

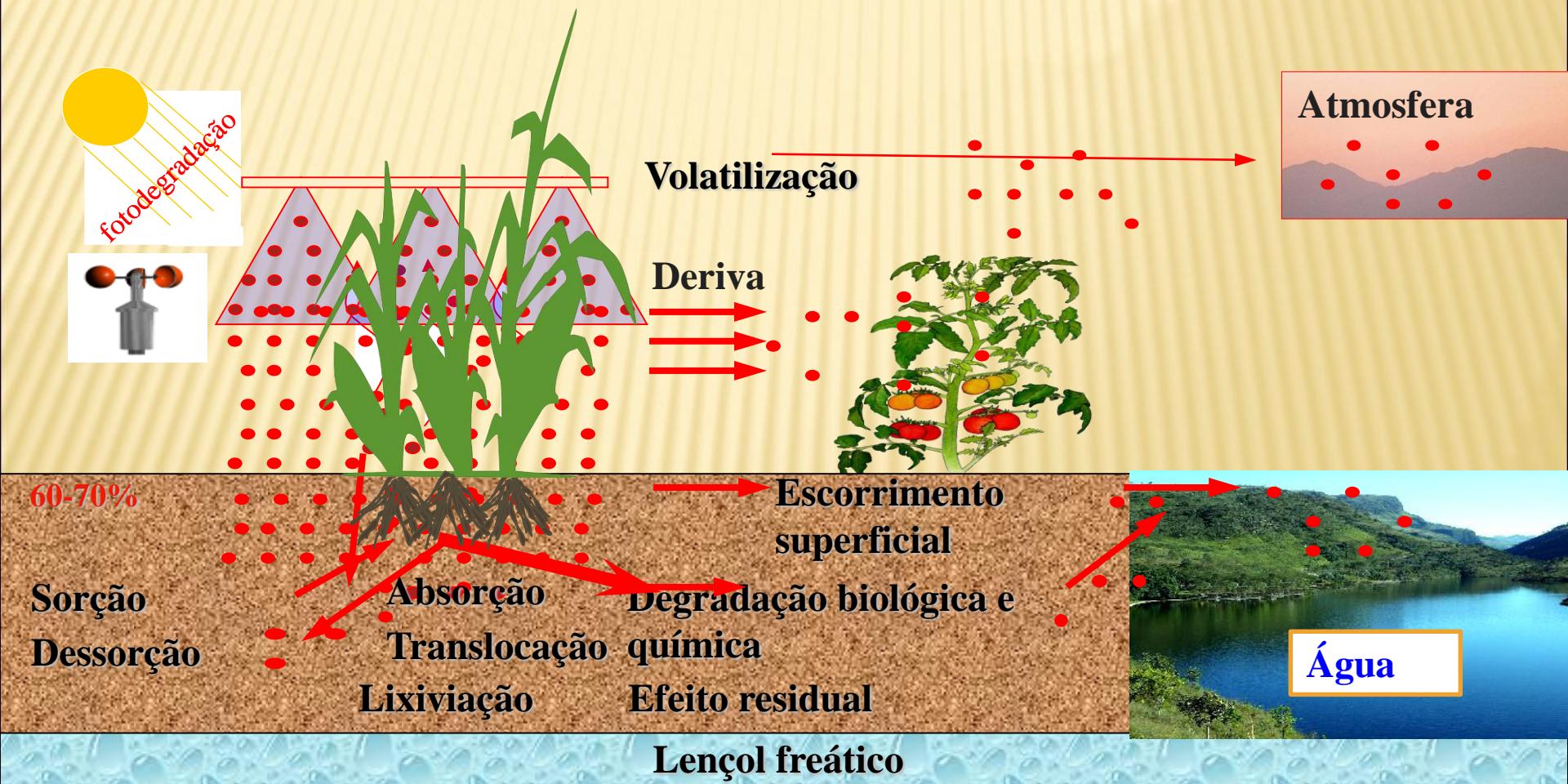
# TÉCNICAS DE RADIOMETRIA APLICADAS AOS ESTUDOS AMBIENTAIS

**Prof. Dr. Valdemar L. Tornisielo**

16/12/2015  
Brasília/DF

# INTRODUÇÃO

## COMPORTAMENTO DE PESTICIDAS NO AMBIENTE



# ESTUDOS DE SORÇÃO/DESSORÇÃO

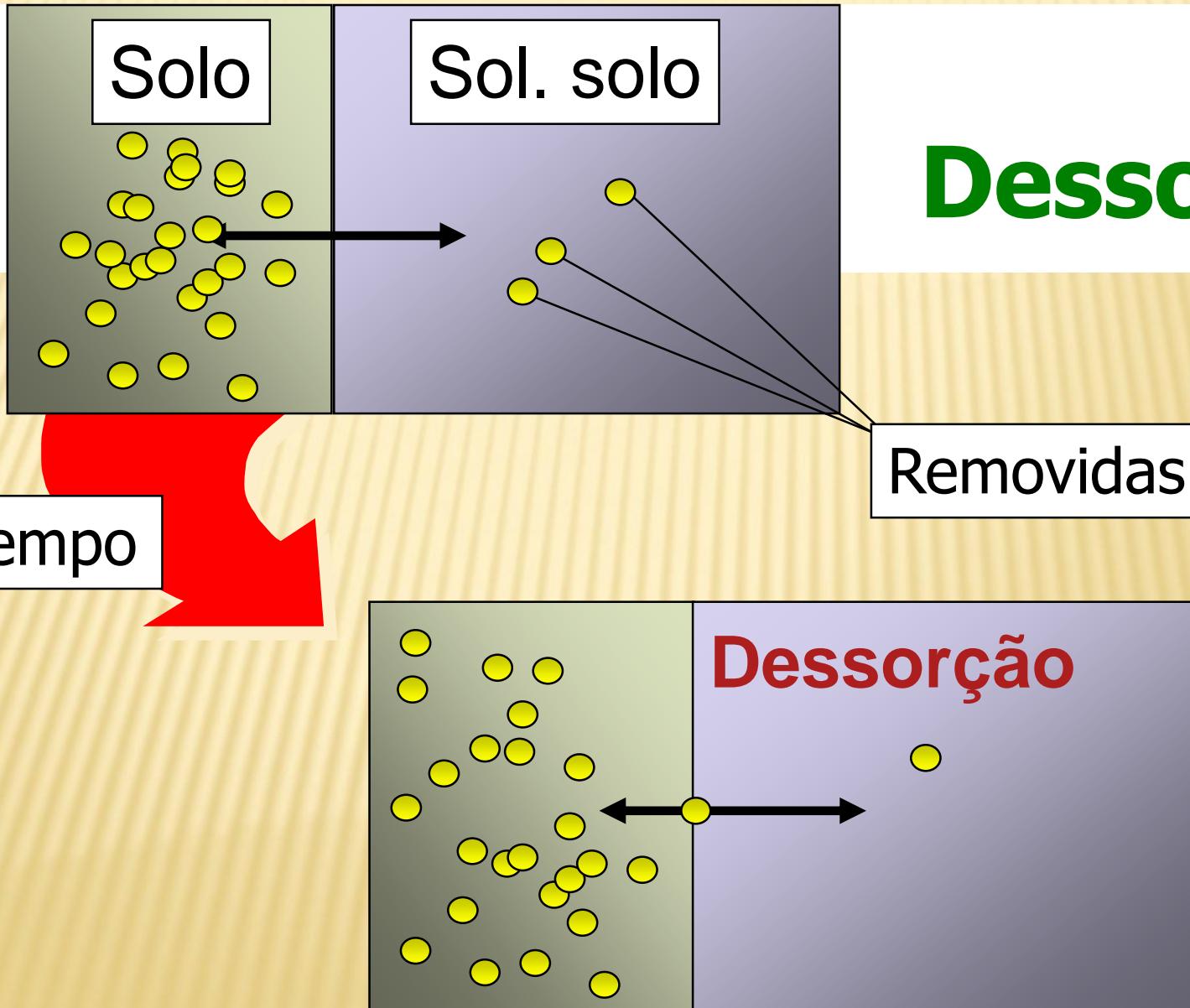
Refere-se ao potencial de retenção de uma determinada molécula junto ao solo

$$K_d = \frac{\text{quantidade do herbicida sorvido ao solo}}{\text{quantidade do herbicida na sol. solo}}$$

**Fase sólida**  
↑  
**Fase aquosa**

↑  $K_d \rightarrow \uparrow \text{sorção}$

# ESTUDOS DE SORÇÃO/DESSORÇÃO

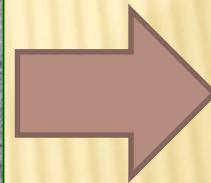


# ESTUDOS DE SORÇÃO/DESSORÇÃO

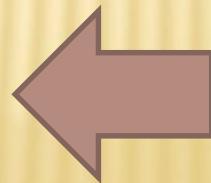


- ✖ Laboratório de Ecotoxicologia, CENA/USP
- ✖ OECD - 106 "Adsorption - Desorption Using a Batch Equilibrium Method";
- ✖ Diferentes concentrações;
- ✖ Mínimo 3 repetições.

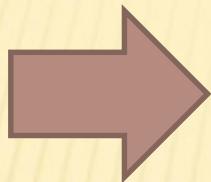
# ESTUDOS DE SORÇÃO/DESSORÇÃO



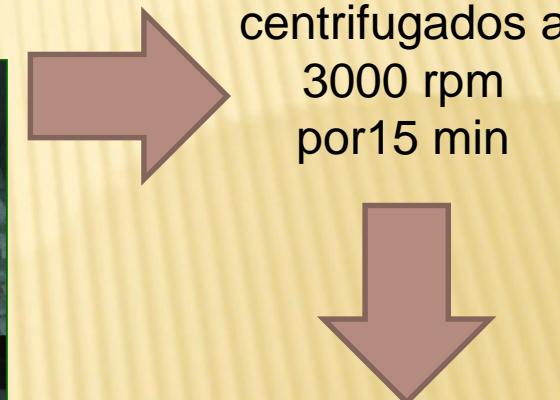
**Sorção**



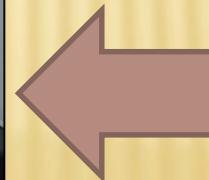
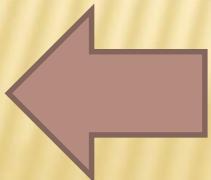
# ESTUDOS DE SORÇÃO/DESSORÇÃO



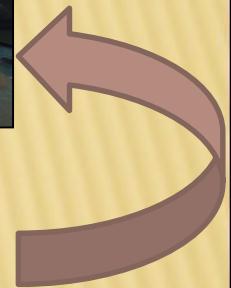
$(20 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C})$ , 24 h a 200 rpm para o equilíbrio



10 mL de  
 $\text{CaCl}_2$  0,01  
 $\text{mol L}^{-1}$



# ESTUDOS DE SORÇÃO/DESSORÇÃO



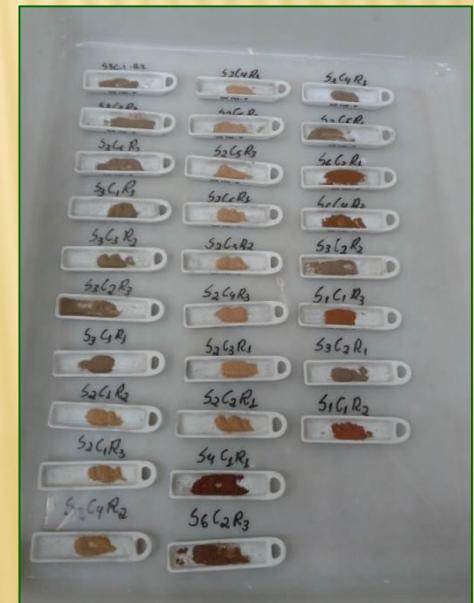
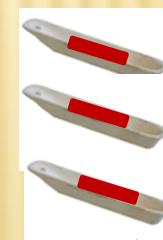
Secos em estufa a 40°C por 48 h



moídos

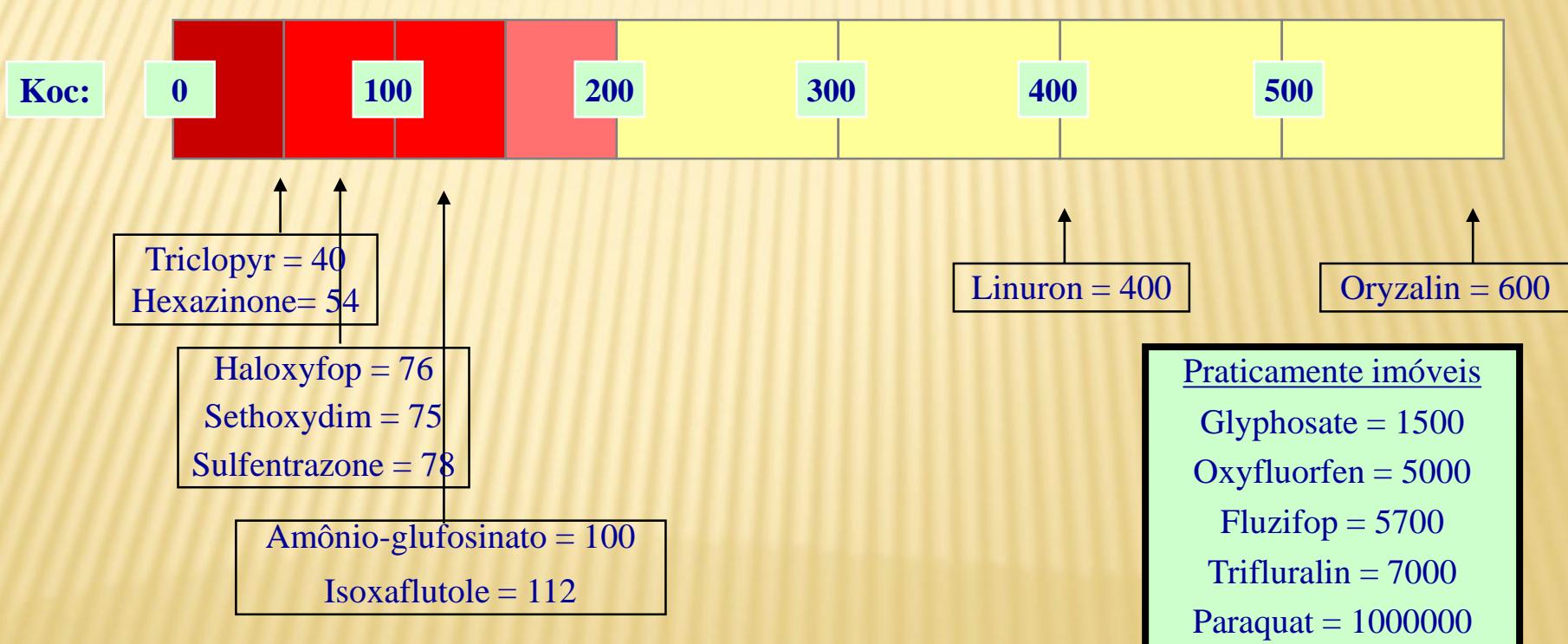


0,2 g



# ESTUDOS DE LIXIVIAÇÃO

## Lixiviação no solo

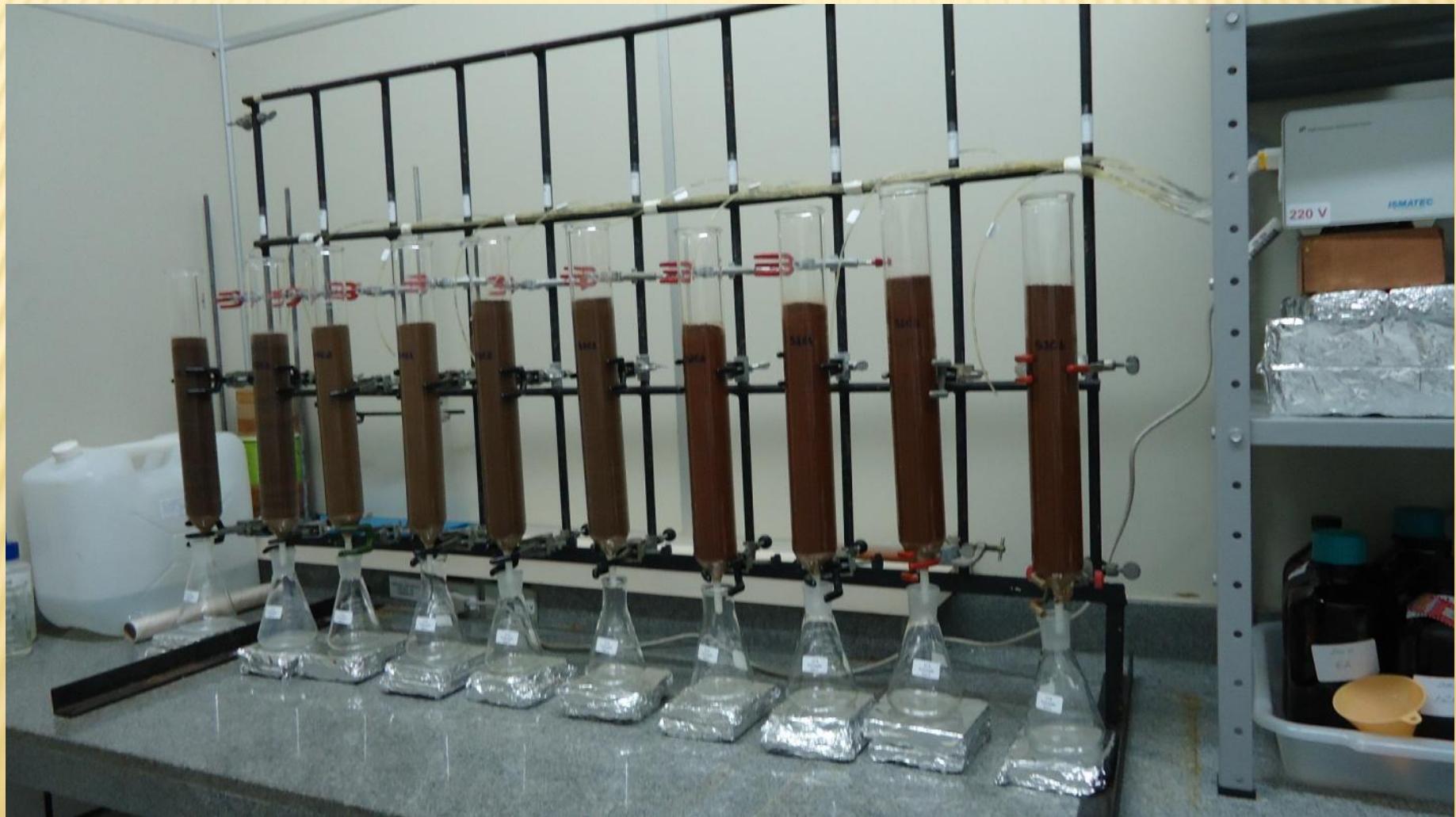


# **ESTUDOS DE LIXIVIAÇÃO**



- Método de lixiviação em colunas de solo (OECD, 2002);**
- Diferentes tipos de solos para correlacionar com as propriedades físico-químicas;**
- Mínimo 2 repetições (2 colunas por solo).**

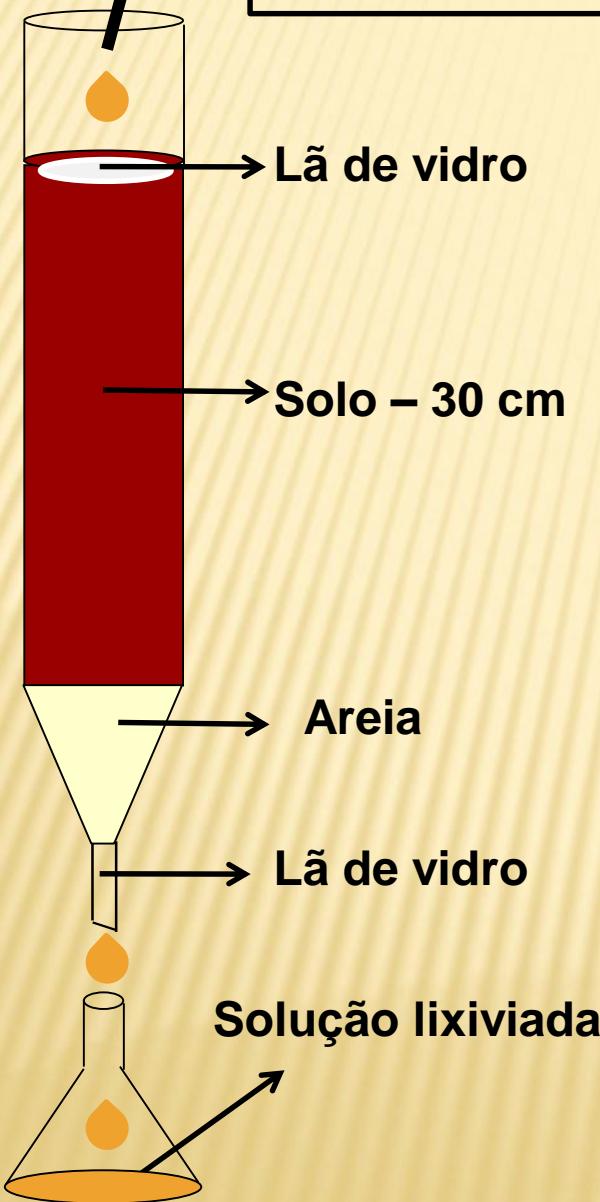
# ESTUDOS DE LIXIVIAÇÃO



## Bomba peristáltica

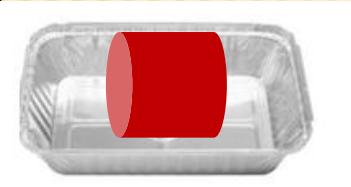
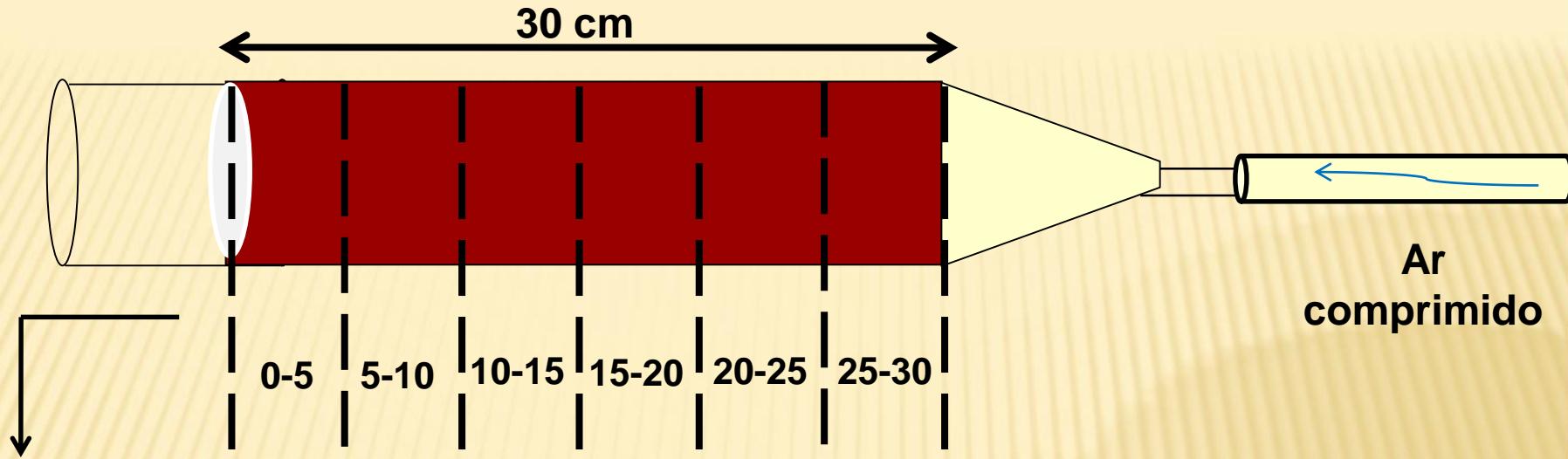
**~ 8 mL.h<sup>-1</sup> solução de CaCl<sub>2</sub> 0,01M  
~ 200 mm por 48 h**

**10 mL do lixiviado  
+  
10 mL de InstaGel**

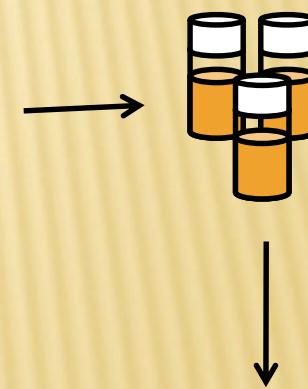
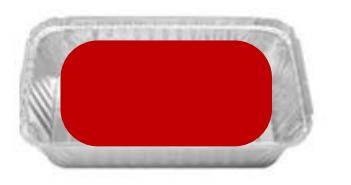


# Tempos de coleta

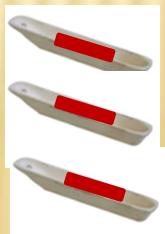




↓ Secagem



0,2 g



# Solubilidade em água ( $S_w$ )

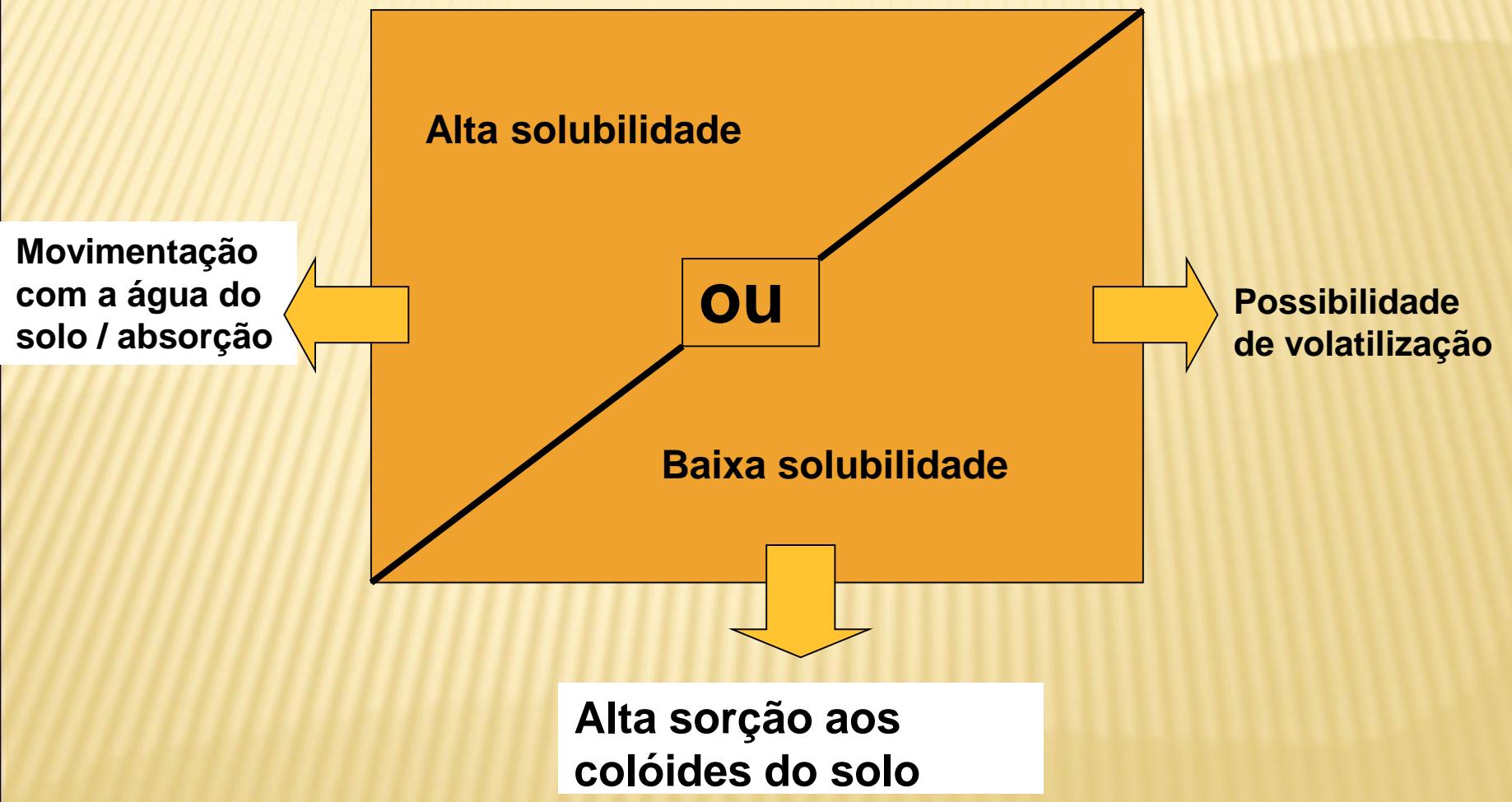
Quantidade de pesticida que é disponibilizado na solução do solo.

Relacionada à:

- sorção/dessorção
- Mobilidade no solo (lixiviação)
- Absorção
- Taxa de transformação

$$S_w = \text{Sorção} + \text{Lixiviação}$$

$$S_w = \text{Sorção} + \text{Lixiviação}$$



# **Pesticidas com baixa solubilidade em água tem maior probabilidade em apresentar:**

## **Maior retenção**

- maior sorção
- menor dessorção

## **Menor transporte**

- menor mobilidade
- menor lixiviação

## **Menor transformação**

- menor degradação
- maior persistência
- maior bioacumulação

# Pesticidas com alta solubilidade em água tem maior probabilidade em apresentar:

## Menor retenção

- menor sorção
- maior dessorção

## Maior transporte

- maior mobilidade
- maior lixiviação

## Maior transformação

- maior degradação
- menor persistência
- menor bioacumulação

# **ESTUDOS DE MOBILIDADE**

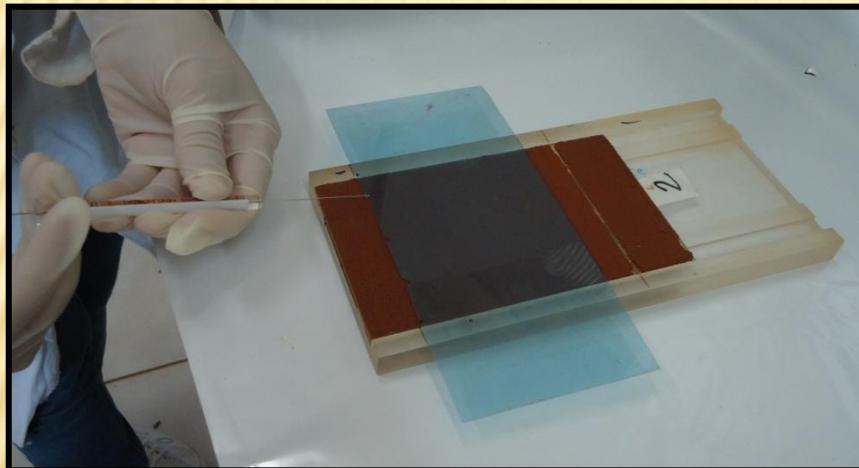
**-Método : “Soil Thin Layer Chromatography” (1998),**

**-Placas de TLC**

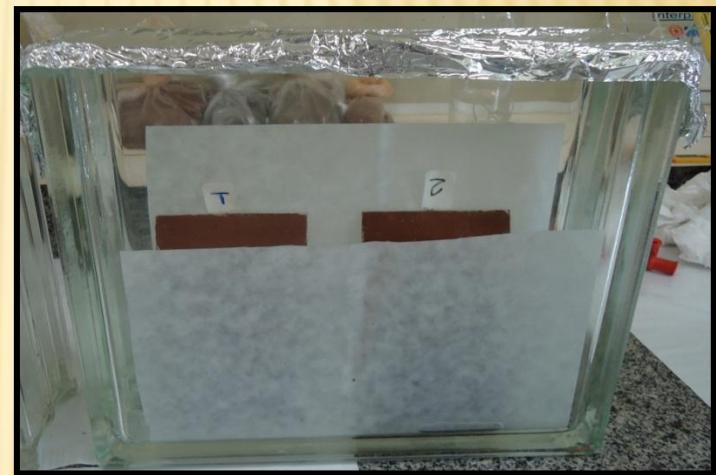
**- Coeficiente de mobilidade ( $R_f$ )**

$$R_f = \frac{D_p}{D_a}$$

# ESTUDOS DE MOBILIDADE

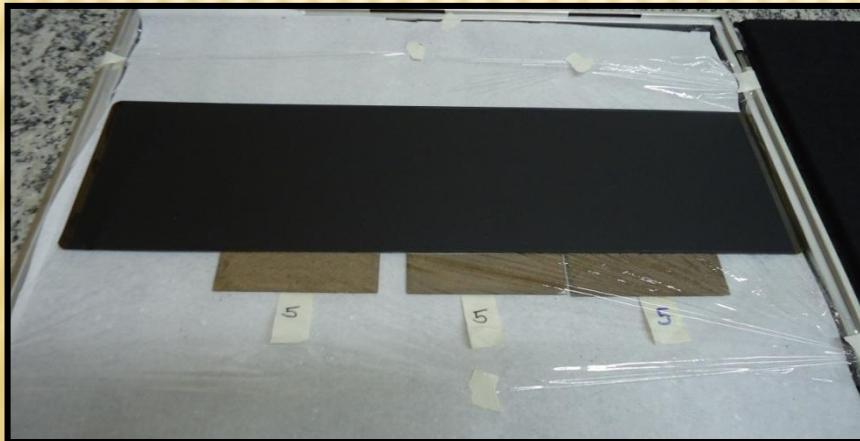
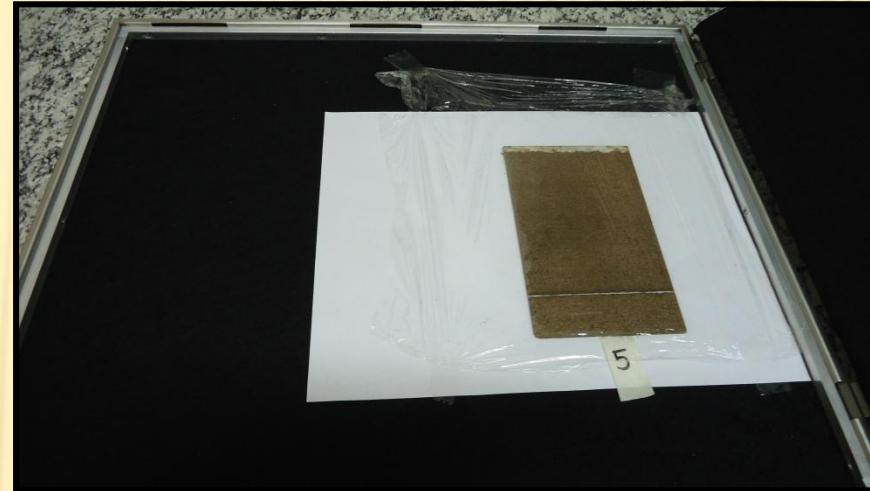


10  $\mu\text{L}$



Eluição com água  
deionizada

# ESTUDOS DE MOBILIDADE



# ESTUDOS DE DEGRADAÇÃO/MINERALIZAÇÃO

- ◆ Refere-se à **transformação** na **estrutura química** da molécula, resultando:
  - Subprodutos (metabólitos) e/ou
  - CO<sub>2</sub> + água (mineralização)
- ◆ **Pode ser:**
  - Abiótica (química):** fotólise, hidrólise, oxi-redução etc.
  - Biótica:** metabolizado por **microrganismos**, plantas etc.

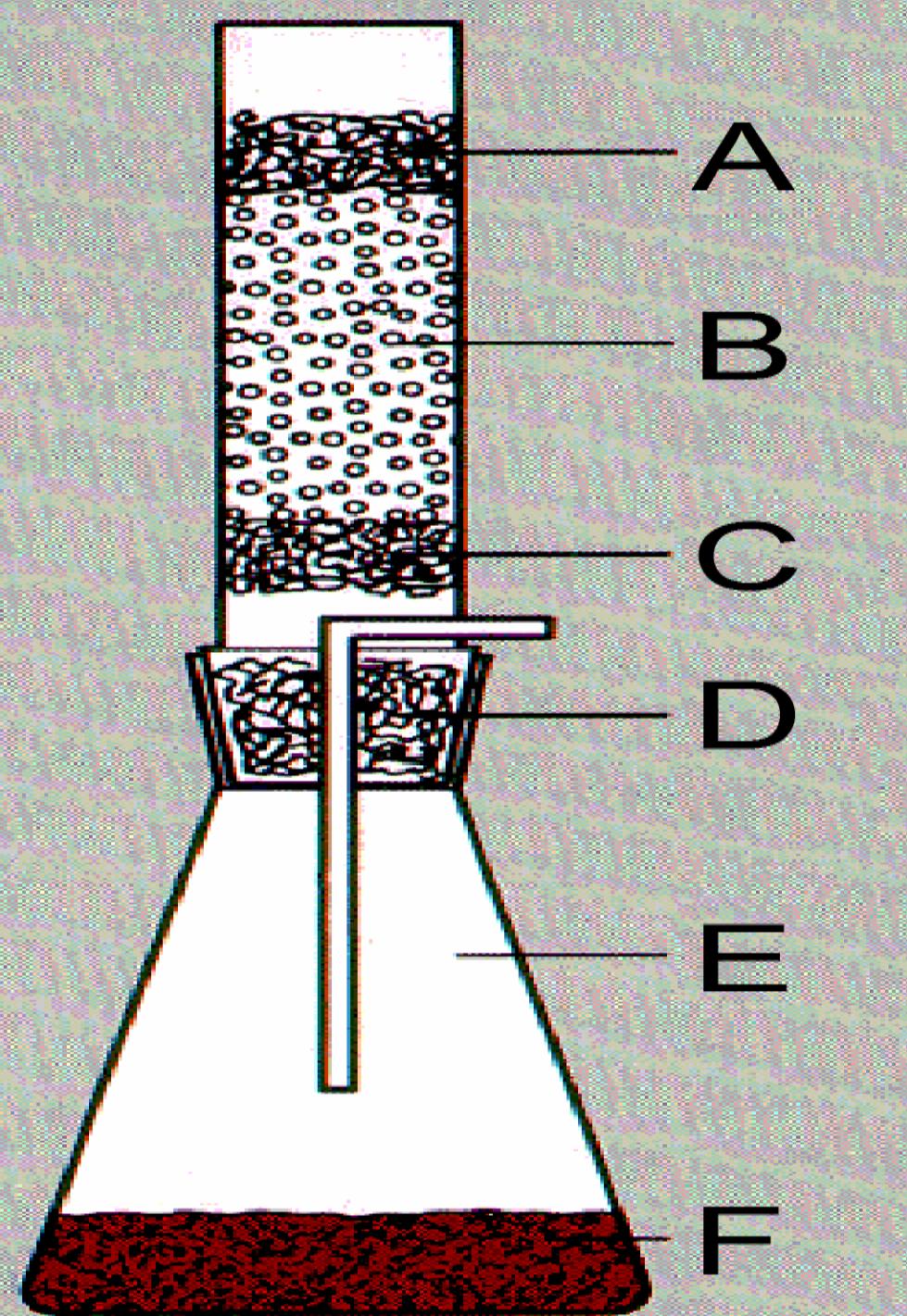
# ESTUDOS DE DEGRADAÇÃO/MINERALIZAÇÃO

- A degradação é avaliada pela formação de **metabólitos** por degradação biológica ou química.
- Estes produtos são avaliados por cromatografia de camada delgada e ou por HPLC.
- A Mineralização é avaliada por:  
Respirometria ou Radiorespirometria





**Frasco de Bartha e Pramer, 1965**



## **Frasco de Anderson, 1991**

**A = fibra de vidro**

**B = Cal sodada**

**C = Fibra de vidro**

**D = fibra de vidro + Óleo mineral**

**E = Frasco Erlenmeyer**

**F = Solo**

O CO<sub>2</sub> é capturado por uma base forte (NaOH ou KOH ou etanolamina) e avaliado por titulação ou se o produto for radiomarcado é avaliado pela radioatividade.

Os dois primeiros sistemas são fechados, e o descrito por Anderson é aberto (há troca gasosa, durante o período de incubação) – a matriz pode ser solo ou água. Nesses sistemas é possível medir o quanto foi formado de CO<sub>2</sub>, quanto evaporou (óleo mineral), quanto permanece na matriz (resíduo ligado solo).

# **Os microrganismos aeróbios degradam os materiais por duas vias:**

**Catabolismo:** Utiliza o poluente como alimento, vai fazer parte de sua composição.

**Cometabolismo:** Utiliza outro alimento para o seu desenvolvimento e degrada o poluente devido sua atividade, com produção de ácidos ou enzimas excretadas.

**Ou as duas vias.**

Sabe-se que é metabolismo quando em meio de cultura sintético utiliza-se a substância como única fonte de um elemento essencial, como carbono, nitrogênio ou enxofre.

Por co-metabolismo se uma fonte de alimento é adicionada ocorre aceleração da degradação da substância. Ex.: adição de glicose, palhadas, etc.

# COMETABOLISMO

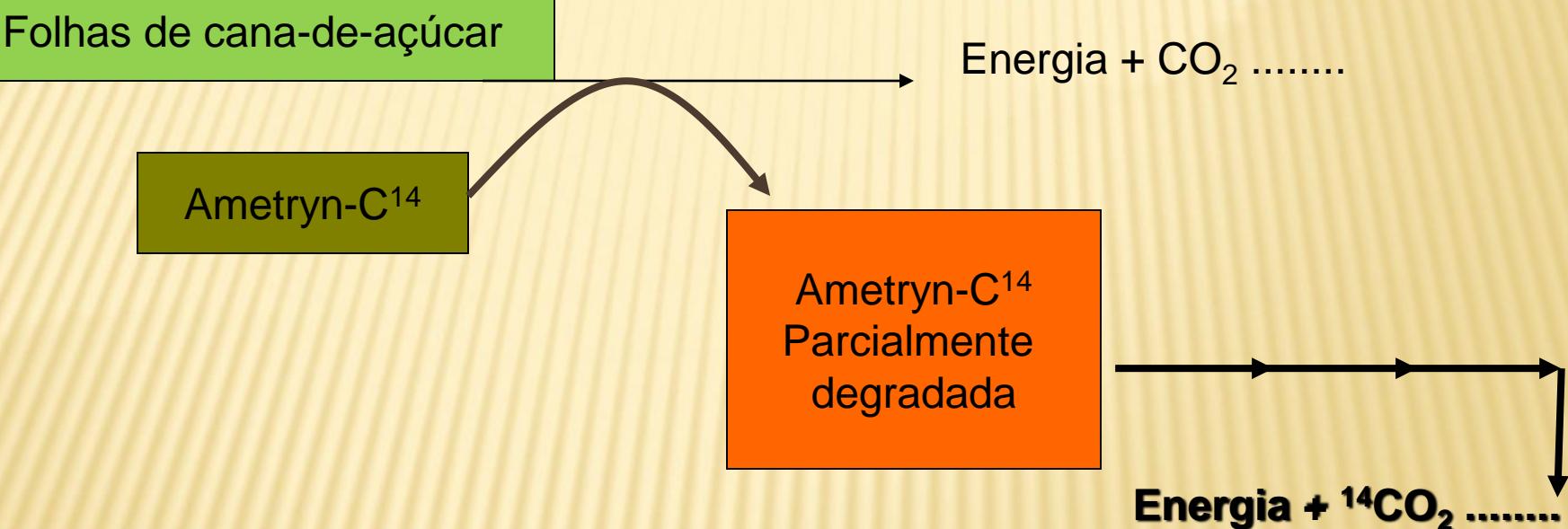
Folhas de cana-de-açúcar

Ametryn-C<sup>14</sup>

Ametryn-C<sup>14</sup>  
Parcialmente  
degradada

Energia + CO<sub>2</sub> .....

Energia + <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> .....



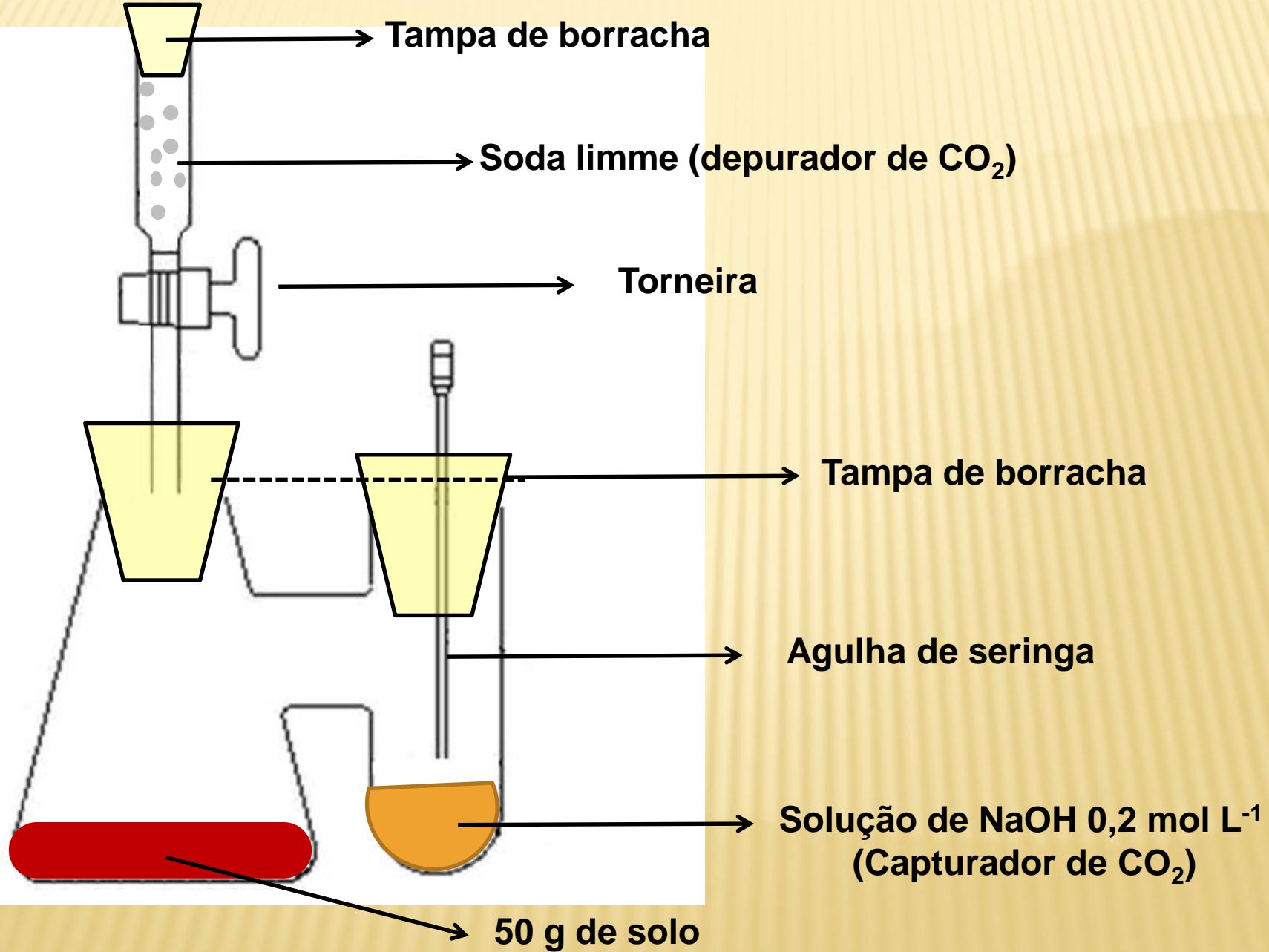
# FATORES DO AMBIENTE QUE INFLUEM NA DEGRADAÇÃO

- ✓ **Temperatura;**
- ✓ **pH;**
- ✓ **Umidade;**
- ✓ **Aeração;**
- ✓ **Intensidade de luz solar;**
- ✓ **Condições redox, receptores de elétrons;**
- ✓ **Força iônica da solução;**
- ✓ **Nutrientes;**
- ✓ **Conteúdo e tipo de coloides do solo;**
- ✓ **Atividade e população microbiana.**

# **ESTUDOS DE DEGRADAÇÃO/MINERALIZAÇÃO**



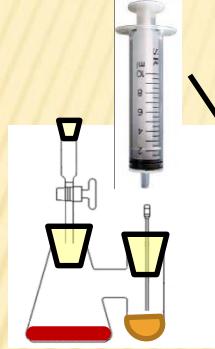
- “**Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil**”  
**(OECD, 2002)**
- % da radioatividade encontrada na degradação e mineralização de  $^{14}\text{CO}_2$  evoluído;
- meia-vida de mineralização ( $t_{1/2}$  min.);



# <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> eluído

0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 e 70 DAA

S1 R 1



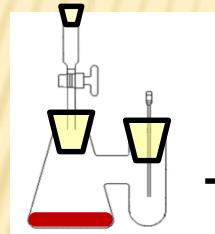
10 mL de  
NaOH



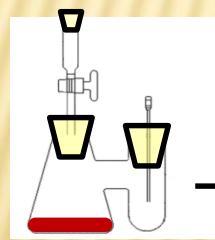
1 mL por vial



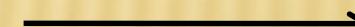
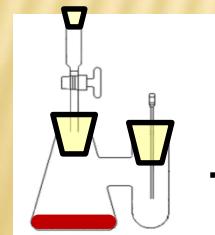
S1 R 2



Backup 1

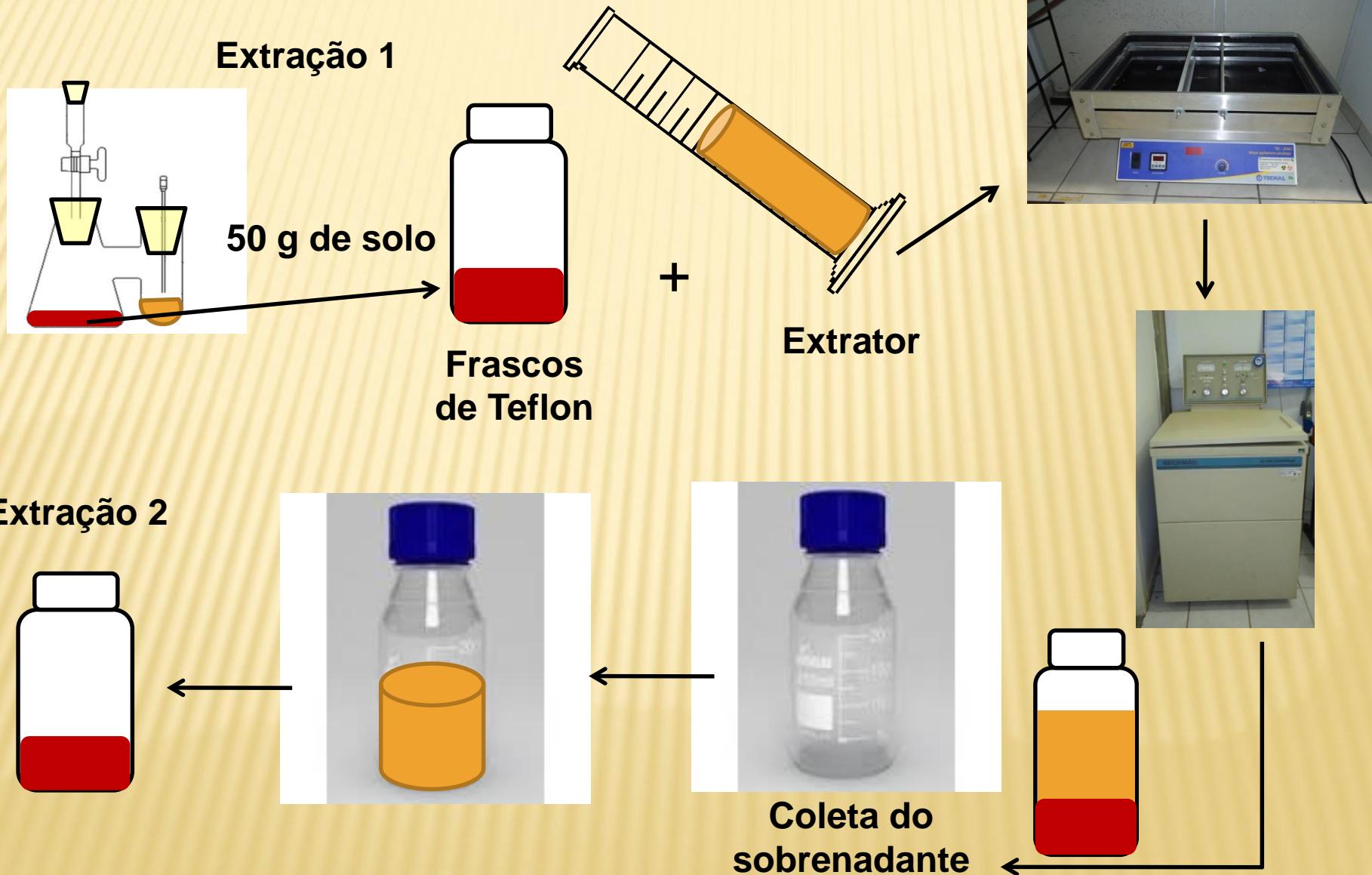


Backup 2



Após a coleta, 10 mL de uma nova solução de NAOH é colocado na alça dos frascos de Bartha

# <sup>14</sup>C extraído 0, 7, 14, 28, 42, 56 e 70 DAA



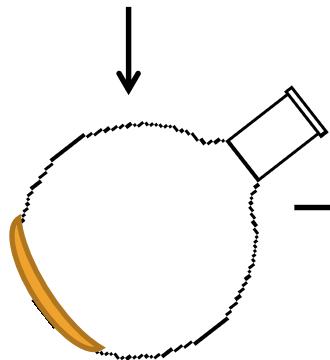
# <sup>14</sup>C extraído 0, 7, 14, 28, 42, 56 e 70 DAA

## Final da Extração 3



↓  
**Rotaevaporador**

40 °C / 60 rpm



100 µL por frasco  
+  
10 mL de solução cintiladora

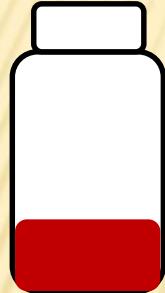
→

**Ressuspendido  
10 mL metanol**

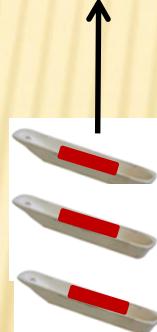
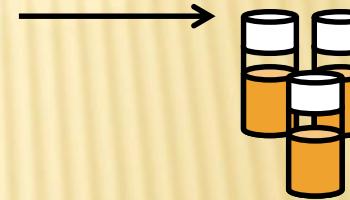


# $^{14}\text{C}$ recuperado (Resíduo ligado)

## 0, 7, 14, 28, 42, 56 e 70 DAA



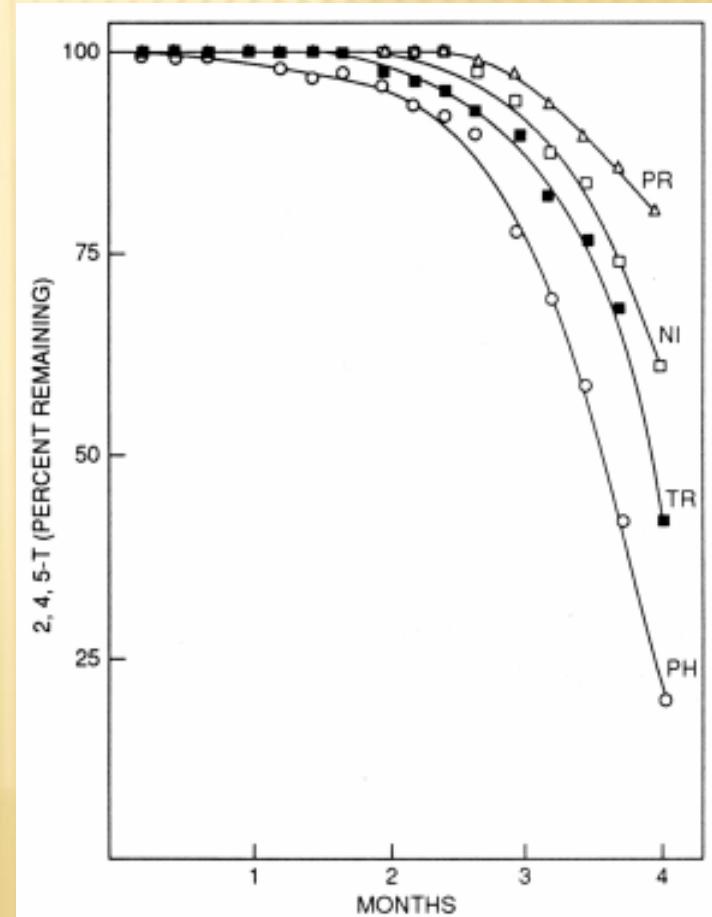
Seco em estufa  
40 °C



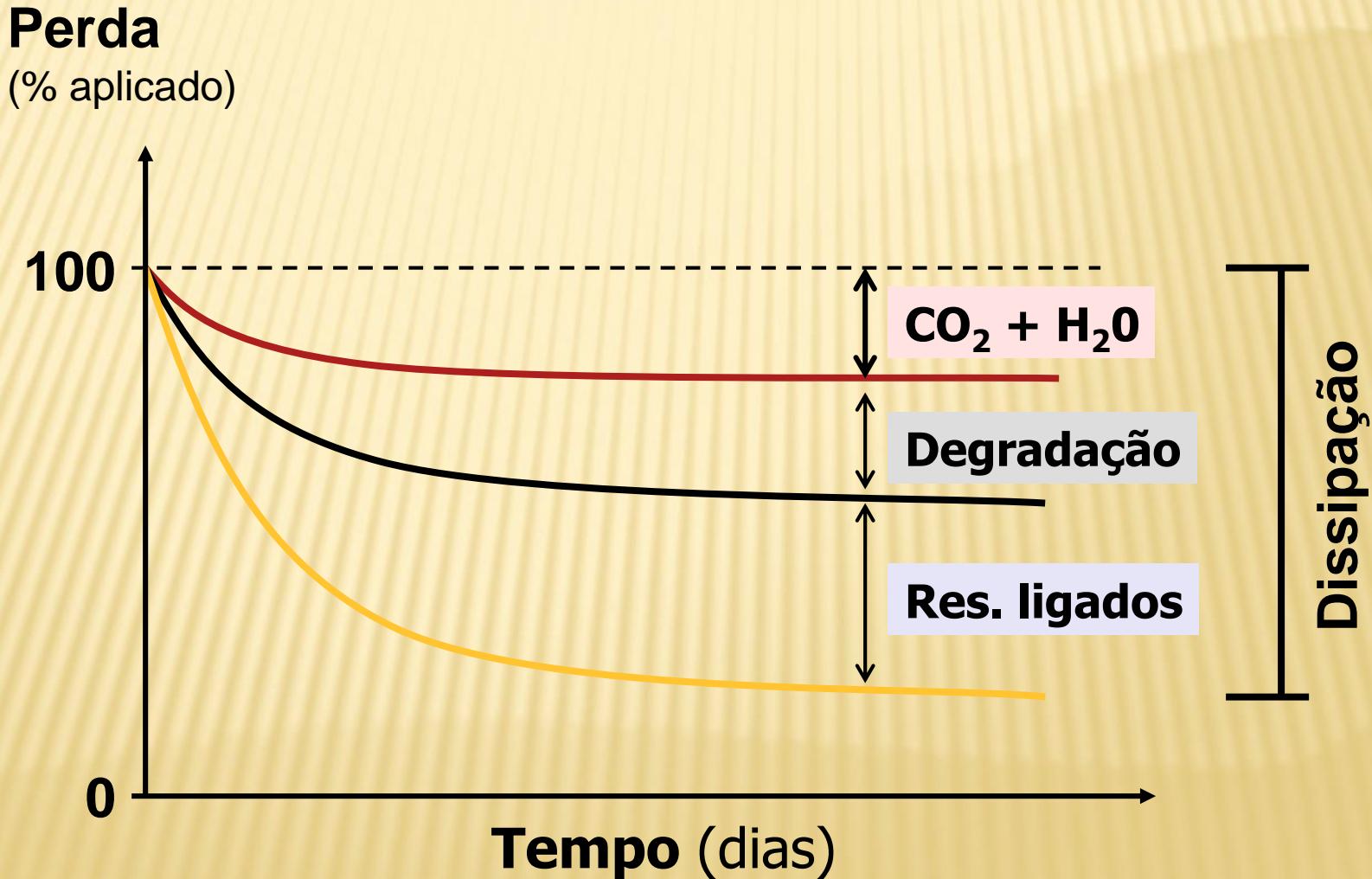
# ACLIMATAÇÃO

Período prévio à degradação do pesticida, em que nenhuma transformação do produto é observada. Também conhecido como “período de adaptação” ou “fase-lag”.

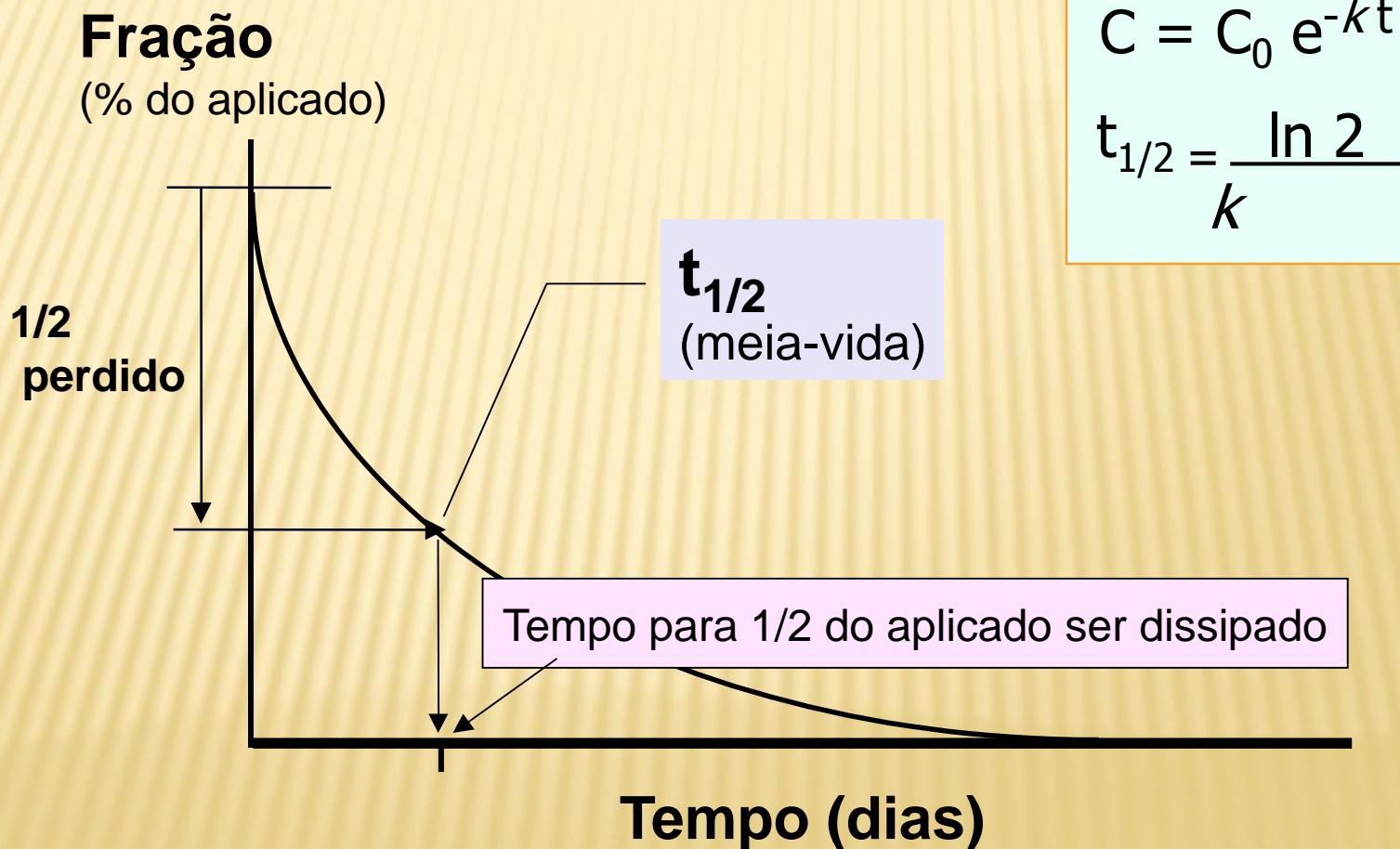
→ Importante: aumenta o período de exposição do pesticida.



# Formas de dissipação

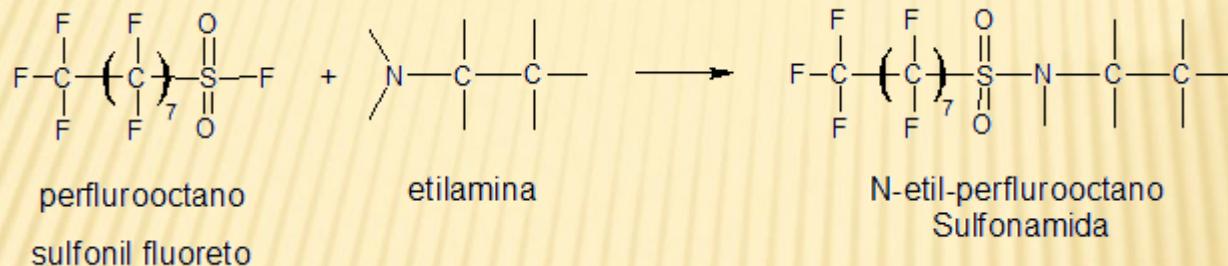


# Meia-vida ( $t_{1/2}$ ) de dissipação

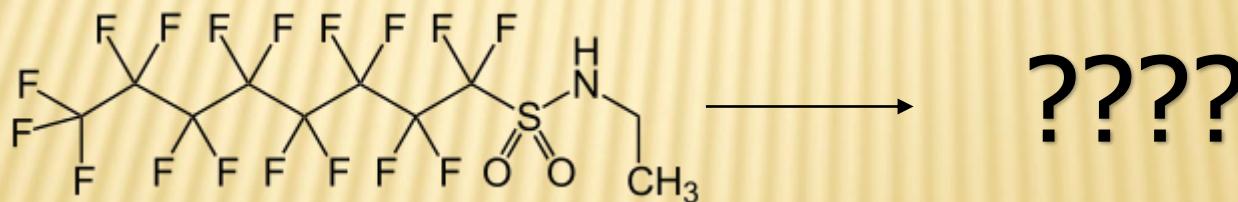


# Sulfluramida

## ◆ Síntese:

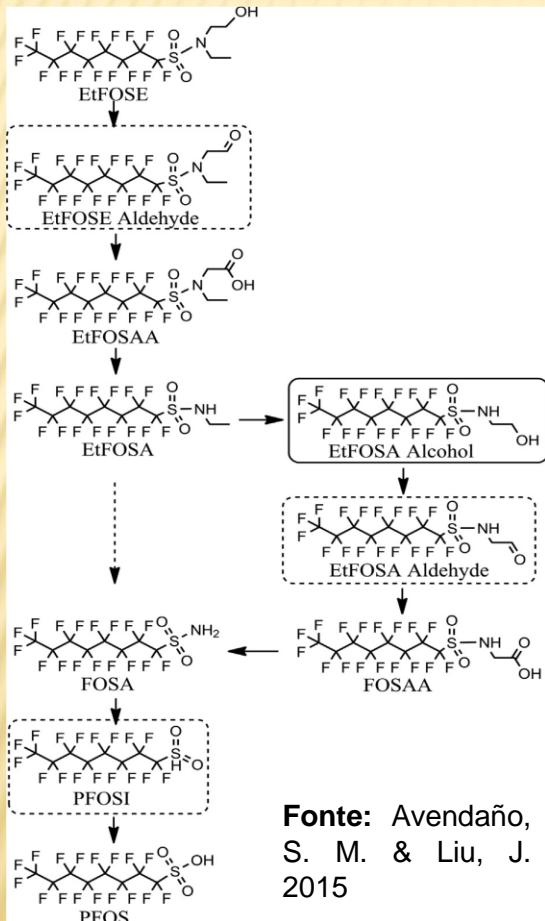


## ◆ Degradação:



# Sulfluramida

- Degradação aeróbica no solo (estudos já existentes):



Fonte: Avendaño,  
S. M. & Liu, J.  
2015

**Table 1**  
An overview of biotransformation of sulfonamide derivatives.

Precursor	Microcosms	Incubation duration	Estimated $t_{1/2}$	Yields of PFCAs or PFSAs	Reference
EtFOSA	Rainbow trout ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ) liver microsomes	30 h	N.A. <sup>a</sup>	PFOS: 21% <sup>b</sup> PFOA: 0%	Tomy et al. (2004)
	Human microsomes and recombinant human cytochrome P450s	12 min	0.70–20 min <sup>c</sup>	PFOS: 0% PFOA: 0%	Benskin et al. (2009)
	Aerobic soil	182 d	13.9 ± 2.1 d	PFOS: 4.0 % PFOA: 0%	This study
N-EtFOSE	Activated sludge	35 d	≤5 dd (low dose) 2–3 d (high dose)	PFOS: 7% PFOA: 0.6%	Lange (2000)
	Activated sludge	4 d	4.2 d	PFOS: 0.6% PFOA: 0%	Boulanger et al. (2005)
SAM-PAP	Activated sludge	10 d	0.7 d	N.A.	Rhoads et al. (2008)
	Marine sediment	120 d	44 d (25 °C) 160 d (4 °C)	PFOS: 12% (25 °C) PFOS: 0.44% (4 °C)	Benskin et al. (2013)
FOSAA	Marine sediment	120 d	>380 d (25 °C) >3400 d (4 °C)	N.A.	Benskin et al. (2013)

<sup>a</sup> N.A. – not available.

<sup>b</sup> Estimated based on Table 1 from Tomy et al. (2004).

<sup>c</sup> Estimated based on Figs. 5–8, 11 and 13 from Benskin et al. (2009).

- Aprox. 4% se converte em PFOS (Avendaño, S. M & Liu, J. 2015).

# Sulfluramida

- ◆ Estudos de degradação com técnicas HPLC:
  - ◆ não permitem avaliar com exatidão os metabólitos;
  - ◆ Impossibilidade de se fazer balanço de massas;
  - ◆ Possíveis perdas no processamento das amostras.
- ◆ Estudos de degradação por técnicas de  $^{14}\text{C}$ :
  - ◆ Balanço e massas fechado (sem perdas consideráveis);
  - ◆ Conhecimento exato dos metabólitos e das taxas de evolução de mineralização no solo (curva de degradação);
  - ◆ Perdas menores no processamento das amostras.

# Sulfluramida - Conclusões

## ◆ Proposta de estudo:

- ◆ Avaliar a degradação, Sorção/Dessorção, lixiviação e mobilidade da sulfluramida em quatro solos representativos do Brasil e com características distintas;
- ◆ Avaliar a degradação, Sorção/Dessorção, lixiviação e mobilidade do PFOS em quatro solos representativos do Brasil e com características distintas;
- ◆ Comparar os estudos da sulfluramida com o do PFOS em termos de metabólitos formados e de velocidade de degradação;
- ◆ Avaliar o comportamento da sulfluramida no interior de sauveiros. Estabelecendo a taxa de transformação em PFOS.

## ◆ Resultados esperados:

- ◆ Verificar qual a taxa real de conversão de sulfluramida em PFOS e qual a duração do PFOS nos solos brasileiros, identificando as rotas de degradação e metabólitos.
- ◆ Subsidiar a posição brasileira na Convenção de Estocolmo quanto ao banimento do PFOS oriundo da degradação da sulfluramida e seus derivados.

# Obrigado!



Laboratório de Ecotoxicologia  
[vltornis@cena.usp.br](mailto:vltornis@cena.usp.br)