



**UNIVERSIDADE
EDUARDO MONDLANE**



FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

ESTÁGIO LABORAL



**Análise qualitativa de pesticidas organoclorados em amostras
de água do rio dos Elefantes na zona da Barragem de
Massingir**

AUTOR: MUIANGA, Armando Pinto

Maputo, Outubro de 2014



**UNIVERSIDADE
EDUARDO MONDLANE**



FACULDADE DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

ESTÁGIO LABORAL



**Análise qualitativa de pesticidas organoclorados em amostras
de água do rio dos Elefantes na zona da Barragem de
Massingir**

AUTOR: MUIANGA, Armando Pinto

SUPERVISORA: Prof.^a Doutora Tatiana Kuleshova

CO-SUPERVISORES: dr.^a Noor Jehan Gulamussen; &

Eng.^o Amílcar Manuel do Céu Gouveia

Maputo, Outubro de 2014

DEDICATÓRIA

Aos meus pais

Pinto Celina Cossa e Luísa Filipe Mandlhate

Pela educação minuciosa, cautelosa, paciente, sábia e encorajamento nos primeiros anos de escolaridade e durante todo o meu percurso estudantil.

Aos meus irmãos

Nádia Teresa Sabão;

Tânia Pinto Muianga;

Filipe Pinto Muianga;

Pinto Celina Cossa Júnior;

Edson Pinto Muianga; e

Gabriel Pinto Cossa,

Pelo carinho e fortalecimento que me deram e me têm dado ao longo de toda, minha vida estudantil.

A todos parentes e amigos que directa ou indirectamente, apoiaram e fizeram com que este sonho se tornasse uma realidade!

AGRADECIMENTOS

Agradecimento especial:

A Deus, pela sua infinita bondade de mais uma conquista na vida, dando-me forças e esperança nos momentos mais difíceis da caminhada.

Sempre faltarão palavras ou mesmo actos para expressar a minha inteira gratidão à minha supervisora Prof. Doutora Tatiana Kuleshova e aos co-supervisores dr.^a Noor Gulamussen e Eng.^o Amílcar Gouveia por sua especial atenção e contribuições e a todas pessoas que mesmo não sendo meus supervisores prestaram, seu apoio e atenção para a realização deste trabalho, muito obrigado, que Deus vos abençoe!

A todos os docentes, em particular aos do ramo de Química Pura, pelos conhecimentos transmitidos na minha área de formação.

Ao pessoal do LNHA, nomeadamente Sr.^a Inocência, Sr.^a Melina, Sr. Adelino, Sr. Dimas, dr.^a Arsénia, dr.^a Cházia, dr.^a Isabel, dr.^a Salma, dr.^a Teresa, Dona Anabela, Dona Marta, Dona Miséria e meus companheiros do estágio: Ângelo, Carla, Edson, Ivo, Lizzie, Luís, Simeão e dr.^a Aurora, muito obrigado por me terem presenteado pela vossa maravilhosa companhia.

A todos os meus colegas da turma de Química (2010-2013) e meus amigos doutros cursos na UEM e noutras Instituições: Assane Cassimo, Bartels Mbula, Clóvis Maguengue, Egnélio Maeria, Ester Chigulo, Fernando Macuácuá, Gerson Tomo, Hélder Muiambo, Manuel Macuácuá, dentre outros deixo ficar um carinhoso obrigado e sucessos nas suas carreiras profissionais!

Ao CTA que directa ou indirectamente contribuiu para a minha caminhada ao longo do curso e em especial na elaboração deste trabalho, deixo ficar o meu muito obrigado!

DECLARAÇÃO SOBRE COMPROMISSO DE HONRA

Eu, Armando Pinto Muianga, declaro por minha honra que o presente trabalho nunca foi apresentado, e que para a sua realização, servi-me dos conhecimentos adquiridos ao longo dos anos de formação e das consultas bibliográficas sobre águas, pesticidas e técnicas usadas para determinação dos pesticidas.

O autor

Armando Pinto Muianga

LISTA DE SIGLAS E ACRÓNIMOS

“ADC”	Câmara de Desenvolvimento Automático
“AgNPs”	Nanopartículas de prata
“BOD”	Demanda Bioquímica do Oxigénio
“COD”	Demanda Química do Oxigénio
“EPA” = “USEPA”	Agência de Protecção Ambiental dos Estados Unidos
“FAO”	Fundo das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
“GC”	Cromatografia Gasosa
“HPLC”	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
“IUPAC”	União Internacional de Química Pura e Aplicada
“R_f”	Factor de Retenção
“SFC”	Cromatografia de Fluido Supercrítico
“TLC” = CCF	Cromatografia em Camada Fina
“WHO” = OMS	Organização Mundial da Saúde
μS	Microsiemens
CTA	Corpo Técnico Administrativo
DQ	Departamento de Química
FPLM	Forças Populares de Libertação de Moçambique
HCB	Hexaclorobenzeno
LD e LQ	Limite de Detecção e Limite de Quantificação
LNHAA	Laboratório Nacional de Higiene de Água e Alimentos
m	Metro
mg	Miligrama
MISAU	Ministério da Saúde (Moçambique)
mL	Mililitro
mM	Milimolar
nm	Nanómetro
°C	Graus Centígrados
pH	Potencial Hidrogeniónico
ppm	Parte Por Milhão
rpm	Rotações Por Minuto
UV-Vis	Ultravioleta – visível

ÍNDICE GERAL

DEDICATÓRIA.....	i
AGRADECIMENTOS	ii
DECLARAÇÃO SOBRE COMPROMISSO DE HONRA	iii
LISTA DE SIGLAS E ACRÓNIMOS	iv
ÍNDICE DE TABELAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE ANEXOS	ix
RESUMO	x
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Objectivos.....	2
1.1.1 Geral	2
1.1.2 Específicos.....	2
1.2 Metodologia.....	2
1.3 Justificativa da escolha do tema	2
1.4 Enquadramento geográfico da Barragem de Massingir	3
1.4.1 Distrito de Massingir	3
1.4.2 Descrição da área de estudo.....	3
1.5 Laboratório Nacional de Higiene de Águas e Alimentos	4
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
2.1 Pesticidas	7
2.1.1 Definição de pesticidas	7
2.1.2 Classificação dos pesticidas.....	7
2.1.3 Pesticidas seleccionados para a análise	8
2.2 Métodos analíticos.....	9

Análise qualitativa de pesticidas em amostras de água do rio dos Elefantes na zona da Barragem de Massingir

2.2.1	Cromatografia em Camada Fina (“TLC”).....	9
2.2.1.1	Características do método de TLC: câmaras, aplicação da amostra e desenvolvimento cromatográfico	9
⊕	Câmaras modernas para TLC	9
❖	Câmaras convencionais	10
❖	Câmaras automáticas	11
⊕	Aplicação da amostra.....	13
⊕	Desenvolvimento cromatográfico.....	13
2.2.2	Métodos baseados em colorimetria para análise de pesticidas.....	15
2.2.2.1	Testes colorimétricos	15
⊕	Método das nanopartículas de prata (“AgNPs”).....	15
⊕	Estabilidade coloidal.....	15
⊕	Agentes estabilizantes.....	16
⊕	Métodos de fabricação de AgNPs	17
❖	Síntese química de AgNPs	17
⊕	Técnica de caracterização	18
❖	Espectroscopia de absorção UV-Vis	18
3	PARTE EXPERIMENTAL.....	19
3.1	Técnica de amostragem	19
3.2	Materiais e equipamento.....	19
3.3	Reagentes.....	20
3.4	Procedimentos para a síntese das AgNPs	22
3.4.1	Testes colorimétricos para atrazina	22
3.4.1.1	Optimização do pH do meio para a detecção da atrazina.....	22
3.4.1.2	Preparação das soluções-padrão da atrazina para a construção da curva de calibração	24

Análise qualitativa de pesticidas em amostras de água do rio dos Elefantes na zona da Barragem de Massingir

3.4.2	Testes colorimétricos para HCB.....	24
3.4.2.1	Optimização do pH do meio para a detecção do HCB	24
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	25
4.1	Resultados do ensaio preliminar para determinação de pesticidas totais organoclorados	25
4.2	Síntese das AgNPs.....	26
4.2.1	Princípios de detecção da atrazina usando o teste colorimétrico das AgNPs	27
4.2.1.1	Optimização das condições do meio reaccional	27
4.2.2	Princípios de detecção do HCB.....	31
4.2.2.1	Efeito do pH na determinação do HCB.....	31
4.2.3	Estudo de interferências.....	32
5	CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	33
5.1	Conclusões.....	33
5.2	Recomendações	33
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
	ANEXOS.....	a
	ANEXO A	b

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Classificação toxicológica dos pesticidas em função do seu DL50	8
Tabela 2: Agentes redutores mais usados para a síntese de AgNPs	17
Tabela 3: Preparação do pH das soluções-tampão	23
Tabela 4: Resultados da determinação dos pesticidas totais organoclorados.....	25
Tabela 5: Valores de LD e LQ calculados a partir dos dados da curva da atrazina	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Mapa indicativo das proximidades da Barragem de Massingir	4
Figura 2: Localização do LNHAAs	5
Figura 3: Câmara de cocho gémeo com várias variantes de desenvolvimento cromatográfico.....	11
Figura 4: Câmara de desenvolvimento automático, ADC 2.....	12
Figura 5: Modos de desenvolvimento em cromatografia planar.	14
Figura 6: Fluxograma da determinação de pesticidas organoclorados por TLC.....	21
Figura 7: Nanopartículas de prata na sua cor adequada (amarelo dourado), quando não há excesso ou défice nas condições de preparação.....	26
Figura 8: Cor das nanopartículas de prata quando se exagera a quantidade de citrato de sódio adicionada à solução de AgNO ₃	26
Figura 9: Efeito do pH no teste colorimétrico das AgNPs para atrazina.....	27
Figura 10: Espectro de absorção da atrazina + AgNPs a pH 4.....	28
Figura 11:Espectro de absorção da atrazina + AgNPs a pH 11.....	29
Figura 12: Curva de calibração da atrazina.	30
Figura 13: Espectros de algumas amostras com pHs fixos (2, 6 e 12).	31

ÍNDICE DE ANEXOS

Tabela A - 1: Identificação e propriedades físico-químicas dos pesticidas seleccionados	b
Tabela A - 2: Valores dos parâmetros correspondentes aos pontos de amostragem na superfície	c
Tabela A - 3: Valores dos parâmetros correspondentes aos pontos de amostragem numa determinada profundidade	d

RESUMO

As actividades humanas alteram a qualidade dos recursos hídricos. Entre estas alterações destacam-se os pesticidas, cuja presença em águas é fonte de poluição e toxicidade à vida aquática, oferecendo riscos à população e representando um grande problema de saúde pública.

Os pesticidas organoclorados, apesar da maioria ser proibida, ainda são encontrados no meio ambiente devido à sua grande estabilidade físico-química.

No presente trabalho foi avaliado o grau de contaminação das águas do rio dos Elefantes na zona da Barragem de Massingir por pesticidas, uma vez que até ao momento nenhum estudo sistemático havia sido feito sobre poluentes orgânicos nesta zona.

Foram colhidas 16 amostras de água do rio, de águas superficiais e águas profundas, no mês de Dezembro de 2013 e conservadas de acordo com as normas descritas pelos métodos 619 e 622 da EPA.

Primeiramente foi aplicada a técnica de cromatografia em camada fina, dado o seu baixo custo e fácil disponibilidade para as análises cromatográficas. Contudo, a cromatografia em camada fina não conseguiu evidenciar a presença de pesticidas totais organoclorados, provavelmente porque a sua presença estava abaixo do limite de detecção do método. Este facto reforçou o interesse em estudar novas metodologias para determinação de pesticidas, tendo em última instância culminado com o desenvolvimento do método das nanopartículas de prata, o qual mostrou ser adequado para a determinação da atrazina em amostras de água com limites de detecção e quantificação de 1,84 mg/L e 5,57 mg/L, respectivamente. A tentativa de determinar o hexaclorobenzeno usando o mesmo método, não teve êxito, porém pressupõe-se que o método seja capaz de determinar outros pesticidas organoclorados, como foi o caso da atrazina.

1 INTRODUÇÃO

Os pesticidas têm sido usados por décadas devido à sua eficácia em controlar uma grande variedade de pragas, doenças e plantas daninhas que invadem as lavouras, garantido assim uma maior produtividade e maior retorno económico da actividade agrícola. Sem o uso dos pesticidas, a quantidade e a qualidade dos alimentos seriam bastante afectados, ocasionando uma provável queda na produção de alimentos e promovendo uma alta nos preços dos produtos agrícolas. Entretanto, muitos questionamentos são feitos sobre a necessidade de utilização desses produtos na agricultura para gerar uma maior produção de alimentos, devido aos riscos que podem causar à saúde do consumidor e ao meio ambiente (Prime et al, 2005, citado por Filho, 2009).

Os pesticidas podem atingir a população humana através dos alimentos, da água de consumo ou pela exposição ocupacional, ocasionando deste modo disfunções orgânicas, intoxicações, desenvolvimento de cancro, malformação, danos para o sistema nervoso e funcionamento do sistema endócrino, podendo levar à morte (WHO, 2004; Grisolia, 2005, citados por Santos, 2010).

Na agricultura, por exemplo, as águas de irrigação ou pluviais constituem vectores de contaminação de mananciais de água e o procedimento analítico para esse tipo de amostra deve empregar técnicas de extracção simples, eficientes e sensíveis para a quantificação de compostos que são encontrados nessas amostras (Martins, 2004; Filho, 2009).

Diante dos problemas causados pelo uso dos pesticidas e dos inúmeros apresentados, fica justificada a grande importância que deve ser dada para determinação de resíduos de pesticidas em alimentos e em amostras ambientais como a água. Para tal controlo necessita-se de procedimentos analíticos rápidos e de baixo custo, capazes de determinar os pesticidas com total confiabilidade nos resultados.

1.1 Objectivos

1.1.1 Geral

- ☞ Analisar pesticidas organoclorados em amostras de água da Barragem de Massingir.

1.1.2 Específicos

- ☞ Avaliar a técnica de cromatografia em camada fina para análise de pesticidas organoclorados;
- ☞ Desenvolver um método colorimétrico baseado em nanopartículas de prata para análise de pesticidas organoclorados.

1.2 Metodologia

De modo a alcançar os objectivos traçados, o trabalho foi realizado obedecendo às seguintes etapas:

- ☞ *Revisão Bibliográfica*

Consistiu na pesquisa de fundamentos teóricos nas bibliotecas físicas e virtuais como forma de efectuar um enquadramento teórico adequado à elaboração deste trabalho.

- ☞ *Trabalho do campo*

Consistiu em:

- ☞ Recolha das amostras e sua conservação.

- ☞ *Análise das amostras*

- ☞ *Tratamento dos resultados*

- ☞ *Elaboração do relatório final*

1.3 Justificativa da escolha do tema

Vários tipos de poluentes químicos têm sido investigados na zona da Barragem de Massingir com a finalidade de avaliar a qualidade da água, sedimentos, peixes neste

ecossistema aquático, como por exemplo os níveis de metais pesados. Até ao momento nenhum estudo sistemático foi feito sobre poluentes orgânicos.

Nesse sentido propomos aqui verificar o estado de poluição por pesticidas, dado que estes são muito utilizados ao longo do curso do rio onde a Barragem está instalada.

1.4 Enquadramento geográfico da Barragem de Massingir

1.4.1 Distrito de Massingir

O distrito de Massingir está localizado a norte da província de Gaza, sendo limitado a Norte pelo distrito de Chicualacuala, a Leste pelo distrito de Mabalane e Chokwé, a Sul pelo distrito de Magude da província de Maputo e a Oeste pela África do Sul. O distrito tem uma superfície de 5 897 km² e uma população estimada em cerca de 27 757 habitantes (Ministério da Administração Estatal, 2005, citado por Nhamundo, 2007).

1.4.2 Descrição da área de estudo

A albufeira de Massingir resultante da construção da Barragem de Massingir sobre o rio dos Elefantes, está situada no distrito de Massingir, entre as latitudes 23°55' e 23°58' Sul e as longitudes 31°55' e 32°09' Este, (ver figura 1, vista de cima da Barragem de Massingir).



Figura 1: Mapa indicativo das proximidades da Barragem de Massingir

Fonte: Google Maps, 2014

A Barragem de Massingir foi construída entre 1972 e 1977, com o objectivo de abastecer água, gerar energia hidroeléctrica e controlar inundações (Norplan, 1993, citado por Mandlate, 2007). A maioria dos residentes depende do reservatório para abastecimento de água para o consumo, necessidades básicas de saneamento, actividade agrícola e pesqueira (Norplan, 1993, citado por Nhamundo, 2007).

1.5 Laboratório Nacional de Higiene de Águas e Alimentos

Todos os ensaios analíticos referentes ao presente trabalho foram realizados durante o Estágio Laboral que teve a duração de 3 meses, no Laboratório Nacional de Higiene de Águas e Alimentos, pertencente ao MISAU. O Laboratório situa-se na cidade de Maputo na Avenida das FPLM, atrás do Hospital Geral de Mavalane e do Centro de Saúde de Mavalane (ver figura 2).

O Laboratório é constituído de três departamentos principais nomeadamente:

∞ *Departamento de Águas*, no qual encontramos os seguintes sectores:

Análise qualitativa de pesticidas em amostras de água do rio dos Elefantes na zona da Barragem de Massingir

- ☞ Química de Águas.
- ☞ Microbiologia de Águas.

☞ *Departamento de Alimentos*, no qual encontramos os seguintes sectores:

- ☞ Química de Alimentos.
- ☞ Microbiologia de Alimentos.

☞ *Departamento de Toxicologia*, no qual encontramos os seguintes sectores:

- ☞ Toxicologia e Contaminantes Ambientais.
- ☞ Instrumentação.

De 4 Laboratórios a saber:

- ☞ Laboratório de Química de Águas.
- ☞ Laboratório de Química de Alimentos.
- ☞ Laboratório de Microbiologia de Águas e Alimentos.
- ☞ Laboratório de Toxicologia e Contaminantes Ambientais.



Figura 2: Localização do LNHA

Fonte: Google Maps, 2014

O Laboratório de Química de Águas é responsável pelo controlo de amostras de água, em termos de parâmetros físicos e químicos, nomeadamente: pH, condutividade, cor,

Análise qualitativa de pesticidas em amostras de água do rio dos Elefantes na zona da Barragem de Massingir

dureza total, turvação, cloretos, nitritos, nitratos, amoníaco, “COD”, “BOD”, cloro, cálcio, lítio, sódio e potássio, relativos à qualidade de todo o tipo de águas recebidas pelo LNHA para análise.

O Laboratório de Microbiologia zela pela avaliação das condições higiénicas das águas e dos alimentos, uma vez que as análises microbiológicas realizadas na água de consumo e nos alimentos têm como principal objectivo assegurar a qualidade higiénico-sanitária e evitar doenças que possam ser por eles veiculadas.

No Laboratório de Química de Alimentos, realiza-se com frequência a análise bromatológica dos alimentos, a fim de certificar se a sua qualidade nutricional vai de acordo com o que vem estampado nas embalagens que os contêm como forma de garantir que não se perigie a saúde do consumidor.

No Laboratório de Toxicologia e Contaminantes Ambientais é feita a determinação de agentes tóxicos ou nocivos à saúde humana, animal e vegetal em diferentes matrizes de amostra, desde alimentos de consumo a tecidos animais, especialmente quando se têm substâncias desconhecidas e se pretende saber a sua acção toxicológica. De salientar ainda que este Laboratório é responsável por determinar o grau de contaminação ambiental, a nível nacional quando hajam evidências de derrames de produtos tóxicos em locais inadequados.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Pesticidas

2.1.1 Definição de pesticidas

Pesticida é por definição uma substância que tem o poder de destruir pestes. Praguicida, de destruir pragas. Defensivo, de defender ou resistir a um ataque de um inimigo qualquer. E agrotóxicos, produtos químicos usados na agricultura (FAO, 2005, citado por Santos, 2010).

Segundo a Agência de Protecção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA), pesticida é qualquer substância ou mistura de substâncias destinadas a: prevenir, destruir, repelir, ou mitigar qualquer praga. Embora muitas vezes mal interpretado, referindo-se apenas aos insecticidas, o termo pesticida, também se aplica aos herbicidas, fungicidas e várias outras classes usadas no controlo de pragas.

2.1.2 Classificação dos pesticidas

Os pesticidas podem ser classificados de acordo com a formulação, emprego, modo de acção e estrutura química. A principal classificação dos pesticidas é quanto ao seu emprego: insecticidas, herbicidas, fungicidas, acaricidas, moluscicidas, raticidas, entre outros (Ware, 1994; Larini, 1999; Extoxnet, 2006, citados por Kurz, 2007).

Faria (2004) classifica os pesticidas de acordo com o seu DL_{50} , lembrando que o DL_{50} (dose letal) representa o nº de miligramas por quilograma do peso de um animal necessários para matar 50% dos indivíduos submetidos ao teste assim temos a tabela 1:

Análise qualitativa de pesticidas em amostras de água do rio dos Elefantes na zona da Barragem de Massingir

Tabela 1: Classificação toxicológica dos pesticidas em função do seu DL50

Classe toxicológica	Descrição
I	<i>Extremamente tóxicos</i> (DL ₅₀ < 50 mg/kg do peso do animal)
II	<i>Muito tóxicos</i> (DL ₅₀ de 50 a 500 mg/kg do peso do animal)
III	<i>Moderadamente tóxicos</i> (DL ₅₀ de 500 a 5000 mg/kg do peso do animal)
IV	<i>Pouco tóxicos</i> (DL ₅₀ > 5000 mg/kg do peso do animal)

Fonte: Adaptada de Faria, 2004.

2.1.3 Pesticidas seleccionados para a análise

Dentre os principais pesticidas usados na zona da Barragem de Massingir, optou-se por usar o método de TLC e desenvolver o método de AgNPs para determinar resíduos de: *atrazina e hexaclorobenzeno*.

No anexo A, consta a tabela A-1, a qual apresenta as principais propriedades e características dos pesticidas seleccionados.

2.2 Métodos analíticos

2.2.1 Cromatografia em Camada Fina (“TLC”)

Muitas técnicas de preparação de amostras são usadas em análise de resíduos de pesticidas. O método escolhido depende da complexidade da amostra, natureza da matriz e dos analitos e das técnicas analíticas disponíveis. A cromatografia em camada fina (também conhecida como cromatografia planar) é um importante método analítico, juntamente a outras técnicas cromatográficas tais como a cromatografia gasosa (“GC”), cromatografia líquida de alta eficiência (“HPLC”) e cromatografia de fluido supercrítico (“SFC”). A cromatografia em camada fina, embora com menor sensibilidade e eficiência que alguns outros métodos de separação (GC e HPLC, por exemplo), tem muitas vantagens. Ela é mais efectiva para análises de baixo custo requerendo um *cleanup* mínimo da amostra e é especialmente satisfatória para análises de campo onde a concentração dos compostos possa ser alta.

2.2.1.1 Características do método de TLC: câmaras, aplicação da amostra e desenvolvimento cromatográfico

⊕ Câmaras modernas para TLC

A classificação cromatográfica das câmaras usadas para o desenvolvimento em TLC pode ser feita tendo em consideração:

- ☞ O volume da atmosfera de vapor;
- ☞ Direcção de migração da fase móvel: *desenvolvimento linear* ou *desenvolvimento radial* (que pode ser circular e anticircular);
- ☞ Configuração da placa cromatográfica na câmara (*horizontal* – daí a câmara ser chamada horizontal ou *vertical* – quando a câmara é designada como vertical).

- ☞ O grau de automação do desenvolvimento cromatográfico (incluindo o controle da temperatura e humidade, eluente e sua distribuição em fase de vapor para a câmara cromatográfica e secagem da placa cromatográfica).

Quanto ao volume da atmosfera do vapor as câmaras podem ser divididas em: *Câmaras normais ou convencionais* (N-câmaras) e *câmaras automáticas*.

❖ **Câmaras convencionais**

As N-câmaras são tipicamente feitas de vidro possuindo a forma cúbica ou cilíndrica. As suas dimensões são de aproximadamente 230 × 230 × 80 mm para o desenvolvimento de placas de TLC de 200 × 200 mm ou 130 × 130 × 50 mm para o desenvolvimento de placas de TLC de 100 × 100 mm.

Estas câmaras podem ser facilmente empregues (através do uso de blocos de saturação ou papel de filtro) de tamanho adequado para a câmara, o que é muito importante, especialmente quando é usada uma mistura de fase móvel para o desenvolvimento cromatográfico. Logo a repetibilidade dos valores de retenção é alta em relação ao desenvolvimento sem saturação do vapor.

Outro tipo de N-câmara é a *cuboide de cocho gémeo*, que pode ser convenientemente usada para a cromatografia sob diferentes condições de saturação do vapor (Geiss, 1987). A visão esquemática da câmara é apresentada na figura 3. O fundo da câmara é dividido por um cume entre os dois cochos paralelos. Esta construção da câmara permite executar o desenvolvimento cromatográfico de três formas: *Sem câmara de saturação* (figura 3a), *com câmara de saturação* (figura 3b) e *câmara de saturação com solvente seguida por desenvolvimento com outro solvente* (figura 3c), (Dzido e Tuzimski, 2008, citados por Nollet e Rathore, 2010).

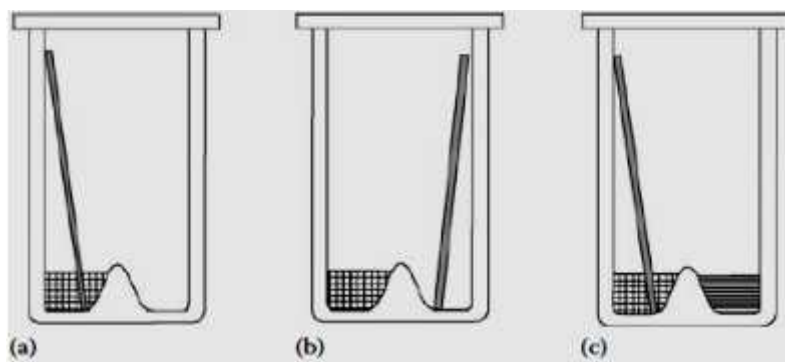


Figura 3: Câmara de cocho gémeo com várias variantes de desenvolvimento cromatográfico.

Fonte: Nollet e Rathore, 2010.

❖ Câmaras automáticas

O desenvolvimento repetido em cromatografia planar está baseado no facto de que um único desenvolvimento não resulta sempre numa separação satisfatória. As câmaras de desenvolvimento automático (“ADCs”) são especialmente confortáveis para análises de rotina devido a condições repetíveis providas pelo controlo instrumental do processo cromatográfico – daí todos os cromatogramas são repetíveis e reproduzíveis. As câmaras automáticas frequentemente empregues nas investigações são produzidas pela *Desaga* – Heidelberg, Alemanha (Desaga, 2013) e *LotharBaronLaborgerate* (LotharBaronLaborgerate, 2013). Uma nova ADC é mostrada na figura 4 (Camag, 2014). As principais vantagens são (Camag, 2014) as seguintes:

- ☞ Desenvolvimento completamente automático para placas cromatográficas de 10 × 10 cm e 20 × 10 cm;
- ☞ Os métodos manuais previamente aplicados com a câmara de cocho gémeo podem ser convenientemente adaptados para o desenvolvimento automático com a câmara ADC;
- ☞ Desenvolvimento sob condições controladas de humidade;
- ☞ Todas as operações necessárias para executar o processo de separação podem ser introduzidas do teclado complementar da câmara;



Figura 4: Câmara de desenvolvimento automático, ADC 2.

Fonte: Camag, 2014.

Todas estas operações podem ser programadas previamente e introduzidas a partir de um computador usando o software do fabricante;

- ☞ O processo completo de separação procede sem qualquer influência de operações manuais;
- ☞ Os dados pertinentes a procedimentos de separação podem ser armazenados na memória de computador e podem ser conservados e aplicados quando necessário;

O desenvolvimento cromatográfico pode ser executado sob condições de temperatura controlada usando um aparelho chamado *TLC Thermo Box* (Desaga, 2013; LotharBaronLaborgerate, 2013). O processo de separação pode ser levado a cabo a temperaturas no intervalo de 10°C a 20°C abaixo e acima da temperatura ambiente com uma precisão igual a 0.5°C.

No presente estudo foram usadas as N-câmaras.

⊕ **Aplicação da amostra**

A resolução do sistema cromatográfico é dependente do tamanho da zona de partida (ponto ou mancha) do soluto. A aplicação da amostra em forma de listras ou faixas é vantajosa no que diz respeito à resolução e análise quantitativa. A amostra pode ser aplicada à fase estacionária em forma de mancha, imersão, aspensão ou através duma seringa.

A aplicação convencional da mistura de amostra na placa cromatográfica pode ser realizada com um tubo capilar calibrado ou uma micro-seringa. Os modos mais vantajosos de aplicação da amostra podem ser realizados com um dispositivo aplicador semi- ou totalmente automatizado.

⊕ **Desenvolvimento cromatográfico**

O desenvolvimento cromatográfico em TLC pode ser realizado através da aplicação dos modos *linear e radial*.

a) *Desenvolvimento linear*

Quando a fase móvel no reservatório (câmara) é colocada em contacto com a camada do adsorvente e em seguida ocorre o movimento do eluente para a frente (figura 5a). O desenvolvimento cromatográfico é parado quando a frente de fase móvel atinge a posição desejada.

b) *Desenvolvimento radial*

O desenvolvimento radial dos cromatogramas planares pode ser realizado *circULARmente*:

Quando as amostras são aplicadas num círculo próximo do centro da placa, e o eluente abrange a placa começando do centro (figura 5b). A fase móvel é movida através da fase estacionária a partir do centro para a periferia da placa cromatográfica, e os componentes da amostra formam zonas semelhantes a anéis.

Anti-circularmente:

Quando a mistura da amostra é manchada numa circunferência na placa, e a fase móvel é movida a partir da circunferência para o centro da placa (ver figura 5c).

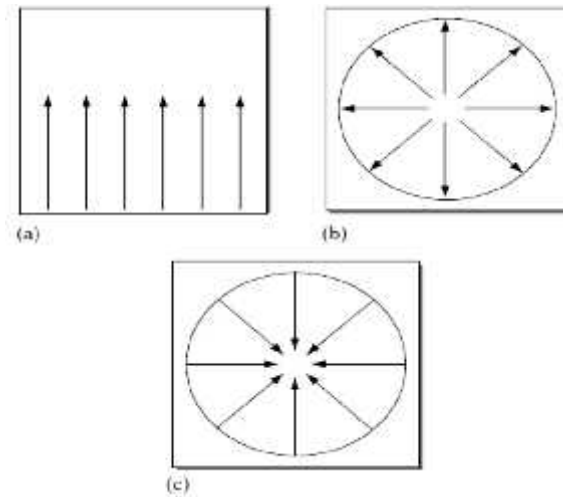


Figura 5: Modos de desenvolvimento em cromatografia planar.

Fonte: Nollet e Rathore, 2010.

A capacidade de aplicação da amostra no modo anti-circular é maior do que no modo circular, devido a longa linha de partida. Neste modo de desenvolvimento cromatográfico é especialmente observada uma boa separação com altos valores de “ R_F ”. O desenvolvimento anticircular é muito raramente aplicado na prática cromatográfica para a separação analítica planar.

No presente estudo, foi aplicado o modo de desenvolvimento linear.

2.2.2 Métodos baseados em colorimetria para análise de pesticidas

2.2.2.1 Testes colorimétricos

Os métodos de detecção colorimétrica estão ganhando cada vez mais atenção devido à sua simplicidade, rapidez, alta sensibilidade e facilidade de medição. São simples de usar, em comparação com outros métodos espectroscópicos, pois eles podem dar resultados visuais simples para detecção "a olho nu" (Sheng et al, 2008). Os testes colorimétricos, como o nome sugere, baseiam-se na detecção de uma mudança de cor induzida pela substância a analisar nas amostras (Oehme e Wolfbeis, 1997; Gunnlaugsson et al, 2004; Martinez et al, 2005). Assim eles podem superar as limitações causadas pelos métodos instrumentais tradicionais, porque não é necessário nenhum equipamento sofisticado ou preparação da amostra em seus procedimentos. Não só a alteração óbvia da cor da amostra faz o teste colorimétrico directo e conveniente, a relação linear entre a concentração da substância a analisar e a absorvância também dá resultados quantitativos estáveis (Li et al, 2011).

⊕ Método das nanopartículas de prata (“AgNPs”)

A mudança de cor das nanopartículas de prata em presença de pesticidas está associada à sua superfície de plasmon da banda de absorção, que é dependente do número de parâmetros tais como forma e tamanho das partículas, as espécies absorvidas, as propriedades dieléctricas do meio e a distância entre as partículas (Aslan et al, 2004; Guzmán et al, 2009).

⊕ Estabilidade coloidal

Um aspecto fundamental da química coloidal é a forma pela qual as partículas metálicas são estabilizadas no meio de dispersão, uma vez que pequenas partículas metálicas são instáveis

em relação à aglomeração do granel. A curtas distâncias interparticulares, duas partículas seriam atraídas uma para a outra por forças de Van der Waals. Sem o impedimento das forças repulsivas, um sol iria coagular. Há, em geral, dois métodos para alcançar oposição, electrostática e estabilização histórica.

No caso da redução de nitrato de prata por citrato de sódio, as partículas coloidais de prata estão rodeadas por uma camada dupla eléctrica proveniente dos iões citrato adsorvidos e os cátions que são por eles atraídos (um excesso de citrato de sódio é essencial para a estabilização adequada). Isto resulta numa repulsão electrostática entre as partículas que decai exponencialmente com o aumento da distância interparticular. Assim, se o potencial eléctrico associado com a repulsão electrostática de dupla camada é suficientemente alto, a aglomeração é evitada (Schmid, 2008). Se demasiado citrato de sódio é adicionado, a força iónica total do sol vai aumentar, levando a compressão da dupla camada e um intervalo reduzido de repulsão. Em última análise, o sol coagula já que as partículas não podem ser mantidas separadas.

⊕ **Agentes estabilizantes**

Antigamente, os agentes estabilizantes eram compostos orgânicos de baixo peso molecular (ácidos carboxílicos, álcoois, amidas) e polímeros naturais (gelatina, agar-agar, celulose, etc.).

Actualmente, os polímeros sintéticos são cada vez mais empregues. Alguns exemplos são: PVA (álcool polivinílico), PVP (polivinilpirrolidina), BSA (Albumina de soro bovino), citrato e celulose (Pillai e Kamat, 2004; Mavani e Shah, 2013).

Como agentes estabilizantes para nanopartículas, os polímeros fornecem melhores vantagens do que as moléculas pequenas. Porque os polímeros consistem de repetição múltipla de unidades, cada uma das quais pode apresentar ligações funcionalizadas, eles têm um grande potencial de grau de multivalência e também permitem prontamente a incorporação de múltiplos tipos de ligações funcionalizadas. Porém, as moléculas pequenas requerem afinidades muito fortes para os sítios da superfície das nanopartículas de modo a assegurar a sua estabilidade (Bonsak et al, 2011).

⊕ Métodos de fabricação de AgNPs

As técnicas que são amplamente empregues para fabricar nanoestruturas metálicas, com o foco nas nanopartículas de prata são: síntese química, deposição física do metal e técnicas litográficas (Bonsak et al, 2011). A escolha da técnica é principalmente baseada na aplicação final. Para estudos conduzidos neste trabalho, foi escolhida a técnica de síntese química.

❖ Síntese química de AgNPs

Os métodos de redução química para produzir AgNPs variam na escolha do precursor da prata, agente de redução e sua quantidade relativa e concentrações, temperatura, velocidade de agitação da mistura e duração da reacção. Pelo uso de diferentes reagentes e condições para a síntese podem ser esperadas grandes variações em tamanho, forma e distribuição das nanopartículas. Como fonte de prata, vários sais têm mostrado ter aplicabilidade, mas o nitrato de prata é de longe o mais usado. A tabela 2 lista os agentes redutores mais frequentemente usados para a síntese de AgNPs a partir de sais de prata bem como as condições para a síntese (Goia, 1998, citado por Gulamussen, 2014).

Tabela 2: Agentes redutores mais usados para a síntese de AgNPs

Agente redutor	Condições	Velocidade
Ácidos orgânicos, álcoois, polióis	$\geq 70\text{ }^{\circ}\text{C}$	Baixa
Aldeídos, açúcares	$< 50\text{ }^{\circ}\text{C}$	Moderada
Citrato	$> 70\text{ }^{\circ}\text{C}$	Moderada
Hidrazina, H_2SO_4, H_3PO_2	Temperatura ambiente	Rápida
NaBH_4, boranos	Temperatura ambiente	Muito rápida

Fonte: Goia, 1998, citado por Gulamussen, 2014.

No presente estudo foram adoptados o citrato de sódio e o nitrato de prata para sintetizar AgNPs. O método foi escolhido baseando-se na simplicidade da síntese, requerendo utensílios de fácil acesso no laboratório incluindo poucos reagentes que potencialmente podem causar interferências.

⊕ **Técnica de caracterização**

No ponto a seguir, é descrita uma técnica usada para confirmar o sucesso na formação dos produtos de síntese (AgNPs), esta técnica é espectroscopia de absorção UV-Vis. A escolha da técnica baseou-se no trabalho realizado por Zhou e Wang (2012).

❖ **Espectroscopia de absorção UV-Vis**

Nesta técnica um feixe de luz dos comprimentos de onda da região do ultravioleta e visível, atravessa pelo espécimen e a sua intensidade antes e depois da interacção com a amostra é medida de modo a determinar a luz transmitida ou absorvida pela amostra. Para nanopartículas metálicas os picos de absorção podem ser correlacionados à sua superfície de plasmon de ressonância do pico. Os picos de absorção também podem indicar os tipos de ligações numa dada molécula. Neste trabalho os espectros de absorção foram gravados por um espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 25 UV/VIS numa cuveta de quartzo de 1 cm.

3 PARTE EXPERIMENTAL

A parte experimental deste trabalho foi realizada no LNHA, onde teve a duração de 1 mês durante o Estágio Laboral.

3.1 Técnica de amostragem

Para esse trabalho usou-se a técnica descrita por Maraschin (2003), onde um barco a motor foi usado para o acesso aos pontos de amostragem. Para proceder à colecta, o barco ficou posicionado contra a corrente e a colecta foi realizada manualmente, afundando o frasco com sua boca direccionada contra o fluxo do rio, à superfície e com frascos de Van Dorm à profundidade, como vem listado nas tabelas A-2 e A-3 do Anexo A. Após o enchimento os frascos foram colocados em caixa térmica com gelo e transportados até ao Laboratório para os procedimentos analíticos, onde foram conservados de acordo com as normas descritas pelos métodos 619 e 622 da EPA.

3.2 Materiais e equipamento

Provetas de 50 e 100 mL; Funil de separação de 500 mL; Funil simples de vidro; Copos de Becker de 50 mL; Tubos capilares; Suporte para funil de separação; Balões de fundo chato de 250 mL; Balão de Erlenmeyer de 250 mL; Pipetas graduadas de 0,1; 1; 5 e 10 mL; Balões volumétricos de 50; 100 e 200 mL; Espátulas; Placas de *sílica gel* para TLC; Lápis; Balança analítica da marca *Sartorius QUINTX 224-1S*; Evaporador rotatório da marca *BÜCHI Rotavapor R-114*; Estufa de secagem da marca *Memmert*; Câmaras de desenvolvimento vertical da *Camag* para TLC; Placa de agitação com aquecimento (da marca *STUART*).

3.3 Reagentes

- ☞ Diclorometano, acetona, n-hexano e metanol, *com pureza para HPLC*;
- ☞ Sulfato de sódio anidro, cloreto de sódio a 4%, azul de bromofenol, cloreto de paládio II, citrato de sódio, nitrato de prata, cloreto de potássio, ácido clorídrico, hidróxido de sódio, hidrogenoftalato de potássio, dihidrogenoftalato de potássio, borax (tetraborato de sódio decahidratado), hidrogenocarbonato de sódio, *de grau analítico*;
- ☞ *Atrazina* (Sigma - Aldrich, pureza de 99,0 %) e *hexaclorobenzeno* (Dr. Ehrenstorfer, pureza de 99,5 %).

Todas as manipulações experimentais e colheita de dados foram realizadas à temperatura ambiente. As soluções-tampão (para o caso do método das AgNPs) foram prontamente preparadas pela dissolução de quantidades conhecidas de sais de metais em água ultrapura obtida de um sistema Millipore com a condutividade eléctrica de 0.084 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

As análises referentes ao método de TLC foram feitas seguindo a metodologia usada no LNHA, ver figura 6.

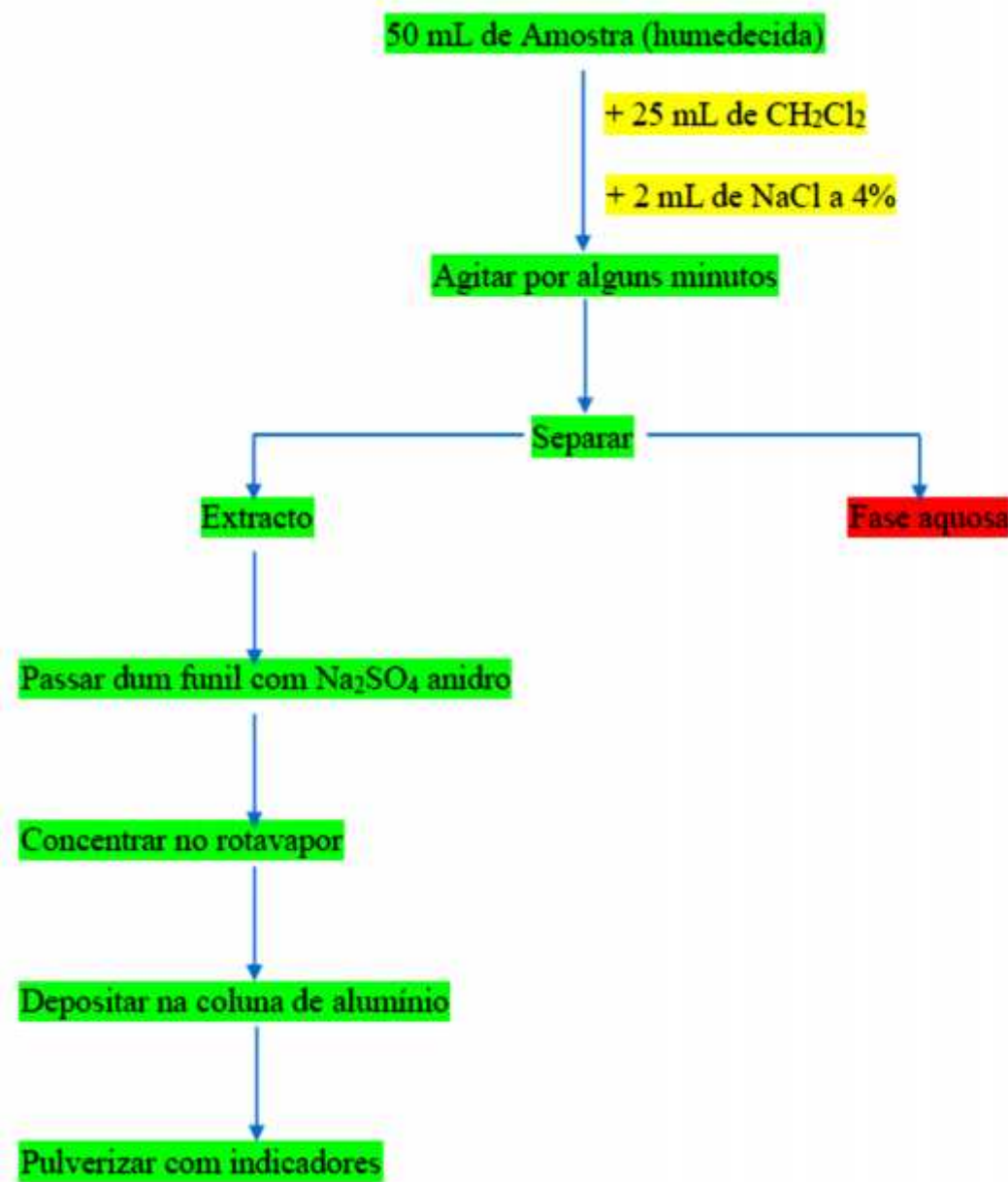


Figura 6: Fluxograma da determinação de pesticidas organoclorados por TLC.

As placas cromatográficas foram reveladas pulverizando-as com *Azul de bromofenol* (para pesticidas organoclorados).

3.4 Procedimentos para a síntese das AgNPs

1. Foram pipetados 20 mL de AgNO₃ a 1mM, para um balão de Erlenmeyer de 250 mL e aqueceu-se à ebulição (temperatura de aquecimento = 225 °C) e com uma agitação de ~ 1,2 rpm;
2. Adicionaram-se 6,5 mL de citrato de sódio a 38 mM, gota a gota a uma velocidade de ~ uma gota por segundo. Depois de ~ 5 min começou a aparecer a cor amarela e esperou-se por mais 3 min exactos, para ter uma cor com maior intensidade e terminar-se o processo de síntese com a interrupção imediata da agitação e aquecimento.

3.4.1 Testes colorimétricos para atrazina

Com a finalidade de realizar os ensaios colorimétricos com as AgNPs, preparou-se uma solução a 64 mg/L de atrazina. Este valor tão alto de concentração visava a rápida detecção das possíveis mudanças no meio (AgNPs), com a adição da atrazina. Um estudo minucioso foi feito avaliando o comportamento da cor das AgNPs + atrazina em função do pH do meio.

3.4.1.1 Optimização do pH do meio para a detecção da atrazina

A optimização foi feita no intervalo compreendido entre pH 2 e 13. As soluções-tampão usadas foram preparadas usando os procedimentos da tabela 3. O pH das soluções foi monitorado usando um pH metro digital da marca *inoLab pH 730*, calibrado com soluções-padrão de tampão de pH 4 e 7 a 19±1°C.

Análise qualitativa de pesticidas em amostras de água do rio dos Elefantes na zona da Barragem de Massingir

Preparação das soluções-tampão

✎ Antes de se efectuarem as misturas mencionadas na tabela 3 foram cuidadosamente preparadas as soluções-mãe fundamentais para obtenção dos sistemas-tampão. Em seguida foram apenas feitas as misturas nas proporções adequadas para obtenção dos diferentes pHs.

Tabela 3: Preparação do pH das soluções-tampão

pH pretendido	Mistura executada	Volume final da mistura
pH = 2,00	50 mL de 0,2 M KCl + 13,0 mL de 0,2 M HCl	V _F = 63 mL
pH = 3,00	50 mL de 0,1 M HFtP + 22,3 mL de 0,1 M HCl	V _F = 72,3 mL
pH = 4,00	50 mL de 0,1 M HFtP + 0,1 mL de 0,1 M HCl	V _F = 50,1 mL
pH = 5,00	50 mL de 0,1 M HFtP + 22,6 mL de 0,1 M NaOH	V _F = 72,6 mL
pH = 6,00	50 mL de 0,1 M KH ₂ PO ₄ + 5,6 mL de 0,1 M NaOH	V _F = 55,6 mL
pH = 7,00	50 mL de 0,1 M KH ₂ PO ₄ + 29,1 mL de 0,1 M NaOH	V _F = 79,1 mL
pH = 8,00	50 mL de 0,1 M KH ₂ PO ₄ + 46,7 mL de 0,1 M NaOH	V _F = 96,7 mL
pH = 10,00	50 mL de 0,025 M Borax + 18,3 mL de 0,1 M NaOH	V _F = 68,3 mL
pH = 11,00	50 mL de 0,05 M NaHCO ₃ + 22,7 mL de 0,1 M NaOH	V _F = 72,7 mL
pH = 12,00	50 mL de 0,2 M KCl + 12,0 mL de 0,2 M NaOH	V _F = 62 mL
pH = 13,00	12,5 mL de 0,2 M KCl + 33,0 mL de 0,2 M NaOH	V _F = 45,5 mL

Fonte: Adaptada de Delloyd's Lab Tech resources reagents and Solutions, 2014.

3.4.1.2 Preparação das soluções-padrão da atrazina para a construção da curva de calibração

As soluções-padrão foram preparadas por diluição de volumes conhecidos em balões de 10 mL, pipetados a partir duma solução *stock* de atrazina a 40 mg/L.

3.4.2 Testes colorimétricos para HCB

As nanopartículas preparadas foram testadas para o HCB, usando um procedimento similar ao da atrazina, com uma solução de HCB a 40 mg/L.

3.4.2.1 Optimização do pH do meio para a detecção do HCB

A optimização foi feita no mesmo intervalo de pH da atrazina (de pH 2 a 13), da seguinte maneira:

- ☞ A 1 mL de AgNPs foi adicionado 1 mL de tampão e 1mL de HCB para uma concentração final de 13,33 mg/L. O espectro de absorção foi registado após 20 min.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Resultados do ensaio preliminar para determinação de pesticidas totais organoclorados

Antes que se começasse a fazer detecção e possível quantificação dos pesticidas de interesse, fez-se um ensaio preliminar que tinha em vista a quantificação de pesticidas totais presentes nas amostras. A tabela 4 mostra os resultados que foram obtidos do tal ensaio.

Tabela 4: Resultados da determinação dos pesticidas totais organoclorados

Código da amostra	Deteção de pesticidas organoclorados
S₁	Ausente
S₂	Ausente
S₃	Ausente
S₄	Ausente
S₅	Ausente
S₆	Ausente
S₇	Ausente
S₈	Ausente
P₁	Ausente
P₂	Ausente
P₃	Ausente
P₄	Ausente
P₅	Ausente
P₆	Ausente
P₇	Ausente
P₈	Ausente

Os resultados destas análises deram negativos para presença dos pesticidas organoclorados, possivelmente porque a quantidade de pesticidas existentes na água

estava abaixo do limite de detecção (cerca de 1 ng/ μ L, equivalente a 1 mg/L) de acordo com estudos de Moraes et al (2002), para o método da cromatografia em camada fina.

4.2 Síntese das AgNPs

A reacção global de redução química envolve agentes de redução que são reagidos com o sal do metal de acordo com a equação:



No estudo da redução do ião metálico pelo citrato de sódio, foi constatado que os iões citrato, não somente actuam como agentes redutores, como também estabilizam as nanopartículas formadas para prevenir a sua agregação.

Entretanto, tinha que haver suficiente citrato de sódio na solução para reduzir os iões metálicos e estabilizar as partículas da maneira como ocorreu a reacção (ver figura 7). Caso demasiado citrato de sódio fosse adicionado à solução sob as mesmas condições de agitação e aquecimento, as AgNPs agregavam-se e adquiriam uma cor vermelho tijolo (ver figura 8).



Figura 7: Nanopartículas de prata na sua cor adequada (amarelo dourado), quando não há excesso ou défice nas condições de preparação.



Figura 8: Cor das nanopartículas de prata quando se exagera a quantidade de citrato de sódio adicionada à solução de $AgNO_3$.

4.2.1 Princípios de detecção da atrazina usando o teste colorimétrico das AgNPs

A atrazina é uma molécula que contém dois grupos amino (-NH₂) exocíclicos e um anel híbrido trinitrogenado. Duas combinações possíveis podem resultar da combinação com as AgNPs. A formação duma ligação covalente das AgNPs com os grupos amino exocíclicos e atracção electrostática pelo ião citrato carregado negativamente com a atrazina protonada, já que a molécula da atrazina é uma base fraca. Estas combinações podem causar enriquecimento da capacidade de absorção do composto, aumentando a sensibilidade do analito o que pode ser usado para a análise quantitativa (Gulamussen, 2014).

4.2.1.1 Optimização das condições do meio reaccional

A interacção das AgNPs com a atrazina pode ser afectada pelo pH do meio. A atrazina é uma base fraca (pK_a = 1,7) e o pH do meio pode afectar a forma da atrazina na solução aquosa. O pH do meio foi variado no intervalo de 2 a 13. A mudança do pH do meio foi acompanhada pela mudança e intensificação da cor ao pH 4 e 11, conforme pode ser visualizado na figura 9. Porém, o espectro de absorção revelou que é ao nível do pH 11 onde regista-se a absorção máxima, cujo pico ocorre aos 513,03 nm (ver figuras 10 e 11).



Figura 9: Efeito do pH no teste colorimétrico das AgNPs para atrazina.

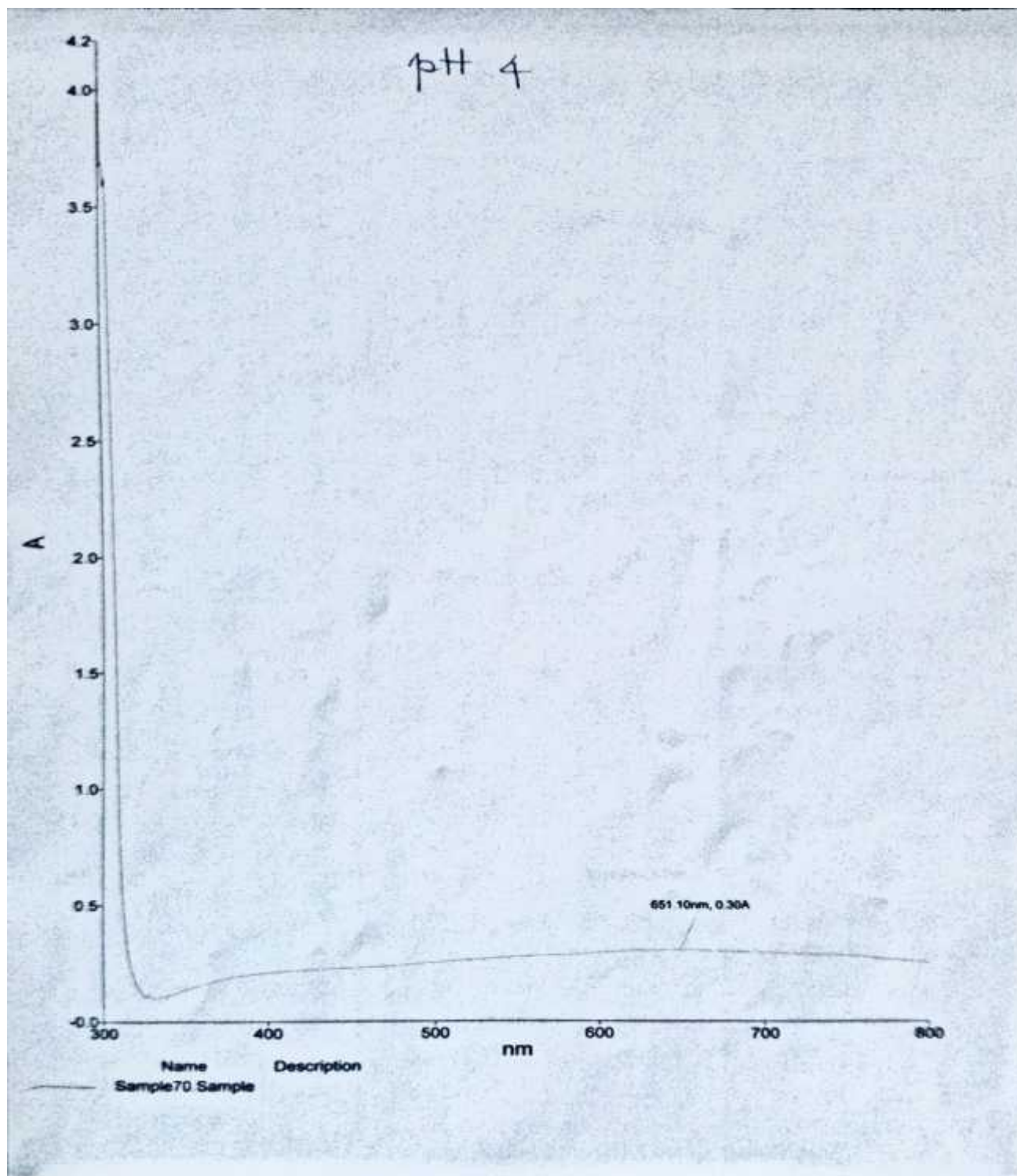


Figura 10: Espectro de absorção da atrazina + AgNPs a pH 4.

Fonte: Imprimido de um espectrofotômetro Perkin Elmer Lambda 25 UV/VIS

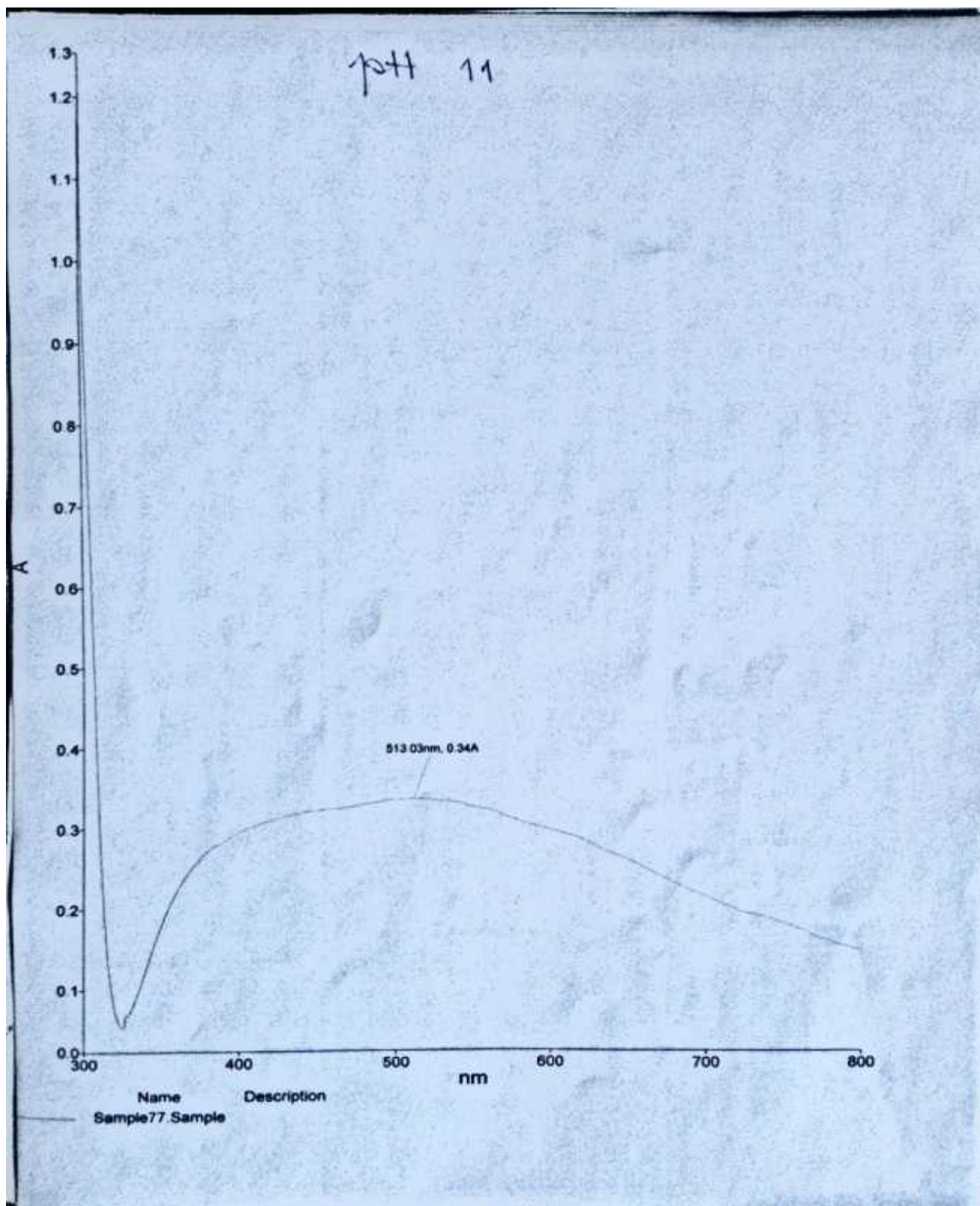


Figura 11: Espectro de absorção da atrazina + AgNPs a pH 11.

Fonte: Imprimido de um espectrofotômetro Perkin Elmer Lambda 25 UV/VIS

Análise qualitativa de pesticidas em amostras de água do rio dos Elefantes na zona da Barragem de Massingir

Tendo como base o facto de poder realizar uma análise quantitativa, foi construída uma curva de calibração para atrazina ao pH adequado (pH = 11) da determinação usando AgNPs (ver figura 12).

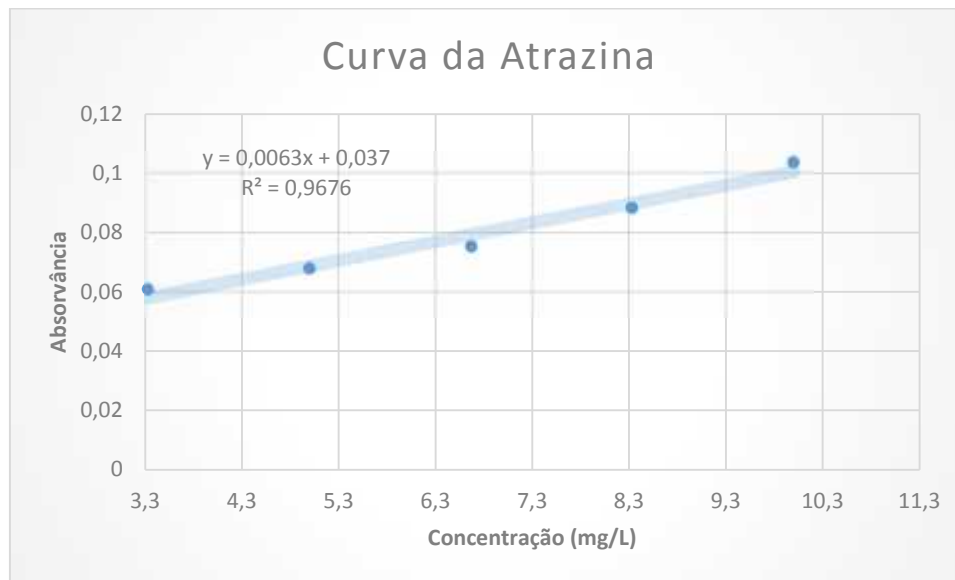


Figura 12: Curva de calibração da atrazina.

Com os resultados da curva de calibração foram calculados usando o programa Microsoft Excel, os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ). Ver os limites na tabela 5:

Tabela 5: Valores de LD e LQ calculados a partir dos dados da curva da atrazina

Pesticida	Limite de detecção	Limite de quantificação
Atrazina	1,84 mg/L	5,57 mg/L

Com base nos dados acima já podem ser feitas as determinações de atrazina em amostras de água provenientes de rios, barragens, lagos situados próximo das zonas onde ocorre aplicação dos pesticidas.

4.2.2 Princípios de detecção do HCB

4.2.2.1 Efeito do pH na determinação do HCB

O pH do meio foi também variado no intervalo de 2 a 13. Mas diferentemente do caso da atrazina, a adição do HCB não proporcionou alteração perceptível na cor das AgNPs, o que deu a entender que ele não podia ser determinado pelo método em teste. Além disso os espectros de absorção confirmaram que na zona entre os 400 - 800 nm não houve a formação do pico esperado, que seria o resultado da alteração da cor provocada pela presença do HCB (ver figura 13).

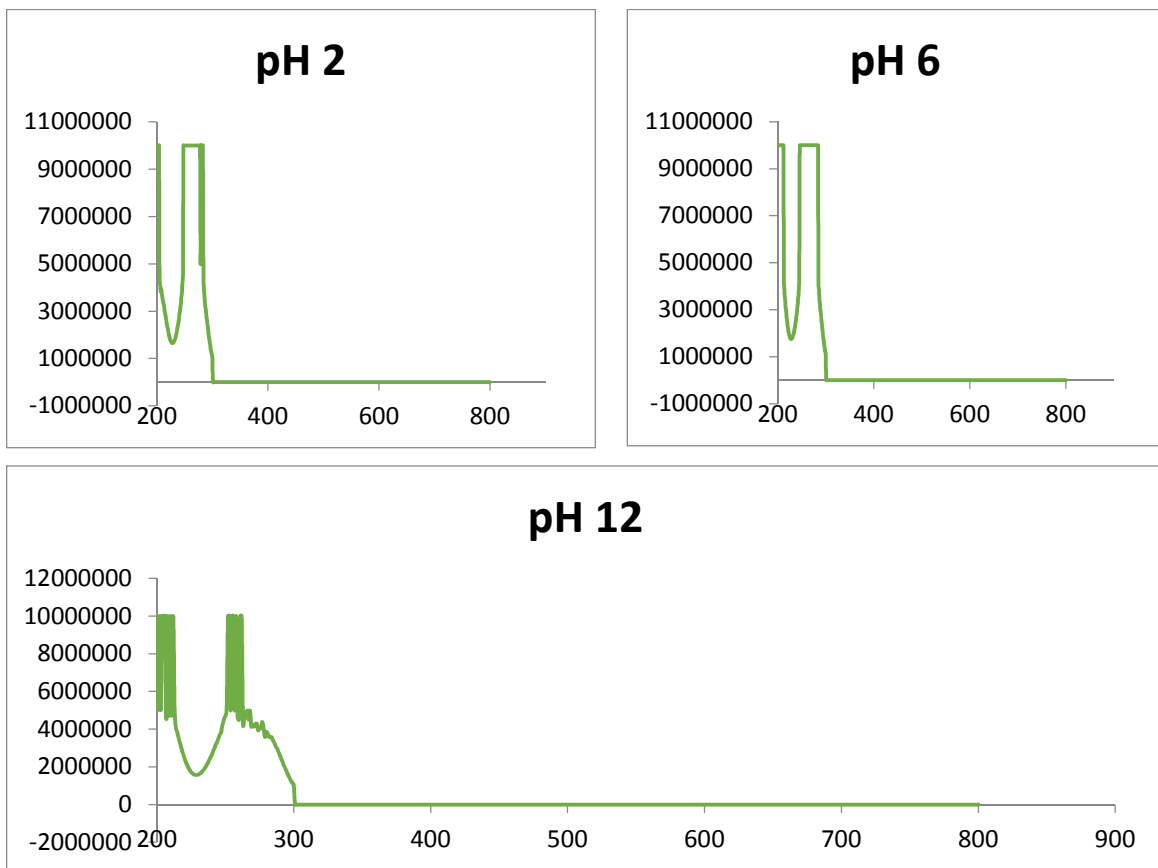


Figura 13: Espectros de algumas amostras com pHs fixos (2, 6 e 12).

4.2.3 Estudo de interferências

O estudo realizado por Gulamussen (2014), mostrou que o HCB não constitui interferência na determinação de outros pesticidas usando o método das AgNPs, facto que foi confirmado no presente estudo.

5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

5.1 Conclusões

- ☞ Foi usado o método de cromatografia em camada fina para a análise de pesticidas totais organoclorados, em 16 amostras de águas da Barragem de Massingir, onde não foi possível detectar os analitos provavelmente por se apresentarem em concentrações abaixo do limite de detecção;
- ☞ As nanopartículas de prata sintetizadas foram aplicadas em testes colorimétricos para atrazina e hexaclorobenzeno. O princípio de agregação induzida por condições específicas dos analitos foi explorado para a conquista desta vitória. O método proposto pode ser usado para a determinação da atrazina em amostras de água com limites de detecção e quantificação de 1,84 mg/L e 5,57 mg/L, respectivamente. A tentativa de determinar o HCB usando o método fracassou devido à sua inércia à mudança de cor, quando submetido a diferentes pHs.
- ☞ O método desenvolvido mostrou ser simples, rápido e de alta sensibilidade, na determinação da atrazina.

5.2 Recomendações

- ☞ O método desenvolvido constitui uma base para análise rápida da atrazina, que pode ser usada pelo LNHA, no controlo da qualidade da água;
- ☞ Recomenda-se também, desenvolver o método das nanopartículas de prata para a determinação de outros pesticidas organoclorados e organofosforados em amostras de sedimentos, plantas e peixes. A possibilidade de determinação de pesticidas nesses diferentes meios, poderá aprimorar o monitoramento da saúde do meio ambiente com o uso duma técnica rápida e eficiente na determinação de pesticidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aslan, K. et al. (2004). Nano gold-plasmon-resonance-based glucose sensing. *Analytical Biochemistry*. 330(1): p. 145-155.
2. Bonsak, J. et al. (2011). Chemical synthesis of silver nanoparticles for solar cell applications. *Physical status solidi (c)*. 8(3): p. 924-927.
3. Camag. (2014). Acedido em 08 de Abril de 2014, em: www.camag.com.
4. Delloyd's Lab Tech resources reagents and Solutions. (2014). Acedido em 08 de Janeiro de 2014, em: <http://delloyd.50megs.com/moreinfo/buffers2.html>.
5. Desaga. (2013). Acedido em 30 de Dezembro de 2013, em: <http://www.sarstedt.com/php/main.php?newlanguage=en>.
6. EPA. (2014). *Pesticides*. Acedido em 17 de Janeiro de 2014 em: <http://www.epa.gov/pesticides/>.
7. Faria, L. J. D. S. (2004). *Avaliação de diferentes sorventes na extração em fase sólida de pesticidas em água. Desenvolvimento e validação da metodologia*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Campinas. 79 p. Acedido em 09 de Dezembro de 2013, em: <http://biq.iqm.unicamp.br/arquivos/teses/vtIs000349402.pdf>.
8. Filho, C. F. S. (2009). *Determinação de resíduos dos pesticidas pirimetanil, pirimicarbe e buprofezina em águas ambientais por SPME e GC-MS*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão. 117 p. Acedido em 09 de Dezembro de 2013, em: http://bdtd.ufs.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=205.

9. Geiss, F. (1987). *Fundamentals of Thin-Layer Chromatography*. Dr. Alfred Huthig Verlag, Heidelberg, Germany. p. 278-286.
10. Goia, D. (1998). Preparation of monodispersed metal particles. *New Journal of Chemistry*. 22(11): p. 1203-1215.
11. Google Maps. (2014). Acedido em 03 de Agosto de 2014, em: <https://www.google.co.mz/maps/@-25.8962586,32.6106835,12z?hl=pt-PT>.
12. Gulamussen, N. J. (2014). *Electrospun Sorbents for Solid Phase Extraction (SPE) and Colorimetric Detection of Pesticides*. Dissertação de Mestrado. Rhodes University. 109 p.
13. Gunnlaugsson, T. et al. (2004). Highly Selective Colorimetric Naked-Eye Cu (II) Detection Using an Azobenzene Chemosensor. *Organic Letters*. 6(Copyright (C) 2012 American Chemical Society): p. 1557-1560.
14. Guzmán, M. G. et al. (2009). Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity. *International Journal of Chemical and Biomolecular Engineering*. 2(3): p. 104-111.
15. Kurz, M. H. S. (2007). *Estudo de métodos empregando extracção em fase sólida e análise por HPLC-DAD e GC-ECD para a determinação de resíduos de pesticidas em águas e da degradação a campo*. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS, Brasil. Acedido em 09 de Dezembro de 2013, em: http://www.livrosgratis.com.br/arquivos_livros/cp025227.pdf.
16. Li, M. et al. (2011). Highly selective in situ metal ion determination by hybrid electrochemical adsorption-desorption and colorimetric methods. *Analytica Chimica Acta*. 701: p. 157-163.

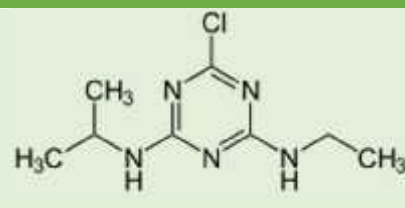
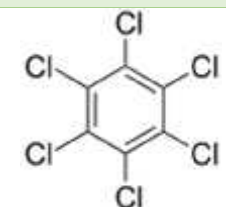
17. LotharBaronLaborgerate. (2013). Acedido em 30 de Dezembro de 2013, em: www.baron-lab.de.
18. Mandlate, J. S. (2007). *Metais pesados (Cr, Ni, Pb e Zn) em sedimentos da Barragem de Massingir e seus impactos ambientais*. Trabalho de Licenciatura. Universidade Eduardo Mondlane, Maputo. 83 p.
19. Maraschin, L. (2003). *Avaliação do grau de contaminação por pesticidas na água dos principais rios formadores do Pantanal Mato-Grossense*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá. 90 p.
20. Martinez, R. et al. (2005). New Hg²⁺ and Cu²⁺ Selective Chromo- and Fluoroionophore Based on a Bichromophoric Azine. *Organic Letters*. 7(Copyright (C) 2012 American Chemical Society): p. 5869-5872.
21. Martins, M. L. (2004). *Determinação de pesticidas e compostos relacionados em água de superfície e efluente industrial empregando extração em fase sólida e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. Acedido em 09 de Dezembro de 2013, em: http://cascavel.cpd.ufsm.br/tede/tde_arquivos/6/TDE-2008-01-03T190543Z-1219/Publico/MANOEL%20MARTINS.pdf.
22. Mavani, K. e Shah, M. (2013). Synthesis of Silver Nanoparticles by using Sodium Borohydride as a Reducing Agent. *International Journal of Engineering Research & Technology*. 2(3): 5 p.
23. Moraes, S. L. et al. (2002). Análise de resíduos de pesticidas em tomates por cromatografia em camada delgada. *Química Nova*. 25(2): p. 196-202.

24. Nhamundo, L. P. (2007). *Determinação de metais pesados em águas da Barragem de Massingir e seus efeitos ambientais*. Trabalho de Licenciatura. Universidade Eduardo Mondlane. Maputo. 84 p.
25. Nollet, L. M. L. e Rathore, H. S. (2010). *Handbook of pesticides. Methods of pesticides residues analysis*. CRC Press. Taylor & Francis Group. [Versão electrónica].
26. Oehme, I. e Wolfbeis, O.S. (1997). Optical sensors for determination of heavy metal ions. *Microchimica Acta*. 126(Copyright (C) 2012 American Chemical Society): p. 177-192.
27. Pillai, Z. S. e Kamat, P. V. (2004). What Factors Control the Size and Shape of Silver Nanoparticles in the Citrate Ion Reduction Method? *Journal Physical Chemistry B*. 108: p. 945-951.
28. Santos, A. S. M. S. J. (2010). *Avaliação de diferentes sorventes para extracção em fase sólida de pesticidas em água*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE. 73 p. Acedido em 09 de Dezembro de 2013, em: http://bdtd.ufs.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=388.
29. Schmid, G. (2008). *Clusters and colloids*: John Wiley & Sons. Weinheim, Germany. p.13-56.
30. Sheng, R. et al. (2008). Colorimetric Test Kit for Cu²⁺ Detection. *Organic Letters*. 10(Copyright (C) 2012 American Chemical Society): p. 5015-5018.
31. Zhou, G. e Wang, W. (2012). Synthesis of Silver Nanoparticles and their Antiproliferation against Human Lung Cancer Cells In vitro. *Oriental Journal of Chemistry*. 28(2): p. 651-655.

ANEXOS

ANEXO A

Tabela A - 1: Identificação e propriedades físico-químicas dos pesticidas seleccionados

Nome comum	Nome IUPAC	Grupo	Peso molecular (g/mol)	Solubilidade em água em mg/L (20°C)	pK _b	pK _{ow}	Estrutura
Atrazina	1-cloro-3-etilamino-5-isopropilamino-2,4,6-triazina	Herbicida	215,68	33	12,3	2,7	
Hexaclorobenzeno	1, 2, 3, 4, 5, 6 – Hexaclorobenzeno	Fungicida	284,78	6,20		5,89	

Fonte: Adaptada de Gulamussen, 2014.

Legenda: $pK_b = -\log(K_b)$, onde K_b é a constante de basicidade.

$pK_{ow} = -\log(K_{ow})$, K_{ow} é o coeficiente de partição octanol – água.

Análise qualitativa de pesticidas em amostras de água do rio dos Elefantes na zona da Barragem de Massingir

Tabela A - 2: Valores dos parâmetros correspondentes aos pontos de amostragem na superfície

Pontos de Amostragem/Parâmetros	Distância da margem (m)	Temperatura da Água (° C)	pH	Condutividade (µS)	TDS (ppm)
S₁	18,0	25,5	8,49	326	162
S₂	24,2	26,5	8,42	329	164
S₃	20,2	26,9	8,53	331	166
S₄	16,5	27,4	8,62	333	167
S₅	12,3	27,1	8,35	347	173
S₆	9,1	26,5	8,42	342	171
S₇	12,7	26,7	8,58	341	171
S₈	6,6	27,4	8,05	337	168

Análise qualitativa de pesticidas em amostras de água do rio dos Elefantes na zona da Barragem de Massingir

Tabela A - 3: Valores dos parâmetros correspondentes aos pontos de amostragem numa determinada profundidade

Pontos de Amostragem/Parâmetros	Profundidade da recolha da amostra (m)	Temperatura da Água (° C)	pH	Condutividade (µS)	TDS (ppm)
P ₁	16,0	24,2	7,88	327	164
P ₂	22,0	24,0	7,88	330	165
P ₃	18,0	24,3	7,84	329	165
P ₄	14,5	25,1	7,75	332	166
P ₅	10,4	26,5	8,12	346	174
P ₆	8,0	26,3	8,38	347	173
P ₇	10,0	28,6	8,22	341	170
P ₈	5,6	26,3	8,05	343	171