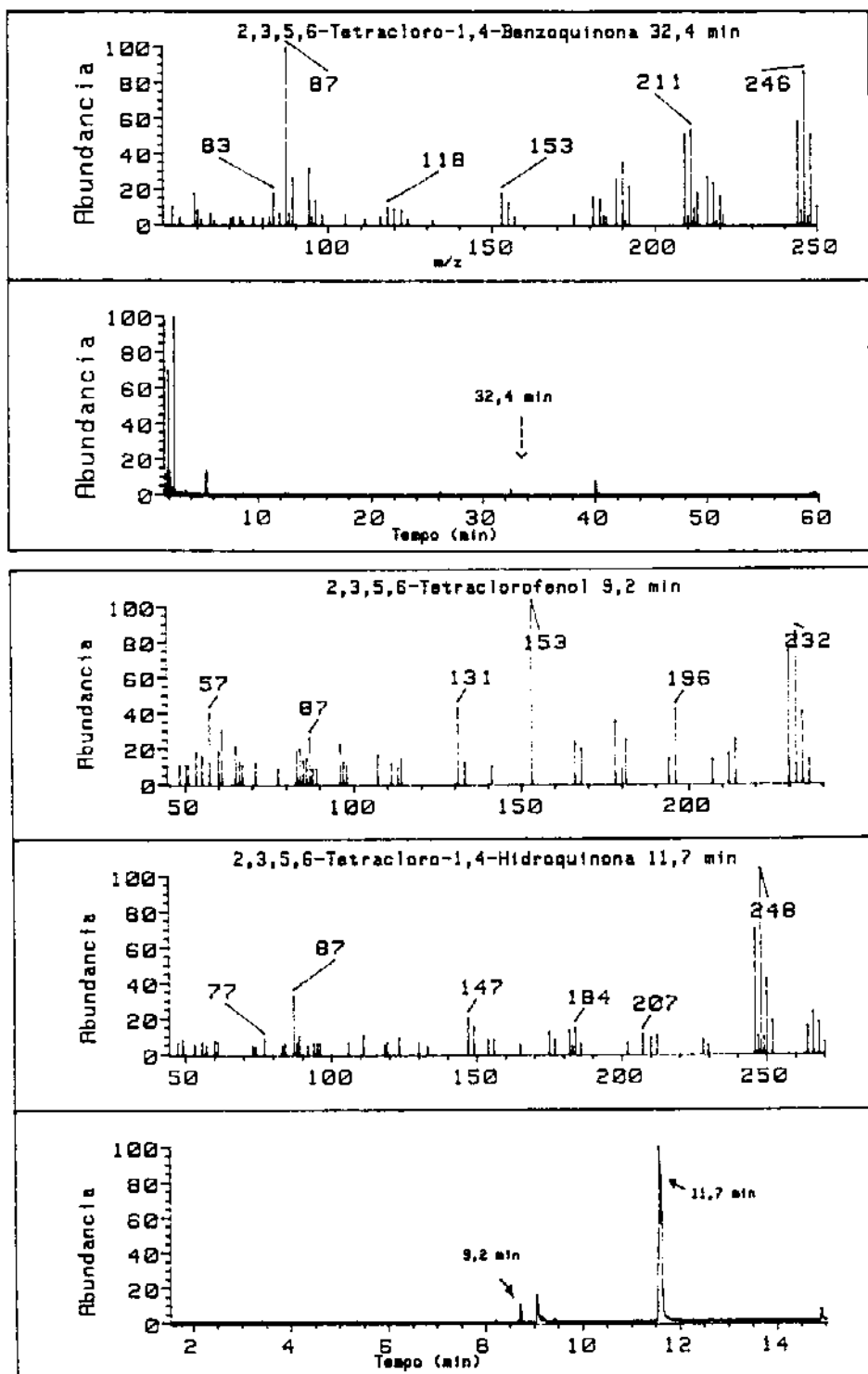
Com o objetivo de comprovar a presença das substâncias intermediárias da reação, foram realizados experimentos utilizando a técnica CG/EM. Os espectros de massa, correspondentes aos compostos intermediários encontrados nas amostras analisadas durante a fotodegradação, constam da Figura 13.

A análise por CG/EM pode ajudar na elucidação do mecanismo da reação fotocatalítica. Os produtos intermediários identificados foram 2,3,5,6-Tetraclorofenol, 2,3,5,6-Tetracloro-1,4-hidroquinona e 2,3,5,6-Tetracloro-1,4-benzoquinona, nos respectivos tempos de retenção 9,2 min; 11,7 min e 32,4 min. Em concentrações mais baixas, embora tenham sido detectados por CLAE, não foi possível a identificação destes intermediários, devido, provavelmente ao limite de detecção do aparelho. Por exemplo,

para uma concentração  $0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ , o único intermediário detectado por CG/EM foi 2,3,5,6-Tetracloro-1,4-hidroquinona, num tempo de retenção de 11,7 min.



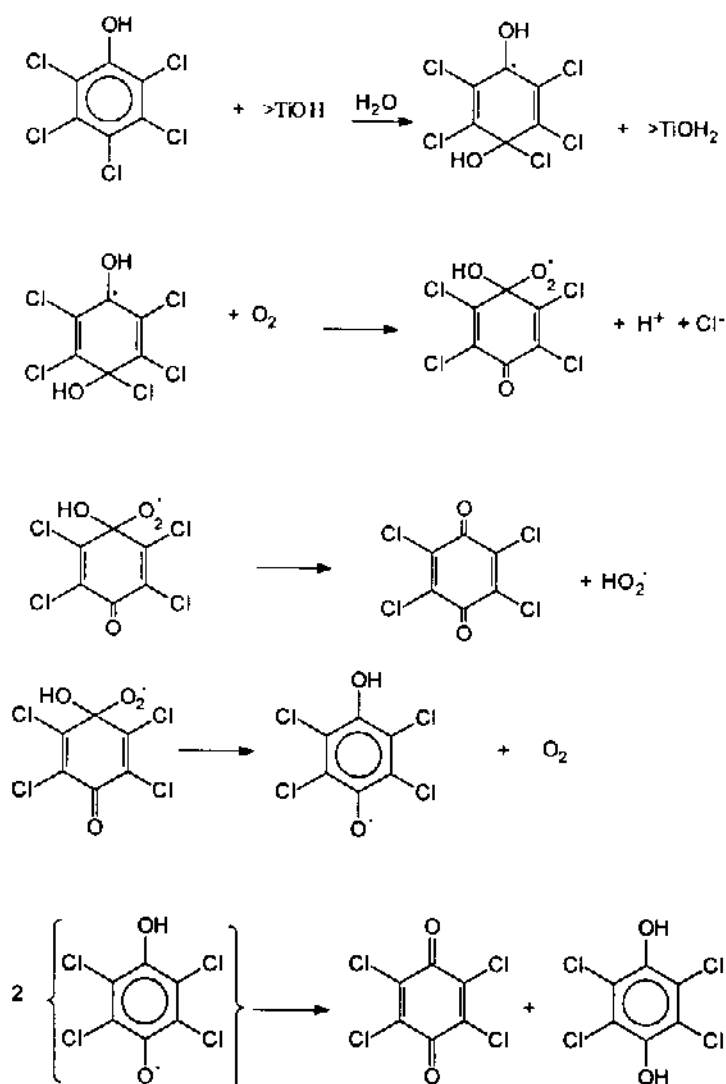
**Figura 12** - Cromatogramas (CLAE) da solução de PCP fotodegradada. Condições experimentais: Concentração inicial:  $1,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ ; fase móvel = 95% MeOH / 5%  $\text{H}_2\text{O}$ ; detecção de 254 nm; vazão = 1,2 mL/min; vol. de injeção: 10  $\mu\text{L}$ ; coluna: MCH10 (10  $\mu\text{m}$ , 4mm/300),  $\text{C}_{18}$ , Varian; n° (1) = PCP e n° (2) e (3) = intermediários; tempo de irradiação em minutos: (A) = 0, (B) = 30, (C) = 90, (D) = 210, (E) = 300.



**Figura 13** - Cromatogramas e espectros de massa dos intermediários detectados por CG/EM durante a fotodegradação de PCP. Condições experimentais: concentração inicial de PCP  $1,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ ; tempo de irradiação da amostra de 90 e 210 min; gás de arraste: He; volume injetado:  $0,5 \mu\text{L}$ ; temperatura do injetor:  $250^\circ\text{C}$ ; coluna ultra-1.

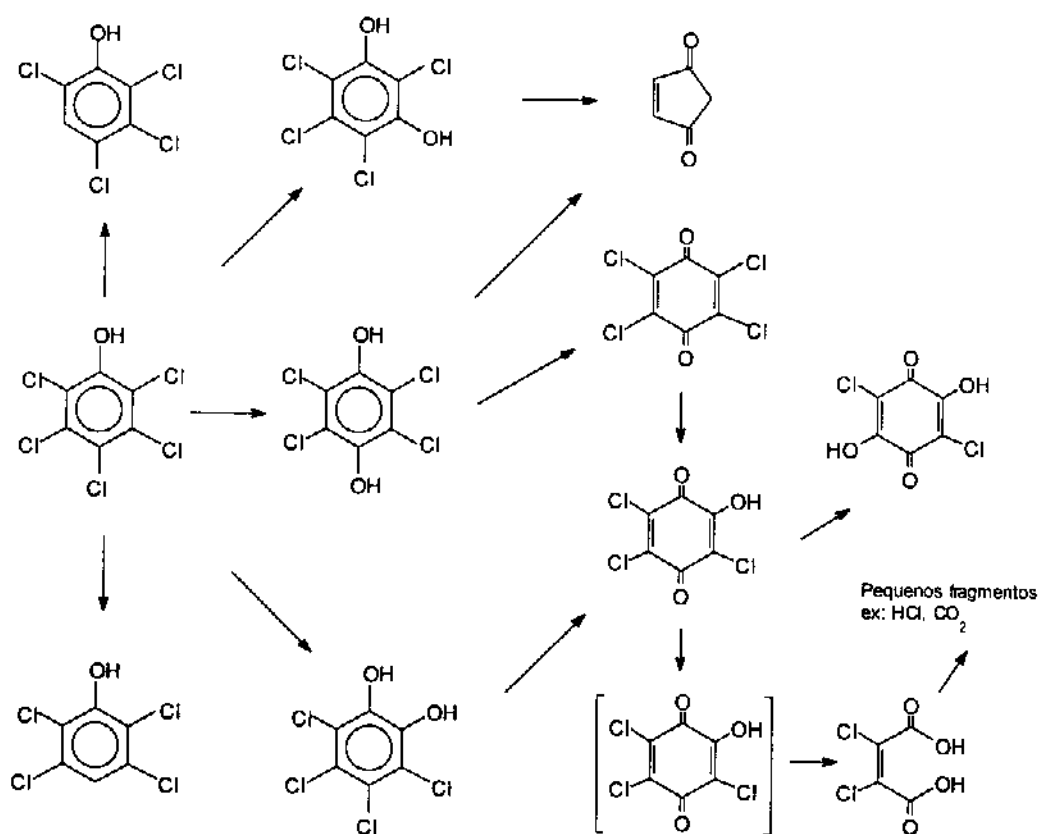
Hoffmann e Mills (1993), identificaram como principais intermediários da fotocatalise do PCP na presença de  $\text{TiO}_2$ , o *p*- e *o*-cloranil, e tetraclorohidroquinona (TCHQ). De acordo com as análises, o mecanismo para a fotooxidação ocorre via ataque radical livre na posição *para* formando radicais semiquinonas. A adição de radicais  $\text{OH}\cdot$  no anel aromático do PCP ocorre preferencialmente nas posições *orto* e *para*. Os radicais semiquinonas eventualmente regenerarão a TCHQ, que por oxidação passa para *p*-cloranil. Este pode ser reduzido rapidamente pelo  $\text{O}_2\cdot^-$  para radicais semiquinonas. O mecanismo proposto pelos autores para a formação do *p*-cloranil e TCHQ pelo ataque do  $\text{OH}\cdot$  na posição *para* é mostrado a seguir.

### - Mecanismo I



Outro mecanismo de fotodestruição do PCP foi proposto por Wong e Crosby, (1981), que através da identificação dos produtos da fotólise fornece a chave do processo degradativo. Neste processo, o deslocamento do cloro por hidróxido produz o tetraclorocatecol, tetraclororesorcinol, e tetraclorohidroquinona, que foram subsequentemente oxidados para cloranil, hidroquinonas, e eventualmente ácido 2,3-dicloromalêico. Este ácido é fotodecomposto mais lentamente para dióxido de carbono, cloretos e fragmentos orgânicos não identificados. O mecanismo proposto pelos autores é mostrado a seguir.

### - Mecanismo II

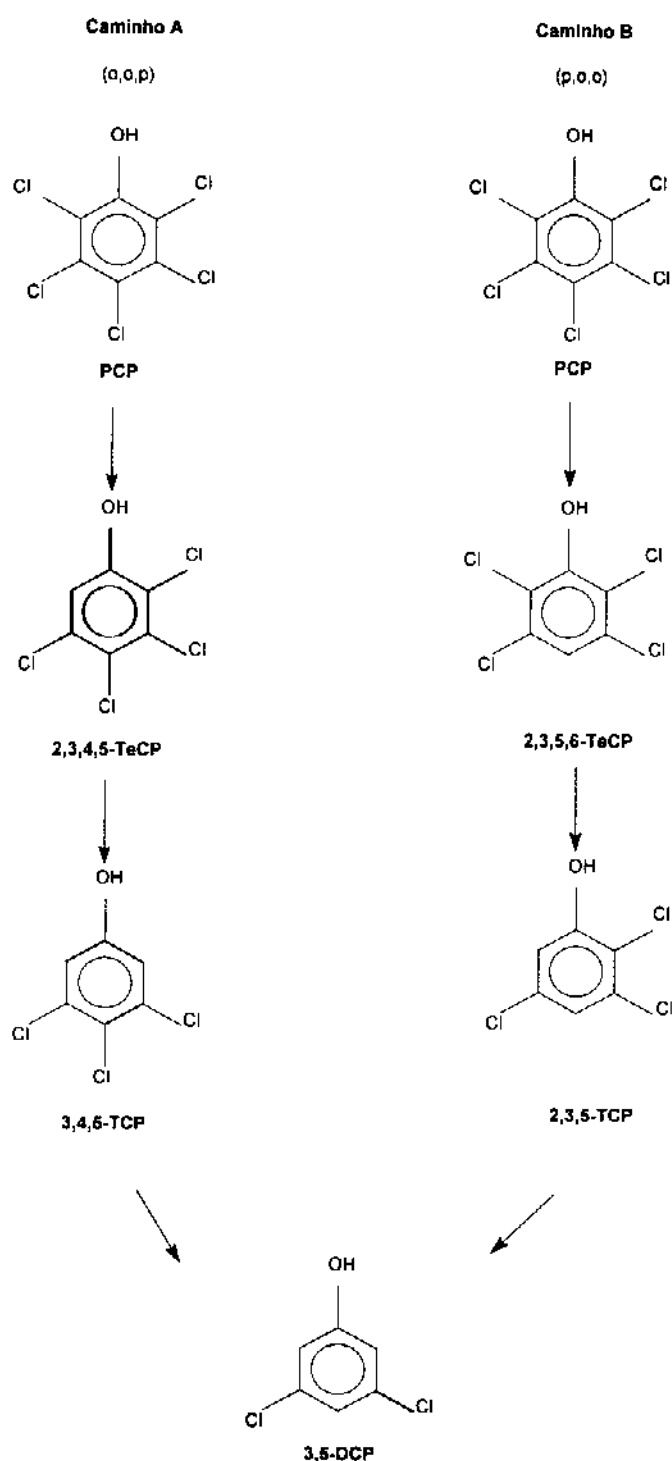




Observando os dois mecanismos de degradação do PCP, sendo o primeiro relacionado com a fotocatalise e o segundo com a fotólise, pode-se dizer que a degradação do composto segue via formação de espécies intermediárias semelhantes, tais como tetraclorohidroquinona e tetraclorobenzoquinona.

A formação de intermediários tóxicos durante a degradação de PCP também foi observada no tratamento biológico. Uma investigação do potencial para biodegradação anaeróbica termofílica do PCP a 50°C utilizando inóculo de diferentes ecossistemas naturais e de digestores anaeróbicos foi feita por Larsen e colaboradores (1991), onde partindo de uma concentração de 37,5  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  verificaram que após 8 meses, o PCP tinha desaparecido da amostra de sedimento e vários intermediários menos clorados estavam presentes. A descloração do PCP procedeu via diferentes caminhos, envolvendo pelo menos duas diferentes populações no processo de descloração. Na reação do tipo A, um átomo de cloro *orto* foi clivado primeiramente dando origem ao tetraclorofenol como intermediário, outro átomo de cloro *orto* foi clivado e o tetraclorofenol (TeCP) foi detectado. No caminho de reação B, a descloração do PCP procedeu rápida e completamente à 50 °C. Os resultados mostram que a clivagem *para* bem como *orto*, podem ser o primeiro passo na descloração termofílica anaeróbica do PCP. Isto indica que mais de um microorganismo está envolvido na descloração primária durante a reação pelo caminho A e B. Neste estudo, Larsen e colaboradores (1991) verificaram que a velocidade de descloração pelo caminho B é mais rápida. Uma possível explicação para isto poderia ser que 2,3,5,6-TeCP é degradado mais rápido que o 2,3,4,5-TeCP. A Figura 14 mostra os caminhos A e B da descloração do PCP.

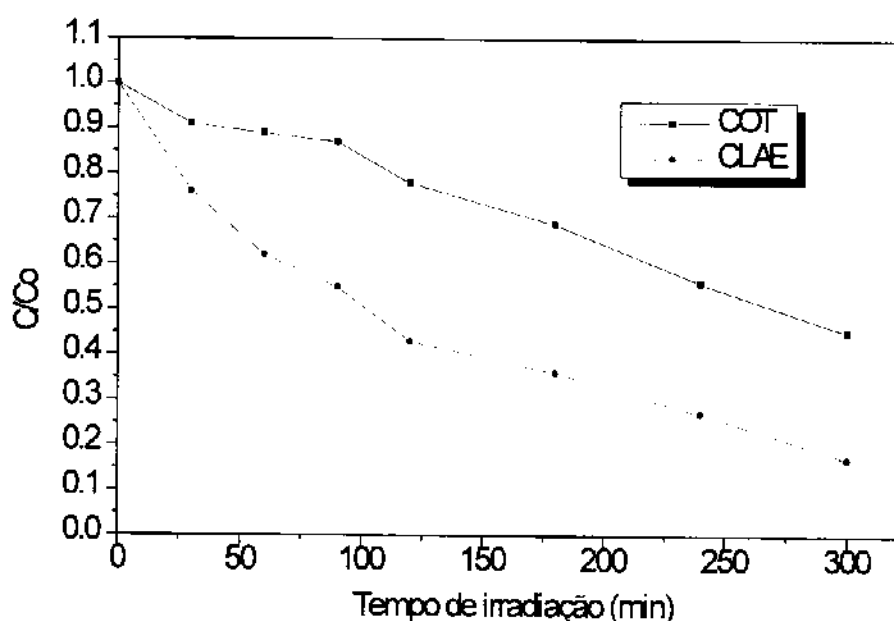
Durante a fotodegradação do PCP ocorreu uma mudança de coloração da solução (de incolor para rósea), provavelmente, devido à formação destas espécies intermediárias. Esta coloração foi observada logo que se iniciou a irradiação. Com o aumento no tempo de reação, estas espécies também foram fotocataliticamente destruídas e a solução ficou novamente incolor. Este fato também foi observado para os compostos 2,3,5-TCP e 2,4,6-TCP.



**Figura 14** - Caminhos da descloração em culturas enriquecidas com inóculo de diferentes ecossistemas naturais e de digestores anaeróbicos. Caminho A: duas *orto* clivagens seguida por uma *para* clivagem. Caminho B: *para* clivagem seguida por duas *orto* clivagens.

### 3.2.2 - 2,3,5-TRICLOROFENOL

Na Figura 15 encontram-se os resultados do decaimento da concentração inicial do composto obtida por CLAE, bem como os dados de carbono orgânico total (COT) para o composto 2,3,5-TCP. Observou-se também, para este composto, que não há sobreposição destas duas curvas, indicando a presença de carbono orgânico que não corresponde ao do composto de partida.

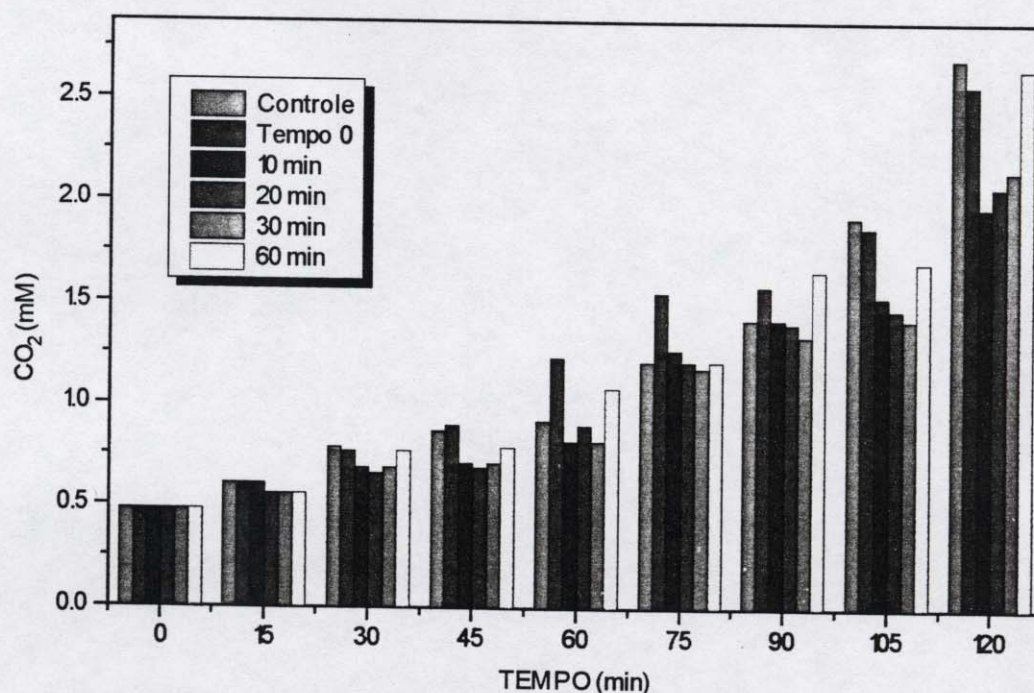


**Figura 15** - Diminuição na concentração de COT e 2,3,5-TCP ( $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) durante o tempo de irradiação.

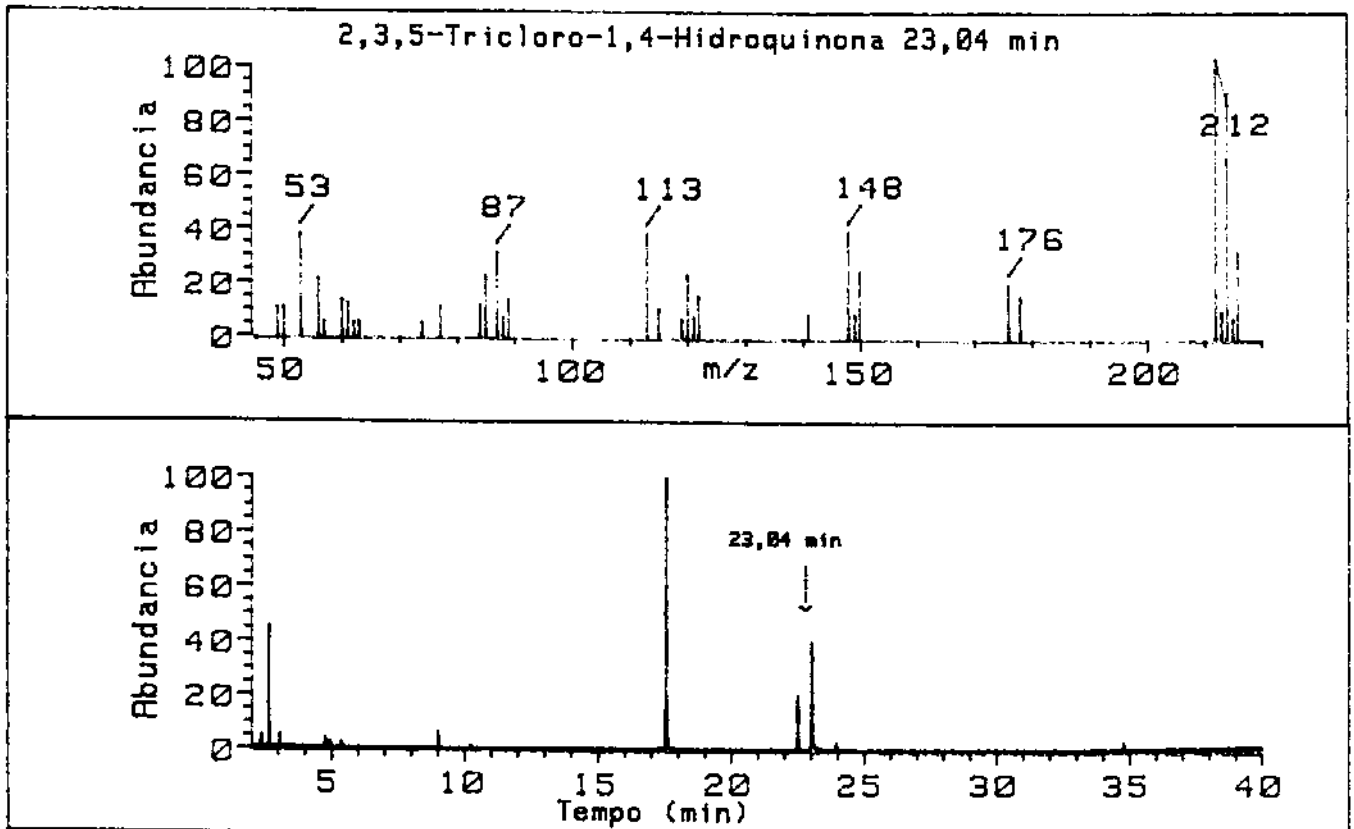
Comparando este gráfico com o obtido para PCP (Figura 8) observa-se que para o 2,3,5-TCP há uma diferença maior entre as curvas de CLAE e COT. Isto indica uma maior concentração de carbono orgânico correspondente à compostos intermediários formados.

No tratamento fotocatalítico do composto 2,3,5-TCP observou-se a formação de espécies intermediárias tóxicas através do ensaio de toxicidade bacteriano, cujos dados encontram-se na Figura 16. Segundo Ruckdeschel e colaboradores (1987), a concentração

mínima inibitória (CMI) deste composto é  $0,25 \mu\text{mol/mL}$  para a cepa de *E. coli* usada no ensaio. Neste estudo a concentração da solução degradada foi  $0,15 \mu\text{mol.mL}^{-1}$ , isto é, abaixo da CMI. Pode-se observar que no início do experimento (tempo 0) não há inibição da atividade microbiana. Porém, após 10, 20 e 30 min de irradiação houve inibição mostrando que as espécies intermediárias formadas são mais tóxicas que o composto mãe. A toxicidade diminuiu com o tempo de reação e, após 60 min de irradiação, já não se observa toxicidade sendo o crescimento bacteriano neste ensaio, proporcional ao controle. O experimento de fotodegradação para posterior teste de toxicidade foi feito numa concentração de  $0,15 \text{ mmol.L}^{-1}$ . Nesta concentração não foi possível detectar as espécies intermediárias devido à baixa concentração das mesmas. Com o objetivo de determinar as espécies intermediárias foi realizado um experimento numa concentração de  $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ . Nesta concentração não foi possível realizar o ensaio de toxicidade uma vez que esta concentração é totalmente tóxica para a bactéria mesmo após 3 h de irradiação da solução. Através das análises de CG/EM o composto intermediário identificado foi o 2,3,5-tricloro-1,4-hidroquinona. O cromatograma e espectro de massa encontram-se na Figura 17.



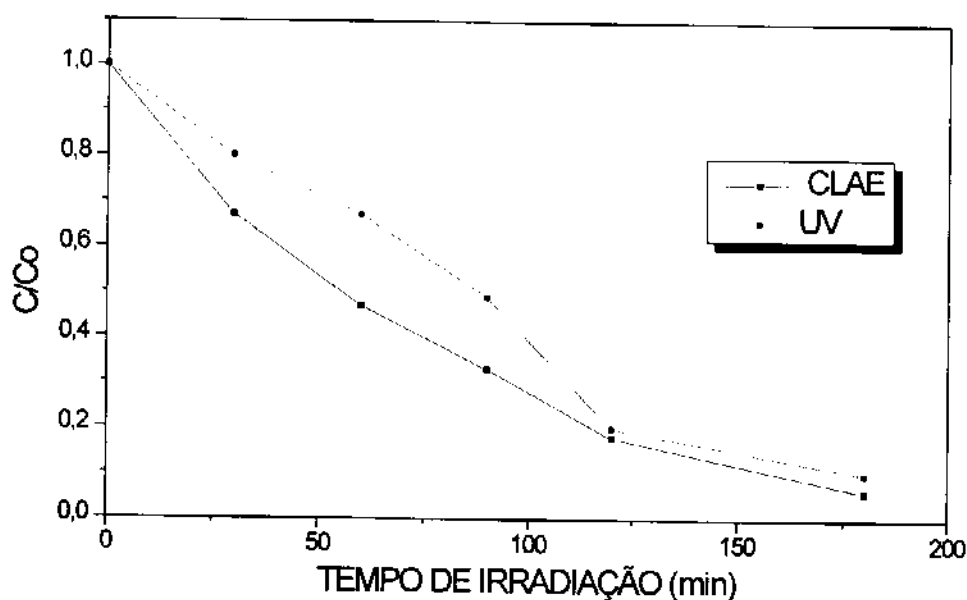
**Figura 16** - Produção de  $\text{CO}_2$  (respiração) nas culturas de *E. coli* contaminadas com amostras retiradas em intervalos de tempo regulares de irradiação de 2,3,5-TCP ( $0,15 \text{ mmol.L}^{-1}$ ).



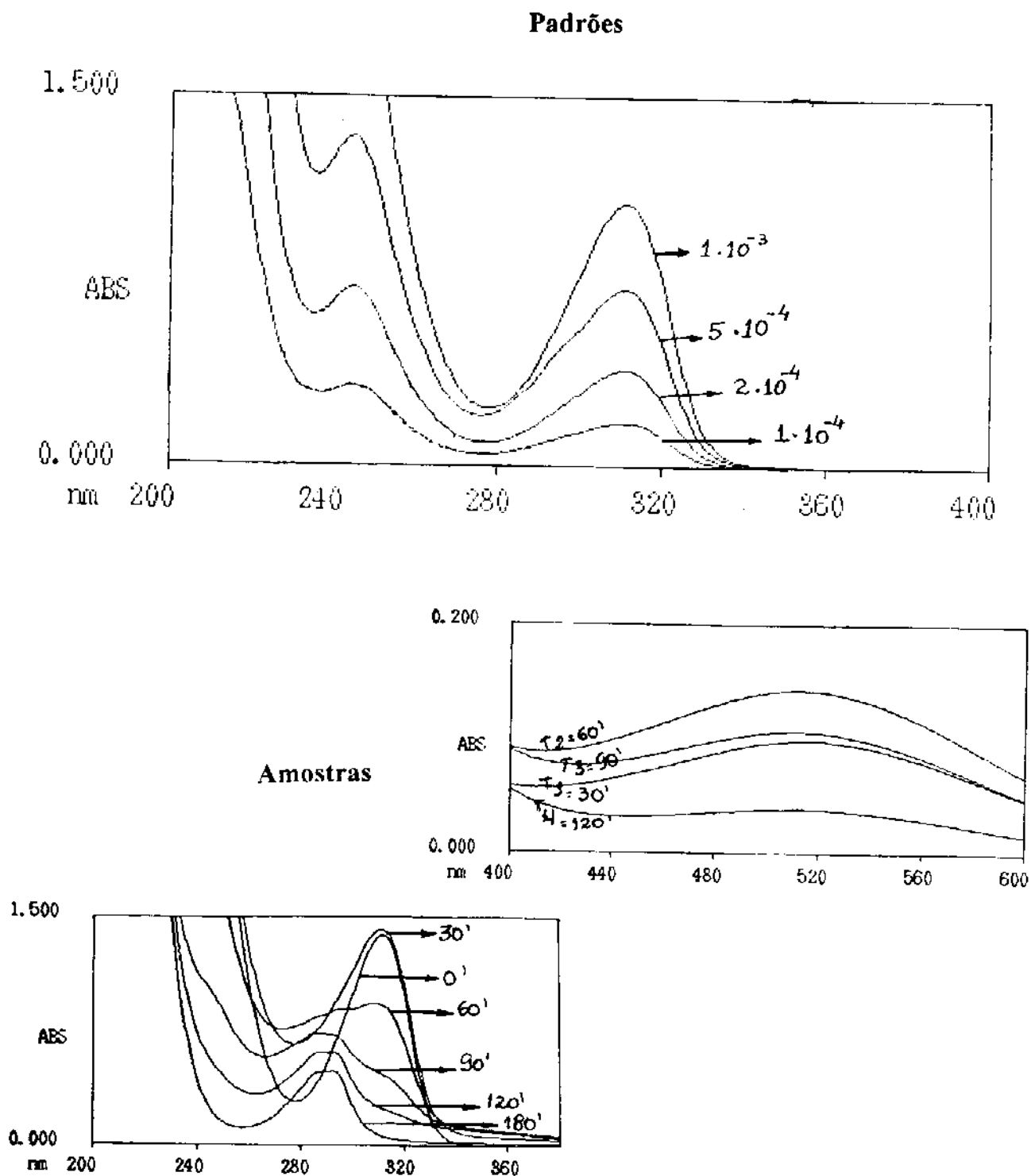
**Figura 17** - Cromatogramas e espectros de massa das espécies intermediárias detectadas por CG/EM durante a fotodegradação de TCP. Condições experimentais: concentração de 2,3,5-TCP  $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ ; tempo de irradiação da amostra de 120 min; gás de arraste: He; volume injetado:  $0,5 \mu\text{L}$ ; temperatura do injetor:  $250^\circ\text{C}$ ; coluna ultra-1.

### 3.2.3 - 2,4,6-TRICLOROFENOL

A mineralização quase que completa do composto 2,4,6-TCP numa concentração  $0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ , a pH 7,0, levou aproximadamente 3 h. Os dados obtidos através das análises de CLAE e UV durante a fotodegradação encontram-se na Figura 18. Devido a problemas técnicos, não foi possível fazer medidas de COT neste estudo. Utilizou-se então, a técnica de UV onde se pode também avaliar o decaimento de carbono da solução fotodegradada. Para este composto a formação do intermediário ocorre no início da fotocatalise. Isto é observado visualmente devido à mudança de coloração (incolor para róseo) da solução logo que se inicia a irradiação. Após 3 h de fotodegradação a coloração desaparece, indicando que as espécies intermediárias que se formaram durante o processo também foram degradadas. Observou-se através do espectro de absorção no UV, mostrado na Figura 19, que houveram mudanças durante o tratamento com formação de produtos intermediários. Após 1 h de fotodegradação a absorção no visível ( $\lambda = 510 \text{ nm}$ ) é mais intensa.



**Figura 18** - Diminuição na concentração do composto 2,4,6-TCP ( $0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) durante o tempo de irradiação.



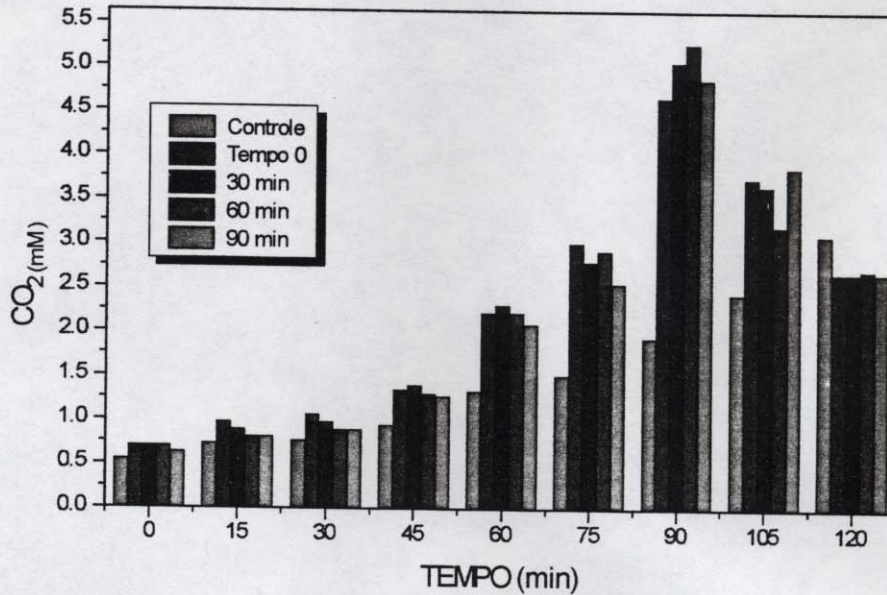
**Figura 19** - Espectro de absorção UV-Vis. para o composto 2,4,6-TCP. Condições experimentais: concentração de 2,4,6-TCP ( $0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ );  $\text{TiO}_2 = 0,1 \%$  (p/v);  $\lambda = 308$  e  $510 \text{ nm}$  ( $\lambda$  de absorção máxima).

Testes de toxicidade também foram feitos com alíquotas retiradas em função do tempo de exposição à luz. A Figura 20 apresenta a resposta microbiana para o composto 2,4,6-TCP. Pode-se observar através destes dados que houve um estímulo na produção de CO<sub>2</sub>. Isto é observado já no início do experimento (tempo 0, antes da irradiação) e também logo que se inicia a irradiação. Há um estímulo muito maior que o controle quando atinge 90 min de monitoramento do ensaio biológico, mas após 120 min de monitoramento ocorre uma diminuição deste sinal.

Para este composto foi constatado um comportamento diferente na produção de CO<sub>2</sub> pela cultura microbiana. Quando estressada pelo contaminante, houve uma alta produção do CO<sub>2</sub> como consequência de mudanças no metabolismo da bactéria. A possibilidade deste comportamento ser devido à formação de compostos gerados durante a fotodegradação foi eliminada, pois provas em branco foram feitas e não houve nenhuma alteração no sinal obtido pelo sistema FIA-condutométrico. Frente a este fato, procurou-se um outro método que fosse viável para determinar crescimento bacteriano. O método utilizado então foi o turbidimétrico onde monitorou-se o crescimento da biomassa bacteriana. As leituras das absorbâncias ( $\lambda = 610 \text{ nm}$ ) do ensaio com o composto fotodegradado comparados com o controle mostraram que a inibição da atividade microbiana foi mínima.

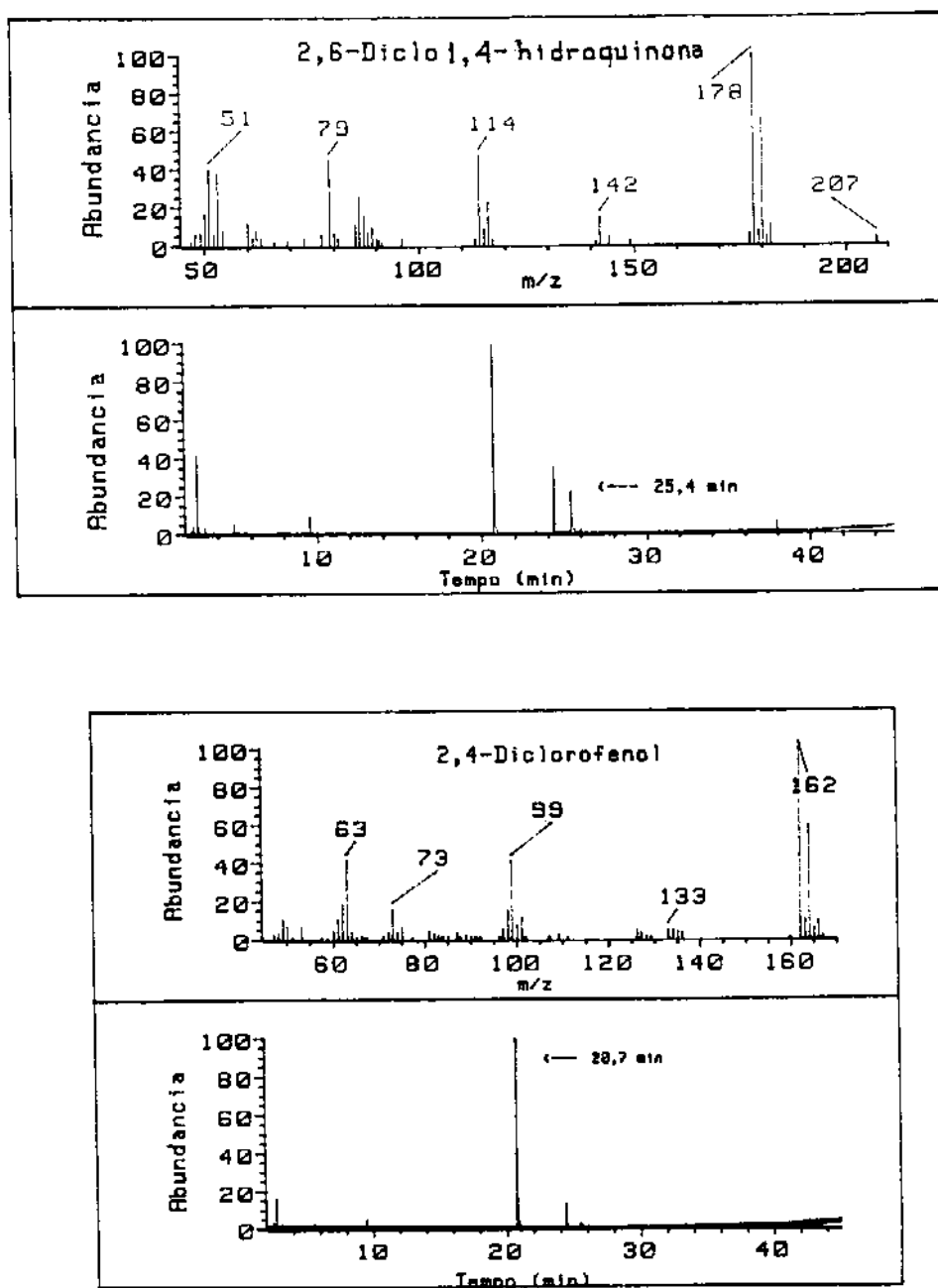
Utilizou-se também o teste de consumo de oxigênio para avaliar a toxicidade onde verificou-se também uma pequena inibição da atividade microbiana. Desta forma concluiu-se que as espécies intermediárias apresentam baixa toxicidade frente a *E. coli*. Svenson e Kaj (1989), observaram para o composto 2,4,6-TCP numa concentração de  $0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ , que a toxicidade para *Daphnia magna*, diminuiu para 60% do valor original, permanecendo constante após a continuação do tratamento fotolítico, o que indica a formação de intermediários de toxicidade similar à do composto original.





**Figura 20** - Produção de  $\text{CO}_2$  (respiração) nas culturas de *E.coli* contaminadas com amostras retiradas em intervalos de tempo regulares de irradiação de 2,4,6-TCP ( $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ ).

As análises feitas para as amostras fotodegradadas em CG/EM determinaram que os compostos intermediários são o 2,6-dicloro-1,4-hidroquinona e seus isômeros, e o 2,4-diclorofenol. Na Figura 21 são apresentados os espectros de massa e cromatogramas para o composto 2,4,6-TCP e seus sub-produtos.



**Figura 21** - Espectro de massa das espécies intermediárias detectadas por CG/EM durante a fotodegradação do composto 2,4,6-TCP. Condições experimentais: concentração de 2,4,6-TCP  $2,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ ; tempo de irradiação da amostra: 90 min; gás de arraste: He; volume injetado:  $0,5 \mu\text{L}$ ; temperatura do injetor:  $250^\circ\text{C}$ ; coluna ultra-1.

Torna-se bastante interessante comparar a fotodegradação dos compostos 2,3,5 e 2,4,6-TCP uma vez que estes são isômeros de posição. Observa-se através das Figuras 15 e 18 que a fotodegradação de 2,3,5-TCP produz uma maior concentração de intermediários em comparação ao 2,4,6-TCP. Pode-se também notar que após 180 min de irradiação da solução de 2,4,6-TCP, cerca de 95% da concentração inicial foi degradada, enquanto que, para 2,3,5-TCP este valor é de 60%.

Os tempos de meia-vida para 2,3,5 e 2,4,6-TCP, numa concentração de  $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ , foram respectivamente 127 e 44 min, o que mostram que a fotodegradação do 2,4,6-TCP é cerca de 3 vezes mais rápida que 2,3,5-TCP. Uma explicação para esta diferença na velocidade de reação pode ser dada pelo fato que átomos de cloro nas posições *orto-para* tornam o composto mais reativo, uma vez que estas são susceptíveis ao ataque.

Os testes de toxicidade mostram que os intermediários formados durante a fotodegradação do composto 2,3,5-TCP foram muito mais tóxicos do que os formados na degradação do 2,4,6-TCP. Durante a fotodegradação de uma solução  $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  de 2,4,6-TCP os ensaios de toxicidade mostraram uma inibição de 20%. Já para o composto 2,3,5-TCP, fotodegradado numa concentração 10 vezes menor ( $0,1 \text{ mmol.L}^{-1}$ ), a porcentagem de inibição foi de aproximadamente 35%.

Segundo Ruckdeschel e colaboradores (1987), a CMI para o composto 2,3,5-TCP é de  $0,25 \text{ } \mu\text{mol.mL}^{-1}$  enquanto que para 2,4,6-TCP é  $4,0 \text{ } \mu\text{mol.mL}^{-1}$ . De acordo com estes dados 2,3,5-TCP é cerca de 3 vezes mais tóxico que 2,4,6-TCP, o que concorda com os dados obtidos neste estudo.

### 3.2.4 - ÁCIDO 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO

Para este composto observou-se que após 4 h de fotocatalise, a eficiência da mineralização foi maior que 97%. Observa-se, na Figura 22 que não há sobreposição das curvas, indicando a presença de carbono orgânico não correspondente ao composto de partida. Também observa-se para este composto que o tempo de degradação do composto de partida (curva referente aos dados obtidos por CLAE) é menor que o tempo de degradação das espécies intermediárias formadas.

O espectro de absorção no UV para o composto 2,4-D e os respectivos tempos de irradiação são mostrados na Figura 23.

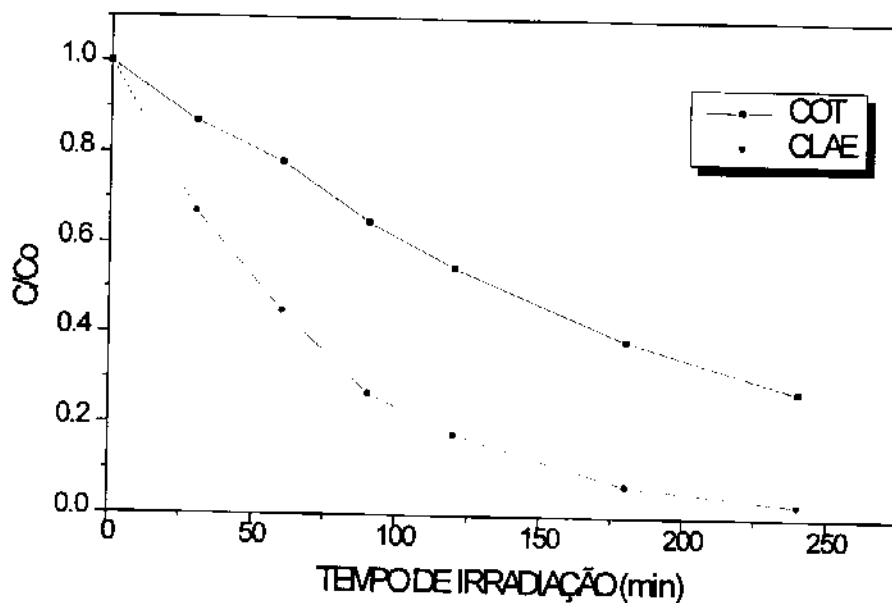
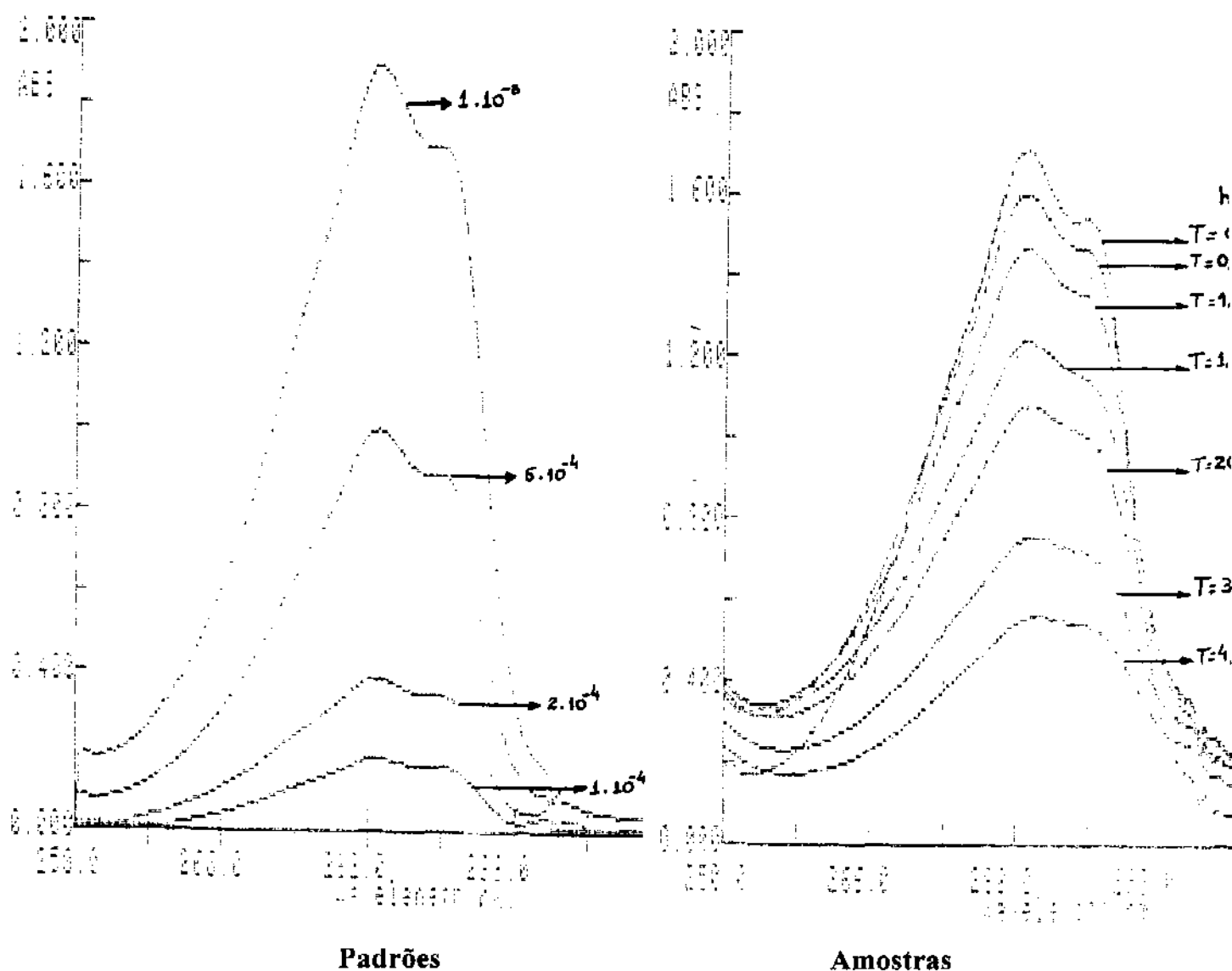
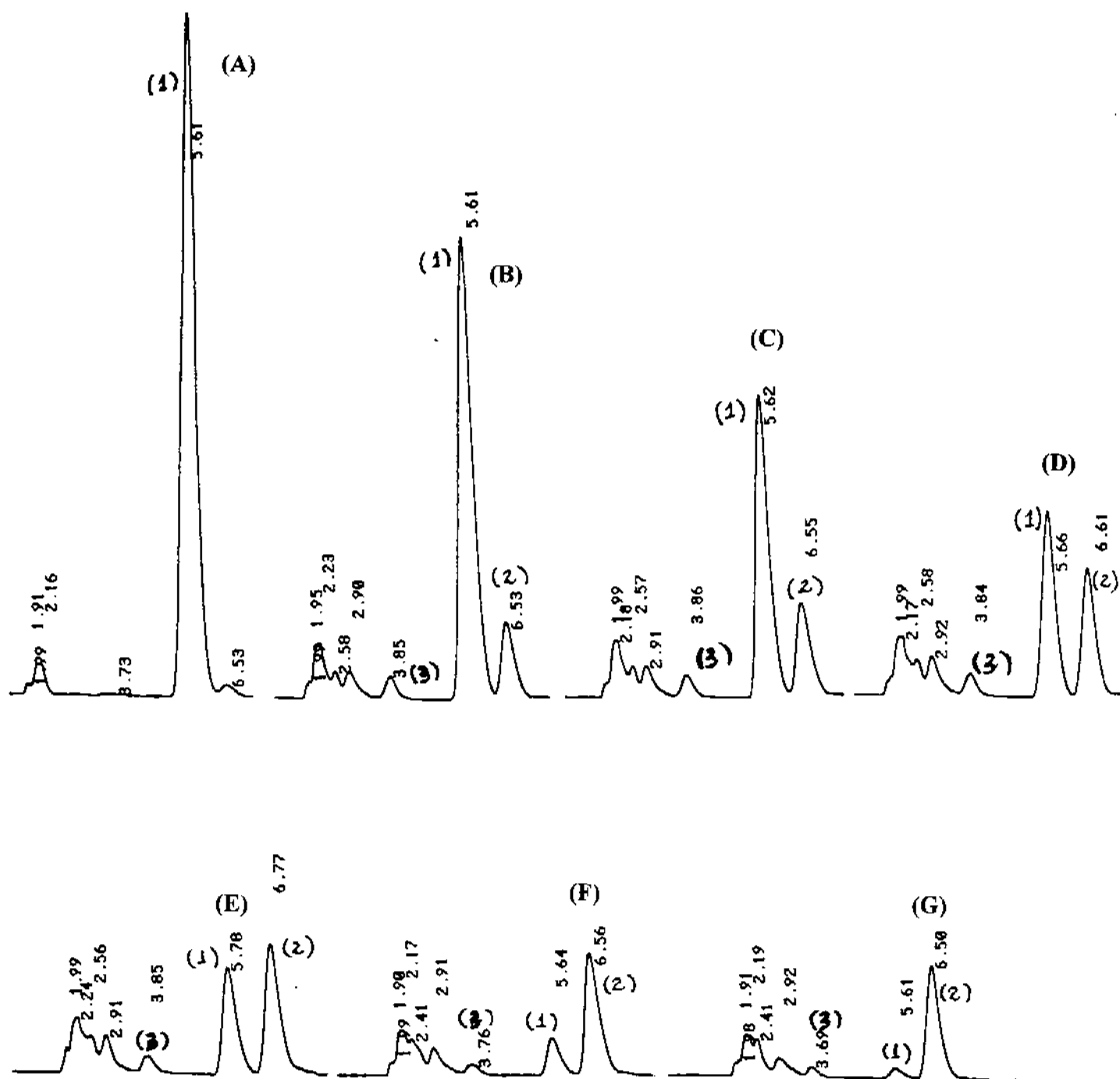


Figura 22 - Diminuição na concentração de COT e de 2,4-D ( $0,9 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) durante o tempo de irradiação.



**Figura 23** - Espectro de absorção no UV para o composto 2,4-D. Condições experimentais: concentração de 2,4-D ( $0,9 \text{ mmol.L}^{-1}$ );  $\text{TiO}_2 = 0,1 \%$  (p/v);  $\lambda = 280 \text{ nm}$ .

Na Figura 24 são apresentados os cromatogramas das amostras retiradas durante a irradiação da solução do composto de partida ( $0,9 \text{ mmol.L}^{-1}$ ). A presença de espécies intermediárias no meio reacional foi detectada através da análise por CLAE, que podem ser visualizadas nos cromatogramas através do aparecimento de novos picos em diferentes tempos de retenção.

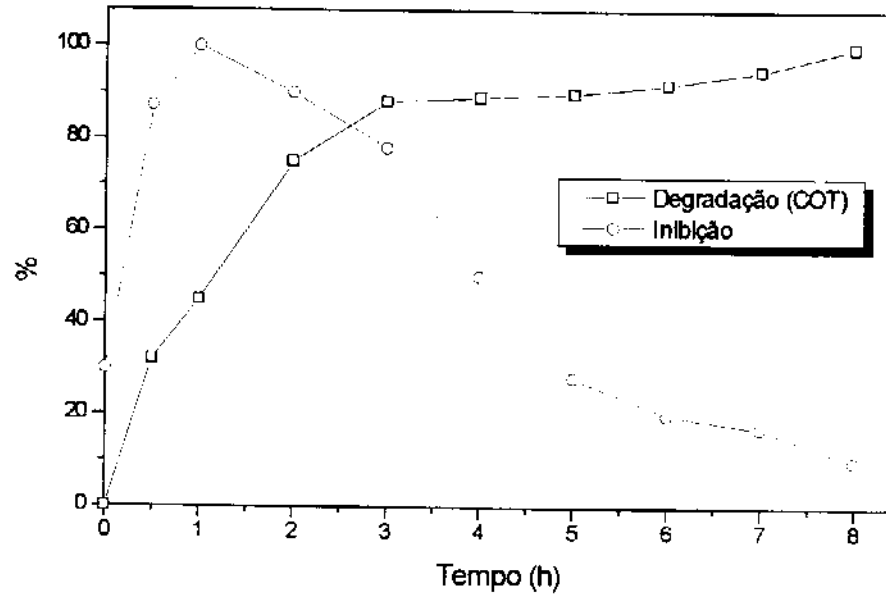


**Figura 24** - Cromatogramas (CLAE) da solução de 2,4-D. Condições experimentais: Concentração inicial; 0,9 mmol.L<sup>-1</sup>; fase móvel: 70% MeOH / 30% H<sub>2</sub>O; detecção = 280 nm; vazão: 1,0 ml/min.; vol. de injeção; 10 μL; coluna: MCH10 (10 μm, 4mm/300), C<sub>18</sub>, Varian; n° (1) = 2,4-D e n° (2) e (3) = intermediários; tempo de irradiação em minutos: (A) = 0, (B) = 30, (C) = 60, (D) = 90, (E) = 120, (F) = 180, (G) = 240.

Embora tenham sido utilizados vários solventes para a extração dos compostos intermediários, a identificação através de CG/EM não foi possível, devido, provavelmente, ou à baixa concentração dos mesmos ou a ineficiência do processo de extração utilizado.

Quanto ao ensaio de toxicidade, problema semelhante ao 2,4,6-TCP ocorreu para o 2,4-D, impossibilitando a avaliação da toxicidade das espécies intermediárias. Como não houve inibição do crescimento bacteriano, pode-se estimar que os intermediários não apresentam toxicidade frente a *E. coli*, tendo um comportamento semelhante ao 2,4,6-TCP.

Estudando a fotodegradação do 2,4-D numa concentração de 50 mg.L<sup>-1</sup>, Huang (1994) utilizou o Microtox (teste de toxicidade que utiliza a bactéria luminescente, *Photobacterium Phosphoreum*) para avaliar a toxicidade das soluções. Este teste envolve medidas da quantidade de luz emitida pela bactéria antes e depois da adição do agente tóxico. Huang observou que a toxicidade da solução aumenta rapidamente na 1ª hora de reação, isto indica que produtos tóxicos foram formados assim que o composto inicialmente tóxico foi fotocatalisado. Com o andamento da reação fotocatalítica, a inibição diminui gradualmente pois, os produtos tóxicos estão sendo oxidados. Eventualmente, após 8 h de tratamento, a toxicidade da solução tratada é menor que a do composto inicial, como é mostrado na Figura 25.



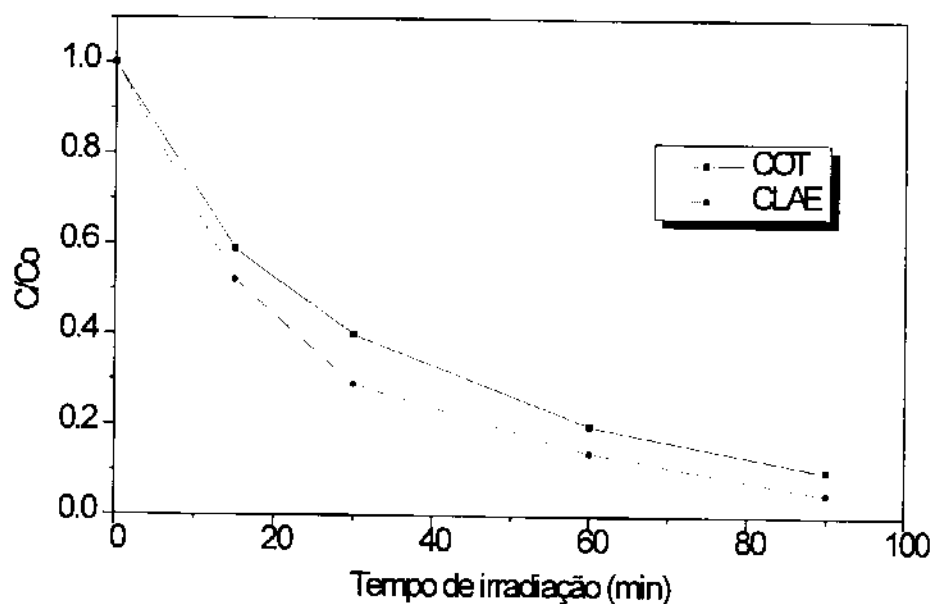
**Figura 25** - Avaliação da toxicidade através do teste Microtox para o composto 2,4-D fotodegradado e Carbono Orgânico Total em função do tempo de irradiação (Huang, 1994).

No estudo feito por Huang, a oxidação incompleta resultou em produtos intermediários mais tóxicos que o composto de partida. Esta informação indica que a completa mineralização do composto e de seus produtos intermediários é necessária.

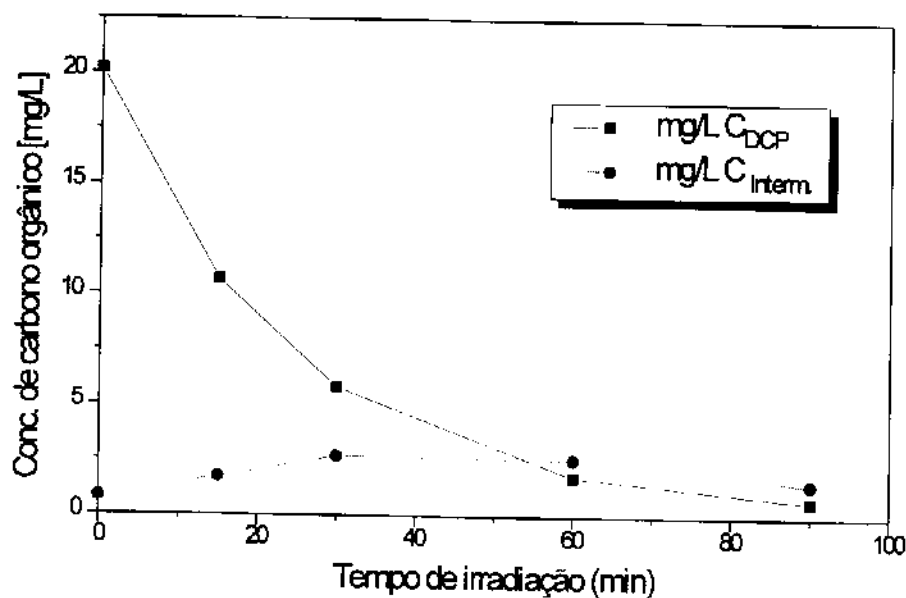


### 3.2.5 - 2,4-DICLOROFENOL

O composto 2,4-DCP foi quase que completamente destruído após 3 h de tratamento fotocatalítico para uma concentração de  $0,3 \text{ mmol.L}^{-1}$ . Através dos dados obtidos de carbono orgânico total e cromatografia líquida mostrados na Figura 26, observou-se que pequena quantidade de intermediário foi formado no processo. A Figura 27 apresenta a quantificação de carbono das espécies intermediárias formadas durante a fotodegradação do 2,4-DCP.

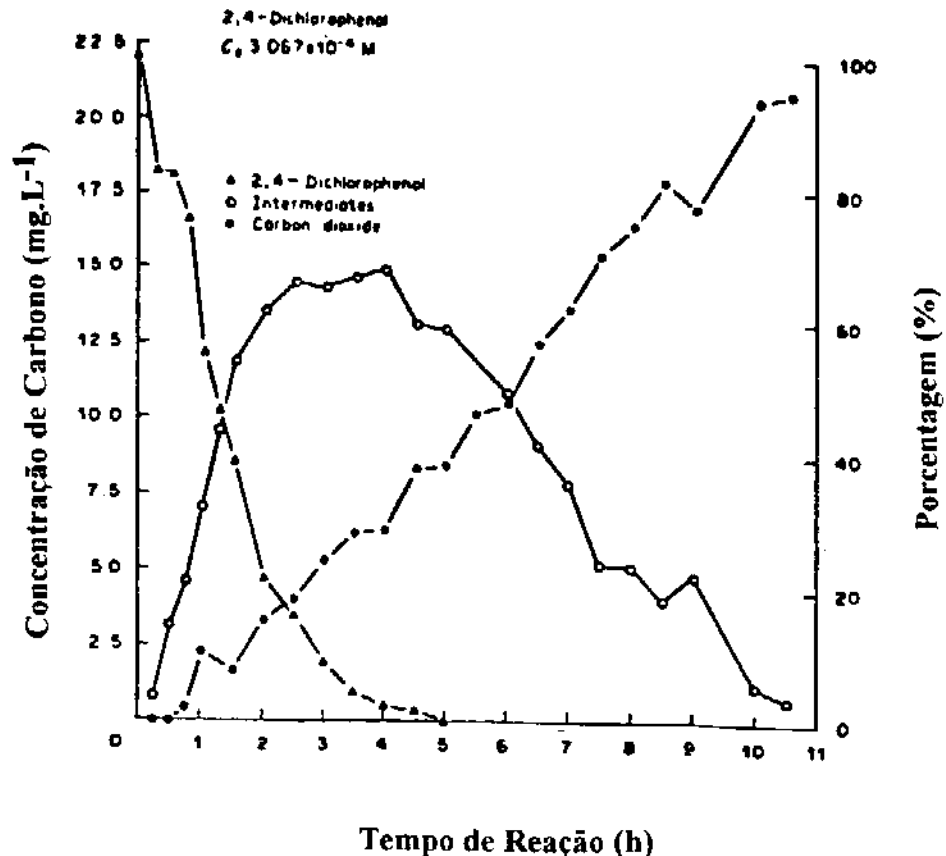


**Figura 26** - Diminuição na concentração de COT e de 2,4-DCP ( $0,3 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) durante o tempo de irradiação



**Figura 27** - Fotodestruição de 2,4-DCP e concomitante aparecimento de produtos intermediários formados durante a irradiação da solução  $0,3 \text{ mmol.L}^{-1}$  do composto mãe. Valores expressos em termos da concentração de carbono orgânico.

Para Hsieh e Young Ku (1992), que estudaram a degradação do 2,4-DCP, a completa destruição foi observada com 4-5 h de irradiação, mas a mineralização total dos intermediários da reação foi observada aproximadamente 10 h. Na Figura 28 encontram-se os resultados obtidos pelos autores durante a destruição do 2,4-DCP.

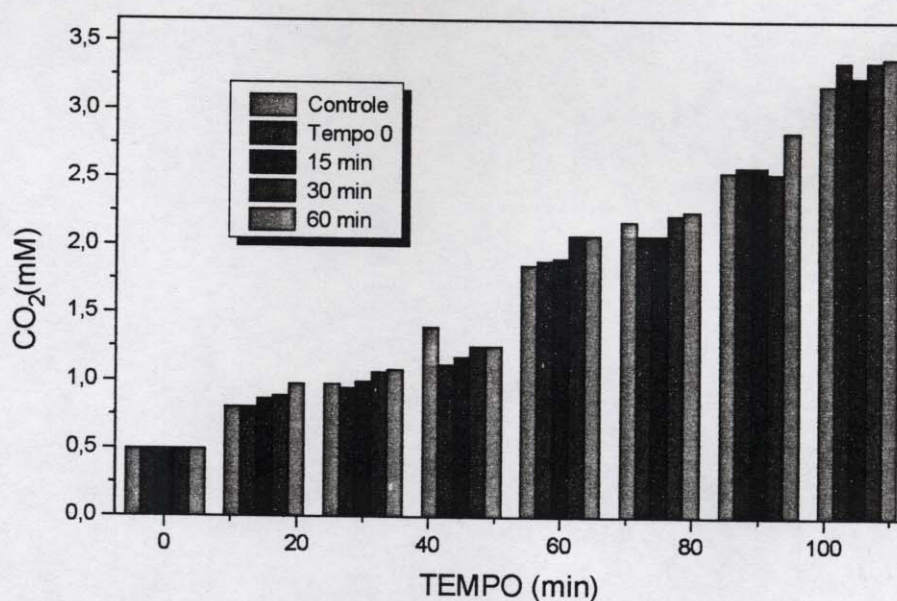


**Figura 28** - Distribuição de carbono na decomposição fotocatalítica do 2,4-DCP na presença de  $TiO_2$  em  $pH = 5,0$  (Hsieh e Ku, 1992).

Svenson e Kaj (1989) verificaram os efeitos de clorofenóis em *Daphnia magna*, após fotólise com luz UV, e encontraram que a toxicidade para o composto 2,4-DCP diminuiu com o tratamento e observam efeitos pouco significativos dos produtos de degradação.

Segundo Manilal e colaboradores (1992), nos estudos feitos com o composto 2,4-DCP ( $0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) não houve mudança significativa na toxicidade durante 3 h de tratamento fotocatalítico.

Neste estudo, para as concentrações estudadas do 2,4-DCP não foi observada toxicidade inicial e também dos intermediários formados durante a fotodegradação. A Figura 29 apresenta os resultados obtidos para o teste de toxicidade através da atividade microbiana.

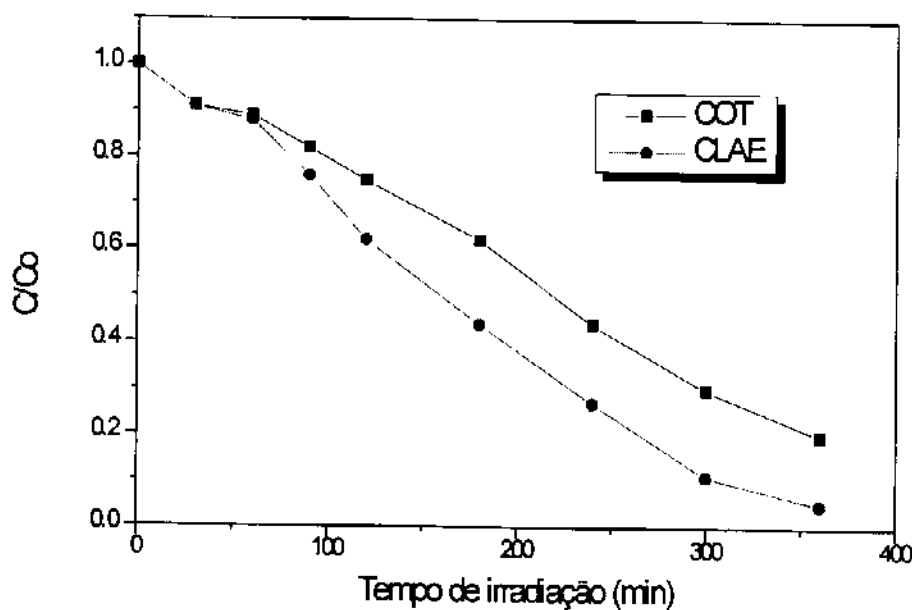


**Figura 29** - Produção de CO<sub>2</sub> (respiração) nas culturas de *E.coli* contaminadas com amostras retiradas em intervalos de tempos regulares de irradiação de 2,4-DCP (0,3 mmol.L<sup>-1</sup>).

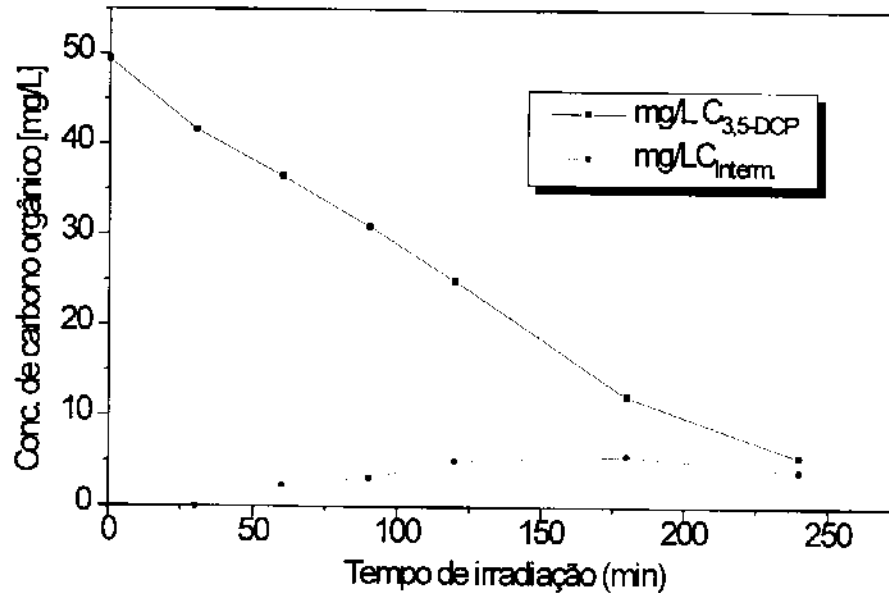
### 3.2.6 - 3,5-DICLOROFENOL

Para este composto observou-se que numa concentração de  $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ , após 6 h de oxidação fotocatalítica a eficiência da mineralização foi de aproximadamente 98 %, como mostra a Figura 30. Observa-se a não sobreposição das curvas, dados referentes às análises de CLAE e COT, indicando que o carbono orgânico determinado não corresponde ao composto de partida e sim às espécies intermediárias formadas. Inicialmente a concentração de COT e a concentração do composto mãe foi a mesma durante até 30 minutos após iniciada a irradiação, somente após 60 minutos ocorreu a formação de espécies intermediárias provenientes da decomposição fotocatalítica do composto de partida.

A Figura 31 apresenta a quantificação de carbono orgânico das espécies intermediárias formadas durante a fotodegradação do 3,5-DCP.



**Figura 30** - Diminuição na concentração de COT e de 3,5-DCP ( $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) durante o tempo de irradiação

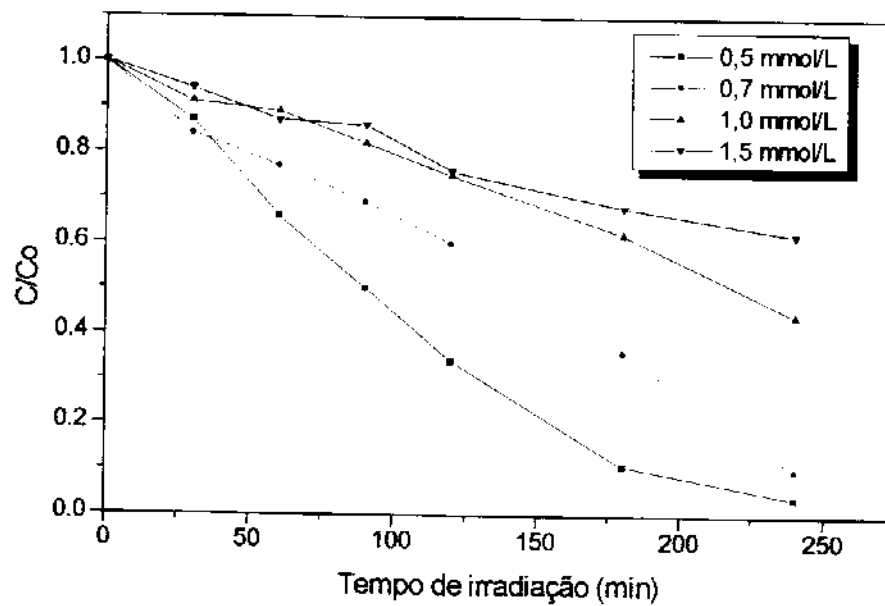


**Figura 31** - Fotodestruição do 3,5-DCP e concomitante aparecimento de produtos intermediários formados durante a irradiação da solução  $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  do composto mãe. Valores expressos em termos da concentração de carbono orgânico.

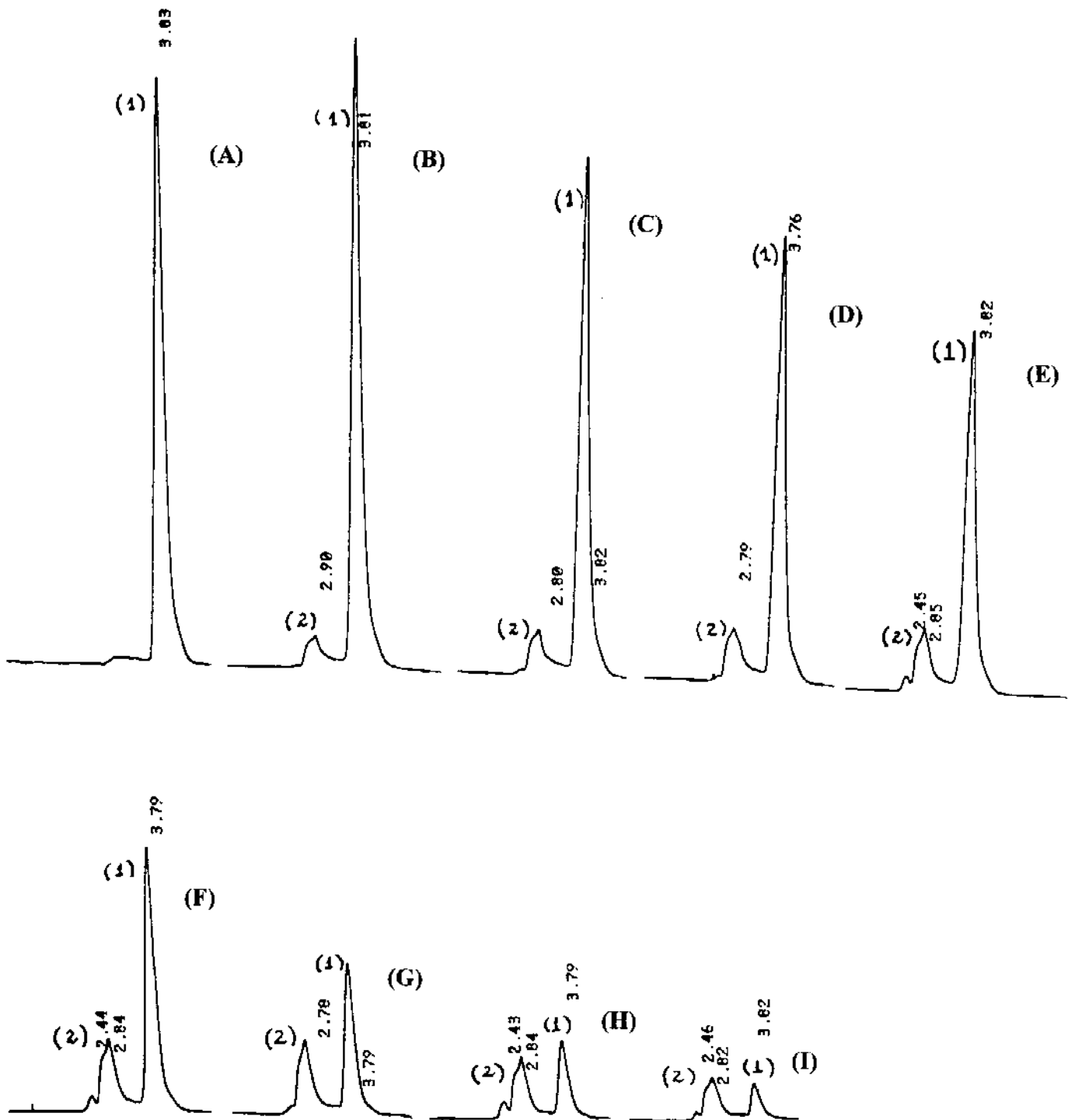
Observa-se através da Figura 32 que para uma concentração maior a eficiência da fotodegradação diminui. Comparando-se concentrações iniciais de  $1,5 \text{ mmol.L}^{-1}$  e  $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  após 4 h de irradiação as concentrações finais foram, respectivamente,  $0,87 \text{ mmol.L}^{-1}$  e  $0,27 \text{ mmol.L}^{-1}$ . Portanto, enquanto a concentração inicial aumenta 50%, a velocidade de reação diminui aproximadamente 3 vezes.

Na Figura 33 são apresentados os cromatogramas do composto para diferentes amostras em diferentes tempos de irradiação. Observou-se o aparecimento de novos picos em diferentes tempos de retenção.

Através da análise de CG/EM foi identificado o composto intermediário formado durante o processo fotocatalítico. Este composto é o 2,5-dicloro-1,4-hidroquinona e seus isômeros de posição. Na Figura 34 é apresentado o cromatograma e o espectro de massa correspondente ao composto intermediário encontrado nas amostras analisadas durante a fotodegradação.

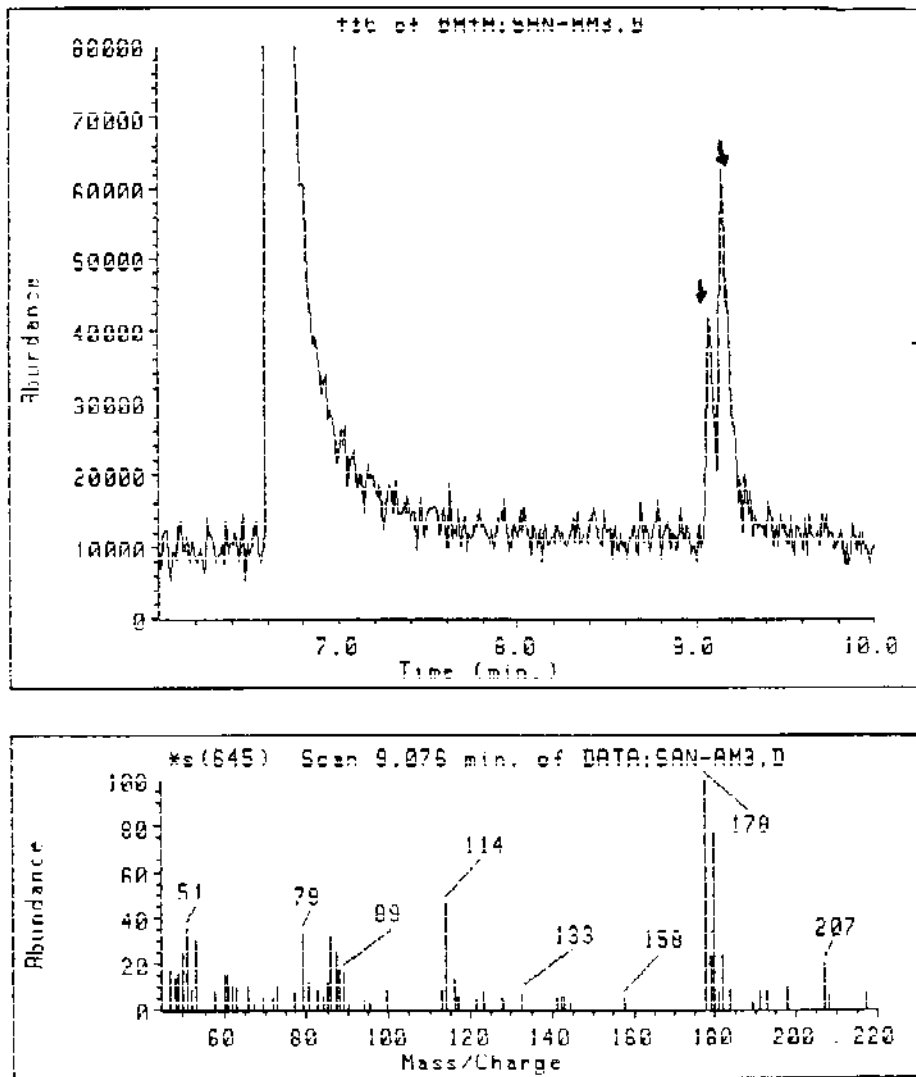


**Figura 32** - Eficiência da fotodegradação para diferentes concentrações através da análise de Carbono Orgânico Total



**Figura 33** - Cromatogramas (CLAE) da solução de 3,5-DCP. Condições experimentais: Concentração inicial:  $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ ; fase móvel: 90% MeOH /10%  $\text{H}_2\text{O}$ ; detecção = 280 nm; vazão:  $2,0 \text{ mL/min.}$ ; vol. de injeção:  $10\mu\text{L}$ ; coluna: MCH10 ( $10\mu\text{m}$ ,  $4\text{mm}/300$ ),  $\text{C}_{18}$ , Varian; n° (1) = 3,5-DCP e n° (2) = intermediário; tempo de irradiação em minutos: (A) = 0, (B) = 30, (C) = 60, (D) = 90, (E) = 120, (F) = 180, (G) = 240, (H) = 300, (I) = 360.

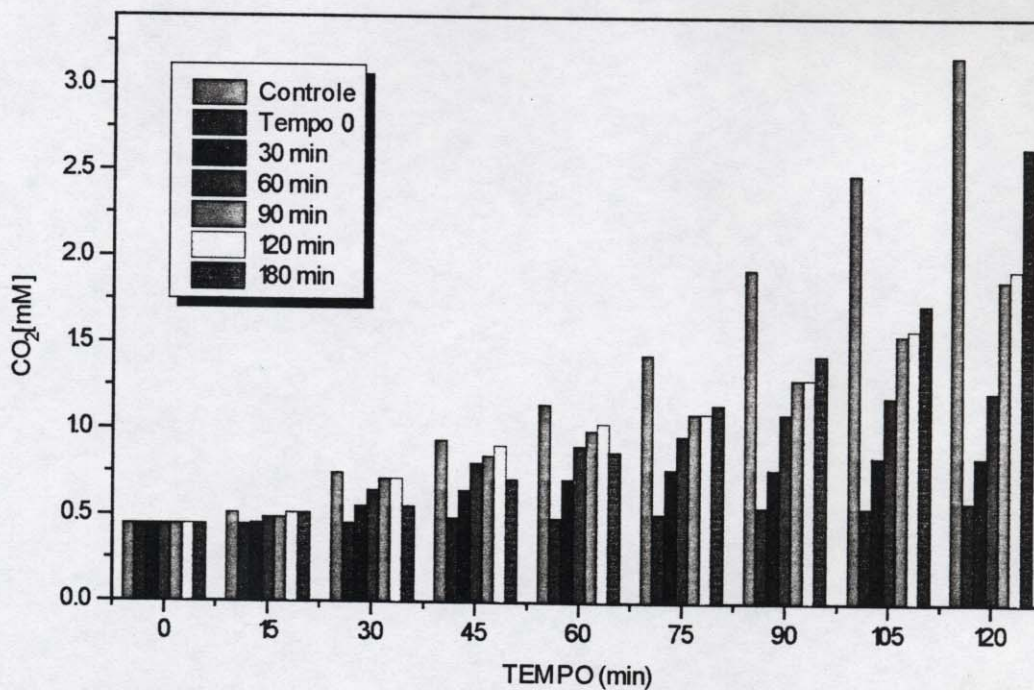




### 2,5-dicloro-1,4-hidroquinona

**Figura 34** - Cromatograma e espectro de massa da espécie intermediária detectada por CG/EM durante a fotodegradação do composto 3,5-DCP. Condições experimentais: concentração de 3,5-DCP  $0,2 \text{ mmol.L}^{-1}$ ; tempo irradiação da amostra de 60 min; gás de arraste: He; volume injetado:  $0,5 \mu\text{L}$ ; temperatura do injetor:  $250^\circ\text{C}$ ; coluna ultra-1.

No tratamento fotocatalítico do composto 3,5-DCP também pode ser observada a formação de espécies intermediárias tóxicas através de ensaios de toxicidade bacteriano e também através da análise de consumo de  $O_2$ . Ambos os testes demonstraram toxicidade acentuada do composto. Os dados da atividade microbiana para uma concentração de 0,7 mmol/L encontram-se na Figura 35. Na mineralização do 3,5-DCP, foi observado que o composto inicialmente tóxico, quando fotodegradado tem diminuída sua toxicidade com o tempo de irradiação. No final do processo, o composto apresenta pouca inibição na respiração bacteriana.



**Figura 35** - Produção de  $CO_2$  (respiração) nas culturas de *E.coli* contaminadas com amostras retiradas em intervalos de tempo regulares de irradiação de 3,5-DCP ( $0,7 \text{ mmol.L}^{-1}$ ).

Comparando-se a fotodegradação dos isômeros de posição 3,5 e 2,4-DCP, observa-se que o 2,4-DCP numa concentração  $0,3 \text{ mmol.L}^{-1}$  foi fotodegradado em 97% após 90 min de irradiação, enquanto que  $0,2 \text{ mmol.L}^{-1}$  de 3,5-DCP foi fotodegradado em 80% no mesmo intervalo de tempo.

Os tempos de meia-vida para 2,4 e 3,5-DCP foram, respectivamente, 21,6 e 36 min. Portanto, a fotodegradação de 3,5-DCP é mais lenta que a de 2,4-DCP.

Testes de toxicidade feitos para 3,5-DCP numa concentração  $0,2 \text{ mmol.L}^{-1}$  apresentaram uma porcentagem de inibição de 65% (amostra referente a 60 min de irradiação), enquanto que para 2,4-DCP numa concentração de  $0,3 \text{ mmol.L}^{-1}$  não foi observada toxicidade. Portanto, durante a fotodegradação de 3,5-DCP compostos intermediários tóxicos foram formados. Segundo Ruckdeschel e colaboradores (1987), a CMI para 3,5-DCP é  $0,062 \text{ } \mu\text{mol/mL}$  e para 2,4-DCP é  $1,0 \text{ } \mu\text{mol/mL}$ . De acordo com estes dados, 3,5-DCP é cerca de 16 vezes mais tóxico que 2,4-DCP, o que concorda com os resultados obtidos neste estudo.

---

## **CAPÍTULO IV**

## **CONCLUSÃO**

#### 4 - CONCLUSÃO

São várias as tecnologias aplicáveis ao tratamento de efluentes contendo compostos tóxicos. Dentre elas, a fotocatalise heterogênea tem se mostrado muito promissora na destruição de compostos organoclorados.

A degradação fotocatalítica de vários poluentes aromáticos clorados costuma envolver a formação de intermediários através da hidroxilação do anel benzênico. A orientação da hidroxilação do anel depende da natureza dos substituintes. Para clorofenóis, por exemplo, as posições *orto* e *para* são mais favorecidas (Herrmann et alii, 1993). Neste estudo, foi verificado através dos compostos 2,4,6-TCP e 2,3,5-TCP (isômeros de posição), que o composto 2,4,6-TCP foi mais rapidamente degradado (posições *orto* e *para*) que o composto 2,3,5-TCP (posições *orto* e *meta*). A ordem de degradação encontrada neste estudo foi: 2,4-D > 2,4,6-TCP  $\cong$  PCP > 3,5-DCP para uma mesma concentração (0,5 mmol/L).

A fotodegradação dos compostos estudados obedece a cinética de Langmuir-Hinshelwood que descreve a dependência, tanto da velocidade de reação como da concentração inicial do soluto. Observou-se neste estudo, que os compostos 2,4-DCP, 2,4-D, 2,3,5-TCP, 2,4,6-TCP e para 3,5-DCP em concentrações abaixo de 0,5 mmol/L que a cinética de reação foi de 1ª ordem; já para o PCP e 3,5-DCP em concentrações mais altas, foi observada cinética de ordem zero.

Durante a fotodegradação dos compostos PCP, 2,3,5- e 2,4,6-TCP observou-se uma mudança de coloração das soluções devido à formação de espécies intermediárias. Esta coloração foi observada logo que se iniciou a irradiação, e com o aumento no tempo de reação, estas espécies também foram destruídas.

O tratamento fotocatalítico de compostos aromáticos clorados mostrou-se bastante eficiente para a degradação das soluções na faixa de concentração de 0,2 até 1,0 mmol/L. Para concentrações mais altas o tratamento não foi tão eficiente pois requereu um maior tempo de irradiação. Em relação a isto, é importante salientar que, em função da acentuada toxicidade apresentada por algumas espécies intermediárias formadas, o processo fotocatalítico deve ser estendido até a ausência destas espécies tóxicas. Portanto, faz-se necessário a realização de estudos que permitam avaliar, de forma comparativa, a toxicidade destes intermediários formados.

Nesta pesquisa foram realizados testes de inibição na respiração microbiana. Através de ensaios utilizando *E.coli* ATCC 25922 como organismo teste, observou-se para os compostos pentaclorofenol, 2,3,5-triclorofenol e 3,5-diclorofenol que houve a

formação de espécies intermediárias significativamente tóxicas durante o processo de fotocatalise. Esta informação indica que é necessário um tempo maior para total destruição dos compostos estudados o que resulta na ausência de efeitos tóxicos. Embora estas espécies intermediárias apresentem diversos graus de toxicidade biológica, a extensão do tratamento leva à formação de outras espécies não tóxicas, como CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O.

Diferentes intermediários orgânicos foram gerados no processo de fotodegradação catalítica e identificados por CG/EM. Para o composto PCP foram identificados os seguintes intermediários: 2,3,5,6-tetraclorofenol, 2,3,5,6-tetracloro-1,4,-hidroquinona e 2,3,5,6-tetracloro-1,4-benzoquinona. Já para o composto 2,3,5-TCP a espécie intermediária identificada foi 2,3,5-tricloro-1,4-hidroquinona, para o composto 2,4,6-TCP as espécies intermediárias identificadas foram 2,4-diclorofenol e 2,6-dicloro-1,4-hidroquinona e para o composto 3,5-DCP a espécie intermediária identificada foi 2,5-dicloro-1,4-hidroquinona ou isômeros de posição.

De acordo com estes resultados, onde compostos aromáticos clorados foram mineralizados, demonstrou-se o potencial de aplicação da fotocatalise heterogênea na remoção de compostos orgânicos potencialmente tóxicos.

**CAPÍTULO V**  
**REFERÊNCIAS**

## V - REFERÊNCIAS

- Alberici, R. (1992). Fotodegradação de fenol e fenóis clorados catalisados por dióxido de titânio. Tese de mestrado, Instituto de Química, UNICAMP.
- Alberici, R., W. F. Jardim (1994). Photocatalytic degradation of phenol and chlorinated phenols using Ag-TiO<sub>2</sub> in a slurry reactor. *Wat. Res.*, 28 : 1845 - 1849.
- Bertoletti, E. (1990). Toxicidade e concentração de agentes tóxicos em efluentes industriais. *Ciência e Cultura*, 42 : 271-277.
- Blum, D. J. W., R. E. Speece (1991). A database of chemical toxicity to environmental bacteria and its use in interspecies comparisons and correlations. *Res. J. Water Pollut. Control. Fed.*, 63 : 198-207.
- Brezová, V., A. Stasko e L. Lapčík Jr. (1991). Electron paramagnetic resonance study of photogenerated radicals in titanium dioxide powder and its aqueous suspensions. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 59 : 115-121.
- Gary, K. C. L., S. R. McEvoy e R. W. Matthews (1991). Formation of nitrate and ammonium ions in titanium dioxide mediated photocatalytic degradation of organic compounds containing nitrogen atoms. *Environ. Sci. Technol.*, 25 : 460-467.
- Guimarães, J. R. (1990). Determinação do dióxido de carbono por FIA. Aplicação em testes de toxicidade. Tese de mestrado, Instituto de Química, UNICAMP.
- Gribble, G W. (1994). The natural production of chlorinated compounds. *Environ. Sci. Technol.*, 28 : 310A-317A.



Hodges, L.. **Environmental Pollution**. 2ª Edição, Holt, Rinchart and Winston, 1977.

Hoffmann, H. R. e G. Mills (1993). Photocatalytic degradation of pentachlorophenol on TiO<sub>2</sub> particle: identification of intermediates and mechanism of reaction. *Environ. Sci Technol.*, 27 : 1681-1689.

Hsieh, C. e Y. Ku (1992). Photocatalytic decomposition of 2,4-Dichlorophenol in aqueous TiO<sub>2</sub> suspensions. *Wat. Res.*, 11 : 1451-1456.

Huang, C. P. e J. M. Tseng (1991). Removal of chlorophenol from water by photocatalytic oxidation. *Wat. Sci. Tech.*, 23 : 377-387.

Huang, C. P., C. Dong e Z. Tang (1993). Advanced chemical oxidation: its present role and potential future in hazardous waste treatment. *Waste Management*, 13 : 361-377.

Huang, C. P. (1994). Comunicação pessoal.

Jardim, W. F., C. Pasquini, J. R. Guimarães (1990). Short-term toxicity test using *Escherichia Coli*: monitoring CO<sub>2</sub> production by flow injection analysis. *Wat. Res.*, 24 : 351-354.

Jaworska, J. S. e T. W. Schultz (1991). Comparative toxicity and structure-activity in *Corella and Testrahymena*: monosubstituted phenols. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 47 : 57-62.

Kondo, M. M. T, (1990). Fotodegradação de compostos orgânicos por catálise heterogênea. Tese de mestrado, Instituto de Química, UNICAMP.

Ku, Y. e S-C. Ho (1990). The effect of oxidants on UV destruction of chlorophenols. *Environmental Progress*, 9 : 218-221.

- Larsen, S., H. V. Hendriksen e B. K. Ahring (1991). Potential for Thermophilic (50°C) Anaerobic Dechlorination of Pentachlorophenol in Different Ecosystems. *Appl. Environ. Microbiol.* 7 : 2085-2090.
- McNair, H. M. e B. Esquivel. **Cromatografía Líquida de Alta Presión**. The General Secretariat of the Organization of American States, Washington, D. C., 1973.
- Mäkinen, P. M., T. J. Theno, J. F. Ferguson, J. E. Ongerth e J. A. Puhakka (1993). Chlorophenol toxicity removal and monitoring in aerobic treatment: recovery from process upsets. *Environ. Sci. Technol.*, 27 : 1434-1439.
- Manilal, V. B., A. Haridas, R. Alexander e G. D. Surcnder (1992). Photocatalytic treatment of toxic organics in wastewater: toxicity of photodegradation products. *Wat. Res.*, 8 : 1035-1038.
- Matthews, R. W. (1986). Photo-oxidation of organic material in aqueous suspensions of titanium dioxide. *Wat. Res.*, 20 : 569-578.
- Matthews, R. W. (1988). Kinetics of photocatalytic oxidation of organic solutes over titanium dioxide. *Journal of Catalysis*, 111: 264-272.
- Matthews, R. W. (1990). Purification of water with near-UV illuminated suspensions of titanium dioxide. *Wat. Res.*, 5 : 653-660.
- Matthews, R. W. (1991). Environment: photochemical and photocatalytic processes. Degradation of organic compounds, p. 427-449. In "*Photochemical conversion and storage of solar energy*". Pelizzetti E. e Schiavello M. eds., Kluwer Academic Publisher, Netherlands.
- Matthews, R. W. (1992). Photocatalytic oxidation of organic contaminants in water: An aid to environmental preservation. *Pure and Appl. Chem.*, 64(9) : 1285-1290.

Middaugh, D.P., S. M. Resnick, S. E. Lantz, C. S. Heard e J. G. Mueller (1993). Toxicological Assessment of Biodegraded Pentachlorophenol: Microtox and Fish Embryos. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 24 : 165-172.

Miller, J. M.. **Chromatography: Concepts and Contrasts**. John Wiley e Sons, New York, 1988, p. 257.

Mills, A., S. Morris e R. H. Davies (1993). Photomineralisation of 4-Chlorophenol sensitised by titanium dioxide: a study of the intermediates. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 72 : 184 -191.

Mills, A., R. H. Davies e D. Worsley (1993). Water purification by semiconductor photocatalysis. *Chemical Society Reviews*, 417-425.

Ollis, D. F., Pelizzetti, E. e N. Serpone (1991). Photocatalyzed destruction of water contaminants. *Environ. Sci. Technol.*, 25 : 1523-1529.

Pichat, P., J. M. Hermann e C. Guillar (1993). Heterogeneous photocatalysis: an emerging technology for water treatment. *Catalysis Today*, 17 : 7-20.

Praire, M. R., L. R. Evans, B. M. Stange e S. L. Martinez (1993). An investigation of TiO<sub>2</sub> photocatalysis for the treatment of water contaminated with metals and organic chemicals. *Environ. Sci. Technol.*, 27 : 1776-1782.

Pelizzetti, E., V. Macrino, C. Minero, V. Carlin, E. Poramauro, O. Zerbinati e M. L. Tosato (1990). Photocatalytic degradation of atrazine and other s-triazine herbicides. *Environ. Sci. Technol.*, 24 : 1559-1565.

Porto, R. L. L., S. M. Branco, R. W. Cleary, R. M. Coimbra, S. Eiger, S. J. de Luca, V. P. Q. Nogueira e M. F. A. Porto. **Hidrologia Ambiental**. Ed. da Universidade de São Paulo, 1991, p. 57-58.

- Ruckdeschel, G., G. Renner e K. Schwarz (1987). Effects of pentachlorophenol and some of its known and possible metabolites on different species of bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 11 : 2689-2692.
- "Sigma Aldrich Library of Chemical Safety Data", 1985. Robert E. Lenza eds., 1ª edition, Estados Unidos.
- Suri, R. P. S., J. Liu, D. W. Hand, J. C. Crittenden, D. L. Perram e M. E. Mullins (1993). Heterogeneous photocatalytic oxidation of hazardous organic contaminants in water. *Water Environ. Res.* 65 : 665-673.
- Svenson, A. e L. Kaj (1989). Photochemical conversion of chlorinated phenolic substances in aquatic media as studied by AOX and Microtox tests. *The Sci. of Total Environ.* 78 : 89-98.
- Tanaka, K., K. Harada, T. Hisanaga (1990). Photocatalytic degradation of organophosphorous insecticides in aqueous semiconductor suspensions. *Wat. Res.*, 11 : 1415-1417.
- Wolff, K., D. Bockelmann e D. W. Bahnemann (1991). Mechanistic aspects chemical transformations in photocatalytic systems. "44th annual IS & T Conference" St.Paul, Minnesota/USA.
- Wong, A. S. e Crosby, D. G. (1981). Photodecomposition the pentachlorophenol in water. *J. Agric. Food Chem.*, 29 : 125-130.
- World Health Organization. **2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D)** - Environmental Aspects ,1989.