



TÉCNICAS DE RADIOMETRIA APLICADAS AOS ESTUDOS AMBIENTAIS

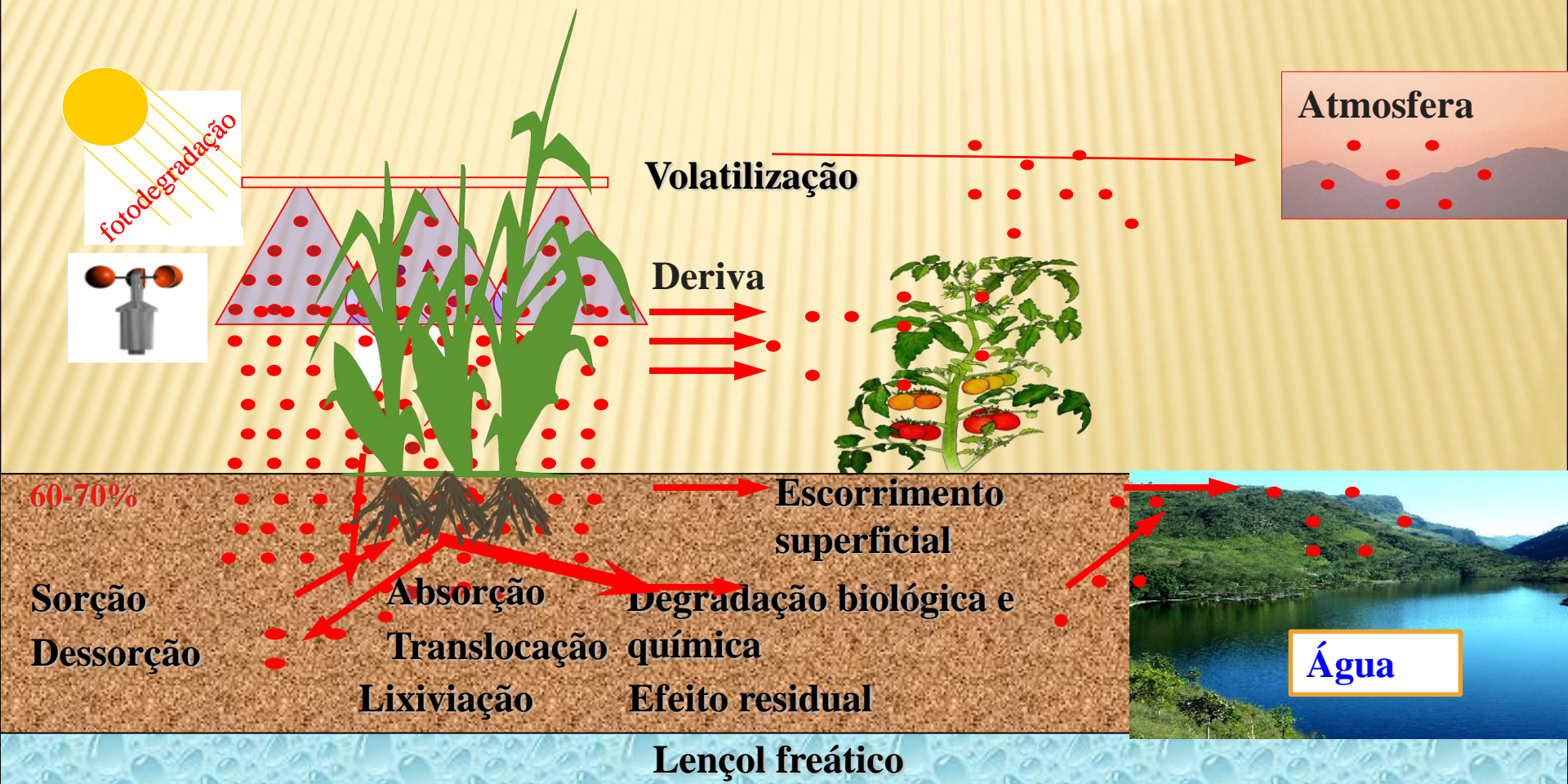
Prof. Dr. Valdemar L. Tornisielo

16/12/2015

Brasília/DF

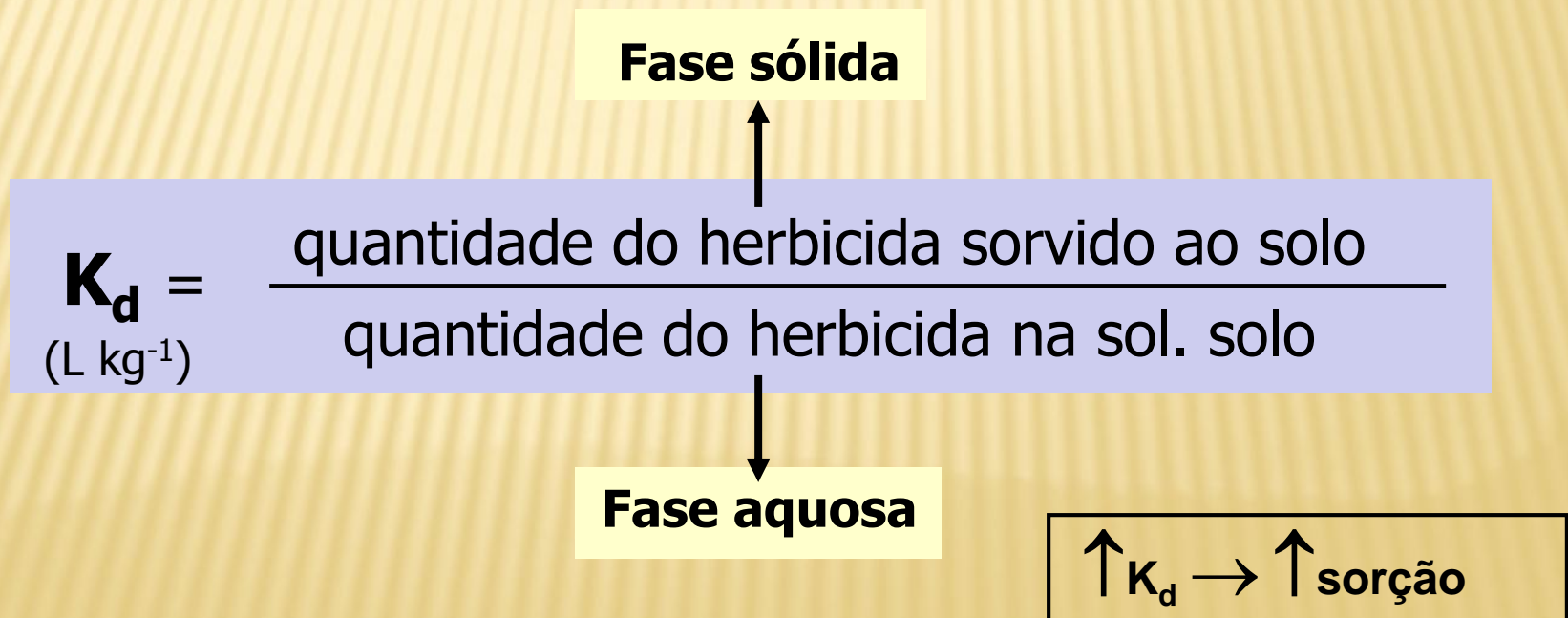
INTRODUÇÃO

COMPORTAMENTO DE PESTICIDAS NO AMBIENTE

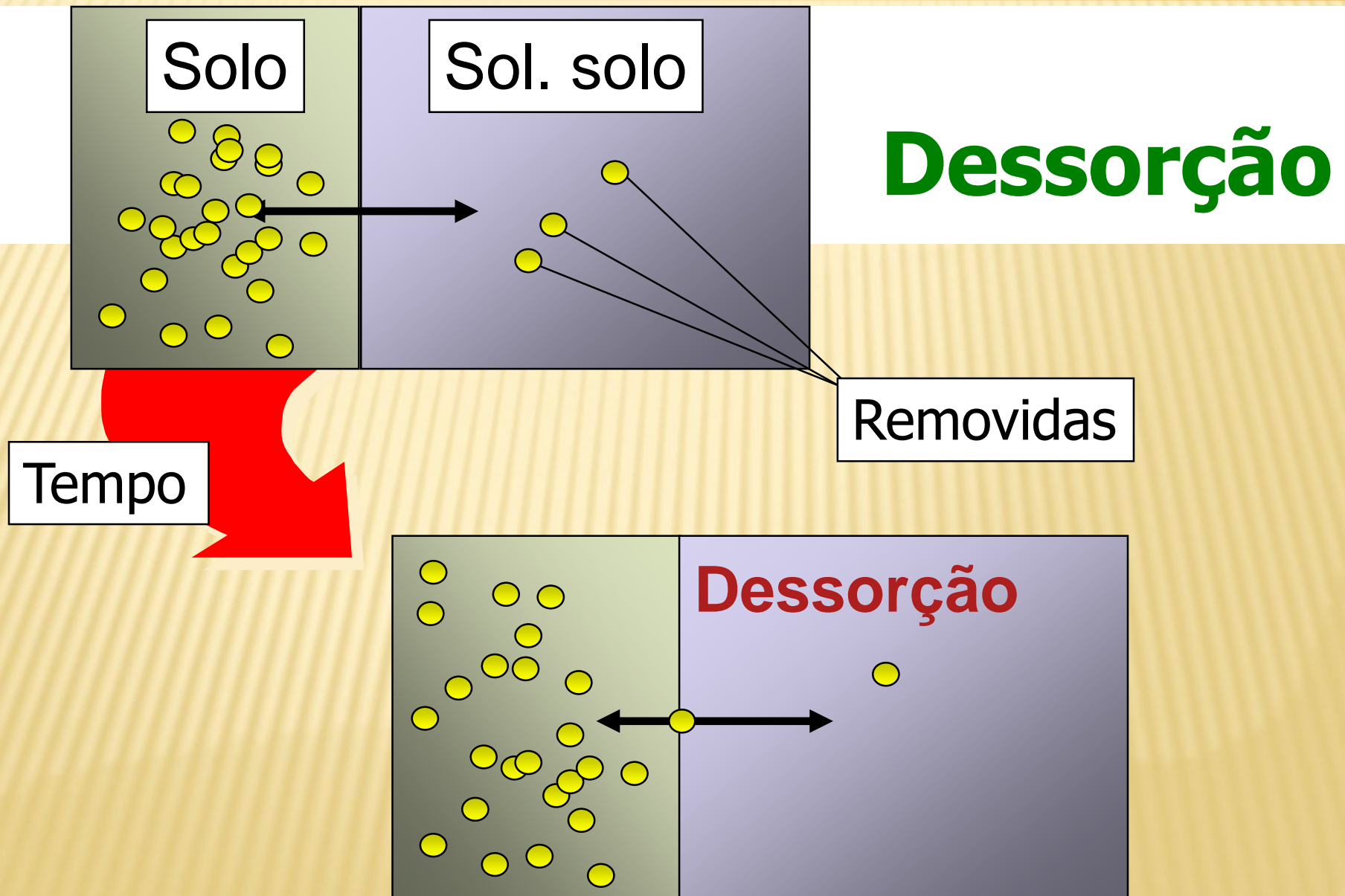


ESTUDOS DE SORÇÃO/DESSORÇÃO

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



ESTUDOS DE SORÇÃO/DESSORÇÃO

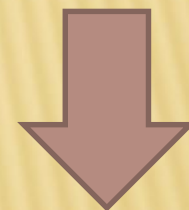
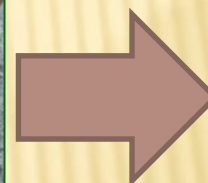
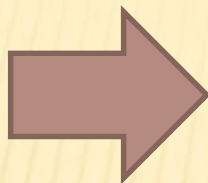


ESTUDOS DE SORÇÃO/DESSORÇÃO

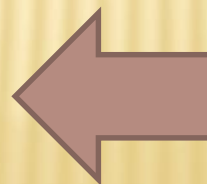


- ✖ Laboratório de Ecotoxicologia, CENA/USP
- ✖ OECD - 106 "Adsorption - Desorption Using a Batch Equilibrium Method";
- ✖ Diferentes concentrações;
- ✖ Mínimo 3 repetições.

ESTUDOS DE SORÇÃO/DESSORÇÃO



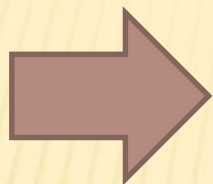
Sorção



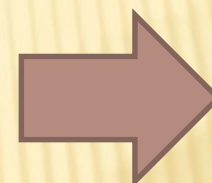
ESTUDOS DE SORÇÃO/DESSORÇÃO



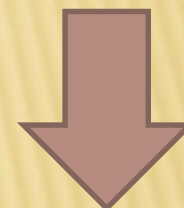
10 mL



(20 ± 2 °C), 24 h a 200 rpm para o equilíbrio



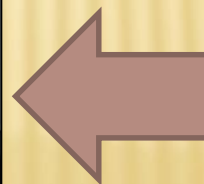
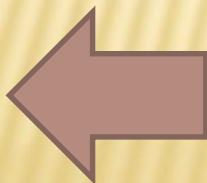
centrifugados a 3000 rpm por 15 min



1 mL do sobrenadante

Dessorção

10 mL de CaCl_2 0,01 mol L⁻¹



ESTUDOS DE SORÇÃO/DESSORÇÃO

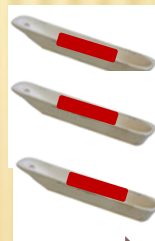


Secos em estufa a 40°C por 48 h



moídos

0,2 g



ESTUDOS DE LIXIVIAÇÃO

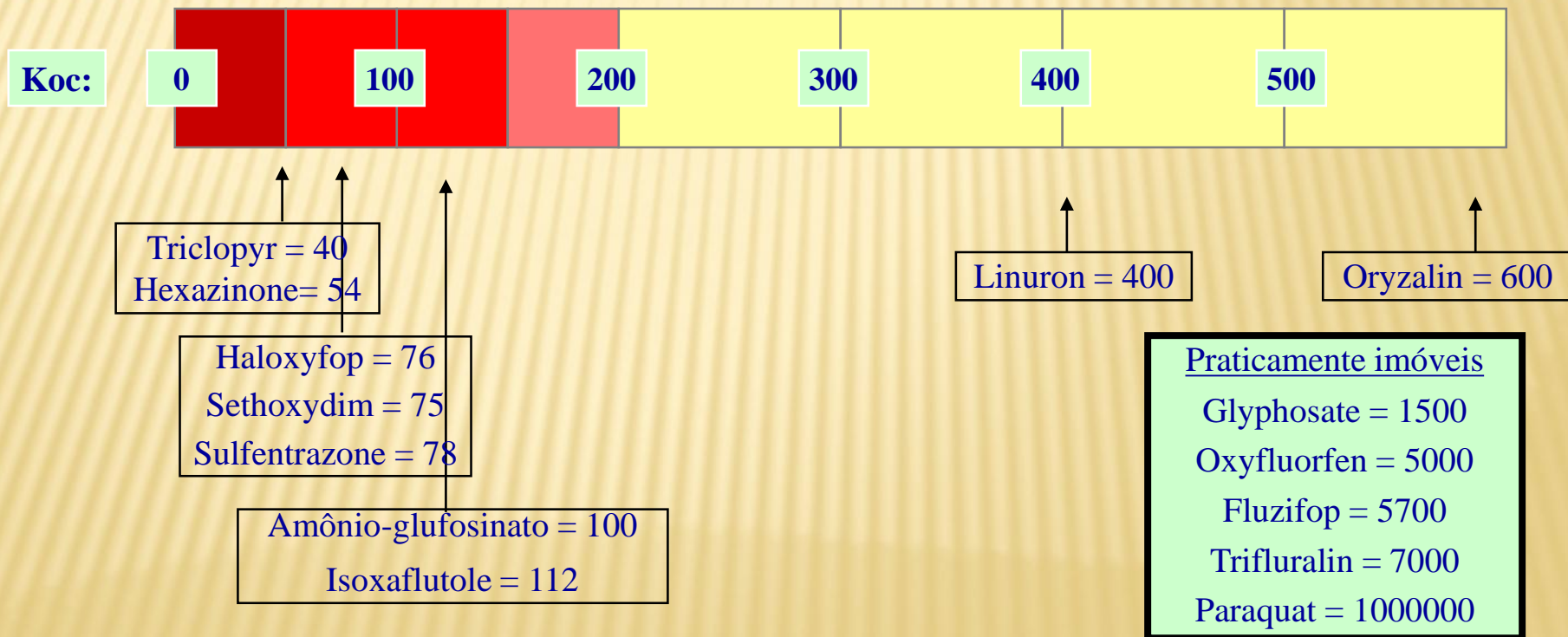
Lixiviação no solo

Muito alta

Alta

Intermediária

Baixa

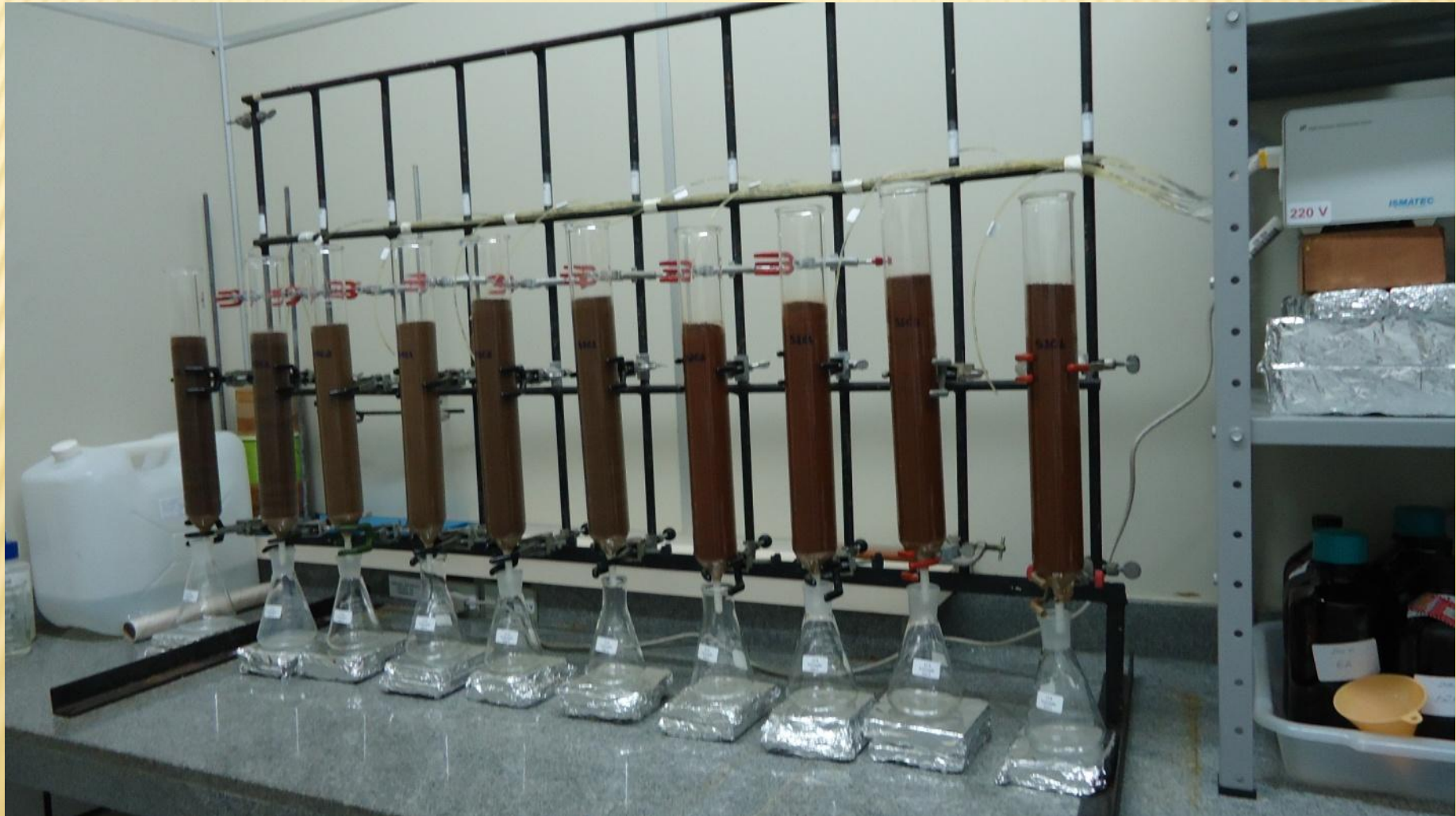


ESTUDOS DE LIXIVIAÇÃO



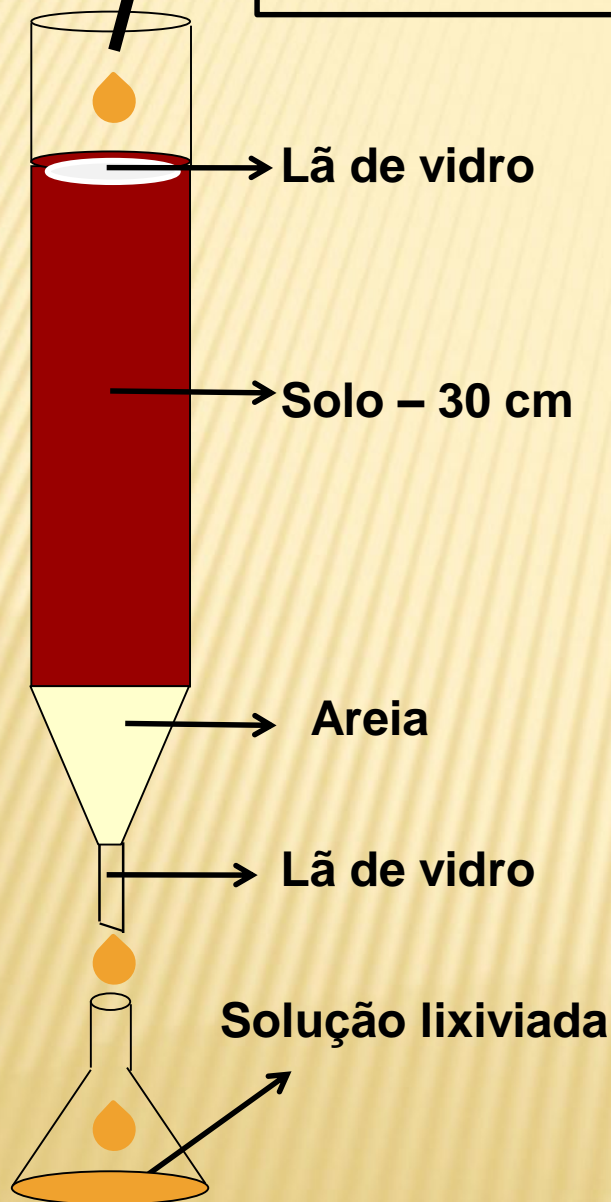
- Método de lixiviação em colunas de solo (OECD, 2002);**
- Diferentes tipos de solos para correlacionar com as propriedades físico-químicas;**
- Mínimo 2 repetições (2 colunas por solo).**

ESTUDOS DE LIXIVIAÇÃO

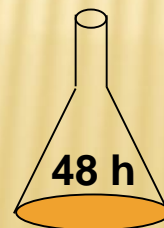
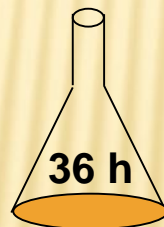
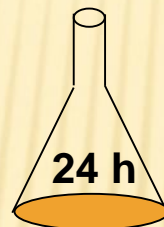
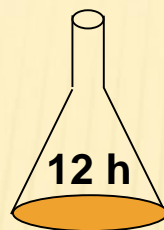


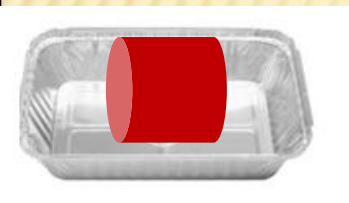
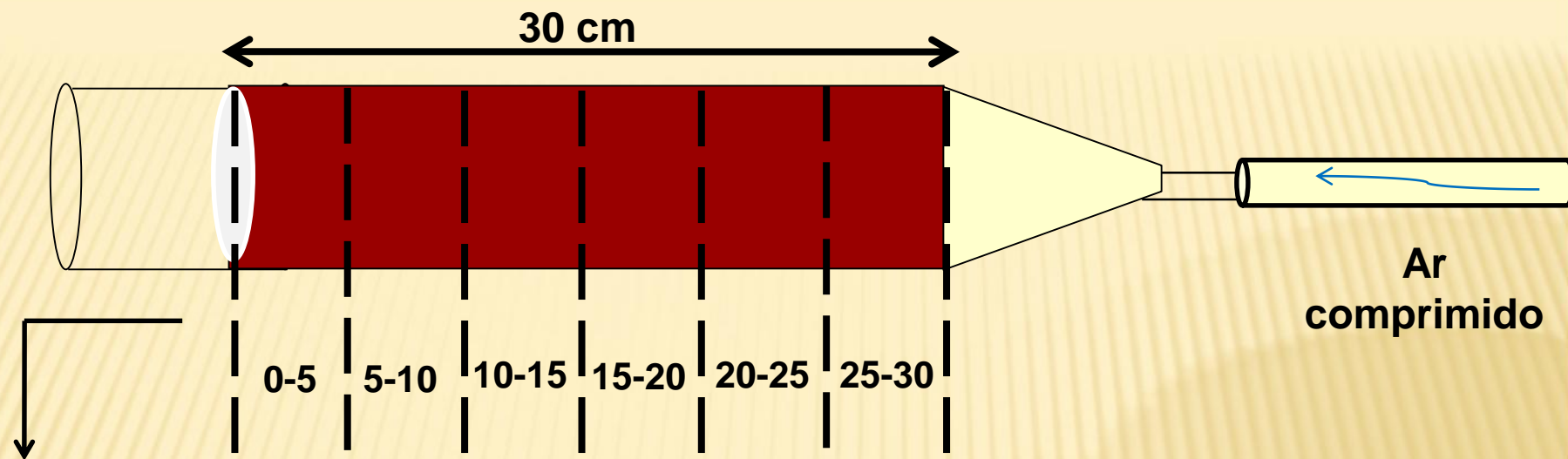
Bomba peristáltica
~ 8 mL.h⁻¹ solução de CaCl₂ 0,01M
~ 200 mm por 48 h

10 mL do lixiviado
+
10 mL de InstaGel

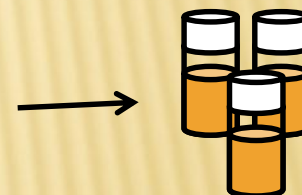
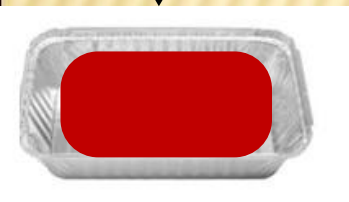


Tempos de coleta

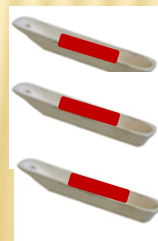




Secagem



0,2 g



Solubilidade em água (S_w)

Quantidade de pesticida que é disponibilizado na solução do solo.

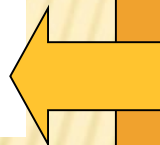
Relacionada à:

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

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

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

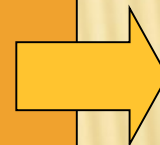
**Movimentação
com a água do
solo / absorção**



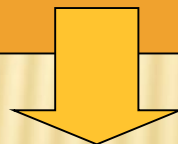
Alta solubilidade

ou

Baixa solubilidade



**Possibilidade
de volatilização**



**Alta sorção aos
colóides do solo**

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

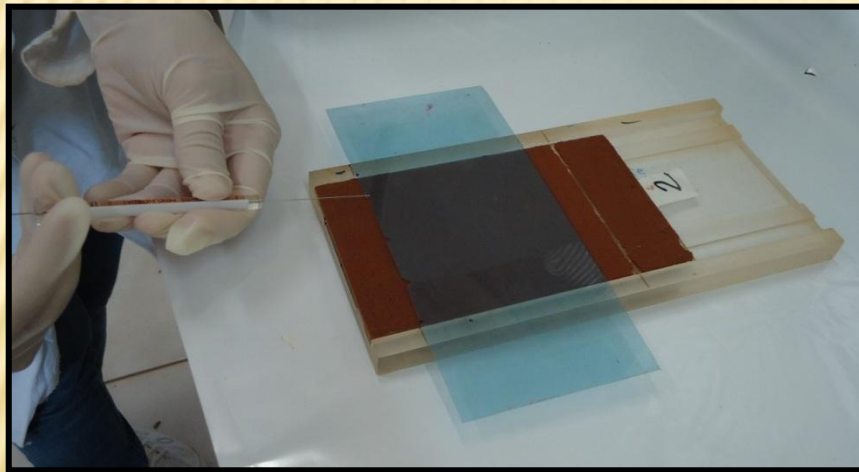
-Método : “Soil Thin Layer Chromatography” (1998),

-Placas de TLC

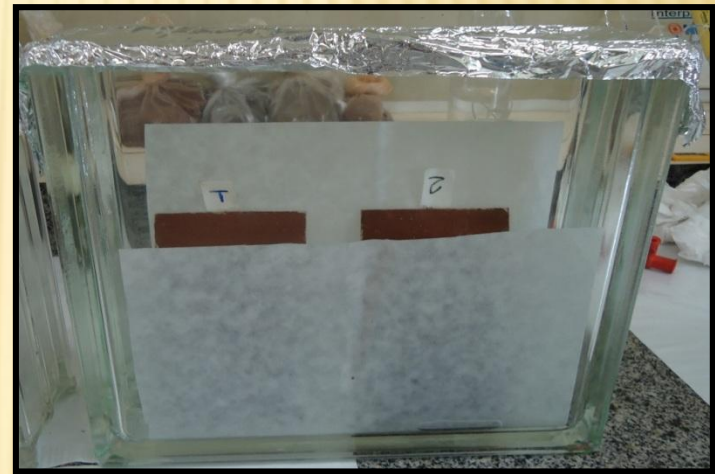
- Coeficiente de mobilidade (R_f)

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

ESTUDOS DE MOBILIDADE

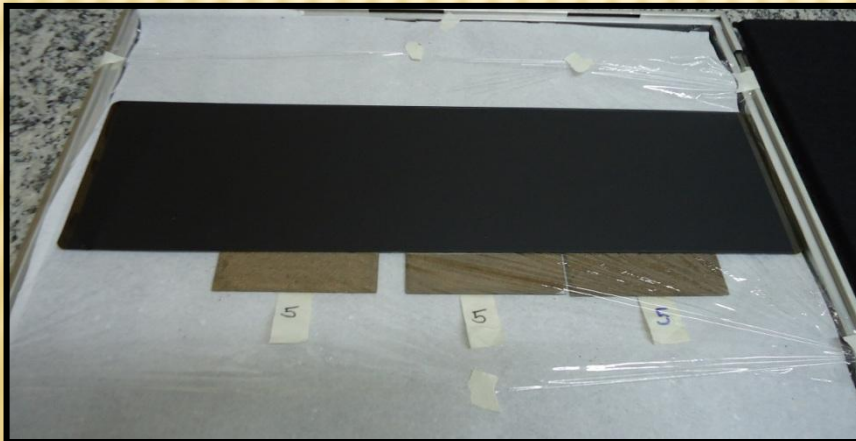


10 μ L



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_2 + água (mineralização)
- ◆ **Pode ser:**
 - Abiótica (química):** fotólise, hidrólise, oxi-redução etc.
 - Biótica:** metabolizado por **microrganismos**, plantas etc.

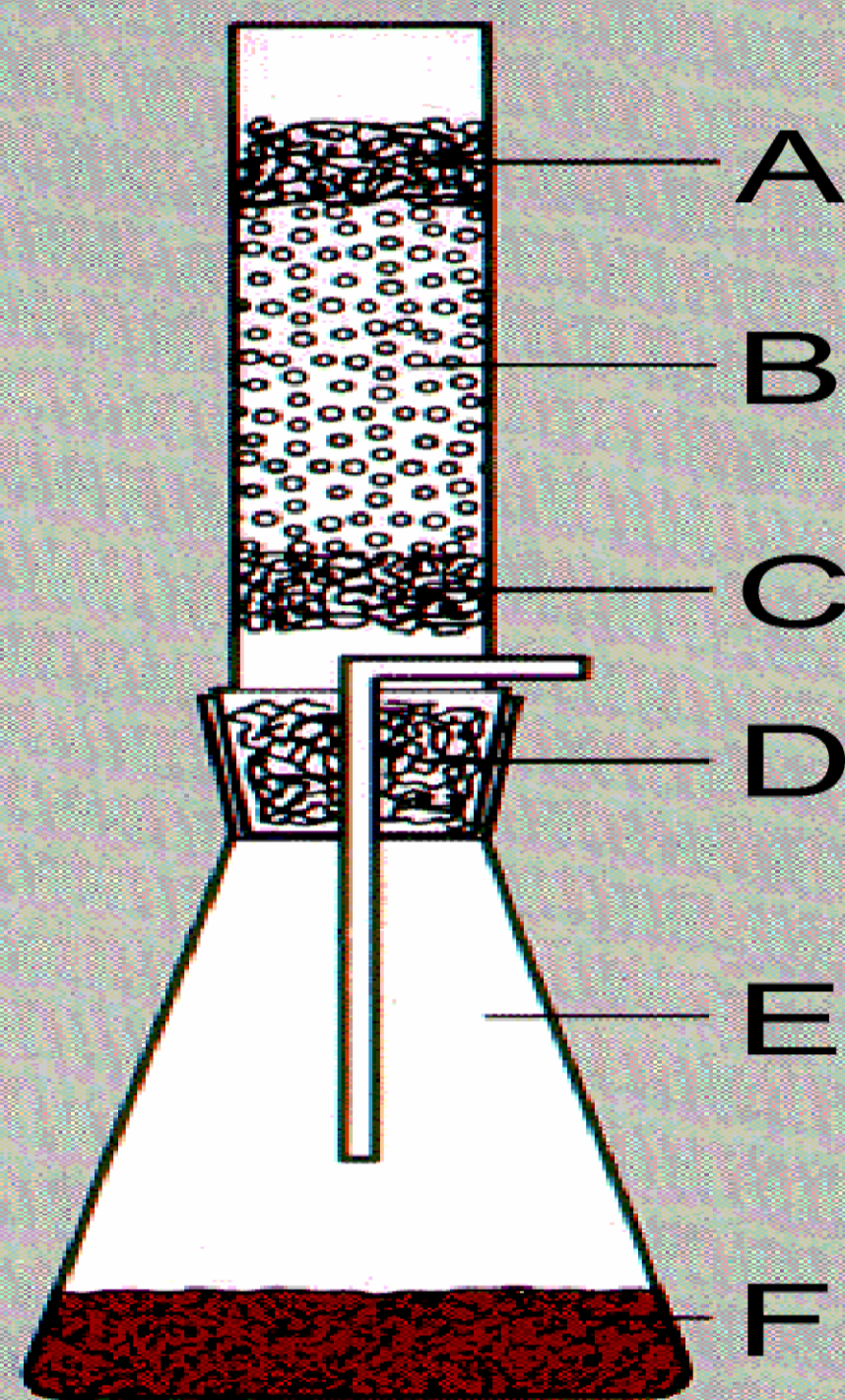
ESTUDOS DE DEGRADAÇÃO/MINERALIZAÇÃO

- ✖ 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_2 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_2 , 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

Energia + CO₂

Ametryn-C¹⁴

Ametryn-C¹⁴
Parcialmente
degradada

Energia + ¹⁴CO₂

```
graph LR; A[Folhas de cana-de-açúcar] --> B[Energia + CO2 .....]; C[Ametryn-C14] --> D[Ametryn-C14 Parcialmente degradada]; D --> E[Energia + 14CO2 .....];
```

The diagram illustrates the process of cometabolism. It starts with a green box labeled 'Folhas de cana-de-açúcar' (Sugarcane leaves). An arrow points from this box to the text 'Energia + CO₂'. Below the green box is a brown box labeled 'Ametryn-C¹⁴'. A curved arrow points from this brown box to an orange box labeled 'Ametryn-C¹⁴ Parcialmente degradada' (Partially degraded Ametryn-C¹⁴). From the orange box, a horizontal arrow points to the right, ending in a downward-pointing arrow that leads to the text 'Energia + ¹⁴CO₂'. The background features a faint image of sugarcane stalks.

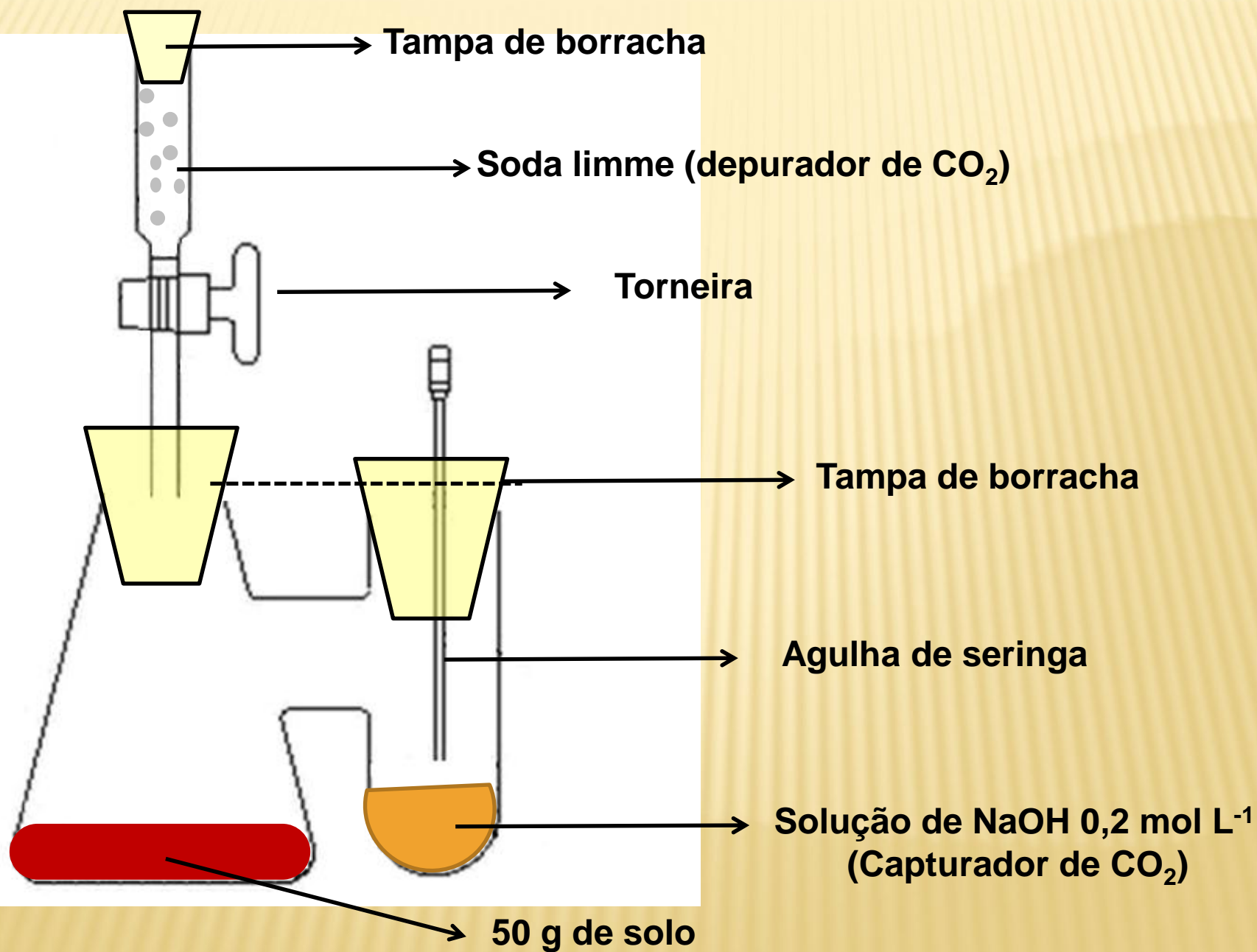
FATORES DO AMBIENTE QUE INFLUEM NA DEGRADAÇÃO

- ✓ **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

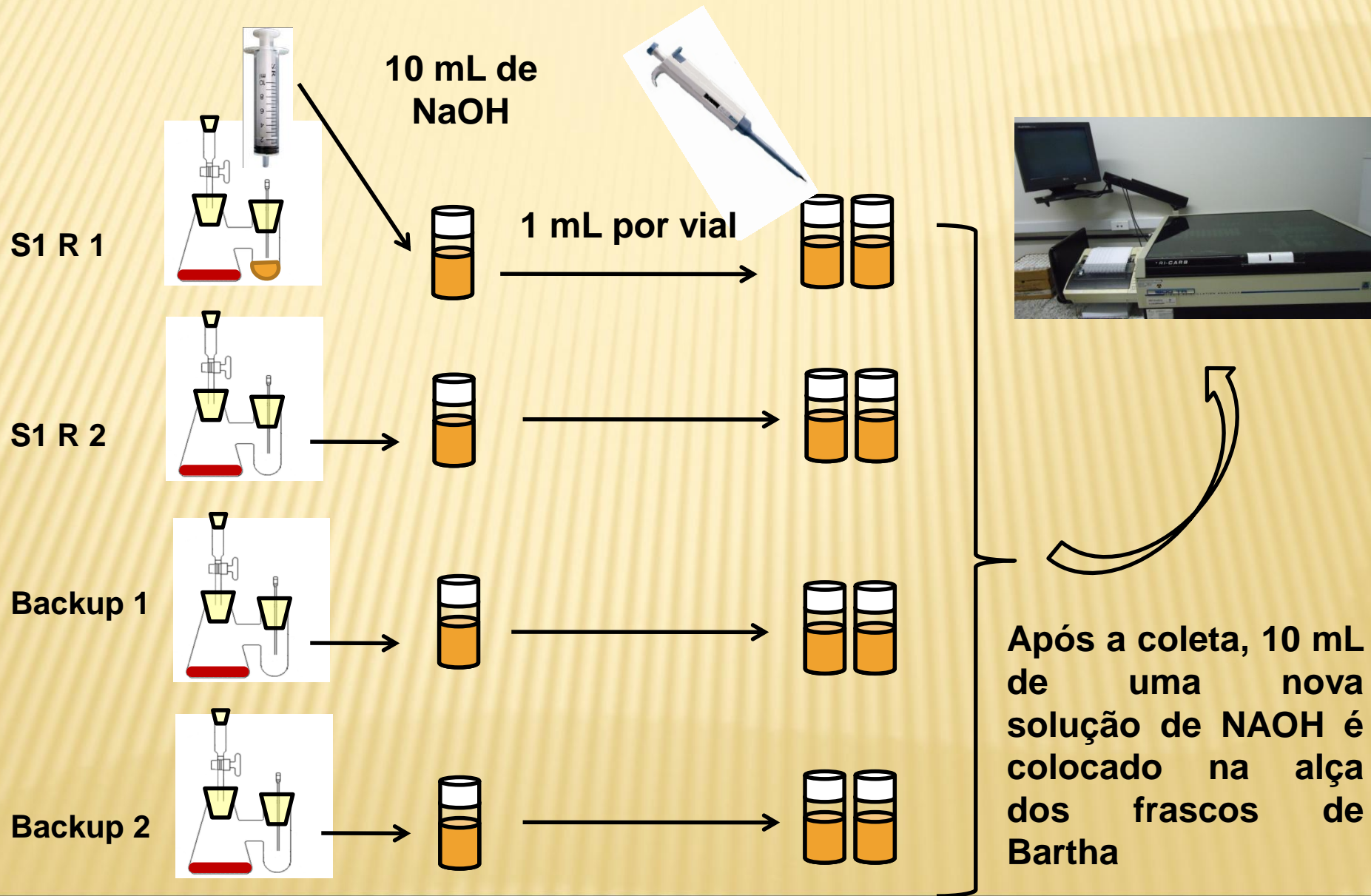


- “Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil”
(OECD, 2002)
- % da radioatividade encontrada na degradação e mineralização de $^{14}\text{CO}_2$ evoluído;
- meia-vida de mineralização ($t_{1/2 \text{ min.}}$);



$^{14}\text{CO}_2$ eluído

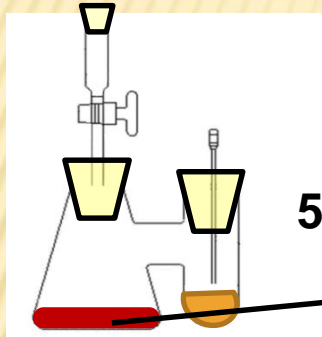
0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 e 70 DAA



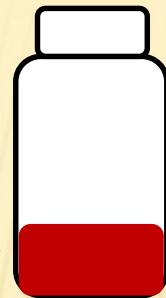
^{14}C extraído

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

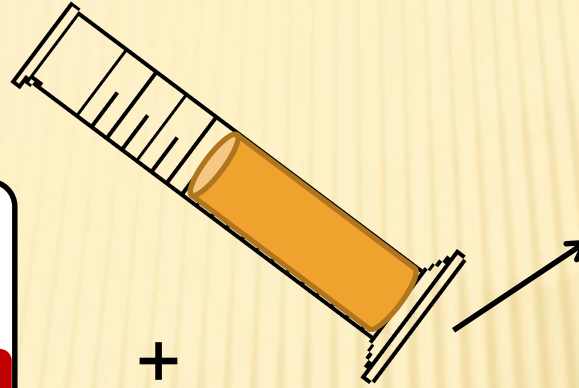
Extração 1



50 g de solo



Frascos
de Teflon

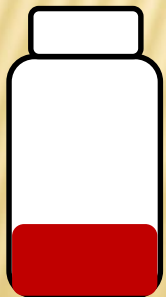


+

Extrator



Extração 2



Coleta do
sobrenadante



^{14}C extraído

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

Final da Extração 3

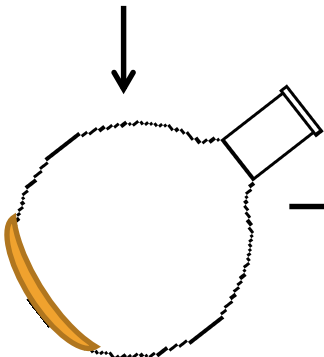


1 mL por vial



Rotaevaporador

40 °C / 60 rpm



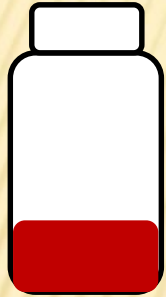
Ressuspendido
10 mL metanol

100 μL por frasco
+
10 mL de solução cintiladora

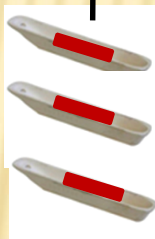


^{14}C recuperado (Resíduo ligado)

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



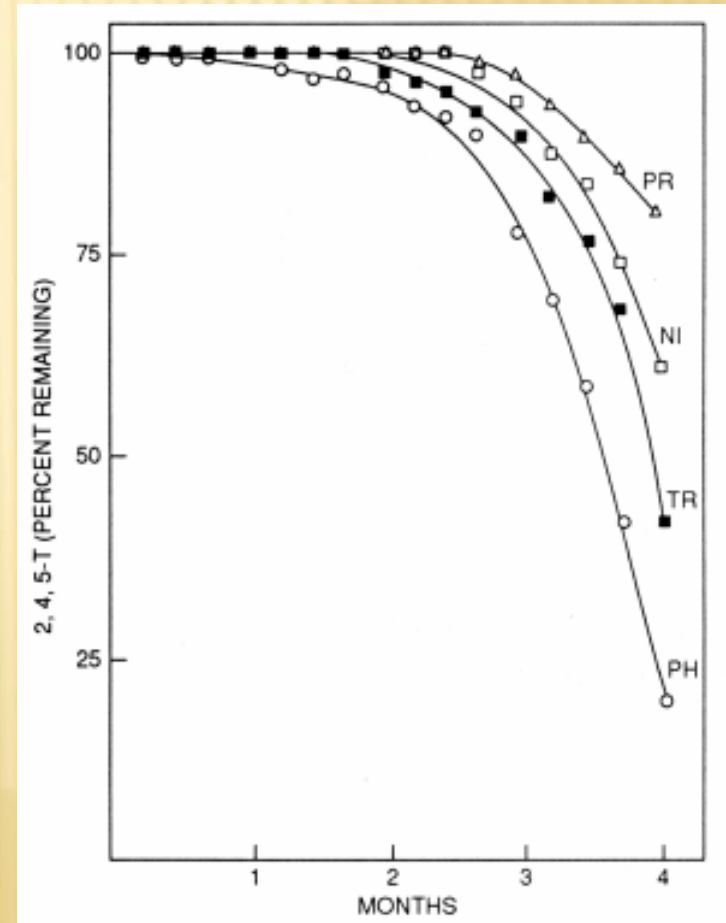
Seco em estufa
40 °C



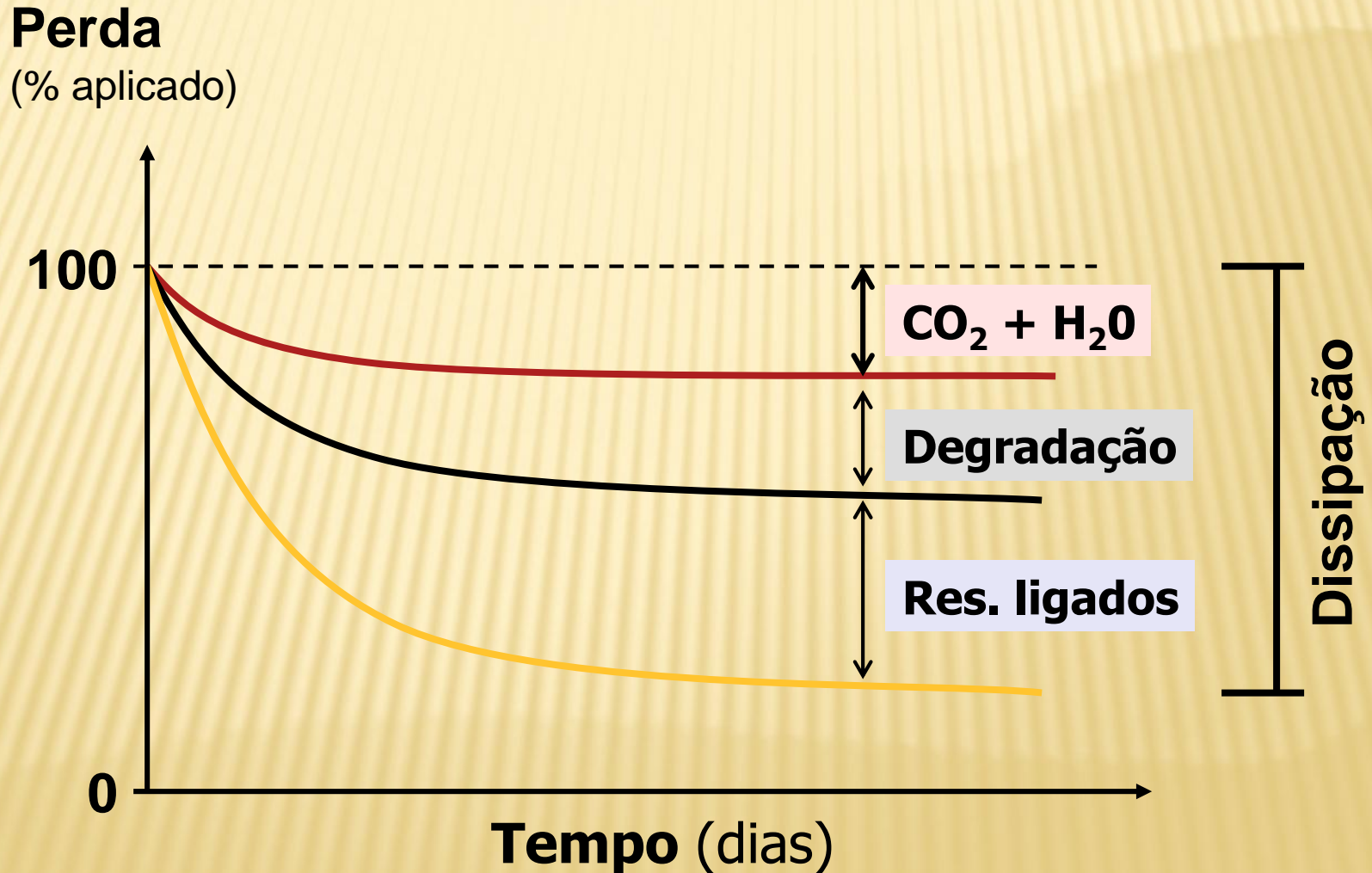
ACLIMATAÇÃO

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

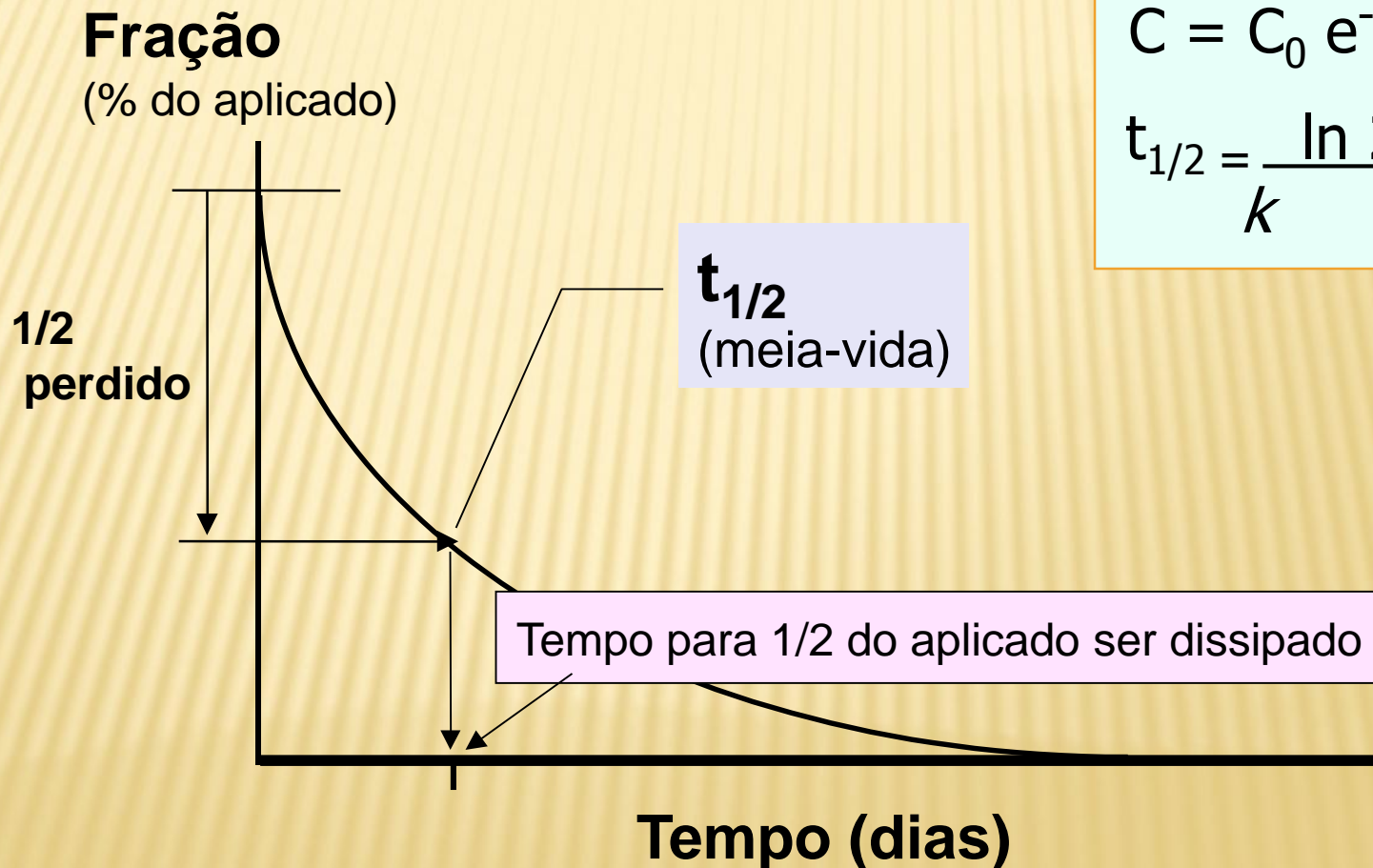
➔ Importante: aumenta o período de exposição do pesticida.



Formas de dissipação



Meia-vida ($t_{1/2}$) de dissipação

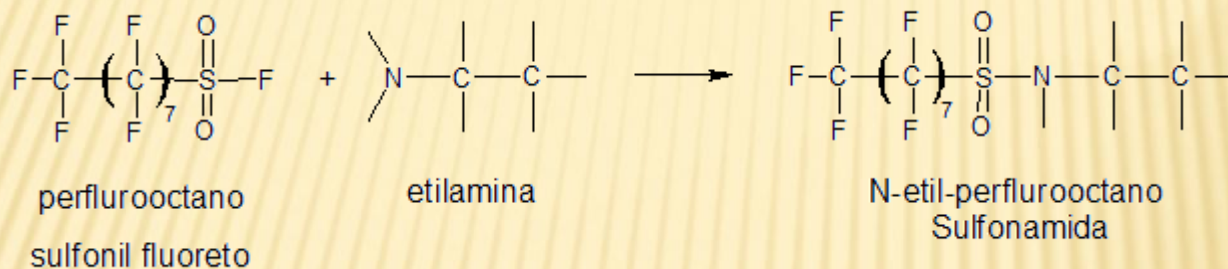


$$C = C_0 e^{-kt}$$

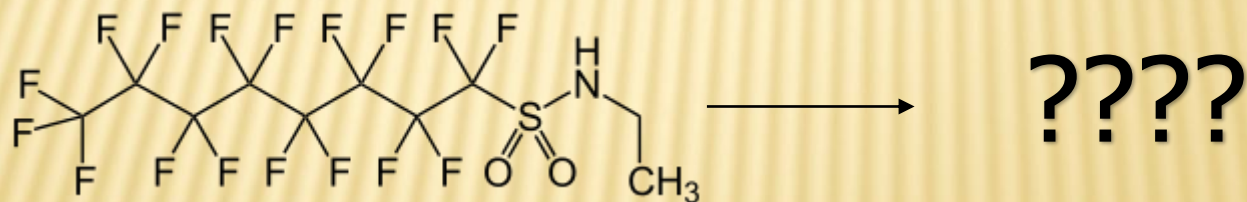
$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$$

Sulfluramida

♦ Síntese:



♦ Degradação:



Sulfluramida

- ◆ Degradação aeróbica no solo (estudos já existentes):

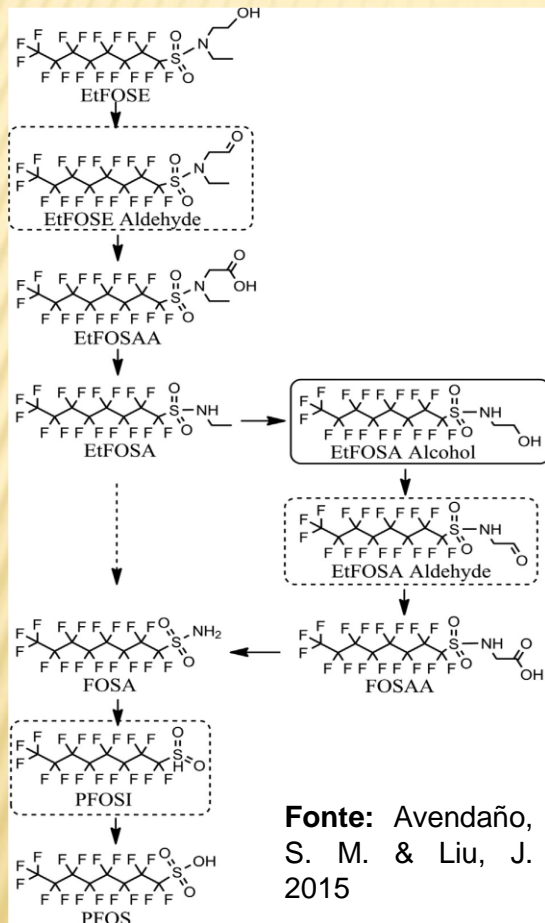


Table 1
An overview of biotransformation of sulfonamide derivatives.

Precursor	Microcosms	Incubation duration	Estimated $t_{1/2}$	Yields of PFCAs or PFSA	Reference
EtFOSA	Rainbow trout (<i>Onchorhynchus mykiss</i>)	30 h	N.A. ^a	PFOS: 21% ^b PFOA: 0%	Tomy et al. (2004)
	liver microsomes	12 min	0.70–20 min ^c	PFOS: 0%	Benskin et al. (2009)
	Human microsomes and recombinant human cytochrome P450s	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)
	Activated sludge	10 d	0.7 d	NA.	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)
SAmPAP	Marine sediment	120 d	>380 d (25 °C) >3400 d (4 °C)	NA.	Benskin et al. (2013)

^a N.A. – not available.

^b Estimated based on Table 1 from Tomy et al. (2004).

^c Estimated based on Figs. S-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}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 saueiros. 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
vtornis@cena.usp.br