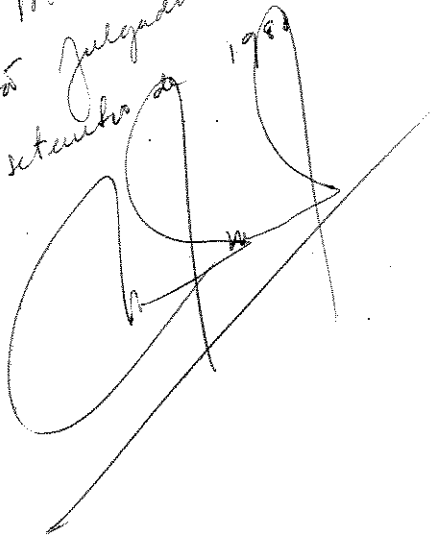


UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

*Este exemplar corresponde a  
edição final da Tese defendida por  
Maria Lúcia Amada de Moura Campos e  
aprovado pela Comissão Julgadora  
de Campinas, "de setembro de 1988"*



FOTODEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS  
PRESENTES EM AMBIENTES AQUÁTICOS NATURAIS  
E SUAS INTERAÇÕES COM OS METAIS COBRE,  
FERRO E CÁDMIO.

TESE DE MESTRADO

Maria Lúcia A. Moura Campos *mt*

Orientador: Prof. Dr. Wilson de Figueiredo Jardim *W.F.*

AGOSTO

1988

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
BIBLIOTECA CENTRAL

Meu ódio pela ciência e  
tecnologia, acaba me  
levando a uma absurda  
crença em Deus.

Luis Buñuel

Ao Luis e Nan Tê,

que em mim...

sempre crianças.

Agradeço especialmente ao Tuti,  
pois estou certa que de muito  
pouco valeria meu esforço sem  
seu carinho, amizade e competência  
como orientador.

**Agradecimentos:**

Aos meus irmãos que mais uma vez me deram as mãos para um passo a frente.

Ao Pedro que amo, César de grande coração, Ricardo que não perde o sorriso, Júlio que deixa sempre um rastro de carinho; agradeço pelo calor que manteve nossa casa.

Aos colegas de laboratório que com bom humor e amizade, tornaram o trabalho e a convivência sempre um prazer.

Aos professores do laboratório, sempre muito solícitos.

Aos professores Marco Aurélio De Paoli, Fernando Galembeck e em especial, Nelson Duran, agradeço por cederem equipamentos que foram essenciais para o desenvolvimento desta tese.

Ao Jarbas pelo apoio e amizade sempre constantes.

Ao Lori pela grande ajuda com sua "Fia".

A Maria Luisa e Eliana, agradeço pelos espectros.

A Raquel, pelo brilho do sol maior.

v

A Cida, que habilmente uniu algumas de minhas veias.

Ao CNPq, CAPES e UNICAMP pelo suporte financeiro.

Agradeço ao Pim pela excelente datilografia, à Eliane pelos desenhos e ao Lau que multiplicou estas páginas.

Muito me alegra ter tantos a agradecer e estou certa que ainda há muitos...

## RESUMO

**TITULO:** Fotodegradação de compostos orgânicos presentes em ambientes aquáticos naturais e suas interações com os metais cobre, ferro e cádmio.

A fotodegradação de compostos orgânicos naturais encontrado em amostras do Rio Atibaia, esgoto sanitário, mar (São Sebastião) e ácido húmico comercial, foi monitorada em laboratório, onde as condições de fotólise foram mantidas próximas às naturais. Uma amostra sintética de triptofano foi utilizada como modelo na validação dos métodos e no estabelecimento das condições de fotólise.

A fotodegradação da matéria orgânica natural mostrou ser dependente de sua concentração e da natureza matriz, sendo favorecida em meio básico.

A interação da matéria orgânica com os metais cobre, ferro e cádmio também foi investigada. A introdução de íons  $\text{Cu(II)}$  ( $10^{-6}$  M) em amostras do Rio Atibaia inibiu drasticamente o processo oxidativo, enquanto os íons  $\text{Fe(III)}$  e  $\text{Cd(II)}$  não alteraram o processo. Este resultado sugere que o complexo  $\text{Cu(II)}$ -matéria orgânica, é pouco fotodegradado, proporcionando assim, comparativamente ao cádmio e ferro, uma maior mobilidade e biodisponibilidade deste metal no sistema aquático.

Para amostras de origem marinha, a adição de íons  $\text{Cu(II)}$  na concentração  $10^{-7}$  M, resultou num comportamento similar

Àquele verificado para as demais amostras analisadas, indicando que este aumento na mobilidade e biodisponibilidade, ocorrem em ambos os sistemas aquáticos.

## ABSTRACT

TITLE: Photodegradation of natural organic compounds from aquatic environments and their interactions with copper, iron and cadmium.

Photodegradation of natural organic compounds ubiquitous in samples from the Atibaia River, sewage, sea (São Sebastião - S.P.) and commercial humic acid was investigated in laboratory, where the photolysis condition was similar to that of natural systems. A synthetic sample (tryptophan) has been used as a model to validate the methods as well as photolysis conditions.

It has been found that the photodegradation of organic matter is dependent upon its concentration and nature, and is favored in alkaline conditions.

Organic matter interactions with copper, iron and cadmium has also been investigated. The spike of  $10^{-6}$  M Cu(II) in the Atibaia River water samples markedly inhibited the oxidative process whilst Fe(III) and Cd(II) did not show any measurable effect in the photodegradation. The data indicate that the complex Cu(II)-organic matter is far more resistant to photodegradation than the complexes formed with cadmium and iron. This implies in a higher mobility as well as bioavailability of copper in the aquatic systems.



In sea water samples, the behavior due to the addition of  $10^{-7}$  M Cu(II) was similar to the process describe above, indicating that this increase in mobility and bioavailability occurred in both fresh and sea water.

INDICE:

	pág.
Resumo.....	vi
Abstract.....	viii
Índice de figuras.....	xii
Abreviaturas.....	xv

## CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO

1.1 - Importância e Objetivo da Pesquisa.....	2
1.2 - Conceitos Básicos de Fotoquímica.....	3
1.3 - Fotoquímica Aquática Ambiental.....	7
1.4 - Interação Metal-Matéria Orgânica.....	13
1.5 - Aspectos da Fotoquímica do Triptofano.....	16
1.6 - Breve Descrição da Pesquisa.....	23

## CAPÍTULO II: PARTE EXPERIMENTAL

II.1 - Reagentes e Soluções.....	26
II.2 - Equipamentos.....	31
II.3 - Fotólise.....	32
II.4 - Condições Experimentais.....	34
II.5 - Métodos.....	35
A - Espectrofotometria.....	35
B - F.I.A. - Condutométrica.....	37
C - Potenciometria.....	39

CAPÍTULO III: RESULTADOS E DISCUSSÃO	
III.1 - Avaliação dos Métodos de Análise.....	42
III.2 - Fotodegradação de Amostras Naturais.....	51
III.3 - Fotodegradação do Triptofano na Presença de Metais.....	54
III.4 - Fotodegradação de Amostras Naturais na Presença de Metais.....	58
III.5 - Influência da Fotodegradação na Especia- ção Química do Cu(II).....	61
CAPÍTULO IV: DISCUSSÃO GERAL E CONCLUSÃO.....	
	67
CAPÍTULO V: REFERÊNCIAS.....	
	72

## ÍNDICE DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Conversão de triptofano em fotoprodutos.....	19
Figura 2. Mecanismo proposto por Inoue e colaboradores (1982), para a geração das espécies $O_2^-$ , $^1O_2$ e $H_2O_2$ .....	22
Figura 3. Espectro de emissão da lâmpada HPL-N 125W (Phillips) com o bulbo removido.....	33
Figura 4. Sistema para fotólise.....	34
Figura 5. Esquema do funcionamento do sistema F.I.A. condutométrica para o monitoramento de $CO_2$ ...	38
Figura 6. Monitoramento da fotoxidação do triptofano $10^{-4}$ M irradiado artificialmente a pH 7,5....	43
Figura 7. Comparação dos espectros do triptofano após 6 horas de irradiação artificial e ao sol....	45
Figura 8. Comparação da fotodegradação da solução de ácido húmico (10 mg/l) em pH 9,5; pH 4,9; pH 7,5 sem tampão e com tampão fosfato $5 \times 10^{-3}$ M.....	47

Figura 9. Comparação dos métodos de Baxter e Carey e da absorbância a 242 nm para a solução de triptofano.....	48
Figura 10. Concentração de CO <sub>2</sub> gerado pela amostra de ácido húmico na luz e no escuro.....	50
Figura 11. Fotodegradação de amostras de ácido húmico, esgoto e Rio Atibaia.....	51
Figura 12. Fotodegradação de amostras de origem marinha contaminada com esgoto, eluída em coluna SEP-PAK e sem contaminação.....	53
Figura 13. Variação da absorbância durante a irradiação das soluções de triptofano na ausência e na presença de Cu <sup>2+</sup> 10 <sup>-6</sup> M, 10 <sup>-5</sup> M e 10 <sup>-4</sup> M.....	55
Figura 14. Concentração de CO <sub>2</sub> gerado durante a irradiação das soluções de triptofano na ausência e na presença de Cu <sup>2+</sup> 10 <sup>-5</sup> M e 10 <sup>-4</sup> M.....	56

- Figura 15. Variação da absorvância e da concentração de  $\text{CO}_2$  gerado durante a irradiação das soluções de triptofano na ausência de metal e na presença de  $10^{-4}$  M de  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  e  $\text{Cu}^{2+}$ ..... 57
- Figura 16. Comparação da fotodegradação das amostras do Rio Atibaia sem adição de metal e com adição de  $10^{-6}$  M de  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  e  $\text{Cu}^{2+}$ ..... 59
- Figura 17. Fotodegradação das amostras de água do mar contaminada com esgoto doméstico sem adição de metal e com adição de  $10^{-7}$  M de  $\text{Cu(II)}$ ..... 60
- Figura 18. Curvas de titulação para amostras de triptofano antes de serem submetidas à irradiação e após 6 horas de irradiação..... 63
- Figura 19. Curvas de titulação para as amostras de esgoto sanitário e ácido húmico..... 65

## ABREVIATURAS

UV	- Ultravioleta.
HOMO	- Orbital molecular ocupado de mais alta energia.
<u>SH</u>	- Substâncias húmicas.
MO	- Matéria orgânica.
Trp	- Triptofano.
HPPI	- 3a-Hidroperoxipirrolinoindol.
N-FQ	- N-Formilquinurenina.
HPI	- 3a-Hidroxipirrolidinoindol.
Qui	- Quinurenina.
CCD	- Cromatografia em camada delgada.
DNA	- Acido desoxirribonucléico.
SOD	- Superóxido dismutase.
PIPES	- Piperazina-N,N'ácido 2-etano sulfônico.
F.I.A.	- Análise por injeção em fluxo.
CLAE	- Cromatografia líquida de alta eficiência.
DQO	- Demanda química de oxigênio.
COT	- Carbono orgânico total.
ABS	- Absorbância.
EtOH	- Etanol.
DMSO	- Dimetilsulfóxido.

CAPITULO I

INTRODUÇÃO



## I.1 - IMPORTANCIA E OBJETIVO DA PESQUISA:

A zona fótica, embora seja uma pequena porção do sistema aquático, é um ambiente extremamente dinâmico sob o ponto de vista químico e biológico. Nesta área, o transporte de materiais e a produtividade biológica são muito mais intensos que em águas mais profundas. Até a década passada, o papel das reações fotoquímicas como um componente da zona fótica era completamente ignorado, exceto pela ocorrência da fotossíntese. Atualmente, um crescente número de estudos têm demonstrado a grande importância dessas reações (Zafirou et alii, 1984).

A fotoquímica clássica foi iniciada em meados do século XIX, enquanto que só recentemente esses estudos foram extendidos para compostos naturais presentes no sistema aquático (Miller, 1983).

Devido aos fenômenos naturais e principalmente à atividade humana, inúmeros são os compostos orgânicos e inorgânicos que vêm sendo lançados no ambiente aquático. Destes, os metais pesados requerem crescente atenção devido ao seu alto potencial tóxico e sua persistência no ambiente (Jardim, 1983). Alguns metais, mesmo quando encontrados em baixas concentrações, podem causar danos que levam ao comprometimento de toda biota (Allen et alii, 1980).

Numa recente revisão bibliográfica, Hunt (1987) mostra que a toxidez e biodisponibilidade do metal dependem diretamente da especiação química deste, isto é, da forma na qual o metal se apresenta no ambiente aquático.

Embora já tenha sido demonstrado que os efeitos tóxicos das espécies metálicas são atenuados pela interação com ligantes orgânicos e inorgânicos (Jardim e Allen, 1984; Florence e Batley, 1980) ainda são limitadas as informações disponíveis sobre a interação metal-matéria orgânica, bem como o seu comportamento em águas naturais. Muitos são os trabalhos que têm demonstrado a importância da especiação química, porém a influência da radiação solar na interação metal-matéria orgânica tem sido muito pouco abordada.

A principal meta desta pesquisa é avaliar as possíveis interações dos metais cobre, ferro e cádmio com a matéria orgânica de ocorrência natural quando irradiadas na região do ultravioleta próximo e visível. Tal estudo visa coletar maiores informações sobre os processos que poderão ser modificados por estas interações. Dentre estes, o transporte, e conseqüentemente a mobilidade e o tempo de residência do metal, bem como a toxidez do mesmo para a biota.

## 1.2 - CONCEITOS BASICOS DE FOTOQUIMICA:

A fotoquímica é a área da ciência voltada para o estudo de uma série de processos físicos e químicos, os quais ocorrem após a excitação eletrônica de moléculas com radiação eletromagnética (Roof, 1982).

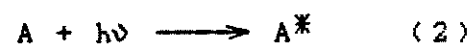
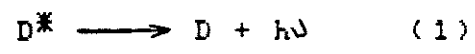
O sol, uma poderosa fonte de radiação, é fundamental para os processos fotoquímicos ambientais, tal como a fotossíntese, o exemplo mais conhecido.

Um terço da radiação solar é filtrada pela atmosfera, sendo que a energia que atinge a superfície terrestre é da ordem de  $140 \text{ mW/cm}^2$ . Desta, 50% se encontra na região do infravermelho (800-2500 nm), 40% no espectro visível (400-800 nm) e somente 10% no ultravioleta (190-400 nm). A radiação ultravioleta (UV), devido a sua alta energia, é a porção do espectro mais agressiva biologicamente quando comparada com a porção do visível e do infravermelho. Esta pode ser dividida em três zonas: UV A (320-400 nm), UV B (280-320 nm) e UV C (190-280 nm). As radiações mais energéticas tais como os raios gama, os raios-X, os UV C e os UV B mais curtos (< 290 nm) são retidos pela camada de ozônio na atmosfera (Jeanmougin, 1986).

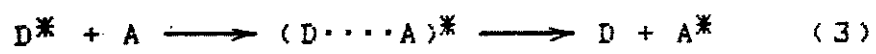
Os processos fotoquímicos podem ocorrer em duas etapas; a primeira, denominada reação fotoquímica primária, ocorre pela absorção direta do fóton por grupos cromóforos. Esta absorção de energia gera uma molécula excitada que pode produzir radicais, íons radicais, íons e elétrons hidratados. Numa segunda etapa, a transferência de energia da molécula excitada ou de seus fotoprodutos para uma outra molécula não excitada, faz parte das chamadas reações fotoquímicas secundárias (Rabek, 1982).

Muitas reações fotoquímicas podem ser induzidas por compostos chamados sensibilizadores. Aqueles sensibilizadores que, quando excitados pela luz, se decompõem em radicais livres ou íons capazes de iniciar reações secundárias, são chamados de

fotoiniciadores. Já os sensibilizadores que, quando excitados pela luz, transferem sua energia de excitação para outras moléculas, são chamados de fotossensibilizadores (EPA, 1983; Rabek, 1982). Esta transferência de energia pode se dar por um processo radioativo ou não. A transferência radiativa de energia de uma molécula doadora excitada ( $D^*$ ) para um acceptor A, pode ser escrita como:



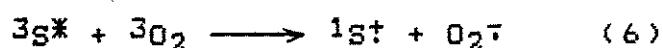
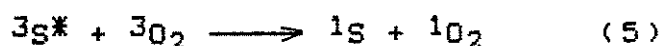
Por um processo não radiativo temos a formação de um "complexo de encontro":



A molécula D, doadora, é chamada de fotossensibilizadora, enquanto a molécula A é chamada de amortecedora (do inglês, quencher) (Roof, 1982). Um amortecedor é um composto que acelera o processo de desativação de uma molécula excitada num dado sistema, sem reagir com a mesma (Bellus, 1978). Neste caso, quando o sensibilizador não é consumido na reação, tem-se a fotossensibilização (EPA, 1983). Caso o meio reacional apresente um acceptor que reage quimicamente com a espécie excitada, então este é chamado de supressor (do inglês, scavenger).

Em grande parte dos processos fotoquímicos, o oxigênio molecular é extremamente importante devido à formação de espécies

altamente reativas como o radical hidroxila ( $\cdot\text{OH}$ ), o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), o oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ) e o íon superóxido ( $\text{O}_2^-$ ). A formação do oxigênio singlete pode ocorrer pela transferência de energia do sensibilizador no estado excitado tripleto ( $^3\text{S}^*$ ), para o oxigênio no estado fundamental ( $^3\text{O}_2$ ). Caso haja a transferência de elétron, então observa-se a formação do íon superóxido (Bellus, 1978; Gomes, 1982; Foote, 1968).



onde  $^1\text{S}$  representa o estado fundamental do sensibilizador e  $^1\text{S}^*$ ,  $^3\text{S}^*$  representam os estados excitados singlete e tripleto.

A tabela a seguir mostra esquematicamente os diferentes estados eletrônicos da molécula de oxigênio (Bellus, 1978; Gomes, 1982).

ESTADO	SÍMBOLO	CONFIGURAÇÃO DOS ELÉTRONS NO HOMO <sup>(a)</sup>	ENERGIA RELATIVA (kcal/mol)
2º estado excitado	$^1\Sigma_g^+$	$\uparrow \quad \downarrow$	37,5
1º estado excitado	$^1\Delta_g$	$\uparrow\downarrow \quad \text{—}$	22,5
estado fundamental	$^3\Sigma_g^-$	$\uparrow \quad \uparrow$	0

(a) HOMO: orbital molecular ocupado de mais alta energia (do inglês, Highest Occupied Molecular Orbital).

O estado fundamental do oxigênio molecular é o estado triplete, isto é, os dois elétrons de maior energia ocupam orbitais distintos, seus momentos angulares são opostos e seus spins paralelos ( $^3\Sigma_g^- O_2$  ou somente  $^3O_2$ ). Já no estado singlete, os elétrons de maior energia estão no mesmo orbital, com momentos angulares na mesma direção, spins opostos ( $^1\Delta_g O_2$ ) e com uma energia de 22,5 kcal/mol referente ao estado fundamental. A espécie  $^1\Sigma_g^+ O_2$ , que difere da fundamental por possuir spins opostos, tem um tempo de vida extremamente curto, desativando-se rapidamente para a espécie  $O_2 (^1\Delta_g)$  (Gomes, 1982). Desta forma, as discussões envolvendo o oxigênio singlete serão somente referidas a esta última espécie, denotada por  $^1O_2$ .

Devido a diversidade dos tópicos abordados na fotoquímica, surgem inúmeras sub-áreas, como por exemplo, a fotoquímica ambiental. Esta área não se limita apenas às condições ambientais, mas sim, trata de assuntos que podem ser relevantes ao ambiente natural (Roof, 1982).

### 1.3 - FOTOQUÍMICA DE AMBIENTES AQUÁTICOS:

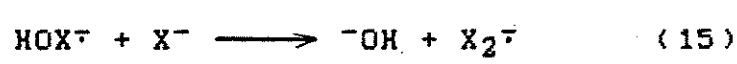
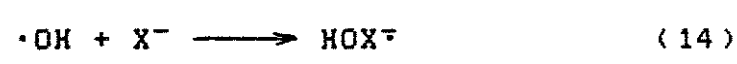
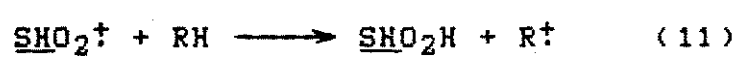
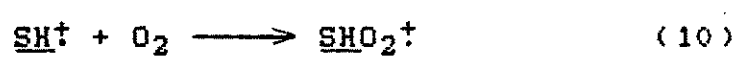
A fotoquímica aquática ambiental difere da clássica em muitos aspectos. Na fotoquímica clássica são utilizados comprimentos de onda bastante energéticos, solventes orgânicos e amostras desaeradas. A fotoquímica aquática ambiental utiliza a faixa do espectro de 280 a 600 nm, meio aquoso, o qual favorece a

dissolução do oxigênio molecular, um componente essencial para inúmeras reações. Outro aspecto importante é que, enquanto a fotoquímica tradicional trabalha com matrizes bastante simples sob o ponto de vista reacional, a ambiental trata de sistemas bastante complexos envolvendo moléculas orgânicas e/ou inorgânicas, muitas de estruturas desconhecidas, como por exemplo as substâncias húmicas. Além disso, tais substâncias podem reagir simultaneamente gerando uma gama de produtos (Roof, 1982).

As substâncias húmicas presentes no sistema aquático exercem um papel fundamental em inúmeras reações fotoquímicas (Zafirou et alii, 1984). Estas substâncias, também presentes no solo, são compostos orgânicos produzidos pela oxidação polimérica de detritos biológicos, possuindo uma estrutura variável, dependendo de sua origem e de sua residência nos diversos ecossistemas. Com seu peso molecular (g/mol) variando de poucas centenas até alguns milhares, as substâncias húmicas contêm olefinas conjugadas, grupos funcionais aromáticos, carbonílicos, hidroxílicos e uma pequena porcentagem de grupos nitro (Fischer et alii, 1987).

Os estudos da influência das substâncias húmicas em processos fotoquímicos e fotobiológicos foram inicialmente centrados no fato destas atuarem como atenuantes da luz (Zepp e Cline, 1977). Atualmente, muitos autores têm demonstrado que essas substâncias são importantes fotossensibilizadores naturais presentes no sistema aquático (Frimmel et alii, 1987; Simmons e Zepp, 1986; Zepp et alii, 1985; Choudhry, 1982). De acordo com Cooper e Herr (1987), uma possível sequência de reações, envolvendo as substâncias húmicas (SH) em processos fotoquímicos, pode

ser descrita como:



onde X é um haleto qualquer.

Embora essas reações não indiquem todos os possíveis passos envolvidos, é interessante notar que o fotoprocasso primário inicial resultou em dez produtos secundários, sendo que os dois peróxidos formados, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e SHO<sub>2</sub>H são novos cromóforos que funcionam como reserva para posterior produção de radicais (Cooper e Herr, 1987).

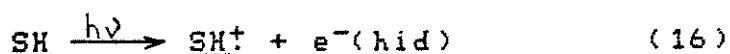
O mecanismo envolvendo a geração do ion superóxido tem sido utilizado por diversos autores para explicar o rápido aumento na concentração do peróxido de hidrogênio em águas húmicas naturais, quando submetidas à radiação solar (Cooper e Zika, 1983; Baxter e Carey, 1983; McCormick e Thomason, 1978).

De acordo com Baxter e Carey (1982), as substâncias húmicas podem promover o oxigênio molecular do estado fundamental para o estado singlete mais reativo. Os autores sugerem este me-



canismo como responsável pela fotoxidação da histidina e do 2,5-dimetilfurano catalisada na presença de águas húmicas naturais.

Embora seja vasto o espectro de compostos orgânicos presentes no ambiente aquático, é pequeno o número de substâncias naturais que possuem grupos cromóforos que absorvem diretamente o fóton, sofrendo a fotólise direta (Zafirou et alii, 1984). Desta forma, a propriedade das substâncias húmicas em atuar como fotosensibilizadores contribui significativamente para a degradação de poluentes presentes no ambiente aquático, que não absorvem apreciavelmente na região do ultravioleta (Zepp et alii, 1985; Ross e Crosby, 1985; Acher, 1985; Ollis, 1985; Choudhry, 1982). Estes poluentes podem ser decompostos pela reação com elétrons hidratados (Zepp et alii, 1987a), produzidos pela fotólise de substâncias húmicas (Power et alii, 1987; Fischer, 1987).

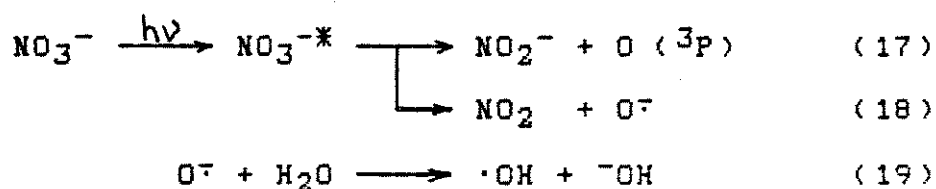


Draper e Crosby (1983) sugeriram a participação do elétron hidratado, gerado em águas húmicas irradiadas, como um possível mecanismo para explicar a produção de peróxido de hidrogénio. Porém, Zepp e colaboradores (1987a), adicionando fortes supressores de elétrons em águas naturais, verificaram que a produção do peróxido não era significativamente alterada, sugerindo assim que o processo fotoquímico da produção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  não se dava via elétron hidratado.

Estudos recentes realizados em águas marinhas demonstraram que não só as substâncias húmicas são importantes fotos-

sensibilizadores naturais, como também as flavinas, mesmo que presentes em concentrações bastante baixas. Esta classe de compostos demonstrou ser até 280 vezes mais eficiente que o ácido fúlvico na fotossensibilização da metionina em água marinha artificial (Mopper e Zika, 1987). Geralmente o processo de fotossensibilização de poluentes químicos na transferência de energia em soluções diluídas é pouco eficiente (Cooper e Herr, 1987). Desta forma, fotocatalisadores heterogêneos semicondutores como o óxido de titânio têm sido utilizado, com bastante eficiência, na fotólise de contaminantes orgânicos-clorados (Ollis, 1985; Oliver et alii, 1979).

Zepp e colaboradores (1987b) demonstraram que a oxidação de uma variedade de poluentes orgânicos em águas naturais pode ser induzida pela presença de íons nitrato. Durante o processo de irradiação, o íon radical ( $\text{O}^-$ ) produzido na reação (18), é rapidamente protonado gerando seu ácido conjugado, o radical hidroxila (eq. 19), um potente oxidante que reage mais rapidamente com contaminantes orgânicos que o oxigênio atômico  $\text{O}(^3\text{P})$ . Este último reage principalmente com o oxigênio molecular formando ozônio que é consumido pela reação com nitrito, ou pela sua decomposição gerando radicais hidroxila:



Visto que a matéria orgânica dissolvida atua como um supressor de radicais hidroxila, a influência dos íons nitrato na degradação de poluentes é amortecida em águas com alta concentração de substâncias húmicas (Zepp et alii, 1987b).

Uma diferente visão do papel das substâncias húmicas em processos fotoquímicos é discutida por Choudhry (1982). Por conterem estruturas policíclicas aromáticas tais como antraceno, fenantreno, pireno, etc, as substâncias húmicas podem atuar como amortecedores de energia de excitação de outros compostos, resultando num processo de inibição da degradação de poluentes químicos de origem antropogênica. Isto somente ocorre no caso da energia de excitação das substâncias húmicas ser mais baixa que a do composto antropogênico.

As substâncias húmicas, assim como outros compostos orgânicos dissolvidos, além de interferirem em processos que envolvem poluentes químicos, também influenciam diretamente na distribuição, transporte e conseqüentemente no destino dos metais presentes no sistema aquático (Daum e Newland, 1982). Visto que a toxidez de metais está diretamente relacionada com a forma com que estes se apresentam no ambiente aquático, é de fundamental importância o estudo da interação destes metais com a matéria orgânica dissolvida (Hunt, 1987).

#### I.4 - INTERAÇÃO METAL-MATÉRIA ORGÂNICA:

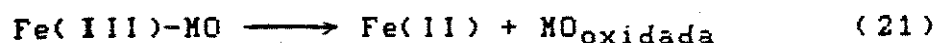
Muitos autores têm demonstrado que a fração "livre" (hidratada), da concentração total do metal é a forma mais tóxica para a vida aquática. As frações fortemente complexadas ou associadas com partículas coloidais são muito menos tóxicas (Hunt, 1987; Jardim et alii, 1984; Florence e Batley, 1980; Allen et alii, 1980). Desta forma, os ambientes aquáticos que contêm alta concentração de compostos orgânicos e inorgânicos levam o sistema a um apreciável tamponamento metálico, podendo assim receber um maior aporte de metais, sem que haja apreciável deteriorização da biota (Jardim, 1983).

O comportamento químico de metais no sistema aquático depende principalmente de parâmetros ambientais tais como sua concentração, tipos de adsorventes, pH, natureza e concentração dos ligantes orgânicos e inorgânicos presentes (Vuceta e Morgan, 1978).

A atividade de um íon metálico em águas naturais é controlada inorganicamente pelo equilíbrio de solubilidade com a fase sólida tal como óxidos metálicos, hidróxidos, carbonatos e, sob condições anóxicas, pelo sulfeto (Singer, 1977). Como a solubilidade do metal é dada pela soma das frações livre e complexada, pode-se dizer que com o aumento da concentração de agentes complexantes, aumenta-se a solubilidade do metal no sistema aquático e, conseqüentemente, a mobilidade e biodisponibilidade do metal para organismos aquáticos (Daum e Newland, 1982).

O material particulado é o principal responsável pelo transporte e remoção de contaminantes metálicos do sistema aquático. A complexação do metal com a matéria orgânica pode favorecer ou desfavorecer a extensão com que esse metal se associa ao material particulado, e ainda pode alterar as formas oxidadas e reduzidas do metal (Singer, 1977).

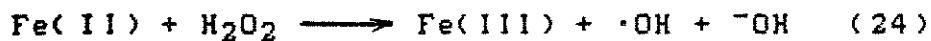
Hoffmann (1980) mostra a importância de alguns metais que atuam como catalisadores em uma série de reações no sistema aquático natural. De acordo com Hanaki e Kamide (1983), os íons cobre são capazes de catalisar a autoxidação da cisteína. O par redox Fe(II)/Fe(III) participa da oxidação da matéria orgânica (MO) pelo oxigênio molecular dissolvido, atuando como um transferidor de elétrons. Este processo é acelerado na presença de luz artificial, de acordo com a equação:



Um mecanismo similar envolvendo o par Cu(I)/Cu(II) foi proposto por Jardim et alii (1986). Possivelmente os grupos carboxílicos presentes nas substâncias húmicas estão envolvidos no processo oxidativo, pois a esterificação desses grupos levou a uma redução de 50% no consumo do oxigênio dissolvido (Miles e Brezonik, 1981).

Além do oxigênio molecular, o peróxido de hidrogênio é um importante agente oxidante do ambiente aquático. Em estudos realizados com águas marinhas naturais, Moffett e Zika (1987a)

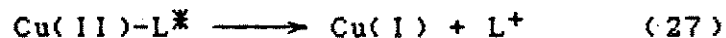
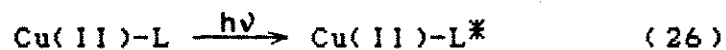
verificaram que o peróxido de hidrogênio pode alterar a oxidação de metais no sistema aquático como também pode atuar como fonte de íons superóxido e de radicais hidroxila.



O Fe(III) produzido pode sofrer hidrólise, formando óxidos insolúveis, resultando numa remoção de ferro da solução (Waite e Morel, 1984). O mesmo mecanismo citado acima é proposto para a reação de Cu(I) com o peróxido de hidrogênio, porém a velocidade da reação para este metal é muito mais lenta do que para o Fe(II) (Hoffett e Zika, 1987a).

Tem sido demonstrado que o processo oxidativo da matéria orgânica pode ser acelerado na presença de luz (Acher, 1985). Hoffett e Zika (1987b) verificaram que a luz solar tem grande influência na interconversão Cu(I)/Cu(II) em águas marinhas. Porém, como grande parte dos metais está presente em baixas concentrações, o equilíbrio redox ainda é bastante obscuro.

A redução do Cu(II) complexado pode ocorrer por uma transferência de carga do ligante (L) para o metal, a qual tem sido observada em muitos complexos de cobre.



A influência da radiação ultravioleta na especiação do ferro foi recentemente abordada por Waite e Morel (1984). A solubilidade do ferro na forma de  $-FeOOH$  foi elevada de 4 vezes na presença de ácido fúlvico e luz UV, enquanto que a presença de citrato e luz UV, acentuou ainda mais a fotodissolução do colóide. Esse processo de dissolução é favorecido em meio ácido.

O estudo envolvendo as interações metal-matéria orgânica-luz em ambientes aquáticos naturais torna-se extremamente complexo, refletindo a natureza da matriz. Tendo em vista esta complexidade, muitos autores têm utilizado compostos de origem sintética com o objetivo de tentar elucidar essas interações naturais (Creed, 1984). A idéia se baseia no fato de que matrizes mais simples tais como o triptofano podem servir como modelos para matrizes mais complexas.

#### 1.5 - ASPECTOS DA FOTOQUÍMICA DO TRIPTOFANO:

A fotoquímica do triptofano tem sido amplamente pesquisada (McCormick e Thomason, 1978; Sun e Zigman, 1979; Inoue et alii, 1982; Creed, 1984) principalmente porque alguns de seus fotoprodutos e derivados demonstraram possuir uma série de atividades biológicas. Sun e Zigman (1979) citam que fotoprodutos do triptofano expostos ao ultravioleta próximo, são capazes de ligar-se ao DNA, destruir bactérias e células em culturas.

Diversos estudos sobre a fotoquímica do triptofano têm utilizado a excitação direta (Borkman, 1977; Borkman et alii, 1986) ou corantes fotossensibilizadores (Nakagawa et alii, 1979) tais como o azul de metileno e o rosa de Bengala. De acordo com Nakagawa e colaboradores (1979), o azul de metileno é utilizado com esse objetivo desde 1950, sendo que a partir dessa data, este campo de estudo tem sido desenvolvido como uma ferramenta para elucidar a atividade de sítios enzimáticos. O sensibilizador rosa de Bengala tem sido utilizado na caracterização de fotoprodutos do triptofano (Nakagawa et alii, 1979). A N-formilquinurenina, um desses fotoprodutos, é considerada um eficiente fotossensibilizador de aminoácidos (Walrant e Santus, 1974). Borkman e colaboradores (1986) demonstraram que a fotoxidação do triptofano em solução aquosa pode ser acelerada em cerca de 30 vezes quando se adiciona N-formilquinurenina.

O mecanismo envolvido na fotodegradação do triptofano, embora extensivamente estudado, ainda tem muitos pontos obscuros. Entretanto são encontrados produtos e mecanismos comuns, tanto na fotólise direta por UV próximo, como na fotólise auxiliada por corantes sensibilizadores.

Amostras de triptofano dissolvidas em solução deuterada foram mais facilmente fotoxidadas que aquelas dissolvidas em solução aquosa. Uma vez que a água deuterada é considerada um estabilizador de oxigênio singlete, esse resultado vem comprovar a participação desta espécie no mecanismo fotoxidativo do triptofano. A adição da azida sódica, um amortecedor de oxigênio singlete, reduziu sensivelmente (55%) esse processo, enquanto a desae-



ração das amostras o inibiu totalmente. Admitindo-se que todo o oxigênio singlete formado é amortecido pela azida, então pode-se considerar que 55% do triptofano é fotooxidado via oxigênio singlete (Walrant e Santus, 1974). Resultados similares foram encontrados por Borkman e colaboradores (1986).

A transformação do triptofano irradiado a 365 nm em seus fotoprodutos está descrita esquematicamente na figura 1. Embora já tenham sido detectados pelo menos 9 fotoprodutos, nem todos foram identificados ou isolados (Sun e Zigman, 1979).

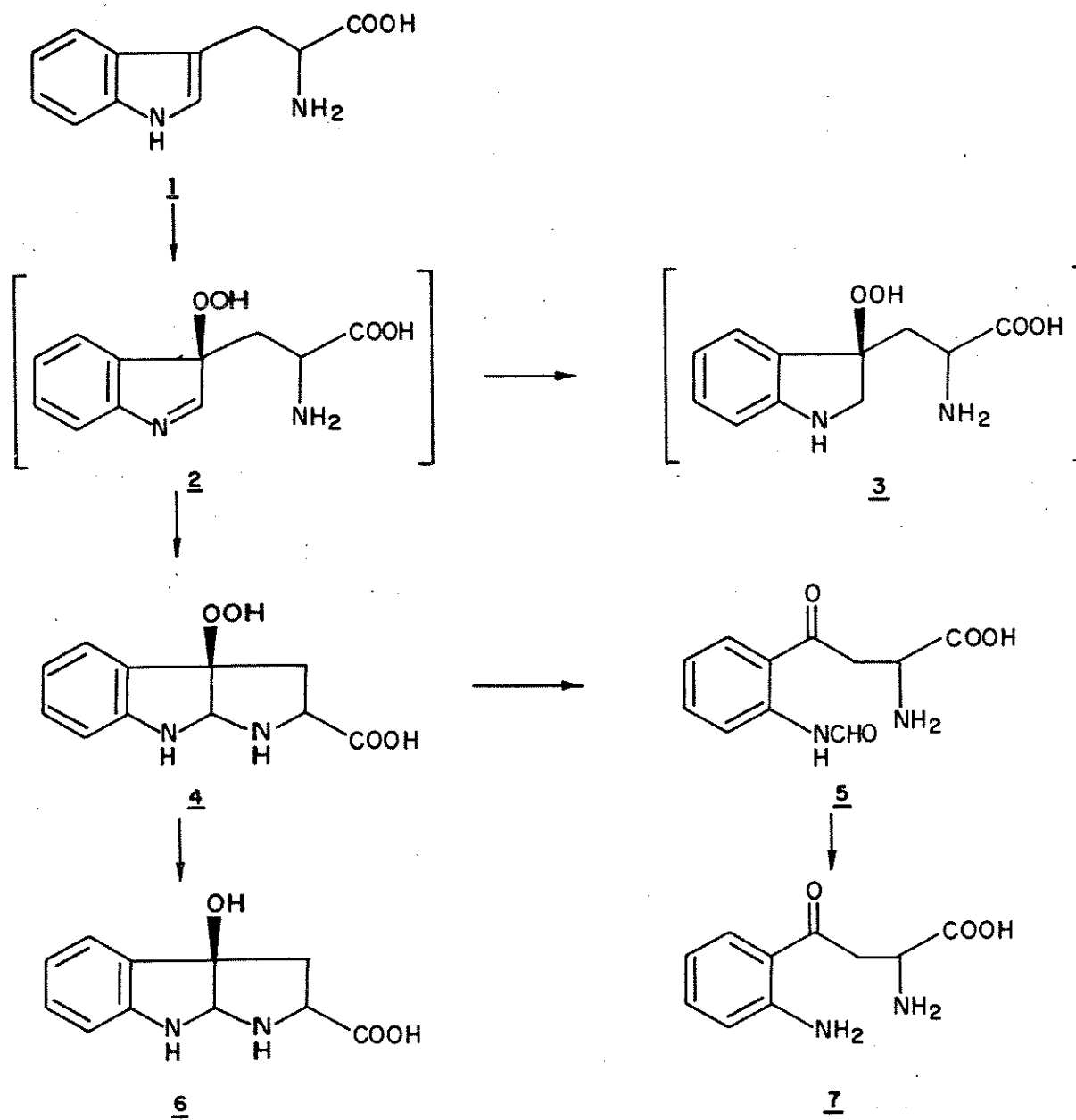


figura 1: Conversão de triptofano em fotoprodutos

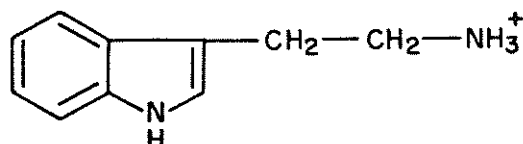
1. Triptofano (Trp)

4. 3a-Hidroperoxipirrolinoindol (HPPI)

5. N-Formilquinurenina (N-FQ)
6. 3a-Hidroxi pirrolidinoindol (HPI)
7. Quinurenina (Qui)

Os compostos 5 e 6 foram detectados à temperatura ambiente e isolados por cromatografia em camada delgada (CCD) a partir do intermediário 4, que é relativamente estável. Os compostos 2 e 3, são propostos como intermediários de vida curta (Sun e Zigman, 1979).

O composto triptamina (B) foi detectado por CCD quando amostras de triptofano foram submetidas a radiação de 290 nm, porém não foi detectado em amostras irradiadas a 337,1 nm (Borkman et alii, 1986).



(B)

Além dos fotoprodutos de origem orgânica, o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) também tem sido detectado na fotólise do triptofano.

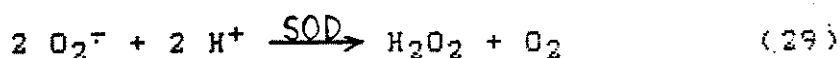
McCormick e Thomason (1978) demonstraram que o peróxido de hidrogênio é formado a partir do íon superóxido ( $O_2^-$ ) gerado durante a fotooxidação do triptofano sob radiação no UV próximo. Este íon é altamente tóxico sob o ponto de vista biológico devido

a sua habilidade em inativar enzimas, degradar DNAs e polissacarídeos (Halliwell, 1982). Na presença de  $H_2O_2$ , o íon superóxido pode gerar o radical hidroxila ( $\cdot OH$ ), o qual é ainda mais reativo que seu precursor.



A produção de  $\cdot OH$  pode ocorrer "in vivo" e explica parcialmente alguns aspectos da toxidez do íon superóxido (Halliwell, 1982).

A enzima superóxido dismutase (SOD) tem sido utilizada como prova específica para esse íon (McCormick e Thomason, 1978).



A formação de  $H_2O_2$  durante a fotoxidação do triptofano é aumentada significativamente na presença desta enzima (McCormick e Thomason, 1978; Inoue et alii, 1982).

O principal passo para a geração do íon superóxido durante a fotólise do triptofano no UV próximo envolve a formação do HPPI num primeiro estágio (figura 2). Este produto é então convertido a N-FQ e HPI, onde o N-FQ formado atua como um eficiente fotossensibilizador para a geração de  $H_2O_2$ ,  $O_2^-$  e  $^1O_2$  na presença de substratos que podem ser prontamente oxidados, como o Trp e o HPI. O estado triplete do N-FQ é reduzido pelo HPI gerando  $N-FQ^-$ , que por sua vez reage com o oxigênio molecular para formar o íon superóxido (Inoue et alii, 1982).

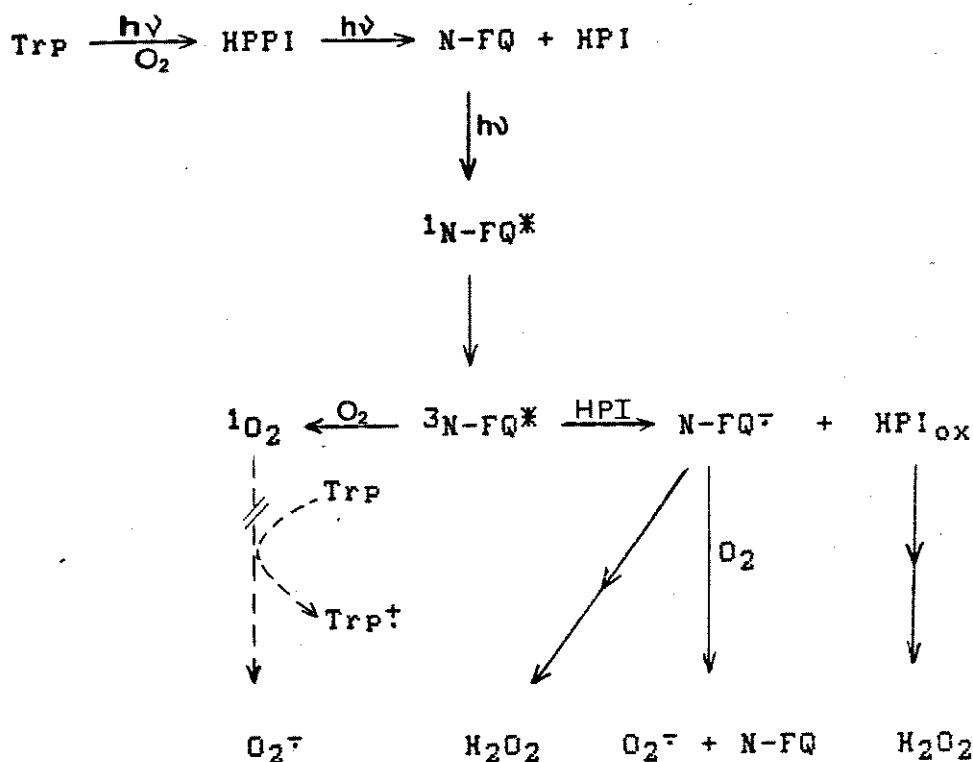


figura 2: Mecanismo proposto por Inoue e colaboradores (1982), para geração das espécies  $\text{O}_2^-$ ,  ${}^1\text{O}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$

As linhas tracejadas na figura 2 indicam que não foi observada a geração do íon superóxido através da transferência de elétrons do Trp para o oxigênio singlete. A adição de supressores de radicais hidroxila ( $\cdot\text{OH}$ ) tal como a manose e a frutose não alteraram a formação do peróxido de hidrogênio, indicando que esse radical não está envolvido na sua formação (Inoue et alii, 1982).

No estudo fotoquímico do triptofano o número de variáveis envolvidas geralmente é grande. Há autores que utilizam diversos comprimentos de onda (Borkman, 1977), diferentes fontes de radiação (Borkman et alii, 1986), sensibilizadores (Nakagawa et

alii, 1979), vários valores de pH (Hibbard et alii, 1985) e ainda diferentes meios reacionais (Kochevar e Yoon, 1983). A utilização de supressores (Inoue et alii, 1982), amortecedores e estabilizadores (Walrant e Santus, 1974) têm sido muito útil para elucidar o mecanismo envolvido no processo de fotoxidação deste composto.

O estudo fotoquímico do triptofano, além de auxiliar na elucidação de mecanismos envolvidos em processos fotoquímicos ambientais, também auxilia no esclarecimento do poder bactericida do UV próximo em sistemas biológicos, uma vez que a fotólise desse composto orgânico gera espécies altamente oxidantes.

#### 1.6 - BREVE DESCRIÇÃO DA PESQUISA:

Nesta pesquisa foram avaliadas as interações dos metais Cu(II), Fe(III) e Cd(II) com a matéria orgânica presente no ambiente aquático natural. O metal cobre tem grande importância ecológica no ecossistema aquático, pois este, ao mesmo tempo que atua como micronutriente essencial, pode ser extremamente tóxico quando encontrado em concentrações mais elevadas. O ferro, devido ao seu potencial padrão de eletrodo positivo, pode participar como transferidor de elétrons em processos fotoquímicos, atuando como um catalisador natural desses processos. Para efeito de comparação foi utilizado o Cd(II), que oposto ao ferro, possui um potencial padrão de eletrodo negativo, podendo ser encontrado no

ambiente aquático com relativa abundância, quando oriundo de atividades antropogênicas.

Foram estudadas amostras do Rio Atibaia (Sousas-SP), esgoto sanitário (estação-UNICAMP), águas marinhas (São Sebastião-SP) e de ácido húmico obtido comercialmente (Aldrich). Amostras de triptofano de origem sintética foram utilizadas como um modelo simples, onde os métodos empregados neste estudo, puderam ser avaliados e extrapolados para matrizes mais complexas como a das amostras naturais.

CAPITULO II

PARTE EXPERIMENTAL



## II.1 - REAGENTES E SOLUÇÕES:

### TAMPÕES:

- Ftalato:

concentração: 0,05 M  $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$  (Merck).

pH: 4,008 (25°C).

- Fosfato:

concentração: 0,025 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Merck) e 0,025 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$

(Queel).

pH: 6,865 (25°C).

concentração utilizada em amostras naturais:  $5 \times 10^{-3}$  M.

- Borato:

concentração: 0,01 M de  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  (Fisher).

pH: 9,180 (25°C).

- PIPES: (piperazina - N,N'ácido 2-etano sulfônico).

concentração:  $5 \times 10^{-3}$  M (Sigma).

pKa: 6,80 (25°C).

**SOLUÇÃO ESTOQUE DE METAIS:**

- Sulfato cúprico:  
solução estoque:  $1 \times 10^{-2}$  M  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (Química Moderna).
  
- Nitrato férrico:  
solução estoque:  $1 \times 10^{-2}$  M  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  (Quimis).
  
- Nitrato de cádmio:  
solução estoque:  $1 \times 10^{-2}$  M  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (Vetec).

Estas soluções, usadas na contaminação das amostras naturais, não foram padronizadas. Isto porque nestas matrizes, a concentração original destes metais pode variar em duas ou mais ordens de magnitude. Desta forma, possíveis variações na concentração final das soluções não devem alterar os comportamentos observados.

**REAGENTE PARA NITRITO:**

Para 500 ml de solução diluiu-se em água destilada 3,0 g de ácido sulfanílico ( $4\text{-NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{H}$ , Merck), 0,5 g de di-hidrocloreto de N-(1-naftil) etilenodiamônia ( $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2$ , Merck) e 20 ml de ácido clorídrico concentrado (HCl, Merck).

## OUTROS REAGENTES:

## - Nitrito de sódio:

solução estoque: 0,32846 g  $\text{NO}_2^-/1$  ( $\text{NaNO}_2$ , Ecibra), acondicionando a 4°C e preservado com 1 ml de clorofórmio.

## - Cloridrato de hidroxilamina:

solução estoque: 0,025 M  $\text{H}_2\text{CINO}$  (Riedel), acondicionado em frasco escuro a 4°C.

concentração utilizada nos experimentos:  $5 \times 10^{-4}$  M.

## - Nitrato de sódio:

solução estoque: 5 M  $\text{NaNO}_3$  (Orion). Usado como eletrólito inerte para ajuste da força iônica (0,05 M) das amostras a serem tituladas.

## - Acido nítrico:

solução estoque: 1 M  $\text{HNO}_3$  (Merck).

## - Hidróxido de sódio:

solução estoque: 1 M  $\text{NaOH}$  (Merck).

## - Acido sulfúrico:

solução estoque: 1 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Merck).

- Bicarbonato de sódio:

solução estoque: 0,1 M  $\text{NaHCO}_3$  (Merck), preparada sempre imediatamente antes de se iniciar os experimentos.

AMOSTRAS:

- Triptofano:

Preparou-se uma solução estoque de L-triptofano  $1 \times 10^{-3}$  M ( $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$ , Vetec), a qual foi acondicionada em frasco escuro e mantida a  $4^\circ\text{C}$  por no máximo 6 dias para evitar sua fotodegradação. A concentração utilizada em todos os experimentos foi de  $1 \times 10^{-4}$  M.

- Acido húmico:

Esta substância de origem natural é fornecida comercialmente pela Aldrich (P.E.)  $300^\circ\text{C}$ . Uma solução de 100 mg/l foi preparada e armazenada a  $4^\circ\text{C}$ . As amostras para estudo foram diluídas para 10 mg/l e posteriormente filtradas a vácuo em membrana de  $0,45\mu\text{m}$  (Millipore).

- Amostras naturais:

As amostras naturais foram coletadas na superfície das águas, em frascos de polietileno para minimizar a possível retenção de metais na parede do frasco. Estes frascos foram previamente mantidos em solução de  $\text{HNO}_3$  10% durante 24 horas para evitar a contaminação por metais, e posteriormente lavados com água desti-

lada. As amostras coletadas foram armazenadas em "freezer" a  $-18^{\circ}\text{C}$  e descongeladas imediatamente antes de serem submetidas a análise e filtradas a vácuo em membrana de  $0,45\mu\text{m}$ .

Rio Atibaia: Este rio, que abastece 99% da população da cidade de Campinas (S.P.), atravessa grande parte do município. As amostras deste rio foram coletadas em Sousas, distrito de Campinas, no período da manhã no mês de janeiro de 1987.

Esgoto: A coleta de esgoto foi realizada em uma estação de tratamento da UNICAMP que recebe diariamente dejetos provenientes do Hospital das Clínicas da Universidade. A estação vem utilizando um processo eletrolítico para o tratamento do esgoto bruto. As amostras envolvidas nesta pesquisa foram coletadas antes e depois deste tratamento.

Águas marinhas: As águas de origem marinha foram coletadas na cidade de São Sebastião (S.P.), localizada a latitude de  $23^{\circ}49,5'$  e longitude de  $45^{\circ}26,5'$ . Uma das amostras foi coletada no canal de São Sebastião ("amostra não contaminada") e outra foi coletada no porto, a qual estava visivelmente contaminada por esgoto doméstico ("amostra contaminada").

## II.2 - EQUIPAMENTOS:

### ESPECTROFOTOMETRIA:

- Análise de nitrito e triptofano.  
espectrofotômetros: MICRONAL, modelo B-382;  
BAUCH & LOMB, modelo spectronic 2000.  
coluna SEP-PAK C<sub>18</sub>: MILLIPORE - Waters Associates.

### SISTEMA DE INJEÇÃO DE FLUXO:

- Bomba peristáltica MICRONAL, modelo B-332.
- Condutivímetro MICRONAL, modelo B-330.
- Registrador ECB, modelo RE-101.

### POTENCIOMETRIA:

- pH: potenciômetro DIGIMED, modelo DMPH-3,  
eletrodo de vidro combinado MICRONAL, modelo 1.305.0034.
- pCu: potenciômetro MICRONAL, modelo B-375,  
eletrodo seletivo de íon Cu(II), ORION, modelo 94-29.

(pCU =  $-\log \{Cu^{2+}\}$ ).

pipetas: GILSON, PIPETMAN, modelo P 1000 (200-1000 $\mu$ l) e  
HAMILTON, modelo 701 RN (10 $\mu$ l).

### 11.3 - FOTÓLISE:

#### FONTE DE IRRADIAÇÃO:

Como fonte de irradiação artificial utilizou-se uma lâmpada a vapor de mercúrio de média pressão, HPL-N 125W (Phillips), com o bulbo externo removido. Esta lâmpada emite radiação principalmente a 366 nm como é mostrado na figura 3 (De Paoli, 1982). A intensidade de luz que atinge a solução foi medida por um sensor Black-Ray UV (365 nm, modelo nº J221), a qual oscilou entre 4 e 10 mW/cm<sup>2</sup>.

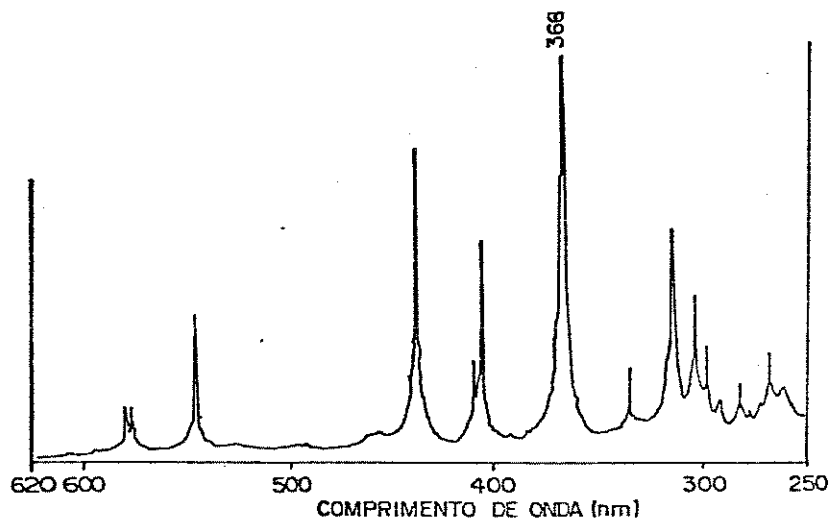


Figura 3: Espectro de emissão da lâmpada HPL-N 125W (Phillips) com o bulbo removido.

#### APARELHO PARA FOTÓLISE:

Para irradiação das amostras foi utilizado um reator de Pyrex construído de acordo com De Paoli e Rodrigues (1978) (figura 4). Na camisa externa do aparelho é introduzida a amostra, de onde são retiradas alíquotas para análise com o auxílio de uma seringa. A camisa interna é utilizada para refrigeração e introdução da lâmpada.



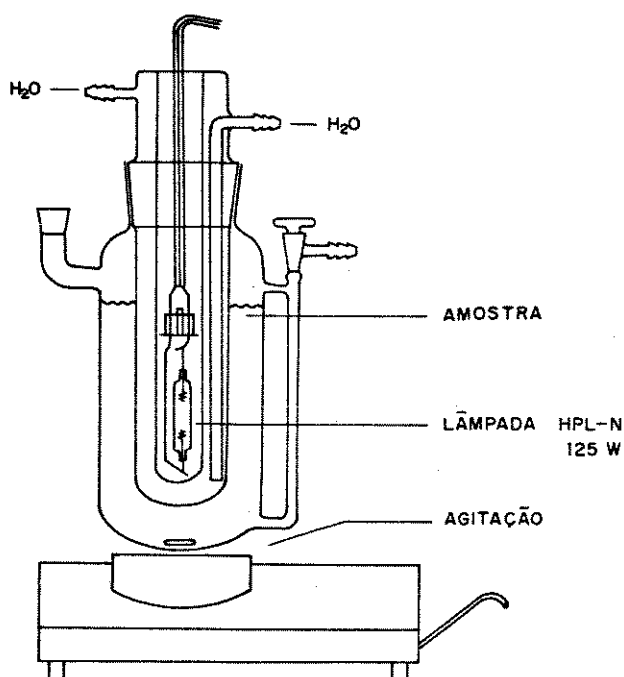


Figura 4: Sistema para fotólise.

#### II.4 - CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS:

As amostras foram irradiadas no reator durante 6 horas, tomando-se alíquotas a cada hora para análise. A fotólise foi realizada a temperatura ambiente, sob agitação constante e refrigeração com água corrente para evitar a degradação térmica. Com exceção das amostras utilizadas em estudos de pH e daquelas de origem marinha, as demais tiveram o pH ajustado para 7,5 com solu-

ções de NaOH e HNO<sub>3</sub>, antes de serem submetidas à fotólise.

Uma das amostras de água marinha contaminada com esgoto foi eluída em coluna SEP-PAK (C<sub>18</sub>), responsável por reter compostos orgânicos principalmente apolares. Esta coluna foi previamente condicionada eluindo-se 200 ml de etanol.

## 11.5 - MÉTODOS:

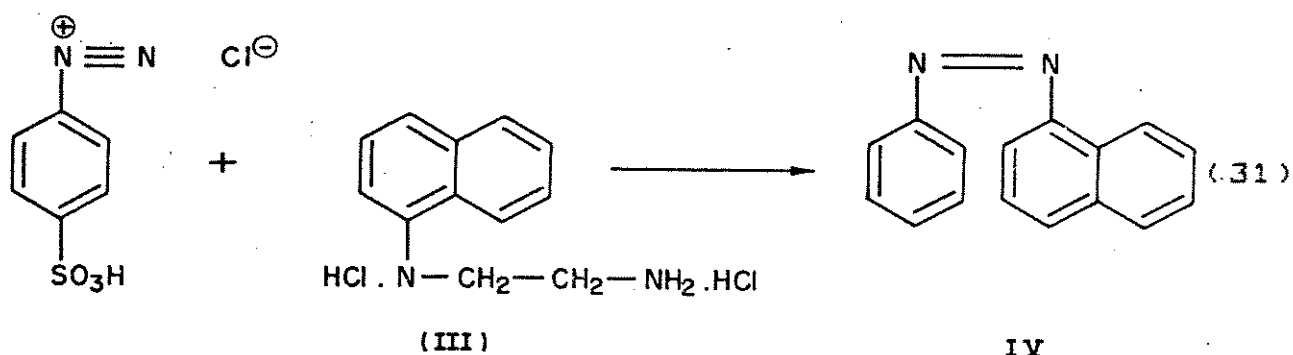
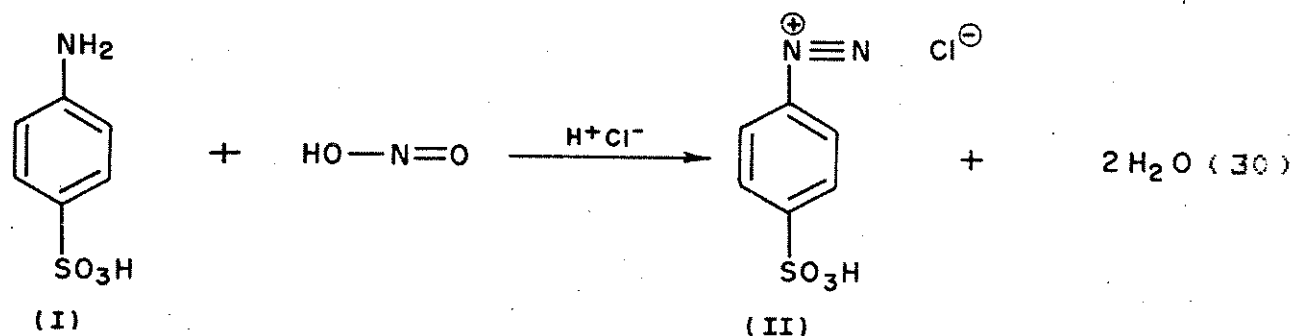
### A - ESPECTROFOTOMETRIA:

#### - Determinação do íon nitrito:

De acordo com Baxter e Carey (1983), soluções húmicas submetidas à irradiação UV geram íons superóxidos que podem atuar como um agente oxidante levando a hidroxilamina a nitrito. Desta forma, adicionando-se hidroxilamina às amostras, é possível estimar indiretamente a geração do íon superóxido através do monitoramento do nitrito produzido.

O método utilizado para determinação do nitrito (Norwitz e Keliher, 1984) baseia-se na reação do ácido nitroso gerado a partir do nitrito em meio fortemente ácido, com o ácido sulfanílico (I) (equação 30). Nesta reação é produzido um sal de diazônio (II), que por sua vez reage com o di-hidrocloreto de N-(1-naftil) etilenodiamônia (III) (equação 31) para formar um composto

azo(IV) fortemente colorido que absorve principalmente a 540 nm.



A partir da solução estoque de NaNO<sub>2</sub> foram preparadas soluções padrão cuja concentração de nitrito variou de 0,066 a 1,314 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l. A estas soluções adicionaram-se os reagentes I e III (reagentes para NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, seção II.1) e a absorvância foi medida após 30 minutos. A concentração final do nitrito foi calculada estatisticamente por interpolação da curva de calibração, cuja equação é dada por  $y = -3,4504 \times 10^{-3} + 2,1529 \times 10^{-4}x$ , onde  $r = 0,99940$ . Para amostras tamponadas com fosfato foi construída nova curva de calibração, onde os padrões também foram tamponados.

- Determinação do triptofano:

A fotodegradação do triptofano foi avaliada através de espectros de UV, porém quantificada medindo-se a absorbância a 242 nm (Borkman et alii, 1986).

B - F.I.A. - CONDUTOMÉTRICA:

O termo F.I.A. é proveniente do inglês Flow Injection Analysis, isto é, Análises por Injeção em Fluxo. Este procedimento pode ser empregado utilizando-se diferentes detectores analíticos tais como o espectrofotômetro, o potenciômetro, o condutivímetro e outros, de acordo com a natureza do composto ou elemento a ser determinado (Faria, 1987).

O baixo consumo de amostras e reagentes, a alta velocidade de análise e a versatilidade, são alguns dos aspectos que tornam o sistema F.I.A. bastante eficiente para uma crescente diversidade de análises (Faria, 1987; Pasquini et alii, 1988).

O sistema utilizado na determinação de  $\text{CO}_2$  baseia-se na confluência de um fluxo contendo um volume determinado da amostra e de outro contendo ácido sulfúrico diluído (figura 5). O meio ácido favorece o equilíbrio no sentido da formação do  $\text{CO}_2$  (equação 32). O gás, ao passar pela cela de difusão, permeia por uma membrana de Teflon e atinge um fluxo de água desionizada, deslocando o equilíbrio para a formação dos íons bicarbonato e carbonato. A condutividade deste fluido que vinha sendo constantemente monitorada é então alterada devido a ionização do  $\text{CO}_2$ . O aumento da

condutividade é registrada automaticamente, sendo proporcional à concentração de  $\text{CO}_2$  presente na amostra.

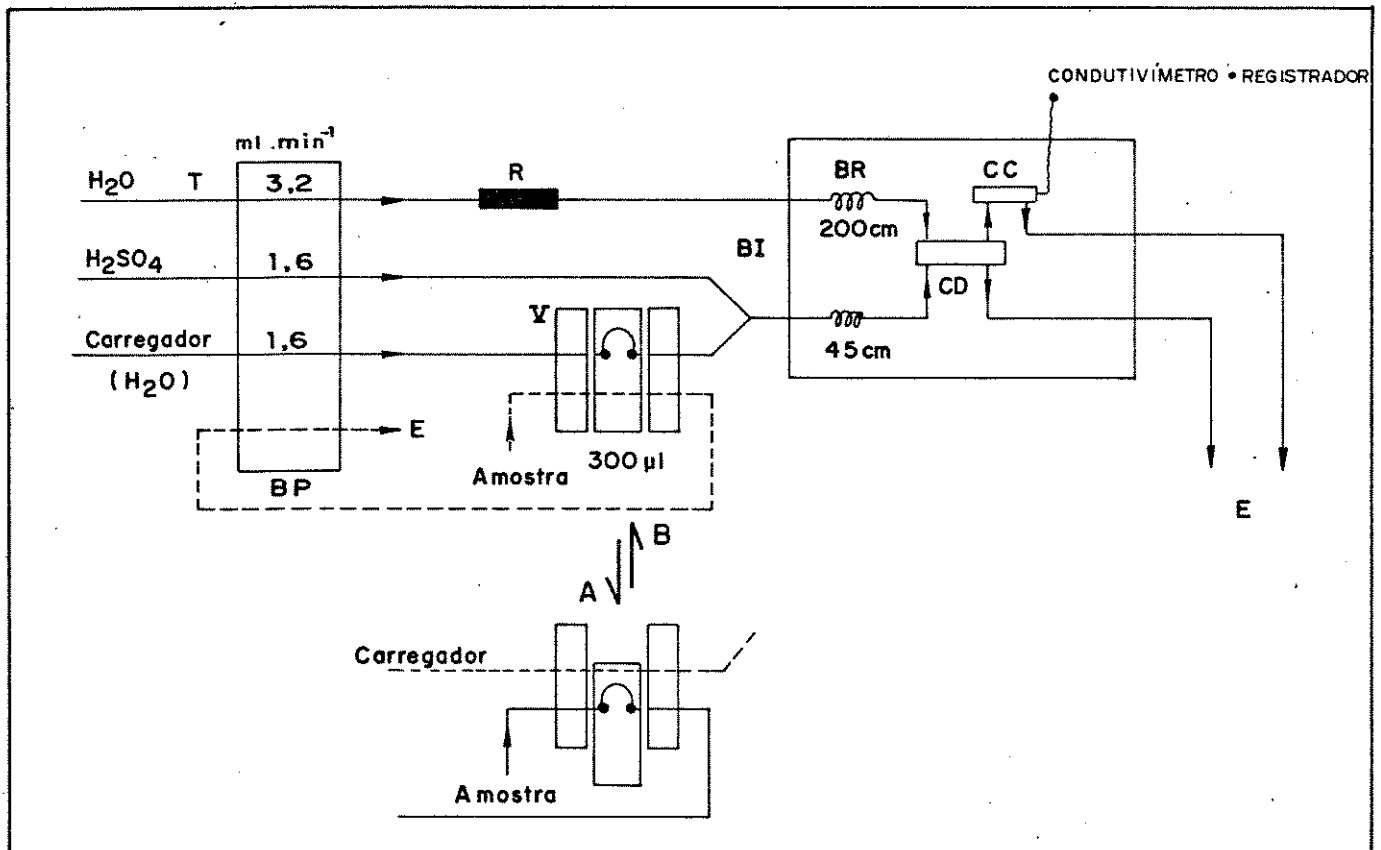
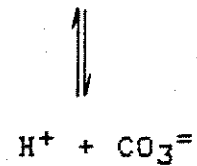


Figura 5: Esquema do funcionamento do sistema F.I.A. condutométrica para monitoramento de  $\text{CO}_2$ .

T: tubos de polietileno.

BP: bomba peristáltica.

E: esgoto.

V: válvula de injeção da amostra.

situação A: coleta da amostra, cujo volume é determinado pelo tamanho do tubo circular presente na válvula (loop).

situação B: a amostra contida no tubo circular é introduzida no fluido carregador.

R: resina mista de troca iônica.

BI: banho de água isolado.

BR: bobina de reação.

CD: cela de difusão do CO<sub>2</sub>.

CC: cela de condutância.

A curva de calibração foi construída utilizando-se soluções de bicarbonato de 100 a 500 mmol.l<sup>-1</sup>. Devido à interferência da temperatura na condutividade iônica, a calibração foi repetida após a análise de cada alíquota. Desta forma foi possível determinar a concentração do CO<sub>2</sub> gerado durante a fotólise das amostras.

#### C - POTENCIOMETRIA:

A complexação de metais em amostras naturais ou sintéticas está diretamente relacionada com a concentração total de ligantes presentes. A adição de concentrações conhecidas do metal na amostra e o constante monitoramento da atividade do íon fornece uma

estimativa da concentração dos ligantes presentes em solução (Jardim e Allen, 1984).

Utilizando-se um eletrodo seletivo de íons Cu(II), alíquotas de 50 ml das amostras foram tituladas em triplicata com  $\text{CuSO}_4$ , onde o volume adicionado de titulante foi considerado desprezível frente ao volume total da amostra. Dado que a complexação de metais é bastante influenciada pelo pH (devido não somente à hidrólise do metal, mas também à protonação do ligante), as titulações foram realizadas em meio tamponado a pH 7,0 utilizando-se o tampão PIPES (Gimenez, 1986). Este tampão, além de muito eficiente no pH das titulações ( $\text{pK}_a=6,8$ ) apresenta uma afinidade muito pequena por íons Cu(II), o que dispensa uma correção nos cálculos de complexação do metal pelo ligante natural.

CAPITULO III

RESULTADOS E DISCUSSAO



### III.1 - AVALIAÇÃO DOS MÉTODOS DE ANÁLISE:

Devido ao importante papel do triptofano na fotoquímica de peptídeos e proteínas, muitas são as pesquisas que vêm sendo desenvolvidas para tentar elucidar o mecanismo da fotólise deste aminoácido (Hibbard et alii, 1986). Nesses estudos, o processo da fotólise é, na maioria das vezes, acompanhado quantificando-se o substrato, ou fotoprodutos através de diversos métodos analíticos tais como a CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência), a fluorescência e a CCD.

A proposta desta pesquisa, embora não seja a análise detalhada da fotoquímica do triptofano, busca utilizar este aminoácido como um modelo simples, através do qual seja possível extrapolar os métodos empregados em laboratório para sistemas mais complexos como os ecossistemas naturais.

Dentre os compostos facilmente fotodecompostos sob radiação UV (Joschek e Miller, 1966; Fernandez et alii, 1986), está o triptofano, que foi utilizado neste estudo por conter em sua estrutura grupos funcionais como o indol, o amino e o carboxílico, os quais são muito frequentes em substâncias húmicas de origem natural. Um outro aspecto importante para a escolha deste composto é a vasta literatura disponível sobre sua fotodegradação.

Através dos espectros de UV (figura 6) foi possível acompanhar a perda do cromóforo indol e a produção de novos absorventes com o tempo de irradiação (Borkman et alii, 1986).

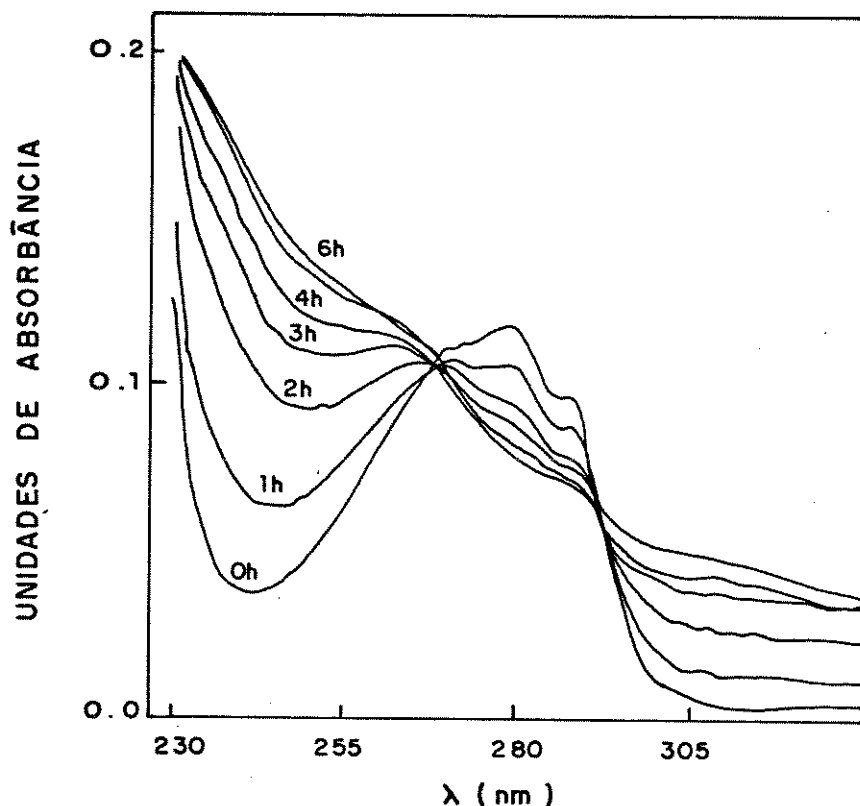


Figura 6: Monitoramento da fotoxidação do triptofano  $10^{-4}$  M irradiado artificialmente a pH 7,5.

O espectro obtido para o triptofano antes de ser submetido à irradiação coincide com o da literatura (ASUVR, 1968), tornando desnecessária a purificação deste composto.

Alguns autores têm estimado a fotoxidação do triptofano pela variação da absorbância em um determinado comprimento de onda (Draper e Crosby, 1983; Borkman, 1977; Walrant e Santus, 1974). Na figura 6 observa-se uma melhor diferenciação dos espectros a 242 nm, comprimento de onda que foi escolhido para o monitoramento da fotoxidação do triptofano neste trabalho.

Borkman e colaboradores (1986) demonstraram que a fotólise do triptofano, utilizando o laser de nitrogênio a 337 nm é elevada em 25 vezes quando comparada com aquela utilizando lâmpada de xenônio no mesmo comprimento de onda. Visto que o objetivo deste trabalho é estudar compostos orgânicos de origem natural, é de fundamental importância que as condições de fotólise sejam as mais próximas das naturais (figura 7). Dessa forma, a fotólise a laser, ou mesmo aquela onde são utilizadas comprimentos de onda muito energéticos (Borkman, 1977) fogem dos objetivos deste estudo.

A fim de se comparar as condições de fotólise estabelecidas no laboratório com aquelas encontradas no ambiente natural, uma amostra de triptofano foi submetida à irradiação solar na estação do verão (janeiro) no período de 10 às 16 horas, horário de maior incidência de luz UV.

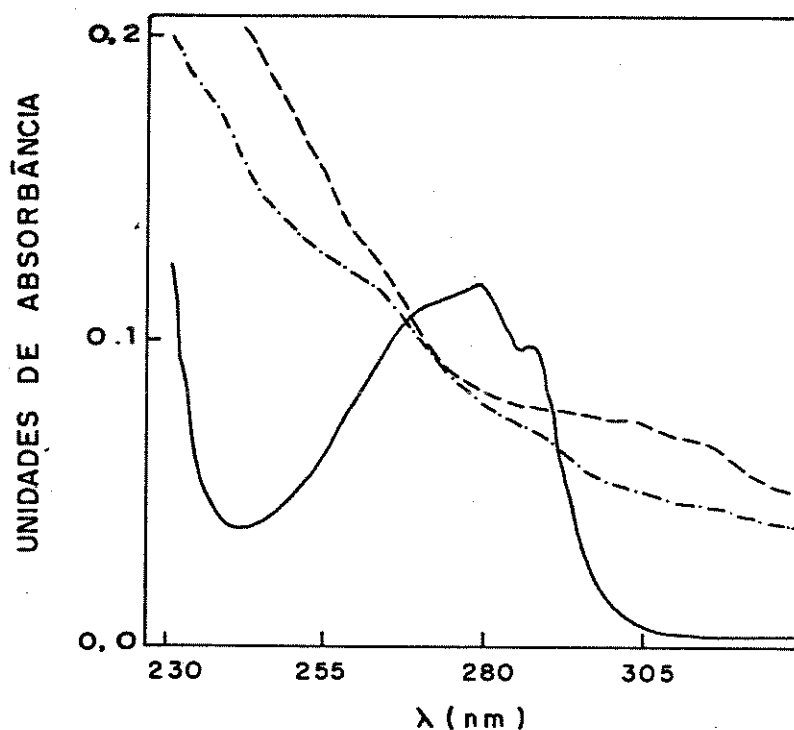


Figura 7: Comparação dos espectros do triptofano (—), após 6 horas de irradiação artificial (-.-.-) e ao sol (---).

Como pode ser visto na figura 7, ambas as condições experimentais testadas fornecem resultados qualitativos similares. Estes resultados indicam que as condições experimentais impostas em laboratório podem fornecer uma estimativa do processo fotooxidativo no ambiente aquático natural.

Devido a complexidade estrutural dos compostos orgânicos de origem natural, não é possível acompanhar sua fotólise por análise espectrofotométrica direta. Alguns autores têm acompanhado a geração de peróxido de hidrogênio como medida indireta do processo fotooxidativo da matéria orgânica (Draper e Crosby, 1983;

Inoue et alii, 1982; McCormick e Thomason, 1978). Neste trabalho optou-se pelo monitoramento indireto via produção de nitrito, gerado durante a oxidação da hidroxilamina pelo íon superóxido. Esta escolha se deu devido à alta sensibilidade do método (Baxter e Carey, 1983; seção II.5A). Assim, o aumento da concentração do íon superóxido, no meio reacional aparece como um indicador da fotoxidação de compostos orgânicos naturais (equação 8).

Dado à grande influência do pH na fotólise de compostos orgânicos (Hibbard et alii, 1986), tornou-se necessário um estudo prévio deste processo em diversos valores de pH. Para tal, foi utilizada uma solução de ácido húmico comercial, matriz esta que, embora não tão complexa como uma amostra real, pode ser vista como um modelo representativo do ambiente aquático natural.

As soluções de ácido húmico foram irradiadas em meio não tamponado e em solução tampão de fosfato (figura 8). Durante a fotólise, uma alíquota da amostra foi mantida no escuro para controle. Nos gráficos contendo a variação da concentração de nitrito em função do tempo de irradiação, o parâmetro  $\Delta[\text{NO}_2^-]$  corresponde à diferença das concentrações medidas na luz e no escuro a cada amostragem. Na irradiação de uma solução contendo hidroxilamina em água destilada (pH 7,5), a concentração de nitrito gerada foi desprezível.

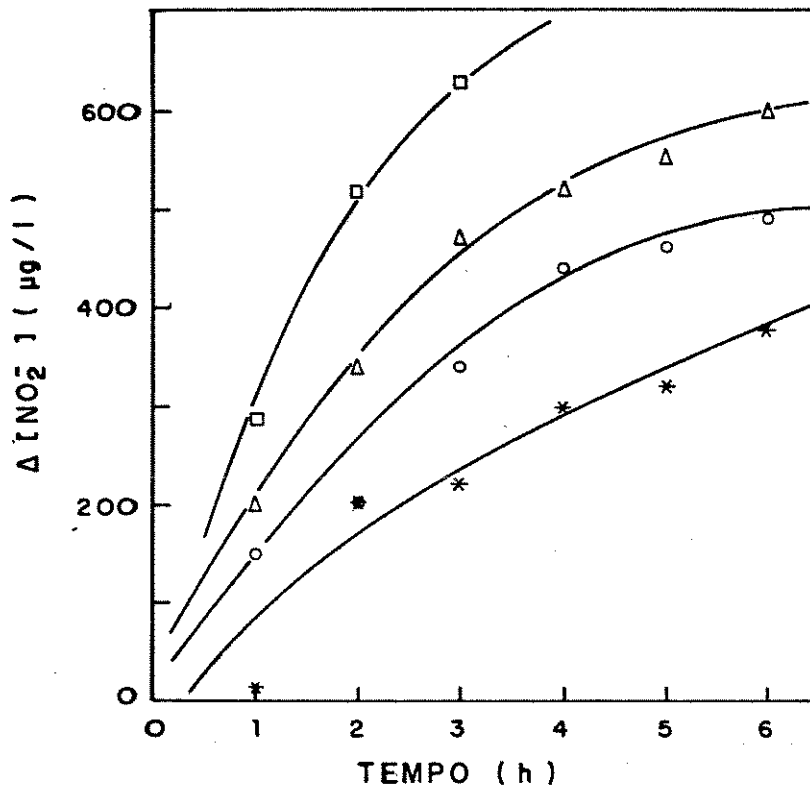


Figura 8: Comparação da fotodegradação da solução de ácido húmico (10 mg/l) em pH 9,5 (□); pH 4,9 (O); pH 7,5 sem tampão (Δ) e com tampão fosfato  $5 \times 10^{-3}$  M (\*).

Na figura 8 nota-se que em meio básico a fotodegradação do ácido húmico, e conseqüentemente a geração de nitrito é favorecida. Hibbard e colaboradores (1985) demonstraram que a taxa de fotólise do triptofano é elevada em mais de 6 vezes quando se eleva o pH de 6,5 para 10,0. A inibição da fotodegradação em meio tamponado sugere que o íon fosfato pode estar atuando como um amortecedor de elétron hidratado.

Baseado nos resultados obtidos na figura 8, optou-se por realizar todas as demais fotólises a pH 7,5, em meio não tamponado, uma vez que das condições testadas, estas são as que mais

se aproximam do ambiente aquático natural de água doce.

O monitoramento da fotoxidação do triptofano foi utilizado na comparação do método direto (medida da absorbância a 242 nm) com o método indireto (método de Baxter e Carey). Na figura 9, os eixos das ordenadas representam a porcentagem de triptofano degradada, assumindo como 100% o valor do parâmetro em questão (absorbância ou  $\Delta\text{NO}_2^-$ ) medido ao final de 6 horas.

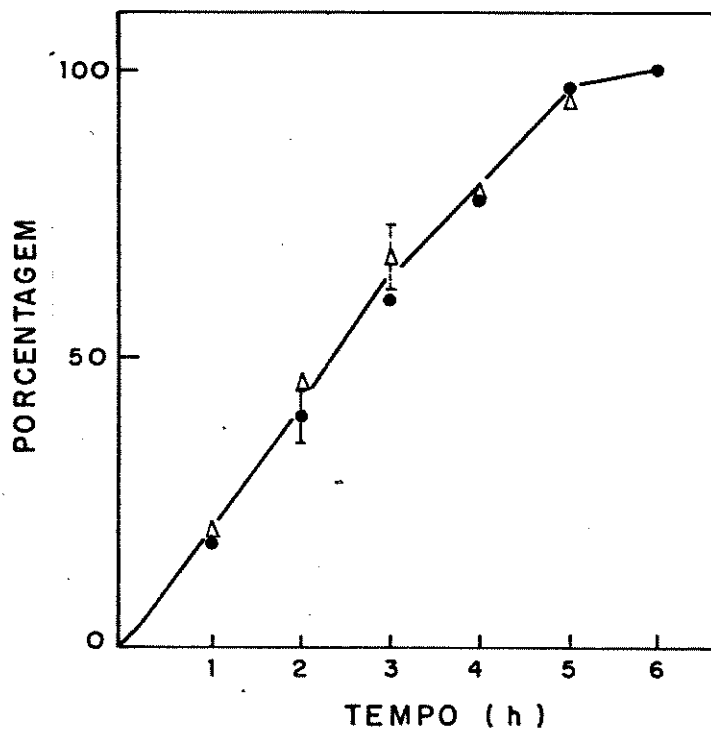


Figura 9: Comparação dos métodos de Baxter e Carey ( $\bullet$ ) e da absorbância a 242 nm ( $\Delta$ ) para a solução de triptofano.

Na análise estatística da precisão dos métodos para três determinações, o procedimento de Baxter e Carey apresentou a maior estimativa do desvio padrão relativo, 12%. Pelo método da absorbância, esse desvio foi de 20% na primeira hora de irradia-

ção passando para cerca de 10% nas demais análises.

Um comportamento similar para ambos os métodos foi verificado na fotoxidação do triptofano, indicando que o método de Baxter e Carey pode ser extrapolado para compostos orgânicos de origem natural.

É sabido que a mineralização parcial da matéria orgânica durante o processo de fotólise leva à produção de  $\text{CO}_2$ . A análise do incremento da concentração de  $\text{CO}_2$  com o tempo de irradiação pode ser utilizada como outra via para avaliação da fotoxidação da matéria orgânica. Usando-se a análise por injeção em fluxo, com um detector condutimétrico acoplado (seção II.5B), foi possível monitorar a geração de  $\text{CO}_2$  durante o processo de fotólise do ácido húmico (figura 10).



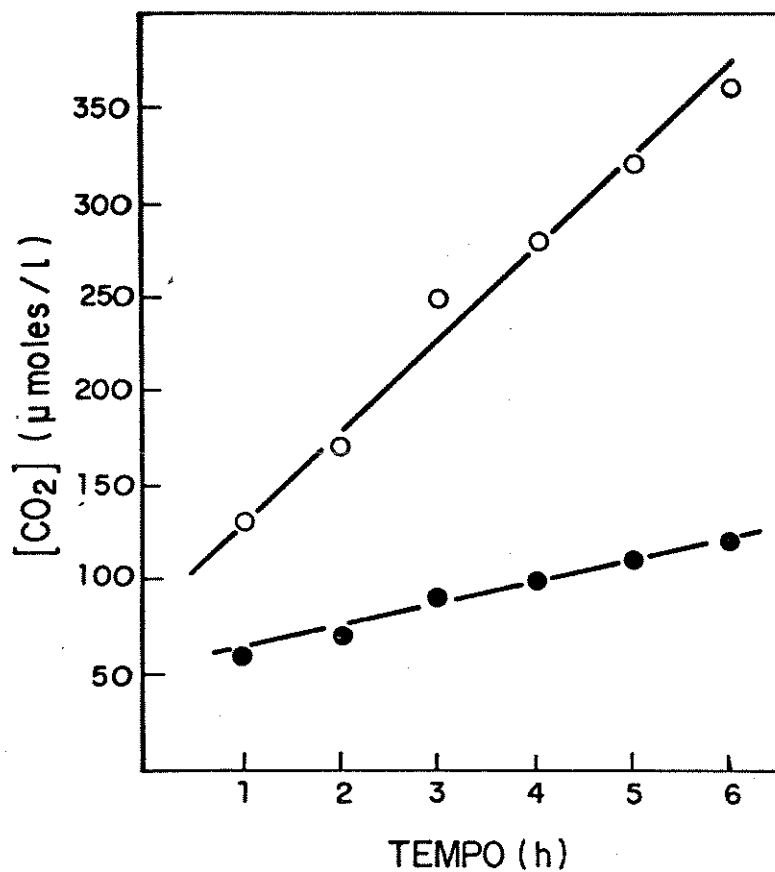


Figura 10: Concentração de CO<sub>2</sub> gerado pela amostra de ácido húmico na luz (O) e no escuro (●).

Entretanto, devido a impossibilidade da utilização deste procedimento durante a realização deste trabalho, a fotodegradação das amostras naturais foi avaliada pelo método de Baxter e Carey.

### III.2 - FOTODEGRADAÇÃO DE AMOSTRAS NATURAIS:

Os compostos orgânicos naturais presentes no ambiente aquático diferem de acordo com sua origem e tempo de residência no ecossistema. Conseqüentemente, espera-se um comportamento diferenciado na fotodegradação destes compostos. A figura 11 mostra que embora as amostras de ácido húmico e esgoto sejam de origem bastante diferenciada, a extensão da fotodegradação é aproximadamente a mesma.

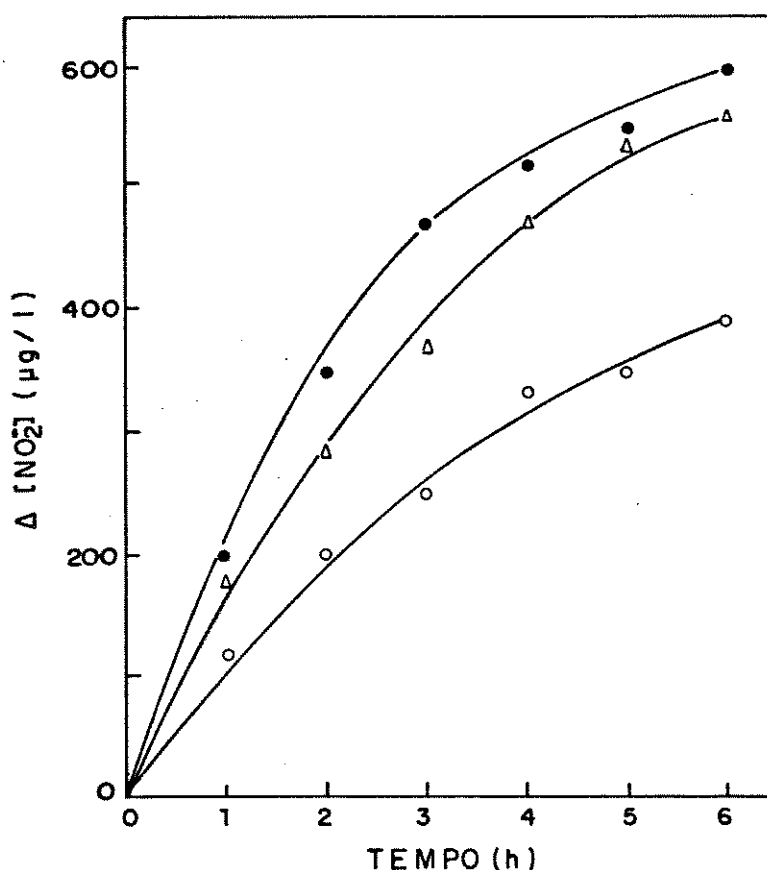


Figura 11: Fotodegradação de amostras de ácido húmico ( $\Delta$ ) (DQO = 114  $mgO_2/l$ ); esgoto (●) (DQO = 250  $mgO_2/l$ ) e Rio Atibaia (○) (DQO = 56  $mgO_2/l$ ).

De acordo com Cooper e Zika (1983), para maiores valores de carbono orgânico total (COT), a produção de  $H_2O_2$  em amostras de rio exposta ao sol, é elevada. Na tentativa de esclarecer uma possível relação entre a extensão da fotodegradação com o teor da matéria orgânica, as amostras foram oxidadas drasticamente por via úmida (DQO = Demanda Química de Oxigênio). Os resultados mostrados na figura 12 indicam que não é possível correlacionar a fotodegradação com a concentração de carbono dada pela DQO, sugerindo que a fotólise de compostos orgânicos depende da natureza da matriz.

A fotodegradação de compostos de origem marinha foi estudada para efeito de comparação (figura 12). Enquanto a amostra do Rio Atibaia gerou  $380 \mu g/l$  de nitrito em 6 horas de irradiação, as amostras de origem marinha contaminada com esgoto doméstico e a sem contaminação geraram respectivamente 120 e  $26 \mu gNO_2^-/l$ . A fim de verificar a participação dos compostos orgânicos no processo de fotólise utilizou-se uma coluna adsorvente SEP-PAK ( $C_{18}$ ) para retenção de compostos orgânicos, principalmente apolares.

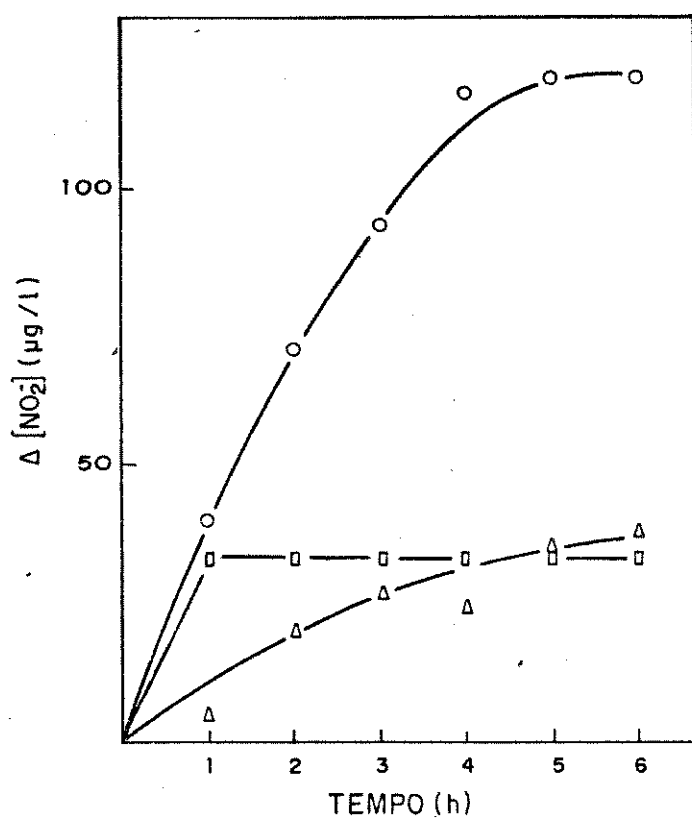


Figura 12: Fotodegradação de amostras de origem marinha contaminada com esgoto (O), eluída em coluna SEP-PAK ( $\Delta$ ) e sem contaminação ( $\square$ ).

Os resultados mostrados na figura 12 demonstram que o método de Baxter e Carey também pode ser utilizado para avaliação da fotodegradação de compostos orgânicos de origem marinha. A remoção parcial de compostos orgânicos pela coluna SEP-PAK, levou a uma drástica inibição da fotólise, demonstrando que neste caso são estes compostos que contribuem diretamente para o processo fotoxidativo e não os compostos inorgânicos.

### III.3 - FOTODEGRADAÇÃO DO TRIPTOFANO NA PRESENÇA DE METAIS:

Dada a importância ecológica do metal cobre em ambientes aquáticos (seção 1.6), foi realizado um estudo mais detalhado da fotoxidação de compostos orgânicos na presença deste metal. Este estudo foi iniciado utilizando o triptofano sintético, cuja fotoxidação na presença de metais ainda é pouco abordada.

Independentemente do método de análise utilizado no monitoramento da fotodegradação do triptofano, a inibição deste processo na presença de  $10^{-4}$  M de cobre é constatado. No entanto, a extensão desta inibição varia de acordo com o princípio da técnica escolhida.

Na figura 13 observa-se que a adição de íons cobre(II) na concentração final de  $10^{-4}$  M, inibiu a fotodegradação do triptofano em 68% após 6 horas de irradiação.

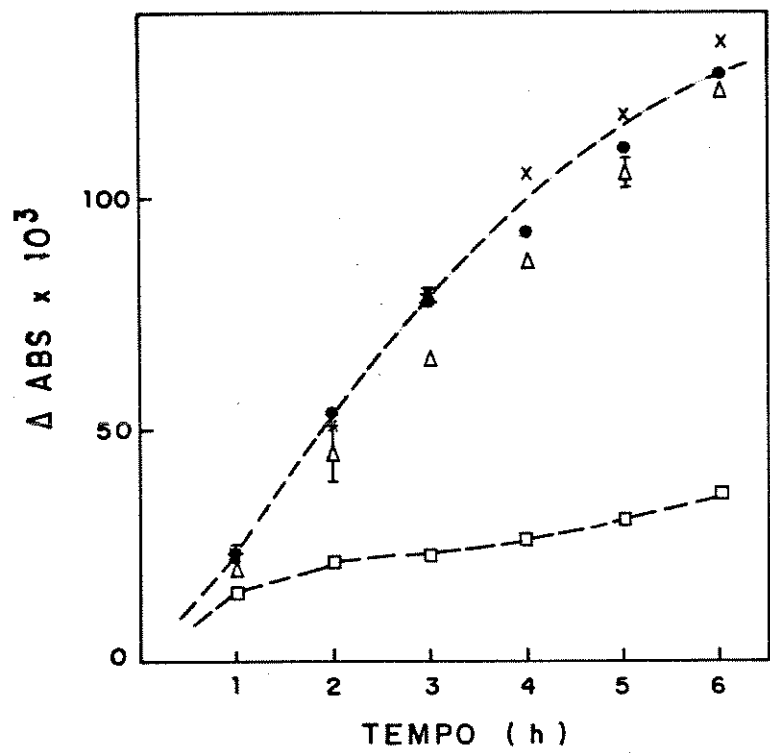


Figura 13: Variação da absorbância durante a irradiação das soluções de triptofano (●) e triptofano na presença de  $\text{Cu}^{2+}$   $10^{-6}$  M (x),  $10^{-5}$  M (Δ) e  $10^{-4}$  M (□).

Nas concentrações de cobre de  $10^{-5}$  e  $10^{-6}$  M não foi observado diferença significativa no processo de degradação (figura 13). No caso do monitoramento da fotooxidação do triptofano pela produção de  $\text{CO}_2$  foi, entretanto, detectado uma inibição de 31% nesse processo, após 6 horas de irradiação, na presença de  $10^{-5}$  M de cobre (figura 14). Já, na presença de  $\text{Cu}^{2+}$   $10^{-4}$  M, a produção de  $\text{CO}_2$  foi totalmente inibida, indicando que o complexo é mais dificilmente oxidado.

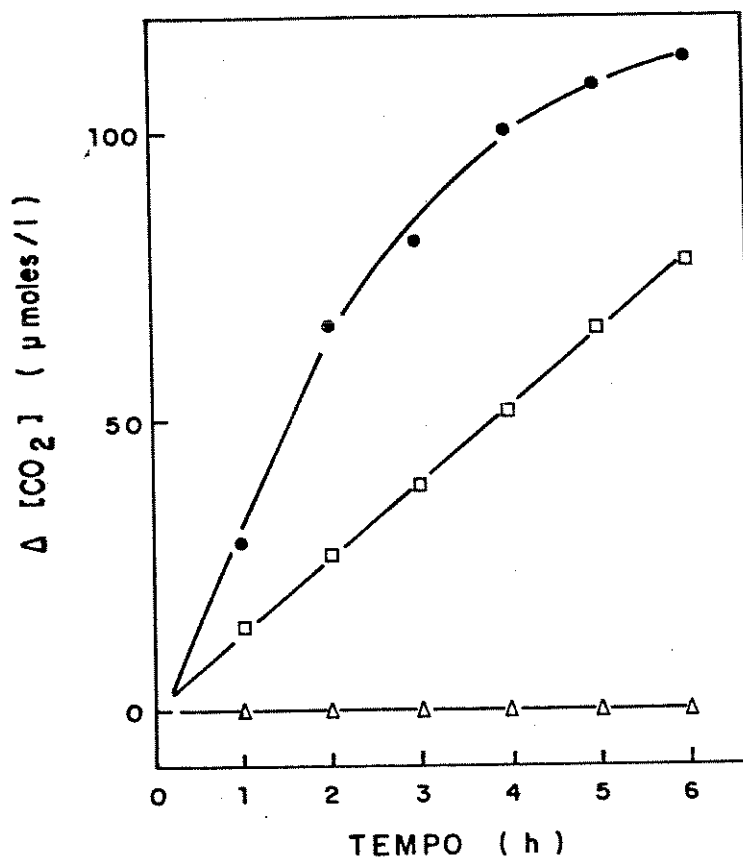


Figura 14: Concentração de CO<sub>2</sub> gerado durante a irradiação das soluções de triptofano (●); triptofano na presença de Cu<sup>2+</sup> 10<sup>-5</sup> M (□) e 10<sup>-4</sup> M (Δ).

Borkman e colaboradores (1986) utilizando radiação laser (337 nm) notaram que a taxa de fotólise numa solução de triptofano 10<sup>-4</sup> M, a pH 7,5, não foi alterada com a adição de cobre na concentração de 10<sup>-5</sup> M. De acordo com Kusakawa (1980), em solução de EtOH-DMSO 1:1, a fotoxidação do triptofano na região do UV é inibida pela complexação com cobre. No entanto, um comporta-

mento diferente foi observado por Hanaki e Kamide (1983), para a cisteína em solução aquosa, onde íons cobre atuam como catalisadores do processo de autoxidação deste aminoácido.

Com o objetivo de comparar o processo de fotólise do triptofano na presença de outros metais, utilizou-se o Fe(III) e Cd(II) (figura 15 A e B).

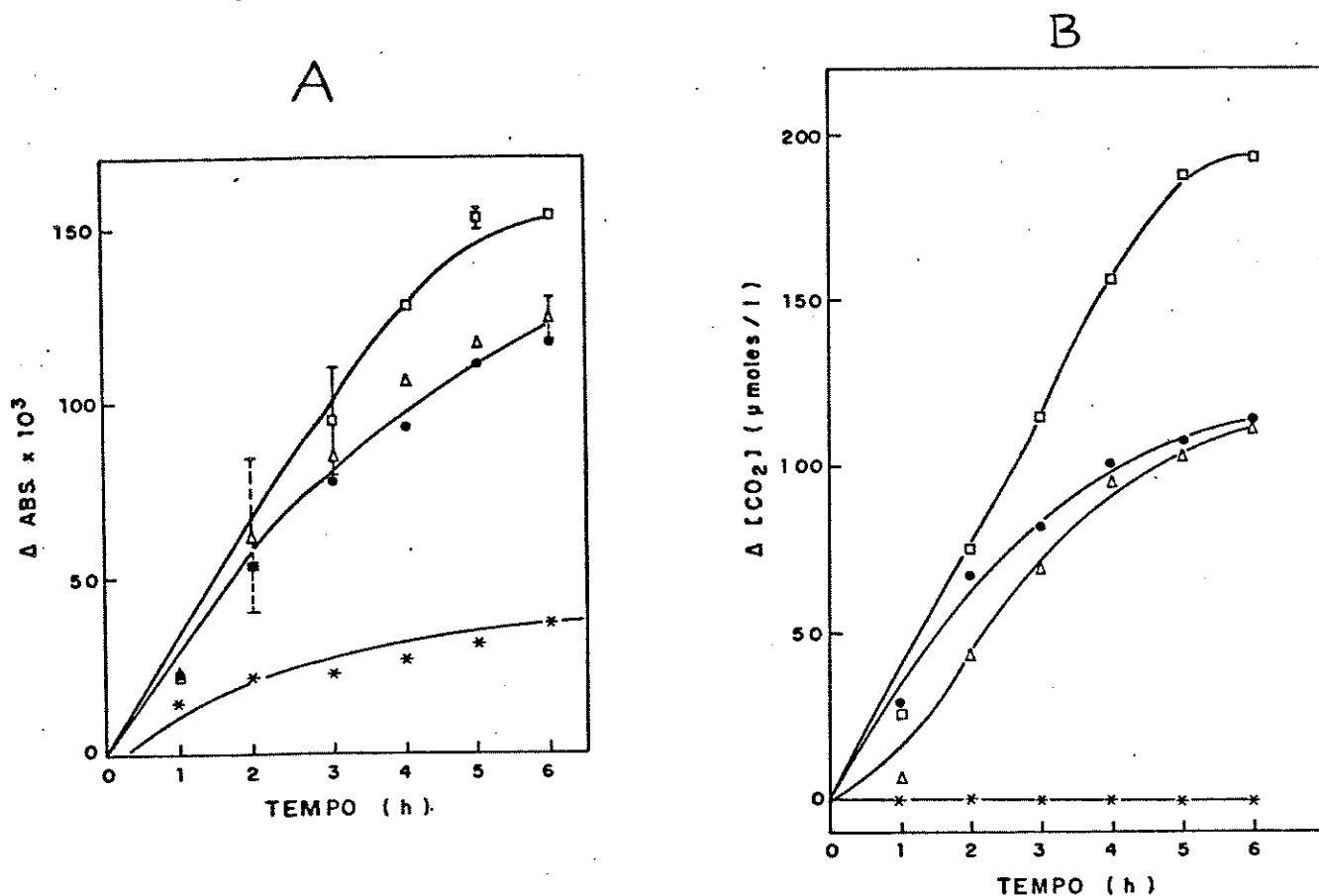


Figura 15: Variação da absorbância (A) e concentração de CO<sub>2</sub> (B) gerado durante a irradiação das soluções de triptofano (●); triptofano na presença de 10<sup>-4</sup> M de Fe<sup>3+</sup> (□); Cd<sup>2+</sup> (Δ) e Cu<sup>2+</sup> (\*). As barras representam a maior e a menor estimativa do desvio padrão relativo de triplicatas.



Por ambos os métodos empregados, os resultados demonstram que o íon ferro atua como catalisador do processo oxidativo do triptofano. Como já citado anteriormente (seção I.4), é provável que o par  $\text{Fe(III)/Fe(II)}$  esteja atuando efetivamente na transferência de elétrons durante o processo de oxidação do triptofano. Por outro lado, devido à natureza redutora dos íons  $\text{Cd(II)}$ , a não participação do par  $\text{Cd(II)/Cd}^0$  neste processo era esperada.

#### III.4 - FOTODEGRADAÇÃO DE AMOSTRAS NATURAIS NA PRESENÇA DE METAIS:

Proveniente de atividades antropogênicas, o aporte de metais no ambiente aquático vem atingindo níveis cada vez maiores. Numa matriz tão complexa como as águas naturais, é de se esperar que esta concentração crescente de metais participe efetivamente de inúmeros processos físico-químicos e biológicos. Dentre outros, a fotodegradação de compostos orgânicos, muitos dos quais com capacidade de complexar metais, merece destaque especial. Desta forma, é de fundamental importância o estudo da fotodegradação de compostos orgânicos na presença de metais.

A fotodegradação de amostras do Rio Atibaia foi drasticamente inibida quando contaminadas com  $10^{-6}$  moles/l de  $\text{Cu(II)}$ . Porém, a mesma concentração de  $\text{Fe(III)}$  e  $\text{Cd(II)}$  não alterou significativamente esse processo (figura 16).

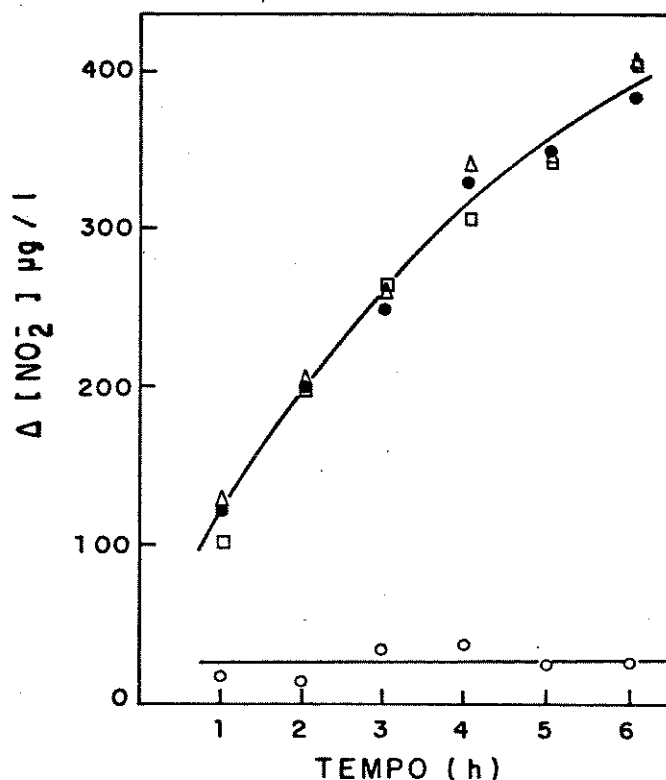


Figura 16: Comparação da fotodegradação das amostras do Rio Atibaia sem adição de metal (●) e com adição de  $10^{-6}$  M de  $\text{Fe}^{3+}$  (□);  $\text{Cd}^{2+}$  (Δ) e  $\text{Cu}^{2+}$  (○).

De acordo com Miles e Brezonik (1981), o par  $\text{Fe(II)}/\text{Fe(III)}$  participa efetivamente na oxidação de material húmico de origem natural. Este comportamento não foi verificado nas amostras naturais analisadas neste trabalho. Cabe ressaltar que as condições experimentais utilizadas pelos autores em questão são bastante distintas daquelas exploradas neste estudo. No entanto, a participação do par  $\text{Fe(II)}/\text{Fe(III)}$  na oxidação do triptofano e não na oxidação da matéria orgânica natural pode ser explicada assumindo a disponibilidade de locais de ligação neste

primeiro composto.

Para as amostras de origem marinha contaminadas com esgoto doméstico, a adição de  $10^{-7}$  moles/l de Cu(II) foi suficiente para se observar a inibição do processo fotoxidativo (figura 17).

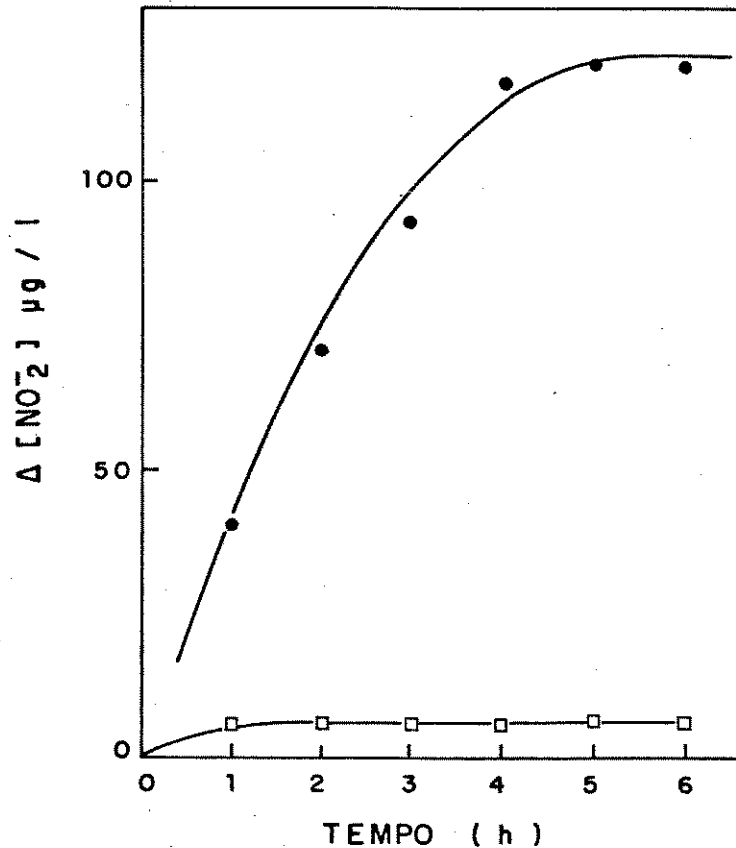


Figura 17: Fotodegradação das amostras de água do mar contaminada com esgoto doméstico sem adição de metal (●) e com adição de  $10^{-7}$  M de Cu(II) (□).

Os resultados apresentados neste trabalho mostraram que o comportamento dos íons ferro, durante o processo fotoxidativo de compostos orgânicos, variou de acordo com a origem da matriz. Entretanto, foi observado que os íons cobre apresentaram efeito inibidor tanto na fotodegradação de amostras simples como o trip-

tofano, quanto para amostras naturais oriundas de sistemas marinhos e de águas doce.

Embora a literatura seja incipiente no tocante aos aspectos da fotodegradação dos complexos formados pelo cobre e material húmico, a constatação da inibição deste processo por íons  $\text{Cu(II)}$  é de extrema importância, pois é sabido que são estes complexos que controlam a especiação deste metal em águas naturais (Florence e Batley, 1980; Hunt, 1987).

### III.5 - INFLUÊNCIA DA FOTODEGRADAÇÃO NA ESPECIAÇÃO QUÍMICA

#### DO $\text{Cu(II)}$ :

A complexação dos íons cobre por substâncias húmicas pode afetar a toxidez, o transporte do metal, bem como a fotodegradação dessas substâncias. A extensão da complexação do metal depende principalmente da composição físico-química das águas naturais.

Dada a importância da especiação química de metais no ambiente aquático, muitos são os modelos que vêm sendo desenvolvidos com o intuito de caracterizar as possíveis espécies presentes numa dada matriz. Dos diversos métodos analíticos empregados nessa caracterização, a voltametria e a potenciometria têm sido muito utilizados, principalmente devido ao aspecto não perturbativa deste último procedimento.

Uma vez demonstrado que compostos orgânicos podem ser fotodegradados no ambiente natural, a possível alteração da capacidade de complexação do meio durante esse processo deve ser avaliada. Neste trabalho, a atividade dos íons  $\text{Cu(II)}$  na amostra foi monitorada potenciométricamente utilizando um eletrodo seletivo de íons  $\text{Cu(II)}$ .

As curvas de titulação foram construídas lançando-se em gráfico a atividade do metal ( $p\text{Cu} = -\log a_{\text{Cu}^{2+}}$ ) em função da concentração total do metal adicionado na amostra ( $-\log C_{\text{T}}$ ). A linha contínua mostrada nestes gráficos, serve como referência, pois assume a atividade do íon igual à concentração analítica do mesmo, ou seja, assume a ausência de hidrólise e complexação do metal.

A capacidade de complexação da solução de triptofano não irradiada foi comparada com aquela submetida a 6 horas de irradiação no UV próximo (figura 18).

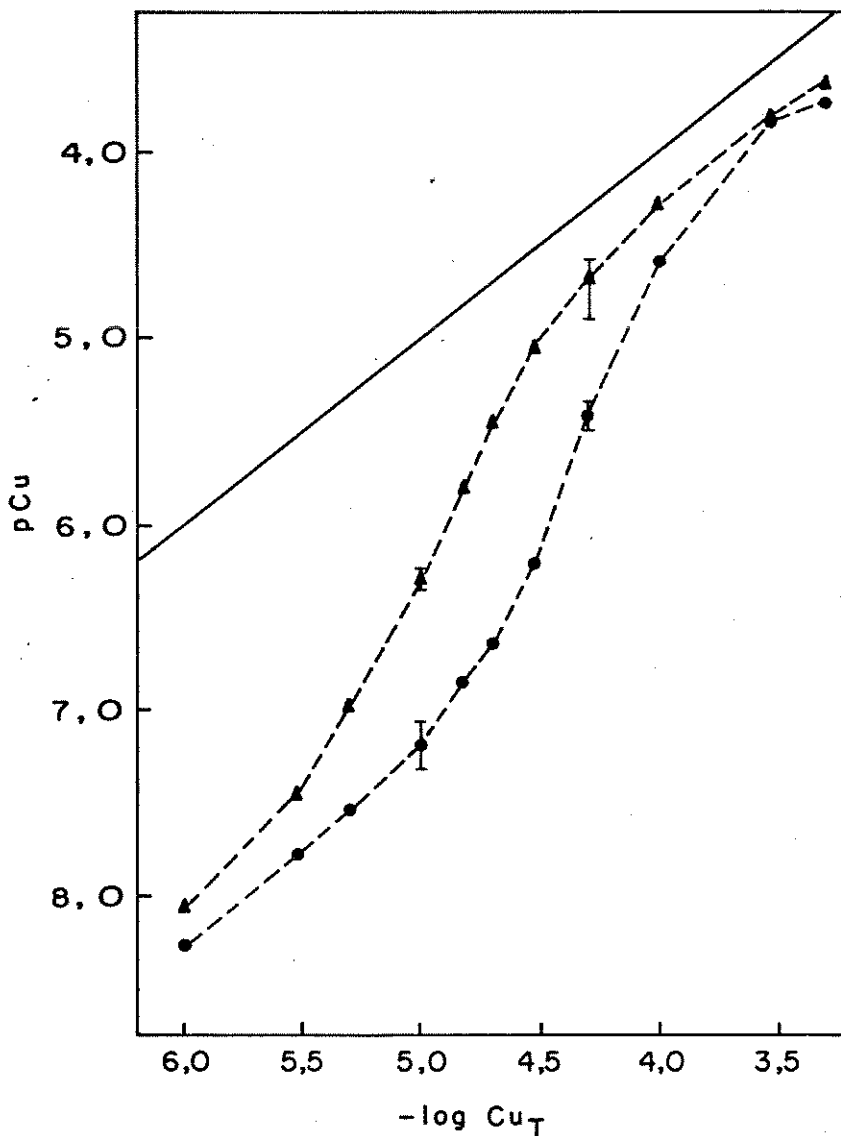


Figura 18: Curvas de titulação para amostras de triptofano antes de serem submetidas a irradiação (●) e após 6 horas de irradiação (▲).

A análise dos resultados apresentados na figura 18 mostra uma menor capacidade de complexação da amostra de triptofano

quando submetida à irradiação. Por exemplo, dos  $2 \times 10^{-5}$  moles/l de cobre ( $-\log K_{CuT} = 4,70$ ) adicionado à solução de triptofano não irradiada,  $2,3 \times 10^{-7}$  moles/l permaneceram na forma "livre", isto é, 98,8% do cobre se encontra na forma complexada. Já, para a solução de triptofano submetida a 6 horas de irradiação, a mesma adição de cobre levou a uma complexação de 82,7%, ou seja, neste ponto, a solução de triptofano irradiada complexa 16,1% menos que a solução não irradiada.

Os dados referentes ao aumento na concentração de  $CO_2$  resultante da irradiação da amostra de triptofano (figura 15B) reforçam os resultados apresentados na figura 18. Isto é, a destruição de grupos carboxílicos durante a fotólise do triptofano pode acarretar a diminuição de locais de ligação na amostra.

O procedimento aplicado às amostras de triptofano foi estendido para amostras naturais de ácido húmico e esgoto. Porém, não foi detectado alteração na capacidade de complexação desses sistemas naturais pela irradiação no UV próximo. Este fato, provavelmente se deve à alta complexidade da matriz, onde a possível destruição de sítios complexantes não altera a capacidade de complexação do sistema.

Waite e Morel (1984, 1983), demonstraram que amostras de águas marinhas irradiadas no UV de alta energia, complexam menos  $Cu(II)$  que aquelas não submetidas a irradiação.

A comparação das curvas de titulação na figura 19 demonstra que a capacidade de complexação para as amostras de esgoto é maior que para as amostras de ácido húmico.

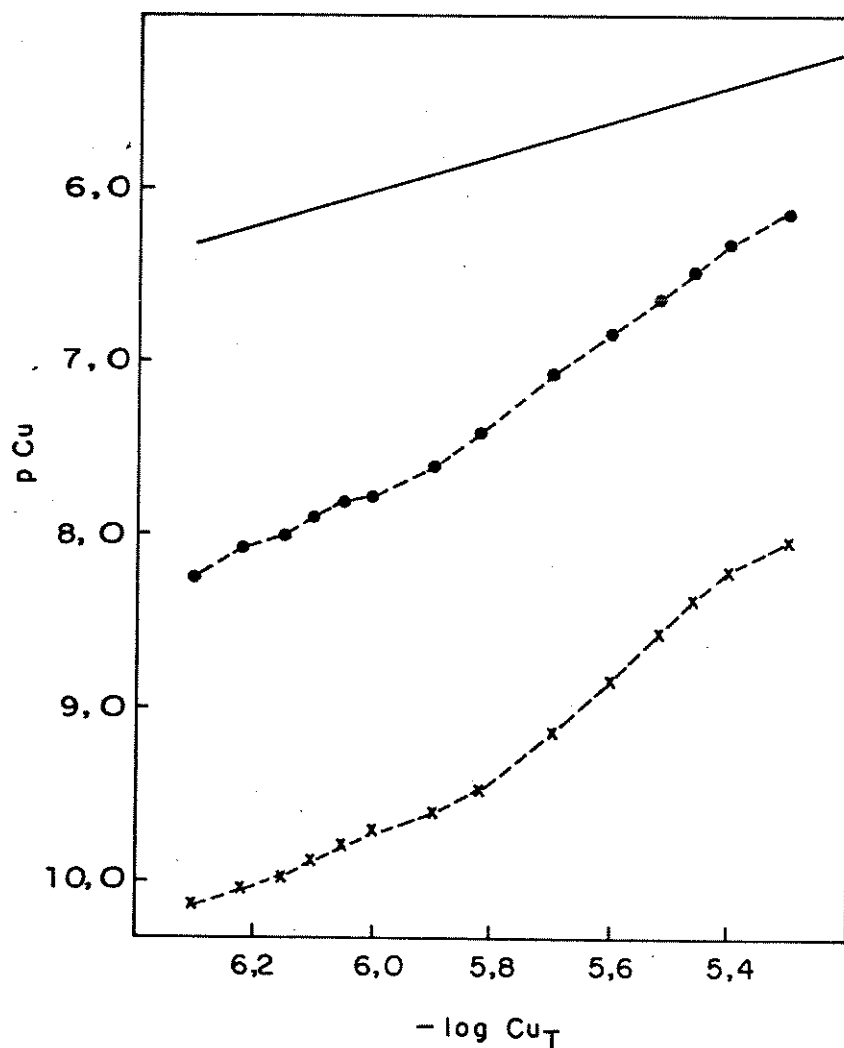


Figura 19: Curvas de titulação para as amostras de esgoto sanitário (x) e ácido húmico 10 mg/l (●).

De acordo com Bender e colaboradores (1970), frações de peso molecular mais baixas de amostras de esgoto, complexam mais cobre que frações de peso molecular mais elevados. Smith (1976), demonstra que em sistemas de estuário o aumento da salinidade fa-



vorece a complexação de cobre por compostos orgânicos de baixo peso molecular. Essas informações reunidas com aquelas apresentadas na figura 19 demonstram que a capacidade de complexação metálica dos diversos sistemas aquáticos depende principalmente da origem dos compostos orgânicos presentes. Sendo assim, um corpo d'água que contenha baixa concentração de matéria orgânica, muitas vezes pode ter uma alta capacidade de tamponamento metálico.

CAPITULO IV

DISCUSSAO GERAL E CONCLUSAO

Embora a fotoquímica clássica tenha sido iniciada em meados do século XIX, a fotoquímica ambiental é ainda um ramo da ciência bastante jovem. Dentre os fatores que dificultam o desenvolvimento desta área, os obstáculos experimentais encontrados têm uma importante participação. As dificuldades do trabalho no campo têm levado o pesquisador a estabelecer, nos laboratórios, condições que se aproximem daquelas encontradas no ambiente natural. Nesta pesquisa, para o estudo fotoquímico de compostos orgânicos presentes no sistema aquático natural, foi preciso inicialmente estabelecer condições de fotólise que pudessem exprimir uma situação próxima à real. Desta forma, os resultados obtidos podem ser extrapolados para avaliar os processos fotooxidativos que ocorrem no ambiente aquático natural.

Neste estudo, a fotodegradação das amostras foi realizada basicamente sob duas condições: na ausência, e na presença de metais. No primeiro caso, verificou-se que a fotodegradação é favorecida em meio alcalino e depende da concentração e da natureza da matéria orgânica. Extrapolado para as condições ambientais, este processo pode trazer modificações químicas apreciáveis, principalmente em sistemas lênticos. A atividade fotossintética pode elevar o pH de um dado sistema a ponto de naturalmente favorecer a fotólise não só de substância húmicas, como também de poluentes sintéticos tais como herbicidas e pesticidas.

Uma vez demonstrado que compostos naturais são fotodegradados, era de se esperar uma diminuição da capacidade de complexação metálica em sistemas naturais, devido a destruição de sítios complexantes. Essa hipótese foi testada utilizando-se o

metal  $\text{Cu(II)}$ , uma vez que a complexação do mesmo por compostos orgânicos é favorecida, e também por sua grande importância ecológica. Uma diminuição da capacidade de complexação foi observada para amostras simples como a do triptofano; porém, no caso de amostras naturais, nenhuma alteração foi detectada. Este resultado, no entanto, deve ser analisado levando-se em conta a complexidade da matriz natural, onde a quantidade de sítios de ligação disponíveis pode ser bastante grande, mesmo após a degradação parcial da amostra.

Além do cobre, os metais ferro e cádmio têm atingido proporções consideráveis no ambiente aquático, o que levou ao estu-  
tudo da fotodegradação de seus complexos orgânicos.

Como já mencionado, os íons  $\text{Cu(II)}$  inibiram drasticamente a fotodegradação das amostras do Rio Atibaia, enquanto que para os íons  $\text{Fe(III)}$  e  $\text{Cd(II)}$  não foi observado alteração. Uma possível explicação para esse comportamento é assumir que os sítios preferenciais de fotoxidação estão sendo ocupados pelos íons  $\text{Cu(II)}$ , dificultando o processo de fotólise. Neste caso, deve-se assumir que quando esses sítios são ocupados pelo  $\text{Fe(III)}$  ou  $\text{Cd(II)}$ , a destruição desses grupos não é dificultada, ou ainda que, esses metais podem ocupar sítios de ligação distintos daqueles ocupados pelo  $\text{Cu(II)}$ . Outro aspecto a ser explorado é que o  $\text{Cu(II)}$  pode estar atuando como um amortecedor de elétrons hidratados (Power et alii, 1987), a contrário do  $\text{Fe(III)}$  que pode atuar como transferidor de elétrons (Miles e Brezonik, 1981). Cabe ressaltar que, independente do mecanismo proposto, a constatação da inibição do processo fotoxidativo de compostos orgânicos

pelo  $\text{Cu(II)}$  é evidente, inclusive em sistemas que contém alta concentração de sais dissolvidos, como em águas marinhas. Todas estas evidências, reforçam um importante aspecto da química ambiental; ou seja, a necessidade de uma exploração mais detalhada da composição química das substâncias orgânicas naturais.

A grande diferença obtida na extensão da fotodegradação dos complexos formados com o cobre, ferro e cádmio, sugere que no ecossistema aquático, um aporte destes metais pode levar a diferentes consequências. Analisando sob o ponto de vista fotoquímico, dado que o complexo  $\text{Cu(II)}$ -matéria orgânica é muito pouco fotodegradado, este metal tende a permanecer na forma solúvel, não ocorrendo o mesmo para o  $\text{Fe(III)}$  e o  $\text{Cd(II)}$ . Consequentemente, na zona fótica, a biodisponibilidade e mobilidade do cobre deve ser favorecida em comparação com os outros dois metais estudados.

A natureza e a concentração dos compostos orgânicos presentes, também é um aspecto importante quando se avalia o destino de metais no ambiente aquático. Como foi demonstrado na figura 19, a amostra de esgoto analisada complexa cerca de cem vezes mais cobre que a amostra de ácido húmico. Este resultado indica que o metal num sistema que tem alta concentração de ligantes (ou sítios de ligação), pode ter uma maior mobilidade que num sistema onde o número de ligantes é reduzido.

Finalmente, outro aspecto constatado nesta pesquisa e de grande importância ecológica é o da produção de  $\text{CO}_2$  durante o processo de fotodegradação, o qual pode ter uma influência marcante no ciclo do carbono. Sob condições favorecidas de fotodegradação, o aumento da concentração do  $\text{CO}_2$  dissolvido pode ser

analisado sob o ponto de vista biogeoquímico. Por exemplo, um parâmetro bastante utilizado para a avaliação de níveis de eutrofização de sistemas aquáticos é a produtividade primária, parâmetro este calculado através do consumo de  $\text{CO}_2$  ou produção de  $\text{O}_2$  durante a fotossíntese. Na figura 10 observou-se que após 6 horas de irradiação das amostras de ácido húmico, a fotoprodução de  $\text{CO}_2$  foi de  $240 \mu\text{moles/l}$ , isto é, aproximadamente cinco vezes a concentração inicial de  $\text{CO}_2$  da amostra. Esta contribuição abiótica de  $\text{CO}_2$  não é no entanto, diferenciada nos procedimentos analíticos utilizados para a avaliação da fotoassimilação de carbono. Assim, considerando que o  $\text{CO}_2$  fotoproduzido pode favorecer a fotossíntese, um aporte de  $\text{Cu(II)}$  no sistema aquático pode levar a uma diminuição da produtividade primária, não só devido à própria toxidez do metal para microorganismos, mas também devido à fotoestabilidade dos seus organo-complexos. Este aspecto, embora seja de grande importância para o esclarecimento de inúmeros processos químicos, biológicos e geológicos que ocorrem nos sistemas aquáticos naturais, apenas recentemente começa ser investigado mais detalhadamente.

**CAPITULO V****REFERENCIAS**

## ABSORPTION SPECTRA IN THE ULTRAVIOLET AND VISIBLE REGION (1968).

Lang, L. (Ed.), Nova Iorque, vol. XI: 385-386.

ACHER, A.J. (1985). Sunlight photooxidation of organic pollutants in wastewater. Wat. Sci. Technol., 17(4/5): 623-632.

ALLEN, H.E.; HALL, R.H. e BRISBIN, T.D. (1980). Metal speciation. Effects on aquatic toxicity. Environ. Sci. Technol., 14(4): 441-443.

BAXTER, R.M. e CAREY, J.H. (1983). Evidence for photochemical generation of superoxide ion in humic water. Nature, 306: 575-576.

BAXTER, R.M. e CAREY, J.H. (1982). Reactions of singlet oxygen in humic waters. Freshwat. Biol., 12: 285-292.

BELLUS, D. (1978). Quenchers of singlet oxygen - A critical review. In: "Singlet Oxygen - Reactions with organic compounds e polymers"; Ranby, S. e Rabek, J.F. (Eds.), John Wiley & Sons, Chichester: 61-110.

BENDER, H.E.; MATSON, W.R. e JORDAN, R.A. (1970). On the significance of metal complexing agents in secondary sewage effluents. Environ. Sci. Technol., 4(6): 520-521.



- BORKHAN, R.F. (1977). Ultraviolet action spectrum for tryptophan destruction in aqueous solution. Photochem. Photobiol., 26: 163-166.
- BORKHAN, R.F.; HIBBARD, L.B. e DILLON, J. (1986). The photolysis of tryptophan with 337,1 nm laser radiation. Photochem. Photobiol., 43(1): 13-19.
- CHOUDHRY, G.G. (1982). Interactions of humic substances with environmental chemicals. In: "The Handbook of Environmental Chemistry, Vol. 2, Part B, Reaction and Process"; Hutzinger, O. (Ed.) Springer-Verlag, New York: 103-128.
- COOPER, W.J. e HERR, F.L. (1987). Introduction and Overview. In: "Photochemistry of Environmental Aquatic Systems"; Zika, R.G. e Cooper, W.J. (Eds.), ACS Symposium Series 327, Washington: 1-9.
- COOPER, W.J. e ZIKA, R.G. (1983). Photochemical formation of hydrogen peroxide in surface and ground waters exposed to sunlight. Science, 220: 711-712.
- CREED, D. (1984). The photophysics and photochemistry of the near-UV absorbing amino acids - I Tryptophan and its simple derivatives. Photochem. Photobiol., 39(4): 537-562.

- DAUM, K.A. e NEWLAND, L.W. 1982). Complexing effects on behavior of some metals. In: "The Handbook of Environmental Chemistry, Vol.2, Part B, Reaction and Process"; Hutzinger, O. (Ed.), Springer-Verlag, Nova Iorque: 129-140.
- DE PAOLI, M.A. (1982). Estudo do mecanismo da foto-oxidação do polibutadieno Coperbo BR-45. Tese de Livre Docência, Instituto de Química, UNICAMP.
- DE PAOLI, M.A. e RODRIGUES, C.F. (1978). Aparelhagem para fotólise de compostos sensíveis a oxigênio e unidade e lâmpada a vapor de mercúrio de alta pressão. Quim. Nova, 1: 16-17.
- DRAPER, W.M. e CROSBY, D.G. (1983). The photochemical generation of hydrogen peroxide in natural waters. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 12: 121-126.
- EUROPEAN PHOTOCHEMISTRY ASSOCIATION, (1983). Glossary of terms used in photochemistry-preliminary version. 19(9): 55-91.
- FARIA, L.C. (1987). Determinação condutométrica de amônia em digeridos de Kjeldahl, águas e solos por análise por injeção em fluxo. Tese de Mestrado, Instituto de Química, UNICAMP.
- FERNADEZ, E.; PENA, W.; VINET, R. e HIDALGO, M.E. (1986). Kinetics of photodegradation of nalidixic acid. Anales de Química, 82: 96-98.

- FISCHER, A.M.; WINTERLE, J.S. e MILL, T. (1987). Primary photochemical processes in photolysis mediated by humic substances. In: "Photochemistry of Environmental Aquatic Systems"; Zika, R.G. e Cooper, W.J. (Eds.), ACS Symposium Series 327, Washington: 141-156.
- FLORENCE, T.M. e BATLEY, G.E. (1980). Chemical speciation in natural waters. CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry, 9(3): 219-296.
- FOOTE, C.S. (1968). Mechanisms of photosensitized oxidation. Science, 162(3857): 963-970.
- FRIMMEL, F.H.; BAUER, H.; PUTZIEN, J.; MURASECCO, P. e BRAUN, A.M. (1987). Laser flash photolysis of dissolved aquatic humic material and sensitized production of singlet oxygen. Environ. Sci. Technol., 21(6): 541-545.
- GIMENEZ, S.M.N. (1986). Estudos potenciométricos das interações do cobre (II) com ligantes de ocorrência natural. Tese de Mestrado, Instituto de Química, UNICAMP.
- GOMES, R.P.F.R. (1982). Oxigênio Singlete: geração, detecção e efeitos foto e bioenergizados sobre xantina-oxidase. Tese de Mestrado, Instituto de Química, UNICAMP.

- HALLIWELL, B. (1982). Superoxide dependent formation of hydroxyl radicals in the presence of iron salts is a feasible source of hydroxyl radicals in vivo. Biochem. J. Lett., 205: 461-462.
- HANAKI, A. e KAMIDE, H. (1983). The Copper-catalyzed autooxidation of cysteine. The amount of hydrogen peroxide produced under various conditions and the stoichiometry of the reaction. Bull. Chem. Soc. Jpn., 56: 2065-2068.
- HIBBARD, L.B.; KIRK, N.J. e BORKMAN, R.F. (1985). The effect of PH on the aerobic and anaerobic photolysis of tryptophan-containing dipeptides. Photochem. Photobiol., 42(2): 99-106.
- HOFFMANN, M.R. (1980). Trace metal catalysis in aquatic environments. Environ. Sci. Technol., 14(9): 1061-1066.
- HUNT, D.T.E. (1987). Trace metals speciation and toxicity to aquatic organisms - a review. Water Research Centre, Bucks TR 247: 1-27.
- INOUE, K.; MATSUURA, T. e SAITO, I. (1982). "Photogeneration of superoxide ion and hydrogen peroxide from tryptophan and its photooxidation products: the role of 3a-hydroperoxypyrrolidinoinole. Photochem. Photobiol., 35: 133-139.

- JARDIM, W.F.; SOLDA, M.I. e GIMENEZ, S.M.N. (1986). The role of cupric ions in the generation of superoxide in natural waters. Sci. Total Environ., 58: 47-54.
- JARDIM, W.F. e ALLEN, H.E. (1984). Measurement of copper complexation by naturally occurring ligands. In: "Trace Metal Complexation in Natural Waters". Junk, B. (Ed.), Amsterdam: 1-15.
- JARDIM, W.F.; KONIG, A. e PEARSON, H.W. (1984). Toxicidade de cobre em micro-organismos: a necessidade da especiação química. Quim. Nova, 7(3): 138-140.
- JARDIM, W.F. (1983). Metais pesados, um dano irreparável. Rev. Bras. Tecnol., 14(2): 41-45.
- JEANMOUGIN, M. (1986). Fotodermatoses e fotoproteção. Rev. Geod. Univ., 135: 11-XVI.
- JOSCHEK, H.I. e MILLER, S.H. (1966). Photooxidation of phenol, cresols and dihydroxybenzenes. J. Am. Chem. Soc., 88(14): 3273-3281.
- KOCHEVAR, I.E. e YOON, M. (1983). Photosensitization of methyl linoleate oxidation by tryptophan in peptides. Photochem. Photobiol., 37(3): 279-285.

- KUSAKAWA, H.; KOHIYAMA, T. e MIWA, H. (1980). Seikei Daigaku Kogakubu Kogaku Hokoku, 30: 2085-2086 (Chem. Abstr., 1981, 95, 195043h).
- MCCORMIK, J.P. e THOMASON, T. (1978). Near UV photooxidation of tryptophan. Proof of superoxide formation. J. Am. Chem. Soc., 100(1): 312-313.
- MILES, C.J. e BREZONIK, P.L. (1981). Oxygen consumption in humic-colored waters by a photochemical ferrous-ferric catalytic cycle. Environ. Sci. Technol., 16(9): 1089-1095.
- MILLER, S. (1983). Photochemistry of natural water systems. Environ. Sci. Technol., 17(12): 568A-569A.
- MOFFETT, J.W. e ZIKA, R.G. (1987a). Reaction kinetics of hydrogen peroxide with copper and iron in sea water. Environ. Sci. Technol., 21(8): 804-810.
- MOFFETT, J.W. e ZIKA, R.G. (1987b). Photochemistry of copper complexes in sea water. In: "Photochemistry of Environmental Aquatic Systems"; Zika, R.G. e Cooper, W.I. (Eds.), ACS Symposium Series 327, Washington: 116-131.

- MOPPER, K. e ZIKA, R.G. (1987). Natural photosensitizer in sea water: Riboflavin and its breakdown products. In: "Photochemistry of Environmental Aquatic Systems"; Zika, R.G. e Cooper, W.J. (Eds.), ACS Symposium Series 327, Washington: 174-190.
- NAKAGAWA, M.; KATO, S.; KATAOKA, S. e HINO, T. (1979). 3 $\alpha$ -hydroperoxytryptophan from tryptophan. Isolation and transformation to formylkynurenine. J. Am. Chem. Soc., 101(11): 3136-3137.
- NORWITZ, G. e KELIHER, P.N. (1984). Spectrophotometric determination of nitrite with composite reagents containing sulphalamide, sulphanic acid or 4-nitroaniline as the diazotizable aromatic amine and N-(1-naphthyl) ethylenediamine as the coupling agent. Analyst, 109(10): 1281-1286.
- OLIVER, B.G.; COSGROVE, E.G. e CAREY, J.H. (1979). Effect of suspended sediments on the photolysis of organics in water. Environ. Sci. Technol., 13(9): 1075-1077.
- OLLIS, D.F. (1985). Contaminant degradation in water. Environ. Sci. Technol., 19(6): 480-484.
- PASQUINI, C.; JARDIM, W.F. e FARIA, L.C. (1988). Adaptation of a cold vapour mercury analyser to flow injection analysis. J. Autom. Chem., no prelo.

- POWER, J.F.; SHARMA, D.K.; LANGFORD, C.H.; BONNEAU, R. e JOUSSOL-DUBIEN, J. (1987). Laser flash photolytic studies of a well-characterized soil humic substances. In: "Photochemistry of Environmental Aquatic Systems"; Zika, R.G. e Cooper, W.J. (Eds.), ACS Symposium Series 327, Washington: 157-173.
- RABEK, J.F. (1982). Photochemical processes. In: "Experimental Methods in Photochemistry and Photophysics, Part 2"; John Wiley & Sons (Ed.), Chichester: 854-866.
- ROOF, A.A.M. (1982). Basic principles of environmental photochemistry. In: "The Handbook of Environment Chemistry, Vol 2, Part B, Reaction and Processes"; Hutzinger, O. (Ed.), Springer-Verlag, Nova Iorque: 2-17.
- ROSS, D.R. e CROSBY, D.G. (1985). Photooxidant activity in natural waters. Environ. Toxicol. Chem., 4: 773-778.
- SIMMONS, H.S. e ZEPP, R.G. (1986). Influence of humic substances on photolysis of nitroaromatic compounds in aqueous systems. Wat. Res., 20(7): 899-904.
- SINGER, P.C. (1977). Influence of dissolved organics on the distribution, transport and fate of heavy metals in aquatic systems. In: "Fate of Pollutants in the Air and Water Environment, Part I"; Suffet, I.H. (Ed.), John Wiley, Nova Iorque: 155-182.



- SMITH Jr., R.G. (1976). Evaluation of combined application of ultrafiltration and complexation capacity techniques to natural waters. Anal. Chem., 48(1): 74-76.
- SUN, M. e ZIGMAN, S. (1979). Isolation and identification of tryptophan photoproducts from aqueous solutions of tryptophan exposed to near-UV light. Photochem. Photobiol., 29: 893-897.
- VUCETA, J. e MORGAN, J.J. (1978). Chemical modeling of trace metals in fresh waters: Role of complexation and adsorption. Environ. Sci. Technol., 12(12): 1302-1308.
- WAITE, T.D. e MOREL, F.M.M. (1983). Characterization of complexing agents in natural waters by cooper (II)/copper (I) amperometry. Anal. Chem., 55: 1268-1274.
- WAITE, T.D. e MOREL, F.M.M. (1984). Photoreductive dissolution of colloidal iron oxides in natural waters. Environ. Sci. Technol., 18(11): 860-868.
- WALRANT, P. e SANTUS, R. (1975). Photosensitizing properties of N-formylkynurenine. Photochem. Photobiol., 22: 63-65.
- WALRANT, P. e SANTUS, R. (1974). N-formylkynurenina, a tryptophan photooxidation product, as a photodynamic sensitizer. Photochem. Photobiol., 19: 411,417.

- ZAFIROU, O.C.; JOUSSOT-DUBIEN, J.; ZEPP, R.G. e ZIKA, R.G. (1984). Photochemistry of natural waters. Environ. Sci. Technol., 18(12): 358A-371A.
- ZEPP, R.G.; BRAUN, A.M.; HOIGNÉ, J. e LEENHEER, J.A. (1987a). Photoproduction of hydrated electrons from natural organic solutes in aquatic environments. Environ. Sci. Technol., 21(5): 485-490.
- ZEPP, R.G.; HOIGNÉ, J. e BADER, H. (1987b). Nitrate-induced photooxidation of trace organic chemicals in water. Environ. Sci. Technol., 21(5): 443-449.
- ZEPP, R.G.; SCHLOTZHAUER, P.F. e SINK, R.M. (1985). Photosensitized transformation involving electronic energy transfer in natural waters: role of humic substance. Environ. Sci. Technol., 19(1): 74-81.
- ZEPP, R.G. e CLINE, D.M. (1977). Rates of direct photolysis in aquatic environment. Environ. Sci. Technol., 11(4): 359-366.