

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA

FILIPPE HAHN BUENO

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS PARA A ANÁLISE DO TEOR DE  
PESTICIDAS EM ÁGUA UTILIZANDO A TÉCNICA SPME EM *HEADSPACE*  
PARA EXTRAÇÃO DAS AMOSTRAS ANALISADAS EM GC-MS**

Porto Alegre, 2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA

FILIPPE HAHN BUENO

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS PARA A ANÁLISE DO TEOR DE  
PESTICIDAS EM ÁGUA UTILIZANDO A TÉCNICA SPME EM *HEADSPACE*  
PARA EXTRAÇÃO DAS AMOSTRAS ANALISADAS EM GC-MS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado  
junto à atividade de ensino “Projeto  
Tecnológico” do Curso de Química Industrial,  
como requisito parcial para a obtenção do grau  
de Químico Industrial

Prof. Dra. Tânia Mara Pizzolato  
Orientadora

Prof. Dr. Marco Flôres Ferrão  
Co-orientador

Porto Alegre, 2012

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, por minha vida ser repleta de oportunidades e realizações e ter presentes pessoas tão maravilhosas.

À professora Tânia Mara Pizzolato, por sua disponibilidade em orientar este trabalho e principalmente pela forma compreensiva e bem-humorada como realizou a orientação.

Ao professor Marco Flôres Ferrão, por sua contribuição.

À Divisão de Pesquisa do DMAE, por autorizar o desenvolvimento deste trabalho em suas dependências.

À Liliana Bitencourt Almeida, minha supervisora, grande amiga e exemplo de liderança, por ter depositado sua confiança em mim e por todo o apoio dado.

Aos colegas Carlos, Cristiano, Elisa, Flávio, Izabelle, Patrícia e Thomaz, pelas conversas, coleguismo e por terem ajudado a suportar os momentos tensos.

Aos meus pais, por terem me criado e educado nos princípios da moral e da ética, sem descuidar do carinho e da dedicação.

Aos meus irmãos, por sempre servirem como exemplo e mostrarem os caminhos a serem seguidos.

A todos que de alguma forma participaram e contribuíram em minha vida.

E principalmente, à Roberta Camboim Corrêa, minha guia, minha musa, minha luz, minha paz, minha namorada, por todo o seu amor, carinho, consolo, inspiração, companhia, nas horas mais difíceis e também nas mais felizes.

## RESUMO

O controle do teor de defensivos agrícolas em água vem sendo realizado desde que alguns destes foram considerados como perigosos à saúde humana e ao meio ambiente e vieram a ter sua produção e utilização proibida. Estes compostos são persistentes na natureza e acabam por contaminar a água e o solo, fazendo com que seja necessário monitorar suas presenças nas águas dos mananciais e distribuídas às populações.

O método utilizando a técnica SPME em *headspace* aplicada em GC-MS pode ser eficaz para análise de pesticidas em água, e assim substituir o método SPE, utilizado atualmente, conferindo maior agilidade, menores custos e impacto ambiental ao processo. O objeto de interesse deste trabalho são os pesticidas controlados pela portaria nº 2914 do Ministério da Saúde.

Para a formulação da proposta de desenvolvimento, foram avaliados alguns parâmetros da extração, como o recobrimento da fibra, o volume de amostra/*headspace* e a força iônica da solução. Outros parâmetros de extração, como pH da amostra aquosa, temperatura de extração e tempo de desorção foram estudados por outros pesquisadores e seus resultados foram adotados por este trabalho.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Funil de separação para extração líquido-líquido .....	12
Figura 2: Cartucho de extração em fase sólida.....	13
Figura 3: As quatro etapas da extração em fase sólida.....	14
Figura 4: Algumas das fibras utilizadas na técnica, o suporte para as mesmas e o <i>rack</i> que se prende magneticamente ao amostrador automático .....	16
Figura 5: Cromatógrafo a gás da marca Varian, modelo 3900, acoplado a espectrômetro de massas Saturn 2100T e equipado com amostrador automático Combi Pal, equipamento da SCPA no setor de Cromatografia a Gás do DMAE .....	17
Figura 6: Sistema para extração em fase sólida utilizado para pré-concentração de pesticidas das amostras de água.....	19
Figura 7: Cromatógrafo a gás da marca Varian, modelo 3800, equipamento da SCPA no setor de Cromatografia a Gás do DMAE.....	20
Figura 8: Comparação dos melhores resultados gerais obtidos com cada fibra.....	39

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Alguns dos pesticidas controlados pela portaria nº 2914 do Ministério da Saúde, com seus respectivos CAS e VMP (valor máximo permitido).....	24
Tabela 2: Resultados para a razão S/N de cada um dos compostos de interesse obtidos com a utilização da fibra azul no Método 1.....	28
Tabela 3: Resultados para a razão S/N de cada um dos compostos de interesse obtidos com a utilização da fibra cinza no Método 1.....	29
Tabela 4: Resultados para a razão S/N de cada um dos compostos de interesse obtidos com a utilização da fibra vermelha no Método 1.....	30
Tabela 5: Comparação dos resultados obtidos com a fibra cinza utilizando 15% (massa/volume) de NaCl nas soluções de trabalho nos Métodos 1 e 2.....	33
Tabela 6: Resultados para a razão S/N de cada um dos compostos de interesse obtidos com a utilização da fibra azul no Método 2.....	34
Tabela 7: Resultados para a razão S/N de cada um dos compostos de interesse obtidos com a utilização da fibra cinza no Método 2.....	35
Tabela 8: Resultados para a razão S/N de cada um dos compostos de interesse obtidos com a utilização da fibra vermelha no Método 2.....	37
Tabela 9: Comparação dos melhores resultados obtidos com cada fibra.....	38
Tabela 10: Tempo de retenção, massa molar e íons produto para cada um dos compostos detectados utilizando o Método 2 para a extração.....	40
Tabela 11: Custos dos materiais de extração para cada técnica.....	41

## LISTA DE SIGLAS

CAR – Carboxen

CAS – do inglês *Chemical Abstracts Service Number*, (Número de Registro de Substâncias)

CGL – Cromatografia Gás-Líquido

CGS – Cromatografia Gás-Sólido

CONAMA – Conselho Nacional de Meio Ambiente

DMAE – Departamento Municipal de Água e Esgoto (de Porto Alegre)

DDD – Dicloro Difenil Dicloro Etano

DDE – Dicloro Difenil Dicloro Etileno

DDT – Dicloro Difenil Tricloroetano

DVB – Divinilbenzeno

DVP – Divisão de Pesquisa

GC – do inglês *Gas Chromatography* (Cromatografia a Gás)

GC-MS – do inglês *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (Cromatografia a Gás acoplada a Espectrometria de Massas)

HPLC – do inglês *High Performance/Pressure Liquide Chromatography* (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)

HPLC-MS – do inglês *High Performance/Pressure Liquide Chromatography-Mass Spectrometry* (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas)

LLE – do inglês *Liquid-Liquid Extraction* (Extração Líquido-Líquido)

MS – do inglês *Mass Spectrometry* (Espectrometria de Massas)

ODS – Octadecilsiloxano

PDMS – Polidimetilsiloxano

SCPA – Seção de Pesquisa Aplicada

S/R – Razão Sinal Ruído

SPE – do inglês *Solid-Phase Extraction* (Extração em Fase Sólida)

SPME – do inglês *Solid Phase Micro Extraction* (Micro-Extração em Fase Sólida)

VMP – Valor Máximo Permitido

## SUMÁRIO

<b>1. APRESENTAÇÃO.....</b>	<b>09</b>
<b>2. HISTÓRICO – ESTADO DA ARTE .....</b>	<b>11</b>
2.1 EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO (LLE).....	11
2.2 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE) .....	13
<b>2.2.1 Condicionamento .....</b>	<b>13</b>
<b>2.2.2 Adsorção .....</b>	<b>13</b>
<b>2.2.3 Lavagem .....</b>	<b>14</b>
<b>2.2.4 Eluição .....</b>	<b>14</b>
2.3 MICRO-EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPME) .....	15
2.4 CROMATOGRAFIA A GÁS ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS (GC-MS) .....	16
<b>3. SITUAÇÃO ATUAL .....</b>	<b>19</b>
<b>4. OBJETIVOS .....</b>	<b>21</b>
<b>5. PROPOSTA TECNOLÓGICA .....</b>	<b>22</b>
<b>6. METODOLOGIA .....</b>	<b>23</b>
6.1 PADRÕES E REAGENTES .....	23
6.2 INSTRUMENTAÇÃO .....	25
6.3 EXTRAÇÃO COM SPME.....	25
<b>7. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>27</b>
7.1 MÉTODO DE EXTRAÇÃO 1 .....	27
7.2 MÉTODO DE EXTRAÇÃO 2.....	31
7.3 LEVANTAMENTO DE CUSTOS .....	41
<b>8. CONCLUSÃO CRÍTICA .....</b>	<b>43</b>
<b>9. BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>44</b>



## 1. APRESENTAÇÃO

O grande emprego de pesticidas orgânicos na agricultura desde 1940 promoveu, além de colheitas com qualidade, um aumento na produtividade possibilitando o atendimento da demanda alimentícia na maioria dos países.

Apesar dos benefícios que trazem os pesticidas, o problema de intoxicações por defensivos agrícolas preocupa as autoridades, especialmente pelo fato de que essas intoxicações acontecem pela ingestão gradativa destes produtos que contaminam a água, o solo e uma variedade de alimentos. O uso de muitos destes compostos foi proibido devido à constatação do efeito cumulativo e prejudicial, que ocorre pela transferência de pequenas quantidades ao longo das cadeias alimentares.

O emprego de pesticidas organoclorados, nas últimas décadas, tem produzido acumulação de resíduos tóxicos em vários ecossistemas em todo mundo. A concentração destes compostos tem alcançado níveis tóxicos em vários organismos terrestres, como pássaros e mamíferos, assim como em organismos aquáticos. Os resíduos de pesticidas organoclorados têm se tornado parte intrínseca dos ciclos biológicos, geológicos e químicos da Terra e têm sido detectados no ar, água, solo, plantas, invertebrados marinhos e mesmo, na neve e em pinguins da Antártica e do Ártico onde eles não são empregados.

Os pesticidas organoclorados são relativamente inertes e sua alta estabilidade está relacionada às ligações carbono-cloro. Estes compostos são muito estudados devido à alta toxicidade, baixa biodegradabilidade e biossolubilidade em tecido lipídico. Alguns destes compostos podem persistir por 15 a 20 anos no solo e parte destes serem arrastados pelas chuvas (por lixiviação) para o interior dos cursos de água, que também recebem estes compostos através de efluentes industriais, de esgotos, de sedimentos, da atmosfera e por contaminação direta durante a aplicação. Assim, tanto as águas de mananciais de rios e represas que abastecem as populações, quanto os peixes que se alimentam de materiais retirados do fundo desses locais apresentam concentração de agrotóxicos, mesmo anos após a cessar a aplicação destes em regiões vizinhas. Apesar de parte destes micro poluentes se acumularem ao longo da cadeia alimentar, grande parte ainda permanece nos corpos da água podendo contaminá-la, tornando-a imprópria para consumo.

Pesticidas organoclorados em água potável podem aumentar os riscos de ocorrência de câncer, bem como causar danos aos sistemas nervoso, cardíaco, endócrino

e reprodutivo. Como as águas superficiais são fontes vitais de água potável, a qualidade da água tem recebido considerável atenção nas legislações ambientais.

Os órgãos reguladores de saúde e meio ambiente estabelecem que a quantidade destes contaminantes em águas brutas, tratadas e efluídas deve ser controlada e divulgada às partes interessadas. Além disto, é necessário estabelecer os parâmetros a serem empregados no tratamento de água para remover estes compostos da água.

A partir da necessidade de atender a Portaria n° 2914, de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde e a Resolução n° 357, de 17 de março de 2005 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) e de prestar suporte as equipes das estações de tratamento de água, o Departamento Municipal de Água e Esgoto de Porto Alegre (DMAE - Porto Alegre) estabeleceu a Seção de Pesquisa Aplicada (SCPA) em sua Divisão de Pesquisa (DVP), onde são realizadas as análises do controle da qualidade das águas captadas, distribuídas e efluídas na cidade de Porto Alegre.

## 2. HISTÓRICO – ESTADO DA ARTE

Em análises de água por cromatografia a gás, a mesma não pode ser inserida no equipamento, pois causaria instabilidades de sinal e até mesmo danos a componentes do equipamento. Portanto, para se verificar e quantificar a presença de alguma substância em água, a mesma deve ser extraída da amostra de água para então ser inserida no equipamento. Atualmente, as técnicas analíticas mais empregadas na análise de pesticidas são a cromatografia gasosa (GC) e a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Para Rita Maria dos Santos Cardoso Goncalves de Araujo (2008) a maioria das análises cromatográficas de pesticidas é realizada por cromatografia líquida em detrimento da GC, devido ao fato da maioria destes compostos serem polares e termolábeis. As vantagens do método de SPME são que o procedimento analítico é mais simples e mais rápido que LLE e SPE, em geral extratos mais limpos são obtidos, não usa solventes para a eluição (Sonia C. N. Queiroz, Carol H. Collins e Isabel C. S. F. Jardim, 2001). Desta forma, a técnica HPLC acoplada a espectrometria de massas (MS), utilizando a micro-extração em fase sólida (SPME) para extrair os analitos da amostra aquosa é o que se tem de mais moderno sendo utilizado nos laboratórios de análise. Porém, este equipamento é caro e seu funcionamento e manutenção também são bastante onerosos, abrindo grande espaço para a GC-MS. Na sequência são descritos os métodos de extração e análise mais utilizados para pesticidas.

### 2.1 EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO (LLE)

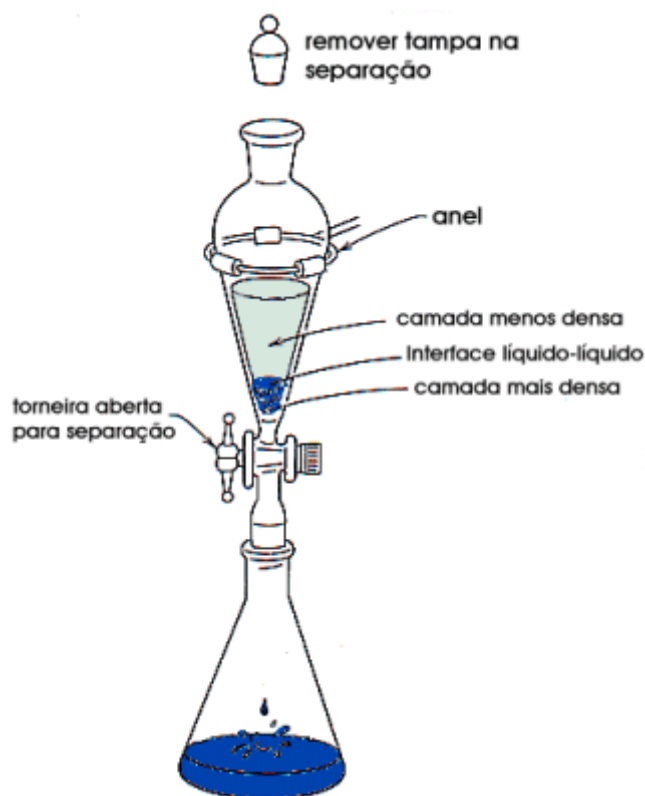
Inicialmente a técnica de extração líquido-líquido era a técnica mais utilizada para fazer o *clean up* e a concentração de pesticidas. Mara Bertrand Campos de Araújo (2004) afirmou que a LLE é o método clássico para a realização deste processo. A extração líquido-líquido baseia-se em separar componentes de uma mistura em fases muito diferentes quimicamente uma das outras, de acordo com suas propriedades físico-químicas.

A extração com solvente muitas vezes é utilizada como alternativa para a separação de substâncias orgânicas da água. Em geral, um sistema líquido-líquido é composto por uma mistura de componentes em equilíbrio entre duas fases.

Para realizar a extração de uma mistura de pesticidas de água, adiciona-se o solvente extrativo à amostra aquosa em um funil de separação, tampa-se e agita-se

vigorosamente, de modo a criar uma emulsão temporária. A emulsão consiste em pequenas gotas esféricas do solvente extrativo suspensas na fase aquosa. A área de contato entre as duas fases tem de ser grande o bastante para permitir uma rápida transferência de massa dos analitos da fase aquosa para a fase orgânica. Após a agitação, a emulsão deveria se dissipar e os líquidos deveriam formar duas fases contínuas imiscíveis. Porém, na prática, as emulsões se separam muito lentamente e de um modo incompleto. Por fim, separam-se as fases e concentra-se a fase orgânica, onde se encontraria a maior parcela dos pesticidas possivelmente presentes na amostra, para então inserir a amostra em um cromatógrafo a gás por meio de injeção direta.

Figura 1: Funil de separação para extração líquido-líquido

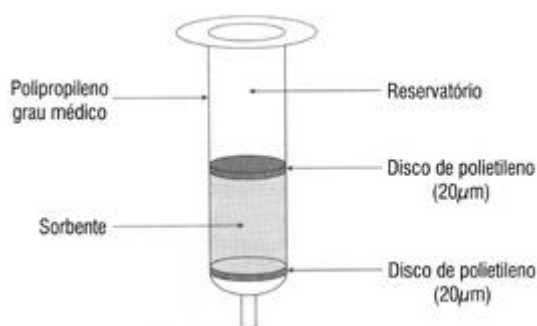


Além das recuperações obtidas utilizando esta técnica raramente serem completas, este é um procedimento demasiadamente demorado. Outra desvantagem, desta técnica é que ela utiliza grandes volumes de solventes orgânicos gerando grandes volumes de resíduos, o que causa problemas ambientais. A LLE pode ser efetuada em bateladas (forma descrita acima, que fora utilizada no DMAE) ou de forma contínua.

## 2.2 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE)

Na técnica SPE, em vez do solvente orgânico que forma uma emulsão líquida temporária depois de misturada a amostra aquosa, o que extraí o analito são partículas sólidas esféricas suspensas nesta amostra aquosa. Segundo Fritz (1999), “é necessária uma área interfacial entre as partículas e a amostra em solução para que haja uma transferência de massa rápida dos solutos extraídos de uma fase para a outra”. Logo, o diâmetro destas partículas deve ser bastante reduzido. O processo de extração de SPE pode ser dividido em 4 etapas.

Figura 2: Cartucho de extração em fase sólida



Fonte: FERNANDO LANÇAS, 2004.

### 2.2.1 Condicionamento

A primeira etapa da SPE é necessária para tornar solução aquosa e partículas esféricas adsorventes compatíveis. Para realizar a extração de substâncias hidrofóbicas de uma fase aquosa é preciso que haja contato direto entre o adsorvente (fase apolar) e a solução aquosa (fase polar). Caso não seja realizado nenhum tipo de pré-tratamento, a fase polar passará por pequenos canais formados por entre as partículas do adsorvente sem realizar o contato necessário para ocorrer a adsorção. O pré-tratamento consiste na utilização de um solvente intermediário proporcionando uma maior superfície de contato entre as fases.

### 2.2.2 Adsorção

A amostra aquosa passa através do cartucho de extração utilizando uma bomba para realizar um pequeno vácuo. O fluxo aquoso deve ser constante e deve-se levar em

conta a capacidade volumétrica do cartucho e o escoamento através das partículas adsorventes.

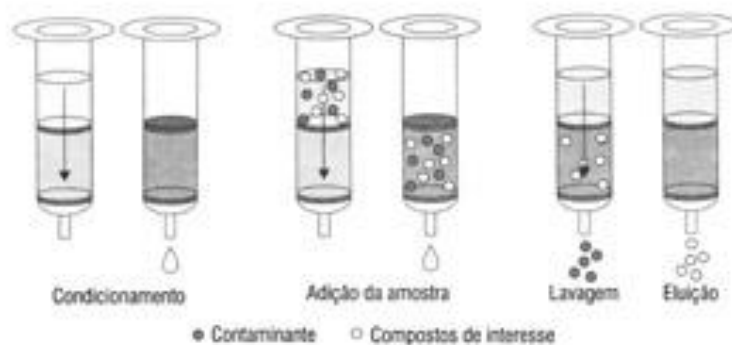
### 2.2.3 Lavagem

Uma lavagem é realizada com o intuito de remover interferentes que forem adsorvidos juntamente ao analito no cartucho de SPE. A água pode ser utilizada para remover os íons retidos no adsorvente, porém, não remove interferentes orgânicos (apolares), mesmo que se encontrem fracamente adsorvidos. Para estes casos, utiliza-se uma mistura de água e solvente orgânico em razões 9,5:1 a 8:1. A etapa de lavagem pode ser suprimida, desde que atenda os requisitos da técnica SPE utilizada, ou pode ser substituída por uma etapa de secagem por vácuo ou por um baixo fluxo de gás inerte.

### 2.2.4 Eluição

Na etapa de eluição, os analitos retidos no adsorvente são removidos do mesmo, sendo transferidos à fase móvel, líquida, e adequada para uma determinação analítica. Comumente utiliza-se um solvente orgânico como eluente, embora seja possível dessorver o analito termicamente ou utilizando um fluxo gasoso. O eluente deve ser adicionado de forma lenta e cuidadosa no cartucho de SPE, de modo a evitar a formação de canais por entre as partículas esféricas da fase sólida. O mais importante é selecionar um solvente capaz de eluir completamente os analitos com a utilização do menor volume possível. O solvente utilizado deve ser compatível com os métodos analíticos que serão utilizados na determinação da composição da amostra.

Figura 3: As quatro etapas da extração em fase sólida



Fonte: FERNANDO LANÇAS, 2004.

Muitas partículas sólidas vêm sendo empregadas como adsorventes na técnica SPE para adsorver substâncias orgânicas de amostras aquosas. Compostos ligados a sílica, como ODS (octadecilsiloxano) são frequentemente utilizados. Carvão ativado e, mais recentemente, materiais de carvão grafitizado também são usadas como adsorvente em SPE.

Conforme Fernando Lanças (2004), “apesar da SPE apresentar várias vantagens em relação aos métodos mais clássicos, como praticidade e maior sensibilidade, esta técnica possui algumas limitações”. Uma delas é a etapa de dessorção do analito retido no cartucho de SPE que geralmente requer o uso de solventes tóxicos.

Portanto esta técnica reduz consideravelmente a produção de resíduos e o impacto ambiental da análise, porém não elimina esta produção. Além disto, os cartuchos utilizados na extração são descartáveis, o que aumenta o custo e a geração de resíduos se comparada às técnicas mais modernas, como a SPME.

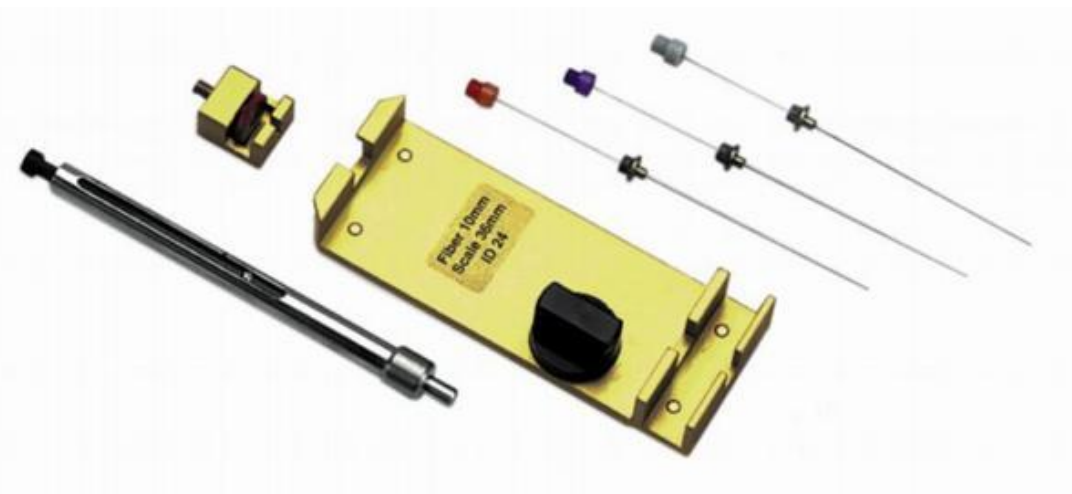
### 2.3 MICRO-EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPME)

A SPME é uma técnica de extração de compostos orgânicos de amostras aquosas sem utilizar solventes. Na SPME, uma fibra recoberta por material polimérico, semelhante aos materiais que recobrem as colunas utilizadas na cromatografia gasosa, é utilizada para adsorver os analitos em uma única etapa de extração. Esta fibra fica presa a um êmbolo, dentro de uma agulha que serve para protegê-la. A agulha, por sua vez, é presa em um cabo semelhante a uma micro seringa. O êmbolo dentro do cabo move a fibra para dentro e para fora da agulha protetora para a adsorção dos compostos orgânicos da amostra aquosa (adsorção que ocorre sobre o recobrimento líquido da fibra). Após, fibra é retraída para dentro da agulha protetora que é então inserida no injetor do equipamento analítico que pode ser um cromatógrafo gasoso, por exemplo. Os analitos são transferidos termicamente para a coluna cromatográfica para finalmente serem identificados e quantificados. Enquanto isto, caso seja necessário, a fibra pode passar por um processo térmico de limpeza para garantir que não haja compostos adsorvidos quando esta for inserida na próxima amostra a ser extraída.

São vários os recobrimentos utilizados nas fibras SPME e estes, podem ser polares ou apolares. Misturas destes recobrimentos são aplicadas, proporcionando propriedades interessantes à fibra que também pode ter seu diâmetro variado. Estas variáveis refletem em grande versatilidade para a técnica, possibilitando que esta atenda

as especificidades da extração de diversas substâncias.

Figura 4: Algumas das fibras utilizadas na técnica, o suporte para as mesmas e o *rack* que se prende magneticamente ao amostrador automático



Fonte: [http://www.scispec.co.th/product\\_PAL\\_GC\\_spme.php](http://www.scispec.co.th/product_PAL_GC_spme.php). Acesso em: 21 jun. 2012.

## 2.4 CROMATOGRAFIA A GÁS ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS (GC-MS)

A cromatografia é uma técnica na qual os componentes de uma mistura são separados com base nas diferenças de velocidade nas quais são transportados através de uma fase estacionária, sólida ou líquida, por uma fase móvel, que pode ser líquida ou gasosa. Estas diferenças de velocidades de eluição se dão a partir das diferentes afinidades entre os compostos presentes na amostra e a fase fixa.

Na cromatografia a gás, os componentes de uma amostra vaporizada são separados em consequência de sua partição entre uma fase móvel gasosa e uma fase estacionária líquida ou sólida contida dentro da coluna. Ao realizar-se uma separação por cromatografia a gás, a amostra é vaporizada e injetada na coluna cromatográfica. A eluição é feita por um fluxo de gás inerte. Dois tipos de cromatografia a gás são comumente empregados: cromatografia gás-líquido (CGL) e cromatografia gás-sólido (CGS). A cromatografia gás-líquido encontra amplo uso em todas as áreas da ciência (na cromatografia gás-líquido, a fase móvel é um gás, enquanto a fase estacionária é um líquido retido na superfície de um sólido inerte por adsorção ou ligação química enquanto que a cromatografia gás-sólido permite a separação de gases de baixa massa molecular, como os componentes do ar, sulfeto de hidrogênio, monóxido de carbono e



óxido de nitrogênio).

O espectrômetro de massas é um dos detectores mais poderosos para a cromatografia gasosa. O espectrômetro de massas mede a razão massa/carga ( $m/z$ ) dos íons produzidos pela amostra. A maioria destes íons apresenta  $z=1$ .

As moléculas da amostra entram no espectrômetro de massas pelo sistema de entrada. Em um GC-MS, a amostra, no estado gasoso passa por uma interface entre a pressão da coluna de GC e a baixa pressão do sistema do espectrômetro de massas. Um sistema complexo de vácuo é utilizado para reduzir a pressão baixa. Uma vez inseridas no espectrômetro de massas, as moléculas da amostra sofrem uma ionização.

Figura 5: Cromatógrafo a gás da marca Varian, modelo 3900, acoplado a espectrômetro de massas Saturn 2100T e equipado com amostrador automático Combi Pal, equipamento da SCPA no setor de Cromatografia a Gás do DMAE



As fontes de ionização de GC-MS produzem fragmentos, que também podem ser ionizados. Logo, os íons das moléculas da amostra (íons moleculares), íons de fragmentos e moléculas não-ionizadas, saem da fonte de ionização. Estas moléculas neutras e os fragmentos são transferidos da fonte de íons para o analisador através

vácuo. O analisador seleciona os íons de acordo com suas razões  $m/z$ . Após, os íons são detectados gerando um gráfico contendo a intensidade do sinal produzido pelo íon versus a razão  $m/z$ .

### 3. SITUAÇÃO ATUAL

Atualmente utiliza-se a técnica de extração SPE para extrair os compostos semi-voláteis das amostras de água analisadas pelo DMAE. A SPE é uma técnica de separação líquido-sólido. Do ponto de vista prático, a SPE em sua forma mais simples, pode ser descrita como uma cromatografia líquida, onde se usa uma pequena coluna aberta, denominada cartucho de extração, que contém a fase sólida (o correspondente à fase estacionária em cromatografia). Após uma etapa de condicionamento, a solução contendo o analito é colocada no topo do cartucho e aspirada de forma a nele penetrar com aplicação de pequeno vácuo. Segue-se a drenagem de toda a fase líquida. O analito fica retido no cartucho e posteriormente é eluído com um pequeno volume de solvente, sendo coletado em concentração já apropriada para análise. Se houver contaminantes que possam interferir na análise, uma lavagem e/ou *clean up* precede a eluição.

Figura 6: Sistema para extração em fase sólida utilizado para pré-concentração de pesticidas das amostras de água igual ao utilizado no DMAE



Fonte: <http://www.cu-see.com/catalogue/barcode/FM200008.html>. Acesso em: 21 jun. 2012.

O processo de extração se dá, fazendo a amostra passar pelo cartucho de extração com o auxílio de uma bomba mecânica de vácuo. Antes de iniciada a extração adiciona-se o padrão *surrogate* (Fenantreno D-10) para que se possa calcular a recuperação do método. Depois de totalmente eluída, a amostra fica sob corrente de nitrogênio para que fique livre de umidade. Após, o cartucho de extração é conectado a outro preenchido com pó filtrante e secante e a um frasco para recolher o solvente da

extração. Em seguida, são adicionados 3 mL de diclorometano (duas vezes) e 3 mL de acetato de etila no cartucho de extração. Com o auxílio da bomba, o solvente extrai os compostos retidos no cartucho, passa pela filtração/secagem e é recolhido no frasco.

Por fim, o conteúdo do frasco é levado praticamente à secura. O volume é completado até 1 mL e é então movido para um frasco de 2 mL de capacidade, onde recebe a adição do padrão interno (1,3-Dimetil-2-Nitrobenzeno). Depois de prontas, as amostras são analisadas em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas e em cromatógrafo a gás.

Figura 7: Cromatógrafo a gás da marca Varian, modelo 3800, equipamento da SCPA no setor de Cromatografia a Gás do DMAE



As etapas da SPE requerem grande envolvimento da equipe de analistas por um longo período de tempo. Além disto, há o inconveniente dos resíduos gerados, que podem ser químicos, como os sólidos secantes e utilizados na adsorção dos analitos e os solventes orgânicos, ou descartáveis, como os cartuchos plásticos. Outro inconveniente da técnica são as vidrarias e instrumentos utilizados que necessitam de limpeza complexa, realizada em várias etapas, para poderem ser reutilizados.

#### **4. OBJETIVOS**

Este trabalho tem por objetivo realizar uma proposta de desenvolvimento de método para análise de pesticidas em água através da técnica SPME, no laboratório de cromatografia do DMAE, em substituição ao método utilizado atualmente (SPE), reduzindo o tempo, o impacto ambiental e, principalmente, os custos da análise.

## 5. PROPOSTA TECNOLÓGICA

Atualmente a técnica utilizada na rotina do DMAE para a determinação de pesticida de amostras aquosas é a extração em fase sólida. Esta técnica apresenta excelentes resultados quantitativos no entanto possui elevado custo, principalmente no que diz respeito aos cartuchos e discos extratores que são descartados após uso.. Além disto, apesar de utilizar quantidades de solventes muito inferiores à extração líquido-líquido, não é completamente livre de solventes.

A técnica de SPME é uma técnica que dispensa o uso de solventes orgânicos além de utilizar pequenas quantidades de amostra. Além disso, as fibras de extração são por mais de 100 amostragem, O preparo das amostras demanda menor tempo e envolvimento da equipe, uma vez que a etapa de extração dos analitos se dá de forma automatizada, diretamente no injetor automático do equipamento. Desta forma, o desenvolvimento de método analítico utilizando a técnica SPME se traduz em economia de tempo, redução de custos e do impacto ambiental da análise de pesticidas em água.

A proposta tecnológica deste trabalho visa formular uma proposta de desenvolvimento de método para análise de pesticidas empregando a técnica SPME em substituição a técnica SPE.

## 6. METODOLOGIA

O objeto de interesse deste trabalho são os pesticidas controlados pela portaria nº 2914 do Ministério da Saúde que podem ser analisados por GC-MS, sem a necessidade de realizar um processo de derivatização. Os métodos cromatográficos são complexos, sendo definidos por diversos parâmetros que devem ser escolhidos e ajustados convenientemente de acordo com os analitos de interesse. Para a formulação da proposta de desenvolvimento, foram avaliados alguns destes parâmetros, mais especificamente, os referentes a extração, como o recobrimento da fibra, o volume de amostra/*headspace* e a força iônica da solução. Outros parâmetros de extração, como pH da amostra aquosa, temperatura de extração e tempo de dessorção foram alvos dos estudos de outros pesquisadores e seus resultados foram adotados neste trabalho.

### 6.1 PADRÕES E REAGENTES

Para realizar os testes preliminares para a elaboração da proposta do método a ser desenvolvido, decidiu-se trabalhar com os compostos em concentrações iguais aos seus respectivos VMP, uma vez que a sensibilidade do equipamento para os mesmos não é muito alta, tornando arriscado trabalhar em concentrações mais baixas e, como se procura um método que detecte concentrações pelos menos dez vezes menor que os VMP para cada composto, não é interessante trabalhar em concentrações mais altas que os respectivos VMP. Desta forma, os defensivos agrícolas parâmetros da portaria nº 2914 do Ministério da Saúde que foram alvos deste trabalho, bem como seus *CAS-number* e seus valores máximos de concentração permitidos, que foram os mesmos utilizados, são apresentados na tabela 1.

Para que fosse possível estudar os parâmetros nas concentrações escolhidas, que eram diferentes entre si, foi necessário preparar uma solução estoque utilizando padrões individuais de cada um dos compostos. A concentração dos compostos na solução estoque preparada, foi de 1500 vezes a concentração do VMP de cada composto. Alguns dos parâmetros exigem a soma das concentrações de compostos. Para a soma Aldrin + Dieldrin, foram utilizados padrões individuais de cada composto. Para a soma DDT e seus “isômeros”, foi utilizado padrão de DDT somente, pois não haviam padrões individuais de DDD e DDE, ou uma mistura que contivesse somente os três compostos disponíveis. Para a soma Endosulfan  $\alpha$ ,  $\beta$  e sais foi utilizado padrão contendo a mistura

de Endossulfan nas formas  $\alpha$  e  $\beta$ . O solvente utilizado no preparo da solução estoque foi metanol (P.R., Merck) e o 1,3-Dimetil-2-Nitrobenzeno (da marca Chem Service) foi utilizado como padrão interno. As soluções de trabalho foram preparadas em água ultrapura com adição de sulfito de sódio, na proporção 0,05g/L, pois este composto é utilizado como conservante das amostras coletadas e portanto, foi pertinente realizar os experimentos com o sal presente, simulando uma amostra real com maior fidelidade.

Tabela 1: Alguns dos pesticidas controlados pela portaria n° 2914 do Ministério da Saúde, com seus respectivos CAS e VMP (valor máximo permitido)

<b>Parâmetro</b>	<b>Marca do Padrão</b>	<b>CAS</b>	<b>Unidade</b>	<b>VMP</b>
Alacloro	Ultra Scientific	15972-60-8	$\mu\text{g/L}$	20
Aldrin + Dieldrin	Poly Science	309-00-2 (aldrin)	$\mu\text{g/L}$	0,03
	Poly Science	60-57-1 (dieldrin)	$\mu\text{g/L}$	
Atrazina	Ultra Scientific	1912-24-9	$\mu\text{g/L}$	2
Clordano	Specsol	5103-74-2	$\mu\text{g/L}$	0,2
DDT + DDD + DDE	Chem Service	p, p'-DDT (50-29-3)	$\mu\text{g/L}$	1
	-	p, p'-DDD (72-54-8)	$\mu\text{g/L}$	
	-	p, p'-DDE (72-55-9)	$\mu\text{g/L}$	
Endossulfan (I, II e sais)	Riedel	(115-29-7); I	$\mu\text{g/L}$	20
		(959-98-8); II	$\mu\text{g/L}$	
Endrin	Specsol	72-20-8	$\mu\text{g/L}$	0,6
Lindano	Specsol	58-89-9	$\mu\text{g/L}$	2
Metolaclo	Riedel	51218-45-2	$\mu\text{g/L}$	10
Molinato	Sigma Aldrich	2212-67-1	$\mu\text{g/L}$	6
Pendimentalina	Riedel	40487-42-1	$\mu\text{g/L}$	20
Permetrina	Riedel	52645-53-1	$\mu\text{g/L}$	20
Simazina	Sigma Aldrich	122-34-9	$\mu\text{g/L}$	2
Trifluralina	Sigma Aldrich	1582-09-8	$\mu\text{g/L}$	20

Fonte: Portaria n° 2914 do Ministério da Saúde, 2011



## 6.2 INSTRUMENTAÇÃO

As análises foram realizadas utilizando um cromatógrafo a gás modelo GC-3900 acoplado a um espectrômetro de massas modelo Saturn 2100 T/MS/MS ambos da marca Varian, equipado com injetor automático Combi Pal e analisador de massas do tipo *ion trap*. Para a aquisição de dados, foi utilizado o *software* Saturn GC/MS 5.52 e a biblioteca NIST 2.0. Para a separação cromatográfica, foi empregada uma coluna capilar de sílica fundida VF-5 ms Factor Four (com fase estacionária de polidimetilsiloxano com 5% de fenila com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25  $\mu\text{m}$  de espessura do filme da fase estacionária). O gás de arraste utilizado foi hélio, com teor de pureza de 99,999% a um fluxo constante de 1,0  $\text{mL min}^{-1}$ . A temperatura do injetor foi de 250  $^{\circ}\text{C}$  e injeção foi realizada da seguinte forma: *splitless* durante 4 min, seguido de uma razão de *split* de 50:1 por 15 min e de 20:1 no restante da corrida. As condições para o forno da coluna foram as seguintes: temperatura inicial em 80  $^{\circ}\text{C}$  (4 min); 80-215  $^{\circ}\text{C}$  (15  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , mantidos por 0,5 min); 215-230  $^{\circ}\text{C}$  (2  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , com 3 min de isotérmica); 230-260  $^{\circ}\text{C}$  (5  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , com 2 min de isotérmica). No detector, foram selecionadas as temperaturas de 200  $^{\circ}\text{C}$  na armadilha de íons, 50  $^{\circ}\text{C}$  no *manifold* e 250  $^{\circ}\text{C}$  na linha de transferência. A aquisição de íons foi realizada no modo de análise em varredura linear (*scan*) e foi efetuada no intervalo de 60-430 *m/z*. A ionização foi através de impacto eletrônico com 70 eV, o tempo de varredura foi de 0,5 *s/scan* e 65000 de contagem de íons. A corrente de emissão do filamento de ionização foi de 70  $\mu\text{A}$  e a voltagem da eletromultiplicadora foi de 200 V.

## 6.3 EXTRAÇÃO COM SPME

Neste trabalho, foram testadas três fibras da marca Supelco com diferentes recobrimentos: polidimetilsiloxano/divinilbenzeno 65  $\mu\text{m}$  (PDMS/DVB) - fibra azul -, divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano 50/30  $\mu\text{m}$  (DVB/CAR/PDMS) - fibra cinza - e polidimetilsiloxano 100  $\mu\text{m}$  (PDMS) - fibra vermelha -. Antes de serem utilizadas, as fibras foram condicionadas conforme as recomendações do fabricante.

A força iônica da solução também foi avaliada nesta etapa. Para isto, foram realizadas extrações em soluções contendo 15% (razão massa-volume) de dois sais diferentes: NaCl e  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  e sem adição de sal.

As extrações dos pesticidas foram efetuadas em um volume da solução de trabalho de 15 mL em um frasco de 20 mL, com tampa fenólica e septo de

PTFE/silicone de 11 mm, sob agitação de 200 rpm. Também foram testadas extrações dos pesticidas em um volume da solução de trabalho de 10 mL no mesmo frasco de 20 mL (aumentando o volume de *headspace*), realizando a extração sem agitação durante 60 min. Os recobrimentos de fibra foram avaliados em extrações *headspace* em amostrador automático Combi Pal com forno acoplado. Os experimentos foram realizados mantendo-se os tempos de extração e dessorção de 30 e 4 min, respectivamente. A temperatura de extração foi de 65 °C e o pH da solução neutro.

## 7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 7.1 MÉTODO DE EXTRAÇÃO 1

Para iniciar os testes de extração utilizando a técnica SPME, decidiu-se mesclar condições encontradas na literatura para análise de pesticidas com condições utilizadas na SCPA para análise de outros compostos através da mesma técnica. A razão sinal/ruído (S/R) foi o parâmetro escolhido para a avaliação da sensibilidade para cada um dos compostos de interesse. Para fins de organização, denominamos as condições de extração utilizando agitação de 200 rpm durante 30 min de Método 1. Os resultados obtidos para cada uma das fibras estão apresentados nas tabelas 2, 3 e 4.

Com a fibra azul, os melhores resultados para a maioria dos compostos foram obtidos na solução de trabalho que recebeu adição de 15% (massa/volume) de cloreto de sódio, porém, alguns dos analitos não foram detectados. Os resultados obtidos nas soluções de trabalho que recebeu adição de 15% de sulfato de amônio e que não recebeu adição de sal não foram satisfatórios neste método, pois não apresentaram sensibilidade para vários dos compostos de interesse nas concentrações estudadas.

Assim como anteriormente descrito para a fibra azul, com a fibra cinza os melhores resultados para a maioria dos compostos foram obtidos na solução de trabalho que recebeu adição de 15% (massa/volume) de cloreto de sódio, e da mesma forma, alguns dos analitos não foram detectados. Os resultados obtidos nas soluções de trabalho que recebeu adição de 15% de sulfato de amônio e que não recebeu adição de sal não foram satisfatórios neste método, pois não apresentaram sensibilidade para vários dos compostos de interesse nas concentrações estudadas. De um modo geral, os resultados obtidos com as duas fibras foram equivalentes, com uma sensível vantagem para os resultados obtidos com a fibra azul.

Os resultados obtidos com a fibra vermelha foram ainda mais semelhantes àqueles obtidos com a fibra azul. Os melhores resultados, também foram encontrados na solução de trabalho que recebeu adição de 15% (massa/volume) de cloreto de sódio e os resultados obtidos nas soluções de trabalho que recebeu adição de 15% de sulfato de amônio (massa/volume) e que não recebeu adição de sal também não foram satisfatórios.

Tabela 2: Resultados para a razão S/R de cada um dos compostos de interesse obtidos com a utilização da fibra azul no Método 1

<b>FIBRA AZUL</b>			
<b>Composto</b>	<b>S/R, V=15 mL, c/ agitação, s/ sal</b>	<b>S/R, V=15 mL, c/ agitação, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	<b>S/R, V=15 mL, c/ agitação, NaCl</b>
1,3-Dimetil-2-Nitrobenzeno	385	875	739
Alacloro	13	7	33
Aldrin	0	0	15
Clordano	3	0	10
DDD	12	0	26
DDE	0	0	6
Endosulfan I	672	270	2059
Endosulfan II	24	0	40
Endrin	0	0	4
Endrin Cetona	11	25	23
Lindano	9	0	1
Metolacloro	0	0	4
Molinato	20	13	50
o,p'-DDT	0	0	0
p,p'-DDT	0	24	42
Pendimetalina	829	376	1993
Cis-Permetrina	0	0	11
Trans-Permetrina	0	0	0
Trifluralina	901	24	100

Tabela 3: Resultados para a razão S/R de cada um dos compostos de interesse obtidos com a utilização da fibra cinza no Método 1

<b>FIBRA CINZA</b>			
<b>Composto</b>	<b>S/R, V=15 mL, c/ agitação, s/ sal</b>	<b>S/R, V=15 mL, c/ agitação, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	<b>S/R, V=15 mL, c/ agitação, NaCl</b>
1,3-Dimetil-2-Nitrobenzeno	210	404	677
Alacloro	6	10	63
Aldrin	1	1	8
Clordano	0	4	19
DDD	7	0	19
DDE	0	0	3
Endosulfan I	429	349	529
Endosulfan II	23	0	93
Endrin	0	1	0
Endrin Cetona	8	29	28
Lindano	0	0	3
Metolacloro	0	4	10
Molinato	11	8	39
o,p'-DDT	0	0	0
p,p'-DDT	4	31	11
Pendimetalina	245	294	529
Cis-Permetrina	0	0	0
Trans-Permetrina	0	0	0
Trifluralina	918	25	207

Tabela 4: Resultados para a razão S/R de cada um dos compostos de interesse obtidos com a utilização da fibra vermelha no Método 1

<b>FIBRA VERMELHA</b>			
<b>Composto</b>	<b>S/R, V=15 mL, c/ agitação, s/ sal</b>	<b>S/R, V=15 mL, c/ agitação, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	<b>S/R, V=15 mL, c/ agitação, NaCl</b>
1,3-Dimetil-2-Nitrobenzeno	36	332	532
Alacloro	11	7	28
Aldrin	0	0	11
Clordano	0	0	16
DDD	0	0	37
DDE	0	0	1
Endosulfan I	104	212	1615
Endosulfan II	5	0	64
Endrin	0	0	10
Endrin Cetona	0	0	0
Lindano	10	0	3
Metolacloro	0	0	5
Molinato	22	7	58
o,p'-DDT	0	0	19
p,p'-DDT	0	22	65
Pendimetalina	321	333	1580
Cis-Permetrina	0	0	0
Trans-Permetrina	0	0	0
Trifluralina	1327	22	175

## 7.2 MÉTODO DE EXTRAÇÃO 2

Os resultados não foram satisfatórios, uma vez que muitos dos compostos de interesse não foram detectados. Ocorreu ainda, degradação dos padrões de DDT (formando DDD e DDE, o que até foi pertinente, uma vez que estes compostos também são controlados pela portaria nº2914 do Ministério da Saúde) e de endrin (formando endrin cetona). Testou-se então a extração reduzindo o volume da solução de trabalho para 10 mL no mesmo frasco de 20 mL (aumentando o volume de *headspace*), realizando a extração sem agitação durante 60 min. Este teste foi realizado apenas com a fibra cinza, pois a mesma apresentou os melhores resultados quando testada com compostos e condições semelhantes a estas (Batista, C. P.; Soler S. G.; Ré-Poppi, N., 2011). O tempo de dessorção e a temperatura de extração foram os mesmos dos testes anteriores. Também ocorreu degradação dos padrões de DDT e endrin nestas condições. Para estes testes decidiu-se excluir o  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , pois as análises com este sal apresentaram resultados piores do que os resultados dos testes com NaCl e, além do sulfato de amônio ser mais caro do que o cloreto de sódio, a sua presença na amostra acabou gerando uma considerável sangria (desprendimento do recobrimento interno) na coluna cromatográfica.

Obtiveram-se resultados bem mais promissores utilizando um volume de *headspace* maior, e extração sem agitação durante 60 min. Desta forma, realizaram-se também os testes nestas condições com as fibras azul e vermelha. Porém os compostos atrazina, dieldrin e simazina não foram detectados em nenhuma das análises realizadas. Denominaremos o método de extração sem agitação e com tempo de extração de 60 min de Método 2.

É possível afirmar, através de análise dos dados da tabela 5, que a extração utilizando o Método 2 foi muito mais eficiente do que a extração utilizando o Método 1. Também é possível concluir que a redução no volume da solução de trabalho e o consequente aumento no volume de *headspace* resultou em uma sensibilidade maior, principalmente no Método 2. Desta forma, os melhores resultados foram obtidos utilizando solução de trabalho com volume de 10 mL e realizando a extração através do Método 2.

Assim, as novas condições foram aplicadas para avaliar as fibras azul e vermelha. Também foi necessário, realizar novos testes para avaliar a força iônica da solução, efetuando análises de soluções de trabalho contendo 15% de cloreto de sódio e

soluções de trabalho que não receberam adição de sal. Os resultados obtidos para estas análises com as fibras azul, cinza e vermelha estão apresentados nas tabelas 6, 7 e 8, respectivamente.

Em comparação aos resultados obtidos com a fibra azul no Método 1, os resultados descritos na tabela 6 são muito superiores. Na análise da solução de trabalho contendo 15% (massa/volume) de cloreto de sódio conseguiu-se detectar todos os compostos de interesse (exceto os compostos atrazina, dieldrin e simazina que não foram detectados em nenhuma das análises). Ainda, observando-se a tabela 6, é possível notar que a sensibilidade para alguns dos compostos diminui na presença do NaCl, mas os resultados em geral, são melhores na presença do sal.



Tabela 5: Comparação dos resultados obtidos com a fibra cinza utilizando 15% de NaCl (massa/volume) nas soluções de trabalho nos Métodos 1 e 2

<b>Composto</b>	<b>S/R, V=15 mL, c/ agitação,</b>	<b>S/R, V=15 mL, s/ agitação,</b>	<b>S/R, V=10 mL, c/ agitação,</b>	<b>S/R, V=10 mL, s/ agitação,</b>
1,3-Dimetil-2-Nitrobenzeno	677	679	1198	895
Alacloro	63	67	125	119
Aldrin	8	15	10	15
Clordano	19	17	5	19
DDD	19	22	12	45
DDE	3	16	6	12
Endosulfan I	529	1352	869	1510
Endosulfan II	93	90	125	172
Endrin	0	12	0	15
Endrin Cetona	28	66	12	49
Lindano	3	2	0	2
Metolacoloro	10	11	13	19
Molinato	39	40	25	34
o,p'-DDT	0	5	0	21
p,p'-DDT	11	48	0	24
Pendimetalina	529	1493	962	1660
Cis-Permetrina	0	0	0	0
Trans-Permetrina	0	0	0	0
Trifluralina	207	144	90	105

Tabela 6: Resultados para a razão S/R de cada um dos compostos de interesse obtidos com a utilização da fibra azul no Método 2

<b>FIBRA AZUL</b>		
<b>Composto</b>	<b>S/R, V=10 mL, s/ agitação, s/ sal</b>	<b>S/R, V=10 mL, s/ agitação, NaCl</b>
1,3-Dimetil-2-Nitrobenzeno	1162	1200
Alacloro	66	58
Aldrin	11	27
Clordano	24	35
DDD	37	87
DDE	26	29
Endosulfan I	1780	3261
Endosulfan II	76	172
Endrin	9	26
Endrin Cetona	33	73
Lindano	28	2
Metolacloro	0	11
Molinato	83	54
o,p'-DDT	12	40
p,p'-DDT	42	186
Pendimetalina	3077	3013
Cis-Permetrina	0	16
Trans-Permetrina	0	17
Trifluralina	2599	131

Tabela 7: Resultados para a razão S/R de cada um dos compostos de interesse obtidos com a utilização da fibra cinza no Método 2

<b>FIBRA CINZA</b>		
<b>Composto</b>	<b>S/R, V=10 mL, s/ agitação, s/ sal</b>	<b>S/R, V=10 mL, s/ agitação, NaCl</b>
1,3-Dimetil-2-Nitrobenzeno	901	895
Alacloro	51	119
Aldrin	15	15
Clordano	22	19
DDD	27	45
DDE	27	12
Endosulfan I	2320	1510
Endosulfan II	158	172
Endrin	10	15
Endrin Cetona	32	49
Lindano	7	2
Metolacloro	2	19
Molinato	60	34
o,p'-DDT	12	21
p,p'-DDT	19	24
Pendimetalina	2229	1660
Cis-Permetrina	0	0
Trans-Permetrina	0	0
Trifluralina	2550	105

Da mesma forma que o constatado na análise da tabela 7, os resultados para a fibra cinza foram melhores utilizando o Método 2. O método apresentou maior sensibilidade para a maioria dos compostos de interesse na solução de trabalho em que foi adicionado 15% de cloreto de sódio. Porém, a adição de sal diminuiu a sensibilidade para o lindano, que é um composto para qual o método já não apresentava grande sensibilidade. Este fato pode indicar que a faixa ótima para a concentração de cloreto de sódio na solução de trabalho está entre 0 e 15% (massa/volume). Os resultados obtidos empregando a fibra cinza foram inferiores aos resultados obtidos empregando a fibra azul. Com a fibra cinza, o composto permetrina (os isômeros cis e trans), assim como atrazina, dieldrin e simazina, não foi detectado.

Os resultados obtidos com a fibra vermelha utilizando o Método 2 (tabela 8) para a extração foram os melhores para a solução de trabalho que não recebeu adição de sal. Inclusive, foi a única condição que propiciou detecção de todos os compostos de interesse (exceto os compostos atrazina, dieldrin e simazina que como o afirmado anteriormente, não foram detectados em nenhuma das análises). Mesmo assim, a análise da solução de trabalho contendo 15% (massa/volume) de cloreto de sódio apresentou maior sensibilidade para a maioria dos compostos de interesse, sendo assim considerada a análise que apresentou os melhores resultados com a fibra vermelha.

A tabela 9 apresenta na sequência a comparação dos melhores resultados obtidos com cada fibra. Todos estes resultados foram obtidos sob as mesmas condições de análise (Método 2 para extração que foi realizada em solução de trabalho contendo 15% (massa/volume) de cloreto de sódio).

Analisando-se a tabela 9 é possível avaliar os resultados obtidos com a fibra cinza como os piores entre as três fibras. Com esta fibra, o Método 2 de extração apresentou a menor sensibilidade para doze dos dezoito compostos detectados com o mesmo, sendo que o composto permetrina não foi detectado nem em sua forma cis nem na forma trans. A fibra azul apresentou resultados melhores para a maioria dos compostos porém, os resultados obtidos com a fibra vermelha merecem destaque, pois a mesma, propiciou maior sensibilidade a alguns dos compostos para os quais a sensibilidade do método apresentou-se baixa com as demais fibras.

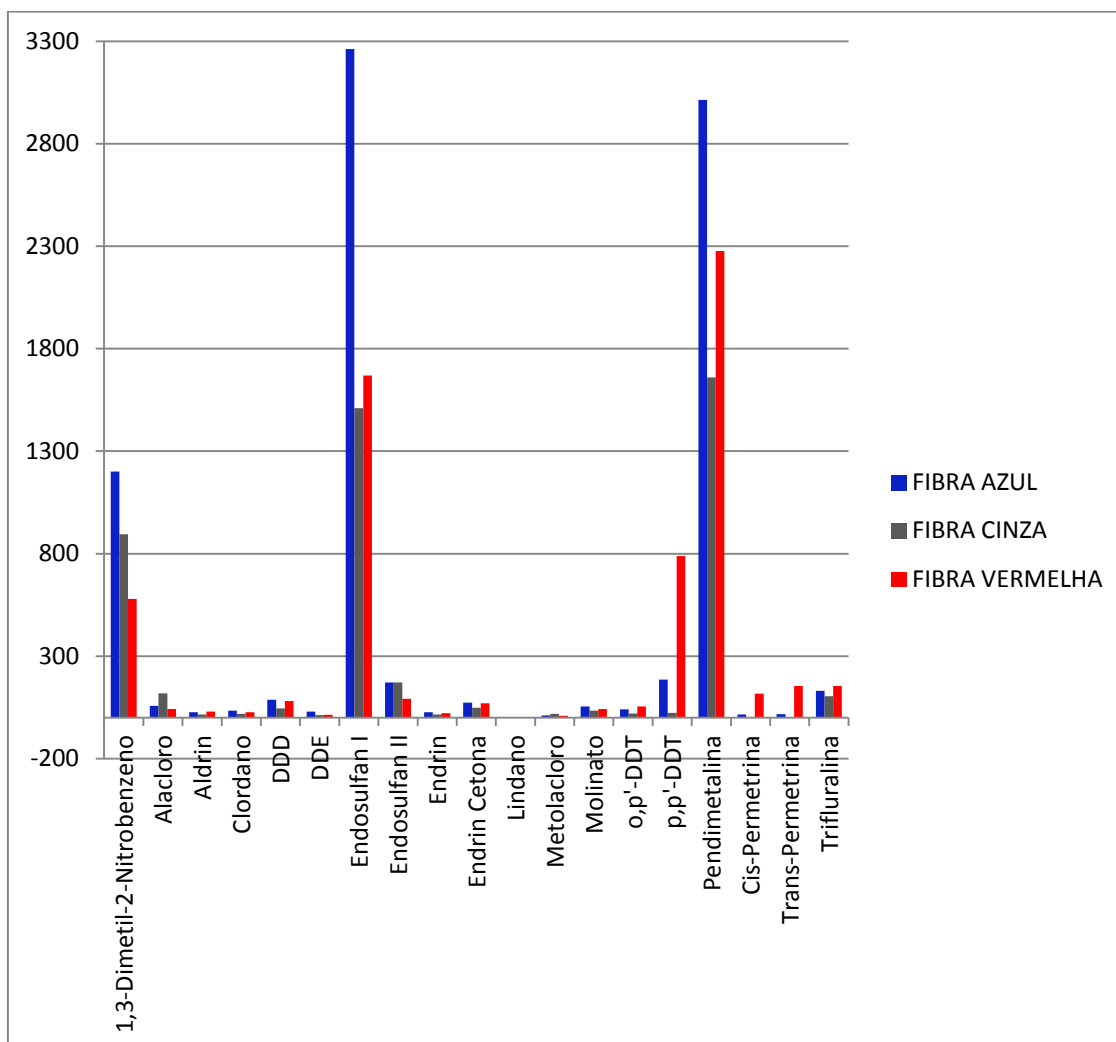
Tabela 8: Resultados para a razão S/R de cada um dos compostos de interesse obtidos com a utilização da fibra vermelha no Método 2

<b>FIBRA VERMELHA</b>		
<b>Composto</b>	<b>S/R, V=10 mL, s/ agitação, s/ sal</b>	<b>S/R, V=10 mL, s/ agitação, NaCl</b>
1,3-Dimetil-2-Nitrobenzeno	171	580
Alacloro	36	42
Aldrin	10	29
Clordano	21	26
DDD	51	81
DDE	25	14
Endosulfan I	1253	1669
Endosulfan II	77	92
Endrin	10	22
Endrin Cetona	33	70
Lindano	18	1
Metolacloro	1	10
Molinato	35	42
o,p'-DDT	32	54
p,p'-DDT	250	789
Pendimetalina	3113	2277
Cis-Permetrina	88	117
Trans-Permetrina	123	155
Trifluralina	3106	154

Tabela 9: Comparação dos melhores resultados gerais obtidos com cada fibra

	<b>FIBRA AZUL</b>	<b>FIBRA CINZA</b>	<b>FIBRA VERMELHA</b>
<b>Composto</b>	<b>S/R, V=10 mL, s/ agitação, NaCl</b>	<b>S/R, V=10 mL, s/ agitação, NaCl</b>	<b>S/R, V=10 mL, s/ agitação, NaCl</b>
1,3-Dimetil-2-Nitrobenzeno	1200	895	580
Alacloro	58	119	42
Aldrin	27	15	29
Clordano	35	19	26
DDD	87	45	81
DDE	29	12	14
Endosulfan I	3261	1510	1669
Endosulfan II	172	172	92
Endrin	26	15	22
Endrin Cetona	73	49	70
Lindano	2	2	1
Metolacloro	11	19	10
Molinato	54	34	42
o,p'-DDT	40	21	54
p,p'-DDT	186	24	789
Pendimetalina	3013	1660	2277
Cis-Permetrina	16	0	117
Trans-Permetrina	17	0	155
Trifluralina	131	105	154

Figura 8: Comparação dos melhores resultados gerais obtidos com cada fibra



Na tabela 10, constam os compostos detectados com seus respectivos tempos de retenção, massas molares e principais íons produzidos na análise. Estes dados servem para auxiliar na identificação dos compostos nos cromatogramas obtidos nos próximos testes que serão realizados para desenvolver o método de análise de pesticidas em amostra aquosa utilizando a técnica SPME.

Tabela 10: Tempo de retenção, massa molar e íons produto para cada um dos compostos detectados utilizando o Método 2 para a extração

<b>Tempo de Retenção</b>	<b>Composto</b>	<b>Massa Molar</b>	<b>Íons Produtos</b>
7,549	1,3-Dimetil-2-Nitrobenzeno	151	77, 106, 134
11,169	Molinato	187	98, 126
12,044	Trifluralina	335	264, 306, 336
12,962	Lindano	288	111, 183, 219
13,931	Alacloro	269	160, 188, 238
14,662	Metolacloro	283	162, 238, 261
14,860	Aldrin	362	66, 91, 241
15,437	Pendimetalina	281	252, 282
16,344	Clordano	406	373, 375, 377
16,727	Endosulfan I	404	207, 267, 339
17,303	DDE	316	247, 318
18,237	Endrin	378	81, 62, 275
18,653	Endosulfan II	404	159, 195, 262
18,756	DDD	318	165, 235, 237
18,835	o,p'-DDT	352	235, 237
20,245	p,p'-DDT	352	165, 235, 237
22,257	Endrin Cetona	378	67, 281, 317
28,172	Cis-Permetrina	390	183
28,592	Trans-Permetrina	390	183



### 7.3 LEVANTAMENTO DE CUSTOS

A principal vantagem da técnica SPME sobre a técnica SPE é a redução de custos. A técnica SPE torna-se muito onerosa devido ao fato dos cartuchos de extração serem descartáveis, além de necessitar de cartuchos para filtração, e os solventes acetato de etila e diclorometano. Já a técnica SPME utiliza somente as fibras de extração, que quando aplicadas em *headspace* podem ser utilizadas centenas de vezes e uma pequena quantidade de cloreto de sódio. Além disto, há redução nos custos de tratamento de resíduos, já que estes são gerados com menor intensidade. Outro fator de economia se dá nos gastos com os analistas, pois enquanto que uma amostra leva horas para ser preparada através da técnica SPE, passando por várias etapas de preparação com alto envolvimento dos analistas, uma amostra preparada através da técnica SPME fica pronta em poucos minutos, através de uma única etapa, aumentando muito a produtividade da equipe.

Tabela 11: Custos dos materiais de extração para cada técnica

<b>Material</b>	<b>Quantidade</b>	<b>Custo (em R\$)</b>	<b>Utilizado na Técnica</b>
Cartucho de Extração	100 un	1990,00	<b>SPE</b>
Cartucho para Filtração	30 un	250,00	
Acetato de Etila PR	1 L	198,00	
Diclorometano	1 L	190,00	
Cloreto de Sódio	1 Kg	78,00	<b>SPME</b>
Fibra Azul*	3 un	2010,00	
Fibra Cinza*	3 un	2410,00	
Fibra Vermelha*	3 un	2010,00	

\*Será utilizado apenas um dos três tipos de recobrimento de fibras

Os custos dos três tipos de fibras testadas (kit com três fibras com o mesmo recobrimento) equiparam-se e também se equiparam com os custos de um kit contendo cem cartuchos de extração (aproximadamente R\$2000,00). Um kit contendo trinta cartuchos para filtração custa aproximadamente R\$250,00, um frasco contendo 1 L de acetato de etila PR custa cerca de R\$200,00 que também é o custo aproximado de um frasco contendo 1 L de diclorometano. Por fim, um frasco contendo 1 Kg de cloreto de sódio possui preço em torno de R\$80,00.

Assim, se formos pessimistas e considerarmos que uma fibra resista a apenas cem análises, ter-se-ia um custo de aproximadamente R\$7,00 em material de extração para cada amostra extraída através da técnica SPME. Enquanto que o custo em material de extração para cada amostra extraída empregando a técnica SPE é de cerca de R\$28,00.

Isto, sem se falar nos custos com as horas dos analistas, tratamento de resíduos e gastos com energia elétrica. Há ainda o gasto com os padrões de pesticidas e também de análise, que são utilizados em concentrações muito menores quando se trabalha na técnica SPME.

Os valores levantados se referem aos produtos cotados no último pedido de compra realizado pela SCPA, realizado em fevereiro de 2012. Os valores podem ter se desatualizado, porém, como os preços de todos os produtos envolvidos dependem do mercado internacional, as flutuações dos mesmos ocorrem com a mesma intensidade, mantendo válidas as comparações.

## 8. CONCLUSÃO CRÍTICA

Diante dos resultados obtidos nos testes preliminares para as fibras, força iônica da solução de trabalho e volume de *headspace* e da análise do levantamento de custos para o método de extração utilizado atualmente e pra o método a ser desenvolvido, é possível concluir que o método de análise do teor de pesticidas utilizando a técnica SMPE é viável. A proposta de desenvolvimento para o método utilizado envolve a realização de testes com as fibras azul e vermelha, uma vez que a fibra azul propiciou maior sensibilidade para a maioria dos compostos na presença de cloreto de sódio e a fibra vermelha na ausência do mesmo. A adição do cloreto de sódio aumentou a sensibilidade do método para a maioria dos compostos, mas a razão S/N para alguns dos compostos baixou a níveis pouco satisfatórios. Desta forma, é possível que a concentração ótima do sal esteja entre 0 e 15% (massa/volume) e é pertinente realizar esta investigação. O volume de *headspace* foi outro parâmetro que alterou consideravelmente a sensibilidade do método. Porém, este, é limitado pelo volume da amostra, pois o maior frasco disponível no laboratório possui 20 mL de capacidade e devido à sensibilidade do equipamento para estes compostos, é necessária cautela ao reduzir a quantidade de amostra. O ideal seria aumentar o volume de *headspace* utilizando um frasco com maior capacidade, porém, na ausência desta possibilidade, é válido realizar testes com menores volumes de amostra. O tempo e a temperatura de extração parecem adequados ao método.

## 9. BIBLIOGRAFIA

AGILENT TECHNOLOGIES; **The Essential Chromatography & Spectroscopy Catalog**; ed 2011/2012, 567.

ARAÚJO, RITA MARIA DOS SANTOS CARDOSO GONÇALVES DE; **Validação de metodologia de análise de pesticidas agrícolas em águas por LC/MS**. 2008. 58 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Engenharia Química) – Universidade do Porto, Cidade do Porto, 2008.

BATISTA, C. P.; SOLER S. G.; RÉ-POPPI, N.; Análise de Pesticidas Organoclorados em Água Usando a Microextração em Fase Sólida por Headspace com Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas. **Química Nova**, São Paulo, Vol.34, No.7, p.1260-1264, 2011.

BRANCO, S. M.; **O Meio Ambiente em Debate**, Ed. Moderna: São Paulo, 1988.

CHRISTIE J. GEANKOPLIS; **Procesos de Transporte y Operaciones Unitarias**; 3.ed del México. Minnesota, 1998.

EATON, ANDREW D.; CLESCERI, LENORE S.; RICE, EUGENE W.; GREENBERG, ARNOLD E.; **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**; 21.ed. *Washington*, 2005.

FRITZ, JAMES S.; **Analytical Solid-phase Extraction**, 2.ed; editora John Wiley & Sons. *New York*, 1999.

LANÇAS, F. M.; DE SÁ, O. R.; GALHIANE, M. S.; RISSATO, S. R.; GC-ECD evaluation of dicofol toxicity to tropical *Astyanax bimaculatus schubarti* **Chromatographia**, *New York*, Vol.43, p. 663-667, 1996.

LANÇAS, FERNANDO MAURO; **Extração em fase sólida (SPE)**; editora Rima. São Carlos, 2004.

MINISTÉRIO DA SAÚDE; **Portaria n° 2914**; Brasília, 12 de dezembro de 2011.

RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R.; **Fundamentals of Aquatic Toxicology Methods and Application**, Hemisphere Publishing Co: *Washington*, 1985.

SKOOG – WEST – HOLLER – CROUCH; **Fundamentos de Química Analítica**: Tradução da 8ª edição norte-americana; editora Thomson. São Paulo, 2006.

SONIA C. N. QUEIROZ, CAROL H. COLLINS E ISABEL C. S. F. JARDIM; Métodos de Extração e/ou Concentração de Compostos Encontrados em Fluidos Biológicos para Posterior Determinação Cromatográfica, **Química Nova**, São Paulo, Vol. 24, No.1, p.68-76, 2001.

U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA); **Pesticide Monitoring, Phase II Fact Sheet Series 7 (of 14)**: *Washington*, 1991.

WILES, R.; COHEN, B.; CAMPBELL, C.; ELDERKIN, S.; **Tap Water Blues: Herbicides in Drinking Water**, Environment Working Group. *Washington*, 1994.