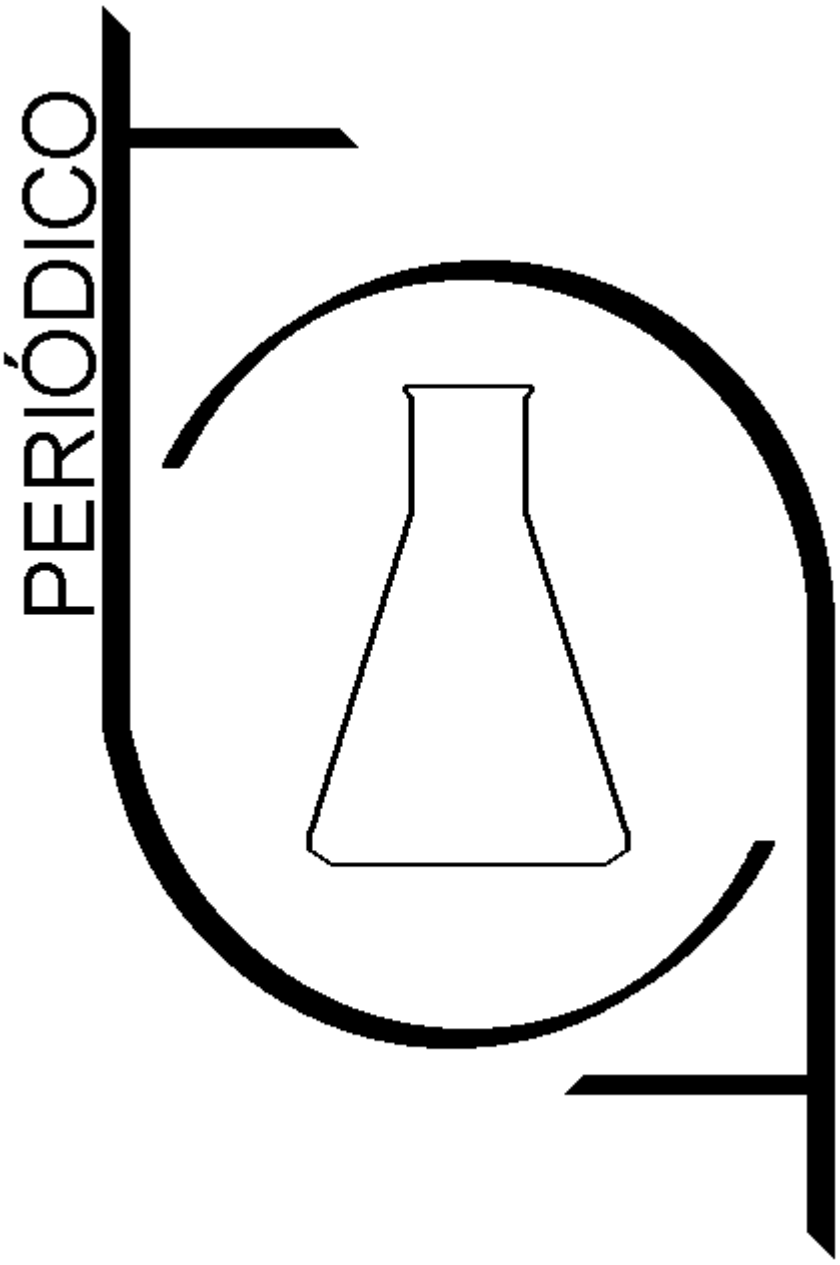
PERIÓDICO TCHÊ QUÍMICA

SOUTHERN BRAZILIAN JOURNAL OF CHEMISTRY



Volume 15 - Número 29 - 2018 ISSN 2179-0302

Órgão de divulgação científica e informativa

www.periodico.tchequimica.com

PERIÓDICO TCHÊ QUÍMICA

SOUTHERN BRAZILIAN JOURNAL OF CHEMISTRY

ISSN - 1806-0374 (Impresso) - ISSN - 1806-9827 (CD-ROM) - ISSN - 2179-0302 (Online)

Volume 15 **Número 29 – 2018** **ISSN 2179 - 0302**

Órgão de divulgação científica e informativa.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Periódico Tchê Química: órgão de divulgação científica e informativa [recurso eletrônico] / Grupo Tchê Química – Vol. 1, n. 1 (Jan. 2004)- . – Porto Alegre: Grupo Tchê Química, 2005 - Semestral.
Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.
Modo de acesso: World Wide Web:
<http://www.tchequimica.com>

Descrição baseada em: Vol. 14, n. 28 (ago. 2017).
ISSN 1806-0374
ISSN 1806-9827 (CD-ROM)
1. Química. I. Grupo Tchê Química.

CDD 540

Bibliotecário Responsável
Ednei de Freitas Silveira
CRB 10/1262

© 2017. Porto Alegre, RS. Brasil

PERIÓDICO TCHÊ QUÍMICA

SOUTHERN BRAZILIAN JOURNAL OF CHEMISTRY

Volume 15 Número 29 – 2018 ISSN 2179 - 0302

Órgão de divulgação científica e informativa.

Comissão Editorial

Editores-chefe

- Dr. Luis Alcides Brandini De Boni, deboni@tchequimica.com
- Dr. Eduardo Goldani, goldani@tchequimica.com

Editores técnicos

- Ednei de Freitas Silveira – *Bibliotecário Responsável*
- Dr. Francisco José Santos Lima, lima@tchequimica.com , Brasil, UFRN.
- Dr. Carlos Eduardo Cardoso, cardoso@tchequimica.com, Brasil, USS.
- Dr. Sérgio Machado Corrêa, correa@tchequimica.com, Brasil, UERJ.

Corpo Editorial

Membros

- Lavinel G. Ionescu, Dr.,† 2017 lavinel@tchequimica.com, Brasil, RS.
- Monica Regina da Costa Marques, Dr., aguiar@tchequimica.com, Brasil, UERJ.
- Márcio von Mühlen, Dr., vonmuhlen@tchequimica.com, EUA, MIT.
- Élcio Jeronimo de Oliveira, Dr., elcio@tchequimica.com, Brasil, CTA.
- José Carlos Oliveira Santos, Dr., zecarlosufcg@tchequimica.com, Brasil, UFCG.
- Alcides Wagner Serpa Guarino, Dr., guarino@tchequimica.com, Brasil, UNIRIO.
- Roseli Fernandes Gennari, Dr., gennari@tchequimica.com, Brasil, USP.
- Lívio César Cunha Nunes, Dr., nunes@tchequimica.com, Brasil, UFPI.
- Denise Alves Fungaro, Dr., fungaro@tchequimica.com, Brasil, IPEN.
- José Euzébio Simões Neto, Dr. simoes@tchequimica.com, Brasil, UFRP.
- Murilo Sérgio da Silva Julião, Dr., juliao@tchequimica.com, Brasil, UVA.
- Amit Chaudhry, Dr., chaudhry@tchequimica.com, India, Panjab University.
- Hugo David Chirinos Collantes, Dr., chirinos@tchequimica.com, Peru, UNI.
- Ketevan Kupatadze, Dr., kupatadze@tchequimica.com , Georgia, ISU.
- Mauricio Ferreira da Rosa, Dr., mauriciofrosa@tchequimica.com, UNIOESTE
- Carlos E. de Medeiros J., Dr. jeronimo@tchequimica.com, Brasil, PETROBRAS.
- Walter José Peláez, Dr., pelaez@tchequimica.com , Argentina, UNC.
- Rodrigo Brambilla, Dr., brambilla@tchequimica.com, Brasil, UFRGS.
- Joan Josep Solaz-Portolés, Dr., solaz@tchequimica.com, Espanha, UV.
- Moisés Rômolos Cesário, Dr., romolos@tchequimica.com, França, ULCO.
- Aline Maria dos Santos Teixeira, Me., santos@tchequimica.com, Brasil, UFRJ.
- César Luiz da Silva Guimarães, Me., guimaraes@tchequimica.com, Brasil, IBAMA.
- Daniel Ricardo Arsand, Dr., arsand@tchequimica.com, Brasil, IFFarropilha.
- Andrian Saputra, Me., andrian@tchequimica.com, Indonesia, UNILA.
- Paulo Sérgio Souza, Me., souza@tchequimica.com, Brasil, MD.
- Danyelle Medeiros de Araújo Moura, Me., moura@tchequimica.com, Brasil, UFRN.
- Gabriel Rubensam, Me., grubensam@tchequimica.com, Brasil, UFRGS.
- Masurquede de Azevedo Coimbra, Me., coimbra@tchequimica.com, Brasil, Exército Brasileiro.
- Oana-Maria Popa, Me., popa@tchequimica.com, IPN, Romênia.

Periódico Tchê Química
ISSN - 1806-0374 (Print)
ISSN - 1806-9827 (CD-ROM)
ISSN - 2179-0302 (Online)
Divulgação *on-line* em
http://www.periodico.tchequimica.com
http://www.journal.tchequimica.com
http://www.tchequimica.com

Esta revista é indexada e resumida pelo CAS, EBSCO,Latindex, Sumários, Index Copernicus, Scopus e Reaxys.

* CAS (*Chemical Abstracts Service, a division of the American Chemical Society*.)
* DOAJ (*Directory of Open Access Journals*)

Missão

O Periódico Tchê Química (PTQ) publica artigos de pesquisa originais, artigos de revisão, notas curtas (publicações científicas), revisões de livros, artigos de fórum, editoriais e entrevistas. Pesquisadores de todos os países são convidados a publicar nas páginas do PTQ.

A responsabilidade sobre os artigos é de exclusividade dos autores.

Correspondências
Rua Anita Garibaldi, 359/603.
Bairro Mon't Serrat. CEP: 90450-001
Porto Alegre – RS. Brasil.
Skype: tchequimica
www.periodico.tchequimica.com
tchequimica@tchequimica.com

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Índice

Recommended translation service **Página – 11**

Artigo / Article

MARTINS, Í. Y. F.; FUKAYA, H.; MARTINS, A. G. F.

PUC-MG, BRASIL.

UTILIZAÇÃO DE PLÁSTICO RECICLADO PARA OBTENÇÃO DE UM NOVO PAVIMENTO PERMEÁVEL

UTILIZATION OF RECYCLED PLASTIC TO OBTAIN A NEW PERMEABLE FLOOR

Página – 12

Artigo / Article

SILVA, E. V.; SANTOS, A. A.; CONCEIÇÃO, M. M.; CARVALHO FILHO, J. R.; PAIVA, Y. F.; SILVA, F. A.; OLIVEIRA, A. M. B. M.

UFPB, UFCG, BRASIL.

AVALIAÇÃO DA FUNCIONALIDADE DE EXTRATO DA PIMENTA BIQUINHO COMO CONSERVANTE NATURAL NA PRODUÇÃO DE IOGURTE

EVALUATION OF THE FUNCTIONALITY OF EXTRACT OF POUT PEPPER AS NATURAL CONSERVATIVES IN THE PRODUCTION OF YOGURT

Página – 21

Artigo / Article

ALMEIDA, M. S.; GOULART, A. C.; GOULART, S. M.; SILVA, T. A. DA; SANTOS, J. P. V..

IFG, BRASIL.

ANÁLISE DE ALDICARBE EM ÁGUAS SUPERFICIAIS DO RIO PARANÁIBA

ANALYSIS OF ALDICARB IN SURFACE WATER FROM THE PARANÁIBA RIVER

Página – 31

Artigo / Article

FARIAS, L. R.; MENDES, T. M. F. de F. ;PANERO, F. dos S.; SATELLES, J. L.

UFRO, BRASIL.

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICAS DE MÉIS DE ABELHAS DE ALGUNS MUNICÍPIOS DO ESTADO DE RORAIMA

PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERIZATION OF HONEY BEES OF SOME MUNICIPALITIES OF STATE RORAIMA

Página – 39

Artigo / Article

SILVA, Ana C. P. da; ANDRADE JUNIOR, F. P.; COSTA, V. A. da; SILVA, D. D. da

UFCG, UFRN - BRASIL

APLICAÇÃO DA SEMENTE DE ACEROLA (MALPIGHIA EMARGINATA) COMO ADSORVENTE NATURAL PARA ABRANDAMENTO DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS

APPLICATION OF THE ACEROLA SEED (MALPIGHIA EMARGINATA) AS A NATURAL ADSORBENT FOR GROUNDWATER SOFTENING

Página – 49

Artigo / Article

MARTINAZZI, D.; LEMOS, G. V. B.; CARDOSO, H. R.P., Dos SANTOS, R. E.; FERREIRA, J. Z.; BERGMANN, L.; Dos SANTOS, J. F.2; REGULY, A.

HELMHOLTZ-ZENTRUM GEESTHACHT GMBH. UFRGS , BRASIL

ESTUDO DA SENSITIZAÇÃO EM JUNTAS SOLDADAS DE INCONEL® 625 PRODUZIDAS ATRAVÉS DA SOLDAGEM POR FRICÇÃO E MISTURA MECÂNICA

SENSITIZATION STUDY IN FRICTION STIR WELDS OF INCONEL® 625

Página – 56

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Artigo / Article

SCHIFINO, A. R. M.; SANT'ANNA, F. R.; TRINDADE, A. P.

UFRGS, Fundimisa, Grefortec, BRASIL.

ESTUDO DO TRATAMENTO TÉRMICO DE AUSTÊMPERA EM FERRO FUNDIDO NODULAR: ANÁLISE DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E MICROESTRUTURAIS, SEGUNDO A NORMA A897M STANDARD SPECIFICATION FOR AUSTEMPERED DUCTILE IRON CASTINGS

AUSTEMPERING HEAT TREATMENT STUDY OF CAST DUCTILE IRON: ANALYSIS OF MECHANICAL AND MICROSTRUCTURAL PROPERTIES, ACCORDING TO THE A897M STANDARD SPECIFICATIONS FOR AUSTEMPERED DUCTILE IRON CASTINGS

Página - 64

Artigo / Article

RANGEL, E. M.; CARVALHO, C. de O.; ARSAND, D. R.

IFSul, BRASIL.

SÍNTESE DE ESPUMA VÍTREA COM ÓXIDO DE ZINCO IMOBILIZADO PARA FOTODEGRADAÇÃO DE ALIZARINA S EM SOLUÇÃO AQUOSA

SYNTHESIS OF FOAM GLASS WITH IMMOBILIZED ZINC OXIDE FOR PHOTODEGRADATION OF ALIZARIN S IN AQUEOUS SOLUTION

Página – 75

Artigo / Article

ALVES, Andréa Aparecida Ribeiro; BARBOSA, Elisabete dos Santos

UFF, IFRJ, BRASIL.

ANÁLISE QUALITATIVA DA COMPOSIÇÃO NÃO-VOLÁTIL DOS SUCOS DE UVA INTEGRAIS BRASILEIROS UTILIZANDO QEXACTIVE™ (HYBRID QUADRUPOLE-ORBITRAP MASS SPECTROMETER) E ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

QUALITATIVE ANALYSIS OF THE COMPOSITION NON-VOLATILE BRAZILIAN WHOLE GRAPE JUICES USING QEXACTIVE™ (HYBRID QUADRUPOLE-ORBITRAP MASS SPECTROMETER) AND PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS (PCA)

Página – 82

Artigo / Article

PUTRI, Dillani; ARISTIAWAN, Yosi; ARYANA, Nurhani and STYARINI, Dyah

INDONESIAN INST. OF SCIENCES, INDONESIA

MÉTODO RÁPIDO E SIMPLES PARA A DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DO ÁCIDO BENZÓICO E ACESULFAME-K EM BEBIDAS NÃO ALCOÓLICAS POR DESCRIÇÃO DO ARRAY DE CROMATOGRAFIA-DIODO LÍQUIDO DE ALTO DESEMPENHO: VALIDAÇÃO DE MÉTODOS E AVALIAÇÃO DE INCERTEZA

FAST AND SIMPLE METHOD FOR SIMULTANEOUS DETERMINATION OF BENZOIC ACID AND ACESULFAME-K IN SOFT DRINKS BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY-DIODE ARRAY DETECTOR: METHOD VALIDATION AND UNCERTAINTY EVALUATION

Página – 96

Revisão / Review

DE LARA, D.; BRESCIANI, L.; HILGEMANN, M.; OSTERKAMP, I. C.; JASPER, A.; UHL, D.; STÜLP, S.

Uergs, UNIVATES, Universität Tübingen. BRASIL-Alemanha

PROPOSIÇÃO DE METODOLOGIA DE TERMODEGRADAÇÃO POR MEIO DE FRAGMENTOS DE LENHOS DA *Araucaria columnaris*

PROPOSAL OF A THERMAL DEGRADATION METHODOLOGY WITH SCRAPS OF LOGS FROM Araucaria columnaris

Página – 106

Artigo / Article

ANERO, P. dos S.; PANERO, J. dos S.; PANERO, F. dos S.; GUEDES, R. G.; DE FARIA, F. S. E. D. V.; RODRIGUEZ, A. F. R.

IFRO, UFRO, IBGE, UFAC, BRASIL.

POTENCIAL DA ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO-NIR ALIADA A ANÁLISE MULTIVARIADA PARA DISCRIMINAÇÃO GEOGRÁFICA DO ÓLEO AMAZÔNICO DE BURITI (*MAURITIA FLEXUOSA* L.)

POTENTIAL OF NEAR INFRARED SPECTROSCOPY-NIR ALLIED THE MULTIVARIATE ANALYSIS FOR GEOGRAPHICAL DISCRIMINATION OF BURITI (MAURITIA FLEXUOSA L.) AMAZONIAN OIL

Página – 113

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Artigo / Article

DOVIDAUSKAS, S.; OKADA, I. A.; IHA, M. H.3; CAVALLINI, Á. G.; DE OLIVEIRA, M. A.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. BRASIL.

ABORDAGEM NA DETECÇÃO DE SITUAÇÃO DE RISCO POTENCIAL À SAÚDE, RELACIONADA À QUALIDADE DA ÁGUA: UM EXEMPLO

APPROACH ON DETECTION OF SITUATION OF POTENTIAL RISK TO HEALTH, RELATED TO WATER QUALITY: AN EXAMPLE

Página – 123

Artigo / Article

COSTA, . T. M. MARQUES, M. V. A.; MATOS, A. T.; SILVÉRIO, T. H. R.; PENIDO, D. L. A.,

UFMG, BRASIL.

ALTERAÇÕES QUÍMICAS E FÍSICO-QUÍMICA DO SOLO COM APLICAÇÕES SUCESSIVAS DE ESGOTO DOMÉSTICO BRUTO COMO ALTERNATIVA DE DISPOSIÇÃO FINAL DO CULTIVO DE FORRAGEIRA

CHEMICAL AND PHYSICOCHEMICAL CHANGES WITH SUCCESSIVE APPLICATIONS OF RAW DOMESTIC SEWAGE AS A FINAL DISPOSAL ALTERNATIVE OF FORAGE CULTIVATION

Página – 148

Artigo / Article

LIMA, F. J. S.*; COSTA, L. H. M. DA; SILVA, A. O. DA, PEREIRA, F. C.

UFRN, BRASIL.

ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NA REGIÃO DO UV-VIS PARA OS LIGANTES QUINOLINA-N-ÓXIDO, NICOTINAMIDA-N-ÓXIDO E 2,2-DITHIOBISPIRIDINA-N-ÓXIDO

MOLECULAR ABSORPTION SPECTROSCOPY IN THE UV-VIS REGION FOR THE QUINOLINE-N-OXIDE, NICOTINAMIDE-N-OXIDE AND 2,2-DITHIOBISPYRIDINE-N-OXIDE LIGANDS

Página – 164

Artigo / Article

GOMES, P. R. B.*; De OLIVEIRA, R. W. S.; MOUCHREK F., V. E.; Do NASCIMENTO, A. A.; EVERTON, A. P.; LOUZEIRO, H. C.; REIS, J. B.; FONTENELE, M. A.

UFM, BRASIL.

ATIVIDADE LARVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL SYZYGIUM AROMATICUM (CRAVO-DA-ÍNDIA) FRENTE AO MOSQUITO AEDES AEGYPTI (LINNAEUS,1762)

ACTIVITY LARVICIDE OF THE ESSENTIAL OIL SYZYGIUM AROMATICUM (CARNIVAL-OF- INDIA) IN FRONT OF THE MOSQUITO AEDES AEGYPTI (LINNAEUS, 1762)

Página – 184

Artigo / Article

ROSA, Mauricio Ferreira; GALVAN, Francielli De Bona

UEOP. BRASIL.

EMPREGO DE METODOLOGIAS FOTOLÍTICAS E FOTOCATALÍTICAS PARA A REMOÇÃO DE CEFALEXINA EM SOLUÇÃO AQUOSA

EMPLOYMENT OF PHOTOLYTICAL AND PHOTOCATALYTICAL METHODOLOGIES FOR REMOVAL OF CEPHALEXIN IN AQUEOUS SOLUTION

Página – 136

Artigo / Article

ESSA, L. C. P.; DA CONCEIÇÃO, J. L.; DO VALE, J. R. F.; FREITAS, C. A.; ALMEIDA, H. da .; MARTINS, N. D. M.

UFPA, BRASIL.

REGULAMENTAÇÃO E OUTORGA PARA ÁGUA MINERAL NO ESTADO DO PARÁ

REGULATION AND AWARD FOR MINERAL WATER IN THE STATE OF PARÁ

Página – 156

Artigo / Article

VERDUGO-PERONA, J. J.; SOLAZ-PORTOLÉS, J. J.; SANJOSÉ, V.

UNI. DE VALÈNCIA, SPAIN.

AVALIAÇÃO DO CONHECIMENTO PEDAGÓGICO DE PROFISSIONAIS PRIMÁRIOS PRÉ-MÉDIOS EM CIÊNCIA PRIMÁRIA: EFEITOS DA FORMAÇÃO DE EDUCAÇÃO CIENTÍFICA

ASSESSMENT OF PRE-SERVICE PRIMARY TEACHERS' PEDAGOGICAL KNOWLEDGE IN ELEMENTARY SCIENCE: EFFECTS FROM SCIENCE EDUCATION TRAINING

Página – 171

Artigo / Article

DADAMOS, T. R. de L.; DAMACENO, A. J. FERTONANI, F. L., BETTENCOURT SILVA, R. J. N.

UEP, BRASIL.

UTILIZAÇÃO DE SIMULAÇÕES DE MONTE CARLO PARA O CÁLCULO DA ESTIMATIVA DE INCERTEZA NA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DE ÁCIDO ÚRICO EM AMOSTRAS DE PLASMA

USE OF MONTE CARLO SIMULATIONS FOR THE CALCULATION OF THE UNCERTAINTY ESTIMATE IN THE ELECTROCHEMICAL DETECTION OF URIC ACID IN PLASMA SAMPLES

Página – 196

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Artigo / Article

OLIVEIRA, S. L. A., SILVA, É. A., PAULA, L. Z., CARDOSO, C. A. L., ARRUDA, G. J.; ANDRADE, L. H. C., FIORUCCI, A. R.

UEMS, BRASIL.

DESENVOLVIMENTO DE PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO DO SULFENTRAZONE DE FORMULAÇÃO COMERCIAL DE HERBICIDA E DETERMINAÇÃO DE SUA CONSTANTE DE IONIZAÇÃO (pKa) POR TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA

DEVELOPMENT OF SULFENTRAZONE EXTRACTION PROCEDURE FROM COMMERCIAL HERBICIDE FORMULATION AND DETERMINATION OF ITS IONIZATION CONSTANT (pKa) BY POTENTIOMETRIC TITRATION

Página – 204

Artigo / Article

DE ALENCAR, F. V. S.; DA SILVA, A. F.; DA SILVA, L. M.; DE CARVALHO, R. B. F.

UEMA, BRASIL.

DESENVOLVENDO A TABELA PERIÓDICA E UM JOGO DIDÁTICO A PARTIR DE MATERIAIS ALTERNATIVOS: PROPOSTAS METODOLÓGICAS PARA O ENSINO DE CIÊNCIAS

DEVELOPING A PERIODIC TABLE AND A DIDACTIC GAME FROM ALTERNATIVE MATERIALS: METHODOLOGICAL PROPOSALS FOR SCIENCE TEACHING

Página – 219

Revisão / Review

FLORES-CRUZ, J. A.; DELGADO, G. E.; CONTRERAS, J. E.; QUINTERO, M.; NIEVES, L.; GRIMA-GALLARDO, P.

IPN, México; ULA, Venezuela.

CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DO NOVO SEMICONDUTOR DE DIAMANTE CuNbGaSe3

STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF THE NEW DIAMOND-LIKE SEMICONDUCTOR CuNbGaSe3

Página – 228

Artigo / Article

VILAÇA, Karina A.; SANTOS, Carolina R. dos; PAULA, Mhaisa H. de;

PUCMG, BRASIL.

ESTUDOS E PROPOSTAS PARA O REAPROVEITAMENTO DE EFLUENTES TRATADOS NA ETE ARRUDAS, SABARÁ – MG

STUDIES AND PROPOSALS FOR THE REAPROVEMENT OF EFFLUENTS TREATED AT ETE ARRUDAS, SABARÁ – MG

Página – 234

Artigo / Article

ONÇALVES; D. E. F.; GOMES, J. F. S.; ALVARENGA, A. P. D.; ARAUJO, T. de O.; BORGES, P. P.

Visomes C. M. Ltda.; Inmetro, BRASIL

DESENVOLVIMENTO DE MATERIAL DE REFERÊNCIA DE ÓXIDO DE HÓLMIO PARA CALIBRAÇÃO DA ESCALA DE COMPRIMENTO DE ONDA DE ESPECTRÔMETROS: ESTUDOS DE VIABILIDADE

DEVELOPMENT OF REFERENCE MATERIAL OF HOLMIUM OXIDE FOR SPECTROMETERS WAVELENGTH CALIBRATION: FEASIBILITY STUDIES

Página - 243

Artigo / Article

COELLO-FIALLOS, D. C.; ESPIN-LAGOS, S. M.; VACACELA GOMEZ, C.; TAVOLARO, A.; CAPUTI, L. S.

TUA, ESPC ,Ecuador; UC, Italy

***C*OMPARAÇÃO DE MEMBRANAS PURAS DE 13X E 5A ZEOLITE PARA REMOÇÃO DE TINTURA LARANJA DE ACRIDINA DE SOLUÇÕES AQUOSAS**

COMPARISION OF PURE MEMBRANES OF 13X AND 5A ZEOLITE FOR REMOVAL OF ACRIDINE ORANGE DYE FROM AQUEOUS SOLUTIONS

Página – 251

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Artigo / Article

HECHAVARRÍA, R.; DELGADO, O.; HIDALGO, A.; ESPÍN, S.; GUAMANQUISPE, J.

TUA, Ecuador; MPUH, Mexico

TÉCNICA FOTOTÉRMICA PARA A MEDIÇÃO DA CONDUTIVIDADE TÉRMICA E A DIFUSÃO DE NANOFLUIDES UMA NOVA APROXIMAÇÃO

PHOTOTHERMAL TECHNIQUE FOR MEASURING THERMAL CONDUCTIVITY AND DIFFUSIVITY OF NANOFLUIDS A NEW APPROACH

Página - 257

Artigo / Article

PILAQUINGA, F.; ESCOBAR, V.; CUEVA, G.; MENESES, L.

PUC-Equador, Ecuador; U. of Sevilla, Spain.

PREPARAÇÃO DE UMA PELÍCULA DE HIDROCOLÓIDE DEGRADÁVEL COM NANOPARTICULAS DE PRATA SINTOMAS COM AÇOUS EXTRATO DE ALHO (Allium sativum)

PREPARATION OF A DEGRADABLE HYDROCOLOID FILM WITH SILVER NANOPARTICLES SYNTHETIZED WITH AQUEOUS GARLIC EXTRACT (Allium sativum)

Página – 266

Artigo / Article

NIELAND, M. L.; DALLAZEN, M. C.; UEBEL, A.; MÜLLER, M. P.; COLLING, M.; FREITAS, E. M.; ETHUR, E. M.; HOEHNE, L.

UNIVATES, BRASIL

CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DE EFLUENTES DE INDÚSTRIA DE SORVETES APÓS APLICAÇÃO DE FLOCULANTES

PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERIZATION OF INDUSTRIAL EFFLUENTS OF SORVETES AFTER APPLICATION OF FLOCULANTES

Página - 276

Artigo / Article

GANCHALA, D; GU.CORONADO, J. L.; JARA, E.; MENESES, L.; GRANDA, E.; PILAQUINGA, F.

PUC-Ecuador; U. A. Madrid - Spain; U. Sevilla - Spain;

SÍNTESE DE NANOPARTICULAS DE PRATA FUNCIONALIZADAS COM EXTRATO AQUEO (Burseragraveolens) E AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA EM Escherichia coli, Staphylococcus aureus E Klebsiellapneumoniae

SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES FUNCTIONALIZED WITH AQUEOUS EXTRACT (Burseragraveolens) AND ANTIMICROBIAL EVALUATION IN Escherichia coli, Staphylococcus aureus AND Klebsiellapneumoniae

Página – 282

Artigo / Article

CHACÓN, C.; HENAO, J. A.; JAMALIS, Joazaizulfazli, RIVAS, P.; VELÁSQUEZ, W.; DELGADO, G. E.

IPN - Mexico; U. I. San. - Col.; U. T. Malaysia; U. A - Venezuela

SÍNTESE, ESTRUTURA CRISTALINA E ANÁLISE DE SUPERFÍCIE HIRSHFELD DO 1-ACETIL-5- (2-METILPROPIL) -2-TIOXO-IMIDAZOLIDIN-4-ONA

SYNTHESIS, CRYSTAL STRUCTURE AND HIRSHFELD SURFACE ANALYSIS OF 1-ACETYL-5-(2-METHYLPROPYL)-2-THIOXO-IMIDAZOLIDIN-4-ONE

Página - 292

Artigo / Article

HERNÁNDEZ, A.; MUÑOZ, R.1; VENTURA, S.; BÜSCHER, W.; CHRISTOPH, R.

F. G. U. - El Salvador.

ESTUDO DE MATERIAIS DE BAIXO CUSTO PARA A MELHORIA DA DESSALINIZAÇÃO SOLAR DE ÁGUA DO MAR

STUDY OF LOW COST MATERIALS FOR THE ENHANCEMENT OF SOLAR SEAWATER DESALINATION

Página – 300

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Artigo / Article

SANTORUM, N.; FABARA, A.; PILAQUINGA, F.; AMPUDIA, S.;JARA, E.;MENESES, L.

PUC-Ecuador; U.S.-Spain.

CARACTERIZAÇÃO EXPERIMENTAL E COMPUTACIONAL DE NANOPARTICULAS DE PRATA UTILIZANDO MATICO (Piper Aduncum) EXTRAÇÃO DE FOLHAS COMO AGENTE REDUZIDO

EXPERIMENTAL AND COMPUTATIONAL CHARACTERIZATION OF SILVER NANOPARTICLES USING MATICO (Piper aduncum) LEAVES EXTRACT AS REDUCING AGENT

Página - 309

Artigo / Article

RODRIGUES, A. B.; GROENWOLD, J. A.; DIAS, R. S.; BENASSI, S. F.

FPT Itipu, BRASIL / ITAIPU Binacional, BRASIL.

PLANEJAMENTOS MUNICIPAIS DE SANEAMENTO BÁSICO: UMA METODOLOGIA DE APOIO À GESTÃO PÚBLICA LOCAL E UM ESTUDO DE CASO

MUNICIPAL BASIC SANITATION PLANNING: A METHODOLOGY OF SUPPORT FOR LOCAL PUBLIC MANAGEMENT AND A CASE

Página – 319

Artigo / Article

Santos, C.C.M.; Peresi, J.T.M.; Teixeira, I.S.C.; Silva, S.I.L.; Povinelli, R.F. ; Assis, J.C.; Figueiredo, J.K.

Ins. Adolfo Lutz, BRASIL

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE BACTERIOLÓGICA E DA CLORAÇÃO DAS ÁGUAS DAS SOLUÇÕES ALTERNATIVAS COLETIVAS (SAC) EM ATENDIMENTO A PORTARIA N° 2914 DE 12 DE DEZEMBRO DE 2011, DO MINISTÉRIO DA SAÚDE

BACTERIOLOGICAL QUALITY EVALUATION AND WATERS CHLORINATION OF THE COLLECTIVE ALTERNATIVE SOLUTIONS (CAS) IN COMPLIANCE WITH HEALTH MINISTRY ORDONNANCE N ° 2914 OF DECEMBER 12, 2011

Página - 333

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

RECOMMENDED TRANSLATION SERVICE

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

UTILIZAÇÃO DE PLÁSTICO RECICLADO PARA OBTENÇÃO DE UM NOVO PAVIMENTO PERMEÁVEL

UTILIZATION OF RECYCLED PLASTIC TO OBTAIN A NEW PERMEABLE FLOOR

MARTINS, Ítalo Yago Ferreira[1*]; FUKAYA, Hiroyuki[2]; MARTINS, Aline Gabrielle Ferreira[3];

[1,2,3] Pontifícia Universidade Católica De Minas Gerais, Campos Barreiro, Departamento de Engenharia Civil, Av. Afonso Vaz de Melo, cep 30640-070, Belo Horizonte - MG, Brasil
(fone: +55 31 3319 4444; fax: +55 31 3328 9540)

** Autor correspondente*
e-mail: italo.yago9@gmail.com

Received 17 October 2017; received in revised form 21 September 2017; accepted 22 September 2017

RESUMO

Com o crescimento do mercado da construção civil torna-se necessário o desenvolvimento de novos produtos. Levando isto em consideração, este artigo propõe um estudo utilizando plástico reciclado no desenvolvimento de pisos porosos para a construção civil. O intuito é reduzir o volume deste resíduo sólido na cidade e no aterro sanitário, além de utilizar menos recursos naturais, tais como a madeira e aço. Para o desenvolvimento do trabalho, foram utilizados plásticos de garrafas pets, além disso, os materiais desenvolvidos foram testados em laboratório, no qual foram levantados os critérios necessários para eventual aprovação do mesmo. Os resultados obtidos apontam que 99,5% da água passa através do material desenvolvido, o que configura um resultado bastante satisfatório. Os resultados alcançados no que tange a resistência à abrasão, a limpabilidade, resistência ao ataque de agentes químicos e o aspecto superficial foram igualmente favoráveis. Sendo assim, observou-se que o material desenvolvido é adequado para utilização na função de pisos porosos, além de contribuir na redução dos resíduos plásticos na cidade, dar destinação a este resíduo e utilizar menos recursos naturais. Esses resultados comprovam que o produto seria adequado para auxiliar na drenagem urbana, uma vez que contribuiria para o escoamento superficial e, ainda, diminuiria o volume dos resíduos sólidos.

Palavras-chave: *Plástico; Reciclagem; Sustentabilidade; Drenagem urbana.*

ABSTRACT

With the growth of the construction market, it is necessary to develop new products. Taking this into account, this article proposes a study using recycled plastic in the development of porous floors for civil construction. The intention is to reduce the volume of this solid waste in the city and in the landfill, in addition to using less natural resources, such as wood and steel. For the development of the work, plastic bottles were used pets, in addition, the materials developed were tested in the laboratory, in which the necessary criteria were raised for eventual approval of the same. The results show that 99.5% of the water passes through the material developed, which is a very satisfactory result. The results achieved with respect to abrasion resistance, limpability, chemical resistance to attack and surface appearance were equally favorable. Therefore, it was observed that the material developed is suitable for use in the function of porous floors, besides contributing to the reduction of plastic waste in the city, to allocate this waste and to use less natural resources. These results prove that the product would be adequate to aid in urban drainage, since it would contribute to the surface runoff, and would also reduce the volume of solid waste.

Keywords: *Plastic; Recycling; Sustainability; Urban drainage.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

Um dos maiores problemas decorrentes da urbanização, de acordo com Gonçalves e Oliveira (2014), está relacionado com a impermeabilização do solo devido a ocupação urbana, causando enchentes e alteração do ciclo hidrológico. Situação que agrava a ineficiência da drenagem urbana é o volume excessivo de resíduos sólidos nos centros urbanos, que causa obstruções nas bocas de lobo, contribuindo para o aumento dos focos de alagamento e proliferação de doenças. (KIM *et al,* 2010).

Visando minimizar estes problemas, no início dos anos 90, começou a se discutir sobre a drenagem urbana sustentável, que se baseia em gestão urbana, evitar desmatamento, erosões e assoreamento do rios e lagos, bem como manutenção dos recursos hídricos e da qualidade das águas superficiais e subterrâneas. (KOBAYASHI, 2008).

Complementarmente, devido ao crescimento econômico e populacional do Brasil, surgiu uma demanda de busca de novos materiais mais eficientes e sustentáveis, afim de minimizar os efeitos da extração em grande escala de recursos naturais para o setor de obras (KIBERT, 2013), como a madeira (FEARNSIDE, 2005) e o aço (INABA e COELHO, 2015). E também buscando evitar o grande descarte de materiais de obra que não são reaproveitados, como o concreto (OLIVEIRA, 2002). Essa necessidade de inovação em técnicas para a construção civil levou a utilização de novos materiais, como o plástico, para substituir os materiais tradicionais, como a madeira, aço, concreto e entre outros. É importante melhorar o comportamento técnico e econômico dos empreendimentos, favorecendo o desenvolvimento sustentável no ramo da construção (LIMA, 2012).

A expressão desenvolvimento sustentável ou o vocábulo sustentabilidade vem se tornando muito comum atualmente. Isso devido a despeito dos problemas ambientais e a crescente necessidade de desenvolver economicamente. (MIKHAILOVA, 2004).

Nesse sentido, o uso do plástico surge como uma alternativa não apenas de reduzir o volume de sólidos, os quais prejudicam a drenagem urbana, como também de gerar pisos porosos que favoreçam a infiltração da água e reduzam o risco de enchentes (CANGEMI, 2005).

Segundo Valante (2009) uma das principais causas de inundações nos grandes centros urbanos, é o acumulo de lixo nas sarjetas e bocas de lobo, causando enxurradas urbanas, este fenômeno é agravado devido ao aumento da intensidade de chuva em um menor período de tempo.

Diante do exposto, realizou-se uma pesquisa para comprovar a eficiência dos materiais plásticos para obtenção de novos modos construtivos destinados à construção civil, específicos para micro-drenagem urbana, a exemplo dos tijolos e telhas plásticas desenvolvidos no artigo de Moraes et al. (2010). Possibilitando para o projeto a criação de pisos porosos, os quais podem ser utilizados nas sarjetas urbanas, reduzindo, ainda, a necessidade do uso de madeira e aglomerantes na construção civil.

OBJETIVOS

- Este trabalho tem por principal objetivo, oferecer uma correta destinação aos resíduos plásticos que são gerados na região metropolitana de Belo Horizonte;
- Desenvolver um novo tipo de pavimento permeável por meio de material reciclável;
- Aperfeiçoar o sistema de drenagem urbana da capital mineira;
- Analisar a viabilidade da utilização do plástico para reutilização como material drenante.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi feito um levantamento de dados, a partir da análise do material reciclável coletado na região do Barreiro em Belo Horizonte, mais especificamente ao redor da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (PUC-MG), os quais eram destinados ao sistema público de coleta.

Em seguida, recolheu-se somente o material plástico provenientes dos arredores e desenvolveu-se, em laboratório, 03 amostras de piso plástico, visto na Figura 1. As garrafas pets foram cortadas e levadas ao forno à 150 ºC, presentes na Figura 2.

Após determinado tempo, pode-se notar que houve redução do volume do plástico.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Adotou-se o seguinte método: adicionou-se e adensou-se o plástico após redução de volume repetidas vezes, até que o piso chegasse à espessura de aproximadamente 3cm.

Em sequência, as amostras foram submetidas ao teste de resistência à abrasão (Tabela 1), permeabilidade (Tabela 2), limpabilidade (Tabela 3), resistência ao ataque de agentes químicos (Tabela 4) e aspecto superficial ou análise visual, de acordo com as NBR 13817/1997, NBR 13818/1997 e CECRISA (2017). Ainda, de acordo com a NBR 16416/2015, classificou-se o seu coeficiente de escoamento superficial e coeficiente de permeabilidade.

Tabela 2. *Grupos de absorção de água para métodos de fabricação prensadas*

Grupos	Absorção de água (%)
Bla	0 < Abs ≤ 0,5
Blb	0,5 < Abs ≤ 3,0
Blla	3,0 < Abs ≤ 6,0
Bllb	6,0 < Abs ≤ 10,0
Blll	Abs acima de 10,0

Fonte: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – NBR – **Placas cerâmicas para revestimento. Maio 30, 1997.**

Tabela 3. *Classificação de limpabilidade*

Classe de Limpabilidade	Remoção de manchas
Classe 5	Máxima facilidade de remoção de mancha
Classe 4	Mancha removível com produto de limpeza fraco
Classe 3	Mancha removível com produto de limpeza forte
Classe 2	Mancha removível com ácido clorídrico, hidróxido de potássio e tricloroetino
Classe 1	Impossibilidade de remoção da mancha

Fonte: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – NBR – **Placas cerâmicas para revestimento. Maio 30, 1997.**

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Durante a coleta dos resíduos, percebeu-se que presença de grande quantidade de garrafas pets, garrafas de vidro e latinhas de alumínio, além de outros componentes com proporções menores, os quais representaram, respectivamente, 30%, 30%, 30% e 10% do volume total do lixo. Isto, devido à existência do grande número de bares e restaurantes na região, presentes na Figura 3.

Constatou-se nas análises dos dados das amostras, de acordo com a NBR 13817/1997 e NBR 13818/1997, que o piso desenvolvido é prensado, e absorve 0,5% de água, sendo classificado como Bla; contendo número de ciclos para visualização de 11587, logo, sendo classe de abrasão PEI 4. Assim a sua utilização pode ser recomendada para todas as dependências residenciais e ambiente comerciais de tráfego alto. A sua classe de limpabilidade é 4, ou seja, pode-se remover manchas com produtos de limpeza de fraca ação. Ficou evidenciado que o material é resistente à agentes químicos ácidos com concentração baixa. Em relação aos aspectos visuais tem qualidade C, onde os defeitos são visíveis no padrão de observação (1m +/- 0,05m de distância de um painel de 1m²).

Em consonância com a NBR 16416/2015, observou-se que a média dos dados, permite dizer que o piso tem coeficiente de escoamento superficial de 0,015 sendo que o seu coeficiente de permeabilidade é aproximadamente igual a 4,45E-03 m/s, tendo a permeabilidade alta.

Todos os resultados podem ser vistos na Tabela 5.

Comparando os pisos plásticos desenvolvidos com os pisos intertravados por Deneno (2017), os pisos plásticos atendem bem aos parâmetros básicos exigidos pela norma, uma desvantagem constatada é a taxa de permeabilidade, pois não é de 100%, essa comparação pode ser observada na Tabela 6.

CONCLUSÕES:

Com os dados levantados e as análises feitas com base nas normas acimas citadas, pode-se perceber que o piso poroso desenvolvido com o plástico é um material muito útil na construção civil, tanto para a utilização em áreas internas e externas de um

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

empreendimento. Além disso, pode-se notar que ele atende também as funções de pisos drenantes e de uma grelha de boca de lobo. Logo, possibilitando a sua utilização em locais onde a drenagem é insuficiente e/ou problemática.

Ademais, o piso proposto é uma opção viável no que tange a destinação dos resíduos plásticos existentes nas áreas urbanas, que muitas vezes são descartados nas ruas e vias, obstruindo as bocas de lobo. Trata-se, portanto, de alternativa viável, haja vista adequação técnica e baixo custo de produção.

REFERÊNCIAS:

1. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 16416: Pavimento permeáveis de concreto:** Requisitos e procedimentos. Rio de Janeiro, 2015.

2. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13817: Placas cerâmicas para revestimento**: Especificação e método de ensaio. Rio de Janeiro, 1997.

3. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13818: Placas cerâmicas para revestimento**: Especificação e método de ensaio. Rio de Janeiro, 1997.

4. CANGEMI, José Marcelo. et al. Biodegradação: Uma alternativa para minimizar os impactos decorrentes dos resíduos plásticos. **Química Nova Na Escola**, São Paulo, n.22, p.17-21, 2005.

5. CECRISA. **Classificação de revestimentos cerâmicos.** Criciúma: Cerâmica Portinari, 2017. Disponível em: <http://www.bertolaccini.com.br/img/GuiaTecnico/Portinari/Classificacao_de_Revestimentos_Ceramicos.PDF>. Acesso em: 20 abril 2017.

6. DENENO, Murilo. **Sobre pisos permeáveis e drenantes** – características técnicas, 2017. Disponível em: <www.rhinopisos.com.br/site/files.php?id=701>. Acesso em: 12 abril 2017.

7. FEARNSIDE, Philip M. Desmatamento na Amazônia Brasileira: história, índices e consequências. **MEGADIVERSIDADE**, Manaus, vol.1, n.1, p.1-11, 2005.

8. GONÇALVES, André Bertoletti; OLIVEIRA, Rafael Henrique. Pavimentos permeáveis e sua influência sobre a drenagem. In: SEMINÁRIO ÁGUA EM AMBIENTES URBANOS, 2014, São Paulo. **Anais PHA.**São Paulo: Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 2014. p.1-12. Disponível em: <www.pha.poli.usp.br/LeArq.aspx?id_arq=11805>. Acesso em: 12 abril 2017.

9. INABA, Roberto; COELHO, Catia M.C. Simões. A evolução da construção em aço no Brasil. Revista Arquitetura & Aço, Rio de Janeiro, n.42, 15 de jul. 2015.

10. KIBERT, Charles J. **Sustainable Construction**: Green Building Design and Delivery. 3. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc, 2013. 7p.

11. KIM, Estele et al. Lixo nos bueiros e nas vias pioram problema de enchentes no ABC. **Rudge Ramos online,** São Paulo, 30 nov. 2010. Disponível em: <http://www.metodista.br/rronline/videos/reportagens/2010/11/excesso-de-detritos-nos-bueiros-e-lixo-nas-vias-pioram-o-problema-de-enchentes>. Acesso em: 12 abril 2017.

12. KOBAYASHI, Fabiana Y. et al. Drenagem urbana sustentável. In: SEMINÁRIO ÁGUA M AMBIENTES URBANOS, 2008, São Paulo. **Anais PHD.** São Paulo: Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 2008. p.1-18. Disponível em: <www.pha.poli.usp.br/LeArq.aspx?id_arq=3040>. Acesso em: 12 abril 2017.

13. LIMA, Ana Carolina A.C. et al. A utilização de plásticos na construção civil. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE EDUCAÇÃO EM ENGENHARIA**, 40, 2012, Belém. COBENGE. Belém: UFPA, 2012. p.1-10.

14. MIKHAILOVA, Irina. Sustentabilidade: Evolução dos conceitos teóricos e os problemas da mensuração prática. **Revista Economia e Desenvolvimento**,

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Pernambuco, n.16, p.1-20, 2004.

15. MORAES, Sandra Regina Pires et al. Avaliação de polímeros termoplásticos recicláveis como materiais componentes de telhas e tijolos. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, vol.6, n.11, p.1-14, 2010.

16. OLIVEIRA, Márcio J. E. de. Materiais descartados pelas obras de construção civil: Estudo dos resíduos de concreto para reciclagem. Tese de Doutorado em Geociências e Meio Ambiente, Instituto de Geociências e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista, UNESP. Rio Claro, 2002.

17. VALENTE, O.F. Reflexões hidrológicas sobre inundações e alagamentos urbanos. Minha Cidade, São Paulo, ano 10, n. 109.01, Vitruvius, ago. 2009 .

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Figura 1. Amostra pronta

Figura 2. Amostra no forno

Figura 3. Garrafas pets e garrafas de vidros presentes nas lixeiras ao redor da PUCMG

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela1. *Classe de abrasão de acordo com a CECRISA*

Classe de Abrasão	**Local de uso Recomendado pela CECRISA**
PEI 0	Paredes
PEI 1	Banheiros e quartos residenciais
PEI 2	Dependências residenciais sem ligação com áreas externas
PEI 3	Todas as dependências residenciais
PEI 4	Todas as dependências residenciais e ambientais comerciais de tráfego médio
PEI 5	Todas as dependências residenciais e ambientes comerciais de tráfego intenso
Estágio de abrasão: nº de ciclos para visualização	**Classe de abrasão**
100	PEI 0
150	PEI 1
600	PEI 2
750-1500	PEI 3
2100,6000,12000	PEI 4
acima de 12000	PEI 5

Fonte: CECRISA – **Classificação de revestimento cerâmico. 2017.**

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 4. *Resistência ao ataque de agentes químicos*

Agentes químicos		**Alta - A**	**Média - B**	**Baixa - C**
Ácido	Alta Concentração - H	HÁ	HB	HC
Álcalis	Baixa Concentração - L	LA	LB	LC
Produtos domésticos e de piscinas		A	B	C

Fonte: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – NBR – **Placas cerâmicas para revestimento. Maio 30, 1997.**

Tabela 5. *Resultados obtidos*

Testes	**Resultados obtidos**	**Classificação**	**OBS**
Piso desenvolvido	Prensado	Bla	-
Absorve água	0,5%		
Resistência a abrasão	11587 ciclos	PEI 4	Residências e ambiente comercial de tráfego alto
Limpabilidade	4	-	Remove manchas com produto de limpeza de fraca ação
Resistência à agentes químicos	Ácidos com concentração baixa	-	-
Aspectos visuais	Qualidade C	-	Defeitos são visíveis
Coeficiente de escoamento superficial	0,015	-	-
Coeficiente de permeabilidade	0,00445 m/s	-	Permeabilidade alta

Fonte: **Elaborado pelos autores, 2017.**

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 6. *Comparação dos pisos permeáveis elaborados e de Deneno (2017)*

		Taxa de permeabilidade (%)	Coeficiente de permeabilidade (m/s)	Coeficiente de escoamento superficial	Classe de abrasão
Piso Intertravado	Bloco dreno- junta	100	4,00 E-03	0,060	PEI 5
	Bloco/placa drenante	100	4,00 E-04	0,060	PEI 5
	Piso gramado	100	4,00 E-05	0,030	PEI 5
Piso desenvolvido	Piso plástico	99,5	4,45 E-03	0,015	PEI 4

Fonte: **Elaborado pelos autores, 2017.**

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

AVALIAÇÃO DA FUNCIONALIDADE DE EXTRATO DA PIMENTA BIQUINHO COMO CONSERVANTE NATURAL NA PRODUÇÃO DE IOGURTE

EVALUATION OF THE FUNCTIONALITY OF EXTRACT OF POUT PEPPER AS NATURAL CONSERVATIVES IN THE PRODUCTION OF YOGURT

SILVA, Everton Vieira[1(*)]; SANTOS, Alfredina Araujo[2]; CONCEIÇÃO, Marta Maria[3]; CARVALHO FILHO, José Rodrigues[4]; PAIVA, Yaroslávia Ferreira[5]; SILVA, Francisco Alves[6], OLIVEIRA, Andrea Maria Brandão Mendes[7]

[1.3,4.] Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, Cidade Universitária, caixa postal 5093 – cep 58051-970, João Pessoa – PB, Brasil (fone: +55 83 3216 7437)

[2,5,6,7] Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Rua Jairo Vieira Feitosa, 1440, Pereiros – cep 58840-000, Pombal – PB, Brasil (fone: +55 83 3431 4000)

** Autor correspondente*
e-mail: evertonquimica@hotmail.com

Received 12 June 2000; received in revised form 30 November 2000; accepted 14 December 2000

RESUMO

Os iogurtes estão entre os produtos lácteos mais consumidos mundialmente e como a maioria dos alimentos industrializados são ricos em aditivos artificiais, que tem entre suas principais funções garantir a estabilidade do produto por certos períodos, com isto, têm-se buscado soluções naturais que possibilitem a substituição destas substâncias sem alterar suas características nutricionais. Este trabalho teve como objetivo avaliar a funcionalidade do extrato da pimenta biquinho como conservante natural na produção de iogurte. Foi elaborado um extrato pastoso da pimenta biquinho a partir da base seca, utilizando etanol como solvente (1:6). Em seguida, quatro amostras de iogurtes foram preparadas, sendo uma controle e outras três aditivadas com 500 ppm, 1000 ppm e 3000 ppm do extrato e avaliados durante 40 dias. Percebeu-se que a amostra com 3000 ppm foi eficiente em manter estáveis os níveis de acidez, açúcares redutores, não redutores e o valor energético, diferentemente das demais que oscilaram ao longo do tempo e tiveram suas características nutricionais afetadas. Com isto, verifica-se a potencialidade do extrato como conservante natural na produção de iogurtes, apresentando vantagens tanto para o setor industrial, que terá seus produtos com a mesma qualidade, quanto para os consumidores, que terão opções mais saudáveis.

Palavras-chave: produtos lácteos; pimenta de bico; aditivos naturais; estabilidade

ABSTRACT

The yogurts are among the milk products more consumed worldwide and as the majority of industrialized foods are rich in artificial additives, which has among its main functions ensure the stability of the product for certain periods, herewith, have sought natural solutions that allow the substitution of these substances without changing their nutritional characteristics. The objective of this work was to evaluate the functionality of the pout pepper extract as natural conservatives in the production of yogurt. A pasty extract of the pussy pepper was elaborated from the dry base, using ethanol as solvent (1:6). Then, four samples of yoghurt were prepared, being one control and another three additives with 500 ppm, 1000 ppm and 3000 ppm of the extract and evaluated during 40 days. It was perceived that the sample with 3000 ppm was efficient in maintaining stable levels of acidity, reducing sugars, no reducing sugars and the energy value, unlike the others that oscillated over time and had their nutritional characteristics affected. Given this fact, the potentiality of the extract as a natural preservative in the production of yoghurts is verified, presenting

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

advantages both for the industrial sector, which will have its products with the same quality, and for the consumers, who will have healthier options.

Keywords: dairy products; pout pepper; natural additives; stability.

INTRODUÇÃO

Ultimamente, tem-se percebido uma mudança nos hábitos alimentares da maioria das pessoas que passaram a buscar formulações mais saudáveis de produtos livres de certos componentes sintéticos que, com o uso contínuo, podem acarretar problemas de saúde ao consumidor. No entanto, a indústria alimentícia visa adequar-se a essas tendências através da busca de aditivos naturais que garantam aos produtos as mesmas características físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais das atualmente utilizadas além da mesma durabilidade, fazendo com que ofereçam alimentos de alta qualidade aos mais diferentes lugares e também mantenham-se no mercado de alta competitividade (SILVA et al, 2017; DANTAS & ARAÚJO, 2015).

Entende-se por aditivos os ingredientes ou substâncias naturais ou sintéticas que tem a função de impedir alterações, manter ou intensificar as propriedades dos alimentos por um certo período, ou seja, são substanciais ou misturas destas que são acrescidos a produtos industriais, em porções mínimas, com o objetivo de conferir funcionalidade, desempenho e requisitos de qualidade, melhorando as propriedades já existentes, suprimir as indesejáveis ou introduzindo novas (ANVISA, 1997; CARRETERO, 1998; SEVERO, 2015).

O uso destes aditivos alimentares é praticamente constante em produtos industrializados com destaque para os alimentos derivados do leite, como os iogurtes, que necessitam de uma gama destas substâncias, tais como corantes, aromatizantes, conservantes, antioxidantes, antimicrobianos e antifúngicos, entre outros, tornando a processo rico em itens artificiais, que de certo modo possuem boa funcionalidade e custo benefício, mas, pode estar relacionado a problemas de saúde pública, fazendo que sejam então preteridos ou limitados em alguns países, havendo então a necessidade de substituição deste por rotas mais naturais (ANVISA, 1997; SOUZA, 2012).

Com isto, têm-se a necessidade de buscar diversas fontes naturais de aditivos tem impulsionado estudos principalmente de fontes não convencionais, como é o caso das pimentas que possuem características diferenciadas que vão além das suas propriedades organolépticas, tais como alto valor nutricional, com boas fontes de vitaminas C e A e, por apresentarem vários minerais que são fundamentais para o perfeito funcionamento do organismo. Além disto, as pimentas (*Capsicum spp*) possuem propriedades fisiológicas e farmacêuticas, além de podem ser utilizados como conservante alimentar, devido à presença de determinados componentes como a capsaicina e a dihidrocapsaicina, em algumas variedades (ZANCANARO, 2008; CISNEROS-PINEDA, *et al*, 2007).

No mercado brasileiro, são popularmente conhecidos e apreciados os tipos malagueta, dedo de moça, de cheiro (ou de bode), americana doce, cumari (DOMENICO, 2011). No entanto, algumas variedades, como a pimenta biquinho, tem sido apenas utilizada como ornamentação ou preparação de alimentos comuns, que agregam valor comercial reduzido como compotas e doces, deixando de lado, inúmeras qualidades que podem ser evidenciadas, principalmente devido a sua coloração intensa que pode estar relacionada a uma alta concentração de pigmentos (flavonóides, antocianinas ou carotenóides) e de compostos fenólicos, que apresentam propriedades antioxidantes (DANTAS & ARAÚJO, 2015; SEVERO, 2015).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a funcionalidade do extrato elaborado a partir da pimenta biquinho (*Capsicum chinese*) como conservante natural na produção de iogurte.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do Extrato

Os frutos da pimenta biquinho foram obtidos na comunidade rural Uruçu, localizada na zona rural do município de São João do Cariri-PB, onde as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas e em seguida transportadas para o Laboratório de Análise de Química e Águas do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) em Pombal-PB. Os frutos foram escolhidos, lavados e sanitizados e em seguida retirou-se os talos e cortados com o auxílio de um processador de alimentos da marca Philips Wallita, sendo então submetidas a etapas de secagem a uma temperatura de 65±2 ºC, utilizando uma estufa microprocessada de circulação de ar da marca Telga, por 48 horas ininterruptas. Por fim, foi submetido a moagem utilizando um moinho de facas da marca SPLabor e o material seco produzido foi coletado em pote plástico estéreo e armazenado em ambiente seco.

Cerca de 100 g de material seco foi pesado e colocado em recipiente de vidro com tampa e envolvido em papel alumínio para evitar a degradação pela luz, sendo acrescido 600 mL de etanol (99,8% de pureza da Vetec) (1:6) e submetido a agitação na Incubadora Shaker da SpLabor à temperatura de 25±2ºC por 50 minutos e deixado em repouso por 24 horas. A amostra foi então submetida a filtração à vácuo e o liquido resultante foi colocado em balões para posterior retirada do etanol em aparelho de Sohlext da Marqlabor, permanecendo no mesmo a uma temperatura média de 65 ºC, até eliminação total do solvente.

O etanol recuperado durante o procedimento foi novamente adicionado a amostra residual pós extração e repetiu-se por mais duas vezes, obtendo assim o máximo de extrato. Todo material extraído foi coletado em um recipiente protegido da luz e submetido a secagem para eliminação de solvente residual em estufa de circulação de ar Telga à 75ºC durante 30 min. Logo após, deixou o material esfriar a temperatura ambiente e separou a fase liquida, restando apenas a fase pastosa, denominada de extrato, sendo colocado em freezer vertical da frilux com temperatura controlada em 5 ºC ± 2ºC.

Elaboração do Iogurte

Os iogurtes foram elaborados utilizando quatro litros de leite bovino cedidos pela Comunidade Rural Bamburral, localizada cerca de 20 km do município de Pombal-PB, que foi acondicionado em recipientes estéreis e transportados para o Laboratório, onde procedeu-se as etapas de pasteurização e avaliação das condições higiênico-sanitárias e nutricionais da referida matéria-prima.

Após esta etapa, o leite pasteurizado foi dividido em quatro béqueres de 1000 mL e levados ao aquecimento em banho maria a temperatura de 42 ºC, foram então acrescidos em cada um dos recipientes 2 mL de cultura láctea YOG 03, agitando-se a mistura por 2 minutos, logo em seguida, foi adicionado 100 g de açúcar demerara para cada amostra e voltou a agitação por mais 2 minutos. Os recipientes foram cobertos com papel alumínio e levados a estufa com temperatura de 42,5±1ºC, permanecendo nesta faixa por 7 horas. Ao observar que o material adquiriu certa consistência, foi retirado e levado ao freezer a uma temperatura média de 4±ºC, permanecendo em repouso por 24 horas.

Após a etapa de refrigeração, o iogurte foi então batido com o uso de uma batedeira orbital por 30 segundos, sendo a ele acrescido 500 ppm, 1000 ppm e 3000 ppm de extrato de pimenta biquinho e uma amostra livre de extrato, codificadas como I1, I2, I3 e I4, separadas em 07 lotes para cada uma delas.

Avaliação Físico-Química dos Iogurtes durante estocagem

As amostras de iogurtes elaborados foram avaliadas durante 40 dias consecutivos (0, 5, 10, 15, 20, 30 e 40 dias), a fim de confirmar a funcionalidade do extrato na conservação das características nutricionais do produto. Para isto, adotou-se os seguintes parâmetros: acidez em ácido lático, potencial hidrogeniônico (pH), umidade (Extrato Seco Total), cinzas (resíduo mineral fixo), lipídeos,

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

açúcares não redutores (sacarose) e açúcares redutores (lactose), proteínas e valor energético, sendo para tal utilizadas metodologias descritas pelo IAL (2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os iogurtes elaborados com diferentes percentuais de extratos da pimenta biquinho foram avaliados através de análises físicas e químicas durante um período de 40 dias, sendo estes divididos em sete tempos (0, 5, 10, 15, 20, 30 e 40 dias). Na Figura 1 encontram-se os dados quanto ao primeiro parâmetro avaliado, a acidez em porcentagem de ácido láctico.

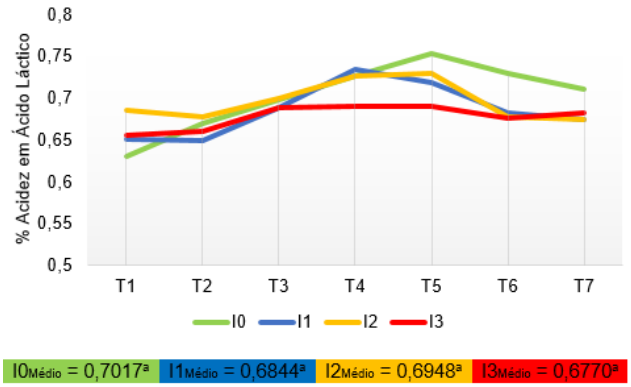


Figura1: *Variação de acidez durante período de estocagem do iogurte*

Analisando a Figura 1 foi possível perceber uma leve variação de acidez durante o período de estocagem em todas as amostras, perfil esperado devido os processos de degradação do alimento, também verificou que o item I3, o qual possui uma maior concentração de extrato da pimenta biquinho permaneceu com acidez em níveis praticamente constantes e garantiu a durabilidade do produto no período relatado.

Estatisticamente as amostras não diferiram ao nível de 5%, conforme teste de Tukey e encontram-se dentro dos padrões regidos pela legislação vigente IN 46 (BRASIL, 2000) a qual exige acidez em iogurtes na faixa de 0,6 a 1,5%, o qual garante a comercialização de todas as amostras durante o período relatado.

Estudos com diferentes iogurtes elaborados por Paiva *et al* (2015), Silva *et al* (2012) e Domingo (2011) apontam para este parâmetro valores de 0,803% a 0,934%; 0,75% a 1,08% e 0,58% a 0,84%, uma faixa de variação superior aos obtidos neste trabalho. Percebeu-se que o extrato age ativamente impedindo variações bruscas de acidez e garantem a manutenção da qualidade do produto ao longo dos dias de avaliação.

A Figura 2 apresenta os dados de variação de pH das amostras de iogurte durante o período de estocagem avaliado.

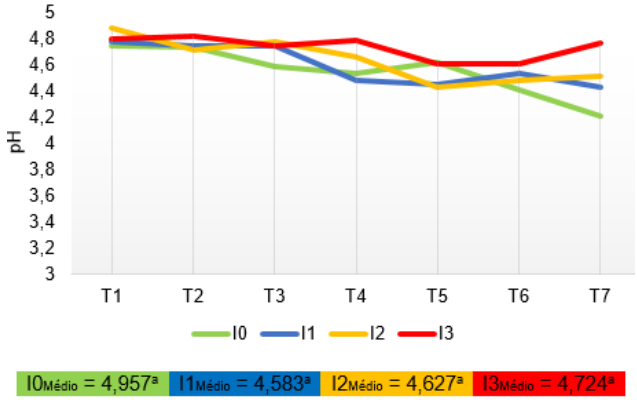


Figura 1: *Variação de pH durante período de estocagem do iogurte*

Estatisticamente as amostras também não diferiram ao nível de 5% quanto ao pH durante o período de estocagem, mas percebe-se variações ao longo do tempo de avaliação do produto, onde a amostra I3 se destaca em relação as demais, por resistir a estas alterações.

Ao comparar com outras pesquisas é possível verificar valores divergentes, como é o caso do estudo de Paiva *et al* (2015) que obteve pH na faixa de 3,76 a 3,82 em iogurtes de abacaxi, base mel e Silva *et al* (2012) com 3,57 a 4,03 em amostras de iogurtes industriais e caseiros comercializados em Santa Maria-RS. Estas diferenças podem estar relacionadas aos diferentes ingredientes adicionados, bem como a qualidade da matéria-prima empregada refletindo no produto final.

As amostras foram submetidas a verificação da umidade e os dados obtidos estão colocados na Figura 3.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

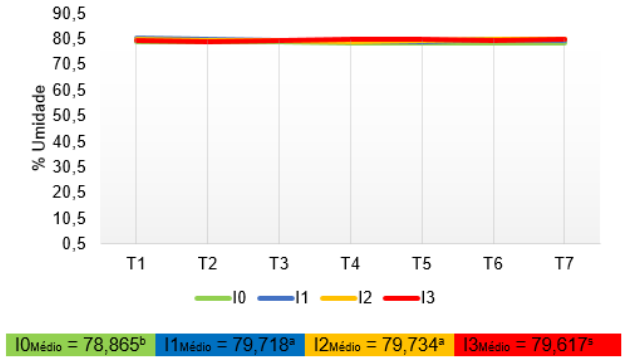


Figura 3: *Variação de umidade durante período de estocagem do iogurte*

Analisando a Figura 3 percebe-se graficamente e estatisticamente que as amostras não diferiram ao longo do tempo de estocagem, logo os extratos adicionados não afetaram quanto a este parâmetro. Todas as amostras podem ser consideradas comercializáveis devido a não existência de limites mínimos ou máximos na IN 46.

Paiva *et al* (2015) verificou níveis de umidade de 76,4 a 79,7% em iogurtes de abacaxi, base mel e Pacheco *et al* (2015) com 75 a 82% em iogurtes tradicionais e iogurtes líquidos comercializados no Brasil. Esses dados estão próximos aos expostos na figura acima e justificam a qualidade de todas amostras ao longo dos 40 dias de estocagem.

A Figura 4 traz os valores de resíduo mineral fixo (cinzas) determinados nos iogurtes elaborados.

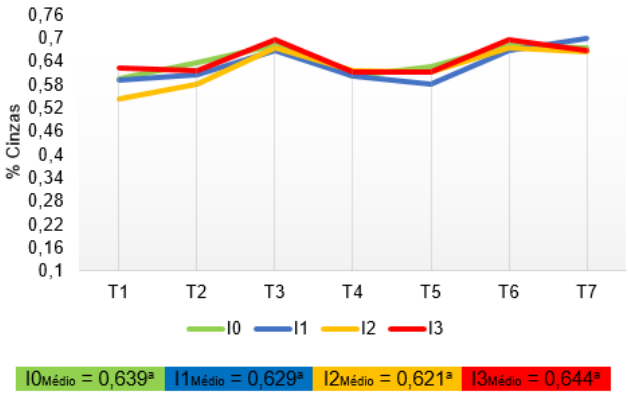


Figura 2: *Variação de resíduo mineral no período de estocagem do iogurte*

Ao analisar a figura acima observou-se variações nos teores de resíduo mineral existente nas diferentes amostras ao longo do período de avaliação, onde a amostra I3 apresenta valores ligeiramente maiores em alguns pontos em relação as demais, os quais podem estar relacionados com a existências de sais no extrato, mas estatisticamente não se constatou diferenças significativas.

Pesquisas realizadas por Martins *et al* (2013) com iogurtes hidrossolúveis de soja e inulina apontaram 0,48% de cinzas, enquanto Paiva *et al* (2015) obteve 0,75 a 0,99% em diferentes formulações iogurtes de abacaxi, base mel e por fim, Pacheco *et al* (2015) encontrou valores de 0,24 a 2,98% em amostras comerciais deste produto.

Todos estes estudos demonstram níveis variados que podem ser justificados pelos ingredientes extras adicionados a base padrão de formulação de iogurtes e também justificam a qualidade dos itens formulados neste trabalho, com ênfase para a amostra I3, que manteve níveis constantes ao longo do período.

Na Figura 5 estão plotados os resultados encontrados para os teores de sólidos solúveis ao longo do período de avaliação.

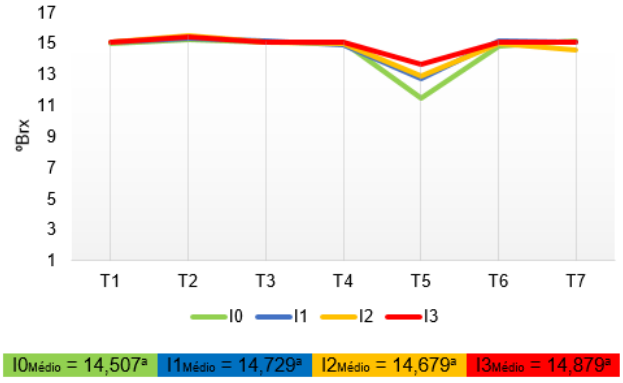


Figura 53: *Variação de sólidos solúveis no período de estocagem do iogurte*

Estatisticamente os dados expostos na Figura acima não variaram ao nível de 5%, conforme teste de Tukey, o qual corrobora com o item anterior, onde a etapa de aditivação com os extratos da pimenta biquinho não alterou consideravelmente o teor de minerais, também reflete na uniformidade dos sólidos solúveis, justificando a homogeneidade e qualidade do processo de

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

fabricação de iogurte como diferentes proporções do aditivo.

Pesquisas desenvolvidas por Paiva *et al* (2015) apontam valores de sólidos solúveis na faixa de 37,1 a 41,5 ºBrix em iogurtes de abacaxi/base mel, sendo bem superiores aos valores expostos na figura anterior. É importante destacar que os itens adicionados pelo referido autor refletiram exponencialmente nas amostras produzidas, diferentemente do que ocorreu com o processo de aditivação com os extratos da pimenta biquinho, que não afetou e agiu em caso de degradações, reduzindo perdas como pode ser observado no item I3 do tempo 5.

Borges *et al* (2009) por sua vez, obteve 15,6 ºBrix em iogurtes comuns de leite bovino, estando em conformidade com os produtos aqui elaborados, os quais podem ser considerados dentro dos padrões e ideias para comercialização, dentro do período analisado.

Na Figura 6 estão plotados os níveis de lipídeos encontrados nas amostras de iogurte a longo do período avaliado.

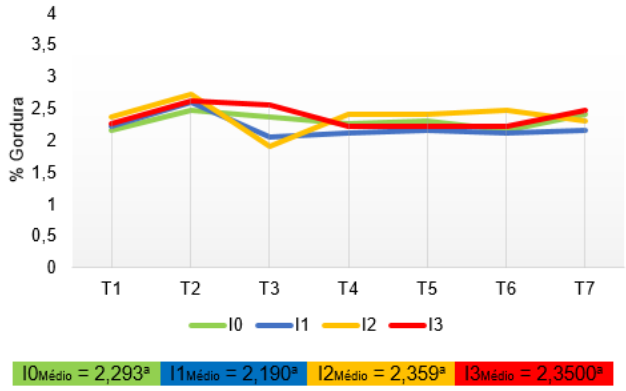


Figura 6: *Variação de lipídeos no período de estocagem do iogurte*

De modo análogo a maioria dos outros parâmetros, os teores de lipídios encontrados também não diferiram estatisticamente ao nível de 5% e mantiveram praticamente estáveis ao longo do período de estocagem avaliado. Estes dados apontam que o processo de aditivação nas diferentes proporções não afetam o produto final, mantendo-o em percentuais normais durante o tempo avaliado.

Conforme a legislação vigente (IN 46 – MAPA) os iogurtes elaborados encaixam-se na linha de lácteos parcialmente desnatados, com matéria gorda na faixa de 0,6 a 2,9%, diferentemente da maioria dos produtos comerciais que são integrais e apresentam 3,0 a 5,9% de lipídios, mas de modo geral, estão dentro dos padrões.

Pacheco *et al* (2015) em suas pesquisas de determinação da composição centesimal de iogurtes comerciais tradicionais e líquidos verificou níveis de gordura na faixa de 1,88% a 6,13%. Pegoraro (2011) apontou 3,0% a 4,0% de lipídios em iogurtes acrescidos de geléia de amora-preta e pólen apícola e Domingo (2011) evidenciou 0% a 4,7% em amostras comerciais.

Na Figura 7 estão expostos os valores de proteínas para as diferentes amostras de iogurtes elaborados.

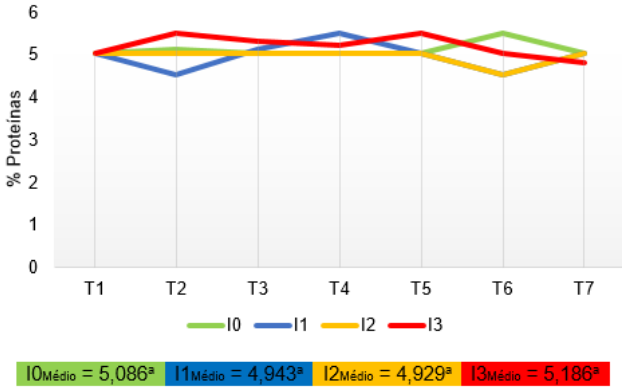


Figura 7: *Variação de proteínas no período de estocagem do iogurte*

Ao analisar o teor proteico exposto na Figura 7, percebeu-se certa homogeneidade entre as diferentes amostras elaboradas, além disto, os padrões mantiveram-se praticamente constantes durante o período de 40 dias de avaliação. É importante destacar que a amostra I3 mostrou-se superior as demais e resiste a possíveis degradações durante o armazenamento.

De acordo com a legislação IN 46 do MAPA, produtos lácteos como o iogurte deve apresentar valores mínimos de 2,9% de proteínas lácteas, todas as amostras avaliadas estão dentro dos padrões.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

O total de proteínas em formulações de iogurtes é bem variado, como pode ser analisado nos estudos de Paiva *et al* (2015) com 2,98 a 4,39% em iogurtes de abacaxi, base mel. Pacheco *et al* (2015), por sua vez, ao avaliar amostras comerciais de iogurtes tradicionais e líquidos verificou teores de 2,16% a 4,11% e por fim, Pegoraro (2011) mostra 4,91 a 5,36% deste nutriente em iogurte aditivado com geleia de amora-preta e pólen. Estes dados corroboram com os valores expostos na figura 86 e contribuem para ressaltar a qualidade das amostras elaboradas, em especial a I3.

Na Figura 8 estão expostos os valores encontrados para açúcares redutores dos iogurtes durante o período de estocagem.

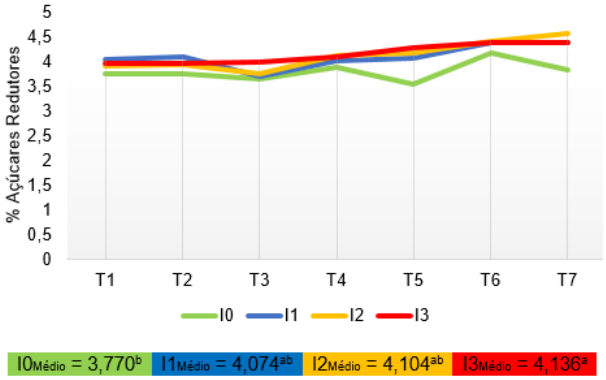


Figura 8: *Variação de açúcares redutores no período de estocagem do iogurte*

Ao observar a Figura 8 verifica-se uma certa similaridade entre as amostras durante o período de estocagem, principalmente entre as amostras I1, I2 e I3 que mantiveram estáveis durante os tempos avaliados. Na amostra I0 ocorreu degradação em alguns pontos (T3, T4 e T7). Tais dados justificam que o extrato da pimenta biquinho conseguiu evitar as perdas e manter o nutriente em níveis constantes após 40 dias.

Estatisticamente, as amostras também diferem ao nível de 5%, com destaque para um aumento ocorrido de modo progressivo nas amostras aditivadas. Em iogurtes, as percentagens de açúcares redutores são bem variáveis, como pode ser percebido nos estudos de Ferreira (2012) que obteve 6,41 a 8,03% em iogurtes sabor cajá e Martins *et al* (2013) que encontrou apenas 1,23% em iogurte aditivado com extrato hidrossolúvel de soja. Os dados plotados na figura 87 podem ser considerados intermediários e estão dentro dos padrões de produtos elaborados e comercializados diariamente.

A Figura 9 mostra as porcentagens de açúcares redutores encontrados nas amostras de iogurte elaborados.

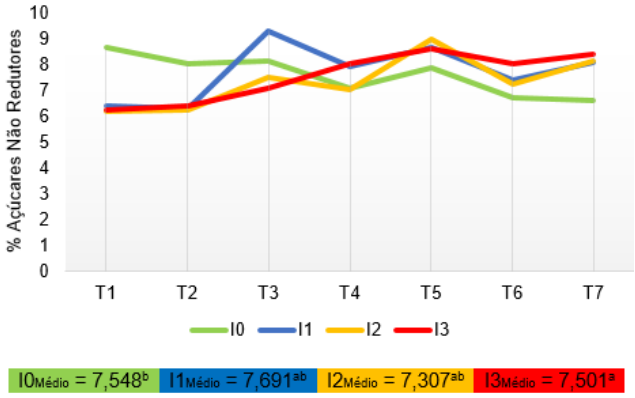


Figura 9: *Variação de açúcares não redutores no período de estocagem do iogurte*

Diferentemente do observado na Figura 8, os níveis de açúcares não redutores (Figura 9) ao longo do período de estocagem são divergentes, onde a amostra I0 degrada durante o tempo de avaliação, enquanto as aditivadas permanecem resistentes a este processo, com ênfase para a amostra I3 com maior estabilidade em relação às demais.

Estatisticamente, as amostras diferem ao nível de 5%, com destaque para o aumento verificado nas amostras aditivadas, que mantiveram com maiores percentuais de açucares redutores ao longo do tempo de estocagem.

Ferreira (2012) e Martins *et al* (2013) verificaram em suas pesquisas valores de 3,36 a 5,26% e 0,17%, respectivamente. Tais dados são bem inferiores aos apontados na figura acima e justificam os excelentes níveis destes compostos durante todo o período de avaliação dos iogurtes elaborados com diferentes proporções de extratos da pimenta biquinho.

A Figura 10 traz os teores energéticos dos iogurtes elaborados e suas variações ao longo dos 40 dias de estocagem.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

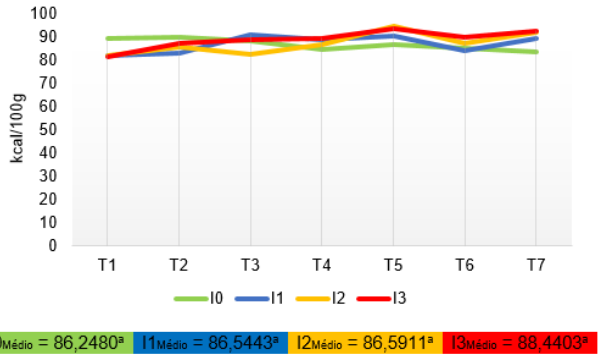


Figura 10: *Conteúdo energético do iogurte ao longo do período de estocagem*

Os dados apontados na figura acima não diferiram estatisticamente ao nível de 5% (teste de Tukey), mas foi possível verificar uma leve redução no conteúdo energético do iogurte padrão, fato este relacionado a degradação de alguns dos nutrientes tratados anteriormente.

A amostra I3 apresenta a maior concentração de extrato da pimenta biquinho, manteve-se estável durante todo o período de estocagem, garantindo manutenção de compostos que são importantes em uma alimentação balanceada e também uma maior vida útil do produto, tendo então potencial de substituição do sorbato de potássio geralmente utilizados lácteos. Porém, como a legislação brasileira através da instrução normativa 48, não estipula limites para o conteúdo energético em iogurtes, as amostras aqui expostas estão liberadas para consumo e comercialização.

Domingo (2011) e Pacheco *et al* (2015) ao avaliarem iogurtes tracionais comercializados em diferentes regiões apontaram valos energéticos de 64 kcal/100g a 161 kcal/100g e 71 kcal/100g a 103,33 kcal/100g, respectivamente. Tais dados mostram que os iogurtes elaborados apresentam conteúdo energético intermediário em relação a produtos comercializados, podendo contribuir com pessoas que buscam opções de alimentos com calorias reduzidas e de qualidade certificada.

CONCLUSÃO

Este estudo permitiu evidenciar a potencialidade do extrato da pimenta biquinho como aditivo conservante na produção de iogurtes, proporcionando a ele estabilidade das suas características nutricionais ao longo do período de estocagem, podendo assim substituir o sorbato de potássio, aditivo artificial que é geralmente utilizado pela indústria para conservação de produção lácteos.

O extrato utilizado mostrou-se eficiente ao manter estáveis ao longo de 40 dias, os valores de acidez, açúcares redutores e não redutores, com destaque para a amostra I3 que apresenta maior concentração de extrato (3000 ppm), ou seja, o aditivo permitiu manter o valor nutricional do iogurte ao longo tempo, informação corroborada pela manutenção do valor energético da referida amostra. Já os teores de umidade, resíduo mineral (cinzas), lipídeos e proteínas mantiveram-se inalterados durante o período avaliado em todas as amostras, garantindo assim que o extrato não interfere no teor de água e na quantidade total de minerais como também não degrada os macronutrientes existentes.

Em síntese, o uso do extrato permite a produção de iogurtes livres de conservantes artificiais e elaborados com ingredientes totalmente naturais, garantindo assim, vantagens tanto para o setor industrial que terão seus produtos com o mesmo tempo de comercialização e qualidade e para os consumidores em geral, que terão uma opção mais saudável.

REFERÊNCIAS

1. BORGES, K. C.; MEDEIROS, A. C. L.; CORREIA, R. T. P. **Iogurte de leite de Búfala sabor Cajá (*Spondias lutea L.*): Caracterização físico-química e aceitação sensorial entre indivíduos de 11 a 16 anos.** Alimentos e Nutrição Araraquara, v. 20, n. 2, p. 295-300, 2009.

2. BRASIL. **Portaria nº 540 – SVS/MS, de 27 outubro 1997.** Aprova o regulamento técnico: aditivos alimentares – definições, classificação e emprego. Diário Oficial da União, Brasília, 28 out. 1997.

3. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento técnico de identidade e qualidade de

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

leites fermentados. Instrução **Normativa Nº 46, de 23 de outubro de 2007.**

4. CARRETEIRO, R. P.; MOURA, C. R. S. **Lubrificantes e Lubrificação**. Ed. São Paulo: MAKRON Books, 1998.

5. CISNEROS-PINEDA, O.; TORRES-TAPIA, L. W.; GUTIÉRREZ-PACHECO, L. C; CONTRERAS-MARTÍN F.; GONZÁLES-ESTRADA, T.; PERADA-SÁNCHEZ, S. R. **Capsaicinoids quantification in chili peppers cultivated in the state of, Yucatan, Mexico.** Food Chem. N.104, p. 1755-1760, 2007.

6. DANTAS, E.R; ARAUJO, A.S. **Avaliação das propriedades físico-químicas e microbiológicas de pimenta biquinho nos diferentes estágios de maturação e a sua ação antimicrobiana.** Relatório (PIBIC/UFCG). Campina Grande-PB, 2015.

7. DOMENICO, C.I. **Caracterização agronômica e pungência em Pimenta (*Capsicum chinense Jacq*)**. Dissertação. Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical. Instituto Agronômico. Campinas, 2011.

8. DOMINGO, E. do C. **Avaliação da qualidade e da competitividade de iogurtes produzidos no sul de Minas Gerais.** 2011. 118 p. Dissertação. Mestrado em Ciência dos Alimentos. Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG. 2011.

9. FERREIRA, L. C. **Desenvolvimento de iogurtes probióticos e simbióticos sabor cajá (*Spondias mombun L.*).** 2012. 93f. Dissertação. Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, PE. 2012.

10. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4 ed, São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008.

11. MARTINS, G. H.; KWIATKOWSKI, A.; BRACHT, L.; SRUTKOSKE, C. L. Q.; HAMINIUK, C. W. I. **Perfil físico-químico, sensorial e reológico de iogurte elaborado com extrato hidrossolúvel de soja e suplementado com insulina.** Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, v.15, n.1, p.93-102. 2013.

12. PACHECO, H. F. B.; SÍGOLO, L. M. N.; RIBEIRO, A. P. B.; DE OLIVEIRA, J. M. **Composição centesimal de iogurtes tradicionais e iogurtes líquidos: incompatibilidade com as descrições da rotulagem.** Revista do Instituto Adolfo Lutz, v. 74, n. 4, p. 380-389, 2015.

13. PAIVA, Y. P.; DEODATO, J. N. V.; SILVA, E. E. V.; SILVA, E. V.; ARAÚJO, A. S. **logurte adicionado de polpa de abacaxi, base mel: Elaboração, perfil microbiológico e físico-químico.** Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, v. 10 , n. 5 (ESPECIAL), p. 22 - 26, 2015.

14. PEGORARO, B. **Desenvolvimento de um iogurte com geléia de amora-preta (*Morus nigra L.*) e pólen apícola.** 2011. 54 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, PR. 2011.

15. SILVA, L. C.; MACHADO, T. B.; SILVEIRA, M. L. R.; DA ROSA, C. S.; BERTAGNOLLI, S. M. M. **Aspectos microbiológicos, pH e acidez de iogurtes de produção caseira comparados aos industrializados da região de Santa Maria - RS.** Disciplinarum Scientia| Saúde, v. 13, n. 1, p. 111-120, 2012.

16. SEVERO, D. S. **Farelo de pimenta biquinho (Capsicum *chinense*) aplicado na produção de Boursin.** Trabalho de conclusão do curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Campina Grande, Setembro, 2015.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

17. SILVA, E. V.; CONCEIÇÃO, M. M.; CARVALHO FILHO, J. R.; ARAUJO, A. S.; PAIVA, Y. F.; LOPES, M. F.; MELO, M. A. R. **Teor de pigmentos alimentares e capacidade antioxidante de corante natural obtido da pimenta biquinho**. Revista de Química Industrial. n. 754, 2017.

18. SOUZA, R. M. **Corantes naturais alimentícios e seus benefícios à saúde.** Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Farmácia, Centro Universitário Estadual da Zona Oeste. Rio de Janeiro, 2012.

19. ZANCANARO, R.D. **Pimentas: Tipos, Utilização na Culinária e funções no organismo.** Monografia. Especialização em Gastronomia e Saúde. UNB. Brasília, 2008.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

ANÁLISE DE ALDICARBE EM ÁGUAS SUPERFICIAIS DO RIO PARANÁIBA

ANALYSIS OF ALDICARB IN SURFACE WATER FROM THE PARANÁIBA RIVER

ALMEIDA, Monalisa Silva[1]; GOULART, Adilson Correia[1]; GOULART, Simone Machado[1]; SILVA, Tatiana Aparecida da[1;] SANTOS, João Paulo Victorino[1*].

[1]Instituto Federal de Goiás, Departamento de Química, Av. Furnas, nº 55, Village Imperial, CEP: 75524-010, Itumbiara – GO, Brasil (fone: +55 64 2103 5600; +55 64 2103 5626)

** Autor correspondente*
e-mail: joao.santos1@ifg.edu.br

Received 25 May 2017; accepted 28 August 2017

RESUMO

O agrotóxico aldicarbe é o princípio ativo mais tóxico registrado em todo território nacional, destacando-se pela sua extrema toxicidade aguda. No ambiente, principalmente nos recursos hídricos, vários estudos têm demonstrado o potencial de contaminação do aldicarbe. ORio Paranaíba corta omunicípio de Itumbiara-GO, região considerada importante centro econômico do sul do estado. Ao longo da Bacia do Rio Paranaíba existe uma vasta gama de cultivos como, por exemplo, cana-de-açúcar, milho, soja, algodão. Este trabalho teve como objetivo analisar quantitativamente a ocorrência de contaminação por aldicarbe em águas superficiais do Rio Paranaíba, além disso realizar um estudo teórico do rio. Para tanto,empregou-se o método de extração líquido-líquido com partição a baixa temperatura(ELL-PBT) e análise por cromatografia líquida de alta eficiência com detector ultravioleta (HPLC-UV). Nas amostras de água superficiais do rio analisadas, não foram encontrados níveis de contaminação por aldicarbeou as concentrações ficaram abaixo do limite de detecção do método ELL-PBT e HPLC-UV.

Palavras-chave:*Agrotóxico; Análise de Aldicarbe; Rio Paranaíba.*

ABSTRACT

The pesticide aldicarb is the most toxic active ingredient registered in all national territory, standing out for its extreme acute toxicity. In the environment, mainly in the water resources, several studies have demonstrated the potential of contamination of aldicarbe. The Paranaíba River cuts off the municipality of Itumbiara-GO, a region considered an important economic center in the south of the state. Along the Paranaíba River Basin there is a wide range of crops, such as sugarcane, corn, soy, cotton. This work aimed to quantitatively analyze the occurrence of aldicarb contamination in surface waters of the Paranaíba River, in addition to conducting a theoretical study of the river. For this purpose, the liquid-liquid extraction with low temperature partitioning (LLE-LTP) and high-performance liquid chromatography (HPLC-UV) analysis were used. In the surface water samples of the river analyzed, no aldicarb contamination levels were found or the concentrations were below the detection limit of the LLE-LTP and HPLC-UV method.

Keywords: *Pesticides; Aldicarb analysis; ParanaíbaRiver.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO:

A cada ano, a agricultura brasileira demonstra-se mais subordinada à utilização de agrotóxicos para aumentar produtividade agrícola, visto que o país é o maior exportador de grãos do mundo.O Brasil desde 2008 lidera o consumo de agrotóxicos em todo o mundo. Segundo último relatório do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, em 2014, foram consumidos nacionalmente mais de meio milhão de toneladas de princípios ativos (IBAMA, 2015).

Há vários anos a utilização dos agrotóxicos tem sido motivo de grande preocupação ambiental. São vários os estudos científicos que buscam relacionar e comprovar o crescimento da poluição ambiental com estes contaminantes (MEFFE; BUSTAMANTE, 2014). Isso se deve, principalmente, aos efeitos deletérios que estas substâncias, quando aplicadas, ocasionam ao ambiente, afetando seres não alvos de controle (LONDRES, 2011). Esta preocupação se estende mesmo após a degradação dos agrotóxicos no ambiente, isso porque, os produtos da degradação de alguns princípios podem ser mais tóxicos e nocivos aos ecossistemas (RICHARDSON; TERNES, 2014).

Quando aplicados, grande parte do princípio ativo atinge o solo e o ar e, com isso, moléculas destas substâncias podem ser carreadas em períodos de precipitação. Consequentemente, estas aportam nos recursos hídricos contaminando as águas superficiais. Uma vez contaminadas, essas águas superficiais estão propensas a propagarem esta contaminação, ocasionando efeitos irreversíveis aos ambientes aquáticos e até mesmo aos seres humanos (TOMLIN, 2000).

Os agrotóxicos podem ser classificados em função do seu grau de toxicologia, grupo químico e finalidade de uso. Quanto ao grau de toxicidade são divididos em: Extremamente tóxico; Altamente tóxicos; Medianamente tóxicos e pouco tóxicos. Quanto à estrutura química, classificam-se em inorgânicos e orgânicos, sendo o segundo grupo dividido em vários outros subgrupos. Os mais utilizados, quanto à classe de orgânicos, são os Organoclorados, Piretróides, Carbamatos e Organofosforados. As principais classes de agrotóxicos, quanto à finalidade de uso, são: Inseticidas (utilizados no controle de insetos); Fungicidas (para controle ou exterminação de fungos) e os Herbicidas (utilizados no combate às plantas indesejáveis) YADAV; DEVI, 2017).

O princípio ativo aldicarbe é utilizado para produção do agrotóxico "Temik 150"®. O produto é de uso exclusivo agrícola e autorizado para as culturas de café, cana-de-açúcar, algodão, citros e feijão. A substância tem como principal finalidade o combate a insetos, nematoides e ácaros. Destaca-se pela sua extrema toxicidade aguda, o que atribui ao ingrediente ativo o título de substância mais tóxica registrada em todo território nacional (ANVISA, 2016). Quimicamente é classificado como carbamato, é altamente solúvel e volátil, não é persistente no solo, é altamente tóxico para os seres humanos e possui baixo potencial de bioacumulação (UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE,2017).

No ambiente, estudos científicos têm demonstrado o potencial de contaminação ambiental do aldicarbe. Jackson; Mutch e Priddle (1990) encontraramaldicarbe em águas subterrâneas provindas da Ilha do Prícipe Eduardo, no Canadá, mesmo após dois anos de aplicação do produto. Castro e colaboradores (2005) analisaram a mobilidade do princípio ativo no solo. Com os resultados dos estudos, constataram que os resíduos do princípio ativo possuem alta mobilidade vertical nos solos estudados, o que atribui ao composto um grande potencial de contaminação de águas subterrâneas. Conhen *et al*., (1995) em seus estudos chegaram a mesma conclusão classificando o principio ativo em questão como tendo um elevado potencial de lixiviação.

Estudos demonstram que o aldicarbe possui grande toxicidade à fauna aquática, sobretudo para a maioria das espécies de peixes. Patrício e colaboradores (2002) testaram a toxicidade do princípio ativo em duas espécies de peixes *BrachydanioRerio* e *Orthospinusfranciscensis*. Constataram que a mortalidade das espécies acontecia em concentrações muito baixas para ambas as espécies (1 $mg.L^{-1}$). Em contrapartida, Rodrigues e colaboradores (2009) analisaram fígados de peixes da espécie *Oreochromisniloticus*, popularmente conhecidas como tilápia, e os resultados do estudo demonstraram a contaminação por aldicarbeem cerca de 13,3% do total de amostras analisadas.

O município de Itumbiara destaca-se por ser um dos mais importantes centros econômicos do estado de Goiás. A região é cercada por uma vasta gama de cultivos como, por exemplo, cana-de-açúcar, milho, soja, algodão, entre outros. Os fatores que levaram a cidade a se sobressair na agricultura foram a boa localização, próxima a

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

grandes centros urbanos o que facilita o escoamento da safra, e a privilegiada localização hidrográfica na Bacia do Rio Paraná, sendo cortada principalmente pelo Rio Paranaíba (CBH, 2014 e IBGE, 2016). Segundo Rodrigues e colaboradores (2016) os carbamatos estão dentre os agrotóxicos utilizados na defesa das monoculturas no município de Itumbiara e região.

De acordo com a ANVISA (2016), a comercialização e uso de produtos formulados à base de aldicarbe estão autorizados somente para os Estados da Bahia, Minas Gerais e São Paulo, para agricultores certificados e propriedades cadastradas pela(s) empresa(s) fabricante(s). Entretanto, na cidade de Itumbiara é onde se encontra a divisa entre os estados de Goiás e Minas Gerais, sendo esses estados separados pelo rio Paranaíba.

A irrigação é o principal uso de água na bacia, vale ressaltar que a bacia apresenta uma grande variedade de culturas irrigadascom diferentes métodos que vão desde o gotejamento até pivô central (CBH, 2014).

O Rio Paranaíba, juntamente com o Rio Grande, é um dos formadores do Rio Paraná. Sua nascente está situada na Serra da Mata da Corda, no município de Rio Paranaíba/MG, possui altitude de cerca de 1.100 m. Percorre aproximadamente 100 km até alcançar o perímetro urbano de Patos de Minas/MG e segue mais cerca de 150 km até tornar-se limítrofe entre os Estados de Goiás e Minas Gerais (CBH, 2014). Nas margens do rio Paranaíba, tanto nas margens goianas quanto mineiras, é comum encontrar áreas utilizadas para agricultura. Mesmo em trechos urbanos, é possível observar plantações agrícolas, em especial o cultivo de cana-de-açúcar, cultura na qual se utilizam os carbamatos.Ademais, o rio Paranaíba possui vários afluentes que cortam toda a região agrícola do município aumentando as chances de ocorrer a contaminação de suas águas superficiais. Este trabalho teve como objetivo verificar, quantitativamente, a presença de contaminaçãoporaldicarbenas águas superficiais do rio Paranaíba, no município de Itumbiara/GO, bem como realizar um estudo teórico sobre o rio.

PARTE EXPERIMENTAL:

2.1. Pontos de coleta

Para definição dos pontos de coleta de amostras de água do rio Paranaíba, foi realizado um estudo teórico sobre o rio, denominado área de estudo.As coletas das amostras de águassuperficiais do rio Paranaíba foram realizadas dentro do perímetro urbano domunicípio de Itumbiara-GO. Foram delimitados 4 pontos de coletas,os mesmos foram determinados em função da verificação em loco da presença de cultivos de cana-de-açúcar próximos ao rio.

Na Figura 1 são apresentados os 4 pontos de coleta.

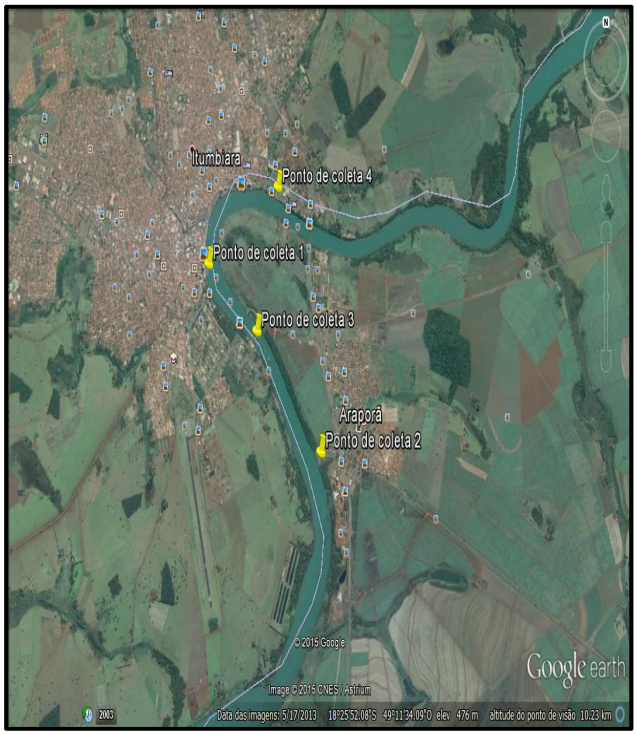


Figura 1: *Pontos de coleta, Rio Paranaíba perímetro urbano de Itumbiara.*
Fonte: EARTH (2015)

Ponto 1 (18º25'19.95''S – 49º12'46.60''O): Este ponto margeia parte do perímetro urbano da cidade. A montante deste ponto (logo acima ao ponto de coleta) o rio recebe águas de pequenos córregos que antes de chegarem ao rio atravessam diversos tipos de terrenos os quais estão ocupados por diferentes tipos de cultura. Assim sendo, este ponto de coleta foi escolhido a fim de verificar se tais cursos d'agua estariam servindo como meio de transporte do aldicarbe para as águas do Rio Paranaíba.

Ponto 2 (18º26'24.59''S – 49º11'34.56''O):A segunda amostra foi coletada proxima a plantações de cana-de-açúcar. Foi verificado que os canaviais foram plantados

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

paralelamente às margens do rio, tendo como barreira entre as águas e a plantação, apenas a mata ciliar. Como dito anteriormente segundo a ANVISA o aldicarbe é recomendao para esta cultura. Desta maneira, este ponto foi selecionado com o intuito de verificar a possível relação entre a ocorrência de aldicarbe e o cultivo de cana-de-açúcar próximo ao Rio Paranaíba.

Ponto 3 (18º25'43.66"S – 49º12'15.45"O):O terceiro ponto amostral tem como principal característica a ocorrência de uma faixa de areia a qual serve como atrativo para o lazer náutico. O local é bastante visitado por banhistas e praticante de esportes aquáticos. É sabido que a dose letal de aldicarbe para os seres humanos é muito baixa.

Ponto 4 (18º24'52.00"S – 49º12'02.94"O):O ponto 4 de coleta foi selecionado pelo mesmo motivo do ponto 1. A montante do ponto de coleta o Rio Paranaíba recebe um importante afluente. À vista disso este ponto foi escolhido para verificar a interferência deste afluente nos níveis de aldicarbe no rio.

Em cada ponto delimitado, foram coletadas três amostras de águas superficiais.As amostras foram coletadas em frascos de vidro, sendo os recipientes previamente higienizados, enxaguados com água de torneira e destilada e rinsados por 2 vezes com a própria amostra na hora da coleta. Os frascos foram identificados e conservados em caixa de isopor com gelo, enviados ao laboratório e mantidos sob refrigeração a 4 °C, até o momento da análise, que foi aproximadamente 24 h após a coleta.

2.2. Curva analítica

A quantificação do aldicarbe nas amostras de água foi realizada pelo método da padronização externa utilizando padrão analítico de aldicarbe. Uma solução padrão estoque na concentração de 1000,0 mg L^{-1} de aldicarbe foi preparada em acetonitrila (grau HPLC) e armazenada em freezer. A partir da diluição da solução estoque, obteve-se uma solução padrão de trabalho na concentração de 5 mg L^{-1}e, posteriormente, esta solução de trabalho foi diluída a fim de se obter as concentrações de 2 mg L^{-1}, 1 mg L^{-1}, 0,5 mg L^{-1}e 0,1 mg L^{-1}.

2.3. Extração de aldicarbe nas amostras de água

Nos ensaios experimentais foi utilizada ométodo de Extração Líquido-Líquido com Partição à Baixa Temperatura (ELL-PBT) proposta por Goulart e colaboradores (2010), com modificações. Esse método de extração foi otimizado e validado para análise de carbamatos (aldicarbe, carbofurano e carbaril) em água. O método consistiu em acrescentar em 2,00 mL de amostra de água, 1,5% de NaCl e 4,00 mL deacetonitrila. Em seguida, o sistema foi agitado por 30 segundos em agitador de tubo vórtex. Para a partição à baixa temperatura as matrizes foram colocadas em freezer a -20 ºC por um período de 3 horas. Posteriormente 1 mL do extrato orgânico foi retirado e levado para análise cromatográfica.

2.4. Condições cromatográficas

Para a quantificação doaldicarbe nas matrizes, foi utilizado um cromatógrafo líquido LC-20AT, Shimadzu equipado com um detector UV/VIS Shimadzu SPD 20A, forno da coluna, Shimadzu CTO 10ASVP, injetor automático Shimadzu SIL 10AF; sistema de integração LabSolutions da Shimadzu. As condições cromatográficas utilizadas foram: Coluna Kinetex 5 µm EVO C 18 - 150 X 4,6 mm; Fase móvel (modo isocrático), água deionizada: acetonitrila 50:50 v:v; Fluxo da fase móvel 0,8 $mL.min^{-1}$; Tempo de corrida 5 minutos; Detector ultravioleta a 195 nm; Pressão da bomba 67 kgf e Temperatura do forno da coluna 35 °C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

3.1. Área de estudo

Os locais de coleta estão situados dentro da bacia hidrográfica do Rio Paranaíba. A ocupação da bacia do Rio Paranaíba iniciou-se com a mineração de ouro. Com o declínio da mineração a partir dos anos 70, a região passou a depender da agricultura e da pecuária de subsistência. A partir da década de 50, é iniciada a produção de café na região de Araguari e a instalação de empreendimentos de maior porte econômico. No final da década de 90, ocorre o ingresso da agricultura irrigada e a grande expansão do cultivo de cana-de-açúcar, confirmando a vocação agroindustrial da bacia. Esta bacia é a segunda maior unidade da Região Hidrográfica do Paraná, ocupando 25,4% de sua

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

área. Posicionada na região central do Brasil, ocupa cerca de 2,6% do território nacional e inclui os estados de Goiás (63,3%), Mato Grosso do Sul (3,4%) e Minas Gerais (31,7%), além do Distrito Federal (1,6%) (CBH, 2014).

O uso agrícola na bacia está relacionado, principalmente, aos cultivos de soja, café, milho e feijão e, especialmente, a cana-de-açúcar (cultura esta utilizada para a produção de álcool e açúcar que se expandiu fortemente na bacia). Segundo a Produção Agrícola Municipal alguns municípios da região central da bacia produzem tanto cana-de-açúcar quanto soja em grande escala, ou seja, com mais de 10.000 ha colhidos. A irrigação é o principal uso de água na bacia, vale ressaltar que a bacia apresenta uma grande variedade de culturas irrigadas, tais como cana-de-açúcar, café e milho, com diferentes métodos que vão desde o gotejamento até pivô central (CBH, 2014).

A Figura 2 apresenta informações sobre a hidrografia e os limites territoriais da bacia hidrográfica do Rio Paranaíba.

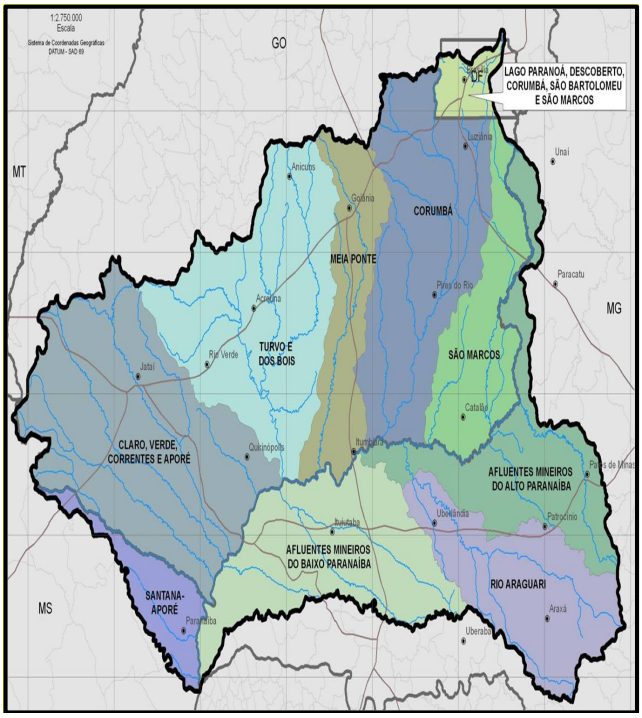


Figura 2:*Bacia Hidrográfica do Rio Paranaíba.* Fonte: Agência Nacional de águas (2015).

3.2. Curva analítica

Na Figura 3 é apresentada a curva analítica obtida a partir de soluções do padrão de aldicarbe em diferentes concentrações.

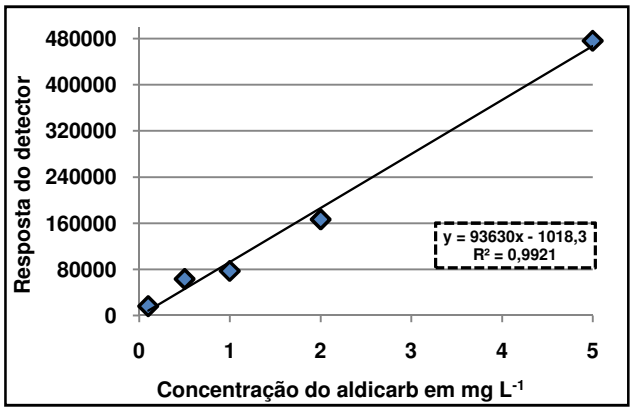


Figura 3: *Curva analítica do padrão aldicarbe em diferentes concentrações.*

Como visto na Figura 3, a curva analítica apresentou coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,9921o que demonstra a linearidade das respostas do detector na faixa de concentração estudada. Segundo (ANVISA, 2003) quanto mais próximo de 1 é o coeficiente de determinação melhor será o ajustamento dos dados e mais explicativo será o modelo.

3.3. Análise cromatográfica

Para verificação do tempo de retenção do aldicarbe foi injetado uma solução do padrão de aldicarbe, em acetonitrila, a 5 mgL^{-1}. Como visto na Figura 4, as condições cromatográficas foram eficientes para análise do princípio ativo apontando tempo de retenção de 2,475 minutos.

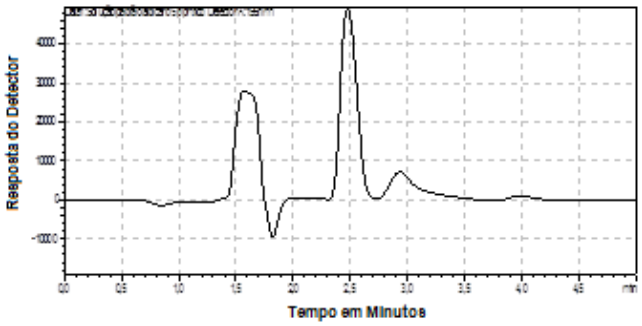


Figura 4:*Cromatograma solução padrão de aldicarbe a 5 mg* L^{-1}

3.4. Análise de aldicarbe em águas superficiais do Rio Paranaíba usando a ELL-PBT

Em cada ponto delimitado, foram coletadas três amostras de águas superficiais, e as análises de cada amostra realizadas em triplicata utilizando a ELL-PBT. Os

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

cromatogramas obtidos com os extratos de cada ponto analisado podem ser vistos na Figura 5.

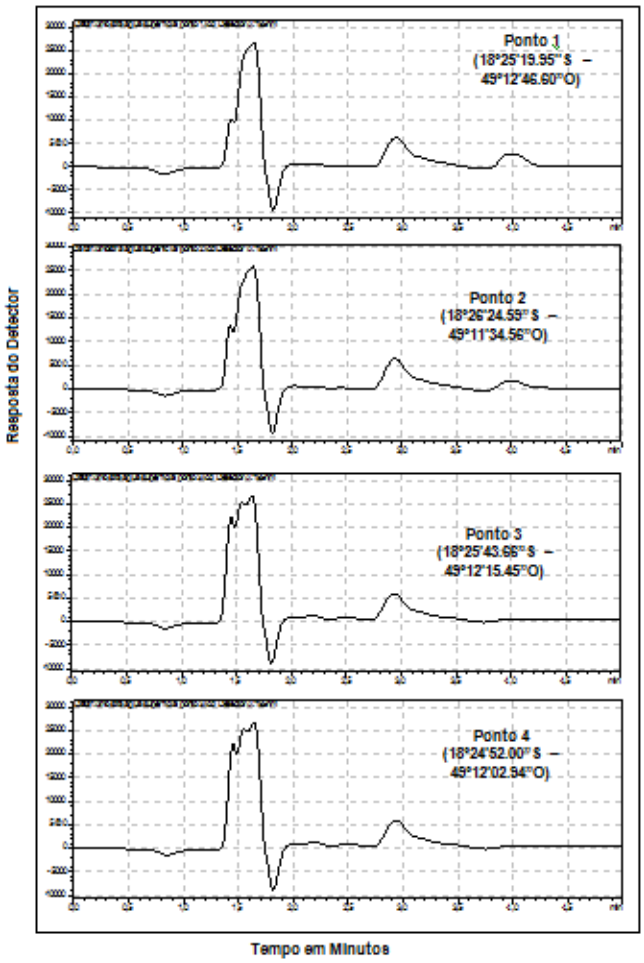


Figura 5:*Cromatogramasobtidos a partir da ELL-PBT nas amostras de águas superficiaisprovenientes do Rio Paranaíba.*

Como pôde ser observado nos 4 cromatogramas dispostos na Figura 5, não houve a presença de picos no tempo de retenção do aldicarbe 2, 475 minutos. Esta observação indica que, nas condições de análises estabelecidas, não foi verificada a presença de resíduos de aldicarbe nos quatro pontos analisados. De acordo com Goulart e colaboradores (2010) o limite de detecção para aldicarbe utilizando o método de extração ELL-PBT e análise por HPLC-UV é 10,0 μg L^{-1}, isso significa que em concentrações inferiores a esse valor, não há possibilidade de detecção de aldicarbe nas amostras.

O método de extração do aldicarbe nas amostras de água superficial foi a ELL-PBT desenvolvida por Goulart e colaboradores (2010). A purificação de extratos por meio da partição a baixa temperatura vem sendo utilizada para determinação de uma vasta gama de agrotóxicos em diferentes tipos de amostras como, por exemplo, a determinação de clorpirifos, λ-cihalotrina, cipermetrina e deltametrina em matrizes de mel (PINHO *et al.*, 2010); Carbamatos, inclusive aldicarbe, em bebidas como suco de uva e leite achocolatado por Goulart et al. (2012); Bifenilaspolicloradas em lodo de esgoto (MAIA *et al.*, 2017); Determinação simultânea de 9 agrotóxicos em matrizes de alface (COSTA *et al.*, 2015). Além de muito utilizada, a técnica apresenta praticidade e pouco consumo de solvente extrator e amostras, sendo ambientalmente menos poluente se comparada às demais técnicas de extração de agrotóxicos.

No Brasil não há parâmetro para a presença de aldicarbe em águas superficiais. Para o carbamatocarbaril, a concentração máxima em água, estabelecida pelo CONAMA é igual a 0,02 μg L^{-1} e 70,0 μg L^{-1} para as Classes I e III, respectivamente.

É importante evidenciar que em todos os cromatogramas das amostras de água superficiais analisadas, foram verificados a presença de outros picos em tempos de retenção diferentes do agrotóxico aldicarbe. Os picos encontrados podem ser indícios de que as amostras estudadas podem conter a presença de outros princípios ativos.

Atualmente, o aldicarbe, apesar da sua extrema toxicidade, continua como ingrediente ativo autorizado em culturas específicas, entretanto, a ANVISA publicou uma nota técnica intitulada “Nota técnica da reavaliação do ingrediente ativo aldicarbe” para reavaliação da utilização do aldicarbe uma vez que esse ingredientetem uso irregular e indiscriminado no país como raticida, agente abortivo e ainda em tentativas de homicídio e de suicídio, acarretando um grave problema de saúde pública, devido ao fácil acesso nos centros urbanos. Ainda nesse documento, outro carbamato, o carbofurano, é citado em usos indiscriminados e indevidos.

Esta pesquisa demonstra a relevância e a necessidade de novos estudos, que tenham como objetivo, verificar a contaminação das águas superficiais do Rio Paranaíba por agrotóxicos que são utilizados na agricultura da região.

CONCLUSÕES:

Nas condições de análise experimentais deste trabalho, pode-se concluir que não foram encontrados níveis de aldicarbe nas amostras de

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

água coletadas em quatro pontos de amostragem do Rio Paranaíba. Pesquisas a respeito do Rio Paranaíba são escassas e indicam necessidade de novos estudos analíticos sobre a presença de poluentes nesse manancial. Esse trabalho é uma possibilidade para delinear novas categorias de análise em trabalhos futuros e indicará pontos específicos para análises mais aprofundadas no Rio Paranaíba.

AGRADECIMENTOS:

Ao Instituto Federal de Goiás – Câmpus Itumbiara, ao Programa de Educacão Tutorial ("PET Quimica: Educacão, Ambiente e Sociedade"), ao NUPEQUI e ao MEC/FNDE pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS:

1. ANA. Agencia Nacional de Águas. http://www2.snirh.gov.br/home/webmap/viewer. html?webmap= 12001 b0c557648399f5f6963e81176b8, acesso em junho 2016.

2. BRASIL. ANVISA, Agência nacional de vigilância sanitária. http://portal.anvisa.gov.br/wps/ wcm/connect/5c720f80474591b499c8dd3fbc4c6735/aldicarbe.pdf?MOD=AJPERES, acesso em maio 2016.

3. BRASIL. ANVISA, Agência nacional de vigilância sanitária. Nota técnica da reavaliação do ingrediente ativo aldicarbe. http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117797/aldicarbe.pdf/1e2e3d0b-cfe5-4d5c-ad4d-f3bc58dca316?version=1.0, acesso em abril de 2017.

4. BRASIL. ANVISA. RE nº 899, de 29/05/2003: Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos.

5. CBH Paranaíba – Comitê da bacia hidrográfica do Rio Paranaíba. http://cbhparanaiba.org.br/a-bacia/regioes-hidrograficas, acesso em junho de 2016.

6. Castro, N. R. A; Rigitano, R. L. O.; Lima, J. M.; Bastos, C. J. Pesquisa agropecuária brasileira, v.40, n.8, p.803-810.

7. CONAMA - Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente-Resolução No. 357 de 17 de março de 2005 Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf> Acesso em: 25/04/2017.

8. Costa, A. I. G.; Queiroz, M. E. L. R.; Neves, A. A.; Souza, F. A.; Zambolim, L. FoodChemistry (2015), doi: 10.1016/j.foodchem.2015.02.070.

9. Cohen, S. Z.; Wauchope, R. D.; Klein, A. W.; Eadsforth, C. V.; Graney, R. International Union of Pure and Applied Chemistry. 1995, v. 67, n. 12, p. 2109-2148.

10. Goulart, S. M.; Alves, R. D.; Neves, A. A.; Queiroz, J. H.; Assis, T. C.; Queiroz, M. E. L. de. AnalyticaChimica Acta, 2010, v. 671, p. 41-47.

11. Goulart, S. M.; Alves, R. D.; De Paula, W.X.; Queiroz, J.H.; Neves, A.A.; Queiroz, M.E.L.R.Journal of the Brazilian Chemical Society, 2012, v. 23, n. 6, p. 1154-1165.

12. IBAMA/MMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente http://www.ibama.gov.br/areas-tematicas-qa/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos/pagina-3, acesso em maio 2016.

13. IBGE, Cidades. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. http://cidades. ibge.gov.br/xtras/perfil. php?codmun=521150, acesso em maio 2016.

14. Jackson, R.E; Mutch, J.P; Priddle, M.W. Journal of Contaminant Hydrology. 1990, v. 6, p. 21-35, 1990.

15. Londres, F. Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida.2011, 190 p, ISBN 978-85-87116-15-4.

16. Meffe, R., de Bustamante, I. Science of The Total Environment (2014),doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.02.053.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

17. Maia, M.R.; Arcanjo, A.L.P.; Pinho, G.P.; Silvério, F.O. Journal of the Brazilian Chemical Society, 2017, v. 28, n. 1, p. 179-186.

18. Patrício, F. C.; Rigitano, R. L. O.; Gouvêa, A. V.; Franco, A. A. Ciência eagrotecnologia. 2002, v.26, n.2, p.385-391.

19. Pinho, G.P; Neves, A.A; Queiroz, M.E.L.R; Sivério, F.O. FoodControl (2010), doi:http://dx.doi.org/10.1016/j. foodcont.2010.03.006

20. Rodrigues, M. S. M.; Arruda, C. A. C.; Netto, D. P.; Tajiri, A. N. Semina: Ciências Agrárias, Londrina. 2009, v. 30, n. 4, p. 907-914.

21. Rodrigues, V. C.; Goulart, S. M.; Santos, J. P. V.; Ribeiro Filho, H. A.;Castro, L. M.; Bernadeli, A. A.; Gomes, T. C. F. Sinergia. 2016, v. 17, n. 1, p. 56-62.

22. Richardson, S.D., Ternes, T.A., 2014. Analytical Chemistry (2014), doi:http://dx.doi.org/10.1021/ac500508t.

23. Tomlin, C. D. S. The pesticide manual. 11th ed. Farnham, Surrey, UK: British Crop Protection Council, 2000. USEPA - United States Environmental Protection Agency. Pesticides Fact Sheet. 24p.

24. University of Hertfordshire, http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/19.htm, acessoemfevereirode 2017.

25. Yadav, I.C.; Devi, N. L. Pesticides Classification and Its Impact on Human and Environment. In book, Environmental Science and engineering, Environmental Science & Engineering. Edition: Vol. 6: Toxicology, 2017, cap. 7.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICAS DE MÉIS DE ABELHAS DE ALGUNS MUNICÍPIOS DO ESTADO DE RORAIMA

PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERIZATION OF HONEY BEES OF SOME MUNICIPALITIES OF STATE RORAIMA

FARIAS, Leovergildo Rodrigues[1]*; MENDES, Teresa Maria Fernandes de Freitas[2]; PANERO, Francisco dos Santos[3]; SATELLES, José Lopes[4]

[1]Instituto Federal de Roraima, Departamento de Ensino de Graduação, Av Glaycon de Paiva, 2496, cep 69303-340, Boa Vista – RR, Brasil.
(fone: +55 95 3621 8000; fax: +55 95 36218000)

[2,3]Universidade Federal de Roraima, Departamento de Química, Av Capitão Ene Garcês, 2413, cep 69310-000, Boa Vista – RR, Brasil.
(fone: +55 95 3621 3100; fax: +55 95 3621 3100)

[4]Centro de Hematologia e Hemoterapia de Roraima, Gestão de Resíduos Sólidos, Av Brigadeiro Eduardo Gomes, 3418, cep 69304-015, Boa Vista – RR, Brasil.
(fone: +55 9536231996; fax: +55 95 2121 0861)

** Autor correspondente*
e-mail: leo.farias@ifrr.edu.br

Received 23 July 2017; received in revised form 05 September 2017; accepted 15 September 2017

RESUMO

Este estudo teve como objetivo caracterizar, através dos parâmetros físico-químicos: pH, densidade, índice de refração, umidade, acidez total, condutividade elétrica, teste de Lund e cinzas, 20 amostras de méis de abelhas procedentes de alguns municípios do Estado de Roraima: Cantá, Caroebe, São Luís do Anauá, Pacaraima e Vila Moderna. Os resultados revelaram que 45 % do total de amostras estudadas apresentaram valores de umidade e acidez acima dos limites estabelecidos pelas normas. Sabe-se que estes parâmetros estão relacionados ao grau de maturidade, processamento, condições de armazenamento, adulteração e frescor destes méis. Quanto aos 55 % das amostras restantes, essas apresentaram resultados dentro dos limites estabelecidos pelas normas brasileiras, no entanto, faz-se necessário a determinação dos demais parâmetros exigidos pela legislação para inferir sobre a qualidade dos méis produzidos e comercializados em Roraima. De um modo geral, os resultados obtidos apresentam novas informações sobre os parâmetros que definem a qualidade do mel de abelhas do Estado de Roraima.

Palavras-chave:*Mel de abelhas, Roraima, Parâmetros físico-químicos*

ABSTRACT

The objective of this study was to characterize, through the physical-chemical parameters: pH, density, refractive index, moisture, total acidity, electrical conductivity, Lund test and ash, 20 honey bee samples from some municipalities in the State of Roraima : Cantá, Caroebe, São Luís do Anauá, Pacaraima and Vila Moderna. The results showed that 45% of the total samples studied presented values of moisture and acidity above the limits established by the standards. It is known that these parameters are related to the degree of maturity, processing, conditions of storage, adulteration and freshness of these honeys. As for the 55% of the remaining samples, these presented results within the limits established by the Brazilian standards, however, it is necessary to determine the other parameters required by the legislation to infer about the quality of the honeys produced and marketed in Roraima. In general, the results obtained present new information on the parameters that define the honey quality of bees in the State of Roraima.

Keywords: *Bee honey, Roraima, Physico-chemical parameters.*.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

O mel de abelhas é definido pelas normas de qualidade como um produto alimentício produzido por abelhas melíferas a partir do néctar de flores (floral) ou de secreções procedentes de partes vivas de plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas (melato) que ficam sobre as partes vivas das plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias e deixam maturar nos favos da colmeia (BRASIL, 2000).

Através dos tempos, o mel de abelhas sempre foi considerado um produto especial, sendo utilizado pelo homem desde tempos remotos. Evidências de seu uso pelo ser humano aparecem desde a pré-história, com inúmeras referências em pinturas rupestres e em manuscritos e ainda em pinturas do antigo Egito, Grécia e Roma (EMBRAPA, 2006).

A utilização do mel de abelhas na nutrição humana não é limitada apenas a sua característica adoçante, como excelente substituto do açúcar, mas também como coadjuvante terapêutico, altamente calórico e por apresentar em sua composição inúmeras substâncias benéficas ao equilíbrio dos processos biológicos de nosso corpo (MENDES, 2003).

A composição química do mel de abelhas é, essencialmente, uma mistura complexa, do qual os principais componentes são os açúcares, onde os monossacarídeos frutose e glicose perfazem cerca de 70 %; dissacarídeos, incluindo sacarose, somam cerca de 10 % e a água de 17-15 %. Seu aroma, paladar, coloração, viscosidade e propriedades medicinais estão diretamente relacionados com a fonte de néctar que o originou e também com a espécie de abelha que o produziu (BARTH *et al*., 2005)..

Devido a uma variedade em sua flora, uma extensão territorial enorme e uma variabilidade climática marcante, o Brasil apresenta grande potencial apícola, o que possibilita a produção de mel de abelhas o ano todo (ARRUDA et al., 2004).

As abelhas pertencem ao Filo: Arthropoda, Classe: Insecta, Subclasse: Pterygota, Ordem: Hymenoptera, Subordem: Apócrita, Superfamília: Apoidea, Família: Apidae (ITAGIBA, 1997).

A criação racional de abelhas, denominada de apicultura, constitui-se em uma atividade em que se conseguem obter bons resultados econômicos, ecológicos e sociais. Essa atividade, desenvolvida ao longo do tempo por pequenos e médios apicultores, vem despertando o interesse de muitos criadores e instituições do Brasil.

Pela sua natureza, a apicultura é uma atividade conservadora das espécies, sendo uma das poucas atividades agropecuárias que preenche todos os requisitos do tripé da autosustentabilidade: (1) o econômico, pois gera renda para o apicultor; (2) o social, pois ocupa mão-de-obra familiar no campo; (3) o ecológico, porque não precisa desmatar para criar abelhas.

Apesar da importância das abelhas em diferentes ecossistemas, as mudanças causadas por atividades antrópicas têm proporcionado alterações nas condições do seu habitat, comprometendo a diversidade devido a destruição de locais usados para nidificação, redução na disponibilidade dos recursos tróficos e eliminação de colônias naturais (ALMEIDA, 2002).

Em Roraima, destaca-se a Apicultura Integrada e Sustentável (APIS) que é um projeto destinado a atender grupos organizados de pequenos apicultores. Estima-se que exista uma produção anual de aproximadamente 300 toneladas de mel de abelhas no Estado (SEBRAE, 2006). Essa apicultura desenvolvida no Estado de Roraima é uma atividade bastante promissora, uma vez que este apresenta uma grande variedade de espécies vegetais, primarias e secundárias, clima com as estações secas e úmidas bem definidas. Dessa forma há uma maior concentração de florada, logo após o período de chuvas, grandemente favoráveis à produção de mel (SEBRAE, 2004). O mel produzido em Roraima é um mel silvestre de excelente qualidade. Existem em atividade 04 associações: associação de Apicultores de são Luiz do Anauá, Mucajaí, Boa Vista e Cantá (RORAIMA, 2006).

O mel de abelhas é um produto muito apreciado, no entanto, de fácil adulteração com açúcares ou xaropes. Desta forma, é necessário que sejam feitas algumas determinações físico-químicas para avaliação de sua qualidade e/ou autenticidade para que seja comercializado e consumido com segurança.

Diversos parâmetros físico-químicos vêm

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

sendo utilizados na caracterização do mel. Trata-se de um alimento complexo do ponto de vista químico e biológico, sendo considerado um bioindicador ambiental (solo, água e ar) em uma área de aproximadamente 7 km2. Isto é, sua composição varia de acordo com a sua origem floral, origem geográfica, condições climáticas em que foram produzidos, processamento e armazenamento em que foi submetido (MENDES, 2003).

Apesar da grande diversidade floral, clima definido e o aumento da produção comercial de mel de abelhas em Roraima, poucos estudos foram desenvolvidos com essa matriz onde não foram encontrados na literatura dados das suas características físico-químicas. Além disso, apicultores e principalmente consumidores têm demonstrado grande preocupação com a qualidade e com as constantes adulterações de mel de abelhas.

Sendo assim, o trabalho em tela teve como objetivo geral caracterizar através de alguns parâmetros físico-químicos as amostras de méis de abelhas procedentes dos municípios de Cantá, Caroebe, São Luis do Anauá, Pacaraima e Vila Moderna do Estado de Roraima.

MATERIAL E MÉTODOS

Materiais e Equipamentos

Todos os reagentes utilizados neste estudo foram de grau de pureza analítica e a água utilizada foi a desionizada e ultra purificada em um sistema master de um ultrapurificador GEHAKA, apresentando 0,5µS.

Todos os materiais utilizados (vidros e plásticos) foram previamente deixados em banho de HNO_3 a 10 % v/v por 24 h, no mínimo, enxaguados com água desionizada, secos, e aferidos quando necessário antes de sua utilização.

Os equipamentos utilizados foram previamente calibrados, de acordo com as recomendações dadas pelo fabricante

Coleta

O total de amostras de méis de abelhas estudadas foi 20 (Figura 1), em que algumas foram adquiridas diretamente de apicultores e outras através de doação do Museu Integrado de Roraima. As amostras foram procedentes de vários municípios de Roraima. Após a aquisição foram etiquetadas com as informações do local de origem, época da coleta e devidamente acondicionadas.

Figura 1.*Amostras de méis coletadas*

Materiais e Equipamentos

Os parâmetros físico-químicos determinados neste estudo foram: pH, índice de refração, umidade, acidez total, condutividade elétrica, cinzas, teste de Lund e densidade.

As determinações físico-químicas dos méis de abelhas foram realizadas no Laboratório de Grãos e no Laboratório de Físico-química, ambos do Departamento de Química da Universidade Federal de Roraima. As determinações foram feitas conforme metodologias descritas no IAL (1985).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados médios obtidos com os seus respectivos desvios padrão relativos na caracterização físico-química das 20 amostras de mel de abelhas procedentes dos municípios do Estado de Roraima, são apresentados na Tabela 1.

De acordo com a Tabela 1, os resultados médios para os resíduos minerais, cinzas, variaram de 0,15 % a 0,65 %. Para este parâmetro, o valor máximo estabelecido pelas normas nacionais não deve ultrapassar 0,6 % com uma tolerância de 1 % m/m para méis poliflorais. Deste modo, os resultados obtidos estão em conformidade com o exigido pelas normas nacionais, os quais estão próximos aos observados por Rodrigues *et al*. (2004), Arruda *et al*. (2004); Possamai (2005) e Araújo *et al.* (2006).

Os resultados obtidos para o teste de

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Lund indicaram que as amostras de méis de abelhas estudadas não estavam adulteradas. Isto é, os resultados obtidos apresentaram valores entre 0,9 a 2,2 mL de precipitado. Entretanto, apesar de ser uma exigência das normas a verificação deste teste, seu resultado é apenas um indicativo, visto que para ser feita uma estimativa sobre qualidade de méis e sua adulteração é necessário observar todas as características exigidas pelas normas reguladoras. Pelo motivo exposto e , também, por motivos de natureza técnica, este parâmetro não foi determinado em triplicata.

Quanto aos valores obtidos para acidez, as amostras estudadas variaram de 19,4 a 62,1 meq kg^{-1}. Apenas as amostras 5 e 7 apresentam acidez acima do valor estabelecido pelas normas que é de 50 meq kg^{-1}. Contudo, os resultados obtidos neste estudo estão em consonância com valores encontrados por outros pesquisadores de méis nacionais que obtiveram valores de acidez entre 8,81 a 52,66 meq kg^{-1}(RODRIGUES*et al.,*2005); (ARRUDA *et al.*, 2004); (POSSAMAI, 2005); (MARCHINI, 2005); (ALMEIDA, 2002); (AZEREDO*et al.*, 1999); (PAMPLONA*et al.*, 2004)

De acordo com as normas, a umidade não deve ultrapassar 20 %. No entanto, as amostras 6, 8, 9, 12, 14, 17 e 18, o correspondente a 35 % do total de amostras estudadas apresentaram teor de umidade acima do limite estabelecido pelas normas. Sabe-se que a umidade esta relacionada ao grau de maturidade e processamento do mel. Entretanto, nada se pode afirmar sobre os valores obtidos, uma vez que tais amostras foram doadas, tendo-se apenas o conhecimento do local e período de sua coleta; neste contexto, as amostras 12 e 18 foram coletadas em período de chuvas, em que a umidade relativa do ar atinge valores altos na região.

Segundo Possamai (2005), a densidade média do mel de abelhas a uma temperatura de 20 ºC é aproximadamente de 1,40 g cm^{-3}. Sendo assim, os resultados encontrados neste estudo estão próximos a esta média.

Embora as normas nacionais não estabeleçam limite para condutividade elétrica, a faixa de valores encontrada para este parâmetro está dentro do intervalo encontrado por alguns pesquisadores (ALMEIDA, 2002); (MARCHINI, 2004); (ARRUDA, 2004); (MARCHINI, 2005).

A Tabela 2 apresenta uma comparação entre as faixas dos valores dos parâmetros analisados neste estudo com as faixas de resultados obtidos por outros pesquisadores para amostras de mel de abelhas procedentes de diferentes regiões do Brasil.

De modo geral, as amostras 5, 6, 7, 8, 9, 12, 14, 17 e 18 não atenderam aos limites dos parâmetros de umidade e acidez estabelecidos pelas normas nacionais vigentes, perfazendo um total de 45 % do total de amostras estudadas. Embora a acidez esteja relacionada ao grau de adulteração, frescor e condições de armazenamento e a umidade esteja relacionada com o grau de maturidade e processamento de méis de abelhas, não se pode justificar os valores obtidos uma vez que se tem conhecimento apenas do local e período da coleta das amostras.

Do total de amostras estudadas, 55 % estão em conformidade com os limites estabelecidos pelas normas nacionais vigentes. Entretanto, não é possível fazer uma avaliação conclusiva sobre a qualidade ou adulteração destas amostras, sendo para isto necessário observar todas as características exigidas pelas normas reguladoras de qualidade

CONCLUSÕES

Através da caracterização físico-química das amostras estudadas pode-se concluir:Os parâmetros estudados se mostraram úteis como padrões de comparação com amostras de mel de abelhas procedentes de outras regiões, cujas faixas estão próximas aos valores encontrados na literatura.As faixas de valores obtidas para os parâmetros avaliados estão próximas das encontradas por outros pesquisadores de méis nacionais

Diante dos resultados obtidos verifica-se a necessidadde de averiguações por meio dos órgãos fiscalizadores, quanto a qualidade dos méis de abelhas comercializados no Estado de Roraima para que seja oferecido o critério de escolha ao consumidor.

De um modo geral, os resultados obtidos apresentam novas informações sobre os parâmetros que definem a qualidade do mel de abelhas do Estado de Roraima que, eventualmente, poderão ser úteis para formação de sua base de dados.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

AGRADECIMENTOS

Ao Museu Integrado de Roraima pelas doações das amostras de méis de abelhas.

REFERÊNCIAS

1. ALMEIDA, D. **Espécie de abelhas (hymenoptera, apoidea) e tipificação dos méis por elas produzidos em área de cerrado do município de Pirassununga, Estado de São Paulo.** Piracicaba-SP, 2002. Dissertação de mestrado apresentada a Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

2. ALVES, R. G. O.; CARVALHO, C. A. L.; SOUZA, B. A.; SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L. C. Caracterização físico-química de amostra de mel de *Melípona Mandacaia smith* (Hymenoptera: apidae). **Ciência e tecnologia de Alimento**, v. 25, n. 4, dez. 2005.

3. ARAÚJO, D. R.; SILVA, R. H. D.; SOUSA, J. S. Avaliação da qualidade físico-química do mel comercializado na cidade de Crato-CE. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 6, n.1, 2006.

4. ARRUDA, C. M. F.; MARCHINI, L. C.; SODRÉ, G. S.; MORETI, A. C. C. C. Características físico-químicas de amostras de méis de Apis Mellífera L., 1758 (Hymenoptera, Apidae) da região da chapada do Araripe, município de Santana do Cariri, estado do Ceará. B. Industria animal., **N. Odessa**, São Paulo, v. 61, n. 2, p. 141-150, dez 2004.

5. AZEREDO, M. A. A.; AZEREDO, L. C.; DAMASCENO, J. G. Características físico-químicas dos méis do município de São Fidelis-RJ. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 19, n. 1, jan. 1999.

6. BARTH, M. O.; MAIORINO, C.; BENATTI, A. P. T.; BASTOS, D. H. M. Determinação de parâmetros físico-químicos e da origem botânica de méis indicados monoflorais do sudeste do Brasil. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 25, n. 2, jun. 2005.

7. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA. **Resolução-CNNPA nº 12, de 1978.** Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_78_mel.htm. Acesso em 24 mar. 2006.

8. BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. Disponível em: http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/imagem?cod_Arquivo=1690 Acesso em 24 mar. 2006.

9. EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Sistemas de Produção. Teresina: 2006. 138 p. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/80709/1/sistemaproducao-3.PDF>. Acesso 24 mar. 2006.

10. IAL - NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos.** 3a ed. v.1. São Paulo, Instituto Adolfo Lutz, 1985.

11. ITAGIBA, M. G. O. R. **Noções básicas sobre a criação de abelhas**. São Paulo. Nobel, 1997. 110 p.

12. MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. C. C.; OTSUK, I. P. Análise de agrupamento, com base na composição físico-química, de amostras de méis produzidos por Apis Mellífera L. no estado de São Paulo. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 25, n. 1, mar. 2005.

13. MARCHINI, L. C.; SODRÉ, G. S.; MORETI, A. C. C. C.; OTSUK, I. P. Composição físico-química de amostras de méis de Apis Mellífera L. do estado de Tocantins, Brasil. B. **Industria animal**., N. Odessa, São Paulo, v. 61, n. 2, p. 101-114, dez 2004.

14. MENDES, T. M. F. F. **Determinação de espécie metálicas em mel de abelhas por ICP OES.** Campinas, 2003. Tese de doutorado apresentada a Universidade Estadual de Campinas.

15. PAMPLONA, L. C.; AZEDO, R. A. B.; OLIVEIRA, K. C. L. S.; AMOEDO, L. H.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

G.; MURADIAN, L. B. A. Análise físico-químicas indicadas para o controle de qualidade mel com geléia real. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 24, n. 4, dez. 2004.

16. POSSAMAI, T. N. **Caracterização Física, Química e microbiológica do mel de mesa do município de Piraquara da região metropolitana de Curitiba, Paraná**. Curitiba, 2005. Dissertação de mestrado apresentada a Universidade Federal do Paraná.

17. RODRIGUES, A. E.; SILVA, E. M. S.; BESERRA, E. M. F. Análise físico-química de méis das abelhas Apis Mellífera L. e Melípona Scutellaris. **Ciências Rural**, v. 35, n. 5, out. 2005.

18. RORAIMA – Portal do governo do Estado de Roraima. Apicultura em Roraima. Disponível em: http://www.portalroraima.rr.gov.br. Acesso em 22 ago. 2006.

19. SEBRAE – Serviço Brasileiro de Apoio a Micro e Pequenas Empresas.O SEBRAE Roraima. Disponível em: http://www.rr.sebrae.com.br/osebrae/default.asp. Acesso em: 20 de jul. 2006.

20. SEBRAE – Serviço Brasileiro de Apoio a Micro e Pequenas Empresas. Informações de mercado sobre mel e derivado da colméia relatório completo. Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/br/download/relatorio_mel.pdf#search=%22Informa%C3%A7%C3%B5es%20de%20mercado%20sobre%20mel%20e%20derivado%20da%20colm%C3%A9ia%20relat%C3%B3rio%20completo.%22>Acesso em: 27 jun. 2006.

21. VILHENA, F.; ALMEIDA, L. B. M. Análises fisico-químicas de méis de São Paulo. **Mensagem doce**, v.53, p. 17-19, 1999.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

TABELA 1.*Resultados médios e seus respectivos desvios padrão relativo e número de determinações (n) dos parâmetros físico-químicos determinados.*

Amostras	Procedência	pH n=3	Índice refração n=3	Umidade[(a,b)] (%) n=3	Densidade (g cm^{-3}) n=3
1	Cantá	3,72 (0,02)	1,4870 (0,006)	19,8 (0,00)	1,4018 (0,206)
2	Cantá	4,56 (0,61)	1,4870 (0,006)	19,8 (0,11)	1,4024 (0,114)
3	Cantá	4,18 (0,16)	1,4866 (0,067)	20 (0,20)	1,3928 (0,280)
4	V M	4,20 (0,02)	1,4876 (0,033)	19,6 (0,23)	1,4062 (0,369)
5*	SLA	3,67 (0,19)	1,4880 (0,215)	19,4 (0,60)	1,4002 (0,049)
6*	SLA	3,85 (0,18)	1,4860 (0,033)	**20,4 (0,50)***	1,3965 (0,358)
7*	SLA	3,82 (0,36)	1,4866 (0,265)	20 (0,23)	1,3972 (0,271)
8*	Caroebe	3,74 (0,64)	1,4849 (0,012)	**20,8 (0,40)***	1,4011 (0,135)
9*	Cantá	3,31 (0,44)	1,4860 (0,386)	**20,4 (0,05)***	1,3800 (0,434)
10	Cantá	3,56 (0,97)	1,4870 (0,386)	19,8 (0,11)	1,3913 (0,107)
11	Cantá	4,33 (0,16)	1,4866 (0,033)	20 (0,003)	1,3789 (0,224)
12*	Cantá	3,97 (0,28)	1,4849 (0,080)	**20,8 (0,02)***	1,3984 (0,171)
13	Cantá	4,24 (0,03)	1,4876 (0,047)	19,6 (0,62)	1,4118 (0,092)
14*	Cantá	4,33 (0,19)	1,4853 (0,033)	**20,6 (0,30)***	1,3709 (0,007)
15	Pacaraima	3,67 (0,13)	1,4910 (2,100)	18,2 (0,04)	1,4072 (0,270)
16	Cantá	4,00 (0,05)	1,4866 (0,160)	20 (0,37)	1,3901 (0,100)
17*	Cantá	4,01 (0,05)	1,4849 (0,127)	**20,8 (0,10)***	1,3894 (0,014)
18*	Cantá	3,34 (0,01)	1,4853 (0,033)	**20,6 (0,45)***	1,3839 (0,397)
19	SLA	4,26 (0,95)	1,4866 (0,155)	20,0 (0,24)	1,4018 (0,285)
20	Cantá	3,40 (0,47)	1,4935 (0,483)	17,2 (0,33)	1,4004 (0,007)

SLA – São Luis do Anauá
VM – Vila moderna
* amostras que apresentaram valores acima do permitido
(a) Parâmetros exigidos por (BRASIL, 2000)
(b) Parâmetros exigidos por (BRASIL, 1978)

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

TABELA 1.*Resultados médios e seus respectivos desvios padrão relativo e número de determinações (n) dos parâmetros físico-químicos determinados (continuação).*

Amostras	Procedência	Cinzas[a,b] (%) n=3	Acidez total[a,b] (mEq kg^{-1}) n=3	Condutividade (µS cm^{-1}) n=3	Teste de[b] Lund n=1
1	Cantá	0,2757 (1,015)	45,4482 (0,010)	608,80 (0,069)	0,9
2	Cantá	0,4539 (0,859)	37,4719 (0,003)	1049,4 (0,074)	1,2
3	Cantá	0,6502 (0,199)	46,5165 (0,105)	694,30 (0,081)	1,7
4	V M	0,2483 (1,812)	19,4441 (0,046)	1034,1 (0,013)	2,0
5*	SLA	0,2738 (0,036)	**52,7164 (0,016)***	461,95 (0,076)	1,5
6*	SLA	0,2351 (2,169)	48,5261 (1,023)	572,10 (0,223)	1,9
7*	SLA	0,1590 (0,943)	**62,1335 (0,014)***	567,35 (0,162)	1,3
8*	Caroebe	0,2737 (1,826)	28,1340 (0,007)	586,20 (0,048)	1,7
9*	Cantá	0,2855 (2,171)	31,4562 (1,586)	616,80 (0,045)	1,3
10	Cantá	0,3970 (0,906)	28,0499 (0,007)	201,40 (0,070)	1,0
11	Cantá	0,2818 (0,035)	40,1229 (0,024)	1020,2 (0,020)	1,8
12*	Cantá	0,5623 (0,248)	26,8840 (0,021)	1108,1 (0,051)	1,3
13	Cantá	0,3736 (2,194)	45,3700 (0,001)	754,15 (0,047)	1,7
14*	Cantá	0,5099 (0,196)	39,5824 (0,663)	1014,4 (0,062)	1,9
15	Pacaraima	0,1589 (0,943)	40,7244 (0,082)	331,25 (0,277)	2,0
16	Cantá	0,5307 (0,226)	26,6042 (1,070)	427,45 (0,132)	2,2
17*	Cantá	0,1516 (1,978)	24,6302 (1,419)	449,05 (0,203)	0,9
18*	Cantá	0,4065 (1,525)	49,6532 (0,124)	1126,4 (0,050)	1,5
19	SLA	0,4300 (0,395)	23,3956 (0,026)	753,20 (0,047)	2,2
20	Cantá	0,3232 (1,423)	49,3949 (0,290)	430,60 (0,197)	2,1

SLA – São Luis do Anauá
VM – Vila moderna
* amostras que apresentaram valores acima do permitido
(a) Parâmetros exigidos por (BRASIL, 2000)
(b) Parâmetros exigidos por (BRASIL, 1978)

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

TABELA 2*.Comparação entre as faixas de valores obtidos neste estudo com os obtidos por outros pesquisadores de méis de abelhas nacionais.*

Faixa de concentração / Pesquisadores (origem das amostras)	pH	Acidez meq kg^{-1}	Cinzas (%)	Umidade (%)
VILHENA; ALMEIDA (1999) / São Paulo	ND	3,1-38,58	0,03-0,29	15,2-20,0
BARTH *et al.* (2005) / Sudeste do Brasil	3,0-4,3	ND	0,05-0,88	15,0-20,0
ALMEIDA (2002) / São Paulo	3,62-4,52	16,5-52,0	0,32-1,18	25,5-34,0
ARRUDA *et al.* (2004) / Ceará	3,58-3,83	6,0-13,0	0,1-0,2	14,97-17,23
SILVA *et al.* (2004) / Piauí	3,54-5,30	10,1-31,03	0,06-0,14	17,6-19,7
RODRIGUES *et al.* (2005) / Cariri e Brejo Paraibano	3,58-4,66	28,33-41,66	0,01-0,02	18,06-25,26
PAMPLONA *et al.* (2004) Mel com Geléia Real	ND	3,4-11,0	ND	ND
POSSAMAI (2005) Paraná	4,26	23,62	0,32	17,20
ALVES et al. (2005) / Bahia	3,27	43,48	ND	28,78
MARCHINI *et al.* (2004) / Tocantins	3,26-4,31	29,33-47,67	0,05-0,6	17,0-20,2
AZEREDO *et al.* (1999) / Rio de Janeiro	3,49-5,40	25,3-41,2	ND	18,96-19,58
ARAUJO *et al.* (2006) / Ceará	3,4-3,7	21,5-59,6	0,07-0,24	17,0-21,0
MARCHINI *et al.* (2005) / São Paulo	3,2-3,6	30,1-33,8	0,16-0,25	19,1-21,2
Presente Estudo/RR	**3,34-4,56**	**19,4-62,1**	**0,1-0,6**	**17,2-20,8**

ND – Não Determinado

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

TABELA 2*.Comparação entre as faixas de valores obtidos neste estudo com os obtidos por outros pesquisadores de méis de abelhas nacionais.*

Faixa de concentração / Pesquisadores (origem das amostras)	Cond. Elét. ($\mu S\ cm^{-1}$)	Índice de refração	Densidade ($g\ cm^{-1}$)	Lund (mL)
VILHENA; ALMEIDA (1999) / São Paulo	ND	ND	ND	ND
BARTH *et al.* (2005) / Sudeste do Brasil	ND	ND	ND	ND
ALMEIDA (2002) / São Paulo	ND	ND	ND	ND
ARRUDA *et al.* (2004) / Ceará	154,67-253,33	ND	ND	ND
SILVA *et al.* (2004) / Piauí	ND	ND	ND	ND
RODRIGUES *et al.* (2005) / Cariri e Brejo Paraibano	ND	ND	ND	ND
PAMPLONA *et al.* (2004) Mel com Geléia Real	ND	ND	ND	ND
POSSAMAI (2005) Paraná	ND	1,4935	ND	1,0
ALVES et al. (2005) / Bahia	352,25	ND	ND	ND
MARCHINI *et al.* (2004) / Tocantins	313,33-1470,6	ND	ND	ND
AZEREDO *et al.* (1999) / Rio de Janeiro	ND	ND	ND	1,26-1,92
ARAUJO *et al.* (2006) / Ceará	ND	ND	ND	ND
MARCHINI *et al.* (2005) / São Paulo	568,2-1018,6	ND	ND	ND
Presente Estudo/RR	**201,4-1020,2**	**1,4849-1,4935**	**1,3-1,4**	**0,9-2,2**

ND – Não Determinado

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

APLICAÇÃO DA SEMENTE DE ACEROLA (*MALPIGHIA EMARGINATA)* COMO ADSORVENTE NATURAL PARA ABRANDAMENTO DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS

APPLICATION OF THE ACEROLA SEED (MALPIGHIA EMARGINATA) AS A NATURAL ADSORBENT FOR GROUNDWATER SOFTENING

SILVA, Ana Carolina Paiva da[1*]; ANDRADE JUNIOR, Francisco Patrício de [2]; COSTA, Vilma Araújo da [3];SILVA, Denise Domingos da[4]

[1,2,4]Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde,Departamento de Química e Farmácia, Olho D'água da Bica S/N, cep 58175-000, Cuité – PB, Brasil. (fone: +55 83 999476164)

[3]Universidade Federal do Rio Grande do Norte,Programa de pós-graduação em Química, Instituto de Química, Lagoa Nova, cep 23456-009,Natal-RN, Brasil. (fone: +55 84 99705460)

** Autorcorrespondente*
e-mail: carolpaiva31@hotmail.com

Received 19 June 2017; accepted 18 September 2017

RESUMO

Com a crescente contaminação da água por diversos poluentes, o que torna este recurso cada vez mais escasso e impróprio para o uso, surge à necessidade do desenvolvimento de novos métodos de tratamento que sejam acessíveis, eficientes, renováveis e que não produzam resíduos poluentes que degradem o meio ambiente. Devido a isto o uso de adsorventes naturais tem se tornado uma das alternativas mais investigadas para o tratamento de águas sejam para remoção de poluentes orgânicos ou inorgânicos. Este trabalho tem por objetivo estudar o potencial de adsorção de um adsorvente natural proveniente da semente de acerola visando adequar o teor de dureza total de águas subterrâneas após a caracterização dos parâmetros físico-químicos tais como pH, condutividade elétrica, turbidez, sólidos dissolvidos totais, cloretos, alcalinidade e dureza total. Amostras do adsorvente antes e após ser utilizado para o tratamento foram caracterizadas por análises de espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR), de microscopia eletrônica de varredura (MEV). O uso do adsorvente natural obtido da semente de acerola mostrou-se bastante eficaz para o tratamento de dureza das amostras analisadas.

Palavras-chave:*Adsorção, dureza total, análise de águas.*

ABSTRACT

With increasing contamination of water by various pollutants, which makes this resource increasingly scarce and unfit for use, there is a need to develop new treatment methods that are accessible, efficient, renewable and do not produce polluting waste that degrades the environment. Due to this the use of natural adsorbents has become one of the most investigated alternatives for the treatment of waters whether for the removal of organic or inorganic pollutants. This work aims to study the adsorption potential of a natural adsorbent from *acerola* seed by means of column chromatography to adjust the total hardness of groundwater after the characterization of physicochemical parameters such as pH, electrical conductivity, Turbidity, total dissolved solids, chlorides, alkalinity and total hardness. The adsorbent samples before and after being used for the treatment were characterized by infrared absorption spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy (SEM). The use of the natural adsorbent obtained from the *acerola* seed was very effective for the treatment of hardness of the analyzed

Keywords: *Adsorption, Total hardness, Water analysis*.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

A água é um elemento essencial para a conservação de todas as formas de vida em nosso planeta. Embora cerca de 70% da superfície da Terra estar coberta por água, apenas uma pequena parte dessa água é doce. E devido a vários fatores como o aumento da população no mundo, o desperdício, a poluição provocada pelas atividades antropogênicas são fatores que colocam em risco a disponibilidade de água doce. Em função dessa crescente demanda, as águas subterrâneas estão sendo bastante utilizadas (BRASIL, 2007).O Brasil possui 91.300 m³/s disponível de água superficial e uma vazão média que representa 180.000 m³/s e disponibilidade hídrica subterrânea de reserva explotável igual a 11.430 m³/s. Apesar disso a distribuição dos recursos hídricos superficiais, é bastante desigual por toda a extensão do território brasileiro: enquanto a área onde se concentra 45,5% da população total nas bacias junto ao Oceano Atlântico, estão disponíveis apenas 2,7% dos recursos hídricos, contudo na região Norte, em que vivem somente cerca de 5% da população brasileira, estes recursos são abundantes com cerca de 81% (ANA, 2013).

Apesar da grande disponibilidade de água em algumas regiões, muitas pessoas no mundo vivem em áreas onde há escassez de água potável que é essencial à sua sobrevivência. Diante disto é inviável manter o fornecimento de água doce de qualidade para diversas finalidades como abastecimento humano, indústria e agricultura se a água subterrânea não for utilizada. Em várias regiões como na Rússia, no norte da África no oriente médio e em 80% da Europa a maior parcela da água potável é de origem subterrânea. De maneira oposta a outros recursos naturais ou matérias-primas, a água subterrânea está presente em todo o mundo consistindo na maior e mais segura fonte de água potável existente na Terra (Struckmeier *et al*., 2007). Os profissionais que realizam pesquisas referentes ao tratamento de água para abastecimento público, estão constantemente buscando o aprimoramento ou o desenvolvimento das técnicas de tratamento de água, no entanto é importante buscar alternativas de baixo custo que satisfaçam a esse objetivo, para possibilitar a universalização do acesso à água em quantidade e com qualidade imprescindível para atender os fins que se destina (Heller *et al.,* 2009).Nos processos industriais a água utilizada necessita de uma pureza contrária a da alcançada no tratamento de água potável, devido aos problemas causados por alguns sais como depósitos nas tubulações, contaminação dos produtos e corrosão. Sais de cálcio e magnésio que caracterizam a dureza da água ocasionam incrustações em tubulações industriais o que afeta o fluxo de fluídos e a pressão do sistema em questão As águas naturais que são captadas nos mananciais normalmente apresentam um conjunto de contaminantes, da qual a sua composição e proporção estão associadas com a constituição geológica do solo e das áreas próximas a centros industrializados como também das variações climáticas que ocorrem durante o ano (Filho *et al.,* 2013).

Abrandamento consiste em um processo que tem por finalidade a redução da dureza das águas e remover alguns contaminantes inorgânicos, nas estações de abrandamento podem ser utilizadas resinas especificas para trocar íons ou pode-se elevar o pH para causar a precipitação principalmente de sais ou hidróxidos de cálcio e magnésio (Heller *et al.,* 2009). Um dos materiais que vem sendo bastante estudados para tratamento de amostras são os adsorventes provindos da biomassa, devido ao seu baixo custo, abundância e alta capacidade de adsorção, estes podem ser, cascas, sementes, caroços e entre outros. Esses resíduos normalmente são descartados e por apresentarem grande potencial de adsorção tem se tornado uma alternativa viável e eficaz para remoção de contaminantes (Bazzo, 2015).

Classificado como o maior consumidor e exportador de acerola do mundo o Brasil contém plantios em praticamente todos os estados tendo sua maior produção no estado de Pernambuco que corresponde a 23,11% da produção, em seguida o Ceará, com 14,32%; São Paulo, com 11,39% e Bahia com 10,48%. Apresentando plantios ainda nos estados do Rio Grande do Norte, Paraíba e Piauí (Calgaro *et al.,* 2012). No processamento da acerola para produção de suco ou de polpa congelada é produzido após aprensagem de frutas um resíduo bastante fibroso ainda de coloração avermelhada muito intensaque geralmente é descartado, produzindo um grande volume de lixo orgânico durante a safra de acerola (Moreira, 2007).

Diante disto o presente estudo teve como objetivo investigar o uso das sementes de acerola como adsorvente natural pelo método de cromatografia em coluna para remoção da

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

dureza total de águas subterrâneas além de determinar parâmetros físico-químicos das amostras de águas.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Área de estudo e coleta das amostras

Foram coletadas amostras em triplicata de 4 poços da zonal rural do Município de Sossego-PB (Figura 1). Que foram armazenadas em garrafas de politereftalato de etileno (PET) e mantidas sobre refrigeração em todo o período das análises. Os poços A, B, C, D e F encontram-se nas seguintes coordenadas geográficas 6°44'12.6''S e 36°12'35.9''O; 6°44'8.51"S e 36°12'15.24"O; 6° 44'0.92"S e 36°12'46.59"O; 6°43'30.96"S e 36°13'2.96"O respectivamente. Todos os poços apresentam em média 40 metros de profundidade.

Os parâmetros determinados foram pH, condutividade elétrica, turbidez, dureza total, cloretos, e sólidos dissolvidos totais. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biocombustíveis e Química Ambiental do Centro de Educação e Saúde CES/ UFCG.

Figura 1. *Localização dos poços no município de Sossego –PB.*

O município de Sossego- PB segundo dados do (IBGE, 2010) fica localizado no Curimataú Paraibano, a 240 km da Capital do Estado, o município dispõe de uma área de 300 km^2, apresenta um clima tropical semiárido e uma hidrografia constituída por rios temporários com cheias apenas no período do inverno, sendo assim castigado constantemente por secas prolongadas e abastecido por carros-pipa.

2.2. Determinação dos parâmetros físico-químicos

As análises foram realizadas nos laboratórios de Biocombustíveis e Química Ambiental e Química Analítica, do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande e seguiram metodologias recomendadas pelo manual prático de análise de água da Fundação Nacional da Saúde (FUNASA, 2013). Todas as determinações foram realizadas em triplicata para um melhor tratamento de dados.

2.2.1. Dureza total

As medidas de dureza foram realizadas pelo método de titulometria de complexação, utilizando como indicador negro de eriocromo - T e o agente titulante EDTA (ácido etilenodiaminotetracético).

2.2.3. Cloretos

A determinação do teor de cloretos foi realizada pelo método de Mohr utilizando como indicador o cromato de potássio e agente titulante nitrato de prata ($AgNO_3$).

2.2.4. pH

A determinação de pH das amostras foram realizadas em um peagâmetro pH 21 – Hanna, sendo o mesmo previamente calibrado com soluções tampão ácido de 7,00 ± 0,01 e básico de 4,00 ± 0,01.

2.2.5. Turbidez

A turbidez foi determinada por um turbidímetro modelo TB1000, em que o mesmo foi previamente calibrado com soluções padrões de 0,1 NTU, 0,8 NTU, 8 NTU, 80 NTU e 1000 NTU.

2.2.6. Condutividade elétrica

A condutividade foi determinada utilizando um condutivímetro mCA-150/Mca-150P sendo previamente calibrado com solução padrão de cloreto de potássio (KCl) 146,9 µS/cm ± 0,5%, com uma temperatura padronizada de 25ºC.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

2.2.7. Sólidos dissolvidos totais

O teor de sólidos dissolvidos totais (SDT) foi estimado pela sua relação com a condutividade elétrica onde segundo (Bezerra, 2004) valores de condutividade menores que 1000 µS/cm devem ser multiplicados por 0,68; valores entre 1000 e 4000 por 0,75 e valores entre 4000 e 10000 por 0,82 para a obtenção do valor de SDT.

2.2.Preparo do Adsorvente Natural

Os frutos foram coletados em uma área particular na zona rural do município de Cuité-PB no mês de Junho de 2016. Para a obtenção do adsorvente as sementes foram separadas da casca e polpa do fruto por meio de um processador de alimentos, posteriormente as sementes foram lavadas para retirar os resíduos e colocadas para secar ao sol. Após a secagem, as sementes foram trituradas e peneiradas para a obtenção da forma de farelo (Figura 2).

Para o tratamento foi utilizado o método de cromatografia em coluna onde foram utilizadas 6g do adsorvente natural (fase estacionária) que foi inserido em uma coluna adaptada utilizando uma bureta de 50 ml por onde foram percolados 50 ml das amostras das águas dos poços analisados (fase móvel), numa vazão de aproximadamente 1 ml/min.

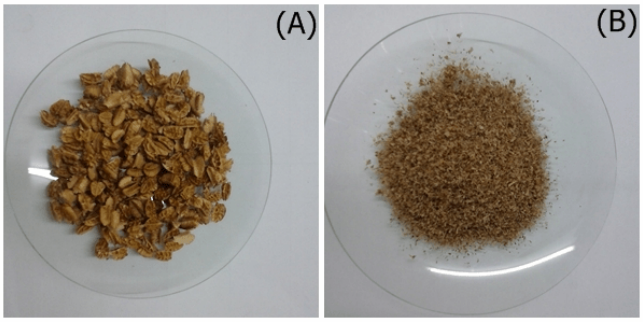


Figura 2. *(A) Sementes de acerola secas (B) Sementes em forma de farelo.*

2.3. Caracterização do adsorvente natural

2.3.1.Espectroscopia de Infravermelho (ATR IV)

As amostras foram caracterizadas através do método de refletância total atenuada (ATR da sigla em inglês), onde um cristal com um índice de refração elevado e baixa absorção na região do infravermelho entra em contato com a amostra produzindo um espectro. A análise foi realizada utilizando-se de um feixe infravermelho médio, com comprimento de onda variando entre 2,5 e 50 µm, fornecendo assim uma faixa de número de ondas de 4000 a 500 cm^{-1}. O equipamento utilizado foi Spectrum 65 FT-IR spectrometer Perkin Elmer com um ATR acoplado.

2.3.2.Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens das sementes de acerola foram obtidas no microscópio eletrônico de varredura (MEV) Hitachi Modelo TM-3000, equipado com um sistema de microanálise química por dispersão de energia (EDS) Bruker, variando as ampliações entre 20, 30, 100 e 200X.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

3.1. Parâmetros físico-químicos

Os valores encontrados para a turbidez nos poços A, B, C e D foram 8,8; 4,2; 12,6 e 0,11 NTU respectivamente dentre esses apenas os poços A e C apresentaram valores acima de 5 NTU valor estabelecido como máximo pela portaria n.º 2.914/2011 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011) para água de consumo humano. A turbidez da água ocorre devido à presença de matéria em suspensão que pode ser de origem orgânica ou inorgânica (Heller *et al*., 2006). Para a condutividade elétrica foram encontrados valores para os poços A, B, C e D iguais a 4,56; 9,47; 4,53 e 5,39 $mS.cm^{-1}$ respectivamente, indicando a baixa concentração de sais dissolvidos nas amostras analisadas. A condutividade elétrica é influenciada pela quantidade de sais dissolvidos na água sendo assim quando maior a concentração de íons dissolvidos maios será o valor de condutividade elétrica.

Os sólidos dissolvidos totais (SDT) são representados pela soma de todos os constituintes químicos dissolvidos na água e são expressos em mg/L mede a concentração de substâncias iônicas. A determinação dos SDT indica a presença de produtos químicos contaminantes. As substâncias dissolvidas podem conter íons orgânicos e íons inorgânicos (como carbonato, bicarbonato, cloreto, sulfato, fosfato, nitrato, cálcio, magnésio e sódio) e em concentrações elevadas podem ser prejudiciais. (Parron *et al*., 2011). Os valores encontrados para SDT dos poços A, B, C e D foram 3739,2; 7765,4; 3714,6 e 4419,8 mg/L respectivamente todos as amostras apresentaram valores acima

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

do estabelecido pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2011) de 1000 mg/L para água de consumo humano. A Tabela 1 apresenta os valores médios e desvio padrão de turbidez, condutividade elétrica e sólidos dissolvidos totais.

Tabela 1.Valores médios e desvio padrão de Turbidez, condutividade elétrica e sólidos dissolvidos totais das amostras analisadas.

Poços	Parâmetros Físico-Químicos		
	Turbidez	Condutividade Elétrica ($Ms.Cm^{-1}$)	Sólidos Dissolvidos Totais (mg/L)
A	8,89 (± 0,03)	4,56 (±0,06)	3739,2 (±0,02)
B	4,2 (± 0, 90)	9,47 (±0,03)	7765,4 (±0,03)
C	12,6 (± 0,08)	4,53 (± 0,02)	3714,6 (±0,02)
D	0,11 (± 0,14)	5,39 (± 0,10)	4419,8 (±0,10)

Os valores de pH para os poços A, B, C e D a apresentaram valores 7,6; 7,5; 7,2 e 7,2 respectivamente caracterizando as amostras como básicas e dentro dos padrões estabelecidos pelo Ministério da (BRASIL, 2011) que estabelece o valor de pH de 6,0 a 9,0 para água de consumo humano. A maioria das águas subterrâneas apresentam pH entre 5,5 e 8,5 e em casos excepcionais podendo variar entre 3 e 11 (Feitosa et al., 2000) .Os valores encontrados para a dureza total dos poços A, B, C e D foram iguais a 840; 2714,44; 2221,99 e 1653,49 mg/L respectivamente sendo classificadas como muito duras e fora dos padrões estabelecidos pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2011), que estabelece para dureza total o teor de 500 mg/L $CaCO_3$ como valor máximo permitido para água potável. Para a determinação de cloretos os valores encontrados para os poços A, B, C e D foram 0,374; 4,11; 1,73 e 2,07 mg/L evidenciando o baixo teor de cloretos nas amostras analisadas que se encontram dentro do valor máximo permitido para cloretos de 250 m/L. Conforme os dados apresentados na tabela 2.

Tabela 2.*Valores médio e desvio padrão de pH, dureza total e cloretos das amostras analisadas.*

Poços	Parâmetros Físico-Químicos		
	pH	Dureza Total (mg/Lde $CaCO_3$)	Cloretos (mg/L)
A	7,6 (± 0,04)	840,0 (± 0,12)	0,374 (± 0,05)
B	7,5 (± 0,01)	2714,44 (± 0,09)	4,11 (± 2,75)
C	7,2 (± 0,06)	2221,99 (± 0,40)	1,73 (± 0,44)
D	7,2 (± 0,02)	1653,49 (± 0,70)	2,07 (± 0,42)

3.2.Tratamento com o adsorvente natural

O adsorvente natural foi testado em colunas adaptadas, para avaliar sua eficiência na adsorção de substâncias das amostras de águas de poços subterrâneos. A amostra de água que apresentou o maior teor de dureza total foi a amostra do poço B com o teor 2714,44 mg/L de $CaCO_3$ por isso utilizou-se a mesma para testar a eficácia do adsorvente. Após o tratamento foi verificado que houve uma redução considerável do teor de dureza total das amostras analisadas de 2714,44 mg/L para 900,81 mg/L, foi constatado também que houve uma diminuição do pH da amostra que ficou mais ácida após o tratamento, o que pode estar relacionado á liberação de íons H^+ devido ao processo de troca iônica durante a interação da amostra com o adsorvente.

3.3.Espectros de absorção na região do infravermelho (ATR IV)do adsorvente natural

Os espectros de infravermelho para a semente de acerola antes e após a adsorção podem ser observados na Figura 3, onde apresentou banda larga e forte em 3416 cm^{-1} á 3235 cm^{-1} referente ao estiramento axial da ligação –OH possivelmente de ácidos carboxílicos, os picos 2918 cm^{-1} e 2846 cm^{-1} indica o estiramento axial de ligações C-H de alcanos ou grupo alquila (Rezende *et al.,* 2014). A banda em 1741 cm^{-1} é referente ao estiramento axial referente à ligação C=O dos grupos carboxilas que possuem grande capacidade de adsorção uma vez que possuem

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

elétrons livres (Medrado, 2011). A deformação angular em 1026 cm^{-1} é referente à ligação O-H que é característico de álcoois primários (Monteiro *et al.,* 2014).

Analisando os espectros da semente antes e após a adsorção constatamos que a banda 3416 cm^{-1} á 3235 cm^{-1} e a deformação angular em 1026 cm^{-1} referentes à ligação -OH foram intensificadas, podendo ser atribuída à adsorção de água, acarretando como consequência a diminuição das bandas em 2918 cm^{-1} e 2846 cm^{-1}. Após o tratamento podemos constatar que a amostra de água analisada obteve uma redução de dureza total o que pode ser justificado pelo desaparecimento da banda de estiramento axial da carbonila em 1741 cm^{-1} indicando uma possível reação de redução da função química.

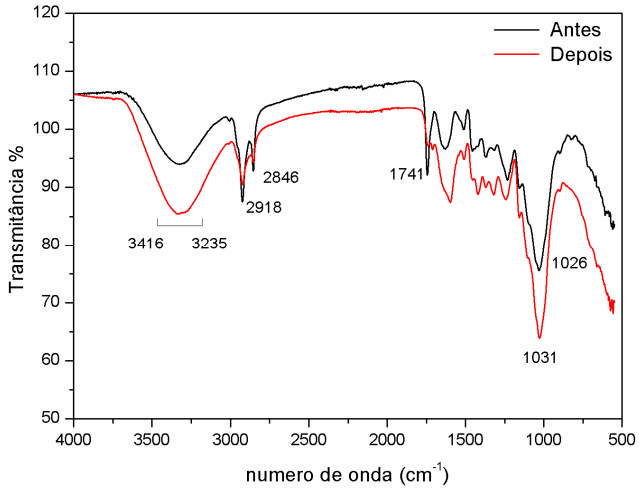


Figura 3. *Espectro de Infravermelho da Semente de acerola antes e após a adsorção.*

3.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As micrografias obtidas das sementes de acerola antes do processo de adsorção podem ser observadas na Figura 4 com diferentes ampliações de 500, 1000, 2000 e 5000 vezes respectivamente, que indicaram uma morfologia de cavidades semelhantes a canais interligados conferindo uma maior área de adsorção, o que pode estar relacionado com a retenção dos sais na superfície dos adsorventes naturais promovendo a redução da dureza total das amostras analisadas. Na figura 4(D) é possível observar o diâmetro de alguns poros iguais a 3,37 µm e 3,80 µm.

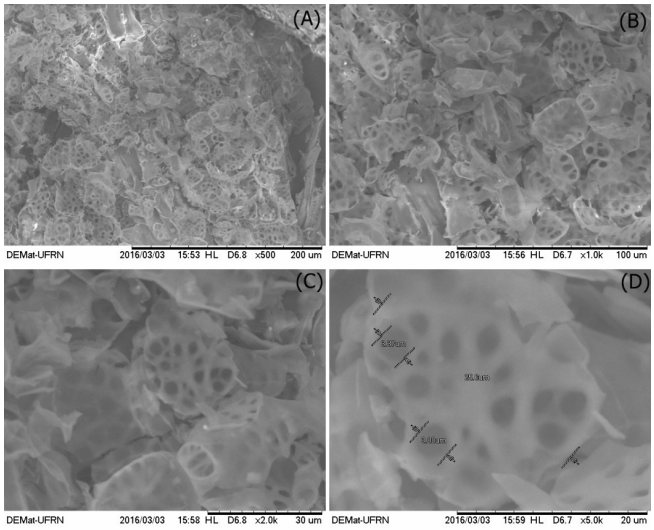


Figura 4. *Micrografia eletrônica de varredura do adsorvente natural (semente de acerola) antes da adsorção da amostra. (A) com ampliação de 500x (B) 1000x (C) 2000x e (D) 5000x.*

A Figura 5 mostra as micrografias da semente após o processo de adsorção onde a Figura 5 (A) com aumento de 500 vezes revela uma ruptura na estrutura do material após o tratamento aumentando as cavidades existentes. Na Figura 5 (B), com aumento de 1000 vezes, esse efeito pode ser visto com mais clareza.

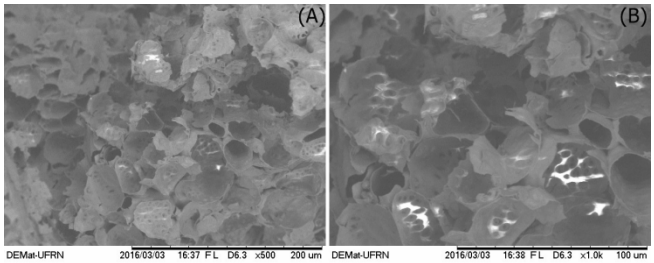


Figura 5.*Micrografia eletrônica de varredura do adsorvente natural (semente de acerola) após a adsorção da amostra. (A) com ampliação de 500x (B) 1000x.*

CONCLUSÕES:

As amostras de águas de poços subterrâneos do município de Sossego – PB apresentaram em sua maioria, valores de parâmetros físico-químicos referente aos padrões estabelecidos pelo Ministério da Saúde para água potável, com exceção de alguns parâmetros, como o elevado valor encontrado para dureza total nas amostras sendo impróprio para o consumo humano e a turbidez de algumas amostras analisadas.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

O uso do adsorvente natural obtido a partir da semente de acerola aplicado à cromatografia em coluna apresentou resultados significativos devido a considerável redução do teor de dureza da água analisada, apresentando-se também como um importante adsorvente para este tipo de metodologia e sendo um resíduo agroindustrial abundante torna-se, uma alternativa de baixo custo, eficiente e viável para tratamento de águas que apresentem alto teor de dureza. Portanto, esta metodologia pode ser utilizada para águas para usos industriais ou para o reuso de efluentes industriais que precisam passar por um processo de abrandamento.

REFERÊNCIAS:

1. BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Águas subterrâneas um recurso a ser reconhecido. Brasília, 2007.
2. ANA. AGENCIA NACIONAL DAS ÁGUAS. Conjuntura dos Recursos hídricos do Brasil. Brasília, 2013. Disponível em: <http://www3.snirh.gov.br/portal/snirh/centrais-de-conteudos/conjuntura-dos-recursos-hidricos/informes2014.pdf> Acessada em Maio 2017.
3. Struckmeier, W.;Rubin, Y.; Jonas, J. J. Água subterrânea reservatório para um planeta com sede?. 2007.
4. Heller, L.;Pádua, V.L. Orgs. Abastecimento para água de consume humano. UFMG: Belo Horizonte, 2006.
5. Filho, N. N. S.; Santos, D. S. A importância do tratamento de água na indústria para um bom aproveitamento no processo industrial. Anais 6° Encontro Nacional de Tecnologia e Química, Alagoas, Brasil, 2013.
6. Bazzo. A. Aplicação e caracterização do caroço de abacate *(Persea Americana Mill)* como adsorvente na remoção do corante violeta cristal. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Programa de pós-graduação em Ciências dos Materiais. Porto Alegre - RS, 2015.
7. Calgaro, M.; Braga, M.B. eds. A Cultura da Acerola, 3ed., Embrapa: Brasília, 2012.
8. Moreira, G. E. G. Obtenção e Caracterização de extrato microencapsulado de resíduo agroindustrial de acerola.Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Programa de pós-graduação em engenharia em Química. Natal - RN, 2007.
9. FUNASA. FUNDAÇÃO NACIONAL DA SAÚDE. Manual prático de análise de águas, 4 ed., FUNASA: Brasília, 2013.
10. IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – Cidades@. 2010 Sossego-PB, http://cidades.ibge.gov.br/v3/cidades/municipio/2516151. Acessado em maio de 2017.
11. Bezerra, M. A. S., Desenvolvimento de um destilador solar para tratamento de águas de produção de petróleo com vistas a sua utilização na agricultura e geração de vapor. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal - RN, 2004.
12. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria n.º 2.914/2011, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário oficial da união 12 dez 2011.
13. Parron, L. M.;Muniz, D. H. F.; Pereira, C.M. Manual de procedimentos de amostragem e análise físico-química de água,1 ed., Embrapa: Colombo, 2011.
14. Feitosa, F. A. C.;Filho, J. M. Coord.Hidrogeologia: Conceitos e Aplicações, 2ed., CPRM: Fortaleza, 2000.
15. Rezende, J.C. T.; Nunes, D. D. A.; Reis, E.N.; Jesus, E.; Ferraz, C.; Pagano, R. L.; Silva, A. S.; Pacífico, J. A.; Silva, D. C.Cinética de adsorção de Cr (VI) de soluções aquosas usando sementes de acerola. Scientia Plena. 2014,10,10.
16. Medrado, L. C. L. Adsorção de íons Cromo (VI) proveniente de efluentes de curtumes em bucha vegetal (Luffacylindrica) modificada com Ácido cítrico.Monografia de graduação. Universidade Estadual do Goiás, 2011.
17. Monteiro, R. A.;Yamaura, M. Fibras de coco verde para adsorção de íons Uranilo.Anais do 24º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

ESTUDO DA SENSITIZAÇÃO EM JUNTAS SOLDADAS DE INCONEL® 625 PRODUZIDAS ATRAVÉS DA SOLDAGEM POR FRICÇÃO E MISTURA MECÂNICA

SENSITIZATION STUDY IN FRICTION STIR WELDS OF INCONEL® 625

MARTINAZZI, Douglas[1*]; LEMOS, Guilherme V. B.[1];CARDOSO, Henrique R.P.[1], Dos SANTOS, Rafael E.[1]; FERREIRA, Jane Z.[1]; BERGMANN, Luciano[2]; Dos SANTOS, Jorge. F.[2]; REGULY, Afonso[1].

[1]Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Programa de Pós Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais (PPGE3M), Av. Bento Gonçalves, 9500 - Agronomia,91509-900, Porto Alegre/RS - Brasil (Fone: +55 51 3308 3565).

[2]Helmholtz-Zentrum Geesthacht GmbH, Institute of Materials Research, Materials Mechanics, Solid State Joining Processes (WMP), Geesthacht, Germany.

** Autorcorrespondente*
e-mail: martinazzi.douglas@gmail.com

Received 13 June 2017; received in revised form 12 September 2017; accepted 18 September 2017

RESUMO

Os novos desafios da indústria do óleo e gás requerem a utilização de materiais com estabilidade química e elevada resistência mecânica. A liga 625, popularmente conhecida como Inconel® 625, é comumente utilizada como revestimento de pipelines e outros componentes. Portanto, o estudo de métodos de união que produzem juntas soldadas com excelente qualidade é essencial. Assim, neste estudo, chapas soldadas de Inconel 625 foram produzidas através da Soldagem por Fricção e Mistura Mecânica (*Friction Stir Welding*) e estas foram submetidas a um tratamento térmico para avaliação da susceptibilidade à sensitização atravésdo ensaio de Reativação Potenciocinético de Ciclo Duplo (*Double Loop Electrochemical Potentiokinetic Reactivation*,DL-EPR). Além disso, perfis de microdureza foram realizados antes e depois do tratamento isotérmico. Os resultados de microdureza indicaram a formação de carbonetos devido ao aumento de dureza após o tratamento térmico. Por outro lado, os ensaios eletroquímicos mostraram que o processo FSW pode alterar significativamente o grau de sensitização.

Palavras-chave: *Soldagem por Fricção e Mistura Mecânica, Inconel 625, Sensitização, Reativação Potenciocinético de Ciclo Duplo.*

ABSTRACT

The new challenges of the oil and gas industry require noble materials with chemical stability and greater mechanical properties. Alloy 625, popularly known as Inconel® 625, is used as a cladding material for pipelines and other components. Therefore, the study of joining methods that produce excellent welded joints is essential. Thus, in this study, welded sheets of Inconel 625 were produced by Friction Stir Welding (FSW) and afterwards they were subjected to a heat treatment to evaluate the susceptibility to sensitization by the Double Loop Electrochemical Potentiokinetic Reactivation(DL-EPR)technique. In addition, microhardness profiles were performed before and after the isothermal treatment. The microhardness results indicated that the increased hardness is due to the carbides formation after heat treatment. On the other hand, electrochemical tests showed that FSW process can significantly affect the degree of sensitization.

Keywords: *Friction Stir Welding, Inconel 625, Sensitization, Double Loop Electrochemical Potentiokinetic Reactivation*.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

A superliga de Níquel Inconel 625 é muito usada na indústria aeroespacial, nuclear, óleo e gás devido as suas propriedades de alta resistência mecânica e excelente resistência à corrosão (LEMOS *et al.*, 2016a; LEMOS *et al.*, 2016b). Trata-se de um material austenítico, não ferroso, que possui estrutura cristalina cúbica de faces centradas e endurecimento por solução sólida. Na indústria do petróleo, os métodos de união comumente aplicados às ligas de Níquel são os processos por fusão como, por exemplo, eletrodo revestido, processo TIG autógeno, entre outros. Os materiais a base de Níquel são altamente ligados, portanto, os processos tradicionais de união com fusão podem ocasionar a precipitação de carbonetos ricos em Cr e outros metais, fases Laves, Delta e o crescimento de grãos (LEMOS *et al.*, 2016a; LEMOS *et al.*, 2016b; DAVIS, 2006; LEMOS *et al.*, 2015), que tendem a afetar a resistência à corrosão. Assim, a soldagem no estado sólido *(Friction Stir Welding)* surge como alternativa aos métodos convencionais de união devido ao fato de produzir juntas soldadas com temperaturas relativamente baixas, mas suficientes para que ocorra a recristalização e refino de grão do material (LEMOS *et al.*, 2015). Nesse processo, uma ferramenta em rotação realiza um movimento que promove uma ação contínua de trabalho a quente, onde o material é plastificado no estado sólido. Portanto, não ocorre a utilização de material de adição e, assim, a junta soldada é realizada de maneira autógena com a mesma composição química do metal de base.

Embora a liga Inconel 625® (marca registrada da empresa *SpecialMetals Corporation*) seja considerada um material endurecido por solução sólida, sabe-se que a precipitação de carbonetos nesta liga pode ter um papel importante para a melhoria das propriedades mecânicas(SIMS, STOLOFF e HAGEL, 1987). Em certas circunstâncias, as ligas a base de Níquel têm a dureza e resistência máxima a tração aumentadas devido à precipitação (FLOREEN, FUCHS e YANG 1994; RADAVICH e FORT, 1994; SONG e NAKATA, 2010). No entanto, sabe-se que a precipitação de carbonetos, por exemplo, também pode afetar a resistência a corrosão do material. De fato, quando a liga 625 é exposta a uma faixa de temperatura entre 600°C a 900°C ela pode apresentar instabilidade estrutural e sensitização (KOHLER e ULRICH, 1996) devido à precipitação preferencial de carbonetos nos contornos de grão. Neste contexto, o fenômeno da sensitização pode ser explicado pela precipitação de carbonetos ricos em metal (Cr e Mo) que ocorre preferencialmente nos contornos de grão (área de maior energia livre). Desta forma, nas regiões vizinhas, ocorre o empobrecimento destes metais e elas tornam-se suscetíveis a corrosão intergranular.

O comportamento da corrosão intergranular de diversos materiais com camada passiva tem sido avaliado através de diferentes ensaios de corrosão (LACKNER, 2014). Os primeiros ensaios eletroquímicos foram chamados pelos nomes dos seus inventores (Streicher, Strauss, e Huey) (CIHAL *et al.*, 2004). Como alternativa para esses ensaios de longa duração, o teste eletroquímico chamado de reativação potenciocinético de ciclo duplo (*Double Loop EPR method*) foi desenvolvido por alguns pesquisadores (CIHAL *et al.*, 2004; CIHAL, 1984; CIHAL e STEFEC; 2001). Sendo um ensaio comumente aplicado a aços inoxidáveis austeníticos, a sua principal vantagem é a obtenção de resultados rápidos para determinar o grau de sensitização. Contudo, com o seu aperfeiçoamento, as superligas de Níquel também passaram a ser avaliadas (LACKNER *et al.*, 2014; PROHASKA *et al.*, 2010).

Ainda que existam muitos estudos relacionados às juntas soldadas de ligas de Níquel (LEMOS *et al.*, 2015), poucos mostraram análises na superfície de juntas soldadas. Entretanto, uma compreensão dos fenômenos que ocorrem na superfície de chapas soldadas é de grande importância, visto que ela é quem está exposta ao ambiente e a sua integridade pode ser relacionada à corrosão, desgaste e tensões residuais. Assim, o presente trabalho faz uma avaliação preliminar da sensitização em juntas soldadas da liga Inconel 625 produzidas através da Soldagem por Fricção e Mistura Mecânica. De modo complementar, o efeito do tratamento térmico pós soldagem no grau de sensitização das juntas soldadas também foi avaliado.

MATERIAL E MÉTODOS

Chapas da liga Inconel 625 com 3,0 mm de espessura foram avaliadas neste estudo. A Tabela 1 mostra a composição química da liga de acordo com o certificado do fabricante.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 1. *Composição química (% em massa).*

Elementos	**Ni**	**Cr**	**Fe**	**Mo**
Inconel 625	Bal.	21,7	4,7	8,6
	Nb	**Mn**	**Al+Ti**	**C**
	3,38	0,09	0,31	0,015

As juntas soldadas foram produzidas na configuração de topo. A preparaçãodas chapas consistiu na limpeza das superfícies com lixamento abrasivo e acetona, objetivando a remoção de gorduras, óxidos e impurezas. Após esta etapa, as chapas foram fixadas e alinhadas na mesa de soldagem. De acordo com os testes preliminares, a preparação das chapas mostrou-se uma etapa importante para o aumento da qualidade superficial das juntas soldadas.

O processo de soldagem no estado sólido foi realizado em uma máquina rígida em forma de pórtico equipada com servomotores e sistemas de controle automatizados. Uma ferramenta de Nitreto Cúbico de Boro Policristalino (pcBN) grau Q70 com ombro de 25 mm de diâmetro e pino com 3 mm de comprimento foi utilizada. Para a obtenção dos cordões de solda, a ferramenta foi inclinada com um ângulo de ataque de 1,5° em relação à vertical. A soldagem foi realizada com o emprego de atmosfera de argônio para minimizar a oxidação da superfície da junta soldada e da ferramenta durante o processo de soldagem. Após o processo de união das chapas, as juntas soldadas foram submetidas a tratamento térmico por um período de 24 horas na temperatura de 750°C seguido de resfriamento ao ar.

Para as análises microestruturais, as amostras foram cortadas por eletroerosão, seguiram as práticas básicas de metalografia(lixamento e polimento)e foram atacadas quimicamente com o reagente Adler (PETZOW, 1976). As macroestruturas das juntas soldadas foram realizadas na face superior das soldas e observadas através de microscopia ótica.

As propriedades mecânicas foram avaliadas em termos de medições de dureza Vickers. Os perfis de microdureza ao longo da superfície das juntas soldadas foram obtidos com carga de 500 g e distância entre identações de 0,2 mm.

O estudo da susceptibilidade à corrosão intergranular através da técnica eletroquímica conhecida como DL-EPR foi realizado na superfície das chapas soldadas. Os parâmetros do ensaio eletroquímico foram baseados em estudos anteriores (LAKNER *et al.*,2014). Para cada uma das condições estudadas, chamadas de antes do ToTo(antes do tratamento isotérmico) e depois do ToTo (após o tratamento térmico), foram analisadas duas áreas específicas, são elas: região 1 (correspondente ao metal de base) e a região 2 (se refere ao centro da solda). Um desenho esquemático pode ser visto na Figura 1.

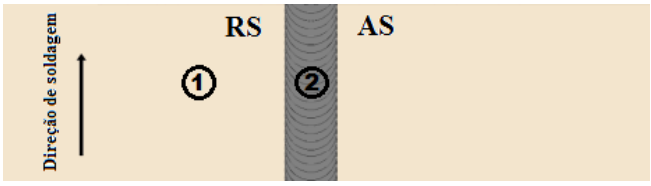


Figura 1.*Áreas avaliadas no estudo da corrosão intergranular: região 1 (metal de base), região 2 (centro solda).*

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

As macroestruturas da superfície de topo das juntas soldadas são mostradas nas Figuras 2(c) e 3(c) para ambas as condições avaliadas (antes e depois do ToTo, respectivamente). Além disso, as microestruturas do metal de base e da região central das soldas são apresentadas nas Figuras 2(a) e 2(b) (antes do ToTo).

De acordo com estudos anteriores, o material de base já apresentava certa quantidade de carbonetos (LEMOS *et al.*, 2016a). Como esperado, o processo de soldagem por fricção e mistura mecânica foi efetivo e ocasionou o refino de grão na liga Inconel 625. O tratamento térmico, realizado nas juntas soldadas, provocou consideráveis alterações na microestrutura (Figura 2). Além disso, com base no diagrama TTS (tempo, temperatura e sensitização) da liga 625 (KOHLER e ULRICH, 1996), assume-se que o tratamento térmico isotérmico levou a precipitação de carbonetos. Neste contexto, aFigura 3(c) apresenta a macrografia da superfície de topo da junta soldada(depoisdo ToTo), assim como as metalografias do metal base e da região central da solda, Figura 3(a) e 3(b), respectivamente.

Os perfis de microdureza medidos na superfície de topo de ambas as amostras podem ser observados na Figura 4. Antes do tratamento térmico, o aumento de dureza na junta soldada pode ser explicado pelo refino de grão. O menor valor de dureza (248 Hv) foi alcançado pela chapa soldada sem tratamento térmico. Para regiões distantes da solda (metal de base), o

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

tratamento térmico levou a um leve aumento na dureza. Por outro lado, o maior valor de microdureza (393 Hv) foi atingido pela junta soldada submetida ao tratamento isotérmico após soldagem, fato que sugere a precipitação de carbonetos e/ou fases secundárias mais duras e o consequente aumento de dureza.

A avaliação da suscetibilidade a corrosão intergranular e o consequente grau de sensitização das regiões analisadas foram estudadas de acordo com os princípios do ensaio de reativação potenciocinético de ciclo duplo, os quais são mostrados na Figura 5 (GIDEON, Warde BIDDLE, 2008). Neste ensaio eletroquímico, as regiões analisadas foram, primeiramente, polarizadasanodicamente até a zona de passivação do metal e, em seguida, realizou-se uma varredura na direção inversa. Em outras palavras, quando a amostra é polarizada anodicamente, ela é coberta por uma camada passiva em toda a superfície, teoricamente. Por outro lado, quando a varredura é invertida, ou seja, na volta da varredura, ocorre uma quebra do filme passivo nas regiões empobrecidas em metal. De fato, estas regiões empobrecidas em metal (Cr ou Mo) tendem a ser preferencialmente atacadas devido aefeitos da polarização anódica que podem criar superfícies irregulares (AYDOGDU e AYDINOL, 2006) ou mesmo uma camada de óxido mais fina menos protetiva (MADAY, MIGNONE e VITTORI, 1988), fatos que agem como sítios preferenciais no processo de despassivação.

Para as chapas soldadas sem tratamento térmico, mostradas na Figura 2, as diferenças entre os valores de Ir e Ia são maiores, indicando heterogeinidade no comportamento eletroquímico entre os fenômenos de passivação e repassivação para cada uma das regiões analisadas. Além disso, existe uma variação significativa no valor da razão Ir/Ia entre o metal de base (*Região 1*) e o centro da solda (*Região 2*). No caso das soldas submetidas ao tratamento térmico, apresentadas na Figura 3, as diferenças entre Ir e Ia são menores (tanto para a *Região 1* quanto para a *Região 2*) e, por consequência, os resultados dos ensaios eletroquímicos (razão Ir/Ia) atingiram valores próximos a 1.

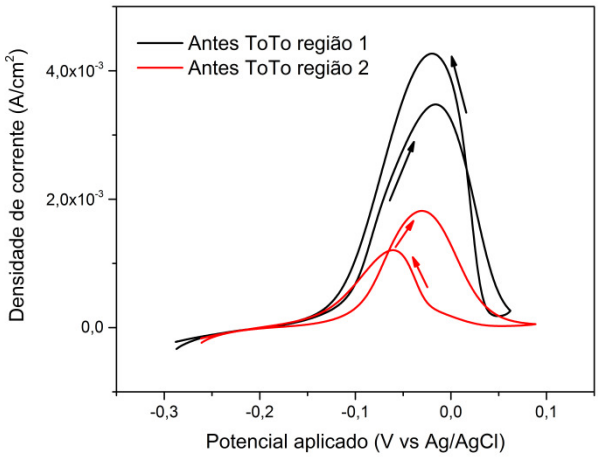


Figura 6.*DL EPR chapas soldadas antes do ToTo.*

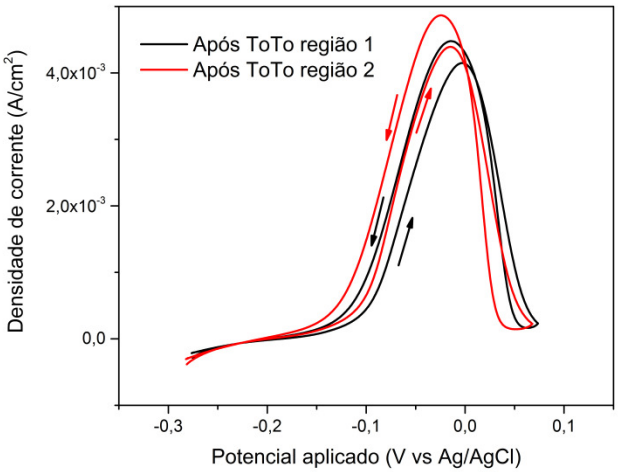


Figura 7.*DL EPR chapas soldadas depois do ToTo.*

Os valores do pico densidade de corrente de ativação (Ia) e do pico de densidade de corrente de reativação (Ir) foram obtidos com auxílio do *software Nova 1.10*. Por fim, a razão Ir/Ia foi calculada e os resultados dos ensaios eletroquímicos são resumidos nas Tabelas 3 e 4. Notou-se que microestrutura das chapas na condição de como recebidas levou a um grau de sensitização de 1,23. Por outro lado, a aplicação do processo de soldagem FSWlevou a uma microestrutura com grãos refinados e/ou mais limpa com respeito aos carbonetos que influenciariam a sensitização, fatos que ocasionaram um grau de sensitização menor (0,66). Por fim, as mesmas regiões foram analisadasapós o tratamento térmico. Contudo, estas últimas análises, mostradas na Tabela 4, apresentaram graus de sensitização similares entre si (valores de Ir/Ia) tanto no metal de base

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

quanto no centro da solda, fato que indica que o tratamento térmico pode realmente ocasionar microestruturas que tendem a alterar o grau de sensitização.

Tabela 3. *Ensaio de reativação potenciocinético de ciclo duplo (antes do tratamento térmico).*

	Ir/Ia
Região 1 (metal de base)	1,23
Região 2 (centro da solda)	0,66

Tabela 4. *Ensaio de reativação potenciocinético de ciclo duplo (depois do tratamento térmico).*

	Ir/Ia
Região 1 (metal de base)	1,08
Região 2 (centro da solda)	1,11

CONCLUSÕES:

Os resultados do presente trabalho podem ser resumidos como:

* o processo de união (FSW) foi efetivo, ocasionando o refino de grão e o consequente aumento de dureza na solda,

* o tratamento térmico provocou um aumento de dureza nas chapas soldadas,

* os ensaios eletroquímicos mostraram que a soldagem por fricção e mistura mecânica tende a diminuir o grau de sensitização das soldas, fato relacionado ao refino de grão e/ouà presença de carbonetos que influenciariam a sensitização. Além disso, o metal de base (antes do ToTo) alcançou valores de Ir/Ia similares aos obtidos nos ensaios após o tratamento térmico.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), através do programa Ciência sem Fronteiras (projeto 209602/2013-9), assim como o Instituto *Helmholtz Zentrum Geesthacht* GmbH *(Germany)* pelo suporte para execução deste trabalho.

REFERÊNCIAS:

1. ASTM Annual Book of ASTM Standards; Section 3: Metals Test Methods and Analytical Procedures; Volume 03.02: Wear and Erosion, Metal Corrosion, ASTM (2000).
2. Cihal, V.; Shoji, T.; Kain, V.; Watanabe, Y.; Stefec, R.: Electrochemical Polarization Reactivation Technique: EPR- a Comprehensive Review, Fracture and Reliability Research Institute, Graduate School of Engineering, Tohoku University (2004) 4.
3. Cihal, V.: Intergranular Corrosion of Steels and Alloys, Elsevier Science Publishers, BV (1984), pp. 368–382 5.
4. Cihal, V.; Štefec, R.: On the development of the electrochemical potentiokinetic method, Electrochimica Acta, 46 (2001), pp. 3867–387.
5. Davis, J. R., ed. Corrosion of Weldments. ASM International, 2006.
6. Floreen, S.; Fuchs, G. E.; Yang, W. J. The Metallurgy of Alloy-625.Superalloys 718, 625, 706 and Various Derivatives. 1994:13-37.
7. Lemos, G. V. B.; Simoni, L.; Bergmann, L.; Souza, D ; Araujo, D. B.; Dos Santos, J. F.; Strohaecker, T. R.; Schroeder, R. M. Caracterização Preliminar da Microestrutura em Cordões de Solda da liga 625 produzidos através dos processos de SFMM e MIG. XLI Congresso Nacional De Soldagem, Salvador - Bahia. 2015.
8. Lemos, G. V. B.; Farina, A. B.; Martinazzi, D.; Huppes, R. M.; Bergmann, L.; Dos Santos, J. F.; Strohaecker, T. R. Efeito Da Velocidade De Rotação Da Ferramenta Na Soldagem Por Fricção E Mistura Mecânica Da Liga Inconel 625. In: 71° Congresso Anual ABM, 2016, Rio de Janeiro. ABM Week 2016, 2016a.
9. Lemos, G. V. B.; Martinazzi, D.; Meinhardt, C. P; Bergmann, L.; Dos Santos, J. F.; Strohaecker, T. R. Avaliação Da Resistência À Corrosão Em Juntas Soldadas De Ligas Resistentes A Corrosão (CRA) Produzidas Através Da Soldagem Por Fricção E Mistura Mecânica. In: 22º Cbecimat - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, Natal. 2016b.
10. Radavich, J. F.; Fort, A. Effects of long termexposure in alloy 625 at 1200 F, 1400 F, and 1600 F. Superalloys 718, 625, 706 and Various Derivatives. TMS. 1994. p. 635.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

11. Sims, C. T.; Stoloff, N. S.; Hagel, W. C. A Review of: “SUPERALLOYS II”. A Wiley-Interscience Publication John Wiley& Sons, New York, NY 615 pages, hardcover, 1987.
12. Song, K. H.; Nakata, K. Effect of precipitation on post-heat-treated Inconel 625 alloy after friction stirwelding. Mater Design. 2010 Jun;31(6):2942-7.
13. Köhler, M.; Ulrich Heubner. Time-temperature-sensitization and time-temperature-precipitation behavior of alloy 625. No. CONF-960389. NACE International, Houston, TX (United States), 1996.
14. Lackner, R.; Mori, G.; Egger, R.; Winter; F., Albu, M.; Grogger, W. Sensitization of as Rolledand Stable Annealed Alloy 625. BHM Berg-und Hüttenmännische Monatshefte, (2014), 159(1), 12-22.
15. Prohaska, M.; Mori, G.; Hofstätter, H.; Tischler, G.; Grill, R.: Corrosion Properties of Different Highly Alloyed Clad Materials for Offshore Applications Manufactured by a New Thermo-Mechanical Rolling Process, Proceedings of Corrosion 2011, March 10th—15th 2010, NACE, Houston, USA, 2011, pp. 1–13.
16. Gideon, B., L. Ward, and G. Biddle."Duplex stainless steel welds and theirs usceptibility to intergranular corrosion." Journal of Minerals and Materials Characterization and Engineering 7.03 (2008): 247.
17. Aydoğdu, G. H.; Aydinol, M. K. Determination of susceptibility to intergranular corrosion and electrochemical reactivation behavior of AISI 316L type stainlesssteel. Corrosion Science 48.11 (2006): 3565-3583.
18. Maday, M. F.; Mignone, A.; Vittori, M. The applicationoftheelectrochemicalpotentiokinetic reactivationmethod for detecting sensitization in Inconel 600.The influence of some testing parameters. Corr. Sci. 28 (9) (1988) 887–900.
19. Petzow. G, Metallographisches Atzen (Materialkundlich-technische Reihe). Gebruder Borntraeger Berlin – Stuttgart. 1976.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

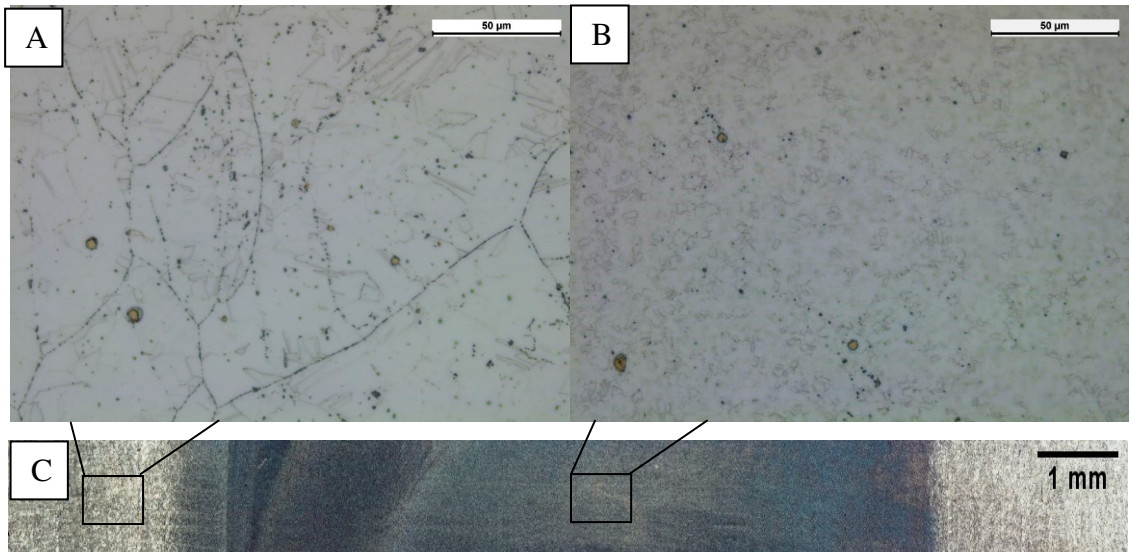


Figura 2. *Antes do ToTo: (a)Micrografia do metal base, (b) micrografia da parte central da solda e (c)macrografia da superfície de topo da junta soldada.*

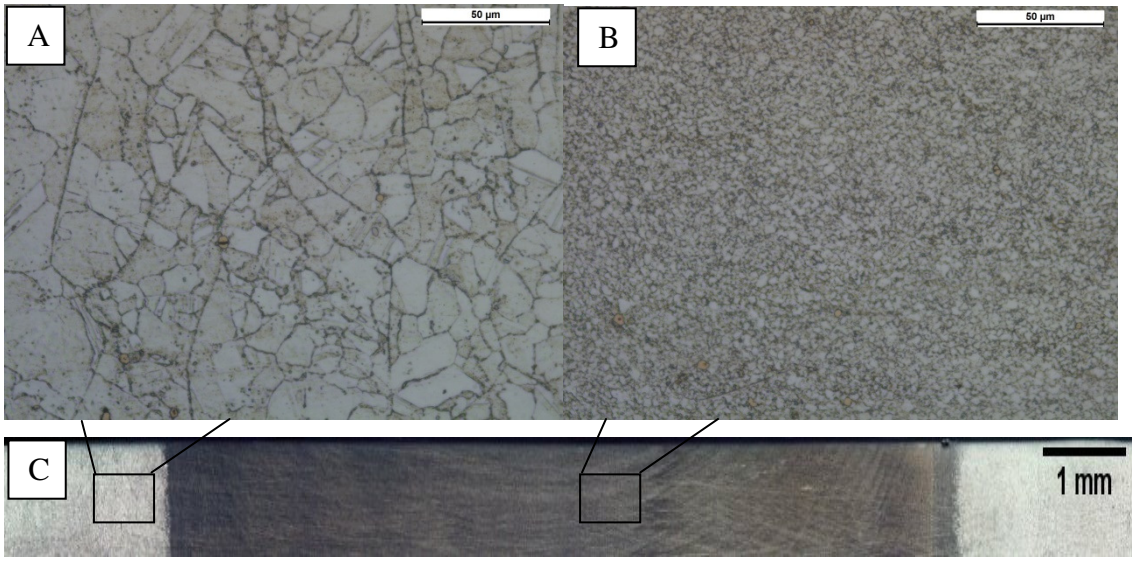


Figura 3. *Depois do ToTo: (a)Micrografia do metal base, (b) Micrografia da parte central da solda e (c)Macrografia da superfície de topo da junta soldada.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

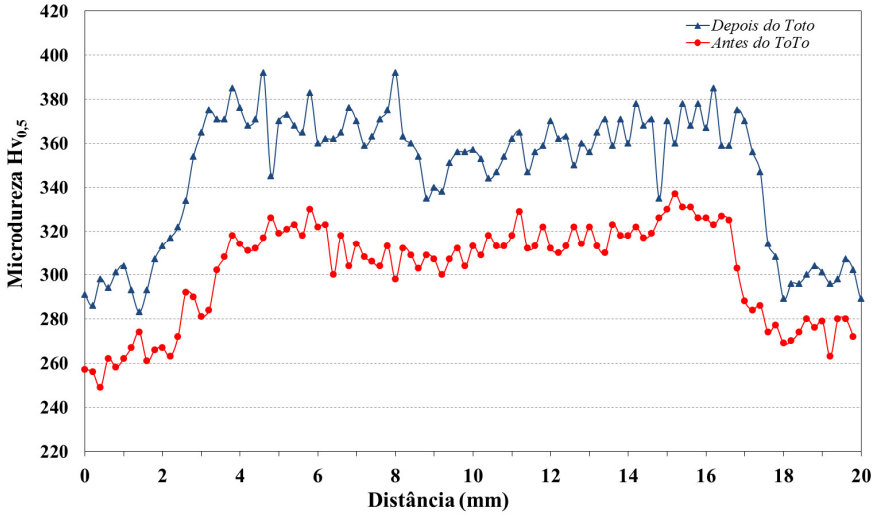


Figura 4. *Perfis de microdureza para as chapas soldadas (antes e depois do tratamento térmico).*

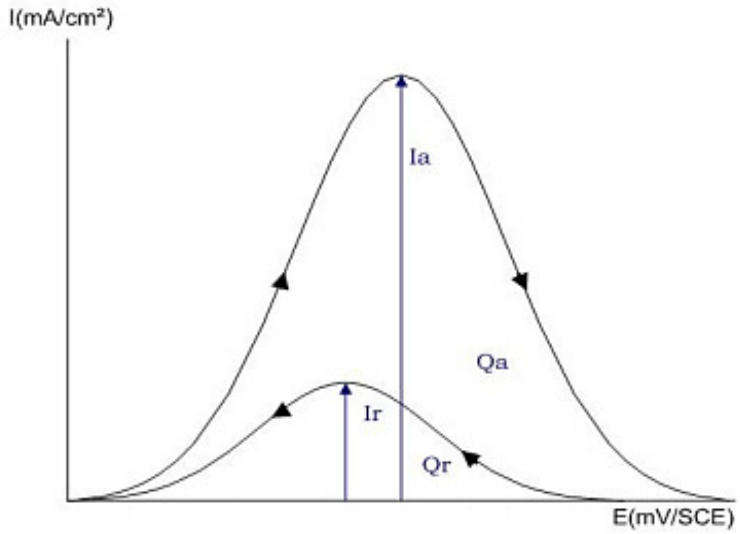


Figura 5. *Princípio do ensaio de reativação potenciocinético de ciclo duplo (GIDEON, WARD e BIDDLE, 2008).*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

ESTUDO DO TRATAMENTO TÉRMICO DE AUSTÊMPERA EM FERRO FUNDIDO NODULAR: ANÁLISE DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E MICROESTRUTURAIS, SEGUNDO A NORMA A897M *STANDARD SPECIFICATION FOR AUSTEMPERED DUCTILE IRON CASTINGS*

AUSTEMPERING HEAT TREATMENT STUDY OF CAST DUCTILE IRON: ANALYSIS OF MECHANICAL AND MICROSTRUCTURAL PROPERTIES, ACCORDING TO THE A897M STANDARD SPECIFICATIONS FOR AUSTEMPERED DUCTILE IRON CASTINGS

SCHIFINO, Alessandra Regina Machado[1*]; SANT'ANNA, Felipe Riegel[2]; TRINDADE, Alexandre Pinto[3].

[1] Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Laboratório de Metalurgia Física, Av. Osvaldo Aranha, 99/610, cep 23456-009, Porto Alegre – RS, Brasil
(fone: +55 51 3308 4251, +55 51 3308 4246)

[2] Fundimisa Fundição e Usinagem, Rua Giruá, 50, cep 98805-540, Santo Ângelo – RS, Brasil
(fone: +55 55 3313 900)

[3] Grefortec, Av. Getúlio Vargas, 3725, cep 93025-000, São Leopoldo – RS, Brasil
(fone: +55 51 3592 7111, +55 51 99332 6444)

** Autor correspondente*
e-mail: alessandraschifino@gmail.com

Received 12 June 2017; received in revised form 17 August 2017; accepted 18 September 2017

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi realizar o desenvolvimento dos parâmetros de tratamento térmico, de uma liga em ferro fundido austemperado ASTM 897/A 897M - 1400/1100/1, para a produção de um suporte de molas de caminhão. O ferro fundido nodular austemperado, conhecido pela sigla na língua inglesa por ADI - *Austempered Ductile Iron* - trata-se de uma classe de ferro fundido nodular que, após o tratamento térmico de austêmpera sofre um significativo aumento de suas propriedades mecânicas e tenacidade (Machado, 2007). Os ensaios mecânicos e metalográficos demonstraram a grande influência que o nível de micro-rechupes tem no alongamento e resistência mecânica do material. Geralmente os ensaios de tração demonstram elevado alongamento devido à mínima presença de micro-rechupes e segregações na matriz metálica do material, além da presença de austenita retida com alto carbono na matriz do ADI. Foram feitas análises a fim de identificar se foram alcançadas as propriedades mecânicas requeridas pela norma ASTM 897/A897M. Dentro desta norma, podem-se obter quatro graus, O grau de interesse neste estudo é a 1400/1100/1, que é o grau solicitado pela empresa, para que o suporte de molas de caminhão possa ser colocado em serviço. Os ensaios realizados foram de tração, *Charpy* e microscopia óptica.

Palavras-chave: *Ferro fundido nodular; Tratamento térmico; Austêmpera; Norma A897M.*

ABSTRACT

The objective of this work was to develop heat treatment parameters of an austempered cast iron alloy ASTM 897 / A 897M - 1400/1100/1, aiming at the production of a truck spring support. The austempered nodular cast iron, known by the acronym ADI - Austempered Ductile Iron - is a class of nodular cast iron that, after austempered thermal treatment, increases significantly its mechanical properties and tenacity (Machado, 2007). Mechanical and metallographic tests demonstrated the great influence that the level of microshrinkage has on the elongation and mechanical resistance of the material. Generally, tensile tests demonstrate high elongation due to minimal presence of microshrinkage and segregations in the metallic matrix of the material, as well as to the presence of austenite with high carbon retained in the ADI matrix. Analyzes were performed to determine if the mechanical properties required by ASTM 897 / A897M were achieved. Within this standard, four

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

degrees can be obtained. The degree of interest in this study was 1400/1100/1, which is the grade requested by the company, so that the truck spring support can be put into service. Tensile, Charpy and optical microscopy tests were carried out.

Keywords: *Nodular cast iron; Heat treatment; Austempering; Standard A897M*

INTRODUÇÃO

Em 1948 a BCIRA (*British Cast Iron Research Association*) e a INCA (*International Nickel Company*) anunciaram o desenvolvimento do ferro fundido nodular. Assim, também, iniciou-se na década de 50 do século vinte o desenvolvimento do processo de austêmpera de ferro fundido nodular (Hayryen, 2002).

A estrutura resultante da austêmpera do ferro fundido nodular, foi denominada por Kovacs (1990) como Ausferrita. A austêmpera do ferro fundido nodular é o tratamento térmico que propicia a melhor combinação de propriedades mecânicas (resistência mecânica, tenacidade e resistência ao desgaste) se comparado a outros tratamentos térmicos aplicados no material. Portanto, desde a metade da década de 1970, o material vem sendo aplicado na Finlândia e nos Estados Unidos, inicialmente em engrenagens em geral e em sistemas de engrenagens na indústria automobilística.

Atualmente o ferro fundido austemperado encontra-se com uma produção estimada de 181.436 (Keough, 2002) toneladas anuais, produzidas em todos os continentes.

O ADI, possui uma ótima relação entre a resistência mecânica e densidade, aliada a uma boa resistência à fadiga (Hayrynen *et al*., 2002). Adicionalmente, a densidade do ferro fundido austemperado é aproximadamente 10% menor do que a densidade do aço. Adicionalmente, o ADI apresenta uma resistência mecânica três vezes maior e duas vezes e meia a densidade do alumínio; assim, no mesmo sentido que o aço, o ADI pode substituir ligas de alumínio com o mesmo ou alguma redução de peso, porém com substancial redução de custos (Hayrynen, *et al*., 2002; Röhrig, 2002).

Durante a solidificação do ferro fundido nodular, a fase mais desfavorável para nuclear e crescer é a grafita, devido ao mecanismo de crescimento ser divorciado (Santos, 1998). Isto significa que a grafita, inicialmente, nucleará no líquido e será rapidamente envolta por uma capa de austenita. Segundo relato por Jiyang (1993), se o envolvimento da capa de austenita no nódulo for rápido, haverá a formação de nódulos pequenos e redondos devido à dificuldade da entrada do carbono proveniente do líquido. Entretanto, se o envolvimento da capa de austenita for lento, haverá a presença de veios de líquido que favorecerão o carbono do líquido chegar mais rápido ao nódulo, mas somente em determinados pontos, o que irá gerar o crescimento irregular dos nódulos (grafita degenerada). Assim, sem o envolvimento do nódulo pela capa de austenita, este se degenera em muitas direções. As grafitas degeneradas são responsáveis pela redução das propriedades mecânicas no estado bruto de fusão e, por consequência, após a austêmpera do material (Santos, 1998).

A fase inicial, gerada na solidificação do ferro fundido nodular é a austenita, que nucleou abaixo da linha liquidus; onde o teor de carbono dissolvido na austenita e no líquido remanescente é alto. O carbono equivalente será o do eutético estável e a nucleação e o crescimento das células ocorrem com a liberação do calor latente que irá favorecer a recalescência, que é o aumento da temperatura do líquido para iniciar a reação eutética (Lussoli, 2003).

Adicionalmente, a utilização combinada de ambos os elementos (S e O) através de uma pós-inoculação, é uma nova abordagem que tem sido utilizada combinada com a utilização simultânea de cério e cálcio, para obterem-se melhoras significativas na eficiência da nucleação em todo o período de solidificação do metal (Skaland, 2002). Portanto, nos ferros fundidos nodulares (precursores dos ADI) a inoculação possibilita elevar o número de nódulos, aumentar a quantidade de ferrita presente na microestrutura, obter melhor nodularidade da grafita e diminuir a tendência à formação de microporosidades e carbonetos (Santos, 1991).

Define-se austêmpera, como um tratamento isotérmico, que aplicado ao ferro fundido nodular, incrementa as propriedades mecânicas e a tenacidade. Em termos gerais, o processo consiste do aquecimento do material para completa austenitização em temperaturas

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

entre 850 ºC a 950 ºC. O material é mantido nestes níveis de temperatura de tratamento, até que a matriz do ferro fundido nodular, seja uniformemente composta de austenita saturada com carbono em equilíbrio. Então, segue-se rápido resfriamento até a temperatura de austêmpera, usualmente entre 230ºC a 400ºC, que será isotermicamente mantida até que a transformação da matriz do ferro fundido nodular, torne-se completamente ausferrítica (Hayrynen, *et al*., 2002).

A estrutura formada pela ferrita, austenita e carbonetos precipitados, tem a energia livre menor do que a estrutura composta de austenita com alto teor de carbono (γ_H) e ferrita acicular (α). Se o tempo de manutenção do material na etapa II for muito longo, a austenita tende a desaparecer e a ferrita acicular e os carbonetos formam uma estrutura ainda mais estável denominada bainita. A estrutura bainítica, é indesejável para o nodular austemperado, por ser deletéria as propriedades mecânicas do material, principalmente, para a tenacidade e a ductilidade do ADI (Viáfara e Vélez, 2005).

Deste modo, o processo de austêmpera é dividido em dois estágios; o final do primeiro estágio corresponde à maximização da fração de ferrita acicular (α) e austenita com alto teor de carbono (γ_H) e o segundo estágio corresponde ao início da precipitação de carbonetos. O intervalo de tempo entre os dois estágios, é denominado de janela de processo de tratamento térmico de austêmpera (Yescas, *et al*., 2001).

Segundo Thomson (2000), a temperatura e o tempo de austenitização são fatores críticos para a produção de ferro fundido austemperado, pois determinarão a quantidade de carbono contido na matriz austenítica, usualmente, entre temperaturas de 850 a 950 ºC, a variação de temperatura deve ser de ±10 ºC, (Carmo, 2001; Restrepo e González, 2004) para a subsequente transformação isotérmica da matriz austenítica para ausferrítica.

Em termos da quantidade de carbono na austenita retida ($C\gamma$), considerações termodinâmicas indicam que para uma dada condição de austêmpera, $C\gamma$ é independente da temperatura de austenitização do material (Bahmani, 1997; Putatunda e Gadicherla, 1999). Entretanto, uma redução na temperatura de austenitização, aumenta a força motriz para a redução do primeiro estágio, sem ter um efeito significativo no segundo estágio de austêmpera, ou seja, expande a amplitude da janela de processo. No mesmo sentido, Putatunda e Gadicherla (1999) relatam que a força motriz para a reação do primeiro estágio decresce com o incremento da temperatura de austenitização e concluem que em altas temperaturas de austenitização a austenita torna-se mais estável; isto diminui a nucleação de ferrita (durante a operação de austêmpera) e reduz a cinética do primeiro estágio. No que concerne a quantidade de austenita estabilizada pelo alto teor de carbono (γ_H), a mesma é uma função diretamente proporcional ao aumento da temperatura de austenitização, no intervalo usual de austenitização do material entre 850 a 950 ºC.

Decorrida a austenitização, o material será resfriado até a temperatura de austêmpera (T_A), o tratamento isotérmico, permitirá a supersaturação da austenita com carbono para formação da estrutura ausferrítica.

A temperatura de austêmpera varia entre 230 e 400 ºC, com tolerância recomendada de ± 8 ºC e o tempo de manutenção em temperatura entre 30 e 240 minutos. A escolha da temperatura de austêmpera determinará o grau de propriedades mecânicas que o material terá, ou seja, baixas temperaturas de austêmpera ($T_A \leq 350$ ºC) produzirão maiores valores de resistência mecânica, limite de escoamento e dureza. Por outro lado, altas temperaturas de austêmpera, produzirão maiores valores de alongamento, energia absorvida ao impacto e resistência à fadiga (Hayrynen, 2002; Carmo, 2001; Hayrynen, 1995; Campos-Cambranis, 1998).

Todas estas variáveis terão resultado direto nas propriedades do ferro fundido ausferrítico. A austêmpera é um tratamento isotérmico, que aplicado ao ferro fundido nodular, incrementa as propriedades mecânicas e a tenacidade. O processo consiste em aquecer o material para completa austenitização em temperaturas entre 850 e 950°C. O material é mantido nestes níveis de temperatura de tratamento, até que a matriz do ferro fundido nodular seja uniformemente composta de austenita saturada com carbono em equilíbrio. Então, em seguida é realizado um rápido resfriamento até a temperatura de austêmpera, usualmente entre 230 e 400°C.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização deste estudo foi realizado o tratamento térmico de austêmpera

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

em forno de poço (banho de sal), onde duas cargas idênticas foram realizadas, na empresa GREFORTEC, utilizando-se os parâmetros da Tabela 1.

Foram utilizados suportes para imersão das peças, com duas unidades em cada. Após a realização do tratamento térmico, as peças foram enviadas ao SENAI CETEMP-LABORATORIO DE ENSAIOS E CALIBRAÇÂO/São Leopoldo, RS, para a realização da usinagem. Efetuando-se assim os ensaios de tração, *Charpy* e dureza Brinell.

2.1 Ensaios de Tração

Os ensaios foram realizados através da medição do diâmetro inicial da amostra, traçando o comprimento inicial padrão e assim sendo colocado nas garras da máquina de ensaio, realizando-se o ensaio de tração. Utilizou-se: máquina universal de ensaios de tração, paquímetro e termohigrômetro, todos os equipamentos certificados pelo próprio SENAI-CETEMP/São Leopoldo, RS. Seguindo a norma ABNT NBR ISO 6892 - 1. Apresentados na Tabela 2.

2.2 Ensaios *Charpy* e Dureza Brinell

Os ensaios foram realizados através da medição dos lados e do comprimento da amostra na posição do ensaio, obtendo assim a energia absorvida no impacto. As medidas são apresentadas nas Tabelas 3, 4 e 5. Utilizou-se: máquina de ensaios de impacto e termohigrômetro, todos os equipamentos certificados pelo próprio SENAI-CETEMP/São Leopoldo, RS. Seguindo a norma ASTM e 23. As durezas superficiais foram feitas na empresa GREFORTEC no durômetro PAN701 da marca OPITI MESS calibrado em 17 de abril de 2014.

2.3 Análises Metalográficas

Os ensaios foram realizados na empresa GREFORTEC, utilizando microscópio óptico da marca OPTI MESS. Os corpos de prova foram preparados utilizando-se as amostras já usinadas anteriormente, as mesmas foram lixadas em lixas com granulometria 200, 400, 600 e depois polidas com pasta de alumina e realizado o ataque com reagente Nital 2% (2ml HNO3 + 98ml Álcool Etílico)**,** segundo a norma ASTM E407 - 07(2015) e1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nessa etapa do estudo, e com base nos objetivos propostos são apresentados os resultados de forma comparativa da norma A897M *Standard Specification for Austempered Ductile Iron Castings* com o material tratado pela GREFORTEC. Parâmetros da norma apresentados na Tabela 6.

3.1 Ensaios de Tração

A Tabela 7 demonstra que os resultados para as mostras 1, 2 e 3 não alcançam exatamente o valor exigido pela norma A897M grau 1400/1100/1, porém o resultado é muito próximo, sendo então considerado como resultado positivo no tratamento térmico de austêmpera. Entretanto, as análises metalográficas destas amostras, representadas nas Figuras 6 e 7, indicam ocorrência de microporosidades, que afetam de modo deletério o alongamento e a resistência mecânica do material austemperado. Portanto, possivelmente outros parâmetros de tratamento térmico atingiram as especificações de propriedades mecânicas do material, outro ponto importante é averiguar se as porosidades estão presentes na matriz, pois podem ser causa de fragilização.

A seguir, os resultados obtidos nos ensaios de tração de forma gráfica, para que se possa comparar as propriedades mecânicas obtidas nos testes com a norma. Assim, as Figuras 1, 2 e 3 apresentam os resultados da resistência mecânica, em função do alongamento e o limite de escoamento em função da resistência mecânica e do alongamento. A linha contínua representa os requisitos mínimos da norma ASTM A897 para alguns graus conhecidos de austêmpera; portanto, os pontos acima da linha cheia, amostras 2 e 3, representa que foram atingidos os requisitos da norma, e os pontos abaixo da linha contínua, amostra, representa a amostra que não atingiu os requisitos mínimos.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

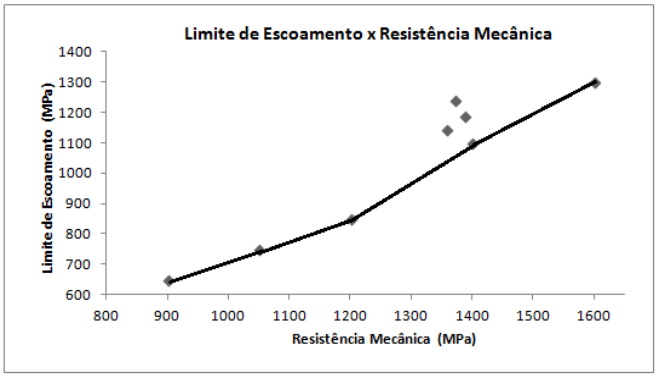


Figura 1. *Resistência mecânica em função do alongamento, onde os pontos acima da linha contínua e após 1 % de alongamento, atingiram o grau 1400/1100/1 de austêmpera.*

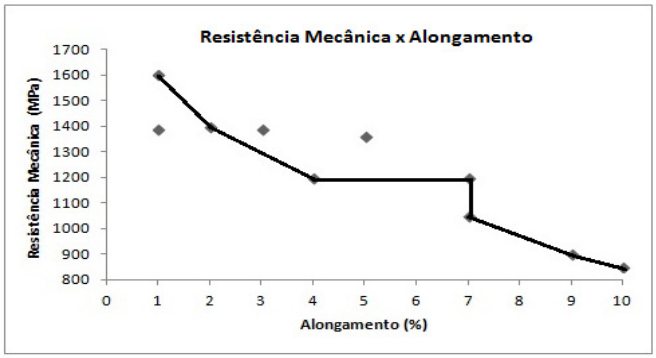


Figura 2. *Limite de escoamento em função da resistência mecânica, onde os pontos acima da linha contínua e após 1350 MPa de resistência mecânica, atingiram o grau 1400/1100/1 austêmpera.*

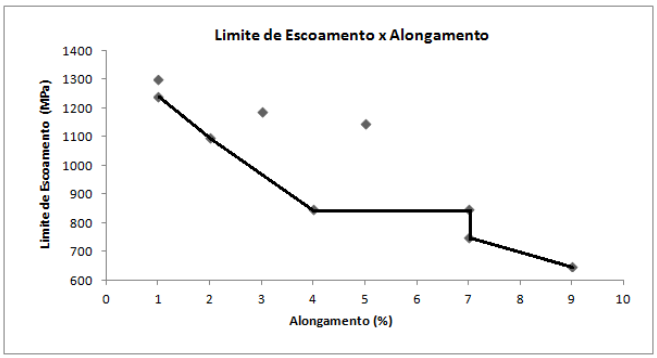


Figura 3. *Limite de escoamento em função do alongamento, onde pontos acima da linha contínua e após o limite de escoamento de 1%, atingiram o grau 1400/1100/1 de austêmpera.*

3.2 Ensaios de Impacto – *Charpy*.

Os resultados do teste de impacto *Charpy* para as amostras 2 e 3, foram satisfatórios, pois alcançaram a energia mínima de 35 J, que a norma especifica para o teste, este resultado foi atribuído ao nível de austenita retida na matriz do material, porém a amostra 1 não alcançou o limite mínimo, pois sua microestrutura não apresentava a quantidade ideal de austenita retida, sendo esta a microestrutura que concede dureza e resistência mecânica a peça. As Tabelas 8, 9 e 10 apresentam os resultados obtidos, e a Figura 4, a energia absorvida em função da dureza de cada peça.

Para estar de acordo com a norma A897M grau 1400/1100/1 os dois itens devem ser afirmativos, constatando-se assim que a amostra 2 e 3 estão de acordo e a amostra 1 está muito próxima do valor de 35J. Dados apresentados na Tabela 11.

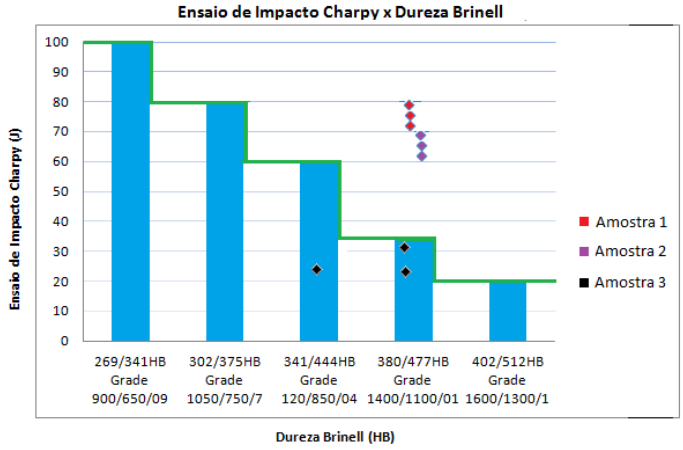


Figura 4. *Ensaio de Impacto Charpy em função da dureza Brinell, onde os pontos coloridos indicam os valores da energia absorvida no ensaio de Charpy e seu respectivo grau, conforme a norma ASTM A897. Sendo a linha verde o valor mínimo de energia absorvida que deve ser alcançado em cada grau.*

3.3 Análises Metalográficas

As microestruturas das 3 amostras analisadas apresentam características semelhantes, pois os resultados alcançados obtiveram boa repetitividade. As análises metalográficas do ADI apresentaram estrutura austferrítica. Como pode ser visto na figura 5 esta estrutura é composta por austenita retida estabilizada por carbono que confere ductilidade ao material e por ferrita acicular que é responsável pela resistência mecânica. A microestrutura mesclada demonstra que o tempo de austêmpera próximo aos nódulos de grafita é mais longo do que a meia distância deles.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Observa-se na Figura 5, que a baixa contagem de nódulos, favorece a segregação de elementos de liga tais como manganês e molibdênio. A literatura recomenda no máximo 1% de porosidades para não haver comprometimento do alongamento e resistência mecânica do material.

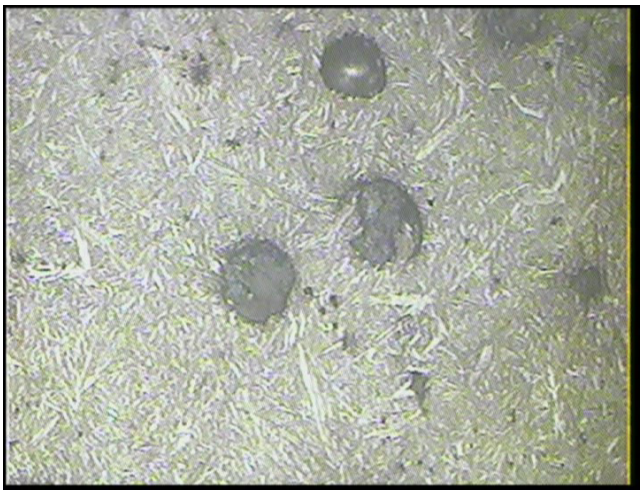


Figura 5. *Microestrutura ADI, composta de ferrita acicular (escura) e austenita retida (clara). Aumento 400x. Ataque Nital 2%.*

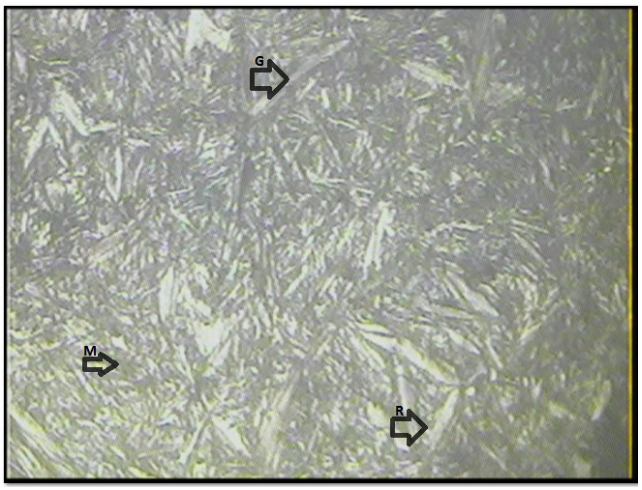


Figura 6. *Microestrutura ADI anterior, porém, com maior aumento, composta de estrutura mesclada com agulhas de ferrita refinadas (R), grosseiras (G), massivas (M) e austenita retida. Aumento 1000x. Nital 2%.*

Figura 7. *Microestrutura do ferro fundido base, onde se observa a presença de micro-rechupes. Aumento: 100x. Ataque: Sem ataque.*

CONCLUSÕES:

No ensaio *Charpy*, os resultados alcançados foram satisfatórios. No caso da dureza Brinell existe uma homogeneidade dos valores, não sendo afetada pelos micro-rechupes. Já no ensaio de tração, para se alcançar os padrões especificados pela norma A897M grau 1400/1100/1, foi usado um ensaio sem entalhe, pois assim o entalhe não dissipa a energia que deveria ser absorvida pelo corpo de prova. Sendo assim, apesar dos micro-rechupes em algumas das amostras, as mesmas se encontram dentro dos valores especificados pela norma para o limite de escoamento com uma pequena variação para baixo da resistência a tração, não significativa, estando também nas condições exigidas pela norma. Alterações na composição química e maior refino dos nódulos de grafita poderão influenciar na melhoria das propriedades mecânicas e no processo de tratamento térmico do material.

REFERÊNCIAS:

1. American Society for Testing Materials – ASTM 897/A 897 – 06, Standard Specification for Austempered Ductile Iron Castigs. Reapproved 2011.
2. Machado, M.A.; Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2007.
3. Hayrynen, K.L.; The Production of Austempered Ductile Iron (ADI), World Conference on ADI, Louisville, Kentucky, EUA, 2002.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

4. Kovacs, B.V.; Modern Casting, 1990, 80.
5. Hayrynen, K.L.; Branderberg, K.R., Keough, J.R.; AFSTrans, 2002, 02-084.
6. Keough, J.R.; ADI Developments in North America – Revisited 2002, World Conference on ADI, Louisville, Kentucky, EUA, 2002.
7. Röhrig, K.; Europäische ADI – Entwicklungs – konferenz – Eigenschaften, Bauteil – entwicklung ung Anwendungen, Hannover Messe Industrie, 2002.
8. Santos, A.B.S.; Congresso Anual da Associação Brasileira de metalurgia e materiais – ABM, Belo Horizonte, Brasil, 1998.
9. Jiyang et al.; *Fundição & Serviços, ago. - Set., 1993.*
10. Lussoli, R.J.; Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 2003.
11. Skaland, T.; Ductile Iron Shrinkage Control Through Graphite Nucleation and Growth, 2002.
12. Santos, A.B.S.; Castelo Branco, C.H.; Metalurgia dos Ferros Fundidos Cinzentos e Nodulares; IPT: São Paulo, 1991.
13. Carmo, D.J.; Ferro Fundido Austemperado – ADI, Senai, Belo Horizonte, Brasil, 2001.
14. Viáfara, C.; Vélez, J.M.; Ingeniería y Ciencia, 2005, 1, 2.
15. Yescas, M.A.; Bhadeshia, H.K.D.H.; Mackay, D.J.; Materials Science and Engineering, 2001, A311.
16. Bahmani, M.; Elliott, R.; Varahram, N.; Journal of Materials Science, 1997, 32.
17. Thompson, R.C.; James, J.S.; Putman, D.C.; Materials Science and Technology, 2000, 16.
18. Putatunda, S.K.; Gadicherla, P.K.; Material Science and Engineering, 1999.
19. Restrepo, H.S.; González, J.O.; Revista Universidad EAFIT, 2004, 134.
20. Hayrynen, K.; Modern Casting, 1995.
21. Campos-Cambranis, R.E.; Scripta Materialia, 1998, 38, 8.
22. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR ISO 6892 - 1. Materiais metálicos - Ensaio de Tração - Parte 1: Método de ensaio à temperatura ambiente. 2013.
23. American Society for Testing Materials – Standard Test Methods for Notched Bar Impact Testing of Metallic Materials.2016.
24. American Society for Testing Materials - Standard Practice for Microetching Metals and Alloys. 2015.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 1. *Parâmetros Tratamento Térmico GREFOREC*

Tratamento	Pré Aquecimento	Austeniti-zação	Austêm-pera
Temperatura	450°C	900°C	270°C
Tempo	-	60 min	60 min

Tabela 2. *Dimensões Corpo de Prova Ensaio de Tração*

Amostra	**1**	**2**	**3**
Formato da Amostra	Cilíndrico	Cilíndrico	Cilíndrico
Material da Amostra	ADI	ADI	ADI
Diâmetro Inicial da Amostra	12,41 mm	12,39 mm	12,41mm
Diâmetro final da Amostra	12,37 mm	12,21mm	12,06 mm
Comprimento Inicial da Amostra	50,00 mm	50,00 mm	50,00 mm
Comprimento Final da Amostra	50,57 mm	51,53 mm	52,36 mm
Área Inicial da Amostra	121,0 mm	120,6 mm	121,0 mm
Área Final da Amostra	120,2 mm	117,1 mm	114,2 mm

Tabela 3. *Dimensões Corpo de Prova Ensaio de Charpy*

Amostra 1	**CP1**	**CP2**	**CP3**
Formato da Amostra	Quadrado	Quadrado	Quadrado
Material	ADI	ADI	ADI
Lado 1	10,286 mm	10,170 mm	10,262 mm
Lado 2	9,913 mm	10,192 mm	10,460 mm
Comprimento	55,95 mm	54,30 mm	55,73 mm
Temperatura	20°C	20°C	20°C

CP- Corpo de Prova

Tabela 4. *Dimensões Corpo de Prova Ensaio de Charpy*

Amostra 2	**CP1**	**CP2**	**CP3**
Formato da Amostra	Quadrado	Quadrado	Quadrado
Material	ADI	ADI	ADI
Lado 1	10,216 mm	10,429 mm	10,176 mm
Lado 2	10,123 mm	10,304 mm	10,242 mm
Comprimento	56,19 mm	55,79 mm	54,72 mm
Temperatura	20°C	20°C	20°C

© 2010. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 5. *Dimensões Corpo de Prova Ensaio de Charpy*

Amostra 3	CP1	CP2	CP3
Formato da Amostra	Quadrado	Quadrado	Quadrado
Material	ADI	ADI	ADI
Lado 1	10,201 mm	10,486 mm	10,430 mm
Lado 2	10,208 mm	10,489 mm	10,212 mm
Comprimento	55,01 mm	55,03 mm	54,74 mm
Temperatura	20°C	20°C	20°C

Tabela 6. *Norma A897M Standard Specification for Austempered Ductile Iron Castings*

Grau	1400/1100/1
Resistência à tração	≥1400 MPa
Limite de escoamento	≤1100 MPa
Energia de Impacto	≤35 J
Alongamento	1%
Brinell Hardness	≤380 ≥477

Fonte: Norma ASTM A897/A897M – 06 (Reapproved 2011) - *Standard Specification for Austempered Ductile Iron Castings.*

Tabela 7. *Resultado Ensaio de Tração*

Amostra	1	2	3
Resistência à tração	1372 MPa	1387 MPa	1359 MPa
Limite de Escoamento	1241 MPa	1189 MPa	1147 MPa
Alongamento	≥1%	≥3%	≥5%

© 2010. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 8. *Ensaio de Impacto Charpy e Dureza Brinell*

Amostra 1	**CP1**	**CP2**	**CP3**
Tipo de Entalhe	Sem Entalhe	Sem Entalhe	Sem Entalhe
Energia Potencial	30kpm	30kpm	30kpm
Energia Absorvida	23,5J	33,3J	23,5J
Média de Energia		26,8J	
Dureza Brinell Média	381HB	381HB	371HB

1 kpm= 9,79278 J

Tabela 9. *Ensaio de Impacto Charpy e Dureza Brinell*

Amostra 2	**CP1**	**CP2**	**CP3**
Tipo de Entalhe	Sem Entalhe	Sem Entalhe	Sem Entalhe
Energia Potencial	30kpm	30kpm	30kpm
Energia Absorvida	47,0J	72,5J	68,5J
Média de Energia		62,7J	
Dureza Brinell Média	415HB	405HB	415HB

Tabela 10. *Ensaio de Impacto Charpy e Dureza Brinell*

Amostra 3	**CP1**	**CP2**	**CP3**
Tipo de Entalhe	Sem Entalhe	Sem Entalhe	Sem Entalhe
Energia Potencial	30kpm	30kpm	30kpm
Energia Absorvida	72,5J	74,4J	76,4J
Média de Energia		74,4J	
Dureza Brinell Média	390HB	400HB	390HB

© 2010. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 11. *Resultados – Corpos de Prova.*

	Corpo de Prova	**Dureza Brinell**	**Ensaio de Impacto *Charpy***
Amostra 1	1	Sim	Não
	2	Sim	Não
	3	Não	Não
Amostra 2	1	Sim	Sim
	2	Sim	Sim
	3	Sim	Sim
Amostra 3	1	SIm	Sim
	2	Sim	Sim
	3	Sim	Sim

© 2010. Porto Alegre, RS. Brasil

SÍNTESE DE ESPUMA VÍTREA COM ÓXIDO DE ZINCO IMOBILIZADO PARA FOTODEGRADAÇÃO DE ALIZARINA S EM SOLUÇÃO AQUOSA

SYNTHESIS OF FOAM GLASS WITH IMMOBILIZED ZINC OXIDE FOR PHOTODEGRADATION OF ALIZARIN S IN AQUEOUS SOLUTION

RANGEL, Eduarda Medran[1]; CARVALHO, Caroline de Oliveira[1]; ARSAND, Daniel Ricardo*[1]

[1] O Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense, Praça 20 de setembro, 455, CEP 96.015-360, Pelotas – RS, Brasil. Programa de Pós-graduação em Eng.ª e Ciências Ambientais. (fone: +55 53 2123 1000)

** Autor correspondente*
e-mail: danielarsand@pelotas.ifsul.edu.br

Received 02 August 2017; accepted 21 September 2017

RESUMO

O tratamento de efluentes é primordial para a manutenção da qualidade dos recursos hídricos. Dentre os tratamentos utilizados, a fotodegradação vem ganhando destaque. Apesar de promissora, a separação/recuperação dos fotocatalisadores em suspensão é laboriosa e de alto custo. Ainda, a disposição incorreta de resíduos gera preocupação, como exemplo, tem-se o vidro oriundo de lâmpadas fluorescentes, que apresenta difícil destinação e recuperação. Diante deste contexto, esse trabalho teve como objetivo sintetizar espuma vítrea como substrato para o catalisador (ZnO) a partir de resíduos de vidro de lâmpadas fluorescentes e $CaCO_3$ como agente espumante, observando a eficiência deste material na fotodegradação do corante Alizarina S em solução aquosa. Para a obtenção da espuma vítrea catalisadora, foi feita a caracterização do vidro e do agente espumante, seguida pela sua formulação, conformação e queima. Por fim, os testes de fotodegradação do corante foram feitos. Os resultados permitem concluir que as espumas vítreas mostram grande potencial como suporte para o ZnO em técnicas fotodegradativas catalisadas, apresentando resultados semelhantes quando comparadas com ZnO em suspensão. Vale destacar que o material produzido reduz o impacto ambiental causado pela destinação incorreta de lâmpadas fluorescentes e soluciona um problema no processo de tratamento de efluentes.

Palavras-chave: *Corante, lâmpada fluorescente, resíduos, ZnO, suporte*.

ABSTRACT

The treatment of effluents is essential for the maintenance of the quality of water resources. Among the treatments used, photodegradation is on the rise. Although it is promising, the separation/recovery of photocatalysts in suspension is laborious and costly. In addition, the incorrect disposition of residues causes concern, for example, the glass originated from fluorescent lamps, which presents difficult destination and recovery. In this context, the objective of this work was to synthesize foam glass as substrate for the catalyst (ZnO), from glass residues of fluorescent lamps applying CaCO3 as foaming agent, observing the efficiency of this material in the photodegradation of Alizarin S dye in aqueous solution. To obtain the catalyst foam glass, the characterization was made on the glass and in the foaming agent, followed by its formulation, conformation and burning. Finally, the dye photodegradation tests were done. The results allow to conclude that the foam glass show a great potential as a support for ZnO in catalyzed photodegradation techniques, presenting very similar results when compared to suspended ZnO. It is worth mentioning that the material produced reduces the environmental impact caused by incorrect allocation of fluorescent lamps and solves a problem in the effluent treatment process.

Keywords: *Dyes, fluorescent lamp, waste, ZnO, support*.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta uma das maiores economias do seu continente e gera, com população de 204 milhões de habitantes, mais de 208.000 toneladas de resíduos sólidos urbanos (RSU) por dia (Luz *et al.*, 2015). A média de geração *per capita* é de 1,15 Kg de RSU hab^{-1} dia^{-1} (Campos, 2014) e os custos médios de disposição de resíduos sólidos urbanos em aterros varia de U$8,80 ton^{-1} nos aterros controlados pelo município para U$35,10 ton^{-1} em aterros privados (FEAM, 2012). Entre os resíduos gerados, estão aqueles advindos de lâmpadas fluorescentes, que podem resultar na contaminação do ambiente com mercúrio (Viererbl, 2015), metal que pode permanecer biodisponível por vários anos em diversos compartimentos ambientais e causar diversos danos a seres vivos (Tan e Li, 2014). Anualmente, em torno de 100 milhões de lâmpadas fluorescentes são consumidas no Brasil e 94% são descartadas em aterros sanitários sem as devidas precauções (Bacila, 2012). Nesse sentido, é de grande interesse o desenvolvimento de novas tecnologias e/ou novos materiais usando como matéria prima estes resíduos, minimizando impactos ambientais.

Os resíduos de vidro podem ser utilizados como agregado para cimento Portland e concreto asfáltico (Pokony *et al.*, 2008) bem como na produção de espumas vítreas (Souza *et al.*, 2017), material poroso, isolante térmico e acústico com paredes finas de células individuais preenchidas com fase gasosa (Pokorny *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2014). Desta forma, os resíduos de lâmpada fluorescente podem ser atraentes na fabricação de espumas vítreas, dando finalidade a este tipo de resíduo, mitigando impactos ambientais negativos.

Águas residuais geradas em indústrias também são motivo de grande preocupação ambiental e as indústrias têxteis se destacam pelo consumo intenso de água e de corantes que resultam na geração de efluentes com elevado nível de coloração (Kiliç, 2007). Dentre esses corantes figura o Vermelho de Alizarina (1,2-dihidroxiantraquinona-3-sulfonato de sódio), um corante solúvel em água, que tem sido amplamente utilizado em indústrias têxteis como um agente de coloração (Fig. 1) e sua liberação sem os devidos tratamentos de efluentes perturba o ecossistema e constitui uma ameaça direta para os seres humanos (Kansal *et al.*, 2013). Esse tipo de poluente vem chamando a atenção devido sua estrutura complexa de anéis aromáticos que proporcionam elevada estabilidade óptica e físico-química, sendo considerado um poluente recalcitrante e persistente (Fu *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2011) e, portanto, técnicas que removam e/ou degradem este composto são necessárias.

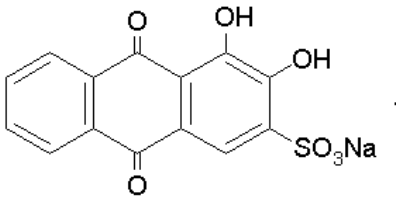


Figura 1. *Estrutura molecular da Alizarina S.*

A fotocatálise, técnica avançada de oxidação (TAO), se mostra como opção para o tratamento de efluentes têxteis (Ribeiro, 2016). Uma das formas de aplicação de catalisadores é seu uso em suspensão. Entretanto, o uso nesta forma traz a necessidade de uma etapa de separação, podendo ser filtração (Khaoulani *et al.*, 2015), nanofiltração (Mondal e De, 2016), microfiltração (Xi, 2001) ou mesmo centrifugação (Buddee, 2011), que são processos caros e morosos. Entre os fotocatalisadores mais difundidos está o dióxido de titânio (TiO_2). Desde 1993, a ideia da utilização de um fotocatalisador imobilizado sobre um suporte inerte começou a investigada (Kim e Park, 2006). Vários estudos e suportes para fotocalisadores vem sendo propostos: zeólitas (Karimi-Shamsabadi e Nezamzadeh-Ejhieh, 2016), polímeros (Zhang *et al.*, 2009), sílica (Shen *et al.*, 2011), nitreto de carbono grafítico (Zheng *et al.*, 2016), carvão ativado (Muthirulan *et al.*, 2013), fibra de vidro (Pham e Lee, 2015), entre outros.

Neste contexto o objetivo deste trabalho foi sintetizar espuma vítrea com propriedades fotodegradativas utilizando óxido de zinco (ZnO) como agente catalisador utilizando como matéria prima resíduos de vidro de lâmpadas fluorescente. A eficiência da espuma vítrea fotodegradativas foi avaliada através da degradação do corante Alizarina S em solução aquosa, dando ao material uso aplicado no tratamento de efluentes de indústrias têxteis. Os autores não encontraram na literatura material com esta composição e finalidade, dando aos

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

resultados carácter de inovação no tratamento fotodegradativo.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido segundo as etapas apresentadas na Figura 2.

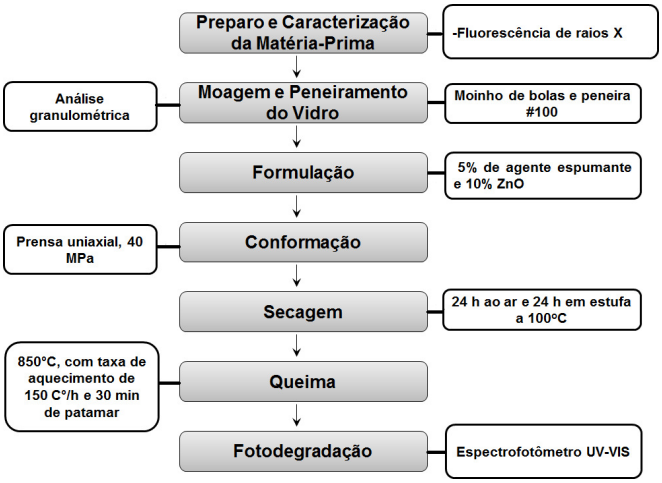


Figura 2. *Fluxograma da metodologia utilizada para a síntese de espuma vítrea com ZnO impregnado e experimentos de fotodegradação.*

2.1. Matérias-primas e caracterização

Para a produção das espumas vítreas foi utilizado vidro de resíduo de lâmpada fluorescente descontaminado (Recilux, Canoas, Brasil), moído em moinho de bolas e peneirado em peneiras #100; como agente espumante, foi utilizado carbonato de cálcio sintético (Dinâmica, 99% de pureza); e ZnO P.A. (Vetec) foi usado como catalisador.

A composição química do vidro e do agente espumante foi determinada por fluorescência de raios-X com auxílio de equipamento Shimatzu, modelo XRF1800. A distribuição granulométrica do vidro e do carbonato de cálcio foi avaliada por granulometria a laser em granulômetro Cilas, modelo 1064.

2.2. Produção da espuma vítrea fotodegradativa – EVF

Os corpos de prova (CPs) de espuma vítrea foram confeccionados com 5% (m m^{-1}) de agente espumante ($CaCO_3$) e 10% (m m^{-1}) de ZnO.

A formulação foi homogeneizada e umidificada com água destilada e deionizada; como ligante foi usado álcool polivinílico (PVA) P.A. (Vetec); as massas foram granuladas em peneira 20 ABNT (abertura 850 µm) para serem, então, conformadas. As conformações foram feitas em prensa uniaxial manual marca Ribeiro, modelo RP0003, com pressão de 40 MPa, em matriz de aço de dimensões 50 mm de diâmetro.

Após a conformação, as peças foram secas em duas etapas: a primeira ao ar livre e temperatura ambiente por 24 h; e a segunda em estufa com temperatura controlada de 100±5ºC por 24 h. Após a secagem, as peças foram calcinadas a 850°C com taxa de aquecimento de 150°C h^{-1} e tempo de patamar de 30 minutos em forno tipo mufla, marca Pechini, modelo FL 1300.

2.3. Teste de degradação fotocatalítica

Os experimentos de fotodegradação foram feitos com reator fotocatalítico tipo *homemade* com capacidade volumétrica de 600 mL de vidro transparente, revestido externamente com alumínio, assistido com fonte de radiação UV-C com 6 W de potência (Figura 3).

Três tipos de experimentos foram feitos para identificar e comparar a fotoatividade da espuma vítrea: fotólise - somente radiação UV-C; fotodegradação heterogênea com catalisador em suspensão 0,2 mg L^{-1} ZnO; e fotodegradação utilizando EVF.

Em todos os experimentos foram usados 0,5 L de solução contendo Alizarina S (Vetec) 1 mg L^{-1} em pH 4, ajustado com solução de ácido nítrico 0,1 mol L^{-1}, conforme Costa e Prado (2009) e Alver *et al*. (2017). Amostras foram coletadas nos tempos: 0; 10; 60; e 120 minutos e estocadas na ausência de luz a 4±1ºC até procedimentos analíticos para determinação da concentração do corante. Os procedimentos analíticos foram feitos com o auxílio de espectrofotômetro UV-VIS, marca Bioespectro modelo 220B. Os experimentos foram realizados em triplicata.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

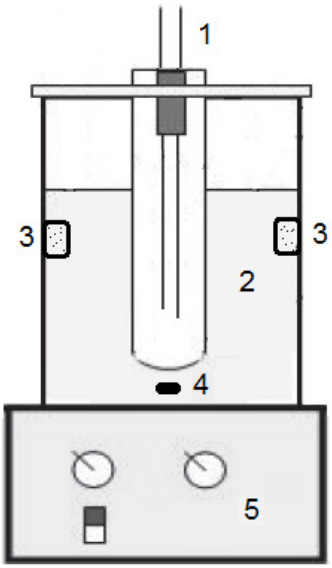


Figura 3. *Reator fotocatalítico: 1) Fonte de radiação UV-C; 2) Solução de trabalho; 3) EVF, nos experimentos usando ZnO suportado; 4) Barra de agitação magnética; e 5) Agitador magnético.*

As eficiências foram calculadas em termos de degradação do corante (Equação 1).

$$Eficiência(\%) = \frac{Cf - Co}{Co} \; x \; 100 \qquad \text{(Eq.1)}$$

onde: Cf (mg L^{-1}) é a concentração final e Co (mg L^{-1}) é a concentração inicial do corante na solução.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

3.1. Caracterização das matérias-primas

Os resultados da composição do vidro e de carbonato de cálcio obtidos por fluorescência de raio-X estão explicitados na Tabela 1.

Pode-se observar na Tabela 1 que o vidro utilizado é majoritariamente composto por SiO_2, CaO e Na_2O, típico vidro sodo-cálcico. No entanto, o carbonato de cálcio possui CaO, SrO e P_2O_5, revelando menor concentração do que o divulgado pela embalagem (99%). A composição química mostra que o vidro possui as características necessárias para produção de espuma vítrea, já que sua composição química deve possuir uma quantidade apropriada de agentes vitrificantes (SiO_2, Al_2O_3), fundentes (Na_2O, K_2O) e estabilizadores (CaO, MgO, ZnO, PbO) que contribuem diferentemente na formação da estrutura vítrea final (Scarinci, 2000).

Os resultados da análise granulométrica do vidro e do agente espumante estão apresentados na Tabela 2.

A influência da granulometria do vidro sodo-cálcico no processo de espumação da espuma vítrea pode ocorrer tanto pelo fenômeno de liberação de CO_2 do carbonato de cálcio quanto no processo de formação de fase vítrea. Partículas maiores apresentam menor reatividade. König *et al.* (2016) afirmam que o tamanho máximo da partícula de vidro e do agente espumante, para uma boa formação da espuma vítrea com baixa densidade, é de 163 µm (D_{90}) e 27 µm (D_{90}), respectivamente. Assim, os resultados confirmam o uso do vidro de lâmpada fluorescente e do $CaCO_3$ utilizados neste trabalho com as características necessárias para o produto: espuma vítrea contendo ZnO como agente catalisador.

3.2. Teste de degradação fotodegradativa

A Figura 4 apresenta os resultados dos experimentos de fotodegradações do corante Alizarina S somente radiação UV (fotólise); com ZnO em suspensão; e com o uso de ZnO sinterizado em espuma vítrea (EVF).

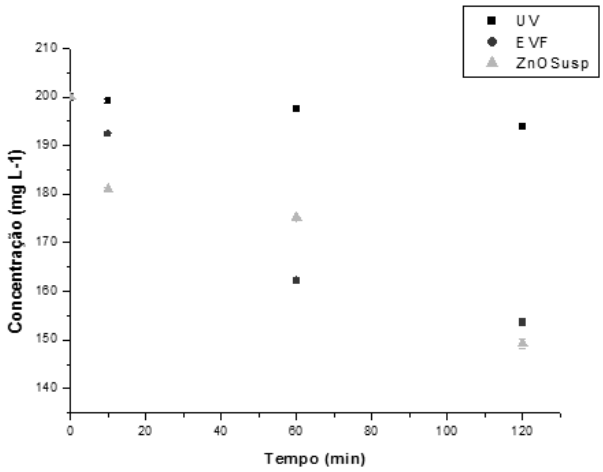


Figura 4. *Variação da concentração do corante Alizarina S nos experimentos de fotodegradação: somente radiação UV-C; ZnO em suspensão; e uso da EVF, em função do tempo.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Utilizando-se ZnO em suspensão, obteve-se 25,37% de degradação do corante Alizarina S em 120 minutos de experimento. Muthirulan *et al.* (2013) analisaram a degradação do corante em experimentos semelhantes e alcançaram 98% de degradação, entretanto, usando fonte de radiação com potência superior a 60 vezes (400 W). Para o experimento utilizando o ZnO imobilizado na espuma vítrea, a eficiência na degradação foi semelhante: 23,2%, mesmo usando uma massa de catalisador superior. Atribui-se ao relativo menor rendimento à diminuição da área de contato entre o corante e o catalisador imobilizado. Este comportamento já foi evidenciado por outros autores (Lei *et al.*, 2012).

A fonte de radiação UV-C sem a presença de catalisador não apresentou atividade fotolítica na degradação de Alizarina S: a diferença entre os resultados obtidos não foi significativa considerando o desvio padrão. Desta forma, os resultados obtidos trazem uma nova perspectiva ao uso de fotodegradação catalítica usando catalisador suportado no tratamento de efluentes têxteis. Os valores obtidos de fotodegradação usando EVF mostra resultados de degradação de Alizarina S compatíveis aos resultados obtidos com ZnO em suspensão com a vantagem de eliminar um dos principais problemas de processos fotodegradativos: a etapa de remoção do catalisador do meio, que onera processos e os torna morosos. Desta forma, a EVF se mostra um material inovador, dando aos resíduos de lâmpadas fluorescentes alternativa de produção material tecnológico com aplicação direta no tratamento de efluentes têxteis.

CONCLUSÕES:

Os resultados mostram que espuma vítrea fotodegradativa (EVF) é material de baixo custo, ambientalmente amigável, e tem potencial para ser utilizada em sistemas de tratamento fotodegradativos de efluentes contendo Alizarina S como contaminante.

Em termos de eficiência, a EVF apresentou resultados semelhantes aos obtidos com ZnO em suspensão com a vantagens de não exigir etapa de remoção do catalisador em suspensão; de ser menos laborioso; de ser menos oneroso e moroso, características desejadas em tratamentos de efluentes. Ainda, a utilização de resíduos de vidro de lâmpadas fluorescentes na produção de EVF dá melhor destino a estes resíduos e agrega valor ao material, fazendo da EVF um material ambientalmente amigável.

AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem o Instituto Federal Sul-rio-grandense (IFSul) *campus* Pelotas pelo suporte financeiro para este projeto.

REFERÊNCIAS:

1. Luz, F. C.; Rocha, M. H.; Lora, E. E. S.; Venturini, O. J.; Andrade, R. V.; Leme, M. M. V.; del Olmo, O. A. *Energy Convers. Manag*. **2015**, 103, 321–337.
2. Campos, H. K. T. *Resour. Conserv. Recycl*. **2014**, 85, 130–138.
3. FEAM. Aproveitamento Energético De Resíduos Sólidos Urbanos: Guia; 2012.
4. Viererbl, L.; Vinš, M.; Lahodová, Z.; Fuksa, A.; Kučera, J.; Koleška, M.; Voljanskij, A. Radiat. *Phys. Chem*. **2015**, 116, 56–59.
5. Tan, Q.; Li, J. J. *Clean. Prod*. **2014**, 81 (August), 227–233.
6. BACILA, D. M. Ms. *Dissertation*. **2012** – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
7. Pokorny, a.; Vicenzi, J.; Bergmann, C. P. *Cerâmica* **2008,** 54 (329), 97–102.
8. Souza, M.T.; Maia, B.G.O.; Teixeira, L.B.; Oliveira, A.P.N de. *Process Safety and Environmental Protection*. **2017**, 111, 60-64.
9. Pokorny, A.; Vicenzi, J.; Pérez Bergmann, C. *Waste Manag. Res*. **2011**, 29 (2), 172–179.
10. Wang, H.; Feng, K.; Zhou, Y.; Sun, Q.; Shi, *H. Mater*. Lett. **2014**, 132, 176–178.
11. Kiliç, N. K.; Nielsen, J. L.; Yuce, M.; Dunmez, G. *Chemosphere* **2007**, 67 (4), 826–831.
12. Kansal, S. K.; Lamba, R.; Mehta, S. K.; Umar*, A. Mater*. Lett. **2013**, 106, 385–389.
13. Fu, F.; Gao, Z.; Gao, L.; Li, D. *Ind. Eng. Chem. Res*. **2011**, 50 (16), 9712–9717.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

14. Sun, J.; Lu, H.; Du, L.; Lin, H.; Li, H. *Appl. Surf. Sci*. **2011**, 257 (15), 6667–6671.
15. Ribeiro C. S. Ms. Dissertation, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. **2016**.
16. Khaoulani, S.; Chaker, H.; Cadet, C.; Bychkov, E.; Cherif, L.; Benguedach, A.; Fourmentin, S. *Comptes Rendus Chim*. 2015, 18 (1), 23–31.
17. Mondal, M.; De, S. *Chem. Eng. J*. **2016**, 285, 304–318.
18. Xi, W.; Geissen, S. U. Water Res. 2001, 35 (5), 1256–1262.
19. Buddee, S.; Wongnawa, S.; Sirimahachai, U.; Puetpaibool, W. Mater. Chem. Phys. **2011**, 126 (1–2), 167–177.
20. Kim, D. S.; Park, Y. S. *Chem. Eng. J.* **2006**, 116 (2), 133–137.
21. Karimi-Shamsabadi, M.; Nezamzadeh-Ejhieh, A. J. Mol. *Catal. A Chem*. **2016**, 418–419, 103–114.
22. Zhang, Y.; Wei, S.; Zhang, H.; Liu, S.; Nawaz, F.; Xiao, F. S. J. *Colloid Interface Sci*. **2009**, 339 (2), 434–438.
23. Shen, Z. Y.; Li, L. Y.; Li, Y.; Wang, C. C. J. *Colloid Interface Sci*. **2011**, 354 (1), 196–201.
24. Zheng, Y.; Zhang, Z.; Li, C. J. *Mol. Catal. A Chem*. **2016**, 423, 463–471.
25. Muthirulan, P.; Meenakshisundararam, M.; Kannan, N. J. *Adv. Res***. 2013**, 4 (6), 479–484.
26. Pham, T. D.; Lee, B. K. J. *Photochem. Photobiol. A Chem*. **2015**, 307–308 (April), 16–22.
27. Costa, L. L.; Prado, A. G. S. J. *Photochem. Photobiol. A Chem*. **2009**, 201 (1), 45–49.
28. Alver, E.; Bulut, M.; Metin, A. Ü.; Çiftçi, H. Spectrochim. Acta - Part *A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2017**, 171, 132–138.
29. Scarinci, G.; Brusatin, G.; Barbieri, L.; Corradi, A.; Lancellotti, I.; Colombo, P.; Hreglich, S.; Dall'Igna, R. J. Eur. *Ceram. Soc*. **2000**, 20 (14–15), 2485–2490.
30. König, J.; Petersen, R. R.; Yue, Y. J. *Non. Cryst. Solids* **2016**, 447, 190–197.
31. Lei, P.; Wang, F.; Gao, X.; Ding, Y.; Zhang, S.; Zhao, J.; Liu, S.; Yang, M. J. *Hazard. Mater*. **2012**, 227–228, 185–194.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 1. Composição química do resíduo de vidro da lâmpada fluorescente (RVLF) e do carbonato de cálcio sintético ($CaCO_3$).

RVLF		$CaCO_3$	
Óxidos	Concentração (%)	Óxidos	Concentração (%)
SiO_2	76,4379	CaO	95,9811
CaO	11,6180	SrO	1,2903
Na_2O	2,4522	P_2O_5	1,2422
Al_2O_3	1,9427	SiO_2	0,4414
K_2O	1,8625	SO_3	0,4132
PbO	1,0544	Fe_2O_3	0,2993
BaO	1,0237	Cl	0,2073
MgO	0,9096	Al_2O_3	0,1252
P_2O_5	0,8658	-	-
Fe_2O_3	0,8260	-	-
SO_3	0,3958	-	-
Y_2O_3	0,2617	-	-
SrO	0,2524	-	-
ZrO_2	0,0974	-	-

Tabela 2. Valores da análise granulométrica das matérias-primas utilizadas.

Matéria-prima	D_{10} (µm)	D_{50} (µm)	D_{90} (µm)	$D_{médio}$ (µm)
Vidro #100	8,67	70,52	150,80	77,45
Carbonato de cálcio	1,11	2,19	4,13	2,43

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

ANÁLISE QUALITATIVA DA COMPOSIÇÃO NÃO-VOLÁTIL DOS SUCOS DE UVA INTEGRAIS BRASILEIROS UTILIZANDO QEXACTIVE™ *(HYBRID QUADRUPOLE-ORBITRAP MASS SPECTROMETER)* E ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

QUALITATIVE ANALYSIS OF THE COMPOSITION NON-VOLATILE BRAZILIAN WHOLE GRAPE JUICES USING QEXACTIVE™ (*HYBRID QUADRUPOLE-ORBITRAP MASS SPECTROMETER)* AND PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS (PCA)

ALVES, Andréa Aparecida Ribeiro[1*]; BARBOSA, Elisabete dos Santos[2]

[1] Universidade Federal Fluminense, Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Rua Desembargador Ellis Hermydio Figueira, 783, Bairro Aterrado CEP 27213-145, Volta Redonda – RJ, Brasil (fone: +55 24 30768986)

[2] Instituto Federal de Educação, ciência e tecnologia do Rio de Janeiro, Campus Nilo Peçanha - Pinheiral, Rua José Breves, 550, Bairro Centro CEP27197-000, Pinheiral – RJ, Brasil (fone: +55 24 33568200)

** Autor correspondente*
e-mail: aaralves@id.uff.br

Received 18 August 2017; received in revised form 02 October 2017; accepted 03 October 2017

RESUMO

Os constituintes majoritários do suco de uva são os compostos não-voláteis e são responsáveis, na maioria das vezes, pelas características organolépticas do produto, em particular o sabor e a coloração, atributos associados a qualidade e aceitação do produto pelos consumidores. O objetivo deste artigo foi estudar, de forma qualitativa, os compostos não-voláteis dos sucos de uva integrais brasileiros utilizando o QExactive™ - *Hybrid Quadrupole-Orbitrap Mass Spectrometer* e análise de componentes principais (PCA). Com o QExactive™, equipamento de alta resolução e exatidão, foi possível identificar ácidos orgânicos, ácidos fenólicos e alguns aminoácidos nas amostras. A PCA mostrou-se uma ferramenta importante, pois através dela, foi possível obter informações quanto ao agrupamento dos sucos estudados correlacionando-os com os compostos identificados no QExactive™.

Palavras-chave: *grupos químicos, bebida, cor e sabor*

ABSTRACT

The main constituents of grape juice are non-volatile compounds and are responsible, in most cases, the organoleptic characteristics of the product, particularly flavor and color, attributes related to quality and acceptance product by consumers. The aim of this paper was to study, in a qualitative way, the non-volatile compounds of Brazilian whole grape juices using QExactive ™ (*Hybrid Quadrupole-Orbitrap Mass Spectrometer*) and principal component analysis (PCA). With QExactive™, high resolution and precision equipment, it was possible to identify organic acids, phenolic acids and certain amino acids in the samples. The PCA proved to be an important tool, because through it, it was possible to obtain information about the group juices studied correlating them with the compounds identified in QExactive™.

Keywords: *chemical groups, drink, color and flavour*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

Os sucos de uva possuem compostos majoritários e não-voláteis que são açúcares, ácidos orgânicos, vitaminas, pectina, compostos fenólicos entre outros, e estes são responsáveis, na maioria das vezes, pela coloração e sabor da bebida (Catharino *et al*., 2006), e estão diretamente vinculadas a critérios de qualidade e aceitação do produto pelos consumidores.

Na casca da uva encontram-se metabólitos secundários como antocianinas (cianidina, peonidina), flavonóis, estilbenos (resveratrol) e os ácidos orgânicos (tartárico, málico, cítrico), nas sementes estão os flavonóis (taninos, catequina, epicatequina) (Fuleki e Silva, 2003; Koyama *et al*., 2007) e nelas também há grande quantidade de fibra e óleo, e na polpa, os compostos fenólicos são os mais abundantes (Cheynier, 2005).

Na produção dos sucos tintos a polpa é aquecida com a casca e a semente resultando em maior incorporação de compostos fenólicos – além da obtenção de cor intensa destes sucos - quando comparados aos sucos brancos (Fuleki e Silva, 2003; Dani *et al*., 2007).

Algumas técnicas já foram utilizadas para analisar compostos não-voláteis em uvas, vinhos e sucos de uvas. Fenóis, flavonóides e açúcares foram identificados em amostras de mosto (uva em fermentação) provenientes de seis variedades de uvas cultivadas no Brasil *Vitis* (*V.) vinifera*: cultivar (cv.) *Pinot Noir*, *Cabernet Sauvignon*, *Malbec*, *Merlot*, e *V. Labrusca*: cv. Isabel, Bordô, de procedência do Rio Grande do Sul, utilizando a espectrometria de massas por ionização com *eletrospray* e analisador tempo de voo (ESI-TOF/MS) (Catharino *et al*., 2006).

Sucos de uva da cultivar italiana Falanghina (*Vitis vinifera*), foram analisados usando cromatografia líquida e espectrometria de massas com ionização por *electrospray* e analisador quadrupolo (CL/ESI-MS, em modo negativo) para detectar marcadores de tipicidade e autenticidade (Nasi *et al*., 2008). Os autores realizaram extração em fase sólida (EFS) para reduzir interferentes, e detectaram terpenos glicosilados presentes em baixas concentrações nas uvas.

O uso de equipamentos com tecnologia avançada promovem um diferencial nas pesquisas e proporciona resultados mais precisos e confiáveis. O equipamento QExactive™ *Hybrid Quadrupole-Orbitrap Mass Spectrometer*) possui alto poder de resolução (140.000) e excelente exatidão em massa (até a quinta casa decimal), reduzindo significativamente falsas identificações (Iglesias, 2015). O processamento dos dados é semelhante ao utilizado na Espectrometria de Massa com transformada de Fourier de íons de ressonância ciclotrônica (FT-ICR/MS), onde todos os íons são detectados simultaneamente durante um período de tempo determinado e a resolução pode ser melhorada pelo aumento da força do campo ou do aumento da duração de detecção (Makarov *et al.,* 2006a, (Makarov *et al.,* 2006b)

O objetivo deste artigo foi estudar, de forma qualitativa, a composição não-volátil dos sucos de uva integrais brasileiros, utilizando o QExactive™ e com o uso da análise de componentes principais (PCA) analisar e correlacionar os sucos estudados com os compostos identificados no QExactive™.

PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Material

Foram adquiridos para este trabalho, 33 sucos de uva comerciais e experimentais, que estão listados na Tabela 1 com suas especificações (procedência do suco, tipo, natureza, cultivar e espécie da uva), todos da safra 2012, sendo os comerciais obtidos em supermercados de Niterói – RJ (Brasil) e os experimentais foram obtidos de empresas parceiras, EMBRAPA Semiárido e EPAMIG.

Os solventes utilizados foram: acetona, metanol e solução de NH_4OH (concentração 1 mg L^{-1}), adquiridos da Tedia Brasil.

Para o *cleanup* dos sucos foi utilizado cartucho EFS Florisil (marca J. T. Baker®, USA), contendo 100 mg de adsorvente/cartucho. Filtros Millipore® (Membrana Fluoropore em PTFE, 0,2 µm de Poro, 25 mm, Corpo em PE).

2.2. Condições de análise

Foi utilizado um espectrômetro de massas de alta resolução QExactive™ (*Thermo Scientific*, Bremen, Alemanha) como ionização por *electrospray* (ESI) com modo de aquisição negativo e positivo concomitantemente (um diferencial deste equipamento). A aquisição foi realizada no modo *Full* MS em resolução de 140.000, AGC *target* de 10^6, tempo máximo de injeção de 200 ms e intervalo de *m/z* de 50 a 750. A amostra foi injetada em um sistema

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Accela 1250 Pump acoplado a um injetor automático Accela Open (*Thermo Scientific*, San Jose, EUA).

As amostras foram injetados em coluna C18 *Thermo Scientific* (2.1x 50mm, 1.9 µm), em corrida cromatográfica com fluxo constante de 50 µL min^{-1}, em um sistema isocrático com 100% de acetonitrila, num tempo total de corrida de 5 min. A sequência de corridas e configurações foram controladas pelo *software* Xcalibur™, o tratamento dos dados também foi realizado neste *software*.

2.3. Preparo dos extratos dos sucos para injeção no QExactive™

Para o preparo dos extratos dos sucos utilizou-se 2 mL de suco de uva. O cartucho de EFS Florisil foi acondicionado com 1 mL de acetona, e em seguida foi adicionado o suco de uva, que foi eluído com 2 mL de metanol. O eluato foi levado à secura sob fluxo de N_2, e então ressuspendido com 2 mL de metanol. Desse extrato de suco, retirou-se uma alíquota de 50 µL, ao qual se adicionou 950 µL da solução de CH_3OH /H_2O/NH_4OH (solução 1%). Esta solução final foi colocada em filtro de 0,2 µm da Millipore®, e então foi recolhido em um *vial* apropriado para injeção no QExactive™ e assim foram injetados 20 µL desta solução final, em fluxo de 50 µL min^{-1} e injeção automática. Procedeu-se os procedimentos supracitados para os 33 sucos em triplicata de extração.

Para o tratamento dos dados fez-se uma busca na literatura e montou-se uma tabela-referência com informações dos compostos não-voláteis, como massa/carga (*m/z*), tipo de equipamento e principais fragmentos para uvas e seus derivados. Logo após, realizou-se a análise de cada suco utilizando o *software* Xcalibur™ que forneceu o espectros ESI-MS, com valores de *m/z* experimental ($m/z_{exp.}$) com cinco casas decimais, obtendo-se a abundância da área relativa desses íons. Em seguida, foram realizadas comparações das informações da tabela-referência com os valores obtidos pelo *software* Xcalibur™. A verificação da razão massa/carga teórica ($m/z_{teor.}$) foi obtida no próprio *software* através da fórmula molecular da substância identificada, e assim foi realizado o cálculo do erro, em ppm, segundo a equação 1 (Eq. 1) retirada de Iglesias (2015):

$$E(ppm) = |(m/z_{exp.} - m/z_{teor.})/(m/z_{exp.})| \times 10^6 \quad \text{(Eq. 1)}$$

Com os valores de área obtidos no tratamento dos dados das injeções no QExactive™ foi possível fazer a PCA dos compostos não-voláteis dos sucos de uva e tentar agrupá-los utilizando o programa *SPSS_17 Statistics.*

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Neste trabalho, fez-se inicialmente um *cleanup* da amostra utilizando EFS Florisil, pois esta técnica apresentou resultados eficientes tanto para *cleanup* quanto para pré-concentração de analitos em matrizes alimentares (Alves *et al*., 2012; Alves *et al*., 2014). As soluções finais, obtidas dos extratos de suco de uva integral, utilizando a EFS Florisil, foram filtrados em filtro Millipore®, para a retirada de possíveis resíduos insolúveis presentes na solução final, uma vez que estes podem entupir a seringa de injeção e prejudicar o funcionamento do QExactive™(Makarov, 2006a).

Os dados foram tratados utilizando do *software* Xcalibur™ , obtendo-se um perfil dos compostos não-voláteis dos sucos, como observa-se na Tabela 2, onde estão o nome das substâncias, suas respectivas fórmulas moleculares e os valores de massa/carga (*m/z*) experimental ($_{exp.}$) e teórico ($_{teor.}$), além do erro E(ppm) relativo às $m/z_{exp.}$ e $m/z_{teor.}$, para verificação da confiabilidade da identificação dos mesmos. O erro indica o quanto os valores obtidos se destoaram dos "verdadeiros" valores de *m/z,* logo para este tipo de equipamento, que possui alta resolução em massa exata, o erro deve ser inferior a 10 ppm (Iglesias, 2015), logo observa-se que os valores de E (ppm) obtidos variaram de 0,42 a 8,06 ppm, sendo assim considerados satisfatórios.

Na Tabela 3 encontram-se os valores da abundância (média das áreas da triplicata de cada suco) das substâncias mencionadas na Tabela 2, presentes nos sucos de uva trabalhados. Foram calculados com base nestas áreas, os coeficientes de variação (CV %), os quais variaram de 0,8 a 6,8 %, apresentando baixa dispersão dos valores, uma vez que valores de CV % até 15 % é considerado aceitável quando se trata de matrizes complexas (Miller e Miller, 1988; EMEA, 2015).

Observa-se que em todos os sucos foram identificados o ácido fosfórico, e os ácidos tartárico, málico, cítrico e ascórbico (exceção do suco AL), já mencionados em uvas híbridas (*V.*

vinifera com *V. labrusca*) para elaboração de vinhos (Biasoto *et al*., 2010). O pterostilbeno, encontrado nos sucos comerciais CB, CM, DC, EP, MV, PG e SP, e nos experimentais SA_chard_B e SA_mosc_B, é um estilbeno, e assim como o resveratrol é produzido pelas uvas para o combate a fungos e vírus; e possui propriedades antiinflamatórias e antioxidantes quando ingeridas por animais (Langcake e Pryce, 1977).

O ácido clorogênico (ACG), aqui representado pelo ácido 4-*O*-cafeoilquinico foi identificado apenas no suco experimental SA_coraB e trata-se de um éster polifenólico encontrado em vegetais e frutas, principalmente no café. O ACG 5-*O*-cafeoilquinico, no entanto foi observado em dezoito tipos de sucos, sendo encontrado principalmente em frutas. Estudo mostra que o ácido cafeoilquinico já foi identificado em sucos de uva da cv. Concord (*V. labrusca*) produzidos em Farroupilha, RS (Oliveira et al., 2013). O ACG atua em diversos sistemas biológicos, nas atividades anti-mutagênica, antitumoral, no controle da obesidade, analgésica, antipirética, ansiolítica, anti-microbicida, antifúngica, antiviral, antioxidante e anti-inflamatória (Clifford, 2000).

O ácido sinápico é derivado do ácido cinâmico e possui atividade antioxidante, assim como o ácido vanílico, que é derivado do ácido benzóico (Ramalho e Jorge, 2006), sendo encontrados respectivamente nos sucos SA_coraFM, GA, GB, SA_isaB, SA_isaM, SA_mosc_B, PZ, SP). O manitol, por sua vez, é um açúcar obtido da frutose, possui atividade diurética e é utilizado em alimentos dietéticos (Cruz et al., 2004). Pode ser utilizado como adoçante, e foi identificado apenas no suco SB, um suco orgânico e comercial.

O *L*-triptofano é um aminoácido que auxilia na síntese da serotonina e está associado ao bem-estar, sendo importante no tratamento e prevenção da depressão e ansiedade, e pode ser encontrado em alguns alimentos (Correia *et al*., 2014), sendo observado nos sucos GD, GD_B, SA_isaM, CB, SA_coraFM, SA_coraM e UV. Outro aminoácido, a *L*-arginina, foi identificada nos sucos PZ e SA_chard_B, sendo responsável pela cicatrização de feridas, antitumoral, e combinada com a lisina, reduzem a ansiedade; a *L*-tirosina, ajuda na produção de outros hormônios, que melhoram o estado de alerta e a alegria (Correia *et al*., 2014), observada nos sucos AL, AM, AU, SA_chard_B, CL e CM.

Na Tabela 4 encontram-se os códigos dos compostos para a análise dos componentes principais (PCA), cujas áreas se encontram descritas na Tabela 3. Alguns compostos da Tabela 3 estão ausentes na Tabela 4, pois seus valores não foram significativos para auxiliar na separação dos sucos na PCA.

Na Figura 1 encontra-se a análise de componentes principais (PCA) para os sucos de uva tintos (vide códigos na Tabela 1), onde se observa o gráfico de *scores* (A) dos sucos de uva e o gráfico de *loadings* (B) com os compostos químicos identificados (vide códigos na Tabela 4). As duas componentes principais descrevem 73,7 %, promovendo boa separação e/ou agrupamento das amostras.

Os sucos SI e UV estão relacionados com os compostos C34 (*L*-tirosina), C35 (galato de metila), C40 (*L*-leucina), C48 (*L*-triptofano) e C50 (pterostilbeno), o que mostra que há maior quantidade destes compostos nestes sucos, conseguindo separá-los, mesmo que pouco dos demais sucos. O galato de metila é um composto fenólico encontrado no vinho e no gerânio (*Geranium niveum)* (Calzada *et al*., 1999).

Pode-se observar no gráfico de *scores*, Figura 1A, que há um grupo de sucos à esquerda, sendo 3 sucos experimentais (SA) e 8 sucos comerciais. Nota-se que, no gráfico de *loadings*, Figura 1B, não há correlação direta com nenhuma substância. Esse fato informa que nenhuma substância da Tabela 4 foi eficaz para isolá-los.

Os sucos AL e AU apresentam correlação com os compostos C8 (ácido ascórbico), C23 (*L*-valina), C25 (malonato de dietila), C28 (*cis*-coumárico), C36 (ácido propiônico) e C37 (5-*O*-cafeoilquinico). Vale ressaltar que o ácido ascórbico (vitamina C) é uma furanolactona muito importante na dieta humana, é um poderoso antioxidante, sendo usado para transformar os radicais livres de oxigênio em formas inertes, e pode ser encontrado em várias frutas e legumes (Nelson e Cox, 2012).

Já os sucos PZ e GB possuem 11 compostos propostos que ajudam a separá-los do grupo maior. Os compostos C31 (ácido siríngico), C44 (resveratrol), C56 (manitol), C58 (4-*O*-cafeoilquinico) e C59 (ácido sinápico), correlaciona-se a 8 sucos, deixando-os agrupados entre si e separados dos demais grupos. O ácido siringico é derivado do ácido gálico e está presente no vinho tinto e nas cascas das uvas vermelhas possui atividade antioxidante (Gálvez *et al*., 1994).

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Os compostos sem marcação são aqueles que podem estar relacionados com os sucos PZ e GB, na região inferior do gráfico de *loading*s e com os sucos AL e AU na parte superior.

A PCA foi utilizada para caracterização de vinhos elaborados com uvas híbridas (*V. vinifera* com *V. labrusca*) e observaram, de maneira geral, que a PCA estaria correlacionando o parâmetros de acidez de uma amostra com a presença do ácido succínico, e em outra amostra, correlacionava com o ácido ascórbico que conferiria carater amargo. Os autores propuseram um potencial uso destas informações para auxiliar as vinícolas no controle de qualidade (Biasoto *et al.*, 2010).

Na Figura 2 encontra-se a PCA para os sucos brancos, onde se observa o gráfico de *scores* (A) dos sucos de uva e o gráfico de *loadings* (B) com os compostos químicos propostos, sendo que as componentes principais descreveram 66,0 %, conferindo separação das amostras.

Embora pequeno o número de amostras, observa-se que os sucos estão bem separados, com exceção dos sucos SA_mosc_B e GD_B, que se agruparam por influência dos compostos C40 (*L*-leucina), C48 (*L*-triptofano) e C50 (pterostilbeno), compostos que foram igualmente observados nos sucos tintos SI e UV.

O suco experimental SA_chard_B do gráfico de *scores*, Figura 2A, correlaciona-se no gráfico de *loadings* (Figura 2B) com os compostos C5 (ácido succínico) e C54 (arginina), e o suco CM_B não possui nenhuma substância correlacionada a ele. No entanto, no gráfico de *loadings* observa-se grande número de compostos sem correlação com nenhum suco estudado, o que pode estar relacionado ao baixo número de amostras.

O ácido *trans*-caftárico (C30) é um composto fenólico não-flavonoídico encontrado na uva, sendo responsável pelo tom amarelado dos vinhos e sucos brancos (Lee e Jaworski.1987) O tirosol (41) é um antioxidante fenólico natural presente em uma variedade de matérias primas naturais, dentre elas a uva, o chá e óleo de oliva, é um derivado do álcool fenetílico (Giovannini et al., 1999). Os sucos SA_ita_B e PE_B possuem, respectivamente 7 e 10 substâncias que os separam dos demais sucos brancos.

A PCA se mostrou uma ferramenta importante na análise da composição do perfil não-volátil dos sucos, pois através dela foi possível correlacionar o agrupamento de alguns sucos com compostos específicos (identificados pelo QExactive™), o que leva a crer que estes compostos podem ser potenciais marcadores químicos destes sucos.

CONCLUSÕES:

Conclui-se que foi possível estudar, de forma qualitativa, a composição não-volátil dos sucos de uva integrais brasileiros utilizando o equipamento QExactive™ *(Hybrid Quadrupole-Orbitrap Mass Spectrometer)* que com sua alta resolução e exatidão, identificou nas amostras ácidos orgânicos, ácidos fenólicos, alguns aminoácidos, entre outros. Com esta identificação, foi possível utilizar a análise dos componentes principais (PCA), que se mostrou eficiente, pois foi possível agrupar alguns sucos de uva correlacionando-os com compostos não-voláteis comum entre eles.

AGRADECIMENTOS:

As autoras agradecem a Claudia M. de Rezende do IQ/UFRJ, Giuliano E. Pereira da EMBRAPA Semiárido, Rafael Garrett do IQ/UFRJ pelo apoio; à Capes, CNPq e à FAPERJ pelo apoio financeiro; à EMBRAPA Semiárido e à EPAMIG pelas amostras; ao Henrique Marcelo G. Pereira e Vinícius F. Sardela do LBCD-LADETEC/IQ-UFRJ pela utilização do equipamento *Q Exactive™*.

REFERÊNCIAS:

1. Alves, A.A.R.; Rezende, M.J.C.; Hovell, A.M.C.; Bizzo, H.R.; Oliveira, A.C.L.; Rodrigues, S.V.; Rezende, C.M. Journal of the Brazilian Chemical Society. 2012, 23, 306.

2. Alves, A.A.R.; Rodrigues, A.S.; Paula Barros, E.B.; Uekane, T.M.; Bizzo, H.R.; Rezende, C.M. Food Analytical Methods. 2014, 7, 1834.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

3. Biasoto, A.C.T.; Catharino, R.R.; Sanvido, G.B.; Eberlin, M.N.; Silva, M.A.A.P. Food Quality and Preference 2010, 21, 755.

4. Calzada, F.; Cerda-García-Rojas, C.M.; Meckes, M.; Cedillo-Rivera, R.; Bye, R.; Mata, R. Journal of Natural Products. 1999, 62, 705.

5. Catharino, R.R.; Cunha, I.B.S.; Fogaça, A.O.; Facco, E.M.P.; Godoy, H.T.; Daudt, C.E.; Eberlin, M.N.; Sawaya, A.C.H.F. Journal of Mass Spectrometry. 2006, 41, 185.

6. Cheynier, V. American Journal of Clinical Nutrition. 2005, 81S, 223S.

7. Clifford, M.N. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2000, 80, 1033.

8. Correia, M.I.T.D.; Quirino, I.E.P. Nutrição e vida. 2014, 1.

9. Cruz, J.; Minoja, G.; Okuchi, K.; Facco, E. Journal of Neurosurgery. 2004, 100, 376.

10. Dani, C.; Oliboni, L.S.; Vanderlinde, R.; Bonatto, D.; Salvador, M.; Henriques, J. A. P. Food and Chemical Toxicolgy. 2007, 45, 2574.

11. EMEA - European Medicines Agency. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002662.pdf. Acessada em: novembro 2016.

12. Fuleki, T.; SILVA, J.M. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2003, 51, 640.

13. Gálvez, M.C.; Barroso, C.G.; Pérez-Bustamante, J.A. Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und - Forschung A. 1994, 199, 29.

14. Giovannini, C.; Straface, E.; Modesti, D.; Coni, E.; Cantafora, A.; De Vincenzi, M.; Malorni, W.; Masella, R. Journal of Nutrition. 1999, 129, 1269.

15. Iglesias, A.H. http://www.cnpsa.embrapa.br/met/images/arquivos/17MET/minicursoamadeu-iglesias.pdf. Acessada em novembro 2015.

16. Koyama, K.; Goto-Yamamoto, N.; Hashizume, K. Bioscience Biotechnology and Biochemistry. 2007, 71, 958.

17. Langcake, P.; Pryce, R. J.. Experientia. 1977, 33, 151.

18. Lee, C. Y.; Jaworski, A. American Journal of Enology and Viticulture. 1987, 38, 277.

19. Makarov, A.; Denisov, E.; Kholomeev, A.; Balschun, W.; Lange, O.; Strupat, K.; Horning, S. Analytical Chemistry. 2006a, 78, 2113.

20. Makarov, A.; Denisov, E.; Lange, O.; Strupat, K.; Horning, S. Journal of the American Society for Mass Spectrometry 2006b, 17, 977.

21. Miller, J. C.; Miller, J. N. Statistics for Analytical Chemistry, 2ª ed., Ellis Horwood: Chichester, 1988.

22. Nasi, A.; Ferranti, P.; Amato, S.; Chianese, L. Food Chemistry. 2008, 110, 762.

23. Nelson, D.L.; Cox, M.M. Lehninger Principles of Biochemistry, 6ª ed., W. H. Freeman, 2012.

24. Oliveira, D.N.; Sartor, S.B.; Damário, N.; Göllucke, A.P.B.; Catharino, R.R. Journal of Food Measurement and Characterization. 2013, 8, 9.

25. Ramalho, V.C.; Jorge, N. Química Nova. 2006, 29, 755.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 1. *Relação dos sucos de uva integrais com suas especificações: procedência do suco, tipo, natureza, cultivar e espécie da uva.*

Código do suco	Procedência[a]	Tipo	Natureza	Cultivar da uva	Espécie da uva
AM	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
AL	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
AU	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
CB	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
CL	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
CM	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
DC*	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
DG	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
GA	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
GB	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
GD*	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
MT	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
MV	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
PE	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
PG	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
PZ	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
SB*	São Paulo	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
SI	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
SN	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
SP*	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
US	Rio Grande do Sul	tinto	Comercial	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
EP*	Minas Gerais	tinto	Experimental	Isabel/bordô	*Vitis labrusca*
SA_isaM	Pernambuco	tinto	Experimental	Isabel	*Vitis labrusca*
SA_isaB	Pernambuco	tinto	Experimental	Isabel	*Vitis labrusca*
SA_coraB	Pernambuco	tinto	Experimental	BRS cora	*Vitis labrusca*
SA_coraM	Pernambuco	tinto	Experimental	BRS cora	*Vitis labrusca*
SA_coraFM	Pernambuco	tinto	Experimental	BRS cora	*Vitis labrusca*
CM_B	Rio Grande do Sul	branco	Comercial	Italia	*Vitis vinífera*
GD_B*	Rio Grande do Sul	branco	Comercial	Italia	*Vitis vinífera*
PE_B	Rio Grande do Sul	branco	Comercial	Italia	*Vitis vinífera*
SA_chard_B	Pernambuco	branco	Experimental	Chardonnay	*Vitis vinífera*
SA_mosc_B	Pernambuco	branco	Experimental	Moscato	*Vitis vinífera*
SA_ita_B	Pernambuco	branco	Experimental	Itália	*Vitis vinífera*

* Sucos de uva integrais orgânicos, (a) Procedência dos sucos por Estados brasileiros

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 2. *Compostos não-voláteis presentes nos sucos de uva, fórmula molecular, m/z_{exp} (experimental) e $m/z_{teor.}$ (teórico), erro E (ppm) obtidos na análise por QExactive™*

Substância	Fórmula	$m/z_{exp.}$	$m/z_{teor.}$	E (ppm)
acido fosfórico	H_3PO_4	96,95871	96,95915	4,53
acido tartárico	$C_4H_6O_6$	149,00797	149,00789	0,54
acido málico	$C_4H_6O_5$	133,01296	133,01251	3,38
acido cítrico	$C_6H_8O_7$	191,01890	191,01795	4,97
acido succínico	$C_4H_6O_4$	117,01805	117,01756	4,18
acido acético	$C_2H_4O_2$	59,01251	59,01258	1,18
acido ascórbico	$C_6H_8O_6$	176,13380	176,13456	4,31
ácido *p*-coumarico	$C_9H_80_3$	165,09284	165,09277	0,42
ácido cafeico	$C_9H_8O_4$	180,05851	180,05871	1,11
ácido quinico	$C_7H_{12}O_6$	191,01890	191,01834	2,93
ácido *trans*-fertarico	$C_{14}H_{14}O_9$	325,09284	325,09272	0,37
ácido ferúlico	$C_{10}H_{10}O_4$	193,03455	193,03536	4,19
ácido aspártico	$C_4H_7NO_4$	134,01636	134,01696	4,47
ácido malonico	$C_3H_4O_4$	102,97443	102,97391	5,05
ácido siringico	$C_9H_{10}O_5$	199,80428	199,80370	2,90
ácido propionico	$C_3H_6O_2$	72,99172	72,99201	3,97
acido galico	$C_7H_6O_5$	170,09014	170,09097	4,87
ácido cinâmico	$C_9H_8O_2$	149,04439	149,04508	4,62
acido carbônico	H_2CO_3	59,91258	59,91296	6,34
ácido sinapico	$C_{11}H_{12}O_5$	225,00701	225,00786	3,78
ácido vanilico	$C_8H_8O_4$	168,98842	168,98855	0,77
ácido coutarico	$C_{13}H_{12}O_8$	295,06708	295,06781	2,47
ácido *trans*-caftárico	$C_{13}H_{12}O_9$	311,16867	311,16758	3,50
ácido *cis*-4-coumarico	$C_9H_80_3$	165,06708	165,06782	4,48
L- asparagina	$C_4H_8N_2O_3$	133,04936	133,04961	1,88
L - glutamina	$C_5H_{10}N_2O_3$	147,02875	147,02833	2,85
L - lisina	$C_6H_{14}N_2O_2$	147,02875	147,02909	2,31
L – valina	$C_5H_{11}NO_2$	118,04082	118,04140	4,91
D- glucose	$C_6H_{12}O_6$	179,05515	179,05484	1,73
L - prolina	$C_5H_9NO_2$	115,91945	115,91891	4,65
L - metionina	$C_5H_{11}NO_2S$	150,01137	150,01150	1,13
L - tirosina	$C_9H_{11}NO_3$	182,08775	182,08694	4,45
L – leucina	$C_6H_{13}NO_2$	132,36670	132,36605	4,91
L-triptofano	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	205,03484	205,03498	0,68
L - arginina	$C_6H_{14}N_4O_2$	175,06026	175,06101	4,28
4-*O*-cafeoilquinico	$C_{16}H_{18}O_9$	353,08800	353,08825	0,71
5-*O*-cafeoilquinico	$C_{24}H_{32}O_8$	447,03959	447,03920	0,87
resveratrol	$C_{14}H_{12}O_3$	228,99380	228,99310	3,06
pteroestilbeno	$C_{16}H_{16}O_3$	254,91680	254,91555	5,45
Apigenina	$C_{15}H_{10}O_5$	269,08773	269,08827	2,01
catequina	$C_{15}H_{14}O_6$	290,08415	290,08491	2,62
coniferina	$C_{16}H_{22}O_8$	341,10898	341,10876	0,65
p-coumarato de etila	$C_{11}H_{12}O_3$	191,01890	191,01736	8,06
galato de metila	$C_8H_8O_5$	182,98779	182,98662	6,39
malonato de dietila	$C_7H_{12}O_4$	160,07445	160,07533	5,49
Tirosol	$C_8H_{10}O_2$	136,99571	136,99503	4,96
manitol	$C_6H_{14}O_6$	181,07084	181,07147	3,48

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 3. *Valores da abundância (média das áreas da triplicata, n = 3) de cada substância identificada nos sucos de uva*

Substâncias	Abundância										
	AL	AM	AU	CB	SA_chard_B	CL	CM	CM_B	SA_coraB	SA_coraFM	SA_coraM
acido fosforico	230813813	430221206	40943917	138344603	167531059	11464848	18067475	419484011	26673168	107387797	82846949
acido tartarico	74812156	358513087	13752693	45103386	21757269	1691592	3291786	15448307	5345973	8838098	24886112
acido acetico	8053655	11369508	2974453	7006471	5937977	120083	217508	22947987	538784	5475400	4509861
acido carbonico	0	0	0	372419	9321	991014	0	0	0	0	0
acido citrico	32252173	35373422	11051592	5715724	8002452	571626	688940	98314206	447482	3855189	3637326
acido succinico	5685627	4105379	3433648	6531138	225957467	47951	55231	26371164	0	4523560	8079073
ácido propiônico	3090387	8207062	1838140	5434553	23530050	38046	47170	17028964	253032	4527367	0
acido ascorbico	0	5401970	4807276	8569936	26191359	311271	336749	32331536	647841	7381285	6645177
acido málico	305883547	369590109	80808147	66425671	322354471	3810513	5395816	1,104E+09	4316080	472534144	423808939
acido *p*-coumarico	26965278	14968433	1506449	8118461	3345956	301648	387093	60584192	210990	7958317	8784069
acido cafeico	57260023	32773630	23420764	31022858	11248693	1568970	1757069	9734591	3340108	2544323	36019515
acido quinico	10035752	13491333	1634567	5257515	3627675	114120	141520	11448911	517482	3855187	3637326
acido *trans*-fertarico	41033746	18841558	18187104	13500739	34874363	1306089	3291786	97261560	231273	7958317	7993997
acido ferúlico	32611524	199617065	1189199	10021397	35054535	1306089	3291786	97261560	259270	5239462	6769441
ácido aspártico	11041352	15516039	3398724	15603690	18321619	583737	811925	47283544	0	20248509	18094089
ácido malônico	2919926	4746021	1497327	4134408	66103	516548	620494	9856977	0	0	0
acido siringico	61815	0	0	0	14591	0	20968	0	0	0	0
acido cinâmico	0	0	666345	34283176	6151864	623810	3291786	15448307	5345974	2842512	24896427
acido sinapico	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3775766	0
acido galico	0	0	3204145	158949	0	0	0	10690618	0	2556781	3952286
acido coutárico	29891027	5103748	1481624	7179726	34879869	1691592	3291786	21722682	5192633	8838098	0
ácido *trans*-caftárico	35131	1456627	21082	7527804	15839	0	28614	152536715	0	0	0
ácido *cis*-4-coumarico	35620398	9329658	1509930	6194974	12742164	331047	378117	21722682	669940	4908936	4514726
L- asparagina	266874926	369590109	82367300	5790391	148987665	2872764	3531311	9084208	4316080	3359228	3012906
L-glutamina	17548954	0	0	8227130	4876680	179648	471633	42437395	944657	9862785	10449571
L-lisina	3292216	0	0	2987561	4876680	0	0	0	0	0	0
L-valina	6888608	10689065	2591850	1602490	9749920	746626	95665	14967783	858060	4856160	3765114
D-glucose	50577076	64195411	23420765	31022858	19588487	1568970	1757069	152536715	3340108	4053166	34250005
L-prolina	161924	1555375	1853505	2511353	3485933	764326	950483	9084208	0	3359228	3012906
L- metionina	217990300	6774985	23941	177999	4896906	1416833	2594007	12203662	226453	0	0
L- tirosina	75590	137678	93105,33	0	29145	618761	260206	0	0	0	0
L-arginina	0	0	0	0	7124987	0	0	0	0	0	0
L-leucina	0	0	32010,67	180864	0	243887	123615	0	0	0	6084275
L-triptofano	0	0	0	2450051	0	0	0	0	0	3330285	2892451
4-*O*-cafeoilquinico	0	0	0	0	0	0	0	0	1327427	0	0
5-*O*-cafeoilquinico	1867594	0	1684792	2594656	10563927	141327	0	11127292	0	0	24886112
resveratrol	0	0	9781,333	0	0	230230	347036	0	269733	0	0
pteroestilbeno	0	0	0	772337	29253	0	131885	0	0	0	0
Apigenina	0	0	5282,667	0	0	47951	55232	26371164	432953	4523560	0
catequina	0	0	6275	2450051	0	1568970	1431070	152536715	3340108	40531371	0
malonato de dietila	15716076	18375607	6259354	11908245	38713279	813377	1130448	40465699	1339151	9101858	9316329
p-coumarato de etila	6589016	4154444	1683249	5715724	3494877	114120	141521	9581838	447482	3855233	3637326
galato de metila	75590	1827184	101775,7	0	29145	766634	652375	0	0	0	3848466
Tirosol	0	0	0	0	2029118	238748	191790	28578511	669940	7196871	0

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Continuação. Tabela 3.

Substâncias	Abundância										
	DC	DG	EP	GA	GB	GD	GD_B	SA_isaB	SA_isaM	SA_ita_B	SA_mosc_B
acido fosforico	2377009	131323179	152994635	807372	92878325	114270976	76364384	455333	455333	151544928	112767179
acido tartarico	662411	1987336	64257531	10723560	17649921	26465027	1671565	67926	67926	56183579	47190107
acido málico	769705	413738923	3975763	6217445	5087845	396927616	42687773	263769	263769	340287616	174503872
acido carbonico	0	0	405857	192165	0	1992992	0	610473	606356	0	0
ácido propiônico	0	3999014	4063460	291200	5050650	4485868	1499551	0	0	4090787	0
acido citrico	235023	4838529	3258470	302300	5908676	4904763	7525249	1319176	1319176	2764987	1916775
acido succinico	0	6572141	2693475	259896	13085773	5123049	2118760	48891	48891	2024844	1982805
acido acetico	68518	4380021	6831575	472906	7526071	6171544	2514884	0	0	5679775	3869384
acido ascorbico	124952	5859413	8414148	493221	10429829	9288212	3245652	11863	11863	7283019	5224982
acido *p*-coumarico	106480	5599480	10408506	489542	14609703	6047141	1976003	9378	9378	6322637	1566968
acido cafeico	144647	27208619	2739072	2277777	3161246	2722423	1051898	63336	63336	2421675	1640284
acido quinico	0	4838529	3258470	302300	6198166	4904763	7525249	12771	12771	8062391	1916775
acido *trans*-fertarico	662411	21750016	2692126	543098	61124549	9940201	9695183	9378	9378	3229249	47190107
ácido ferúlico	0	21750016	2692126	10723560	61124549	24203533	9695183	67926	67926	3229249	47190107
ácido malonico	141283	2278608	0	266756	5210837	0	1006829	92136	92136	0	0
ácido aspártico	244485	17296912	10194731	261360	8950100	17092620	1823244	10971	10971	14669603	7360421
acido galico	0	2919176	2431022	406049	6794092	3743760	1195370	10357	0	1916834	0
ácido cinâmico	376942	4085792	64257531	10723560	17649921	5207389	1671565	32555	203779	3820513	0
ácido coutarico	0	4183995	2712553	10723560	4831524	5431589	790443	67926	67926	2034055	2509734
ácido sinapico	0	0	0	200523	3990226	0	0	250070	27742	0	1388068
ácido vanilico	0	0	0	0	0	0	0	11896	0	0	0
ácido *trans*-caftárico	0	2314819	0	0	0	0	0	9157	9157	0	0
ácido *cis*-4-coumarico	0	4790289	2712553	489542	9000172	6648357	3288353	14854	14854	2034055	2845111
L-asparagina	769705	3029160	3975763	419970	5087845	2878338	42687773	263769	263769	2433561	1246847
L-glutamina	217945	1987336	11090287	914980	4024860	12036597	4694900	15681	15681	10507706	7259035
L-lisina	0	1987336	0	3185544	4024860	0	0	0	0	0	0
L-valina	343308	5689325	0	0	3820176	7565829	0	0	0	0	0
D-glucose	608718	27208619	42661813	2277777	48718539	42728064	1600628	63336	63336	37539107	25517859
L-prolina	244485	3029160	0	419970	0	2878338	0	81212	81212	2433561	1246847
L-metionina	769705	2407480	2639389	453839	4024860	0	1408591	263769	263769	2360311	1972543
L-triptofano	0	0	0	0	0	2551931	837470	0	3159971	0	0
5-*O*-cafeoilquinico	68484	2848294	0	0	6352601	2826798	793790	0	0	0	0
resveratrol	125638	0	0	0	0	0		10774	77575	106996	4743540
pteroestilbeno	222480	0	513627	0	0	0	0	0	0	0	2270503
Apigenina	0	6572141	0	0	0	0	910535	10905	0	2024844	0
Catequina	0	27208619	42661813	0	0	0	0	13935	0	0	1342361
galato de metila	258839	0	0	0	0	0	0	86438	86438	0	0
p-coumarato de etila	0	4838529	3258470	302300	7200135	4904763	7525249	12771	12771	2764987	1916775
malonato de dietila	528738	8207656	11532785	1811111	13559384	13798979	4564038	18298	18298	9937167	7361931
Tirosol	80596	5689325	7541499	3219157	9000172	1992992	3288353	22289	74730	7038343	47190107

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Continuação. Tabela 3.

Substâncias	Abundância										
	MT	MV	PE	PE_B	PG	PZ	SB	SI	SN	SP	UV
acido fosforico	3033854	1138737	184025749	177958869	177748256	63297973	67071515	57296629	116386389	10019937	115049611
acido tartarico	914456	298125	96171787	72375936	37895027	5399938	27625355	18412580	41240088	3096804	64839659
acido carbonico	932515	944128	0	0	0	0	0	0	0	0	0
acido málico	991862	422803	198159253	285889365	277166144	368019627	186771563	184048917	291749376	341605	528537771
acido cítrico	3805974	4074804	3124237	3763986	3891735	7953394	4681777	3894881	2252231	135117	8546573
ácido propiônico	0	0	3951093	4672309	4285667	4231042	3317781	2960383	3838674	0	1370489
acido succinico	0	0	1998265	6114095	2973377	9452278	6046972	6812175	4604826	0	2504162
acido acetico	83581	0	6241681	6642979	6458445	4638100	5295985	4647222	5037321	1878154	2888867
acido ascorbico	162695	79457	7402505	8925659	8501401	6955626	7708847	7690043	6195705	328672	3702139
ácido p-coumarico	129163	88675	7586214	4632301	8831130	7397462	10350829	6318167	8242679	197307	4098121
ácido cafeico	777609	370371	2356799	2672777	2683612	32593789	2497447	2488608	28262064	1663706	16481816
ácido quinico	0	0	3124237	3763986	3891735	7953394	4681777	3894881	2252231	135117	8546573
ácido *trans*-fertarico	914456	298125	12428217	17069745	13505741	52561109	27625355	8172225	34349021	0	3259906
ácido ferúlico	914456	298125	10676113	17069745	13505741	52561109	29604307	22462179	34349021	368695	3259906
ácido aspártico	295022	191065	8346379	12058475	11947383	15514704	7876605	7873202	12450143	145060	22370472
ácido malonico	139379	168071	0	2341647	0	4571289	2736668	2642827	2833114	0	1643435
ácido sinápico	0	0	0	0	0	25139100	0	0	0	132293	0
acido gálico	0	0	2630850	8162487	7339621	1282100	3439912	3956927	3694896	0	1533940
ácido cinâmico	914456	894376	96171787	217127808	113685080	72178744	27625355	4795871	41240088	3096804	1839578
ácido siringico	0	0	0	3465944	0	0	0	0	0	0	0
ácido coutarico	914457	298125	2389681	3607901	4946112	8262047	5004696	5332045	4458329	3096804	3640168
ácido *cis*-4-coumarico	169189	74759	3557768	3607901	2061028	8262047	5004696	2247115	5414800	341605	3640168
ácido *trans*-caftárico	0	0	0	0	2418178	4806616	0	2602746	0	0	2239860
L-asparagina	295022	422803	2301950	3141138	6929336	5615338	4788938	4722295	2142257	860431	3968917
L-glutamina	284130	137225	9990540	12073644	11437400	9308720	1899780	2155490	3198546	539905	1421170
L-lisina	0	0	0	0	0	0	1899780	2155490	3198546	0	1421170
L-valina	0	0	0	11383625	0	0	0	0	0	0	0
D-glucose	777609	370371	2050079	41352685	42376832	32593789	38809773	38307792	28262064	1663706	16481816
L-prolina	295022	191065	0	3141138	0	0	0	0	2142257	0	3968917
L-metionina	991862	422803	3983560	3046702	0	0	1899780	2155490	3198546	128440	2714894
L-arginina	0	0	0	0	0	17626078	0	0	0	0	0
L-leucina	0	142741	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L-triptofano	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2548352
5-*O*-cafeoilquinico	0	62800	0	0	0	6353685	1993212	3907728	2457629	0	1450526
resveratrol	116529	279984	0	0	0	0	0	0	0	0	0
pteroestilbeno	0	219638	0	0	227972	0	0	0	0	188156	0
Apigenina	0	0	1998265	18342284	8920131	28356834	0	12425655	4604826	138856	0
Catequina	777609	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
malonato de dietila	635731	362862	10445617	11192249	11133893	9980141	10151768	11189041	8639457	1023376	5722007
p-coumarato de etila	0	0	3124237	3763986	3891735	7953394	4681777	3894881	2252231	135117	8546573
galato de metila	242031	270660	0	0	0	0	0	0	0	229748	0
manitol	0	0	0	0	0	0	2107657	0	0	0	0
Tirosol	557983	224279	6422621	22898894	23153564	17300734	7193702	6634847	5414800	0	0

Os termos AL, AU etc. são os códigos referentes aos sucos de uva (vide Tabela 1). Os valores de abundância referem-se às médias das áreas relativas das triplicatas de extração.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 4. *Substâncias com seus respectivos códigos para análise dos componentes principais (PCA)*

Substância	Código para PCA	Substância	Código para PCA
acido fosfórico	C1	*L* – valina	C23
acido tartárico	C2	*D*- glucose	C24
acido málico	C3	*L* - prolina	C32
acido cítrico	C4	*L* - metionina	C33
acido succínico	C5	*L* - tirosina	C34
acido acético	C7	*L* – leucina	C40
acido ascórbico	C8	*L*-triptofano	C48
ácido *p*-coumarico	C9	*L* - arginina	C54
ácido cafeico	C12	*L* - glutamina	C21
ácido quinico	C13	*L*- asparagina	C19
ácido *trans*-fertarico	C16	resveratrol	C44
ácido ferúlico	C17	pteroestilbeno	C50
ácido aspártico	C20	Apigenina	C42
ácido malonico	C27	catequina	C47
ácido siringico	C31	coniferina	C53
ácido propionico	C36	Tirosol	C41
acido galico	C45	manitol	C56
ácido cinâmico	C46	5-*O*-cafeoilquinico	C37
ácido sinapico	C59	4-*O*-cafeoilquinico	C58
ácido coutarico	C39	galato de metila	C35
ácido *trans*-caftárico	C30	malonato de dietila	C25
ácido *cis*-4-coumarico	C28	*p*-coumarato de etila	C18
L - lisina	C22		

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

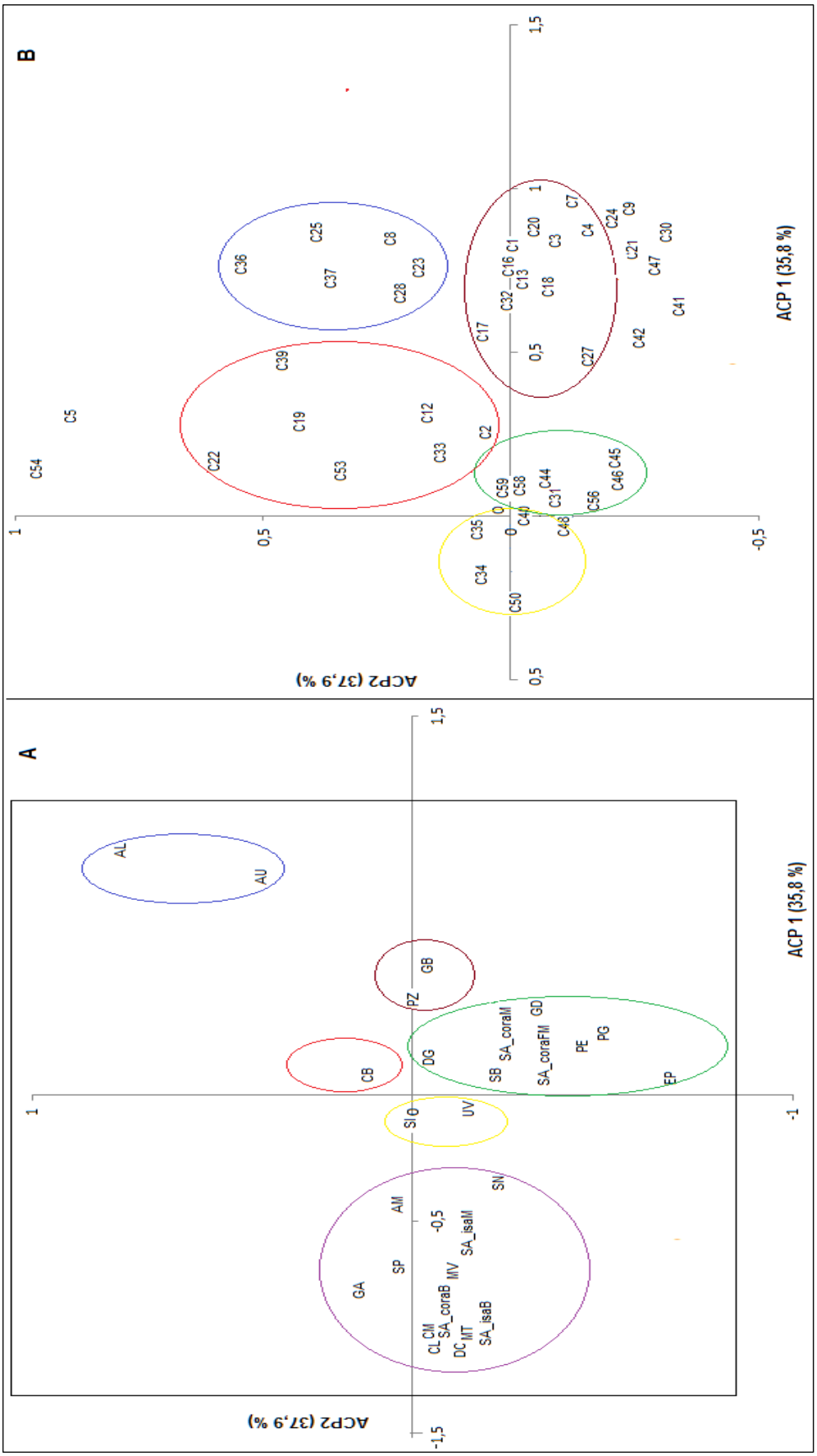


Figura 1. *(A) Gráfico de scores dos sucos de uva tintos, (B) Gráfico de loadings com os compostos não-voláteis identificados, com formação de agrupamentos conforme as cores observadas nos gráficos (A) e (B).*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

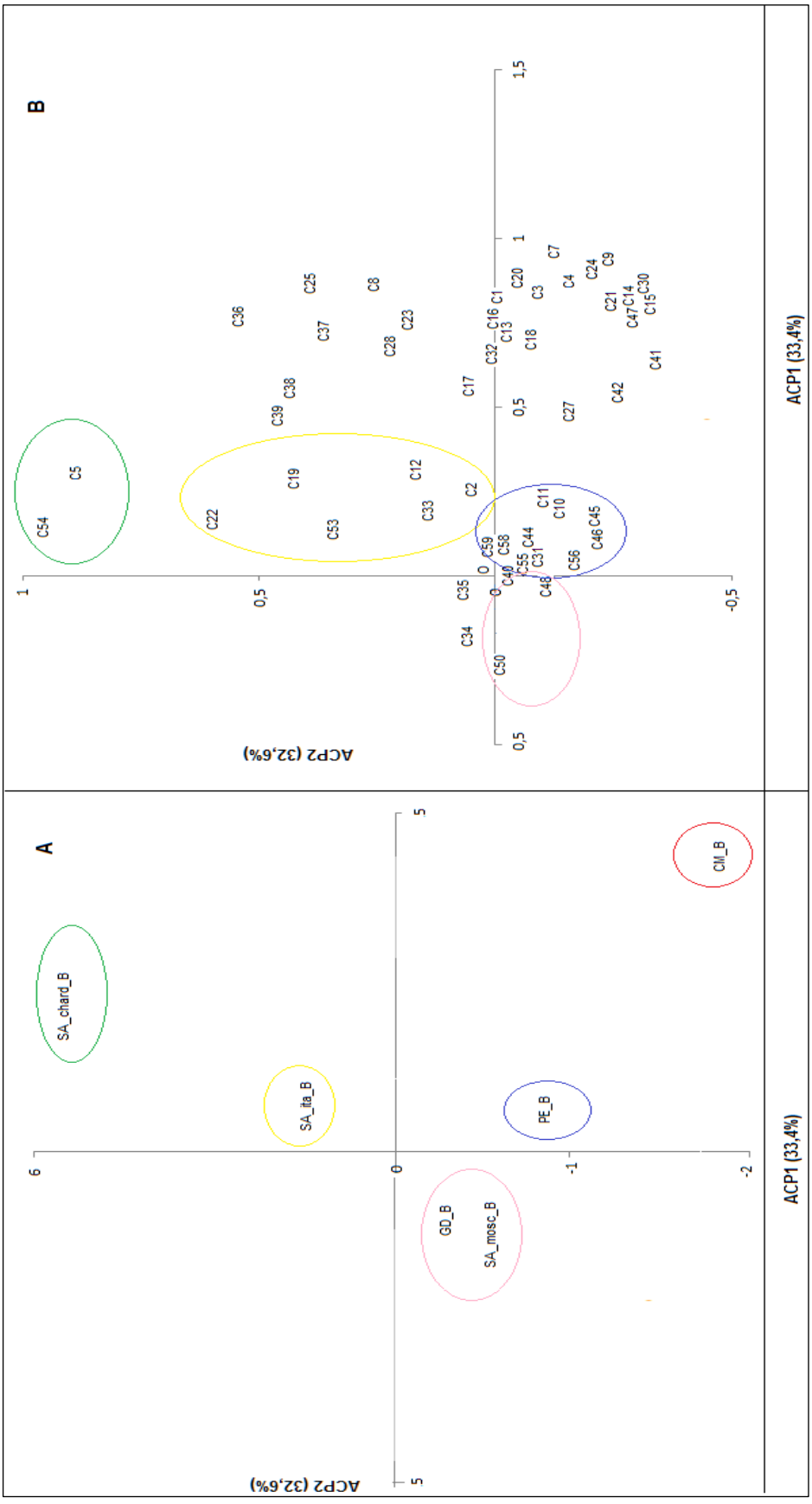


Figura 2. *(A) Gráfico de scores dos sucos de uva brancos, (B) Gráfico de loadings com os compostos não-voláteis identificados, com formação de agrupamentos conforme as cores observadas nos gráficos (A) e (B).*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

MÉTODO RÁPIDO E SIMPLES PARA A DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DO ÁCIDO BENZÓICO E ACESULFAME-K EM BEBIDAS NÃO ALCOÓLICAS POR DESCRIÇÃO DO ARRAY DE CROMATOGRAFIA-DIODO LÍQUIDO DE ALTO DESEMPENHO: VALIDAÇÃO DE MÉTODOS E AVALIAÇÃO DE INCERTEZA

FAST AND SIMPLE METHOD FOR SIMULTANEOUS DETERMINATION OF BENZOIC ACID AND ACESULFAME-K IN SOFT DRINKS BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY-DIODE ARRAY DETECTOR: METHOD VALIDATION AND UNCERTAINTY EVALUATION

PUTRI, Dillani [1*]; ARISTIAWAN, Yosi[1]; ARYANA, Nurhani[1] and STYARINI, Dyah[1]

[1] Metrology in Chemistry Laboratory, Research Center for Metrology, Indonesian Institute of Sciences, Kawasan PUSPIPTEK, Building 420, Serpong, 15314 Tangerang Selatan, Banten, Indonesia
(Phone: +62 21756 0533; fax: +62 21756 0568)

** Corresponding author*
e-mail: dill001@lipi.go.id

Received 28 April 2017; received in revised form 25 September 2017; accepted 22 October 2017

RESUMO

Classificados como aditivos alimentares, o uso de ácido benzóico e acesulfame K para preservar alimentos é finito devido à razões de saúde e meio ambiente. Neste estudo, um método eficiente e rápido para a determinação simultânea de ácido benzóico e acesulfame-K em refrigerantes foi validado usando alto desempenho cromatografia líquida com detector de matriz de diodos (HPLC-DAD) em uma coluna C18. O método mostrou resultados satisfatórios uma vez que o coeficiente de determinação do ácido benzóico e acesulfame-K foi 0,9998 e 0,9991, respectivamente. O LOD para ambos os compostos encontrados em 0,02 mg/kg e a LOQ foram encontrados em 0,07 e 0,06 mg/kg para ácido benzóico e acesulfame-K, respectivamente. Os estudos de recuperação demonstraram que o método tem uma boa recuperação variando de 96 a 103% tanto para o ácido benzóico quanto para o acesulfame-K com %RSD variando de 1,6 a 4,6% em diferentes concentrações. O método validado foi então aplicado à amostra de comparação entre laboratórios realizada pelo Laboratório de Controle de Qualidade Nacional para Drogas e Alimentos (NQCLDF), na Indonésia, utilizando materiais de referência padrão rastreáveis. A avaliação da incerteza com abordagem de baixo para cima mostrou que o método possui um valor de incerteza razoável com o orçamento de incerteza derivado do processo de pesagem, estudos de recuperação, precisão do método, curva de calibração e solução padrão. O valor de incerteza (k = 2, no nível de confiança de 95%) para o ácido benzóico foi de 4% na concentração relatada de 343 mg/kg e para o acesulfame-K foi de 6,5% na concentração de 195 mg/kg . Em suma, o método validado ofereceu um método simples e rápido, bem como o consumo econômico de reagentes, indicando sua possível aplicação como método alternativo para uma análise de rotina.

Palavras-chave: Ácido benzóico, acesulfame-K, refrigerante, HPLC, validação, incerteza

ABSTRACT

Classified as food additives, the use of benzoic acid and acesulfame K to preserve foods is finite due to health and environmentreason.In this study, anefficient and fast method for simultaneous determination of benzoic acid and acesulfame-K in soft drinks was validated using high performance liquid chromatography with diode array detector (HPLC-DAD) on a C18 column. The method showed results satisfaction as the coefficient determination for benzoic acid and acesulfame-K were 0.9998 and 0.9991 respectively. The LOD for both compounds found at 0.02 mg/kg and the LOQ were found at 0.07 and 0.06 mg/kg for benzoic acid and acesulfame-K respectively. The recovery studies proved that the method has a good recovery ranging from 96-103% for both benzoic acid and acesulfame-K with %RSD varies from 1.6 - 4.6% at different concentrations. The validated method then applied to the inter-laboratory comparison sample conducted by the National Quality

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Control Laboratory for Drug and Food (NQCLDF), Indonesia, using traceable standard reference materials. Uncertainty evaluation using bottom-up approach showed that the method has reasonable uncertainty value with uncertainty budget derived from weighing process, recovery studies, method precision, calibration curve and standard solution. The uncertainty value (k=2, in confidence level 95%) for benzoic acid was found to be 4% at reported concentration of 343 mg/kg and for acesulfame-K was found to be 6.5% at reported concentration of 195 mg/kg. In conclusion, the validated method offered a simple and fast method, as well as economical reagents consumption indicating its possible application as an alternative method for a routine analysis.

Keywords: *Benzoic acid, acesulfame-K, soft drink, HPLC, validation, uncertainty*

INTRODUCTION

According to the U.S. Food and Drug Administration (FDA), food additive is any substance with its intended results or may reasonably be expected to affecting the characteristics of any food (U.S. Food and Drug Administration, http://www.fda.gov). Based on its use, food additives can be divided into six categories including preservatives (such as antimicrobials, antioxidants and anti-chemical change), nutritional additives (vitamins, minerals, fibers), flavoring agents (sweeteners, natural or synthetic flavor enhancers), coloring agents, texturing agents (such as emulsifiers and stabilizers) and miscellaneous additives (include enzymes, solvents and catalyst) (Branen and Haggerty, 2002; Kritsunankul and Jakmunee, 2011). In several food processing, more than one food additive are usually added to improve the quality. For example in low calories beverages, many additives are added with the purposes to enhance food flavor, prevent from spoilage and also to control the calories intake (Diogo *et al.*, 2013; Roberts, 2016; Sylvetsky and Rother, 2016).

Benzoic acid and its sodium salts are widely used for food preservatives to prevent microbial growth or chemical change. Benzoic acid is simple aromatic carboxylic acid compound and presents naturally in many plants. Industrially, benzoic acid is obtained as a by-product during the liquid phase oxidation process of toluene with air as an oxidant and acetic acid as solvent (Humayun *et al.*, 2016). The estimated global production capacity for benzoic acid is about 600000 ton per year and maximum allowable concentration of benzoic acid as food additive was reported to be 2000 mg/kg (WHO, 2000).

Acesulfame-K is an artificial sweetener commonly added to food and often blended with other sweeteners (usually sucrose or aspartame) to control the sweetness of food especially beverage, soft drink and dietary product. The acceptance daily intake (ADI) for acesulfame-K according to FDA is 15 mg/kg body weight per day. Among the artificial sweeteners, acesulfame-K has caused more concern due to its wide application, persistence and may easily accumulated in environment (Gan *et al.*, 2014).

Soft drink itself has become popular beverage consumed by all ages around the world. Nowadays consumers demand on safe, flavorful, affordable and long-storage soft drink, which made the use of preservative to extend the storage and the sweeteners to control flavor are unavoidable in soft drink production. Therefore, analytical methods for determining those additives are need to continuously improve to provide accurate and reliable results. Providing accurate analytical data is essential to control presence of the additive under the maximum allowable level, especially in Indonesia so that it can be used to promote the food safety to the consumers. One of significant factor in the providing the accurate analytical results in soft drink analysis is the use of analytical traceable standard reference materials. The traceability of the standard used can give more reliable analysis results, including the more precise-measurement uncertainty evaluation and this information can be very useful to the stakeholder related to the food safety or quality assurance. In Indonesia, Badan Pengawas Obatdan Makanan-BPOM RI (The National Agency of Drug and Food Control-NADCF) is a regulatory body which authorized and supervised the use of additives in food. The NADCF stipulates the maximum concentration for both benzoic acid and acesulfame-K in the soft drink at 400 mg/kg and 600 mg/kg respectively (NADCF regulatory No. 30 2013; NADCF regulatory No. 34 2014).

In some previous studies, the methods for the determination of additives in soft drink have been developed and established. These methods

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

include capillary electrophoresis (Frazier *et al*., 2000; Bergamo *et al*., 2011), UV–Vis spectrophotometry (Chen and Ni, 2009), gas chromatography (Pan *et al*., 2005; Lopez *et al*., 2015) and liquid chromatography (Wrobel and Wrobel, 2007; Wasik *et al*., 2007; Kusi and Acquaah, 2014; Quirós *et al*., 2009; Ma *et al*., 2012). The liquid chromatography has become widely used for additives analysis due to its sensitivity, easy preparation and relatively low cost. The present study describes the development of a simple method for simultaneous determination of benzoic acid and acesulfame-K in soft drinks using high performance liquid chromatography equipped with diode array detector (HPLC-DAD). The single laboratory method validation and uncertainty evaluation of sample measurement were studied to evaluate the method performance. The sample measurement results then submitted for determining the assign value through the inter-laboratory comparison together with NQCLDF and Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR), Thailand. These assigned values were used for proficiency testing scheme program organized by NQCLDF, which is the laboratory under NADCF.

MATERIALS AND METHODS

2.1. Materials

In this study, all chemicals used were analytical grade. The standard certified reference materials (CRM) for benzoic acid (99.99% purity) was purchased from Health Sciences Authority (HSA), Singapore and the acesulfame-K standard used (100.41% purity) was from NQCLDF, Indonesia. The CRM's were used in all experiment. Methanol (HPLC grade) and phosphoric acid (85% purity) were purchased from Merck (Germany). Ultrapure water with resistivity 18 MΩ was produced using Milli-Q 185 (Merck Millipore) and was used in all experiment runs.

2.2. HPLC-DAD Analysis

The instrument system used in this study was HPLC e2695 equipped with a diode array detector DAD 2998 (Waters, United States). The chromatographic separation was performed in Phenomenexhypersil 5 µm C18 column with dimension 150 x 4.8 mm. The isocratic elution using 0.1% phosphoric acid and methanol (50:50) as mobile phase was used and the flow rate was kept at 1 ml/min for total runtime of 17 minutes. The single wavelength at 230 nm was selected for the measurement of the absorbance. The injection volume was 10 µl and the column temperature was maintained at 30 °C.

2.3. Sample Preparation

The sample used under this study was an Inter-laboratory comparison sample which prepared and supplied by The National Quality Control Laboratory for Drug and Food (NQCLDF), Indonesia. The quick and easy samples preparation was applied for the analysis using HPLC-DAD system. The soft drink samples were degassed using ultrasonic bath for 10 minutes, then diluted gravimetrically about 20 times with methanol. The samples were then filtered using PTFE 0.22 µm filter (Agilent) before HPLC-DAD analysis.

2.4. Method Validation

2.4.1 Analytical Standards

All analytical standards were prepared by gravimetrically dilution method. The each standard was dissolved in methanol to produce a 5000 mg/kg (ppm) stock solution for both benzoic acid and acesulfame-K. The stock solutions were diluted to about 100 ppm standard solutions. Afterwards, the 100 ppm standard solutions were further diluted to obtain a series of working standard mixture with approximately concentration range as follows: 1, 5, 10, 20, 30, 40 and 50 ppm.

2.4.2 LOD, LOQ and Linearity Study

For the limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) study, several blank samples solution were spiked with working standard to give a series of spiked blank sample solution having concentration ranging from 0.01 to 0.6 ppm. Moreover, the linearity study of working range for benzoic acid and acesulfame were determined by a calibration curve using a multi-point method (11 points) with the concentration range between 1 to 100 ppm.

2.4.3 Recovery and Precision

The precision and recovery of the method were evaluated using the blank sample which

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

spiked by pure standard solutions at different level of concentrations (before dilution) both for benzoic acid and acesulfame-K. The spiked concentration levels of benzoic acid were 70, 150, 200 and 600 ppm, while for the acesulfame-K were 400 and 600 ppm. The recovery measurement was conducted with ten replicates for each concentration level. The precision of the instrument was carried out by injecting nine replicationsof the working standard (20 ppm) of benzoic acid and acesulfame-K separately.

2.5. Uncertainty Evaluation

The uncertainty of measurement was evaluated using bottom up approach based on *JCGM 100.2008 (ISO GUM, Guide to the expression of uncertainty in measurement)* and *EurachemCitac Guide CG 4 2012 (Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement)*. The sources of uncertainty used for the evaluation were derived from the following data: weighing process, method precision, calibration curve, standard solution and recovery study.

RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Method Optimization

In a practical experiment, optimization of the HPLC's operating conditions to obtain a good separation of the target compounds is extremely important. In this study, the optimum separation of the benzoic acid and acesulfame-K was obtained by the optimization of the HPLC operating condition including the mobile phase, composition of mobile phase, wavelength, runtime and column (oven) temperature. The isocratic elution was chosen to give proper stability since the both compounds show a similar polarity. The pKa of benzoic acid was 4.76, while the benzoic acid is in its undissociated form in the pH range of 2.0-4.0 (Kritsunankul and Jakmunee, 2011). Therefore, the stability of the mobile phase was maintained by using a 0.1% phosphoric acid solution (pH 2). In addition, good sensitivity and resolution for both target compounds were found at wavelength 230 nm under studied wavelength range i.e., 205-240 nm. Under aforementioned HPLC condition, the analysis results show a good separation of the target compounds both in standard solution and sample as shown in Figure 1, where the retention time of acesulfame-K and benzoic acid were found at 1.26 min and 2.83 min, respectively.

3.2. Method Validation

An external multi point calibration technique was applied for the instrument calibration and the data were used to construct the calibration curve for sample analysis. The linearity of the detector response was evaluated by analyzing a set of eleven point calibration solutions which concentration ranging from 1 to 100 ppm. It showed a good linearity with R^2 0.9993 and 0.9998 for benzoic acid and acesulfame-K, respectively. The LOQ for benzoic acid and acesulfame-K were 0.07 and 0.06 ppm respectively with LOD was 0.02 ppm for both compounds. In addition, the results showed that the method used in this study has an adequate stability as summarized in Table 1.

The method recovery and precision were evaluated by conducting the recovery study in different days. As can be seen from Table 2, the recovery of benzoic acid gave satisfying results with value around 96 - 103%, while the recovery of acesulfame-K in concentrations 400 and 600 ppm also gave satisfying results at about 102 and 96% respectively. These results meet the criteria of *AOAC Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements* as it is stated that recommended acceptable recovery for range concentration of 100-1000 ppm is 90-107%. The relative standard deviation (RSD) for all concentrations was also meet the criteria as the RSD was found to be smaller than 5.3% (AOAC, 2016). For evaluating the instrument precision, a 20 ppm working standard was injected with nine replications and its peak area was analyzed. The results showed that the RSD for peak area of benzoic acid and acesulfame-K were 0.5 and 1.1% respectively. The manual procedure usually sets that the RSD of instrument drift was not more than 3%. This relatively small RSD indicated that the measurement was conducted under precise equipment condition so that can give the accurate results.

Table 2. *The recovery and RSD for benzoic acid and acesulfame-K at different concentrations*

Compound	Concentration (mg/kg)	Recovery (%)	RSD (%) n=10
Benzoic acid	70	96.5	1.6
	150	96.2	2.0
	200	102.0	1.8
	600	103.8	4.3
Acesulfame-K	400	102.3	2.0
	600	96.0	4.6

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

The two tailed student's *t*-test was conducted to evaluate whether the mean recovery was significantly different from 1 ($t_{calc} \geq t_{crit}$). This test can give an appropriate data to advise whether the recovery factor should be applied to the calculation of the sample results. The recovery factor usually explicitly included in the result calculation if the recovery value was significantly different from 1 (EURACHEM,2012). The *t* value was calculated using Equation 1.

$$t = \left| \frac{(\bar{x} - 100)\sqrt{n}}{s} \right| \qquad \text{(Eq. 1)}$$

Where:

$\bar{x}$: average of calculated recovery (%)
s : measurement's standard deviation (%)
n : number of measurement

This *t* value was then compared with critical *t* value at n-1 degree of freedom with confidence level of 95%. The results in Table 3 showed that the mean recovery for both benzoic acid and acesulfame-K were not significantly different from 1 as the calculated *t* were smaller than the critical *t*.

Table 3. *The t-test results for mean recovery*

Compound	n	Mean Recovery (%)	SD (%)	$t_{calculated}$	$t_{critical}$
Benzoic acid	40	99.6	4.2	0.602	2.023
Acesulfame-K	20	99.2	4.6	0.778	2.093

3.3. Sample Analysis and Uncertainty evaluation

The sample was analyzed using the validated method. For accurate results, the sample was analyzed in three different days with five replications each day. The RSD for sample measurement was found to be 3.2% for benzoic acid and 3.6% for acesulfame-K. The concentration of the sample was then calculated using simple equation as describe in Equation 2.

$$C_X = C_{hplc} \times \frac{W_{Final}}{Wsample} \qquad \text{(Eq. 2)}$$

Where:

C_x : final concentration of samples (mg/kg)
C_{hplc} : concentration obtained from calibration curve (mg/kg)
W_{final} : mass of sample after dilution (g)
W_{sample} : mass of sample before dilution (g)

The results and its uncertainty value are shown in Table 4, as the concentration of benzoic acid reported at 343 mg/kg and acesulfame-K at 195 mg/kg. This value was used in the determination of assigned value in inter-laboratory comparison together with NQCLDF and TISTR. The assigned value then used for proficiency testing scheme organized by NQCLDF (BPOM RI, 2015).

Table 4. *Reported concentration of benzoic acid and acesulfame-K*

Compound	Reported concentration (mg/kg)	Uncertainty (mg/kg)
Benzoic acid	343	14.1
Acesulfame-K	195	12.5

The uncertainty of samples measurement was evaluate based on *JCGM 100.2008* and *EurachemCitac Guide CG 4* 2012. The components considered supplying the significant contribution to the uncertainty as listed in Table 5 were quantified and combined to give the combined uncertainty (u_c) based on Equation 3.

$$u_c(x) = C_x \sqrt{\left(\frac{u_{m1}}{m_1}\right)^2 + \left(\frac{u_{m2}}{m_2}\right)^2 + \left(\frac{u_{Chplc}}{C_{hplc}}\right)^2 + \left(\frac{u_{rec}}{Rec}\right)^2 + \left(\frac{u_{precision}}{1}\right)^2 + \left(\frac{u_{Cstd}}{C_{std}}\right)^2} \qquad \text{(Eq. 3)}$$

The combined uncertainty was multiplied by coverage factor k=2 (corresponding to confidence level of 95%) to value the expanded uncertainty (*U*) of the measurement (Vanatta and Coleman, 2007; Konieczka and Namiesnik, 2010). The components of uncertainty included in the evaluation such as weighing process, method precision, calibration curve, standard solution and recovery are listed in Table 5.

The expanded uncertainty of samples measurement for benzoic acid and acesulfame-K were found to be 14.1 and 12.5 mg/kg respectively, so that give the percentage of the uncertainty 4.1% for benzoic acid and 6.5% for acesulfame-K. The budget uncertainty for each component can be seen in Table 6 for benzoic acid and Table 7 for acesulfame-K. These uncertainties of measurement values were

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

sufficiently acceptable in comparison to that of the precision values for concentration 400 mg/kg and 200 mg/kg derived from the Horwitz function which is 6.4 and 7.2% respectively (Heyden and Verbeke 2007).

CONCLUSIONS

A simple and low reagents consumption method for simultaneous determination of benzoic acid and acesulfame-K in soft drink with acceptable uncertainty was well developed by using HPLC-DAD. The LOD, LOQ and linearity studies showed this method could cover a wide range measurement with accurate results through the traceability to the HSA (Singapore) and NQCLDF(Indonesia) certified reference material standards for benzoic acid and acesulfame-K respectively. The recovery of this method gave satisfied results as for benzoic acid the mean recovery was 99.6% and for acesulfame-K was 99.2%. The bottom-up approach for uncertainty evaluation based on ISO GUM and EURACHEM showed the measurement in samples gave uncertainty about 4% for benzoic acid and 6.5% for acesulfame-K. These uncertainty values are acceptable in comparison to that of the uncertainty derived from Horwitz function. The present method can be proposed for an alternative method in routine laboratory analysis.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors highly appreciate the financial support from the Indonesian Institute of Sciences (Indonesia). The authors also thank NQCLDF and TISTR for the support and kind cooperation during the inter-laboratory comparison. Dillani Putri wishes to thank Dr. Oman Zuas for his generous and continuing advice.

REFERENCES

1. AOAC Official Methods of Analysis, Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements, **2016**.
2. Ashley, R., Physiol. Behav, **2016** 164(B), 439.
3. Bergamo, A.B., Silva, J.A.F., Jesus, D.P., Food Chem, **2014**, 124, 1714.
4. Branen, A.L., Haggerty, R.J., In: Branen, A.L., Davidson, P.M., Salminen, S., Thorngate, J.H., (Eds.) Food Additives, 2nd edn. Marcel Dekker Inc, New York,**2002**,pp 1 - 11.
5. Chen, Y.Q., Ni, Y.N., Chin. Chem. Lett, **2009**, 20, 615.
6. Diogo, J.S.G., Silva, L.S.O., Pena, A., Lino, C.M., Food Chem. Toxicol, **2013**, 62, 548.
7. EURACHEM / CITAC Guide CG 4, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement: third edition, **2012**.
8. Frazier, R.A., Inns, E.L., Dossi, N., Ames, J.M., Nursten, H.E., J. Chromatogr. A, **2000**, 876, 213.
9. Gan, Z., Sun, H., Wang, R., Hu, H., Zhang, P., Ren, X., Water Res, **2014**, 64,113.
10. Heyden, Y.V., Verbeke, J.S., J. Chromatogr. A, **2007**, 1158, 158.
11. Humayun, H.Y., Shaarani, M.N.N.M., Warrior, A., Abdullah, B., Salam,M.dA.,Procedia Engineering, **2016**,148,1320.
12. JCGM 100:2008, Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement: first edition, **2008**.
13. Konieczka, P., Namiesnik, J., J. Chromatogr. A, **2010**, 1217, 882.
14. Kritsunankul, O.,Jakmunee, J., Talanta, **2011**, 84, 1342–1349.
15. Kusi, J.K., Acquaah, S.O., IOSR J. Env. Sci., Toxicol. and Food Tech. (IOSR-JESTFT), **2014,** 8(12), 36.
16. Lopez, P., Sisseren, M., Marco, S.D., Jekel, A., Nijs, M., Mol, H.G.J., Food Chem, **2015**, 174, 407.
17. Ma, K., Yang, Y.N., Jiang, X.X., Zhao, M., Cai, Y.Q., Chin. Chem. Lett, **2012**, 23, 492.
18. National Quality Control Laboratory of Drug and Food, Indonesia, Determination Benzoic acid and Acesulfame-K in Soft Drink. Report: Proficiency Testing 2015 Food laboratory,**2015**,Jakarta:BPOM RI.
19. Pan, Z., Wang, L., Mo, W., Wang, C., Hu, W., Zhang, J., Anal. Chim. Acta, **2005**, 545, 218.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

20. Quirós, A.R.B, Arias, M.F., Hernández, J.L., Food Chem, **2009**, 116, 509.

21. Sylvetsky, A.C., Rother, K.I., Physiol. Behav, **2016**, 164(B), 446.

22. The National Agency of Drug and Food Control Republic of Indonesia, regulatory No. 30: maximum limit for preservatives in food, **2013**, Jakarta.

23. The National Agency of Drug and Food Control Republic of Indonesia, regulatory No. 34: maximum limit for sweeteners in food, **2014**, Jakarta.

24. U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION, http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/FoodAdditivesIngredients/, Accessed on 23 August 2016.

25. Vanatta, L.E., Coleman, D.E., J. Chromatogr. A, **2007**, 1158, 47.

26. Wasik, A., McCourt, J., Buchgraber, M., J. Chromatogr. A, **2007**, 1157, 187.

27. World Health Organization, Concise international chemical assessment document (CICAD) No. 26: Benzoic Acid and Sodium Benzoate, **2000**, Geneva:World Health Organization.

28. Wrobel, K., Wrobel. K., J. Chromatogr. A, **1997**, 773, 163.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

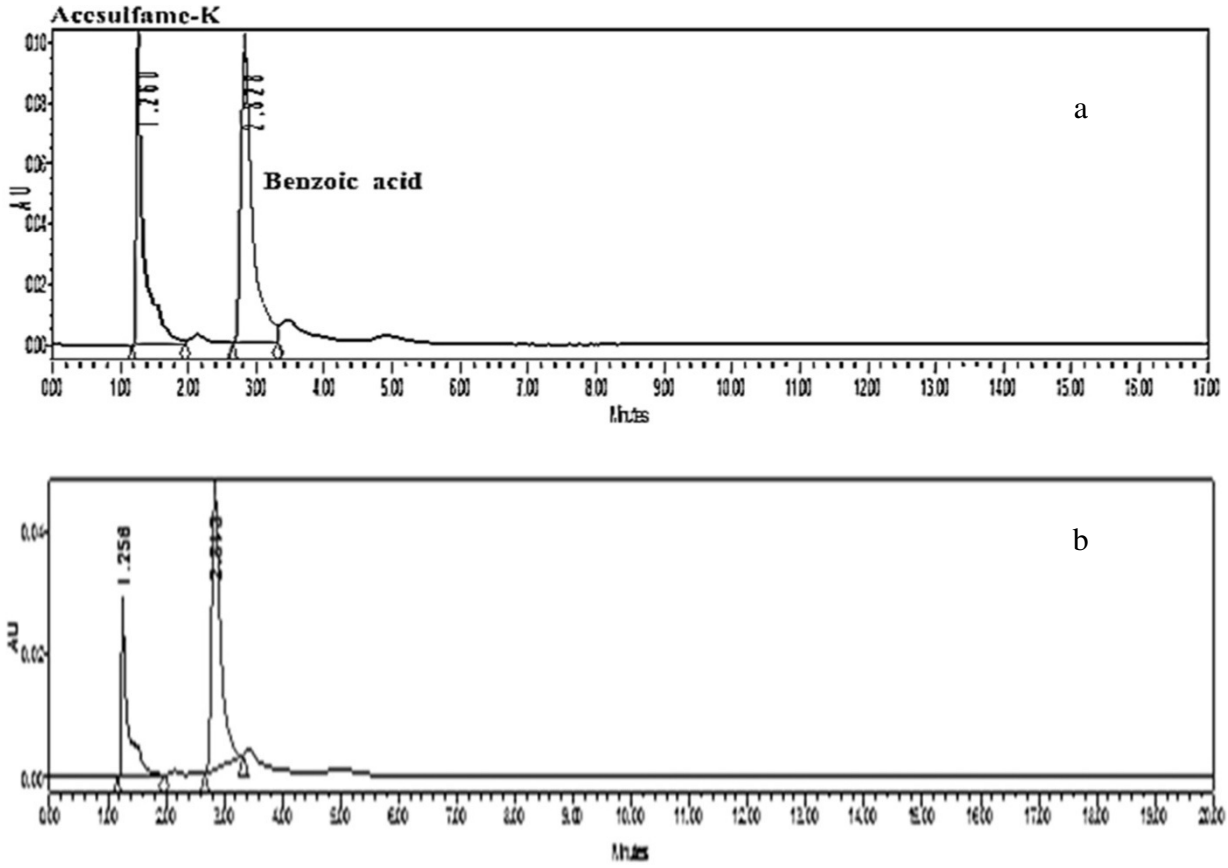


Figure 1. *Chromatogram of (a) 20 ppm standard solution mixture containing benzoic acid and acesulfame-K and (b) sample (both at wavelength 230 nm)*

Table 1. *The Linearity range, LOD and LOQ of the validated method*

Compound	Rt (min.)	λ_{max} (nm)	Working Range (mg/kg)	R^2 for Working Range	Linear Range (mg/kg)	R^2 for Linear Range	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)
Benzoic acid	2.83	230	1-50	0.9998	1-100	0.9993	0.02	0.07
Acesulfame-K	1.26	230	1-50	0.9991	1-100	0.9998	0.02	0.06

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 5. *Components of uncertainty for determination of benzoic acid and acesulfame-K using HPLC-DAD*

Component of uncertainty (*u*)	Source of uncertainty data	Type
m_1	Uncertainty from the mass of sample (based on calibration certificate of analytical balance)	B
m_2	Uncertainty from the mass of sample's final dilution (based on calibration certificate of analytical balance)	B
C_{hplc}	Uncertainty from the concentration obtained from calibration curve (linear least square fitting procedure)	A
Recovery	Uncertainty from recovery study on the blank spiked sample (based on mean recovery)	A
Precision	Uncertainty from RSD of ten independent analysis of samples	A
Standard solution	▪ Uncertainty from purity value of the pure standards used for calibration (based on standard certificate)	B
	▪ Uncertainty from the calibration certificate of the analytical balance used in preparing the standard and calibration solutions	B

Table 6. *Uncertainty budget for measurement of benzoic acid in soft drink*

No	Source of uncertainty	Value	Standard uncertainty (*u*)	Unit	Relative uncertainty (%)
1	$Weighing_1$	0.039	2.12132E-05	g	0.054
2	$Weighing_2$	0.84	2.12132E-05	g	0.003
3	Precision	1	0.010066866		1.007
4	Calibration curve	16.445	0.153152928	mg/kg	0.931
5	Recovery	0.996	0.014230251		1.429
6	Standard solution	21.042	0.050210625	mg/kg	0.239
Sample concentration			343	mg/kg	
Combined uncertainty (*u*)			7.0	mg/kg	
Expanded uncertainty (k=2)			14.1	mg/kg	
% of uncertainty			4.1	%	

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 7. *Uncertainty budget for measurement of Acesulfame-K in soft drink*

No	Source of uncertainty	Value	Standard uncertainty (*u*)	Unit	Relative uncertainty (%)
1	$Weighing_1$	0.039	2.12132E-05	g	0.054
2	$Weighing_2$	0.84	2.12132E-05	g	0.003
3	Precision	1	0.009946206		0.995
4	Calibration curve	9.050	0.267489963	mg/kg	2.956
5	Recovery	0.992	0.004666753		0.470
6	Standard solution	17.695	0.097112094	mg/kg	0.549
Sample concentration			195	mg/kg	
Combined uncertainty (*u*)			6.3	mg/kg	
Expanded uncertainty (k=2)			12.6	mg/kg	
% of uncertainty			6.5	%	

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

PROPOSIÇÃO DE METODOLOGIA DE TERMODEGRADAÇÃO POR MEIO DE FRAGMENTOS DE LENHOS DA *Araucaria columnaris*

PROPOSAL OF A THERMAL DEGRADATION METHODOLOGY WITH SCRAPS OF LOGS FROM *Araucaria columnaris*

DE LARA, Daniela[1]; BRESCIANI, Laís[2]; HILGEMANN, Maurício[3]; OSTERKAMP, Isa Carla[4]; JASPER, André[5]; UHL, Dieter[6]; STÜLP, Simone[7*]

[1] Universidade Estadual do Rio Grande do Sul – Uergs, Unidade do Alto da Serra Botucaraí Soledade, Rua Travessa Ticiano Felippi, 100 - Bairro Botucaraí, cep 99300-000, Soledade – RS, Brasil
(fone: +55 54 3381-1483)

[1,2,3,7] Centro Universitário UNIVATES, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Rua Avelino Talini, 171 - Bairro Universitário, cep 95914-014, Lajeado – RS, Brasil
(fone: +55 51 3714-7000)

[4,5] Centro Universitário UNIVATES, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Rua Avelino Talini, 171 - Bairro Universitário, cep 95914-014, Lajeado – RS, Brasil
(fone: +55 51 3714-7000)

[5,6] Senckenberg Forschungsinstitut und Naturmuseum, Senckenberganlage 25, cep 60325, Frankfurt am Main - Germany. Senckenberg Center for Human Evolution and Palaeoenvironment, Institut für Geowissenschaften, Universität Tübingen, cep 72076, Tübingen - Germany
(fone: +55 +49 (0)69/7542-0)

** Autor correspondente*
e-mail: stulp@univates.br

Received 16 June 2017; received in revised form 23 August 2017; accepted 23 August 2017

RESUMO

A reconstrução de ambientes pretéritos têm sido estudo em diversas áreas da ciência objetivando auxiliar no entendimento dos diversos eventos ocorridos no planeta. As plantas são consideradas marcadores ambientais e, normalmente, mostram adaptações estruturais que são características de seu habitat. Sendo assim, após passarem pelo processo de queima, podem não ser completamente consumidas pelo fogo, sendo possível encontrar resquícios de carvão vegetal e outros materiais remanescentes. Baseado nisto, a presença de carvão vegetal se constitui em indicativo direto da ocorrência de incêndios atuais ou pretéritos, tendo contribuído com uma valiosa fonte de dados *proxy* (paleo)ambientais. Neste sentido, o trabalho objetiva avaliar as alterações físicas e químicas que ocorrem durante o processo de carbonização em mufla de fragmentos de lenhos da espécie *Araucaria columnaris* em diferentes temperaturas, permitindo avaliar influências importantes em relação ao seu processo de formação. As temperaturas da queima dos lenhos *in* natura foram num intervalo de 50 a 1000 ºC, variando-se a temperatura de 50 em 50 ºC, com razão de aquecimento avaliada em 25 °C min^{-1}. A análise deste resultado busca permitir a proposição de metodologia que auxilie na caracterização dos processos naturais envolvidos na formação desse tipo de material, servindo de subsídio para inferências (paleo)ambientais.

Palavras-chave: *Carbonização, Carvão Vegetal, Paleo (ambientes).*

© 2017. Porto Alegre, RS. Brasil

ABSTRACT

The reconstruction of past environments has been studied in several areas of science, aiming to help in understanding the several events that occurred on the planet. Plants are considered environmental markers and usually show structural adaptations that are characteristic of their habitat. Therefore, after passing through the charring process, they may not be completely consumed by the fire, being possible to find remnants of charcoal and other remaining materials. Based on this, the presence of charcoal is an evidence of the occurrence of current or past fires, contributing with a valuable source of (paleo) environmental *proxy* data. In this sense, the objective of this work is to assess the physical and chemical changes that occur on scraps of logs from *Araucaria columnaris*. It will be done during the charring process in muffle, at different temperatures, allowing us to assess important influences in relation to its forming process. The charring temperatures of the logs *in natura* were in a range of 50 to 1000 ° C, with ranging temperatures from 50 to 50 ° C, and heating ramp of 25 ° C min^{-1}. The analysis of this result seeks to allow the proposal of a methodology that assists in the characterization of the natural processes involved in the forming of this type of material, serving as a contribution to (paleo) environmental inferences.

Keywords*: Carbonization, Charcoal, Paleo (environments).*

INTRODUÇÃO

Um dos maiores desafios da humanidade constituindo-se em pontos de discussão em diferentes áreas da ciência é a modificação ocorrida nos ambientes naturais (Chamley, 2003).

Explicar essas modificações pelas quais o planeta já passou é uma das formas de se estabelecer cenários ambientais futuros, efetuando estudos de eventos pretéritos, focando em suas causas e consequências para tentar compreender o ambiente contemporâneo (Jasper e Ulh, 2011).

Sorokhtin *et al.* (2007) salientam que no estabelecimento de padrões para cenários futuros faz-se necessário observar como o meio ambiente evolui durante o tempo. Baseado nessas afirmações, as avaliações de fenômenos ambientais passados podem ser aplicadas na atualidade, e com isso, tornarem-se importantes ferramentas de reconstruções (paleo)ambientais.

As plantas normalmente mostram adaptações estruturais que são características de seu habitat e constituem indicadores (paleo)ambientais especialmente sensíveis (Chaloner e Mcelwain, 1997). Pires *et al.* (2011) salientam que as plantas são consideradas como testemunho importante acerca de eventos ambientais que afetaram e continuam afetando o planeta.

Gastaldo *et al.* (1996) citam que as plantas podem ser nomeadas como marcadores ambientais, e consequentemente, possibilitam a construção de um instrumento para a compreensão das variações climáticas ao longo do tempo. De acordo com o exposto, as coníferas, especificamente as espécies da família Araucariaceae, são classificadas como "fóssil vivo", uma vez que estão presentes na terra há aproximadamente 300 milhões de anos. Sendo assim, compartilham de atributos de adaptação às condições ambientais que as distinguem das plantas com flores de outros grupos de gimnospermas (Kershaw e Mcglone, 1995). Tal fato as torna especialmente valiosas para geólogos e paleobotânicos (Dutra e Stranz, 2003).

Scott e Stea (2002) consideram que o fogo, por ser um agente importante na dinâmica de um grande número de ecossistemas, deve ter atuado de forma semelhante ao longo da história da Terra. Bowman *et al.* (2009) e Flannigan *et al.* (2009) citam que as análises dos incêndios vegetacionais são importantes para avaliar as relações entre o clima, o tempo, os combustíveis e as pessoas e, assim, desempenha uma das principais fontes de interação com os ecossistemas modernos.

Estudos sobre a ocorrência dos paleoincêndios, evidenciados através de análise em carvão vegetal macroscópico, são apresentadas através de diversas pesquisas, tais como: Scott e Jones (1994); Falcon-Lang (2000); Uhl *et al.* (2004); Uhl *et al.* (2008); Uhl *et al.* (2010); Gutsell e Jonhson (2007); Scott (2000); Scott (2010); Jasper *et al.* (2008a,b); Manfroi *et al.* (2015); Kauffmann (2008); Kauffmann (2016). Estes estudos evidenciam a anatomia do carvão vegetal e inferem sobre as possíveis reconstruções (paleo)ambientais, podendo definir

© 2017. Porto Alegre, RS. Brasil

e orientar ações de preservação e recuperação dos ambientes atuais, contribuindo como ferramenta para compreender as questões ambientais da contemporaneidade (Scott, 2000; Uhl e Kerp, 2003; Uhl *et al.* 2004; Jasper *et al*. 2007).

Neste sentido, o objetivo do presente trabalho é avaliar as alterações físicas e químicas que ocorrem durante o processo de carbonização em mufla de fragmentos de lenhos da *Araucaria columnaris* em diferentes temperaturas. Além disso, considerando que as condições de carbonização serão controladas em laboratório, pretende-se utilizar as variáveis aplicadas como base para possíveis inferências (paleo)ambientais envolvidas no processo de formação dos carvões vegetais.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Identificação das amostras

Fragmentos de lenhos da espécie *Araucaria columnaris* foram coletados no município de Colinas (29º 32' 28,84" S e 51º 50' 28,35" L) no Rio Grande do Sul, Brasil. Foram extraídas de espécimes abatidas por motivos diversos e as amostras foram obtidas em forma de discos a 1,50 m de altura, medindo 8 cm de espessura e 18 a 35 cm de diâmetro conforme apresentado na Figura 1.

Figura 1. *Amostra do fragmento de lenho do espécime Araucaria columnaris*

Os lenhos secos foram identificados de duas formas diferentes, antes e depois do processo de carbonização. As amostras que antecedem a queima foram identificadas como lenhos *in natura* e, após o processo de queima, as amostras foram identificadas como lenhos carbonizados artificialmente.

2.2. Processo de carbonização em mufla

Os lenhos *in natura* foram carbonizados em mufla SP Labor (modelo SP-1200). As amostras foram cortadas com dimensões de 1,0 cm × 1,0 cm × 1,0 cm (1,0 cm^3), com variância de 0,02 cm. Posteriormente, no cadinho de porcelana (Chiarotti A-37) foi depositada uma quantidade de areia suficiente para preencher o fundo do mesmo. Após essa etapa, a amostra previamente pesada foi colocada dentro do cadinho de porcelana e, objetivando restringir a quantidade de oxigênio no processo de carbonização, o recipiente foi preenchido até sua borda com areia do mar purificada (Merck), cujo tamanho de partículas variam de 0,1 a 0,3 mm.

As temperaturas da queima dos lenhos *in natura* foram feitas num intervalo de 50 ºC a 1000 ºC, variando-se a temperatura de 50 em 50 ºC e com razão de aquecimento avaliada em 25 ºC min^{-1}. A fim de se reduzir o erro experimental, todas as análises foram realizadas em triplicada determinando-se a média e o desvio padrão.

Para o processo de carbonização a temperatura de aquecimento do forno mufla foi regulada a 50 ºC por 5 minutos para estabilização. Após esse tempo, as amostras foram colocadas no interior da mufla, ajustando-se a temperatura desejada. Quando o equipamento atingia a temperatura estipulada, a amostra permanecia no forno por 60 minutos.

Posterior a esse período, as amostras eram retiradas da mufla e acondicionadas em dessecador para que atingissem a temperatura ambiente.

As perdas de massas durante o processo de carbonização foram calculadas a partir da massa inicial de cada amostra subtraindo-se o valor da massa final obtida e expressas em porcentagem.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A Figura 3 apresenta os resultados em termos de perda de massa (%) das amostras avaliadas em mufla para a faixa de temperatura de 50 ºC a 1000 ºC para a espécie avaliada.

© 2017. Porto Alegre, RS. Brasil

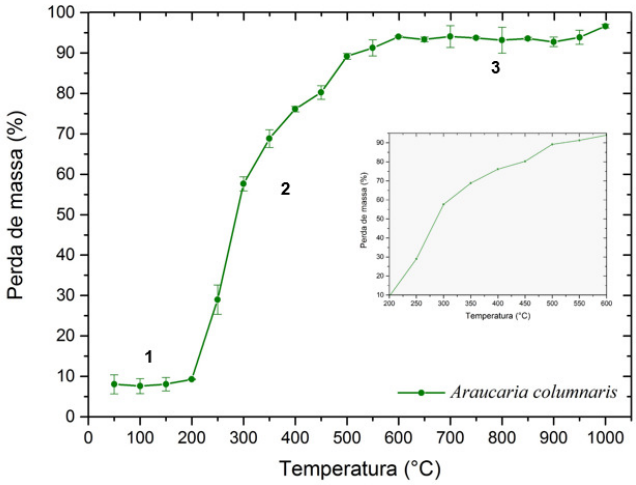


Figura 2. *Perda de massa das amostras submetidas ao processo de queima em mufla para a espécie Araucaria columnaris com razão de aquecimento de 25 °C min^{-1} e na faixa de temperatura de 50 °C a 1000 °C com regiões 1,2 (detalhe em zoom) e 3 destacadas*

Observa-se que a termodegradação dos lenhos ocorre em eventos térmicos definidos e padrões de queima semelhantes para as amostras avaliadas (regiões 1, 2 e 3 da Figura 2). Ainda, em destaque na mesma Figura, evidenciam-se o intervalo que houve o maior percentual de perda de massa.

Verifica-se que o intervalo de temperatura de 25 ºC, temperatura ambiente, até 200 ºC, apresenta uma região de estabilidade térmica (Fig. 2, região 1). A média da perda de massa nesta faixa de temperatura foi de 1,24%.

A maior perda de massa se deu no intervalo de 200 ºC até 600 ºC (região 2 e em destaque na Figura 2). A média da perda de massa foi de 84,74% neste intervalo.

No intervalo de 600 ºC até 1000 ºC (Fig. 2, região 3) a perda de massa média foi de 2,61%. Após a obtenção da temperatura máxima de 1000 ºC, a massa residual, em termos percentuais, foi de 3,27%.

As mudanças na coloração dos lenhos podem ser avaliadas na Figura 3.

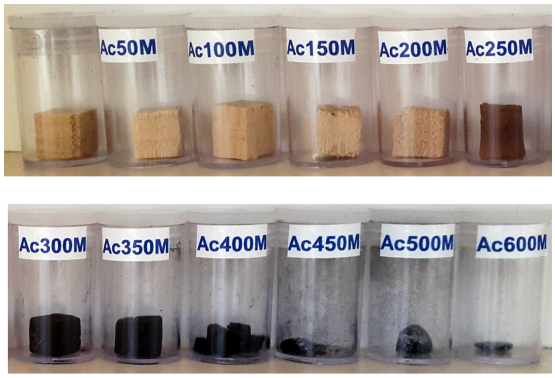


Figura 3. *Mudança de coloração da amostra in natura e das amostras submetidas ao processo de queima em mufla para a espécie Araucaria columnaris na faixa de temperatura de 200 °C a 600 °C*

Visualmente não se observou modificação em relação tamanho, forma e cor nas amostras carbonizadas nas temperaturas de 50 ºC a 150 ºC. Concomitante com o incremento de temperatura houve diminuição do formato das amostras e as mesmas tornaram mais frágeis e consequentemente, mais quebradiças.

Rendeiro *et al.* (2008) citam que ao reduzir o teor de umidade das amostras, inicia-se o processo de decomposição da estrutura molecular dos lenhos. A umidade da biomassa provém da água, que faz parte da composição da estrutura macro do lenho e está ligada às paredes de celulose. A perda dessa água causa tensão na estrutura molecular e se manifesta macroscopicamente pela mudança da sua coloração para preto conforme observado na Figura 2.

A perda de massa observada na Figura 2 pode estar associada à desagregação dos principais componentes estruturais dos lenhos. Oliveira *et al.* (1982) citam que os lenhos quando submetidos à ação do calor, em temperaturas elevadas sofrem um processo de transformação, no qual, todos os seus componentes são exaustivamente modificados. Ainda Figueroa e Moraes (2009) citam que o lenho, por ser um polímero natural, quando submetido ao fogo, sofre despolimerização e carbonização, alterando suas propriedades mecânicas conforme o nível de temperatura e tempo de exposição ao calor ao qual foi submetido.

Beaumont (1985) cita quais as principais modificações químicas ocorridas no lenho por faixa de temperatura. Na fase inicial de aquecimento, entre 20 ºC e 110 ºC, o lenho

© 2017. Porto Alegre, RS. Brasil

absorve calor e libera vapor d'agua (Fig. 2, região 1). Com o aumento da temperatura até 270 ºC, o lenho começa a degradar e, ainda existem resquícios remanescentes de água que continuam sendo liberados juntamente com compostos, tais como: monóxido de carbono, dióxido de carbono, ácido acético e metanol.

A maior perda de massa durante o processo de termodegradação dos lenhos acontece na região 2 da Figura 2. Beaumont (1985) salienta que na faixa de 270 ºC a 290 ºC, inicia-se o processo exotérmico, e de 290 ºC a 400 ºC, o lenho continua degradando-se e liberando gases combustíveis e vapores condensáveis.

Observa-se que após a temperatura atingir 600 ºC (Fig. 2, região 3), acontece uma gradual diminuição na perda de massa.

Para o entendimento das alterações físico-químicas ocorridas nos lenhos após o processo de carbonização, Treusch *et al.* (2004) citam que deve ser observado os três principais constituintes dos lenhos: celulose, hemicelulose e lignina. A combinação de celulose (40-45%) e a hemicelulose (15-25%), conhecida como holocelulose, geralmente representa 65-70 % do peso seco dos lenhos (Rowell *et al.* 2005).

Werner *et al.* (2014) citam que a decomposição térmica da hemicelulose variou para taxas máximas de perda de massa entre 243 ◦C e 332 ◦C. Já Yang et al. (2007) citam que sua faixa de decomposição está entre 220 ºC e 315 ºC, com perda de massa próxima a 268 ºC. Já a decomposição térmica da celulose apresentou para Yang *et al.* (2007) e Shen *et al.* (2010) uma estabilidade térmica até 300 ºC.

Conesa *et al.* (1995) citam que cada fração dos componentes dos lenhos tem uma cinética de decomposição térmica bem diferenciada e, a partir do fornecimento de altas temperaturas promove a decomposição térmica dos seus componentes químicos.

Yang *et al.* (2007) ressaltam que o processo de decomposição da lignina acontece lentamente desde o início da carbonização dos demais constituintes até 900 °C, com baixa taxa de perda de massa. Sua degradação acontece numa faixa ampla de temperatura e apresenta maior estabilidade térmica devido a sua aromaticidade, ao tamanho e arranjo na estrutura molecular (Haykiri-Acma *et al.* 2010).

Característica esta oposta da celulose e da hemicelulose que possuem um arranjo estrutural mais simples e temperatura de degradação abaixo de 350 ºC, conforme já exposto anteriormente.

CONCLUSÕES:

Os resultados obtidos nesse estudo evidenciaram que é possível avaliar as alterações físicas e químicas que ocorrem durante o processo de carbonização em mufla de fragmentos de lenhos da *Araucaria columnaris* em diferentes temperaturas, permitindo avaliar a sua influência sobre características químicas dos carvões vegetais. Assim, a análise destes dados busca auxiliar na proposição de uma metodologia que auxilie na caracterização dos processos naturais envolvidos na formação desse tipo de material, servindo de subsídio para inferências (paleo)ambientais.

AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem aos técnicos Me. M. B. Horn e Dr. V. Ilha e à CAPES pelos auxílios financeiros concedidos, projetos CAPES (A072/2013), CNPq (301585/2012-1, 400972/2013-1, 444330/2014-3, 310421/2013-6). A. Jasper agradece à FAPERGS, ao CNPq (305436/2015-5), à CAPES (Brasil – 8107-14-9) e à Alexander von Humboldt Foundation (Germany BRA 1137359 STPCAPES).

REFERÊNCIAS:

1. Chamley, H. Geoscience, enviromenment and man. v. 1. Amsterdam: Elsevier, 2003.
2. Jasper, A.; Uhl, D. In: Goal Meeting. Freiberg: University Freiberg, v C538. p. 95-99. 2011.
3. Sorokhtin, O. G.; Chilingar, G. V.; Khilyur, L. F. In: Developments in Earth & Environmental Sciences 5. Elsevier, 2007. 313 p. (http://lynuhec.ru/zapux.pdf).
4. Chaloner, W. G.; Mcelwain, J. *Review of Palaeobotany and Palynology*, **1997,** *95*.
5. Pires, E. F.; Guerra-Sommer, M.; Scherer, C. M. S.; Dos Santos, A. R.; Cardoso, E. *Journal of South American Earth Sciences*, **2011,** *32*, 1.
6. Gastaldo, R. A.; Dimichele, W. A.; Pfefferkorn, H. W. *GSA*, **1996,** 6.
7. Kershaw, P.; Mcglone, M.S. The

© 2017. Porto Alegre, RS. Brasil

Quaternary history of the southern conifers. Palo Alto, California: See Enright & Hill, 1995. (https://www.amazon.ca/Ecology-Southern-Conifers-Neal-Enright/dp/toc/1560986174).
8. Dutra, T.; Stranz, A. In: Ronchi, L.H.; Coelho, O.G.W. (org.) Tecnologia diagnóstico e planejamento ambiental. São Leopoldo: Unisinos, 2003. p. 293-351.
9. Scott, A.C., Stea, R. *Geoscientist*, **2002,** *12*.
10. Bowman, D.M.J.S.; Balch, J.K.; Artaxo, P.; Bond, W.J.; Carlson, J.M.; Cochrane, M.A.; D'antonio, Cm.M.; Defries, R.S.; Doyle, J.C.; Harrison, S.P.; Johnston, F.H.; Keeley, J.E.; Krawchuk, M.A.; Kull, C.A.; Marston, J.B.; Moritz, M.A.; Prentice, I.C.; Roos, C.I.; Scott, A.C.; Swetnam, T.W.; Van Der Werf, G.R.; Pyne, S.J. *Science*, **2009**, *324*.
11. Flannigan, M. D.; Krawchuk, M. A.; De Groot, W. J.; Wotton, B. M.; Gowman, L. M. *Int J Wildl Fire*, **2009,** *18*.
12. Scott, A. C.; Jones, T. P. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology,* **1994,** 106.
13. Falcon-Lang, H. J. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology,* **2000,** *164*.
14. Uhl, D., Lausberg, S., Noll, R., Stapf, K.R.G. *Palaeo,* **2004**, *207.*
15. Uhl, D.; Jasper, A.; Hamad, A. M. B. A.; Montenari, M**.** 1ª WSEAS International Conference on Environmental and Geological Science and Engineering (EG'08) Malta, Sep. 2008. p. 11-13.
16. Uhl, D., Jasper, A., Schindler, T., Wuttke, M. *Palaios,* **2010,** *25.*
17. Gutsell, S.L., Jonhson, E.A. Wildfire and Tree Population Processes. In: Jonhson, E.A., Mianishi, K. Plant Disturbance Ecology. Amsterdam: Elsevier, 2007. (https://www.elsevier.com/books/plant-disturbance-ecology/johnson/978-0-12-088778-1).
18. Scott, A.C. *Palaeo*, **2000**, *164.*
19. Scott, A.C. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology,* **2010**, *291.*
20. Jasper, A., Guerra-Sommer, M., Menegat, R., Cazzullo-Klepzig, M., Branco, F.S.R.T., Salvi, J. In: Winge, M., Schobbenhaus, C., Souza, C.R.G., Fernandes, A.C.S., Berbert, B., Queiroz, E.T. (edit.) **2008a**. (http://www.unb.br/ig/sigep/sitio008/sitio008/pdf).
21. Jasper, A., Ulh, D., Guerra-Sommer, M., Mosbrugger, V. *Journal of South Américan Earth Sciences*, **2008b**, *26.*
22. Manfroi, J., Uhl, D., Guerra-Sommer, M., Francischin, H., Martinelli, A.G., Soares, M.B. & Jasper, A. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **2015**, *436*.
23. Kauffmann, M. Fragmentos de charcoal (carvão vegetal fóssil) como indicativo da ocorrência de incêndios vegetacionais durante o Quaternário do Planalto das Araucárias, Rio Grande do Sul, Brasil. **2008**. Dissertação (Mestrado).
24. Kauffmann, M., Jasper, A., Uhl, D., Meneghini, J. *Elsevier Science*, **2016,** *450.*
25. Scott, A. C. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecololgy*, **2000,** *164*.
26. Uhl, D.; Kerp, H. *Palaeo*, **2003,** *199*.
27. Uhl, D.; Lausberg, S.; Noll, R.; Stapf, K.R.G. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology,* **2004,** *207.*
28. Jasper, A.; Guerra–Sommer, M.; Uhl, D.; Salvi, J.; Kauffmann, M.; Osterkamp, I. C.; Gonçalves, C. V. In: Carvalho, I. S.; Cassab, R. C. T.; Schwanke, C.; Carvalho, M. A.; Fernandes, A. C. S.; Rodrigues, M. A. C.; Carvalho, M. S. S.; Araí, M.; Oliveira, A. E. Q. O. (eds.). Paleontologia: Cenários de Vida. Rio de Janeiro: Interciência, 2007. p. 14-25.
29. Rendeiro, G., Nogueira, M., Brasil, A.C.M., Cruz, D.O.A., Guerra, D.R.S., Macêdo, E.N., Ichihara, J.A. Combustão e gasificação de biomassa sólida. Brasília: Ministério de Minas e Energia,2008.
30. Oliveira, J.B., Gomes, P.A., Almeida, M.R. Carvão vegetal: destilação, carvoejamento, propriedades, controle de qualidade. Belo Horizonte: FCTMG, 1982.
31. Figueroa, M.J.M., Moraes, P.D. *Ambiente Construído*, **2009**, *9,* 4.
32. Beaumont, E. (Ed.) *FAO Forestry Paper*, **1985,** *63*. (http://www.fao.org/ docrep/X5555E/x5555e00.htm#Contents).
33. Treusch, O., Hofenauer, A., Troger, E.F., Fromm, J., Wegener, G. *Wood Sci Technol*, **2004,** *38.*
34. Rowell, R.M., Petterson, R., Han, J.S.,

© 2017. Porto Alegre, RS. Brasil

Rowell, J.S., Tschabalala, M.A. *Handbook of Wood Chemistry and Wood Composites*, **2005**.
35. Werner, K., Pommer, L., Brostrom, M. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, **2014**, *110*.
36. Yang, H., Yan, R., Chen, H., Lee, D.O., Zheng, C. *Fuel,* **2007**, *86.*
37. Shen, D.K., Gu, S., Bridgwater, A.V. *Carbohydrate Polymers*, **2010,** *82*.
38. Conesa, J.A., Caballero, J.A., Marcilla, A., Font, R. *Thermochimica Acta,* **1995,** *254*.
39. Yang, H., Yan, R., Chen, H., Li, D.H., Zheng, C. *ScienceDirect*, **2007**, *86.*
40. Haykiri-Acma, H., Yaman, S., Kucukbayrak, S. *Fuel Processing Technology*, **2010**, 91.

© 2017. Porto Alegre, RS. Brasil

POTENCIAL DA ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO-NIR ALIADA A ANÁLISE MULTIVARIADA PARA DISCRIMINAÇÃO GEOGRÁFICA DO ÓLEO AMAZÔNICO DE BURITI (*MAURITIA FLEXUOSA* L.)

POTENTIAL OF NEAR INFRARED SPECTROSCOPY-NIR ALLIED THE MULTIVARIATE ANALYSIS FOR GEOGRAPHICAL DISCRIMINATION OF BURITI (*MAURITIA FLEXUOSA* L.) AMAZONIAN OIL

PANERO, Pedro dos Santos[1,5]; PANERO, João dos Santos[2,5]; PANERO, Francisco dos Santos[3,5]; GUEDES, Rodrigo Gomes[4]; DE FARIA, Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana[5]; RODRIGUEZ, Anselmo Fortunato Ruiz[5*]

[1] Instituto Federal de Ciência e Tecnologia de Roraima - *Campus* Boa Vista Zona Oeste, Rua Fernão Dias Paes Leme, 11, cep 69303-220, Boa Vista – RR, Brasil. (fone: +55 95 3624 1224)

[2] Instituto Federal de Ciência e Tecnologia de Roraima - *Campus* Amajari, Rodovia Antonino Menezes da Silva, cep 69343-000, Amajari – RR, Brasil. (fone: +55 95 3593 1143)

[3] Universidade Federal de Roraima, Departamento de Química, Av. Cap. Ene Garcez, 2413, cep 693120-000, Boa Vista – RR, Brasil. (fone: +55 95 3621 3100)

[4] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Departamento de Pesquisas Econômicas, Av. Getúlio Vargas, 5795, cep 69301-030, Boa Vista – RR, Brasil. (fone: +55 95 3212 2100)

[5] Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal, Rede BIONORTE, Universidade Federal do Acre - UFAC, Rodovia BR 364, Km 04, Rua São Sepé, 8902, cep 69920-900, Rio Branco – AC, Brasil. (fone: +55 68 *3901 2719*)

** Autor correspondente*
e-mail: ruiz@ufac.br

Received 20 June 2017; accepted 19 October 2017

RESUMO

Óleos da polpa do fruto de buriti (*Mauritia Fleuxosa* L.), oriundo da região amazônica, foram obtidos de diferentes locais do interior do estado de Roraima - Brasil, para aplicação da espectroscopia de Infravermelho Próximo com Transformada de Fourier (FTNIR) aliada a métodos quimiométricos de Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise de Cluster Hierárquico (HCA) como alternativa metodológica para discriminação geográfica dos pontos de coleta de buriti, que tem sido foco de pesquisas relacionadas às composições de compostos bioativos e apresentado potencialidades para a extração de óleo para uso nas indústrias de combustível, farmacêutica, cosmética e alimentícia. No total, vinte amostras destes óleos foram analisadas na faixa de 700 a 2000 nm, e processadas via aplicação de PCA e HCA. Nos dois casos as potencialidades das técnicas foram confirmadas, obtendo-se resultados satisfatórios para identificação geográfica dos óleos coletados nos municípios de Boa Vista, Mucajaí, São João da Baliza e Caroebe, com descrição de dados de até 99,77% via PCA. O que demonstra a eficácia dos métodos aplicados para discriminações sem destruição das amostras e em tempo real, útil em monitoramento eficiente de produtos saudáveis e seguros aos consumidores.

Palavras-chave: *Quimiometria; Óleo Vegetal; Análise de Componente Principal; Análise de Cluster Hierárquico.*

ABSTRACT

Pulp oils from buriti fruit (*Mauritia Fleuxosa* L.), from the Amazon region, were obtained from different locations of the state of Roraima - Brazil, for the application of Near Infrared Spectrometry with Fourier

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Transform (FTNIR) (PCA) and Hierarchical Cluster Analysis (HCA) as a methodological alternative for geographical discrimination of buriti collection points, which has been the focus of research related to bioactive compound compositions and presented potential for oil extraction for use in the fuel, pharmaceutical, cosmetic and food industries. In total, twenty samples of these oils were analyzed in the 700 to 2000 nm range, and processed through application PCA and HCA . In both cases the potentialities of the techniques were confirmed, obtaining satisfactory results for the geographic identification of the oils collected in the places of Boa Vista, Mucajaí, São João da Baliza and Caroebe, with a data description of up to 99.77% by PCA. Which demonstrates the effectiveness of the methods for discriminations without destruction of the samples and in real-time, useful in the efficient monitoring of healthy and safe products to consumers.

Keywords: *Chemometrics; Vegetable Oil; Principal Component Analysis; Hierarchical Cluster Analysis.*

INTRODUÇÃO

A autenticidade de produtos é assunto de discussão recorrente por consumidores e principalmente autoridades reguladoras de diversas áreas indústrias responsáveis pela proteção contra a fraudes, e já tem despertado interesse, em instituições internacionais, para elaboração e emissão de diretrizes visando o apoio à identificação de géneros alimentícios e produtos agrícolas pertencentes a regiões geográficas distintas, pois a qualidade e o valor comercial de alguns produtos podem estar atrelados a locais específicos (Casale & Simonetti, 2014).

Vários métodos químicos convencionais, como técnicas cromatográficas (Berlioz *et al.*, 2006) para determinação da proveniência regional, adulteração e autenticidade de produtos alimentícios, como azeite de oliva (Marini *et al.*, 2006), foram empregados em décadas anteriores. Entretanto, devido a esses métodos de análises clássicas serem demorados e necessitarem de mão de obra especializada, tem-se feito esforços em busca de técnicas rápidas, precisas e capazes de manter a integridade amostral, características alcançadas pela espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR) aliada a análise de dados multivariados.

A utilização da espectroscopia NIR tem sido reportada em aplicações laboratoriais e industriais para classificação de materiais (Popp *et al.*, 2012), caracterização de combustível (Kiefer, 2015), controle de qualidade de comprimidos farmacêuticos (Roggo *et al.*, 2007; Simões *et al.*, 2006; Trafford *et al.*, 1999); detecção de adulteração em alimentos (Ding & Xu, 2000; Li *et al.*, 2016), análise e discriminação geográfica de azeite de oliva extra virgem (Casale *et al.*, 2008; Casale & Simonetti, 2014; Sinelli *et al.*, 2010), etc. com sucesso e aceitação da técnica devido ao potencial matemático das análises aplicadas aos espectros das amostras. Mas ainda são escassos estudos investigando a aplicação da espectroscopia do infravermelho na região NIR para discriminação geográfica do óleo de buriti do estado de Roraima, visando a não produção de contaminantes.

O buritizeiro (*Mauritia flexuosa* L.), Figura 1 (a), é uma espécie de palmeira nativa da região Amazônica facilmente encontrada ao longo de rios, lagos, área de floresta ou savana em diversos estados do Brasil. É bastante conhecida pela população do estado de Roraima, devido a utilização de suas palhas na cobertura de malocas indígenas, e do seu fruto, o buriti, Figura 1 (b), fonte de consumo *in natura,* graças ao sabor agradável e alto valor nutricional, sendo, sua polpa, comumente encontrada à venda em feiras para manipulação do suco ou uso como ingrediente na fabricação de picolés e sorvetes.

Óleos e gorduras servem como fontes de energia concentradas e também são fontes de ácidos graxos essenciais e vitaminas, como a vitamina E, fundamental na dieta humana e produzida por organismos fotossintéticos (Saberi *et al.,* 2011; Sen & Khanna, 2006).

Pesquisas têm indicado a utilização de óleos vegetais amazônicos de copaíba, babaçu, buriti, etc., em diversos tipos de produtos industriais ou manualmente preparados, como maioneses, margarinas e molhos para saladas (Albuquerque *et al.*, 2005; Aquino *et al.*, 2012), por serem úteis na contribuição ao sabor, aparência, textura ou benefícios a saúde (Foster *et al.*, 2009; Freire *et al.*, 2016), graças à presença de componentes funcionais, capazes de agregarem elevado valor comercial aos produtos (Saberi *et al.*, 2011).

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Figura 1. *Palmeira (Mauritia flexuosa* L.*) (a), e o fruto (buriti) (b) do estado de Roraima.*

O óleo de buriti apresenta propriedades funcionais devido sua concentração de ácidos graxos monoinsaturados, que são considerados importantes para redução de colesterol sanguíneo (Aquino *et al.*, 2012; Binkoski *et al.,* 2005), possui carotenoides, que são relacionados às funções e ações fisiológicas, como a atividade de provitamina A (De Rosso & Mercadante, 2007) e tocoferóis, com atividade antioxidante, capaz de propiciar estabilidade oxidativa (Rodrigues *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2009), útil na indústria de alimento para preservar o óleo adequado para consumo por mais tempo (Gunstone, 2011).

O óleo de buriti também tem se mostrado profícuo para produção do biodiesel (Iamaguti, 2014), pois, conforme Silva *et al.* (2009), em 1000 kg de frutos maduros é possível a extração de 45 kg de óleo; e utilização na indústria de cosméticos devido as suas propriedades emolientes (Zanatta, 2010) e antioxidantes, relevantes na desaceleração do fotoenvelhecimento e na proteção da pele aos efeitos nocivos da exposição solar (Natura, 2017), podendo ser aplicado como ingrediente em hidratantes corporais, sabonetes e protetores solar ou labial.

Portanto, como há potencial aplicabilidade do óleo do buriti em diversas áreas e os fatores ambientais como condições climáticas (Tura *et al.*, 2007), origem geográfica (Galtier *et al.,* 2008), nutrientes encontrados no solo (Cimato *et al.*, 2003), variações na estação de coleta, manipulação pós-colheita ou processo de extração e armazenamento (Silva, *et al.*, 2009), são capazes de interferir na qualidade de óleos vegetais – podendo vir a comprometer suas utilizações em alimentos, cosméticos ou medicamentos – é efetivamente importante a aplicação de metodologias que possibilitem rapidez no processo de identificação da procedência destes óleos.

Este trabalho aborda a espectroscopia infravermelha na região NIR aliada as análises quimiométricas dos dados espectrais do infravermelho para verificação da procedência geográfica do óleo da polpa de buriti das localidades de Boa Vista, Mucajaí, São João da Baliza e Caroebe, pertencentes ao estado de Roraima, com o intuito de demonstrar o emprego de uma técnica alternativa, rápida, sem produção de resíduos e com capacidade de manutenção da integridade amostral.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

2.1.1 Amostras de Óleo

Foram analisadas um total de 20 amostras de óleo da polpa de buriti, de quatro localidades do estado de Roraima:

São João da Baliza - vicinal 16, localizada a 330 km da cidade de Boa Vista e pertencente a área de vegetação de Floresta Ombrófila Densa Submontana com Dossel Emergente com Pastagem (IBGE, 2005);

Caroebe - vicinal 6 da região de Entre Rios, localizada a 394 km da cidade de Boa Vista e com classificação florestal idêntica a São João da Baliza, conforme IBGE, 2005;

Boa Vista - região do PA Nova Amazônia - Gleba Truaru, área rural, localizada a 82 km da cidade de Boa Vista, capital do estado de Roraima, com vegetação de Savana Parque com Floresta de Galeria (IBGE, 2005);

Mucajaí - vicinal 17 da vila do Apiaú, localizada a 136 km da cidade de Boa Vista, na área de vegetação de Floresta Ombrófila Aberta Submontana com Palmeiras.

2.1.2 Preparação das Amostras

As amostras foram descascadas, despolpadas, trituradas e colocadas para secar

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

por 24 h sob temperatura controlada de 65 ºC. Posteriormente, cada unidade amostral foi embalada em papel-filtro, posta no interior do extrator Soxhlet – com balão abastecido com 250 mL de éter etílico – e submetida ao sistema de refluxo contínuo, por 6 h, para extração do óleo. Por fim, as amostras foram rotaevaporadas e armazenadas em frascos específicos.

2.2. Métodos

2.2.1 Medidas por Infravermelho Próximo (NIR)

A espectroscopia NIR foi utilizada para obtenção dos espectros de amostras dos óleos da polpa de buriti, na faixa de 700 a 2000 nm, com espectro médio obtido de 30 leituras à temperatura ambiente de 28 ºC. As respostas espectrais foram gravadas no modo absorbância e geradas pelo espectrofotômetro modelo Lambda 950, da marca PerkinElmer, com acessório de esfera de integração e detector InGaAs/PMT.

2.2.2 Análise de Componente Principal - PCA

Foi utilizado o PCA, método de reconhecimento de padrão não supervisionado, visando a detecção do comportamento amostral e a compressão de dados de múltiplas variáveis correlacionáveis, com propriedades úteis na descrição das informações presentes nos dados originais, visualizadas mediante auxílio de programa computacional específico que decompõe a matriz X na matriz de "*scores*" **T** e "*loadings*" **L**, capazes de fornecer informações de correlações e padrão de similaridade amostral. Com "*scores*" representando as relações entre as amostras e "*loadings*" as relações entre as variáveis (Ferreira, 2015; Souza & Poppi, 2012).

$$\mathbf{X} = \mathbf{T}\mathbf{L}^{T} \qquad \text{(Eq.1)}$$

2.2.3 Análise de Cluster Hierárquico - HCA

Também foram aplicados, aos espectros NIR, o método HCA, que fornece representações gráficas bidimensionais, com auxílio computacional, e possibilita o relacionamento do grau de similaridade amostral com o comprimento das ramificações apresentadas via dendrograma (PirouetteTM, 2003). O dendrograma obtido, neste caso, foi mediante cálculo de distância euclidiana entre grupos amostrais com critério de agrupamento de variância mínima *incremental* (Eq. 2), transformações de correção de linha base (*quadratic fit) e* log 10 aplicados aos dados da matriz (20 x 1301) em um programa específico, com técnicas quimiométricas,

$$d_{AB\to C} = \left(\frac{(n_A+n_C)d^2_{AC}+(n_B+n_C)d^2_{BC}-n_C d^2_{AB}}{n_A+n_B+n_C}\right)^{1/2} \qquad \text{(Eq.2)}$$

sendo "n_i" o número de amostras em "i" agrupamentos, e os "x_{aj}" e "x_{bj}", respectivamente, os valores da j-ésima coordenada de A e B.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

3.1. Espectrocopia NIR

Na Figura 3 estão dispostos os espectros de infravermelho próximo, na faixa de 700 a 2000 nm, de quatro amostras de óleos da polpa de buriti, de diferentes regiões do estado de Roraima (São João da Baliza, Caroebe, Boa Vista e Mucajaí*),* dos quais pode-se verificar comprimentos de ondas associados aos modos vibracionais, em concordância com Albuquerque *et al.* (2005), que relataram a mesma assinatura espectral do óleo vegetal de buriti em seu trabalho e consideraram a banda entre 920 e 940 nm como característica de compostos que possuem *alfa*-tocoferol e ácido oleico e, o pico presente em 1210 nm, característico de compostos que apresentam alta concentração de ácido oleico (Albuquerque *et al.,* 2005).

Os picos presentes entre 920 a 1215 nm são oriundos dos segundos *overtones* da banda C-H, característico de lipídios, conforme Wilson *et al*. (2015). Em 1390 e 1412 nm estão evidenciados os picos usualmente atribuídos à compostos que possuem alta concentração de ácido oleico (Albuquerque *et al*., 2005). O pico 1430 nm pode ser atribuído ao primeiro *overtone* do estiramento O-H. E os picos em 1722 e 1760 nm são característicos de compostos que apresentam ácido oleico, associados ao primeiro *overtone* de estiramento C-H e/ou O-H (Albuquerque *et al*., 2005; Wilson *et al.,* 2015).

3.2. Análise de Componentes Principais de Dados NIR

Na Tabela 1, verifica-se a descrição de 100% da variação total dos dados fornecida pelas componentes principais PC1, PC2 e PC3

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

que possibilitaram a discriminação geográfica das amostras, mediante a visualização das informações mais relevantes oriundas da variabilidade da matriz de dados (20 x 1301), construídas com a totalidade de 20 amostras e 1301 variáveis em quintuplicatas.

Tabela 1. *Descrição da variabilidade dos dados (%) via associação de componentes principais 1, 2 e 3.*

Componentes Principais	Descrição da variabilidade dos dados (%)
PC1 + PC2 + PC3	100,00%
PC1 + PC2	99,77%
PC1	95,29%

A primeira componente principal (PC1) em associação com a segunda componente principal (PC2), Tabela 2, foram responsáveis por descreverem 99,77% da variação total, com 95,29% atribuídos à PC1 e apenas 4,48% à PC2.

Na Figura 4 (PC2xPC1) está representado o gráfico de *scores* com a discriminação de dois grandes grupos evidenciados pela análise da PC1: o da região Sul do estado de Roraima, caracterizada por possuir fitoecologia de Floresta Ombrófila Densa Submontana com Dossel Emergente com Pastagem, onde estão contidos os agrupamentos de São João da Baliza e Caroebe; e o da região Centro-Norte do estado de Roraima, no qual estão inseridas as amostras de Boa Vista e Mucajaí, pertencentes, respectivamente, às áreas de vegetação de Savana Parque com Floresta de Galeria e de Floresta Ombrófila Aberta Submontana com Palmeiras.

Ainda na Figura 4, é possível notar, analisando também a PC2, as discriminações dos locais de onde foram realizadas as coletas, provavelmente devido aos fatores climáticos-regionais e variações dos nutrientes presentes no solo, onde observa-se o agrupamento das amostras de Boa Vista e Mucajaí, com pontos de coletas distantes por mais de 100 km (218 km por estrada); e das amostras de São João da Baliza e Caroebe, com distância entre os pontos de coleta de, aproximadamente, 56 km.

3.3. Análise de Agrupamento Hierárquico de Dados NIR

A Figura 5 apresenta o dendrograma obtido por HCA, com transformação de correção de linha base (*quadratic fit*) e log 10. Nesta, verifica-se a confirmação das tendências obtidas via PCA, pois, pode-se observar agrupamentos que evidenciam a discriminação geográfica das amostras das localidades de Boa Vista e Mucajaí, pertencentes à região Centro-Norte do estado de Roraima, e de Caroebe e São João da Baliza, oriundas da região Sul de Roraima.

CONCLUSÕES:

A aplicação da técnica PCA-NIR apresentou 99,77% da descrição da variabilidade dos dados e foi confirmada pela técnica HCA-NIR. O que demonstra que a espectroscopia na região do infravermelho próximo (NIR), quando aliada à análise de componentes principais (PCA) ou de agrupamento hierárquico (HCA) fornecem informações rápidas e eficientes quanto a discriminação geográfica de óleos da polpa de buriti coletados nas localidades de Boa Vista, Mucajaí, São João da Baliza e Caroebe, do estado de Roraima. Os resultados indicam que esse tipo de aplicação tem grande potencial para rastreabilidade e certificação da procedência geográfica das amostras de óleos vegetais, mediante o controle de qualidade confiável, rápido e sem utilização de produtos nocivos ao ambiente e ao operador.

AGRADECIMENTOS:

Ao programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal da Universidade Federal do Acre – UFAC, pela liberação do laboratório e equipamentos que contribuíram fundamentalmente para viabilidade do trabalho. Ao Instituto Federal de Ciência e Tecnologia de Roraima – *Campus* Boa Vista Zona Oeste pelo apoio à capacitação, concedida ao primeiro autor.

REFERÊNCIAS:

1. Albuquerque, M.L.S., Guedes, I., Alcantara, Jr., Moreira, S.G.C., Neto, N.M.B., Correa, D.S.; Zilio, S.C. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **2005**,16, 6a, 1113-1117.
2. Aquino, J.S., Pessoa, D.C.N.P., Araújo, K.L.G.V.; Epaminondas, P.S., Schuler, A.R.P., De Souza, A.G., Stamford, T.L.M. *Journal of the Brazilian Chemical Society*,

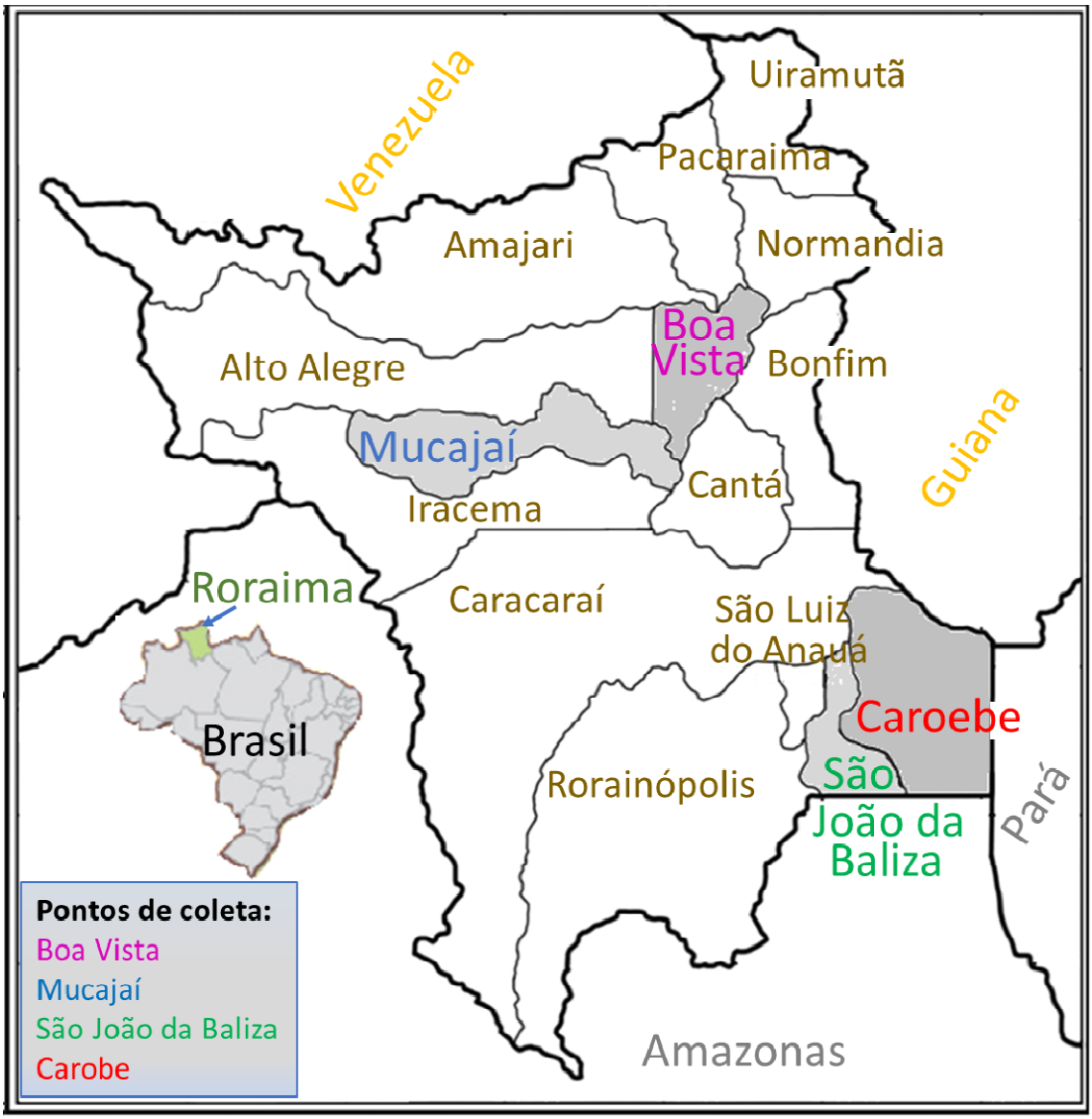
© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

2012, 23, 2, 212-219.
3. Berlioz, B., Cordella, C., Cavalli, J.F., Lizzani-Cuvelier, L., Loiseau, A.M., Fernandez, X. *Journal Agricultural and Food Chemistry,* **2006**, *54*, 10092-10101.
4. Binkoski, A.E., Kris-Etherton, P.M., Wilson, T.A., Mountain, M.L., Nicolosi, R.J. *Journal of The American Dietetic Association*, **2005**, 105, 7, 1080-1086.
5. Casale, M., Casolino, C., Ferrari, G., Forina, M. *Journal of Near Infrared Spectroscopy, **2008**,* 16, 39-47.
6. Casale, M. & Simonetti, R. *Journal of Near Infrared Spectroscopy, **2014**,* 22, 59-80.
7. Cimato, A., Franchini, E., Lapucci, C., Attilio, C., Sani, G., Costantini, E. A.C., Pellegrini, S., Barbetti, R. *Proceedings of the National Conference on "Qualità del suolo, impatto antropico e qualità dei prodotti agricoli"*, **2003**, 428–433.
8. De Rosso, V.V. & Mercadante, A.Z. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, **2007**, 55, 5062-5072.
9. Ding, H.B. & Xu, R.J. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2000**, 48, 2193-2198.
10. Ferreira, M.M.C. *Quimiometria – Conceitos, Métodos e Aplicações*. Editora da UNICAMP, Campinas, SP, **2015**.
11. Foster, R., Williamson, C. S., Lunn, J. *Nutrition Bulletin*. **2009**, 34, 4-47.
12. Freire, J.A.P., Barros, K.B.N.T., Lima, L.K.F., Martins, J.M., Araújo, Y.C., Oliveira, G.L.S., Aquino, J.S., Ferreira, P.M.P. *Journal of Food Science*, **2016**, 81, 11, R2611-R2622.
13. Galtier, O., Le Dréau, Y., Olliver, D., Kister, J., Artaud, J., Dupuy, N. *Applied Spectroscopy*, **2008**, 62, 583-590.
14. Gunstone, F.D. Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses, 2a. ed, Wiley-Blackwell: Oxford, **2011**.
15. Iamaguti, P. S. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista, **2014**.
16. IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. Estado de Roraima – Vegetação. *Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão*, **2005**, 1.
17. Kiefer, J. *Energies*, **2015**, 8, 3165-3197.
18. Li, X., Feng, F., Gao, R., Wang, L., Qian, Y., Li, C., Zhou, G. *Journal of the Science of Food and Agriculture,* **2016**, 96, 9, 3148-3156.
19. Marini, F., Magrì, A.L.; Bucci, R., Balestrieri, F., Marini, D. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, **2006**,* 80, 1, 140-149.
20. Marsaro Júnior, A.L., Peronti, A.L.B.G., Penteado-Dias, A.M., Morais, E.G.F., Pereira, P.R.V.S. Brazilian Journal of Biology, **2013**, 73, 2, 413-418.
21. Natura. http://www.natura.com.br/e/buriti-saude-e-beleza-no-cerrado. Acessado em junho **2017**.
22. PirouetteTM. Multivariate Data Analysis. *Pirouette User Guide, Version 3.11.* Infometrix Inc, Woodinville, WA, **2003**.
23. Popp, J., Tuchin, V., Chiou, A., Heinemann, S. Em Handbook of Biophotonics. WILEY-VCH. Germany: Weinheim, **2012**, vol 3.
24. Rodrigues, A.M.C., Darnet, S., Silva, L.H.M. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **2010**, 21, 10, 2000-2004.
25. Roggo, Y., Chalus, P., Maurer, L., Lema-Martinez, C., Edmond, A., Jent, N. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **2007**, 44, 683-700.
26. Saberi, A.H., Kee, B.B., Oi-Ming, L., Miskandar, M.S. *Food Chemistry*, **2011**, 127, 1031-1038.
27. Sen, C.K. & Khanna, S., Roy, S. *Life Sciences*, **2006**, 78, 2088-2098.
28. Silva, S., Sampaio, K.A., Tahan, T., Rocco, S. A., Ceriani, R., Meirelles, A.J.A. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **2009**, 86, 611-616.
29. Simões. S.S., Sanches, F.A.C., De araújo, M.C.U., Pasquini, C., Junior, I.M.R., Rohwedder, J.J.R. Resumos da 29a Reunião Anual da *Sociedade Brasileira de Química*, Águas de Lindóia., Brasil, **2006**.
30. Sinelli, N., Casale, M., Di Egidio, V., Oliveri, P., Bassi, D., Tura, D., Casiraghi, E. *Food Research International*, **2010**, 43, 2126-2131.
31. Souza, A.M. & Poppi, R.J. *Química Nova*, **2012**, 35, 1, 223-229.
32. Trafford, A.D., Jee, R.D., Moffat, A.C., Graham, P. *The Analyst*, **1999**, 124, 163-167.
33. Tura, D., Gigliotti, C., Pedò, S., Failla, O., Bassi, D., Seraiocco, A. *Scientia Horticulturae,* **2007**, 112, 108-119.
34. Wilson, R.H., Nadeau, K.P., Jaworski, F.B., Tromberg, B.J., Durkin, A.J. *Journal of Biomedical Optics*, **2015**, 20, 3, 1-10.
35. Zanatta, C.F., Mitjans, M., Urgatondo, V.,

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Rocha-Filho, P.A., Vinardell, M.P. *Food and Chemical Toxicology*, **2010**, 48, 1, 70-75.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil



Fonte: Marsaro Júnior *et al.*, 2013.
(Adaptada pelos autores)

***Figura 2**. Mapa do estado de Roraima com representações das regiões de coleta das amostras de buriti.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

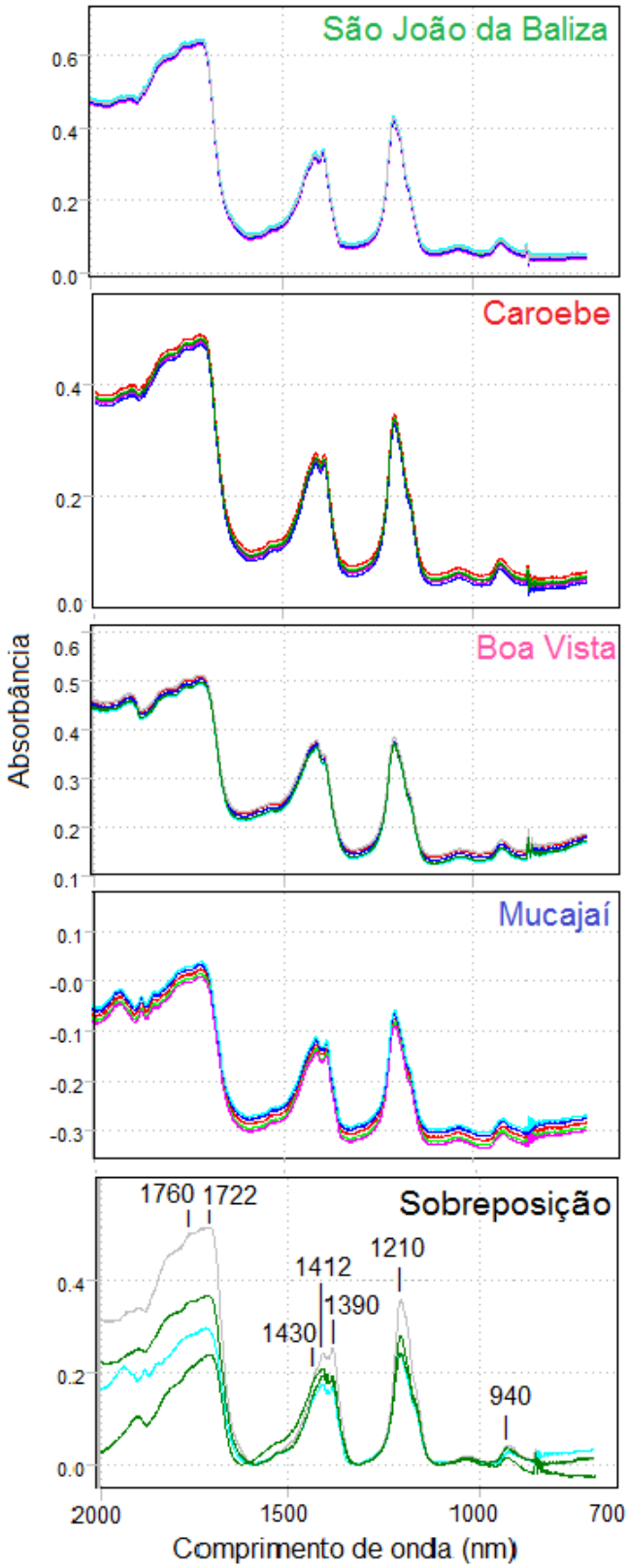


Figura 3. *Espectros de amostras de óleos de buriti de São João da Baliza, Caroebe, Boa Vista, Mucajaí e a sobreposição dos espectros locacionais com algumas bandas evidenciadas.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

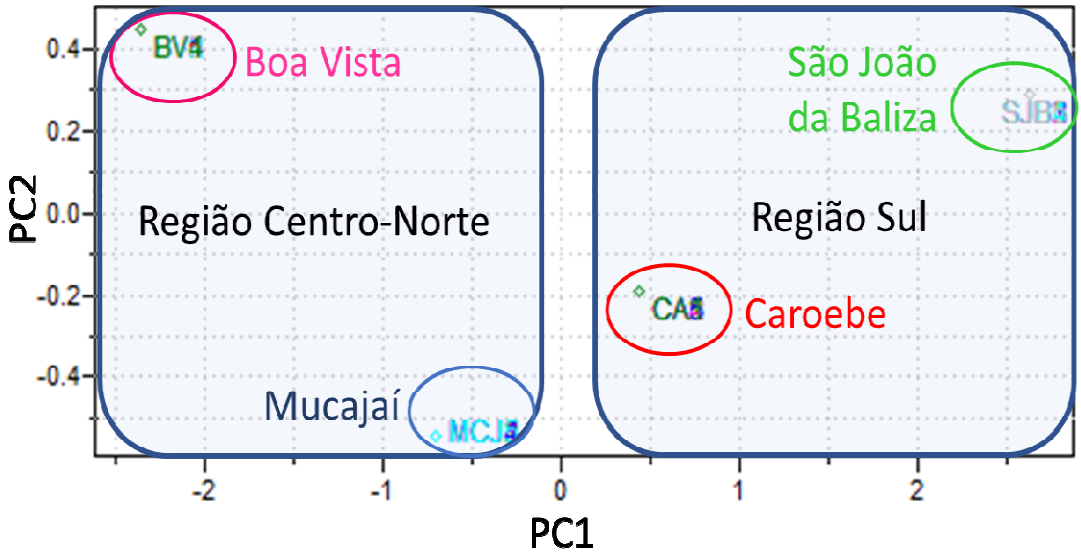


Figura 4. *Gráfico dos scores, PC2 vs PC1, centrado na média, com correção da linha base (quadratic fit) e log 10, na banda de 700 – 2000 nm, com descrição de variabilidade de dados de 99,77% cumulativa de PC1 e PC2, evidenciando a discriminação geográfica dos óleos de buriti presentes no estado de Roraima, por localidades e regiões.*

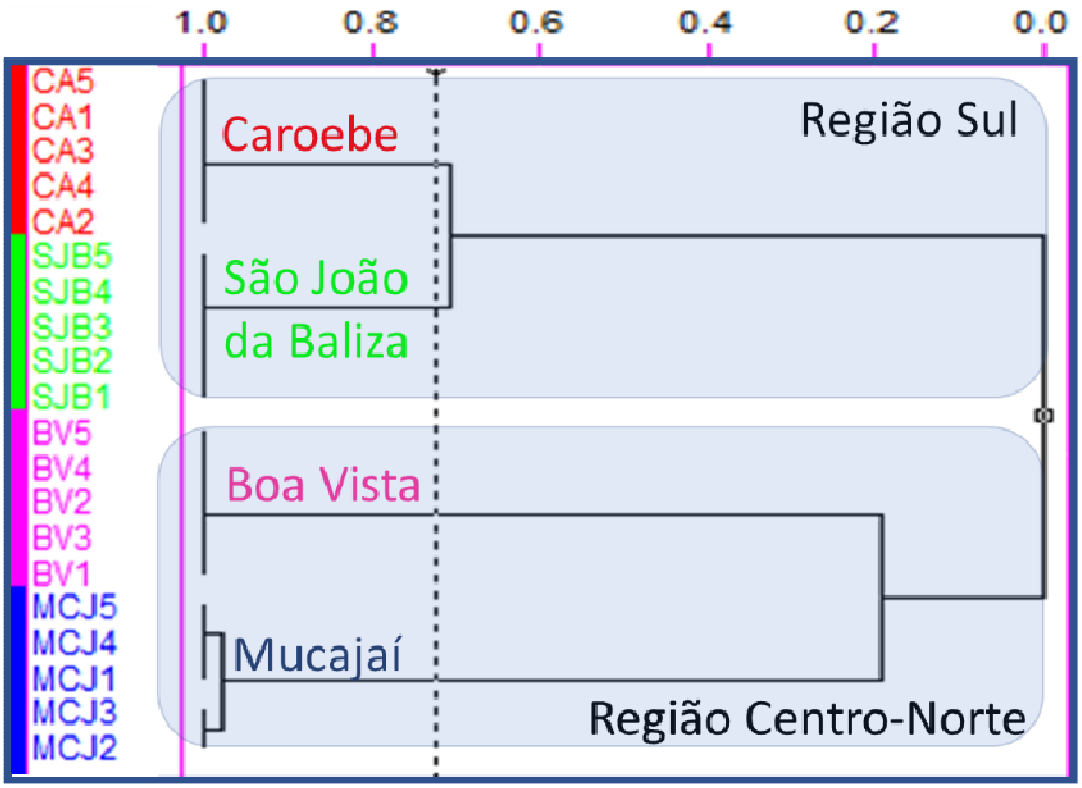


Figura 5*. Dendrograma das amostras de óleos de buriti, com centragem na média, distância métrica euclidiana, técnica de conexão incremental, transformações de correção de linha base (quadratic fit) e log 10, evidenciando a discriminação geográfica dos buritis provenientes do estado de Roraima e localidades específicas.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

ABORDAGEM NA DETECÇÃO DE SITUAÇÃO DE RISCO POTENCIAL À SAÚDE, RELACIONADA À QUALIDADE DA ÁGUA: UM EXEMPLO

APPROACH ON DETECTION OF SITUATION OF POTENTIAL RISK TO HEALTH, RELATED TO WATER QUALITY: AN EXAMPLE

DOVIDAUSKAS, Sergio[1*]; OKADA, Isaura Akemi[2];IHA, Maria Helena[3]; CAVALLINI, Álvaro Gennari[4]; DE OLIVEIRA, Maria Aparecida[5]

[1,2,3,4,5]Centro de Laboratório Regional – Instituto Adolfo Lutz de Ribeirão Preto VI
Rua Minas, 877,cep 14085-410, Ribeirão Preto(SP), Brasil
(fone: +55 1636255046; fax: +55 1636357994)

** Autor correspondente*
e-mail: sdovidauskas@ial.sp.gov.br

Received 06 October 2017; received in revised form 23 October 2017; accepted 24 October 2017

RESUMO

Este trabalho descreve o encaminhamento de uma situação de potencial risco à saúde devido à contaminação por nitrato em águas destinadas ao consumo humano, detectada em estudo realizado em 88 municípios da região nordeste do Estado de São Paulo (Brasil). Foram analisadas 4.347 amostras de águas de abastecimento público em 21 parâmetros físico-químicos e 2 microbiológicos. Um município se destacou dos demais no que diz respeito aos teores mais elevados de nitrato, enquanto a análise de componentes principais mostrou que pertencia a um grupo de 14 municipalidades (grupo do nitrato). O Grupo de Vigilância Sanitária foi então contatado e, após análises confirmatórias em novas amostras de águas de abastecimento público, foram realizadas análises de amostras de águas de 16 poços do município. Constatada a contaminação do manancial subterrâneo, foram realizadas reuniões técnicas. Uma das deliberações foi a repetição das análises das águas dos 16 poços. Resultados consolidados mostraram que as águas de 5 poços apresentavam teores de nitrato acima do valor máximo permitido pela legislação. Para mitigar a contaminação por nitrato das águas subterrâneas daquele município ações estão sendo tomadas, como resultado de 3 reuniões técnicas já realizadas. Os demais municípios do grupo do nitrato estão sendo monitorados.

Palavras-chave:*nitrato, água de abastecimento público, riscos à saúde*.

ABSTRACT

This work describes the approach of a situation of potential risk to health due to nitrate contamination in water intended for human consumption, found in a study conducted in 88 municipalities in the Northeast region of the State of São Paulo (Brazil). 4,347 public water supply samples were analysed for 21 physico-chemical and 2 microbiological parameters. A municipality was distinguished from the others with regard to higher nitrate levels, while the principal components analysis showed that it belonged to a group of 14 municipalities (nitrate group). The Sanitary Surveillance Group was then contacted and, after confirmatory tests in new public water supply samples, analyses were performed on water samples from 16 wells in the county. The groundwater contamination was found, and technical meetings were held. One of the deliberations was the repetition of water analyses of the 16 wells. Consolidated results showed that the 5 wells had nitrate levels above the maximum value permitted by legislation. To mitigate nitrate groundwater contamination of that municipality actions are being taken as a result of 3 technical meetings already held. The other municipalities of the nitrate group are being monitored.

Keywords:*nitrate, public water supply, risks to health*.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

Monitorar a qualidade da água tornou-se imprescindível no sentido de avaliar o impacto da ação do homem sobre os mananciais, e sobre a produção e distribuição de água potável que podem apresentar, por exemplo, deficiências na desinfecção e fluoretação, enquanto intermitências no abastecimento podem alterar as propriedades da água(Valentim *et al.*, 2012). Para a Organização Mundial da Saúde (OMS), a disponibilidade de água potável de qualidade adequada é um direito humano e um dos fatores principais para uma política eficiente de proteção à saúde(WHO, 2011a).

No Estado de São Paulo, os mananciais são monitorados pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), uma agência da Secretaria do Meio Ambiente que controla, fiscaliza, monitora e licencia atividades poluidoras, publicando periodicamente relatórios sobre a qualidade das águas(CETESB, 2016a,b), do solo(CETESB, 2017a) e do ar(CETESB, 2017b). O monitoramento da água potável é realizado pelo Centro de Vigilância Sanitária da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde por meio do Programa de Vigilância da Água Para Consumo Humano,o Proagua(SES/CVS, 2017). Nesse Programa, o Instituto Adolfo Lutz coordena uma rede de 19 laboratórios de Saúde Pública que realizam análises microbiológicas (coliformes totais e *Escherichia coli*) e físico-químicas (cor aparente, turbidez e teor de fluoreto) nas amostras coletadas pelas Vigilâncias Sanitárias Municipais (VISA-M). No momento da coleta, agentes das VISA-M realizam as medidas de temperatura, pH e teor de cloro residual livre (CRL), totalizando assim oito parâmetros investigados em cada amostra. A região nordeste do Estado é abrangida pela Rede Regional de Atenção à Saúde 13 (RRAS 13, Figura 1), que inclui quatro Grupos de Vigilância Sanitária (GVS de Araraquara, de Barretos, de Franca e de Ribeirão Preto); nesses quatro GVS distribuem-se as VISA-M dos noventa municípios da região que usam, para o abastecimento público, mananciais subterrâneo ou superficial ou, ainda, uma combinação de ambos.

O manancial da RRAS 13 está passando por um aumento de pressão antrópica causada pela urbanização e pela crescente industrialização (CETESB, 2016a,b) e, considerando que um município da região (Monte Azul Paulista) já apresenta reconhecida contaminação por nitrato em suas águas subterrâneas(Dovidauskas *et al.*, 2015), em 2014 iniciou-se um estudo em nosso laboratório prevendo a análise de águas de abastecimento público durante um ano, ampliando-se o número de parâmetros investigados através do Proagua de oito para 23, no intuito de caracterizar mais detalhadamente a qualidade da água na RRAS 13 – além dos oito parâmetros citados anteriormente, foram incluídas medidas de condutividade e determinações das concentrações de 14 íons: lítio, sódio, amônio, potássio, cálcio, magnésio, clorito, bromato, cloreto, brometo, clorato, nitrato, fosfato e sulfato.

Assim, no período entre maio/2015 e abril/2016 foram analisadas 4.347 amostras de águas de abastecimento público da região. Com o acúmulo de resultados, foi possível notar que um segundo município, além de Monte Azul Paulista, destacava-se com relação aos demais no que diz respeito aos altos teores de nitrato: Severínia. Esse município, com uma pequena área urbana e com pouco mais de 15 mil habitantes (segundo censo de 2010, do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), faz uso exclusivo de manancial subterrâneo para o abastecimento, à semelhança de seu vizinho Monte Azul Paulista (município também de pequena área urbana, com aproximadamente 19 mil habitantes). É preciso ressaltar que o nitrato é um importante nutriente para as plantas e é encontrado naturalmente no meio ambiente, podendo estar presente tanto em águas superficiais como nas subterrâneas. A sua concentração nas águas pode ser aumentada como resultado, por exemplo, da atividade agrícola (com o uso excessivo de fertilizantes nitrogenados e adubos), do descarte no meio ambiente de águas residuárias sem tratamento e da oxidação de excretas animais e humanos. As concentrações em águas superficiais podem variar rapidamente, mas nas subterrâneas as variações são mais lentas devido ao lento processo de recarga do aquífero(Baird, 2000; WHO, 2011a,b).

O interesse da Saúde Pública com relação aos teores de nitrato em águas destinadas ao consumo humano deve-se (i) à ocorrência de metemoglobinemia em crianças até três meses de idade e (ii) a uma possível associação positiva entre risco de se desenvolver câncer com a ingestão de quantidades elevadas de nitrato e/ou

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

nitrito e de compostos nitrosáveis, principalmente aminas secundárias, o que poderia gerar compostos N-nitroso como, por exemplo, $R_2N–N=O$: alguns desses compostos são considerados carcinogênicos em seres humanos(WHO, 2011a,b). O valor máximo permitido (VMP) para nitrato em águas para consumo humano no Brasil, estabelecido pela Portaria 2914 (BRASIL, 2011), é igual a 10 mgN-NO_3 L^{-1}.

Esse trabalho apresenta um breve histórico da obtenção dos resultados das análises das amostras de águas de Severínia que levaram à detecção da contaminação por nitrato, e descreve a abordagem que está sendo utilizada no enfrentamento da situação, incluindo ações conduzidas até o momento no intuito de mitigar a contaminação.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

A amostragem realizada na etapa inicial (análise de águas de abastecimento público, maio/2015 a abril/2016) foi descrita detalhadamente em trabalho recentemente publicado(Dovidauskas *et al.*, 2017a). Resumidamente: 7.587 amostras foram coletadas por agentes das VISA-M e enviadas ao laboratório para análise, como parte do Proagua. Uma vez que não seria possível analisar esse total de amostras devido ao tempo requerido para analisar cada amostra, principalmente com relação à análise de ânions por cromatografia, uma segunda amostragem sobre o total de amostras entregues foi realizada no laboratório, observando-se determinadas condições: (i) o número mínimo de amostras por município por coleta foi estabelecido como igual a 2; (ii) procurou-se manter uma relação mínima igual a 1/10.000 entre o número de amostras por mês (n_m) e o número de habitantes (n_h) do município ($n_m/n_h \geq 1/10.000$, ou $n_m/n_h \geq 1.10^{-4}$); (iii) amostras foram selecionadas de locais no município com a maior distância entre si, quando possível. Como consequência, a primeira etapa desse estudo envolveu a análise de 4.347 amostras de águas de 88 municípios da RRAS 13, correspondendo ao abastecimento de aproximadamente três milhões de habitantes. Na segunda etapa (análise de águas de poços de Severínia, março a novembro de 2016), as amostras foram coletadas em duplicata por agentes da VISA-M antes do tratamento da água, ou seja, diretamente dos 16 poços utilizados para o abastecimento público do município.

Reagentes e análises

No momento da coleta, os agentes das VISA-M realizaram as medidas preliminares de temperatura, pH e CRL. Refrigeradas, as amostras foram enviadas a esse laboratório onde as análises complementares foram realizadas no mesmo dia da coleta.

Para a análise microbiológica no laboratório, as coletas das amostras de água (volume 100 mL) foram realizadas em frascos plásticos ou em bolsas (*Thio Bag*), estéreis e descartáveis, contendo tiossulfato de sódio (para neutralização do cloro residual). As determinações da presença ou ausência de coliformes totais e *Escherichia coli* foram realizadas pelo método cromogênico e fluorogênico (sistema Colilert, Idexx Laboratories/USA).

Na análise físico-química no laboratório, os reagentes utilizados (Sigma-Aldrich e Merck) eram de grau analítico. Na preparação de soluções aquosas foi utilizada água tipo I (sistema de purificação marca Millipore, modelo Milli-Q Direct 8). Cor aparente foi determinada por espectrometria (equipamento marca Merck, modelo Spectroquant NOVA 400). Turbidez foi determinada por nefelometria (equipamento marca Micronal, modelo B250). Condutividade foi determinada em equipamento marca Metrohm, modelo 912. A cromatografia dos cátions foi realizada em equipamento marca Metrohm, modelo 930 COMPACT IC FLEX DEG (condições: eluente, solução de HNO_3 1,7 mmol/L contendo 0,7 mmol/L de ácido dipicolínico; vazão, 0,9 mL/min; temperatura ambiente; coluna marca Metrohm, modelo Metrosep C4 150/4.0). A cromatografia dos ânions foi realizada em equipamento marca Metrohm, modelo 930 COMPACT IC FLEX OVEN/SES/PP/DEG (condições: eluente, solução de Na_2CO_3 3,6 mmol/L; supressor, solução de H_2SO_4 100 mmol/L; vazão, 0,8 mL/min; temperatura, 45°C; coluna marca Metrohm, modelo Metrosep A Supp 7 250/4.0). As amostras foram filtradas em filtros 0,45 µm (marca Millipore, modelo Millex HV) antes das análises cromatográficas.

Na análise dos dados foram utilizados os

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

softwares *Microsoft Excel*® 2013, *Origin*® 9.1Pro e *The Unscrambler*®X 10.3. Para a análise multivariada inicial (incluindo 88 municípios), o número de amostras foi reduzido através da representação de cada município pela respectiva série de medianas nas 21 variáveis físico-químicas medidas para cada amostra de água de abastecimento público analisada no período. Consequentemente, a matriz inicial de dados 4.347 (amostras de água) x 21 (variáveis físico-químicas) foi transformada em uma matriz 88 (municípios) x 21 (medianas em cada variável físico-química). A partir dessa matriz 88 x 21, a dimensionalidade das variáveis foi reduzida em função das correlações observadas nos casos investigados. Como parte do pré-tratamento dos dados para a realização da Análise de Componentes Principais (ACP, realizada pelo algoritmo NIPALS – Non-linear Iterative Partial Least-Squares) e da Análise Hierárquica de Agrupamentos (AHA, método Ward), os dados das matrizes foram centralizados pela mediana e escalados pelo intervalo interquartil.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise geral

Quanto à amostragem na etapa inicial, entre maio/2015 e abril/2016, a relação $n_m/n_h \geq 1.10^{-4}$ não foi atingida para os municípios de Ribeirão Preto (234 amostras recebidas, 144 amostras analisadas, $n_m/n_h=2,0.10^{-5}$), Araraquara (168 amostras recebidas, 148 amostras analisadas, $n_m/n_h=5,9.10^{-5}$) e São Carlos (172 amostras recebidas, 165 amostras analisadas, $n_m/n_h=6,2.10^{-5}$). O fator determinante para que o objetivo não fosse alcançado para esses três municípios foi o número insuficiente de amostras enviadas pelas VISA-M. No caso de Ribeirão Preto, o decréscimo na relação n_m/n_h foi ainda maior devido ao número expressivo de amostras de soluções alternativas enviadas (o presente estudo não incluiu essa modalidade de abastecimento). No que diz respeito a Severínia, a VISA-M enviou 92 amostras das quais 60 foram investigadas nesse estudo, obtendo-se $n_m/n_h=3,2.10^{-4}$.

Quanto à análise microbiológica, das 4.287 amostras analisadas na RRAS 13 na etapa inicial (excluídas as 60 amostras de Severínia, que serão discutidas a seguir), 279 (6,5%) apresentaram resultado positivo para microrganismos indicadores (247 apresentaram apenas coliformes totais, e 32 continham *E. coli*). Comparando-se o primeiro semestre de aquisição de dados (maio a outubro de 2015, considerado aqui como período de seca, em que foram analisadas 2.141 amostras) com o segundo semestre (novembro de 2015 a abril de 2016, considerado como período de chuvas, em que 2.146 amostras foram analisadas), constatou-se que o número de resultados positivos aumentou 76%, de 101 (13 *E. coli*) para 178 (19 *E. coli*). O aumento no número de positivos em função do período de chuvas é atribuído a uma maior quantidade de contaminantes fecais transportados pelas chuvas de um solo saturado desses contaminantes (após um período de seca) na direção das áreas de captação de água para o consumo humano(Rose *et al.*, 2001; Kostyla *et al.*, 2015). No caso de Severínia, o aumento sazonal foi superior, mas sem a detecção de *E. coli*: o número de resultados positivos aumentou de 2 (primeiro semestre, 26 amostras analisadas) para 7 (segundo semestre, 34 amostras analisadas), resultando em um acréscimo de 350%, embora o número de amostras analisadas no segundo semestre tenha sido apenas 31% maior. Comparando com os dados obtidos para a RRAS 13 no ano (6,5% de resultados positivos), Severínia também apresenta resultado superior (15%), sugerindo que o município encontra maiores dificuldades no que diz respeito a proceder adequadamente a desinfecção da água, principalmente quando aumenta a quantidade de contaminantes microbiológicos com as chuvas.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Quanto aos dados físico-químicos, a Tabela 1 exibe a comparação entre as medianas dos 21 parâmetros investigados em Severínia e as respectivas medianas do conjunto dos demais 87 municípios investigados. Na tabela estão salientadas as maiores diferenças positivas observadas para Severínia, que ocorrem nas concentrações dos íons sódio, cálcio, magnésio, cloreto e nitrato, além do valor da condutividade.Comparando-se os dados obtidos entre os semestres por meio do teste de Mann-Whitney (α=0,05) para cada um desses seis parâmetros, observou-se no caso de Severínia que não ocorreram diferenças significativas entre as distribuições do primeiro e do segundo semestre; no caso da RRAS 13 (excluídos dados de Severínia), a única diferença significativa foi observada nas distribuições das concentrações de cloreto entre o primeiro e o segundo semestres ($U = 2{,}2.10^6$, $z = -3{,}02$, $p = 0{,}0025$). A Tabela 2 compara essas duas distribuições de cloreto.

Tabela 1. *Medianas dos dados físico-químicos das amostras de Severínia e da RRAS 13.*

	Medianas [1]	
Parâmetro	Severínia	RRAS 13 [2]
Lítio (mg L^{-1})	0,002	<0,002
Sódio (mg L^{-1})	10,0	5,2
Amônio (NH_3, mg L^{-1})	<0,008	<0,008
Potássio (mg L^{-1})	2,3	2,8
Cálcio (mg L^{-1})	26,8	8,4
Magnésio (mg L^{-1})	7,5	1,8
Fluoreto (mg L^{-1})	0,51	0,66
Clorito (mg L^{-1})	<0,005	<0,005
Bromato (mg L^{-1})	<0,002	<0,002
Cloreto (mg L^{-1})	6,6	2,0
Brometo (mg L^{-1})	<0,002	<0,002
Clorato (mg L^{-1})	0,03	0,09
Nitrato ($N\text{-}NO_3$, mg L^{-1})	5,2	0,2
Fosfato ($P\text{-}PO_4$, mg L^{-1})	0,06	0,07
Sulfato (mg L^{-1})	0,5	0,3
Temperatura (°C)	21	26
CRL (mg L^{-1})	0,5	0,7
pH	7,8	7,2
Cor aparente (Hz)	<2,0	<2,0
Turbidez (uT)	<0,5	<0,5
Condutividade (µS cm^{-1})	252	121

[1] O símbolo "<" indica que a mediana calculada é menor que o limite de detecção do método(Dovidauskas *et al.*, 2017a); [2] medianas calculadas com a exclusão dos dados de Severínia.

Tabela 2. *Distribuições da concentração de cloreto na RRAS 13.*

	Cloreto (mg L^{-1}) [2]	
Números [1]	1º Semestre	2º Semestre
Valor Mínimo	<0,08	<0,08
1º Quartil	0,9	1,0
Mediana	1,9	2,1
3º Quartil	4,2	5,2
Valor Máximo	31,1	39,9

[1] Calculados com a exclusão dos dados de Severínia; [2] O símbolo "<" indica que o valor é menor que o limite de detecção do método (Dovidauskas *et al.*, 2017a).

Deve ser ressaltada a presença de nitrato nas águas de Severínia em quantidades preocupantes para a Saúde Pública: das 60 amostras analisadas no período, 14 (23%) apresentaram teores acima do VMP(Dovidauskas *et al.*, 2016). Outro aspecto a ser destacado é o baixo Indicador de Fluretação (IFLU) obtido para Severínia: 21,7%. O IFLU é definido como a relação, expressa em porcentagem, entre o número de amostras com teores de fluoreto de acordo com o padrão de potabilidade estabelecido pela Resolução SS-250(São Paulo, 1995), ou seja, teores entre 0,6 e 0,8 mg L^{-1}, e o número total de amostras analisadas, em um determinado período(Ramos e Valentim, 2012). Para o conjunto dos demais municípios da RRAS 13, o IFLU obtido foi igual a 60,7%.

Análise multivariada

Em trabalho anterior, foi demonstrado que a ACP da matriz de dados constituída de 88 amostras (municípios) x 12 variáveis (medianas das medidas de cada parâmetro físico-químico que apresentavam correlação significativa, obtidas no período de um ano) conduziu a um gráfico de escores exibindo a formação de 4 grupos distintos, em que Ibitinga constituía-se em um grupo de um único elemento (Figura 2A, variância explicada = 75%) – devido a sua forte influência, esse município foi excluído do modelo e estudado separadamente(Dovidauskas *et al.*, 2017a). Uma nova ACP nas mesmas condições (centralização pela mediana, escalamento pelo intervalo interquartil, algoritmo NIPALS, 4 CPs utilizados) foi conduzida sobre a matriz 87 x 12, resultante da exclusão de Ibitinga, o que conduziu à formação de 5 grupos distintos indicados na Figura 2B no espaço CP1/CP2/CP3, com variância explicada igual a 78% (Dovidauskas *et al.*, 2017b).

A formação dos seis grupos (incluindo Ibitinga) também foi observada na AHA (Figura 3). As 12 variáveis consideradas foram as medianas das medidas de pH e condutividade, e as medianas das concentrações dos íons lítio, sódio, potássio, cálcio, magnésio, cloreto, clorato, nitrato, fosfato e sulfato.

Em particular, observe-se na Figura 2B o grupo de 14 municípios representados em vermelho cuja variável proeminente é a concentração do íon nitrato. Nesse grupo (denominado "grupo do nitrato"), destacou-se

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Severínia cuja combinação de escores caracterizou-o dentro do grupo como o mais distante da origem do gráfico. Nessa origem de CP1/CP2/CP3 está situado um aglomerado de municípios, representados na cor verde, que não apresentaram variáveis proeminentes no modelo – esse grupo foi denominado "grupo típico". Focalizando na variável nitrato, foi realizada uma nova ACP nas mesmas condições, envolvendo essa variável e outras quatro a ela correlacionadas: condutividade e as concentrações dos íons cloreto, cálcio e magnésio. O gráfico de escores CP1/CP2 resultante (Figura 4A, variância explicada = 77%) exibiu o "grupo do nitrato" distribuindo-se ao longo de CP1 com Severínia destacando-se por apresentar o maior escore em uma componente em que os maiores pesos são as concentrações de nitrato e magnésio, como indicado na Figura 4B(Dovidauskas *et al.*, 2017b). A localização na RRAS 13 dos 14 municípios desse grupo pode ser visualizada na Figura 4C; todos utilizam manancial subterrâneo para o abastecimento público, e a população atingida é apenas 4,3% do total da região – desse grupo, o município mais populoso é Igarapava, com aproximadamente 28 mil habitantes.

Abordagem no enfrentamento da contaminação por nitrato das águas subterrâneas de Severínia

Resumindo os resultados exibidos até aqui, que compreendem o período de maio/2015 a abril/2016, podem ser afirmadas algumas características da água de abastecimento do município de Severínia, quando essa é comparada com o conjunto das águas dos demais municípios da RRAS 13: (i) existe uma maior dificuldade em proceder adequadamente a sua desinfecção; (ii) a qualidade da fluoretação pode ser classificada como ruim (IFLU = 21,7%); (iii) existem quantidades maiores dos íons sódio, cálcio, magnésio, cloreto e nitrato, além da água apresentar maior condutividade; (iv) a presença de nitrato em quantidades relativamente elevadas contrasta com a região, mas apresenta semelhanças com a situação enfrentada pelo município vizinho, Monte Azul Paulista; (v) a análise multivariada colocou as águas de Severínia e Monte Azul Paulista em um grupo cujas variáveis proeminentes são a condutividade e as concentrações dos íons nitrato, magnésio, cloreto e cálcio.

Enquanto as deficiências na desinfecção e na fluoretação das águas de Severínia remetem imediatamente a problemas técnicos e/ou metodológicos a serem corrigidos, a presença de nitrato envolve a consideração de uma situação mais complexa, e os fatos sugerem que o manancial subterrâneo, a que o município tem acesso para a captação, esteja sendo contaminado. Na realidade, além da vizinha Monte Azul Paulista, já são descritos outros casos de contaminação de mananciais subterrâneos por nitrato em áreas urbanas do Estado de São Paulo, como em Marília, onde a contaminação estaria relacionada a deficiências na rede de esgotamento sanitário(Varnier *et al.*, 2010), e em Presidente Prudente, em que a contaminação foi atribuída a vazamento de esgoto doméstico e a lixiviação de fossas e de depósitos de resíduos sólidos(Godoy *et al.*, 2004). A OMS estuda, há algum tempo, a relação entre destinação inadequada de esgoto e aumento na concentração de nitrato em mananciais subterrâneos citando localidades com problemas similares de contaminação na África, América do Sul e Índia (Chilton, 1996).

Os níveis de nitrato nas amostras de águas de Severínia chamaram a atenção desse Laboratório antes mesmo de terminar o período de 12 meses referente à aquisição de dados: em janeiro de 2016, três meses antes do final do referido período, das 40 amostras analisadas até então, cinco (12,5%) estavam com concentrações superiores ao VMP e 15 (37,5%) apresentavam concentrações entre 5 e 10 mgN-NO_3 L^{-1}– a CETESB considera a concentração de 5 mgN-NO_3 L^{-1} como um valor de prevenção "para definir ações preventivas e regras para aplicação de resíduos em solos agrícolas, em processos de licenciamento e fiscalização ambiental", enquanto a concentração de 10 mgN-NO_3 L^{-1} é considerado um "valor orientador de intervenção para o gerenciamento de áreas contaminadas"(CETESB, 2016a). Em vista desses resultados, uma reunião foi realizada no final de janeiro de 2016 com representantes desse Laboratório e do GVS de Barretos e as elevadas concentrações de nitrato em diversas amostras foram discutidas – deliberou-se continuar com as análises nos meses seguintes, mas produzindo laudos analíticos que pudessem ser usados como instrumentos legais para que providências iniciais pudessem ser tomadas junto ao Serviço Autônomo de Água e Esgoto de Severínia (SAAE), caso as concentrações elevadas fossem confirmadas. E, de fato, a

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

confirmação ocorreu: das 20 amostras analisadas entre fevereiro e abril de 2016, oito (40%) apresentaram concentrações acima do VMP, e em seis (30%) o teor de nitrato situou-se entre 5 e 10 mgN-NO_3 L^{-1}.

Confirmadas as concentrações elevadas de nitrato, o próximo passo, acordado entre esse Laboratório, o GVS de Barretos e a VISA-M, foi analisar amostras coletadas diretamente dos 16 poços tubulares utilizados para o abastecimento público, o que foi realizado entre março e maio de 2016. Como os resultados mostraram que cinco poços continham água com concentrações de nitrato superiores ao VMP e quatro apresentavam concentrações entre 5 e 10 mgN-NO_3 L^{-1} (Tabela 3, coluna "1ª Coleta"), em julho de 2016 o GVS de Barretos promoveu uma reunião técnica no município, com a participação de representantes do próprio GVS, desse Laboratório, da VISA-M, da Prefeitura, do SAAE, da CETESB e do Departamento de Águas e Energia Elétrica (DAEE). Uma das deliberações do grupo foi pela repetição das análises das águas coletadas diretamente dos poços tubulares, o que foi realizado entre setembro e novembro de 2016 – os resultados confirmaram a concentração de nitrato acima do VMP em cinco poços (Tabela 3, coluna "2ª Coleta"). Em resumo, os dados consolidados das duas coletas, informaram que dos 16 poços usados para o abastecimento, cinco (31%) continham água com teores de nitrato acima do VMP e três (19%) apresentavam concentrações entre 5 e 10 mgN-NO_3 L^{-1} (Tabela 3, coluna "Média").

Tabela 3. *Concentrações de nitrato em poços de Severínia (SP, Brasil).*

	Nitrato (mgN-NO_3 L^{-1})			
Poço	1ª Coleta [1]	2ª Coleta [2]	Média	s [3]
P10	20,4	16,8	18,6	2,5
P09	16,5	18,4	17,4	1,3
P06	16,7	16,5	16,6	0,1
P07	16,6	11,2	13,9	3,9
P04	13,3	12,8	13,1	0,4
P11	6,2	6,5	6,4	0,2
P14	5,8	5,2	5,5	0,4
P08	5,2	5,3	5,2	0,1
P18	5,1	2,8	4,0	1,6
P13	2,9	2,7	2,8	0,1
P02	2,2	2,3	2,3	0,1
P16	2,063	2,069	2,066	0,004
P12	1,14	1,06	1,10	0,05
P01	0,68	0,65	0,66	0,02
P17	0,66	0,60	0,63	0,04
P15	0,30	0,35	0,32	0,03

[1] realizada entre março e maio / 2016; [2] realizada entre setembro e novembro / 2016; [3] s = desvio padrão

A gravidade da situação encontrada nas águas de Severínia pode ser avaliada de forma relativa se esses resultados são comparados àqueles obtidos de maneira similar em Monte Azul Paulista(Dovidauskas *et al.*, 2015): nesse município foram constatados cinco poços com concentrações de nitrato acima do VMP e cinco poços com concentrações entre 5 e 10 mgN-NO_3 L^{-1}. Os números absolutos de poços com contaminação severa (acima de 10 mgN-NO_3 L^{-1}) e que requerem atenção (entre 5 e 10 mgN-NO_3 L^{-1}) nos dois municípios não são muito diferentes, mas Monte Azul Paulista tem disponíveis 30poços para o abastecimento público, enquanto Severínia conta com apenas 16. Considerando que concentrações acima de 5 mgN-NO_3 L^{-1} revelam um grau de comprometimento do manancial que requer ou atenção ou intervenção, somando o número de poços com concentrações de nitrato acima dessa concentração revelam que enquanto Monte Azul Paulista apresenta 33% dos poços comprometidos, esse número aumenta para 50% em Severínia. As localizações aproximadas desses 16 poços de Severínia estão indicadas na Figura 5, onde é possível observar que as maiores concentrações de nitrato situam-se predominantemente na área central urbana, à exceção do poço P09 (Povoado de Alvora). Em particular, o poço P07 é adjacente ao cemitério municipal e, segundo informações colhidas na 1ª Reunião Técnica junto ao SAAE, ainda não existem estudos avaliando possíveis impactos do necrochorume sobre o manancial e, embora o funcionamento do cemitério seja anterior a abril de2003, não foram realizadas adequações para atender a Resolução 335 do Conselho Nacional do Meio Ambiente, CONAMA(BRASIL, 2003), alterada pelas Resoluções 368 (BRASIL, 2006) e 402 (BRASIL, 2008), que dispõe sobre o licenciamento ambiental de cemitérios.

Outra maneira de visualizar as diferenças entre as águas dos poços está indicada na Figura 6: a respectiva ACP envolvendo 8 variáveis (condutividade e as concentrações dos íons sódio, potássio, cálcio, magnésio, cloreto, nitrato e sulfato) embora mostre, no gráfico de escores (Figura 6A), a separação dos poços em grupos coincidentes com aqueles produzidos quando considerou-se apenas as concentrações de nitrato, exibe também que as águas de 2 poços (P16 e P17) possuem perfis físico-químicos similares entre si, e que diferem significativamente do conjunto dos demais poços, embora estejam em lados opostos da área urbana (Figura 5). Segundo o gráfico de pesos (Figura 6B), essa diferenciação é devida

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

principalmente a maiores quantidades de sulfato e sódio nas águas desses dois poços; em adição, demonstra não somente a correlação elevada entre a concentração de nitrato e a de cloreto nas águas de poços de Severínia, semelhante àquela anteriormente observada no caso de Monte Azul Paulista, mas também as correlações elevadas entre as concentrações de nitrato, medidas de condutividade e concentrações de cálcio, potássio e magnésio. A Tabela 4 exibe a matriz de correlações entre as 8 variáveis utilizadas na ACP da Figura 6.

Tabela 4. *Matriz de correlação das oito variáveis utilizadas na ACP da Figura 6.*

	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Cl^-	NO_3^-	SO_4^{2-}	Cond
Na^+	1,00	-0,36	-0,41	-0,32	-0,28	-0,35	0,68	-0,22
K^+	-0,36	1,00	0,91	0,73	0,84	0,89	-0,25	0,89
Ca^{2+}	-0,41	0,91	1,00	0,87	0,96	0,98	-0,19	0,98
Mg^{2+}	-0,32	0,73	0,88	1,00	0,85	0,85	0,03	0,89
Cl^-	-0,28	0,84	0,96	0,85	1,00	0,98	-0,10	0,97
NO_3^-	-0,35	0,89	0,98	0,85	0,98	1,00	-0,18	0,98
SO_4^{2-}	0,68	-0,25	-0,19	0,03	-0,10	-0,18	1,00	-0,05
Cond	-0,22	0,89	0,98	0,89	0,97	0,98	-0,05	1,00

Esses resultados, principalmente aqueles relacionados às águas dos 16 poços utilizados para o abastecimento público, foram discutidos nas três reuniões técnicas realizadas até o momento em Severínia. A deliberação mais significativa dessas reuniões tem sido a iniciativa do SAAE, levada a efeito desde a primeira reunião, em inspecionar e, se necessário, refazer o revestimento dos poços, especialmente daqueles que apresentaram as maiores concentrações de nitrato, uma vez que a própria SAAE constatou infiltrações no trajeto das perfurações de alguns poços. O impacto do refazimento dos revestimentos dos poços sobre os níveis de nitrato das águas ainda está sendo avaliado e deverá ser abordado nas próximas reuniões técnicas; essa avaliação poderá resultar em outras deliberações, como o tamponamento de poços contaminados, por exemplo, à semelhança do ocorrido em Monte Azul Paulista (Dovidauskas *et al.*, 2015).

CONCLUSÕES

Nesse trabalho procurou-se demonstrar todo o histórico de eventos e produção de dados que conduziram à posição atual de enfrentamento da contaminação por nitrato das águas subterrâneas do município de Severínia. Esse enfrentamento envolveu (e ainda deverá envolver) ações acordadas entre diversos setores: Laboratório de Saúde Pública, VISA-M, GVS, SAAE, Poder Executivo Municipal, DAEE e CETESB. A decisão em revisar o revestimento dos poços no intuito de mitigar a contaminação do manancial subterrâneo, evitando o tamponamento de poços, ainda está sendo avaliada. Contudo, embora o foco do trabalho tenha sido Severínia, épreciso salientar que a atenção desse laboratório está presentemente voltada para os outros 12 municípios que constituem o grupo do nitrato formado tanto pela análise de componentes principais como pela análise de agrupamento hierárquico, ao lado da própria Severínia e de Monte Azul Paulista. A semelhança entre os perfis físico-químicos dos municípios desse grupo sugere que ações preventivas devam ser discutidas para aqueles 12 municípios, o que pode evitar ações interventivas, como as descritas nesse trabalho para Severínia e as já efetuadas em Monte Azul Paulista.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo apoio financeiro (Processo FAPESP nº 2014/10034-2) e pela bolsa concedida a A. G. Cavallini (Processo FAPESP nº 2015/02583-9).

REFERÊNCIAS

1. Baird, C.;Environmental Chemistry,W.H. Freeman and Company: New York, **2000**.
2. BRASIL, Ministério do Meio Ambiente – CONAMA; Resolução nº 335 de 3 de abril de 2003, Diário Oficial da União, 28/05/2003.
3. BRASIL,Ministério do Meio Ambiente – CONAMA; Resoluçãonº 368 de 28 de março de 2006, Diário Oficial da União, 29/03/2006.
4. BRASIL,Ministério do Meio Ambiente – CONAMA; Resolução nº 402 de 17 novembro de 2008, Diário Oficial da União, 18/11/2008.
5. BRASIL,Ministério da Saúde; Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011, Diário Oficial da União, 14/12/2011.
6. Chilton, J. Em Water Quality Assessments - A Guide to Use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring; Chapman, D., ed.; UNESCO/WHO/UNEP**:** Cambridge, **1996**, chapter 9.
7. Companhia Ambiental do Estado de São

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Paulo; Qualidade das águas subterrâneas do Estado de São Paulo 2013-2015, CETESB: São Paulo, **2016a**.
8. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo; Qualidade das águas superficiais no Estado de São Paulo - Parte I - Águas Doces 2015, CETESB: São Paulo, **2016b**.
9. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo; Inventário Estadual de Resíduos Sólidos Urbanos 2016, CETESB: São Paulo, **2017a**.
10. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo; Qualidade do Ar no Estado de São Paulo 2016, CETESB: São Paulo, **2017b**.
11. Dovidauskas, S.; Okada, I. A.; Souza, J. A.; Novas, M. A. J. H.; Rossato, R. A. *Vigil. sanit. Debate*, **2015**, 3(1), 97.
12. Dovidauskas, S.; Okada, I. A.; Iha, M. H.; Oliveira, M. A.; Cavallini, A. G. *Bol Inst Adolfo Lutz*, **2016**, 26, art 19.
13. Dovidauskas, S.;Okada, I. A.;Iha, M. H.; Cavallini, A. G.; Okada, M. M.; Briganti, R. C. *Vigil. sanit. Debate*, **2017a**, 5(1), 106.
14. Dovidauskas, S.; Okada, I. A.; Iha, M. H.; Cavallini, A. G.; Okada, M. M.; Briganti, R. C.; Bergamini, A. M. M.; Oliveira, M. A. *Vigil. sanit. Debate*, **2017b**, 5(2), 53.
15. Godoy, M. C. T. F.;Boin, M. R.;Sanaiotti, D. C.; Silva, J. B.*Rev. Inst. Adolfo Lutz*,**2004**, 63(2), 208.
16. Kostyla, C.;Bain, R.;Cronk, R.; Bartram, J.*Sci Total Environm*,**2015**, 514, 333.
17. Ramos, M. M. B.;Valentim, L. S. O. *BEPA*,**2012**, 9(107), 11.
18. Rose, J. B.;Epstein, P. R.;Lipp, E. K.; Sherman, B. H.; Bernard, S. M.; Patz, J. A. *Environm Health Perspec*,**2001**, 109(Supplement 2), 211.
19. SÃO PAULO (BRASIL), Secretaria da Saúde do Estado; Resolução SS-250 de 15 de agosto de 1995, Diário Oficial do Estado, 16/08/1995.
20. Secretaria de Estado da Saúde do Estado de São Paulo, Centro de Vigilância Sanitária / Programas e projetos / Água para consumo humano – Proagua; http://www.cvs.saude.sp.gov.br,acessada em maio 2017.
21. Valentim, L. S. O.; Elmec, A. M.;MarioJr, R. J.; Bataiero, M. O.*BEPA*,**2012**, 9(100), 29.
22. Varnier, C.;Iritani, M. A.;Viotti, M.; Oda, G. H.; Ferreira, L. M. R.*Rev. Inst. Geológico*,**2010**, 31(1/2): 1-21.
23. World Health Organization; Guidelines for Drinking Water Quality, 4th ed., WHO:Geneva, **2011a**.
24. World Health Organization; Nitrate and nitrite in drinking-water, Rev. 1, WHO: Geneva, **2011b**.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Figura 1. *A RRAS 13 no nordeste do Estado de São Paulo (adaptado de mapas do Instituto Geográfico e Cartográfico do Estado de São Paulo, www.igc.sp.gov.br).*

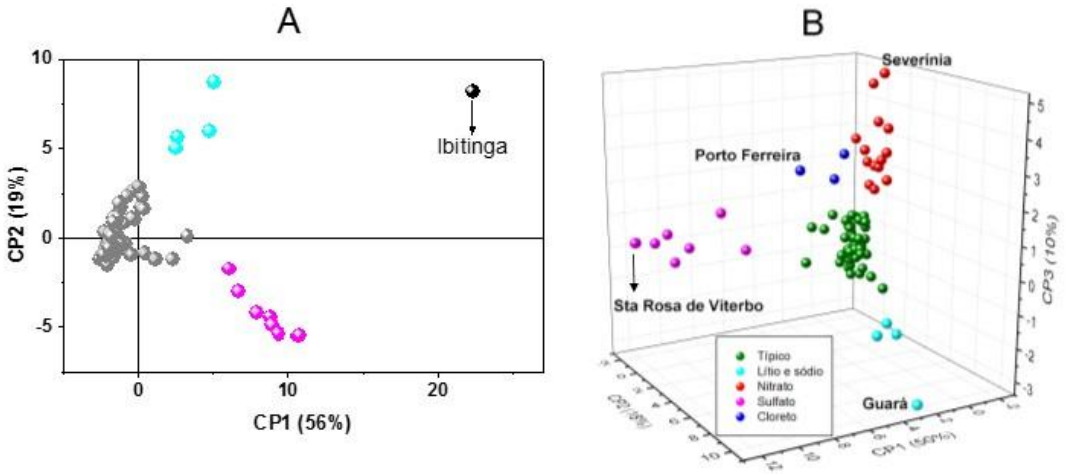


Figura 2. *A) Análise de Componentes Principais de 88 amostras (municípios) e 12 variáveis (medianas de parâmetros físico-químicos de cada município). B) ACP de 87 amostras (excluída Ibitinga) e 12 variáveis.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

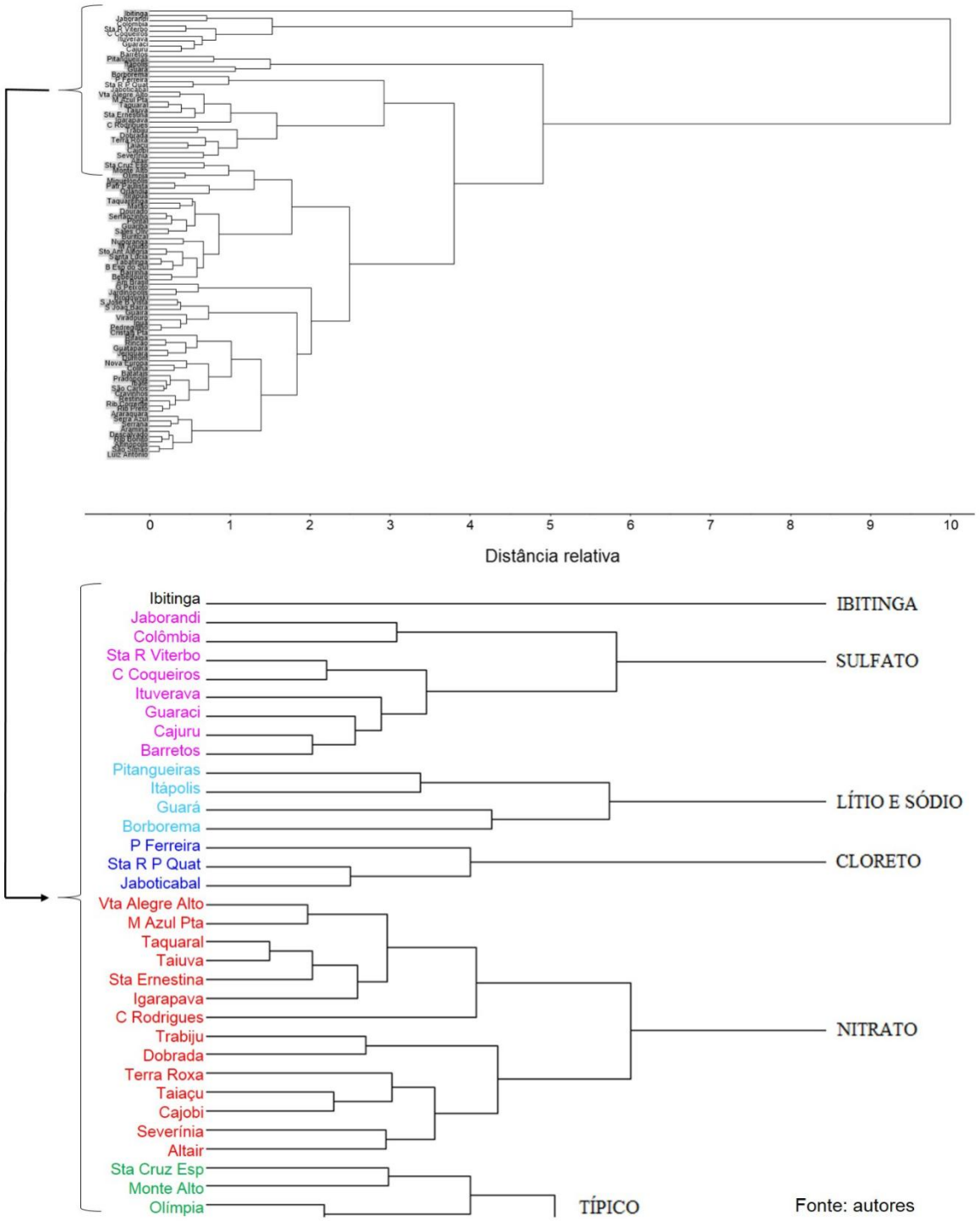


Figura 3. *Análise Hierárquica de Agrupamentos (método Ward) dos 88 municípios, considerando as medianas em 12 variáveis.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

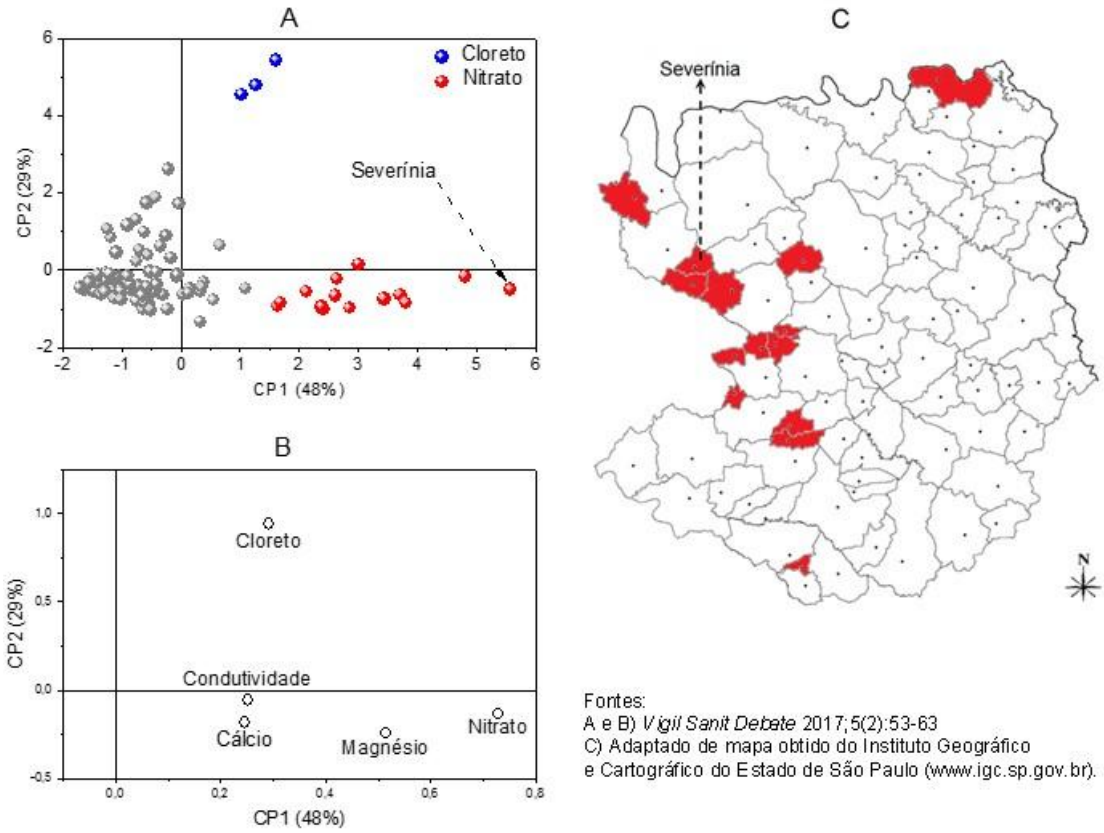


Figura 4. *Gráfico de escores (A) e Gráfico de pesos (B) da ACP de 88 amostras e 5 variáveis(Dovidauskas et al., 2017b). C) localização dos municípios do "grupo do nitrato" na RRAS 13.*

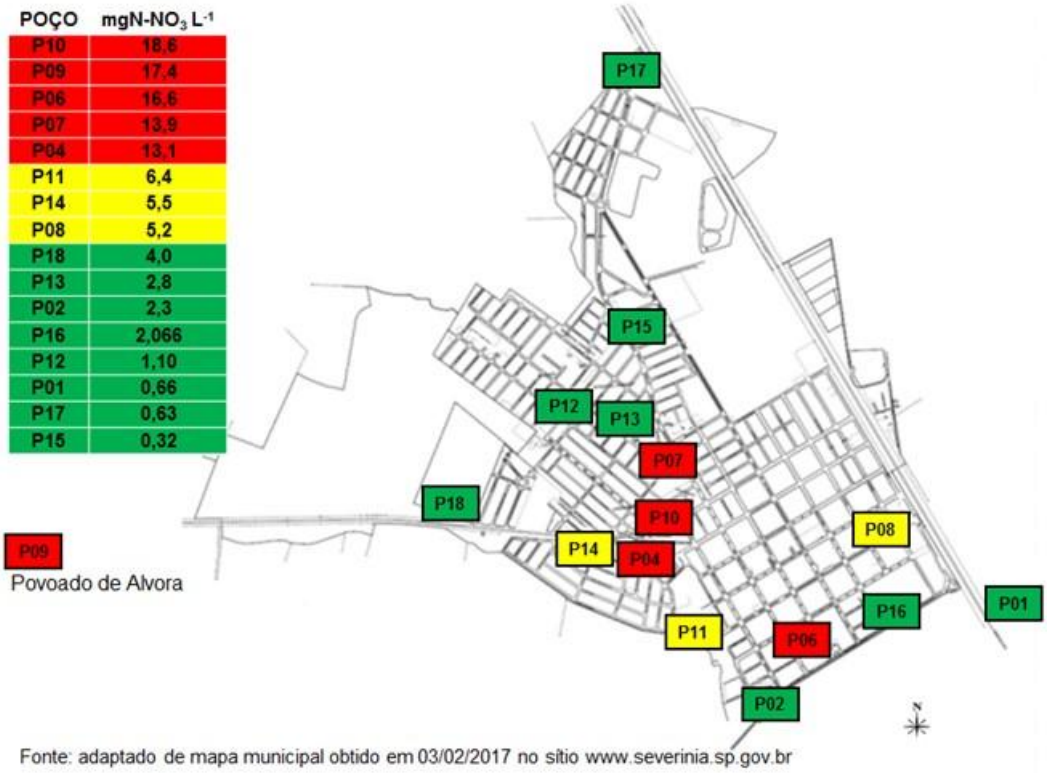
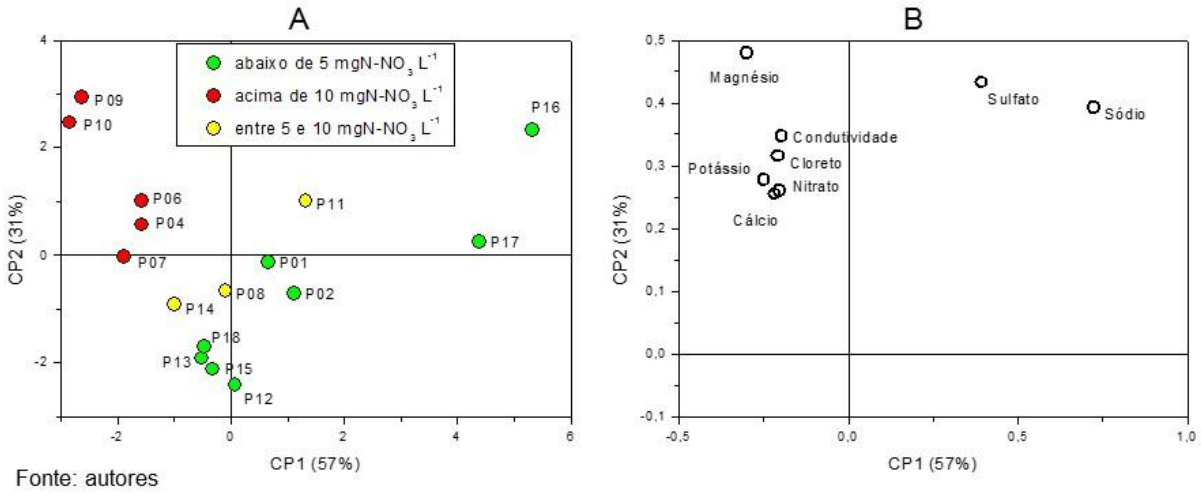


Figura 5. *Mapa da área urbana do município de Severínia, com a localização aproximada dos poços e respectivas concentrações médias de nitrato.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil



Fonte: autores

Figura 6. *ACP das águas dos 16 poços utilizados para o abastecimento público de Severínia. A) Gráfico de escores. B) Gráfico de pesos.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

EMPLOYMENT OF PHOTOLYTICAL AND PHOTOCATALYTICAL METHODOLOGIES FOR REMOVAL OF CEPHALEXIN IN AQUEOUS SOLUTION

EMPREGO DE METODOLOGIAS FOTOLÍTICAS E FOTOCATALÍTICAS PARA A REMOÇÃO DE CEFALEXINA EM SOLUÇÃO AQUOSA

ROSA, Mauricio Ferreira[1,*]; GALVAN, Francielli De Bona[1]

[1] Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Ruada Faculdade 645, cep 85903-000, Toledo – PR, Brasil
(fone: +55 453379 7074)

** Autor correspondente*
e-mail: mauricio.rosa@unioeste.br

21 May 2017; received in revised form 14 June 2017; accepted 17 June

RESUMO

A crescente contaminação dos corpos d'água pela presença de ativos farmacêuticos presentes em medicamentos de uso humano e veterináriotem levado a sérias consequências ambientais, tal comoo surgimento de cepas bacterianas resistentes.Os antibióticos β-lactâmicos, classe da qual faz parte a cefalexina (CPX), é um dos contaminantes mais frequentemente encontrados em águas naturais. Objetivando determinar as melhores condições para a fotodegradação deste ativo em solução aquosa foram investigados os métodos fotolíticoe fotocatalítico. Para os experimentos fotocatalíticos empregando catalisadores homogêneo (H_2O_2) e heterogêneo (TiO_2), os parâmetros foram organizados de acordo com um planejamento experimental 2^3, com objetivo de observar a influência de cada fator no processo, assim como a interação entre eles nos diferentes pHs estudados. Da análise dos resultados foi possível verificar que os parâmetros pH, H_2O_2, assim como a interação entre os parâmetros H_2O_2 e TiO_2 são significantes para o processo, e que as melhores condições para a fotocatáliseforam pH 4, $[TiO_2]$ = 50 mg L^{-1} e $[H_2O_2]$ = 1000 mg L^{-1}. No ensaio de atividade antimicrobiana foi observado que somente duas cepas, *E. coli* e *A. hydrophila*, não apresentaram sensibilidade ao fármaco fotoquimicamente tratado, mostrando que nesses casos o ativo farmacêutico teve sua atividade antimicrobiana diminuída.

Palavras-chave: *cefalexina, fármacos no ambiente, fotodegradação*.

ABSTRACT

The increasing contamination of water bodies by the presence of pharmaceutical actives present in medicinal products for human and veterinary use has led to serious environmental consequences, such as the emergence of resistant bacterial strains. β-lactam antibiotics, a class of which is cephalexin (CPX), is one of the most commonly found contaminants in natural waters. Aiming to determine the best conditions for the photodegradation of this active in aqueous solution, the photolytic and photocatalytic methods were investigated. For the photocatalytical experiments employing homogeneous (H_2O_2) and heterogeneous (TiO_2) catalysts, the parameters were organized according to an experimental design 2^3, with the objective of observing the influence of each factor in the process, as well as the interaction between them in the different pHs studied. From the analysis of the results it was possible to verify that the parameters pH, H_2O_2, as well as the interaction between the parameters H_2O_2 and TiO_2 are significant for the process, and that the best conditions for the photocatalysiswere pH 4, $[TiO_2]$ = 50 mg L^{-1} and $[H_2O_2]$ = 1000 mg L^{-1}. In the antimicrobial activity assay, only two strains, *E. coli* and *A. hydrophila*, showed no sensitivity to the photochemically treated drug, showing that in these cases the pharmaceutical active had its antimicrobial activity decreased.

Keywords:Cephalexin*, pharmaceuticals in the environment, photodegradation.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUCTION

The contamination of aquatic environments causes undesirable effects to the The contamination of aquatic environments causes undesirable effects to the ecosystem biota, endangering the quality of the water and the abundance of some organisms. The pollution source can have its origin in many anthropogenic activities, which may be evidenced by the presence of emerging contaminants in aquatic environments. Emerging contaminants are those that point out in the recent detection of products, for example, pharmaceuticals, personal care products, plasticizers and pesticides(HALLING-SORENSEN *et al.*, 1998; FENT. WESTON, CAMINADA, 2006; KÜMMERER, 2009a).

Pharmaceutical products are largely used in human and veterinary medicine. The presence of these products in surface water and groundwater consists of a major concern factor in environmental pollution since it can be harmful to the quality of the water resources due to the persistence, bioaccumulation and toxicity of these compounds (AY & KARGI, 2010; KHETAN & COLLINS, 2007).

The residues of pharmaceuticals may have different sources, that is, from effluents of pharmaceutical industries, rural effluents, inadequate disposal of expired medicines, due to veterinary use, and mainly to the domestic sewage released in water resources (BILA & DEZOTTI, 2003; KÜMMERER, 2009b).

Pharmaceutical residues may have antimicrobial properties or even complex structures that are not susceptible to biodegradation. The conventional process for treating industrial and domestic effluents, based on biological degradation, allows partial removal of these contaminants, resulting in the contamination of surface water, groundwater and sediments (NOGUEIRA; MELO; TROVO, 2008; PALOMINOS, 2009).

The CPX, a β-lactam antibiotic (Figure 1), which belongs to the first-generation of cephalosporin drugs, is widely used in human and veterinary medicine (REYNOSO *et al.*, 2012). These drugs act interrupting the synthesis of the bacterial cell wall, which stops its growth (WANG & LIN, 2012). Studies have shown that, among the contaminants of pharmacological origin, approximately 15% of the pharmaceuticals found in the environment belong to the class of antibiotics (ARAUJO *et al.*, 2012).

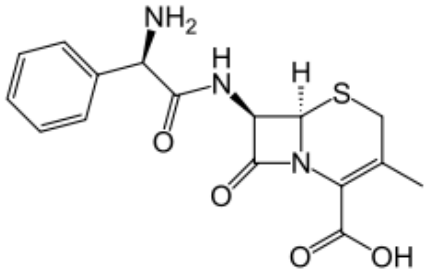


FIGURE 1. Structural formula of the antibiotic cephalexin (CPX).

The concentrations found in water bodies are considerably smaller than those intentionally consumed, and vary in the limits of μgL^{-1} and ngL^{-1} (BILA & DEZOTTI, 2003). Despite this, a long-term exposure as well as the combination of these pharmaceuticals with other pollutants may become a potential risk to the aquatic and terrestrial organisms (ABELLÁN; GIMÉNEZ; ESPLUGAS, 2009).

The presence of antibiotics in the aquatic environment for a long period, even at low concentrations, result in different effects that can be harmful to the environmental balance. For example, these pharmaceuticals in the environment are not enough to inhibit or kill all the bacteria sensitive to the antibiotic, herewith, according to some studies, being able to contribute to the development of bacterial resistance to antibiotics(KÜMMERER, 2009b).

In this sense, photolytical and photocatalytical processes are studied in order to verify its efficiency for insertion to the conventional methods. The photolytical processes employ light as a single degradation source and usually have low efficiency, while the photocatalytical processes are based on the use of homogeneous or heterogeneous catalysts, or an association of both, aiming to increase the reaction rates (TEIXEIRA & JARDIM, 2004).

Techniques employing oxidants such as hydrogen peroxide (H_2O_2) and ozone (O_3) are characterized by the formation of hydroxyl radicals (HO), and thus, are called Advanced Oxidation Processes (AOPs), which have an increased efficiency when subjected to UV irradiation and in the presence of catalysts (metallic ions or semiconductors) (MELO *et al.*, 2009; UTRILLA *et al.*, 2013).

Studies indicate that the heterogeneous

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

photocatalysis in TiO_2 suspension is an important technique of advanced oxidation concerning the removal of contaminants at low concentrations, using artificial or natural light, due to its low cost, commercial availability, non-toxicity and photochemical stability.

Thus, aiming to minimize the environmental effects presented, the removal of these contaminants must be carried out by means of adequate processes of treatment, and, in this sense, we propose the employment of photolytical and photocatalytical methodologies, in order to accelerate the reactions of degradation employing catalysts and UV irradiation.

RESULTS AND DISCUSSION

CHEMICALS AND ANTIBIOTIC

The titanium dioxide was purchased from Sigma-Aldrich. The cephalexin was purchased as an active principle from the local commerce. The sodium hydroxide (NaOH) (FMAIA), hydrochloric acid (HCl) and hydrogen peroxide (Anidrol), all analytical grade, were used without an additional purification.

ANALYTICAL METHODS

The experiments were followed by UV-VIS spectrophotometry, obtaining the absorption spectra at 15 minutes intervals, using an UV-1601PC (Shimadzu) spectrophotometer, scaning from 220 to 390 nm.

The hydrogen peroxide concentration was measured using the permanganometric titration technique, as described in the literature (VOGEL, 1992).

PHOTOCHEMICAL REACTOR

The irradiation experiments were done in lab-made photo-reactor equipped with a high-pressure mercury (Hg) vapor lamp with 125 W of power, which emits light over the entire UV-Visible spectrum, and whose bulb was removed to avoid the filter effect of the ultraviolet (UV) radiation. The Hg vapor lamp was installed 11 cm of distance from the sample. Figure 2 presents a scheme of the photo-reactor used for the irradiations, as previously described in Schneider *et al.* (2014).

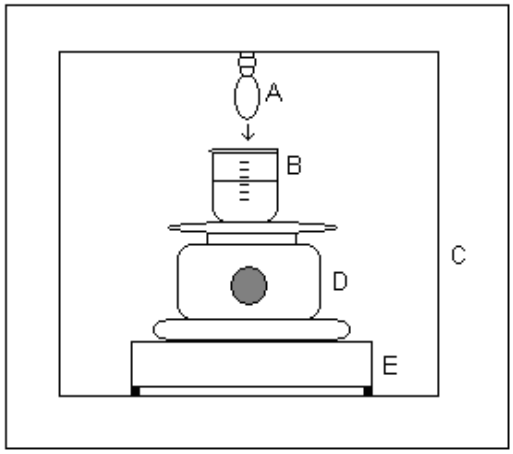


FIGURE 2. Scheme of the photo-reactor used for the irradiations. A) 125W mercury vapor lamp; B)Beaker with the aqueous solution of the pharmaceutical; C) Inner wall of the reactor; D) Magnetic agitator; E) Wooden support for magnetic stirrer.

SAMPLE PREPARATION

The CPX stock solution was prepared by dissolving 0.2 g of the active principle in 100 mL of distilled water, obtaining a solution with concentration equivalent to 2.0 g L^{-1} (5.76 x 10^{-3} mol L^{-1}). The solution was subjected to ultrasound bath for 40 minutes to ensure the complete solubilization of the active and the elimination of air bubbles. The best sample concentration to be submitted to irradiation was determined by the construction of the calibration curve. For that, 10 different solutions, ranging from 5 mg L^{-1} to 50 mg L^{-1} were prepared by dilutions of the CPX stock solution. The concentration whose absorption most approached to unity was choosen as the most appropriate.

For each of the experiments of this work, a volume of 200 mL of the solution was used and irradiated for 120 minutes in the photo-reactor. Aliquots of approximately 3.0 mL were collected every 15 minutes for performing spectral scanings, used to monitor the reaction kinetics.

For the construction of the $\ln(A_0/A)$ *vs.* time plots, were employed the values of the absorption maximum located at the wavelength of 262 nm. The graphs were plotted employing the spreadsheet Microsoft Excel®, and the statistical analysis was performed using the statistical software Statistica®.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

EXPERIMENTS OF DEGRADATION OF THE PHARMACEUTICAL IN AQUEOUS SOLUTION EMPLOYING UV LIGHT (PHOTOLYTIC METHOD)

Effect of pH

For adjusting the pH at the values of 4, 7 and 10, 0.01 mol L^{-1} HCl and 0.01 mol L^{-1} NaOH solutions were used. The solutions initial pH was determined employing a universal combined glass electrode (BNC Eltex) and a pH-meter (Quimis/Q.400.A). The 50 mg L^{-1} CPX solutions, at the different adjusted pHs, were irradiated for 120 minutes.

EXPERIMENTS OF DEGRADATION OF THE PHARMACEUTICAL EMPLOYING H_2O_2AND UV LIGHT AS CATALYSTS (HOMOGENEOUS PHOTOCATALYTICAL METHOD)

The. hydrogen peroxide concentrations of 500 mgL^{-1}, 1000 mgL^{-1} and 1500 mgL^{-1} were employed in the irradiation experiments. Each of the H_2O_2 additions was studied at pHs 4, 7 and 10, in a total of nine distinct experiments.

EXPERIMENTS OF DEGRADATION OF THE PHARMACEUTICAL EMPLOYING H_2O_2, TiO_2 AND UV LIGHT AS CATALYSTS (HETEROGENEOUS PHOTOCATALYTICAL METHOD)

Aqueous solutions of CPX were prepared containing the required amount of TiO_2 to obtain the previously defined concentrations. The pH was adjusted at the desired values and the mixture was kept in the dark under constant stirring for 30 minutes, until the adsorption equilibrium was reached. Then, the required volume of H_2O_2 was added and the sample was subjected to UV irradiation, collecting aliquots of the irradiated solution at 15 minute intervals. To perform the spectral scanings, the sample was previously filtered in 0.2 µm pore size syringe filters (Chromafil PVDF-20/15 MS), and forthwith transferred to a quartz cuvette of 1.0 cm optical pathlength.

Experimental design 2^3

The methodology used in this study for the development of the experimental design 2^3 is described in the literature (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2007) .The levels of the variables of the process ($[TiO_2]$, $[H_2O_2]$ and pH) were determined from preliminary experimental tests, which allowed the catalysts concentrations and the initial pH as well as the interaction between them to be better evaluated in the experimental design 2^3.

In the statistical test, the importance of the photodegradation process operational parameters was assessed. The studied parameters ($[TiO_2]$, $[H_2O_2]$, and initial pH) are displayed in Table 1.

The 11 experiments of the design were performed in a random way. The three variables of the process varied among each other at both two levels (-1 and +1) of concentration of the reagents and initial pH, being performed a triplicate at the center point, in order to increase the degree of freedom of the model, as displayed in Table 2.

The experimental results obtained in the experimental design were assessed by means of the statistical software Statistica® (Statsoft, Inc), in the “experimental design” mode, for two variation levels, through which it was performed analyses of effects, interactions, response surface and analysis of variance (ANOVA).

EVALUATION OF THE PHOTOLYTICAL PROCESS AND THE INFLUENCE OF pH

Photolysis – pH Effect

By analysis of the calibration curve that showed a good linear fit in the concentration range studied (R^2 = 0.9961), the concentration of 50 mgL^{-1} was chosen as the most convenient, because it has abosrvance close to the unit.

Initially was investigated the influence of pH in the CPXphotodegradation process. For that, CPX aqueous solutions were prepared, at the concentration of 50 mgL^{-1}inthe pHs 4, 7 and 10. It was observed that the CFX aqueous solution has its maximum absorbance at the wavelength 262nm.

After 120 minutes of irradiation, the percentage of the absorptionreduction (*%AbsRed*) of this band centered at 262 nm was calculated according to Equation 1.

$$\%AbsRed = \left(1 - \left(\frac{A}{A_0}\right)\right) \times 100 \qquad \text{(Eq. 1)}$$

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

where A is the absorbance after120 min of exposure to UV light and A_0 is the absorbance at the initial time.

In Figure 3, the spectra obtained for the three experiments at zero time can be observed, and it is verified that the absorbance did not vary at any pH. The absorption spectra were monitored at 15-minute intervals, and all of them had a very similar behavior, differing only by the values of *%AbsRed*. At the end of 120 minutes, the *%AbsRed* values of 10.63%, 10.18% and 9.28% were obtained at pH 4, 7 and 10, respectively.

Figure 4 shows the plots of $\ln(A_0/A)$ as a function of time. It is possible to verify that pH 4 had the greatest value of k, with $k = 9 \times 10^{-4}$ min^{-1}, which means that CPX is slightly faster rapidly at pH 4 than at pH 7 and 10. The values of correlation coefficient (R^2) were calculated for the experiments of pH 4, 7, 10, with adjustments of 0.9809, 0.9912 and 0.9957, respectively. Thus, it is possible to affirm, from the linear fits of $\ln(A_0/A)$ *versus* time, that the processes follow a first-order kinetic (or pseudo first-order) up to 120 minutes of reaction.

EVALUATION OF THE PHOTODEGRADATION PROCESS EMPLOYING H_2O_2 AND UV LIGHT

Effect of H_2O_2 concentration

Table 3 presents the *%AbsRed* values for each experiment performed with the addition of H_2O_2, besides thoseresulting from the photolysis process, which had no addition of H_2O_2. For the determination of the rate constant (*k*) according to a first-order (or pseudo first-order) kinetics, graphs of $\ln(A_0/A)$ as a function of time were plotted for all experiments, monitoring the behavior of the band centered at 262 nm.

As it can be seen in Table 3, the experiments showed a linear fit of the experimental points. Comparing the experiments, it is observed that the kinetics of the sample degradation with the presence of 1500 mgL^{-1} of H_2O_2 at pH 4, which was the best performance, has k in the order of $34x10^{-4}$ min^{-1} (R^2 = 0.9941), a value 3.4 times superior to that obtained in the photolytical process at same pH 4.

It is also possible to verify, in the same Table 3 that there is a significant decrease in band intensity when compared the values of photolysis (0 mgL^{-1} of H_2O_2) and photocatalysis employing H_2O_2. This happens due to the production of highly reactive hydroxyl radicals (KIM; YAMASHITA; TANAKA, 2009). When performed the addition of 1500 mgL^{-1} of H_2O_2, there is a slight loss of efficiency in the process, except for pH 4, which can be explained by the fact that at high concentrations of hydrogen peroxide, reactions consuming hydroxyl radicals may occur, negatively affecting degradation (MELO *et al*., 2009).

In addition to that, in Table 3 it is also noted that for each pH value employed, a different concentration of H_2O_2 showed a higher degradation percentage, that is, at pH 4 the H_2O_2 concentration which presented the best result was 1500 mgL^{-1}; however at pH 7, the best concentration was 500 mgL^{-1}, while at pH 10, the concentration of 1000 mgL^{-1} showed a better result. Thus, it can be affirmed that the parameter H_2O_2 is not significant for the process, due to the small variation in *%AbsRed* when the concentration of this catalyst is changed, a fact that can also be statistically proved.

Figure 5 shows the effects of both variables employed (pH and H_2O_2). It is observed that at acidic pH (4.0) the photodegradation process is more efficient, consequently, only the variable pH is significant for the process.

Figure 6 shows the results of the photocatalytical experiments employing H_2O_2 at the concentration of 1500 mgL^{-1} and pH 4. It is possible to observethe existence of an isosbestic point centered at approximately 280 nm, indicating that there is the conversion of a structure into another one without the presence of a third form.

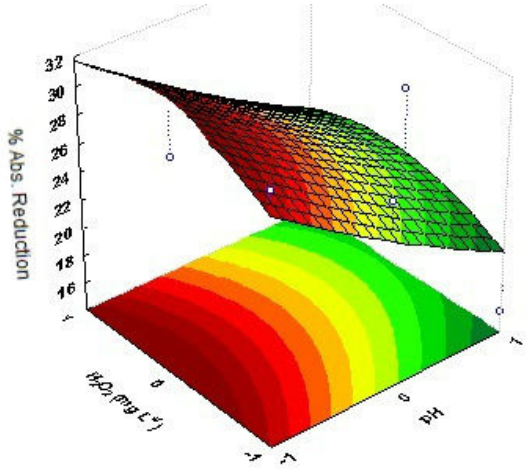


FIGURE 5: Response surface for the variables H_2O_2 and pH.

By means of the spectrophotometry technique, it is not possible to determine which

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

structure is being formed. For that, it would be necessary the use of more sophisticated techniques, such as high performance liquid chromatography coupled with a mass detector (HPLC/MS).

EXPERIMENTAL DESIGN AND STATISTICAL ANALYSIS OF THE PHOTOCATALYSIS PROCESS EMPLOYING TiO_2, H_2O_2 AND pH

With the addition of the catalyst TiO_2, there was an increase in the *%AbsRed*. Despite this, higher concentrations of that catalyst do not result in an improvement in the antibiotic degradation, once it decreases the penetration of light, increasing its dispersion, and causes TiO_2 sedimentation (ELMOLLA; CHAUDHURI, 2010).

To evaluate the efficiency of the photodegradation process employing artificial irradiation the efficiency *%AbsRed* was assessed. The obtained results showed variations from 22.6% to 42.0% in the absorbance reduction, as presented in Table 4.

The fit of a linear model to the table data, considering only the significant parameters of the process, results in Equation 2, in which values are presented in a coded manner.

$$\%AbsRed = 33{,}049 - 3{,}792.\,\mathrm{pH} + 3{,}658.[\mathrm{H_2O_2}] - 2{,}98.[\mathrm{H_2O_2}].[\mathrm{TiO_2}] \quad (2)$$

The generated statistical model showed a good fit of the values predicted by the model for absorbance reduction as a function of the observed values, as presented in Figure 7.

From the observation of the data shown in Table 4, we conclude that at a significance level of 95% (*p*-value < 0,05), the parameters pH, H_2O_2, as well as the interaction between the parameters H_2O_2 and TiO_2 are significant for the process. Through the values of t_{exp}, with degree of freedom equal to 4, the variables pH e H_2O_2 showed a very close degree of influence, but in reverse. For the variable pH, the decrease from level 1 to -1 will cause an increase of the percentage absorbance reduction. While for the variable H_2O_2, the decrease of its value will cause the decrease of response. From the evaluation of the interaction between the factors H_2O_2 and TiO_2, it is possible to conclude that the increase of interaction causes the decrease of the response value in a less significant way than the independent factors do.

The experimental responses based on the values of *%AbsRed* in the experimental design allowed the development of a statistical model with linear fit of the effects of interaction among the coefficients associated with the variables used in the photodegradation process, as shown in Table 5.

The significance of the effects of the operational significant variables and their possible combined actions are verified by applying the analysis of variance (ANOVA), by means of the software Statistica®, as presented in Table 6. In the proposed conditions, the F_{Cal} (24.14) is higher than the F_{Tab} (3; 7; 0.05 = 4.35), therefore, the model is valid for the confidence interval of 95%.

The experimental results obtained from the design and the analysis of the operational parameters of the photodegradation reactor can be better visualized in the response surface N-Dimensional graph. In Figure 8, the effects of both significant variables of the process (pH and H_2O_2) were analyzed, maintaining the third variable (TiO_2) constant at the center point established in the design. It is observed that at acidic pH (4.0), there is a better efficiency of the photodegradation process. The result tends to be even better when the variable H_2O_2 is approached to level 1, where the compound concentration used was equal to de 1000 mgL^{-1}.

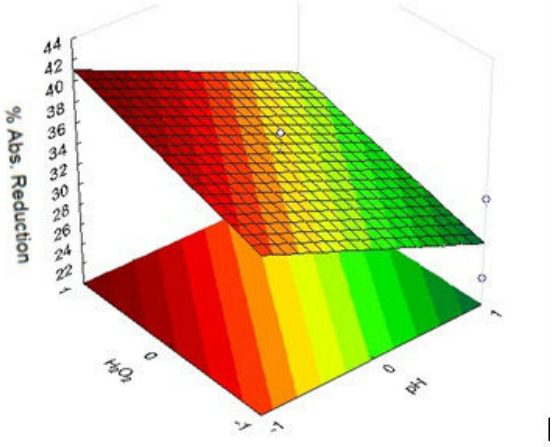


FIGURE 8: Response surface remaining fixed at center point (75 mgL^{-1}) to the variable TiO_2.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY: DISC-DIFFUSION TEST IN AGAR.

In order to verify the alteration of the antibacterial activity of the cephalexin exposed to the photochemical treatment, the disc-diffusion test against the bacteria: Escherichia coli ATCC

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

25922, *Escherichia coli* (IC1), *Escherichia coli* (IC2), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923, two environmental isolates of *Aeromonashydrophila*, and *Staphylococcus xylosus* (environmental isolate). For both sterile filter paper disks of 4 mm in diameter were impregnated with 5 µL of the compounds under investigation at 6 µg/µL, making a total of 30 µg of compound per disc.

For inoculauniformization, bacterial cultures were grown for 18-24 h in TSB broth and densities were adjusted by the equivalence to 0.5 tube of the McFarland Scale ($1x10^8$ CFU mL^{-1}). After inoculation of the cultures in Mueller-Hinton medium with swab aid, the impregnated discs were placed on the culture medium. After incubation at 35 ° C for 24 hours, the inhibition halos were read in millimeters. The experiment was done in duplicate.

The sensitivity results of the bacteria exposed to untreated CPX and after being photo-treated with UV are shown in Table X. It is observed that for all species that showed sensitivity to the antibacterial, there was a change of status to resistant or intermediate or at least decrease Inhibition halo, in some cases with pronounced decrease. These findings indicate loss of compound activity after treatment.

CONCLUSIONS:

We conclude with this study that CPX in aqueous solution, at pH 4, and in the presence of 1000 mgL^{-1} of H_2O_2, underwent a first order (or pseudo first order) photodegradation process, with rate constant (k) of $28x10^{-4}$ min^{-1}. This value was 3.5 times superior to that determined for the photolytic process at same pH ($k=8x10^{-4}$ min^{-1}).

In the experiments employing H_2O_2 and TiO_2 and different pH values, it was possible to verify, through the experimental design 2^3, that the parameters pH and H_2O_2, as well as the interaction between the parameters H_2O_2 and TiO_2 are significant for the process, since the decrease of the variable pH causes a percentage increase of absorbance reduction, while for the variable H_2O_2, the decrease ofits value causes a decrease in response. Concerning the interaction between the factors H_2O_2 and TiO_2, it follows that the increase in interaction causes the decrease of the response value, in a less significant way than the independent factors do.

Antimicrobial tests showed a decrease of CPX activity for two bacterial strains, *E. coli* and *A. hydrophila*. From these, the latter was a strain isolated from an environmental sample of river Toledo water.

ACKNOWLEDGEMENTS:

The authors thank CAPES for the financial support of Galvan.

REFERENCES

1. Abellán, M. N.; Giménez, J.; Esplugas S. Cat. Today2009, 144, 131.

2. Araujo, A. N. *et al*. J. Hazard. Mater. 2010, 175, 45.

3. Ay, F.; Kargi, F. J. Hazard. Mater. 2010, 179, 622.

4. Barros Neto, B.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E. Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. 3th ed.; Editora da UNICAMP: Campinas, Brasil, 2007.

5. Bila, D. M.; Dezotti, M. Quím. Nova 2003, 26, 523.

6. Elmolla, E. S.; Chaudhuri, M. Dasalination2010, 252, 46.

7. Felt, K.; Weston, A. A.; Caminada, D. Aquatic Toxicology, 2006, 76 122.

8. Halling-Sorensen, B; Nielsen, S. N.; Lanzky, P. F.; Ingerslev, F.; Lützhoft, H. C. H.; Jorgensen, S. E. Chemosphere, 1998, 36, 357.

9. Khetan, S. K.; Collins, T. J. Chem. Rev. 2007, 107, 2319.

10. Kim, I.; Yamashita, N.; Tanaka, H. Chemosphere, 2009, 77, 518.

11. Kümmerer, K. Chemosphere, 2009a, 75, 417.

12. Kümmerer, K. J.Environ.Manag.2009b, 90, 2354.

13. Melo, S. A. S.; Trovó, A. G.; Bautitz, I. R.; Nogueira, R. F. P. Quím. Nova2009, 32, 188.

14. Nogueira, R. F. P.; Melo, S. A. S.; Trovo, A. G. J. Photochem. Photobiol., A2008, 198, 215.

15. Palominos, R. A.; *et al*. Catal. Today2009, 144, 100.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

16. Reynoso, E.; Nesci, A.; Allegretti, P.; Criado, S.; Biasutti, M. Redox Rep.2012, 17, 275.

17. Schneider, M. V.; *et al*. Eng. Sanit. Amb. 2014, 19, 61.

18. Utrilla, J. R.; Polo, M. S.; García, M. A. F.; Joya, G. P.; Pérez, R. O. Chemosphere. 2013, 93, 1268.

19. Vogel, A. I. Análise Química Quantitativa. 5th ed.;JC Editora: Rio de Janeiro, Brasil, 1992.

20. Wang, X.; Lin, A. Y. Environ. Sci. Technol. 2012, 46, 12417.

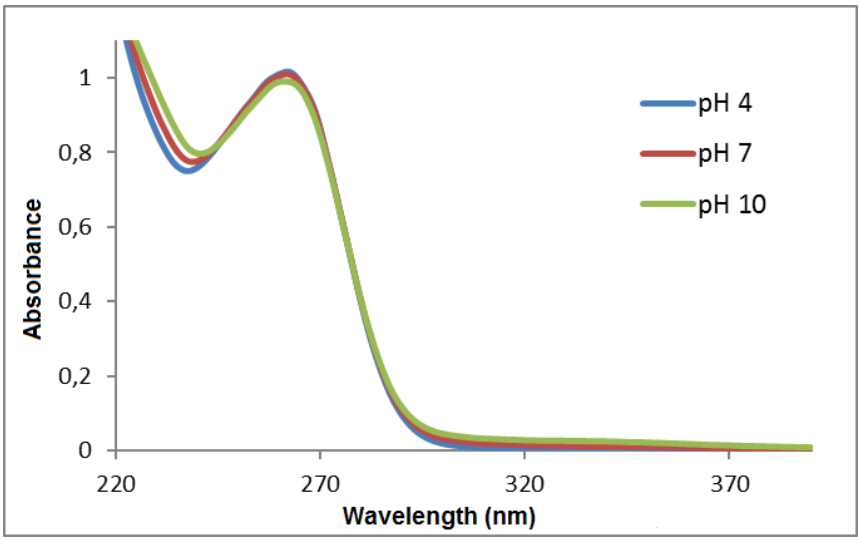


FIGURE 3: CPX absorbance spectra at initial time at pH 4, 7 and 10.

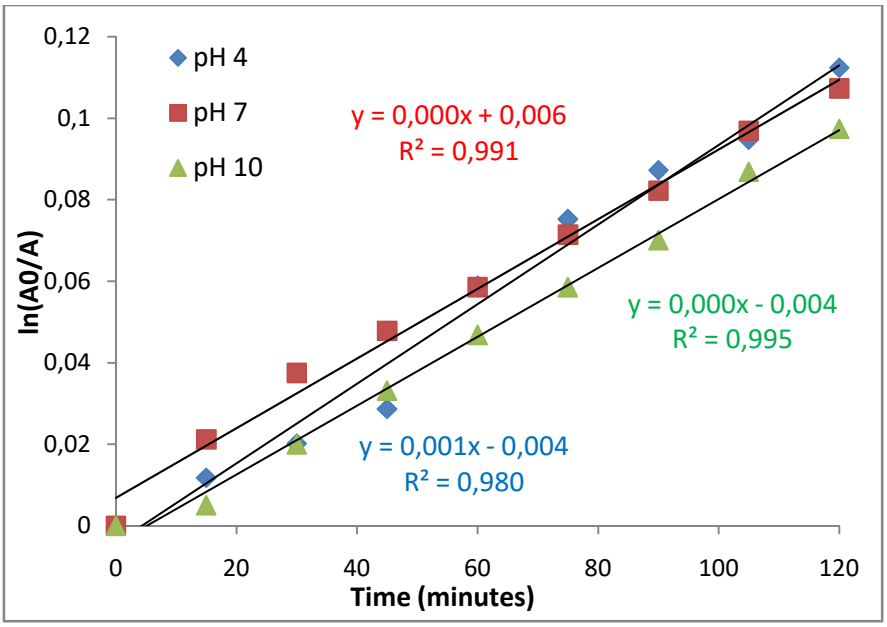


FIGURE 4: Linear fits of the $\ln(A_0/A)$ *vs.* time (min) points for the samples with different pH values.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

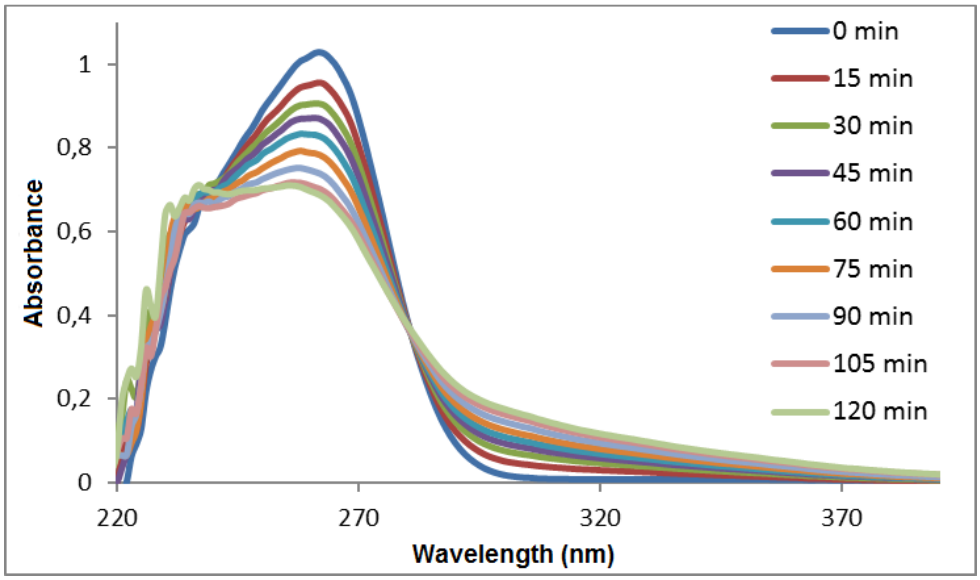


FIGURE 6:CPX absorbance spectra as a function of 50 mgL^{-1}CPX, 1500 mgL^{-1} H_2O_2 andirradiation time at pH 4.

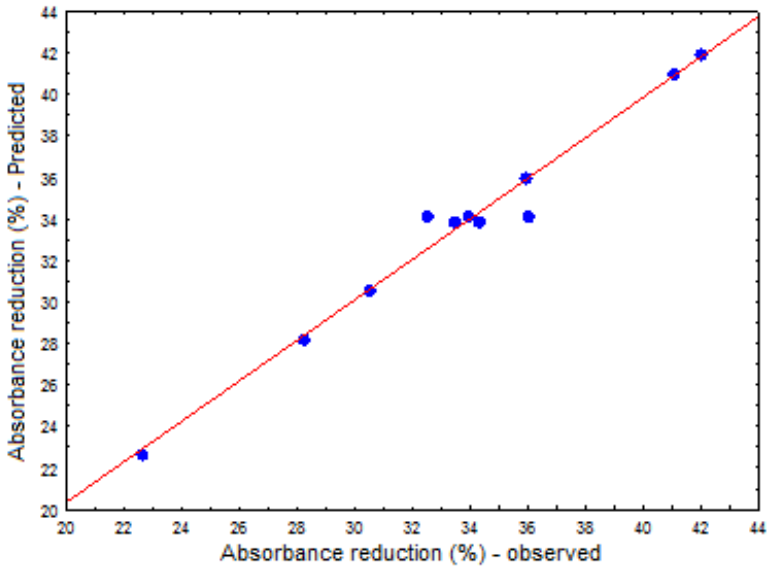


FIGURE7: Predicted values for the photodegradation process, employing artificial irradiation, as a function of the observed values for percentage of absorbance reduction (*%AbsRed*).

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

TABLE 1: Levels of the variables (TiO_2, H_2O_2 and pH) used in the experimental design.

Variable	Levels		
	-1	**0**	**1**
TiO_2 (mg L^{-1})	50	75	100
H_2O_2(mg L^{-1})	500	750	1000
pH	4	7	10

TABLE 2: Variations of the three concentration levels of reagents and pH.

Experiment	Experimental conditions		
	pH	**H_2O_2**	**TiO_2**
P1	1	1	1
P2	-1	1	1
P3	1	-1	1
P4	-1	-1	1
P5	1	1	-1
P6	-1	1	-1
P7	1	-1	-1
P8	-1	-1	-1
P9	0	0	0
P10	0	0	0
P11	0	0	0

TABLE 3: Band reduction percentage values, kinetic constants and R^2 values for the homogeneous photocatalysis experiments employing H_2O_2 at different pH concentrations.

pH	[H_2O_2] (mgL^{-1})	%AbsRed at 262 nm	k (min^{-1})	R^2
4	0	10,63	$10x10^{-4}$	0,9809
	500	31,58	$31x10^{-4}$	0,9922
	1000	29,33	$28x10^{-4}$	0,9922
	1500	33,29	$34x10^{-4}$	0,9941
7	0	10,18	$9x10^{-4}$	0,9912
	500	27,08	$26x10^{-4}$	0,9915
	1000	26,05	$26x10^{-4}$	0,9965
	1500	24,57	$24x10^{-4}$	0,9799
10	0	9,28	$8x10^{-4}$	0,9957
	500	15,50	$16x10^{-4}$	0,9967
	1000	27,11	$26x10^{-4}$	0,9995
	1500	21,51	$21x10^{-4}$	0,9756

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

TABLE 4: Results of the analyses of absorbance presented as *%AbsRed*

Experiment	pH	H_2O_2 (mgL^{-1})	TiO_2 (mgL^{-1})	*%AbsRed*
P1	10 (1)	1000 (1)	100 (1)	28,24
P2	4 (-1)	1000 (1)	100 (1)	41,02
P3	10 (1)	500 (-1)	100 (1)	30,57
P4	4 (-1)	500 (-1)	100 (1)	35,98
P5	10 (1)	1000 (1)	50 (-1)	33,49
P6	4 (-1)	1000 (1)	50 (-1)	41,96
P7	10 (1)	500 (-1)	50 (-1)	22,62
P8	4 (-1)	500 (-1)	50 (-1)	34,32
P9	7 (0)	750 (0)	75 (0)	36,07
P10	7 (0)	750 (0)	75 (0)	33,96
P11	7 (0)	750 (0)	75 (0)	32,52

TABLE 5: Effect of the interaction between the variables of the photodegradation process employing artificial irradiation for *%AbsRed*.

Variables and interactions	Effect of Variable	Model coefficient	Coefficient standard error	t_{exp} (4)	*p*-value
Intercept	33,049	33,049	0,694	47,638	0,000
pH	-7,583	-3,792	0,804	-4,715	0,009
H_2O_2	7,315	3,658	0,804	4,548	0,010
TiO_2	2,656	1,328	0,867	1,531	0,200
pH with H_2O_2	-2,838	-1,419	0,867	-1,636	0,177
pH with TiO_2	-1,512	-0,756	0,804	-0,940	0,400
H_2O_2 with TiO_2	-5,959	-2,980	0,804	-3,705	0,021

r^2 = 0,95463

TABLE 6: Analysis of variance (ANOVA) of the predicted model for the photodegradation process in reduction of absorbance.

Variation source	Quadratic sum	Nº of degrees of freedom	Quadratic mean	F	*p*-value
pH	162,672	1	162,672	45,008	0,000
H_2O_2	60,555	1	60,555	16,755	0,005
H_2O_2 with TiO_2	34,957	1	34,957	9,672	0,017
Standard error	25,300	7	3,614		
Total	297,029	10			

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

TABLE 7: Sensitivity of bacteria to CPX before and after irradiation by UV light.

Bacteria	**CPX** (Mean value of inhibition halo in mm)	**CPX treated** (Mean value of inhibition halo in mm)
E. coli	S (21.5)	R (14.0)
K. pneumoniae	S (22.0)	S (20.0)
A. hydrophila	S (28.0)	R (18.5)
S. aureus	S (38.5)	S (36.5)
S. xylosus	R (7.0)	R (7.0)

R: resistant; S: sensitive; I: intermediate;
* lack of CPX activity; **Although not losing activity the decrease of halo was expressive

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

ALTERAÇÕES QUÍMICAS E FÍSICO-QUÍMICA DO SOLO COM APLICAÇÕES SUCESSIVAS DE ESGOTO DOMÉSTICO BRUTO COMO ALTERNATIVA DE DISPOSIÇÃO FINAL DO CULTIVO DE FORRAGEIRA

CHEMICAL AND PHYSICOCHEMICAL CHANGES WITH SUCCESSIVE APPLICATIONS OF RAW DOMESTIC SEWAGE AS A FINAL DISPOSAL ALTERNATIVE OF FORAGE CULTIVATION

COSTA, Maria Teresa Menezes[1]*; MARQUES, Marcus Vinícius Araújo[2]; MATOS, Antonio Teixeira[3]; SILVÉRIO, Thiago Henrique Ribeiro[4]; PENIDO, Débora Luiza Andrade[5];

[1,2,3,4,5] Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia, Departamento de Engenharia Ambiental e Sanitária, Av. Pres. Antônio Carlos, 6627, CEP 31270-901, Belo Horizonte – MG, Brasil
(fone: +55 31 3409 1880; fax: +55 31 3409 1879)

** Autor correspondente*
e-mail: mariamcosta@ufmg.br

Received 08 September 2017; accepted 09 September 2017

RESUMO

Considerando os significativos gastos com fertilização e irrigação agrícola, o uso de águas residuárias na fertirrigação tem sido estudado como alternativa, pois pode suprir parte da demanda hídrica e disponibilizar nutrientes para as plantas. O objetivo deste trabalho foi avaliar as mudanças nos teores dos nutrientes/poluentes do solo, com aplicações sucessivas de Esgoto Doméstico Bruto. Foram implantados dois tratamentos, sendo uma deles sem alternância e outra com alternância no sentido do escoamento. Foram feitas análises químicas e físico-química de solo na camada superficial em amostras coletadas após 10 e 26 semanas do início de aplicação. De acordo com os resultados obtidos, houve aumento no teor de Nitrogênio Total, de Sódio disponível e nos valores da condutividade elétrica, mas diminuição nos teores de Potássio, de Matéria Orgânica e no valor de pH. Embora os teores de Nitrogênio Total tenham aumentado, permaneceram abaixo do limite considerado de risco. A redução de Potássio pode ser explicada pela sua alta mobilidade no solo e pela absorção das plantas. Já a redução no teor de Matéria Orgânica e no valor de pH deve-se ao efeito do fornecimento de nutrientes, que favoreceu a degradação da Matéria Orgânica nativa do solo.

Palavras-chave: *fertirrigação, efluente doméstico, aproveitamento agrícola*.

ABSTRACT

Considering the significant expenses with fertilizer and irrigation, the use of wastewater in fertirrigation has been studied as an alternative, since it can supply part of the water demand and provide nutrients to the plants. The objective of this work was to evaluate the changes in soil nutrient/pollutant contents, with successive applications of Domestic Sewage. Two treatments were implanted, one of them without alternation and another with alternation in the direction of the flow. Chemical and physicochemical analyzes of soil in the superficial layer were made in samples collected after 10 and 26 weeks from the beginning of application. According to the results, there was an increase in the Total Nitrogen, Sodium content available and in the electrical conductivity values, but a decrease in Potassium, Organic Matter and pH values. Although Total Nitrogen levels increased, they remained below the limit of risk. Potassium reduction can be explained by the high mobility in the soil and the absorption of plants. However, the reduction in the content of organic matter and in the pH value is due to the effect of the nutrient supply, which favored the degradation of the native organic matter of the soil.

Keywords: *fertigation, domestic effluent, agricultural use.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

A utilização de esgoto doméstico bruto (EDB) pode ser fonte de nutrientes para as plantas, possibilitando redução na aplicação de adubos minerais em cultivos agrícolas (KIHILA *et al*., 2014), além de suprir parte da necessidade hídrica das plantas.

As vantagens do aproveitamento do EDB também estão fundamentadas na certeza de sua disponibilidade durante todo o ano, principalmente em cidades contempladas com rede de esgotamento sanitário, e na redução dos custos de seu tratamento (MOYO *et al*., 2015).

Em termos de conteúdo de nutrientes para as plantas, o esgoto doméstico possui, em média, 45 mg L^{-1} de nitrogênio, 7 mg L^{-1} de fósforo, 158 mg L^{-1} de potássio, 53 mg L^{-1} de cálcio, 42 mg L^{-1} de magnésio (VON SPERLING, 2014; THAPLIYAL *et al*., 2011). Isso demonstra o potencial de utilização dessa água residuária na fertilização de solos agrícolas, uma vez que esses nutrientes são essenciais para o desenvolvimento das plantas.

Contudo, a sodificação do solo e, ou, das águas subterrâneas torna-se um risco real associado à aplicação de EDB na fertirrigação de culturas agrícolas, uma vez que o sódio encontra-se em concentração relativamente alta (comumente acima de 60 mg L^{-1}) no EDB e seu acúmulo no solo e/ou contaminação de águas subterrâneas poderá ocorrer se doses acima das recomendadas forem aplicadas (BLUM *et al*., 2012; FONSECA *et al*., 2005; LEAL *et al*., 2009). Sendo assim, estudos demonstram que a dose de aplicação de EDB tem que ser controlada, sendo baseada na quantidade de sódio, em que a dose estabelecida para aplicação é de 300 kg ha^{-1} ano^{-1} de Na, para que esse elemento químico não seja aplicado em excesso no solo (MATOS e MATOS, 2017).

Para que a prática da fertirrigação utilizando EDB seja sustentável, torna-se necessário que se avalie possíveis alterações nas características químicas e físicas do solo (RUSAN *et al*., 2007; URBANO *et al*., 2017), uma vez que estas alterações podem ser resultantes da dose aplicada, da frequência de aplicação e da demanda nutricional da planta cultivada.

A aplicação de água por sulcos no solo, mesmo sendo considerado o método mais rudimentar de irrigação de culturas agrícolas, apresenta-se entres os mais apropriados quando se trata de águas residuárias brutas, por apresentarem baixo risco de obstrução dos emissores pelos agentes químicos, físicos e biológicos, se comparada com a aplicação feita de forma localizada (ALUM *et al*., 2011; BATISTA *et al*., 2014; YAN *et al*., 2009), e de maior segurança sanitária, sem que haja a contaminação das plantas e dos operadores do sistema, se comparada com a aplicação por aspersão (AZEVEDO e SAAD, 2005).

O grande desafio na aplicação de águas residuárias por sulcos está na má distribuição dos nutrientes e da água no solo, quando a gestão da fertirrigação por sulcos é otimizada, seu desempenho pode ser melhorado consideravelmente (PEREA *et al*., 2010; ŠIMŮNEK *et al*., 2016).

Neste contexto, trabalhos que elucidem formas de aplicação do esgoto doméstico de modo que se possibilite uma distribuição mais homogênea dos nutrientes no solo, sem contudo, causar impactos ambientais inaceitáveis, são urgentes e essenciais para viabilizar a alternativa de tratamento/disposição final dessas águas residuárias com fins de aproveitamento agrícola.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em área disponibilizada na Estação de Tratamento de Esgoto da COPASA (ETE - Onça), localizada junto ao Ribeirão do Onça, no município de Santa Luzia - MG, próximo a Belo Horizonte - MG, Brasil, nas coordenadas geográficas 19°49'20,6" Sul e 43°53'46,6" Oeste.

Antes do início do experimento, foi feita a caracterização física, química e físico-hídrica de amostras de solo coletadas nas profundidades de 0 - 20, 20 - 40 e 40 - 60 cm, no local onde foi instalado o experimento, como mostrado na Tabela 1.

Utilizando as metodologias descritas pela EMBRAPA (1999) e Matos (2012), foram feitas análises químicas (teores disponíveis de Na, P e K, de NT e de MO e valor de pH), e físico-química (CE) do solo, na camada superficial (0 - 20 cm), em amostras coletadas após 10 e 26 semanas do início de aplicação EDB, 1ª e 2ª coleta, respectivamente. Resultados que são objetivos de discussão neste trabalho.

A fertirrigação com o esgoto doméstico

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

bruto (EDB) na área de cultivo do capim-elefante foi efetuada por meio do método superficial, mais precisamente, sulcos. Para isso, o terreno foi previamente sistematizado, ou seja, com base em levantamento topográfico do local, teve sua superfície aplainada (BERNARDO *et al*., 2008). Os sulcos foram construídos após a sistematização da área com formato de trapezoidal, tendo profundidade de 0,20 m, largura de 0,30 m e espaçamento de 0,60 m. Os sulcos foram construídos sem declividade de fundo, ou seja, em nível.

Seguindo-se as instruções estabelecidas em EMBRAPA (2015), o plantio de capim-elefante foi efetuado por meio de mudas, optando-se por efetuar o plantio no espaçamento de 0,6 m entre linhas. Desta forma, foi construído um sulco entre cada linha de cultivo.

Cada parcela experimental foi constituída por três sulcos fechados e quatro linhas de cultivo, sendo os sulcos e as plantas laterais considerados bordaduras. Os sulcos foram construídos com 40 m de extensão, o que proporcionou uma área de cultivo total de 72 m² por parcela experimental.

A água residuária utilizada no experimento foi constituída pelo esgoto bruto, submetido apenas a um gradeamento (EDB), cuja caracterização foi feita, em termos de seus atributos físicos, químicos e bioquímicos apresentada na Tabela 2. Os métodos utilizados nas análises estão apresentados *Standard Methods for the Examination for Water and Wastewater* (APHA, 2005) e em Matos (2015).

Para atendimento dos objetivos deste experimento, os tratamentos foram: PFS - parcela experimental receptora de EDB sem alternância no sentido de escoamento e PFC - parcela experimental receptora de EDB com alternância no sentido se escoamento, sendo que as duas parcelas tinham as necessidades hídricas das plantas completadas com água da mesma rede.

Com base na caracterização apresentada na Tabela 2, calculou-se a lâmina a ser aplicada na cultura do capim-elefante, a qual ficou estabelecida pela aplicação de 300 kg ha-1 ano-1 de Na, via EDB, tal como sugerido por Matos e Matos (2017), para que esse elemento químico não seja aplicado em excesso no solo.

O manejo da irrigação foi estabelecido com base na evapotranspiração da cultura (ETc). A ETc foi calculada conforme apresentado por Doorenbos e Pruitt (1977), que utiliza a evapotranspiração de referência (ETo), estimada de acordo com o método de Thornthwaite (1948), disponibilizado pelo INMET (Instituto Nacional de Meteorologia); e utilizando um coeficiente de cultura (Kc) que leva em consideração a cultura instalada e seus estágios de desenvolvimento (DOORENBONS e KASSAM, 1994). A temperatura média (ºC), a umidade relativa do ar média (%), a precipitação acumulada (mm) e a irrigação total necessária por semana (mm) estão apresentadas na Tabela 3.

Como forma operacionalmente mais adequada do sistema, optou-se por efetuar a aplicação de água da rede de abastecimento na área considerando-se um turno de rega de 7 dias, ou seja, a irrigação e a fertirrigação foram aplicadas semanalmente. A aplicação de EDB foi realizada por 26 semanas (pouco mais de 6 meses), período compreendido entre o plantio e o segundo corte da forrageira, iniciado em junho (inverno) e terminado em dezembro (verão).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Na Tabela 4 está apresentado o teste de médias para comparação entre teores de nutrientes/poluentes e outras variáveis do solo, obtidos de acordo com cada tratamento, relativos à 10ª e 26ª semanas de aplicação do EDB nos sulcos.

Verifica-se na Tabela 4 que não houve alteração significativas nessas variáveis à exceção no que se refere ao teor disponível de Na, no solo. O aumento no teor disponível de Na nas amostras de solo coletadas às 26 semanas de cultivo do capim-elefante, deve-se ao maior aporte deste elemento químico ao sistema, via EDB, uma vez que este não é considerado nutriente para as plantas, o mesmo não é absorvido por elas tendendo a se acumular no sistema. Sendo assim, confirma-se a necessidade de preocupação com o acúmulo desse elemento químico no solo receptor de esgoto doméstico, tratado ou não.

Leal *et al*. (2009), ao aplicarem esgoto doméstico tratado por lagoas anaeróbias seguido de lagoas facultativas, visando suprir a demanda hídrica da cana-de-açúcar, encontraram teores disponíveis na ordem de 108 mg dm-3 de Na no solo, valor maior que o encontrado neste

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

experimento.

Embora não significativo, houve aumento nos teores de NT da 10ª para 26ª semana de cultivo do capim-elefante. Os teores de NT podem variar de 0,06 a 0,56 dag kg^{-1}, ou seja, de 600 a 5.600 mg kg^{-1}, na camada superficial de solos cultivados, podendo ser menor que 0,02 dag kg^{-1} (200 mg kg^{-1}) no subsolo (MATOS, 2012). Sendo assim, os resultados apresentados indicam que, no solo estudado, os teores de NT estão baixos e que a dose aplicada via EDB estão proporcionando o ideal em termos de disponibilidade para plantas, sem que cause excesso desse nutriente no solo.

Os teores disponíveis de P, obtidos neste trabalho, variaram de 15,0 e 16,2 mg dm^{-3} (Tabela 4), enquanto Duarte *et al*. (2008), na fertirrigação com esgoto doméstico tratado por diferentes métodos, aplicado com o intuito de suprir 100% da demanda hídrica da cultura do pimentão, encontraram teores na faixa de 150 a 230 mg dm^{-3}. Os teores médios de 41,9 e 38,1 mg dm^{-3} de K disponível, também são inferiores aos encontrados por Duarte *et al*. (2008), que foram de 840 a 1.080 mg dm^{-3}.

Rusan *et al*. (2007), após um período de 10 anos na fertirrigação de culturas agrícolas utilizando esgoto doméstico, observaram aumento significativo no teor de N no solo, que passou de 600 para 900 mg dm^{-3}, e de P, que passou de 15 para 45 mg dm^{-3}, do 2º para o 10º ano de aplicação, respectivamente.

Na Tabela 5, estão apresentadas as comparações das médias dos teores de MO e das variáveis CE e do pH, obtidas em amostras de solo coletadas às 10 e 26 semanas de cultivo do capim-elefante.

O valor de CE no solo submetido ao tratamento PFS aumentou da 10ª para a 26ª semana de cultivo do capim-elefante, resultado esperado pela quantidade de sais aportados ao solo via EDB, entretanto, a mesma diferença não foi observada no PFC. Acredita-se que esse já seja um início na diferenciação na distribuição dos constituintes do EDB no solo, proporcionadas pela sua aplicação alternada no início e final dos sulcos. Outro fato da CE do solo não ter se alterado, pode-se atribuir à intensiva ocorrência de chuvas no período anterior e próximo ao da coleta das amostras de solo (TABELA 3). Sais detectáveis na CE são muito móveis, razão pela qual essa variável é fortemente dependente da ocorrência de chuvas.

O pH do solo começou a apresentar sinais de abaixamento, da 10ª para 26ª semanas de cultivo do capim-elefante, possivelmente decorrente dos processos de nitrificação no meio. Acredita-se que a sua tendência é de equilíbrio no solo receptor de EDB, conforme verificado por diversos autores (BLUM *et al*., 2012; AL-SHDIEFAT *et al*., 2010).

A variação proporcionada pela aplicação de esgoto doméstico no pH do solo pode ser grande, sendo reportados em alguns casos a acidificação e em outros, a alcalinização do meio (BLUM *et al*., 2012). Matos (2014) atribui essa dupla possibilidade ao tempo decorrido após a aplicação da matéria orgânica no solo, ocorrendo acidificação em aplicações recentes e alcalinização nas mais remotas.

Embora não tenham sido significativos, verificou-se tendência dos teores de MO no solo apresentarem redução. Isso se deve à baixa capacidade do EDB em incrementar a MO do solo e ao fato do estímulo que os nutrientes aportados ao solo, via EDB, trazem à mineralização do material orgânico pré-existente no solo (efeito priming), conforme comentado por Paula *et al*. (2013).

Rusan *et al*. (2007) observaram que a MO do solo só passou a ser incrementada a partir de 2 anos de aplicação de esgoto doméstico tratado, enquanto Thapliyal *et al*. (2011) observaram aumentos mais rápidos, tendo sido observado aumentos consideráveis com apenas 6 meses de aplicação de EDB. Torna-se importante ressaltar que o acúmulo de MO no solo depende da carga aplicada.

CONCLUSÕES:

Houve aumento no teor de NT e disponível de Na e nos valores da condutividade elétrica (CE), mas diminuição no teor disponível de K, no teor de MO e no valor de pH.

Embora os teores de NT tenham apresentado tendência de aumento, permaneceram abaixo do limite considerado de risco, em termos de contaminação das águas subterrâneas. Os teores disponíveis dos outros nutrientes/poluentes avaliados, nas lâminas de

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

aplicação de EDB, não indicam, até o momento, perda de qualidade do solo.

AGRADECIMENTOS:

Os autores gostariam de expressar seus agradecimentos pelo apoio financeiro da Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio logístico e concessão da área experimental da Companhia de Saneamento de Minas Gerais (COPASA). Ao Departamento Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Minas Gerais (DESA-UFMG).

REFERÊNCIAS:

1. AL-SHDIEFAT, S.; AYOUB, S.; JAMJOUM, K. Jordan J. Agric. Sci. 2010, 5, 14.
2. ALUM, A.; ENRIQUEZ, C.; GERBA, C. P. Food Environ. Virol. 2011, 3, 85.
3. Am. Public Health Assoc. 2005, 21, 1220.
4. AZEVEDO, L. P.; SAAD, J. C. C. XV Cong. Bras. Oleric. 2005, 14, 4.
5. BATISTA, R. O.; BATISTA, R. O.; FIA, R.; SILVA, D. F. Bol. Tec. Ed. UFLA. 2014, 31.
6. BERNARDO, S.; SOARES, A. A.; MANTOVANI, E. C. Man. Irrig. 2008, 8, 625.
7. BLUM, J.; HERPIN, U.; MELFI, A. J.; MONTES, C. R. Agric. Water Manage. 2012, 115, 216.
8. DOORENBOS, J.; KANSSAM, A. H. Tradução de: GHEYI, H. R.; SOUZA, A. A.; DAMASCO, F. A. V.; MEDEIROS, J. F. FAO: Irrig. Dren. 1994, 33, 306.
9. DOORENBOS, J.; PRUITT, W. O. FAO: Irrig. Drain. Pap. 1977, 24, 179.
10. DUARTE, A. S.; AIROLDI, R. P. S.; FOLEGATTI, M. V; BOTREL, T. A.; SOARES, T. M. Rev. Bras. Eng. Ag. Amb. 2008, 12, 310.
11. Emp. Bras. Pesq. Agrop. 2015, 4, 75.
12. Emp. Bras. Pesq. Agrop. 1999, 370.
13. FONSECA, A. F.; MELFI, A. J.; MONTES, C. R. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 2005, 36, 14.
14. KIHILA, J.; MTEI, K. M.; NJAU, K. N. Phys. Chem. Earth. 2014, 72, 110.
15. LEAL, R. M. P.; HERPIN, U.; FONSECA, A. F. da; FIRME, L. P.; MONTES, C. R.; MELFI, A. J. Agric. Water Manage. 2009, 96, 316.
16. MATOS, A. T. D. E. Qualidade do meio físico ambiental: práticas de laboratório. 1ª ed. Viçosa: Editora UFV, 2012.
17. MATOS, A. T. Manual de análises de resíduos sólidos e águas residuárias. 1ª ed. Viçosa: Editora UFV, 2015.
18. MATOS, A. T. Tratamento e aproveitamento agrícola de resíduos sólidos. 1ª ed. Viçosa: Editora UFV, 2014.
19. MATOS, A. T.; MATOS, M. P. Disposição de águas residuárias no solo e sistemas alagados construídos. 1ª ed. Viçosa: Editora UFV, 2017.
20. MOYO, L. G.; VUSHE, A.; JANUARY, M. A.; MASHAURI, D. A. WIT Trans. Ecol. Environ. 2015, 199, 120.
21. PAULA, J. R.; MATOS, A. T.; MATOS, M. P.; PEREIRA, M. dos S.; ANDRADE, C. A. Rev. Bras. Cienc. Solo. 2013, 37, 1741.
22. PEREA, H.; STRELKOFF, T. S.; ADAMSEN, F. J.; HUNSAKER, D. J.; CLEMMENS, A. J. J. Irrig. Drain. Eng. 2010, 136, 375.
23. RUSAN, M. J. M.; HINNAWIB, S.; ROUSAN, L. Desalination. 2007, 215, 152.
24. ŠIMŮNEK, J.; BRISTOW, K. L.; HELALIA, S. A.; SIYAL, A. A.. Irrig. Sci. 2016, 34, 69.
25. THAPLIYAL, A.; VASUDEVAN, P.; DASTIDAR, M. G.; TANDON, M.; SEN, P. K.; MISHRA, S. J. Sci. Ind. Res. 2011, 70, 621.
26. THORNTHWAITE, C. W. Geog. Rev. 1948, 38, 94.
27. URBANO, V. R.; MENDONÇA, T. G.; BASTOS, R. G.; SOUZA, C. F. Agric. Water Manage. 2017, 181, 2017.
28. VON SPERLING, M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. Belo Horizonte. 4ª ed, 2014.
29. YAN, D.; BAI, Z.; ROWAN, M.; GU, L.; SHUMEI, R.; YANG, P. J. Environ. Sci. 2009, 21, 841.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 1. *Resultados das análises químicas, físicas e físico-hídricas em amostras do solo da área experimental, coletados nas camadas de 0 - 20, 20 - 40 e 40 - 60 cm.*

Prof (cm)	**pH**	**CE**	**MO**	**NT**	**P**	**K**
		$\mu S\ cm^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	---- $mg\ dm^{-3}$ ----		
0 - 20	7	93	6,34	0,48	2,6	54
20 - 40	7,3	106	3,81	0,36	4	63
40 - 60	7,4	92	3,81	0,36	5,7	67
Prof (cm)	**Na**	**Zn**	**Cu**	**Ca**	**Mg**	
	---------- $mg\ dm^{-3}$ ----------					
0 - 20	48	21	30	1575	253	
20 - 40	190	25	19	1872	252	
40 - 60	41	21	17	1979	245	
Prof (cm)	**Al_{troc}**	**H+Al**	**CTC_{Ef}**	**CTC_{Pot}**	**V**	**m**
	---------- $mmol_c dm^{-3}$ ----------				-- % --	
0 - 20	1	7,5	104	111	93	1
20 - 40	1	3	147	149	98	1
40 - 60	1	3	124	126	98	1
Prof (cm)	ρ_s	**U**	**areia**	**silte**	**argila**	
	$g\ cm^{-3}$	$kg\ kg^{-1}$	---------- % ----------			
0 - 20	1,26	0,19[1]	46,1	37	16,9	
20 - 40	-	0,17[2]	-	-	-	
40 - 60	-	0,07[3]	-	-	-	

Em que: CE - condutividade elétrica medida na suspensão solo:água 1:2,5; H+Al - acidez potencial; V- saturação por bases; m - saturação por alumínio; ρ_s - massa específica global do solo; [1,2,3] quantificada sob tensão de 0,1, 0,3 e 15 bar apenas para camada de 0-20 cm, respectivamente.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 2. *Características médias do esgoto doméstico bruto.*

	pH	CE	ST	SFT	SVT
		µS cm^{-1}	-------- mg L^{-1} ---------		
Média	7,7	1523	998	544	454
Mediana	7,7	1543	992	542	453
		DBO	**DQO**	**NTK**	**P**
		---------- mg L^{-1} ----------			
Média		433	760	136,7	19,9
Mediana		435	718	128,6	19,2
	K	**Na**	**Al**	**Mn**	**Fe**
	---------- mg L^{-1} ----------				
Média	40,6	79,5	4,2	1,10	3,3
Mediana	43,0	83,7	3,0	0,14	3,5
		Zn	**Ca**	**Mg**	**Cu**
		---------- mg L^{-1} ----------			
Média		0,35	21,3	6,4	< 0,05
Mediana		0,28	20,9	5,9	< 0,05

Tabela 3. *Temperatura média mensal, umidade relativa média mensal, precipitação acumulada mensal e irrigação total necessária em cada semana de cultivo do capim-elefante.*

Mês	$T_{média}$ (°C)	$UR_{média}$ (%)	P (mm)	$ITN_{semanal}$ (mm)
junho	18	59	0	29
julho	20	53	0	28
agosto	21	49	9	33
setembro	23	49	56	42
outubro	24	53	31	48
novembro	22	63	248	48
dezembro	23	63	304	52

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 4. *Comparação dos teores disponíveis médios dos macronutrientes (NT, P e K) e do Na, em amostras de solo coletadas na camada de 0 - 20 cm, nas parcelas experimentais submetidas à aplicação de EDB dos períodos amostrados com 10 (1ª coleta) e 26 (2ª coleta) semanas de cultivos.*

Tratamentos	NT		Na	
	1ª	2ª	1ª	2ª
	- mg kg^{-1} -		- mg dm^{-3} -	
PFS	324a	392a	19,6a	22,8a
PFC	289a	383a	18,7a	26,0b
Tratamentos	P		K	
	1ª	2ª	1ª	2ª
	--------- mg dm^{-3} --------			
PFS	16,2a	15,5a	41,9a	35,9a
PFC	15,0a	16,0a	38,1a	38,2a

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na horizontal, não diferem estatisticamente pelo teste t de Student, em nível de 5% de significância, entre a 1ª e 2ª coleta de solo.

Tabela 5. *Comparação dos teores de MO, da CE e do pH, em amostras de solo coletadas na camada de 0 - 20 cm, nas parcelas experimentais submetidas à aplicação de EDB, dos períodos amostrados com 10 e 26 semanas de cultivos, 1ª e 2ª coleta, respectivamente.*

Tratamentos	MO		CE		pH	
	1ª	2ª	1ª	2ª	1ª	2ª
	dag kg^{-1}		µS cm^{-1}			
PFS	2,2b	1,3a	45,4a	83,9b	7,4b	6,9a
PFC	1,9a	1,4a	52,6a	74,2a	7,4b	6,8a

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na horizontal, não diferem estatisticamente pelo teste t de Student, em nível de 5% de significância, entre a 1ª e 2ª coleta de solo.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

REGULAMENTAÇÃO E OUTORGA PARA ÁGUA MINERAL NO ESTADO DO PARÁ

REGULATION AND AWARD FOR MINERAL WATER IN THE STATE OF PARÁ

LESSA, Luana Cristina Pedreira[1*]; DA CONCEIÇÃO, Jéssica Lopes[2];DO VALE, Jonathan Rian Farias[3]; FREITAS, Cleiton Alves[4]; ALMEIDA, Hélio da Silva[5]; MARTINS, Nilza Danielle Maia[6].

[1]Universidade Federal do Pará, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil – PPGEC/UFPA, Rua Augusto Corrêa 01, Campus Universitário do Guamá, cep 66075-110, Belém – PA, Brasil (fone: +55 91 32018859)

[2,3,4,5,6]Universidade Federal do Pará, Instituto de Tecnologia, Faculdade de Engenharia Sanitária e Ambiental, Rua Augusto Corrêa 01, Campus Universitário do Guamá, cep 66075-110, Belém – PA, Brasil (fone: +55 913201 7253)

**Autor correspondente*
e-mail: luanaengsamb@gmail.com

Received 03 October 2017; received in revised form 05 October 2017; accepted 09 September 2017

RESUMO

O objetivo desta pesquisa é explanar a temática da regulamentação e concessão da lavra de água mineral e potável de mesa para consumo humano, bem como destinada a fins balneários no Estado do Pará, além de ressaltar a ainda não implementação de Agência de Águas no Estado. Com a finalidade de compatibilizar os procedimentos do órgão gestor de recursos minerais (DNPM) com os do órgão gestor de recursos hídricos (SEMAS/PA), elaborou-se a Resolução nº 76, de 16 de outubro de 2007. O crescimento da comercialização de água mineral no Brasil nos últimos anos requer a atenção devida dos órgãos responsáveis pela gestão dos recursos minerais, para que a água possa ser comercializada com qualidade. Entretanto, denúncias às empresas de água mineral e água adicionada de sais sobre o processo de envasamento de água mineral vendida no Estado do Pará, questionam ações de órgãos reguladores e fiscalizadores. É importante evitar problemas, como os observados pelas atividades de algumas empresas que comercializam água imprópria ao consumo humano ou que não tenham cumprido todas as especificações legais para a exploração e comercialização deste recurso hídrico na Cidade de Belém/PA.

Palavras-chave:*Água Subterrânea, Exploração de Recurso Hídrico, Lei Estadual n° 8.461 de 05 de janeiro de 2017*.

ABSTRACT

The objective of this present study is to explain the thematic of regulation and concession of mineral water and table drinking for human consumption, as well as destined for bathing purposes in the State of Pará, besides noting the implementation of the Water Agency in the State.In order to reconcile the procedures of the mineral resource management body (DNPM) with those of the water resources management body (SEMAS / PA), issued the Resolution n°. 76, dated October 16, 2007.The progression of the commercialization of mineral water in Brazil in the last years requires the attention of the bodies responsible for the management of the mineral resources, so that the water can be commercialized with quality. However, complaints about mineral water companies and added salt water on the bottling process of mineral water sold in the state of Pará, question actions by regulatory and oversight bodies. It is important to avoid problems such as those observed by the activities of some companies that sell water that is not suitable for human consumption or which have not complied with all legal specifications for the exploitation and commercialization of this water resource in the City of Belém / PA.

Keywords: *Groundwater, Exploitation of water resources, State Low n° 8.461, dated January 5, 2017.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

Segundo o Código de Águas Minerais (Decreto-Lei n° 7.841/45, define-se que águas minerais sãoaquelas provenientes de fontes naturais ou de fontes artificialmente captadas que possuam composição química ou propriedades físicas ou físico-químicas distintas das águas comuns, com características que lhes confiram uma ação medicamentosa.

Esta lei estabelece parâmetros dentro dos quais a água pode ser ou não considerada "água mineral", classifica as águas minerais em 12 tipos diferentes de acordo com sua composição e estabelece ainda que, mesmo que a água não atinja os padrões estabelecidos, se for comprovada sua ação medicamentosa (através de estatística completas, observações e documentos clínicos e laboratoriais analisados por crenologistas – especialistas em tratamentos com águas minerais), a água pode ser classificada como "água mineral".

Nem todas as águas minerais sobem completamente até a superfície formando fontes naturais. Algumas ficam aprisionadas logo abaixo da superfície, outras, ainda mais fundo. Nestes casos elas são extraídas através de poços ou galerias.

Em 2014 o aumento no consumo de água mineral no Brasil foi de 7,4% em relação o ano anterior (DNPM, 2015; RAMIRES *et al*, 2004; SOUZA, 2016). Logo, é fato o crescimento do mercado de água mineral no Brasil (FRAGA, 2013), ocorrendo também decorrente à perda crescente da potabilidade das águas superficiais, responsáveis, por exemplo, pelo abastecimento público (DOS SANTOS *et al*, 2009; DA SILVA *et al*, 2007;DE SOUZA *et al*, 2017).

Outra tendência é o mercado de águas envasadas no Brasil, que é a do ingresso das indústrias de refrigerantes de pequeno e médio porte, as mesmas que têm sido responsáveis pela divisão de parte do mercado de vendas de refrigerantes, dominado quase que exclusivamente pelas grandes companhias de refrigerantes. Os principais tributos do setor de envase de água mineral envolvem todos aqueles decorrentes da produção industrial, como IPI e de vendas como ICMS (% variável de estado para estado). Além disto, existe uma Contribuição Financeira, cobrada pela exploração de bens minerais, que é o CFEM, cujo valor corresponde a 2% do faturamento líquido da empresa, deduzidos ICMS, PIS/COFINS e mais gastos com frete.

Diversos usos são dados à água mineral explorada no estado do Pará, dentre esses usos temos a utilização para composição de produtos industriais, como é o caso da empresa Brasil Kirin, indústria no ramo de bebida, localizada no município de Benevides- PA.Além do uso para composição de produtos industriais, a Brasil Kirin comercializa água mineral envasada, como é o caso da Água Schin, produzida a partir de oito fontes naturais, comercializadas nas versões com e sem gás (DNPM, 2015).

De acordo com o relatório de sustentabilidade da Brasil Kirin do ano de 2015, a empresa preserva as áreas de entorno das fontes de captação hídrica de água mineral, requisito necessário para garantir a qualidade da matéria prima.

Estudos do Departamento Nacional de Produção Mineral – DNPM apontam que no ano de 2014, oito grupos e suas marcas responderam por mais de 30% da água envasada declarada no país. Desse percentual, destaca-se a empresa Indaiá, pertencente ao Grupo Edson Queiróz, responsável pelo envasamento de água mineral em 11 estados da federação, dentre eles o estado do Pará (DNPM, 2015).

A expansão do mercado de água mineral requer alguns procedimentos para a comercialização deste recurso (FARIAS, 2002;JÚNIOR *et al*, 2015;MEDEIROS, 2016; IPEA, 2017), como será abordado ao longo dessa pesquisa. Seu pleno aproveitamento deverá seguir os procedimentos do DNPM, responsável por analisar os documentos e estudos apresentados pela indústria de água mineral, conceder ou não a portaria de lavra de exploração do recurso mineral, além disso o empreendimento deve solicitar Outorga ao Orgão Ambiental competente. O DNPM atua em conjunto com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e com a Secretaria Estadual de Meio Ambiente e Sustentabilidade do Pará (SEMAS/PA), com o objetivo de garantir a qualidade da água mineral a ser consumida.

MATERIAIS E MÉTODOS

Usando-se das especificações e de resoluções específicas, como a Portaria de Concessão de lavra, conforme previstos no

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Código de Mineração, bem como no Código de Águas Minerais, respectivos regulamentos e legislações correlatas complementares, adentra-se no tema do consumo de água mineral de mesa pela população, associando o que é regulamentado à realidade colocada em prática pelos comerciantes no Estado do Pará. Especificamente, discute-se o tema do consumo de água mineral pela população na capital do Estado, tendo em vista denúncias à empresas que atuam de forma irregular, uma vez que o consumo desse recurso é feito de forma intensiva pela população e pode ser prejudicial a saúde da população, caso não seja realizado com qualidade adequada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Etapas para exploração de água mineral

Hoje, a exploração de águas minerais se dá mediante a emissão de uma Portaria de Lavra pelo Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM), com base no: Código de Mineração (Lei 227/1967), Código de Águas Minerais (Lei 7841/1945) e nas Portarias 222/1997 e 231/1998 do DNPM. Além disso, a legislação também exige o licenciamento ambiental, a cargo dos órgãos ambientais dos estados.

3.1.2 Requerimento de autorização de pesquisa

À semelhança dos outros bens minerais, os procedimentos exigidos para a pesquisa quanto a aproveitamento e exploraçãode águas minerais são os mesmos. Deverá ser protocolizado na Superintendência do Departamento Nacional de Produção Mineral o Requerimento de Autorização de Pesquisa, no qual se exige:

a) Formulário padronizado fornecido pelo DNPM;

b) Plano de Pesquisa;

- Roteiro para Elaboração

O Plano de Pesquisa deve ser elaborado por geólogo ou engenheiro de minas, com programa de trabalho de acordo com o Manual do DNPM/1994 – Relatório Final de Pesquisa para Água Mineral e Potável de Mesa e Portarias do DNPM - 374/09 e 231/98, que dispõem, respectivamente, das “Especificações técnicas para o aproveitamento das águas minerais e potáveis de mesa” e dos “Estudos de áreas de proteção de fontes”.

- Conteúdo do Plano de Pesquisa

a) Captação por Caixa (fonte/surgência);
b) Captação por Poço Tubular.

c) Planta de Localização da Área.

3.1.3 Alvará de pesquisa

Após a análise técnica do Requerimento de Pesquisa na Superintendência do DNPM, da qual poderá ou não resultar algum cumprimento de exigência da parte do requerente, é então aprovada a liberação do Alvará de Pesquisa, cuja validade é de dois anos, passível de renovação a critério do Departamento.

3.1.3.1 Relatório final de pesquisa

Publicado o Alvará de Pesquisa, o requerente dará início aos Trabalhos de Pesquisa compreendendo os estudos técnicos(geológico, hidrogeológico, hidroquímico, etc) com vista a elaboração do Relatório Final de Pesquisa que deve seguir o roteiro do Manual do DNPM/1994 – Relatório Final de Pesquisa para Água Mineral e Potável de Mesa e atender o disposto na Portaria nº 374/09 – DNPM.

3.1.3.2Ensaio ou Teste de Bombeamento

De acordo com o subitem 4.4.9 da Portaria n.º 374/09 – DNPM, deverá proceder-se a realização do teste de produção com o acompanhamento de um técnico do DNPM. Deverá ser utilizado equipamento adequado que permitamanter a vazão constante durante todo o teste e com precisão de 4% de erro.

3.1.3.3Estudo "In Loco"

Análises físico-químicas e bacteriológicas realizadas pelo interessado antes do estudo "in loco" da fonte, não terão validade para o DNPM. Os resultados dessas análises servirão para orientar o interessado, com base na Resolução RDC n.º 274/05 da Secretaria de Vigilância Sanitária, que dispõe sobre o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Água Mineral e Potável de Mesa.

É indispensável seguir as normas vigentes quanto ao procedimento seqüencial de

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

análise bacteriológica completa(coliformes totais e fecais, pseudomonas aeruginosas, clostrídios, sulfitos redutores, unidades formadoras de colônias/ml e estreptococos fecais).

3.1.3.4 Estudo da área de proteção da fonte

Como parte complementar do Relatório Final de Pesquisa (RFP), quando da apresentação deste a Superintendência do DNPM, o Estudo de Área de Proteção da captação deve fazer parte do respectivo RFP, conforme determina o ítem 1 da Portaria nº 231/98 – DNPM e cuja execução deve seguir o disposto no ítem 3.4 dessa mesma Portaria.

3.1.3.5 Classificação da água

Os resultados do Estudo "In Loco" são emitidos através de laudos pelo Laboratório LAMIN/CPRM e encaminhados a Superintendência do DNPM correspondente para análise e avaliação do comportamento químico, físico-químico e bacteriológico da água e determinação de sua composição química na forma iônica e, conseqüentemente, a devida classificação de acordo com o Código de Águas Minerais.

3.1.3.6 Aprovação do relatório final de pesquisa

Concluídos os estudos e cumpridas todas as exigências legais, o Relatório Final de Pesquisa na sua forma completa, já analisado e vistoriado por técnico da Superintendência do DNPM, conforme laudo anexado ao processo, é então aprovado através de publicação no Diário Oficial da União, consignando a vazão e a classificação da água.

3.1.4Requerimento de lavra

No Requerimento de Concessão de Lavra deverá ser observado o disposto nos artigos 38, 39 e 40 do Código de Mineração e na Portaria n.º 374/09-DNPM que aprovou a Norma técnica n.º 01/09, que trata das Especificações Técnicas para o Aproveitamento das Águas Minerais e Potáveis de Mesa e Resolução CONAMA n.º 09, de 06/12/90, referente ao Licenciamento Ambiental.

3.1.4.1 Plano de aproveitamento econômico

Publicada a aprovação do Relatório Final de Pesquisa o titular terá o prazo de 1(um) ano para requerer a Concessão de Lavra. O requerimento é acompanhado do Plano de Aproveitamento Econômico(PAE), no qual se exige o projeto técnico e industrial que define o plano de explotação, bem como o estudo de viabilidade econômica do empreendimento, além de mapas e plantas das edificações e das instalações de captação e envase.

Aliado aos elementos constantes na legislação acima referida, o Plano de Aproveitamento Econômico deverá especificar, claramente, o sistema de drenagem das águas pluviais, bem como as instalações sanitárias na área requerida e a metodologia a ser adotada no tratamento dos efluentes.

Deverão, também, ser apresentados: o "layout" do sistema de distribuição da água definindo o fluxo do líquido, da captação ao setor de envase, com todas as suas opções; planta das instalações industriais como o "layout" da(s) linha(s) de envase e as especificações técnicas das máquinas e equipamentos; plantas das obras civis previstas para o aproveitamento da água.

3.1.4.2 Outorga da portaria de lavra com a área de proteção da fonte

Estando devidamente analisados e vistoriados, por técnico da Superintendência do DNPM, o Estudo da Área de Proteção da Fonte e o Plano de Aproveitamento Econômico (PAE) e cumpridas todas as exigências legais, proceder-se-á a outorga da Portaria de Lavra, que será publicada no DOU, na qual será definida a delimitação da poligonal da respectiva Área de Proteção, segundo os lados e direções norte/sul – leste/oeste, verdadeiros.

3.1.5 Rótulo

Após a publicação da Portaria de Lavra, o titular submeterá a Superintendência do DNPM o Modelo de Rótulo, conforme a Portaria nº 470/99 – MME e, no que couber, a Resolução - RDC nº 274/05 – ANVISA.

Analisado o modelo de rótulo apresentado e cumpridas as exigências legais, será então aprovado e publicado no DOU. Os rótulos utilizados devem estar aprovados pelo DNPM. Após publicação do rótulo, o titular deverá proceder o seu registro no Ministério da Saúde.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

3.1.6 Operação De Lavra

O processo de envase só será iniciado após o resultado de nova análise bacteriológica completa referente a coleta de amostras representativas, de acordo com a Resolução - RDC nº 274/05 – ANVISA, em todas as saídas de linhas de envasamento.

4.2. Legislação e publicação para consulta

4.2.1No MME e no DNPM

1. Código de Mineração e seu Regulamento. Decreto Lei n° 227 de 28 de Fevereiro de 1967.

2. Código de Águas Minerais. Decreto Lei n° 7.841 de agosto de 1945.

3. Portaria n.º 117/72-DNPM - Estudo "in loco" de fontes de Águas Minerais ou Potáveis de mesa como condição indispensável à aprovação do Relatório Final de Pesquisa.

4. Durante a reunião, foi apresentado o relatório técnico elaborado pelo geólogo Portaria n.º 805/78-MME/MS - Estabelece instruções em relação ao controle e fiscalização sanitária das águas minerais destinadas ao consumo humano.

5. Portaria nº 159/96-DNPM - Importação e Comercialização de Água Mineral.

6. Portaria n.º 374/09-DNPM - Especificações Técnicas para o Aproveitamento de Águas Minerais e Potáveis de Mesa.

7. Portaria n.º 231/98-DNPM - Regulamenta as Áreas de Proteção das Fontes de Águas Minerais.

8. Portaria nº 470/99 - MME - Dispõe sobre as características básicas dos rótulos das embalagens de águas minerais e potáveis de mesa.

9. Portaria n.º 56/99-DNPM - Modelos de Formulários do Relatório Anual de Lavra.

10. Manual para Elaboração de Relatório Final de Pesquisa de Água Mineral e Potável de Mesa/94-DNPM.

11. Desinfecção em Captações e Instalações de Envasamento de Água Mineral/01 – DNPM/PE.

12. Testes de Bombeamento objetivando o Aproveitamento de Águas Minerais em Meio Poroso/01 – DNPM/PE.

4.2.2 No Ministério da Saúde (MS), na Agência Nacional de Vigilância Sanitária(ANVISA) e no Conselho Nacional do Meio Ambiente(CONAMA)

• Resolução RDC nº 173, de 13/09/2006, DOU de 15/09/2006 (Agência de Vigilância Sanitária) - Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Industrialização e Comercialização de Água Mineral Natural e de Água Natural e a Lista de Verificação das Boas Práticas para Industrialização e Comercialização de Água Mineral Natural e de Água Natural.

• Resolução RDC n.º 274/05 - Secretaria de Vigilância Sanitária; dispõe sobre o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Água Mineral e Potável de Mesa.

• Portaria MS nº 518/04 – Secretaria de Vigilância em Saúde; estabelece a Norma de Qualidade da Água para Consumo Humano.

• Resolução/CONAMA nº 009/90 - Requerer ao Órgão Ambiental competente a Licença de Operação para Pesquisa Mineral.

Resolução ANVISA nº 310/99 - Regulamento Técnico para Fixação de Padrões de Identidade e Qualidade de Água Mineral Natural e Água Natural.

4.3. Resolução 76, de 16 de Outubro de 2007

Além da Portaria de Concessão de lavra é necessário a solicitação de outorga à Secretária Estadual de Meio Ambiente e Sustentabilidade do Pará (SEMAS/PA). Com a finalidade de compatibilizar os procedimentos do órgão gestor de recursos minerais (DNPM) com os do órgão gestor de recursos hídricos (SEMAS/PA), elaborou-se a Resolução nº 76, de 16 de outubro de 2007 que dispõe sobre diretrizes gerais entre a gestão de recursos hídricos e a gestão de águas minerais, termais, gasosas, potáveis de mesa ou destinadas a fins balneários.

De acordo com essa resolução em seu artigo 3º o órgão gestor dos recursos minerais e o órgão gestor dos recursos hídricos, com vistas a facilitar o processo de integração, devem buscar o compartilhamento de informações e compatibilização de procedimentos, definindo de forma conjunta o conteúdo e os estudos técnicos necessários, consideradas as legislações específicas vigentes.

As informações mínimas a serem compartilhadas são:

I) Aos títulos de direitos minerários de pesquisa ou lavra de água minerais, termais, gasosas, potáveis de mesa, ou destinadas para fins balneários para sua inclusão no Sistema de Informações de Recursos Hídricos e consideração pelos órgãos gestores de recursos hídricos;

II) Aos atos administrativos relacionados ao uso de recursos hídricos, tais como: outorgas de direito de uso, manifestações prévias e autorizações de construção de poços, para a sua inclusão no sistema de informações de recursos minerais e consideração pelo órgão gestor de recursos minerais;

III) À área objeto de requerimento de pesquisa para água mineral, termal, gasosa, potável de mesa ou destinada a fins balneários;

IV) À área ou perímetro de proteção de fonte instituído pelo órgão gestor de recursos minerais, a fim de que seja considerado pelos órgãos gestores de recursos hídricos;

V) Às áreas de restrição e controle estabelecidas pelo órgão gestor de recurso hídrico competente ou previstas nos planos de recursos hídricos, a fim de que sejam consideradas pelo órgão gestor de recursos minerais;

VI) Ao monitoramento quantitativo e qualitativo disponível nos órgãos gestores;

Aquelas necessárias à formulação dos planos de recursos hídricos e à atuação dos comitês de bacias hidrográficas.

4.4.Lei Estadual 8.461 de 05 de Janeiro de 2017

Estabelece modelos diferenciados de copos, garrafinhas, garrafas e garrafões para envase e venda ao consumidor de água potável purificada e adicionada de sais minerais, comercialmente registradas e autorizadas. Esta Lei estabelece os parâmetros e padrões mínimos para a correta identificação e diferenciação das embalagens retornáveis da água adicionada de sais, diferenciando-a da água mineral natural e água natural, bem como estabelece vedação de envase em garrafões de uso exclusivo por outras envasadoras que não as detentoras de sua marca moldada no garrafão.

4.5. Problemática da água mineral no Estado do Pará

"Água comercializada no Pará não é mineral nem potável, diz pesquisa" e "Empresa vende água da torneira como se fosse água mineral no Pará".

Essas são manchetes de jornal dos anos de 2015 e 2016 que exemplificam o problema com a venda do que as empresas afirmam ser água mineral no Pará. Devido às essas e outras inúmeras denúncias, que tiveram como alvos as empresas de água mineral e água adicionada de sais, no dia 12/07/2016, o Ministério Público por meio da Promotoria de Justiça de Defesa do consumidor da capital, reuniu com empresas que comercializam água mineral e órgãos reguladores e fiscalizadores, na sala de reuniões do Anexo I do Ministério Público do Estado do Pará, bairro da Cidade Velha, em Belém, para tratar sobre o processo de envasamento de água mineral vendida no Estado do Pará.

A denúncia diz respeito ao envasamento de água tirada diretamente da torneira e colocadas em garrafões e em outras embalagens de água mineral. Foram realizadas vistorias em várias empresas, tanto na de água mineral quanto na de água adicionada de sais, onde foram evidenciados erros nas de água minerais, assim como nas de água adicionada de sais.

Joana Coutinho, representante da Promotoria de Justiça de Defesa do Consumidor, explicou que o objetivo da reunião com as empresas "é sanar as inconsistências, para evitar que as empresas que adicionam sais a água, pratiquem a irregularidade de utilizar sem autorização das empresas os mesmos garrafões e distribuam neles a água que não é mineral, levando o consumidor a erro quando ele pensa que está comprando água mineral".

Representante do Grupo de Apoio Técnico Interdisciplinar, Wilson de Oliveira, onde ficou constatado que as empresas utilizaram material reciclado, problemas nos lacres, nos poços, dentre outros.

O representante da Abinam, Carlos Pedroza de Andrade disse que há normas técnicas na NBR para as embalagens de água mineral, para tampas e etc. A embalagem da água adicionada de sais traz imagens próprias de água mineral que são proibidas pela legislação, isso induz o consumidor ao erro.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Segundo Coutinho, primeiro estão tentando um ajuste com as empresas de água mineral e a próxima reunião já será com as empresas de água adicionada de sais, aproximadamente 23 empresas.

"Não sei se vai ser possível reunir com todas, pois a maioria são do interior, para discutir a regularização com as que ainda não estão regularizadas e as adequações com as que ainda não se adequaram. Como foi visto na colocação do técnico, o próprio local não é adequado, os poços não são adequados e essa necessidade de fazer um trabalho mais profundo com essas empresas", finaliza Coutinho**.**

CONCLUSÕES

O crescimento da comercialização de água mineral no Brasil nos últimos anos requer a atenção devida dos órgãos responsáveis pela gestão dos recursos minerais, para que a água possa ser comercializada com a devida qualidade. Nessa perspectiva, amparado no Código de Mineração e no Código de Águas Minerais que considera a água mineral como os demais recursos minerais, o Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM), exerce papel importante como órgão regulamentador e fiscalizador.

A exploração adequada da água mineral requer a observância das resoluções da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e das legislações ambientais dos locais onde pretende-se instalar a indústria. O processo de solicitação de outorga, nesse sentido, é uma ferramenta importante, pois servirá como pré-requisito para a concessão de permissão de instalação do empreendimento.

A consideração dessas resoluções e legislações é importante no sentido de evitar problemas como os observados com algumas empresas que comercializam água imprópria na Cidade de Belém/PA. Ademais, é necessário que o Departamento Nacional de Produção Mineral, faça cumprir seu papel fiscalizador, e mantenha a Secretária de Estado de Meio Ambiente e Sustentabilidade do Pará, ciente dos possíveis cancelamentos das portarias de lavras de empreendimentos que não estejam em conformidade com a legislação, fazendo cumprir a resolução 76 de 16 de Outubro de 2007 que estabelece diretrizes gerais para a integração entre a gestão de recursos hídricos e a gestão de águas minerais, termais, gasosas, potáveis de mesa, ou destinadas a fins balneários.

REFERÊNCIAS,

1. BRASIL. Lei nº 7.841, de 8 de Agosto de 1945. Código de Águas Minerais.
2. _____. Lei nº 8.461, de 5 de janeiro de 2017. Estabelece modelos diferenciados de copos, garrafinhas, garrafas e garrafões para envase e venda ao consumidor de água potável purificada e adicionada de sais minerais, comercialmente registradas e autorizadas.
3. _____. Ministério de Minas e Energia. Departamento Nacional de Produção Mineral. O passo a passo para explorar água mineral. 2015. Disponível em: <http://www.dnpm.gov.br/assuntos/ao-publico/paginas/explorar-agua-mineral-veja-como-e-facil>. Acesso em: 10 fev 2017.
4. _____. Ministério de Minas e Energia. Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM). Sumário Mineral 2015. Brasília, DF.
5. _____. Resolução nº 76 de 16 de outubro de 2007 do Conselho Nacional de Recursos Hídricos. Disponível em< http://www.ceivap.org.br/ligislacao/Resolucoes-CNRH/Resolucao-CNRH%2076.pdf>. Acesso em: 02 fev 2017.
6. BRASILKIRIN. Relatório de Sustentabilidade 2015. Disponível em: <https://www.brasilkirin.com.br/pdf/relatorio-sustentabilidade-2015.pdf>. Acesso em: 15 de fev de 2017.
7. COELHO, V. M.T; DUARTE, U. (2003). Perímetros de proteção para águas naturais minerais. 2003. *Revista Águas subterrâneas*. n.17.Acesso em: 03 de out de 2017. Disponível em: <https://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/viewFile/22853/14999>.
8. DA SILVA, M.L; DA SILVA, M.S.R. 2007. Perfil da qualidade das águas subterrâneas de Manaus. *Holos Environment*. 7 (1). Doi: < http://dx.doi.org/10.14295/holos.v7i1.969>.
9. DE SOUZA, D.S; ARAÚJO, R.C.O.S; SOUSA, M.V; PEDRO FILHO, F.S; MADEIRA, M.J.A. 2017. Estudo

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

socioambiental na Amazônia Brasileira com foco na qualidade da água. Revista Internacional de Investigación en Ciencias Sociales. 13 (1). Acesso em: 05 de out de 2017. Disponível em: <http://revistacientifica.uaa.edu.py/index.php/riics/article/view/360>.

10. DOS SANTOS, M.J; SAMPAIO, C. H; BREI, V.A; PERIN, M.G. Água: Uma necessidade ou desejo de consumo? Uma necessidade dos significados de consumo. In: XXXIII Encontro de ANPAD. São Paulo/SP, 2009. Acesso em: 04 de out de 2017. Disponível em: <http://www.anpad.org.br/admin/pdf/MKT2273.pdf>.
11. FARIAS, C.E.G. 2002. Mineração e Meio Ambiente no Brasil. Relatório preparado para o CGEE. Acesso em: 04 de out de 2017. Disponível em: <http://www.em.ufop.br/ceamb/petamb/cariboost_files/miner_c3_a7_c3_a3o_20e_20meio_20ambiente.pdf>.
12. FRAGA, A.M. Água mineral: Captação, envasamento, distribuição e consumo na microrregião de Florianópolis –SC. (2013). Dissertação. Universidade Federal de Santa Catarina. Repositório institucional. Acesso em: 03 de out de 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/123149>.
13. FREITAS, H.A; TORRES, I. S.I; JÚNIOR, E. L.N. Água Mineral: Estudos de Casos da Fiscalização do DNPM no Estado de São Paulo. In: XV Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas. Natal, RN. 2008. Disponível em: <https://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/view/23309>. Acesso em: 15 de fev de 2017.
14. IPEA. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. Boletim regional, urbano e ambiental. Diretoria de Estudos e Políticas Regionais, Urbanas e Ambientais. – n. 1 (dez. 2008) – Brasília. Dirur, 2008.
15. JÚNIOR, P.S.P; REYDON, B.P; PORTUGAL, N.S. (2015). As águas minerais no Brasil: Uma análise do mercado e da institucionalidade para uma gestão integrada e sustentável. *Revista Ambiente e Água*. 10 (2). Doi: <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1357>.
16. MARTINS, Carla Ferreira Vieira. Avaliação das normas reguladoras de mineração para minas subterrâneas no Brasil e da Legislação Mineral Brasileira para segurança em subsolo. 2017. 182f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mineral) - Escola de Minas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2017.
17. MEDEIROS, K.A. (2016). Legislação sobre proteção das fontes de água mineral no Brasil. *Revista Águas Subterrâneas*. Doi:<http://dx.doi.org/10.14295/ras.v0i0.28731>.
18. RAMIRES, I; GREC, R. H.C; CATTAN, L; DE MOURA, L. G; LAURIS, J.R.P; BUZALAF, M.A.R. (2004). Avaliação da concentração de flúor e do consumo de água mineral. *Revista de Saúde Pública*. Universidade de São Paulo.38 (3): 459-65.
19. SOUZA, Bruno Gomes de. Água mineral versus água potável de mesa: uma temática para o ensino de ciências. 2016. 34 f., il. Monografia (Licenciatura em Química)—Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NA REGIÃO DO UV-VIS PARA OS LIGANTES QUINOLINA-N-ÓXIDO, NICOTINAMIDA-N-ÓXIDO E 2,2-DITHIOBISPIRIDINA-N-ÓXIDO

MOLECULAR ABSORPTION SPECTROSCOPY IN THE UV-VIS REGION FOR THE QUINOLINE-N-OXIDE, NICOTINAMIDE-N-OXIDE AND 2,2-DITHIOBISPYRIDINE-N-OXIDE LIGANDS

LIMA, Francisco Jose Santos*; COSTA, Luiz Henrique Medeiros da;
SILVA, Ademir Oliveira da, PEREIRA, Francisco Claudece.

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências Exatas e da Terra
Instituto de Química, Av. Senador Salgado Filho, s/n – Campus Universitário, Natal RN

*Autor correspondente
limafjs@yahoo.com

Received 06 June 2017; received in revised form 30 November 2017; accepted 14 December 2017

RESUMO

A proposta deste trabalho foi analisar e quantificar através de parâmetros espectrais, as bandas de absorção, especificamente na região uv-visível de alguns ligantes N-óxidos. A partir dos espectros, foram calculadas para cada um deles, a área sob a banda de absorção, a absortividade molar, o coeficiente de absorção integrado e a força do oscilador pelo método da aproximação pela Gaussiana, usando a avaliação proposta por Drago e Figgs. De acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que os compostos heterocíclicos estudados, absorvem muito bem radiação eletromagnética na região do ultravioleta. Para os ligantes QUI-NO e NIC-NO foi observado que há dois tipos de bandas, primárias e secundárias, sendo transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$, respectivamente. Para a DITBIS-NO, houve apenas a ocorrência de uma banda primária (transição 1) e dois ombros adicionais, sendo esta apresentando o maior coeficiente de absortividade observado. Estes ligantes são esperados como potenciais doadores de elétrons em sistemas complexos, que têm como meta, alterar os níveis de energia do sistema eletrônico a fim de promover um melhor aproveitamento da energia absorvida e, portanto uma melhor eficiência.

Palavras-chave: *Espectroscopia uv-vis, ligantes N-óxidos, força do oscilador.*

ABSTRACT

Required The purpose of this study was to analyze and quantify spectral parameters, the absorption bands, specifically in the uv-visible region of some N-oxide ligands. From the spectra, the area under the absorption band, the molar absorptivity, the integrated absorption coefficient and the oscillator strength by the Gaussian approximation method were calculated for each of them, using the proposed evaluation by Drago and Figgs. According to the obtained results, it can be concluded that the heterocyclic compounds studied absorb very well electromagnetic radiation in the ultraviolet region. For the ligands QUI-NO and NIC-NO it was observed that there are two types of bands, primary and secondary, being transitions of type $\pi \rightarrow \pi^*$ and $n \rightarrow \pi^*$, respectively. For DITBIS-NO, there was only one primary band (transition 1) and two additional shoulders, which had the highest observed absorbance coefficient. These ligands are expected as potential electron donors in complex systems whose purpose is to change the energy levels of the electronic system in order to promote a better utilization of the absorbed energy and therefore a better efficiency.

Keywords*: UV-VIS spectroscopy, N-oxide ligand, oscillator strength.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO:

A espectroscopia de absorção molecular, na região do UV-Visível, é uma técnica bastante utilizada para estudos da interação da radiação eletromagnética com moléculas, átomos e íons. A absorção desta radiação promove elétrons de um estado relativo de baixa energia (HOMO) para outro estado de mais alta energia (LUMO). Estudos mostram, fundamentados em regras de seleção, que em sistemas moleculares, há transições do tipo permitidas e proibidas (SOLOMONS, 1990; SILVERSTEIN et al., 1994; PAVIA, et al., 2010). A primeira atribuída às transições $\pi \rightarrow \pi^*$, enquanto que a segunda, transições $n \rightarrow \pi^*$. Esses tipos de transições geralmente são observados em moléculas heterocíclicas, tais como presentes nas moléculas de piridina, quinolina, isoquinolina entre outras. (SILVERSTEIN et al., 1994; PAVIA, et al., 2010; MARTINHO, 1994; ASSIS, 2013).

De acordo com Drago (DRAGO, 1965), Figgs (FIGGS 1966) e estudos mais recentes (LIMA et al, 1996), os espectros eletrônicos das moléculas, permitem avaliar algumas propriedades espectrais e é possível calcular a força do oscilador, que tem como objetivo quantificar a intensidade de uma transição, ao se comparar a probabilidade de uma transição experimental em relação à probabilidade de uma transição teórica, a partir dos espectros de absorção das amostras em solução ou no estado sólido.

Segundo Pedrosa (2004), avaliar as propriedades espectroscópicas e os parâmetros óptico-eletrônicos de complexos contendo íons lantanídeos, tem sido largamente investigado na literatura devido às diversas possibilidades de aplicações, como por exemplo, em lasers, sensores luminescentes para espécies químicas, células fotoquímicas, entre outras. (PEDROSA et. al, 2004)

O objetivo deste trabalho foi analisar as bandas de absorção na região uv-visível de alguns ligantes N-óxido, dando continuidade a um trabalho anterior, (LIMA et al., 2016), no qual foram avaliados os parâmetros de reatividades moleculares, obtidas medidas de condutância molar, e correlacionados os parâmetros de reatividades com o comportamento condutimétrico destes ligantes. A partir dos espectros neste trabalho, foi quantificada a área sob a banda de absorção, a absortividade molar $\varepsilon_{máx}$, o coeficiente de absorção integrado $\int\varepsilon(\sigma)d\sigma$, e a força do oscilador f, pelo método da Gaussiana, também conhecido pelo método da meia-banda, usando a avaliação proposta por DRAGO e FIGGS (DRAGO, 1965; FIGGIS, 1966).

METODOLOGIA:

Foram preparadas soluções aquosas dos compostos: Quinolina-N-Óxido (C_9H_7NO – QUI-NO), Nicotinamida-N-Óxido ($C_6H_6N_2O_2$ - NIC-NO) e a 2,2-Dithiobispiridina-N-Óxido ($C_{10}H_8N_2O_2S_2$ - DITBIS-NO), de concentração $1x10^{-6}$ mol L^{-1}, e registrado seus espectros na região uv-visível em cubeta de quartzo de 1,00 cm de caminho óptico. A Figura 01 mostra a modelagem para as moléculas estudadas.

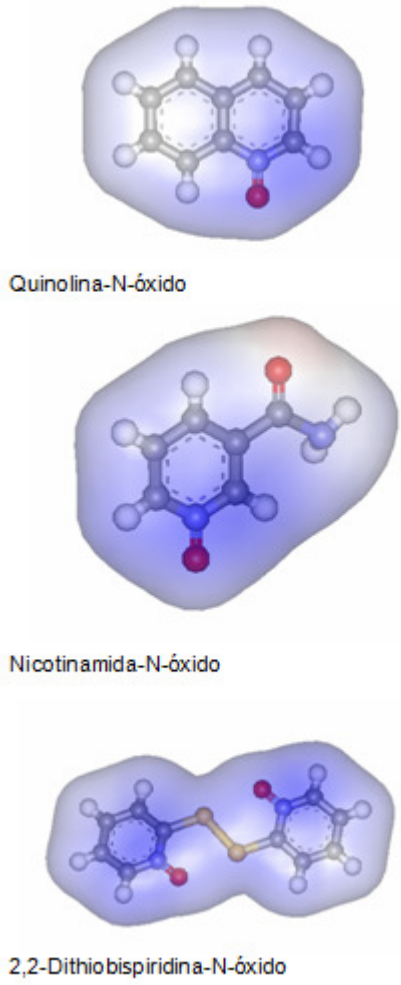


Figura 01 - Modelagem das moléculas estudadas. (LIMA *et. al*, 2016)

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Para a visualização do espectro, foi realizada uma varredura no intervalo de comprimento de onda de 190 a 800 nm, através de um equipamento UV-VIS Spectrophotometer SHIMADZU 1650PC, duplo-feixe, com precisão de absorbância de ± 0,004 e precisão de comprimento de onda de ± 0,3 nm, que permite varreduras de 190 – 800 nm. As transições relevantes ocorreram entre 200-400 nm. A temperatura registrada do experimento foi de 20 °C.

A partir do espectro, neste trabalho foi calculada a área sob a banda de absorção, a absortividade molar, o coeficiente de absorção integrado e a força do oscilador (LIMA *et al*., 1996; LIMA *et al*., 2014; ZHAO *et al*., 2016), pelo método da Gaussiana, também conhecido como método da meia-banda, segundo DRAGO e FIGGS (DRAGO, 1965; FIGGIS, 1966).

DRAGO: $f = 4{,}6\text{x}10^{-9} \int \varepsilon_{(\sigma)} d\sigma$ Eq. 01

FIGGS: $f = 4{,}32\text{x}10^{-9} \int \varepsilon_{(\sigma)} d\sigma$ Eq. 02

Nos métodos de Drago e Figgs há uma diferença na constante que precede a integral, que tem como propósito corrigir para mais e/ou para menos, a estimativa da área sob uma banda de absorção, que envolve uma transição eletrônica. A finalidade disto é corrigir a avaliação da área sob a curva de absorção pelo método da meia-banda $\int \varepsilon(\sigma) d\sigma \cong \varepsilon_{max}.\Delta\sigma_{1/2}$, também conhecido como método de aproximação pela gaussiana (DRAGO, 1965; FIGGIS, 1966). Estes valores envolvem constantes fundamentais que quantificam a transição “ab initio” de um elétron no átomo de hidrogênio entre os estados fundamental e primeiro estado excitado e visam quantificar uma transição teórica, como referência, para estimar a probabilidade de uma transição experimental, denominada de força do oscilador (ATKINS, 1983; ATKINS, 1991; LIMA *et al*., 1996; ZHAO *et al*., 2016). A integral $\int \varepsilon(\sigma) d\sigma$ se refere a área sob uma curva de absorção, que neste caso é obtida em termos da absortividade molar ε (L mol^{-1} cm^{-1}) versus $\sigma = 1/\lambda$ (cm^{-1}), e possui unidades de L mol^{-1} cm^{-2}.

RESULTADOS:

A Figura 02 mostra os espectros de absorção dos ligantes selecionados e a Tabela 01 mostra os parâmetros calculados neste trabalho

DISCUSSÕES

Segundo Pavia e co-autores (PAVIA, *et al*., 2010), e Santos (SANTOS, 2008), ambos atribuíram à compostos aromático, bandas primárias, denominada de transições permitidas, que são bandas mais expressivas que ocorrem em regiões de maiores energias, e bandas secundárias, denominada de transição proibidas em regiões de menores energias. Assim, as bandas primárias possuem um coeficiente de absortividade maior que os das bandas secundárias devido a sua faixa espectral, mas também devido as suas absorbâncias apresentarem maiores intensidades.

De acordo com os resultados obtidos, observaram-se bandas primárias e secundárias para as moléculas QUI-NO e NIC-NO. Já na molécula DITBIS-NO identificou-se apenas bandas primárias, porém há formação de dois ombros até 330 nm. Os espectros estão mostrados na Figuras 01. Para a Quinolina-N-óxido há duas bandas de absorção. A banda primária encontra-se na região entre 220,5 - 236,5 nm, sendo a transição 1 ($\pi \rightarrow \pi^*$), que possui um coeficiente de absortividade da ordem de 9,523x10^5. Na região entre 290 - 340,5 nm observa-se a transição 2 ($n \rightarrow \pi^*$), que possui um menor coeficiente de absortividade que a transição 1, sendo da ordem de 1,540x10^5, mostrado na Tabela 01. No espectro da molécula NIC-NO verificou-se também a presença de duas bandas, semelhante ao que ocorreu na molécula QNO-NO. A transição 1 está localizada na região entre 200 - 228,5 nm, sendo uma transição do tipo $\pi \rightarrow \pi$ do qual possui um coeficiente de absortividade de 5,724x10^5. Já a transição 2 ocorreu entre 239 - 273,5 nm, sendo esta considerada uma transição do tipo $n \rightarrow \pi^*$, tendo um coeficiente de absortividade de 2,812x10^5, mostrado na Tabela 01. Por último, o ligante DITBIS-NO ocorreu apenas uma banda com uma transição bem resolvida e dois ombros adjacentes. Nessa banda, observou-se o pico de sua ocorrência numa região de 217,5 – 249 nm da qual possui um coeficiente de absortividade da ordem de 10,562x10^5 (transição 1), conforme mostrado na Tabela 01. Assim, sendo, foi atribuída a uma transição composta que apresenta dois tipos, sendo $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados, conclui-se que os compostos estudados absorvem na região do ultravioleta, não apresentando absorções significativas na região do visível, sendo por isso incolores em solução aquosa. Para os ligantes QUI-NO e NIC-NO há dois tipos de bandas: primárias e secundárias, sendo transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$, respectivamente. Percebeu-se, também que as bandas primárias possuem coeficiente de absortividade e força do oscilador maior que as bandas secundárias, apesar de possuírem maiores energias de excitação. Esta observação, para estes compostos, é importante, pois implica que a probabilidade destas transições não necessariamente depende apenas da energia e sim principalmente do mecanismo de cada tipo de transição. Para a DITBIS-NO, há apenas a ocorrência de uma transição mais intensa, composta com dois ombros.

Observando o coeficiente de absortividade molar e a força do oscilador, nota-se que quanto maior este coeficiente, maior o valor para esse parâmetro. Dentre os ligantes que foram estudados, a DITBIS-NO foi a que revelou maiores resultados, indicando que possui relevante capacidade de absorção de fótons nesta região, podendo ser um sistema interessante para captação de radiação em sistemas fotoemissores, dependendo apenas dos mecanismos de transferência radiativa e não-radiativa com outros sistemas acoplados. Outros estudos estão em desenvolvimento para a avaliação do momento de dipolo de transição e estimativas do tempo de transição radiativa e não-radiativa, que possibilitem a avaliação de rendimentos quânticos em sistemas fotoindutores.

AGRADECIMENTOS

Os autores são muito gratos ao PIBIC/PIBIT/PROPESQ/UFRN/CNPq, pelo incentivo à pesquisa em iniciação científica e inovação tecnológica, especialmente direcionada à química fundamental.

REFERÊNCIAS

1 - ASSIS, O. B. G., 2013 - A Asa da Borboleta e a Nanotecnologia: Cor Estrutural - Rev. Bras. Ensino Fís. 35(2), 2301(1)-2301(9), São Paulo.

2 - ATKINS, P. W., 1983 - Molecular Quantum Mechanics - 2a Ed., Oxford University Press - Printed in Great Britain.

3 - ATKINS, P. W., 1991 - Quanta - 2a Ed. Oxford University Press, New York.

4 - DRAGO, R. S., - Physical Methods in Inorganic Chemistry, 1965 – Vau Nostrand Reinhold Company , printed Holland;

5 - FIGGIS, B. N., Introduction To Ligands Fields, 1966 – Interscience Publishers, New York, Copyright by John Wiley & Sons, Inc.;

6 - LIMA, F. J. S., BRITO, H. F., SILVA, A. G. SILVA, A. O. BRAGA, C. C. M, LIMA, A. J. P., CARDOSO, M. C. C., 1996 - O Uso da Força do Oscilador na Avaliação de Intensidades Espectrais - Anais da Associação Brasileira de Química, 45 (1), 31-35.

7 - LIMA, F. J. S.; COSTA, L. H. M.; SILVA, A. O., 2014 - Estudos Espectroquímicos do Íon UO_2^{2+} Coordenado no Acetato de Uranila $UO_2(H_3CCOO)_2.2H_2O$, , Periódico Tchê Química, Vol. 11, (22), 33-45.

8 – LIMA, F. J. S.; COSTA, L. H. M.; AZEVEDO, D. M., SILVA, A. O. e PEREIRA, F. C., 2016 - Parâmetros de Reatividade Molecular e a Correlação Com a Condutividade Molar da Quinolina-N-Óxido, Nicotinamida-N-Óxido e a 2,2-Dithiobispiridina-N-Óxido, Periódico Tchê Química, Vol. 13 (26), 88-96.

9 – MARTINHO, J. M. G., 1994 - Espectroscopia de Absorção no Ultravioleta e Visível, QUÍMICA, 52, 44.

10 – PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. e VYVYAN, J.R.; 2010 - Introdução à Espectroscopia; São Paulo: 4. Ed. Norte-americana.

11 – PEDROSA, A. M. G., PIMENTEL, P. M., BATISTA M. K. S., LIMA F. J. S. E MELO D. M. A., 2004 - Propriedades Espectroscópicas e Parâmetros Ópticos-Eletrônicos dos Complexos $Ln(NO_3)_3.2DTPO.4H_2O$ (Ln = Nd e Er), Química Nova, Vol. 27, N°. 3, 367-370.

12 - SANTOS A. F. S., 2008 - Determinação de Parâmetros Ópticos de Materiais por Análise de Kramers-Kronig de Espectros de Infravermelho, 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) -

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São Paulo - Ilha Solteira.
13 - SOLOMONS, T. W. G., 1990 - Fundamentals of Organic Chemistry - 3ª Ed. Jonh Wiley Sons, printed in the U.S.A.
14 – SILVERSTEIN, R. M., BASSLLER, G. C. AND MORRILL, T. C. 1994, Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos, – 5a. Ed. Guanabara Koogan S.A
15 - ZHAO, H., CHANG, J., DU, L., 2016 - Effect Of Hydrogen Bonding On The Spectroscopic Properties Of Molecular Complexes With Aromatic Rings As Acceptors, Comp. Theor. Chem., 1084, 126–132

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

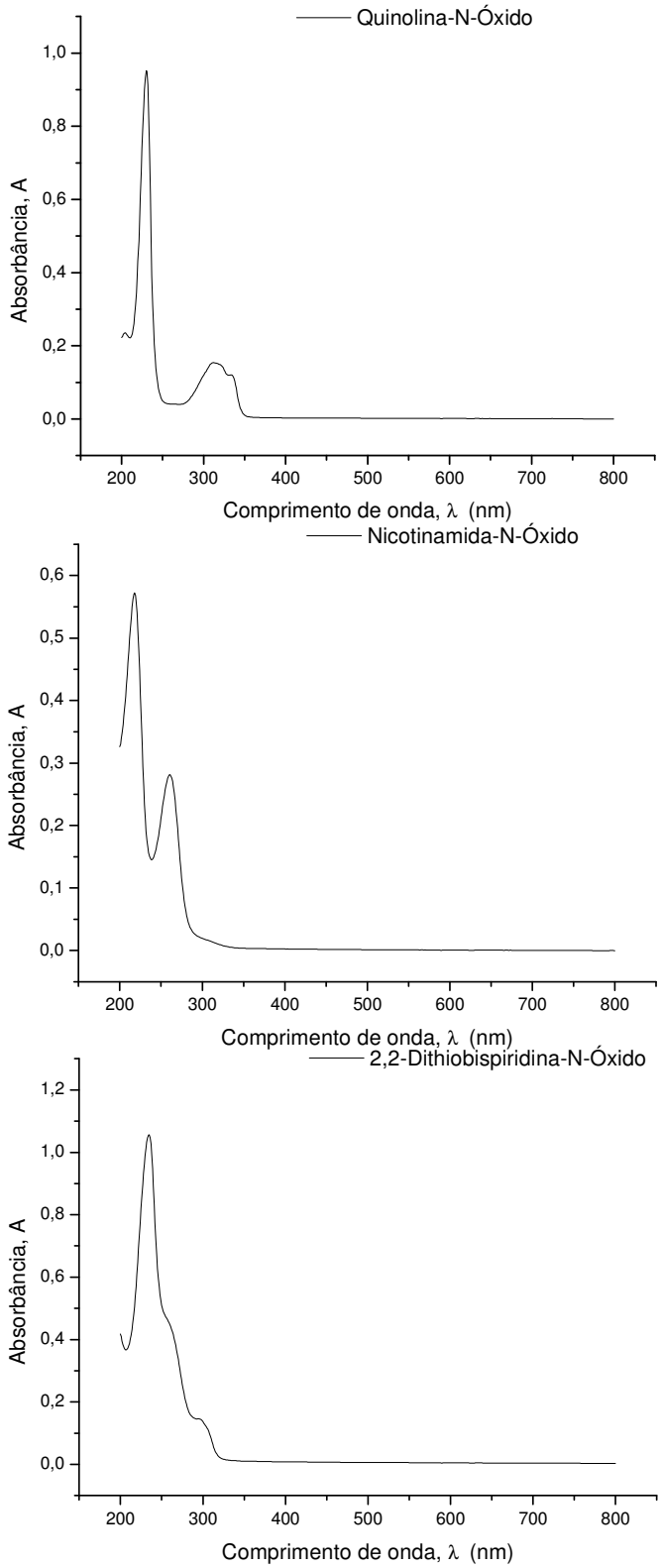


Figura 02 - *Varredura do espectro de absorção na região uv-visível completo dos ligantes N-óxidos. Quinolina-N-Óxido (QUI-NO); Nicotinamida-N-Óxido (NIC-NO) e a 2,2-Dithiobispiridina-N-Óxido (DITBIS-NO) em solução aquosa 1,00x10^{-6} mol L^{-1}.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 01 – Intervalo espectral, área pelo método da Gaussiana e Força do Oscilador pelo método de Drago e Figgs para as soluções aquosas dos ligantes de concentração $1x10^{-6}$ mol L^{-1}.

Ligante (*)	**Intervalo Espectral (nm)**	**Área Método da Gaussiana (cm^{-1})**	**Absortividade Molar $\varepsilon_{máx}$ ($x10^5$) (L mol cm^{-1})**	**Coeficiente de Absorção Integrado $\int\varepsilon(\sigma)d\sigma$ ($x10^9$) (L mol^{-1} cm^{-2})**	**Força do Oscilador f (adimensional)**	
					Drago	Figgs
QUI-NO						
Transição 1	220,5 - 236,5	2921,73	9,523	2,922	13,440	12,622
$\pi \rightarrow \pi^*$						
Transição 2	290 - 340,5	787,84	1,540	0,7878	3,624	3,404
$n \rightarrow \pi^*$						
Soma	-	3709,57	-	3,7098	17,064	16,026
NIC-NO						
Transição 1	200 - 228,5	3569,61	5,724	3,570	16,420	15,421
$\pi \rightarrow \pi^*$						
Transição 2	239 - 273,5	1484,42	2,812	1,484	6,828	6,413
$n \rightarrow \pi^*$						
Soma	-	5054,03	-	5,054	23,248	21,834
DITBIS-NO						
Transição 1						
$\pi \rightarrow \pi^*$	217,5 - 249	6142,96	10,562	6,143	28,258	26,538
Transição 2						
$n \rightarrow \pi^*$ (ombro)						
Transição composta						

(*) - Quinolina-N-Óxido (QUI-NO); Nicotinamida-N-Óxido (NIC-NO) e 2,2-Dithiobispiridina-N-Óxido (DITBIS-NO) em solução aquosa de concentração $1,00x10^{-6}$ mol L^{-1}.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

AVALIAÇÃO DO CONHECIMENTO PEDAGÓGICO DE PROFISSIONAIS PRIMÁRIOS PRÉ-MÉDIOS EM CIÊNCIA PRIMÁRIA: EFEITOS DA FORMAÇÃO DE EDUCAÇÃO CIENTÍFICA

ASSESSMENT OF PRE-SERVICE PRIMARY TEACHERS' PEDAGOGICAL KNOWLEDGE IN ELEMENTARY SCIENCE: EFFECTS FROM SCIENCE EDUCATION TRAINING

VERDUGO-PERONA, José Javier[1*]; SOLAZ-PORTOLÉS, Joan Josep[2]; SANJOSÉ, Vicente[3]

[1] Doctor por la Universitat de València (Spain).

[2,3] Universitat de València, Facultat de Magisteri, Departament de Didática de les Ciències Experimentals i Socials, Avinguda dels Tarongers 4, 46022 Valencia (Spain)

** Autor correspondente*
e-mail: Joan.Solaz@uv.es

Received 23 July 2017; received in revised form 15 November 2017; accepted 15 November 2017

RESUMO

O Conhecimento Didático em ciências (CD) pode ser entendido como um conjunto de técnicas de análise educacional e de instrução, e de estratégias de administração que os professores usam para ensinar. Foi utilizado um instrumento validado para a sua avaliação. Este instrumento é usado para a análise do conhecimento pedagógico do conteúdo e é denominado ReCo. Além disso, foram definidos indicadores precisos (rubricas) combinando critérios fornecidos por especialistas e análise de dados de um estudo exploratório com professores em formação inicial. O grupo de indicadores mostrou suficiência para dar conta da variabilidade das respostas dos participantes. Estes indicadores foram utilizados para analisar os efeitos no CD derivados de instrução em didática geral versus didática das ciências. Os resultados mostram uma contribuição importante da formação específica em didática das ciências em CD de professores de primário em formação inicial.

Palavras-chave: *Ensino das ciências; Formação de professores; Conhecimiento pedagógico em ciências; Avaliação; Indicadores.*

ABSTRACT

Pedagogical knowledge (PK) can be understood as the set of educational analysis and instructional technics; and also, management strategies that primary teachers use to teach. For its assessment, a previously validated instrument to assess Pedagogical Content Knowledge, called CoRe, was used and a set of specific indicators (rubrics) were defined combining experts' criteria and data analysis from an exploratory studio with preservice elementary teachers. Results showed the sufficiency of these rubrics to account for the variability of participants' answers. Those indicators were used to analyze effects on PK from the instruction in general versus specific didactic in science. Results show an important contribution from specific didactic in science on preservice elementary teachers' PK.

Keywords: *Science education; Teachers education; Pedagogical knowledge in science; Assessment; Rubrics*.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUCCIÓN

Shulman (1987) estableció una serie de categorías de conocimiento básico que todo maestro/profesor y maestra/profesora debe poseer. De entre estas categorías destacan tres dominios que se mantienen a la vanguardia como conocimientos esenciales para una enseñanza efectiva de las ciencias: el Conocimiento del Contenido, el Conocimiento Didáctico y el Conocimiento Didáctico del Contenido (CDC) (ZEIDLER, 2002).

La enseñanza de una disciplina curricular requiere comprender y dominar su contenido (Conocimiento del Contenido), pero también saber transponer esos contenidos en prácticas instruccionales efectivas que incluyan técnicas de análisis educativo y estrategias de gestión. Es aquí donde se incluiría el Conocimiento Didáctico (CD) general y específico de los contenidos escolares, como es el caso de la ciencia. Este último podría entenderse como la parte instrumental del CDC que incluye también la parte disciplinar. De hecho, el CDC ha sido definido de un modo genérico como el conocimiento necesario para promover un aprendizaje efectivo de los contenidos, que suele ser fruto del tiempo, la formación y la experiencia del profesor (BARNETT y HODSON, 2001). El CDC caracteriza el conocimiento profesional propio de profesores (LOUGHRAN *et al*., 2006; Nilsson, 2008), y lo diferencia de otros profesionales con estudios disciplinares similares (por ejemplo, una física-profesora de un físico-meteorólogo).

Se ha propuesto tomar el CDC como una guía para la formación inicial del profesorado, lo que favorecería la convergencia de metas formativas en Grados y Maestrías. La estructuración del currículo de formación inicial del profesorado tiene gran repercusión sobre las competencias adquiridas. Kleickmann *et al.* (2013) encontraron que la estructura del CDC adquirido por los futuros profesores reflejaba claramente la estructura de la formación universitaria proporcionada.

El objetivo básico de este trabajo es evaluar el conocimiento didáctico específico de ciencias escolares en futuros maestros de primaria. Sin embargo, realizar tal evaluación es una tarea difícil si no se atiende a algún contenido particular que permita enfocar la atención sobre aquello que se quiere analizar didácticamente y enseñar. En este caso serían temas de ciencia escolar, lo que nos acerca necesariamente al terreno de los estudios sobre Conocimiento Didáctico del Contenido (CDC), sobre el que se está trabajando profusamente a nivel internacional y del que podemos tomar planteamientos e instrumentos.

Se han diferenciado distintos componentes dentro del CDC (MAGNUSSON *et al*., 1999): orientaciones para la enseñanza, conocimiento del currículo, conocimiento de los estudiantes, conocimiento sobre evaluación, conocimiento sobre estrategias instruccionales. A partir de los componentes del CDC se han elaborado herramientas útiles para su evaluación. Algunos son cuestionarios de "lápiz y papel", de respuesta abierta (BRINES *et al*., 2016; KRAUSS *et al*., 2008; MANIZADE y MASON, 2011), o cerrada (JÜTTNER y NEUHAUS, 2013; JÜTTNER *et al*., 2013; MALCOLM y MAVHUNGA, 2015). Otros se basan en entrevistas y técnicas de observación usando indicadores de evaluación o "rúbricas" (PARK *et al*., 2008; GARDNER y GESS-NEWSOME, 2011) o formularios semi-estructurados (PARK y CHEN, 2012; HENZE *et al.,* 2008), o registrando información mediante grabaciones y análisis de materiales usados por el profesor (ALONZO *et al*., 2012; FAIKHAMTA y CLARKE, 2013). También se han combinado ambos tipos de técnicas (ABD-EL-KHALICK, 2006; KÄPYLÄ *et al*., 2009; MORRISON y LUTTENEGGER, 2015).

De entre todos los instrumentos destacamos la herramienta ReCo o "Representación del Contenido" (LOUGHRAN *et al*., 2008; HUME y BERRY, 2011), que adaptaremos para nuestros propósitos. Para ello definiremos indicadores precisos que permitan detallar el contenido de las ideas de futuros maestros de primaria sobre didáctica en temas de ciencia escolar.

A pesar de la gran variedad de instrumentos, hasta donde llega nuestro conocimiento en el contexto español no se han realizado estudios de evaluación del Conocimiento Didáctico en ciencias con maestros en formación inicial usando indicadores precisos determinados a partir del análisis de las ideas de los propios protagonistas.

OBJETIVOS

Los objetivos específicos de este trabajo fueron:

O1: Adaptar el instrumento ReCo, ya validado en

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

otros contextos, para evaluar el conocimiento básico en didáctica de las ciencias de futuros maestros. Definir indicadores ("rúbricas") para obtener una evaluación de los datos más precisa que la se obtiene a partir de las preguntas originales del instrumento, muy abiertas.

O2: Usar el instrumento adaptado para evaluar de forma exploratoria el conocimiento básico en didáctica de las ciencias de maestros de primaria en formación inicial.

O3: Valorar los efectos de una formación específica en didáctica de las ciencias experimentales sobre el conocimiento básico en didáctica de las ciencias en futuros maestros.

MÉTODO

3.1. Participantes

Participaron 112 alumnos/as de ambos sexos (22% de hombres) pertenecientes a 4 grupos intactos del Grado de Maestro de Primaria en una universidad pública situada en una gran ciudad española. Su edad típica fue de 21 años (promedio de 21,1 y límites entre 20 y 42 años). Todos los participantes habían cursado y aprobado las materias troncales de formación psico-socio-pedagógica básica, y didáctica de carácter general. Además, también habían aprobado dos materias troncales sobre ciencias en esa universidad en particular: a) una dedicada a la formación en conocimiento científico que se cursa antes de la formación en didáctica de las ciencias (9 ects); b) otra dedicada a didáctica de las ciencias experimentales (9 ects).

Se procuró que la muestra de participantes incluyera diferentes niveles de conocimiento, interés y motivación hacia las temáticas de ciencias (21% participantes tenía estudios previos al Grado especializados en ciencias experimentales).

Es importante tener en cuenta que el conocimiento básico en didáctica de las ciencias que puede ser expresado por estos/as participantes está aún desprovisto del importante componente de la maduración que proporciona la experiencia en el oficio.

3.2. Instrumento

Se seleccionó un instrumento procedente de la literatura especializada en Conocimiento Didáctico del Contenido, ya validado y utilizado en anteriores estudios: el ReCo (EAMES *et al.*, 2011). Este instrumento propone primero una situación o problema propio de ciencias y, a partir de ella, propone ocho grandes preguntas, todas ellas relacionadas con aspectos básicos de componentes del CDC, como por ejemplo: ¿Qué pretendes que los estudiantes aprendan sobre esta idea (la situación planteada)?; ¿Qué sabes sobre el pensamiento de los estudiantes que influye en la enseñanza de esta idea?

Para contestar esas grandes preguntas, el participante debe escribir libremente todo cuanto sepa, siempre respecto a la situación concreta propuesta al comienzo. En el presente estudio, se realizaron dos ajustes para adaptar el instrumento a los participantes:

a) Se clarificó la formulación de algunas preguntas con el uso de términos propios del oficio de maestro. Por ejemplo, la primera de las preguntas pasó a formularse así: ¿Qué objetivos concretos plantearías sobre esta situación para la educación de los/las niños/as?

b) Dos de las preguntas o aspectos del instrumento original, (3. ¿Qué otras cuestiones sobre la situación mencionada consideras relevantes?; y 6. ¿Podrían influir otros factores a lo largo del proceso de enseñanza/aprendizaje de esta cuestión?) se subsumieron en otras preguntas por considerarse reiterativas. En una prueba piloto anterior solo dieron lugar a dudas de los estudiantes, y a respuestas repetidas, genéricas o inespecíficas.

El resultado fue un instrumento con seis aspectos diferenciados en los que se articula el conocimiento didáctico del contenido (siempre a excepción del componente "experiencia profesional"):

1) ¿Qué objetivos concretos plantearías sobre esta situación para la educación de los/las niños/as?

2) ¿Por qué crees importante que los estudiantes aprendan lo que has expuesto anteriormente (relevancia del tema o situación)?

3) ¿Conoces las posibles dificultades de aprendizaje de los niños o sus ideas alternativas sobre esta situación concreta?

4) ¿Conoces las dificultades o limitaciones en la enseñanza de los aspectos mencionados antes?

5) ¿Qué metodología de enseñanza utilizarías para obtener un mayor aprendizaje de los estudiantes en el caso planteado? ¿Qué actividades concretas plantearías?

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

6) ¿Cómo evaluarías si los estudiantes han alcanzado realmente los objetivos planteados al principio?

3.3. Condiciones del estudio

El ReCo requiere determinar una situación o problema concreto al cual se refieren las preguntas del instrumento. Con el fin de explorar el efecto de la instrucción en didáctica de las ciencias en el Grado se consideraron varias situaciones en dos condiciones: una de Transferencia cercana (TC en adelante) y otra de Transferencia lejana (TL en adelante). La TC de conocimiento se produce entre un contexto de adquisición y otro de aplicación que son de muy similares características y que están estrechamente relacionados, mientras que la TL de conocimiento se da en aquellos casos en los que el contenido aprendido se aplica en contextos diferentes al de aprendizaje y con estímulos de distinta naturaleza (BARNARD, 2005).

Para el presente estudio se propusieron las siguientes situaciones:

1) Condición de transferencia cercana (TC). Las situaciones propuestas pertenecen a temas que se habían tratado en el Grado, tanto en la materia de formación en conocimiento científico, como en la materia sobre conocimiento en didáctica de las ciencias experimentales.

2) Condición de transferencia lejana (TL). Las situaciones propuestas se caracterizan por pertenecer a temas que, si bien se habían tratado en la materia de formación en conocimiento científico, no fueron trabajadas de forma explícita en la materia de didáctica de las ciencias experimentales.

Comparar los resultados de ambas condiciones permitirá valorar si la formación en didáctica de las ciencias es necesaria (en tanto los resultados en TL no se consideren adecuados), y suficiente (si los resultados en TC se consideran adecuados).

La Tabla 1 recoge ejemplos de situaciones-temas propuestos en ambas condiciones:

Tabla 1. *Ejemplos de situaciones propuestas en ambas condiciones del estudio*

Condición del estudio	Ejemplos de situaciones-temas propuestos
TC: Transferencia cercana.	-Fases de la Luna. -Flotación de cuerpos en agua u otros líquidos.
TL: Transferencia lejana.	-La Luna orbitando alrededor de la Tierra. -Un algodón empapado en alcohol, ardiendo con llama.

3.4. Procedimiento de recogida de datos

Primero se obtuvo permiso de los profesores/as de cada grupo intacto. Los datos se tomaron inmediatamente después de acabar la formación en didáctica de las ciencias obligatoria en el Grado. Los estudiantes fueron informados unos días antes y se solicitó su libre participación, que se situó entre un 90% y un 95% de los integrantes asignados oficialmente en cada grupo.

Los estudiantes fueron asignados al azar a una de las condiciones contempladas en este estudio exploratorio, TC (52 participantes) y TL (60 participantes). El investigador presente repartió un listado de temas a elegir (diferentes en las dos condiciones del estudio), y el instrumento en papel. Luego leyó en voz alta las instrucciones sobre la tarea a realizar y subrayó la necesidad de seleccionar libremente una de las temáticas ofrecidas (en cada condición). El tiempo para ejecutar la tarea se situó entre 45 y 55 minutos.

RESULTADOS

4.1. Descripción y análisis de los datos

4.1.1 Determinación de indicadores

En primer lugar, se pretendió reflejar una articulación del conocimiento didáctico en ciencias en aspectos fácilmente identificables por un experto (por ejemplo, formulación de objetivos con base conceptual, procedimental, y actitudinal, una relación coherente entre objetivos planteados, metodología y actividades a realizar,

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

y evaluación, atención a la diversidad, etc.) Los indicadores expertos iniciales, fueron completados, matizados y re-elaborados recursivamente a partir de la variabilidad en las respuestas de los participantes.

En el Apéndice 1 se muestra el conjunto resultante de indicadores para evaluar el CD dentro del instrumento ReCo. Se incluyen respuestas-ejemplo asociadas con cada indicador.

4.1.2. Satisfacción de los indicadores de calidad de CD

El Apéndice 1 ofrece los porcentajes de participantes cuyas respuestas se asociaron con cada uno de los indicadores de CD. No se reflejó la cantidad de ideas expuestas, sino si una idea al menos satisface cada indicador. Porcentajes nulos en los indicadores "Otras ideas" en cada aspecto, indican la suficiencia del conjunto para dar cuenta de las respuestas de los/las participantes en este estudio exploratorio (sin perjuicio de que los indicadores puedan y deban ser mejorados o redefinidos).

Entre los resultados podemos destacar:

Objetivos formulados.- Casi la totalidad de los sujetos participantes (96,4%) nombra objetivos conceptuales, pero pocos nombran objetivos procedimentales y actitudinales (20,5% y 2,7% respectivamente). La naturaleza de las ciencias o la evolución histórica de las ideas apenas se consideran. Globalmente, un 13,4% de futuros maestros explicitó algún error conceptual.

Relevancia o importancia educativa.- La utilidad en la vida diaria es el indicador con mayor presencia (69,6%), y luego la relación del tema o situación con otros contenidos (24,1%).

Dificultades de aprendizaje.- Las ideas previas erróneas de los niños están muy presentes (81,3%), seguidas de la dificultad para construir conceptos abstractos (34,8%) o superar un estado de actitud negativa o falta de motivación hacia la ciencia (18,8%). Las dificultades debidas a destrezas intelectuales poco desarrolladas están poco presentes (7,1%).

Dificultades de enseñanza.- Los obstáculos más nombrados son hacer entender conceptos abstractos (49,1%), superar ideas erróneas o el bajo conocimiento previo (47,3%), y falta de recursos necesarios (33,9%). También se tienen en cuenta la desmotivación o actitudes negativas de los niños/as (22,3%) y la falta de tiempo (15,2%). Las dificultades asociadas a falta de preparación o de competencias apropiadas del propio maestro (10,7%) son poco nombradas .

Metodología y Actividades.- Una amplia mayoría de participantes (86,6%) menciona algún enfoque general del modo de instrucción, como fomentar el aprendizaje significativo o la utilización de una metodología activa o basada en actividad experimental. Sin embargo, sólo el 26,8% aporta argumentos para sostener sus propuestas. Sólo el 17,0% de participantes explicita partir del conocimiento previo de los niños/as. Algo más de la mitad de todos los participantes (51,8%) propone actividades concretas relacionadas con el tema específico planteado. Una pequeña minoría (5,4%) menciona las necesidades de organización y gestión de los estudiantes en el aula (como trabajo cooperativo).

Evaluación.- Nada más el 13,4% de participantes relaciona la evaluación con los objetivos propuestos. Se mencionan indicadores para evaluar (33,9%) basados en la participación, el comportamiento, el interés o el progreso durante el curso. Frecuentemente estos indicadores no fueron mencionados en los objetivos planteados. Un gran número de encuestados (67,9%) nombró técnicas y materiales para evaluar (exámenes, trabajos prácticos, exposiciones públicas, experimentos, etc.), pero sólo una parte menor (22,3%) explicitó actividades para evaluar lo pretendido, o fue capaz de dar argumentos para sustentar sus propuestas (23,2%).

En suma, una gran mayoría de participantes fue capaz de aportar ideas relevantes en cada aspecto del instrumento (entre un 0% y un 3,6% expresó únicamente ideas vagas, sin aportación real).

4.1.3. Efectos de la instrucción específica en didáctica de las ciencias

La comparación de los resultados obtenidos en las dos condiciones del estudio propuestas (Transfer cercano, TC y Transfer lejano, TL) muestra diferencias en distintos indicadores. Las más notables son:

Formulación de objetivos.- Resultaron evidentes las diferencias en objetivos procedimentales propuestos (TC: 36,5%; TL: 6,7%) y en objetivos actitudinales (TC: 5,8%; TL: 0,0%) y

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

epistemológicos (TC: 1,9% TL: 0,0%) aunque con porcentajes bajos en ambas condiciones. Importante es que los errores conceptuales se dieran únicamente en la condición TL (25,0%; TC: 0%).

Relevancia o importancia educativa.- Más sujetos en la condición TC fueron capaces de establecer relaciones entre los temas tratados con otros contenidos curriculares (TC: 34,6%; TL: 15,0%).

Dificultades de aprendizaje.- La dificultad de superar una actitud o motivación negativa preocupó más en la condición TL (TC: 1,9%; TL: 33,3%).

Dificultades de enseñanza.- Un mayor porcentaje de participantes en la condición TL manifestaron dificultades relacionadas con cómo corregir las ideas erróneas de los niños (TC: 30,8%; TL: 61,7%), con la superación de una baja motivación (TC: 7,7%; TL: 35,0%) o con características negativas del contexto (TC: 5,8%; TL: 45,0%). Un mayor porcentaje de estudiantes en la condición TC señaló la falta de tiempo como obstáculo instruccional (TC: 23,1%; TL: 8,3%), tal vez conscientes de que ciertas tareas de aprendizaje requieren tiempo para su desarrollo (las experimentales).

Metodología y Actividades.- Las principales diferencias se manifestaron al comparar la presencia o ausencia de actividades específicas del tema en cuestión: (TC: 96,2%; TL: 13,3%). Los porcentajes se desequilibraron al contrario (TC: 1,9%; TL: 23,3%) al proponer tipos de tareas, pero sin concretarlas (observar, experimentar, discutir, *brainstorming*, etc.), y al sugerir genéricamente partir del conocimiento previo de los estudiantes (TC: 5,8% TL: 26,7%), pero sin especificar ninguna actividad sobre cómo hacerlo.

Evaluación.- No se apreciaron diferencias entre condiciones dignas de mención.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Respecto al primer objetivo, el conjunto resultante de "rúbricas" ha mostrado suficiencia para dar cuenta de las respuestas de nuestros participantes. No obstante, debemos recordar que el conjunto de indicadores no pretende proponer un modelo teórico particular sino ser útil y, por tanto, está sujeto a revisión y mejora por parte de toda la comunidad de investigadores/as en el área.

El segundo objetivo, usar los indicadores para evaluar el conocimiento básico en didáctica de las ciencias de futuros/as maestros/as, produjo algunos resultados estimulantes, como los bajísimos porcentajes de ideas vagas sin aportación real entre los participantes (ver Apéndice 1). Sin embargo, en muchas ocasiones las ideas aportadas muestran bajos niveles de profundidad y falta de concreción y adecuación al tema (poca especificidad).

Se revelaron carencias importantes en porcentajes significativos de participantes. Entre ellas:

a) Superficialidad de las propuestas, que se manifiesta en la declaración de "buenas intenciones", pocas veces acompañadas de profundidad didáctica. Con frecuencia, los alumnos utilizan "palabras clave" que luego no se materializan en propuestas concretas coherentes con lo declarado. Afirmaciones como "Usaría una metodología en la que el alumno tenga el papel activo del proceso de aprendizaje y el maestro sea únicamente su guía…para que el alumno llegue al conocimiento de forma autónoma… el aprendizaje sea más significativo y perdure" (participante #26A), se acompañaron pocas veces de actividades que las concretaran y ejemplificaran. Cuando ello sí sucedió, a menudo se trató de actividades más bien tradicionales propuestas bajo la suposición de que una simple ejecución autónoma por los niños significa, automáticamente, un "papel activo" del alumno o un "aprendizaje significativo". Por ejemplo: "observación de la luna durante el ciclo de 28 días y dibujar en un cuaderno en qué fase se encuentra cada día…"; "creación de una maqueta del sistema solar…" (el mismo participante #26A). También Ozden *et al.* (2013) encontraron que la mayoría del profesorado de primaria carece de conocimientos didácticos apropiados sobre las actividades y sobre los recursos más pertinentes para la enseñanza de un tema científico. Esto sugiere que la conexión entre conocimiento disciplinar y conocimiento didáctico (dentro del CDC pretendido) debe ser mejorada para que los futuros maestros conozcan el valor educativo de cada tema en particular y sean precisos a la hora de plantear actividades que los pongan de relieve. Ello requiere de un cierto nivel de dominio disciplinar en variados temas de ciencias que, probablemente, no es el alcanzado por la mayoría de este alumnado (pese a la asignatura cursada).

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

b) Poca comprensión del currículo de ciencias y de sus posibilidades educativas, puesta de manifiesto al tratar de sustentar con argumentos la relevancia educativa del tema o situación. Claro está que los (futuros) maestros han de asumir currículos que les son impuestos y tienen poco margen de discusión sobre ellos. Si esto se une a que su formación científica y didáctica queda muchas veces en niveles más bajos de lo deseable, el resultado podría esperarse. La relación entre un bajo conocimiento de ciencias y dificultades para concebir una buena enseñanza de las ciencias ha sido encontrada repetidamente (véase, por ejemplo, DAVIS y PETISH, 2005).

c) Escasa consideración de objetivos procedimentales, actitudinales o epistemológicos. Muchos participantes olvidaron que la construcción activa del conocimiento en ciencias implica algo más que dominio de los conceptos, lo cual los acerca a posturas tradicionales, en contra del aparente constructivismo que muchas veces ellos mismos declaran (HAMED *et al*., 2016). Los formadores de maestros deberían considerar la posibilidad de que ello se deba a las vivencias de estos participantes en las aulas de ciencias durante su vida estudiantil, incluyendo el Grado universitario. Este problema no sólo aparece en los futuros maestros de primaria: Ravanal y López-Cortés (2016) también encontraron que los futuros profesores de biología focalizaban el CDC en el conocimiento conceptual sobre todo.

d) Desvinculación entre objetivos, actividades de enseñanza, y evaluación. Musikul (2007) observó también limitaciones en las estrategias de enseñanza de las ciencias y sobre evaluación en profesores con un conocimiento poco profundo de la ciencia. La falta de conocimiento profundo de la ciencia podría estar dando impulso a una concepción "activista" de la profesión con baja coherencia, basada en "piezas a ejecutar" sin conexión argumentada, sin metas instruccionales claras y, por tanto, sin vías definidas para alcanzarlas.

En cuanto al tercer objetivo, se apreciaron diferencias entre los estudiantes a quienes se ofrecieron situaciones de ciencias cercanas a las previamente trabajadas en didáctica de las ciencias (condición de transferencia cercana, TC), y aquellos cuyas situaciones propuestas no tratadas antes en esta materia (condición de transferencia lejana, TL). Los participantes en la condición TC, aportaron más ideas focalizadas y adaptadas a la situación elegida que los de la condición TL, y concretaron actividades para el aprendizaje de la situación planteada con objetivos más variados y apropiados (mayor adecuación y especificidad).

Otro efecto positivo no esperado es que una cuarta parte de los estudiantes en la condición TL manifestaron errores conceptuales, pero éstos no aparecieron en la condición TC. Probablemente, el cambio de meta u objetivo desde "aprender para saber" a "aprender para enseñar" supone un esfuerzo metacognitivo que hace conscientes a los futuros maestros en condición TC de sus errores y obstáculos de comprensión, y les obliga a darles solución.

En resumen, en comparación con la formación en didáctica general, la formación en didáctica de las ciencias parece producir un aprendizaje específico que es necesario en los futuros maestros y maestras. Sin embargo, esa misma comparación hace ver que la formación específica impartida no es suficiente como para garantizar que los futuros maestros sabrán cómo afrontar situaciones nuevas de enseñanza-aprendizaje de las ciencias. La transferencia del conocimiento didáctico a temas no trabajados explícitamente es pobre en aspectos de gran importancia, como la formulación de objetivos de tipo variado (procedimentales, epistémicos), y el diseño de actividades que incidan directa y concretamente sobre los objetivos planteados. Si esta transferencia "lejana" no mejora, los maestros no estarán preparados para afrontar los muchos años de servicio que tienen por delante, en donde los cambios en el currículo de ciencias y tecnología son inevitables y necesarios.

La solución puede centrarse en eliminar obstáculos en ese proceso de transferencia y generalización durante el Grado universitario:

a) Mejorar el dominio del contenido de ciencias básicas, a través de claves como la elaboración, validación y estructuración conceptual de la ciencia, las relaciones causa-efecto de las leyes, la comprensión de fenómenos sin la mediación de la matemática, y sobre todo, con la realización de experimentos sencillos.

b) Proporcionar mejores recursos, tanto para el análisis didáctico (uso inteligente de mapas o redes conceptuales, conocimiento y detección de obstáculos de comprensión posibles, inferencias necesarias, activación de conocimiento previo, elaboración de

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

representaciones mentales demasiado abstractas, etc.), como para la acción didáctica, convirtiendo terminología vacía en "saber hacer" profesional (actividades centradas en objetivos concretos y variados, simples, adaptados al tema y evaluables). El análisis didáctico y la acción didáctica se han mostrado como los dos factores constitutivos del conocimiento didáctico en ciencias (VERDUGO-PERONA *et al.*, 2017).

c) Incidir en aspectos meta-didácticos y profesionalizadores durante la formación en el Grado universitario, como es el caso de un lenguaje del oficio unificado, en donde se habla de formulación de objetivos o de coherencia entre objetivos, actividades y evaluación (para exigirla, naturalmente), y, sobre todo, poner más a los futuros profesores en situación de producción (impartir clase) y menos en situación de asimilación pasiva (recibir clase).

Al parecer, el conocimiento didáctico requiere comprensión de los fundamentos instruccionales que, hoy por hoy, se ofrecen como una suma compleja de conocimiento científico y artesanal que, unido a la variedad de disciplinas que los futuros maestros han de dominar, hace extraordinariamente difícil adquirir una formación coherente y sólida. Quizás la formación de maestros deba realizar esfuerzos mayores en la concreción de actividades formativas que den forma, profundidad coherencia y realidad a las distintas orientaciones instruccionales "declaradas" en las aulas.

Debemos insistir en que todos los resultados obtenidos suponen simplemente una exploración con una muestra no representativa de estudiantes de magisterio en una universidad pública particular, y con un diseño de investigación que puede ser optimizado. Por tanto, estos resultados no son aún generalizables y requieren validación adicional.

REFERENCIAS

1. Abd-El-Khalick, F. *Eurasia Journal of Mathematics, Science and Technology Education*, **2006**, *2,* 1.
2. Alonzo, A. C., Kobarg M., Seidel T. *Journal of Research in Science Teaching*, **2012**, *49*, 1211.
3. Barnard, J. K. Tesis Doctoral, The Ohio State University, USA, **2005**.
4. Barnett, J., Hodson, D. *Science Education*, **2001**, *85*, 426.
5. Brines, M., Solaz-Portolés J.J, Sanjosé, V. *Enseñanza de las Ciencias*, **2016**, *34,* 107.
6. Davis, E. A., Petish, D. *Journal of Science Teacher Education*, **2005**, *16*, 263.
7. Eames, C., Williams, J., Hume, A., Lockley, J., Wellington, J. *Teaching and Learning Research Initiative (TLRI)*, **2011**. http://www.tlri.org.nz/sites/default/files/projects/9289_summaryreport.pdf, consultado en marzo 2017.
8. Faikhamta, C., Clarke, A. *Research in Science Education*, **2013**, *43*, 955.
9. Gardner, A.L., Gess-Newsome, J. Paper presented at the Annual Meeting of the National Association for Research in Science Teaching. Orlando, FL, **2011**, http://www.bscs.org/sites/default/files/_legacy/pdf/Community_Sessions_NARST2011_PCK%20Rubric%20Paper.pdf, consultado en marzo 2017.
10. Hamed, S., Rivero, A., Martín del Pozo, R. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias*, **2016**, *13*, 476. http://hdl.handle.net/10498/18301, consultado en abril 2017.
11. Henze, I., van Driel J. H., Verloop, N. *International Journal of Science Education*, **2008**, *30*, 1321.
12. Hume, A.; Berry, A. *Research in Science Education*, **2011**, *41*, 341.
13. Jüttner, M., Boone W., Park S., Neuhaus B. J. *Educational Assessment Evaluation and Accountability*, **2013**, *25*, 45.
14. Jüttner, M., Neuhaus, B. J. *Journal of Education and Training Studies*, **2013**, *1*, 113.http://redfame.com/journal/index.php/jets/article/view/126/132, consultado en abril 2017.
15. Käpylä M., Heikkinen J. P., Asunta T. *International Journal of Science Education*, **2009**, *31*, 1395.
16. Kleickmann, T., Richter, D., Kunter, M., Elsner, J., Besser, M., Krauss, S., Baumert, J. *Journal of Teacher Education*, **2013,** *64*, 90.
17. Krauss, S., Brunner, M., Kunter, M., Baumert, J., Blum, W., Neubrand, J., Jordan, A. *Journal of Educational Psychology*, **2008**, *100*, 716.
18. Loughran, J., Berry, A., Mulhall, P. *Understanding and Developing Science Teachers' Pedagogical Content Knowledge.* Rotterdam, the Netherlands: Sense Publishers, **2006**.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

19. Loughran, J., Mulhall, P., Berry, A. *International Journal of Science Education*, **2008**, *30*, 1301.
20. Malcolm S.A., Mavhunga E. 23rd Annual Conference of the Southern African Association for Research in Mathematics, Science and Technology Education. Maputo, Mozambique. **2015**, https://www.academia.edu/10099974/The_Development_and_Validation_of_an_Instrument_Measuring_Topic_Specific_PCK_in_Stoichiometry_Preliminary_Findings, consultado en abril 2017.
21. Manizade, A.G., Mason M.M. *Educational Studies in Mathematics*, **2011**, *76*, 183.
22. Magnusson, S., Krajcik, J., Borko, H. En *Examining Pedagogical Content Knowledge;* Gess-Newsome, J., Lederman, N.G. (Eds.) *Examining Pedagogical Content Knowledge.* Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic, **1999,** pp. 95-132.
23. Morrison, A. D., Luttenegger, K. C. *The Qualitative Report*, **2015**, *20*, 804. http://www.nova.edu/ssss/QR/QR20/6/morrison1.pdf, consultado en abril 2017.
24. Musikul, K.. Tesis Doctoral, University of Missouri–Columbia, USA, **2007**. https://mospace.umsystem.edu/xmlui/handle/10355/4667, consultado en enero 2017
25. Nilsson, P. *International Journal of Science Education*, **2008**, *30*, 1281.
26. Ozden, M., Usak, M., Ulker, R., Sorgo, A. *Journal of Environmental Protection and Ecology*, **2013**, *14*, 1432.
27. Park, S., Chen Y-C. *Journal of Research in Science Teaching*, **2012**, *49*, 922.
28. Park, S., Chen, Y-C., Jang, J. *International conference of the Association for Science Teacher Education*, St. Louis, MI. **2008**.
29. Ravanal, E., López-Cortés, F. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias*, **2016**, *13*, 725. http://hdl.handle.net/10498/18508, consultado en abril 2017.
30. Shulman, L. S. *Harvard Educational Review*, **1987**, *57*, 1.
31. Verdugo-Perona, J.J., Olmos, R., Solaz-Portolés, J.J., Sanjosé, V. *Interciencia*, **2017**, *42*, 446.
32. Zeidler, D.L. *Journal of Science Teacher Education*, **2002**, *13*, 27.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Apéndice 1. Indicadores específicos para evaluar el Conocimiento Didáctico en ciencias, porcentaje de participantes que los satisfacen y ejemplos de respuestas dadas en cada indicador.

	Indicadores	%	Ejemplos de respuesta
Formulación de objetivos	Se explicitan objetivos conceptuales en relación con la situación seleccionada	96,4	"(Aprender) la necesidad de oxígeno en cualquier combustión" #3A
	Se explicitan objetivos procedimentales en relación con la situación seleccionada	20,5	"Observar que un globo no se puede hinchar dentro de una botella llena de aire" #18B
	Se explicitan objetivos actitudinales o valores.	2,7	"Adoptar una postura crítica frente a las situaciones que se nos puedan presentar en relación con los materiales conductores y no conductores" #61B
	Se menciona la naturaleza de la ciencia o historia de la ciencia	0,9	"Aprender que la ciencia está presente en todos los ámbitos del día a día" #26B
	Generales e imprecisos	1,8	"Experimentar con diferentes objetos" #8B
	Los sujetos muestran errores conceptuales	13,4	"Que durante la combustión el alcohol etílico se ha evaporado" #10A
	*Ideas no contempladas**	0	
Importancia educativa	Relación con utilidad en la vida diaria.	69,6	"Creo que es algo que les resultaría útil en el ámbito cotidiano" #85A
	Importancia en la formación personal.	33,0	"Considero que es un mínimo para ser alfabeto científicamente" #172A
	Relación, prelación y secuencia entre estos y otros contenidos.	24,1	"Estos conceptos pueden ayudar a los niños a entender otros conceptos en un futuro, que probablemente sin entender por qué unos objetos flotan y otros se hunden no podrían entender" #1B
	*Ideas no contempladas**	0	
Dificultades de aprendizaje	Conocimiento previo insuficiente o erróneo.	10,7	"Entender el concepto en sí (…) implica tener gran cantidad de conocimientos previos que deben de estar bien asentados. Y eso en muchas ocasiones no ocurre así." #49A
	Incapacidad para explicitar, abandonar ideas erróneas o superar percepciones sensoriales.	81,3	"Las ideas previas suelen ser para ellos (los estudiantes) algo correcto y es difícil aceptar nuevos conocimientos dejando a un lado los adoptados anteriormente" #141A
	Nivel de abstracción de determinados conceptos.	34,8	"La principal dificultad para ellos es que no pueden ver lo que se les enseña" #14B
	Incapacidad para desarrollar habilidades procedimentales.	0	
	Superar actitud/motivación negativa hacia la ciencia.	18,8	"Un exceso de motivación, igual que una falta, puede ser una dificultad ya que genera unas expectativas muy altas y una gran

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

			desilusión o apatía ante los resultados” #96A
	Dificultades para comprender la progresión histórica.	0	
	Diversidad en el alumnado / Bajo desarrollo de capacidades cognitivas	7,1	“Debe haber una atención a la diversidad para poner dicho aprendizaje a la altura de todos los alumnos individualmente” #141A
	Aceptar/entender explicación de la ciencia actual.	0	
	*Ideas no contempladas**	0	
Dificultades de enseñanza	Hacer entender conceptos abstractos o dificultosos.	49,1	Las dificultades de enseñanza están bastante relacionadas con las de aprendizaje, ya que vuelven a pasar por la necesidad de explicar los fenómenos científicos de una forma abstracta” #15B
	Superar bajo conocimiento previo y/o *misconceptions*.	47,3	“Las dificultades que podría destacar (…) que el profesor no conozca las ideas previas de los alumnos sobre el tema y no tenga claro por dónde empezar para no confundir a los alumnos” #32A
	Realizar experimentos o actividades procedimentales apropiadas.	0,9	“La dificultad que puede encontrar un maestro (…)…si los maestros realizaran actividades prácticas donde los alumnos participen…aprenderán de una manera casi definitiva” #22B
	Captar la atención y mantenerla; despertar interés, actitud del maestro.	22,3	“(Otro problema es) que el experimento no sea atractivo para ellos y no capte su atención…” #27A
	Usar bien la historia de la ciencia.	0	
	Comunicación y uso de vocabulario difícil.	0	
	Falta de recursos, lugares y materiales de laboratorio.	33,9	“Las limitaciones más frecuentes vienen dadas por los recursos… bastante escasos… viéndonos obligados a comprarlos por nuestra parte” #14B
	Falta de tiempo para desarrollar los contenidos.	15,2	“También puede influir (en la dificultad de enseñar) el tiempo que se pueda dedicar (al tema)” #26A
	Falta de preparación o de cualidades del propio maestro.	10,7	“En mi opinión los alumnos no deben pagar su mal carácter o su mala organización” #28A
	Dificultades contextuales: inmobiliario, peligrosidad con niños, etc…	26,8	“No siempre los colegios disponen de laboratorios o aulas habilitadas y materiales para realizar este tipo de demostraciones de forma segura…” #53A
	Sólo ideas vagas, sin aportación real	0	

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

	*Ideas no contempladas**	0	
Metodología de enseñanza	Este tema no lo enseñaría porque es inadecuado.	0	
	Enfoque general de instrucción (activa, constructivista, etc.).	86,6	“Una metodología crítica y reflexiva que permita a los niños cuestionarse su conocimiento…” #16B
	Argumentos a favor/ en contra de ciertas metodologías.	26,8	“…Realización de actividades en primera persona. Estos temas tan densos y difíciles, si los enseñamos solo dando teoría y los alumnos no descubren el porqué de la flotación, son temas difíciles de entender” #95B
	Organización: roles de maestro y de estudiantes, ambiente, etc.	5,4	“Trabajar en grupo podría motivarles (en este tema (Tierra-Luna)” #8A
	Partir del conocimiento previo del alumno	17,0	“(Que los alumnos) construyan su conocimiento desde sus conocimientos previos…” #72A
	Tipología de tareas (observar, experimentar, discutir, *brainstorming*, etc…).	13,4	“Aplicar el método científico: planteamiento de hipótesis-experimentación – verificación” #79A
	Actividades concretas asociadas con objetivos planteados para este tema	51,8	“Utilizaría dos bolas de corcho (Tierra y Luna) y un foco encendido (Sol)… Explicaría el movimiento lunar y pediría a los alumnos que lo pusieran en práctica” #15B
	Sólo ideas vagas sin aportación real.	3,6	“Favorecer al alumnado de material tangible para ellos que les haga comprender en su totalidad el tema abarcado (*sic*)”. #112A
	*Ideas no contempladas**	0	
Evaluación	La evaluación se relaciona con los objetivos planteados al inicio y/o con la metodología.	13,4	“No tendría sentido que, habiendo seguido una metodología de enseñanza práctica o experimental, evaluara a mis alumnos con un examen oral o escrito” #90B
	Orientación general de la evaluación.	25,9	“(Realizaría) una evaluación continua donde contaría el trabajo y el interés por mejorar del alumno”. #61A
	Formas de evaluar, técnicas e instrumentos.	67,9	“Pasar un test antes de explicar (…) y repetirlo al final para saber lo que han aprendido” #156A
	Justificación y argumentos sobre evaluación.	23,2	“(Haría preguntas mientras ellos realizan experimentos). Lo haría así porque de esta forma los niños estarían centrados en la tarea y no despistados… y no tienen presión…” #97B
	Indicadores o aspectos concretos a evaluar: las ideas previas, etc.	33,9	“Llevaría un control diario del interés, capacidad de abstracción y generalización y participación en los debates (de cada niño)”. #16B

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

	Actividades de evaluación concretas.	22,3	“Les daría unos papeles que representaran las cargas positivas y negativas, y (pediría) que supieran describir su movimiento” #88B
	Rechazan realizar examen.	10,7	“Creo que toda evaluación que no conste de un examen escrito es constructiva…” #26B
	Sólo ideas vagas sin aportación real.	0,9	“Mediante una actividad donde demuestren lo aprendido. Igualmente necesitaría conocer al grupo (..) para poder realizar una evaluación que respondiera a sus necesidades” #1A
	*Ideas no contempladas**	0	

(*) En el conjunto de aportaciones de los participantes no aparecieron ideas que no estuvieran contenidas ya en los indicadores de cada apartado.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

ATIVIDADE LARVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL *SYZYGIUM AROMATICUM* (CRAVO-DA-ÍNDIA) FRENTE AO MOSQUITO *AEDES AEGYPTI* (LINNAEUS,1762)

ACTIVITY LARVICIDE OF THE ESSENTIAL OIL SYZYGIUM AROMATICUM (CARNIVAL-OF- INDIA) IN FRONT OF THE MOSQUITO *AEDES AEGYPTI* (LINNAEUS, 1762)

GOMES, Paulo Roberto Barros[1*]; De OLIVEIRA, Rayone Wesley Santos[2]; MOUCHREK FILHO, Victor Elias[3]; Do NASCIMENTO, Alexandre Albuquerque[4]; EVERTON, Adriana Pereira[5]; LOUZEIRO, Hilton Costa[6]; REIS, Jonas Batista[7]; FONTENELE, Maria Alves[8]

[1,2,3,4,5,7] Universidade Federal do Maranhão, Laboratório de Pesquisa em Óleos Essenciais, Departamento de Tecnologia Química, Av dos Portugueses, 1966, Bacanga, cep 65080-805, São Luís – MA, Brasil

[6] Universidade Federal do Maranhão, Coordenação de Licenciatura em Ciências Naturais, Pinheiro – MA, Brasil

[8] Universidade Federal do Maranhão, Coordenação de Engenharia de Alimentos, Imperatriz – MA, Brasil

** Autor correspondente*
e-mail: prbgomes@yahoo.com.br

Received 07 August 2017; received in revised form 13 November 2017; accepted 15 November 2017

RESUMO

A dengue, o zika vírus e a chicungunya são doenças transmitida pela picada da fêmea do mosquito *Aedes aegypti* Linn. Por causa disso, essas doenças acarretam um problema de saúde pública, especialmente nos países tropicais. Até o momento presente, não há vacinas específicas que atue contra os diferentes sorotipos da doença. Dessa forma, as medidas adotadas para combatê-la restringem-se no controle do mosquito. Isso é realizado empregando-se larvicida químicos e inseticidas, cujo principal componente são os organofosforado, como Temephos e piretroides. No entanto, o uso frequente desses produtos trouxe ao longo dos anos algumas desvantagens que são: resistência dos mosquitos, contaminação das águas e o ataque a seres vivos não-alvos. Portanto, este trabalho avaliou o potencial larvicida dos botões florais da espécie *Syzygium aromaticum* contra larvas em terceiro estágio do mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762). Para isso, extraiu-se quantitavamente o óleo essencial por hidrodestilação. Determinaram-se as propriedades físico-químicas do óleo essencial (densidade, índice de refração, solubilidade, cor e aparência). Além disso, caracterizou-se quimicamente o óleo, quantificando seus componentes e identificando seu componente majoritário por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Calculou-se a CL_{50} do óleo, além do limite de confiança a 95% de probabilidade, a partir dos métodos de Reed-Muench (1938) e Pizzi (1950), respectivamente. O rendimento do óleo foi de 3,54% m/m e 3,63% v/m. Pelo método utilizado foi possível identificar e quantificar os componentes: eugenol (52,53 %), cariofileno (37,25 %), humuleno (4,11 %), acetato de eugenila (4,05 %) e copaeno (2,05 %), sendo o eugenol o componente majoritário do óleo. O óleo exibiu atividade larvicida sendo totalmente letal a uma concentração de 120 µg/mL.

Palavras-chave: *Syzygium aromaticum, Eugenol, Atividade larvicida, Aedes aegypti*

ABSTRACT

Dengue, zika virus and chicungunya are diseases transmitted by the bite of the female mosquito Aedes aegypti Linn. Because of this, these diseases pose a public health problem, especially in tropical countries. To date, there are no specific vaccines that act against the different serotypes of the disease. In this way, the measures adopted to combat it are restricted in the control of the mosquito. This is done using larvicide chemicals and insecticides, whose main component are organophosphorus, such as Temephos and pyrethroids. However, frequent use of these products has brought over the years some disadvantages: mosquito resistance, water contamination and attack on non-target living beings. Therefore, this work evaluated the larvicidal potential of the flower buds of the Syzygium aromaticum species against larvae in the third stage of the Aedes aegypti mosquito (Linnaeus, 1762). For this, the essential oil was quantitated by hydrodistillation.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

The physicochemical properties of the essential oil (density, refractive index, solubility, color and appearance) were determined. In addition, the oil was characterized chemically, quantifying its components and identifying its major component by gas chromatography coupled to mass spectrometry. The oil LC50 was calculated, in addition to the confidence limit at 95% probability, from the methods of Reed-Muench (1938) and Pizzi (1950), respectively. The yield of oil was 3.54% m / m and 3.63% v / m. Using the method used, it was possible to identify and quantify eugenol (52.53%), caryophyllene (37.25%), humulene (4.11%), eugenyl acetate (4.05%) and copaene %), With eugenol being the major component of the oil. The oil exhibited larvicidal activity being totally lethal at a concentration of 120 µg / mL.

Keywords: *Syzygium aromaticum, Eugenol, Activity larvicidal, Aedes aegypti*

INTRODUÇÃO

Atualmente, a arbovirose que ameaça a saúde pública, especialmente dos países tropicais, é a dengue. Esta doença é transmitida pela picada da fêmea do mosquito *Aedes aegypti* Linn (Sharp *et al*., 2014). Além disso, esse mesmo mosquito é vetor de outras, tais como o zika vírus e a chicungunya. (Ministério da Saúde, 2016).

Até o momento presente, não há vacinas específicas que atue contra os diferentes sorotipos da doença. Dessa forma, as medidas adotadas para combatê-la restringe-se no controle do mosquito (Bisset *et al*., 2011; Coelho 2012). Isso é realizado empregando-se larvicida químicos e inseticidas, cujo principal componente são os organofosforado, como Temephos e piretroides. No entanto, o uso frequente desses produtos trouxe ao longo dos anos algumas desvantagens que são: resistência dos mosquitos, contaminação das águas e o ataque a seres vivos não-alvos (Pocquet *et al*., 2014; Muhammetoglu *et al*., 2010).

Segundo Melo-Santos e colaboradores (2010) a resistência da população de mosquitos está relacionada com as atividades de enzimas presentes nas rotas bioquímicas. Nesse estudo, esses autores constataram que o principal caminho para desintoxicação do Temephos é realizado por esterases.

Dessa maneira, é necessário utilizar outras formas que sejam mais eficientes, baixo custo e que provoque menor impacto ambiental. Dentro desta proposição, destacam-se os inseticidas à base de óleos essenciais. Na literatura, observa-se que há uma diversidade de plantas que possuem atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti* (Cavalcanti *et al*., 2004; Costa *et al*., 2005; Barbosa *et al*., 2012; Murugan *et al*.; 2012, Warikoo *et al*., 2012; Fayemiwo *et al*., 2014; Araújo *et al.,*2016). Levando-se isso em consideração, este trabalho avalia a atividade larvicida dos botões florais do *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia).

PARTE EXPERIMENTAL

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Físico-Química do Pavilhão Tecnológico, Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada (NIBA) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Central Analítica da Universidade de Campinas, Central Analítica da UFMA, Núcleo de Combustível, Catálise e Ambiental (NCCA).

Realizou-se o teste de atividade larvicida calculando-se a CL_{50} segundo o método Reed-Muench (Colegate & Molyneux, 1993).

Obtenção do óleo essencial

Os botões florais do cravo-da-índia foram obtidos em mercados da rede varejista de São Luís. Em seguida, o material selecionado foi condicionado em sacos plásticos devidamente lacrados e guardados em local seco e arejado. Após isso, os botões secos foram triturados no moinho elétrico de facas (TECNAL, modelo TE-340) e o material armazenado em frasco de polietileno para posterior extração do óleo essencial.

Para a extração do óleo essencial, utilizou-se um extrator de Clevenger de vidro acoplado a um balão de fundo redondo de 6000 mL acondicionado em manta elétrica como fonte geradora de calor. A cada rotina de extração do óleo essencial, foram pesados e triturados 68,79g dos botões florais, adicionando-se 200 mL de água destilada. Em seguida a mistura foi colocada em um balão de fundo redondo acoplado ao sistema extrator. A hidrodestilação foi conduzida a 100ºC por 5 horas, recolhendo-se o óleo essencial extraído. O óleo foi seco por meio de percolação em sulfato de sódio anidro

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

(Na_2SO_4). Essas operações foram realizadas em triplicatas e as amostras armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração de 4ºC para evitar possíveis perdas de constituintes voláteis. Posteriormente esses óleos foram submetidos às análises.

O rendimento do óleo essencial foi expresso em porcentagem na relação massa/volume pela medida de densidade. Para realização dessa medida, foi utilizado um picnômetro de 1,0 mL, previamente seco, tarado e aferido, onde se adicionaram as amostras a 25ºC, pesando-as em seguida. Após essa etapa, observou-se o volume (mL) de óleo essencial obtido após a extração do óleo por massa (g) de material vegetal, conforme a fórmula descrito pela quarta edição da Farmacopeia Brasileira (1996) e por Fabrowski (2002).

Obtenção e Cultivo das Larvas

Como os ovos do *Aedes aegypti* não são postos diretamente na água, mas sim milímetros acima de sua superfície, principalmente em recipientes artificiais, foi preparada uma armadilha simples para coleta desses ovos. Para tanto, foram utilizados jarros de plástico para planta, de aproximadamente 500 mL, semipreenchidos com água e um pedaço de madeira de dimensões de aproximadamente 20cmx5cm com uma parte imersa e outra não. A fêmea do *Aedes aegypti* deposita seus ovos na parte imediatamente superior à lâmina d'água, na parte da madeira ainda úmida, mas fora da água do jarro.

Os ovos do *Aedes aegypti* foram imersos numa bacia plástica, de formato retangular, com cerca de 3 litros de água mineral para a eclosão. Após a imersão dos ovos, 0,5g de ração de rato foi adicionado à água para auxiliar no crescimento das larvas. Todo o material foi mantido no interior de uma gaiola de madeira e coberta com uma tela de tecido, apropriada para insetos, a fim de evitar a contaminação por ovos de outras espécies de mosquito. Após a eclosão, as larvas foram acompanhadas até que atingissem o terceiro estágio do desenvolvimento, quando então foram utilizadas nos ensaios de atividade larvicida. Foram necessários de quatro a cinco dias para que as larvas atingissem o tamanho ideal para os ensaios.

As larvas foram identificadas como *Aedes aegypti* por técnicos do Laboratório do Núcleo de Patologia Tropical e Medicina Social do Departamento de Patologia da Universidade Federal do Maranhão.

Análises Químicas

Para a determinação química do óleo, foi utilizada a análise por meio da cromatografia gasosa contendo uma coluna capilar HP-5MS, 5% difenil, 95% dimetil polisiloxano (30 m x 0,25 mm; 0,25 µm de espessura de filme) com fase estacionária. O cromatógrafo do modelo QP-500 fabricado pela Shimadzu tendo hélio como gás de arraste, com fluxo na coluna de 1 $mL.min^{-1.}$

Para as análises, foram injetadas alíquotas de 0,3 µL da amostra diluída (1,0 mg do óleo em 1000 µL de diclorometano com pureza de 99,9 %), fixando-se as seguintes condições: temperatura do injetor em 280ºC; split de 1:10; programação de temperatura do forno de 40ºC (5,0 min.) a 240ºC (com taxa de aquecimento de 4ºC/min.) e de 240 a 300ºC (com taxa de aquecimento de 8ºC/ min., 7,5 min).

No Espectrômetro de Massas do tipo quadrupolo linear o modo de varredura foi de 0,5 seg/scan, a faixa de varredura variou de 40 a 500 Daltons cada uma, a linha de transferência foi de 280ºC e o filamento desligado em 0,0 a 4,0 min.

Determinação pelo método de normalização

A determinação da concentração do eugenol e dos demais componentes do óleo essencial por esse método foi obtida através da integração eletrônica das áreas dos picos cromatográficos, utilizando o programa AMDIS (*Automated Mass Spectral Deconvolution Mass & Identification System*): Programa utilizado para a interpretação dos espectros de massas quando havia diferenças significativas entre o espectro de massas obtido e o encontrado na biblioteca do CG/EM.

Teste de Toxicidade

Para a realização do teste de toxicidade, as larvas selecionadas no terceiro estágio foram transferidas para um béquer contendo 20 mL de água mineral com temperatura de 26 a 28ºC. Dez larvas foram capturadas utilizando-se pipeta Pasteur. Cada teste foi feito em triplicata para cada concentração testada. Os controles positivos foram realizados com o organofosforado temephos em larvas do *Aedes aegypti*, na concentração utilizada pela Vigilância Sanitária que é de 100 mg/L. Os controles negativos foram realizados com 20 mL de água

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

mineral (26-28ºC) contendo 0,04% de Tween 80 (tensoativo hidrofólico que facilita a aplicação em emulsões do tipo óleo em água). As larvas foram expostas às soluções por 24 horas, sendo monitoradas de hora em hora. Ao fim dos períodos registrou-se a mortalidade.

Para o preparo da solução teste, pesou-se 20 mg do óleo essencial em um recipiente (do tipo eppendorf), para cada mililitro da solução teste e, em seguida, foi adicionada uma gota de solvente do tipo Tween 80 sobre o óleo, fazendo-se então a homogeneização. A seguir, utilizando-se uma pipeta automática, foi adicionado um mililitro de água destilada fazendo-se nova homogeneização.

Esta solução foi então transferida para o béquer contendo as larvas separadas para o teste, de acordo com as concentrações pré-estabelecidas.

Análise Estatística

Após os testes, montou-se uma tabela com os valores das seis concentrações, logaritmo das mesmas, o número de larvas mortas após 24 horas (média dos cinco pontos), número de larvas vivas após 24 horas (média dos cinco pontos), o acumulado de mortos (soma das células de mortos abaixo) e o acumulado de vivos (soma das células de vivos acima).

A análise estatística dos dados foi realizada de acordo com o método de Reed & Muench (1938), o qual parte do princípio de que um animal que sobreviva a certa dose, também irá sobreviver em qualquer outra dose menor que aquela, consequentemente, o animal que morrer com certa dose, também irá morrer em doses maiores que aquela. A partir de uma tabela contendo os dados de mortalidade para cada concentração testada, é construído um gráfico onde se observa uma curva para o acúmulo de animais mortos em cada concentração e outra curva para o acúmulo de sobreviventes. O ponto de intercessão entre as curvas é a Concentração Letal 50% (CL_{50}), pois nesse ponto o número de animais sobreviventes é igual ao número de animais mortos (Colegate & Molyneux, 1993).

O intervalo de confiança foi calculado segundo o método de Pizzi (1950) no qual se constrói um gráfico do percentual de mortos *versus* logaritmo (log) da dose. A seguir determina-se o valor de "R", que é a diferença entre o log da dose que mata 75% das larvas e o log da dose que mata 25% das larvas. Calcula-se também a variável "h" que consiste na média das diferenças dos valores de log das doses. Com esses dados determina-se o log do erro padrão (SE), através da seguinte fórmula: $(SE)^2 = 0,79 \times h \times R/20$. Finalmente, o valor do intervalo de confiança é igual 2×10^{SE}.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação do rendimento dos óleos essenciais

A determinação das condições de extração de óleos voláteis é uma etapa muito importante por ser um fator determinante na relação entre a composição química e a qualidade do óleo extraído (Gomes *et al.,* 2016). Segundo Mouchrek Filho (2000), o tempo de extração do óleo essencial é um dos principais parâmetros físico-químicos da indústria de essências, no que se refere à qualidade e à natureza econômica. Por isso, há dois tipos de destilação: a rápida que conduz a um produto com constituintes mais voláteis, porém destituído das melhores características, e a lenta que conduz a uma extração que encarece o produto e também pode sobrecarregá-lo de compostos de aromas indesejáveis (Chaar, 2000).

O trabalho de extração do óleo essencial estudado foi realizado em 5 horas, para a massa de 68,79 g/amostra a 100ºC.

Os parâmetros físico-químicos do óleo essencial dos botões florais do *Syzygium aromaticum* estão expostos na Tabela 1.

Tabela 1. *Propriedades físicas do óleo essencial extraído dos botões florais do Syzygium aromaticum*

Propriedades Físico-químicas	Óleo essencial
Densidade(g/mL)	0,973
Solubilidade em álcool 90%	1:2
Índice de refração (N_D 25º)	1,526
Rendimento (m/m%)	3,54
Rendimento (v/m%)	3,63
Cor	Transparente
Aparência	Límpido

O óleo essencial apresentou valor de densidade de 0,973 g/mL, a maioria dos óleos essenciais apresentam valores de densidade menores do que 1, sendo normalmente a fase superior quando em contato com água. Quanto à solubilidade, o óleo mostrou-se solúvel em uma

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

solução de etanol a 90% na proporção de 1 parte de óleo para 2 de solução alcoólica.

O óleo de cravo-da-índia apresentou nos parâmetros físico-químicos analisados um índice de refração (ND 25º) de 1,526. Esse valor é coerente com valores encontrados na literatura. Sulieman *et al.* (2007), determinou o índice de refração de 1,531 para o óleo do cravo. Reis (2006) investigando o óleo de cravo extraído dos talos e frutos secos do cravo da índia, relatou um índice de refração 1,523 e 1,525 respectivamente. Além do valor encontrado na pesquisa se mostrar bem próximo dos encontrados na literatura, ele se mostra ainda muito próximo do índice de refração citado para o padrão de eugenol que é de 1,541 (Aldrich, 2001). O eugenol é tido como componente majoritário do óleo do cravo, por isso a proximidade dos valores.

O óleo apresentou-se transparente logo após ser extraído, tornando-se levemente amarelado com o passar do tempo. Sua aparência foi límpida, não sendo observada nenhuma presença de impureza ou particulado. O seu odor foi característico do cravo-da-índia, sendo o odor idêntico ao do eugenol puro, seu componente majoritário.

O rendimento da extração foi calculado diante da quantidade de óleo que se obteve a partir de uma determinada massa vegetal. Nesse experimento partiu-se de uma massa de 68,79 g dos botões florais do cravo da índia e obteve-se 2,5 mL de óleo essencial em cada extração dessa forma o rendimento (% v/m) foi de 3,63 %. Como a densidade do óleo foi determinada em 0,973 g.mL-1, rendimento (% m/m) foi de 3,54 %. Segundo Simões *et al.* (2007), a composição do óleo essencial de uma planta é determinada geneticamente, sendo, geralmente, específica para um determinado órgão e característica para o seu desenvolvimento, mas as condições ambientais são capazes de causar variações significativas. Silvestri *et al*. (2010), encontrou rendimento de 1,87% (v/m), já Lee & Shibamoto (2001) e Raina *et al*. (2001), obtiveram rendimentos de 2,75% (m/m) e 4,8% (v/m) respectivamente.

Avaliação das características químicas dos óleos essenciais obtidas por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectroscopia de Massas (CG-EM)

Os resultados desse estudo são mostrados na Figura 1. O óleo essencial em estudo apresentou cinco picos cromatográficos, sendo que o pico cromatográfico 1 é o Eugenol, cujo tempo de retenção foi 27,40 min; o pico cromatográfico 2 é o Copaeno, com tempo de retenção 27,99 min; o pico cromatográfico 3 é o Cariofileno, o qual apresentou o tempo de retenção 29,47; o pico cromatográfico 4 é o Humuleno, cujo tempo de retenção foi 30,57 min; o pico cromatográfico 5 é o Acetato de Eugenila, com tempo de retenção 32,94 min.

A Tabela 2 mostra a identificação de cada pico apresentados na Figura 1, assim como o seu Tempo de retenção (T_r) na coluna e o respectivo teor na mistura de óleos essenciais, sendo que a quantificação dos cinco picos cromatográficos foi determinada pelo método de normalização (integração da área do pico correspondente). Nota-se que o eugenol e o cariofileno são os componentes majoritários, pois os mesmos estão presentes em, respectivamente 52,53% e 37,25%.

Tabela 2. *Composição química dos botões florais Syzygium aromaticum*

Pico	T_r (min)	Substância identificada	Teor (%)
1	27,40	Eugenol	52,53
2	27,99	Copaeno	2,05
3	29,47	Cariofileno	37,25
4	30,57	Humuleno	4,11
5	32,94	Acetato de Eugenila	4,05

Um comparativo mostrado na tabela 3 entre óleos essenciais extraídos de *Syzygium aromaticum* em diferentes trabalhos ilustra essas diferenças.

Os óleos 1,2,3 e 4 foram obtidos pelo método da hidrodestilação, o óleo 5 por destilação por arraste de vapor e o óleo 6 de uma amostra comercial.

Na literatura o eugenol é sempre apresentado como componente majoritário do óleo de cravo. Seu teor varia muito de um óleo para outro e os teores dos componentes minoritários também.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Atividade Larvicida

A atividade larvicida do óleo essencial extraído da espécie *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) foi testada em seis concentrações diferentes: 20, 50, 70, 90, 100 e 120 µg/mL, sendo n é o número de larvas do mosquito Aedes aegypti utilizadas no ensaio larvicida para cada concentração (totalizando 10 larvas por ensaio).

Para cada concentração os testes foram realizados em triplicata. Os dados sobre o número de larvas vivas e de larvas mortas foram encontrados através de uma média das cinco repetições para cada uma das seis concentrações testadas (Tabela 4).

De acordo com a Tabela 4, a concentração de 20 µg/mL do óleo essencial do *Syzygium aromaticum* apresentou a menor atividade larvicida, matando, em média, duas larvas, o que corresponde a 20% de mortalidade. A partir da concentração de 70µg/mL do óleo essencial a atividade larvicida foi constante, provocando a morte de 100% dos indivíduos testados, ou seja, 10 larvas.

A taxa de percentagem da mortalidade das larvas frente o óleo é mostrada na Figura 2, mostrando-se constante a partir do Log dose 1,8451 (concentração 70 µg/mL).

A Figura 3, mostra que a Concentração Letal 50% (CL_{50}), concentração na qual cinquenta por cento das larvas testadas morrem, foi encontrada próxima ao Log dose 1,69 (abaixo da concentração de 50µg/mL). De acordo com Cheng *et al*. (2003) valores de CL_{50}<100 µg/mL são considerados ativos.

A dose letal 50% para o óleo essencial do cravo-da-índia foi calculada através da intersecção das curvas de indivíduos acumulados mortos e indivíduos acumulados vivos da Figura 3, tendo como resultado a concentração de 38,86 µg/mL com um intervalo de confiança de 2,25 µg/mL.

Logo a atividade larvicida do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* não foi de todo uma surpresa, pois encontra-se na literatura vários trabalhos sobre o potencial biológico desse óleo contra insetos e outros organismos. Segundo Shapiro (2012), o óleo de cravo tem sido estudado por suas propriedades antibacteriana, antimicrobiana e antifúngica contra manifestações cutâneas infecciosas, antiinflamatórias, repelentes, citotoxicidade contra insetos, anestésicas entre outras além de ter demonstrado ser ambientalmente seguro e não tóxico para os seres humanos, para uso em medicina, perfume e aromas alimentares.

De acordo com Chaieb *et al* (2007), a atividade biológica do óleo de *Eugenia caryophyllata* (outro nome de *Syzygium aromaticum*) foi investigada contra diversos parasitas. Foi mostrado que o óleo tem atividade contra larvas de *Culex pipiens*, atividade inseticida contra *Pediculus capitis* e mosquitos *Dirus anopheles*. Iniang & Emosairue (2005 apud Lucca, 2009), estudando a atividade repelente de extratos aquosos de plantas sobre moleque-da-bananeira (*Cosmopolites sordidus* Germar) obtiveram para cravo-da-índia e pimenta dióica um nível de repelência de 60 a 80%. Segundo os autores esse efeito repelente do cravo-da-índia estaria relacionado com sua característica pungente, que sugere uma ação fumegante contra insetos.

Dayan *et al*. (2009), citam o cravo da índia como inseticida eficaz sobre pragas de artrópodes, pulgões, ácaros entre outros. Um estudo de Bhat & Kempraj (2009), confirmou o potencial biocida do óleo essencial das folhas de *S. aromaticum* contra o *Aedes albopictus*. Dessa forma o óleo de cravo é usado na agricultura orgânica como uma alternativa para os métodos de agricultura não-orgânicos. Pois acredita-se ser o óleo de cravo um biopesticida mais seguro do que os pesticidas químicos (Shapiro, 2011).

Óleos essenciais de plantas em geral, têm sido reconhecidos como importantes recursos naturais de inseticidas. Sua natureza lipofílica facilita-lhes interferir com funções metabólicas, bioquímicas, fisiológicas e comportamentais dos insetos, sendo geralmente pesticidas ecologicamente menos agressivos e seguros para os seres humanos e outros mamíferos (Prajapati, 2005).

No entanto, segundo Lahlou (2004), a atividade biológica de óleos essenciais está diretamente relacionada com sua composição química. Essa relação de composição e atividade, muitas vezes sugere que a atividade biológica de um óleo pode ser atribuída tanto a seus componentes majoritários, quanto a componentes presentes em menor concentração. É possível que eles ajam em conjunto sinergicamente, contribuindo para toxicidade total do óleo testado. Nesse trabalho o componente majoritário foi identificado como sendo o Eugenol com (52,53%), segundo a literatura (Brewer,

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

2011), os principais componentes do óleo essencial de cravo são fenilpropanoides tais como eugenol, carvacrol, timol, e cinamaldeído. O cravo também contém uma variedade de compostos não voláteis (taninos, esteróis, flavonoides e triterpenos). Algumas dessas substâncias como terpenos e fenilpropanóides voláteis sintetizados por espécies vegetais podem ter, dependendo do inseto em análise, propriedades atrativas (alimentação, polinização) e/ou inseticidas (Simas *et al.,* 2004).

O eugenol pertence à classe dos fenóis e também é classificado como fenilpropanóide. Encontra-se na literatura relatos sobre a atividade larvicida desses compostos. Segundo (Simas *et al*., 2004), os fenilpropanóides safrol, eugenol e aldeído cinâmico foram ativos contra larvas do *Aedes aeypti* com CL_{50} de 49,0; 44,5 e 24,4 ppm, respectivamente. O eugenol e outros compostos das folhas de *Cinnamomum osmophloeum* mostraram ainda uma forte atividade contra cupins (*Coptotermes formosanus).* Possui também atividade inseticida comprovada contra espécies de besouros *Sitophilus zeamais e Tribolium castaneum* (Huang *et al*., 2002).

Em um estudo da ação larvicida de óleos contendo limoneno, linalol e eugenol frente ao mosquito *Aedes aegypti*, Furtado *et al.* (2005) confirmaram atividade larvicida para esses compostos e segundo os autores os óleos apresentaram melhores atividades que os padrões testados isoladamente (como ocorreu no presente trabalho). Ainda segundo eles há a possibilidade de outros compostos serem responsáveis pela atividade larvicida do óleo essencial ou ainda a existência de um sinergismo entre o composto majoritário e outro(s) componente(s) do óleo, existentes em menor fração.

Esse tipo de comportamento de óleos essenciais já foi relatado em outros trabalhos. Em estudo de Gillij et al. (2008), com atividade repelente de óleos essenciais, o autor sugere que fenômenos sinérgicos entre os diversos componentes dos óleos essenciais podem resultar em uma maior bioatividade (um aumento de resposta repelente) do óleo como um todo em relação aos seus componentes isolados.

Geralmente se atribui o potencial biológico ao componente majoritário. Logo, o efeito sinérgico no óleo em questão não é responsável por conferir a atividade larvicida, mas sim potencializa essa atividade. Outras substâncias presentes em menor quantidade no óleo também possuem atividade contra insetos, o sesquiterpeno β-cariofileno é citado como um forte repelente contra o *Aedes aegypti* (Gillij *et al.,* 2008).

Em trabalho de Simas *et al*. (2004), o autor destaca a importância da lipofilicidade de terpenos para a atividade larvicida em *Aedes aegypti*, quando se compararam monoterpenos e sesquiterpenos de estruturas correlatas. Também foi observada a menor atividade de fenilpropanóides contendo núcleos benzênicos que possuem substituintes nucleofílicos, como hidroxila, metoxila e benzodioxola.

O número de ligações duplas conjugadas parecem contribuir para um aumento na potência, já que compostos aromáticos, tais como, timol, carvacrol, e eugenol apresentam potencial larvicida mais elevado do que a carvona (Santos *et al*., 2011).

De acordo com Rattan (2010), os óleos essenciais e seus constituintes afetam os processos bioquímicos, que especificamente perturbam o equilíbrio endócrino dos insetos. Eles podem ser neurotóxicos ou podem atuar como reguladores de crescimento de inseto, interrompendo o processo normal de morfogênese. Esse modo de ação neurotóxica possui os seguintes sintomas em artrópodes: hiperatividade seguido por hiperexcitação levando rapidamente à queda e imobilização.

CONCLUSÕES:

No presente estudo as constantes físicas do óleo essencial do Cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum)*, apresentaram resultados satisfatórios no que se diz respeito à avaliação da qualidade do óleo extraído; A identificação positiva do eugenol no óleo essencial foi realizada utilizando-se as técnicas de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas, baseado nos seus tempos de retenção comparados com seus padrões e aos seus fragmentos de massas, nas mesmas condições de análises; A quantificação por normalização dos componentes do óleo essencial por cromatografia gasosa mostrou que o eugenol apresentou-se como componente majoritário apresentando um teor de 52,53%. A letalidade larval causada pelo óleo ocorreu na primeira hora de teste com a dose 120 µg/mL, acusando uma mortalidade de 60% ± 0,3 e uma

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

CL_{50} de 38,86 µg/mL; tornando-se crescente ao final de 24 horas de monitoramento.

AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem à Fundação Sousândrade, Capes e o CNPq por fomentar esta pesquisa.

REFERÊNCIAS:

1. Aldrich ; Handbook of fine chemilcals and laboratory equipamento; Brasil, **2001**.
2. Alma, M. H.; Ertas, M.; Nitz, S.; Kollmannsberger, H.; BioResources. **2007**, 2(2), 265.
3. Araújo, A.F.O; Paes, J.T.R; De Deus, J.T.; Cavalcanti, S.C.H; Nunes, R.S; Alves, P.B; Macoris, M.L.G; Mem. Inst. Oswaldo Cruz. **2016**, 11.
4. Barbosa, J.D; Silva, V.B; Alves, P.B; Gumina, G; Santos, R.L; Sousa, D.P;Pest Manag Sci. **2012**, 68(11), 1478-83.
5. Bhat, S. K.; Kempraj, V.; African Journal of Biotechnology. **2009,** 8(24), 6933.
6. Bisset, J.A; Rodríguez, M.M; Ricardo, Y.; Ranson, H; Perez, O; Moya, M; Med Vet Entomol. **2011**, 25, 233.
7. Brewer, M. S.; Compr Rev Food Sci Food Saf. **2011**, 10, 221.
8. Cavalcanti, E.S.B; de Morais, S.M; Lima, M.A.A; Santana, E.W.P; Mem Inst Oswaldo Cruz. **2004**, 99(5), 541.
9. Chaar, J. S. Tese de Doutorado em Química, Universidade Federal de São Carlos, Brasil, **2000.**
10. Chaieb, K.; Hajlaoui, H.; Zmantar, T.; Kahla-Nakbi, A. B.; Rouabhia, M.; Mahdouani, K.; Bakhrouf, A.; Phytother Res. **2007**, 21, 501.
11. Cheng, S.S.; Changa, H.T.; Chang, S.T.; Tsaib, K.H.; Chen, W.J.; Bioresource Technology. **2003**, 89, 99.
12. Coelho, G.E; Rev Inst Med Trop Sao Paulo. **2012**, 54(Suppl. 18), S13-4.
13. Colegate, S. M. & Molyneux, R. J. Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, and Structural Determination. Boca Raton: CRC Press, **1993**.544 p
14. Costa, J.G.M; Rodrigues, F.F.G; Angélico, E.C; Silva, M.R; Mota, M.L; Santos, N.K.A; Rev Bras Farmacogn. **2005**, 15(4), 304-9.
15. Dayan, F. E.; Cantrell, C. L.; Duke, S. O. Bioorg Med Chem. **2009**, 17, 4022.
16. Fabrowski, F. J. R. T. Tese de Doutorado em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Brasil, **2002**.
17. Farmacopeia Brasileira IV – Parte 1. 4. ed. São Paulo: Editora Atheneu, **1996**, 1.320p.
18. Fayemiwo, K.A; Adeleke, M.A; Okoro, O.P; Awojide, S.H; Awoniyi, I.O; Asian Pac J Trop Biomed. **2014**, 4(1), 30-4.
19. Fichi, G.; Flamini, G.; Giovanelli, F.; Otranto, D.; Perrucci, S.; Experimental Parasitology.**2007**, 115, 168.
20. Furtado, R.F.; Lima, M.G.A.; Andrade Neto, M.; Bezerra, J.N.S.; Silva, M.G.; Neotrop Entomol. **2005,** 34 (5), 843.
21. Gillij, Y.G.; Gleiser, R.M.; Zygadlo, J.A.*;* Biores Technol. **2008**, 99, 25078.
22. Gomes, P.R.B; Silva, A.L.S; Pinheiro, H.A; Carvalho, L.L; Lima, H.S; Silva, E.F; Silva, R.P; Louzeiro, C.H; Oliveira, M.B; Filho, V.E.M; Rev. Bras. Plantas Med. **2016**, 18(2 supl.1), 597**.**
23. Huang, Y.; Ho, S. H.; Lee, H. C.; Yap, Y. L.; J Stored Prod Res. **2002**, 38, 403.
24. Lahlou, M.;Phytother Res. **2004**, 18, 435.
25. Lee, K. G.; Shibamoto, T.; Food Chemistry. **2001**, 74, 443.
26. Lucca, P. S. R. Dissertação de Mestrado em Engenharia Agrícola, Unioeste, Brasil, **2009**.
27. Melo-Santos, M.A.V; Varjal-Melo, J.J.M; Araujo, A.P; Gomes, T.C.S; Paiva, M.H.S; Regis, L.N;.Acta Trop. **2010**, 113(2), 180-9.
28. Ministério da Saúde. Dengue, Zica, Chicungunya: Prevenção e Combate. **2016**.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

29. Mouchrek Filho, V.E. Tese de Doutorado em Química, Universidade Federal de São Carlos, Brasil, **2000.**
30. Muhammetoglu, A; Durmaz, S; Uslu, B;Environ Forensics. **2010**, 11, 179-86.
31. Murugan, K; Kumar, P.M; Kovendan, K; Amerasan, D; Subrmaniam, J; Hwang, J.S.; Parasitol Res. **2012**, 111(4), 1757-69.
32. Oliveira, R. A.; Reis, T. V.; Sacramento, C. K.; Duarte, L. P.; Oliveira, F. F.; Rev bras farmacogn. **2009**, 19(3), 771.
33. Pizzi, M; Human Biology. **1950**, 22, 151.
34. Pocquet, N; Darriet, F; Zumbo, B; Milesi, P; Thiria, J; Bernard, V; Parasit Vectors. **2014**, 7, 299.
35. Prajapati, V.; Tripathi, A. K.; Aggarwal, K.K.; Khanuja, S.P.S.; Biores Technol. **2005,** 96, 1749.
36. Raina, V. K.; Srivastava, S. K.; Aggarwal, K. K.; Syamasundar, K. V.; Kumar, S.*;* Flavour and fragrance jornal. **2001,** 16, 334.
37. Rattan, R. S.; Crop Protection. **2010,** 29, 913.
38. Reed L.J & Muench H; Am J Hyg. **1938**, 27(3), 493-497.
39. Reis, T. V. XLVI Congresso Brasileiro De Química, Associação Brasileira De Química, Salvador, Brasil, **2006**.
40. Santos, S. R. L.; Melo, M. A.; Cardoso, A. V.; Roseli L.C. Santos, R.L. C.; Sousa, D. P.; Cavalcanti, S. C. H.; Chemosphere. **2011**, 84, 150.
41. Shapiro, R.; J. Pediatr Nurs. **2012**, 27, 4, 346.
42. Sharp, T.M; Mackay, A.J; Santiago G.A; Hunsperger, E; Nilles E.J; Perez-Padilla, J.; PLoS ONE. **2014**, 9(9), e108445.
43. Silvestri, J. D. F.; Paroul, N.; Czyewski, E.; Lerin, L.; Rotava, I.; Cansian, R. L.; Mossi, A.; Toniazzo, G.; Oliveira, D.; Treichel, H.; Rev Ceres, Viçosa. **2010,** 57, 589.
44. Simas, N. K.; Lima, E. C.; Conceição, S. R.; Kuster, R. M.; Oliveira Filho, A. M.; Lage, C. L. S.; Quim Nova. **2004**, 27(1), 46.
45. Simões, C. M. O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P.; De Petrovick, L.A.; Farmacognosia: da planta ao medicamento; Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, **2007**.
46. Sulieman, A. M. E.; El Bosra, I. M. O.; El Khalifa, E. A. A; Res Journal of microbiology. **2007**, 3, 266.
47. Warikoo, R; Ray, A; Sandhu, J.K; Samal, R; Wahab, N; Kumar, S.; Asian Pac J Trop Biomed. **2012**, 2(2), 152.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

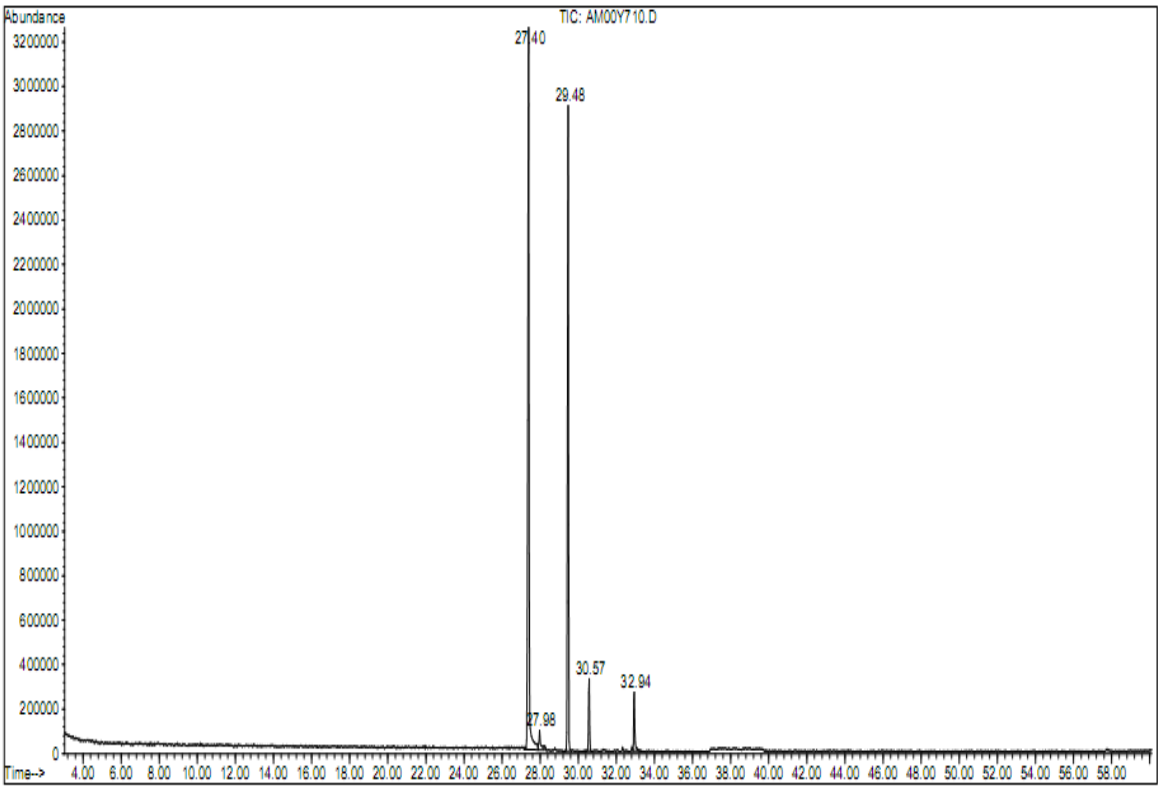


Figura 1. *Cromatograma do óleo essencial do cravo da índia.*

Tabela 3. *Comparativo da composição química de diferentes óleos do Syzygium aromaticum*

Trabalhos	Eugenol (%)	Cariofileno (%)	Humuleno (%)	Acetato de Eugenila (%)	Copaeno (%)
Proposto	**52,53**	**37,25**	**4,11**	**4,05**	**2,05**
Óleo 1	**88,38**	**0,64**	**-**	**10,98**	**-**
Óleo 2	**90,3**	**4,83**	**-**	**1,87**	**-**
Óleo 3	**94,41**	**2,91**	**0,36**	**-**	**0,04**
Óleo 4	**88,58**	**1,38**	**0,19**	**5,62**	**-**
Óleo 5	**87,00**	**3,56**	**0,40**	**8,01**	**0,10**
Óleo 6	**59,3**	**24,9**	**2,8**	**4,2**	**1,2**

Óleo 1 (Oliveira *et al.,* 2009); Óleo 2 (Silvestri *et al.,*2010); Óleo 3(Raina *et al.,*2001); Óleo 4(Chaieb *et al.,* 2007); Óleo 5 (Alma *et al.,* 2007); Óleo 6 (Fichi *et al.,* 2007)

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 4. *Mortalidade das larvas do mosquito Aedes aegypti após 24 horas de exposição em várias concentrações do óleo essencial Syzygium aromaticum*

Dose, µg mL-1	Log dose	Mortos	Vivos	Acumulados mortos	Acumulados vivos	Mortalidade%
120	2,0791	10	0	48	0	100
100	2,0000	10	0	38	0	100
90	1,9542	10	0	28	0	100
70	1,8451	10	0	18	0	100
50	1,6989	6	4	8	4	60
20	1,3010	2	8	2	12	20

Número de larvas (n=10)

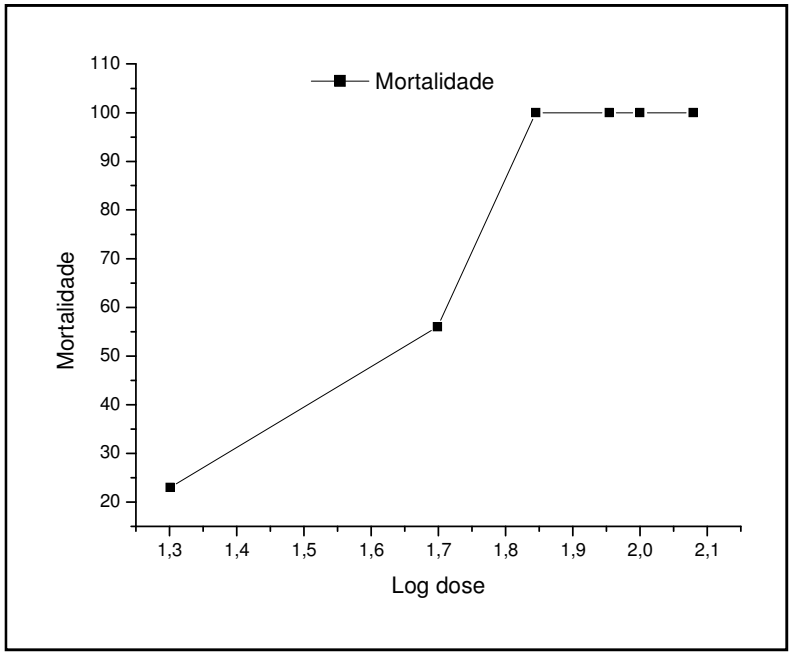


Figura 2. *Taxa de mortalidade das larvas do mosquito Aedes aegypti – expostas a seis concentrações diferentes do óleo essencial do Syzygium aromaticum (cravo-da-índia), após 24 horas – versus o logaritmo de cada dose aplicada*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

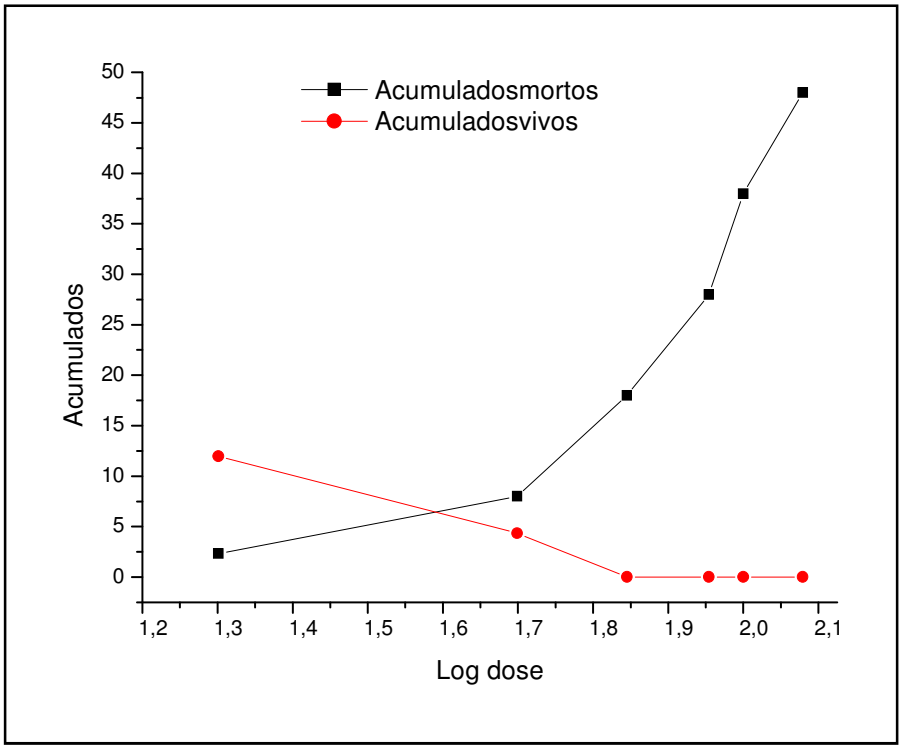


Figura 3. *Estimativa da CL_{50} do óleo essencial do Syzygium aromaticum pelo método Reed-Muench a partir do acumulado de larvas mortas e vivas em função do logaritmo decimal da dose aplicada. A CL_{50} é o ponto de intersecção das duas curvas.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

UTILIZAÇÃO DE SIMULAÇÕES DE MONTE CARLO PARA O CÁLCULO DA ESTIMATIVA DE INCERTEZA NA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DE ÁCIDO ÚRICO EM AMOSTRAS DE PLASMA

USE OF MONTE CARLO SIMULATIONS FOR THE CALCULATION OF THE UNCERTAINTY ESTIMATE IN THE ELECTROCHEMICAL DETECTION OF URIC ACID IN PLASMA SAMPLES

DADAMOS, Tony Rogério de Lima[1*]; DAMACENO, Airton Juliano[1] FERTONANI, Fernando Luis[1], BETTENCOURT SILVA, Ricardo Jorge Neves[2]

[1] Universidade Estadual Paulista, Campus de São José do Rio Preto Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas R. Cristóvão Colombo, 2265 - Jardim Nazareth São José do Rio Preto - SP, Brasil (fone: + 55 17 3221-2200)

[2] Centro de Química Estrutura - Facudade de Ciências da Universidade de Lisboa, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal, Fone +351 962 517 081 (fone +351 21 750 0000)

** Autor correspondente*

e-mail: tonyrlrl@yahoo.com.br

Received 27 October 2017; accepted 14 November 2017

RESUMO

Este trabalho apresenta uma alternativa eletroquímica simples e confiável para a determinação de ácido úrico em soro humano em comparação com o método de referência colorimétrico enzimático. A qualidade das medições eletroquímicas foi avaliada comparando sua incerteza com um valor alvo de 0,56 mg dL^{-1} e as medições utilizou-se o método de adição padrão. O eletrodo de trabalho modificado é composto por 25% de lignina, 60% de nanografite, 15% de óleo mineral e cobre metálico eletrodepositado. A incerteza de medição foi estimada pela abordagem "*bottom-up*", a partir da qual componentes de incerteza foram combinadas aplicando-se a lei de propagação de incerteza (LPI), o método numérico de Kragten e o Método de Simulações de Monte Carlo (MCM). O procedimento analítico foi aplicado com sucesso na análise de soros fisiológicos adicionados a 1,0, 3,0, 5,0, 7,0 e 9,0 mg dL^{-1} de AU e para outras duas amostras de soro fisiológico humano. Os resultados das medições, realizadas para as diferentes amostras de soro, empregando-se o método proposto, associado aos diferentes métodos para a estimativa de cálculo da incerteza, apresentaram valores suficientemente baixos e metrologicamente equivalentes, no qual os resultados apresentaram-se metrologicamente compatíveis com os valores de referência estimados.

Palavras-chave: *Incerteza de Medição, Análises Clínicas, Simulações de Monte Carlo.*

ABSTRACT

This work presents a low cost, simple and adequately reliable electrochemical alternative for the determination of uric acid in human serum in comparison to the enzymatic colorimetric reference method. The quality of the electrochemical measurements was assessed by comparing its uncertainty with a target value of 0.56 mg dL^{-1} and the measurements were carried out by the standard addition method. The modified working electrode consists of 25% lignin, 60% nanocarbon, 15% mineral oil and electrodeposited metallic copper. The uncertainty of measurement was estimated by the bottom-up approach, from which uncertainty components were combined by applying the uncertainty propagation law (LPI), the numerical method of Kragten and the Monte Carlo Simulation Method (MCM). The analytical procedure was successfully applied in the analysis of physiological sera added at 1.0, 3.0, 5.0, 7.0 and 9.0 mg dL^{-1} of AU and for two other samples of human saline. The results of the measurements carried out for the different serum samples using the proposed method, associated to the different methods for estimating the uncertainty, showed sufficiently low and metrologically equivalent values, in which the results were shown to be compatible with the estimated reference values.

Keywords: *Measurement Uncertainty, Clinical Analyzes, Monte Carlo Simulations.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

O ácido úrico (AU) é um composto de grande interesse biomédico, pois ele executa funções essenciais no metabolismo dos mamíferos. O ácido úrico é o primeiro produto final do metabolismo das purinas. Níveis anormais de AU são indicativos de sintomas para várias doenças, dentre elas o infarto (Wu *et al.,* 2006). O nível de concentração do AU em fluidos corporais tais como como células, plasma sanguíneo e urina é um biomarcador para muitas condições clínicas, incluindo hiperglicemia, gota e doença de Lesch–Nyhan (Rho *et al,* 2011). Numerosas doenças, condições fisiológicas, alterações bioquímicas, fatores sociais e ambientais estão associados a aumentos da concentração de ácido úrico plasmático (Moriwaki *et al*., 2014).

O procedimento padrão utilizado nos laboratórios de análises clínicas para a análise de AU em soro sanguíneo é o uso do método colorimétrico enzimático, empregando-se a técnica espectrofotométrica, a partir do qual o ácido úrico é oxidado pela uricase (UOD), catalisada pela peroxidase (POD), produzindo um produto de cor vermelha. A absorbância do composto formado é medida em 505 nm, sendo diretamente proporcional à concentração de ácido úrico da amostra (Kageyama, 1971). A desvantagem desse procedimento é o alto custo da análise, a interferência causada pela presença de fluoreto que inibe a ação da uricase; e a presença de turbidez em certas amostras. A presença de fluoreto e de turvamento na amostra conduzem a resultados de medição equivocadamente elevados (Benine *et al*., 2014).

Outras técnicas utilizadas na determinação de ácido úrico encontrados na literatura são a fluorimétrica (Jin *et al*., 2016), alternativas espectrofotométricas (Khajehsharifi *et al*. 2014), além das técnicas eletroquímicas como a voltametria de onda quadrada (Filik *et al*., 2014), pulso diferencial (Uzun et al., 2015) e a amperometria (Guo *et al*., 2016).

As técnicas eletroquímicas tem importante aplicabilidade para esta finalidade devido ao seu baixo custo, devido aos avanços da eletrônica, simplicidade de construção e de modificação de eletrodos, além de resultados excelentes obtidos para determinação de ácido úrico. Outro aspecto importante para o emprego de eletrodos modificados é que estes permitem uma maior interação entre as espécies presentes em solução e a superfície do eletrodo, assegurando maior seletividade e sensibilidade (Martin *et al*., 2012). Por estas razões, é bem visto o desenvolvimento de soluções de baixo custo como a utilização da técnica eletroquímica implementada sob métodos adequados.

Devido a sensibilidade da técnica eletroquímica aos efeitos da matriz analítica, utiliza-se o método de quantificação de adição de padrão (MAP). O MAP apresenta limitação em relação à quantidade de amostra necessária para proceder-se às adições de padrões, o que dificulta a sua aplicação. No entanto, a realização de adições cumulativas do padrão à uma quantidade fixa de amostra, torna mais viável a implementação do MAP, porém requer a ponderação da diluição progressiva da amostra (Gonçalves *et al.,* 2016).

Assim, se a diluição progressiva da amostra produzir fatores de diluição equivalentes, as condições de matriz na calibração serão equivalentes, minimizando-se as interferências na análise desta natureza. A adição de padrão é especialmente apropriada quando a composição da matriz da amostra é desconhecida ou complexa, e afeta o sinal analítico. Logo, o método de adição padrão compensa uma série de interferências ao se adicionarem quantidades conhecidas de analito à amostra desconhecida (Steliopoulos, 2015).

Para que uma determinação analítica seja adequada, esta deverá apresentar uma incerteza conhecida inferior a um valor máximo admissível designado como incerteza alvo (Bettencourt da Silva, 2016). A incerteza de medição é definida como um parâmetro associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão dos valores que podem ser razoavelmente atribuídos ao mensurando (VIM, 2012). Em se tratando de incerteza alvo, especificamente para o AU, a quantidade de ácido úrico em indivíduos saudáveis, varia no intervalo de 2,0 a 8,0 mg dL^{-1}, e este intervalo pode ser utilizado para se definir a incerteza alvo, conforme o Guia Eurachem/CITAC (Eurachem, 2012).

É importante assegurar a qualidade das medições de AU, visto que valores superiores a 8,0 mg dL^{-1} podem servir de indicativo, de que o paciente seja portador de ao menos uma das possíveis doenças associadas a sua presença: 1- gota; 2- insuficiência renal; 3- leucemia; 3- policitemia; 3- mieloma múltiplo; 4- intoxicação por chumbo; e 5- cetoacidose, na síndrome de Lesch-Nyhan e nas hiperuricemias idiopáticas.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Por outro lado, valores inferiores a 2,0 mg dL^{-1} são pouco frequentes, mas podem indicar doenças tais como: 1- a síndrome de Fanconi; 2- a doença de Wilson; e 3- doenças malignas, tais como linfoma de Hodgkin e carcinoma broncogênico, obviamente após avaliação prévia do quadro clínico do paciente (Zuo *et al*., 2016).

Para a avaliação da incerteza e para a garantia da qualidade dos resultados analíticos das medições são apresentadas na literatura várias abordagens para a avaliação da incerteza; podendo ser destacada a abordagem "*bottom-up*", a qual permite uma avaliação mais eficiente da incerteza, a partir do levantamento detalhado de todos componentes de incerteza. O levantamento da contribuição relativa dos componentes de incerteza permite otimizar os custos e a incerteza da medição a partir de intervenções ao nível das componentes de incerteza minoritárias e maioritárias respetivamente (Burr *et al*., 2016).

O objetivo do presente trabalho é o de apresentar uma alternativa eletroquímica de baixo custo, simples e com qualidade adequada à determinação de ácido úrico em amostras de soro fisiológico e soro humano, sendo para tal assumido que a adequação da medição é avaliada a partir da comparação da incerteza da medição com uma incerteza alvo pré-definida. Para estimativa de incerteza será utilizada as Simulações de Monte Carlo em comparação com os métodos de Kragten e Lei da Propagação das Incertezas.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Construção dos Eletrodos

Para a detecção de ácido úrico em amostras de soro fisiológico e humano foi desenvolvido um eletrodo de carbono em uma matriz de teflon. Foi construído o eletrodo conjugado, utilizando-se de um tubo de teflon, de diâmetro de 3,5 cm, no qual foram feitos três furos, sendo que dois furos, com maior diâmetro foram utilizados para suportar o compósito de Cu-nanografite-lignina (eletrodo de trabalho) e o outro apenas para o eletrodo de nanografite (contra eletrodo). Um destes eletrodos foi utilizado como eletrodo de trabalho, área geométrica de 0,5 cm^2, e o segundo preparado apenas com o compósito de nanografite foi utilizado como contra eletrodo de área geométrica de 0,78 cm^2. O terceiro furo recebeu a quente e sob pressão o fio de prata pura de área geométrica de 0,20 cm^2, sendo este empregado como eletrodo de referência. Os contatos elétricos externos foram feitos com fios de cobre.

O compósito, lignina-nanografite, foi preparado em diferentes proporções para a realização da busca da melhor relação entre as diferentes ligninas e o nanografite. Para a preparação do compósito as diferentes ligninas foram misturadas com nanografite, óleo mineral e hexano para a obtenção de uma mistura homogênea. O compósito permaneceu sobe agitação mecânica por 24 horas a temperatura ambiente para evaporação do solvente e garantir a homogeneidade. Após o estudo da proporção, foi escolhida a mistura composta por 25% de lignina, 60% de nanografite e 15% de óleo mineral.

Posteriormente, para a consecução do preparo do eletrodo de trabalho, sobre o compósito foi eletrodepositado cobre metálico. Para tal, após mergulhar-se o eletrodo conjugado em solução contendo íons Cu(II) em meio de eletrólito de suporte, foram realizados 4 ciclos, empregando-se a técnica de voltametria cíclica, no intervalo de potenciais: de -1,0 a 1,4 V *vs*. Ag, e velocidade de varredura de 300 mV s^{-1} em $CuSO_4$ 0,1 mol L^{-1}.

2.2. Validação dos Procedimentos

A validação do procedimento de medição envolveu a avaliação dos pressupostos do modelo de regressão linear utilizado, a avaliação da incerteza de medição e a avaliação externa do modelo de medição a partir da análise de soros fisiológicos e dos soros humanos marcados pelo método padrão. O modelo de regressão utilizado para construir a curva de calibração é o modelo linear de regressão dos mínimos quadrados (MMQ), também conhecido como modelo linear paramétrico não ponderado (Miller *et al*., 2005).

A incerteza da medição foi baseada na abordagem "*bottom-up*" (Bettencourt da Silva, 2006), a partir da qual os componentes da incerteza foram combinados usando a lei de propagação da incerteza (LPI), método numérico de Kragten e Simulações de Monte Carlo (MCM). O método de Kragten foi utilizado para verificar os pressupostos de ambos os modelos de combinação de incerteza sobre a linearidade do modelo de equação dada à incerteza das quantidades de entrada (Kragten, 1994). O método de Kragten numérico foi particularmente

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

útil para os pressupostos de avaliação dos modelos de regressão associados à qualidade dos calibradores. As simulações de Monte Carlo foram, ainda, utilizadas para avaliar as incertezas quando os pressupostos dos mínimos quadrados falham.

As curvas de calibração foram construídas, variando-se *"sinal elétrico*volume total analito vs. massa de analito adicionado"*, $I_t * v_{ta}$ *vs.* m_a. E para verificar a confiabilidade foi comparada a incerteza calculada experimentalmente com a incerteza alvo e realizado um teste de compatibilidade metrológica segundo guia EURACHEM/CITAC (Eurachem, 2012).

2.3. Simulações de Monte Carlo e Pressupostos do MMQ

O cálculo da estimativa da incerteza pode ser estimado com a LPI ou método numérico de Kragten utilizando o modelo de regressão dos mínimos quadrados, no entanto, é necessário seguir-se alguns pressupostos: 1- homogeneidade de variância; 2- linearidade da resposta instrumental em função da concentração; e 3- irrelevância da incerteza associada ao teor relativo dos padrões de calibração, considerando-se a repetibilidade da resposta instrumental. Este último pressuposto refere-se ao preparo dos calibradores, os quais devem ser preparados corretamente.

Quando se dispõem de calibradores ruins torna-se difícil a aplicação da Lei da Propagação das Incertezas (LPI) ou Kragten para se estimar a incerteza da medição. Nesta situação, precisa-se de muita atenção, pois, poderá ocorrer de se subestimar as estimativas e os métodos de LPI ou Kragten falharem nos testes de compatibilidade. Em comparação com a LPI, as simulações de Monte Carlo (Herrador *et al.*, 2005), são inerentes a preparação dos calibradores, podendo ser aplicada em todas as situações, mesmo na presença de calibradores ruins (Theodorou *et al.*, 2011).

Para testar a veracidade deste pressuposto, preparou-se uma amostra fortificada de soro comercial contendo 3,0 mg dL^{-1} de AU e foi realizada adições sucessivas de 100 µL com uma pipeta graduada não calibrada e sem controle volumétrico. Em paralelo, realizou-se o mesmo experimento, ajustando os volumes adicionados por massa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

3.1. Comportamento eletroquímico do eletrodo Cu-nanografite-lignina

Inicialmente, buscou-se investigar a atividade redox do ácido úrico, presente em solução aquosa, sobre a superfície do eletrodo de nanografite, na ausência e na presença de lignina. O comportamento eletroquímico de ácido úrico foi estudado em um intervalo de potencial, (-1,0 ≤ E ≤ 1,0) V *vs.* Ag, empregando-se uma velocidade de varredura de potenciais de 300 mV s^{-1} em pH 8.

Foram investigadas duas situações: em ausência de ácido úrico; e em presença de ácido úrico 0,2 mmol L^{-1}; e fazendo-se uso de quatro configurações diferentes de eletrodos: 1- nanografite; 2- Cu-nanografite; 3- nanografite-lignina; e 4- Cu-nanografite-liginina. Os eletrodos na presença de cobre ocorrem dois processos eletroquímicos (Figura 1), estando estes processos atribuídos as etapas de oxidação das espécies Cu(0) à Cu(I) (pico I e IV) e Cu(I) à Cu(II) (picos II e III). No entanto fica nítida a intensificação da intensidade de corrente de pico anódica de aproximadamente três vezes, para a preparação Cu-nanografite-lignina, em comparação a preparação nanografite-lignina, a qual de per si apresenta uma intensidade de corrente de pico superior a preparação anteriores.

Assim, a intensificação na corrente de pico para o eletrodo do compósito Cu-nanografite-lignina, em presença da espécie eletroativa, ácido úrico, pode ser atribuído a esta espécie, possivelmente, devido à presença de um processo catalítico e, ou facilitado, pelo substrato e, especificamente, atribuído a presença do cobre metálico. Neste sentido, é importante notar-se que para os eletrodos preparados na ausência do cobre metálico verifica-se unicamente a presença de um par redox, sendo este processo atribuído a oxidação/redução da molécula de ácido úrico, porém, sem a mediação eletrônica do cobre.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

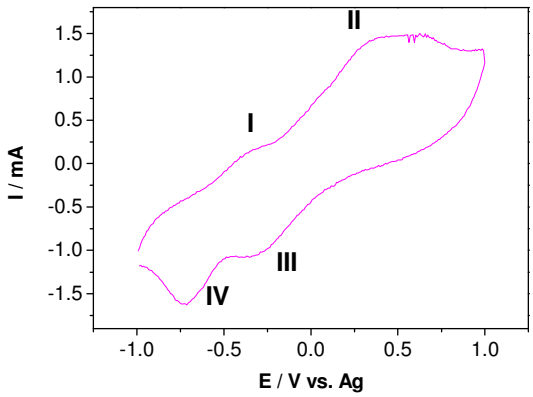


Figura 1: *Voltamogramas cíclicos obtidos com eletrodo de Cu-nanografite-lignina em KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 8); v = 300 mV s^{-1}; C_{AU} = 2,0x10^{-4} mol L^{-1}*

3.2. Construção dos Eletrodos

Depois de estimada a incerteza do método colorimétrico de referência e do método eletroquímico alternativo, calculou-se as concentrações de ácido úrico nas amostras com os dois métodos, além da recuperação para as amostras de soro fisiológico. A Tabela 1 apresenta os resultados. A Tabela 1 também apresenta os resultados da avaliação da compatibilidade metrológica dos valores estimados e de referência utilizando a condição da Equação (1) (Eurachem, 2012). Se esta condição for válida, os valores estimados experimentalmente e de referência são metrologicamente compatíveis.

$$|\gamma_E - \gamma_R| \leq t_E^{99\%}\sqrt{u^2(\gamma_E) + u^2(\gamma_R)} \qquad \text{(Eq. 1)}$$

No qual γ_E e γ_R são as concentrações de massa estimadas pelo procedimento eletroquímico e o valor de referência acrescido respectivamente, $u(\gamma_E)$ e $u(\gamma_R)$ são as incertezas padrões do método eletroquímico e do método de referência e $t_E^{99\%}$ o t de student para 99% de confiança e graus de liberdade referente a u_E. Os graus de liberdade da diferença $(\gamma_E - \gamma_R)$ são equivalentes aos de γ_E uma vez que os graus de liberdade de γ_R são esperados ser maiores. Os graus de liberdade do resultado da combinação linear de duas variáveis são denominados pelo número de graus de liberdade do componente com menos graus de liberdade.

A compatibilidade também pode ser testada verificando se o valor absoluto estimado da diferença ($|\gamma_E - \gamma_R|$) com a respectiva incerteza expandida, isto é, o termo no lado direito de "≤" da Equação (1)) inclui o valor zero.

Os valores estimados pelo procedimento eletroquímico são metrologicamente equivalentes às concentrações estimadas pelo procedimento de adição e recuperação nas amostras de soro fisiológico, demonstrando a confiabilidade das medidas eletroquímicas incluindo a avaliação da incerteza.

A Tabela 1 também apresenta os resultados da avaliação da compatibilidade metrológica de medições de referência e alternativas usando a condição da Equação (1).

Tabela 1: *Resultados da determinação de ácido úrico em soro fisiológico e soro humano e respectivos valores de referência.*

Amostras	Conc, método eletroquímico (mg dL^{-1})	Conc, método colorimétrico (mg dL^{-1}) *
Soro 01	1,03 ± 0,27	1,00 ± 0,02
Soro 02	3,03 ± 0,32	3,02 ± 0,06
Soro 03	5,06 ± 0,38	5,04 ± 0,09
Soro 04	7,01 ± 0,49	7,06 ± 0,13
Soro 05	8,93 ± 0,56	9,07 ± 0,17
SoroH 01	3,83 ± 0,50	4,10 ± 0,12
SoroH 02	5,92 ± 0,64	6,20 ± 0,12

Como mostrado na Tabela 1, os dois pares de resultados são metrologicamente compatíveis, uma vez que o valor absoluto de sua diferença para todas as amostras é menor do que a incerteza expandida da diferença, demonstrando a equivalência metrológica dos resultados produzidos por ambos os procedimentos.

Portanto, pode-se concluir que o procedimento eletroquímico alternativo é uma alternativa válida ao ácido úrico estimado em amostras de soro. Os resultados da Tabela 1 também permitem concluir que ambos os têm valores normais de ácido úrico, uma vez que estes estão posicionados dentro do intervalo de 2 mg dL^{-1} - 8 mg dL^{-1}.

3.3. Comparação Monte Carlo e sua utilização em amostras para as quais os calibradores falham

Nas amostras estudadas foi utilizado o método de Kragten e a LPI para o cálculo da

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

estimativa de incerteza, mas estes métodos somente se aplicam se os calibradores forem devidamente preparados.

Caso os calibradores não forem devidamente preparados, a estimativa de incerteza é subestimada, encontrando-se valores abaixo do "valor real", e com isso obtêm-se resultados errôneos. Com valores subestimados de estimativa de incerteza e valores de concentrações longe dos ideias, a chance de não compatibilidade (equação 1) é demasiadamente alta. Mas quando se usa as simulações de Monte-Carlo, não se tem a necessidade de um controle rígido dos calibradores, pois quando se simula uma quantidade extremamente grande de experimentos, é considerada a contribuição mais próxima do real de cada fonte de incerteza.

Para comprovar tal fato, foi conduzido um experimento, no qual a célula eletroquímica foi inserida dentro de uma balança analítica e feita as adições de padrão de 100 µL com uma pipeta graduada, sem nenhum controle analítico rígido e construída duas curvas de calibração, uma de *"sinal*volume total vs. massa de analito adicionado"* ($I_t * v_{ta}$vs.m_a) e outra de *"sinal*massa total vs. massa de analito adicionado"* ($I_t * m_{ta}$vs.m_a), no qual o primeiro assume-se que está adicionando 100 µL do padrão e na segunda assume-se a pesagem equivalente a estes 100 µL adicionados do padrão. Em ambos os casos foi analisado a qualidade dos calibradores e depois estimada as incertezas utilizando a LPI e as simulações de Monte-Carlo e feito o teste de compatibilidade (equação 1). A amostra analisada foi de soro fisiológico contendo 3,0 mg dL^{-1} de ácido úrico.

Primeiramente foi analisada a qualidade dos calibradores por volume, no qual o valor de $u\left(R_{a_{i,j}}\right)/R_{a_{i,j}}$ foi maior que um quinto de $u\left(R_{vI_{i,j}}\right)/R_{vI_{i,j}}$ demonstrando que utilizando uma pipeta sem controle analítico gera calibradores ruins. Mas quando se usa as mesmas equações para testar a qualidade dos calibradores considerando-se a massa total pesada, o valor de $\left(R_{a_{i,j}}\right)/R_{a_{i,j}}$ é menor que um quinto de $u\left(R_{vI_{i,j}}\right)/R_{vI_{i,j}}$, demonstrando que por pesagem a qualidade do calibrador é boa, mesmo utilizando-se instrumentação sem calibração prévia. Esta diferença nos resultados se deve ao fato de que a incerteza da pesagem é inferior a incerteza do volume medido, principalmente quando se trabalha na escala de micro volumes.

Uma vez analisado os calibradores, foi estimada cada fonte de incerteza pela LPI e pelo MCM. A Tabela 2 apresenta os resultados e as respectivas incertezas para ambas abordagens de cálculo.

Para as simulações de Monte Carlo, o cálculo de estimativa de incerteza foi procedido criando-se uma folha de cálculo e aplicando-se algoritmos específicos para cada fonte de incerteza (Cox *et al.*, 2006). O princípio baseia-se em inserir cada variável e suas respectivas fontes de incerteza, e em seguida realizar simulações de modo aleatório de acordo com o tipo de distribuição que se aplica para cada uma dessas fontes. A partir destas simulações, pode-se construir um gráfico de distribuição normal, conforme apresentado na Figura 2, e a partir deste gráfico encontrar a concentração da amostra e a respectiva incerteza para 95% ou 99% de confiança.

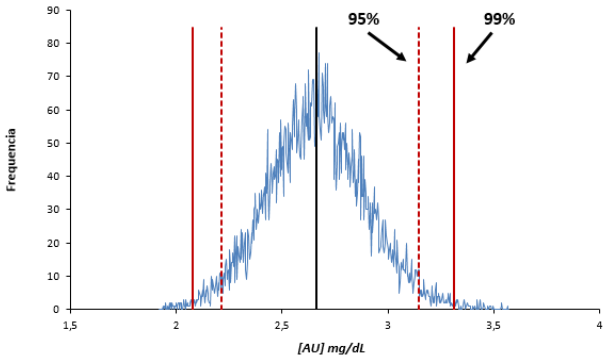


Figura 2: *Distribuição normal para as simulações de Monte Carlo na amostra de soro fisiológico contendo AU nas medições considerando sinal*volume total vs. massa de AU adicionado*

A partir da Figura 2, pode-se observar que o ponto central é a média das simulações e as linhas nas extremidades representam a incerteza expandida da amostra ($U(y_s)$) para 95% e 99% de confiança. Com os resultados estimados pela LPI e MCM, construiu-se a Tabela 2 para comparação das duas abordagens.

Como pode ser evidenciada pela Tabela 2, a incerteza do fator de diluição para o procedimento de pesagem é menor que comparado com o de volume, devido à incerteza de pesagem ser menor que quando adicionado pequenos volumes. As recuperações nas medidas de massa são bem maiores do que as de volume e todas passam pelo 100%.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

No teste de compatibilidade realizado pelo procedimento de pesagem, têm-se ambos compatíveis e suas incertezas menores do que comparado com os procedimentos volumétricos, inclusive comparando-se com as amostras estudadas na sessão anterior.

Quando se utiliza o procedimento volumétrico sem o controle analítico, observa-se que a recuperação é bem menor que por massa, além de não ser compatível quando se utiliza a abordagem da LPI para estimativa de incerteza. Esse fato se deve que a LPI para ser estimada corretamente é necessário ter um controle rígido no preparo dos calibradores, pois senão têm-se incertezas subestimadas, como pode ser evidenciado a partir da Tabela 2, no qual a incerteza por pesagem apresentou um valor maior do que a incerteza por volume.

No entanto, ao se aplicar as simulações de Monte Carlo, observa-se que ocorre compatibilidade, mesmo a recuperação sendo pequena, pois a estimativa de incerteza nesta abordagem não é subestimada, tendo valores bem maiores que a LPI. A vantagem da aplicação das simulações de Monte Carlo é que a incerteza tende a ser estimada corretamente, pois esta abordagem não necessita de controle analítico rígido.

Ela é bem aplicada para sistemas no qual se tem adições de pequenos volumes ou que não se prepara as soluções por pesagem. A sua desvantagem são os recursos computacionais de algoritmos que são necessários para sua estimativa (Sega *et al.,* 2016).

CONCLUSÕES

O eletrodo de nanografite modificado com lignina e cobre eletrodepositado foi muito eficiente para a preparação de um sensor eletroquímico para a determinação de ácido úrico em soro humano. A superfície modificada pela eletrodeposição de cobre revelou a presença de um mecanismo do tipo ECE para a oxidação da AU.

Uma vez que a resposta do eletrodo varia com a matriz da amostra e estão disponíveis pequenos volumes de soro para análise, a calibração do sensor foi realizada pelo método de adição de padrão com adições de padrão cumulativo. Na calibração, a *"corrente de oxidação da célula eletroquímica"*, I_{ta}, vezes o *"volume total da solução"*, v_{ta}, (I_{ta}*v_{ta}) é proporcional à massa de AU adicionada (m_a). A curva de calibração foi utilizada para extrapolar a massa de AU na amostra e esta massa foi convertida em concentração de AU tomando a alíquota volumétrica da amostra.

O sinal instrumental é homocedástico e varia linearidade com a quantidade AU, e a metodologia, desenvolvida para realizar adições cumulativas, não afetou a regressão estatística na calibração.

Todas as medições eletroquímicas apresentam incertezas de medição baixas, uma vez que não foram comprovadas serem superiores a incerteza alvo, 0,56 mg dL^{-1} .

A qualidade da medição realizada foi avaliada a partir da análise de amostras de soro fisiológico e de humanos cujos valores de referência foram estimado pelo processo de adição/recuperação e por um método padrão independente, respectivamente. Desta forma, sendo as medidas metrologicamente compatíveis com as medidas de referência, o procedimento de medição, incluindo a sua estimativa da incerteza, é fiável.

Devido à sua estabilidade, seletividade, simplicidade de trabalho e baixo custo de construção, o sensor construído trata-se de alternativa promissora ao procedimento de referência.

REFERÊNCIAS:

1. Benini, S., Cianci, M., Mazzei, L. *J Biol Inorg Chem*, **2014,** 19, 1243.
2. Bettencourt da Silva, R.J.N. *Talanta*, **2016**, 148, 177.
3. Bettencourt da Silva, R.J.N., Santos, J.R., Camões, M.F.G.F. *Accred. Qual. Assur.*, **2006**, 664.
4. Burr, T., Croft, S., Krieger, T., Martin, K., Norman, C., Walsh, S. *Appl. Radiat. Isot*, **2016**, 108, 49.
5. Cox, M.G., Siebert, B.R.L. *Metrologia*, **2006**, 43, S178.
6. Eurachem/CITAC: Quantifying uncertainty in analytical measurement, in: S.L. R., Ellison, A., Williams (Eds.), third ed., Eurachem, 2012.
7. Filik, H., Avan, A.A., Aydar, S., Arpacı, R.B. *Int. J. Electrochem. Sci.*, **2014,** 9, 2775.
8. Goncalves, D.A., Jones, B.T., Donati, G.L. *Microchem J*, **2016,** 124, 155.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

9. Guo, X.M., Guo, B., Li, C., Wang, Y.L. *J. Electroanal. Chem*, **2016**, 783, 8.
10. Herrador, M.A., Asuero, A.G., González, A.G. *Chemom. Intell. Lab. Syst*, **2005**, 79, 115.
11. Jin, D., Seo, M., Huy, B., Pham, Q., Conte, M. L., Thangadurai, D., Lee, Y. *Biosens. Bioelectron*, **2016**, 77, 359.
12. Joint Committee for Guides in Metrology, International Vocabulary of Metrology-Basic and General Concepts and Associated Terms (VIM), JCGM 200, BIPM, 2012.
13. Kageyama, N. *Clin Chim Acta*, **1971**, 31, 421.
14. Khajehsharifi, H., Pourbasheer, E., Tavallali, H., Sarvi, S., Sadeghi, M., *Arab. J. Chem*, **2017**, 10, S3451.
15. Kragten, J. *Analyst*, **1994**, 119, 2161.
16. Martin, C.S., Dadamos, T.R.L., Teixeira, M.F.S. *Sens Actuators B Chem*, **2012**, 175, 111.
17. Miller, J., Miller, J. Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry, 5th ed., UK: Pearson, 2005.
18. Moriwaki, Y. *J Bioequiv Availab*, **2014**, 6 10.
19. Rho, Y.H., Zhu, Y., Choi, H.K. *Semin. Nephrol.*, **2011**, 31, 410-419.
20. Sega, M., Pennecchi, F., Rinaldi, S., Rolle, F., *Anal. Chim. Acta*, **2016**, 920, 10.
21. Steliopoulos, P. *MethodsX*, **2015**, 2, 353.
22. Theodorou, D., Meligotsidou, L., Karavoltsos, S., Burnetas, S., Dassenakis, M., Scoullos, M., *Talanta*, **2011**, 83, 1568.
23. Uzun, D., Gündüzalp, A.B., Hasdemir, E. *J. Electroanal. Chem*, **2015**, 747, 68.
24. Wu, A.H., Gladden, J.D., Ahmed, M., Ahmed, A., Filippatos, G. *Int. J. Cardiol*, **2016**, 213, 4.
25. Zuo, T., Jiang, L., Mao, S., Liu, X., Yin, X., Guo, L. *Int. J. Cardiol*, **2016**, 224, 286.

Tabela 2: *Resultados comparativos de estimativa de incerteza por medições em massa e volume, utilizando as abordagens da LPI e MCM*

	Massa		**Volume**	
	LPI	**MCM**	**LPI**	**MCM**
$u'(d_1)$ **(%)***	0,14	-	0,23	-
u_{ext} **(%)***	0,59	-	0,46	-
Concentração método eletroquímico (mg dL^{-1})	2,93±0,23	2,90±0,20	2,68±0,19	2,67±0,47
Concentração método colorimétrico (mg dL^{-1})	3,02±0,01	3,02±0,01	3,02±0,03	3,02±0,03
Recuperação (%)	97±15	97±13	89±13	88±30
Teste de Compatibilidade	0,09±0,23	0,12±0,40	0,33±0,19	0,35±0,94

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

DESENVOLVIMENTO DE PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO DO SULFENTRAZONE DE FORMULAÇÃO COMERCIAL DE HERBICIDA E DETERMINAÇÃO DE SUA CONSTANTE DE IONIZAÇÃO (pK_a) POR TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA

DEVELOPMENT OF SULFENTRAZONE EXTRACTION PROCEDURE FROM COMMERCIAL HERBICIDE FORMULATION AND DETERMINATION OF ITS IONIZATION CONSTANT (pK_a) BY POTENTIOMETRIC TITRATION

OLIVEIRA, Simone Laila Andrade[1], SILVA, Érica Amorim[1], PAULA, Laís Zacheu[2], CARDOSO, Claudia Andrea Lima[1,2], ARRUDA, Gilberto José[1,2]; ANDRADE, Luis Humberto Cunha[1], FIORUCCI, Antonio Rogério[1,2*]

[1]Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Programa de Pós Graduação em Recursos Naturais, Centro de Estudos em Recursos Naturais (CERNA), Rod. Dourados-Itahum, Km 12, C.P. 351, cep 79804-970, Dourados, MS, Brasil. (fone: +55 67 3902 2652)

[2]Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Dourados, Curso de Química Industrial, Rod. Dourados-Itahum, Km 12, C.P. 351, cep 79804-970, Dourados, MS, Brasil. (fone: +55 67 3902 2686).

** Autor correspondente*
e-mail: arfiorucci@yahoo.com.br

Received 13 July 2017; received in revised form 14 November 2017; accepted 15 November 2017

RESUMO

O herbicida sulfentrazone (SFZ) é amplamente utilizado em culturas de soja e cana de açúcar, apesar de ser classificado como muito perigoso ao ambiente. Para minimizar entraves para o desenvolvimento de pesquisas com esse herbicida devido ao elevado custo de aquisição do seu padrão analítico e a disponibilidade de poucos distribuidores para aquisição do padrão no país, foi desenvolvido um procedimento de extração e purificação do SFZ a partir de uma formulação comercial de herbicida disponível no Brasil. Usando as condições experimentais mais adequadas estabelecidas para a execução do procedimento de extração, o teor de SFZ no sólido resultante após extração e secagem foi de 97,5 % (m/m), valor determinado por titulações potenciométricas ácido-base. Para caracterização do sólido obtido neste procedimento, o material foi investigado por análise térmica (termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial) e por espectroscopia fotoacústica no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR-PAS) para confirmação da presença de grupos funcionais presentes na molécula de SFZ. A análise térmica do sólido resultante da extração indicou processos de fusão, degradação térmica e volatilização do SFZ durante seu aquecimento. Por meio das titulações potenciométricas do sólido purificado dissolvido em misturas binárias água /acetonitrila (ACN) foi possível determinar a constante de ionização ácida (pK_a) do SFZ em água a 25,0ºC. Por este estudo, obteve-se valor extrapolado de pK_a em água de 6,45 a partir da correlação linear do gráfico de pK_a versus fração molar de ACN. O valor obtido a temperatura de 25,0°C por potenciometria neste estudo é bastante próximo do valor da literatura de 6,56 determinado a 20°C pela técnica de espectrofotometria. Contudo, o valor de pK_a para SFZ determinado por titulações potenciométricas de soluções diluídas das formulações comerciais foi bastante superior ao de 6,56, indicando que o grau de ionização do SFZ em condições de aplicação do herbicida possa ser bastante distinto na presença de possíveis adjuvantes presentes na formulação comercial do herbicida.

Palavras-chave: *Aril triazolinonas; extração por ponto de névoa; constante de dissociação ácida*

ABSTRACT

The herbicide sulfentrazone (SFZ) is widely used in soybean and sugarcane crops, although it is classified as very dangerous to the environment. To minimize barriers to the development of research with this herbicide due to the high cost of acquisition of its analytical standard and the availability of few distributors to acquire the standard in the country, a procedure of extraction and purification of SFZ was developed from a commercial herbicide formulation available in Brazil. Using the most suitable experimental

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

conditions established for the extraction procedure, the SFZ content in the resulting solid after extraction and drying was 97.5% (m/m), which value was determined by acid-base potentiometric titrations. To characterize the solid obtained in this procedure, the material was studied by thermal analysis (thermogravimetry and differential scanning calorimetry) and Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy (FTIR-PAS) to confirm the presence of functional groups present in the SFZ molecule. Thermal analysis of the solid resulting from the extraction indicated processes of melting, thermal degradation and volatilization of the SFZ during its heating. By potentiometric titrations of the purified solid dissolved in water/acetonitrile (ACN) binary mixtures, it was possible to determine the ionization constant (pK_a) of SFZ in water at 25.0ºC. By this study, extrapolated value of pK_a in water is 6.45 obtained from the linear correlation of pK_a versus molar ACN fraction plot. The value obtained at 25.0 °C by potentiometry in this study is quite close to the literature value of 6.56 determined at 20 °C by the spectrophotometric technique. However, the pK_a value determined by potentiometric titrations of dilute solutions of the SFZ commercial formulations was much higher than that of 6.56, indicating that the degree of ionization of SFZ under herbicide application conditions can be quite distinct in the presence of possible adjuvants present in the commercial formulation of the herbicide.

Keywords: *Aryl triazolinones; cloud point extraction; acid dissociation constant*.

INTRODUÇÃO

O sulfentrazone, N-{2,4-dicloro-5-[4-(difluorometil)-3-metil-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il]fenil}metanosulfonamida, cuja fórmula estrutural é apresentada na Figura 1, pertence a classe química das ariltriazolinonas (Anvisa, 2016) e apresenta ampla utilização mundial como ingrediente ativo de herbicidas pré-emergentes, em culturas de soja e cana de açúcar, garantindo bons resultados no controle de ervas daninhas e gramíneas (Chen, 2003; Blanco *et al*., 2010; Monquero *et al*., 2010; Yang *et al*., 2013).

As ariltriazolinonas constituem uma classe de compostos que despertam muito interesse devido às suas características únicas que lhe conferem propriedades biológicas, como agentes reguladores da pressão arterial, e propriedades herbicidas, sendo considerada uma das classes mais importantes de herbicidas que agem inibindo a enzima protox–protoporfirogênio oxidase (Wu *et al*., 2010).

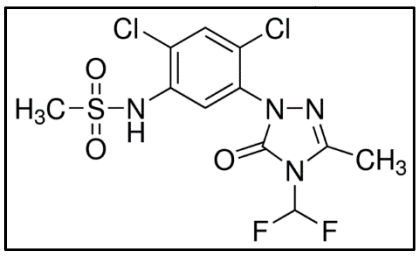


Figura 1**:** *Fórmula estrutural do Sulfentrazone*

Os herbicidas são substâncias amplamente utilizadas para melhorar a produtividade agrícola e respondem por 49% do consumo mundial de pesticidas (Arroyo *et al*., 2011) e representam um terço da receita gerada pela venda destes produtos. Dados do Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (Sindag, 2016) revelam um aumento de 14% nas vendas de agrotóxicos no Brasil em 2013, em relação ao ano anterior.

Uma ampla utilização do herbicida sulfentrazone (SFZ) ocorre em culturas de soja e cana de açúcar, apesar deste ser classificado como muito perigoso ao ambiente (Agrofit, 2015) tendo baixos valores de tolerância (0,15 ppm) estabelecidos nos EUA para seus resíduos e alguns de seus metabólitos em alimentos (EPA, 2016).

Mesmo com seu uso difundido como herbicida para melhorar a produtividade agrícola (Arroyo *et al*., 2011), ainda são encontrados poucos estudos disponíveis com o herbicida SFZ, em solos brasileiros, sendo que alguns desses estudos foram desenvolvidos utilizando reagentes de grau técnico (91,93% de pureza) (Martinez *et al*., 2008). Alguns entraves como o alto custo de aquisição do padrão analítico do SFZ, a baixa oferta de fornecedores no país, e até mesmo, a complexidade de síntese alternativa a industrial, a exemplo da realizada por Kai *et al.* (2012), podem dificultar ou inviabilizar o desenvolvimento das pesquisas com SFZ utilizando reagentes de elevada pureza como de grau padrão analítico.

Neste contexto, este trabalho propõe uma alternativa de obtenção de SFZ com boa pureza do reagente usando procedimento de extração a partir de uma formulação comercial de herbicida, procedimento esse de baixa complexidade de execução, além de economicamente viável. Para auxiliar na análise qualitativa do material obtido pelo procedimento de extração proposto, foram utilizadas as técnicas de espectroscopia de

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e de análise térmica (termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial).

Explorando as propriedades de ácido fraco do SFZ (Kramer, 1994; Grey *et al.,* 2000), a potenciometria foi empregada neste estudo para a detecção do ponto final de titulações de neutralização ácido-base, possibilitando a análise quantitativa do teor de SFZ no sólido obtido pelo procedimento de extração proposto. A potenciometria possibilita medidas de pH com boa repetibilidade, devido a excelente resposta do eletrodo de vidro com facilidade de automatização das medições experimentais ou possibilidade de uso em muitos solventes puros e misturas binárias (Demiralay e Yilmaz, 2012). Essas titulações também permitiram a determinação de valores de pK_a em condições experimentais ainda não descritas na literatura para este pesticida. O pK_a é um parâmetro físico-químico importante que permite conhecer possíveis efeitos produzidos pelas substâncias em sistemas biológicos incluindo o meio ambiente (Babic *et al*., 2007). O conhecimento do valor de pK_a e de outras propriedades físico-químicas para um pesticida possibilita prever a tendência desse pesticida em ser carreado para a água, o solo ou o ar prevendo suas rotas de destino e o transporte do composto químico (Silva, 2004).

Cada pesticida possui uma série específica de propriedades físico-químicas, em virtude do número de átomos que os compõem e do tipo do arranjo estrutural. As principias propriedades físico-químicas relacionadas ao comportamento ambiental do pesticida são: constante de ionização ácida (pK_a) ou básica (pK_b), solubilidade em água (S_w), pressão de vapor (P), constante da lei de Henry (K_H) e coeficiente de partição n-octanol-água (K_{OH}) (Lavorenti *et al*., 2003).

Em estudos de comportamento de pesticidas no solo, os valores das constantes de ionização ácido/base (K_a ou K_b) são convertidos para suas formas logarítmicas pK_a ou pK_b (pK= -log K), e representam o comportamento dessas moléculas com caráter de ácido fraco ou de base fraca, respectivamente, quanto a tendência de se ionizarem em água. Os valores dessas constantes são importantes, pois definem a faixa de pH na qual o pesticida irá ionizar-se. Quando o pH do meio (água do solo) apresentar duas ou mais unidades superiores ao pK_a do pesticida, verifica-se que 99% das moléculas estarão na forma aniônica, apresentando maior mobilidade no perfil do solo. Uma importância prática do conhecimento dos valores de pK_a é que quando se efetua a calagem do solo para elevar o pH pode-se aumentar a ionização dos pesticidas ácidos, ocasionando a predisposição desses à lixiviação para lençol freático (Lavorenti *et al*., 2003).

PARTE EXPERIMENTAL

2.1.Reagentes e soluções

Todos os reagentes empregados foram de grau analítico, sem qualquer purificação adicional, e as soluções foram preparadas com água destilada e deionizada ou ultrapura (Sistema Milli-Q, Millipore). Sulfentrazone (99,5%, m/m) e hidrogenoftalato de potássio (P.A, 99,95-100,05% (m/m)) foram usados como reagentes de grau padrão analítico e adquiridos de Chemservice® e Vetec®, respectivamente. Acetonitrila, grau HPLC (J.T. Baker®, 99,99%) e etanol P.A. (Dinâmica®, 96%) foram usados como solventes. Hidróxido de sódio, micropéroloas P. A. (Vetec®, 98% (m/m)) foi usado na preparação de soluções usadas como titulante.

A formulação comercial utilizada no estudo foi Boral 500SC®, 50% (m/v), da FMC Química do Brasil. Duas amostras de formulação foram utilizadas no estudo, uma adquirida em lojas de insumos agrícolas (em dezembro de 2012), e outra por doação de representante comercial da FMC (fevereiro de 2016).

As soluções de hidróxido de sódio (NaOH 1 ou 0,01 mol L^{-1}), usadas como titulante nas titulações potenciométricas para determinação do teor de SFZ, nas amostras de formulação comercial ou nos sólidos obtidos por procedimento de extração proposto, foram preparadas livre de carbonatos (CO_3^{-2}/HCO_3^{-1}). Inicialmente, a água destilada foi aquecida até ebulição para remoção do dióxido de carbono dissolvido. Posteriormente, as soluções foram preparadas dissolvendo as lentilhas de hidróxido de sódio na água previamente aquecida. As soluções de hidróxido de sódio foram padronizadas com o padrão primário hidrogenoftalato de potássio ($KHC_8H_4O_4$) também por titulações potenciométricas com eletrodo de vidro, em triplicata (Feinstein, 1981).

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

A concentração de NaOH foi determinada por tratamento das curvas de pH versus volume sendo os volumes de equivalência determinados pelo método de primeira derivada. A primeira derivada apresenta um valor no ponto de inflexão da curva de titulação, que inicia próximo de zero antes do ponto final até atingir o máximo no ponto final, voltando a quase zero após o ponto final (Pereira *et al*., 2011).

Para a calibração do medidor de pH, utilizam-se soluções de pH 4,00 (hidrogenoftalato de potássio 0,05 mol/L) e de pH 7,00 (0,0110 mol/L de fosfato de potássio monobásico, e 0,0130 mol/L de fosfato de sódio bibásico).

2.2. Materiais e equipamentos

As massas dos reagentes e de amostras de SFZ analisadas, resultante do procedimento de extração proposto, foram medidas com uma balança analítica (Sartorius BL260S).

As titulações potenciométricas foram realizadas com medidor de pH TECNAL, modelo TEC 3MP, agitador HANNA Instruments MAGNETIC STIRRER HI 190M e eletrodo combinado para medida de pH (eletrodo combinado de vidro para medidas de pH em meio alcoólico, SENSOGLASS SA02 N/S:0016/13, com sistema de referência Ag/AgCl, diafragma anular e solução interna de LiCl 2 mol L^{-1} em etanol, ou eletrodo de vidro universal para medidas de pH em meio aquoso com sistema de referência Ag/AgCl, KCl 3 mol L^{-1} e diafragma de pino cerâmico).

As análises por FTIR-PAS empregaram um espectrofotômetro THERMO NICOLET, Nexus 670, com detecção por fotoacústica na região espectral de 4000 a 400 cm^{-1}. O espectrofotômetro possui resolução de 16 cm^{-1} e 128 varreduras.

As análises térmicas (termogravimetria – TG - e calorimetria exploratória diferencial - DSC) foram realizadas em analisador térmico simultâneo TG/DSC, modelo STA 449 F3 Jupiter (NETZSCH) em cadinho de Pt/Rh sob atmosfera inerte de nitrogênio (fluxo de gás: 20 mL min^{-1}) usando massa de amostra de 27,416 mg.

Uma chapa aquecedora Nova Ética modelo 208 foi usada para aquecer soluções durante o processo de extração do SFZ da formulação comercial. Para o processo de secagem do material sólido contendo SFZ, obtido no processo de extração, utilizou-se uma estufa à vácuo Nova Ética (modelo 440/D) acoplada a bomba de vácuo Quimis Q–355B.

2.3 Determinação da concentração de SFZ na formulação comercial

A etapa de determinação da concentração de SFZ, na formulação comercial de herbicida, foi realizada por titulação potenciométrica ácido-base. Uma alíquota de volume conhecido da formulação foi diluída com água destilada e deionizada em balão volumétrico. Em seguida, alíquotas da amostra diluída foram tituladas com solução padrão de NaOH (0,9553 ou 1,035 mol L^{-1}).

2.4 Desenvolvimento do procedimento de extração de SFZ da formulação

A mistura de volumes idênticos (10,0 mL) de formulação comercial de herbicida e água destilada e deionizada foi aquecida (60 °C) com controle de temperatura levando a turvação da mistura, separação de fases, com formação de um precipitado. O aquecimento foi mantido por um período de tempo conhecido (30 ou 60 min.). Após esse período e a temperatura retornar a ambiente, o sólido formado foi filtrado em um cadinho de vidro (Gooch) com placa porosa, fixado em um sistema acoplado a tromba de vácuo. O material filtrado foi submetido à secagem em uma estufa a vácuo por 24 horas, e depois acondicionado em dessecador e denominado purificado. A secagem a vácuo foi adotada para evitar temperaturas elevadas de secagem e pelo fato de o SFZ não ser volátil, apresentando baixa pressão de vapor de $1{,}0 \times 10^{-9}$ mmHg na temperatura de 25°C (EPA, 2017). Neste procedimento de extração, foram empregados os tempos de aquecimento de 30 e 60 min e as temperaturas para secagem de 60 e 70°C para avaliar o efeito do tempo e da temperatura sobre o teor de SFZ no sólido purificado.

2.5 Caracterização do material purificado

Para determinação do teor de SFZ no sólido obtido pelo processo de extração, foram

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

realizadas titulações potenciométricas com eletrodo de vidro, utilizando massas conhecidas do sólido contendo SFZ, diluídas em mistura solvente etanol (P.A.) e água. A mistura dos solventes foi adotada para facilitar a dissolução do sólido devido à baixa solubilidade do SFZ em água.

Este material também foi caracterizado por espectroscopia fotoacústica no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR-PAS) e análise térmica (TG e DSC), após ser mantido em estufa a vácuo para eliminar resíduos de água por 24 horas. FTIR-PAS foi também usada para obter absorção espectral do padrão analítico de sulfentrazone na região do infravermelho médio.

2.6 Determinação por titulação potenciométrica dos valores de pK_a do SFZ em misturas binárias água/acetonitrila

Foram pesadas massas conhecidas entre 50,6 e 51,3 mg (com precisão de ± 0,1 mg) de SFZ obtido pelo procedimento de extração proposto e dissolvidas em 50,0 mL de soluções de acetonitrila (ACN)/água com proporções de 10%, 20% 30% e 40% (v/v) em ACN, sob agitação magnética durante 5 minutos. Posteriormente, as soluções de SFZ foram tituladas com solução padrão de hidróxido de sódio 0,01 mol L^{-1}, em quaduplicata, para cada mistura binária ACN/água.

2.7 Tratamento matemático das curvas de titulação

O tratamento das curvas de pH versus volume de titulante das titulações, para a obtenção de valores de pK_a e a concentração do SFZ nas amostras, foi realizado com o programa CurTiPot, versão 3.6.1 para MS-EXCEL (Gutz, 2015). O programa foi utilizado usando o módulo "Análise I", que possibilita a determinação precisa e automática das inflexões (pontos finais, volumes de equivalência) usando as curvas de primeira derivada por interpolação com alisamento**.** Uma vez determinado o ponto final (volume) após interpolação dos dados com alisamento e usando a equação de Henderson-Hasselbalch, é possível obter para metade deste volume o valor de pH, situação em que pH = pK_a (Pereira *et al*., 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

3.1 Determinação da concentração de SFZ em amostras de formulação comercial

A etapa inicial do estudo representada pela dosagem da concentração de SFZ nas amostras de formulação comercial de herbicida foi realizada com a técnica de titulação potenciométrica. As amostras utilizadas foram de formulação comercial de herbicida da marca Boral 500SC® fabricada e comercializada no Brasil pela FMC. Essa formulação é do tipo suspensão concentrada contendo, segundo fabricante, 500 g L^{-1} de sulfentrazone, e outros ingredientes como etilenoglicol (FMC, 2005 e FMC, 2016) e dimetilpolisiloxano FMC, 2005), descritos na Tabela 1. O etilenoglicol é utilizado com função anticongelante em formulações agroquímicas de suspensões concentradas (SC). O dimetilpolisiloxano, também conhecido dimetilsilicona e polidimetilsiloxano (PDMS) é um polímero com funções de surfactante e antiespumante. É provável que outras substâncias inertes, denominadas adjuvantes, capazes de modificar a atividade dos ingredientes ativos aplicados e características da pulverização das plantas daninhas, e comumente acrescentadas à formulação de pesticidas pelos seus fabricantes, estejam presentes na formulação de herbicida utilizada (Queiroz *et al*., 2008). Esses adjuvantes são divididos em duas classes: os modificadores das propriedades de superfícies dos líquidos (surfactantes, umectantes, aderentes, entre outros) e os aditivos (óleo mineral ou vegetal, entre outros) que afetam a capacidade de absorção da formulação devido a sua ação sobre a cutícula das plantas (Vargas e Roman, 2006).

Foram utilizadas alíquotas de 50,00 mL de solução diluída de cada amostra em água destilada e tituladas com solução padrão de NaOH ao nível de concentração de 1 mol L^{-1}. Este processo foi realizado em triplicata para cada amostra, obtendo-se as concentrações determinadas apresentadas na Tabela 1, com valores bem próximos do rotulado pelo fabricante do Boral 500SC® de 500 g L^{-1}. A concentração de SFZ foi determinada por tratamento das curvas de pH versus volume sendo os volumes de equivalência determinados com auxílio do

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

software CurTiPot (Gutz, 2015).

Uma das curvas de titulação obtidas está representada na Figura 2. É possível observar uma sigmoide com apenas um ponto de inflexão, característica para titulação de um ácido monoprótico como o SFZ (Skoog *et al*., 2010). Uma curva semelhante foi obtida por Grey *et al*. (2000) no estudo de titulação do SFZ diluído em uma solução de DMSO 50% em água. Grey *et al*. (2000) caracterizaram a molécula de sulfentrazone quanto a padrões de carga relativas ou presença de regiões de carga positiva ou negativa em termos de densidade eletrônica através de técnicas gráficas tridimensionais (modelagem computacional). Os gráficos obtidos demonstraram que o sulfentrazone, por meio de forças atrativas de London, Van der Walls ou mais fracas, tem um potencial para adsorção aniônica e catiônica. Esses autores confirmaram o comportamento de ácido fraco do SFZ usando titulações potenciométricas com bases pela conversão da forma neutra ácida para a forma aniônica. Determinaram ainda, a sorção e mobilidade do herbicida em solos utilizando as técnicas de resina de troca iônica e eletroforese em gel.

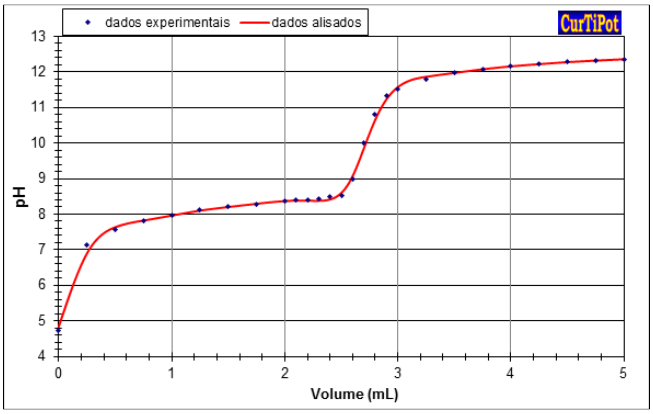


Figura 2: *Curva da titulação de uma alíquota de 50,00 mL da solução diluída da formulação comercial de SFZ (amostra 1) com solução padrão de NaOH 0,9553 mol L^{-1}. Uma alíquota de 10,00 mL da formulação comercial (Boral 500SC®) foi diluída com água destilada e deionizada em um balão volumétrico de 250,0 mL.*

O sulfentrazone é um ácido fraco e possui constante de dissociação ácida (pK_a) igual a 6,56 a 20°C, determinada por espectrofotometria de absorção no UV segundo Kramer (1994). No entanto, os valores de pK_a, determinados nas duas amostras de formulação comercial e analisadas por potenciometria através da equação de Henderson-Hasselbalch, são de 8,23 e 8,35 (Tabela 1).

Esta discrepância entre os valores determinados neste estudo e o descrito na literatura pode ter várias causas. Em menor extensão, se deve a utilização de métodos e técnicas diferentes de obtenção do valor de p*K*a. Geralmente, o método da potenciometria fornece valores de pK_a mais precisos quando comparado com outros métodos, além da possibilidade de ser utilizado em intervalos maiores de pK_a (Ossowski *et al.,* 2008). Ossowski *et al*. (2008) determinaram o valor de pK_a para quatro compostos da classe das hidroquinonas usando titulações potenciométricas e espectrofotométricas. A diferença entre os valores determinados pelas duas técnicas para o pK_a das hidroquinonas variou de 0,16 a 0,23 unidades de pH (Ossowski *et al*., 2008).

O solvente utilizado no procedimento também pode afetar no valor encontrado de pK_a, visto que altera a capacidade de solvatação do composto obtendo, assim, valores mais altos de pK_a (Ossowski *et al*., 2008). Além disso, a existência de surfactantes, utilizados para melhorar a solubilidade em água de alguns compostos, como para o SFZ em formulação de herbicida, pode provocar alterações nos valores de p*K*a encontrados experimentalmente. Estes surfactantes podem provocar alterações das propriedades físicas da água (Ravichandiran *et al*. 2011).

3.2 Otimização do procedimento de extração

Um fluxograma do procedimento de extração e purificação de SFZ a partir da formulação comercial é apresentado na Figura 3.

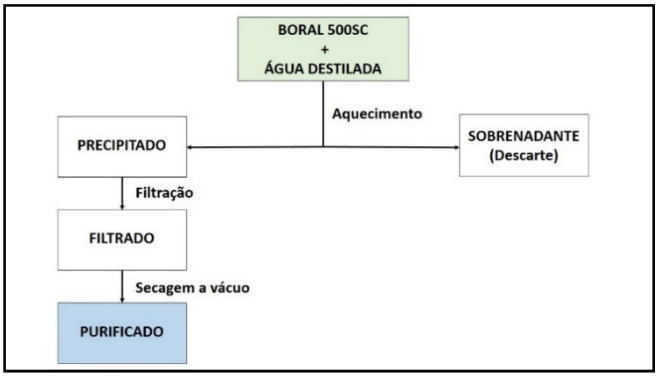


Figura 3: *Fluxograma do processo de extração e purificação do SFZ a partir da formulação comercial*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

A mistura, contendo formulação comercial e água destilada, foi submetida a aquecimento (60°C), seguido de resfriamento até alcançar a temperatura ambiente. A temperatura de aquecimento necessária para precipitação do SFZ foi de 60°C, segundo testes iniciais. Observou-se a separação de fases – característica de uma extração por ponto de névoa (CPE) - com formação de sobrenadante, contendo as substâncias inertes solúveis em água, e o precipitado, que contém o SFZ. Este precipitado foi filtrado em um cadinho de vidro de placa porosa acoplado a uma tromba a vácuo. Para eliminar a água residual do purificado, este material foi seco em estufa a vácuo, por 24 horas.

Em técnicas utilizadas para determinação de pesticidas como, cromatografia gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência, a CPE pode ser utilizada como etapa alternativa de pré-concentração por dispensar a necessidade de utilizar reagentes orgânicos e ser de fácil execução (Filik e Çekiç, 2011). O resfriamento ou aquecimento de uma emulsão (ou microemulsão) contendo surfactantes, como no caso de uma formulação comercial de herbicidas, provoca a formação de duas ou, até mesmo, três fases de separação (Chen *et al.*, 2000).

O estudo para otimizar o procedimento de extração foi desenvolvido alterando as condições experimentais de tempo de aquecimento e temperatura de secagem e verificando as implicações das modificações no teor de SFZ no precipitado. O teor de SFZ em %(m/m) foi determinado por titulações de neutralização ácido-base. As titulações de neutralização fornecem métodos convenientes para a determinação direta e indireta de substâncias orgânicas contendo grupos funcionais ácidos ou básicos (Skoog *et al.*, 2010).

A dificuldade de dissolução do material purificado foi contornada com a utilização de pequenas massas do purificado (da ordem de 50,0 mg) dissolvidas com a mistura de 25,0 mL de água destilada e 25,0 mL de etanol (P.A.). A solubilidade do SFZ em água é de 490 mg L^{-1}, na temperatura de 25°C (Wu *et al.*, 2010; Rodrigues e Almeida, 2005). Em água com pH = 5, o SFZ possui baixa suscetibilidade a hidrólise com tempo de meia vida de 143 dias (Serafini, 2006).

Para verificar a confiabilidade de titulações de neutralização potenciométricas para essa finalidade, duas titulações de uma massa conhecida de amostra de precipitado com e sem adição de padrão de SFZ foram realizadas (Figura 4).

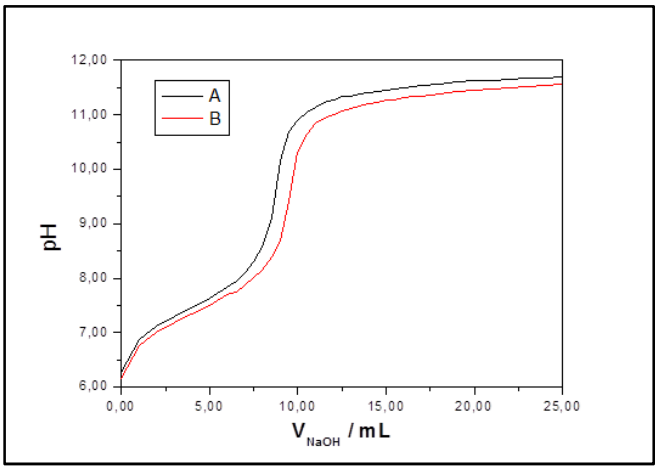


FIGURA 4: *Curvas de titulação potenciométrica com solução titulante de NaOH 0,00813 mol L^{-1} de uma massa de precipitado (30,7 mg) sem (A) e com adição de 5,32 µmol de padrão de SFZ (B), dissolvida em 50,0 mL da mistura água/etanol (50%, v/v).*

As análises das curvas de titulação foram realizadas empregando o programa CurTiPot (Gutz, 2015), versão 3.6.1 para MS-EXCEL e os dados obtidos estão expressos na Tabela 2. A adição do padrão de SFZ resultou no aumento do volume de equivalência (V_{eq}) como previsto. Os valores de p*K*a e do pH no ponto final (PF) das titulações tiveram pequenas variações. Essas variações podem ter sido causadas pela presença de novo solvente ao meio (Ossowski *et al.*,2008) resultante da adição de 10,00 ml de solução padrão de SFZ em acetonitrila.

Tabela 2 *– Dados das titulações do precipitado com e sem adição de padrão analítico*

Titulação	V_{eq} / mL	pK_a	pH no PF
Sem padrão	$8{,}75_{63}$	$7{,}45_{79}$	$9{,}64_{2}$
Com padrão	$9{,}63_{52}$	$7{,}52_{66}$	$9{,}67_{6}$

Foram avaliados dois tempos de aquecimento (30 e 60 min.) e duas temperaturas (60 e 70°C) de secagem do precipitado adotados no processo de extração. Pela análise dos dados apresentados na Tabela 3, conclui-se que o aumento da temperatura de secagem provoca uma diminuição da porcentagem de SFZ na amostra enquanto que o aumento do tempo de

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

aquecimento de 30 para 60 minutos leva a uma elevação dessa porcentagem. Portanto, com temperatura de secagem de 60°C e tempo de 60 min de aquecimento, o sólido obtido no processo de extração apresenta maior porcentagem de SFZ. A média do teor de SFZ obtida foi de 97,5% (com desvio padrão de 0,5%) nestas condições estabelecidas como mais adequadas para o procedimento de extração proposto.

Ao compararmos com o estudo de Kai *et al*. (2012), em que foi proposto um processo de síntese, envolvendo várias etapas de reações (diazotização com $NaNO_2$, redução com $SnCl_2$, ciclização com acetilação, difluorometilação, nitração, redução, sulfonilação), para obtenção do SFZ com rendimento de 89,3%, constata-se que este processo de extração proposto neste estudo apresentou eficiência superior quanto a facilidade de execução de procedimentos.

Para a determinação da porcentagem de SFZ no material purificado, foram realizadas titulações potenciométricas. As curvas de titulação potenciométrica (Figura 5) das amostras de SFZ obtidas pelo procedimento de extração e, posteriormente, dissolvidas em mistura água/etanol foram características de um ácido fraco monoprótico com forma de sigmoide (Skoog *et al,* 2010) e semelhantes àquelas que foram obtidas para titulação da formulação do herbicida diluída em água (Figura 2), visando a determinação da concentração de SFZ na amostra.

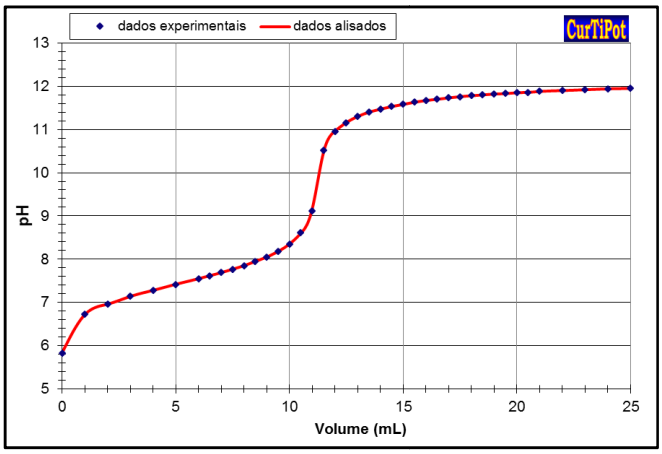


Figura 5*: Curva de titulação potenciométrica de uma massa de SFZ purificado diluído em etanol P.A. e água destilada e titulado com solução padrão de NaOH (0,01 mol* L^{-1}*).*

3.3 Caracterização do precipitado através das técnicas de FTIR e análise térmica

Os métodos de análise óptica representados pela espectroscopia de absorção no infravermelho têm se tornado populares devido a sua natureza não destrutiva, útil na análise de pesticidas (Armenta *et al*., 2007, Ventura *et al*., 2018). Vale destacar que do conhecimento dos autores ainda não há dados em livros textos que descrevem a caracterização da molécula do herbicida SFZ por técnicas espectroscópicas diversas, apesar da já bem conhecida relação estrutura-atividade para herbicidas da classe das feniltriazolinonas com substituintes nas posições 2,4,5 do grupo fenil (Wu *et al*., 2010), existindo dados de FTIR para compostos dessa classe. Recentemente, Ventura *et al.* (2018) caracterizaram o SFZ por espectroscopia de lente térmica na região do infravermelho próximo-próximo. Nesta investigação, os autores também obtiveram o espectro de absorção do SFZ na região do infravermelho médio e atribuíram alguns modos de vibração nesta região do infravermelho a grupos funcionais presentes na molécula deste pesticida.

A análise dos espectros de absorção obtidos por FTIR-PAS para amostras de SFZ padrão analítico e obtidas pelo procedimento de extração proposto possibilitou a identificação dos grupos funcionais triazol da classe das triazolinonas e sulfonamida presentes na molécula de SFZ. Em muitas regiões do espectro, houve sobreposição das bandas presentes no padrão analítico e no sólido contendo SFZ obtido pelo procedimento de extração. Os componentes inertes presentes na formulação comercial, em sua maior parte, foram extraídos, pois não foram detectadas bandas adicionais de possíveis contaminantes presentes como de materiais inertes da formulação no espectro de infravermelho da amostra de SFZ obtido por extração da formulação. Esta constatação corrobora os resultados obtidos nas análises realizadas por titulações potenciométricas para avaliação do processo de purificação.

A atribuição das absorções no infravermelho para o SFZ baseou-se nas comparações com os compostos análogos (Atukuri *et al*., 2011; Parate *et al*., 2013; El-Zemity *et al*., 2006; Ozbek *et al*.,2012; Pagacz-

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Kostrzewa *et al*., 2009; Sarojini *et al*., 2013) da classe dos triazois (Atukuri *et al*., 2011; Parate *et al*., 2013; Pagacz-Kostrzewa *et al*., 2009), das sulfonamidas (El-Zemity *et al*., 2006; Ozbek *et al*.,2012; Sarojini *et al*., 2013) e da própria molécula de SFZ (Ventura *et al*., 2018). As atribuições das principais bandas de absorção no infravermelho estão descritas na Tabela 4.

Uma amostra de sulfentrazone, obtida pelo procedimento de extração nas melhores condições experimentais estabelecidas, foi investigada por análise térmica simultânea usando as técnicas de termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). As curvas TG e DSC são apresentas na Figura 6 e foram obtidas em atmosfera inerte dinâmica de nitrogênio para evitar condições oxidantes (Senneca *et al*., 2007) e facilitar a detecção de possíveis perdas de massa relacionadas a umidade e presença de outras substâncias voláteis, presentes na amostra de SFZ. A curva TG apresenta três intervalos de temperatura de perda de massa. Os intervalos de temperatura e os valores de perda para cada etapa de perda de massa são apresentadas na Tabela 5.

A primeira perda de massa de 2,240% ocorre entre 86,1 e 130,9°C. A temperatura de início de perda de massa foi significativamente superior à de secagem (60°C) em estufa sob vácuo, indicando provavelmente ausência de água de umidade no sólido obtido pela extração e posterior secagem. Neste intervalo de temperatura, a curva DSC apresenta dois picos endotérmicos (110,5 e 120,4°C) parcialmente sobrepostos. O pico em 120,4°C pode ser atribuído a fusão do SFZ, pois seu ponto de fusão é relatado para os intervalos de 121-122°C (EPA, 1997; Health Canada Pest Management Regulatory Agency, 2010) e de 116,8-119,1°C, para produto de grau técnico (FMC, 2005). O pico em temperatura menor (110,5°C) pode ser relacionado a perda de um contaminante volátil da amostra, precipitado concomitantemente com o SFZ. Neste caso, o teor de SFZ no sólido pode ser estimado como de 97,76%; valor que é próximo do determinado por titulação potenciométrica de 97,5±0,5% apresentado na Tabela 3. Considerando que a substância volátil seja água adsorvida ou de cristalização, a perda de massa de 2,240% é consistente com sólido, formado no procedimento de extração seguido de secagem, de uma mistura SFZ/água na proporção molar de 1,0:0,5 com valor teórico de perda de massa atribuída a água de 2,273%.

A segunda perda de massa, a de maior porcentagem de perda (92,906%), ocorre entre 130,9 e 370,6°C. Neste intervalo de temperatura, a curva DSC apresenta um pico endotérmico largo com máximo em 355,5°C e início extrapolado em 300,4°C. Considerando que a primeira perda de massa se relacione a uma substância volátil que precipita concomitantemente com o SFZ, o valor de perda de massa para segunda etapa é estimado em 95,035% da massa de SFZ. Dentro deste intervalo de temperatura para a segunda etapa, o SFZ pode sofrer decomposição, pois seu ponto de fulgor (*flashpoint*) é de 237° C (Look for Chemicals, ChemBK, Chemnet, 2016).

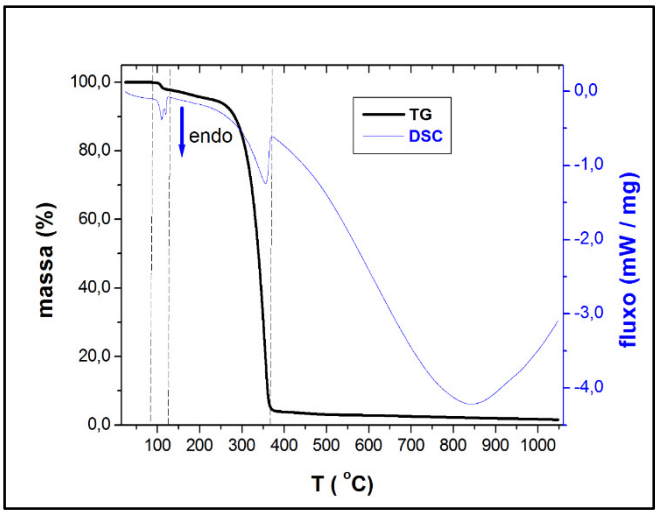


Figura 6: *Curvas TG-DSC em atmosfera de nitrogênio de SFZ obtido pelo procedimento de extração proposto nas melhores condições experimentais estabelecidas.*

De 370,6 até 1047,3°C ocorre a terceira etapa com perda de massa de 3,264% levando a um resíduo de 1,590% (ou de 1,626% de SFZ) a temperatura de 1047,3°C. Na curva DSC, é registrado neste intervalo de temperatura um pico endotérmico muito largo com um máximo em 796,7°C e temperatura de início extrapolado de 467,7°C. Essa temperatura de início extrapolado do pico endotérmico é próxima do ponto de ebulição do SFZ relatado como de 468,2°C a pressão de 760 mmHg (Chemnet, 2016). Portanto, a terceira etapa de perda de massa pode ser relacionada a volatilização parcial do SFZ que não se degradou totalmente na segunda etapa.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

3.3 Determinação por titulação potenciométrica de pK_a do SFZ em misturas de água/acetonitrila

Neste estudo devido a solubilidade relativamente baixa do SFZ em água, foi realizada a determinação do pK_a do SFZ utilizando metodologia análoga a proposta por Demiralay *et al.*(2012), que propuseram a correlação linear do pK_a de drogas pouco solúveis em água com a fração molar de acetonitrila (ACN) em misturas binárias ACN/água usadas para dissolução das drogas e a determinação do p*K*a em água dessas drogas por extrapolação usando regressão linear dos dados.

O solvente ACN foi utilizado nestes estudos devido a solubilidade significativa do SFZ neste solvente (18,6 g/ 100 mL) (Health Canada Pest Management Regulatory Agency, 2010). Além da solubilidade alta do SFZ em ACN, essas soluções são bastante estáveis sendo o ACN usado como solvente para preparação de soluções padrão de SFZ (Rao, 2012). Misturas binárias ACN/água também têm sido utilizadas como meio para determinação de pK_a de pesticidas como no estudo de Cadková *et al.* (2013) em que os autores determinaram o pK_a de dois fungicidas do grupo dos 1,2,4-triazois, tebuconazol e penconazol, por titulações potenciométricas realizadas em mistura binária 20% (v/v) ACN/água.

Neste estudo, foram utilizadas soluções binárias de ACN/água em quatro proporções de ACN/água. Os valores determinados de pK_a para SFZ em soluções de misturas binárias de diferentes composições de ACN/água (10, 20, 30 e 40%, de ACN, v/v) estão apresentadas na Tabela 6 . As médias e desvios padrão de pK_a foram calculadas a partir dos dados de titulações realizadas em quadruplicata.

Usando os dados apresentados na Tabela 6, foram construídas figuras de mérito com finalidade de determinar por extrapolação o valor de pK_a para SFZ em água pura, ou seja, na ausência de adição de acetonitrila (ACN), condição que experimentalmente não é possível de se estabelecer devido à baixa solubilidade relativa do SFZ em água.

Tabela 6 – *Valores médios (e desvio padrão) determinados de pK_a para SFZ em função da porcentagem de acetonitrila em volume, %ACN (v/v) ou da* fração molar de acetonitrila, X_{ACN}, *na m*istura acetonitrila/água.

% ACN (v/v)	X_{ACN}	pK_a
10,0	0,03691	$6,55_{68}$ ($0,04_{387}$)
20,0	0,07938	$6,64_{37}$ ($0,01_{715}$)
30,0	0,12878	$6,78_{34}$ ($0,00_{972}$)
40,0	0,18695	$6,94_{89}$ ($0,04_{951}$)

A Figura 7 apresenta o gráfico que correlaciona o valor de pK_a determinado com a fração molar de ACN (X_{ACN}) na mistura água/ACN. O gráfico de pK_a vs. X_{ACN} apresenta evidente relação linear entre estes parâmetros. Esta estratégia de correlação linear do pK_a com a X_{ACN} foi adotada por Demiralay e Yilmaz (2012) na determinação de pK_a de anti-inflamatórios em água usando dados de pK_a obtidos em misturas binárias ACN/água.

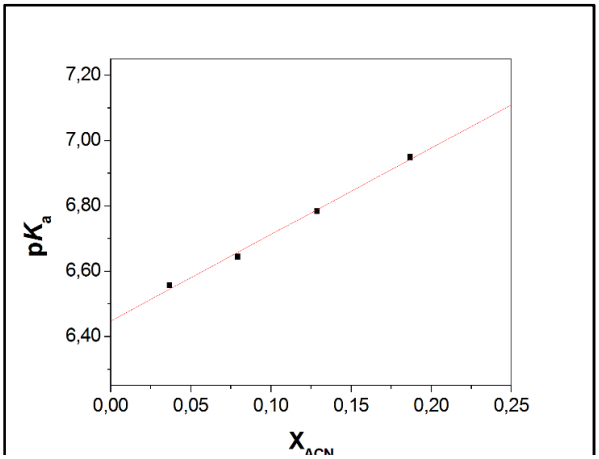


Figura 7 *-Dependência do pK_a com a fração molar de ACN na mistura ACN/água.*

Usando regressão linear, foi constatado que o pK_a varia linearmente com a X_{ACN} segundo a Equação 1:

$$pK_a = 6,44741 + 2,64588\ X_{ACN} \qquad \text{Eq. 1}$$

Conforme pode ser visualizado na Figura 7, a interpolação dos dados usando a regressão linear é bastante satisfatória pelos valores de parâmetros estatísticos (r = 0,99775; DP = 0,01408 e P = 0,00225 para n= 4). Pela regressão linear, o valor extrapolado de pK_a para SFZ em água (ou seja, quando X_{ACN} = 0 na

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Figura 7) a 25,0°C é de 6,45 ± 0,015. Esse valor obtido por potenciometria é bastante próximo do valor de 6,56, determinado a 20°C pela técnica de espectrofotometria, conforme descrito por Kramer (1994).

CONCLUSÕES:

Este estudo descreve com sucesso os resultados obtidos do desenvolvimento de um procedimento de extração para o SFZ, a partir da formulação comercial de herbicida. A potenciometria foi uma técnica analítica útil e de simples execução na determinação do teor de SFZ presente no sólido obtido com a extração, sendo este valor médio de 97,5%(m/m) de SFZ usando as condições experimentais estabelecidas para a extração. A análise comparativa dos espectros de absorção no infravermelho (FTIR) do padrão e do sólido obtido com a extração confirmou qualitativamente a presença do SFZ no material purificado pelo procedimento desenvolvido.

Para o estudo da determinação de pK_a em misturas binárias água/acetonitrila (ACN) a 25,0°C, obteve-se valor extrapolado de pK_a em água pura de 6,45 a partir da correlação linear do gráfico de pK_a versus fração molar de ACN. O valor obtido a temperatura de 25,0°C por potenciometria neste estudo é bastante próximo do valor da literatura de 6,56 determinado para temperatura de 20°C pela técnica de espectrofotometria. Contudo, o valor de pK_a para SFZ determinado por titulações potenciométricas de soluções diluídas da formulação comercial (Tabela 2) foi bastante superior ao de 6,56, indicando que o grau de ionização do SFZ em condições de aplicação do herbicida possa ser bastante distinto na presença de possíveis adjuvantes presentes na formulação comercial do herbicida.

O processo de purificação desenvolvido apresenta-se como uma boa opção para o desenvolvimento de futuros estudos químicos e físicos de caracterização do SFZ devido, principalmente, ao seu baixo custo oferecido quando comparado com o custo de SFZ grau padrão analítico, facilidade de execução e obtenção de massas significativas do pesticida. Dessa forma, surge como uma opção viável para ser usada em pesquisas similares com a possibilidade de ser aplicado para purificação de outros pesticidas a partir de suas formulações comerciais.

AGRADECIMENTOS:

Ao CNPq e a CAPES.

REFERÊNCIAS:

1. AGROFIT - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários.http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons, acessada em: 1 março 2015.
2. ANVISA - Agencia Nacional de Vigilância Sanitária.http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117782/s09.pdf/beabe272-0766-4b5e-a8af-9da11687e962, Acessda em: 20 dezembro 2016.
3. Armenta, S., S. Garrigues, La Guardia, M. Vibrational Spectroscopy, 2007, 44, 273.
4. Arroyo, S. G; Valenzuela, C. M.; Pietrini, R. V.; Waliszewski, S. Pesticides - The Impacts of Pesticides Exposure; Stoytcheva, M., ed; Intech: Croácia, 2011, cap. 15.
5. Atukuri, D., Kattimani, P., Kamble, R. Organic Communications, 2011, 4, 94.
6. Babic, S. Horvat, A. J. M., Pavlovic, D. M., Macan, M. K. Trends in Analytical Chemistry, 2007, 26, 1043.
7. Blanco, F. M. G.; Velini, E. D.; Batista Filho, A. Bragantia, 2010, 69,71.
8. Čadková, E.; Komárek, M.; Debord, J.; Puppa, L. D.; Bordas, F.; Bollinger, J. C. J Solution Chem, 2013, 42, 1075.
9. ChemBK Page. http://www.chembk.com/en/chem/SULFENTRAZONE, acessada em 26 dezembro 2016.
10. Chemnet Page. Disponível em http://www.chemnet.com/cas/en/122836-35-5/Sulfentrazone.html, acessada em 26 dezembro 2016.
11. Chen, F.; Wang, Y.; Zheng, F.; Wu, Y.; Liang, W. A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2000, 175, 257.
12. Chen, A. Handbook of Residue Analytical Methods for Agrochemicals; Lee, P. W., ed.; Wiley: Inglaterra, 2003, cap. Sulfentrazone
13. Demiralay, E. Ç.; Yilmaz, H. SDU Journal of Science, 2012, 7, 34.
14. El-Zemity, S. R.; Badawy, M. E.; Khattab, M. M.; Marei, E. International Journal of Agriculture & Biology, 2006, 8, 661.
15. EPA - Environmental Protection Agency. https://www.federalregister.gov/document

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

s/2014/09/12/2014-21807/sulfentrazone-pesticide-tolerances, acessada em: 25 janeiro 2016.
16. EPA - Environmental Protection Agency, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances (7501C). https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/P100BI9S.PDF?Dockey=P100BI9S.PDF, acessada em: 2 fevereiro 2017.
17. Feinstein, H. I. J. Chem. Educ., 1981, 58, 567.
18. Filik, H.; Çekiç, S. D. Em Pesticides in the modern world – Trends in pesticides analysis; Stoytcheva, M., ed.; InTech: Croacia, 2011, cap.11.
19. FMC, Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos. Produto: Boral 500 SC, Revisão 01, Data: 09/06/2016. http://agroatacado.com.br/wp-content/uploads/2016/08/Ficha-de-seguranc%CC%A7a-Boral.pdf, acessada em: 07 julho 2017.
20. FMC, Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos. Produto: Boral 500 SC, Data de elaboração 09/06/2005. https://www.fmcagricola.com.br/portal/produtos/pdf/Boral%20500%20SC%20-%20FISPQ.pdf, acessada em: 28 março 2016.
21. Grey, T. L.; Walker, R. H.; Wehtje, G. R.; Adams Jr, J.; Dayan, F. E.; Weete, J. D.; Hancock, H. G.; Kwon, O. Weed Science, 2000, 48, 239.
22. Gutz, I. G. R., Programa CurTiPot - pH e Curvas de Titulação Potenciométrica: Análise e Simulação, versão 3.6.1. http://www.iq.usp.br/gutz/Curtipot.html, acessada em: 10 maio 2015.
23. Health Canada Pest Management Regulatory Agency Page.http://publications.gc.ca/site/archivee-archived.html?url=http://publications.gc.ca/collections/collection_2010/arla-pmra/H113-26-2010-8-eng.pdf, acessada em: 18 novembro 2016.
24. Kai, L., Gang, X., Lirong, Y., Jianping, W. Chemical Reaction Engineering and Technology, 2012, 28, 412.
25. Kramer, G. F., Memorandum. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances.https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/cleared_reviews/csr_PC-129081_25-Apr-94.pdf, acessada em: 10 dezembro 2016.
26. Lavorenti, A.; Prata, F.; Regitano, J.B. Em Tópicos em ciência do solo; Curi, N.; Marques, J.J.; Guilherme, L.R.G.; Lima, J.M.; Lopes, A.S.; Alvarez V., eds.; Suprema: Viçosa, 2003, p. 291.
27. Look for Chemicals Page. http://www.lookchem.com/Sulfentrazone/, acessada em 26 dezembro 2016.
28. Martinez, C. A.; Silva, C. M. M. S.; Fay, E. F.; Maia, A. H. N.; Abakerli, R. B.; Durrant, L. R. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40, 879.
29. Monquero, P. A.; Silva, P. V.; Silva Hirata, A.C.; Tablas, D.C.; Orzari, I. Planta Daninha, 2010, 28,185.
30. Ossowski, T.; Goulart, M. O. F.; de Abreu, F. C.; Sant'ana, A. E. G.; Miranda, P. R. B.; Costa, C. O.; Liwo, A.; Falkowski, P.; Zarzeczanska, D. Journal of the Brazilian Chemical Society, 2008, 19, 175.
31. Ozbek, N.; Alyar, S.; Mamas, S.; Sahin, E.; Karacan, N. Journal of Molecular Structure, 2012, 1010, 1.
32. Pagacz-Kostrzewa, M.; Bronisz, R.; Wierzejewska, M. Chemical Physics Letters, 2009, 473, 238.
33. Parate, A., Sharma, R., Chaturvedi, S. H. Middle-East Journal of Scientific Research, 2013, 17, 237.
34. Pereira, A. V.; Garabeli, A. A.; Schunemann, G. D.; Borck, P. C. Quim. Nova, 2011, 34, 1656.
35. Queiroz, A. A.; Martins, J. A. S.; Cunha, J.P.A.R. Bioscience Journal, 2008, 24, 8.
36. Rao, T. N. International Journal of Advanced Scientific and Technical Research, 2012, 5, 50.
37. Ravichandiran, V.; Devarajan, V.; Masilamani, K. Der Pharmacia Lettre, 2011, 3, 183.
38. Rodrigues, B. N.; Almeida, F. S. Guia de herbicidas, 5a. ed., Editora do autor: Londrina, 2005.
39. Sarojini, K.; Krishnan, H.; Kanakam, C. C.; Muthu, S. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2013, 108, 159.
40. Senneca, O.; Scherillo, F.; Nunziata, A. Journal of Analytical Applied Pyrolysis, 2007, 80, 61.
41. Serafini, M. P., New York State Department of Environmental Conservation, Division of Solid and Hazardous Materials, Bureau of Pesticides

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Management.http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/herb-growthreg/sethoxydim-vernolate/sulfentrazone/EH_1416_Wdrawl.pdf, acessada em: 28 março 2016.
42. Silva, C. M. M. S.; Fay, E. F.; Agrotóxicos Aspectos Gerais: Agrotóxicos e Ambiente, 1a. ed., Embrapa: Brasília, 2004.
43. SINDAG - Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola. http://livrozilla.com/doc/430826/conexão---sindag, Acessda em: 25 setembro 2016.
44. Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J.; Crouch, S. R. Fundamentos de Química Analítica, 8a. ed., Cencage Learning: São Paulo, 2010.
45. Smith, B. Infrared spectral interpretation. A systematic approach, 1a. ed., CRC Press: Boca Raton, 1999.
46. Vargas, L.; Roman, E. S., Conceitos e aplicações dos adjuvantes, 2006. http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do56.pdf, acessada em: 16 janeiro 2017.
47. Ventura, M.; Silva, J.R.; Andrade, L.H.C.; Scorza Júnior, R.P.; Lima, S.M.; Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc., 2018, 188, 32.
48. Wu, Q.; Wang, G.; Huang, S.; Lin, L.; Yang, G. Molecules, 2010, 13, 9024.
49. Yang, Z.; Sheng-Gang, Y.; Yan-Ping, L.; Ying, T.; Ge-Fei, H.; Qiong-You, W.; Zhen, X.; Guang-Fu, Y. Bioorg Med Chem., 2013, 21, 3245.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 1 *– Concentração (média ± desvio padrão, n =3) de sulfentrazone ([SFZ]) nas amostras de formulação comercial determinada por titulação potenciométrica*

Amostra	Composição	[SFZ] / g L^{-1}	p*Ka*
1	SFZ (500 g L^{-1}) Dimetilpolisiloxano (2,4 g L^{-1}) Monoetilenoglicol (48,9 g L^{-1})	492,2 ± 5,3	8,23 ± 0,08
2	SFZ (500 g L^{-1}) Etilenoglicol (> 50 – 100 g L^{-1})	479,8 ± 1,2	8,35 ±0,01

Tabela 3*: Influência das condições experimentais (tempo de aquecimento – t - e temperatura de secagem- T) do procedimento de extração de SFZ proposto na porcentagem de SFZ no sólido obtido*

Amostra	t (min)	T (°C)	% SFZ (m/m)
A	30	70	85,9±0,6
	30	60	91,8±0,2
B	60	60	97,5±0,5

Tabela 4***:*** *Atribuição dos modos de vibração aos grupos funcionais para os espectros de FTIR-PAS do padrão analítico e amostra de SFZ obtida por procedimento de extração proposto****.***

Grupo	Atribuições*	Dados experimentais (cm^{-1})		Dados da literatura (cm^{-1})
		Padrão	Amostra	
Triazol	$\nu_{C=O}$	1743	1736	1743 (Ventura et al., 2018); 1717 (Atukuri , 2011),
	C=N	1612	1606	1605 (Atukuri , 2011), 1628 (Parate, 2013)
	ν_{NH}	1168	1166	1123 (Parate, 2013), 1163 (Pagacz-Kostrzewa et al, 2009)
	ν_{CN}	1558	1557	1528-1549 (Pagacz-Kostrzewa et al, 2009)
Sulfonamida	ν_{assSO2}	1319	1320	1309-1318(Ozbek et al, 2008)
	ν_{sSO2}	1149	1149	1110-1143(El-Zemity et al., 2006), 1136-1148(Ozbek et al., 2008), 1155(Sarojini et al., 2013), 1135-1165(Smith, 1999)
	δ_{NH}	1461	1457	1460-1470(Ozbek et al., 2008)
	ν_{NH}	3241	3238	3241-3273(Ozbek et al, 2008), 3274(Sarojini et al., 2013), 3240 (Ventura et al., 2018)

*Vibrações das moléculas: ν = Frequências de vibrações correspondentes a estiramentos;
δ = Frequência correspondente a modo de deformação angular.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 5: *Intervalos de temperatura (θ), perdas de massa, e temperatura de picos para cada etapa das curvas TG-DSC de amostra de sulfentrazone obtida pelo procedimento proposto.*

Parâmetros	1ª etapa	2ª etapa	3ª etapa
θ / °C [a]	86,1 – 130,9	130,9 -370,6	370,6 – 1047,3
Perda (amostra) / %	2,240	92,906	3,264
Perda (SFZ) / % [b]	-----	95,035	3,339
Pico (onset) [c] **/ °C**	110,5	355,5 (300,4)	796,7 (467,7)

[a] determinada pelo software TA Instruments Universal Analysis V4.5A; [b] perda de massa estimada considerando que a primeira etapa não se deve ao SFZ e calculada pela fórmula: perda(amostra) x 100/(100 - 2,240); [c] temperatura de início extrapolado, obtida com software TA Instruments Universal Analysis V4.5A.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

DESENVOLVENDO A TABELA PERIÓDICA E UM JOGO DIDÁTICO A PARTIR DE MATERIAIS ALTERNATIVOS: PROPOSTAS METODOLÓGICAS PARA O ENSINO DE CIÊNCIAS

DEVELOPING A PERIODIC TABLE AND A DIDACTIC GAME FROM ALTERNATIVE MATERIALS: METHODOLOGICAL PROPOSALS FOR SCIENCE TEACHING

DE ALENCAR, Francisco Venicio Sousa[1*]; DA SILVA, Antonio Fernando[1]; DA SILVA, Lucimar Machado[1]; DE CARVALHO, Rusbene Bruno Fonseca[1]

[1]Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, Centro de Educação, Ciências Exatas e Naturais Programa Darcy Ribeiro – PDR, Coelho Neto - MA, Brasil.

** Autor correspondente*
e-mail: franciscovenialencar@gmail.com

Received 03 January 2017; received in revised form 16 February 2017; accepted 22 February 2017

RESUMO

Objeto constante de discussões no meio acadêmico, as dificuldades dos alunos em compreender conteúdos relacionados à tabela periódica e suas propriedades aparecem já no Ensino Fundamental, quando eles têm os primeiros contatos com tal conteúdo. Nesse contexto, este estudo teve por objetivo a construção de uma tabela periódica a partir de materiais alternativos, bem como a aplicação de um jogo didático, que abordam as propriedades periódicas para alunos do ensino fundamental em uma escola municipal na cidade de Duque Bacelar, Maranhão. Inicialmente, foi aplicado um questionário com questões abertas com o com intuito de caracterizar o perfil dos alunos e avaliar seus conhecimentos prévios, em seguida, foram realizadas em conjunto com os alunos pesquisas bibliográficas para coletar informações necessárias para a elaboração dessas atividades. As propostas metodológicas permitiram aos alunos a oportunidade de vivenciar uma aula diferenciada aprendendo conceitos sobre os elementos químicos de maneira dinâmica, bem como ajudou a entender o posicionamento de cada elemento na tabela periódica. Tais atividades mostraram-se ser uma boa alternativa para o ensino de ciências, visto que os alunos mostraram-se mais interessados e motivados em estudar a disciplina de ciências, transformando o ambiente escolar em um ambiente lúdico, favorecendo a interação aluno/professor e aluno/aluno.

Palavras chaves: *Atividades experimentais, Ensino fundamental, Aprendizagem*.

ABSTRACT

Students since Elementary School struggle in understanding contents related to periodic table and its properties. This topic has been frequently discussed in the academic environment. In this context, this study aimed to elaborate a periodic table with alternative materials, as well as the application of a teaching game, which covers the periodic properties to students from Elementary School of a municipal school located at Duque Bacelar City, Maranhão State. Initially, a questionnaire with open questions was applied in order to characterize the students profile and to evaluate previous knowledge. Following this, it was performed alongside the students a bibliographic research with a purpose of collecting information needed to the elaboration of these activities. The methodological proposals made possible to students the opportunity to experience a differentiated class, learning concepts about chemical elements in a dynamic way, as well understanding the position of each element in the periodic table. Additionally, these activities showed a good alternative to science teaching, once the students were more interested and motivated in studying science. This also changed the school environment to a playful environment, favoring the interaction student/teacher and student/student.

Keywords: *Experimental activities, Elementary school, Learning*.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

A educação é um processo contínuo e dinâmico que se inicia no nascimento e permanece ao longo da vida do homem. É uma atividade humana, cultural e histórica que ocorre de maneira formal e não formal, em que se estabelecem trocas de saberes, experiências, valores e hábitos, que podem ser conservados e/ou reconstruídos que são passados de geração a geração (Oliveira, 2015).

A disciplina de ciências por muito tempo esteve centrada na memorização de conteúdos (fatos e leis), na realização de atividades de mecanização e na aplicação de regras à resolução de questões similares às anteriormente apresentadas e resolvidas pelo docente (Costa, 1999; Almeida e Fachín-Terán, 2011). Esta visão mecanicista entendia as ciências como um eixo organizado de conhecimentos e regras a aprender e a aplicar sem qualquer ligação com a realidade (Domingos, Neves e Galhardo, 1987; Almeida e Fachín-Terán, 2011). No entanto, o sistema educacional reconhece, atualmente, que um ensino mecanicista conduz a uma aprendizagem insuficiente e limitativa, ao desinteresse e como consequência o insucesso dos alunos (Costa, 2015).

A educação no Brasil passa por transformações, vive um período de grandes desafios e inovações e a escola pode refletir essa situação. O que deve se propor é estimular o desenvolvimento de um conjunto de atitudes e capacidades tais como saber aprender, pesquisar, selecionar informação, concluir e comunicar, é preciso que os alunos investiguem, questionem, construam conhecimentos, utilizem novos meios tecnológicos disponíveis e, sobretudo, ganhem autonomia ao longo da aprendizagem adquirindo, assim, a capacidade de resposta às situações novas que irão encontrar no futuro (Costa, 2015).

No ensino de ciências há necessidades de um pluralismo metodológico com a diversificação de recursos pedagógico-tecnológicos disponíveis para ampliação dos conhecimentos científicos a serem inseridos no ambiente escolar (Wilseke Tosin, 2016). Os professores devem iniciar o ensino da ciência pelas questões e fenômenos que são interessantes e familiares aos alunos e não por abstrações ou fenômenos que estejam fora do alcance da sua percepção, compreensão ou conhecimento, é necessário, que o ensino de ciências esteja ligado diretamente com o mundo e que o aluno possa vir a extrair e aplicar ao seu cotidiano (Mayer *et al*., 2013; Costa, 2015).

Ainda assim, diversos conteúdos são de difícil compreensão para os alunos. Nesse sentido, a motivação e o interesse são fatores determinantes que influenciam diretamente na aprendizagem. Nessa perspectiva, as atividades lúdicas são alternativas viáveis e interessantes para aprimorar as relações entre professor-aluno-conhecimento, motivando os alunos a participarem espontaneamente na aula. Acrescenta-se a isso, o auxílio do caráter lúdico no desenvolvimento da cooperação, da socialização e das relações afetivas e, a possibilidade de utilizar jogos didáticos, de modo a auxiliar os alunos na construção do conhecimento em qualquer área (Pedroso, 2009).

Nesse sentindo, a introdução de novas metodologias em escolas nas quaispredominam um ensino tradicional, podem sofrer, de acordo com Nuñez e colaboradores (2004), alguns obstáculos epistemológicos, devido não estarem familiarizados com essas propostas metodológicas. Soma-se a isso, outro fator que admitimos ser limitante, o número excessivo de alunos em salas de aulas das escolas públicas, que por sua vez poderia dificultar a aplicação dessas novas metodologias (Zômpero e Laburú, 2012).

Levando em consideração a experiência como estagiários e considerando que os alunos das escolas públicas de Duque Bacelar, no Maranhão, onde esse trabalho foi realizado estão habituados com uma metodologia tradicionalista de ensino, na qual o professor expõe o conhecimento de modo pronto e acabado, sem incentivo a reflexão e discussão sobre os fenômenos, este estudo tem como objetivo avaliar e observar a participação, o estímulo e o conhecimento adquirido pelos alunos por meio de uma proposta metodológica, podendo implementar o uso de estratégias de ensino diversificadas, como a construção de uma tabela periódica e um jogo didático a partir de materiais alternativos, para auxiliar na minimização desses obstáculos.

METODOLOGIA

A proposta metodológica foi desenvolvida

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

em uma Unidade de Ensino que fica localizada na cidade de Duque Bacelar no Maranhão (MA),que pertence arede municipal de ensino. A pesquisa foi direcionada aos alunos do ensino fundamental que possuem em sua grade curricular a disciplina ciências.

Durante o estágio obrigatório do curso, observou-se que a escola não apresentava um corpo docente formado na área específica para ministrar a disciplina de ciência e esses acabam por não levar em consideração o pensamento crítico do aluno em relação ao conhecimento científico. A partir desta reflexão e pela facilidade de acesso à escola, surgiu o interesse de desenvolver a proposta metodológica nessa instituição.

Para desenvolver a pesquisa utilizou-se como instrumentos de estudo um questionário com questões abertas (Tabela 1) com intuito de caracterizar o perfil dos alunos participantes na pesquisa, e avaliar seus conhecimentos prévios com relação ao tema. É valido ressaltar que os alunos foram avaliados constantemente com relação a sua participação em sala de aula.

Tabela 1.*Questionário aplicado aos discentes.*

Perguntas	Pontos abordados
1. Você gosta da aula de ciências? Por quê?	Perfil do aluno
2. Quantas horas você dispõe fora o horário escolar para os estudos?	
3. O que você entende sobre tabela periódica?	Avaliação dos conhecimentos prévios dos alunos
4. O que você sabe sobre elemento químico?	
5. O que você entende por família e período?	

Para Chaer e colaboradores (2011), questionário com questões abertas permitem que os participantes tenham mais liberdade em suas respostas. Nelas poderá ser utilizada linguagem própria do respondente e trazem a vantagem de não haver influência das respostas pré-estabelecidas pelo pesquisador, pois o informante escreverá aquilo que lhe vier à mente.

Em seguida, foram realizadas pesquisas bibliográficas para coletar informações necessárias para a elaboração da tabela periódica, tais como, nome dos elementos, números atômicos, símbolos, massas atômicas, períodos, famílias e propriedades físicas e químicas, e exemplos de onde podem ser encontrados esses elementos no cotidiano. É importante ressaltar que essa etapa foi realizada em conjunto com os alunos, e teve como objetivo desenvolver capacidades como interpretação e análise de dados, argumentação, conclusão e tomadas de decisões e o principalmente desenvolverem habilidades cognitivas.

A tabela periódica foi construída a partir de materiais alternativos, tais como, tampa plástica de manteiga, tinta esmalte de várias cores, tecido não tecido (TNT), cola quente e uma estrutura de ferro. Cada tampa de margarina foi pintada de acordo com as cores da tabela, depois colada em seus respectivos lugares, obedecendo ao período e família. Ela foi confeccionada após a aula teórica para facilitar as explicações referentes aos conteúdos relacionados à pesquisa.

Por fim, foi realizado um jogo de cartas dos elementos químicos, contendo 108 (cento e oito) unidades. As cartas foram desenvolvidas no programa computacional (Corel DRAW), e em seguida foram impressas e plastificadas, cada carta tem um diâmetro de 6x10cm, conforme apresentado na Figura 1. As cartas tiveram como ponto de partida o modelo descrito por Godoi, Oliveira e Codognoto (2010), entretanto no desenvolvimento do jogo foram apresentadas modificações.

Figura 1*. Modelo da carta do jogo elementos químicos*

O jogo é composto por 15 elementos da tabela periódica, e para a escolha desses elementos foi realizado um estudo em conjunto

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

com o professor de ciências do nono ano. Foram utilizados os elementos mais trabalhados em sala de aula e os que estão mais presentes no dia a dia, como por exemplo, o nitrogênio, carbono, oxigênio, entre outros.

É valido ressaltar que a confecção do jogo e da tabela periódica foi realizada juntamente com o professor responsável pela turma, para que esse possa utilizar tal metodologia em outras turmas.

2.1. Instruções ao jogo

O jogo dos elementos químicos seguiu a mesma regra do UNO, e são explicadas a seguir.

As cartas serão embaralhadas e cada jogador receberá sete cartas, as demais são viradas para baixo e formam a pilha de compras. Para decidir quem começa, cada jogador retira uma carta da pilha de compras e aquele que tirar a carta com maior número atômico dará início ao jogo, mas, caso haja cartas com números atômicos iguais, iniciará aquele que tiver com o menor número atômico, e as demais voltarão para pilha de compras.

Após o primeiro jogador iniciar o jogo, os demais jogadores deverão jogar uma carta que seja da mesma cor ou que tenha o mesmo símbolo e número atômico da carta de início do jogo ou uma carta do tipo “Mudar de cor” ou “Mudar de cor e comprar 4 cartas”. Caso não tenha nenhuma carta que satisfaça essas condições, o jogador deverá pegar uma carta da pilha de compras, que serão as demais cartas do baralho.

Quando o aluno ficar com apenas uma carta na mão ele deverá dizer a palavra “elementos”. Caso ele não fale e outro aluno perceba, esse deverá pegar duas cartas da pilha de compras. O vencedor do jogo será o primeiro a livrar-se de todas as cartas de sua mão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

3.1. Análise do questionário aplicado aos discentes

Com o objetivo de caracterizar o perfil do aluno e avaliar seus conhecimentos prévios com relação aos conteúdos trabalhados, foi realizada a primeira etapa dessa pesquisa, onde foi aplicado o questionário (Tabela 1) aos discentes do 9° ano.

Iniciou-se com perguntas que caracterizassem o perfil dos alunos, então questionou-se, "Você gosta da aula de ciências? Sim ou não? Por quê?”. Todos marcaram a opção, “sim”, apresentando suas respectivas justificativas, conforme se pode observar em alguns dos relatos abaixo:

“Por que a gente aprende coisa boa”.

“Por que aprendemos tudo sobre elementos químicos e outras coisas”.

“Por que agente aprende mais”.

“Por que é mais fácil de aprender”.

A falta de atividades experimentais pode levar o aluno a não formar um pensamento crítico em relação ao o que é ciências. Nesse sentido, Lima e colaboradores (2010) afirmam,

> Ao refletirmos sobre o ensino de ciências, em especial química, é notória a importância das atividades experimentais como subsídio na construção dos conceitos de ciências, embora alguns professores e alunos costumem atribuir à experimentação um caráter motivador, lúdico, essencialmente vinculado aos sentidos (Lima *et al.*, 2010).

Nessa concepção o autor retrata a importância de se trabalhar atividades experimentais em sala, para construção de um conhecimento científico, abordando conceitos sobre ciências. Concorda-se com os autores quando esses mencionam a importância das atividades experimentais em sala de aula, para construção de um indivíduo de pleno gozo dos conhecimentos científicos, atribuindo a motivação e a ludicidade, como requisito essencial no ensino/aprendizagem. Em um segundo momento, foram apresentadas questões com objetivo de avaliar os conhecimentos prévios dos alunos.

Tolentino, Rocha-Filho e Chagas (1996) destacam que, a classificação periódica dos elementos é, indiscutivelmente, uma das maiores e mais importantes generalizações científicas. Concretizada na década de 60 do século XIX, desde então auxilia como guia de pesquisas em química e, aos poucos, se tornou um importante instrumento didático no ensino de química.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Nessa perspectiva, analisou-se a visão dos alunos sobre os conteúdos relacionados à tabela periódica.

Os alunos foram questionados sobre, "O que você entende sobre tabela periódica?". A grande maioria dos alunos não respondeu a questão, o que caracteriza pouco ou nenhum conhecimento sobre o conteúdo abordado, entretanto alguns apresentaram conceitos sobre a tabela periódica, tais como,

"A tabela periódica nos dar informações sobre cada elemento químico, como nome, estado físico e massa atômica".

"Sabemos pouco sobre tabela periódica, só sabemos alguns símbolos algumas massas e alguns números atômicos".

"A tabela periódica atual nos fornece muitas informações sobre os elementos químicos"

"Eu não entendo muito sobre tabela periódica".

Um dos motivos para grande evasão das respostas pode esta relacionada com as dificuldades dos docentes de contextualizar conteúdos abordando o cotidiano dos alunos, tornando as aulas menos produtivas e mais monótonas. Para Milaré e Alves Filho (2010), o docente,

> Sem formação adequada não possui muitos subsídios para inovar o ensino ou incluir elementos que contextualizam os conteúdos que se desenvolve em sua prática (Milaré e Alves Filho, 2010).

Como desafios, os estudantes de licenciatura têm que mudar essa realidade, a forma de pensar e ensinar ciências, tornando-se professores capazes de inovar em sala de aula, ser ativo, pesquisador-reflexivo.

Outra questão abordada foi, "O que você sabe sobre elemento químico?". Novamente, poucos alunos arriscaram responder, algumas das respostas são apresentadas a seguir.

"Os elementos químicos são divididos em dois grupos".

"É uma massa química"

"Têm muitos elementos químicos importantes como, oxigênio e também o hidrogênio e muitos outros."

O exemplo de oxigênio e hidrogênio apresentada em uma das respostas, pode está relacionado a composição química da água e do ar, elementos que são abordados também em outras disciplinas.

Percebe-se que quando o nível das perguntas aumentava, as dificuldades dos mesmos aumentavam, tal fato pode está relacionado à metodologia do professor e talvez por não buscar novos mecanismos nas aulas de ciências.

Para Costa e colaboradores (2005),

> Metodologia tradicional de ensino de química na educação básica se destaca pela utilização de regras, fórmulas e nomenclaturas, gerando uma grande desmotivação entre os alunos. Soma-se a este fato a ausência de correlação desta disciplina com o cotidiano desses alunos, tornando a Química, que é uma ciência de natureza experimental, excessivamente abstrata. (Costa *et al*., 2005, p. 35).

Nesse contexto é válido ressaltar a importância de se trabalhar as aulas de ciências com o cotidiano, buscando a motivação e o interesse dos discentes em estudar esta disciplina, que para eles é vista como algo abstrato longe da realidade dos mesmos.

E por fim, quando questionados sobre, "O que você entende por família e período da tabela periódica?", Os alunos apresentaram as seguintes respostas;

"As colunas são grupos ou família".

"Na tabela as colunas são chamadas de grupos ou família".

"Atualmente não sabemos sobre períodos e famílias."

Diante das respostas, ficou claro que os alunos não estão assimilando bem os conteúdos e diante das poucas respostas apresentadas fica claro a importância de complementar à aula teórica com novas metodologias.

3.2. Desenvolvendo a Tabela Periódica

Após a aplicação do questionário solicitou-se que cada aluno trouxesse de casa tampas de margarina, para que no próximo encontro fosse confeccionada a tabela periódica. No segundo encontro, deu-se inicio a confecção da tabela periódica, a atividade foi realizada com

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

a participação dos alunos e a colaboração do professor efetivo da disciplina.

No primeiro momento, alguns alunos aparentemente envergonhados preferiram não participar da confecção da tabela (Figura 2A), nesse sentido, Jacó (2008) afirma que, o sentimento de vergonha atua na regulação de ações e condutas e que se manifesta impedindo que realize ações que provoquem ou que possam provocar diminuição frente ao grupo, se manifestando a partir do sentimento de exposição e de inferioridade.

Diante desta situação cabe ao professor estimular os alunos para que esses venham participar de tais atividades em sala, mostrando aos mesmos que estudar pode ser divertido. Nesse contexto, concorda-se com Oliveira e Alves (2005), que afirmam que o professor pode ser uma fonte de estimulo aos alunos e que um dos grandes desafios é criar ações concretas que visem incentivar os alunos a buscar,realizar e favorecer o interesse pela escola. Para Müller (2002), a relação professor-aluno é uma condição do processo de aprendizagem, pois essa relação dinamiza e dá sentido ao processo educativo.

Nessa perspectiva, buscou-se estimular os alunos para que esses participassem, assim pode-se observar que, parte que desenvolvia a tabela periódica acabou por motivar os demais a participarem da atividade (Figura 2B), gerando uma grande interação entre os mesmos.

***Figura 2**. Desenvolvendo a tabela periódica a partir de materiais alternativos. A) Alunos ainda pouco participativos. B) Participação da turma.*

No momento da confecção os alunos apresentaram algumas dificuldades sobre a tabela periódica, com isso se fez necessário o auxílio do livro didático para o início da atividade, tal ação resultou em uma pesquisa elaborada pelos alunos para esclarecer dúvidas relacionadas ao desenvolvimento da tabela.

É valido ressaltar que o livro didático é material necessário na construção do conhecimento e que esse dever servir de complemento no processo de ensino-aprendizagem.

Durante a organização das tampas de margarina que tinha como referência os elementos químicos, observou-se que alguns alunos colocaram as tampas em lugares errados, que não faziam parte daquela família ou período, mas quase que ao mesmo tempo os demais alunos os corrigiam e colocavam no local correto, assim, com participação e interação dos alunos a confecção da tabela foi concluída corretamente (Figura 3).

***Figura 3.** Exposição da tabela periódica.*

3.3. Aplicação do jogo didático

Apesar do baixo índice de acertos comprovou-se a eficácia das atividades lúdicas após a elaboração da tabela periódica, pois a turma teve um melhor rendimento na aplicação do jogo didático mostrando assimilação do conteúdo tabela periódica e os elementos químicos. Esse resultado está em concordância do que é apresentado por Oliveira e colaboradores (2010), na visão dos autores as atividades lúdicas são vistas como recurso facilitador na transmissão do conhecimento.

Inicialmente, explicou-se a regra do jogo, que tem como base o jogo UNO. Em seguida, a turma foi dividida em dois grupos com sete alunos, e cada grupo ficou com um jogo de cartas, no início alguns alunos não queria ficar juntos, mas foram estimulados a interagir para que todos participassem do jogo sem que houvesse dificuldades (Figura 4).

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Figura 4. *Aplicação do jogo didático dos elementos químicos. A) Grupo 1. B) Grupo 2.*

Nesse contexto, concorda-se com Oliveira e Sousa (2008), que afirmam que o brincar compartilhado está associado a um processo de socialização que emerge na vida da criança e adolescente, sendo um processo importante na vida escolar. Sendo assim, atividades lúdicas integram e acionam as esferas motora, cognitiva e afetiva dos seres humanos, elas, ao trabalharem o lado emocional do aluno, influenciam diretamente o processo de ensino e aprendizagem (Santana e Rezende, 2016).

Com base no jogo os alunos assimilaram o conteúdo da tabela de forma mais lúdica. Segundo Oliveira e Sousa (2008),

> Desta forma o aluno brinca com a realidade e assim constrói um universo particular, dando outra significação ao cotidiano, incorporando às suas vivências uma mística que enfatiza sua sensibilidade pelo mundo material (Oliveira e Sousa, 2008, p, 3).

Nessa concepção o aluno passa a construir seu próprio universo de sensibilidade, possibilitando a criação de um conhecimento mais criativo no meio em que vive.

Verificou-se que na aplicação do jogo didático, que os alunos passaram a assimilar melhor os conteúdos, como exemplos, observou-se que ao visualizarem as cartas com os símbolos e os nomes, eles passaram a identificar rapidamente ogrupo e/ou período ao qual o elemento pertencia, tal fato pode está relacionado com desenvolvimento da tabela periódica elaborada com materiais alternativos.

Os resultados corroboram com os obtidos por Zanon, Guerreiro e Oliveira (2008) por meio do jogo ludo químico, no qual os alunos aprenderam sobre o tema e foram estimulados pelo jogo, pois durante a aplicação com turmas diferentes, verificou-se entusiasmo e interesse em jogar, mesmo entre aqueles que só observaram. Além disso, ao ser apresentado o Ludo Químico, o mesmo causou interesse e curiosidade.

Resultados semelhantes também foram observados para o jogo “super átomo” dos autores Castro e Costa (2011), que observaram que os alunos manifestaram grande entusiasmo, pois se tratava de uma atividade nova, diferente da convencional aula tradicional, permitindo que fosse despertada nos alunos uma predisposição para o aprendizado. Durante a aplicação do jogo os alunos foram capazes de relacionar os conceitos se proposições contidas nas cartinhas, com o conhecimento que já apresentavam, e desta maneira puderam reestruturar seu conhecimento, o que foi observado nos discursos dos alunos durante o jogo e nos questionários. A atividade também proporcionou interação entre os alunos, bem como promoveu uma competição saudável entre as equipes, tornando a participação dos alunos prazerosa e divertida.

É importante ressaltar que após o término do projeto a tabela periódica e o jogo dos elementos químicos ficou à disposição da escola para que os demais professores possam utilizar em outras turmas. É valido afirma que o material didático elaborado teve uma boa aceitação por parte dos professores, diretor e principalmente dos alunos.

CONCLUSÕES

Por meio dos resultados obtidos com o questionário, com a elaboração da tabela periódica e a confecção do jogo didático dos elementos químicos, pode-se concluir que a proposta foi importante para a compreensão do conteúdo abordado em sala de aula. A proposta metodológica mostrou ser uma boa alternativa para o ensino de ciências, visto que os alunos mostraram-se mais interessados e motivados em estudar a disciplina de ciências, transformando o ambiente escolar em um ambiente lúdico e mais prazeroso, favorecendo assim uma melhor interação aluno/professor e aluno/aluno, além de pediram aos acadêmicos que desenvolveram os jogos voltassem para a sala de aula com outras atividades.

O estudo contribuiu para o ensino/aprendizagem de forma mais descontraída e dinâmica, proporcionando melhor esclarecimento sobre a tabela periódica e por meio de tais alternativas metodológicas, percebeu-se a importância de diversificar o modo de ensinar. É valido ressaltar que após aplicação do projeto o professor titular da disciplina afirmou

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

que os alunos passaram a participar, interagir e demostrar maior interesse nas aulas de ciências.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa Darcy Ribeiro da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) pela oportunidade de crescimento intelectual e profissional.

REFERÊNCIAS

1. Almeida, D.P.; Fachín-Terán, A. Aprendizagem significativa e seu uso em espaços não formais; Fachín-Terán, A.; Santos, S.C.S.; Novas perspectivas de ensino de ciências em espaços não formais Amazônicos. Manaus: UEA Edições,**2013**.
2. Castro, B.J.; Costa, P.C.; Revista electrónica de investigaciónéneducaciónenciencias, **2011**, 6, 2, 1-13.
3. Cavaliere, A.M. Educação & Sociedade, **2007**, 28, 100, 1015-1035.
4. Chaer, G.; Diniz, R.R.P.; Ribeiro, E.A. R. Evidência, **2011**, 7, 7, 251-266.
5. Costa, T.S.; Ornelas, D.L.; Guimarães, P.I.C.; Merçon, F.A.; Química nova na escola, **2005**, 22, 31-34.
6. Costa, J.A.M. Educação em Ciências: Novas Orientações. Milenion. Millenium - Revista do Instituto Politécnico de Viseu. Acesso em 21 out., **2015**, http://www.ipv.pt/millenium/19_spec6.htm.
7. Costa, J.A. Revista do Instituto Superior Politécnico de Viseu, **1999**, 15, 56-62.
8. Domingos, A.M.; Neves, I.P.; Galhardo, L.;Uma forma de estruturar o ensino e a aprendizagem. (3ª ed.) Lisboa: Livros Horizonte, **1987**.
9. Godoi, T.A.F.; Oliveira, H.P.M.;Codognoto, L.; Química Nova na Escola, **2010**, 32, 1, 22-25.
10. Jacó, J.F. Educação física e adolescência: Professor não vou participar. 2008. 49 f. Trabalho de conclusão do curso (Curso de Educação física) - Faculdade de Educação Física, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, **2008**.
11. Lima, M.C.W.; Almeida, R. O. Juventudes, defasagem escolar e ensino noturno: reflexões sobre a inserção de jovens entre 15 e 17 anos na educação de jovens e adultos – EJA. I Colóquio internacional diálogos juvenis, **2012**, 1-10.
12. Lima, A.A.; Silva, S.A; Souza. S.R.; Xavier, V.M.L. As atividades experimentais no ensino de ciências: construindo caminhos em busca da profissionalização docente;XV Encontro Nacional de Ensino de Química (XV ENEQ) – Brasília, DF, Brasil, **2010**.
13. Mayer, C.M.M.; Paula, J.S.; Santos, L.M.; Araújo, J.A.; Revista Lugares de Educação, **2012**, 3, 6, 230-241.
14. Milaré, T.; Alves Filho, J.P.A.;. Química nova na escola, **2010**, 31, 1, 43-52.
15. Muller, L. S.; Revista Integração ensino pesquisa extensão, **2002**, 31, 276-280.
16. Nuñez, I.B.; O uso de situações problemas no ensino de ciências. Nuñez, I.B.; Ramalho, B.L.; Fundamentos do ensino – aprendizagem das ciências naturais e da matemática: O novo ensino médio. Porto Alegre: Sulina, **2004**.
17. Oliveira, C.B.E.;Alves, P.B.; Paidéia, **2005**, 15, 31, 227-238.
18. Oliveira, N.;Sousa, E.;Intercom – Sociedade Brasileira de Estudos Interdisciplinares da Comunicação, **2008**, 1-12.
19. Oliveira, L.M.S.; Da Silva, O.G.; Ferreira, U.V.S.;Holos, **2010**, 5, 26, 166- 175.
20. Oliveira, M.A.N.; Revista Monografias Ambientais,**2015**, 8-16.
21. Pedroso, C.V. Jogos Didáticos no Ensino de Biologia: uma proposta metodológica baseada em módulo didático. In: IX Congresso Nacional de Educação e III Encontro Sul Brasileiro de Psicopedagogia, 2009, Curitiba/PR. Anais do IX Congresso Nacional de Educação e III Encontro Sul Brasileiro de Psicopedagogia. Curitiba: Champagnat, **2009**.
22. Santana, E.M.; Rezende, D.B. O Uso de Jogos no ensino e aprendizagem de Química: Uma visão dos alunos do 9º ano do ensino fundamental. Disponível em <http://http://quimimoreira.net/Jogos%20no%20ensino%20e%20aprendizagem%20de%20Quimica.pdf>, Acesso em 20 de Agosto de **2016**.
23. Tolentino, M.; Rocha-Filho, R.C.; Chagas, A.P.;Química Nova, **1996**, 20, 1, 113-117.
24. Wilsek, M.A.G.; Tosin J.A.P. Ensinar e Aprender Ciências no Ensino

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Fundamental com Atividades Investigativas através da Resolução de Problemas. Disponível em <http://www.diaadiaeducacao.pr.gov.br/portals/pde/arquivos/1686-8.pdf>, Acesso em 20 de Agosto de **2016**.
25. Zanon, D.A.V.; Guerreiro, M.A.S.; Oliveira, R.C.; Ciências & Cognição, **2008**, 13, 1, 72-81.
26. Zômpero, A.F.; Luburú, C.E.; Investigações em Ensino de Ciências, **2012**, 17, 3, 675-684.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DO NOVO SEMICONDUTOR DE DIAMANTE $CuNbGaSe_3$

STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF THE NEW DIAMOND-LIKE SEMICONDUCTOR $CuNbGaSe_3$

FLORES-CRUZ, Jesus A.[1]; DELGADO, Gerzon E.[2*]; CONTRERAS, Jines E.[2]; QUINTERO, Miguel[3];NIEVES, Luis[3]; GRIMA-GALLARDO, Pedro[3,4]

[1]Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada-Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, C.P. 11500, México
(phone: +52 55 4046071)

[2] Laboratorio de Cristalografía, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela
(phone: +58 274 2401394; fax: +58 274 2401286)

[3]Centro de Estudios de Semiconductores, Departamento de Física, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela
(phone: +58 274 2401332)

[4] Centro Nacional de Tecnologías Ópticas (CNTO) y Centro Investigaciones de Astronomía (CIDA), Mérida 5101, Venezuela
(phone: +58274245-0106)

** Corresponding author*
e-mail: gerzon@ula.ve

Received 17 August 2017; received in revised form 26 November 2017; accepted 28 November 2017

RESUMO

O composto de calcogeneto $CuNbGaSe_3$, pertencente ao sistema I-II-III-VI_3, foi analisado por meio de difracção de raios-X sobre pó e sua estrutura cristalina foi refinada pelo método Rietveld. Este é um tipo de material semicondutor, que melhora as propriedades de semicondutores simples como o $CuGaSe_2$ porque ele acerescenta aplicações spintrônicas devido ao seu comportamento magnético. O padrão de pó foi composto de 94,2% da fase principal $CuNbGaSe_3$ e 5,8% da fase secundária $Cu_{0.667}NbSe_2$. Este material cristaliza com uma estrutura de tipo $CuFeInSe_3$ no grupo espacial tetragonal $P\bar{4}2c$ (Nº 112), os parâmetros da célula unitária *a* = 5,6199(4) Å, *c* = 11,0275 (2) Å, V = 348,28 (4) $Å^3$, com um estrutura de adamantane normal em que ocorre uma degradação de simetria da estrutura de calcopirita $I\bar{4}2d$ para uma estrutura relacionada $P\bar{4}2c$.

Palavras-chave: *Calcogenetos, semicondutores, síntese química, difração de raios X, estrutura cristalina*.

ABSTRACT

The chalcogenide compound $CuNbGaSe_3$, belonging to the system I-II-III-VI_3, has been investigated by means of X-ray powder diffraction and its crystal structure has been refined by the Rietveld method.This is a material of the semiconductor type, which improves the properties of a simple semiconductor like $CuGaSe_2$ because it ads spintronic applications due to its magnetic behavior. The powder pattern was composed by 94.2% of the principal phase $CuNbGaSe_3$ and 5.8% of the secondary phase $Cu_{0.667}NbSe_2$. This material crystallizes with a $CuFeInSe_3$-type structure in the tetragonal space group $P\bar{4}2c$ (Nº 112), unit cell parameters *a* = 5.6199(4) Å, *c* = 11.0275(2) Å, V = 348.28(4) $Å^3$, with a normal adamantane-structure where occurs a degradation of symmetry from the chalcopyrite structure $I\bar{4}2d$ to a related structure $P\bar{4}2c$.

Keywords: *Chalcogenides, semiconductors, chemical synthesis, X-ray diffraction, crystal structure*.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUCTION

The chalcopyrite family of compounds I-III-VI_2 (I = Cu, Ag, III = Al, Ga, In, VI = S, Se, Te) form a wide group of chalcogenide semiconductor materials with diverse optical and electrical properties (Shay and Wernik, 1974). They crystallize with tetragonal symmetry in the space group $I\bar{4}2d$ (N°122), and the addition of a II-VI (II = Zn, Cd, Mn, Fe) binary compound produces alloys of the type $(I\text{-}III\text{-}VI_2)_{1-X}(II\text{-}VI)_X$ (Parthé, 1995). Due to the great variety of possible compositions, these materials can be useful for applications such as tunable semiconductors (Ford *et al*., 2011), photovoltaics (Guo*etet al*., 2010), spintronics (Chambers and Yoo, 2003), non-linear optics (Li *et al*., 2011) and thermoelectrics (Sevik and Ca, 2010).

The formation of some quaternary with compositions Cu-II-III-Se_3 (x = ½), Cu-II_2-III-Se_4 (x =⅔) and Cu_2-II-III-Se_5 (x = ⅓) have been reported (Grima-Gallardo *et al*., 2001a; 2001b, 2007a, 2007b, 2015), and the first crystal structure characterization of one I-II-III-VI_3 semiconductor member, indicated a degradation of symmetry from the chalcopyrite structure $I\bar{4}2d$ to a related tetragonal structure $P\bar{4}2c$ (Mora *et al*., 2007).

In recent years, it has been of interest to carry out a systematic study of the crystal structure of chalcogenide diamond-like families (Delgado *et al*., 2008; 2009; 2010; 2014; 2015), Including compounds with niobium in their structure (Delgado *et al*., 2009; Salas *et al*., 2014; Grima-Gallardo *et al*., 2016). Hence, here we report herein the structural characterization of a new quaternary compound, $CuNbGaSe_3$, using the Rietveld method from X-ray powder diffraction data.

MATERIALS AND METHODS

Synthesis

Starting materials (Cu, Nb, Ga, Se) with a nominal purity of (at least) 99.99 weight% were mixed together in the stoichiometric ratio in an evacuated and sealed quartz tube with the inner walls previously carbonized in order to prevent chemical reaction of the elements with the quartz. Polycrystalline ingots of about 1 g were prepared by the usual melt and anneal technique. The ampoule was heating slowly until 450 °C keeping this temperature for 48 h; then the temperature was raised again, at a low rate until 1150 °C during 24 h. Mechanical shaking of the ampoule was used throughout the entire heating process. Then, the ampoule was cooled to room temperature at a very low rate during one week. Finally, the ampoule was placed in a furnace at 650 °C, keeping this temperature for one month. Figure 1 shows a picture of the furnace device used.

Figure 1. *Picture of the furnace device used in the synthesis of the $CuNbGaSe_3$ compound*

X-ray powder diffraction

For the X-ray analysis, a small quantity of the sample was ground mechanically in an agate mortar and pestle. The resulting fine powders were mounted on a flat zero-background holder covered with a thin layer of petroleum jelly. The X-ray powder diffraction data were collected at 293(1) K, in θ/θ reflection mode using a Siemens D5005 diffractometer equipped with an X-ray tube (CuKα radiation: λ= 1.54056 Å; 40kV, 30mA). The specimen was scanned from 10°-100° 2θ, with a step size of 0.02° and counting time of 40s. Quartz was used as an external standard.

RESULTS AND DISCUSSION:

Figure 2 shows the resulting X-ray powder diffractogram for the $CuNbGaSe_3$ compound. An automatic search in the PDF-ICDD database (ICDD, 2013), using the software available with the diffractometer, indicated that the powder pattern contained small amounts of $Cu_{0.67}NbSe_2$ (PDF N° 74-0049), Bragg positions of the diffraction lines from this compound are also indicated in Figure 2. The 20 first peak positions of the main phase ($CuNbGaSe_3$) were indexed using the program Dicvol04 (Boultif and Louër, 2004), which gave a unique solution in a tetragonal cell with *a* = 5.621(2) Å and *c* =

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

11.030(5) Å. These values are similar in magnitude to the parent chalcopyrite structure of $CuGaSe_2$ (a = 5.614(1) Å, c = 11.022(1) Å) (Mandel *et al.*, 1973). A revision of the diffraction lines of the main phase taking into account the sample composition, unit cell parameters as well as the primitive cell suggested that this material is isostructural with the $CuFeInSe_3$-type compound, which crystallize in the tetragonal space group P $\bar{4}$2c(Nº 112) (Mora *et al.*, 2007).

The Rietveld refinement (Rietveld, 1969) was carried out using the Fullprof program (Rodríguez-Carvajal, 1993). The atomic coordinates of $CuFeInSe_3$ (Mora *et al.*, 2007) were used as starting model for the quaternary $CuNbGaSe_3$. Atomic positions of the $Cu_{0.67}NbSe_2$ binary (Voorhoeve-van den Berg, 1972) were included as secondary phase in the refinement. The angular dependence of the peak full width at half maximum (FWHM) was described by the Caglioti's formula (Caglioti *et al.*, 1958). Peak shapes were described by the parameterized Thompson-Cox-Hastings pseudo-Voigt profile function (Thompson *et al.*, 1987). The background variation was described by a polynomial with six coefficients. The thermal motion of the atoms was described by one overall isotropic temperature factor. The results of the Rietveld refinement are summarizes in Table 1. Figure 2 show the observed, calculated and difference profile for the final cycle of Rietveld refinement. Atomic coordinates, isotropic temperature factor and bond distances are shown in Table 2. The final Rietveld refinement converged to the following weight fraction percentages: $CuNbGaSe_3$ (94.2%) and $Cu_{0.67}NbSe_2$ (5.8%) (Hill and Howard, 1987).

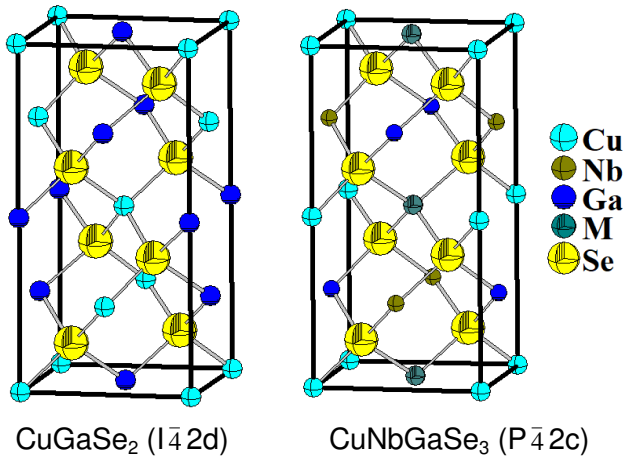


Figure 3.*Unit cell diagram for the chalcopyrite $CuGaSe_2$ compared to the $CuNbGaSe_3$ compound*

$CuNbGaSe_3$ is a normal adamantane-structure compound (Parthé, 1995), where occurs a degradation of symmetry from the chalcopyrite structure I$\bar{4}$2d to a related structure P$\bar{4}$2c. This condition can be seen in Figure 3 where a comparison is made between the chalcopyrite $CuGaSe_2$ I$\bar{4}$2d structure and the P$\bar{4}$2c structure of $CuNbGaSe_3$. Therefore, in this quaternary structure, the introduction of an additional cation (Nb) produces an effect of "dilution" of this cation in the chalcopyrite structure leaving the cell volume almost unchanged (Mora *et al.*, 2007).

In this structure the Se atoms form a close-packed arrangement where each anion is coordinated by four cations located at the corners of a slightly distorted tetrahedron. All cations are similarly coordinated by four anions. Figure 4 shows a polyhedral view of the crystal structure with the four types of atoms-centered tetrahedra$CuSe_4$, $NbSe_4$, $GaSe_4$ and MSe_4 where all polyhedra are oriented in the same direction and are connected by the corners.

The bond distances Cu-Se [2.425(8) Å], Nb-Se [2.445(8) Å] and Ga-Se [2.438(8) Å] are in good agreement with those observed in the parent chalcopyrite structure $CuGaSe_2$ (Mandel *et al.*, 1973) and other adamantane compounds such as $CuFe(Al,Ga,In)Se_3$ (Mora *et al.*, 2007; Delgado *et al.*, 2009), $CuFe_2(Al,Ga,In)Se_4$ (Delgado *et al.*, 2008; Delgado *et al.*, 2015), $CuNi(Ga,In)Se_3$ (Delgado *et al.*, 2010), $TlGaSe_2$(Delgado *et al.*, 2007) and Cu_3NbSe_4 (Lu and Ibers, 1993).

$CuNbGaSe_3$ is a material of the semiconductor type, which improves the properties of a simple semiconductor like $CuGaSe_2$ because it ads spintronic applications due to its magnetic behavior.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

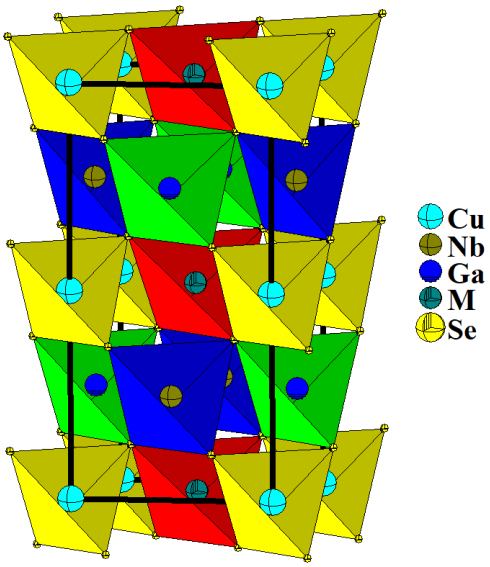


Figure 4. *Polyhedral view of the $CuNbGaSe_3$ structure showing tetrahedral units*

CONCLUSIONS:

The crystal structure of the new quaternary compound $CuNbGaSe_3$ was determined using X-ray powder diffraction data. This material crystallizes in the tetragonal space group $P\bar{4}2c$, with a $CuFeInSe_3$-type structure. This is a new compound of the I-II-III-VI_3 family of semiconductors, with a normal adamantane-structure, where occurs a degradation of symmetry from the chalcopyrite structure $I\bar{4}2d$ to a related structure $P\bar{4}2c$.

ACKNOWLEDGMENTS:

This work was supported by CDCHT-ULA (Grant C-1740-11-05-AA and C-1885-14-05-B) and FONACIT (Grants LAB-97000821, PEII-1697 and project N° 2011001341).

REFERENCES:

1. Shay J.L., Wernik J.H. *Ternary chalcopyrite semiconductors: Growth, electronic properties and applications*, Pergamon Press., Oxford, **1974**.
2. Parthé E. *Wurtzite and Sphalerite Structures*. In: J.H. Westbrook, R.L. Fleischer (eds), *Intermetallic Compounds, Principles and Applications*. Vol. 1, John Wiley & Sons, Chichester, UK, **1995**.
3. Ford, G.M., Guo, Q., Agrawal R., Hillhouse, H.W., Hugh, W. *Chem. Mater.* **2011**, 23, 2626.
4. Guo, Q., Ford, G.M., Yang, W.C., Walker, B.C., Stach, E.A., Hillhouse, H.W., Agrawal, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 17384.
5. Chambers, S.A., Yoo, Y.K. *MRS Bulletin*, **2003**, 28, 706.
6. Li, Y., Fan, W., Sun, H., Cheng, X., Li, P., Zhao, X. *J. Phys.: Cond. Matter*, **2011**, 23, 225401.
7. Sevik, C., Ca, T. *Phys. Rev. B*, **2010**, 82, 045202.
8. Grima-Gallardo, P., Cárdenas, K., Quintero, M., Ruiz, J., Delgado, G.E. *Mater. Res. Bull.* **2001**, 36, 861.
9. Grima-Gallardo, P., Muñoz, M., Delgado, G.E., Briceño, J.M., Ruiz, J. *phys. stat. sol. (b)*, **2001**, 241, 1789.
10. Grima-Gallardo, P., Muñoz, M., Durán, S., Delgado, G.E., Quintero, M., Ruiz, J. *Mater. Res. Bull.* **2007**, 42, 2067.
11. Grima-Gallardo, P., Muñoz, M., Durán, S., Delgado, G.E., Quintero, M., Briceño, J.M., Ruiz, J. *phys. stat. sol. (a)*, **2007**, 204, 1093.
12. Grima-Gallardo, P., Torres, S., Quintero, M., Nieves, L., Moreno, E., Delgado, G.E. *J. Alloys Comp.* **2015**, 630, 146.
13. Mora, A.J., Delgado, G.E., Grima-Gallardo, P. *phys. stat. sol. (a)*, **2007**, 204, 547.
14. Delgado, G.E., Mora, A.J., Grima-Gallardo, P., Quintero, M. *J. Alloys Comp.* **2008**, 454, 306.
15. Delgado, G.E., Mora, A.J., Contreras, J.E., Grima-Gallardo, P., Durán, S., Muñoz, M., Quintero, M. *Cryst. Res. Technol.* **2009**, 44, 548.
16. Delgado, G.E., Mora, A.J., Grima-Gallardo, P., Durán, S., Muñoz, M., Quintero, M. *Bull. Mater. Sci.* **2010**, 33, 637.
17. Delgado, G.E., Quintero, E., Tovar, R., Grima-Gallardo, P., Quintero, M. *J. Alloys Comp.* **2014**, 613, 143.
18. Delgado, G.E., Mora, A.J., Grima-Gallardo, P., Muñoz, M., Durán, S., Quintero, M., Briceño, J.M. *Bull. Mater. Sci.* **2015**, 38, 1061.
19. Delgado, G.E., Mora, A.J., Grima-Gallardo, P., Durán, S., Muñoz, M., Quintero, M. *ChalcogenideLetters*, **2009**, 6, 335.
20. Salas, M., Grima-Gallardo, P., Power, Ch., Quintero, M., Soto, M., Briceño, J.M., Romero, H. *Rev. LatinAm. Metal. Mat.* **2014**, 34, 67.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

21. Grima-Gallardo, P., Salas, M., Contreras, O., Power, Ch., Quintero, M., Cabrera, H., Zumeta-Dubé, I., Rodríguez, A., Aitken, J.A., Brämer-Escamilla, W. *J. Alloys Comp*. **2016**, 658, 749.
22. *International Centre for Diffraction Data* (ICDD), *Powder Diffraction File (Set 1-65).* Newtown Square, PA, USA,**2013**.
23. Boultif, A., Louër, D. *J. App. Cryst*. **2004**, 37, 724.
24. Mandel, L., Tomlinson, R.D., Hampshire, M.J. *J. App. Cryst*. **1973**, 10, 130.
25. Rietveld, H.M. *J. App. Cryst*. **1969**, 2, 65.
26. Rodriguez-Carvajal, J. *Phys. B: Cond. Matter*, **1993**, 192, 55.
27. Voorhoeve-van den Berg, J.M. *J. Less-Common Metals*, **1972**, 26, 399.
28. Cagliotti, G., Paoletti, A., Ricci, F.P. *Nucl. Instrum*. **1958**, 3, 223.
29. Thompson, P., Cox, D.E., Hastings, J.B. *J. App. Cryst*. **1987**, 20, 79.
30. Hill, R.J., Howard, J.C. *J. App. Cryst*. **1987**, 20, 467.
31. Lu, Y.J., Ibers, J.A. *J. Solid State Chem*. **1993**, 107, 58.
32. Delgado, G.E., Mora, A.J., Pérez, F., González. J. *Cryst. Res. Technol*. **2007**, 42, 663.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

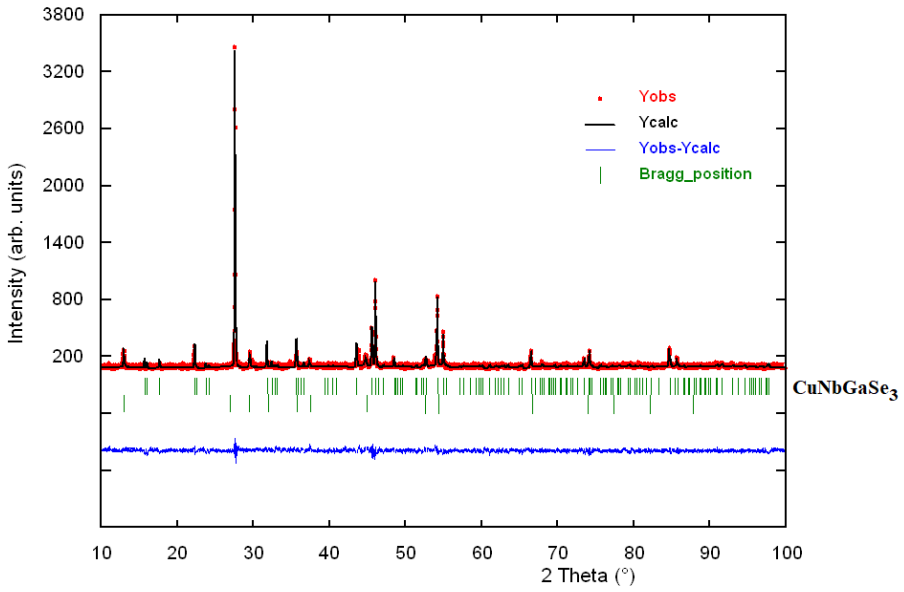


Figure 2.*Rietveld final plot of $CuNbGaSe_3$. The lower trace is the difference curve between observed and calculated patterns. The Bragg reflections are indicated by vertical bars*

Table 1.*Rietveld refinement results for $CuNbGaSe_3$ and $Cu_{0.667}NbSe_2$*

Molecular formula	$CuNbGaSe_3$	$Cu_{0.667}NbSe_2$	
Molecular weight (g/mol)	1234.7	239.2	
a (Å)	5.6199(4)	5.490(4)	
c (Å)	11.0275(2)	13.630(5)	
V (Å^3)	348.28(4)	143.6(5)	
System	tetragonal	hexagonal	
Space group	$P\bar{4}2c$ (112)	$P6_3/mmc$ (194)	
Z	2.667 (8/3)	2	R_p (%) = 8.6
D_{calc} (g/cm^{-3})	5.83	6.78	R_{wp} (%) = 8.9
Weightfraction (%)	94.2	5.8	R_{exp} (%) = 6.7
R_B (%)	8.8	9.0	S = 1.3

$R_p = 100\ \Sigma|y_{obs} - y_{calc}| / \Sigma|y_{obs}|$ $R_B = 100\ \Sigma_k|I_k - Ic_k| / \Sigma_k\ |I_k|$ N-P+C= degreesoffreedom

$R_{wp} = 100\ [\Sigma_w|y_{obs} - y_{calc}|^2 / \Sigma_w|y_{obs}|^2]^{1/2}$ $R_{exp} = 100\ [(N+C) / \Sigma_w(y_{obs}^2)]^{1/2}$ $S = [R_{wp} / R_{exp}]$

Table 2.*Atomic coordinates, isotropic temperature factors and bond distances (Å) for $CuNbGaSe_3$, derived from the Rietveld refinement. M = (Cu1+Nb1+Ga1)*

Atom	Ox.	Site	*x*	*y*	*z*	foc	B (Å^2)
Cu	+1	*2e*	0	0	0	1	0.5(4)
Nb	+2	*2d*	0	½	¼	1	0.5(4)
Ga	+3	*2b*	½	0	¼	1	0.5(4)
		2f	½	½	0	⅓	0.5(4)
M		*2f*	½	½	0	⅓	0.5(4)
		2f	½	½	0	⅓	0.5(4)
Se	-2	*8n*	0.255(1)	0.257(1)	0.123(1)	1	0.5(4)
Cu-Se	2.425(8)	Nb-Se	2.445(8)	Ga-Se	2.438(8)	M-Se	2.367(8)

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

ESTUDOS E PROPOSTAS PARA O REAPROVEITAMENTO DE EFLUENTES TRATADOS NA ETE ARRUDAS, SABARÁ – MG

STUDIES AND PROPOSALS FOR THE REAPROVEMENT OF EFFLUENTS TREATED AT ETE ARRUDAS, SABARÁ – MG

VILAÇA, Karina Aparecida[1*]; SANTOS, Carolina Rodrigues dos; PAULA, Mhaisa Henrique de[3];

[1,2,3]Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais,Instituto Politécnico,Departamento de Engenharia Civil, AvAfonso Vaz de Melo,1200cep30640-070, Belo Horizonte – MG, Brasil
(fone: +55 313385 5067)

** Autor correspondente*
e-mail: karina.vilaca@yahoo.com.br

Received 03 October 2017; accepted 29 November 2017

RESUMO

O cenário atual de escassez hídrica e a necessidade crescente de proteção ao meio ambiente mostram o quanto a natureza é vulnerável às ações antrópicas e retoma a importância da aplicação de usos mais inteligentes da água. Por esse motivo,o reuso de efluentes, deve ser visto como alternativa para atenuação do desequilíbrio gerado pela falta de gestão dos recursos hídricos. O trabalho tem como objetivo analisar a viabilidade de reutilização do esgoto tratado na ETE Arrudas, localizada em Sabará - MG, em atividades secundárias e usos não potáveis dentro da própria ETE ou em regiões próximas. Para tal, realizou-se uma pesquisa bibliográfica que norteasse a avaliação do efluente de modo que o efluente tratado estivesse de acordo com os parâmetros estabelecidos pela Legislação Ambiental e não oferecesse riscos à saúde pública. Foi realizado levantamento de dados junto à ETE para a avaliação da qualidade do efluente e correlação com os padrões ditados pelas Normas e por último, avaliou-se as possíveis alternativas de reutilização do efluente. Os resultados esclarecem que é possível, de acordo com a classe do esgoto tratado, a reutilização para fins mais nobres de forma a evitar o lançamento direto do efluente nos corpos d'água.

Palavras-chave: *Estação de Tratamento de Esgoto, Reaproveitamento, Efluente*.

ABSTRACT

The current scenario of water scarcity and the increasing need to protect the environment show how vulnerable nature is to human actions and retakes the importance of applying smarter water uses. For this reason, the reuse of effluents should be seen as an alternative to attenuate the imbalance generated by the lack of management of water resources. The objective of this work is to analyze the feasibility of reuse of the treated sewage in the Arrudas TEP, located in Sabará - MG, in secondary activities and non potable uses within the ETE itself or in nearby regions. For this, a bibliographical research was conducted to guide the evaluation of the effluent so that the treated effluent was in accordance with the parameters established by the Environmental Legislation and did not offer public health risks. Data were collected from the ETE for the evaluation of the effluent quality and correlation with the norms dictated by the Norms and, finally, the possible alternatives of effluent reuse were evaluated. The results clarify that it is possible, according to the class of treated sewage, to reuse for nobler purposes in order to avoid the direct discharge of the effluent into the bodies of water.

Keywords: *SewageTreatmentPlant, Reuse, Effluent*.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

Segundo Fernandes (2008), a problemática da escassez de água é um assunto cada vez mais abordado atualmente, tendo em vista a situação preocupante em relação à demanda existente e futura desse recurso. Enquanto o consumo de água se torna crescente com o aumento populacional e desenvolvimento industrial, a sua disponibilidade com qualidade satisfatória para consumo tem se tornado cada vez menor. Diversas regiões do mundo enfrentam problemas quanto à escassez e gestão da água, que são originados por uma combinação de fatores, como nos afirma Fernandes (2008):

A disponibilidade de água no planeta é superior à demanda da população. No entanto, sua distribuição aos diferentes setores consumidores para os diversos usos é extremamente desigual, o que confere a muitas regiões déficit de recursos hídricos, comprometendo o atendimento à população em geral. Além da má distribuição e das perdas, a crescente degradação dos recursos hídricos, devido à concentração de cargas poluidoras em algumas regiões e à falta de escrúpulos quanto ao lançamento dessa carga nos cursos d'água, também deve ser considerada um dos fatores que tornam a água imprópria para diversos usos FERNANDES (2008).

Em adição a isso, sabe-se que no Brasil assim como em todo o planeta, o nível das reservas de água limpa diminuem consideravelmente com o passar do tempo, o que tem preocupado os especialistas e autoridades. O uso desregrado dos recursos hídricos, o descaso em relação ao reaproveitamento, a poluição e a falta de chuva, estão provocando uma das piores crises em relação à ausência de água já existentes na região sudeste, assim como em outras regiões do país (OLIVO e ISHIKI, 2014).

Além disso, cada vez mais se retira água dos mananciais disponíveis e geram-se resíduos líquidos, que voltam para os corpos d'água alterando sua qualidade (FERNANDES 2008). Este fato deixa nítida a necessidade do reuso de efluentes para que se diminua a demanda de água potável em atividades secundárias e para que seja decrescente o lançamento de resíduos líquidos em corpos d'água.

Nesse contexto, dentre as várias abordagens sobre o reuso, Mierzwa (2002) trata o termo como "o uso de efluentes gerados para fins benéficos, tais como irrigação, uso industrial e fins urbanos não potáveis", explicitando a reutilização dos resíduos líquidos gerados para usos secundários, que englobam também as práticas agrícolas, recreacionais, limpeza de ruas, geração de energia e paisagismo. De acordo com Giordani e Santos (2003), o reuso pode ser aplicado ainda para fins potáveis, mas este processo pode ocasionar riscos à saúde pública e resultar em custos elevados.

O reuso do esgoto gerado pela população, após o tratamento nas Estações de Tratamento de Esgoto (ETE's), é uma alternativa cada vez mais abordada para a garantia da proteção dos recursos hídricos e como método de evitar o desperdício da água. De acordo com Florencio*et al* (2006), "embora a utilização de esgotos sanitários seja uma prática mais que centenária, é também um conceito moderno, na medida em que ganha cada vez mais reconhecimento como uma importante estratégia para o desenvolvimento sustentável".

Nesse sentido, no presente trabalho será realizado um estudo de caso para verificar a possibilidade de reutilização do esgoto tratado na ETE Arrudas, localizada em Belo Horizonte, Minas Gerais, para fins secundário, tendo como base a eficiência do tratamento realizado na Estação de Tratamento de Esgoto e a demanda hídrica da região onde a ETE está inserida.

DESENVOLVIMENTO OU MATERIAL E MÉTODOS OU PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Estação de tratamento de esgoto Arrudas

A ETE Arrudas é monitorada pela Companhia de Saneamento de Minas Gerais (COPASA) e localiza-se em Sabará, Minas Gerais, à margem esquerda do ribeirão Arrudas (Figura 1) ocupando uma área de 64 hectares e atendendo uma população inicial de um milhão de pessoas e final de um milhão e seiscentos mil habitantes. A Estação de Tratamento, que é a maior do estado e atende as cidade de Belo Horizonte e Contagem, começou a operar em outubro de 2001, como observado no Quadro 1 e desde então encontra-se em processo de

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

ampliação e modernização para atender as demandas da população. (COPASA, 2017).

Figura 1. *Localização da ETE Arrudas*

Fonte: POLIGNITA, 2017.

Segundo a Companhia de Saneamento de Minas Gerais (2017), além de receber efluentes domésticos, a ETE Arrudas recebe contribuição de efluentes líquidos industriais específicos, que devem seguir os padrões especificados pela Norma Técnica 187/5 da própria COPASA.

Como já especificado no Quadro 1, o tratamento dos efluentes na Estação de Tratamento é por Lodos Ativados Convencional, garantindo uma eficiência de 91,5% em termos de DBO (COPASA, 2017). O processo de tratamento representado no fluxograma da Figura 2 é composto pelas seguintes etapas:

- Tratamento preliminar: grade grossa, grades finas e desarenadores;
- Tratamento primário: decantadores primários, elevatória de lodo primário, adensadores, digestores anaeróbios, sistema de queima de biogás e central de desidratação de lodo;
- Tratamento secundário: reatores de lodos ativados, decantadores secundários, elevatória de lodo excedente, elevatória de escuma secundária, elevatória de recirculação de lodo, adensadores e digestores anaeróbios; e
- Prédios de apoio operacional: portaria, administração/laboratório, refeitório, oficina de manutenção e guaritas.

De acordo com a COPASA (2017), o lodo gerado no processo de tratamento é estabilizado e manuseado, com destinação final em aterros sanitários. É válido também ressaltar que a ETE consta com equipes de apoio para o controle e a qualidade do efluente, além de operadores que garantam a eficiência constante dos equipamentos e máquinas.

A Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável (2010) aponta que a água para uso na operação é fornecida pela rede pública da própria COPASA, com consumo médio de 9.170 m3 /mês – para uso na operação – e de 330 m3 /mês para consumo humano.

2.2Viabilidade de reuso do efluente

Para a avaliação da viabilidade de reutilização do efluente tratado na ETE Arrudas, foi realizada pesquisa bibliográfica, na qual a ABNT NBR - 13.969/1997 e a CONAMA 357/2005 foram utilizadas como principais referências. A eficiência do tratamento e a qualidade do efluente foram obtidas através de contato com a própria ETE, para que os parâmetros obtidos fossem comparados com as Normas, a fim de se verificar a possibilidade e a melhor forma de reusos secundários dentro ou fora da Estação de Tratamento.

Segundo a ABNT NBR - 13.969/97, assim como propõe o trabalho, o esgoto tratado pode ser utilizado para fins secundários em condições sanitariamente seguras. A Norma aborda a prática do reuso como uma extensão do tratamento de esgotos, sem que haja necessidade de investimentos elevados. Além disso, é destacado que nem todo volume de esgoto deve ser reutilizado e que o efluente tradado pode ser exportado para além do limite local, atendendo assim a demandas industriais ou outras demandas próximas.

Para o planejamento do processo de reutilização, a Norma especifica que devem ser seguidas as seguintes etapas:

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

a) os usos previstos para esgoto tratado;
b) volume de esgoto a ser reutilizado;
c) grau de tratamento necessário;
d) sistema de reservação e de distribuição;
e) manual de operação e treinamento dos responsáveis.

Dentre os processos de planejamento apresentados, o trabalho dá enfoque ao uso previsto para esgoto tratado e ao grau de tratamento necessário, que estão detalhados no Quadro 2.

Ainda segundo a Norma, as melhores destinações para o reuso de efluentes classe 1 são a lavagens de carros e outros usos que requerem o contato direto do usuário com a água, com possível aspiração de aerossóis pelo operador, incluindo chafarizes. Já para classe 2 são as lavagens de pisos, calçadas e irrigação dos jardins, manutenção dos lagos e canais para fins paisagísticos, exceto chafarizes. Para a classe 3 o ideal é o reuso nas descargas dos vasos sanitários e para efluentes da classe 4, o reuso nos pomares, cereais, forragens, pastagens para gados e outros cultivos através de escoamento superficial ou por sistema de irrigação pontual.

Em adição a isso, a CONAMA 357/2005 especifica detalhadamente parâmetros importantes das águas doces superficiais no enquadramento de cada uma das classes, possibilitando o norteamento da análise por meio dos valores permitidos mínimos e máximos (Tabela 1) para a Classe 1, Classe 2, Classe 3 e Classe 4, o que foi utilizado como objeto de comparação para os valores encontrados da qualidade do efluente tratado na Estação de Tratamento de Esgoto Arrudas.

Além disso, utilizou-se como material a COPAM nº 10, de 16 de dezembro de 1986, do estado de Minas Gerais, como referência para os parâmetros de lançamento de efluentes. De acordo com a Deliberação Normativa, efluentes poderão ser lançados em corpos d'água de Classe 1 à Classe 4, seguindo alguns parâmetros. Alguns deles são especificados a seguir:

- pH entre 6,5 e 8,5 (+/- 0,5);
- ausência de materiais flutuantes;
- DBO5 dias a 20ºC: no máximo de 60 mg/l (este limite só poderá ser ultrapassado no caso do sistema de tratamento de águas residuárias reduzir a carga poluidora de efluente, em termos de DBO5 dias a 20ºC do despejo, em, no mínimo de 85%);
- DQO - no máximo de 90 mg/l (este limite só poderá ser ultrapassado no caso do sistema de tratamento de águas residuárias reduzir a carga poluidora de efluente, em termos de DQO do despejo, em, no mínimo, 90%);
- sólidos em suspensão com concentração máxima diária de 100 mg/l.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir do contato realizado com os responsáveis pela qualidade operacional da ETE Arrudas, foi possível identificar os principais parâmetros do afluente que chega até a Estação de Tratamento e também do efluente tratado que é lançado em corpo d'água, por meio de relatórios de dados operacionais. Foram obtidas as médias de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), Demanda Química de Oxigênio (DQO), Sólidos em Suspensão Totais (SST) e Nitrogênio Total (NTK) do ano de 2011 até o ano de 2016, como detalhado na Tabela 2 e Tabela 3.

Com os parâmetros obtidos do efluente tratado na ETE Arrudas e a comparação com a COPAM nº 10, de 16 de dezembro de 1986, é possível identificar que o esgoto pode ser lançado em corpos d'água da classe 1 à classe 4, já que mesmo no ano de 2016, no qual a carga de DBO e DQO estão acima do permitido, a eficiência do tratamento da ETE, que é de 91,5%, garante a permissão do lançamento. Como atualmente a corpo receptor do esgoto tratado na ETE é de classe 2, presume-se também que o efluente possui os padrões necessários de acordo com a Legislação para tal.

A eficiência do tratamento na ETE é nítida, como se pode observar na Tabela 2 e Tabela 3, nas quais é possível identificar a considerável diminuição de DBO, DQO, SST e NTK. Os valores das médias obtidas em todos os anos, de 2011 a 2016, garantem a possibilidade de lançamento do efluente em corpos d'água e demonstram o efeito gerado nos parâmetros do efluente.

Nesse contexto e sabendo-se na importância da garantia de segurança e eficiência no

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

processo de reuso, pode-se afirmar que o efluente tratado na ETE é ideal para fins secundário de classe 3 e classe 4, segundo a ABNT NBR - 13.969/1997. Após o tratamento, o esgoto pode ser destinado a reuso nas descargas dos vasos sanitários, nos pomares, cereais, forragens, pastagens para gados e outros cultivos através de escoamento superficial ou por sistema de irrigação pontual.

Para que o sistema de reuso não gere grandes acréscimos no custo da ETE, o efluente poderá ser utilizado dentro da própria Estação de Tratamento, mais especificamente em vasos sanitários, que necessitam de em média 1,5 litros de água a cada descarga, levando a altos consumos de água e em práticas de irrigação de áreas verdes e jardins, diminuindo assim os gastos e o desperdício do recurso, que é largamente utilizado no local, principalmente nas operações de tratamento.

CONCLUSÕES:

Com o presente trabalho conclui-se que é viável a utilização do efluente tratado na ETE Arrudas para fins mais nobres, assim como é possível também a adoção da prática em outras Estações de Tratamento, bastando a análise e seguimento dos parâmetros especificados pela Norma e o devido planejamento.

As ações e investimentos relacionados às boas práticas ambientais, visando o não desperdício e a proteção dos recursos hídricos e consequentemente, o combate à escassez da água são por vezes negligenciados, mas sabe-se que a longo prazo, a adoção de técnicas sustentáveis garantem bons retornos econômicos e principalmente, a saúde ambientalno meio em que vivemos.

REFERÊNCIAS:

1. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Tanques sépticos - Unidades de tratamento complementar e disposição final dos efluentes líquidos - Projeto, construção e operação. ABNT NBR - 13.969/1997, 60p, Rio de Janeiro, 1997.

2. COMPANHIA DE SANEAMENTO DE MINAS GERAIS (COPASA). Disponível em: <http://www.mzweb.com.br/copasa/web/arquivos/Apresentacao_COPASA_Day%20_ETE_Arrudas.pdf>. Acesso em: mai, 2017.

3. Deliberação Normativa COPAM nº 10, de 16 de dezembro de 1986. Dispõe sobre a classificação dos corpos d'água quanto aos parâmetros estabelecidos, bem como estabelece os padrões de lançamento de efluente em corpos d'água. Disponível em: <http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=91>. Acesso em: abr, 2017.
4. FERNANDES, André Luis; NOGUEIRA, Márcio Augusto de Souza; RABELO, Paulo Veloso. Escassez e qualidade da água no século 21. Informe Agropecuário, v.29, n.246, p.86. Belo Horizonte, set/out 2008.

5. FLORENCIO, Lourdinha et al. Reúso das águas de esgoto sanitário, inclusive desenvolvimento de tecnologias de tratamento para esse fim. PROSAB. Rio de Janeiro, ABES, 2006.

6. GIORDANI, Soraia; SANTOS, Daniel Costa. Possibilidades de reúso dos efluentes domésticos gerados nas Bacias do Alto Iguaçu e Alto Ribeira - Região de Curitiba-Paraná. Revista Técnica da Sanepar, v.19, n.19, p. 06-14. Curitiba, jan./jun. 2003.
7. MIERZWA, J.C., O uso racional e o reuso como ferramentas para o gerenciamento de águas e efluentes na indústria: estudo de caso na Kodak Brasileira, Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Sanitária), Volumes 1 e 2, Universidade de São Paulo, SP, 2002.

8. NORMA TÉCNICA T. 187/ 5. Lançamento de efluentes não domésticos no sistema de esgotamento sanitário da COPASA. Disponível em: <http://www.copasa.com.br/wps/wcm/connect/d8ad6d32-a0c6-46f7-a3cd-94bdc93a7d6b/T-187-5.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: mai, 2017.

9. OLIVO, Andréia de Menezes; ISHIKI, Hamilton Mitsugu. Brasil frente à

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

escassez de água. ColloquiumHumanarum, v. 11, n. 3, p.41-48. Presidente Prudente, set/dez 2014.

10. POLIGNATO, Marcus Vinícius; Projeto Manuelzão – Saúde, Ambiente e Cidadania. Disponível em: <https://pt.slideshare.net/expressodasideias/projeto-manuelzao-riodasvelhaspolignano>. Acesso em: abr, 2017.
11. Resolução Conama n°. 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Disponível em: <http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=2747>. Acesso em: mai, 2017.
12. SECRETARIA DE ESTADO DE MEIO AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL. PARECER ÚNICO SUPRAM CM N.º 077/2010. Estação de Tratamento de Esgotos – ETE Arrudas. Minas Gerais, 2010.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

	1ª Etapa (tratamento primário)	2ª Etapa (tratamento secundário)
Início operacional	17 de Outubro de 2001 (tratamento primário)	17 de Dezembro de 2001 (tratamento secundário)
Vazão média de tratamento	2000 l/s	
Corpo receptor	Ribeirão Arrudas	
Bacia	Rio das Velhas	
Processo	Lodos Ativados Convencional	
Comprimento total dos interceptores até a ETE Arrudas	44,7 km	

Quadro1. *Dados sobre a ETE Arrudas*

Fonte: COPASA, 2017.

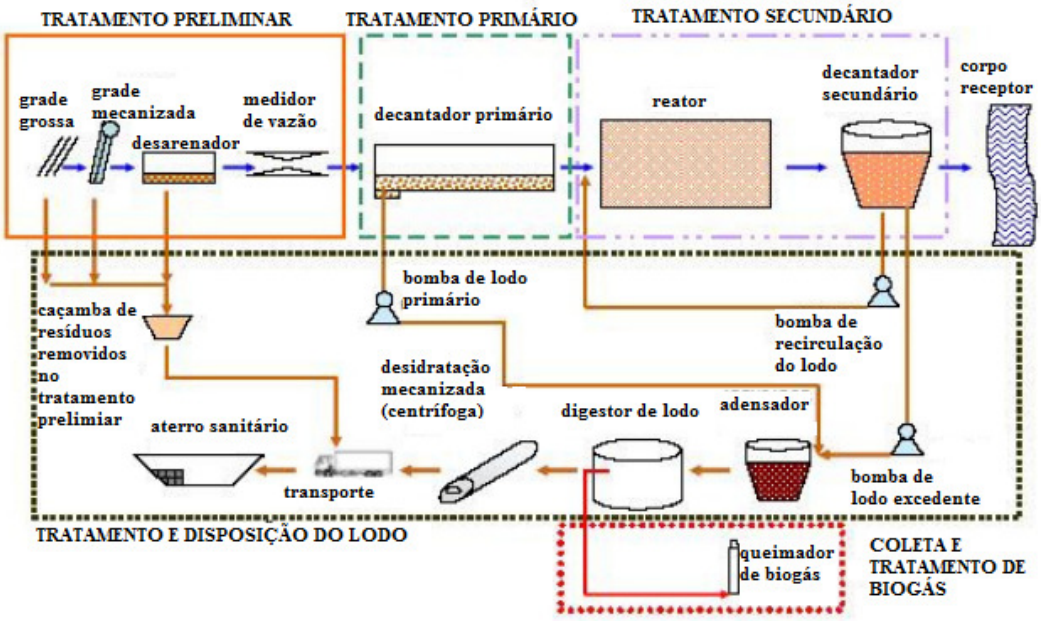


Figura2. *Sistema de tratamento da ETE Arrudas*

Fonte: Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável, 2010.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

	Turbidez	Coliforme fecal	Sólidos dissolvidos totais	pH	Cloro residual	Oxigênio dissolvido
Classe 1	< 5 UNT	< 200 NMP/100 ml	< 200 mg/l	Entre 6,0 e 8,0	Entre 0,5 mg/l e 1,5 mg/l	-
Classe 2	< 5 UNT	< 500 NMP/100 ml	-	-	> 0,5 mg/l	-
Classe 3	< 10 UNT	< 500 NMP/100 ml	-	-	-	-
Classe 4	-	< 5.000 NMP/100 ml	-	-	-	> 2,0 mg/l

Quadro 2. *Parâmetros para reuso de efluentes, por classe*

Fonte: ABNT NBR - 13.969/1997.

	Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO5, 20°C)	**Oxigênio Dissolvido**	**Turbidez**	**Sólidos em Suspensão Totais**	**Nitrogênio Total**
Classe 1	< 3 mg/L O2	> 6 mg/L O2	< 40 UNT	Ausentes	3,7 mg/L N, para pH ≤ 7,5 2,0 mg/L N, para 7,5 < pH ≤ 8,0 1,0 mg/L N, para 8,0 < pH ≤ 8,5 0,5 mg/L N, para pH > 8,5
Classe 2	< 5 mg/L O2	> 5 mg/L O2	< 100 UNT	Ausentes	3,7 mg/L N, para pH ≤ 7,5 2,0 mg/L N, para 7,5 < pH ≤ 8,0 1,0 mg/L N, para 8,0 < pH ≤ 8,5 0,5 mg/L N, para pH > 8,5
Classe 3	< 10 mg/L O2	> 4 mg/L O2	< 100 UNT	Ausentes	13,3 mg/L N, para pH ≤ 7,5 5,6 mg/L N, para 7,5 < pH ≤ 8,0 2,2 mg/L N, para 8,0 < pH ≤ 8,5 1,0 mg/L N, para pH > 8,5
Classe 4	-	> 2,0 mg/L O2	-	-	-

Tabela 1. *Enquadramento da água doce superficial e principais parâmetros*

Fonte: CONAMA 357/2005.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Período	Dados da ETE Arrudas - Afluente			
	DBO (mg/L)	DQO (mg/L)	SST (mg/L)	NTK (mg/L)
Média 2011	276	588	255	45
Média 2012	260	548	271	44
Média 2013	275	610	288	44
Média 2014	282	641	291	50
Média 2015	269	621	289	48
Média 2016	250	596	300	52

Tabela 2. *Dados sobre o afluente que chega à ETE*

Fonte: COPASA, 2017.

Período	Dados da ETE Arrudas - Efluente			
	DBO (mg/L)	DQO (mg/L)	SST (mg/L)	NTK (mg/L)
Média 2011	28	56	30	13
Média 2012	21	58	23	11
Média 2013	23	62	25	12
Média 2014	39	110	73	20
Média 2015	31	80	42	10
Média 2016	66	178	98	32

Tabela 3. *Dados sobre o efluente após o tratamento na ETE*

Fonte: COPASA, 2017.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

DESENVOLVIMENTO DE MATERIAL DE REFERÊNCIA DE ÓXIDO DE HÓLMIO PARA CALIBRAÇÃO DA ESCALA DE COMPRIMENTO DE ONDA DE ESPECTRÔMETROS: ESTUDOS DE VIABILIDADE

DEVELOPMENT OF REFERENCE MATERIAL OF HOLMIUM OXIDE FOR SPECTROMETERS WAVELENGTH CALIBRATION: FEASIBILITY STUDIES

GONÇALVES; Debora EmyFujiy[1*]; GOMES, Juliana Freitas Santos[2]; ALVARENGA, Ana Paula Dornelles[2]; ARAUJO, Thiago de Oliveira[3]; BORGES, Paulo Paschoal[3]

[1] Visomes Comercial Metrológica Ltda., Departamento de Material de Referência, Rua Joaquim dos Santos, 181, CEP.04823-080, São Paulo – SP, Brasil
(fone: +55 11 5662 9911)

[2] Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro), Divisão de Metrologia Óptica (Diopt),Avenida Nossa Senhora das Graças, 50, CEP.25250-020, Xerém, Duque de Caxias – RJ, Brasil
(fone: +55 21 26799363)

[3]Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro), Divisão de Metrologia Química e Térmica (Dimqt), Avenida Nossa Senhora das Graças, 50, CEP.25250-020, Xerém, Duque de Caxias – RJ, Brasil
(fone: +55 21 2679 9069)

** Autor correspondente*
e-mail: debora@visomes.com.br

Received 27 November 2017; accepted 29 November 2017

RESUMO

A utilização de material de referência certificado (MRC) emanálises químicas é um requisito importante para sistemas de garantia da qualidade, uma vez que permite garantir a rastreabilidade metrológica de resultados das medições, alcançando, assim, resultados confiáveise comparáveis entre si. Este trabalho descreve o desenvolvimento e a produção do material de referência de óxido de hólmio, que, após certificação, será utilizado na calibração da escala de comprimento de onda de espectrômetros UV-Vis, alémdos estudos de viabilidade necessários para estabelecer os parâmetros de medição a serem utilizados nas próximas etapas da produção e certificação do material.

Palavras-chave: *Material de referência certificado (MRC); transmitância espectral de óxido de hólmio; rastreabilidade metrológica; metrologia óptica; espectrofotometria.*

ABSTRACT

The use of certified reference material (CRM) in chemical analyzes is an important requirement in quality assurance systems, since it allows the metrological traceability of results, thus achieving valid and comparable results. This work describes the development and production of holmium oxide reference material that, after certification, will be used in the calibration of the wavelength range of UV-Vis spectrometers and also the necessary feasibility studies to establish the measurement parameters to be used in the next steps of the material production and certification.

Keywords: *Certified reference material (CRM); holmium oxide spectral transmittance; metrological traceability; optical metrology; spectrophotometry.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

1. INTRODUÇÃO

Os materiais de referência certificados (MRC) são necessários para a garantia da precisão, exatidão, rastreabilidade e confiabilidade dos resultados de medição. Laboratórios analíticos utilizam MRC emdiversas atividades, como, por exemplo, na calibração de equipamentos, validação de métodos e no controle de qualidade (QUEVAUVILLER, 1999).Elesfornecem rastreabilidade ao Sistema Internacional de Unidades (SI) e confiabilidade aos resultados de medição. Os MRC se distinguem de outros padrões por possuírem uma declaração de incerteza associada e a rastreabilidade estabelecida a padrões nacionais ou internacionais (AUGUSTO *et al*., 2010).

Aespectrometria é uma das principais técnicas utilizadas em laboratórios de análise para caracterização e quantificação de analitos, devido à robustez do equipamento, facilidade no manuseio do instrumento, rapidez na obtenção de dados e simplicidade na interpretação dos resultados (GALO; COLOMBO, 2009). Por meio da espectrometria, componentes desconhecidos de uma solução podem ser identificados por seus espectros característicos na região doultravioleta (UV) ou visível (Vis). Os compostos químicos absorvem radiação em determinados comprimentos de onda do espectro, e o espectrômetro UV-Vis mede a quantidade de radiação absorvida, correlacionando a absorbância ou transmitância da amostra com a concentração do analito de interesse.

Diversos analitos têm sua absorbância alterada drasticamente em intervalos pequenos de comprimento de onda, por isso, a precisão e a exatidão da medição na escala de comprimentos de onda são requeridas e a calibração prévia do espectrômetro é, portanto, essencial. Para isso, são utilizados MRC específicos para calibrar a escala de comprimentos de onda. Dentre alguns materiais utilizados, destacam-se as soluções de óxido de hólmio (Ho_2O_3), que possuem uma utilização em uma faixa amplado espectro (do UV ao visível, de 240 nm a 640 nm) contendo até 14 picos de transmitância certificados, que são intrínsecos ao material, bem definidos e resolvidos. O espectro de transmitância do Ho_2O_3 em solução encontra-se ilustradona Figura 1.

A produção de MRC envolve muitas etapas para o seu desenvolvimento como os estudos de homogeneidade, estabilidade e a caracterização.A Norma ABNT NBR ISO 17034e os Guias da série 30 apresentam uma sistemática para a produção de MRC abordando as definições relacionadas ao tema, o processo de certificação e as competências do produtor (ABNT, 2017). O ISO Guide 35 aborda princípios gerais para a caracterizaçãoe a avaliação da homogeneidade e estabilidade do material e, dentre as diversas etapas minuciosamente descritas, trata dos estudos de viabilidade.

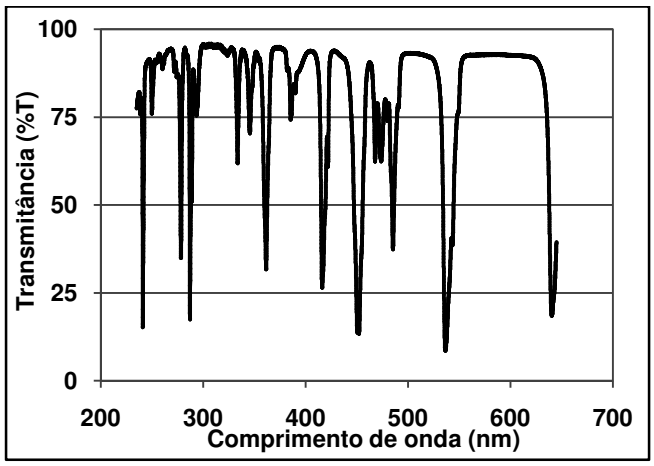


Figura 1. *Espectro de transmitância da solução de* Ho_2O_3

Os estudos de viabilidade são estudos curtos destinados a abordar questões sobre a viabilidade de produzir e caracterizar um material suficientemente homogêneo e estável. Algumas vezes, um estudo de viabilidade é proposto para que sejam efetuadas melhoriasnos procedimentos de medição (ISO, 2017). Esses estudos são importantes no desenvolvimento de um novo material.

2. OBJETIVO

Este trabalho apresenta os resultados dos estudos de viabilidade para estabelecer alguns parâmetros para a medição e, assim, definir o procedimento e a metodologia a serem utilizados nos ensaios futuros de homogeneidade, estabilidade e caracterização do candidato a MRC de Ho_2O_3. O MRC de solução de Ho_2O_3, a ser produzido no Brasil, será utilizado na calibração de espectrômetros, primordial para garantir a rastreabilidade e confiabilidade dos resultados das medições espectrofotométricas na região UV-Vis.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Para a produção do candidato a MRC, foram necessários os seguintes materiais, além de béqueres de vidro, erlenmeyer, balões volumétricos, funil de vidro, espátulas, suporte universal e garras:

- Óxido de hólmio (Ho_2O_3) com pureza de 99,99 %, da Alfa Aesar, EUA.

- Ácido perclórico ($HClO_4$) *Suprapur* 70 % P.A., da Merck, Alemanha.

- Água deionizada, com condutividade menor ou igual a 1,0 $\mu S \cdot cm^{-1}$, obtida com osistema de purificador de água Elga, Inglaterra.

- Balança analítica digital com resolução de 0,1 mg da Mettler Toledo, EUA.

- Banho termostático Lauda, Alemanha.

Para os estudos de viabilidade, foram preparados 25 mL de solução 4 % (m/v) de Ho_2O_3 em 10 % (v/v) de $HClO_4$, quantidade suficiente para a realização dos estudos.Também foram preparados, à parte, 25 mL de $HClO_4$ 10 % (v/v), necessários para um dos estudos de viabilidade pretendidos.O procedimento de Weidner *et al.* (1985) foi utilizado como referência. As soluções preparadas estão ilustradasna Figura 2.

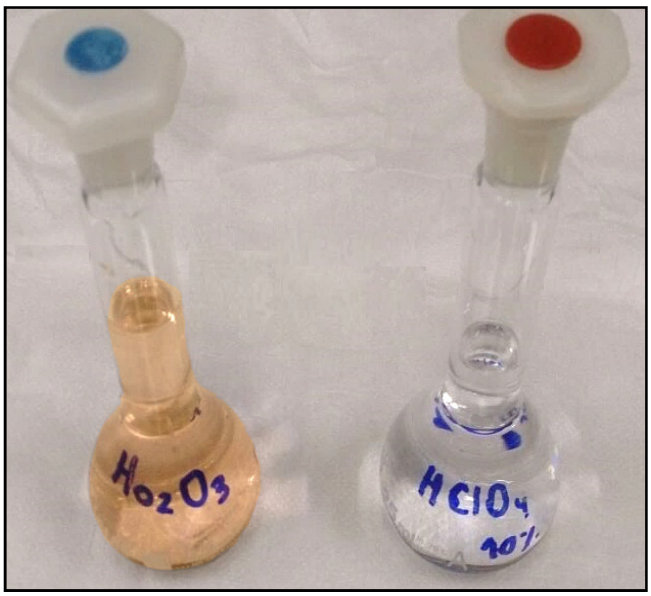


Figura 2.*Soluções de Ho_2O_3 e $HClO_4$*

Nos estudos de viabilidade, a transmitância espectral da solução de Ho_2O_3 produzida foi medida utilizando dois espectrofotômetros:

- Marca *Perkin Elmer*, modelo *Lambda* 25, que possui feixe duplo, monocromador único e trabalha na faixa de comprimentos de onda de 190 nm a 1100 nm. Comofontes de radiação, são utilizadas uma lâmpada de deutério para a região UV e umalâmpada de tungstênio para a região do visível. O sistema de detecção consiste de uma fotomultiplicadora e um detector de fotodiodo, a grade é de 1053 linhas, a largura de banda é fixa em 1 nm, além de possuir precisão de comprimento de onda de 0,1 nm e reprodutibilidade melhor que 0,05 nm. As velocidades de varredura do instrumento utilizadas foram: 7,5 $nm \cdot min^{-1}$, 15 $nm \cdot min^{-1}$, 30 $nm \cdot min^{-1}$, 60 $nm \cdot min^{-1}$, 120 $nm \cdot min^{-1}$, 240 $nm \cdot min^{-1}$, 480 $nm \cdot min^{-1}$, 960 $nm \cdot min^{-1}$, 1920 $nm \cdot min^{-1}$ e 2880 $nm \cdot min^{-1}$. A incerteza expandida do equipamento foiavaliadaem 0,22 nm, comum fator de abrangência $k = 2,00$, para umaprobabilidade de abrangência de 95,45 %.

- Marca *Agilent*, modelo *Cary* 4000, que possui feixe duplo, duplo monocromador e trabalha na faixa de comprimentos de onda de 175 nm a 900 nm. Como fontes de radiação, são utilizadas uma lâmpada de deutério para a região UV e uma lâmpada de tungstênio para a região do visível. O sistema de detecção consiste de uma fotomultiplicadora, a grade é de 1200 linhas, a largura de banda é variável entre 0,01 nm e 5,00 nm com intervalo de 0,01 nm.Tal equipamentopossui precisão de comprimento de onda de 0,08 nm e reprodutibilidade de 0,005 nm. A velocidade de varredura do instrumento é variável entre 3 $nm \cdot min^{-1}$ a 2000 $nm \cdot min^{-1}$. A incerteza expandida do equipamento foi avaliadaem 0,11 nm, comum fator de abrangência $k = 2,00$, para umaprobabilidade de abrangência de 95,45 %.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os estudos de viabilidade foram necessários para estabelecer os parâmetros de medição que serão utilizados nas próximas etapas para a produção e certificação do MR de Ho_2O_3. Os parâmetros analisados foram: utilização do branco de medição, ambientação prévia da cubeta de quartzo com a solução de Ho_2O_3, variação do comprimento de onda com o tempo (estabilidade da solução), velocidade de varredura e a largura da banda espectral, os quais serão apresentados adiante.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

4.1. Branco de medição

Os espectrofotômetros necessitam de uma referência (branco de medição), que pode variar conforme o tipo de material a ser analisado, para ser utilizada durante as medições. De forma a avaliar a influência do branco na medição da solução de Ho_2O_3 com o espectrofotômetro, alguns testes foram realizados com a solução 10 % de $HClO_4$, que é o meio ácidoutilizado para prepararo candidato a MRC,colocada na cubeta de referência.

As medições foram realizadas no espectrofotômetro da*Perkin Elmer*(PE) e os parâmetros utilizados nas medições foram: largura de banda de 1 nm, velocidade de varredura de 480 nm·min^{-1}, 1 ciclo de medição em 3 replicatas. A solução de Ho_2O_3 preparada foi analisada seguindo dois procedimentos diferentes: (1) utilizando, no compartimento de referência do espectrofotômetro, uma cubeta de quartzo contendo solução de 10 % de $HClO_4$; (2) deixando o compartimento de referência do espectrofotômetro vazio, isto é, sem solução,considerando o ar como referência.

Os espectros obtidos nas medições estão apresentados na Figura 3, e os valores dos comprimentos de onda dos picos de mínimo de transmitância estão descritos na Tabela 1.

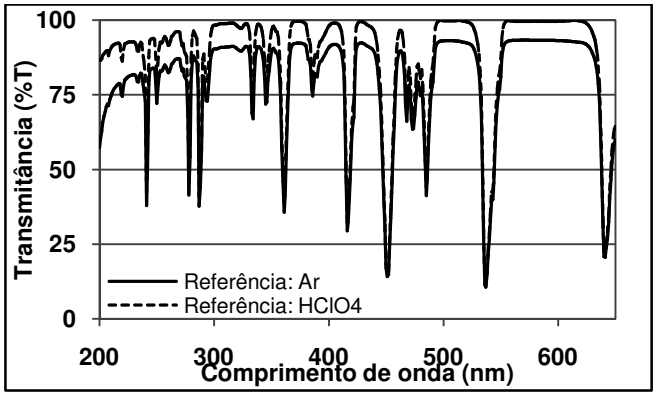


Figura 3. *Espectros de transmitância do Ho_2O_3, utilizando como referências: ar e $HClO_4$*

Observandoos espectros da Figura 3, visualmente percebe-se que há diferenças entre a linha de base da medição utilizando o ar ouo $HClO_4$ como referência, gerando diferenças entre osvalores de transmitância. Porém, analisando os dados da Tabela 1, verifica-se que, para o parâmetro comprimento de onda (propriedade que será certificada no MRC de interesse), a maior diferença encontrada correspondeu a 0,05 nm (no pico de 333 nm), equivalente a incerteza do MRC utilizado (NIST, 2016).

Tabela 1. *Média dos valores de comprimento de onda, utilizando como referências: ar e $HClO_4$*

Referência: Ar (nm)	Referência: $HClO_4$ (nm)	Diferença[a] (nm)
241,11	241,10	0,01
250,06	250,06	0,00
278,08	278,08	0,00
287,20	287,20	0,00
333,69	333,64	0,05
345,38	345,37	0,01
361,10	361,08	0,02
385,83	385,83	0,00
416,23	416,23	0,00
451,42	451,41	0,01
467,92	467,92	0,00
485,10	485,10	0,00
536,54	536,57	0,03
640,45	640,42	0,03

[a] Em módulo.

Dessa forma, definiu-se que, nas medições a serem realizadas comas unidades do lote de solução de Ho_2O_3 a ser produzido, o compartimento de referência do espectrofotômetro deverá ser o ar, devendo, portanto,ser deixado vazio. Essainformação deverá constar no campo de instruções de uso do material, no certificado do MRC produzido.

4.2. Ambientação prévia da cubeta

Foi analisada também a necessidade de se ambientar previamente a cubeta de quartzo com um pouco da solução de Ho_2O_3 antes de preencher a cubeta com a solução de medição. Para isso, foram realizadas medições no espectrofotômetro da PEconsiderando: (1) ambientando previamente a cubeta de medição com uma alíquota de Ho_2O_3 e depois, preenchendo-a com a solução a ser analisada; (2) sem ambientar previamente a cubeta, preenchendo-a diretamente com a solução de Ho_2O_3 a ser medida. A configuração do espectrofotômetro utilizada para as medições foi: largura de banda de 1 nm, velocidade de varredura de 480 nm·min^{-1}, 1 ciclo de medição em 3 replicatas.

Os espectros com o resultadodas medições estão mostrados na Figura 4, e os valores obtidos dos comprimentos de onda dos

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

picos de mínimo de transmitância estão descritos na Tabela 2.

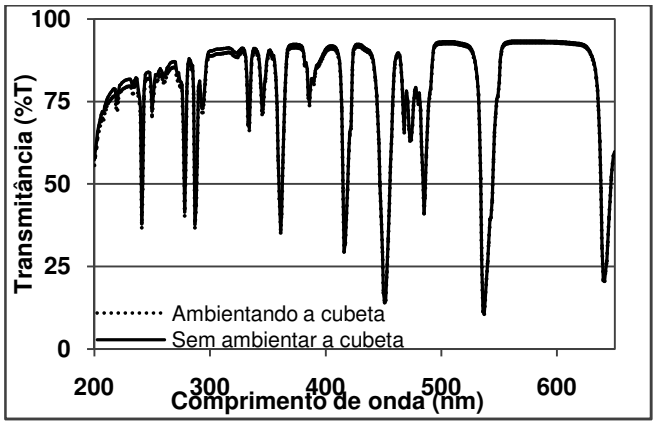


Figura 4. *Espectros de transmitância do Ho_2O_3, ambientando-se (ou não) previamente a cubeta*

Tabela 2. *Resultadosmédiosdos valores de comprimento de onda, ambientando-se (ou não) previamente a cubeta*

Cubeta previamente ambientada (nm)	Cubeta sem ambientar (nm)	Diferença[a] (nm)
241,10	241,11	0,01
250,06	250,06	0,00
278,07	278,08	0,01
287,18	287,20	0,02
333,69	333,69	0,00
345,40	345,38	0,02
361,10	361,10	0,00
385,84	385,83	0,01
416,23	416,23	0,00
451,44	451,42	0,02
467,94	467,92	0,02
485,10	485,10	0,00
536,55	536,54	0,01
640,44	640,45	0,01

[a] Em módulo.

Analisando os resultados, tanto nos espectros da Figura 4, quanto os dados da Tabela 2, percebe-se que os valores de comprimento de onda encontrados não foram tão diferentes,sendo que a maior diferença encontrada foi de 0,02 nm, menor que a incerteza do MRC utilizado.

Sendo assim, foi definido que, nas medições a serem realizadas com amostras do lote de Ho_2O_3 produzido, as cubetas de quartzo utilizadas não precisarãoser ambientadas previamente com uma alíquota do material antes da análise.

4.3. Estabilidade do material após aberta a embalagem

Para verificar a estabilidade das soluções preparadas, testes foram realizados para analisar se a solução de Ho_2O_3 permaneceria estável por, pelo menos, alguns dias após aberta a embalagem. Para isso, a solução,mantida dentro da cubeta de medição,foi monitorada durante 15 dias, realizando-se medições regularmente, e acompanhando o comprimento de onda dos picos de mínimo de transmitância.

Nesse estudo, foram realizadas medições no espectrofotômetro da*Agilent* (AG),utilizando os seguintesparâmetros: largura de banda de 0,1 nm, velocidade de varredura de 20 nm·min^{-1} em 2 ciclos de medição.

Os picos monitorados foram os 13 picos certificados pelo *NationalInstituteof Standard and Technology* (NIST) informados no certificado do padrão de referência SRM 2034 (NIST, 2016),e cada pico foi analisado de acordo com oISO Guide 35 (2017), que sugere o uso da ferramenta estatística de regressão linear para verificar se há tendência nos resultados. Os resultadosobtidos foram analisados através do coeficiente angular da regressão linear. Para considerar que a regressão não possui tendência, o *p*-valor deve ser maior que 0,05 (probabilidade de abrangência de aproximadamente 95%) e a Equação 1 deve ser atendida.

$$|\beta_1| < t_{0,05;n-2} \times s(\beta_1) \qquad \text{(Eq. 1)}$$

em queβ_1 é o coeficiente angular da reta obtida pela regressão linear, *t* é o fator da distribuição-*t*ou distribuição de *Student*, *n* é o número de observações e $s(\beta_1)$ é o "erro padrão" da reta obtida pela regressão linear.

Os resultadosdessas análises estão apresentados na Tabela 3 e um gráfico com as leituras (medições) de comprimento de onda obtido durante o monitoramento de um pico de transmitância (536 nm), tomado como exemplo, está ilustrado na Figura 4.

Analisando os resultados da Tabela 3, verifica-se que, para todos os 13 picos monitorados, o *p*-valor ficou maior que 0,05 e a inclinação da reta β_1 ficou menor que o produto $t \times s(\beta_1)$, indicando que não houve tendência nos resultados.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 3. *Dados de regressão linear obtidos com o monitoramento da solução de Ho_2O_3durante 15 dias*

Picos monitorados (nm)	*p*-valor	β_1	$t \times s(\beta_1)$
241	0,51	0,0005	0,0016
249	0,38	0,0012	0,0029
278	0,41	0,0011	0,0029
287	0,75	0,0002	0,0014
333	0,92	0,0001	0,0017
345	0,87	0,0004	0,0055
361	0,17	0,0018	0,0027
385	0,06	0,0024	0,0024
416	0,99	0,0000	0,0029
467	0,13	0,0011	0,0014
485	0,38	0,0012	0,0030
536	0,98	0,0000	0,0026
640	0,12	0,0032	0,0043

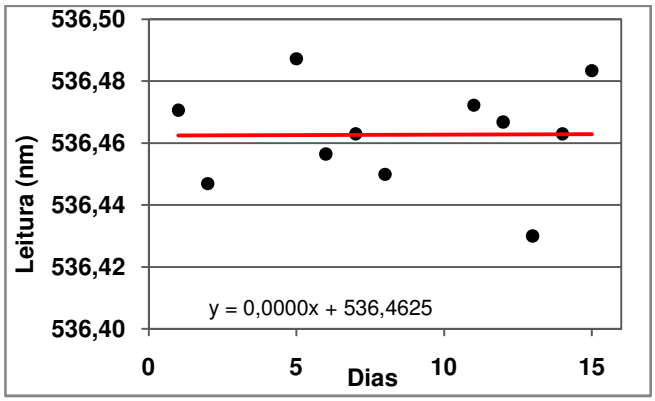


Figura 4. *Monitoramento da solução de* Ho_2O_3 *no pico de 536 nm*

Verifica-se que os comprimentos de onda dos picos da solução de Ho_2O_3 se mantiveram estáveis durante os 15 dias de monitoramento. Desta forma, conclui-se que o estudo de homogeneidade pode ser realizado dentro de um período de até duas semanas.

4.4. Influência da velocidade de varredura

Um parâmetro de medição importante é a velocidade de varredura. Dependendo da velocidade de varredura utilizada, pode ocorrer o deslocamento da posição do pico de mínima transmitância, gerando erros na escala de comprimento de onda. Para esse estudo, foram realizadas medições no espectrofotômetro AGnas seguintes velocidades: 6 nm·min^{-1}, 12 nm·min^{-1}, 20 nm·min^{-1}, 30 nm·min^{-1}, 40 nm·min^{-1}, 50 nm·min^{-1}, 75 nm·min^{-1}, 100 nm·min^{-1}, 150 nm·min^{-1} e 200 nm·min^{-1}. A configuração do espectrofotômetro utilizada para as medições foi: largura de banda de 0,1 nm em 2 ciclos de medição.

Os resultadosobtidos nas medições da solução de Ho_2O_3foram comparados com os resultadosapresentados no certificado do SRM-2034 do NIST (2016) e as diferenças obtidas entre esses valores estão apresentados nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4. *Diferença entre os valores medidos e os certificados (NIST) nas velocidades de 6 nm·min^{-1} a 40 nm·min^{-1}*

Picos (nm)	Velocidade de varredura (nm·min^{-1})				
	6	12	20	30	40
241	–0,03	–0,02	–0,02	0,00	–0,01
249	–0,01	0,03	0,02	0,04	0,01
278	–0,02	–0,06	–0,03	–0,01	0,00
287	–0,02	–0,01	–0,01	–0,03	–0,01
333	–0,05	0,01	0,02	–0,01	0,01
345	0,04	0,13	0,08	0,09	0,08
361	0,00	–0,07	–0,04	–0,02	0,01
385	0,01	0,03	0,00	–0,01	0,05
416	–0,04	–0,07	–0,02	–0,02	–0,04
467	0,03	0,04	0,04	0,03	0,02
485	–0,05	–0,01	–0,01	–0,01	0,01
536	–0,05	–0,02	0,00	–0,02	–0,04
640	–0,03	0,02	–0,02	–0,02	–0,01

Tabela 5. *Diferença entre os valores medidos e os valores certificados (NIST) nas velocidades de 50 nm·min^{-1} a 200 nm·min^{-1}*

Picos (nm)	Velocidade de varredura (nm·min^{-1})				
	50	75	100	150	200
241	0,04	0,00	0,03	0,00	0,07
249	0,01	–0,04	0,09	–0,04	–0,06
278	–0,02	0,01	0,03	0,01	0,13
287	–0,01	–0,03	0,09	–0,03	0,00
333	0,03	–0,01	0,04	–0,01	0,14
345	–0,01	–0,02	0,03	0,04	0,01
361	–0,06	0,01	0,06	–0,12	–0,09
385	0,02	0,02	–0,04	0,14	–0,10
416	–0,01	0,03	–0,06	–0,10	0,13
467	0,03	–0,02	0,04	–0,02	0,07
485	0,01	–0,01	–0,08	–0,01	–0,10
536	–0,06	0,00	–0,05	0,00	–0,06
640	–0,06	–0,01	0,04	0,05	–0,11

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Primeiramente, foicomparada a diferença entre os valores obtidos. Em termos de erro absoluto, observou-se que os resultados ficam com erros mais altos à medida que a velocidade de varredura atingiu maiores valores, como em 100 nm·min^{-1}, 150 nm·min^{-1}e 200 nm·min^{-1}. Para velocidades menores que essas, os erros estão distribuídos de forma equivalente.

Entretanto, a escolha não podeser realizada apenas visualizando os valores. A escolha da velocidade de varredura foi obtida a partir da análise considerando qual velocidade minimiza os erros em todos os pontos. Foi, portanto, feito um ajuste de reta para cada conjunto de dados de comprimentos de onda em cada velocidade, em função de seu valor certificado. As curvas ajustadas estão apresentadas na Figura 6 e os resultados nas Tabelas 6 e 7. O gráfico da Figura 6, em que foi feito o ajuste linear, foi obtido com os dados das Tabelas 6 e 7.

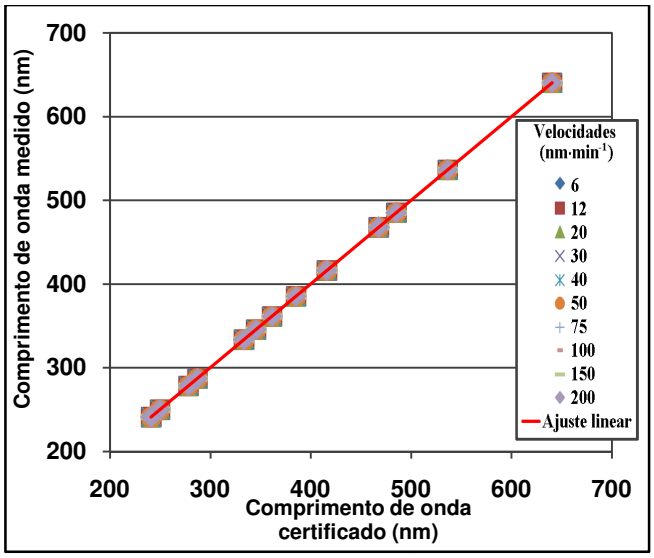


Figura 6. *Variação entre o comprimento de onda medido e o comprimento de onda certificado do SRM-2034, em função das velocidades de varredura*

Um critério de análise seria escolher a reta que possuio coeficiente angular mais próximo de 45°, ou seja, com uma inclinação equivalente a1, o que indicaria,ao mesmo tempo,a melhor velocidade para se obter a menor diferença entre todos os pontos. Por meio deajuste linear e analisando os resultados, observou-se que a inclinação para todas as velocidades foi igual a 1, assim como o coeficiente de determinação,R².

Verificou-se, assim, que o que diferencia a qualidade das velocidades de varredura é a soma quadrática dos resíduos. Com esse critério, com velocidades maiores, obtêm-se resíduos maiores, portanto, tais velocidades não devem ser escolhidas. Por outro lado, a velocidade de 6 nm·min^{-1} é uma das que possuimenor resíduo, porém essa é uma velocidade muito lenta, tornando-se impraticável utilizá-la nas medições.

Tabela 6. *Dados do ajuste linear das velocidades de varredura de 6 nm·min^{-1} a 40 nm·min^{-1}*

	Velocidade de varredura (nm·min^{-1})				
	6	**12**	**20**	**30**	**40**
Número de dados	13	13	13	13	13
Graus de liberdade	11	11	11	11	11
Soma quadrática dos resíduos	0,0087	0,0320	0,0116	0,0116	0,0109
R²	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Intercepção	0,002	–0,009	0,007	0,028	0,028
Inclinação	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Tabela 7. *Dados do ajuste linear das velocidades de varredura de 50 nm·min^{-1}a 200 nm·min^{-1}*

	Velocidade de varredura (nm·min^{-1})				
	50	**75**	**100**	**150**	**200**
Número de dados	13	13	13	13	13
Graus de liberdade	11	11	11	11	11
Soma quadrática dos resíduos	0,0110	0,0056	0,0274	0,0459	0,0928
R²	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Intercepção	0,051	–0,014	0,103	–0,042	0,137
Inclinação	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

As velocidades entre 20 nm·min^{-1}e 75 nm·min^{-1} são as que possuem resíduos bem baixos. Sendo assim, seria interessante utilizá-las nas medições por serem velocidades que fornecem os erros mais baixos e que geram espectros confiáveis em tempo hábil.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

4.5. Análise da largura da banda espectral

Outro parâmetro de medição importante a ser estabelecido no espectrofotômetro é a largura da banda espectral (*spectral bandwidth* – SBW). Dependendo de qual SBW for utilizada, há comprometimento na identificação de picos de mínima transmitância que estão próximos no espectro, já que pode haver sobreposição deles e ocorrendo, assim, dificuldade na visualização. O número de picos identificados no espectro também pode variar conforme a SBW escolhida.

Para esse estudo, foram realizadas medições no espectrofotômetro AGcuja configuração escolhida foi: velocidade de varredura de 20 $nm \cdot min^{-1}$, 2 ciclos de medição e SBW de 1 nm, 2 nm, 3 nm e 4 nm. Os espectros obtidos nas medições podem ser observadosna Figura 7, em que houve a variação da SBW nas medições.

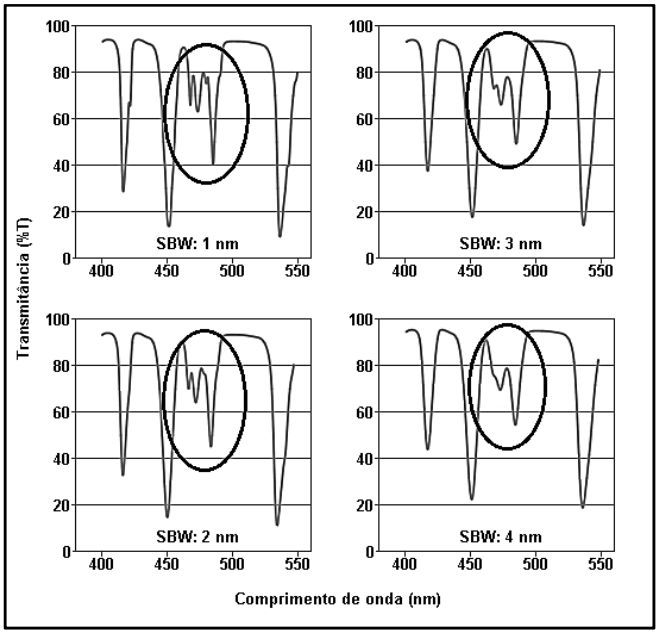


Figura 7. *Comparação dos espectros de transmitância em diferentes larguras de banda espectral*

Através da Figura 7, verifica-se que a resolução dos picos de transmitância fica pior com o aumento da SBW, em que dois ou mais picos próximos se sobrepõem, não podendo ser distinguidos e visualizando apenas um pico. Observa-se que, com a SBW de 1 nm, obtém-se uma melhor resolução dos picos.

5. CONCLUSÕES

Os estudos de viabilidade foram importantes para definir os parâmetros para a medição da solução de Ho_2O_3 candidata a MRC nos estudos de homogeneidade, estabilidade e nacaracterização. Portanto, a partir dos estudos realizados, os parâmetros a serem utilizados nos ensaios com o candidato a MRC foram: largura de banda espectral de 1 nm, velocidade de varredura de 30 $nm \cdot min^{-1}$, não sendo necessário utilizar o branco de referência, nem ambientar previamente as cubetas de quartzo e realizando todas as medições com a amostra dentro do período de uma semana.

Os estudos de viabilidade realizados para a solução de Ho_2O_3 foram essenciais para aumentar a exatidão das medições, minimizar incertezas e otimizar o tempo dos experimentos.

Dessa forma, a próxima etapa será a produção de um lote do candidato a MRC de Ho_2O_3 e, assim, realizar os estudos de homogeneidade, estabilidade a curto e a longo prazo e a caracterização do candidato a MRC, além da avaliação da incerteza de medição, necessários para a certificação do material.

O desenvolvimento do MRC de Ho_2O_3 irá contribuir para garantir a confiabilidade e qualidade dos resultados das medições espectrofotométricas no país.

REFERÊNCIAS

1. ABNTNBR ISO 17034, **2017**.
2. ISO Guide 35, **2017**.
3. Augusto, C.R., Monteiro, T.M., Rodrigues, J.M., Cunha, V.S.*Congresso Inmetro*, **2010**.
4. Galo, A.L., Colombo, M.F. *Quim. Nova*, **2009**, *32*, 2.
5. NIST. *Standard Reference Material® 2034*, **2016**.
6. Quevauviller, P. *TrAC*, **1999**, *18*, 2.
7. Weidner, V.R., Mavrodineanu, K.D. Mielenz, K.D., Velapoldi, R.A, Eckerle, K.L., Adams, B. *J. Res. Natl. Bur. Stand.*, **1985**, *90*, 2.

• ISSN 1806-0374 (impresso) • ISSN 1806-9827 (CD-ROM) • ISSN 2179-0302 (meio eletrônico)

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

COMPARAÇÃO DE MEMBRANAS PURAS DE 13X E 5A ZEOLITE PARA REMOÇÃO DE TINTURA LARANJA DE ACRIDINA DE SOLUÇÕES AQUOSAS

COMPARISION OF PURE MEMBRANES OF 13X AND 5A ZEOLITE FOR REMOVAL OF ACRIDINE ORANGE DYE FROM AQUEOUS SOLUTIONS

COELLO-FIALLOS, Diana Carolina[1*]; ESPIN-LAGOS, Segundo Manuel[2]; VACACELA GOMEZ, Cristian[3]; TAVOLARO, Adalgisa[4]; CAPUTI, Lorenzo S.[5]

[1,2]Technical University of Ambato, Faculty of Civil and Mechanical engineering (FICM), 180103, Ave Los Chasquis, Ambato-Ecuador. (Phone: +593 032 523039; fax: +593 032 523039)

[4]Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Physics Research Group, Panamericana Sur K 1 ½ EC-060155, Riobamba-Ecuador. (Phone: +593 3 299-8200; fax: +593 3 299-8127)

[3]University of Calabria, Surface Nanoscience Group, Department of Physics, 87036, Av Pietro Bucci, Cubo 17C, Rende (CS)-Italy. (Phone: +39 0984 4911; fax: +39 0984496154)

[4]University of Calabria, Institute on Membrane Technology (ITM-CNR), 87036, Via Pietro Bucci, Cubo 33C, Rende (CS)-Italy. (Phone: +39 0984 4911; fax: +39 0984496154)

** Autor correspondente*
e-mail: dc.coello@uta.edu.ec

Received 08 December 2017; Accepted 09 December 2017

RESUMO

Este trabalho foi realizado para testar membranas puras de dois zeólitos 13X e 5A (peneira molecular), como adsorventes efetivos para remoção de corante catiônico, laranja de acridina (AO), a partir de solução aquosa. As membranas foram realizadas por método rápido e fácil sem reagentes adicionais, a membrana pura realizada com 5A chamamos de m-5A e membrana pura realizada com 13X, chamamos m-13X. A adsorção de AO foi estudada em um sistema de lote em conjunto com análises UV-visíveis para determinar a eficiência de m-13X e m-5A, onde ambas as membranas puras apresentaram bons resultados. A influência do tempo de contato na quantidade de corante adsorvido em membranas puras foi investigada, mostra alta redução nas primeiras horas de contato. A eficiência de adsorção é maior usando m-13X, às 18h, atinge 85%, enquanto que para m-5A atinge 55%. O mecanismo de adsorção foi analisado por modelos cinéticos: Pseudo primeira ordem e Pseudo de segunda ordem, e os dados experimentais mostram que um bom acordo com o modelo de segunda ordem obteve uma quantidade adsorvida de 1,73 e 2,36 mg / g para m-5A e m-13X, respectivamente. Este estudo mostra que o m-13X é um adsorvente mais eficaz que o adsorvente m-5A para remoção de AO de soluções aquosas.

Palavras-chave: *membranas puras, adsorção, laranja de acridina, peneira molecular, modelos cinéticos*

ABSTRACT

This work has been performed to test pure membranes of two zeolites as effective adsorbents for the removal of the cationic dye acridine orange (AO) from aqueous solution. The membranes were made through fast and easy method without additional reagents. Membrane made by 5A and 13X zeolites were called m-5A and m-13X, respectively. Adsorption of AO was studied in a batch system in conjunction with UV-visible analyses to determine de efficiency of m-13X and m-5A. Both membranes exhibited good adsorption performance. The influence of contact time on the amount of dye adsorbed onto membranes was investigated,

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

showing high reduction in the first hours of contact. The adsorption efficiency after 18h was 85 % for m-13X, and 55% for m-5A. The kinetics of adsorption showed good agreement with the pseudo-second order model, giving an adsorbed amount of 1,73 and 2,36 mg/g for m-5A and m-13X, respectively. This study shows that m-13X is a more effective adsorbent than m-5A for removal of AO from aqueous solutions.

Keywords: *membranes, adsorption,acridine orange, molecular sieve, kinetic models.*

INTRODUCTION

Dyes have a wide use in textile industry and many dyes and their degradation products are toxic and carcinogenic, posing a serious hazard to human health, animals and organisms (Hunger 2007; Crini *et al*., 2006). The textile industries in Ecuador are a great concern for inappropriate disposal of their effluents into the local water supply.

The removal of synthetic dyes from aqueous solutions is therefore an environmental problem (Brinker *et al*., 2001). Among the more common processes used for the treatment of wastewater, adsorption is found to be a versatile process and gives good results in the treatment of dyestuff effluents (Moges, et al., 2017; Coello *et al*., 2015; Monash *et al*., 2009; Valdés *et al*., 2009). Many investigations have been performed to develop new adsorbents for the removal of dyes (Wang *et al*., 2009; Sohrabnezhad and Pourahmad, 2010,). Inorganic materials (e.g. zeolites) with high specific surface areas have been used as alternatives to carbon adsorbents. Sun *et al*., (2017) presented also solid basis for studying gas adsorption in porous materials.

Zeolites are three-dimensional, microporous, crystalline solids with well-defined structures containing aluminum, silicon, and oxygen in their regular framework. The silicon and aluminum atoms are tetrahedrally coordinated to each other through shared oxygen atoms.

The adsorption properties of zeolites are strongly dependent not only on the pore properties, but also on the chemical and physical properties determined by the synthesis methods and procedures (Tavolaro and Drioli, 1999). Wang and Le Van (2009) obtained similar results for adsorption of CO_2 on 5A and 13X zeolites. CO_2 adsorption was also investigated on small-pore zeolites Linde 4A and 5A, and on 13X zeolites (Mondanari *et al*., 2011; Sircar *et al*., 2000; Wang *et al*., 1998; Kamiuto *et al*., 2002).

Tavolaro *et al*. (2011) reported the use of crystalline MFI, FAU, BEA, LTA, MOR, and MEL type zeolite membrane, for cell culture purposes (Tavolaro *et al*., 2017).

The basic dyes exhibit cationic properties when dissolved in water and react on their basic sides. Acridine orange (AO) dyes is commonly used for textile dyeing (Bath and Rani, 2013), nad is also used to stain tissues (Vanaja *et al*., 2014; Hunger 2007) and in biology (Alvarez-Buylla *et al*., 1990).

The removal of AO has been reported in different investigations (Coello *et al*., 2015; Palit and Moulik 2003; Çöle *et al*., 2013; Senthilkumaar *et al*. 2005). Coello *et al*. (2015) reported a maximum AO adsorption capacity of 219 mg/g onto graphene oxide. Lv *et al*. (2011) studied the adsorption of AO on swelling clays. Photocatalytic degradation was applied on AO using semiconductor TiO_2 (Swami and Pandit, 2013). AO was also adsorbed on rye straw, obtaining a maximum adsorption capacity of 208.3 mg/g (Baldikova *et al*., 2015).

The aim of this work was to study the adsorption efficiency of acridine orange on molecular sieves 13X and 5A in form of pure membrane made by Tavolaro method without chemical modifications.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Materials

Zeolites 5A and 13X (Molecular sieve, powder, activated) and dye were purchased from Sigma Aldrich. Acridine orange CAS Number 10127-02-3; linear formula $C_{17}H_{20}ClN_3 \cdot HCl \cdot 1/2ZnCl_2$; molecular weight 369.96; dye content of 90%) was used without further purification.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

2.2. Fabrication of zeolite membranes

The zeolite membranes used in this work as adsorbents were prepared according to the patented Tavolaro *et al*. method (WO2011098497 A1) with a diameter equal to 13 mm. A zeolite layer was prepared using molecular sieve13X and 5A; a layer was spread with the desired thickness; the layer was pressed with a pressure of about 2 kg/cm^2 (Tavolaro *et al*., 2011).

The morphology and structure of the membranes were investigated by Field Emission Scanning Electron Microscopy (FESEM) (FEI QUANTA FEG 400 F7) and Infrared absorption spectroscopy (IR) (Perkin Elmer Spectrum 100 FTIR) using the "Attenuated Total Reflection" (ATR), in the range 4000 - 450 cm^{-1}.

2.3. Adsorption

Adsorption was performed in a batch system and carried out at room temperature (RT = 298 K) by contacting pure membranes with 2.5 mL of dye solutions at different initial concentrations in distilled water.

2.2.1 Adsorption kinetics

Each pure membrane was contacted with 2.5 mL of dye solutions at 100 mg/L initial concentration. The time contact for kinetic studies was from 1 h to 48 h, and all tests were performed in static conditions.

Concentration of AO in aqueous solutions was determiner through UV-visible spectroscopy analysis (Shimadzu UV-160A spectrophotometer), using the absorbance value at the wavelength of 492 nm. A calibration procedure was applied by using solutions at known concentrations of the three dyes. The adsorption amount q_t (mg/g) at time t was calculated as:

$$q_t = \frac{(C_0 - C_t)V}{m} \qquad \text{(Eq. 1)}$$

Where, C_o and C_t(mg/L) are the initial dye concentration and the dye concentration at time t(h), respectively, V(L) is the volume, and m(g) is the mass of the membrane.

Adsorption efficiency (%) expressed as a percentage was calculated according to Equation 2:

$$\% = \frac{C_0 - C_t}{C_0} 100 \qquad \text{(Eq. 2)}$$

RESULTS AND DISCUSION

3.1 Characterization of pure membranes

Figure 1 shows SEM images of the membranes, evidencing a defined and consistent shape. Zeolite membrane are indissoluble and non-disintegrable either by contact or by immersion in water (Tavolaro *et al*., 2011). The surface of zeolite membranes is plane and smooth with inter-crystalline spaces, pores and cavities with sizes between 2 and 5 µm.

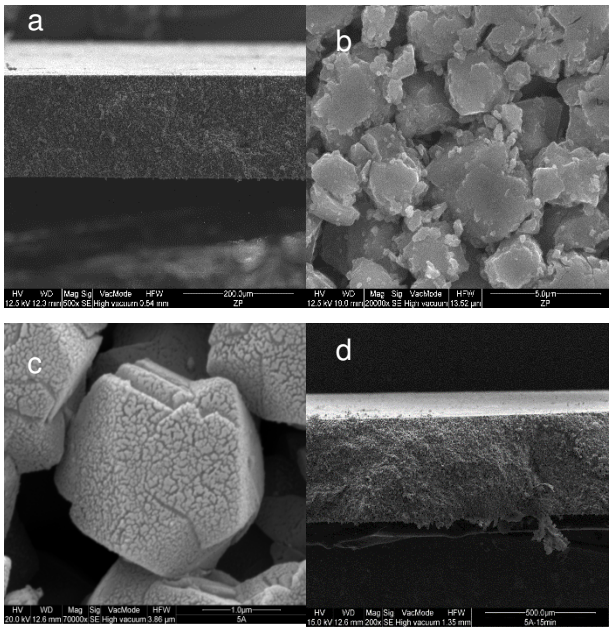


Figure 1. *SEM images of pure membranes of zeolites. Cross-sectional morphology of m-13X and m-5A in (a) and (d) respectively and surface morphology of m-13X and m-5A in (b) and (c) respectively.*

SEM image of cross section of m-13X shows in figure 1a presents a well-defined thickness of the order of hundreds of microns, and well-defined edges. The membrane is characterized by the fact that has an auto-supported structure. In figure 1b is shown a piece of compressed zeolite 13X with pores and cavities between 3 and 5 µm. Thickness of m-5A is of several hundreds of microns (figure 1d), with some pores between the crystals of around 2 µm of diameter (figure 1c) and rough particles.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

FTIR spectra of pure membranes are shown in figure 2, with the characteristic bands for zeolite Na-X, and present similar bands for m-5A and m-13X due to OH, C-O, C-H and C-C functional groups. The m-5A spectrum shows an additional band at 1475 cm^{-1} (C=C ring breathing), and the band at 556 cm^{-1} (stretching C-O) is more intense that in m-13X spectrum, while the band around 700 cm^{-1} is more intense in m-13X.

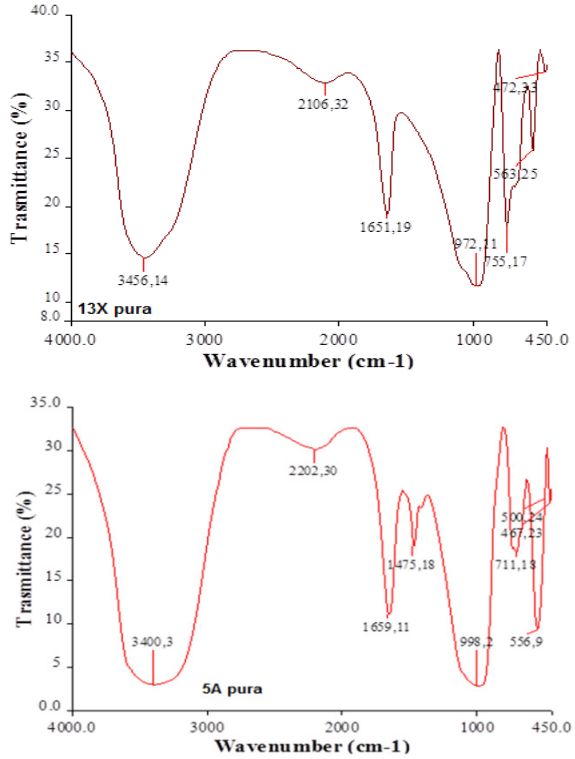


Figure 2. *FTIR-ATR spectra of pure membranes m-13X (upper) and m-5A (down) recorded from 4000 to 450 cm^{-1}*

3.2 Adsorption

Pure membrane m-13X and m-5A are able to adsorb the pollutants because evidenced additional porous between the crystals. Adsorption capacity is the accumulation of the solute molecules of dye at the surface of the pure membranes. This capacity is directly proportional to the area of the surface exposed and is dependent on the solute partial pressure and the temperature.

Fig. 3 shows the adsorption capacity and efficiency of m-13X (a) and m-5A (b) as a function of time, with an initial concentration of 100 mg/L.

The influence of contact time was studied in a range from 1 to 48 h. In the first 8 hours a fast adsorption took place, followed by a slower adsorption. The adsorption was higher using m-13X (85% after 18 h), with respect to m-5A (65% after 18 h). The results indicate that adsorption proceeds with different rates and that m-13X is a better adsorbent than m-5A.

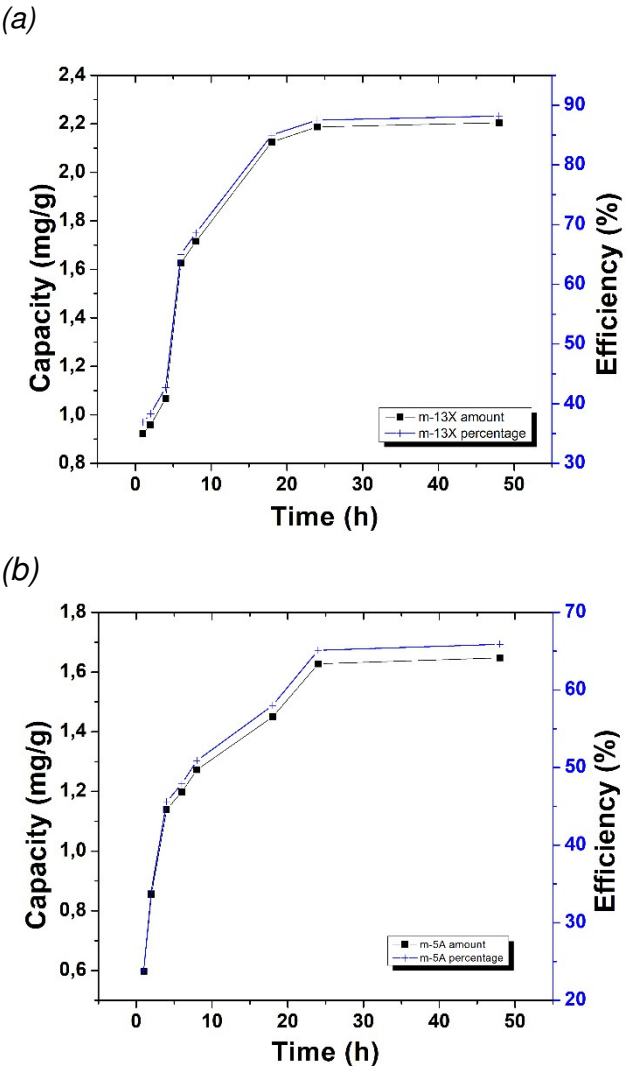


Figure 3.*Adsorption capacity and efficiency of pure membranes to remove AO, m-13X (a) and m-5A (b).*

3.2.1 Kinetics adsorption models

In order to examine the adsorption mechanism, the kinetics processes were analysed for both pure membranes using two models. The pseudo-first order is expressed in equation 3.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

$$\ln(q_e - q_t) = ln\, q_e - k_1 t \qquad \text{(Eq. 3)}$$

where q_e (mg/g) is the amount of dye adsorbed at equilibrium, q_t (mg/g) is the amount of dye adsorbed at time t, and $k_1(h^{-1})$ is the first order rate constant.

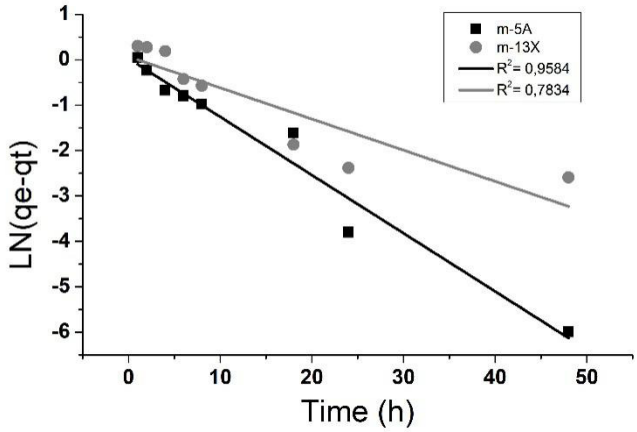


Figure 4. *Pseudo-first order fit of adsorption of AO by m-13X and m-5A.*

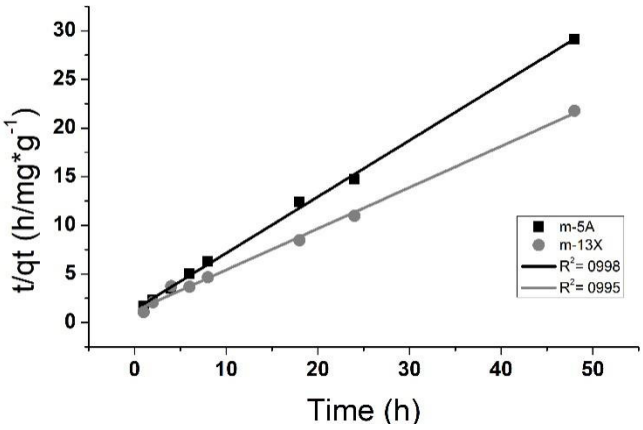


Figure 5. *Pseudo-second order fit of adsorption of AO by m-13X and m-5A.*

The pseudo-second order model is expressed by the following equation:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{K_2 {q_e}^2} + \frac{1}{q_e} t \qquad \text{(Eq. 4)}$$

where q_e and q_t (mg/g) have the same meaning as above, and k_2 (g /mg/ h) is pseudo-second order rate constant.

Plot of equations 3 and 4 would confirm the applicability of the models. The application of the pseudo-first order model for m-13X and m-5A are show in Figure 4. The experimental values of adsorption seem quite far from the fitting conditions for both pure membranes. On the contrary, the plot of t/qt versus t in Fig. 5 (pseudo-second order model) exhibits a linear behaviour, showing that the pseudo-second order model is valid for both membranes.

Table 1 shows the parameters of the fittings made for the two membranes. Different studies have been published about the impact of several influential parameters such as contact time, initial dye concentrations, using different kinetic models (Rabiti *et al*., 2016; Khosla, 2016; Kuisma *et al*., 2016). The parameters shown in Table 1 confirm that the adsorption of AO onto our m-13X and m-5A is well fitted by the pseudo-second order kinetic model.

Table 1. *Parameters of kinetic models obtained for m-13X and m-5A adsorbent*

	Pseudo-first order			Pseudo-second order		
	R^2	qe	k1	R^2	qe	k2
m-5A	0,9584	1,0275	0,1282	0,9982	1,7255	0,2491
m-13X	0,7834	1,0747	0,0687	0,995	2,3589	0,1524

4. CONCLUSIONS

Our work was performed to test pure membranes of 13X and 5A molecular sieves to remove AO. The results showed rapid adsorption on the two membranes. The equilibrium was reached in similar time, but the adsorption capacity of m-13X was higher that m-5A. In both cases, the adsorption kinetics was well fitted by the pseudo-second order model. Both pure membrane can be used for an efficient removal of AO dye from aqueous solutions.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author thank the financial support of Secretary of Higher Education Science Technology and Innovation (SENESCYT), and of PON R&C (Programma Operativo Nazionale Ricerca e Competitività 2007-564 2013) project Pon_01 00293 “SPREAD BIO-OIL”.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

REFERENCES

1. Alvarez-Buylla, A., Ling, C. Y., Kirn, J. R. J. Neurosci. Meth.**1990**, 33, 129.
2. Baldikova, E. Safarikova, M. Safarik, I. J. Magn. Magn. Mater. **2015,** 380, 181.
3. Bhatt, P., Rani, A. Asian Dye. **2013**, 10, 51.
4. Brinker, C. J.; Cornils, B.; Bonet, M. UIImann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Wiley-VCH: New York, **2001,** 6th ed.
5. Çöle, G., Gök, M. K., Güçlü, G. Water Air Soil Pollut. **2013**, 224, 1.
6. Coello-Fiallos, D.; Vacacela-Gomez, C.; Tubón-Usca, G.; Cid-Perez, D.; Tavolaro, D.; Martino, G.; Caputi, L.; Tavolaro, A. J. AIP Proc. **2015**, 1646, 38.
7. Crini, G. Bioresour. J. Technol. **2006**, 97, 1061.
8. Hunger, K. Industrial Dyes **2007**, pp. 5-6-540.
9. Kamiuto, K., Abe. S, Ermalina, S. Appl. Energy, **2002**, 72, 555.
10. Khosla, E. Chem. Applied Biochem. **2016**, 2, 57.
11. Kuisma, E.; Hansson, C. F.: Lindberg, T. B.; Gillberg, C. A.; Idh, S.; Schröder, E. J. Chem. Phys. **2016**, 144.
12. Lv, G., Li, Z., Jiang, W. T., Chang, P. H., Jean, J. S., Lin, K. H. J. Chem. Eng. **2011**, 174, 603.
13. Moges, M.E., Todt, D., Eregno, F.E., Heistad, A. Ecol. Eng. **2017**, 105, 118.
14. Monash, P.; Pugazhenthi, G. J. Adsorption **2009**, 15, 390.
15. Montanari, T., Finocchio, E., Salvatore, E., Garuti, G., Giordano, A., Pistarino, C., Busca, G. Energy, **2011**, 36, 314.
16. Palit, D., Moulik, S. P. Coll. J. **2003**, 65, 350.
17. Robati, D.; Mirza, B.; Rajabi, M.; Moradi, I. Tyagi, S. Agarwal, and V. K. Gupta O., Chem. Eng. J. **2016**, 284, 687.
18. Senthilkumaar, S., Porkodi, K., Vidyalakshmi, R. J. Photoch. Photobio A: Chem. **2005**, 170, 225.
19. Sircar, S. and Golden TC. Sep Sci. Technol, **2000**, 35, 667.
20. Sohrabnezhad, Sh. Pourahmad, A. J. Desalination **2010**, 256, 84.
21. Sun, L., Yang, L., Zhang, Y., Shi, Q., Lu, R.F., Deng, W. Q. J. Computational. Chem. **2017**, 38, 1991.
22. Swami, D., Pandit, P. Nat. Environ. Pollut. Technol. **2013**, 12, 517.
23. Tavolaro, P., Catalano, S., Martino, G., Tavolaro, A. App. Surf. Sci. **2017**, in press.
24. Tavolaro, A., Drioli, E. J. Adv. Mater. **1999**, 11, 975.
25. Tavolaro, A., Martino, G., Tavolaro, P. **2011**, Patent WO 2011098497 A1.
26. Vanaja, M., Paulkumar, K., Baburaja, M., Rajeshkumar, S., Gnanajobitha, G., Malarkodi, C., Sivakavinesan, M., Annadurai, G. Bioinorg. Chem. Appl. **2014**, 2014, 1.
27. Valdés, H., Tardón, R., Zaror, C. Revista chilena de ingeniería, **2009**, 17, 360.
28. Wang, C., Li, J., Wang, L., Sun, X., & Huang, J. Chinese J. Chem. Eng. **2009** 17, 513.
29. Wang, Y. and Le Van, M. D. J. Chem. Eng. Data, **2009**, 54, 2839.
30. Wang, Z.M., Arai, T., Kumagai, M. Energy Fuels, **1998**, 12,1055.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

TÉCNICA FOTOTÉRMICA PARA A MEDIÇÃO DA CONDUTIVIDADE TÉRMICA E A DIFUSÃO DE NANOFLUIDOS: UMA NOVA ABORDAGEM

PHOTOTHERMAL TECHNIQUE FOR MEASURING THERMAL CONDUCTIVITY AND DIFFUSIVITY OF NANOFLUIDS: A NEW APPROACH

HECHAVARRÍA, Rodney[1*]; DELGADO, Osvaldo[2]; HIDALGO, Andrés[3]; ESPÍN, Segundo[4]; GUAMANQUISPE, Jorge[5]

[1,3,4,5] Technical University of Ambato, Campus Huachi, Los Chasquis and Río Payamino, Ambato, Ecuador (phone: +593 3 2841144)

[2] Metropolitan Polytechnic University of Hidalgo, Boulevard Acceso a Tolcayuca # 1009 Ex Hacienda de San Javier,Tolcayuca, México (phone: + 743 7411015)

** Autor correspondente*
e-mail: ro.hechavarria@uta.edu.ec

Received 08 December 2017; accepted 09 December 2017

RESUMO

Os nanofluidos tornaram-se hoje em dia de especial importância por causa de seus diferentes usos na indústria, portanto, propor métodos para calcular suas propriedades térmicas seriam úteis. Neste trabalho, propõe-se uma nova variante para o cálculo da condutividade térmica e difusividade de nanofluidos; são estudadas as possibilidades e limitações desse método não estacionário, que utiliza a radiação de luz como fonte de calor. Aqui, a luz é incidente homogêneo em uma das superfícies de extremidade de um cilindro que tem uma superfície lateral isolada termicamente, ajustando a temperatura na outra extremidade para um valor constante, então a distribuição da temperatura é obtida em função da coordenada e do tempo; ajustando o modelo teórico, a equação de difusão de calor parabólico, aos dados experimentais obtidos. São analisadas as condições de validade do método para medir a difusividade térmica e a condutividade térmica dos fluidos; bem como a forma como ele poderia ser usado para verificar a validade do modelo de Hamilton e Crosser (HC) no caso dos nanofluidos. Atualmente, os nanofluidos são usados para trocar calor, pois verificaram-se que excedem o potencial dos refrigerantes convencionais; no entanto, o cálculo de propriedades térmicas ainda não oferece valores definitivos.

Palavras-chave: condutividade térmica, difusividade térmica, modelo Hamilton e Crosser, nanofluidos.

ABSTRACT

Nanofluids have become nowadays of special importance because of their different uses in industry, therefore, to propose methods to calculate their thermal properties would be useful. In this work, a new variant for the calculation of thermal conductivity and diffusivity of nanofluids is proposed; the possibilities and limitations of this non-stationary method, which uses light radiation as the heat source, are studied. Here, the light is homogenously incident on one of the end surfaces of a cylinder that has a thermally insulated side surface, setting the temperature at the other end to a constant value, then the temperature distribution is obtained as a function of the coordinate and time; adjusting the theoretical model, parabolic heat diffusion equation, to the experimental data obtained. The conditions of validity of the method to measure thermal diffusivity and thermal conductivity of fluids are analyzed; as well as, the way in which it could be used to verify the validity of the Hamilton and Crosser (HC) model in the case of nanofluids. Currently, nanofluids are used to exchange heat, as they have been found to exceed the potential of conventional refrigerants; however, the calculation of thermal properties still does not offer definitive values.

Keywords: thermal conductivity, thermal diffusivity, Hamilton and Crosser model, nanofluids.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUCTION

At present, several methods are known to determine the thermal conductivity and diffusivity of materials (Fox and McMaster, 1975; Ficker, 1996; Hurley *et al*., 2015; Keblinski *et al*., 2002; Xue and Xu, 2005; Gregorová, 2014; Xuan and Li, 2000; Putnam *et al*., 2006), (González *et al*. 2014; Warrier *et al*. 2015; Martínez *et al*. 2015; Cobirzan *et al*. 2016). Therefore, choosing the appropriate method in each particular situation is of great importance. To do this it is necessary to take into account several factors.

1) If high precision is not required, then very sophisticated methods are unnecessary.

2) Stationary methods are usually time consuming and therefore not suitable for measuring large numbers of samples.

3) If it is not possible to prepare specimens of defined geometry, methods using point and linear sources should be preferred.

All the methods used to measure thermal properties can be divided into two fundamental groups: I) methods that use heat sources and II) those that do not. In the latter group the temperature T of the medium is modulated by contact with an infinite heat exchanger, while in the first the heat source acts on the inside of the sample or on its surface.

Methods that do not use heat sources can be divided into stationary and non-stationary. For their part, methods that use heat sources are also divided into stationary and non-stationary; But in this case other classification factors become more important, namely: a) the geometry of the source (punctual, linear, superficial or volumetric), b) the temporal dependence of the power source (pulse rate or continuous) and c) the configuration of the sample being measured (eg plane-parallel, cylindrical or spherical). Since each experimental setup can employ several combinations of the three groups a) - c) there are a large number of modifications, each of which requires its particular solution T (x, y, z, t) of the Heat diffusion equation (Ficker, 1996).

The present work aims to study the possibilities and limitations of a non-stationary method, which uses light radiation as a source of heat. In this method, which is a new proposed variant, the light is homogeneously placed on one of the end surfaces of a cylinder, which, under vacuum, would not have convective heat transfer. In a non-stationary state the temperature hardly varies due to radiation either; keeping the temperature constant at the other end.

There are several theoretical models such as Hamilton and Crosser (HC) that predict the behavior of the thermal conductivity of the compounds and mixtures according to the proportion of the components that form it (Maxwell, 1881). However, in spite of the fact that they have successfully withstood multiple experimental tests, in the last years a great discussion has arisen as to their validity when it comes to nanofluids (Hurley *et al*., 2015; Keblinski *et al*., 2002; Xue and Xu, 2005; Gregorová, 2014; Xuan and Li, 2000; Shemeena, 2012).

The controversy, as yet unresolved, about the validity of the HC model, as well as of other equivalents (Xue and Xu, 2005;), arises because the measurements of thermal conductivity that have been realized on these systems reveal values that far surpass those that predict said Models (Keblinski *et al*., 2002; Xue and Xu, 2005; Gregorová, 2014). To date, there is an insufficient amount of experimental data and the vast majority of it has been obtained using a single method, the hot wire method (Putnam *et al*., 2006; Eastman *et al*., 2001; Choi *et al*., 2001; Xie *et al*., 2002; Klingenberg and Venerus, 2006). In turn, other measurements obtained using different methods yield conflicting results with those reported initially (Zhang *et al*., 2006).

In conclusion, it can be inferred that either a new theory needs to be developed or the thermal conductivity values reported do not reflect reality. The latter may be due to several factors that have not been taken into account when taking and interpreting the measurements.

MATERIALS AND METHODS

The proposed experimental method consists of the following (Figure 1a and 1b): If the material to be studied is a homogeneous and transversely isotropic metallic solid, then a cylindrical rod must be prepared of it. This rod is placed inside a vacuum chamber for the purpose of preventing heat exchange, by conduction and convection, through its front and side surfaces. The back surface of the bar is fixed to the wall of the chamber so that, on that surface, the temperature remains constant. This can be achieved with a large base preferably of copper.

© 2010. Porto Alegre, RS. Brasil

If the sample is a fluid, a cylindrical vessel must be prepared, at the front end of which, in direct contact with the sample, a sheet of aluminum or other solid material with good heat transfer is attached where the light strikes. The other end of said container will be attached, as in the case of solid samples, to the wall of the vacuum chamber, which in this case will have an aperture to allow the fluid to enter.

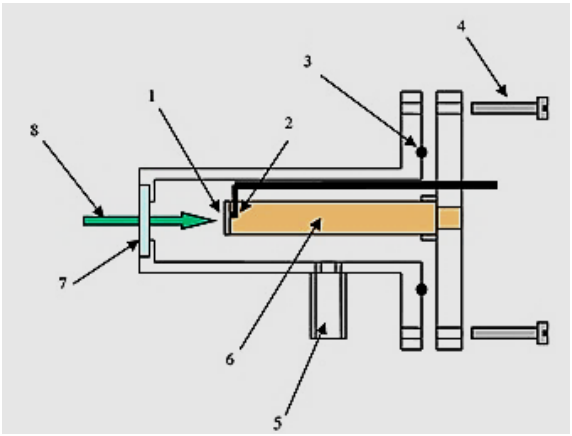


Figure 1a. *The figure represents a scheme of the device that is proposed to measure the thermal conductivity and diffusivity of solids. 1. Front surface. 2. Thermocouple. 3. O-Ring. 4. Screws. 5. Vacuum inlet. 6. Sample. 7. Glass window. 8. Light (not modulated)*

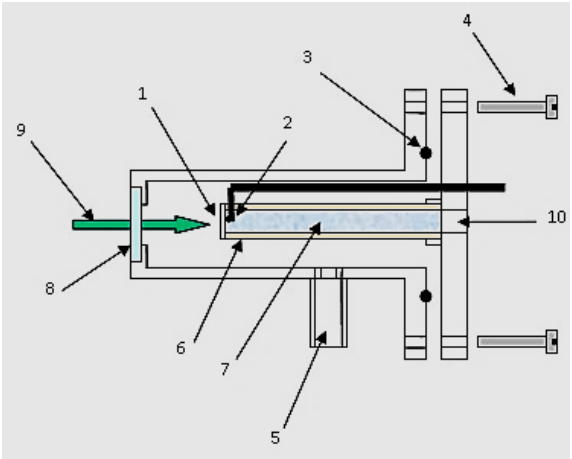


Figure 1b. *The figure represents a scheme of the device that is proposed to measure thermal conductivity and diffusivity of fluids. 1. Al sheet. 2. Thermocouple. 3. O-Ring. 4. Screws. 5. Vacuum inlet. 6. Showcase. 7. Sample. 8. Glass window. 9. Light (not modulated). 10. Opening to enter the sample.*

2.1. Theoretical model

2.1.1 Problem Statement

Heat always propagates from areas of greater to lower temperatures. Three forms of heat propagation are distinguished: conduction, convection and radiation.

As in the model (Figure 2), a solid homogeneous cylindrical rod with the length l, the area of its cross-section A, the lateral surfaces *x = L* through which it is impossible to exchange heat by conduction or convection, the back surface *x = 0* and is maintained at a constant temperature Ω_0, which coincides with the initial temperature of the entire rod, is made. It is assumed that the power of the heat source q is distributed homogeneously on the front surface, above which the light radiation is incident, and that the heat loss by radiation is negligible. Under these conditions we can consider that we are in the presence of a one-dimensional problem and, therefore, the heat diffusion equation is in one direction.

Figure 2*. Solid cylindrical bar with adiabatic lateral walls*

$$\frac{\partial \Omega(x,t)}{\partial t} = a\frac{\partial^2 \Omega(x,t)}{\partial x^2} + F(x,t) \qquad \text{(Eq. 1)}$$

In (1) α is the thermal diffusivity, given by $a = \frac{\chi}{\rho c}$ where ρ is density, *c* specific heat, *F (x, t)* considers the internal heat sources and is equal to $F(x,t) = \frac{Q(x,t)}{\rho c}$, where *Q (x, t)* is the density of internal heat sources. In this model, no internal sources of heat are contemplated, since it is generated homogeneously on the surface. Therefore, the equation (1) to be solved is reduced to:

$$\frac{\partial \Omega(x,t)}{\partial t} = a\frac{\partial^2 \Omega(x,t)}{\partial x^2} \qquad \text{(Eq. 2)}$$

whose initial conditions and frontiers are as follows:

© 2010. Porto Alegre, RS. Brasil

$$\Omega(x,0)=\Omega_0$$
$$\Omega(0,t)=\Omega_0 \quad , \ \forall\ 0<x<l,\ t>0 \qquad \text{(Eq. 3)}$$
$$\frac{\partial\Omega(l,t)}{\partial x}=Q$$

where: $Q=\frac{q}{\chi A}$, and q is the heat flux through the front surface of the sample, which is considered constant (q depends directly on the intensity of light coming from the source of illumination), χ is the thermal conductivity and A, the cross-sectional area of the sample. The solution of this problem is proposed as:

$$\Omega(x,t)=v(x,t)+p(x) \qquad \text{(Eq. 4)}$$

Substituting (4) into the equation (2) gives the following expression:

$$\frac{\partial v(x,t)}{\partial t}=\alpha\frac{\partial^2 v(x,t)}{\partial x^2}+\alpha\frac{d^2p(x)}{dx^2} \qquad \text{(Eq. 5)}$$

This leads us to two new equations, the first for $p(x)$ and the second for $v(x, t)$.

$$\frac{d^2p(x)}{dx^2}=0 \qquad \text{(Eq. 6)}$$

border conditions:

$$\frac{dp}{dx}(l)=Q$$
$$p(0)=\Omega_0 \qquad \text{(Eq. 7)}$$

Equation (6) is an ordinary differential equation with constant coefficients, the solution of which can be obtained in the form:

$$p(x)=Qx+\Omega_0 \qquad \text{(Eq. 8)}$$

For $v(x,t)$ we have:

$$\frac{\partial v(x,t)}{\partial t}=\alpha\frac{\partial^2 v(x,t)}{\partial x^2} \qquad \text{(Eq. 9)}$$

border conditions:

$$v(0,t)=0$$
$$\frac{\partial v(l,t)}{\partial x}=0 \qquad \text{(Eq. 10)}$$

By the method of separating variables, in partial derivatives, we look for the solution of this equation in the form:

$$v(x,t)=U(t)\cdot X(x)\neq 0 \qquad \text{(Eq. 11)}$$

$$\frac{dU(t)}{dt}+\alpha\lambda U(t)=0 \qquad \text{(Eq. 11.1)}$$

Equation (11.1) is an ordinary differential equation and its solution is:

$$U(t)=C\cdot e^{-\lambda\cdot\alpha\cdot t} \qquad \text{(Eq. 11.2)}$$

where: C is an arbitrary constant. For the spatial part we obtain:

$$\frac{d^2X}{dx^2}+\lambda X(x)=0 \qquad \text{(Eq. 11.3)}$$

whose initial and boundary conditions are:

$$X(0)=0$$
$$\frac{dX}{dx}(l)=0\ , \ \forall\ 0<x<l \qquad \text{(Eq. 11.4)}$$
$$X(x)\neq 0$$

The general solution of this problem is:

$$X(x)=Dsen(\sqrt{\lambda}x)+Bcos\left(\sqrt{\lambda}x\right) \qquad \text{(Eq. 11.5)}$$

Imposing that (11.5) satisfies (11.4), we will have: B = 0 and the eigenvalues: $\lambda_n=\left[(2n+1)\frac{\pi}{2l}\right]^2$, $n = 0, 1, 2, 3...$ Therefore, the solution of Equation (11.3) will be:

$$X_n(x)=Dsen\left[(2n+1)\frac{\pi x}{2l}\right] \qquad \text{(Eq. 11.6)}$$

where: D is an arbitrary constant, hence the general solution of equation (9) without considering the initial conditions can be written as:

$$v(x,t)=\sum_{n=0}^{\infty}C_n\cdot e^{-\left[\frac{(2n+1)\pi}{2l}\right]^2\alpha t}sen\left[\frac{(2n+1)\pi x}{2l}\right] \qquad \text{(Eq. 12)}$$

The constant C_n is determined by imposing on the function (12) the fulfillment of the initial condition:

© 2010. Porto Alegre, RS. Brasil

$$v(x,0)=\sum_{n=0}^{\infty}C_n sen\left[(2n+1)\frac{\pi x}{2l}\right]=\Omega_0-p(x)=\varphi(x)$$

(Eq. 13)

wherein:

$$C_n\equiv\varphi_n=\frac{2}{l}\int_0^l\varphi(\xi)sen\left[(2n+1)\frac{\pi\xi}{2l}\right]d\xi$$

(Eq. 14)

Substituting (14) into (12) we obtain:

$$v(x,t)=\sum_{n=0}^{\infty}\frac{2}{l}\int_0^l\varphi(\xi)\cdot sen\left[\frac{(2n+1)\pi\xi}{2l}\right]d\xi\, e^{-\left[\frac{(2n+1)\pi}{2l}\right]^2\alpha t}sen\left[\frac{(2n+1)\pi x}{2l}\right]$$

(Eq. 15)

Introducing the notation:

$$G(x,\xi,t)=\sum_{n=0}^{\infty}\frac{2}{l}sen\left[\frac{(2n+1)\pi\xi}{2l}\right]\cdot e^{-\left[\frac{(2n+1)\pi}{2l}\right]^2\alpha t}\cdot sen\left[\frac{(2n+1)\pi x}{2l}\right]$$

(Eq. 16)

The solution if equation (15) is:

$$v(x,t)=\int_0^l G(x,\xi,t)\cdot\varphi(\xi)d\xi$$

(Eq. 17)

The function (16) is the Green function of the problem. If we integrate, there is:

$$v(x,t)=\frac{-8lQ}{\pi^2}\sum_{n=0}^{\infty}\frac{(-1)^n}{(2n+1)^2}\cdot e^{-\left[\frac{(2n+1)\pi}{2l}\right]^2\alpha t}\cdot sen\left[\frac{(2n+1)\pi x}{2l}\right]$$

(Eq. 18)

Considering (4) we finally arrived at:

$$\Omega(x,t)=\Omega_0+Qx-\frac{8lQ}{\pi^2}\sum_{n=0}^{\infty}\frac{(-1)^n}{(2n+1)^2}\cdot e^{-\left[\frac{(2n+1)\pi}{2l}\right]^2\alpha t}\cdot sen\left[\frac{(2n+1)\pi x}{2l}\right]$$

(Eq. 19)

This expression can be written as:

$$T(x,t)=T_{es}\left\{\frac{x}{l}-\frac{8}{\pi^2}\sum_{n=0}^{\infty}\frac{(-1)^n}{(2n+1)^2}\cdot e^{-t/\tau}\cdot sen\left[\frac{(2n+1)\pi x}{2l}\right]\right\}$$

(Eq. 20)

where:

$$T_{es}=\frac{ql}{\chi A}$$

(Eq. 21)

is the temperature corresponding to the steady state at the position x = 1, while:

$$\tau=\frac{1}{\left[(2n+1)\pi/2l\right]^2\alpha}$$

(Eq. 22)

is the time during which the temperature $T\,(x,\,t)$ reaches the value:

$$T(x,t)=T_{es}\left\{\frac{x}{l}-\frac{8}{\pi^2}\sum_{n=0}^{\infty}\frac{(-1)^n}{(2n+1)^2}\cdot e^{-1}\cdot sen\left[\frac{(2n+1)\pi x}{2l}\right]\right\}$$

(Eq. 23)

Expression (20) represents the increase in temperature relative to the initial temperature while generating heat at the surface of the sample.

2.2. Applicability of the fluid model

Although the heat diffusion equation (1), in general, is not valid for the case of fluids, it can be applied to these when the phenomenon of convection inside them is negligible.

On the other hand, the fluids must be contained in some container, which in our case is the sample holder. This causes the thermal diffusivity and conductivity values in expression (20) and, which can be measured in the experiment, to be actually the effective values of the system composed of the sample holder plus the fluid. That is, they are magnitudes that take into account the characteristics of both of them.
Thus, for the effective thermal conductivity and diffusivity, we have the following expressions (Hamilton and Crosser, 1962):

$$\chi_{ef}=\mu\cdot\chi_f+(1-\mu)\cdot\chi_p$$

$$\alpha_{ef}=\frac{\mu\cdot\chi_f+(1-\mu)\cdot\chi_p}{\mu\cdot\rho c_f+(1-\mu)\cdot\rho c_p}$$

(Eq. 24)

where: μ is the cross-sectional area ratio, which includes the sample holder in the system, ρ is the density of each material and the subscripts f and p represent the fluid and the sample holder respectively.

© 2010. Porto Alegre, RS. Brasil

2.3. Temporal variation of temperature

Figure 3 graphically shows the temperature behavior on the front surface of a liquid sample, as indicated in Figure 1b, of distilled water. In this graph we can observe that while the light falls on the sample, the temperature rises to reach a constant value. From the moment a steady state is entered, the temperature no longer increases, reaching the value given by (21); hence we see that the saturation temperature T_e depends on the power of the heat source at the surface, the length of the sample, its cross-section area and the thermal conductivity thereof.

In Figure 3 it is observed that the saturation temperature of the sample reaches a value of about 28 ^{o}C. In practice it is necessary to limit the rise in temperature since on the one hand the thermal properties of the sample would vary during the measurements, and on the other, the heat loss caused by the radiation mechanism would be important. This would imply that the real behavior of the system does not correspond to what the theoretical model predicts. For this reason, depending on the thermal conductivity values of the sample, it is necessary to choose the values of the other three quantities involved in the expression adequately (21). This choice must be made considering that the time during which it is measured should be enough to obtain a number of experimental points which would allow the subsequent determination of the magnitudes sought.

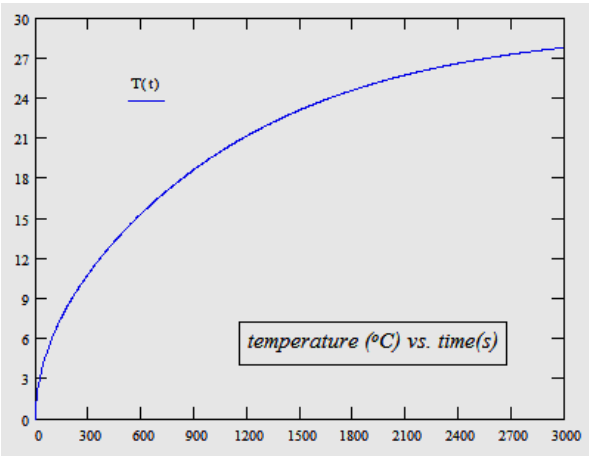


Figure 3. *Temporal dependence of temperature on the frontal surface (x = l), for values of, q = 0.1 W, l = 0.02 m, A = 1,131x10^{-4} m^2, χ = 0.599 W/m ^{o}C, α = 1.430x10^{-7} m^2/s, corresponding to a liquid sample of distilled water.*

RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Resolution of the method

Figure 4 shows, graphically, the temperature difference as a function of time $\Delta T\,(t)$ when the thermal conductivity value varies by 5%. While in figure 5, it is shown how the temperature $T\,(t)$ varies as a function of time for two samples whose thermal conductivities differ from each other by 5%.

For a given variation of the thermal conductivity, more time and greater temperature differences are needed. That is, as the resolution of the method increases, it will be possible to detect smaller differences in thermal conductivity using the same temperature sensor.

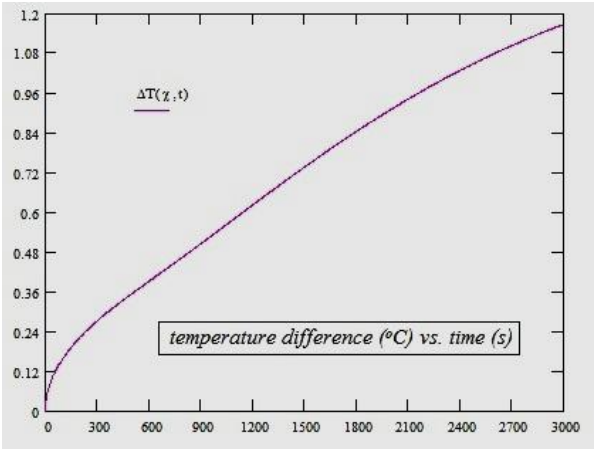


Figure 4*. Temperature difference as a function of time for values of, q = 0.1 W, l = 0.02m, A = 1,131x10^{-4} m^2, χ = 0.599 W/m ^{o}C, α = 1,430x10^{-7} m^2/s, and differs in thermal conductivity by 5% from the value of 0.599 W/m ^{o}C.*

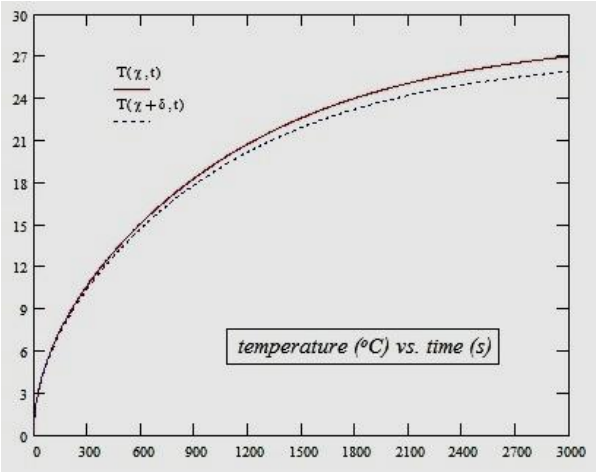


Figure 5*. Temporal dependence of the temperature on the frontal surface (x = l) for two samples, whose thermal conductivities differ from each other by 5%. Theoretical data.*

© 2010. Porto Alegre, RS. Brasil

However, it depends on the value of the temperature T_{es} and the time during which it is possible to measure, considering that the temperature of the sample for the reasons given above should not exceed by more than a few degrees (5 - 10 ^{o}C) the initial temperature and, on the other hand, must be measured for a longer time than is necessary for the temperature difference to exceed that which can be detected with the available temperature sensor. Therefore, the limits of the useful time interval for the measurement, and thus the resolution of the method, are determined by the resolution of the temperature sensor itself and by the value of T_{es}.

It follows that: the choice of the temperature sensor as well as the magnitudes involved in expression (21) depend on the minimum differences in thermal conductivity or diffusivity to be detected.

3.2. Hamilton and Crosser´s Model

The model of Hamilton and Crosser (Hamilton and Crosser, 1962), like that of Maxwell (Maxwell, 1881) and others, predicts the value of effective thermal conductivity of a medium in whose sine can be found particles scattered in a random and homogeneous way, which are sufficiently away from each other so that it is possible to neglect the interactions between them. According to this model, the effective thermal conductivity is expressed by:

$$\chi_f = \chi_{fb}\left(\frac{\psi+(\upsilon-1)-(\upsilon-1)\cdot(1-\psi)\cdot\lambda}{\psi+(\upsilon-1)+(1-\psi)\cdot\lambda}\right) \qquad \text{(Eq. 25)}$$

where: $\psi = \frac{\chi_n}{\chi_{fb}}$ is the relationship between the thermal conductivities of the particles and the medium respectively, λ is the volume fraction occupied by the particles in the fluid, υ is a form factor, which takes into account the geometry of the particles. The subscripts *n* and *fb* represent the particles and the medium respectively.

Considering the equation (25) and that the effective specific heat capacity is expressed by:

$$\rho c_f = (1-\lambda)\cdot\rho c_{fb} + \lambda\cdot\rho c_n \qquad \text{(Eq. 26)}$$

It is set for thermal diffusivity, the following relation:

$$\alpha_f = \frac{\chi_{fb}\left(\frac{\psi+(\upsilon-1)-(\upsilon-1)\cdot(1-\psi)\cdot\lambda}{\psi+(\upsilon-1)+(1-\psi)\cdot\lambda}\right)}{(1-\lambda)\cdot\rho c_{fb}+\lambda\cdot\rho c_n} \qquad \text{(Eq. 27)}$$

If the medium in which the particles are found is a fluid, then the expressions for thermal conductivity and diffusivity in (20) are as follows:

If the medium in which the particles are found is a fluid, then the expressions for thermal conductivity and diffusivity in (20) are as follows:

$$\chi_{ef} = \mu\cdot\chi_{fb}\left(\frac{\psi+(\upsilon-1)-(\upsilon-1)\cdot(1-\psi)\cdot\lambda}{\psi+(\upsilon-1)+(1-\psi)\cdot\lambda}\right)+(1-\mu)\cdot\chi_p \qquad (28)$$

and

$$\alpha_{ef} = \frac{\mu\cdot\chi_{fb}\left(\frac{\psi+(\upsilon-1)-(\upsilon-1)\cdot(1-\psi)\cdot\lambda}{\psi+(\upsilon-1)+(1-\psi)\cdot\lambda}\right)+(1-\mu)\cdot\chi_p}{\mu\cdot[(1-\lambda)\cdot\rho c_{fb}+\lambda\cdot\rho c_n]+(1-\mu)\cdot\rho c_p}$$

(29)

where the subscript *p* represents the sample holder.

Figures 6, 7, 8 and 9 show the relative variations of thermal conductivity and diffusivity as a function of the volumetric fraction according to (28) and (29) respectively.

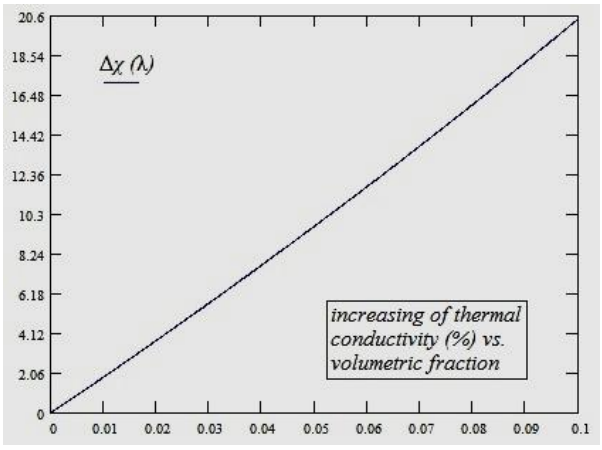


Figure 6. *Increasing the thermal conductivity vs. volumetric fraction*.

© 2010. Porto Alegre, RS. Brasil

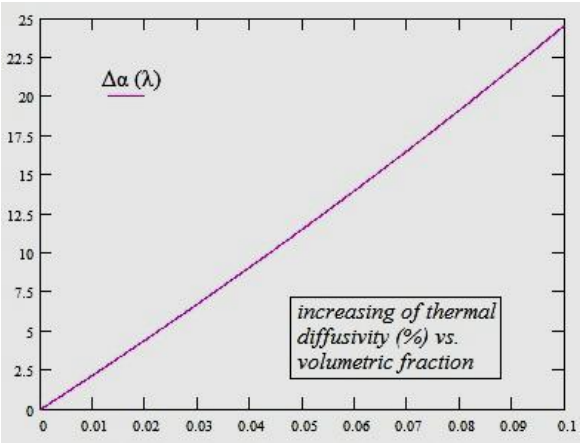


Figure 7. *Increasing the thermal diffusivity vs. volumetric fraction*.

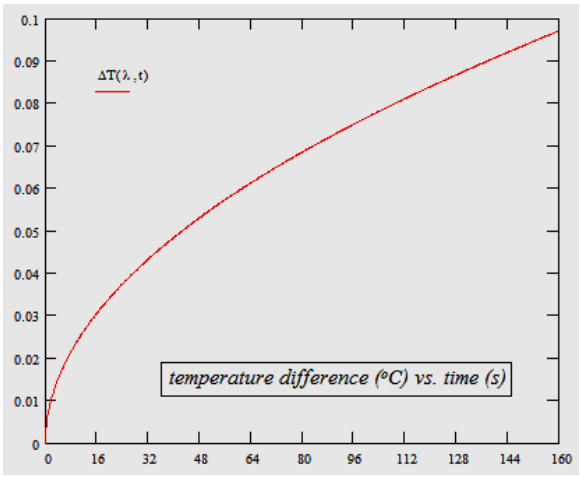


Figure 8. *Temperature difference as a function of time, for an increase of the volumetric fraction by 1%.*

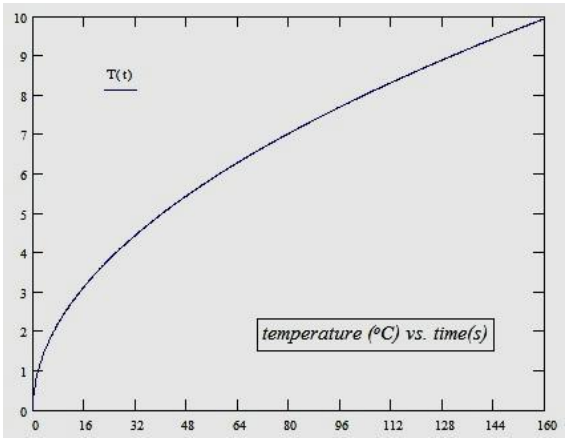


Figure 9. *Temperature as a function of time. If we have as sample water with aluminum particles immersed in it and that the material of the sample holder is glass.*

Figure 8 shows the temperature difference as a function of time $\Delta T\ (t)$ when the volume fraction of aluminum in water varies by 1%, assuming that we have, as a sample, aluminum nanoparticles immersed in distilled water in a glass holder.

For them the values of thermal conductivity and specific heat capacity are as follows: $\chi_n = 211.015W\ ^oC^{-1}m^{-1}$, $\chi_{fb} = 0.599W\ ^oC^{-1}m^{-1}$, $\chi_p = 0.837W\ ^oC^{-1}m^{-1}$, $\rho c_n = 2.453x106\ J\ ^oC^{-1}m^{-3}$, $\rho c_{fb} = 2.187x106\ J\ ^oC^{-1}m^{-3}$, $\rho c_p = 1.998x106\ J\ ^oC^{-1}m^{-3}$. Figure 9 represents, for a similar sample, the behavior of the temperature as the time $T(t)$ elapses.

To verify the validity or not of the HC model, it is enough to measure the thermal diffusivity values of several samples that differ only in the value of their volumetric fraction and then verify that the expression (29) fits sufficiently well with the experimental points resulting from the measurements. If one wishes to study the behavior of a nanofluid, then proceed as above. To perform this type of study using the proposed method, it is necessary to choose the temperature sensor properly, because the resolution of the temperature must be in accordance with the minimum differences in thermal conductivity or diffusivity that need to be detected.

CONCLUSIONS:

The heat diffusion equation was solved for the conditions of the proposed method, obtaining an expression from which it is possible to determine both thermal conductivity and diffusivity values. The choice of the temperature sensor as well as the magnitudes involved in expression (21) depends on the minimum differences between conductivities and thermal diffusivity to be detected, as illustrated in figures 4 and 5. In this case, a sensor with a precision of up to one hundredth of a second is required. If it were less precise, it would be necessary to measure it for a longer time (about one hour). This would increase the temperature in the sample considerably, giving rise to the phenomenon of conduction of heat by radiation, which is not desired.

To measure in solid materials, it is necessary to use a material that can be prepared into rods, cylindrical or of another geometry. The method allows to check the HC model, provided that it has a temperature gauge with a resolution that allows it to differentiate up to the hundredth of a degree centigrade.

© 2010. Porto Alegre, RS. Brasil

REFERENCES:

1. Fox, J. N., McMaster, R.H. Measurement of the thermal properties of a metal using a relaxation method, *American Journal of Physics*, **1975,** 43, 1083- 1086.
2. Ficker, T. A non-stationary method for the measurement of the thermal conductivity of solids in student laboratories, *European Journal of Physics*, **1996,** 17, 307-310.
3. Hurley, D. H., Schley, R. S., Khafizov, M. and Wendt, B. L. Local measurement of thermal conductivity and diffusivity, *Review of Scientific Instruments*, **2015,** 86, 123901- 123901-8.
4. Keblinski, P., Phillpot, S.R., Choi, S.U.S., Eastman, J.A. Mechanisms of heat flow in suspensions of nano-sized particles (nanofluids), *International Journal of Heat and Mass Transfer*, **2002,** 45, 855- 863.
5. Xue, Q., Xu, W. M. A model of thermal conductivity of nanofluids with interfacial shells, *Materials Chemistry and Physics*, **2005,** 90, 298- 301.
6. Gregorová, E. The thermal conductivity of alumina–water nanofluids from the viewpoint of micromechanics, *Microfluidics and Nanofluidics*, **2014,** 16, 19- 28.
7. Xuan, Y., Li, Q. Heat transfer enhancement of nanofluids, *International Journal of Heat and Fluid Flow*, **2000,** 21, 58- 64.
8. Putnam, S. A., Cahill, D. G., Braun, P. V., Ge, Z., Shimmin, R. G. Thermal conductivity of nanoparticle suspensions, *Journal of Applied Physics*, **2006,** 99, 084308.
9. Eastman, J. A., Choi, S. U. S., Li, S., Yu, W., Thompson, L. J. Anomalously increased effective thermal conductivities of ethylene glycol-based nanofluids containing copper nanoparticles, *Applied Physics Letters*, **2001,** 78,718.
10. Choi, S. U. S., Zhang, Z. G., Yu, W., Lockwood, F. E., Grulke, E. A. Anomalous thermal conductivity enhancement in nanotube suspensions, *Applied Physics Letters*, **2001,** 79, 2252.
11. Xie, H., Wang, J., Xi, T., Liu, Y. Thermal Conductivity of Suspensions Containing Nanosized SiC Particles, *International Journal of Thermophysics*, **2002,** 23, 571–580.
12. Klingenberg, D. J., Venerus, D. C. Thermal Conductivity Measurements in Nanofluids, *American Institute of Chemical Engineers*, **2006,** 06AIChE.
13. Zhang, X., Gu, H., Fujii, M. Effective thermal conductivity and thermal diffusivity of nanofluids containing spherical and cylindrical nanoparticles, *Journal of Applied Physics*, **2006,** 100, 044325 - 044325-5.
14. Hamilton, R. L., Crosser, O. K. Thermal Conductivity of Theory of Heterogeneus Two-Componet System, *Industrial & Engineering Chemistry Fundamentals*, **1962,** 1, 187- 191.
15. Maxwell, J.C. A Treatise on Electricity and Magnetism, 2nd ed, *Clarendon Press*, 435, Oxford, UK, 1881.
16. Shemeena, N., Rajesh, B., Kurian, A., George, S. D. Thermal conductivity measurement of organic solvents incorporated with silver nanoparticle using photothermal techniques, *International Conference on Materials Science and Technology*, India 2012.
17. González, M. E., Denis, A. Soba, A. Modelización de la conductividad térmica del UO_2 y $(U,Gd)O_2$ bajo irradiación. Implementación en el código Dionisio, *ANALES AFA*, **2014**, 25, 211-213.
18. Warrier, A. R., Jayakrishnan, R., John, T. T., Kartha, C. S., Vijayakumar, K. P. Study on optical, electronic and thermal properties of β-In_2S_3 thin films using photothermal beam deflection technique, *J Mater Sci: Mater Electron*, **2015**, DOI 10.1007/s10854-015-4201-y.
19. Martínez, K., Marín, E., Glorieux, C., Lara, A., Calderónn, A., Peña, G., Ivanov, R. Thermal diffusivity measurements in solids by photothermal infrared radiometry: Influence of convectioneradiation heat losses, *International Journal of Thermal Sciences*, **2015**, 98, 202-207.
20. Cobirzan, N., Balog, A. A., Belean, B., Borodi, G., Dadârlat, D., Streza, M. Thermophysical properties of masonry units: Accurate characterization by means of photothermal techniques and relationship to porosity and mineral composition, *Construction and Building Materials*, **2016**, 105, 297–3.

© 2010. Porto Alegre, RS. Brasil

PREPARAÇÃO DE UMA PELÍCULA DE HIDROCOLÓIDE DEGRADÁVEL COM NANOPARTICULAS DE PRATA SINTOMAS COM AÇOUS EXTRATO DE ALHO (*Allium sativum*)

PREPARATION OF A DEGRADABLE HYDROCOLOID FILM WITH SILVER NANOPARTICLES SYNTHETIZED WITH AQUEOUS GARLIC EXTRACT (*Allium sativum*)

PILAQUINGA, Fernanda[1,2]*; ESCOBAR, Vanessa[1]; CUEVA, Gabriela[1]; MENESES, Lorena[1]

[1]Laboratory of Nanotechnology, Pontifical Catholic University of Ecuador, 12 de Octubre 1076 Avenue, zip code 170525, Quito-Ecuador
(phone: +593 2 991700)

[2]Institute of Materials Science of Sevilla, University of Sevilla, Prof. García González Street, zip code 41012, Sevilla- Spain
(phone: +34 954559765)

Corresponding author email: mfpilaquingaf@puce.edu.ec

Received 08 December 2017; accepted 09 December 2017

RESUMO

A síntese verde de nanopartículas de prata visa unir sinergicamente as propriedades bactericidas do elemento com a composição química de extratos de plantas e potencialmente utilizá-los em materiais substituíveis de plástico biodegradáveis. Neste trabalho, foi preparada uma película de gelatina degradável com nanopartículas de prata sintetizadas com extrato aquoso de alho (*Allium sativum*); As nanopartículas foram previamente caracterizadas por espectrofotometria ultravioleta visível, microscopia eletrônica de varredura e microscopia eletrônica de transmissão. Para fazer o filme, gelatina pura, gelatina - carboximetilcelulose - glicerol e misturas de goma gelatina e arabina foram testadas, obtendo a textura desejada apenas com gelatina, em diferentes concentrações. O filme com maior flexibilidade foi 10% de gelatina, com resistência à punção de 47 N e densidade de 0,943 g / mL. Este filme foi analisado por espectroscopia infravermelha, encontrando modificações do espectro dependentes da presença de nanopartículas de prata - extrato de alho. A microscopia eletrônica de varredura revelou uma distribuição uniforme de prata no filme (74,4 nm) com uma abundância de 56,20% e uma concentração de 1,58 mg / g determinada por espectrofotometria de absorção atômica. Finalmente, a película de gelatina preparada é resistente, de cor âmbar, com possíveis propriedades bactericidas devido à presença de nanopartículas de prata e facilmente degradável a 50 ° C em água.

Palavras-chave: *Película, gelatina, nanopartículas de prata, alho, Allium sativum*

ABSTRACT

The green synthesis of silver nanoparticles aims to synergistically bind bactericidal properties of the element with the chemical composition of plant extracts and potentially use them in biodegradable plastic substitute materials. In this work, a degradable gelatin film was prepared with silver nanoparticles synthesized with aqueous extract of garlic (*Allium sativum*); the nanoparticles were previously characterized by ultraviolet-visible spectrophotometry, electron scanning microscopy and electron transmission microscopy. To make the film, pure gelatin, gelatin - carboxymethylcellulose - glycerol, and gelatin - arabic gum mixtures were tested, obtaining the desired texture only with gelatin, at different concentrations. The film with the greatest flexibility was 10% gelatin, with puncture resistance of 47 N and density of 0.943 g/mL. This film was analyzed by infrared spectroscopy, finding modifications of the spectrum dependent on the presence of silver nanoparticles-garlic extract. The electron scanning microscopy revealed a uniform distribution of silver in the film (74.4nm) with an abundance of 56.20% and a concentration of 1.58 mg**/**g determined by atomic absorption

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

spectrophotometry. Finally, the prepared gelatin film is resistant, amber colored, with possible bactericidal properties due to the presence of silver nanoparticles and easily degradable at 50°C in water.

***Keywords**: Film, gelatin, silver nanoparticles, garlic, Allium sativum*

INTRODUCTION

With the rise of nanotechnology, nanoparticles (NPs) of various elements have been developed that have a marked biocidal effect on a wide variety of microorganisms, such as viruses, bacteria and fungi. The biocidal capacity of certain nanoparticles is linked to their nature and to certain intrinsic characteristics such as its nanometric dimensions and the high area/volume ratio, which allows greater contact and interaction with said microorganisms.

Among the nanoparticles that have been shown to have biocidal properties, the most important are those of silver, zinc, copper and iron oxides (Seil and Webster, 2012; Hajipour *et al.*, 2013). Within the family of metal nanoparticles, the ones that have generated the greatest interest are the silver nanoparticles (AgNPs), since the salts of this metal have been used for several years in the treatment of specific diseases caused by viruses or bacteria (Ravindran *et al.*, 2014). In general, the preparation and stabilization of metallic nanoparticles are carried out through physical and chemical methods. Silver nanoparticles can be prepared by chemical reduction, electrochemical and photochemical techniques; the first being the most used strategy, since stable colloidal dispersions of the optimal shape and size are obtained (Flores, 2014).

Due to the impact of the synthesis of this material in the environment, currently, new alternatives are being searched for to aid the production of more environmentally friendly nanoparticles that result in less use of toxic substances aligned with the trend of "green chemistry". Flower petals and plant extracts have been successfully used; one of these techniques for the synthesis of silver nanoparticles that has been widely studied is garlic (*A. sativum*) as a reducing agent (Cardeño and Londoño, 2013). Silver nanoparticles have great applicability in food contact surfaces, especially in their packaging due to its excellent antibacterial properties, in order to prolong the life of food (Trbojevich and Fernández, 2013).

Silver nanoparticles in colloidal form have the ease of forming part of new products through their functionalization or simple incorporation. If the objective is to form, a thin film there is a range of materials to which nanoparticles can be added, as is the case with hydrocolloids. These are macromolecules that have a great affinity for water, where they dissolve to a greater or lesser extent and modify their rheology, increasing the viscosity of the liquid and sometimes even jellifying, giving a solid appearance. The most common hydrocolloids are gelatin, cellulose and starch, and among those classified as additives are agar, alginate, arabic gum and pectin (Moreno, 2010).

Gelatin is a heterogeneous mixture of high molecular weight proteins, soluble in water and is a derivative of the partial hydrolysis of collagen of natural origin. Relatively it contains high amounts of non-polar amino acids, such as glycine, proline, valine and alanine, and is a triple-helical structure consisting of three extended protein chains that wrap around each other, and the gelatin is partially hydrolyzed in the form of collagen. The sequence of glycine, proline and alanine gives antioxidant and antihypertensive properties, in addition to increasing the bioavailability of calcium in the body. Gelatin is non-toxic and immunogenic; on the contrary, it is biodegradable and biocompatible, which is why it is used in the pharmaceutical industry in the administration of drugs in the form of capsules, hydrogels or microspheres (Ahmad *et al*., 2012).

On the other hand, the current trend in the design of biodegradable materials based on hydrocolloids for biomedical applications focuses on the development of films with better properties of mechanical resistance and water, through the combination of biopolymers of

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

different characteristics (García and Martinelli, 2015).

Due to the bactericidal properties of silver, the tendency of green synthesis and the easy degradability of hydrocolloids, in this study a film was prepared using pure gelatin, a mixture of gelatin, carboxymethylcellulose and glycerol, and gelatin with gum arabic.

MATERIALS AND METHODS

2.1. Reagents and Plant Material

All the reagents and solvents used were of analytical grade, which included Merck® silver nitrate, gelatin BHD Chemicals Ltd., UPS-grade arabic gum, Merck glycerol and BHD carboxymethylcellulose Chemicals Ltd. The water used was of ultra-pure quality produced by the Milli-Q® system (resistivity ≅ 18 MΩ / cm, Millipore, USA). As vegetable sample, fresh garlic cloves were purchased at a local store in Quito-Ecuador.

2.2. Equipment

The formation of the silver nanoparticles was verified using a UV-Visible spectrophotometer from Agilent Technologies; model Cary 60, operated at a resolution of 1 nm, with an optical path of 10 mm, within the wavelength range of 300 to 800 nm.

Electron Transmission Microscopy (ETM) measured the size of nanoparticles in a Hitachi H-600 ABS equipment. The SEM-EDX Scanning Electron Microscopy was performed on the Phenom ProX equipment and the results were analyzed using the ProSuite software. For the infrared spectroscopy studies with Fourier Transforms (FTIR), a Perkin Elmer spectrophotometer, Spectrum BX model with ATR coupling was used. The range of analysis was from 4000 to 400 cm-1 with intervals of 2 cm-1, at a resolution of 4 cm-1 and 10 scans for each sample.

The quantification of the silver content was carried out by Flame Atomic Absorption Spectrophotometry (AA) with a Perkin Elmer brand equipment, model AAnalyist 400.The density was measured on a digital Perkin Elmer Densito 30PX and the membrane puncture analysis was performed on the Tinius Olsen Super L-60/602 Universal Physical Testing Machine.

2.3. Preparation of the aqueous garlic extract

Whole teeth of the white garlic variety (A. sativum) were used according to the suggested protocol (Cardeño and Londoño, 2014). They were washed with distilled water to eliminate the presence of dust particles or contaminants. Each clove weighed 25 g that were crushed in a mortar and transferred to an Erlenmeyer, where 100 mL of distilled water was added. This mixture was heated at 90°C for 5 minutes (Rastogi and Arunachalam, 2013; Von White *et al*., 2012). The resulting solution was finally filtered in a vacuum system.

2.4. Synthesis of AgNPs silver nanoparticles

For the synthesis of nanoparticles, 50 mL of a 2.36 mM aqueous solution of silver nitrate (AgNO3) was heated to a temperature between 50 and 60 °C. 5 mL of the previously prepared garlic extract was added dropwise and the solution at 60 ° C was kept under constant stirring for 1 hour. The formation of nanoparticles was evidenced by the change in the color of the solution from slightly yellow to brown (Cardeño and Londoño, 2014). It was allowed to stand at room temperature and was stored in an amber glass bottle under cooling for further analysis.

2.5. Preparation of the hydrocolloid film

2.5.1. Gelatin and carboxymethylcellulose film

A gelatin solution was prepared at 10, 15, 20, 30 and 50% respectively with 0.1 to 0.5% carboxymethylcellulose and 15% glycerol in each test, as indicated in Table 1. It was heated to 90 °C and kept under constant stirring for 30 minutes (Valle-Guadarrama, *et al*, 2008). The resulting solution was placed in a Petri dish at room temperature.

Table 1. *Weight/volume percentages of the components used for the gelatin-carboxymethylcellulose film.*

Gelatin (% w/v)	Carboxymethyl cellulose (% w/v)	Glycerol (% w/v)
10	0,1	15
15	0,2	
20	0,3	
30	0,4	
50	0,5	

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

2.5.2. Gelatin and arabic gum film

They were weighed and dissolved in 20 mL of distilled water of 0.1 to 0.5 g of gelatin and 0.2 to 1.0 g of arabic gum respectively, as indicated in Table 2. It was kept under constant stirring for 2 hours. The resulting solution was placed in a Petri dish and dried in an oven at 70 °C.

Table 2. *Amounts of the components used for the gelatin-arabic gum film.*

Gelatin (g)	Arabic gum (g)
0,1	0,2
0,2	0,4
0,3	0,6
0,4	0,8
0,5	1,0

2.5.3. Gelatin film

A gelatin solution of 10, 15, 20 and 25% respectively was prepared. To dissolve the gelatin it was heated to a temperature of about 70°C, with constant stirring. The solution was placed in a Petri dish, and dried in an oven at 40 °C for 24 hours (Ahmad, *et al*., 2012).

2.5.4. Hydrocolloid film with silver nanoparticles AgNPs-A. sativum

The colloidal solution of AgNPs-*A. sativum* was used as solvent for each film according to the concentration expressed as a percentage.

2.6. Resistance analysis

The strength of each film was determined by the membrane puncture technique under the ASTM D 4833-13 performed in triplicate in the Materials Laboratory of the Faculty of Civil Engineering of the Pontifical Catholic University of Ecuador. For each formulation, a sample of 10 cm in diameter and 0.25±0.03mm in thickness was prepared.

RESULTS AND DISCUSSION

AgNPs synthesis using aqueous garlic extract (*A. sativum*)

In this work, the synthesis of AgNPs is reported through a "green" method, which consists of the use of garlic extract as a reducing agent. Garlic (*A. sativum*) contains high levels of organosulfur compounds that are divided into two groups. One group is fat-soluble and includes compounds such as di-allyl sulphide (DAS), di-allyl disulfide (DADS) and di-allyl trisulfide (DATS). The other water-soluble group contains compounds such as S-allyl cysteine (SAC) and S-allylmercaptocysteine (SAMC). From the garlic extract, SAC and SAMC are the possible compounds involved in the reduction reaction of the metal ions of the aqueous nitrate solution from Ag^{+1} to Ag^{0} (Rastogi and Arunachalam, 2013). The mechanism of reaction is not clearly defined because there are studies that indicate that the sugars present in garlic are responsible for the reduction process (Von White *et al*, 2012).

During the synthesis process, the change of the solution from yellow to brown was observed (Figure 1a), indicating the formation of AgNPs, as reported by other authors (Khan *et al*., 2013, Amin *et al*., 2012).

For the characterization, the AgNPs are ideal candidates for the study with UV-Visible spectroscopy, due to their surface plasmon resonance properties and absorption in the visible region (Basavaraj, *et al*, 2015). The formation and stability of the nanoparticles in the colloidal solution was monitored by UV-Visible spectroscopy analysis; one of the obtained spectra, which is presented in Figure 1b, indicates the maximum absorbance at 422 nm.

Table 3 shows the average maximum absorption value obtained at 422.40 nm. According to several authors, the absorbance around 430 nm is characteristic of silver nanoparticles without organic additives (Vilchis *et al*., 2008); while at 420 nm, it indicates the existence of coated nanoparticles (Shankar *et al*., 2015)

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Figure 1 (a). *Colloidal solution of AgNPs-A. sativum*

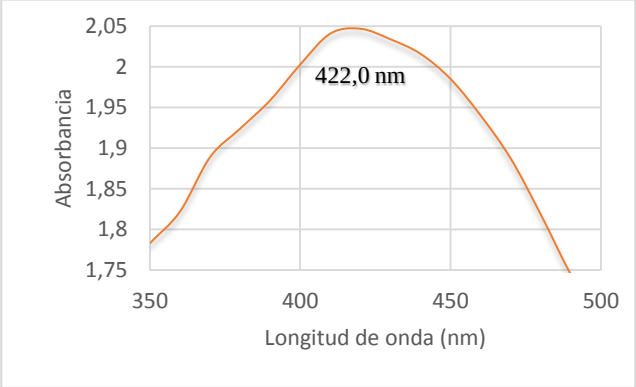


Figure 1 (b). *UV-Vis spectrum*

Table 3. *Maximum absorption wavelengths of AgNPs-A. sativum*

Synthesis	λ of maximum absorption (nm)
1	422
2	423
3	423
4	422
5	422
Average	**422,40**

Additionally, it was estimated that the particle sizes are in the range of 60-80 nm due to the average absorption peaks at 422.40 nm, according to the estimate proposed by Pradeep (2012).

The displacement of the absorption maximum is related to the size of the nanoparticle, understanding that as it increases the interaction with the radiation beam changes, which translates into a bathochromic effect. In this case, the correlation between the maximum absorption and the particle size was valid, based on the analysis carried out by Electron Transmission Microscopy (TEM) and Scanning Electron Microscopy (SEM).

Figure 2 shows the dispersion of the silver nanoparticles in the solution. Quality obtained by TEM (a) and in the SEM image (b) the average nanoparticle size of 74.4 nm is appreciated, estimated value in the ProSuite software, evidencing the correlation of the prediction of nanoparticle size as a function of the maximum absorption obtained by UV-Vis spectrophotometry.

Figure 2a. *TEM image of AgNPs-A. sativum*

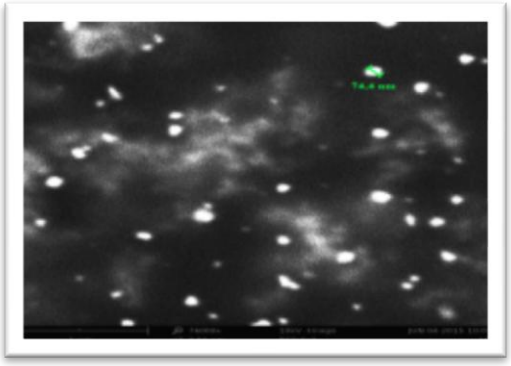


Figure 2b. *SEM image of AgNPs-A. sativum*

Preparation of the hydrocolloid film

Gelatin hydrocolloid was chosen for its mechanical properties, and high solubility in water. Additives of the same species (arabic gum and carboxymethylcellulose) were used to improve the appearance of the film based on studies carried out (Enríquez, *et al*., 2012). In all cases, gelatin amounts of less than 25% w/v

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

were used due to the saturation of the preparation. The proportions of each reagent (arabic gum and carboxymethylcellulose) were used based on previous tests.

The drying of gelatin films is important, because at low temperatures, a film of helical conformation is obtained, while at higher temperatures to the environment a ball-like structure is obtained and are generally more brittle (García and Martinelli, 2013).

The films obtained are shown in Figure 3. The gelatin and carboxymethylcellulose films (Fig. 3a) were very brittle, so glycerol was added (Kavoosi *et al*., 2013), however in different proportions it did not provide the desired texture. The gelatin and arabic gum films (Fig. 3b) were equally brittle and the very thin sheets are impossible to manipulate to the touch. The gelatin films (Fig. 3c) showed very good results in terms of resistance to touch and sharpness. When increasing the concentration of gelatin, the film presented greater opacity and hardness.

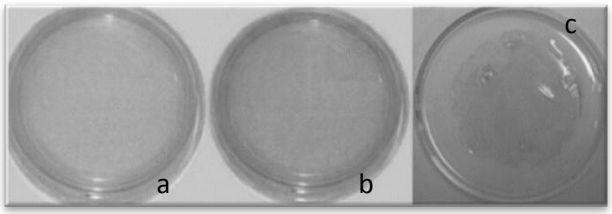


Figure 3. *Films obtained with different mixtures: gelatin-carboxymethyl cellulose film (a), gelatin film - gum arabic (b) and gelatin film 15% (c)*

Preparation of AgNPS-*A.sativum*-gelatin film

To prepare the gelatin film at 10, 15, 20 and 25%, the colloidal solution of the silver nanoparticles synthesized with garlic extract was used as solvent.

In all four cases, an amber, touch-resistant film was obtained as shown in Figure 4. The depth of the color increased proportionally to the concentration of the nanoparticles and the opacity of the gelatin. The color provided by the silver nanoparticles with the garlic extract provides an additional advantage of light protection.

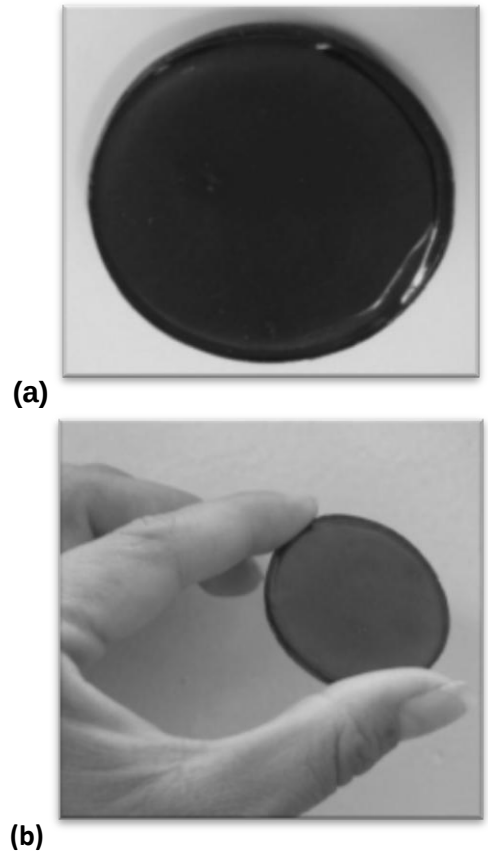


Figure 4. *Front view (a) of AgNPs-A. sativum-Gelatin film and against light (b)*

Resistance analysis

The resistance results obtained are shown in Table 4.

Table 4. *Resistance to membrane puncture*

Sample	**1**	**2**	**3**	**4**
Concentration	10%	15%	20%	25%
Nominal thickness (mm)	0.24	0.23	0.22	0.22
Maximum load (N)	47	45	31	26

As can be seen, as the concentration of gelatin increases, flexibility and puncture resistance decrease, because this biopolymer tends to crack due to its strong cohesive energy density, and because of the interactions in the hydrogen bonds and polar groups of amino acids in its structure (Sifuentes-Nieves, *et al*., 2012; Gama, 2014). The film with 10% of gelatin, presented the greatest flexibility in relation to the other concentrations, a result that is similar to the study carried out by Quintanilla (2016), where a 12.5% gelatin film has a

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

mechanical strength of 53.26 N with a thickness of less than 0.13mm.

Characterization of the AgNPs-*A.sativum*-Gelatin film

The AgNPs-*A.sativum*-Gelatin film was analyzed by infrared spectroscopy FT-IR with ATR coupling. Figure 5 shows the infrared spectra of garlic extract *A. sativum* (Figure 5a) together with the spectrum of the silver nanoparticles synthesized (Figure 5b), where a good coincidence between both spectra is observed with the exception of the band at 1337 cm-1 which is exclusive of the AgNPs spectrum; said band corresponds to the tension vibration C-N corresponding to one of the nitrogenous compounds SAC or SAMC that act as reducers, which seem to be bound on the surface of the nanoparticle. The presence of a nitrogenous compound, probably amino, is consistent with the bands at 3280 and 1621 cm-1, which indicate the tension and flexion of the N-H bond, respectively (Stejskal, 2011).

On the other hand, the FTIR-ATR spectra of the gelatin hydrocolloid with and without nanoparticles are shown (Figure 5c and 5d). In both cases, the main gelatin bands, indicative of their peptide composition, are observed at 3290, 1635, 1539 and 1238 cm-1, corresponding to the tension vibrations N-H, amide I, amide II and amide III, respectively; these bands coincide with what was reported by the literature for the characterization of animal source gelatin (Almeida, 2014). Between 1335 and 1500 cm^{-1}, differences between both spectra are observed, thus, it is observed that the band at 1453 cm-1 practically disappears in the spectrum of Figure 5d. If it is taken into account that in this region the bending vibrations of methyl groups are present. It can be inferred that the presence of the nanoparticles slightly influences the structural conformation of the colloid.

On the other hand, in the whole spectrum of the AgNPs-*A. sativum*-Gelatin film, a decrease is observed in the intensity of the bands, which can be attributed to a limited interaction of the film with the infrared radiation due to the presence of the metallic particulate material, which constitutes a barrier for the penetration of the evanescent wave coming from the ATR.

The SEM images of Figure 6 show a uniform dispersion of the silver nanoparticles in film (a) and the smooth surface in the gelatin in which the AgNps (b) are supported. Film morphology depends on several factors including solubility, solvent evaporation, total thickness and molecular weight.

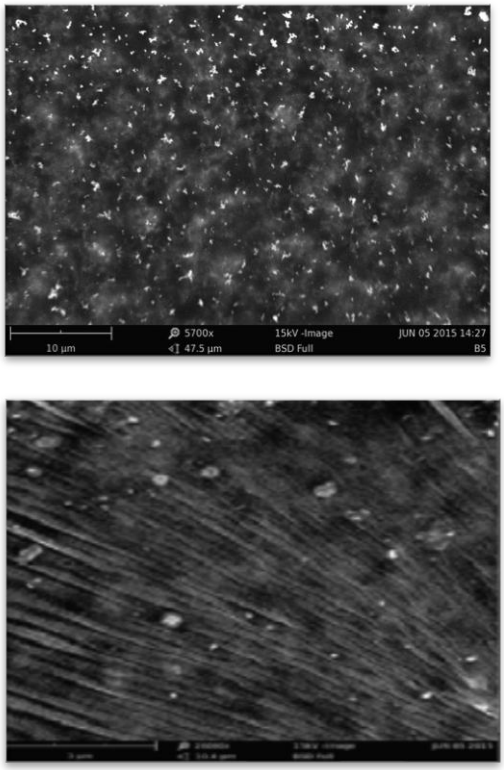


Figure 6. *SEM images of the AgNPs-A film. sativum-Gelatin at 76000X and 26000X*

The EDX spectra of Figure 7 confirmed the elemental composition of the garlic extract *A. sativum* (a) in relation to the gelatin (b) and the AgNPs-*A. sativum*-Gelatin film. (b). The fact that the film does not present nitrogen on the surface indicates an adequate coating of the gelatin, an effect confirmed by infrared spectroscopy.

In the film, the silver composition equals 56.20%. All samples of EDX were coated with gold to prevent the accumulation of static electric fields during scanning.

The quantification of the silver content in the colloidal solution of nanoparticles and the AgNPs-*A. sativum*-Gelatin film, was performed by flame atomic absorption spectrophotometry. The silver content in the aqueous suspension resulting from the synthesis of the garlic extract was 204.46 mg / L, indicating that the yield of

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

the reaction was 88.73%. The final concentration of silver nanoparticles in the film obtained was 1.58 mg / L.

The degradability of the film was determined from 50°C using water as solvent, observing its complete solubility.

CONCLUSION

In this study, a degradable gelatin film was prepared in concentrations of 10, 15, 20 and 25%. Garlic extract *A. sativum* 25% was used to prepare silver nanoparticles of average size of 74.4 nm measured by SEM and TEM, and analyzed by UV-Vis. The film with the greatest flexibility is 10% in gelatin concentration, with a puncture resistance of 47N and density of 0.943g/mL. The film was analyzed by infrared spectroscopy FT-IR and showed the variation in the IR spectra of gelatin, *A. sativum*, AgNPs-*A. sativum* in relation to AgNPs-*A. sativum*-Gelatin

The SEM-EDX analysis demonstrated the uniform distribution of the nanoparticles and that the silver composition equals 56.20%. The concentration of silver in the film measured by flame atomic absorption spectrophotometry was 1.58mg/g. The film degrades from 50°C using water as solvent. The method is simple and environmentally friendly, with potential industrial applications.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was carried out within the LI3258 project funded by the Pontifical Catholic University of Ecuador. Special thanks to AIMPLAS Company (Instituto de Plástico Valencia-España) for the SEM-EDX characterization.

REFERENCES

1. Ahmad, M., Benjakul, S., Prodpran, T., Agustini, T.W. *Food Hydrocolloids*, **2012**, 28(1), 189-199.

2. Almeida, P. Thesis, Universidade Nove de Julho, Sao Paulo, **2014**.

3. Amin, M., Anwar, F., Ashraf Janjua, M., Awais Iqbal, M., Rashid, U. *International Journal of Molecular Sciences*, **2012**, 13(8), 9923-9941.

4. Basavaraj, R.B., Nagabhushana, H., Daruka Prasad, B., Sharma, S.C., Prashantha, S.C., Nagabhushan, B.M. *Optik - International Journal for Light and Electron Optics*, **2015,** 126 (19), 1745-1756.
5. Cardeño, L., Londoño, M. *Revista Soluciones de Postgrado EIA*, **2014,** 12, 129-140.

6. Enriquez., M., Velasco, R., Ortiz, V. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, **2012**, 10(1), 182-192.

7. Flores, C. Thesis. Universidad Nacional de la Plata. Mar del Plata, Argentina. **2014**.

8. Gama, C. Thesis. Instituto Politécnico Nacional. Yautepec de Zaragoza, Morelos. **2014**.

9. Garcia, S., Martinelli, M. *Bitácora Digital, Revista Electrónica de la Facultad de Ciencias Química (UNC)*, **2015**, 2(1), 1-9.

10. Hajipour, M., Fromm, K., Akbar, A., Jimenez, D., Ruiz, I., Rojo, T., Serpooshan, V., Parak, W. y Mahmoudi, M*. Trends in Biotechnology*, **2013**, 31(1), 499-511.

11. Kavoosi, G., Dadfar, S., Purfard, A. *Journal of Food Science*, **2013**, 78 (2), 244–250.

12. Khan, M., Khan, M., Adil, S., Tahir, M., Tremel, W., Alkhathlan, H., Al-Warthan, A. y Rafiq, M. *International Journal of Nanomedicine*, **2013**, 8, 1507-1516.

13. Moreno, R. Engineering Thesis. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, México **2010**.

14. Pradeep, T. *A Textbook of Nanoscience and Nanotechnology*, 1° ed, McGraw Hill, Nueva Deli, **2012**.

15. Quintanilla, T. Thesis. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. **2016**.

16. Rastogi, L., Arunachalam, J. *Advanced Material Letters*, **2013**, 4(7), 548-555.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

17. Ravindran, A., Chandran, P. y Khan, S. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **2014**, 105, 342– 352.

18. Seil, J., Webster, T. *International journal of nanomedicine*, **2012**, 7, 2767-2781.

19. Shankar, S., Rhim, J. *Carbohydrate Polymers,* **2015**, 130, 353-363.
20. Sifuentes-Nieves, I., Solorza-Feria., J., Gutiérrez-López, G.F., Rendón-Villalobos, J.R., Flores-Huicochea, E. Thesis. Instituto Tecnológico de Orizaba, Veracruz, **2012**.

21. Stejskal, J., Trchová, M. *Polymer International.* **2011**, 61(2), 240-251.

22. Trbojevich, R., Fernández, A. *Nova Science Publishers*. **2013**, 347-368.

23. Valle-Guadarrama, S., López-Rivera, O., Reyes-Vigil, M., Castillo-Merino, J., Santos-Moreno, A. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, **2008,** 14(3), 235-241.

24. Vilchis, A., Sánchez, V., Camacho, M., Gómez, R., Camacho, M., Arenas, J. *Material Letters,* **2008**, 62, 3103–3105.

25. Von White II, G., Kerscher, P., Brown, R., Morella, J., McAllister, W., Delphine, D., Kitchens, C., *Journal of Nanomaterials*, **2012**, 1-12.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

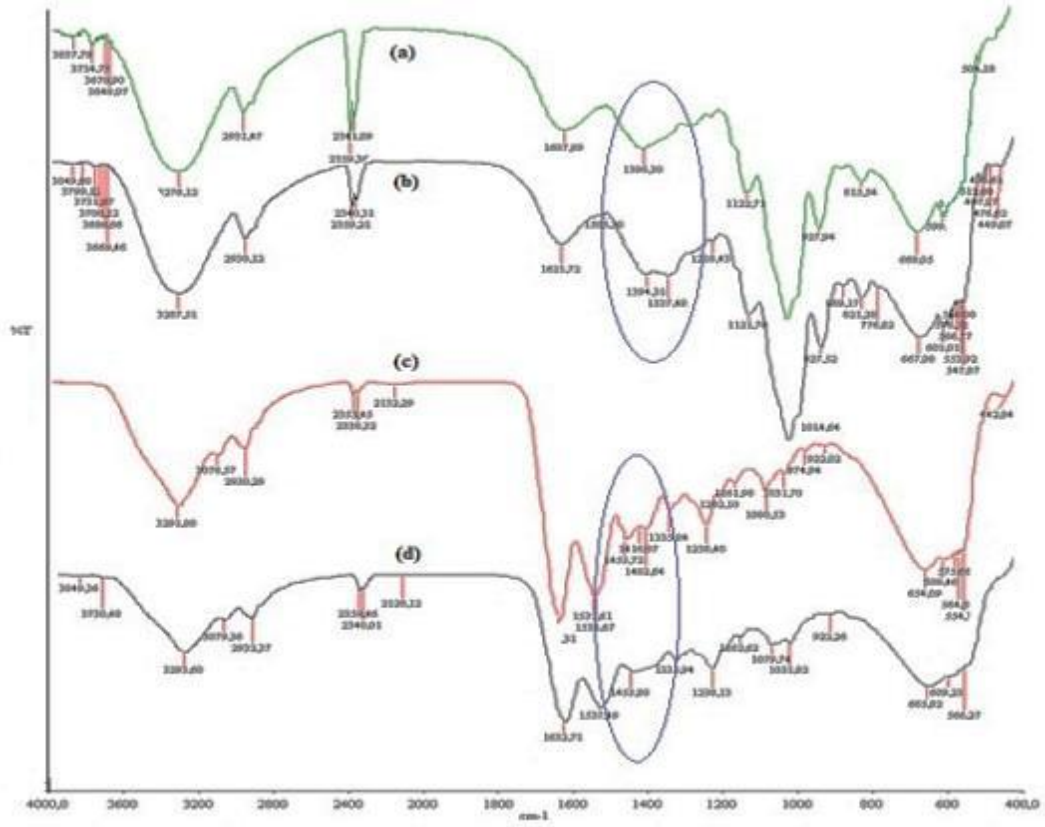


Figure 5. *IR spectra of: garlic extract A. sativum (a); AgNPs (b); gelatin (c); Hydrocolloid film with AgNPs (d)*

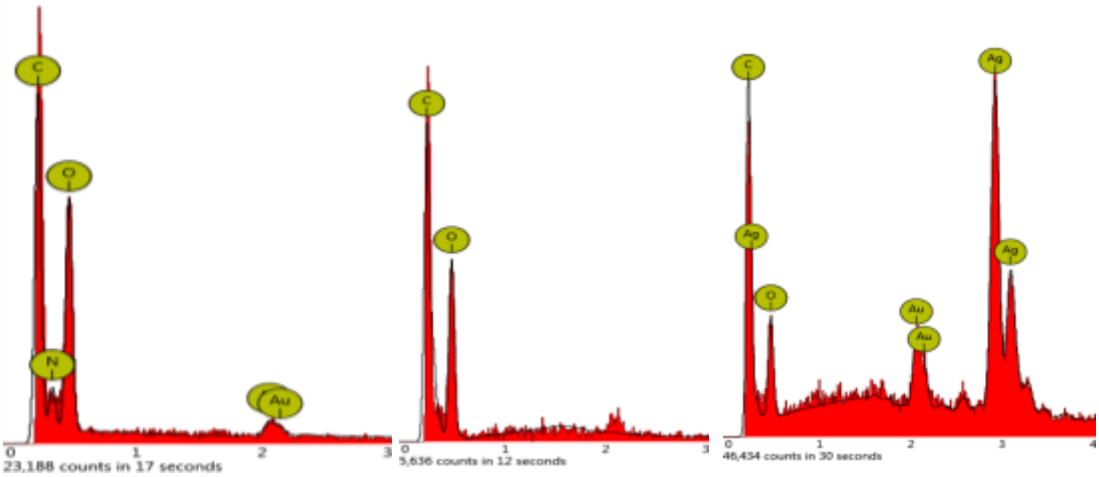


Figure 7. *SEM-EDX spectra of A. sativum (a), gelatin (b) and AgNPs-A. sativum-Gelatin film (c)*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DE EFLUENTES DE INDÚSTRIA DE SORVETES APÓS APLICAÇÃO DE FLOCULANTES

PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERIZATION OF INDUSTRIAL EFFLUENTS OF SORVETES AFTER APPLICATION OF FLOCULANTES

NIELAND, Maitê Lampert; DALLAZEN, Maria Cristina; UEBEL, Alana; MÜLLER, Maíra Post; COLLING, Marcelo; FREITAS, Elisete Maria de; ETHUR, Eduardo Miranda; HOEHNE, Lucélia*

Centro Universitário - UNIVATES, Av. Avelino Talini, 171 - Universitário, Lajeado - RS, 95914-014
(fone: (51) 3714-7000)

**Lucélia Hoehne*
e-mail: luceliah@univates.br

Received 05 July 2017; received in revised form 15 November 2017; accepted 20 December 2017

RESUMO

A indústria de laticínios tem um papel de grande importância, tanto econômica quanto social no Brasil. Todavia, essa gera um significativo volume de efluente que apresenta elevada carga orgânica. Por conta disso, é necessário um tratamento adequado para o efluente gerado, tentando minimizar ao máximo os impactos ambientais do seu descarte. Uma das alternativas para deixar esses resíduos de acordo com as normas ambientais é o uso de floculantes e coagulantes capazes de neutralizar as cargas elétricas fazendo com que as partículas se unam facilitando o processo de separação. Este trabalho tem como objetivo analisar a eficiência de floculantes para o tratamento de efluente de uma empresa do ramo lácteo localizada na região central do estado do Rio Grande Do Sul no Vale do Taquari. Os floculantes utilizados foram o Aquafloc e Aquaflot. Para isso, foram testados os parâmetros de Óleos e Graxas, Sólidos Sedimentáveis e Demanda Química de Oxigênio (DQO). Como resultados, ambos demonstraram resultados semelhantes e eficiência na redução dos parâmetros analisados após o tratamento. Entretanto, dos parâmetros analisados Aquaflot mostrou-se mais eficiente para remoção de DQO.

Palavras-chave: *Coagulante. Óleos e graxas. Demanda Química de oxigênio. Sólidos sedimentáveis.*

ABSTRACT

The dairy industry plays a major role both economically and socially in Brazil. However, it generates a significant volume of effluent that presents high organic load. Because of this, a proper treatment is required for the generated effluent, trying to minimize the environmental impacts of its disposal. One of the alternatives to make these wastes in accordance to the environmental standards is the use of flocculants and coagulants that are capable of neutralizing the negative charges, causing the particles to come together to facilitate the separation process. This study aims to analyze the efficiency of flocculants for the treatment of effluent from a dairy company located in the central region of the state of Rio Grande do Sul, in the Taquari Valley. The flocculants used were Aquafloc and Aquaflot. For this, the parameters of Oils and Greases, Sedimentable Solids and Chemical Oxygen Demand (COD) were tested. Similar results were obtanied with both flocculants. However, from the analyzed parameters, Aquafloc proved to be more efficient for removal of COD.

Keywords: *Coagulant. Oils and Greases. Chemical Oxygen Demand. Sedimentable Solids.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

A indústria de alimentos sempre desempenhou um papel fundamental na economia brasileira, essa é uma das mais antigas estruturas econômicas existentes no País, contribuindo com quase 10% do Produto Interno Bruto (PIB). Dentre os diversos tipos de indústria dispostos neste setor, o de laticínios se encontra entre os quatro principais no Brasil, perdendo apenas para o setor de derivados da carne, de beneficiamento de café, chá e cereais e de açúcares. A estimativa é de que a participação dos lácteos no faturamento da área alimentar se aproxime de 10% (Carvalho, 2010).

As empresas lácteas nacionais se mostram cada vez mais fortes, e desenvolvem um papel muito importante em questões tanto econômicas quanto sociais. Todavia, seus efluentes se não tiverem um tratamento adequado, contribuem significativamente com a poluição hídrica. Esses danos são dificilmente reversíveis pois, tem uma alta carga orgânica constituída por elevadas concentrações de Demanda Química de Oxigênio (DQO), Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO_5), Óleos e Graxas, Nitrogênio, Fósforo, entre outros. Para reduzir os efeitos dos poluentes no setor industrial, técnicas de tratamento têm sido aperfeiçoadas e novos métodos estão sendo testados e estudados para minimizar o impacto ambiental dos resíduos gerados.

A grande degradação do meio ambiente tem gerado preocupações de ordem global, o assunto começou a se tornar comum em pautas sociais, o que fez com que este ganhasse grande repercussão causando a divulgação e conscientização de problemas ambientais. Com isso, essa problemática vem sendo refletida e abordada em leis que cobram das empresas o tratamento adequado dos seus efluentes e resíduos, os quais devem estar dentro dos parâmetros nacionais, estaduais e regionais antes de serem descartados, de forma a manter a preservação dos mananciais aquáticos, o equilíbrio da fauna e da flora, evitando possíveis impactos ambientais.

DESENVOLVIMENTO

A DQO é um parâmetro utilizado como indicador do conteúdo de matéria orgânica em águas residuais, inclusive no monitoramento de estação de tratamento de efluentes líquidos (Aquino et al., 2006).

Os Óleos e Graxas tem como principal característica a baixa solubilidade na água. Embora esta característica facilita o processo de separação por flotação, decorrem problemas relacionados ao transporte, por tubulações, dos despejos, sua disposição em água e a degradação nas unidades de tratamento biológico. Isso causa problemas visuais e ambientais por conta da sua acumulação em ambientes com água, assim como praias e margens de rios. Nos tratamentos de efluentes de empresas alimentícias, em especial, indústrias de laticínios, os efluentes possuem Óleos e Graxas em concentrações consideradas altas, sendo necessário o uso de floculantes adequados para eficiente remoção (SABESP, 1997).

Os Sólidos Sedimentáveis são todas as substâncias que existem em um litro da amostra, que sedimentam pela força da gravidade. Sua importância está relacionada diretamente com análises da eficiência de tratamentos de água ou efluente. Quando a intenção é quantificá-los, um dos processos com mais eficiência é a determinação destes através de técnicas normatizadas (SABESP, 1999).

Os coagulantes neutralizam as cargas elétricas das partículas, o que possibilita que as mesmas se unam, formando assim flocos que normalmente flotam ou sedimentam (Matos et al., 2007). Nos casos de efluentes emulsionados, os floculantes/coagulantes desestabilizam o estado coloidal da emulsão, neutralizando assim as forças eletrostáticas e/ou as forças de Van der Waals (Carvalho et al., 2008). A coagulação tem duas fases: a primeira seria a mistura, na qual o coagulante ao se misturar com o efluente, geralmente por um processo rápido, ou seja, por meio de violenta agitação; e a floculação, que seria a agitação do efluente em uma lenta velocidade por um tempo mais longo, o que favorece a junção das partículas muito pequenas e a formação dos colóides (Santos et al., 2009). Os produtos químicos normalmente utilizados como coagulantes/floculantes são a base de sais de ferro e de alumínio, polieletrólitos, além destes, existem os coagulantes naturais, um exemplo é a semente de *Moringa oleífera*, uma planta arbórea nativa da Índia. Vários são os fatores que influenciam na coagulação, a maioria deles baseados no tempo de mistura, floculação e controle do pH do efluente. Em cada efluente, existe ao menos uma zona em

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

que o pH é considerado bom para a aplicação do floculante, nesse limite a floculação ocorre em menor tempo. A coagulação sempre deve ser feita nessa condição adequada de pH, pois, isso garante melhor eficiência do processo. (Santos et al, 2009).

Assim, o uso de floculantes adequados podem reduzir custos com reagentes químicos ou tempo de tratamento. Dessa forma, o presente trabalho tem o intuito de avaliar dois floculantes aplicados na etapa do flotador de uma empresa do ramo lácteo, na tentativa de reduzir os parâmetros de Óleos e Graxas, Sólidos Sedimentáveis e DQO.

A empresa do ramo de laticínios em que o presente trabalho foi aplicado e testado está localizada na região central do estado Rio Grande do Sul, no Vale do Taquari e já possui um sistema de tratamento que é dividido em diversas etapas. Inicialmente, o resíduo diário fica estocado em um tanque de armazenamento, após um volume adequado, este é enviado à estação de tratamento. No primeiro tanque da estação de tratamento (etapa 1), grande parte da gordura do efluente fica emersa, sendo facilmente retirada por um sistema de raspagem no tanque que contém capacidade para 10 m^3. Após esta etapa, a parte líquida do efluente é enviada para o flotador (objeto alvo deste estudo, intitulada de etapa 2) que tem a vazão de 1 m^3/h. O flotador contém sistema de agitação em forma de hélice, o qual auxilia na agitação e homogeneização do efluente, nessa etapa o pH é ajustado para 6,5 e é então adicionado individualmente os coagulantes em estudo. Após determinado tempo, ocorre a formação de flocos que são retirados também com sistema de raspagem. O efluente líquido é então enviado para um tanque anaeróbio de 16 m^3 (etapa 3) permanecendo em média 1,5 dias. Após, este é enviado para um tanque aeróbio com as mesmas dimensões que o anterior (etapa 4) seguindo finalmente para um tanque de remanejamento contendo 10 m^3 (etapa 5). Esta última etapa alimenta um biofiltro de minhoca que é irrigado com o efluente numa velocidade de 10 min/h. Após passar pelo biofiltro, se o efluente estiver de acordo com os parâmetros do Conselho Estadual do Meio Ambiente (CONSEMA), este, é então lançado no corpo hídrico.

Para o estudo, foram testados os floculantes: Aquaflot e Aquafloc que foram adicionados na proporção de 500 mL para um volume de 10 m^3 de efluente, diretamente no tanque flotador em pH 6,5, mantendo o sistema sob agitação por meia hora. Após a aplicação de cada floculante, as amostras foram coletadas e analisadas conforme metodologias do *Standard Methods* (APHA, 2012). Os parâmetros analisados foram: Sólidos Sedimentáveis, DQO e Óleos e Graxas.

De acordo com o boletim técnico, os coagulantes têm origem polimérica, ambos catiônicos, porém o acquafloc é um coagulante inorgânico enquanto o acquaflot é orgânico. Sua composição facilita a formação de flocos maiores e mais pesados, tendo como consequência uma melhor decantação. Os coagulantes orgânicos auxiliam na remoção de cor e contaminantes tóxicos presentes no efluente. O produto pode ser utilizado em estações de tratamento de efluentes e em alguns processos industriais específicos. Ele atua na fase de coagulação, onde os constituintes sólidos da suspensão são desestabilizados, formando microflocos.

Todas as análises foram retiradas e preservadas conforme procedimento descrito no *Standard Methods* que compreende o capítulo 160 - *Collection and Preservation of Samples* (APHA, 2012). Para a análise de Sólidos Sedimentáveis foi utilizada a metodologia 2540-F - *Settable Solids* (APHA, 2012), em que um litro das amostras foi homogeneizado e transferido para um cone de *Imhoff*, a amostra permaneceu em repouso por 45 minutos, após, o cone foi girado em 360 º permanecendo em repouso por mais 15 min, totalizando uma hora. O resultado dessa análise em mL/L é obtido pela leitura dos sedimentos pela escala graduada do cone de *Imhoff.*

A DQO foi quantificada seguindo o método 5220-C - *Closed Reflux, Titrimetric Method* (APHA, 2012). Em que foi colocado em um tubo de ensaio 1,5 mL de dicromato de potássio, 2,5 mL da amostra e 3,5 mL de ácido sulfúrico com sulfato de prata. Após o preparo da amostra os tubos foram fechados com cuidado, a amostra homogeneizada e submetida à digestão por 2h a 105 ºC em bloco digestor, com exceção dos brancos não digeridos, que foram titulados com os demais para correção da molaridade do sulfato ferroso amoniacal (FAS). Após arrefecimento, as amostras foram cuidadosamente transferidas para erlenmeyers de 125 mL, os tubos digestores foram enxaguados com pequenas

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

porções de água destilada a fim de evitar a perda da amostra, estas, foram tituladas com solução de FAS, 0,25 M utilizando 3 gotas de solução de ferroin como indicador. O ponto de viragem se dá pela passagem da cor verde-musgo para a coloração marrom alaranjado. Pela elevada carga orgânica as amostras estudadas foram submetidas a uma diluição de 50x para a quantificação da DQO.

Cálculo da DQO (Fórmula 1):

$$DQO\ (mgO_2/L) = \frac{(V_{BD} - V_A) \times M_{FAS} \times 8000}{2{,}5\ (mL\ de\ amostra)} \quad (1)$$

Figura 1. *Fórmula para cálculo de DQO*

V_{BD} = mL de FAS utilizado para titular o branco digerido;

V_A = mL de FAS utilizado para titular a amostra;

M_{FAS} = Molaridade real do FAS.

Nota: No caso de diluição da amostra, considerar no cálculo.

A análise de Óleos e Graxas foi realizada por gravimetria seguindo o método 5520-D - *Soxhlet Extraction Method* (APHA, 2012). Primeiramente, os copos de lipídeos foram secos a 105 ºC em estufa por 2h, acondicionados em dessecador até temperatura ambiente e pesados em balança analítica. Foi filtrado uma quantidade adequada de amostra, previamente homogeneizada com o auxílio de um Kitassato com capacidade de 1L acoplado a um funil de Bückner e este a uma linha de vácuo. A filtração foi realizada com papel-filtro qualitativo que, após a passagem da amostra, foi lavado com água destilada para eliminar quaisquer resquícios de ácido sulfúrico a fim de evitar a degradação da celulose, o papel-filtro foi acondicionado em um cartucho de celulose, estes, foram secos em estufa por 30 min a 105 º C, após a secagem, os cartuchos foram acoplados ao sistema de *Soxhlet* para a extração com solvente (Hexano) seguindo as instruções do fabricante do equipamento. A amostra foi imersa em 70 ml de Hexano, permanecendo por um período de 2h após, foi submetida a processo de lavagem por mais 1h, seguindo a recuperação do solvente por 15 min. Os copos de lipídeos foram secos em estufa a 105 ºC por duas horas e pesados até peso constante.

Cálculo para Óleos e Graxas (Fórmula 2):

$$Óleos\ e\ Graxas\ (mg/L) = \frac{(A - B) \times 1000 \times 1000}{V}$$

Figura 2. *Fórmula para cálculo de Óleos e Graxas*

Onde:

A = peso do copo após a destilação da amostra, em gramas;

B = peso do copo vazio, em gramas;

V = volume da amostra.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo normas do Conselho Estadual do Meio Ambiente (CONSEMA), os efluentes líquidos de fontes poluidoras somente podem ser lançados em corpos d'água superficiais, direta ou indiretamente, atendendo aos seguintes padrões de emissão. Para DBO_5, DQO e Sólidos Suspensos, conforme faixas de vazão em (m^3/dia) sendo que para DQO variam de Q < 20 a 10000 ≤ Q, numa concentração compreendida respectivamente entre 400 a 150 mgO_2/L. Para Sólidos Sedimentáveis o limite é ≤ 1,0 mg/L, já para Óleos e Graxas minerais ≤ 10 mg/L (CONSEMA, 2006).

Cabe salientar que com exceção de Sólidos Sedimentáveis, todas os parâmetros foram analisados em triplicata submetidas à análise estatística usando o programa estatístico Bioestat, ANOVA, com teste Tukey, com p < 0,05 de nível de significância.

Considerando as características do efluente bruto antes da etapa do flotador, os resultados foram: 50 mL/L para Sólidos Sedimentáveis, 4550 ± 357 mg/LO_2 para DQO e 127± 24 mg/L para Óleos e Graxas.

Os resultados do efluente após adição dos floculantes estão mostrados nas Tabelas 1, 2 e 3:

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

T*abela 1*. *Eficiência do tratamento para o parâmetro de Sólidos Sedimentáveis:*

Nome do coagulante	Resultados após flotador (mg/L)	Percentual de remoção
Aquaflot	0,3	99,4%
Aquafloc	>0,1	99,8%

>0,1: limite de detecção da técnica.

Como pode se observar na Tabela 1 o comportamento de ambos os floculantes foi similar, ou seja, ambos mostraram-se muito eficientes para a remoção de Sólidos Sedimentáveis. A pequena variação em percentual entre os mesmos, neste caso, pode ser desconsiderada.

Tabela 2. *Eficiência do tratamento para o parâmetro de DQO*

Nome do coagulante	Resultados após flotador (mgO_2/L)	Percentual de remoção
Aquaflot	1959 ± 89^b	57%
Aquafloc	2275 ± 357^a	50%

Letras diferentes na mesma coluna significa diferença significativa ($p < 0.05$).

De acordo com a Tabela 2 o floculante que mostrou maior eficiência em relação a redução de DQO foi Aquaflot com remoção de 57%.

Tabela 3. *Eficiência do tratamento para o parâmetro de Óleos e Graxas*

Nome do coagulante	Resultados após flotador (mg/L)	Percentual de remoção
Aquaflot	$2,6 \pm 0,8^a$	97,9%
Aquafloc	$4,3 \pm 0,9^a$	96,6%

Letras diferentes na mesma coluna significa diferença significativa ($p < 0.05$).

De acordo com os resultados obtidos, os dois floculantes apresentam alta eficiência, pois não houve diferença estatística entre os resultados.

CONCLUSÕES:

De acordo com os resultados, foi possível verificar que a adição de floculantes na etapa 2 da estação de tratamento foi satisfatória, pois, com o uso de ambos os floculantes houve redução significativa de Óleos e Graxas e de Sólidos Sedimentáveis. Tratando-se dos valores de DQO, o floculante Aquaflot se mostrou mais adequado para o tratamento. No entanto, apesar da eficiência do tratamento se aproximar de 50%, os valores apresentados ainda são considerados elevados para os padrões de lançamento, sendo necessário um processo complementar para a redução da carga orgânica neste caso.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, ao Centro Universitário – UNIVATES, à Bidatek e ao Parque Científico e Tecnológico do Vale do Taquari – TECNOVATES que de alguma forma contribuíram para a realização deste estudo.

REFERÊNCIAS:

1. *AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (*APHA*). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.* 22th Edition. Amercian Public Health Association Washington, **2012**.
2. AQUINO, D. F. S et al. Considerações Práticas Sobre o Teste de Demanda Química de Oxigênio (DQO) Aplicado a Análises de Efluentes Anaeróbios. Engenharia Sanitária Ambiental. V.11 n. 4 out/dez, **2006**.
3. CARVALHO, GLAUCO RODRIGUES. A Indústria de laticínios no Brasil: passado, presente e futuro. EMBRAPA, Circular Técnica nº102. Juiz de Fora, Minas Gerais, **2010**.
4. CARVALHO, S. H. V.; SOLETTI, J.I.; HENRIQUE, G. L. S.; PINTO, L. F.; SILVA, D. I. S. Estudo de Coagulantes para o tratamento de efluentes oleosos, utilizando flotacão por ar dissolvido, Anais do XVII Congresso Brasileiro de Engenharia Química, Recife - PE, **2008**.
5. CARVALHO, MARIA J. H. Uso de Coagulantes Naturais no Processo de Obtenção de Água Potável. Maringá, PR, **2008**.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

6. CONSEMA - Conselho Estadual do Meio Ambiente nº128. Rio Grande do Sul, **2006**. Disponível em: <http://www.sema.rs.gov.br/upload/arquivos/201611/30155644-resolucao-128-06-efluentes.pdf>

7. FEPAM - Fundação Estadual de Proteção Ambiental. Henrique Roessler. Manual da Fepam, **2008**.

8. MATOS, A. T.; CABANELLAS, C. F. G.; CECON, P. R.; BRASIL, M. S.; MUDADO, C.S. Efeito da concentração de coagulantes e do pH da solução na turbidez da água, em recirculação, utilizada no processamento dos frutos do cafeeiro. Engenharia Agrícola, v. 27, n. 2, Jaboticabal, SP, p. 545, **2007**.

9. Norma Técnica Interna - Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP) NTS 004: DQO - Demanda Química de Oxigênio. São Paulo, **1997**.

10. Norma Técnica Interna - Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP) NTS 005: Óleos e Graxas. São Paulo, **1997**.

11. Norma Técnica Interna - Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP) NTS 013: Sólidos. São Paulo, **1999**.

12. Santos, A. M., Silva, S. R., Carvalho, S. H. V., Soletti, J. I.; Tratamentos de efluentes lácteos através de coagulação química e sedimentação. Uberlândia, Minas Gerais, **2009**.

13. Teixeira, C.O.; Efluentes de laticínios, enquadramento legal e a representação dos técnicos e gerentes. Juiz de Fora, Minas Gerais, **2011**.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

SÍNTESE DE NANOPARTICULAS DE PRATA FUNCIONALIZADAS COM EXTRATO AQUEO (*Burseragraveolens*) E AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA EM *Escherichia coli, Staphylococcus aureus E Klebsiellapneumoniae*

SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES FUNCTIONALIZED WITH AQUEOUS EXTRACT (*Burseragraveolens*) AND ANTIMICROBIAL EVALUATION IN *Escherichia coli, Staphylococcus aureus AND Klebsiellapneumoniae*

GANCHALA, Danny[1]; GU.CORONADO, José Luis[2]; JARA, Eliza[1]; MENESES, Lorena[1]; GRANDA, Elena[4]; PILAQUINGA, Fernanda[1,3*]

[1]Laboratory of Nanotechnology, Pontifical Catholic University of Ecuador, 12 de octubre 1076 Avenue, zip code 170525, Quito-Ecuador. (phone: +593 2 991700)

[2]Departamento de Química-Física Aplicada, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid, CiudadUniversitaria de Cantoblanco, Francisco Tomás &Valiente 7, zipcode28049, Madrid-Spain. (phone: +34 91497 4331)

[3]Institute of Materials Science of Sevilla, University of Sevilla, Prof. García González Street, zip code 41012, Sevilla- Spain. (phone: +34 954559765)

[4]Laboratory of Microbiology-DISerLAB PUCE, Pontifical Catholic University of Ecuador, 12 de octubre 1076 Avenue, zip code 170525, Quito-Ecuador. (phone: +593 2 991700)

Corresponding author email: mfpilaquingaf@puce.edu.ec

Received 05 December 2017; received in revised form 16 December 2017; accepted 20 December 2017

RESUMO

Atualmente, a resistência aos antibióticos tornou-se um problema para o tratamento de doenças infecciosas. Neste estudo, as nanopartículas de prata de 16 ± 2 nm foram sintetizadas utilizando o extrato aquoso de Palo santo (*Bursera graveolens*), uma planta conhecida por sua ação biocida, para determinar seu efeito antimicrobiano sobre *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Diferentes concentrações de nanopartículas (100 until1000 ppm) foram avaliadas nos tempos de contato de 1, 2, 5 e 10 minutos para 1500 e 15000 UFC / mL. Além disso, para determinar a eficácia, foram realizados testes de difusão de disco utilizando várias concentrações de nanopartículas (500-1000 ppm) em *S. aureus* e *K. pneumoniae*. De acordo com os resultados do efeito antimicrobiano para *E. coli,* a a eficácia dasnanopartículas pode ser estabelecida em todos os tempos de contato para 1500 CFU de 800 ppm e para 15000 CFU de 400 ppm. Com *S. aureus*, a inibição total foi mostrada a partir de 800 ppm em 1500 CFU a 5 minutos de contato e entre 500-1000 ppm com 15000 CFU no minuto um. Os testes de *S. aureus* e *K.pneumoniae* mostraram sensibilidade com nanopartículas. A média de susceptibilidade para *S. aureus* apresentou menor inibição entre 500-600 ppm e a mais alta em 700-800 ppm. A susceptibilidade média para *K.pneumoniae* é mais constante em termos de inibição a 600-1000 ppm. Este estudo demonstrou o efeito antimicrobiano das nanopartículas de prata sintetizadas nas condições especificadas.

Palavras-chave: *nanopartículas de prata, palo santo, Burseragraveolens, E. coli, S. Aureus, K. pneumoniae*

ABSTRACT

Currently, resistance to antibiotics has become a problem for the treatment of infectious diseases. In this study, silver nanoparticles were synthesized using the aqueous extract of Palo santo (*Burseragraveolens*), for its biocide action, in order to determine its antimicrobial effect on *Escherichia coli* and *Staphylococcus*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

aureus. Different concentrations of nanoparticles (100 until1000 ppm) were evaluated at contact times of 1, 2, 5 and 10 minutes for 1500 and 15000 CFU/mL. Additionally, to determine effectiveness, disc diffusion tests using various concentrations of nanoparticles (500-1000 ppm) were performed on *S.aureus and K. pneumoniae.* According to the results of antimicrobial effect for *E.coli*, the effectiveness of nanoparticles can be established at all contact times for 1500 CFU from 800 ppm and for 15000 CFU from 400 ppm. With *S.aureus*, total inhibition was showed from 800 ppm in 1500 CFU at 5 minutes of contact and between 500-1000 ppm with 15000 CFU at minute one. S. aureus and *K.pneumoniae* tests showed sensitivity with nanoparticles. The average of susceptibility for *S.aureus* had the lowest inhibition between 500-600 ppm and the highest at 700-800 ppm. The average susceptibility for *K. pneumoniae* is more constant in terms of inhibition at 600-1000 ppm. This study demonstrated the antimicrobial effect of silver nanoparticles synthesized under the specified conditions.

Keywords*: Silvernanoparticles, palosanto, Burseragraveolens, E. coli, S. Aureus, K. pneumoniae*

INTRODUCTION

The native *Bursera* (in *Burseraceae*) comprises 40 species distributed in tropical forests, with some species in xeric shrublands, diversifying along the pacific slope, Central America, north-western South America and mainly below 1700 m elevation in the south-western USA. Indeed, a few endemic species occur on the Galapagos and Revillagigedo archipelagos, whereas several endemic species are distributed extensively in Bahamas, Cuba, Jamaica, and Hispaniola.

The plant genus *Bursera* has been used as a model for biogeographical analyses because of its high species richness and large number of endemic species (ca. 100 species of trees and shrubs).

Their implications for its phylogenetic classification have been reviewed to hypothesize on the historical biogeography of tropical: Mexico and Galapagos (Espinosa, Llorente and Morrone, 2006).

In other cases, the resin samples from botanical species from Mexican *Bursera* were studied to determine their botanical origin related to triterpenic composition of archaeological Aztec objects (Weeks and Tye, 2009). Even its resin has been studied in less-know application to second generation ethanol in biorefinery. It is mostly-known for its essential oils and secondary metabolites used as perfumes and folk medicines.

Two species of Galapagos *Bursera* (also known as: *Palo Santo*, Spanish for *holy wood*) are generally recognized: the native *Burseragraveolens* (Bg) Triana & Planch (Kunth) and *Burseramalacophylla* B. L. Rob. The latter is categorized on the International Union for Conservation of Nature (IUCN) red list as vulnerable to extinction and consequence of its extremely restricted distribution. However, Bg is a recommended taxon as subspecies malacophylla (Weeks and Tye, 2009).

Bg species is a wild native tree and has been used as a remedy for gastric aches, liniment for rheumatism and sudorific (Morton, 1981) as well as for sweet and spicy ancestral odor and medicine (Ogata, 1989). The alcoholic extracts (e.g. rum liquor) in leaf and bark are applied locally for washing wounds and orally against asthma, diarrhea, calculi in the kidney (Bernal and Correa 1990). On the other hand it has a strong woody odor and has been used for incense by the indigenous people to prevent mosquito bites (Neiro, Oliveiro and Stashenko, 2010).

In the past year, Bg has aroused interest being that its aroma, and a broad range of applications including food additives, daily-used chemical products, tobacco additives, can be used as intermediates for the synthesis of dihydrogen mint and menthofuran and have held the attention of synthetic chemists (Wang *et al.,* 2017; Bilel et al., 2011).

Same phylogenetic reviews (Daly, Fine and Martínez, 2012) indicate *Bursera* is notorious for hybridizing and were colonized from Central America. Most species are restricted endemics which showed an apparent link between *Bursera* and *Commiphora*. Hence, it is possible that the active phytochemical was common. Some of its essential oils are rich in n-terpenes: mono (limonene derivatives) (Monzote *et al*., 2012), sesqui (juneols, eudesmane and germacrene derivatives) (Zviely and Boix, 2015, Yukawa *et*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

al., 2004; Young *et al*., 2007) and tri (eoleanic and ursanic acid derivatives) (Robles *et al*., 2005); in oleoresins (elemicin derivatives], menthofuran) (Luján*et al*., 2012), lactone (Yukawa *et al*., 2006) amongothers. These active phytochemical allow for developing eco-friendly methods for the synthesis of biologically active silver nanoparticle by means of new-fangled mechanisms of reduction employing some plant extract indicated.

It is estimated that today about 320 tons/year of nanosilver are produced and used worldwide, even though it is a very minor component of overall silver volumes with ca. 20 Mtons production in 2016 (a 1% decline from the previous year) (Nowack, *et al.,* 2011). Silver nanoparticles (AgNPs), joined with Ti derivatives are the most biocompatible materials (Oshida, 2013). Conversely, other reviews showed that over the years, the AgNPs in water are toxic (Reidy *et al*., 20139), either because of its particle size, or the catalytic activity of the ions (eg. agglomeration/aggregation vs dissolution, superficial coating vs superficial charge, or internalization) (Larue *et al*., 2014). Despite the pros and cons, among the noble metal nanoparticles, they are present in many applications series due to simple and tunable synthesis routes and morphology.The noble nanoparticles are used as biosensors in forensic sciences (Marin *et al*., 2015)

The NPs green synthesis, eco-friendly speaking, includes chemical, physical and biological method leading no-toxic and non-impact environmental byproducts with non-expensive processes. Many approaches have been developed to increase demand for green nanotechnology: eg. Polysaccharide-stabilized (Morsi *et al*., 2017), phytoextract-precursors alkaloids (Gomathi *et al*., 2017), agricultural wastes (Ndikau *et al.,* 2017) among others.

Toxicity studies on pathogen opens a door for nanotechnology applications in medicine. Biological synthesis of metal NPs is a traditional method and the use of plant extracts has a new awareness for the control of disease, besides being safe and having no phytotoxic effects. The biologically synthesized silver nanoparticles using medicinal plants were found to be highly toxic against different pathogenic bacteria and fungi of selected species (Savithramma *et al*., 2011).

To the best of our knowledge, no articles were found evaluating the toxicity and synthesis of AgNPs green-synthesis using Bg phytochemical extracts. In this study, we report the synthesis of AgNPs by green synthesis process using Bg leaf aqueous extract as reducing agent. The final product characteristics were studied – optical, structural, surface morphology and elemental analysis. Along with these characteristics, the antibacterial ability against *E. coli*, *S. aureus* and *K. pneumoniae* was examined and reported. The Bg varieties used were the ones from the Galapagos Islands and those from the city of Manta which are the common specimens found within Ecuador.

MATERIALS AND METHODS

2.1. Preparation of Leaf Extract

The Bg leaves were randomly collected in the region of the Galapagos Islands (Santa Cruz) geographic coordinates: -0.686072, -90.363234 y -0.694677, -90.333429.

The Bg leafs were washed several times with distilled water to remove any impurity. They were then allowed to dry in an oven at 25 °C for 5 days. With the leaves completely dried they were crushed with mortar and pestle.The resulting product was collected in Falcon tubes which were stored at 4 °C.

The aqueous extractions were performed, taking 0.5 g of the frozen store precursor, mixing with 20 mL of dH_2O and constant stirring in Erlenmeyer flask at (60±1) °C for 1 h. The mixture was centrifuged at 2000 rpm (~2000 G) for 20 min. The supernatant liquid was filtered through Whatman 41 paper under vacuum. This aqueous fraction, used before for AgNPs synthesis, was stored at 4 °C.

2.2. Synthesis of Silver Nanoparticles

The method was optimized, by variation of phytoextract volumes, reaction (contact) times and temperatures, pH and precursor concentrations, analyzing the AgNPs stability formed. The optimal parameters were the usage of 20mL of $AgNO_3$ (1mM, Scharlau, analytical grade). It was added to 1mL of the aqueous extract of Bg, drop by drop. Adjusting the pH, 8 drops of NaOH Merck® (1%, v/v) were added with constant stirring for 60 min. at (60±1) °C. A naked-eye control to complete reduction

conversion from Ag^+ to Ag was the solution color change (from slightly yellow to dark brown).

2.2.1. Characterization of Synthesized Silver Nanoparticles

The AgNPs formation was verified from a pronounced UV-Vis peak around 400-450 nm (Ag plasmon resonance) being more pronounced for higher $AgNO_3$ concentrations, indicating that more nanoparticles density is generated. The *Agilent Technologies, Cary 60 UV-Visible spectrophotometer model* (resolution of 1nm, optical path length of 10mm within 300-800 nm range) was used. A 1:10 dilution with dH_2O was performed.

Additional FTIR-ATR experiments were under way to further characterize the phyto extracts (crushed and dried plant specimens), the AgNPs (standard alone) and its functionalization. The *Perkin Elmer spectrophotometer, Spectrum BX FTIR*, with ATR coupling (resolution of $4cm^{-1}$ at $4000\text{-}400cm^{-1}$ and 10 scans per sample with intervals of $2cm^{-1}$) was used. The vegetable extract and the nanoparticles obtained were observed, which were centrifuged and dried at 25 °C.

The STEM analysis of the colloidal suspension nanoparticles was performed in a FEG-SEM Tescan Mira 3 microscope using a voltage of 30 kV. TEM micrographs were obtained using a Philips CM-200 of 200 kV electron transmission microscope.

The SEM-EDX analysis was performed on a Phenom Pro X Scanning Electron Microscope equipped with EDX-detector operating at 10kV and Prosuite-EDS software.

2.3. Antibacterial Activity of Synthesized Silver Nanoparticles

The antibacterial activities of AgNps-Bg were carried out by modified method AOAC 960.09 with bacteria E. coli (ATCC 25922) and *S. aureus* (ATCC 25923) procured by Microbiologics®. This analysis was realized in the Laboratory of Microbiology, DISerLAB PUCE.

In this method, a sample of the AgNP-Bg is inoculated with a suspension of representative test microrganism obtained from, starting from the McFarland scale 0.5 (1.5 x 108 UFC / mL DO 0.08-0.10) until reaching the concentrations of 1500 and 15000 CFU / mL. In order to define optimal concentrations and contact times, the AgNPs-Bg sample was seeded in ten concentrations (100 until 1000ppm) with an inoculum of 1500 and 15000 CFU / mL at contact times of 1, 2, 5 and 10 minutes. Then 1mL of 10 concentrations of AgNPs-Bg (100 until1000 ppm) were poured with 1 ml suspension of test organism in test tubes from the previously seeded strain in BHI DIFCO®. This mixture was striated in the solid medium of TSA in four quadrants with 4 striae each on the surface of the agar. Each quadrant with a contact time of at 1, 2, 5 and 10 minutes and was finally incubated for 24 h at 35 to 37◦C. After incubation, the growth of the inoculated microorganisms in each quadrant varied. This experiment was repeated three times.

Additionally, to determine whether or not whole phyto extract were effective antimicrobial agents, disc diffusion tests using various concentrations (500-1000 ppm) were performed on Streptococcus sp. (CAMP and ATCC) and *K. pneumonia* (KPC and ATCC). Positive (precursor discs) and negative (phyto extract discs) control tests were also performed.Susceptibility patterns were determined by measuring the zone of inhibition (ZOI) of bacterial growth, in millimeters. This essay was realized at the Laboratory of Microbiology of UDLA.

RESULTS AND DISCUSSION

The formation of the AgNPs, the change of color of the solution from yellow to reddish-brown, was verified with the naked-eye when the pH medium becomes basic due to the reduction of precursor to silver colloidal nanoparticles. The characteristic UV-Vis band of Ag-SPR is between 400 and 450nm, so its spectrum was a very useful tool for its characterization. Its intensity was increased being more pronounced for higher concentrations or the precursor**,** indicating that more nanoparticles density was generated. Even more, Ag^+ were reduced and the AgNPS were increased, when the reaction time had progressed. This effect, due to the excitation of SPR, has been also reported in several studies carried out with plant extracts according to Ndikau *et al* (2017).

The AgNPs-Bg synthesis was optimized by modifying the parameters of aqueous extract volume, time, temperature, pH and the precursor

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

concentration.

Table **1** shows the summary of these parameters optimized together with UV-Vis spectroscopic result.

Table 1. *Optimal parameter (aqueous extract volume, contact time, temperature, pH and the precursor concentration) and their spectroscopic UV-Vis values*

	λ (nm)	Abs (au)	
V (mL) 1	406	1.220	
t (min) 60	405	1.229	
T (ºC)	60	404	1.246
pH	8	405	1.228
[P] (mM)	1	405	1.240

The UV-Visible spectra of Ag-SPR for these tests over five parameters can be seen in Figure **1** to **5**. Figure 5 indicates optimal parameters (Table 1)**.** In Figure 1 it can be observed that the optimum volume of aqueous vegetal extract, to form the AgNPs, with precursor concentration of 1mM concentration is only 1mL. When the phyto extract volume was increased, the intensity of the Ag-SPR decreased. As there are more reducing species in the reaction medium, which form more primary AgNPs, they favor aggregation, forming secondary AgNPs larger than expected. Another evidence of the aggregation was the presence of two isosbestic points (ca 370 and 410 nm) so the volume of the phyto extract was increased.

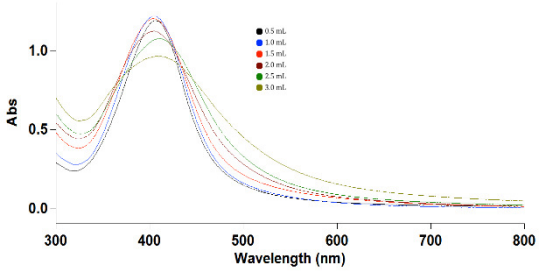


Figure 1. *Ag-SPR band with phytoextract volume variated (0.50-3.0 mL)*

As the reaction time and temperature was increased in Figure **2** and Figure **3**, the intensity of the Ag-SPR peak also increased, although the wavelength was almost invariant (405nm @ 60min and 60 °C). The clear presence of an isosbestic point with the variation of temperature, ca 450 nm, is indicative of either aggregation or some parasitic reaction that favors the formation of AgNPs. Another isosbestic point, burried in around 370 nm**,** would correlate with the one that appeared with the volume variation of the phyto extract.

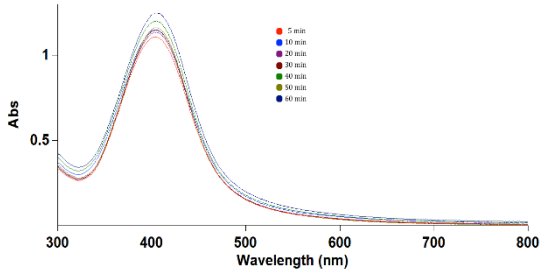


Figure 2. *Ag-SPR band with reaction time variated (5 and10-60 min)*

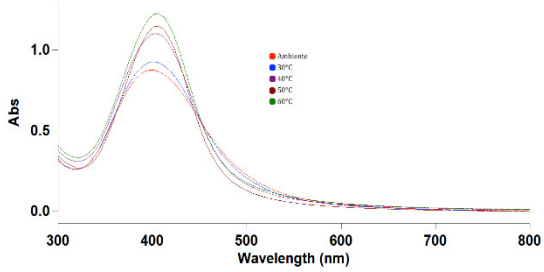


Figure 3. *Ag-SPR band with* temperature variated (21-60 °C)

The effect of pH on the formation of nanoparticles (Figure **4**) had a different tendency: at acid pH the reduction reaction is not effectively indicated as absorbance of residual Ag-SPR; situation contrary to basic pH, where the highest value appears at pH 8.

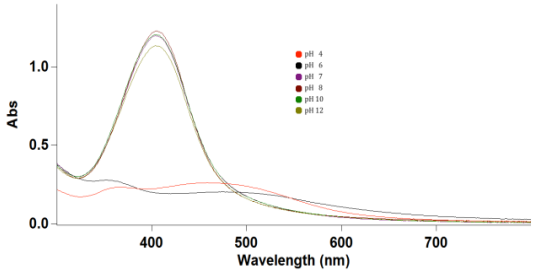


Figure 4. *Ag-SPR band with pH variated*

Finally, in relation to the concentration of the precursor reagent ($AgNO_3$) in Figure **5** the maximum absorption at 10 mM was observed, unlike lowest concentrations (0.1, 0.5 and 1.0 M),

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

where the lower absorbances indicated low concentration of AgNPs.

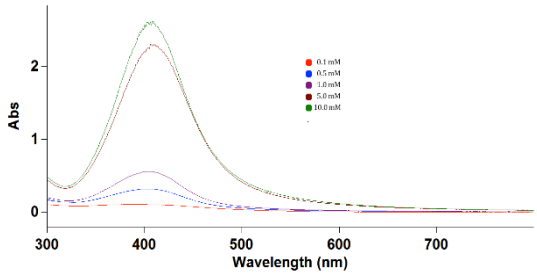


Figure 5. *Ag-SPR band with precursor concentration variated (0.1- 10 Mm)*

FTIR-ATR spectra showed an adequate organic covering of synthesized nanoparticles. In Figure **6** the precursor bands are showed. The widest one at 1269.5 cm^{-1} and followed by the other smaller band at 799.6 cm^{-1}, both of which could be attributed to the nitrate anion. They are somewhat shifted towards lower energies, as Coates (2000) established the group frequencies at 1380-1350 and 840-815 cm^{-1}; nevertheless, it is important to point out that both bands comply with the author's description in regard to broadness and intensity. The AgNPs and Bg bands (phyto extract) showed almost the same bands and no precursor, which indicated a successful coverage of AgNPs surface with active compounds. Considering previous reports from Yukawa *et al* (2004) and Schultz *et al* (2005), it is very likely that the phytoextract contains terpenoids and sesquiterpenoids (2359, 1600, 1030-1048 cm^{-1}) attributable to C=O, C=C and C-O-C, respectively. Peaks at 1602 and 3280 cm^{-1} may be indicative to the presence of –NHRR' amines, corresponding to the N-H stretching and bending, respectively. It is possible that these amines act as reducing agents onto phyto extract, successfully involved in AgNPs synthesis (Frattini *et al*, 2005).

The STEM and TEM micrographs of the AgNPs-Bg nanoparticles showed polydispersion (Figure **7**) which was indicative of the dual effect of the Bg extract as reducing and coating agent on the metallic surface. The average nanoparticle size was 15.92±2 nm.

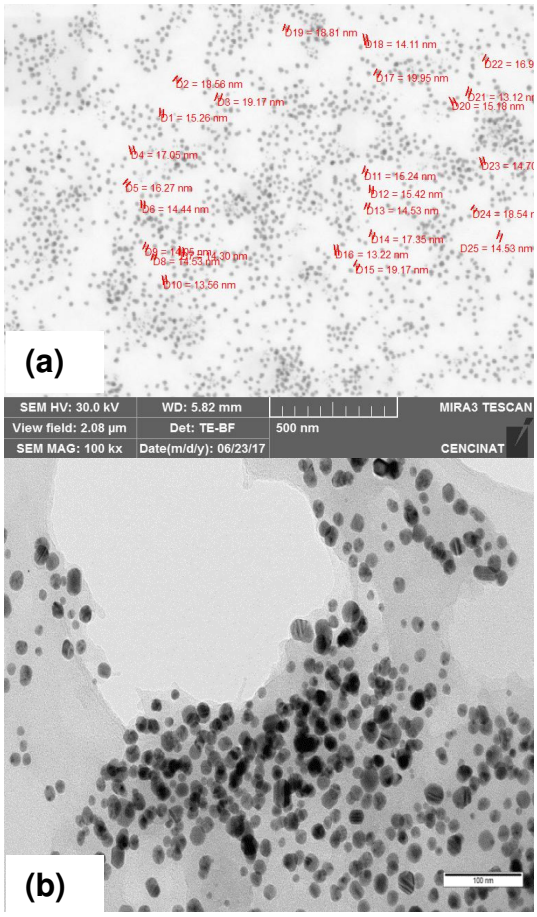


Figure 7. *Micrographs AgNPs-Bg 1M: STEM 100 kV (a) and TEM 200 kV (b)*

The SEM micrograph in Figure **8** shows the dispersion as bright points of AgNps-Bg powder and the EDX spectrum (its inset) shows the three characteristic peaks of the silver under the 4kV, the rest of the elements come from the other organic phyto extract.

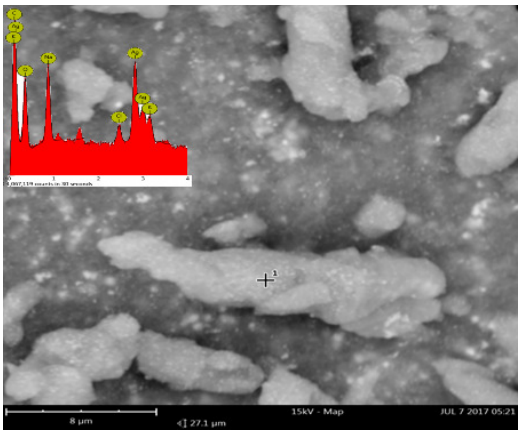
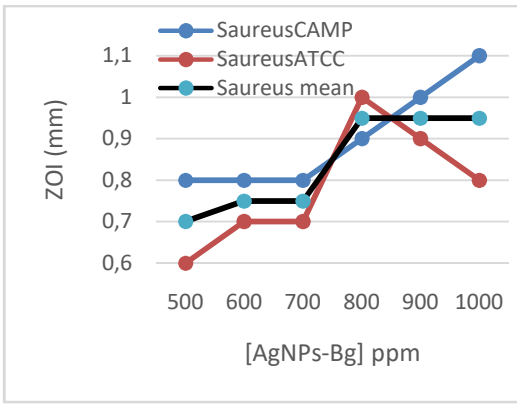


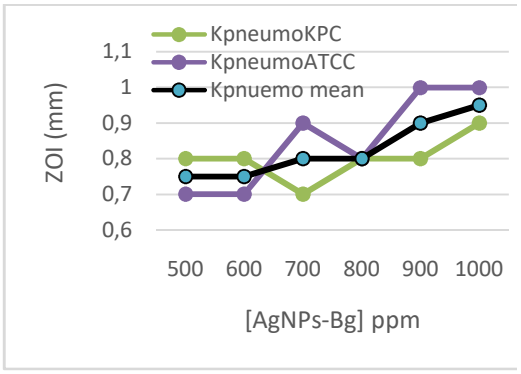
Figure 8. *Micrograph of AgNPs-Bg 1M by SEM 15 kV. Inset: SEM-EDX spectrum*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Figure **9** shows the results of each test. For the *S. aureus* and *K. pneumoniae* tested, all organisms showed sensitivity to the AgNPS-Bg (susceptibility pattern > 0.6 mm), and did not ZOI for the phyto extract paper disc (susceptibility pattern = 0.6 mm). If we consider that the antibacterial mechanism of action of the AgNPs-Bg is invariant in the two strains of each bacterium considered. It can be seen that the average for *S. aureus*, has two zones. The lowest inhibition 500-600 ppm and the highest 700-800 ppm. The average for *K. pneumoniae* is more constant in terms of inhibition at 600-700 ppm and 800-1000 ppm.



(a)



(b)

Figure 9. *Susceptibility pattern for S. aureus (a) and K. pnuemoniae (b) with AgNPs-Bg concentration variated*

From Table **2** at the end of this manuscript, values for *E. coli*, the effectiveness of the product faced; (the highest concentration value of AgNPs-Bg common) can be established at all contact times for 1500 CFU/mL to 800 ppm and for 15000 CFU/mL to 400 ppm. Conversely, the ineffectiveness of the product faced is 500 and 200 ppm for 1500 CFU / mL and 300 ppm for 15000 CFU/mL. On the other hand, some outliers can be found that should be attributed to the experimental limitation.

Finally, Table **3** for *S. aureus*, the effectiveness of the product faced can be established clearly at all contact times to 500 ppm for 15000 UFC/mL. This value corresponds with the zones of lowest and highest inhibition commented in susceptibility pattern (Figure 9a). The ineffectiveness of the product faced for 1500 UFC presents several outliers that make for all contact times non homogeneous. If contact times of 1, 2 min are considered standalone, a local effectiveness at 500 ppm and 600 ppm can be established which corresponds with the zone of lowest inhibition (ZOI>0.6 mm). For the 5, 10 min this local effectiveness is 800 ppm related to zone of highest inhibition (ZOI >0.9 mm).

The limitation of the study may be due to the lack of tests at lower concentrations than those used with the microorganisms evaluated, as well as more variation with the contact times tested. The samples of the product were manipulated and maintained until the test in optimal conditions covered by standardized protocols.

CONCLUSIONS

The AgNPs-Bg synthesis was optimized with aqueous phytoextract volume, reaction time, temperature and pH, and the precursor concentration parameters-variated. The obtained conditions can be seen in Table 1.

The characterization of AgNPs-Bg showed an adequate organic covering with the phyto extract selected (Bg), close optimal polydispersion (<size >=16±2 nm) and effective antimicrobial activity, seen of FTIR-ATR, electron microscopy and agar dilution well diffusion method respectively.

FTIR-ATR spectra comparison of precursor, phytoextract and AgNPs-Bg betrays the presence of bands with band of nitrate anion, sesquiterpenoids and secondary amines in accordance with other authors.

STEM and TEM µgraphs show said polydispersion, and SEM µgraphs and SEM-EDX spectrum reaffirm that morphology.

The effectiveness (1500 and 15000 UFC/mL) for *E. coli* were determined at around 800 ppm and 400 ppm. For *S. aureus* at 500 ppm and 500-800 ppm with each concentration

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

respectively. These limitations are directly related to the concentrations tested, future studies must be carried out varying the concentrations with lower microbial populations.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was funded by Pontifical Catholic University of Ecuador with the Project N13438 (2016-2017). A special thanks to Dra. Svetlana Ivanova from the University of Seville for the TEM analysis, Dr. Alexis Debut from CENCINAT-ESPE for the STEM analysis and MSc. Carlos Bastidas from UDLA for sensitivity analyses with *S. aureus* and *K. pneumoniae.*

REFERENCES

1. Espinosa, D.; Llorente, J.; Morrone, J.*; J. Biogeography***2006**, 33, 1945.
2. Weeks, A.; Tye, A.; J. Linn. Soc. **2009**, 161, 396.
3. Lucero, P.; Mathe, C.; Vieillescazes, C.; Bucio, L.; Belio, I.; Vega, R.; *J. Archaeol. Sci.***2014**, 41, 679.
4. Morton J. F.; *Atlas of Medicinal Plants of Middle America: Bahamas to Yucatan*; Ed. Charles C. Thomas: Springfield-U.S.A., 1981.
5. Ogata, K. *Useful Plants of the World*; Hotta, M.; Ogata, K.; Nitta, A.; Hosikawa, K.; Yanagi, M., Yamazaki, K.; Heibonsha: Japan, 1989, 181.
6. Bernal, H.; Correa, J.; *Especiesvegetalespromisorias de los países del convenio Andrés Bello*; SECAB: Bogotá-Colombia, 1990.
7. Nerio, L.; Olivero, J.; Stashenko, E; *Biores. Tech.***2010**, 101, 372.
8. Wang, X.; Wang, H.; Wua, X.; Yu, T.; Gao, W.; Shi, T.; Peng, X.; He, D.; Wang, Z.; *Syn. Lett.***2017**, 28; Bilel, H.; Hamdi, N.; Zagrouba, F.; Fischmeister, C.; Bruneau, C.; *Green Chem.***2011**, 13, 1448.
9. Daly, D.; Van A. Fine, P.; Martínez, M.; *Burseraceae: a model for studying the Amazon flora* (2012), doi: 10.1590/S2175-78602012000100002.
10. Monzote, L.; Hill, G.; Cuellar, A.; Scull, R.; Setzer, W.; *Nat.Prod.Comm*. **2012**, 7, 1531.
11. Zviely, M.; Boix, A.; *Israel Chem. Eng.***2015**, 1,27; Yukawa, C.; Iwabuchi, H.; Komemushi, S.; Sawabe, A.; *J. Oleo. Sci.***2004**, 53, 343; Young, D.; Chao, S.; Casablanca, H.; Bertrand, M., Minga, D.; *J. Essential Oil***2007**, 19, 525.
12. Robles, J.; Torrenegra, R.; Gray, A.; Piñeros, C.; Ortiz, L.; Sierra, M.; *Braz. J. Pharmacog.***2005**, 15, 283.
13. Nowack, B.; Krug, H.; Height, M.; *Environ. Sci. Technol*. **2011**, 45, 1177.
14. Oshida, Y.; *J. Biosci. Bioeng*.(2013), ISBN: 978-0-444-62625-7.
15. Reidy, B.; Haase, A.; Luch, A.; Dawson, K.; Lynch, I.; *Mat.***2013**, 6, 2295.
16. Larue, C.; Castillo, S., Sobanska, H.; Cécillon, L.; Bureau, S.; Barthès, V.; Ouerdane, L.; Carrière, M.; Sarret, G.; *J. Hazardous Mat.***2014**, 264, 98.
17. Marin, S.; Vlasceanu, G.; Tiplea, R.; Bucur, I.; Lemnaru, M.; Marin, M.; Grumezescu, A.; *Curr. Topics Med. Chem.* **2015**,15, 1596.
18. Morsi, R.; Alsabagh, A.; Nasr, S.; Zaki, M.; *Int. J. Biol. Macromol.***2017**, 97, 264.
19. Gomathi, M.; Rajkumar, P.; Prakasam, A.; Ravichandran, K.; *Res. Eff.Tech.***2017**, in press.
20. Ndikau, M.; Noah, N.; Andala, D.; Masika, E.; *Int. J. Anal. Chem*. **2017**, 9.Dendooven, L.; Mendoza, M.; Cruz, S; García, O.; Abud-Archila, M.; *GayanaBot.***2012**, 69, 7.
21. Luján, M.; Gutiérrez, F.; Venturacanseco, C.; yukawa, C.; Imayoshi, Y., Iwabuchi, H., Komemushi, S.; Sawabe, A.; *FlavourFragr. J.***2006**, 21, 234.
22. Savithramma, N.; Linga, M.; Rukmini, K.; Suvarnalatha, P.; *Int. J. Chem. Tech.* **2011**, 3, 1394.
23. Schultz, H.; Ozkan. G.; Baranska, M.; Kruger, H., Ozcan, M.; *Vib. Spec.***2005**, 39, 249.
24. Frattini, A.; Pellegrini, N.; Nicastro, D.; De Sanctis, O.; *Mater. Chem. Phy.***2005**, 94, 148.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

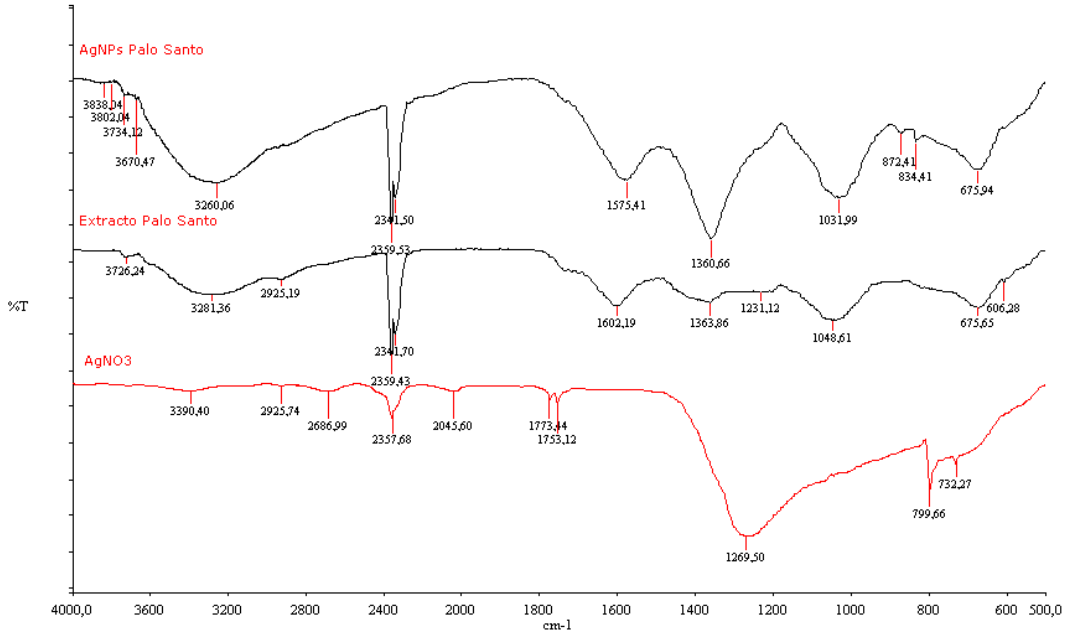


Figure 6. *FTIR-ATR spectra comparison of precursor, phytoextract and AgNPs-Bg (from bottom to top).*

Table 1. *Interpretation of antibacterial susceptibility test (G/I) for E. coli with the phytoextract (Bg), precursor concentration (P) and AgNPs-Bg at 100-1000 ppm(+100).*

E. coli				
1500 UFC/mL				
	1 min	**2 min**	**5 min**	**10 min**
G	Bg 100-300 500-600	Bg 100-300 500	Bg, P 100-200 500	Bg, P 100-200 500-700
I	P 400 700-1000	P 400 600-1000	 300-400 600-1000	 300-400 800-1000
15000 UFC/mL				
	1 min	**2 min**	**5 min**	**10 min**
G	Bg 100-300	Bg, P 100-300	Bg, P 100-200	Bg, P 100-300
I	P 400-1000	400-1000	300-1000	400-1000

Bg: phytoextract, P: [precursor]=1000 ppm, G: growth, I: inhibition.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 2. *Interpretation of antibacterial susceptibility test (G/I) for S. aureus with the phytoextract (Bg), precursor concentration (P) and AgNPs-Bg at 100-1000 ppm(+100).*

S. aureus

1500 UFC/mL				
	1 min	**2 min**	**5 min**	**10 min**
G	Bg 100-400 600 800	Bg,P 100-500 800-1000	Bg, P 100-300 500 700	Bg, P 100-300 500
I	P 500 700 900-1000	600-700	400 600 800-1000	400 600-1000
15000 UFC/mL				
	1 min	**2 min**	**5 min**	**10 min**
G	Bg 100-400	Bg,P 100-300	Bg, P 100-300	Bg, P 100-200
I	P 500-1000	400-1000	400-1000	300-1000

Bg: phytoextract, P: [precursor]=1000 ppm, G: growth, I: inhibition.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

SÍNTESE, ESTRUTURA CRISTALINA E ANÁLISE DE SUPERFÍCIE HIRSHFELD DO 1-ACETIL-5- (2-METILPROPIL) -2-TIOXO-IMIDAZOLIDIN-4-ONA

SYNTHESIS, CRYSTAL STRUCTURE AND HIRSHFELD SURFACE ANALYSIS OF 1-ACETYL-5-(2-METHYLPROPYL)-2-THIOXO-IMIDAZOLIDIN-4-ONE

CHACÓN, Cecilia[1], HENAO, José A.[2], JAMALIS, Joazaizulfazli[3], RIVAS, Pedro[4], VELÁSQUEZ, William[4], DELGADO, Gerzon E.[5]*

[1]Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, Instituto Politécnico Nacional, México D.F. 11500, México
(phone: +52-55-33236694)

[2]Grupo de Investigación en Química Estructural, Escuela de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, AA 678, Bucaramanga, Colombia
(phone: +57-315-8249350)

[3] Department of Chemistry, Faculty of Science, Universiti Teknologi Malaysia, 81310 UTM Skudai Johor, Malaysia
(phone: +60-075534313)

[4] Laboratorios de Docencia, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela
(phone: +58 416 7779889)

[5] Laboratorio de Cristalografía, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela
(phone: +58-274-2401394; fax: +58-274-2401286)

** Corresponding author*
e-mail: gerzon@ula.ve

Received 06 May 2017; received in revised form 30 November 2017; accepted 20 December 2017

RESUMO

Os heterociclos de hidantoína e tio-hidantoína estão presentes numa ampla gama de compostos biologicamente ativos incluindo fármacos terapêuticos para o tratamento de convulsões e compostos antitumorais. Tio-hidantoína também foram utilizados como agentes anticonvulsivante e estão presentes em fungicidas, herbicidas e produtos naturais. No entanto, o principal interesse atual vem da aplicação de tio-hidantoínas para o tratamento de câncer de próstata. A caracterização estrutural da hidantoína e da tio-hidantoína é importante para compreender seus mecanismos de efeito devido aos seus consideráveis efeitos biológicos. Neste trabalho, obteve-se um derivado de tio-hidantoína, 1-acetil-5-(2-metilpropil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (I) pela reação de ácido 2-amino-4-metilpentanóico com KSCN em Amido de anidrido acético-ácido acético. O composto heterocíclico foi caracterizado por análise de difração de raios X de FTIR, RMN, pó e de cristal único. Este composto cristaliza no sistema triclinico, grupo espacial P-1 (Nº2), Z = 4, com duas moléculas independentes na unidade assimétrica. A tio-hidantoína (I) forma cadeias unidimensionais ligadas ao hidrogênio através de uma única ligação de hidrogênio entre os oxigênios da carbonila e a posição N3 do anel de amina, que corre ao longo da direção [100], com o motivo C (6) do conjunto de gráficos. A natureza das interações intermoleculares foi analisada através de superfícies de Hirshfeld e impressão digital 2D.

Palavras-chave: heterocíclico, tio-hidantoína, difração de raios X, ligação de hidrogênio, análise de Hirshfeld

© 2017. Porto Alegre, RS. Brasil

ABSTRACT

The hydantoin and thiohydantoin heterocycles are present in a wide range of biologically active compounds including therapeutic drugs for the treatment of seizures and anti-tumor compounds. Thiohydantoins, have also been used as anti-convulsant agents and are present in fungicides, herbicides and natural products. However, the principal current interest comes from the application of thiohydantoins for the treatment of prostate cancers. Structural characterization of hydantoin and thiohydantoin are important to comprehend their effect mechanisms because of their considerable biological effects. In this work a thiohydantoin derivative, 1-acetyl-5-(2-methylpropyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-one (**I**), has been obtained by the reaction of 2-amino-4-methylpentanoic acid with KSCN in acetic anhydride-acetic acid mixture. The heterocyclic compound was characterized by FTIR, NMR, powder and single-crystal X-ray diffraction analysis. This compound crystallizes in the triclinic system, space group P-1 (Nº2), Z=4, with two independent molecules in the unit asymmetric. The thiohydantoin (**I**) forms one-dimensional hydrogen bonded chains, via a single hydrogen bond between the carbonyl oxygens and the amine ring N3 position, that run along [100] direction, with graph-set motif C(6). The nature of intermolecular interactions has been analyzed through Hirshfeld surfaces and 2D fingerprint plots.

Keywords: heterocyclic compound, thiohydantoin, x-ray diffraction, hydrogen bond, Hirshfeld analysis

INTRODUCTION

The hydantoin and thiohydantoin heterocycles are present in a wide range of biologically active compounds including therapeutic drugs for the treatment of seizures and anti-tumor compounds (Mutschler and Derendorf, 1995; Dylag *et al*., 2013; Carmi *et al*., 2006; Singh *et al*., 2005; Kaindl *et al*., 2006)]. The best knwonhydantoin, phenytoin, is the most widely used antiepileptic drug (Merrit and Putman, 1938). Thiohydantoins, have also been used as anti-convulsant agents and are present in fungicides, herbicides and natural products [7 – 9]. However, the principal current interest comes from the application of thiohydantoins for the treatment of prostate cancers [10, 11].

Both of these heterocycles are commonly used as templates in combinatorial chemistry libraries, due its very reactive nucleus which provides four possible points of diversity [12, 13], and recently, there has been interest in the search of new synthetic routes for the preparation of these types of compounds [14 – 16].

Structural characterization of hydantoin and thiohydantoin are important to comprehend their effect mechanisms because of their considerable biological effects. It is because of that we are interested in hydantoin and thiohydantoin derivatives of amino acids [17 – 27], and therefore report here the synthesis and structure of the thiohydantoin derivative 1-acetyl-5-(2-methylpropyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-one. In order to understand the nature of the described non-covalent interactions in the supramolecular network of this material, we performed a Hirshfeld surface analysis [28].

MATERIALS AND METHODS

Synthesis

The title compound (**I**), which is the intermediate in the preparation of the thiohydantoin 5-(2-methylpropyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-one (II) (see Scheme 1), was synthesized from 2-amino-4-methylpentanoic acid (dl-leucine). dl-leucine (5 mmol) and KSCN (5 mmol) was dissolved in a 9 ml acetic anhydride-1 ml acetic acid mixture and transferred in a 25 ml round-bottom flask. The mixture was warmed, with agitation, to 100 °C over a period of 30 min. The resulting solution was cooled in an ice/water mixture and stored in a freezer overnight. The resulting white solid was filtered off and washed with cool water (m.p. 131-132 °C). Crystal of (I) suitable for X-ray diffraction analysis were obtained by slow evaporation of a 1:1 ethanol-methanol solution. All the reagents used were obtained from Sigma-Aldrich (USA) and were used without any further purification.

Spectroscopic studies

The Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) absorption spectrum was obtained as KBr pellet using a Perkin-Elmer 1600 spectrometer (Perkin-Elmer, USA). ^{1}H-NMR and ^{13}C-NMR spectra were recorded on a Bruker Avance 400 model spectrometer (Bruker, Germany) in DMSO-d_6 solution.

© 2017. Porto Alegre, RS. Brasil

FT-IR (KBr, ν, cm^{-1}): 3218 ν(N-H), 1765 ν(C=O), 1720 ν(C=O), 1434 ν(C-N), 1175 ν(C=S)
^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ=12.66 (H3, s), 4.71 (H5, d), 2.70 (H7, s), 1.76 (H8, H9, m), 0.85 (H10, H11, d).
^{13}C-RMN (100.6 MHz, DMSO-d_6): δ=182.5 (C2), 173.5 (C4), 169.7 (C6), 61.3 (C5), 38.1 (C8), 27.3 (C7), 23.7 (C9), 23.1 (C10), 21.9 (C11).

X-ray powder diffraction

The X-ray powder diffraction pattern of (**I**) was collected at room temperature in a Phillips PW-1250 (Phillips, Netherland) goniometer using monocromatized CuKα radiation. A small quantity of compound was ground mechanically in an agate mortar and pestle and mounted on a flat holder covered with a thin layer of grease. The sample was scanned from 3-50° 2θ, with a step size of 0.02° and counting time of 10s. Silicon was used as an external standard.

X-ray powder pattern of the thiohydantoin compound is show in Figure 1. The 20 first measured reflections were completely indexed using the program Dicvol04 [34], which gave a unique solution in a triclinic cell with parameters *a*= 7.185 Å, *b*= 9.725 Å, *c*= 16.431 Å, α= 101.1°, β= 94.0°, γ= 90.5°. In order to confirm the unit cell parameters, a Le Bail refinement [35] was carried out using the Fullprof program [36]. The Figure 1 shows a very good fit between the observed and calculated patterns.

X-ray single-crystal crystallography

Colorless rectangular crystal (0.3x0.2x0.1 mm) was used for data collection. Diffraction data were collected at 298(2) K by ω-2θ scan technique on a Siemens P4 four-circle diffractometer (Siemens, Netherland) equipped with graphite monochromatized CuKα radiation (λ = 1.54178 Å). The data were corrected for Lorentz-polarization and absorption effects. Three standard reflections were monitored every 100 reflections (intensity decay: none). The structure was solved by direct methods using the SHELXS program [29] and refined by a full-matrix least-squares calculation on F^2 using SHELXL [30].

All H atoms were placed at calculated positions and treated using the riding model, with C-H distances of 0.97-0.98 A, and N-H distances of 0.86 A. The U_{iso}(H) parameters were fixed at $1.2U_{eq}$(C, N) and $1.5U_{eq}$(methyls).

Crystallographic data for the structure have been deposited with the Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC-860694).

Hirshfeld surfaces analysis

The packing of the title compound (**I**) was also investigated by an analysis of the Hirshfeld surfaces [28] with the aid of Crystal Explorer [31]. The two-dimensional fingerprint plots [32] were calculated for the crystal, as were the electrostatic potentials. The electrostatic potentials were mapped on the Hirshfeld surfaces using the STO-3G basis set at the level of Hartree-Fock theory over a range of ±0.075 au [33]. Crystallographic information file (CIF) of (**I**) was used as input for the analysis. For the generation of fingerprint plots the bond lengths of hydrogen atoms involved in interactions were normalized to standard neutron values (C-H = 1.083 Å, N-H = 1.009 Å, O-H = 0.983 Å).

The Hirshfeld surfaces can identify and quantify the intermolecular interactions [28]. The d*norm* surface is the distance in terms of d*e* and d*i*. In the plot, for each point of the Hirshfeld surface enveloping the molecule in the crystal, the distance d*i* to the nearest atom inside the surface and the distance d*e* to the nearest atom outside the surface are reported. The colour of each point in the plot is related to the abundance of that interaction, from blue (low) to green (high) to red (very high). The fingerprint plot is a graphical two-dimensional map that indicates the distribution of the interactions for a single molecule in the crystal [32].

RESULTS AND DISCUSSION:

The heterocycle compound (**I**) crystallizes with two independent molecules (*R* and *S*) in the asymmetric unit, in the centrosymmetric space group P-1. The molecular structure and labeling scheme of the title compound (**I**) are shown in Fig. 2.Table 1 summarizes the crystal data, intensity data collection and refinement details for (**I**).Selected geometrical parameters are collected in Table 2. All bond distances and angles are in agreement with experimental average values found in 50 records with thiohydantoin ring fragments with N3 unsubstituted, searched in the Cambridge Structural Database (CSD, version 5.37, May. 2016) [37].

© 2017. Porto Alegre, RS. Brasil

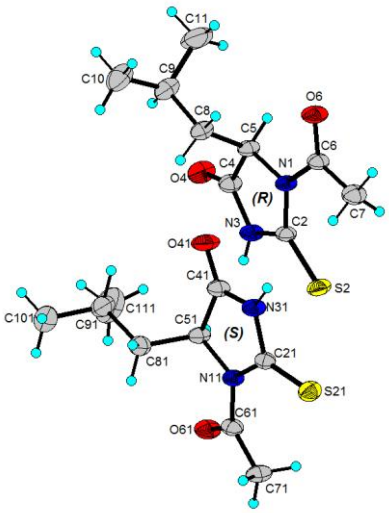


Figure 2.*Asymmetric unit with anisotropic ellipsoid representations, together with atom labelling scheme of (**I**). The ellipsoids are drawn at 25% probability level, hydrogen atoms are depicted as spheres with arbitrary radii*

The thiohydantoin ring, in both molecules, is planar with a maximum deviations of 0.034 (3) Å in C4 and -0.037 (3) Å in C4, in molecule *R* and 0.039(3) Å in C41 and -0.038(3) Å in C51, for molecule *S*.

N-acetylation affects the external angles flanking the C=S group, with S2-C2-N1 (131.5°) becoming wider and S2-C2-N3 narrower (122.8°). This difference is also observed in the other seven 1-acetyl thiohydantoin compounds reported in the CSD; rac-1-acetyl-5-methyl-2-thioxoimidazolidin-4-one (131.5-122.2°) [18], rac-1-acetyl-5-benzyl-2-thioxoimidazolidin-4-one (131.6-122.3°) [19], rac-1-acetyl-5-propionamide-2-thioxo-imidazolidin-4-one (130.6-123.7°) [22], S-(1-(3-acetyl-5-oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1H-imidazol-4-yl)ethyl) ethanethioate (130.6-123.4°) [38], 1-acetyl-5-(4-fluorophenyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one (130.3-123.4°) [39] and the two polymorphs of 1-acetyl-2-thioxoimidazolidin-4-one (average 132.0-121.9°) [40, 41].

Two intermolecular main hydrogen bonds N3--H3···O6 (1+x, y, z) and N31--H31···O61 (-1+x, y, z) were identified in the crystal of (**I**) (Table 3). The thiohydantoin (**I**) forms one-dimensional hydrogen bonded chains, via a single hydrogen bond between the carbonyl oxygens and the amine ring N3 position, that run along [100] direction, and can be described in graph-set notation as C(6) [42] (see Figure 3).

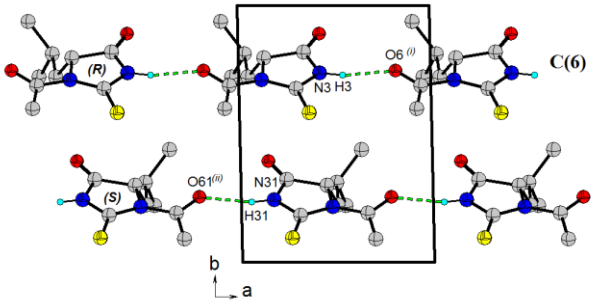


Figure 3.*Packing view of (**I**) viewed in the ba plane, showing the chains of (R) and (S) tapes along the a axis. Intermolecular hydrogen bonds, N--H···O and O--H···O, are indicated by dashed lines. H atoms not involved in hydrogen bonding have been omitted for clarity*

This lineal packing is also appreciated in the structure of 1-acetyl-5-benzyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one [19]. The steric bulk of the 2-methylpropyl group appears to inhibit formation of rings, as in the structures rac-1-acetyl-5-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one [18], rac-5-(2-methylthio-ethyl)-2-tioxo-imidazolidin-4-one [22], rac-1-acetil-5-propionamida-2-tioxo-imidazolidin-4-ona [24] and (S)-5-secbutyl-2-thiohydantoin [25]. A comparison of these structures suggests increased steric bulk in the 5-position favours chain formation.

In order to assess possible packing differences involving the two independent molecules, we have examined their Hirshfeld surfaces [28].

The d*norm* surfaces plots for *R* and *S* molecules of (**I**) are shown in Figure 5. The d*norm* surfaces plots of two molecules are consistent with the analysis of the packing patterns as discussed in the previous section. Dark-red spots close to O6 and O61 atoms are a result of a close contact between these atoms resulting in strong N--H···O hydrogen bonds.

© 2017. Porto Alegre, RS. Brasil

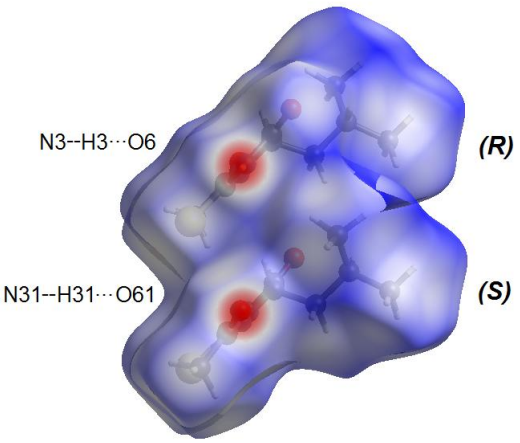


Figure 4.*dnorm mapped on Hirshfeld surfaces in (I)*

The Hirshfeld fingerprint plots of the two independent molecules are illustrated in Figure 6. A distinctive feature of each plot is represented by the two spikes at d*e* + d*i*~ 1.8 Å, pointing to the lower left of the plots and symmetrically disposed with respect to the diagonal. They correspond to the strong hydrogen bonds present in the crystal packing. Another common feature is the sting along the diagonal, at d*e* = d*i*~ 1.25 Å, which reflects points on the Hirshfeld surface that involve nearly head-to-head H···H contacts. Two plots look very similar, thus indicating that the packing around each molecule is similar, consistent with the hydrogen-bonds analysis by X-ray diffraction.

CONCLUSIONS:

The thiohydantoinderivative1-acetyl-5-(2-methylpropyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one was synthesized and characterized by FTIR and NMR spectroscopy, and X-ray diffraction techniques. This material crystallize in the triclinic system with space group P-1 (Nº2), Z=4, with two independent molecules in the unit asymmetric. In the crystal structure of (**I**), the crystal packing is governed by N--H···O hydrogen bond-type intermolecular interactions, forming infinite one-dimensional chains with graph-set motif C(6).

ACKNOWLEDGMENTS:

This work was supported by CDCHT-ULA (grant C-1980-16-08-A) and FONACIT (grant LAB-97000821).

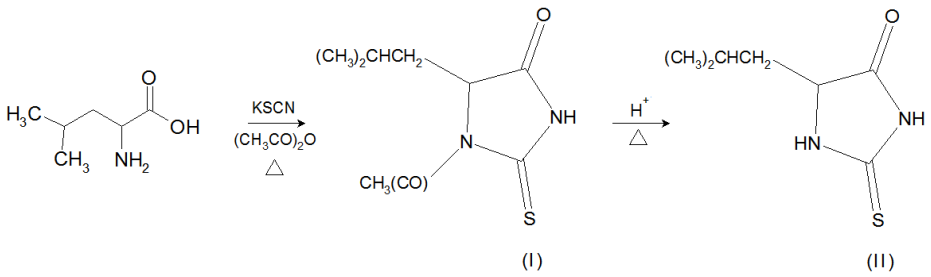
REFERENCES:

1. Mutschler, E., Derendorf, H. *Drug actions, basic principles and therapeutic aspects*, Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, 1995.
2. Dylag, T., Zygmunt, M., Maciag, D., Handzlik, J., Bednarski, M., Filipek, B., Kiec-Kononowicz, K. *Eur. J. Med. Chem.***2004**, 39, 1013.
3. Carmi, C., Cavazzoni, A., Zuliani, V., Lodola, A., Bordi, F., Plazzi, P.V., Alfieri, R.R., Petronini, P.G., Mor, M. *Bioorg. Med. Chem. Let.***2006**, 16, 4021.
4. Singh, G., Driever, P.H., Sander, J.W., Sander, L.*Brain J. Neurol.***2005**, 128, 7.
5. Kaindl, A.M., Asimiadou, S., Manthey, D., Hagen, H.V.D., Turski, V.D., Ikonomidou, C.*Cell. Mol. Life Sci.*, **2006**, 63, 399.
6. Merrit, H.H., Putnam, T.J. *Arch. Neurol.Psychiat.***1938**, 39, 1003.
7. Marton, J. Enisz, J. Hosztafi, S. Timar, T., *J. Agric. Food Chem.***1993**, 41, 148.
8. Al-Madi, S., Al-Obaid, A.M., El-Subbagh, H., *Anti-Cancer Drugs*, **2001**, 12, 835.
9. Takahashi, A., Matsuoka, H., Yamada, K.,Uda Y.*FoodChem.Toxicol.***2005**, 43, 521.
10. Harrison, C.*Nature Rev. Drug Disc.***2009**, 8, 452.
11. Shen H.C., Balk,S.P., *Cancer Cell*, **2009**, 15, 461.
12. Park, K.H., Ehrler, J., Spoerri, H., Kurth, M. J.*J. Comb. Chem.***2001**, 3, 171.
13. Muccioli, G.G., Poupaerta, J.H., Wouters, J., Norberg, B.,Poppitzc, W., Gerhard K.E Scribad, G.K.E.,Lamberta, D.M., *Tetrahedron*, **2003**, 59, 1301.
14. Vázquez, J., Royo, M., Albericio, F., *Letters Org. Chem.***2004**, 1, 224.
15. Reyes, S., Burges, K., *J. Org. Chem.***2006**, 71, 2507.
16. Wang, Z.D., Sheikh, S.O., Zhang, Y.L., *Molecules*, **2006**, 11, 739.
17. Delgado, G.E., Mora, A.J., Uzcátegui, J., Bahsas, A., Briceño, A., *Acta Cryst.***2007**, C63, o448.
18. Sulbaran, M.E., Delgado, G.E., Mora, A.J., Bahsas, A., Novoa de Armas, H., Blaton, N., *Acta Cryst.***2007**, C63, o543.
19. Uzcátegui, M.C., Delgado, G.E., Mora, A.J., González, T., Briceño. A.,*ActaCryst.***2009**, E65, o104.

© 2017. Porto Alegre, RS. Brasil

20. Seijas, L.E., Mora, A.J., Delgado, G.E., Brunelli, M., Fitch, A.N., *Powder Diffr.* **2010**, 25, 342.
21. Delgado, G.E., Seijas, L.E., Mora, A.J., *J. Chem.Cryst.***2012**, 42, 968.
22. Delgado, G.E., Varela, K.N., Araque, R.V., Rodríguez, J.A., Mora, A.J.,Seijas, L.E. *Av. Quím.***2014**, **9**, 3.
23. Seijas, L.E., Almeida, R., Mora, A.J., Delgado G.E., *J. Comp.MethodsSci.Eng.***2014**, 14, 5.
24. Delgado, G.E.,Seijas, L.E., Mora, A.J., Almeida, R., González, T., *Mol.Cryst. Liq.Cryst.***2015**, 607, 192.
25. Delgado, G.E., Hernández, M., Mora, A.J., Bahsas, A., Lobaton, R., González, T.,*Mol.Cryst. Liq.Cryst.***2015**, 616, 187.
26. Delgado, G.E., Mora, A.J., Contreras, J.E., Chacón C., *PowderDiffr.***2015**, 30, 178.
27. Delgado, G.E., Rodríguez, J.A., Mora, A.J., Bruno-Colmenárez, J., Uzcátegui, J., Chacón, C.,*Mol.Cryst. Liq.Cryst.***2016**, 629, 96.
28. Spackman, M.A., Jayatilaka, D.,*CrystEngComm*, **2009**, 11, 19.
29. Sheldrick, G.M.,*ActaCryst.***2008**, A64, 112.
30. Sheldrick, G.M., *ActaCryst.* **2015**, C71, 3.
31. Turner, M.J., McKinnon, J.J., Wolff, S.K., Grimwood, D.J., Spackman, P.R., Jayatilaka, D., Spackman, M.A. CrystalExplorer17, University of Western Australia, 2017.
32. Spackman, M.A., McKinnon, J.J., *CrystEngComm*, **2002**, 4, 378.
33. Spackman, M.A., McKinnon, J.J., Jayatilaka, D., *CystEngComm*, **2008**, 10, 377.
34. Boultif, A. Louër, D., *J. App. Cryst.***2004**, 37, 724.
35. Le Bail, A., *Powder Diffr.***2015**, **20**, 316.
36. Rodriguez-Carvajal, J.: Fullprof, version 5.7, LLB, CEA-CNRS, France, 2017.
37. Groom, C. R., Allen, F. H. *Angew. Chem. Int. Ed.***2014**, **53**, 662.
38. Mackay, M.F., Duggan, B.M., Laslett, R.L., Wilshire, J.F.K., *ActaCryst.***1992**, C48, 334.
39. Casas, J.S., Castañeiras, A., Couce, D., Playá, N., Sordo, J., Varela, J.M. *Acta Cryst.***1998**, C54, 427.
40. Kitoh, S., Feng, Y., Fujinami, S., Ichitani, M., Honda, M., Kunimoto, K.K., *Acta Cryst.***2013**, E69, o1699.
41. Taniguchi, K., Okumura, H., Honda, M., Suda, M., Fujinami, S., Kuwae, A., Hanai, K., Maeda, S., Kunimoto, K.K., *X-ray Struc. Anal. Online*, **2009**, 25, 93.
42. Etter, M.C.,*Acc. Chem. Res.***1990**, 23, 120.

© 2017. Porto Alegre, RS. Brasil



Scheme 1.*Synthesis of 1-acetyl-5-(2-methylpropyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-one (**I**)*

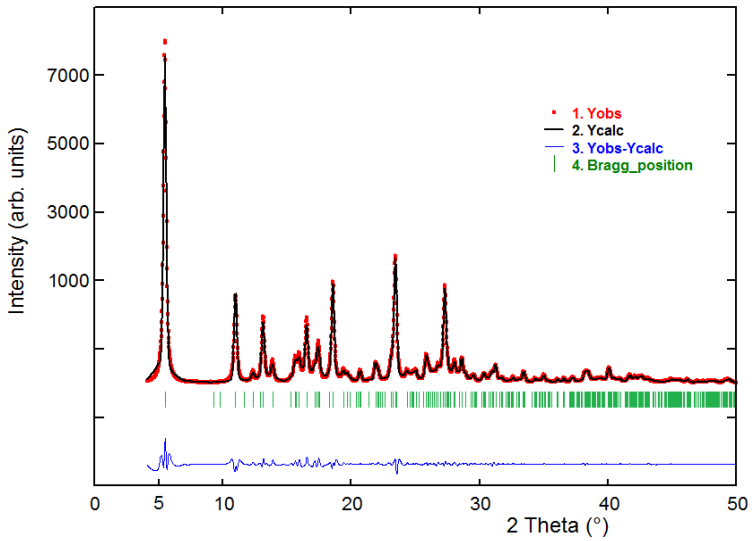


Figure 1. *X-ray powder diffraction data for (**I**). The powder pattern was refined without structural model to confirm the unit cell parameters*

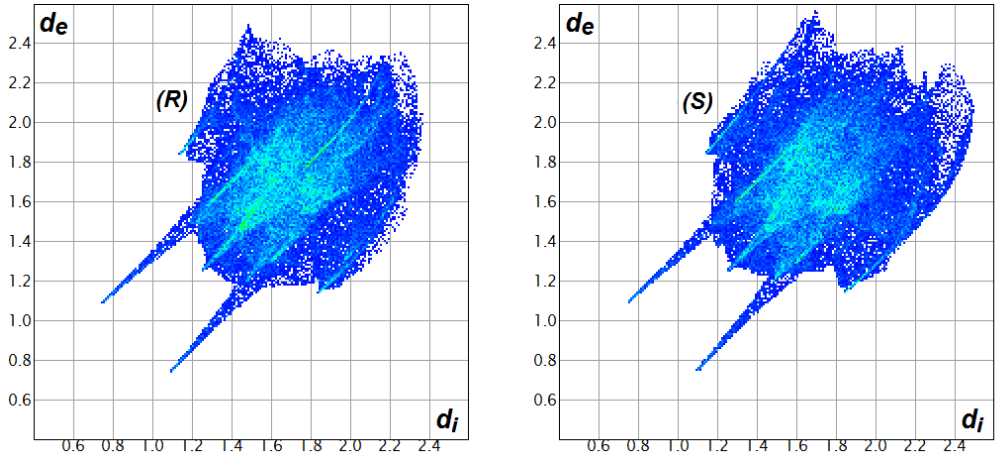


Figure 5.*Hirshfeld fingerprint plots of the two crystallographically independent molecules (R and S) of (**I**). de is the closest external distance from a given point on the Hirshfeld surface and di is the closest internal contacts*

© 2017. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. *Crystal data, data collection and structure refinement of* ***(I)***

Chemical formula	$C_9H_{14}N_2O_2S$	CCDC	860694
Formula weight	214.28	Radiation (MoKα)	λ = 0.71073 Å
Crystal system	Triclinic	μ(mm^{-1})	0.27
Space group	P-1	hkl range	-1, 8; -11, 11; -18, 19
a(Å)	7.1855(4)	Reflections	
b(Å)	9.7300(4)	Collected	4921
c(Å)	16.442(1)	Unique (R_{int})	3991 (0.088)
α (°)	101.13(1)	With I > 2σ(I)	3003
β(°)	94.00(1)	Refinement method	Full-matrix ls on F^2
γ (°)	90.49(1)	Number of parameters	260
V(Å3)	1125.0(1)	$R(F^2)[I > 2\sigma(I)]$	0.0782
Z	4	$wR(F^2)[I > 2\sigma(I)]$	0.1998
dx (g cm^{-3})	1.265	Goodness of fit on F^2	1.11
F(000)	456	Max/min Δρ (e $Å^{-3}$)	0.73/-0.71

Table 2 *Selected geometrical parameters (Å, º) for* ***(I)***

Molecule *R*		Molecule *S*	
S2-C2	1.6340(3)	S21-C21	1.6480(3)
O4-C4	1.2050(4)	O41-C41	1.2070(4)
O6-C6	1.2130(4)	O61-C61	1.2190(4)
N1-C2	1.3860(4)	N11-C21	1.3860(4)
N3-C2	1.3770(4)	N31-C21	1.3650(4)
N3-C4	1.3700(4)	N31-C41	1.3780(4)
S2-C2-N1	131.5(2)	S21-C21-N11	130.8(2)
S2-C2-N3	122.8(2)	S21-C21-N31	122.6(2)
O4-C4-N3	125.5(3)	O41-C41-N31	125.8(3)
O4-C4-C5	128.2(3)	O41-C41-C51	127.9(3)
C6-N1-C2-S2	4.10(5)	C61-N11-C21-S21	-6.90(5)
C4-N3-C2-S2	-174.80(2)	C41-N31-C21-S21	176.50(2)

Table 3 *Hydrogenbondsgeometry (Å, °). (D-donor; A-acceptor; H-hydrogen)*

D--H···A	D--H	H···A	D···A	D--H···A	Symmetrycodes
N3--H3···O6	0.860	1.981(1)	2.825(3)	166.6	1+x, y, z
N31--H31···O61	0.860	1.988(2)	2.834(3)	167.7	-1+x, y, z

© 2017. Porto Alegre, RS. Brasil

ESTUDO DE MATERIAIS DE BAIXO CUSTO PARA A MELHORIA DA DESSALINIZAÇÃO SOLAR DE ÁGUA DO MAR

STUDY OF LOW COST MATERIALS FOR THE ENHANCEMENT OFSOLAR SEAWATER DESALINATION

HERNÁNDEZ, Angel[1]; MUÑOZ, Romeo[1]; VENTURA, Stanley[1]; BÜSCHER, Wolfgang[1]; CHRISTOPH, Rainer[1,*]

[1] Francisco Gavidia University, Science, Technology and Innovation Institute, Nanotechnology Laboratory, Building D, Av. Olímpica, San Salvador, El Salvador.
(phone: +503 2249 2716)

** Corresponding author*
e-mail: rainer@nanotecnia@net

Received 11 December 2017; received in revised form 16 December 2017; accepted 20 December 2017

RESUMO

A evaporação de água altamente eficiente sob iluminação solar é de importância fundamental para o desempenho de destiladores de dessalinização de água do mar. A eficiência da geração de vapor térmico aumenta acentuadamente através do isolamento térmico das camadas da superfície da água irradiada da água subjacente a granel. Estudos recentes mostraram que o uso de nanomateriais com propriedades da superfície plasmática leva a aumentos de eficiência térmica adicionais. Apresentamos resultados experimentais de experiências in situ de evaporação de água realizadas em condições ambientais normais. O uso de estruturas flutuantes em camadas em sanduíche (SLS), pode aumentar as taxas de evaporação da água de até 43% quando comparadas às taxas obtidas para superfícies de água simples com um volume exposto à luz subjacente. A importância do transporte de água para a superfície SLS exposta à luz e, portanto, o design SLS é crucial, como demonstramos com um conjunto adicional de experiências. A eficiência de evaporação aumenta quando as camadas de pó impregnadas com água de fortes absorventes de luz estão presentes na superfície SLS iluminada. Os resultados comparativos obtidos com camadas de pó úmido de grafite e compostos de rocha ígnea mostram que, nas mesmas condições experimentais, a taxa de evaporação da água pode ser aumentada em até 470% em comparação com as superfícies de água descoberta.

ABSTRACT

Highly efficient water evaporation under solar illumination is of key importance for the performance of seawater desalination stills. Thermal vapor generation efficiency increases markedly through thermal insulation of the irradiated water surface layers from the underlying bulk water. Recent studies have shown that the use of nanomaterials with plasmonic surface properties lead to additional thermal efficiency boosts. We present experimental results of in situ water evaporation experiments performed under normal ambient conditions. The use of floating sandwich-layered structures (SLS), can increment water evaporation rates of up to 43% when compared to the rates obtained for plain water surfaces with an underlying light-exposed bulk. The importance of water transport to the light-exposed SLS surface, and hence the SLS design is crucial, as we demonstrate with an additional set of experiments. Evaporation efficiency increases when water impregnated powder layers of strong light absorbers are present at the illuminated SLS surface. Comparative results obtained with wet powder layers of graphite and igneous rock compounds show that, under same experimental conditions, the water evaporation rate can be boosted by as much as 470% compared to bare water surfaces.

Keywords: *Desalination, Nanomaterials, Evaporation, Solar Stills, Igneous Rock, Graphite*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUCTION

Water is key to sustainable development. Water resources, and the range of services they provide, underpin poverty reduction, economic growth and environmental sustainability. From food and energy security to human and environmental health, water contributes to improvements in social wellbeing and inclusive growth, affecting the livelihoods of billions (UN-WWAP, 2015).

About 97% of the earth's water is salt water in the oceans and only 3% (about 35 million km^3) is fresh water contained in the poles (in the form of ice), ground water, lakes and rivers, which supply most of human and animal needs (Fig.1). Many of these freshwater systems are directly threatened by human population growth, agriculture, industrialization, and contamination. They also stand to be further affected by anthropogenic climate change (*NASA Climate Change Webpage, 2017)*, (Haddeland *et al.*, 2014) which has the potential to disrupt patterns of water availability that have motivated human decisions with long-term implications, such as city locations, urban structure, reservoir placement, and water system design (Bates *et al.*, 2008).

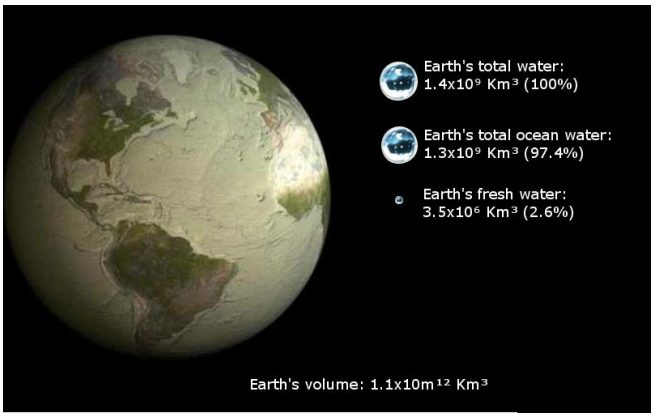


Figure 1. *Surface water distribution on planet Earth. Freshwater represents less than 3% of the planet's total water resource. Nearly 70% of the fresh water is frozen in glaciers, permanent snow and permafrost. Thirty percent of all fresh water is underground, most of it in deep, hard-to-reach aquifers. Lakes and rivers together contain just a little more than 0.25% of all fresh water, or less than 0.01% of the total water* (Gleick, 1993).

Presently, over one-third of the world's population lives in water-stressed countries and by 2025, this figure is predicted to rise to nearly two- thirds (Service, 2006). Water scarcity is one of the most serious global challenges of our time, despite of being one of the most abundant resources on earth, covering three- fourths of the planet's surface. Even regions traditionally considered water-rich have difficulty providing sufficient fresh water (Supply *et al.*, 2011). Pollution and rising costs associated with treating and distributing new sources of water are among the largest issues facing water planners (UNESCO, 2012).

The only methods to increase water supply beyond what is available from the hydrological cycle are desalination and water reuse (Shannon *et al.*, 2008). Of these, seawater desalination offers a seemingly unlimited, steady supply of high-quality water, without impairing natural freshwater ecosystems. Desalination of brackish groundwater is also an option to augment water supply for inland regions; however, the management of brines from inland desalination plants represents a major challenge.

The major desalination technologies currently in use are based on membrane separation, e.g. via reverse osmosis (RO) and thermal distillation (multistage flash and effect distillation), with RO accounting for over 50% of the world's installed capacity (Zotalis *et al.*, 2014)(Zhou and Tol, 2005).

Conventional thermal desalination processes are inefficient in their use of energy and suffer particularly from corrosion, as well as scaling that also affects RO. Even where fuel is readily available and low-cost, high capital and operational costs limit adoption. Therefore, the market share of large conventional thermal desalination plants will probably decline (Shannon *et al.*, 2008), (S. P. Chaurasia, Sushant Upadhyaya *et al.*, 2011). In a mid-term future, massive seawater desalination through thermal processes could be achieved by using the heat energy stored in the earth crust - is sufficient to cover our present energy needs for approximately 50 million years. The technology to harvest this enormous energy source, for example through Enhanced Geothermal Systems (EGS) is technically feasible, but still needs to be developed (Idaho National Laboratory, 2006).

For family and very small community systems in remote locations, especially in the developing world, solar seawater distillation, i.e. freshwater generation with solar stills, has great

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

potential in coastal areas with limited access to other energy sources than (Bourouni, Chaibi and Tadrist, 2001)(Fath, 1998).

Solar seawater distillation

Solar powered fresh water production has been used since ancient times. Phoenician sailors (1500 BC–500 BC) which travelled along the Mediterranean Sea were already making use of the solar thermal radiation to convert seawater into fresh drinking water. The classic Greece philosopher Aristotle described the water cycle in nature and remarked that when salt water turns into vapor and the vapor condenses, it does so in the form of fresh water (Ross, LL.D. and Smith, 1931). Since its introduction by Arab alchemists in 1551 (Ferrario, 2007) distillation technology has been applied to fresh water production over centuries. The number of today's existing different solar still designs is overwhelming (Dsilva Winfred Rufuss *et al.*, 2016), (Kalogirou, 2005). One of the major drawbacks of such systems is its limited freshwater production capacity, which according to literature exhibit a desalination capacity, generally below 0.6 l of freshwater per hour and m^2 of sun-exposed area, at an irradiance of 1 KWh^{-1}. (Sivakumar and Ganapathy Sundaram, 2013).

Recently however, new material approaches driven by the emergence and proliferation of Nanoscience and Nanotechnologies have brought up a significant potential for efficiency improvements of solar stills. As depicted schematically in Fig 2, nano-improvement areas for solar stills are manifold: nanomaterials can markedly optimize thermal insulation (reduction of heat losses (Roco, Mirkin and Hersam, 2010), (Nikita Aigner, 2011), improve water pre-treatment and post-treatment, optimize water condensation (Yoon *et al.*, 2012), (Chen *et al.*, 2016) and improve solar light harvesting with advanced optical materials (McClean-Ilten and Zerulla, 2016).

A major breakthrough in light induced water evaporation research with nanomaterials has been achieved by the recent discovery that evaporation efficiency can be significantly enhanced by the use of plasmonic nano material surfaces.

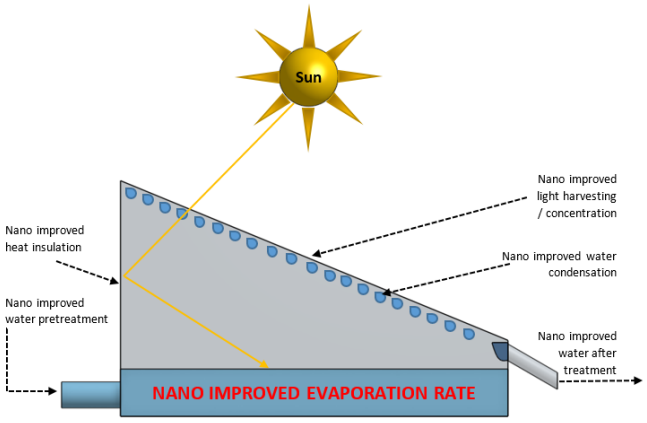


Figure 2. *Schematic presentation of conventional solar still, showing potential areas for nano-improved efficiency gains*

In this work, we focus on this latter discovery, by developing new approaches for enhanced light-induced evaporation at thermally insulated wet material layers with extraordinary light absorption properties. This approach targets one of the main reasons for the observed limitations of conventional solar still desalination capacity where only a small fraction of the incident solar light is converted into the necessary translational energy of water molecules needed for the phase change.

In classical thermodynamic approaches (Ni *et al.*, 2016), the water evaporation rate per unit area generated by the ambient solar flux are calculated as (Eq. 1).

(Eq. 1)

Where m is the mass flux or water evaporation rate [Kgs^{-1}], A is the surface area of the water facing the sun [m^2], q_{solar} is the solar flux measure in [Wm^{-2}] and h_{fg} is latent heat of evaporation of water used in widespread literature (Datt, 2011), with a value of 2.260 $MJkg^{-1}$

(Eq. 1) leads to a maximum water evaporation rate of 4.4 X 10^{-4} $kgm^{-2}s^{-1}$, or 1.58 $kgm^{-2}h^{-1}$, for a water surface of 1 m^2 that is exposed to a solar flux of 1000 Wm^{-2} (1 sun), for an ideal system with no heat losses and with a solar vapor generation efficiency $\eta_{thermal}$of 100%.

is defined in literature as:

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

(Eq. 2)

In real systems however, heat losses however do occur. Water evaporation is a surface process and only water molecules at the thin water-air interface can be driven into vapor phase through their kinetic energy state. Heating of the bulk water transfers energy to water molecules which do not directly participate in the evaporation process, inducing changes in their vibrational states and/or relaxing attractive forces between these bulk molecules. Other heat loss contributions include convection losses to the gas phase, as well radiation losses at gas/liquid and liquid/solid interfaces (see Fig 3). These heat losses reduce solar vapor generation efficiencies for sun exposed water surfaces significantly, leading to low $\eta_{thermal}$values (below 40%) at solar fluxes q_{solar} = 1000 Wm^{-2} (Bae *et al.*, 2015), (Morciano *et al.*, 2017).

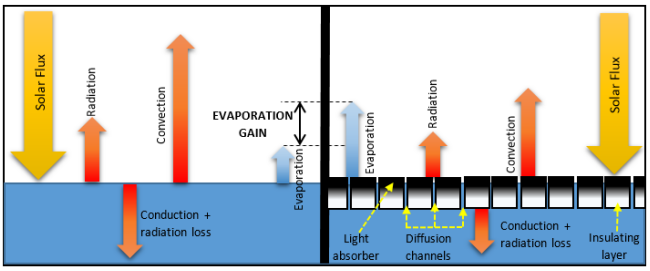


Figure 3. *Solar energy dissipation of irradiated water surface. Left: Energy losses of irradiated bare water surface. Right: Energy dissipation on water-impregnated SLS layer. Reduction of conductive and radiation heat losses result into a noticeable gain of energy available for inducing phase changes, resulting in a boost of* solar vapor generation efficiency $\eta_{thermal}$. *Figure adapted from* (Ni *et al.*, 2016)

The reduction of conductive heat losses to the bulk water can be experimentally achieved through isolation of the bulk water layers from sun radiation, for instance by floating structures of porous, water-absorbing materials as shown in Fig. 4. which significantly reduce the thickness of the sun-exposed water layer and insulate bulk water from the hot water regions at the surface (Neumann *et al.*, 2013).

If the sun-exposed area of the floating is covered with light absorbing materials, heat energy can be localized close to the water surface and can induce energy localized non-equilibrium phase changes, generating steam while the surrounding medium remains cold (Boriskina, Ghasemi and Chen, 2013). As a result, solar vapor generation efficiency can be significantly increased.

MATERIALS AND METHODS

Seawater evaporation experiments were performed under laboratory conditions: 21°C regulated by air conditioning system, 930 hPa ambient pressure and 65% relative humidity. A 3D printed water container (*75x75x50mm*) with a square surface area of 5,6 x 10^{-3} m^2 (Muñoz *et al.*, 2016) was filled with 250 ml of seawater obtained from the Pacific Ocean coast of El Salvador (Xanadú, La Libertad). A floating SLS structure, consisting of floater, water-absorbing material (paper tissue) and finely ground light-absorbing material (see fig. 4) was placed on top of the water surface.

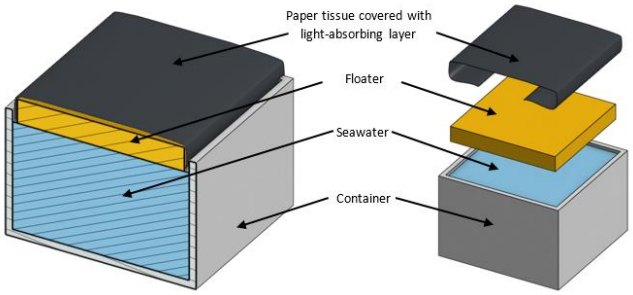


Figure 4. *Schematic view of evaporation cell used for evaporation experiments. Left: Section of evaporation cell with floating Sandwich Layer Structure (SLS). The SLS consists of a Polyurethane floater covered with water absorbing paper (gray). The top surface of the paper is covered with thin layers of light absorbing materials investigated in this study. Right: SLS side view. Water transport occurs by capillary action from the container to the SLS surface, wetting the light absorbing, evaporation enhancing material*

The top of the floating SLS, *i.e.* the wet light-absorbing material surface, was exposed to the light emitted by a 100W LED source (Unbranded, Luminous Intensity: 8000-9000lm, eBay), placed 12 cm above the evaporation surface. Mass losses of the water container were

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

measured with an OHAUS scale with 0.01 g precision (Fig. 5). Measurements of the surface temperature of the light-absorbing materials were performed a portable FLUKE 62 MAX infrared thermometer.

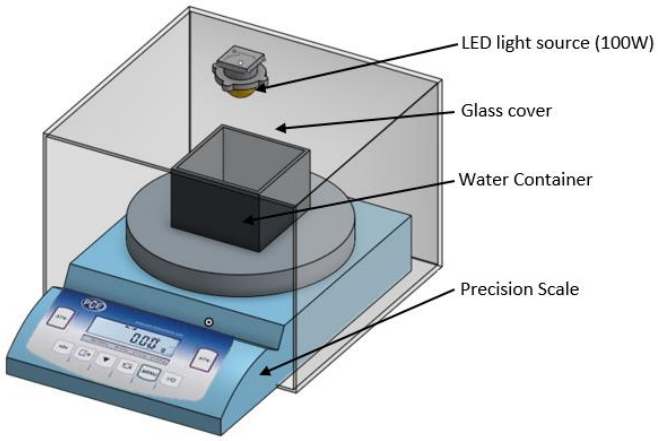


Figure 5. *Schematic view of experimental set-up for weight loss measurements. Seawater in the container is irradiated with a 100W LED source, causing evaporation and thus mass loss of the water container. The corresponding weight loss transients of the container are recorded with a precision scale. The setup includes a cover, designed to avoid illumination of the scale and to protect the evaporation surface from convective airflows generated by laboratory air conditioning system and the LED-cooling fan.*

The LED irradiation source used in the in situ experiments has an active cooling system, consisting of a heat sink blown by a fan. In order to avoid precision losses of the weight loss measurements the experiment was enclosed in a wind-insulating dark chamber with a glass-covered square opening on top. In order to avoid temperature gradients in the underling balance, the opening was positioned at the distance at allowed the light from the LED source to travel through the glass surface and illuminate solely the entire surface of the floating sandwich-structure top layer (Fig. 6).

All evaporation experiments were performed during a time period of one hour, during which weight loss and temperature were recorded at 5 minute intervals.

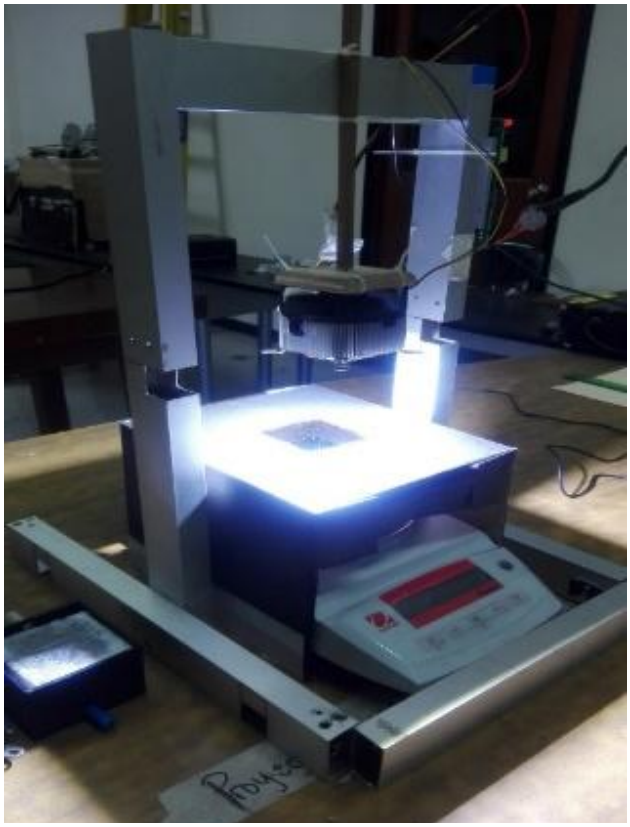


Figure 6. *Experiment of seawater evaporation, inside there is a 75x75x50mm container, Water is irradiated with a 100W LED light source. Weight loss induced by water evaporation and SLS surface temperature are measured at 5-minute intervals for a duration 1 hour.*

RESULTS AND DISCUSSION

Previous studies (Christoph, Hernández, Muñoz, & Ventura, 2016) have shown that the evaporation rate of light-exposed bare seawater surfaces (without SLS), measured under the prevailing temperature, pressure, humidity conditions and the radiation intensity described in the experimental section, are in the order of 0.126 $Kgm^{-2}h^{-1}$.

In a second set of experiments, performed under identical experimental conditions, of bare water impregnated SLS surfaces, i.e. without the presence of light-absorbing material layers, water mass loss due to evaporation was measured for different types of cellulose based water absorbing tissues (see Fig. 7)

The results of these experiments clearly show a SLS-induced increase of the water mass loss, even at absence of light absorbing material layers at the light exposed surface. This effect is

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

attributed to heat insulation of the floating structures, which losses to the underling water in the container. We also observe marked differences between the used paper types, i.e. commercial bond paper (Hammermill, Fore Multipurpose®) and paper towel tissues (Aurora®). Significantly higher evaporation was observed for the paper tissue, demonstrating the important role of fluid transport from the underlying water bulk to the SLS surface for obtaining optimized solar vapor generation efficiencies (Canbazoglu *et al.*, 2016), (Ito *et al.*, 2015).

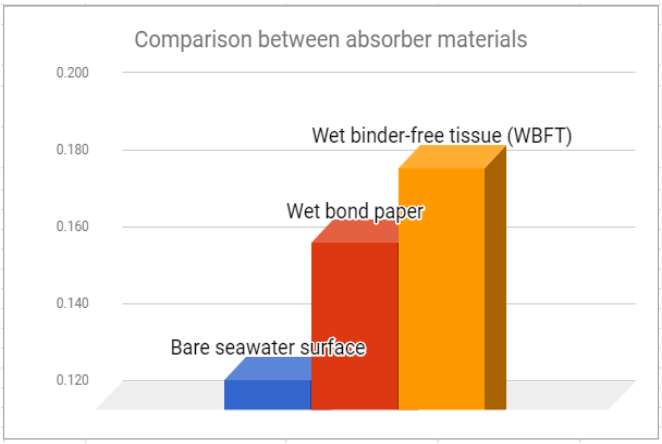


Figure 7. *Seawater evaporation mass losses (evaporation rates) expressed in evaporated water per square meter and hour, obtained, at same experimental conditions for a bare water surface (a), and at the surfaces two different water-absorbing materials of the SLS layer (b) and (c). The results show that the introduction of an isolated floating structure lead to a significant enhancement of water evaporation, due to the reduction of heated losses to the underlying water bulk. Different water evaporation rates observed for the dissimilar water absorbers also indicates the importance of fluid transport through capillary action from the bulk water in the container to the SLS surface*

A third set of in-situ experiments was performed with top SLS layer consisting of different light-absorbing materials, including graphite powders used in previous studies (Christoph *et al.*, 2016) and finely ground magnetic powder extracted from crushed igneous rocks and finely ground beach sand (Costa del Sol, El Salvador). Particle diameters of these materials, measured by optical microscopy, were in the order of 5-10 microns.

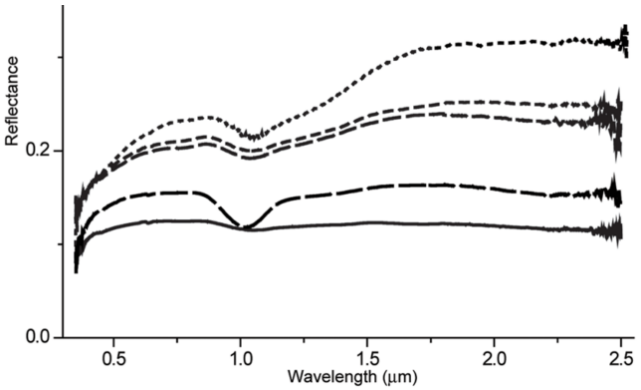


Figure 8. *Infrared reflection spectra of igneous rock powders with very similar bulk-rock compositions* (Carli, Serventi and Sgavetti, 2014)

The results for these experiments are depicted in Fig. 8. We report the following findings:

- Graphite layers enhance water evaporation by a factor of two to three, when compared to bare water surfaces. This findings is in good agreement with our previous studies (Christoph *et al.*, 2016).
- SLS top layers of igneous rock powder components increase water evaporation rates by 120%, when compared to the rates obtained with graphite powders. We attribute this effect to the broader IR absorption band of the used magnetic powder shown in Fig. 8.
- We observe good correlation between the measured evaporation rates and the corresponding surface temperature of the irradiated SLS surface. High surface temperatures translate to high evaporation rates. This observation is consistent with basic thermodynamic considerations, i.e. the fact that at increasing temperature larger numbers of water molecules have sufficient kinetic energy to overcome the attractive forces prevailing in the liquid phase. Other explanations of our observation with magnetic particles, such as the presence of localized hot spots induced by surface plasmons need further experimental confirmation.
- For the case of the magnetic particles, we

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

also observed that the time needed to reach the maximum temperature of the irradiated surface is markedly lower than for the case of graphitic materials.

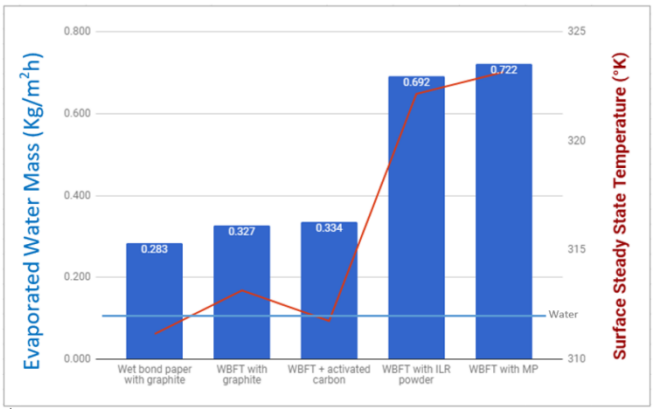


Figure 9. *Comparative graph of evaporation rates and maximum SLS surface temperatures obtained with different light absorbing SLS top layers. The data shows good correlation between the measured evaporation rate, and the maximum surface temperatures of the top layer achieved during 1 hour of irradiation.*

Fig. 10 shows the result of a fourth set of *in situ* experiments, where evaporation measurements were performed at different light concentrations, by varying the distances of the LED lamp relative to the SLS top surface. Comparative mass loss measurements were performed at lamp distances of 12 cm and 6 cm. Assuming that light intensity at half distance is approximately 4-fold, the corresponding mass loss increase should be at least the same, assuming that $\eta_{thermal}$ remains unchanged. Our results however show that at double light intensity the mass loss increases only by a factor of 2.0 (water and igneous rock powder components) and 2.7 for the case of graphite powder.

Results from other authors, obtained at irradiated plasmonic materials, including Au and Ag nanoparticles and graphene, report an increase of $\eta_{thermal}$with increasing light concentration, which is attributed to the presence of surface plasmons. Our results, obtained with micron sized powder grains do not indicate such finding, suggesting no plasmonic activity, and it remains to be confirmed whether nanoparticles of the igneous rock powder components used in our experiments would prove to show said effect.

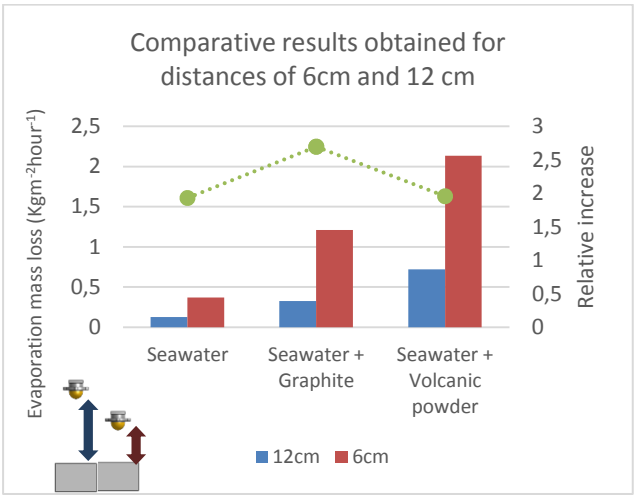


Figure 10. *Comparative results of water evaporation experiments, where mass loss rates were measured at different light intensities at uncovered seawater surfaces, and SLS surfaces with graphite and igneous rock powder components. The relative mass loss increase is highest for graphite, whilst igneous rock powder components show the largest mass loss rate was measured for igneous rock powder components.*

CONCLUSIONS

Light induced water evaporation can be significantly increased when using thermally insulated wet powder layers.

In situ experiments performed with floating SLS structures showed that igneous rock powder components doubles the light induced water mass loss measured at graphite powder surfaces, representing a fivefold increase of the corresponding values obtained for uncovered bulk water.

We did not observe enhanced with increasing light concentrations. We conclude that this might be due to the relatively large average particle sizes as well considerable fluctuation of their sizes and shapes. Additional experimental evidence is needed to support this assumption.

It must be underlined that the nature of the heat transfer between the nanoparticle and vapor/liquid phases of water at the nanoscale (i.e., diffusive or ballistic), the mechanism of vapor phase nucleation, their influence of pressure field on heat transfer, the growth kinetics of vapor phase, vapor-induced particle buoyancy, fluctuations of absorbed energy due to

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

formation of vapor phase and radiation between the phases are among the topics that needs to be explored to gain a better understanding of water evaporation at irradiated surfaces (Boriskina, Ghasemi and Chen, 2013).

As a next step, quantitative experiments will be performed under in vivo conditions. SLS enhanced solar distillers with light capturing areas in the order of square meter are planned to be placed in coastal regions of El Salvador and monitored via IoT technology (Villanueva, Bausells and Brugger, 2016).

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Institute for Science, Technology and Innovation of Francisco Gavidia University of El Salvador for supporting this work.

REFERENCES

1. Bae, K. *et al.* (2015) 'Flexible thin-film black gold membranes with ultrabroadband plasmonic nanofocusing for efficient solar vapour generation.', *Nature communications*. Nature Publishing Group, 6, p. 10103. doi: 10.1038/ncomms10103.
2. Bates, B. C. *et al.* (2008) *Climate Change and Water*, *Climate change and water*. doi: 10.1016/j.jmb.2010.08.039.
3. Boriskina, S. V., Ghasemi, H. and Chen, G. (2013) 'Plasmonic materials for energy : From physics to applications', *Materials Today*. Elsevier Ltd., 16(10), pp. 375–386. doi: 10.1016/j.mattod.2013.09.003.
4. Bourouni, K., Chaibi, M. T. and Tadrist, L. (2001) 'Water desalination by humidification and dehumidification of air: State of the art', *Desalination*, 137(1–3), pp. 167–176. doi: 10.1016/S0011-9164(01)00215-6.
5. Canbazoglu, F. M. *et al.* (2016) 'Enhanced solar evaporation of water from porous media, through capillary mediated forces and surface treatment', *AIP Advances*, 6(8), pp. 1–16. doi: 10.1063/1.4961945.
6. Carli, C., Serventi, G. and Sgavetti, M. (2014) 'VNIR spectral characteristics of terrestrial igneous effusive rocks: mineralogical composition and the influence of texture', *Geological Society, London, Special Publications*, 401, pp. 139–158. doi: 10.1144/SP401.19.
7. Chen, X. *et al.* (2016) 'Coalescence-Induced Jumping of Multiple Condensate Droplets on Hierarchical Superhydrophobic Surfaces', *Scientific Reports*. American Chemical Society, 6(1), p. 18649. doi: 10.1038/srep18649.
8. Christoph, R. *et al.* (2016) 'Estudios de materiales grafíticos comunes como aceleradores de evaporación de agua bajo irradiación luminosa', *Boletín Nanotecnia*, September. Available at: http://nanotecnialab.ufg.edu.sv/frm/newsletters/Nanoboletin_Septiembre-2016.pdf (Accessed: 16 November 2017).
9. Datt, P. (2011) 'Latent Heat of Vaporization/Condensation', in. Springer Netherlands, pp. 703–703. doi: 10.1007/978-90-481-2642-2_327.
10. Dsilva Winfred Rufuss, D. *et al.* (2016) 'Solar stills: A comprehensive review of designs, performance and material advances', *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 63, pp. 464–496. doi: 10.1016/j.rser.2016.05.068.
11. Fath, H. E. S. (1998) 'Solar distillation: a promising alternative for water provision with free energy, simple technology and a clean environment', *Desalination*. Elsevier, 116(1), pp. 45–56. doi: 10.1016/S0011-9164(98)00056-3.
12. Ferrario, Ga. (2007) *Al-Kimiya: Notes on Arabic Alchemy*. Available at: https://www.chemheritage.org/distillations/magazine/al-kimiya-notes-on-arabic-alchemy (Accessed: 5 October 2017).
13. Gleick, P. H. (1993) *Water in crisis a guide to the world's fresh water resources*, *Water in crisis a guide to the world's fresh water resources*. Oxford University Press. doi: 10.2307/2623756.
14. Haddeland, I. *et al.* (2014) 'Global water resources affected by human interventions and climate change (SI)', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(9), pp. 3251–3256. doi: 10.1073/pnas.1222475110.
15. Idaho National Laboratory (2006) *The Future of Geothermal Energy*, *The Future of Geothermal Energy*. Available at: http://www.eere.energy.gov/geothermal/pdfs/structure_outcome.pdf.
16. Ito, Y. *et al.* (2015) 'Multifunctional Porous

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Graphene for High-Efficiency Steam Generation by Heat Localization', *Advanced Materials*, 27(29), pp. 4302–4307. doi: 10.1002/adma.201501832.
17. Kalogirou, S. A. (2005) 'Seawater desalination using renewable energy sources', *Progress in Energy and Combustion Science*, 31(3), pp. 242–281. doi: 10.1016/j.pecs.2005.03.001.
18. McClean-Ilten, É. and Zerulla, D. (2016) 'Nanoscale Tailored Plasmonic Material for Optimum Broadband Solar Harvesting', *Advanced Optical Materials*, 4(3), pp. 413–418. doi: 10.1002/adom.201500513.
19. Morciano, M. *et al.* (2017) 'Efficient steam generation by inexpensive narrow gap evaporation device for solar applications', *Scientific Reports*, (February), pp. 1–9. doi: 10.1038/s41598-017-12152-6.
20. Muñoz, R. *et al.* (2016) 'Prototipado rápido de componentes para sistema de estudio de desalinización solar mejorada', *Nanotecnia: Boletín Mensulal Divulgativo*, (Octubre). Available at: http://nanotecnialab.ufg.edu.sv/frm/newsletters/Nanoboletin_Octubre-2016.pdf (Accessed: 16 November 2017).
21. *NASA Climate Change Webpage (2017)* (no date). Available at: https://climate.nasa.gov/.
22. Neumann, O. *et al.* (2013) 'Solar vapor generation enabled by nanoparticles', *ACS Nano*, 7(1), pp. 42–49. doi: 10.1021/nn304948h.
23. Ni, G. *et al.* (2016) 'Steam generation under one sun enabled by a floating structure with thermal concentration', *Nature Energy*, 1(9), p. 16126. doi: 10.1038/nenergy.2016.126.
24. Nikita Aigner (2011) *Bacterial cellulose : not just a lightweight food , but also a fascinating scaffolding material*. Universität für Bodenkultur, Wien.
25. Roco, M. C., Mirkin, C. A. and Hersam, M. C. (2010) 'Nanotechnology research directions for societal needs in 2020 – Retrospective and Outlook', *WTEC-World Technology Evaluation Center*, pp. 476–477. doi: 10.1007/978-94-007-1168-6.
26. Ross, W. D., LL.D. and Smith, J. A. (1931) *Aristotele's METEOROLOGICA translated*.
27. S. P. Chaurasia, Sushant Upadhyaya, K. S. *et al.* (2011) 'Seawater Desalination: Trends and Technologies', *Desalation, Trends and Technologies*, 50(Md), p. 334. doi: 10.5772/60142.
28. Service, R. F. (2006) 'Desalination Freshens Up', *Science*. American Association for the Advancement of Science, 313(5790), pp. 1088–1090. doi: 10.1126/science.313.5790.1088.
29. Shannon, M. A. *et al.* (2008) 'Science and technology for water purification in the coming decades', *Nature*, 452(7185), pp. 301–310. doi: 10.1038/nature06599.
30. Sivakumar, V. and Ganapathy Sundaram, E. (2013) 'Improvement techniques of solar still efficiency: A review', *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Elsevier, 28(July), pp. 246–264. doi: 10.1016/j.rser.2013.07.037.
31. Supply, F. *et al.* (2011) 'GEMI Water Sustainability Tool'. Available at: http://gemi.org/water/watertrends.htm (Accessed: 5 October 2017).
32. UN-WWAP (2015) *The United Nations World Water Development Report 2015: Water for a Sustainable World*. doi: 978-92-3-100071-3.
33. UNESCO (2012) *World Water Development Report Volume 4: Managing Water under Uncertainty and Risk*, *UN Water Report*. doi: 10.1608/FRJ-3.1.2.
34. Villanueva, L. G., Bausells, J. and Brugger, J. (2016) 'Grand Challenge in N/MEMS', *Frontiers in Mechanical Engineering*, 1(JANUARY). doi: 10.3389/fmech.2015.00015.
35. Yoon, D. *et al.* (2012) 'Enhanced condensation, agglomeration, and rejection of water vapor by superhydrophobic aligned multiwalled carbon nanotube membranes', *ACS Nano*, 6(7), pp. 5980–5987. doi: 10.1021/nn3008756.
36. Zhou, Y. and Tol, R. S. J. (2005) 'Evaluating the costs of desalination and water transport', *Water Resources Research*, 41(3), pp. 1–10. doi: 10.1029/2004WR003749.
37. Zotalis, K. *et al.* (2014) 'Desalination technologies: Hellenic experience', *Water (Switzerland)*, 6(5), pp. 1134–1150. doi: 10.3390/w6051134.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

CARACTERIZAÇÃO EXPERIMENTAL E COMPUTACIONAL DE NANOPARTICULAS DE PRATA UTILIZANDO MATICO (*Piper Aduncum*) EXTRAÇÃO DE FOLHAS COMO AGENTE REDUZIDO

EXPERIMENTAL AND COMPUTATIONAL CHARACTERIZATION OF SILVER NANOPARTICLES USING MATICO *(Piper aduncum)* LEAVES EXTRACT AS REDUCING AGENT

SANTORUM, Nathaly[1]; FABARA, Andrea[2]; PILAQUINGA, Fernanda[1,3]; AMPUDIA, Santiago[1];JARA, Eliza[1];MENESES, Lorena[2]*

[1] Laboratory of Nanotechnology, Pontifical Catholic University of Ecuador, 12 de octubre 1076 Avenue, zip code 170525, Quito-Ecuador. (Phone: +593 2 991700)

[2]Laboratory of Computational Chemistry, Pontifical Catholic University of Ecuador, 12 de octubre 1076 Avenue, zip code 170525, Quito-Ecuador. (Phone: +593 2 991700)

[3]InstituteofMaterials Science of Sevilla, University of Sevilla, Prof. García González Street, zip code 41012, Sevilla - Spain. (Phone: +34 954559765)

**Corresponding author email:* lmmeneses@puce.edu.ec

Received 05 December 2017; received in revised form 14 December 2017; accepted 20 December 2017

RESUMO

As nanopartículas de prata são reconhecidas para inúmeras aplicações físicas, biológicas e farmacêuticas. Neste estudo, as nanopartículas de prata foram sintetizadas com êxito pelo método de redução alternativa de química verde, usando extrato de folhas Matico (*Piper aduncum*). A caracterização foi realizada através da Espectroscopia Ultravioleta / Visível para estimar o tamanho da partícula; A morfologia e a composição elementar foram detectadas por microscopia eletrônica de varredura. O raio estimado foi medido por ScanningTransmissionElectronMicroscopy. A interação entre o extracto de folhas Matico com nanopartículas para determinar possíveis ingredientes ativos de redução foi monitorada por espectroscopia de infravermelho. O rendimento da reação foi determinado pela Espectroscopia de Absorção Atômica de Chama. A interação de clusters de nanopartículas de prata (3, 5 e 6 átomos) com quercetina (uma molécula ativa das folhas maticas) foi estudada usando DensityFunctionalTheoryand Molecular Dynamics por Gaussian09 e Abalone. O tamanho de partícula foi 13,58±6,25nm. Verificou-se que as nanopartículas são quase esféricas com 7,2% de prata elementar e um rendimento de reação de 96,68%. O cluster de 6 átomos de prata com quercetina demonstrou ser o complexo mais estável. As nanopartículas de prata sintetizadas apresentam estabilidade superior a 120 dias, confirmando que o extrato de folhas Matico é um agente redutor viável e verde. As nanopartículas de prata teriam propriedades de depuração muito boas porque a dinâmica molecular demonstrou que, ao longo de um certo período de tempo, o conjunto de prata ficou longe da quercetina.

Palavras-chave*: nanopartículas de prata, Piper aduncum, interação computacional, quercetina.*

ABSTRACT

Silver nanoparticles are recognized for numerous physical, biological and pharmaceutical applications. In this study, silver nanoparticles were successfully synthesized by green chemistry alternative reduction method, using Matico (*Piper aduncum*) leaves extract. The characterization was performed through Ultraviolet/VisibleSpectroscopy to estimatethe particle size; morphology and elemental composition were detected by Scanning Electron Microscopy. Estimated radius was measured by Scanning Transmission Electron Microscopy. The interaction between Matico leaves extract with nanoparticles to determine potential reducing active ingredients was monitored by InfraredSpectroscopy. The reaction yield was determined by Flame Atomic Absorption Spectroscopy. The interaction of clusters of silver nanoparticles (3, 5 and 6 atoms) with quercetin (an active molecule of the Matico leaves), was studiedusing Density Functional Theory and

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Molecular Dynamics by Gaussian09 and Abalone programs. The particle size was 13.58±6.25nm. It was found that the nanoparticles are quasi-spherical with 7.2 % of elemental silver and a reaction yield of 96.68 %. The cluster of 6 silver atoms with quercetin was proven to be the most stable complex. Synthesized silver nanoparticles display stability greater than 120 days, confirming that Matico leaves extract is a viable and green reducing agent.Silver nanoparticles would have very good clearance properties because molecular dynamics demonstrated that over a certain period of time, the silver cluster got far away from the quercetin.

Keywords*: Silver nanoparticles, Piper aduncum, computational interaction, quercetin.*

INTRODUCTION

Bionanoscience is a growing field that searches to establish enough knowledge about biomimicry processes to solve medical, biotechnological and pharmaceutical issues (Flores, 2014).

Silver nanoparticles (AgNPs) have unique optical, electrical and thermal properties. The present applications range from photovoltaics to biological and chemical sensors. Silver nanoparticles also present biological applications such as molecular diagnostics and photonic devices, and nanomedicinein drug delivery, imaging diagnostics and biosensing (Rongzhong *et.al.*, 2013)

The AgNPs generate large interest in biomedical applications, due to their bactericide activity produced by the ease of entering in the cell membrane and different interactions with cellular organisms (Cruz, 2012). Early studies evidence wound healing acceleration in silver nanoparticles presence owing to inflammation decreasing effect, attributed to metalloproteinase (MMP) local activity reduction (Prabhu and Poulose, 2012).

However, it is important to study and have a good insight of the possible consequences of the use of AgNPs. Nanoparticles are being daily used, yet a concern raises due to the fact that their toxicitycan put human health at risk (Lewinski *et.al.*, 2008).Thus, to develop new nanoparticles and continue their use and development more studies and evaluation have to be done. One of the possibilities to do so is the investigation of silver nanoparticles through quantum mechanics calculations.

AgNPs traditional synthesis methods were based on the Creigthon principle proposal, using as metallic precursor silver nitrate ($AgNO_3$) solution and sodium borohydride ($NaBH_4$) as reducing agent (Shakeel *et al.* 2016).

Some authors have been exploring alternative ways to obtain AgNPs, achieving biological conditions that reduce costs and wastes, suppress toxic reagents and allow for customizing particles shape and size. Among the synthesis candidates, plants, fungus and bacteria could be used (Prabhu and Poulose, 2012).

Matico (*Piper aduncum*) ,is a perennial specie from the Andean region of Equator, located between 3000 and 3700 meters above sea level. It owns wound healing, anti-inflamatory and antibacterial properties, attributed to active principles present in its leaves and branches. Essential oils have been identified, tannic acid, resins, tannins, alkaloids, saponins, flavonoids, terpenoids and bitter substances like maticin. The main wound healing component is proanthocyanidin, a tannin with a concentration of 5.7% in leaves (Sanín, 2015).

Quercetin, one of the principal components of this plantwas chosen to interact with the silver clusters, because in a previous study, coated silver nanoparticles with *P. aduncum* presented extraordinary healing properties (Santorum, 2017).

The goal of this paper is to analyze the viability of application of Matico (*P. aduncum*) leaves extract as reducing agent to synthesize silver spherical nanoparticles, then characterize them by experimental methods and computationall yestablish quantitative structure-activity between the interactions of silver nanoparticles with biological molecules as quercetin in order to compare and prove the healing properties of the silver nanoparticles covered with quercetin.

MATERIALS AND METHODS

2.1. Matico (*P. aduncum*) leaves extract

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

preparation

Matico leaves were collected in Carapungo area, Pichincha-Ecuador. Different solvent concentrations were tested using water and ethanol mixes, with 25, 50 and 75 water percentage to establish the optimum extract solvent.

Extract concoction was based on the procedures proposed by Hurtado (2015). The sample was washed, dried and triturated in order to weigh 1 g and added to an Erlenmeyer flask. 20 mL of different solvent mixes were pouredinto the reaction container, stirring at 3000 rpm for 30 minutes. The final solution was vacuum filtered, stored in amber flask and refrigerated for further analyses.

2.2. Silver Nanoparticlessynthesis (AgNPs - *P. aduncum*)

The nanoparticles metallic precursor was silver nitrate ($AgNO_3$) reagent grade (Scharlau, 99.8% pure), preparing 1 mM solution and Matico (*P. aduncum*) leaves extract as reducing agent.

In order to optimize the synthesis method, parameters were modified, considering extract amount, temperature, pH, reaction time and metallic precursor concentration. Sodium hydroxide (NaOH) was used as pH buffer.

Erlenmeyer flask with 20 mL of $AgNO_3$ 1 mM solution was heated at 60°C, 0.5 mL of Matico extract and 0.5 mL of NaOH were incorporated into the reaction flask. Agitation and heat were maintained for 20 min. Final nanoparticles solution was preserved in amber flask and placed in refrigerator for further analyses.

2.3. Silver nanoparticles characterization

AgNPs formation were monitored with an UV-Vis Spectrophotometer (Agilent Technologies, Cary 60 model), with 10 nm intervals at the 350 to 800 nm range. Nanoparticles colloidal solution consists of a 10% dilution in distilled water.

In order to evaluate interactions between AgNPs and reducing agent active principles, a Perkin Elmer, BX FTIR model, Infrared Spectrophotometer with Attenuated Total Reflectance coupling (FTIR-ATR) was used. Hydro-ethanolic extract 50% with AgNPs was scrutinized after 50 °C drying treatment, obtaining characteristic spectra.

AgNPs size analysis was performed with a Scanning Transmission Electron Microscope (STEM), Tescan Mira 3 model, using nanoparticles in aqueous solution. The morphology and elemental analysis was carried out by a Scanning Transmission Electron Microscope with an Energy Dispersive X Ray (SEM-EDX) Phenom ProX with a voltage of 10 kV. For this, the nanoparticles were dried at 70 °C in a heating plate.

Silver concentration in synthesized nanoparticles was achieved through a Perkin Elmer Flame Atomic Absorption Spectrophotometer (FAAS), AAnalyst 400 model, equipped with a silver hollow cathode lamp and air-acetylene flame. Results were processed using WinLab 32 software.

2.3. Computational characterization

The geometry optimization of the silver cluster was carried out at the B3LYP/LANL2DZ level of theory and quercetin geometry at the B3LYP/6-311G level of theory, implemented in the Gaussian 09W package of programs (Frisch, et.al., 2009). A computational modeling of silver clusters with the biological molecules was analyzed. The lower energy conformations were identified; also a study of the MO theory describing HOMO interactions of clusters were carried out and molecular dynamics using the Abalone program was performed to see how molecules interact for a given period of time (Abalone, 2006).

RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Matico leaves extract preparation

Extracts prepared with 100% water, 100% ethanol and water/ethanol 75% were discarded due to interferences with characteristic wavelength (417 nm) for AgNPs during UV-Vis size monitoring.

Hydro-ethanolic extracts of 50 and 25% showed an absorption peak between 600-700 nm, confirming no interferences with AgNPs formation peak. Afterwards, both hydroethanolic extract were applied as reducing agents in

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

nanoparticle synthesis; however, 50% mixture was selected as the more suitable extract since AgNPs formation displayed a narrow and symmetric superficial plasmon resonance peak, as well as better absorbance.

3.2. AgNPs - *P. aduncum synthesis*

Contemplating the referential values proposed by Patel *et al* (2015) to synthesize silver nanoparticles, optimization of synthesis parameters is presented in Table 1.

Table1. *Synthesisoptimizationparameters*

P. Aduncum **Extract (mL)**	**T (°C)**	**pH**	**t (min)**	**[$AgNO_3$] (mM)**
0.5	45	5	10	0.1
1.0	50	6	15	0.5
1.5	55	7	20	1.0
2.0	60	8	25	5.0
2.5	65	9	30	10.0

The first parameter optimization was *P. aduncum* extract volume, in order to evaluate reducing agent performance, maintaining pH. Resultant colloidal solution presented an orange-yellowish brilliant appearance, containing AgNPs confirmed by UV-Vis analysis; notwithstanding, absorbance variations were detected after less than 24 hours of preparation, evidencing low nanoparticle stability.

During method optimization, successful AgNPs - *P. aduncum* in suspension were obtained, indicating a clear coloration change in the reaction process. The final color was a transparent brown-amber (Figure 1), which confirm the results presented in several studies (Fletes and Rosas, 2015). Coloration and absorbance solidness was manifested over 120 days.

Figure 1.*Stable AgNPs - P. aduncum*

Synthesis conditions allow over seeing nanoparticles size, morphology, stability and aggregation. In this sense, extract amount, $AgNO_3$ concentration, temperature, reaction time and pH were monitored as described by Camacho and Deschamps (2016).

Table 2 presents the optimum synthesis conditions to obtain AgNPs - *P. aduncum* at lower wavelength, getting a narrow and symmetric peak with high concentration manifested by its absorbance, corroborating extended stability in all executed reruns.

Table1.*Ideal experimental synthesis conditions*

Parameter	**Optimal conditions**
Extract amount (mL)	0.5
Temperature (°C)	60
pH	9
Time (min)	20
[$AgNO_3$] (mM)	0.1

UV-Vis spectroscopy analyses disclosed AgNPs - *P. aduncum* arrangement through a characteristic peak around 400 nm (Figure 2), which settled nanoparticle size range between 14-35 nm according to Pradeep (2012).

At first glance, preliminary variations of synthesis parameters were depleted which were monitored by UV-Vis spectroscopy. A key factor in size and shape discern was superficial plasmon band position and profile, that exhibit UV-Vis spectra on behalf of interactions among free charge carriers and low frequency electromagnetic radiation (Rodriguez *et al*, 2012), bringing forth size changes as greater wavelength shifts (Ronquillo *et al*, 2011).

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

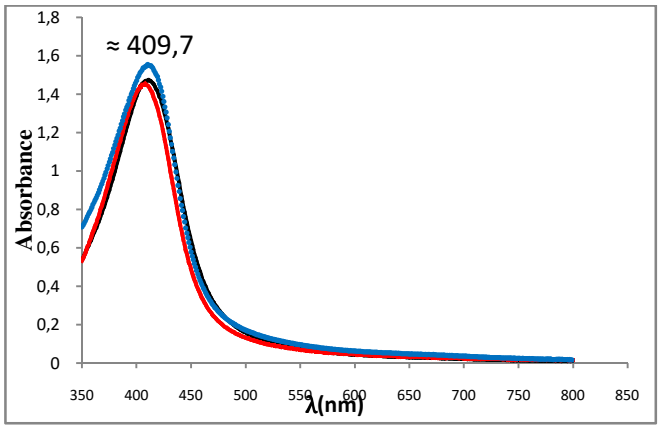


Figure 2.*UV-Vis spectra of optimum AgNPs -P. aduncum synthesis*

3.3. Silver nanoparticles characterization

It was presumed spherical or quasi-spherical AgNPs, due to a unique superficial plasmon resonance band, since anisotropic behavior state two or more resonance bands pursuant to nanoparticles shape (Fletes and Rosas, 2015; Camacho and Deschamps, 2016).

To settle approximate size range, results were contrasted against Pradeep (2012) reported values, demonstrating size range within 14-35 nm. Nanoparticles size will be greater according to absorbance peak shifts to higher wavelength (Aguilar, 2009).

Results were also opposed against Shanmuga *et al* (2014) data; where employing Betle (*Piper betle*) leaves extract generate nanoparticles greater than 80 nm in size, presenting a maximum absorbance peak at 444 nm.

AgNPs synthesized using black pepper (*Piper nigrum*) grains extract as reducing agent, form nanoparticles around 80 nm with a superficial plasmon resonance peak at 441 nm (Krishnan *et al.*, 2016).

AgNPs - *P. aduncum* displayed a lower range size compared with the results previously cited, attributed to the improvement in synthesis conditions, specially the hydro-ethanolic extract matrix.

Afterwards, Scanning Transmission Electron Microscopy (STEM) was utilized to settle synthesized AgNPs size and shape. The panoramic perspective established some isolated aggregation in nanoparticles distribution; withal, some regions presented enough dispersion to be examined thoroughly (Figure 3).

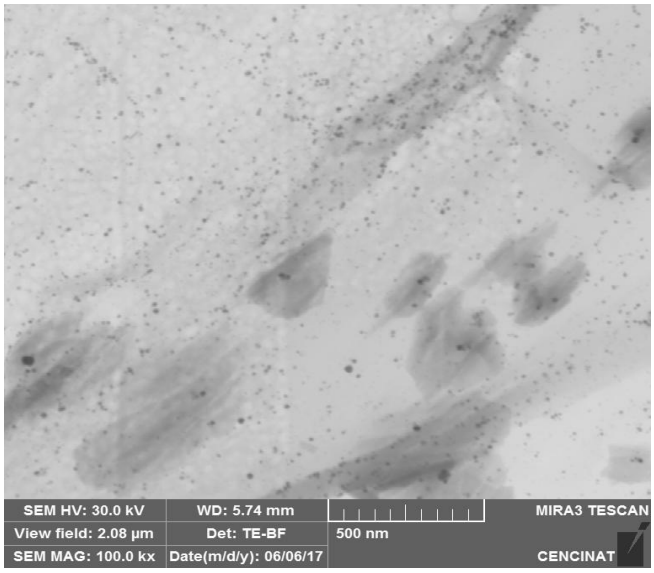


Figure 3.*Panoramic micrograph AgNPs - P. aduncum dispersion solution (100.0 kX)*

The average shape of AgNPs - *P. aduncum* is 13.58 ± 6.25nm, according to Figure 4.Aggregation could be attributed to active principles remains and AgNPs interface, thus is necessary to elucidate aggregation variables.

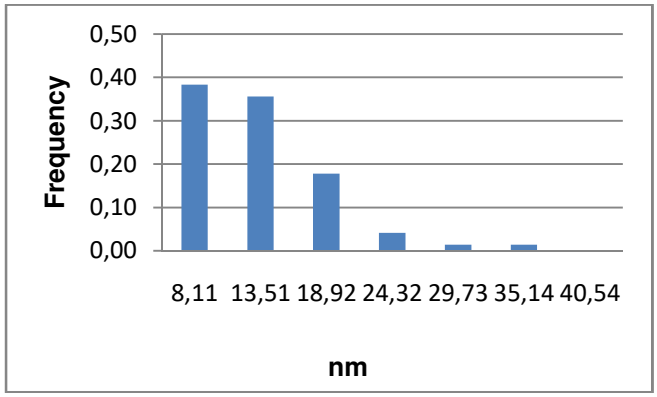


Figure 4. *Histogram of average shape of AgNPs - P. aduncum*

Disperse nanoparticles corroborate reducing and stabilizing influence from Matico (*P. aduncum*) hydro-ethanolic extract.

Closer and detailed overlook of AgNPs grant to estimate nanoparticle size around 20 nm, mainly poly-disperse and some isolated aggregation layout. Nanoparticles shape corroborates UV-Vis data, suggesting quasi-

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

spherical morphology (Figure 5).

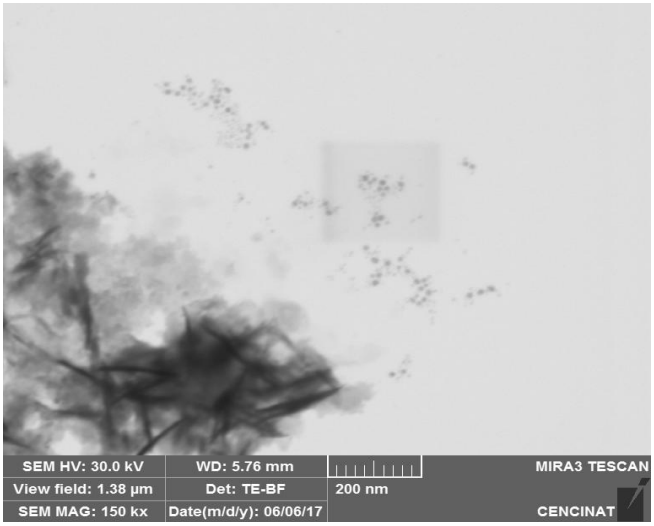


Figure 5.*Isolated poly-disperse silver nanoparticles STEM micrograph (150kX)*

Nanoparticles surface was analyzed by Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDX). Figure 6 shows the three characteristic peaks of the silver under the 4kV, the rest of the elements come from the other organic phyto extract.

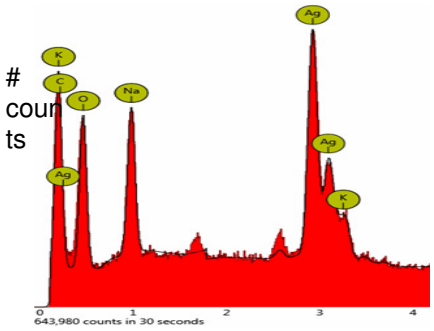


Figure 6.*Nanoparticles surface composition spectra via EDX analysis. Insert: elemental detailed information (%)*

AgNPs - *P. aduncum* contained 7.2% of silver due to organic residue covering. Carbon (39.2%) and oxygen (43.6%) percentage were allocated to extract organic nature, as well as minor potassium quantity (0.7%). Sodium concentration (9.3%) correspond to NaOH pH buffer activity.

Nanoparticles surface bonding chemical species determination, likewise interactions with Matico extract, were performed by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR). AgNPs (a), Matico extract (b) and silver nitrate (c) FT-IR spectra were compared to correlate band behavior (Figure 7 at the end of this manuscript).

Silver nanoparticles reported low intensity band located at 2941.63 cm^{-1}, attributed to C-H bond torsion; another mid intensity band at 1574.11 cm^{-1} due to C=O bond tension; and minor intensity band at 1360.10 cm^{-1}, attributable to N-H bond torsion (Figure 7.a). Nitrogen interaction bands overlapping from Matico extract spectra evince secondary amines or primary amides involvement during reduction route.

The main reducing functional groups from Matico extract correspond to acetic, mevalonic and shikimic acids due to carbonyl groups structure (Albarracin and Gallo, 2003).

Reviewing Mallikarjuna *et al*. (2012) work, AgNPs synthesized with Betle (*Piper betle*) leaves extract, characterized by FT-IR, found bands at 2920, 1640 and 1378 cm^{-1} as the ones obtained when *Piper aduncum* was employed as reducing agent.

In another study, when black pepper (*Piper nigrum*) grains were used, FT-IR bands appeared at 1631 and 3433 cm^{-1} (Garg, 2012). In this case, some differences were elucidated due to the components available in Matico extract being from the leaves.

Silver concentration in nanoparticles, as well as synthesis yield was determined by Flame Atomic Absorption Spectroscopy (FAAS). Colloidal silver concentration, 98.01 mg/L silver nitrate solution was used as reference. Final silver presence as experimental value was 101.744 mg/L with a yield of 96.68%.

To define linearity, a calibration curve was constructed, with R^2= 0.9997; the limit of detection (LOD) was 0.006 and the limit of quantification (LOQ) was 0,021. Fortifications were required to ascertain average recovery percentage for 1.000 and 4.000 mg/L, reaching 100.61 and 98.07% respectively, with a standard deviation of 0.679 and 1.252 in each case.

In order to analyze the interaction between silver nanoparticles and the biomolecules present in the Maticoleaves, a computational modeling was carried out in order to establish the relationship between the structure and the activity of these molecules. A model

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

based on few atoms was used to fulfill this purpose, due to the computational expense of modeling particles containing 50 or more silver atoms.

The interactions between quercetin and clusters of 3, 5 and 6 silver atoms were studied (Figure 8). The main interaction between the silver clusters and the biological molecule is in the oxygen area, mainly in the carbonyl group. The geometries are those with the lowest energy interactions. This demonstrates that the silver nanoparticles interact with the oxygen atoms, due to their high electronegativity, and in this way, they are covered by the quercetin molecules.

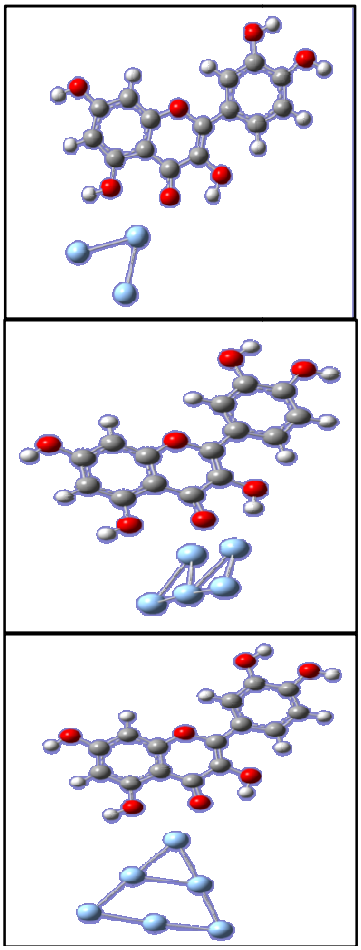


Figure 8.*Interactionbetweenquercetinandthe clusters of 3, 5 and 6 silver atoms*

In previous works, it was found that the main interaction was through the carboxylic acid of the lipids and the silver cluster(Landeros-Martinez*et.al.*, 2015). On the other hand, the interaction between biological molecules and silver clusters was through the hydroxyl groups as compared with the study between PVA and Ag55 nanocrystals (Chou *et.al.*, 2014).

From the calculated interaction energies, it has been determined that the cluster with 6 silver atoms has the lowest energy and therefore could be considered the most stable.

In addition, a study of Molecular Orbital (MO)describing Highest Occupied Molecular Orbital (HOMO) interactions between the cluster and quercetin was carried out. Figure 9 illustrates the spatial and energetic properties of electrons to form orbitals. Frontier molecular orbitals have valence electrons between atoms. The shapes of the molecular orbitals showed that in the quercetin, energies are surrounded within the entire molecule (Figure 9a). However, once the silver cluster was added, the energies of molecular orbital changed and it was then located within the cluster of 6 silver atoms (b).

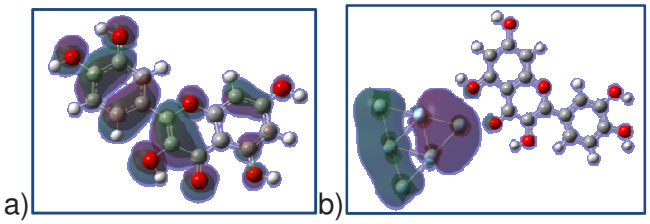


Figure 9.*Interactionof HOMO surfaces between quercetin (a)and the cluster of 6 silver atoms.*

Molecular dynamics is a powerful tool in molecular modeling because it gives the opportunity to follow and understand the structure and dynamics of molecules (Lindahl, 2008). Thus, Abalone program was used to simulate the natural motion of biological macromolecules, and contributed to conduct the simulations of molecular dynamics, in order to determine the interactions of biological molecules and the silver clusters for a fixed period of time: 5 and 20 ps.

The molecules were allowed to move giving a view of the dynamical evolution of the system. With different times, distances increased between the cluster and the biological molecule as indicated in Figure 10, where it is showed that the cluster did not only move far away from 2-3Å until 39.65-39.53 Å, but it also moved under the biological molecule: quercetin. This meant that the cluster was moving away, (while the distances kept increasing).

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

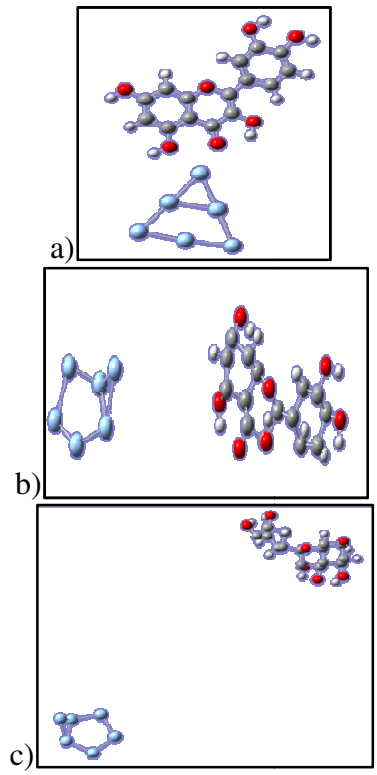


Figure10. *Molecular dynamics performed at 298,15 K. Measured distances are from the carbonyl group to the first atom of the silver cluster. Quercetin and the 6 silver cluster. No molecular dynamics*2.64-2.41 Å (a)*, 5ps*9.29-10.78 Å*(b) and 20ps*39.65-39.53 Å (c)

The results illustrate that for biological molecules the cluster stay near to 5 ps which is important in the case of introducing the coated nanoparticle in an organism because the complex has to stay stable for a minimal period of time. However, at 20 ps the cluster moves far away from the biological molecules. This is really interesting because the intention is that once the coated molecule is introduced in the organism, the complex would be separated and it would be liminated in a very easy manner with optimal clearance characteristics.

CONCLUSIONS

Silver nanoparticles were synthesized using hydro-ethanolic Matico (*P. aduncum*) extract 50% as reducing agent. This method was framed as an alternative method to obtain AgNPs in a fast, easy, economic and green chemistry alternative.

Characterization with UV-Vis spectroscopy manifested a maximum absorption peak around 409.7 nm, defining nanoparticles size range among 14-35 nm.STEM analyses validated prior size range, estimating AgNPs size was 13.58±6.25nm. Quasi-spherical, polydisperse nanoparticles with isolated aggregations were synthesized.EDX characterization determined 7.2% elemental silver, demonstrating interaction and covering up of organic extract. Additional FAAS evaluation was required to calculate colloidal silver concentration of 105.239 mg/L and a 96.68% yield. FT-IR assay, elucidated presence or band shift at 1574.11 cm^{-1}, originating that reducing candidates from Matico could be acetic, mevalonic and shikimic acids.

The lower energies conformations were identified and the cluster of 6 silver atoms with quercetin was the most stable complex. The study of MO describing HOMO interactions of clusters contributed to find that the electronic density was around the silver cluster. Finally, molecular dynamics was performed using Abalone program to observe how silver clusters interact with biological molecules for a given period of time, 5 and 20 ps. Molecular dynamics showed that over a certain period of time the silver cluster moved far away from the biological molecule. This meant that the coated silver nanoparticles could have very good clearance properties. In future experimental work it would be interesting to do a full characterization of the coated silver nanoparticles and studies of cytotoxicity attempts for future applications.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by project PUCE N13438 (2016-2017). Thanks to Dr. Alexis Debut from CENCINAT-ESPE for the STEM analysis.

REFERENCES

1. Agilemolecule.; *ABALONE II; Program for Molecular Dinamics*; Stockholm, Sweden, 2006.
2. Aguilar, M.; *PhD thesis,* Instituto Politécnico Nacional, México. **2009**.
3. Albarracín, G.; Gallo, S; *M. Sc.thesis*,Universidad Nacional de Colombia, Colombia,**2003**.
4. Camacho, J., Deschamps, L.;*M. Sc.thesis*Universidad de Cartagena, Colombia,**2016.**

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

5. Chou, H.; Wu, C.;Lin, F.; Rick, J.; *AIP Adv,* **2014**,4, 087111.
6. Cruz, J.;*M. Sc. thesis*, Universidad Industrial de Santander, Colombia,**2012**.
7. Fletes, N.; Rosas, G.; Abstracts, *XII encuentro de participación de la mujer en la ciencia,Mexico*,**2015**.
8. Flores, C.; *PhD thesis*, Universidad Nacional de la Plata, Argentina,**2014**.
9. Frisch, M.J. *et.al*.; Gaussian 09Revision A.02. Wallingford CT.: Gaussian, Inc., **2009**.
10. Garg, S.; *Int. J. Innov. Biol. Chem. Sci.***2012**, 3, 5.
11. Hurtado, M.;*B. Sc.,thesis*, Universidad de lasFuerzas Armadas ESPE, Ecuador. **2015**.
12. Krishnan, V.; Bupesh, G.; Manikandan, E.; Thanigai, A.; Magesh, S.; Kalyanaraman, R.; Maaza, M.;*J. Antimicrobial Agents*, **2016**, 2, 1.
13. Landeros, L.; Orrantia, E.; Flores, N.;*Org. Chem. Curr. Res,***2015**, 4, 153.
14. Lewinski, N.; Colvin, V.; Drezek, R.; *Small,* **2008**, 4, 26.
15. Lindahl, E.; *Mol. Biol,.***2008**, 443, 3.
16. Mllikarjuma, K.; Dillip, G.; Narasimba, G.; Sushma, N.; Prasad, B.*; Research J. of Nanotech.***2012**, 2, 17.
17. Patel, J.; Panchal, U.; Panchal, M.; Maykawana, B.; *J. Ad. Chem. Sci.***2015**, 1, 82.
18. Prabhu, S.; Poulose, E.;*Int. Nano Lett.,* **2012**, 2, 32.
19. Pradeep, T.; *A Textbook of Nanoscience and Nanotechnology*, 1st ed., McGraw Hill: Nueva Deli, **2012**.
20. Rodríguez, M.; López, J.; Herrera, V.; Orive, A.; Creus, A.;*UAEM Rdalic.Org.***2012**, 3, 67.
21. Rongzhong, L.; Ran, C.; Pengyu, C.; Yimei, W.; PuChun, K. Cho, S.;*J. Phys. Chem. B*, **2013**,117, 13451.
22. Ronquillo, E.; Aguilar, M.; Guzmán, J., San Martín, E.; Abstracts, *XXXII Encuentro Nacional y 1er Congreso Internacional AMIDIQ*. México. **2011.**
23. Sanín, F.; *B. Sc. thesis*, Universidad de Guayaquil, Ecuador. **2015.**
24. Santorum Y.;Ampudia S.;Pilaquinga F.;*B. Sc.thesis,*PontificiaUniversidad Católica delEcuador, Ecuador. **2017**.
25. Shakeel A.;Mudasir A.;BabuLal, S.;Saiqa, I.;*J. Adv. Res.***2016**,7, 17.
26. Shanmuga, P.; Jeyasundari, J.; Brightson, *A*.; *Eur. Chem,* **2014,** 3,1014.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

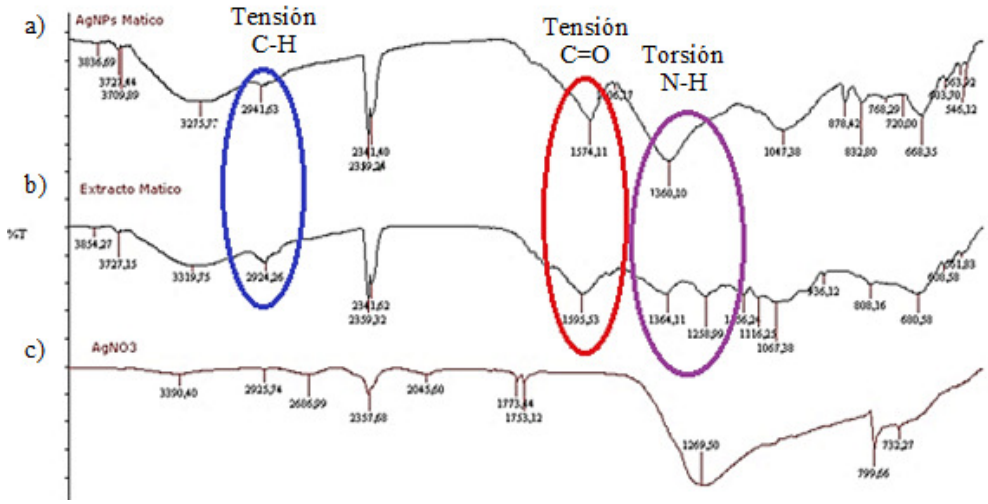


Figure 7. *AgNPs (a), Matico (b) and silver nitrate (c) FT-IR spectra*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

PLANEJAMENTOS MUNICIPAIS DE SANEAMENTO BÁSICO: UMA METODOLOGIA DE APOIO À GESTÃO PÚBLICA LOCAL E UM ESTUDO DE CASO

MUNICIPAL BASIC SANITATION PLANNING: A METHODOLOGY OF SUPPORT FOR LOCAL PUBLIC MANAGEMENT AND A CASE

RODRIGUES, Adriana Brandt[1]; GROENWOLD, Janine Alícia[2]; DIAS, Renata Saviato[3]*; BENASSI, Simone Frederigi[4]

[1,3] Fundação Parque Tecnológico Itaipu, Programa Desenvolvimento Econômico e Social Sustentável da Região Oeste do Paraná - Projeto Saneamento Ambiental, Av. Tancredo Neves, 6731, CEP 85867-900, Foz do Iguaçu – PR, Brasil
(fone: +55 45 3576-7200 ; fax: +55 45 3576-7199)

[2,4] ITAIPU Binacional, Diretoria de Coordenação, Divisão de Reservatório e Divisão de Serviços, Av. Tancredo Neves, 6731, CEP 85867-900, Foz do Iguaçu – PR, Brasil
(Fone: +55 45 3520-5252)

** Renata Saviato Dias*
e-mail: renata.dias@pti.org.br

Received 09 October 2017; received in revised form 19 November 2017; accepted 20 December 2017

RESUMO

A Fundação Parque Tecnológico Itaipu em parceria com a Itaipu Binacional desenvolve ações no oeste do Paraná para promoção de um diálogo regional sobre saneamento básico e sua relevância na saúde pública. Para tanto, foi desenvolvida uma metodologia de apoio técnico moldada às Prefeituras desta região para elaboração ou revisão dos Planos de Saneamento Básico e de Resíduos Sólidos. Conforme a Política Nacional de Saneamento Básico (Lei Federal n.º 11.445/2007), os municípios devem planificar seus serviços públicos de saneamento básico nos quatro eixos e, neste contexto, foram definidos os processos que definem a metodologia de apoio, como: assistência para pleno cumprimento da Lei e priorização do diálogo social; apoio técnico para diagnóstico e formulação de metas e projetos; e instituição das Políticas Municipais. A partir do caso de Pato Bragado/PR constatou-se a conveniência e a eficácia do incentivo à Prefeitura para preconização do tema, além da efetivação da mobilização social e a conscientização da gestão municipal como pontos chaves para o impulso às ações saneadoras. Por ser provido e zelado pela Administração Pública, o planejamento é indelegável a essa, contudo a intervenção técnica apresenta-se viável para reforço do dever, fortalecimento técnico do planejamento e garantia de cumprimento legal.

Palavras-chave: *Política pública, municípios, planejamento, saneamento básico.*

ABSTRACT

The Itaipu Technological Park Foundation in partnership with Itaipu Binacional develops actions in the western Paraná / Brazil purposing the promotion of a regional dialogue on basic sanitation and its relevance on health. Therefore, a methodology of technical support to public management was developed for Basic Sanitation and Solid Waste Plans, in consonance with the counties reality and contributing to universal access to sanitation services and legal compliance. According to the BrazilianPolicy on Basic Sanitation (Federal Law 11455/2007), municipalities should plan their public services in the four axes, and in this context, the processes that define the support methodology we redefined, such as: assistance to prioritization of the social dialogue; technical support for diagnosis and formulation of goals and projects; and institution of the Municipal Policies. This study presents the methodology applied in Pato Bragado/PR, where

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

the motivation of the county's technicians was observed, as well as the effectiveness of social mobilization and the awareness of municipal management as key points for boosting sanitation actions. Since it is provided and supervisedby the Public Administration, basic sanitation planning is not delegable. However, the possibility of intervention presented as a viable alternative for reinforcement of the duty, technicalstrengthening of the planning, and guaranteeof legal compliance, presenting greatreturn.

Keywords: *Public policy, counties, planning, basic sanitation.*

INTRODUÇÃO

A expressão saúde ambiental assumiu, atualmente, um papel de sensibilização de atores chaves e orientação de uma gestão articulada entre a saúde e bem-estar humano e o meio ambiente, seu influente direto (LAHOZ E DUARTE, 2015). De acordo com Heller (1998), obtém-se com esta aproximação uma conscientização onde o ambiente é valorizado e preservado e compreende-se qual sua relação sobre a saúde humana.

Ao longo da história e em diversas civilizações, detecta-se a constatação da relação entre a saúde humana e o saneamento como meio para prevenção de doenças (SERILO et al., 2014). Estas proposições asseguram a necessidade de sanear o meio, compreendendo seus impasses e consequências, considerando o âmbito social e econômico, além da questão de zoneamentos e fatores de risco agregados. Menezes já em 1984 definiu em seu trabalho que esta ação compete ao saneamento ambiental, diferente do saneamento básico que se apresenta como um eixo mais restritivo, abordando somente ações de saúde pública em abastecimento de água, esgotamento sanitário, coleta e manejo de resíduos sólidos e drenagem de águas pluviais visando o controle de vetores e patógenos.

Contudo, apresar desta estreita relação, é visível a ausência de atenção neste setor, retratada por dados fornecidos pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2010) os quais indicam que apenas 44% das residências possuem esgotamento sanitário e que deste montante coletado, somente 68,8% tem devido tratamento. Demolier (2008) cita que a referida e demonstrada negligência é devido a um nexo com popularidade dos gestores públicos que optam por obras mais apreciadas por eleitores que, no entanto, nos as beneficiam no quesito de serviços e direitos fundamentais. Lahoz e Duarte (2015) citam que para a preservação da saúde, é fundamental o serviço público de saneamento cujas ações minimização prejuízos ao bem-estar da população e afirmam que a instauração da saúde plena tão só será viabilizada quando o direto fundamental de serviços públicos de saneamento básico for alcançado.

Igualmente, Escoda (2005) menciona que o saneamento básico é considerado um tema irrelevante no contexto custo-benefício impacto, sendo este último eixo referente ao impacto superfulo incidido na população. Isto porque é distante a definição, a importância e as consequências positivas do saneamento à sociedade cuja noção invisibiliza e desaprecia as ações de saneamento. Esta insipiência é uma das razões que desvirtua o desenvolvimento de políticas públicas nos órgãos públicos. Quintas (2005) explica bem esta percepção mencionando que na atuação com sociedades civis, observam-se em casos omissões, incapacidades, incompreensões e desinteresse da população e ainda a conivência dos órgãos públicos, ou seja, um ciclo. Contudo, é de dever da gestão pública iniciar, incentivar e incrementar ações conjuntas de gestão ambiental e políticas.

Visando então desenvolver este eixo e aplicá-lo a todo território nacional, a esfera governamental iniciou uma articulação legal e financeira para que o Brasil alcance metas de atendimento mínimo da qualidade da água e saúde pública, garantindo assim sua sustentabilidade. Para tanto, foram instituídas legislações que regem os setores afins as causas, sendo a Lei n° 11.445 de 2007 que apresenta diretrizes nacionais para o saneamento básico a principal delas. Contudo,

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Leoneti, Prado e Oliveira (2001) aponta que apesar do propósito de sustentabilidade da legislação, esta apresenta termos preventivistas e ainda não traz, claramente, as atribuições das esferas governamentais ocasionando trabalhos replicados ou negligência (QUINTAS, 2005).

Então, foi a partir do Século XXI que a União proporcionou força ao tema saneamento retomando programas de financiamento e, em sua primeira década, instituindo importantes instrumentos jurídicos de interesse, sendo tais: Lei Federal n.º 10.257/2001 - Estatuto da Cidade; Lei Federal n.º 11.107/2005 - Contratação de consórcios públicos; Lei n.º 11.445/2007 – Política Nacional de Saneamento Básico; Resolução Recomendada n.º 62 - Pacto Nacional de Saneamento Básico para elaboração do Plano Nacional de Saneamento Básico - PLANSAB; Lei Federal n.º 12.305/2010 - Política Nacional de Resíduos Sólidos; dentre outras.

A aprovação da Lei Federal n.º 11.445 de 2007 deu-se necessária visto a imprescindibilidade de fixação de diretrizes gerais sobre o ordenamento do saneamento básico e distinção dos modelos de organização institucional legal dos serviços de abastecimento de água, esgotamento sanitário, drenagem urbana e manejo resíduos sólidos e limpeza urbana. Juntamente ao seu Decreto Federal Regulamentador n.º 7.217 de 2010, menciona que os serviços devem ser sustentáveis economicamente, apresentar função social e impõem o prazo máximo de quatro anos para a revisão dos planejamentos municipais. Em seu cerne, a Política Nacional de Saneamento Básico apresenta quesitos como universalização dos serviços, promoção da saúde pública, compreensão das peculiaridades locais, articulação com outras políticas e, com relevância, designa o Poder Público Municipal como titular pelas ações de planejamento e responsável pela prestação, regularização e fiscalização dos serviços.

A Política expressa também a obrigatoriedade de elaboração dos Planos Municipais de Saneamento Básico (PMSB) a todos os municípios brasileiros com prazo final, segundo o Decreto nº 8.629 de 2015, até dezembro de 2017 e, após esta data, aqueles que não o instituírem estarão impedidos de acessar recursos federais para tal fim. Motiva-se este prazo em razão de serem, além de instrumentos para planejamento, também mecanismos pelos quais é possível a mensuração qualiquantitativa de desempenho dos serviços prestados seja no quesito técnico, econômico ou financeiro. Junior, Sobrinho e Sampaio (2010) sustentam que a desobediência à Lei pode ocasionar invalidez de contratos de objeto saneamento, restrição de acesso aos recursos públicos, entre outras ríspidas consequências. Da mesma maneira, as metas elencadas nos planos devem ser exequíveis operacional e financeiramente.

Para estarem aptos à solicitação de recursos, os PMSB também devem ser aprovados pela sua instância de elaboração, sejam Comitês ou Comissões Municipais, em uma Conferência Pública e via Poder Legislativo na Câmara de Vereadores. Esta instância sanciona os planejamentos via Lei ou Decreto, tornando-os Políticas Públicas Municipais de Saneamento. Além disso, ao compararmos ao recomendado por Braga (1995) para Planos Diretores, pode-se considerar que um plano será bem-sucedido caso seja coordenado pela própria municipalidade, visto ser o órgão que conhece a totalidade das necessidades de seu território e, desta forma, atenda plenamente a esse. Ainda segundo o autor, deve-se garantir a participação efetiva da sociedade, através de representatividades ou outras formas, a fim de multiplicar e diversificar a discussão da política pública municipal, além do fundamental interesse legítimo da administração municipal na elaboração destes planejamentos, compreendendo-os como ferramentas de atuação territorial, otimização de recursos e desenvolvimento; e não somente como uma imposição legal ou modismo.

Os serviços públicos de saneamento básico possuem abrangência municipal e, desta forma, são de interesse local. Em concordância então ao Artigo 30 da Constituição Federal que estabelece ser de competência municipal assuntos de interesse local, o planejamento, a organização, a prestação, a regulação e a fiscalização dos serviços de saneamento básico são de responsabilidade das Administrações Municipais. Contudo, a Constituição não

permite inferir explicitamente a titularidade destas ações e então, com o intuito de esclarecer e fixar tais competências, a Política Nacional de Saneamento em seus Artigos 8º e 9º evidencia a impossibilidade de delegação do planejamento, tornando a Gestão Local responsável pelos PMSB e em consonância ao seu Decreto Regulamentador n.º 7.217/2010 - artigo 23 que incumbe o titular dos serviços pela formulação da política pública de saneamento básico. Isto por que é a única que pode zelar integralmente pelo bem público e ademais ser o planejamento o norteador de todas as ações de gestão: organização, prestação, regulação e fiscalização.

A despeito do avanço ofertado pela Política Nacional, as gestões municipais, ou seja, as prefeituras não possuem em parte ou em sua totalidade quadro de funcionários apto e disponível para receber, compreender e desenvolver as ações de elaboração e implantação das Políticas Municipais. Agregado a este importuno, o próprio modelo de gestão dos serviços por vezes é desorganizado e há a comentada confusão institucional entre os entes responsáveis pela titularidade, prestação e regulação. Por outro lado, potencializando-se esta gestão, melhorias são diretamente agregadas à população, pois se reduz a improvisação e ações emergenciais, substituindo-as por ações preconcebidas de curto prazo para problemas imediatos e de médio a longo, para encaminhamento futuro do setor (LISBOA, HELLER E SILVEIRA, 2013).Alday (2000) cita que o planejamento é um instrumento estratégico que, por meio de medidas antecipadas e positivas, propõem formas de solução de ameaças e otimiza oportunidades existentes. E complementa dizendo que as mudanças geradas pela reprogramação atingem os cunhos econômico, social, tecnológico e político.

A inexistência de equipe especializada e as debilidades na capacidade de gerenciamentos existentes em todas as esferas – Federal, Estadual e Municipal – fazem com que poucos municípios possuam uma gestão adequada dos serviços de saneamento e igualmente da busca pela sustentabilidade destes na aplicação de recursos técnicos, econômicos e financeiros. Tal incapacidade advém do modelo político implantado no Brasil e não resulta totalmente de indolência, contudo essa inabilidade impede que os Planos de Saneamento sejam integrais conforme requisitos legais, sejam eles elaborados pelas equipes municipais ou por consultorias contratadas para apoio.

A Lei n°. 11.445/07 apresenta o conteúdo mínimo que os Planos devem possuir e há desdobramentos desta complementando e apoiando os municípios para o pleno atendimento da legislação, como o caso do Termo de Referência para elaboração de PMSB da Fundação Nacional de Saúde (Funasa) que define procedimentos de cooperação técnica e financeira e a Cartilha de Saneamento do Instituto Trata Brasil. No entanto, o cumprimento de todas as fases e etapas de elaboração para instituição de um planejamento completo não é seguido, fato que pode ser comprovado na observação dos planos existentes, tanto tecnicamente quando referente a qualidade da participação social implementada.

Abordando o estado da arte destes planejamentos municipais, o Brasil revela ter de 45 e 48% do total de municípios brasileiros com PMSB elaborados ou em elaboração segundo o Panorama Preliminar do Relatório elaborado pelo Ministério das Cidades (2007) com fontes de dados secundários consultados. Esta informação é no tocante quantitativo, de possuir ou não, e seria de grande valia a complementação qualitativa do panorama quanto ao conteúdo mínimo elaborado e a participação social. A região oeste do Paraná, alvo deste artigo, possui 52 municípios, todos eles com PMSB elaborados ou em fase de elaboração. Contudo, a partir da análise dos Planos constatou-se que apenas 17% apresentou a formação da Comissão, 13% deles atenderam os preceitos da participação popular e ainda um representativo desatendimento nas ações de diagnóstico, prognósticos e ações, principalmente nos eixos drenagem urbana e resíduos sólidos.

Os estudos que embasam essas informações foram realizados no primeiro trimestre de 2015, a partir da análise de cada um dos planos municipais de saneamento da Região Oeste do Paraná. Destaca-se que o referencial para tais análises foram os requisitos da Política Nacional. Exposto na

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 1, é ainda ponto de observação que esta região possui 77% de seus municípios com população inferior 20 mil habitantes, possibilitando uma relação entre a incapacidade técnica das prefeituras e a baixa qualidade dos Planos.

Tabela 1.*Faixas populacionais dos municípios do oeste do Paraná/PR*

Faixas populacionais	Municípios	%
Hab<20.000	42	77
20.000<Hab<50.000	9	17
Hab>50.000	3	6

A proposta de apoio técnico abordada então por este artigo, de execução da Fundação Parque Tecnológico Itaipu – Brasil (FPTI-BR) em parceria com a Itaipu Binacional e amparada pela legislação e manuais de órgãos oficiais, trata de uma alternativa de elaboração e revisão dos planejamentos municipais objetivando o atendimento ao disposto em lei como conteúdo mínimo, priorizando as ações de mobilização social, o empoderamento técnico quanto ao saneamento, a conscientização e responsabilização das gestões locais e o diálogo sobre saneamento básico.

Assim, objetiva-se com este artigo apresentar a metodologia de trabalho da Fundação Parque Tecnológico Itaipu e ItaipuBinacional de apoio técnico e mobilização de prefeituras para elaboração ou revisão e implementação de Planos Municipais de Saneamento Básico, exemplificando com o caso de Pato Bragado/PR.

DESENVOLVIMENTO

Pelo caráter expositivo deste artigo, apresenta-se neste item os principais normativos de fundamentação dos PMSB e a metodologia de trabalho adaptada e aplicada.

2.1 Projeto Saneamento Ambiental

O Projeto Saneamento Ambiental (PSA), integrante do Programa Desenvolvimento Econômico e Social Sustentável da Região Oeste do Paraná que faz parte do portfólio da Fundação Parque Tecnológico Itaipu Brasil (FPTI-BR), objetiva o avanço do diálogo sobre o saneamento básico em sua área de atuação com perspectiva de estender e prospectar ações voltadas ao avanço do setor, incluindo a mobilização social da população e das prefeituras. Para tanto, o Projeto oferta às instituições responsáveis apoio técnico e financeiro para elaboração ou revisão de Planos Municipais de Saneamento Básico por serem o mais recente e quiçá transformador instrumento que confere força ao tema e novamente o diálogo e trabalho pró saneamento básico, conquanto baseado agora em diretrizes sólidas da Lei Federal n°. 11.445/2007.

Iniciado em 2013, o Projeto é fruto de uma parceria entre a FPTI-BR, a hidrelétrica Itaipu Binacional e o Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES) que propiciam apoio de equipe técnica, apoio administrativo e ainda financeiro para municípios estabelecerem ou replanejarem seus serviços de saneamento. Este suporte envolve as diversas fases do processo, iniciando pela pactuação de um instrumento jurídico entre as partes, a formação de um Comitê Gestor das ações e explicação das fases e etapas do PMSB, a contratação de uma consultoria especializada a fim de potencializar o trabalho de campo e ainda fortalecer as soluções técnicas, engajamento da equipe municipal no desenvolvimento e recapitulação da responsabilidade pelo planejamento, discussão e mobilização com população de forma ampla em suas diversas classes, entre outros pontos que encaminham a elaboração à concepção da Política Nacional de Saneamento Básico.

2.2 Diretrizes de Trabalho

Para que municípios brasileiros desenvolvam inteiramente seus planejamentos municipais em saneamento básico, seja quanto a composição técnica dos relatórios ou ainda quanto ao processo de comunicação e mobilização social, diretrizes foram estabelecidas por instituições e órgãos envolvidos com o tema. São apresentados e comentados nesta subseção os principais documentos norteadores que objetivam, de

maneira específica, auxiliar e fornecer recomendações e diretrizes para a elaboração dos PMSB.

A Lei de Saneamento procedeu-se de uma articulação legal e financeira iniciada pela esfera federal para que o Brasil alcance metas de atendimento mínimo da qualidade da água e saúde pública, visando então desenvolver este eixo e aplicá-lo a todo território nacional. Para tanto, foram instituídas legislações que regem os setores afins as causas, sendo então a Lei n°. 11.445 de 2007 que apresenta instruções nacionais para o saneamento básico coerente com as múltiplas realidades sociais, econômicas e ambientais a fim de proporcionar o alcance a toda extensão e esferas no Brasil.

A Política de Saneamento apresenta moldes de organização institucional dos serviços; estabelece o saneamento básico como objeto de planejamento integrado de elaboração do ente federado, passível de apoio de instituições e prestadores dos serviços; eleva o diálogo sobre regulação e fiscalização e ainda regras para o relacionamento entre titulares e prestadores de serviços, sempre por meio de contratos; e com destaque fixa as diretrizes básicas para a cobrança pela prestação dos serviços de saneamento básico. Desta forma, os Planos Municipais são o caminho para diálogo e promoção das metas federais de saúde pública, tendo o conteúdo descrito no artigo 19 da referida Lei:

O plano, que poderá ser específico para cada serviço, o qual abrangerá, no mínimo: diagnóstico da situação e de seus impactos nas condições de vida, utilizando sistema de indicadores sanitários, epidemiológicos, ambientais e socioeconômicos, apontando as causas das deficiências detectadas; objetivos e metas de curto, médio e longo prazo para a universalização, admitidas soluções graduais e progressivas, observando a compatibilidade com os demais planos setoriais; Programas, projetos e ações necessárias para atingir os objetivos e as metas, de modo compatível com os respectivos planos plurianuais e com outros planos governamentais correlatos, identificando possíveis fontes de financiamento; ações para emergências e contingências; mecanismos e procedimentos para a avaliação sistemática da eficiência e eficácia das ações programadas. (BRASIL, 2007).

Observa-se desta citação que há então um arcabouço técnico básico que sustenta o planejamento: diagnóstico, prognóstico, ações e monitoramento. Não obstante, a Lei toma a questão do controle social em todas as fases da concepção e implantação do PMSB, significando-o como o conjunto de mecanismos e procedimentos que garantem à sociedade informações, representações técnicas e participações nos processos de formulação de políticas, de planejamento e de avaliações relacionadas aos serviços públicos de saneamento básico (BRASIL, 2007). Portanto, na metodologia dos trabalhos deve-se garantir ações de mobilização social para assegurar tal participação.

Seguindo tais preceitos, a Fundação Nacional de Saúde (Funasa) expediu um Termo de Referência que subsidia os municípios de todo território nacional com informações e orientações, propiciando a vivência do planejamento municipal e salientando a metodologia participativa. Este caderno apresenta onze etapas estipuladas para elaboração de planos municipais, conforme Quadro 1, evidenciando com etapas específicas a composição de comitê e a participação social.

Quadro 1. *Etapas de elaboração de PMSB*

Etapa	Elaboração de Plano Municipal de Saneamento Básico
1	Definição dos membros dos comitês
2	Plano de mobilização social
3	Relatório do diagnóstico técnico-participativo social
4	Relatório da prospectiva e planejamento estratégico
5	Relatório dos programas, projetos e ações
6	Plano de execução
7	Minuta de projeto de lei do Plano Municipal de Saneamento
8	Relatório sobre os indicadores de desempenho do Plano Municipal de Saneamento Básico
9	Sistema de informações para auxílio à

	tomada de decisão
10	Relatório mensal simplificado do andamento das atividades
11	Relatório final do Plano Municipal de Saneamento Básico

Fonte: Termo de Referência para elaboração de PMSB (Funasa, 2012).

Destaca-se ainda deste orientativo algumas premissas indicadas como o planejamento integrado dos 4 eixos do saneamento e abrangência das áreas urbanas e rurais, compatibilidade com políticas e planos já instituídos, planejamento para 20 anos em metas de curto, médio e longo prazo, capacitação dos recursos humanos, desenvolvimento sustentável dos sistemas, a questão da revisão do PMSB a cada 4 anos e a integração com a Lei n.º 12.305/2010. A descrição de cada etapa de elaboração e produtos respectivos, as responsabilidades e funções e a equipe multidisciplinar necessária são descritos também no Termo de Referência da Funasa.

Verifica-se também as diretrizes da Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental (SNSA) e do Ministério das Cidades que orientam o apoio aos municípios na condução dos PMSB. A SNSA/MCidades indica em seu relatório do Panorama dos Planos Municipais de Saneamento Básico no Brasil que o processo de elaboração, implantação, aprovação e monitoramento sejam:

- Um pacto social capaz de contribuir para reverter às desigualdades sociais por meio da universalização do acesso aos serviços e para sensibilizar a população sobre a relevância da política e da gestão dos serviços de saneamento básico para o desenvolvimento do município;
- Oportunidade de inserção do saneamento básico na agenda do município e envolvimento social para cooperação e compreensão da responsabilidade compartilhada;
- Instrumento municipal de programas e ações de saneamento básico com observância na previsão orçamentária e na execução financeira;
- Produto de implementação das macrodiretrizes e estratégias do Plano Nacional de Saneamento Básico (Plansab);
- Condição para pleitear recursos junto à União, organismos internacionais e construir parcerias com empresas privadas sediadas no município;
- Referência para o exercício das funções de regulação e fiscalização do saneamento no município e normativo dos contratos de prestação dos serviços;
- Instrumento para fortalecer e qualificar a participação popular e o controle social, de maneira a influenciar o processo decisório sobre as prioridades de investimentos e de ações no território.

Ao interpretar então o que as legislações e tais orientações, infere-se que as metas pelas quais os PMSB traçarão caminhos de atendimento visam a universalização do acesso ao serviço de saneamento básico integrando ações de segurança, qualidade e regularidade desse a fim da promoção da saúde pública e proteção ao meio ambiente. Deduz-se ainda que devem ser analisadas as particularidades de cenários e adoção de tecnologias adequadas para soluções gradualmente progressivas. Quanto a sustentabilidade, almeja-se a gestão com transparência de informações e com sustentabilidade econômica, não obstante da capacidade de pagamento dos usuários.

Ademais, são incorporadas outras legislações ligadas ao setor e ao planejamento municipal. A seguir, apresenta-se a lista de objetos normativos utilizados nestes trabalhos.

- Resolução ConCidades n.º 62/08 – Plano Nacional de Saneamento Básico (PLANSAB);
- Lei n°. 10.257/01 – Estatuto das Cidades;
- Lei n°. 12.305/10 e Decreto n°. 7.404/10 – Política Nacional de Resíduos Sólidos;
- Lei Estadual n.º 12.493/99 – Gestão dos resíduos sólidos no Estado do Paraná;
- Lei n°. 8.987/95 – Lei de Concessão e Permissão de serviços públicos;
- Lei n°. 9.705/99 – Educação Ambiental;

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

- Resolução CONAMA n°. 307/02 - Gestão dos resíduos da construção civil;
- Resolução CONAMA n°. 283/01 - Gestão dos resíduos dos serviços de saúde;
- Dispositivos municipais: Lei Orgânica, Plano Diretor e planejamentos anteriores em Saneamento Básico e Resíduos Sólidos em casos de revisão.

2.3 Metodologia de Desenvolvimento do PMSB

O trabalho de apoio aos municípios baseia-se em um protocolo que determina ações prévias, de execução e posteriores a instituição do PMSB. Além do aporte financeiro a equipe técnica do Projeto Saneamento Ambiental (PSA) permanentemente reforça concepções de titularidade, relevância de priorização do tema, engajamento da equipe municipal de técnicos a gestores, conscientização da indispensabilidade da instância social no processo, além de toda legalidade do processo de parceria e execução, aliadas às questões de cunho técnico.

Além desta convenção, utiliza-se na execução dos trabalhos um Termo de Referência padrão, documento que rege o processo de mobilização e desenvolvimento dos Planos e que constantemente é atualizado e aperfeiçoado. Elaborado conforme preceitos da Política Nacional de Saneamento Básico e documentos tais como os emitidos pela Funasa, este Termo norteia de forma sistêmica o desenvolvimento dos planejamentos apoiados pelo PSA, demandando de cada ente envolvido conforme suas incumbências.

A proposta de apoio aos PMSB é composta por três fases divididas em sete etapas conforme apresentado no Quadro 2 e os produtos gerados correspondem a relatórios contendo a descrição de cada uma das etapas, sendo tais correlatas e consecutivas.

Quadro 2. *Fases e Etapas do Processo de revisão do PMSB*

FASE I – Planejamento do Processo
Etapa 1 – Coordenação, Participação Social e comunicação
FASE II – Elaboração/revisão do PMSB
Etapa 2 – Diagnóstico dos sistemas de saneamento básico
Etapa 3 – Prognósticos e Diretrizes, Objetivos e Metas
Etapa 4 – Programas, projetos e ações
Etapa 5 – Ações de emergência e contingência
Etapa 6 – Mecanismos e procedimentos para a avaliação das ações
FASE III – Aprovação do PMSB
Etapa 7 – Aprovação do PMSB

Fonte: Projeto Saneamento Ambiental, 2017.

Etapa 1 – Mobilização Social

A mobilização a fim da participação popular na elaboração dos planos municipais se estabelece transversalmente em todas as etapas de desenvolvimento, visto: a carência por seu caráter democrático e participativo, envolvendo a população na discussão das potencialidades e sensibilizando-a para a responsabilidade coletiva; o esclarecimento da importância de investimentos; e o incentivo aos gestores e técnicos municipais para o fomento das ações. Os meios de comunicação e divulgação devem ser diversos e analisados no contexto do município, como o folheto apresentado na Figura 1 de convocação da população para a Audiência Pública em Pato Bragado/PR.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

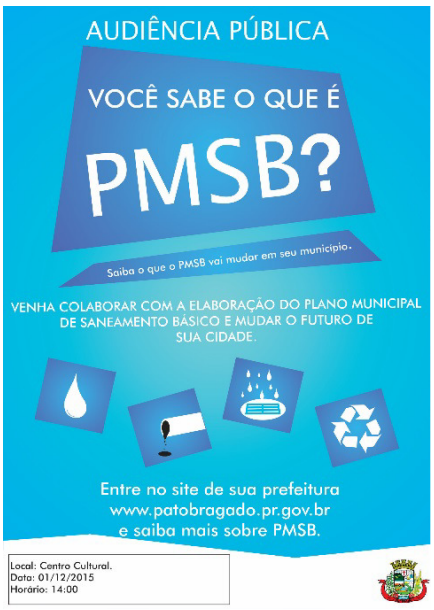


Figura 1.*Folheto de comunicação e mobilização social do PMSB.*

Etapa 2 – Diagnóstico Técnico-Participativo

Fase de estudos e caracterização dos aspectos socioeconômicos, culturais, ambientais e de infraestrutura do município, além do descritivo e análise dos sistemas de abastecimento de água, esgotamento sanitário, drenagem urbana e manejo de resíduos sólidos e limpeza urbana, a partir de dados primários e secundários. Esta, pode-se afirmar, é a fase de maior relevância por ser base orientadora do PMSB.

Etapa 3 – Prognósticos e metas

O prognóstico prevê alternativas para tal universalização no município por meio de cenários prospectivos em diferentes horizontes de tempo, assegurado pelo diagnóstico. Esta etapa inclui o planejamento da organização ou adequação das estruturas municipais para o planejamento, a prestação de serviço, a regulação, a fiscalização e o controle social dos serviços. E a partir destes cenários que são propostos programas, projetos e ações que materializam estas perspectivas.

Etapa 4 – Programas, projetos e ações

Fase de proposição de planejamentos e ações integradoras a fim de impulsionar soluções necessárias para alcance dos objetivos e metas considerando viabilidade técnica e econômica e possibilidades e ameaças do município. Nesta etapa, delimita-se o caminho pelo qual a gestão municipal deverá conduzir o desenvolvimento dos serviços, com custos, prazos, relevância e fontes de recursos econômicos.

Etapa 5 – Ações para emergência e contingências

Identificação de possíveis formas de prevenção de situações de risco ou desastre, planos de racionamento e atendimento a demandas temporárias. Fase importante que norteia ações em momento de crise ou emergência previamente aos acontecimentos, coincidindo com o cerne de antecipação do Planejamento.

Etapa 6 – Mecanismos de avaliação

Descrição da metodologia e procedimentos de avaliação, por meio de indicadores de eficiência e eficácia de todos os programas, projetos e ações previstas nas etapas anteriores, definindo a instância responsável pela regulação ou fiscalização do PMSB, a periodicidade de divulgação do monitoramento e o detalhamento do processo de revisão do plano. Por meio destes indicadores, verifica-se o cumprimento das ações para evolução dos sistemas de saneamento, tornando-se além de um mensurador, instrumento de incentivo ao alcance das metas.

Etapa 7 – Aprovação do PMSB

Por meio de uma Audiência Pública com participação da comunidade, o PMSB tem suas etapas concluídas e aprovadas pelas instâncias sociais presentes. Ademais, reforça-se junto à municipalidade a necessidade de que o Plano seja encaminhado à respectiva Câmara de Vereadores a fim de tornar-se instrumento de uma Política Municipal de Saneamento Básico, instituída por esta instância via lei ou decreto. Este ato pactua a finalização do planejamento e fortalece seus instrumentos e consolidação

intergestões, além de reforçar com o administrador público a incumbência de sua execução, conforme exposto na Figura 2 a seguir onde o prefeito do município recebe as versões completas do PMSB.

Figura 2. *Aprovação da versão final do PMSB pela prefeitura.*

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos a partir da aplicação da metodologia de trabalho do Projeto Saneamento Ambiental estão demonstrados no caso do município de Pato Bragado – Paraná descrito a seguir e comentado segundo preceitos de elaboração de PMSB descritos este artigo.

4.1 Plano Municipal de Saneamento Básico de Pato Bragado/PR

Abrangido na região oeste do Paraná, o município de Pato Bragado, localizado à margem do reservatório da usina Itaipu Binacional, possui 5.055 habitantes e área territorial de 135,29 km², sendo70% urbana conforme apresentado na Figura 3. Em parceria com o Projeto Saneamento Ambiental da FPTI-BR, o município elaborou seu PMSB de maio a dezembro de 2015 coordenado pelos Comitês de Coordenação e Técnico Executivo (Portaria Municipal n.º 189, de 29 de maio de 2015).

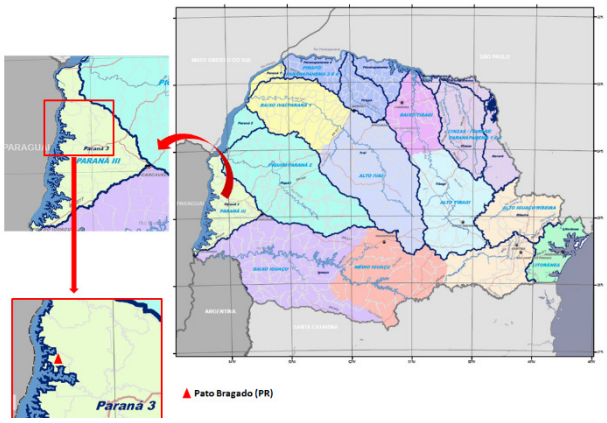


Figura 3. *Localização do Municípios de Pato Bragado/Paraná – Brasil.*

Após definição da comunicação da elaboração do Plano e de mobilização social descritos em relatório inicial da Etapa 1, o Comitê juntamente a equipe de apoio percorreu o município em suas áreas urbanas e rurais para diagnóstico, com obtenção de dados, informações e fotografias retratando o panorama dos sistemas de saneamento básico. Foram obtidos dados secundários de fontes oficiais e da prefeitura e ainda primários por meio da aplicação de questionários em uma amostragem de domicílios, empresas, instituições e também junto a associação e catadores de materiais recicláveis como exemplificado pela Figura 4.

Figura 4.*Mobilização social com a associação de catadores de materiais recicláveis.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

A Etapa 2 resultou então em um relatório com abordagem sistêmica, cruzando informações socioeconômicas, ambientais e institucionais, gerando a caracterização completa do município – histórico, divisão territorial, unidades hidrográficas, meio físico, aspectos econômicos, indicadores de saúde, estudo de projeção populacional – e o diagnóstico aprofundado da situação dos sistemas – atendimento, frequência e falhas, estrutura institucional, situação dos equipamentos, pesquisa pública, riscos e potencialidades.

Paralelamente ao início da Etapa 3, foi realizado no município uma pré-audiência para apresentação à população do Diagnóstico, permitindo aos munícipes uma clara análise situacional do sistema, tanto de atendimento quanto tarifário, aproximando-os da gestão. A construção dos cenários futuros e as ações necessidade para seus cumprimentos foram discutidas no âmbito do Comitê, como demonstrada em reunião retratada na Figura 5, e descritos em fichas contendo, para cada eixo do saneamento, o programa, o objetivo deste, a fundamentação que levou sua criação, o método de monitoramento desta, as metas em curto, médio e longo prazo e as descrições das ações, orçamento e fontes de recursos para cada uma dessas, totalizando 46 fichas desdobradas em diversas ações dispostas de cronograma físico-financeiro e atendendo a Etapa 4.

Figura 5. *Reunião do comitê de coordenação e execução do PMSB.*

Destaca-se aqui a discussão sobre o modelo institucional ocasionada no município onde apresenta-se no plano a descrição de cada modalidade – autarquia, concessão, departamento, gestão associada, etc. – com o intuito de subsidiar a definição do modelo de gestão do saneamento, considerando a dispersão interna da prefeitura nesta administração. Outros pontos discutidos com maior ênfase foram a questão tarifária e a sustentabilidade do sistema, a implantação do modelo coletivo de esgotamento sanitário e a regulação e fiscalização dos serviços.

A Etapa 5 foi trabalhada segundo um elenco de eventos e medidas emergenciais combinados conforme cada componente dos sistemas. Quanto aos mecanismos para avaliação da eficiência, efetividade e eficácia das ações, um conjunto de indicadores foi definido com base nos sistemas existentes e ações propostas resultando em um índice de qualidade, nos âmbitos: técnico, operacional e financeiro; qualidade de vida, saúde e recursos naturais; sanitários, epidemiológicos e socioeconômicos; salubridade ambiental; controle social; entre outros.

Após a junção dos relatórios das etapas e as discussões finaiselaborou-se o documento final do PMSBrepresentada pela Figura 6, um caderno síntese deste e uma intensa mobilização social no município para a Audiência Pública onde aprovou-se o planejamento para os próximos 20 anos. Destaca-se o período de 15 dias anteriores a esta ação onde foi realizada a consulta pública manifestada via Edital de Chamamento. Então, em maio de 2016, a Lei Municipal n.º 1.531 instaurou a Política Municipal de Saneamento Básico de Pato Bragado, instrumento que delega dever de cumprimento ao PMSB transcendentemente gestões.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

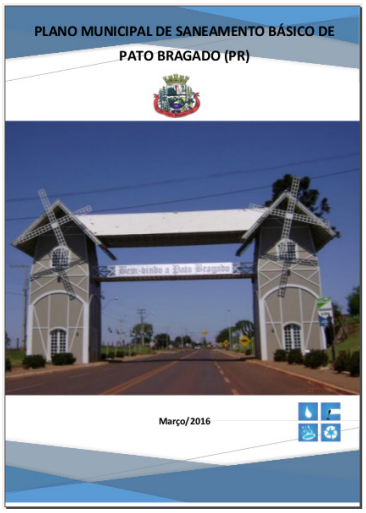


Figura 6. *Relatório final do PMSB de Pato Bragado/PR (capa).*

Perfazendo este processo, conclui-se que o PMSB de Pato Bragado foi elaborado seguindo os preceitos das legislações e, conforme objetivos do Projeto Saneamento Ambiental (PSA), houve o engajamento da prefeitura na proposta de discussão e priorização do tema. A fase subsequente devida é a implantação do planejamento e, para tal, o PSA mantém continuo apoio para mobilização da gestão local com propósito de efetivação de ações.

CONCLUSÕES

Nota-se que as iniciativas de elaboração de Planos têm progredido em número e qualidade nos municípios brasileiros, por conscientização de sua importância e por ser condicionante ao recebimento de recursos da União. Acredita-se que, frente a esta disseminação ocorrente entre os municípios, a qualidade do Plano e da discussão social sobre saneamento tenda ao aprimoramento de sua concepção, desenvolvimento e utilização. Sendo assim, é possível que esta conscientização incentive ainda, após seus vencimentos, a revisão destes Planos que também coincidirão em seu aperfeiçoamento.

Figura 7. *Entrega final do PMSB a prefeitura.*

Como consideração dos autores, crê-se que esta discussão dos PMSB e dos serviços devem ser intensificados em debates sobre a necessidade de compreensão da premência e benefícios do saneamento básico pela gestão pública por meio de capacitação ou outras formas, como vem executando o Ministério das Cidades, FUNASA, etc. O engajamento da administração pública, como demonstrado pela Figura 7, e a participação social são premissas para um crescimento evolutivo em quantidade e qualidade dos PMSB. Como comentado por Philippi (1997), uma solução para consubstanciar o saneamento no âmbito municipal seria inicialmente pela incorporação desse por secretarias ou conselhos, além da vigilância sanitária e ambiental, para que promovessem então programas e projetos efetivos. Temas intrínsecos como regulação, fiscalização e regionalização ou serviços consorciados devem entrar na pauta de tais discussões para propósito do avanço do saneamento básico no Brasil.

REFERÊNCIAS

1. ALDAY, Hernan E. Contreras. O planejamento estratégico dentro do conceito de administração estratégica. Revista FAE, Curitiba, v. 3, n. 2, p. 9-16, **2000**.
2. AMOP. Associação dos Municípios do Oeste do Paraná. Disponível em: <http://www.amop.org.br/>. Acessado em: 07 ago. **2015**.
3. BRAGA, Roberto. Plano Diretor Municipal: três questões para discussão.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Caderno do Departamento de Planejamento, Presidente Prudente, v. 1, n. 1, p. 15-20, **1995**.
4. BRASIL. Decreto nº 7.217 de 21 de junho de 2010, que regulamenta a Lei n°. 11.445, de 5 de janeiro de **2007** e dá outras providências. DOU, Brasília, 2017. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/decreto/d7217.htm>. Acesso em: 17 abr. 2015.
5. _____. Lei nº 11.445 de 5 de janeiro de 2007. Estabelece diretrizes nacionais para o saneamento básico. DOU, Brasília, **2007b**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/lei/l11445.htm>. Acesso em: 15 jun. 2017.
6. _____. Lei nº 12.305, de 02 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos e dá outras providências. DOU, Brasília, **2010c**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/lei/l12305.htm>. Acesso em: 15 jun. 2017.
7. _____. Panorama dos Planos Municipais de Saneamento Básico no Brasil. Ministério das Cidades. Edição: Janeiro de **2017**. Brasília, 2017.
8. _____. Política e Plano Municipal de Saneamento Ambiental: experiências e recomendações. Brasília: Ministério das Cidades/OPAS. **2005**.
9. DEMOLINER, K.S. Água e saneamento básico: regimes jurídicos e marcos regulatórios no ordenamento brasileiro. Porto Alegre, Livraria do Advogado, **2008**, 220 p.
10. ESCODA, Maria do Socorro Quirino. Avaliação de efetividade de ações de saneamento: análise de gestão. Ciência e Saúde Coletiva, v. 10, n. 2, p. 493-497, **2005**.
11. FUNASA, Fundação Nacional de Saúde. Termo de Referência para a elaboração do Plano Municipal de Saneamento Básico. Brasília, **2012**. 68 p.
12. HELLER, Léo. Relação entre saúde e saneamento na perspectiva do desenvolvimento. Ciência e Saúde Coletiva, v. 3, n. 2, p. 73-84, **1998**.
13. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa nacional de saneamento básico (**2008**). Rio de Janeiro, IBGE, 219 p. 2010.
14. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa nacional de saneamento básico (2008). Rio de Janeiro, IBGE, 219 p. **2010**.
15. JUNIOR, Alceu de Castro Galvão; SOBRINHO, Geraldo Basilio; SAMPAIO, Camila Cassundé. A Informação no Contexto dos Planos de Saneamento Básico. Fortaleza: Expressão Gráfica Editora, **2010**.285p.
16. LAHOZ, Rodrigo Augusto Lazzari; DUARTE, Francisco Carlos. Saneamento básico e direito à saúde: considerações a partir do princípio da universalização dos serviços públicos. RECHTD-Revista de Estudos Constitucionais, Hermenêutica e Teoria do Direito, v. 7, n. 1, p. 62-69, **2015**.
17. LEONETI, Alexandre Bevilacqua; DO PRADO, Eliana Leão; DE OLIVEIRA, Sonia Valle Walter Borges. Saneamento básico no Brasil: considerações sobre investimentos e sustentabilidade para o século XXI. Revista de Administração Pública, v. 45, n. 2, p. 331-348, **2011**.
18. LISBOA, Severina Sarah; HELLER, Léo; SILVEIRA, Rogério Braga. Desafios do planejamento municipal de saneamento básico em municípios de pequeno porte: a percepção dos gestores. Engenharia Sanitária e Ambiental, v. 18, n. 4, p. 341-348, **2013**.
19. PHILIPPI, Luiz Sérgio. V-002: Saneamento descentralizado como instrumento para o desenvolvimento sustentável. IN: Anais do IX SILUBESA – Simpósio Luso-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Bahia: ABES, p. 1833 – 1841. **1997**.
20. PMSB/PB. Plano Municipal de Saneamento Básico de Pato Bragado/PR. **2016**. Disponível em: <http://www.patobragado.pr.gov.br/artigo/222/Plano-Municipal-de-Saneamento-Basico/176>. Acesso em: 20 jun. 2017.
21. QUINTAS, José Silva. Introdução à gestão ambiental pública. IBAMA, **2005**.
22. SERILO, Daviany Farinelli; VALENTINI, Carla Maria Abido; DE FARIA, Rozilaine Aparecida Pelegrine Gomes. O

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

saneamento básico de Cuiabá-MT na memória dos idosos em um bairro histórico da capital. Biodiversidade, v. 13, n. 1, **2014**.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE BACTERIOLÓGICA E DA CLORAÇÃO DAS ÁGUAS DAS SOLUÇÕES ALTERNATIVAS COLETIVAS (SAC) EM ATENDIMENTO A PORTARIA N° 2914 DE 12 DE DEZEMBRO DE 2011, DO MINISTÉRIO DA SAÚDE

BACTERIOLOGICAL QUALITY EVALUATION AND WATERS CHLORINATION OF THE COLLECTIVE ALTERNATIVE SOLUTIONS (CAS) IN COMPLIANCE WITH HEALTH MINISTRY ORDONNANCE N ° 2914 OF DECEMBER 12, 2011

Santos, C.C.M.* [1]; Peresi, J.T.M. [1]; Teixeira, I.S.C. [1]; Silva, S.I.L. [1]; Povinelli, R.F. [1]; Assis, J.C.[1]; Figueiredo, J.K.[1]

Instituto Adolfo Lutz, São José do Rio Preto, SP[1]. Rua: Alberto Sufredini,2325, cep 15060-020, São José do Rio Preto – SP, Brasil. (fone/ fax: +55 17 3224 2602)

** Autor correspondente*
** e-mail: ccmsantos@ial.sp.gov.br*

Received 29 November 2017; received in revised form 18 December 2017; accepted 20 December 2017

RESUMO

SAC correspondem as modalidades de abastecimento distintas dos sistemas públicos e têm sido monitoradas pelo Programa de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano, visando à proteção da saúde. O teor de cloro residual livre (CRL) informado com a identificação das amostras (colorimetricamente com DPD) e os 3703 resultados bacteriológicos (técnica do substrato enzimático - "*Standard Methods for Examination of Water and Wastewater"* (2005), dos 102 municípios abrangidos pelos Grupos de Vigilância Sanitária 29 – São José do Rio Preto -SP (GVS 29) e 30 – Jales - SP (GVS 30) coletadas entre 2011 e 2016, foram avaliados segundo Portaria MS n° 2914 de 12.12.2011. Das 3670 amostras da região do GVS 29, 1648 (44,9%) estavam em desacordo legalmente por pelo menos um dos parâmetros: CRL e *Escherichia coli* sendo 1558 (94,5%) por CLR e 148 (9,0%) por *Escherichia coli.* Apresentando 1010 (27,5%) coliformes totais, e 127 (12,6%) em desacordo. Das 33 (0,9%) amostras do GVS 30, 3 (9,1%) apresentaram-se em desacordo por CRL e 7 (21,2%) foi evidenciado coliformes. Consequência da inadequação do CRL e a presença de indicadores de contaminação fecal nas amostras analisadas. Resultados revelaram a vulnerabilidade da água consumida por comunidades que utilizam as SACs.

Palavras-chave: *água de abastecimento, solução alternativa coletiva, potabilidade.*

ABSTRACT

CAS correspond to the modalities of supply different from the public systems and have been monitored by the Program of Surveillance of the Water Quality for Human Consumption, aiming at the health protection. The free chlorine content (FC) reported with the sample Identification (N,N-Diethyl-1,4-phenylenediammonium - colorimetric) and 3703 bacteriological results (enzyme substrate technique - Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (2005), IN the 102 municipalities covered by the (GVS 29) and 30 - Jales - SP (GVS 30) collected from 2011 TO 2016, were evaluated according to MS ordonnance No. 2914 of December 12, 2011. Of the 3670 samples from GVS region 29, 1648 (44.9%) were in legal disagreement in at least one of the parameters: FC and Escherichia coli being 1558 (94.5%) by FC and 148 (9.0%) by Escherichia coli. In the 33 samples (0.9%) from GVS 30, 3 (9.1%) were in disagreement with FC and 7 (27.5%) total coliforms, and 127 (12.6%) disagreed. (21.2%) was evidenced by coliforms, due to the inadequacy of the FC and the presence of fecal contamination indicators in the analyzed samples Results revealed the vulnerability of the water consumed by communities that use the CAS.

Keywords: *water supply, collective alternative solution, portability.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

A água, indispensável para a vida humana, pode atuar como um reservatório de diversos tipos de patógenos como parasitas, fungos, vírus e bactérias e está diretamente relacionada com doenças de origem hídrica (CANEPARI, 2008).

A utilização de águas subterrâneas tem aumentado muito nos últimos anos e em algumas cidades é crescente o número de comunidades que têm optado pelo uso exclusivo deste recurso em substituição à captação de água superficial, cujo aproveitamento requer formas progressivamente mais onerosas de tratamento (SANTOS *et al.*, 2001).

No Brasil, a qualidade da água potável é normatizada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA, MS), que define os parâmetros organoléticos, físicos, químicos e bacteriológicos (BRASIL, 2011).

A avaliação dos padrões bacteriológicos e físico-químicos da água de soluções alternativas coletivas de abastecimento (SAC) que é definida como toda modalidade de abastecimento distinta do sistema público incluindo, entre outras, fonte, poços ou chafarizes comunitários, distribuição por veículo transportador, instalações condominiais horizontais e verticais, clubes e hotéis. No estado de São Paulo esta modalidade está inserida no cronograma de monitoramento do Programa de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano, SP (PROÁGUA) desde 2004, visando à proteção da saúde do consumidor.

Avaliar os padrões de qualidade da água tornou-se necessário para verificar a adequação dos serviços de abastecimento ao longo dos anos, sendo essencial à proteção da saúde e das condições de vida de uma comunidade, principalmente no que se refere ao controle e prevenção de doenças de veiculação hídrica (SÃO PAULO, 2005).

Para assegurar a qualidade bacteriológica e a desinfecção da água de consumo o cloro é adicionado intencionalmente para produzir diferentes reações químicas, com o imediato consumo deste cloro pela matéria orgânica presente na água. E assim, maiores quantidades de cloro deverão ser adicionadas para garantir a permanência de cloro residual livre (CRL) na água de consumo[7], sendo muito importante que exista CRL em todos os pontos da rede de distribuição, pois é um indicador eficaz, imediato e barato que permite monitorar e assegurar a qualidade bacteriológica da água (OMS, 1999).

Este estudo teve por objetivo avaliar a qualidade bacteriológica e o teor de CRL em amostras de água oriundas de SAC, de 2011 a 2016, dos 102 municípios de abrangência dos Grupos de Vigilância Sanitária 29 - São José do Rio Preto (GVS 29 - SJRP-SP-SP) e 30 - Jales (GVS 30 - Jales-SP), estabelecidos na Portaria n° 2914 de 12.12.2011, do Ministério da Saúde.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de janeiro de 2011 a dezembro de 2016 foram analisadas 3703 amostras de água de SAC provenientes dos 102 municípios da área de abrangência da Direção Regional de Saúde - DRS XV, sendo 67 deles pertencentes à área do Grupo de Vigilância Sanitária GVS 29 - São José do Rio Preto e de 35 do GVS 30 - JALES-SP.

Para o estudo retrospectivo sobre o teor de CRL, bem como para obtenção de outras informações gerais sobre as amostras de água foram avaliadas as fichas de coleta enviadas pelas Vigilâncias Sanitária (VISAS) dos municípios. Já para o estudo microbiológico foram avaliados os registros de resultados do Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional de São José do Rio Preto (CLR-IAL-SJRP).

Foram consideradas nas fichas de coletas informações como: data da entrada da amostra (dia, mês e ano), sazonalidade, endereço da coleta da amostra (rua, bairro e região) e teor de CRL, expressos em $mg.L^{-1}$ de cloro.

A dosagem do teor de CRL foi realizada em campo pelos profissionais das VISA municipais, pelo método colorimétrico com o reagente DPD (Dietilfenileno diamina) (POLICONTROL, 2007). Acesso em: 06 jul. 2017. As amostras avaliadas foram classificadas, segundo o teor de cloro, em satisfatórias (teor de cloro mínimo de 0,2 mg/L) ou insatisfatórias (teores de cloro menores de 0,2 mg/L).

Os ensaios bacteriológicos foram executados segundo o método recomendado pelo *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (2005), sendo empregada a

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

técnica de substrato cromogênico e fluorogênico ONPG-MUG (APHA, 2012).

Os parâmetros CLR, coliformes totais e coliformes termotolerantes/*Escherichia coli* (C. term/*E. coli*) foram avaliados segundo os padrões fixados pela Portaria n° 2914 de 12 de dezembro de 2011, do Ministério da Saúde, que estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seus padrões de potabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Das 3670 e 33 amostras analisadas da região de abrangência do GVS 29 - SJRP-SP-SP e GVS 30 - JALES-SP, 1648 (44,9%) e 3 (9,1%), respectivamente, apresentaram-se em desacordo com a legislação vigente (BRASIL, 2011).

A Figura 1 apresenta a distribuição percentual das amostras em desacordo referente às regiões de abrangência do GVS 29 - SJRP-SP-SP e do GVS 30 - Jales-SP.

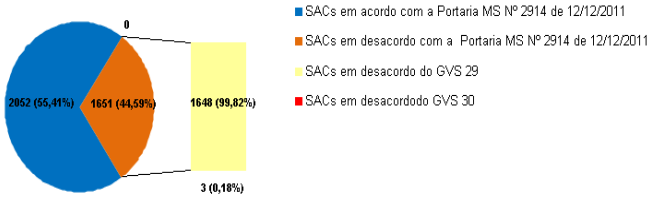


Figura 1. *Distribuição percentual das amostras em desacordo dos 102 municípios da área de abrangência do GVS 29 e GVS 30 IAL - CLR X - SJRP, 2011-2016*

Na região do GVS 30 - JALES-SP o número de amostras de SAC coletadas foi cerca de 1% em relação ao número da região do GVS 29 - SJRP-SP-SP, possivelmente por haver nos municípios poucos SAC cadastrados nos órgãos de VISA.

As Figuras 2 e 3 apresentam a distribuição percentual das amostras em desacordo, por parâmetro(s), referente às regiões de abrangência do GVS 29- SJRP-SP e do GVS 30- Jales-SP, respectivamente.

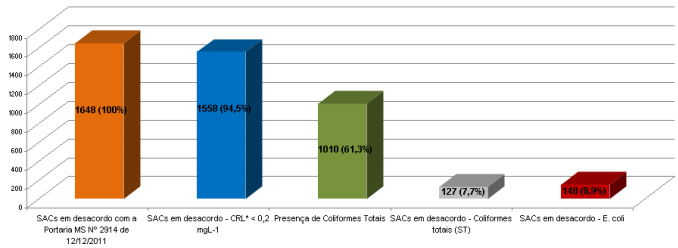


Figura 2. *Distribuição percentual, por parâmetro, das amostras de SAC em desacordo dos 67 municípios da área de abrangência do GVS 29 IAL - CLR X - SJRP, 2011-2016.*

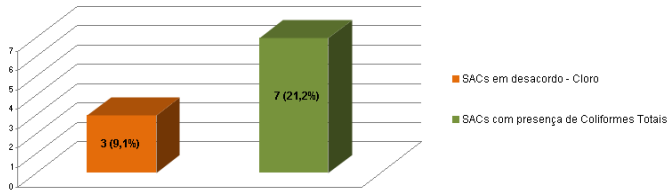


Figura 3. *Distribuição percentual, por parâmetro, das amostras de SAC dos 35 municípios da área de abrangência do GVS 30 IAL - CLR X - SJRP, 2011-2016.*

O parâmetro responsável pelo maior número de amostras em desacordo da região do GVS 29 - SJRP-SP-SP foi o CRL, onde 94,5% delas apresentaram o teor de CLR abaixo do mínimo exigido na legislação. A presença de coliformes totais foi observada em 61,3% das amostras, porém só foram consideradas em desacordo aquelas coletadas na saída do tratamento, pois para os demais pontos de coleta não há padrão na legislação atual.

Percentuais inferiores de amostras em desacordo foram observados em outros estudos, como aquele relativo à qualidade da água de SAC de comunidades rurais do município de Marechal Candido Rondon-PR realizado no mês de março de 2014, que resultou em 81% das amostras não cloradas e 49% com presença de coliformes totais. Já no período de junho de 2014 a janeiro de 2015, após implementação no controle de qualidade nesta modalidade de abastecimento, estes números decresceram para 39% e 29%, respectivamente (LUCAS, 2015). Araújo (2013) em estudo de água de poços no município de Manaus encontrou 13,3% de amostras reprovadas quanto à análise microbiológica.

Estudo anterior realizado por Teixeira et al., (2012) referente à qualidade de água de SAC também na região do GVS 29 - SJRP-SP-SP

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

revelou que 62,3%; 66,0% e 14,8% das amostras apresentaram-se em desacordo por pelo menos um dos seguintes parâmetros: CRL, coliformes totais e C. term/*E. coli*, respectivamente. Portanto, neste estudo que abrange o período de 2011 a 2016, foi observado um aumento expressivo de não conformidade em relação ao teor de CLR, ressaltando que sua deficiência torna a água vulnerável à contaminação bacteriana expondo o consumidor a maior risco de ocorrência de doenças de veiculação hídrica, embora, neste período, tenha sido verificada diminuição das amostras com presença de coliformes totais e de *E. coli* em comparação com o estudo anterior.

A Figura 4 apresenta a distribuição percentual das amostras dos 67 municípios da área de abrangência do GVS 29 - SJRP-SP com presença de coliformes totais associadas ao teor de CRL <0,2 mgL^{-1} e,ou presença de *E. coli.*

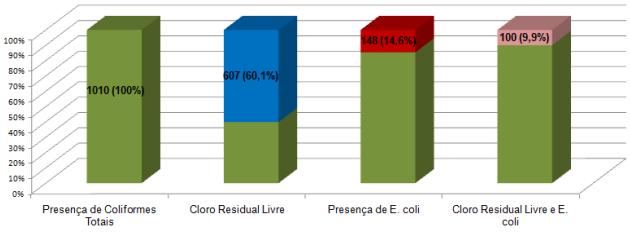


Figura 4. *Distribuição percentual das amostras com presença de coliformes totais associados a parâmetros em desacordo, dos 67 municípios da área de abrangência do GVS 29 IAL - CLR X - SJRP, 2011-2016.*

A cloração reflete diretamente na qualidade bacteriológica da água, fato observado nas amostras dessa região contaminadas com coliformes totais (1010), onde 607 (60%) delas apresentaram, simultaneamente, teor de CRL <0,2 mgL^{-1} e, naquelas com presença de *E. coli* (148), das quais 100 (67,6%) apresentaram também, cloração inadequada.

Dentre as amostras com coliformes totais, 403 (39,9%) continham CLR em níveis satisfatórios podendo ser atribuído à formação de biofilmes, que são caracterizados pela adesão dos micro-organismos, quando em condições favoráveis, aos suportes sólidos, como por exemplo, compostos orgânicos e inorgânicos (OLIVEIRA, 2010).

A cloração da água de abastecimento é empregada para solucionar problemas relacionados com micro-organismos, embora não seja medida universal no tratamento da água. (OMS, 1999; BELLO, ANGELIS, DOMINGOS, 2005; POLICONTROL, 2007). Países que adotam este procedimento observam taxas de incidência de doenças infecciosas em níveis muito baixos, quando comparadas àqueles que utilizam outros métodos de desinfecção (BELLO, ANGELIS, DOMINGOS, 2005).

CONCLUSÕES:

De acordo com os objetivos propostos notou-se a necessidade de maior controle no procedimento de cloração da água, uma vez que a falha nesse processo resulta na vulnerabilidade da população consumidora desse tipo de modalidade de abastecimento de água à contaminação bacteriana.

Portanto, torna-se necessária a efetiva fiscalização e implementação da vigilância da qualidade da água, por parte dos órgãos responsáveis, visando minimizar a ocorrência de doenças relacionadas ao consumo de água.

REFERÊNCIAS:

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard Methods For The Examination of Water and Wastewater.** 22 ed. Washington: APHA, 2012.
2. ARAUJO, C.F.; HIPÓLITO, J.R.; WAICHMAN, A.V. Avaliação da qualidade da água de poço. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 72, n. 1, p. 53-8, 2013.
3. BELLO, A.R.C.; ANGELIS, D.F.; DOMINGOS, R.N. Ultrasound efficiency in relation to sodium hypochlorite and filtration adsorption in microbial elimination in a water treatment plant.**Braz Arch Biol Technol**, 2005, v.48, n.5, p. 739-45.
4. BRASIL (2011). Ministério da Saúde. Portaria n° 2914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial**;

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 14 dez 2011, Seção 1, nº 239, p. 39.

5. CANEPARI, P.; PRUZZO C. Human pathogens in water: insights into their biology and detection. **Curr Opin Biotechnol**, v.19, n. 3, p. 241-3, 2008.
6. LUCAS, M.S., BOHNEN, L.I.K. (2015). Os desafios de monitorar a qualidade da água nos SAC da área rural. Disponível em: <http://www.trabalhosassemae.com.br/sistema/repositorio/2015/1/trabalhos/255/369/t369t1e1a2015.pdf>. Acesso em: 01. jul. 2017.
7. OLIVEIRA, M.M.M.; BRUGNERA, D.F.; PICCOLI, R.H. Biofilme microbianos na indústria de alimentos: uma revisão. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 69, n. 3, p. 277-84, 2010.
8. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE - OMS. Autoridades locais, saúde e ambiente. Água: A desinfecção da água. Escritório Regional para Europa da OMS; 1999 (OPAS/HEP/99/38).
9. POLICONTROL SCRIBD (2007). Determinação de Cloro: DPD x OTA. Disponível em: <http://pt.scribd.com/doc/59885131/artigo-tecnico-cloro>. Acesso em: 01 jun. 2017.
10. SANTOS, C.C.M. et al. Qualidade da água de origem subterrânea oferecida à população na região de São José do Rio Preto (SP), no período de 1991 a 1999. **Hig Aliment**, v. 15, p. 82, p. 47-51, 2001.
11. SÃO PAULO. Secretaria de Estado da Saúde. Resolução SS nº 65, de 12 de abril de 2005. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao Controle e Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano no Estado de São Paulo e dá outras providências. **Diário Oficial [do] Estado**, São Paulo, SP, 13 abr. 2005. Seção 1. p. 18.
12. TEIXEIRA, I.S.C.; PERESI, J.T.M.; SILVA, S.I.L.; RIBEIRO, A.K.; GRACIANO, R.A.S.; POVINELLI, R.F.; ET AL (2012). Solução alternativa coletiva de abastecimento de água (SAC): avaliação da qualidade bacteriológica e da cloração. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 71, n. 3, p. 514-9, 2012.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

https://www.facebook.com/tchequimica/

http://www.tchequimica.com/