

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA

ISAR PLEIN BOLZAN

**ESTUDO DE ADSORÇÃO DE PESTICIDAS ORGANOCLORADOS ATRAVÉS  
DE SÍLICAS FUNCIONALIZADAS PELO MÉTODO DE EXTRAÇÃO EM  
FASE SÓLIDA**

Porto Alegre, 2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA

ISAR PLEIN BOLZAN

**ESTUDO DE ADSORÇÃO DE PESTICIDAS ORGANOCLORADOS ATRAVÉS  
DE SÍLICAS FUNCIONALIZADAS PELO MÉTODO DE EXTRAÇÃO EM  
FASE SÓLIDA**

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentado junto à Disciplina de Estágio QUI  
99998 do Curso de Química, como requisito  
parcial  
para a obtenção do grau de Bacharel em Química

Prof. Dra. Tânia Mara Pizzolato  
Orientadora

Porto Alegre, 2007

## AGRADECIMENTOS

À Profa. Tânia Mara Pizzolato, pela oportunidade da iniciação científica, orientação, paciência, dedicação e amizade.

Ao professor João Henrique pelo material doado para a realização do trabalho.

Aos meus pais, Nelson e Ana Célia, pelo amor incondicional, incentivo e compreensão em todos os momentos de minha vida.

À Mariane Pazinato e Marizane Bogdan pela amizade, carinho, companheirismo, assim como dias e noites passadas na UFRGS e fora dela.

A todos meus amigos de São Jerônimo pela compreensão da minha ausência, muitas vezes, em momentos importantes para cada um deles, assim como a amizade e cumplicidade que já temos há décadas e que cada vez torna-se mais intensa.

À Profã. Maria do Carmo Ruaro Peralba pela oportunidade de iniciação científica e ensinamentos de vida.

Aos professores, funcionários e colegas do Instituto de Química por todos os dias de convívio incansável.

## RESUMO

Neste trabalho foram avaliadas a capacidade de adsorção/dessorção de três sílicas quimicamente modificadas (SG100, SG2A e SG10A) frente a solução aquosa mista de sete organoclorados (Hexaclorobenzeno, Lindano, Heptacloro, Heptacloro epóxido, Endrin, Dieldrin) de interesse ambiental, na concentração de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ . Os compostos foram analisados por Cromatografia Gasosa acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM), e quantificados por padronização interna (Aldrin como padrão interno), no modo de monitoramento de íons (SIM). A avaliação da capacidade de adsorção foi determinada em função da recuperação de cada composto frente aos fatores avaliados. Como fatores característicos do processo de adsorção/dessorção, foi determinado: o melhor solvente (acetona, hexano e acetato de etila) para a etapa de eluição, a quantidade de adsorvente (150 e 300 mg), a influência do pH (2, 4 e 5) e o volume de quebra (50, 100, 250 e 500 mL).

A melhor recuperação (entre 40 e 141%) para a maioria dos analitos obteve-se com 150 mg da fase sólida SG10A, acetona como solvente de eluição, e pH 4 para a solução aquosa contendo os analitos. O volume de quebra foi de 50 mL, considerando-se o analito com menor recuperação. Os limites de detecção ficaram entre 4,26 e  $0,66 \mu\text{g.L}^{-1}$  para o modo SCAN e para o modo  $\mu\text{SIS}$ . Os limites de quantificação, ficaram entre 14 e  $9,4 \mu\text{g.L}^{-1}$  para o modo SCAN e 14 e  $3,4 \mu\text{g.L}^{-1}$  para o modo  $\mu\text{SIS}$ . Após o estabelecimento das condições de pré-concentração, foi analisada amostra água da torneira como amostra real. Esta análise foi realizada em triplicata de amostra. Não foram detectados nenhum dos compostos acima citados, na amostra analisada.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	3
SUMÁRIO.....	4
ÍNDICE DE FIGURAS.....	6
ÍNDICE DE TABELAS.....	8
LISTA DE ABREVIATURAS.....	9
1. INTRODUÇÃO.....	10
2. ASPECTOS TEÓRICOS.....	12
2.1 CLASSIFICAÇÃO E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS AGROTÓXICOS.....	12
2.2 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA – EFS.....	14
2.2.1 Sílica como material para adsorção/dessorção em química analítica.....	17
2.3 VALIDAÇÃO DE PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS.....	18
2.3.1 Curva analítica.....	19
2.3.2 Linearidade.....	19
2.3.3 Limite de Detecção e Limite de Quantificação.....	20
2.3.4 Recuperação.....	21
2.3.5 Precisão.....	21
2.4 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA.....	22
2.4.1 Cromatografia a Gás com Detector de Massas (CG/EM).....	23
2.4.1.1 Ionização.....	25
2.4.1.2 Ionização por impacto eletrônico (EI) .....	25
2.4.1.3 Considerações Instrumentais.....	27
2.4.1.4 Analisadores de Massas.....	28
2.4.1.5 Detectores para Espectrômetro de Massas.....	30
2.4.1.6 Técnicas de varredura.....	31
2.4.1.7 Apresentação dos dados.....	32
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	33
4. OBJETIVOS.....	35
4.1 OBJETIVO GERAL.....	35
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	35
5 PARTE EXPERIMENTAL.....	35
5.1 MATERIAIS E MÉTODOS.....	35

5.1.1	Materiais.....	35
5.1.1.1	Solventes e Reagentes.....	35
5.1.1.2	Preparo das Soluções.....	36
5.1.1.3	Limpeza da vidraria.....	36
5.1.2	Métodos.....	36
5.1.2.1	Estudos de adsorção.....	36
5.1.2.2	Determinação do melhor solvente para a etapa de eluição.....	37
5.1.2.3	Determinação da quantidade de FS.....	37
5.1.2.4	Determinação do volume de quebra.....	38
5.1.2.5	Avaliação da influência do pH.....	38
5.1.2.6	Análise da amostra real.....	38
5.2	ANÁLISE INSTRUMENTAL.....	38
5.3	VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA.....	39
5.3.1	Curva Analítica e Linearidade.....	39
5.3.2	Determinação dos Limites de Detecção e de Quantificação.....	39
5.3.3	Recuperação.....	39
5.3.4	Precisão.....	40
6	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	40
6.1	CARACTERÍSTICAS DAS SÍLICAS MODIFICADAS.....	40
6.2	ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA A GÁS ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS.....	41
6.3	LIMITE DE DETECÇÃO E DE QUANTIFICAÇÃO.....	44
6.4	ESTUDOS DE ADSORÇÃO/ DESSORÇÃO.....	44
6.4.1	Avaliação da Capacidade de Adsorção das Diferentes Sílicas Modificadas.....	44
6.4.2	Determinação do melhor solvente de eluição e da quantidade de adsorvente de acordo com as sílicas estudadas.....	44
6.4.3	Determinação da influência do pH nas amostras.....	48
6.4.4	Determinação do “volume de quebra” para a sílica SG10A.....	50
6.5	ANÁLISE DAS AMOSTRAS REAIS.....	51
7	CONCLUSÕES.....	53
8	BIBLIOGRAFIA.....	54
	ANEXO I.....	56

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Esquema genérico das etapas do procedimento de extração em fase sólida de amostras aquosas.....	15
<b>Figura 2:</b> Diagrama demonstrando o ruído da linha base, o LOD e o LOQ.....	21
<b>Figura 3:</b> Representação de um Cromatógrafo a Gás com Detector de Massas.....	24
<b>Figura 4:</b> Representação tridimensional dos dados gerados por Cromatografia a Gás acoplado à Espectrômetro de Massas (GC/MS).....	25
<b>Figura 5:</b> Representação esquemática do analisador quadrupolar de massas.....	29
<b>Figura 6:</b> Representação esquemática de um analisador do tipo Ion Trap.....	30
<b>Figura 7:</b> Representação esquemática de um multiplicador de elétrons.....	31
<b>Figura 8:</b> (A) Cromatograma do íon total (TIC) obtido por Impacto Eletrônico dos seguintes compostos: (#1) N-nitrosodimetilamina; (#2) bis(2-cloroetil) éter; (#3) bis(2-cloroisopropil) éter; (#4) N-nitroso-di-n-propilamina; e (#5) bis(2-cloroetoxi) metano; (B) Cromatograma para monitoramento do íon $m/z$ 74; (C) Cromatograma para monitoramento do íon $m/z$ 93.....	32
<b>Figura 9:</b> Representação esquemática dos cartuchos empacotados em laboratório.....	37
<b>Figura 10:</b> Representação esquemática do procedimento de EFS.....	40
<b>Figura 11:</b> Cromatograma da solução padrão, em acetona na concentração de 1,0 mg L <sup>-1</sup> com padrão interno (aldrin) dos pesticidas organoclorados estudados, no modo SCAN (A-Hexaclorobenzeno; B- Lindano; C- Heptacloro; D- Aldrin; E- Heptacloro epóxido; F- Dieldrin; G- Endrin).....	41
<b>Figura 12:</b> Espectros de massas para os organoclorados estudados no modo SCAN.....	42
<b>Figura 13:</b> Cromatograma da solução mista de organoclorados na concentração de 1,0 mg L <sup>-1</sup> , em acetona, no CG-EM., no modo $\mu$ SIS (A- Hexaclorobenzeno; B- Lindano; C- Heptacloro; D- Aldrin (PI); E- Heptacloro epóxido; F- Dieldrin; G- Endrin.).....	43
<b>Figura 14:</b> Recuperação dos organoclorados com os adsorventes SG10A, SG2A e SG100 utilizando acetona como eluente e 150 mg de FS.....	47
<b>Figura 15:</b> Recuperação dos organoclorados com os adsorventes SG10A, SG2A e SG100 utilizando acetona como eluente e 300 mg de FS.....	47
<b>Figura 16:</b> Recuperação dos organoclorados com os adsorventes SG10A, SG2A e SG100 utilizando hexano como eluente e 150 mg de FS. ....	48

<b>Figura 17:</b> Recuperação dos organoclorados com os adsorventes SG10A, SG2A e SG100 utilizando hexano como eluente e 300 mg de FS. ....	48
<b>Figura 18:</b> Recuperação dos organoclorados com a FS SG100 utilizando acetona como eluente e 150 mg de fase com diferentes valores de pH.....	49
<b>Figura 19:</b> Gráfico de recuperação dos agrotóxicos no processo de EFS, com o adsorvente SG100 utilizando hexano como eluente e 150 mg de fase com diferentes pH's. ....	50
<b>Figura 20:</b> Recuperação dos organoclorados na sílica SG10A frente a diferentes volumes .....	51
<b>Figura 21:</b> Cromatograma da amostra real analisado por CG-EM no modo $\mu$ SIS.....	52
<b>Figura 22:</b> Cromatograma da amostra real contaminada analisada por CG-EM no modo $\mu$ SIS (A- Hexaclorobenzeno; B- Lindano; C- Heptacloro; D- Aldrin (PI); E- Heptacloro epóxido; F- Dieldrin; G- Endrin).....	52

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Padrão de potabilidade para os compostos estudados neste trabalho.....	11
<b>Tabela 2:</b> Valores de massa molecular, ponto de ebulição, log de $K_{ow}$ e classe a que pertencem os organoclorados estudados.....	13
<b>Tabela 3:</b> Sílicas funcionalizadas, comercialmente disponíveis para pré-concentração de analitos em diferentes matrizes.....	18
<b>Tabela 4:</b> Resumo de alguns artigos encontrados na literatura para a determinação de pesticidas organoclorados.....	34
<b>Tabela 5:</b> Percentual atômico de C e O nas sílicas funcionalizadas com ODS pelo método sol-gel determinada pelo método de CHN e distribuição de tamanho de partícula ou aglomerados determinada por espalhamento de luz.....	40
<b>Tabela 6:</b> Condições cromatográficas utilizadas no modo SCAN.....	41
<b>Tabela 7:</b> Tempos de retenção e programa de análise dos organoclorados no método $\mu$ SIS de acordo com as condições da tabela anterior.....	43
<b>Tabela 8:</b> Limites de detecção e quantificação para os organoclorados estudados, em $\mu\text{g L}^{-1}$ , nos modos SCAN (*) e $\mu$ SIS (**)......	44
<b>Tabela 9:</b> Dados de recuperação dos compostos em estudo frente à quantidade de adsorvente e diferentes solventes.....	46
<b>Tabela 10:</b> Dados referentes às recuperações frente a diferentes valores de pH's e solventes de eluição.....	49
<b>Tabela 11 -</b> Recuperação (%) dos organoclorados em diferentes volumes de amostra percolados, para determinação do volume de quebra.....	50

## LISTA DE ABREVIATURAS

- ANVISA:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- CNNPA:** Comissão Nacional de Normas e Padrões de Alimentos
- CG:** Cromatografia Gasosa
- GC-MS:** Cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas
- CI:** Ionização Química
- DCE:** Detector por captura de elétrons
- EFS:** Extração em fase sólida
- EI:** Impacto Eletrônico
- ELL:** Extração Líquido-Líquido
- FR:** Fator de Resposta
- FS:** Fase Sólida
- GARP:** Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas
- IE:** Energia de Ionização
- INMETRO:** Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
- IUPAC:** *International Union of Pure and Applied Chemistry*
- LD<sub>50</sub>:** Dose Letal necessária para matar 50% da população
- LOD:** Limite de Detecção
- LOQ:** Limite de Quantificação
- MEFS:** Microextração em Fase Sólida
- MIP:** *Molecularly Imprinted Polymers*
- MM:** Massa Molecular
- ODS:** Octadecilsilano
- PE:** Ponto de Ebulição
- PI:** Padrão Interno
- RSD:** Desvio Padrão Relativo

## 1. INTRODUÇÃO

Pesticida é o termo utilizado para toda substância química usada para combater organismos que causam prejuízos financeiros às colheitas ou às plantas ornamentais. De acordo com a resolução da antiga Comissão Nacional de Normas e Padrões de Alimentos (CNNPA) do Ministério da Saúde, pesticidas incluem herbicidas, fungicidas, rodenticidas, germicidas, algicidas, etc<sup>1</sup>.

Atualmente, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determinou que o termo a ser utilizado fosse “AGROTÓXICO”<sup>2</sup>, e tem por definição: “*produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou implantadas, de ecossistemas e também ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da fauna e da flora, e de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos; substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimulantes e inibidores de crescimento*” (Decreto nº. 98.816, de 11 de janeiro de 1990)<sup>3</sup>.

No Brasil, a utilização de pesticidas organoclorados é proibida, porém a utilização ilegal destes produtos é tida como fato, devido a isso estes compostos ainda aparecem na lista de resíduos que são controlados tanto em água para consumo humano, como em águas naturais, devido ao grande problema ambiental que sua utilização pode causar.

A legislação brasileira através da PORTARIA N.º 518, DE 25 DE MARÇO DE 2004 do Ministério da Saúde, estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. O padrão de potabilidade para substâncias químicas que representam risco à saúde, deve estar em conformidade com a Tabela 3 desta portaria. Na tabela 1, estão dispostos estes valores apenas para os compostos analisados no presente estudo.

**Tabela 1** - Padrão de potabilidade para os compostos estudados neste trabalho.

AGROTÓXICO	VMP ( $\mu\text{g/L}$ )
Endrin	0,6
Dieldrin	0,03
Lindano	2
Hexaclorobenzeno	1
Heptacloro	0,03
Heptacloro Epóxido	0,03

VMP – Valor Máximo Permitido

Para a determinação destes compostos na faixa de concentração necessária para o atendimento à portaria, é necessário tanto a pré-concentração<sup>4</sup> bem como instrumentação capaz de detectá-los. Com relação aos sistemas de pré-concentração, várias alternativas podem ser utilizadas, que vão desde a tradicional extração líquido-líquido (ELL), a extração em fase sólida (EFS) e a microextração em fase sólida (MEFS).

A ELL foi muito utilizada no passado. Atualmente este sistema de pré-concentração tem sido abandonado devido a vários problemas dos quais pode-se citar: o consumo de grande grandes volumes de solventes, problemas relacionados a evaporação do solvente e formação de emulsão, baixa seletividade, dentre outros.

Na década de 80, a EFS começou a ser utilizada, em substituição a ELL. A EFS mostrou-se mais eficiente e efetiva, tendo como principais vantagens a rapidez, possibilidade de automação, menor consumo de solvente e maior seletividade. Além disso, outro fator que impulsionou a EFS foram os avanços em termos de produção de materiais adsorventes dos mais variados, com grande facilidade de se tornarem comercializáveis. Dentre estes materiais, especial atenção deve-se àqueles a base de sílica quimicamente modificada. Atualmente o mercado dispõe de inúmeras alternativas de fases sólidas, específicas para grande variedade de analitos e de matrizes.

Na década de 90, outra alternativa importante que surgiu foi a MEFS. A grande vantagem desta técnica de extração/pré-concentração é o fato de ser uma técnica livre de solventes, fato que a tornou extremamente popular. Uma de suas limitações é o fato de ser mais eficiente para compostos voláteis ou semi-voláteis.

## 2. ASPECTOS TEÓRICOS

### 2.1. CLASSIFICAÇÃO E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS AGROTÓXICOS

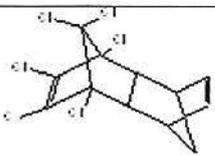
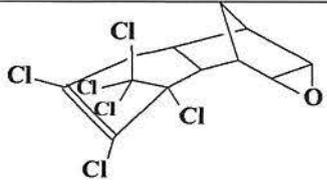
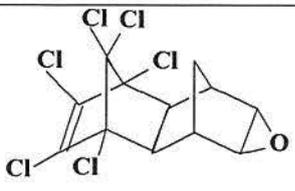
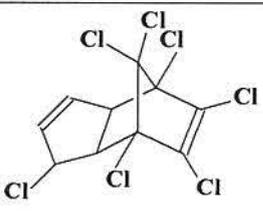
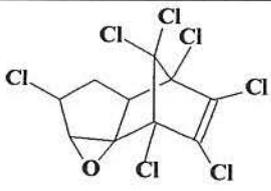
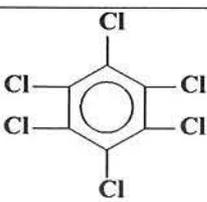
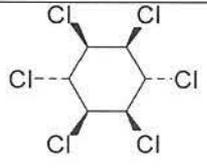
Os agrotóxicos são classificados em 4 classes de acordo com o grau de risco para o homem. Esta classificação é dada em função da Dose Letal 50 ( $LD_{50}$ ) que é definida como a dose de um produto químico que mata 50% da população da amostra.

- Classe I: Muito perigosos  $LD < 5 \text{ mg/kg}$
- Classe II: Perigosos  $LD_{50} 5 - 50 \text{ mg/kg}$
- Classe III: Moderadamente perigosos  $LD_{50} 50 - 500 \text{ mg/kg}$
- Classe IV: Pouco perigosos  $LD_{50} > 500 \text{ mg/kg}$

As principais doenças, que tem sido associadas a estes compostos são: alterações neuro-comportamentais, depressão, dermatoses, alergias, pneumonites, fibrose pulmonar, insuficiência renal, depressão imunológica, catarata e conjuntivite, desregulação endócrina, teratogênese, mutagênese, redução da fertilidade e câncer<sup>5</sup>.

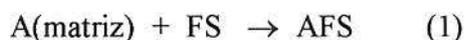
Os organoclorados não são solúveis em água, são bioacumulados especialmente em organismos aquáticos, além de serem persistentes no meio-ambiente<sup>6</sup>. Na Tabela 2 são apresentadas as estruturas químicas e dados relevantes dos organoclorados estudados neste trabalho<sup>7</sup>.

**Tabela 2:** Valores de massa molecular, ponto de ebulição, log de  $K_{ow}$  e classe a que pertencem os organoclorados estudados.

Estrutura	Nome	MM (u.m.a.)	PE (°C)	Classe toxicologica	log $K_{ow}$
	Aldrin	364,9	368	I	7,4
	Dieldrin	380,9	231	I	6,2
	Endrin	380,9	367,23	I	5,34
	Heptachloro	373,7	373,5	I	5,27
	Heptachloro epóxido	389,3	260	I	5,0
	Hexaclorobenzeno	284,8	256,9	I	5,5
	Lindano	290,8	123	I	3,61

## 2.2. EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA – EFS

A extração em fase sólida tem sido uma das técnicas mais utilizadas para extração e/ou pré-concentração de amostras contendo analitos em baixa concentração. O princípio da EFS baseia-se na interação entre os analitos (A) com relação à matriz que os contem e uma fase sólida (FS). Esta etapa é denominada ADSORÇÃO (etapa 1). Posteriormente os analitos retidos são deslocados da FS por solvente(S) ou mistura de solventes (etapa 2).



A interação do analito (A) com a FS deve ser suficiente para desloca-lo da matriz mas não muito forte para permitir que o solvente ou mistura de solventes (S) possa desloca-lo da FS, na etapa de dessorção. Neste caso duas situações extremas podem ocorrer:

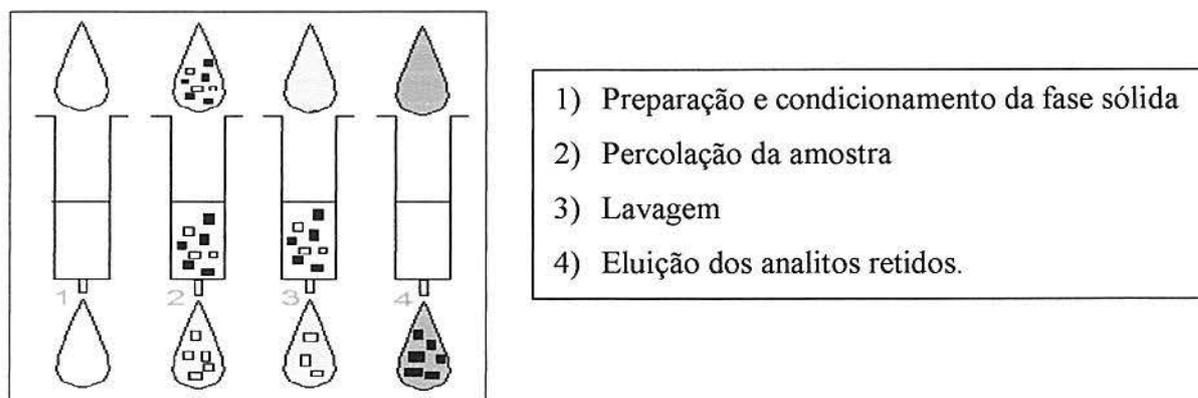
- (1) a interação entre A e FS é menor que entre A e a matriz – neste caso o analito segue com a matriz e não ocorre retenção na FS;
- (2) a interação entre A e FS é muito forte – o solvente poderá não conseguir deslocar o A da FS, tendo-se então uma retenção irreversível.

Nenhuma destas duas situações é desejável, portanto antes do estabelecimento de um procedimento de EFS alguns parâmetros devem ser investigados para que se tenha a melhor condição.

Na EFS, o adsorvente é empacotado em um cartucho, sustentado por um *frit*. A quantidade empacotada vai depender da amostra a ser analisada. Para os sistemas comerciais encontra-se cartuchos de 100 a 1000 mg de fase sólida, com diferentes capacidades de volume de amostra. As principais vantagens desta técnica são:

- A) Menor uso de solventes orgânicos;
- B) Não formação de emulsão;
- C) Possibilidade de automação;
- D) Menor número de etapas;
- E) A extração pode ser feita no próprio local, pois os cartuchos podem ser facilmente transferidos.

A Figura 1 representa, o esquema genérico das etapas de um procedimento de extração em fase sólida.



**Figura 1:** Esquema genérico das etapas do procedimento de extração em fase sólida de amostras aquosas.

O condicionamento tem por objetivo prepara o adsorvente para interagir com os analitos, ordenando as cadeias carbônicas do substituinte ligado à superfície da sílica. Além disto, o condicionamento mantém o adsorvente solvatado a fim de evitar a formação de canais preferenciais que comprometeriam a pré-concentração<sup>8</sup>.

Na percolação da amostra, os analitos ficam seletivamente retidos na fase sólida (FS). As principais interações envolvidas entre analitos e fase sólida, são: partição, adsorção e troca iônica. Estas interações são fracas (ligações de Hidrogênio, van der Waals, dipolo-dipolo) e irão depender da natureza do analito e da fase sólida.

A etapa de lavagem tem por objetivo remover impurezas da matriz, que ficaram retidas na FS junto com os analitos. Para matrizes menos complexas esta etapa não é necessária. No entanto para matrizes complexas (efluentes industriais, domésticos) esta etapa é fundamental a fim de reduzir interferentes.

A eluição visa retirar os analitos de interesse que foram seletivamente retidos na FS. Nesta etapa utiliza-se um solvente, mistura de solventes ou até mesmo uma solução ácida ou salina e pH controlado.

De acordo com o acima exposto, vários parâmetros devem ser considerados para os sistemas de EFS. Estes parâmetros são:

- (A) Massa de fase sólida – a quantidade de FS utilizada tem a ver com a massa de analitos a serem pré-concentradas e com a matriz em estudo. Quantidades maiores de analito demandam maior quantidade de FS a fim de evitar a saturação dos sítios adsorventes.
- (B) Volume de quebra – Na EFS, um volume fixo de amostra (contendo os analitos) é percolado pela FS. Os analitos são retidos por interações fracas com a FS. O volume de amostra que é percolado pela FS não é infinitamente grande, pois a partir de certo volume de amostra, a própria amostra pode começar a arrastar os analitos que ficaram retidos na FS. Isso acontece porque o volume de amostra é muito grande e depende de cada analito. Quanto maior a interação entre analito de FS maior o volume de amostra que pode ser percolado por esta. Grandes volumes de amostras vão resultar em maior fator de concentração o que sempre é desejável em uma análise de traços. Portanto este volume limite da amostra deverá ser determinado para cada analito. O volume de quebra é determinado pela recuperação, e é dado pelo volume de amostra que apresenta a maior recuperação para todos os analitos da amostra em estudo.
- (C) Solvente para eluição – deve ser capaz de desorver os analitos que ficaram retidos na FS, na etapa de percolação da amostra. Deve, portanto Ter mais afinidade pelos analitos do que a FS.
- (D) pH da amostra – depende dos analitos e em menor extensão da FS. É mais crítico para analitos iônicos ou ionizáveis.
- (E) Concentração dos analitos – esta relacionado a saturação da FS. Logo quando maior a concentração dos analitos na amostra, maior deve ser a quantidade de FS, a fim de não haver problemas de saturação dos sítios adsorventes.
- (F) Fator de concentração – é dado pela razão entre o volume da amostra e o volume final do extrato. Grandes fatores de concentração são desejáveis em análise de traços.
- (G) Recuperação - Para que uma extração eficiente ocorra, a distribuição do analito entre a amostra líquida (amostra) e a fase sólida de favorecer a FS. A recuperação é uma avaliação percentual da massa de analito que foi retido (adsorção) pela FS e eluída pelo solvente (dessorção). Quanto maior a recuperação mais eficiente a etapa de adsorção/dessorção.

Vários são os materiais usados como FS para pré-concentrar analitos presentes em amostras ambientais, como é o caso das sílicas modificadas<sup>9</sup>, polímeros<sup>10</sup>, aluminas<sup>11</sup>, MIPs<sup>12</sup> (do inglês: Molecularly Imprinted Polymers), dentre outros. A sílica é um dos principais materiais principalmente pela sua possibilidade de funcionalização. Neste

trabalho, materiais a base de sílica modificada serão utilizados, portanto a seguir serão discutidos aspectos particulares da sílica.

### 2.2.1. Sílica como material para adsorção/dessorção em química analítica

A sílica é um óxido de silício e possui fórmula geral  $\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . Existem sílicas naturais e sintéticas, sendo que as naturais constituem 60% (p/p) da crosta terrestre<sup>13</sup>.

A estabilidade entre as ligações dos grupos silanóis e os analitos, permite que sejam feitas mudanças nos adsorventes. As sílicas sintéticas foram desenvolvidas no século XX e, devido sua elevada área específica, possuem mais aplicações em química que as sílicas naturais. Dentre elas, podemos destacar os recheios para colunas cromatográficas<sup>14</sup>, fases para pré-concentração de metais<sup>15</sup> e poluentes orgânicos<sup>16</sup>, agentes dessecantes e suportes para catalisadores<sup>17</sup>.

A sílica, em função dos sítios ácidos de Brønsted<sup>18</sup>, mesmo não estando organofuncionalizadas, mostra-se capaz de adsorver diversas espécies químicas<sup>19-25</sup> como amidas<sup>24</sup>, álcoois<sup>20</sup>, proteínas<sup>22</sup> e fosfatos biologicamente ativos<sup>21</sup>. Este processo de transferência de massa envolve interações do tipo *Van der Waals*, dipolo-dipolo, ligações de Hidrogênio e ligações iônicas entre as moléculas gasosas ou moléculas dissolvidas nos sólidos adsorventes<sup>26</sup>.

Quando a sílica é organofuncionalizada com um organosilano, há uma combinação entre as propriedades texturais das sílicas com a capacidade de interações físico-químicas específicas do organosilano, o que resulta em uma variação das características superficiais, que leva a variações nas interações entre adsorvente/analito. São dois os principais processos para modificação de sílica: o sol-gel e o *grafting*.

No processo sol-gel ocorre o crescimento e agregação de partículas coloidais para formar um gel, a partir de reações de hidrólise e condensação<sup>27</sup>. Atualmente, essa definição vem sendo expandida para incluir todos os processos em fase líquida de sistemas cerâmicos. O termo sol é usado para designar uma suspensão estável de partículas sólidas ou polímeros de tamanho coloidal em um líquido. O gel consiste em uma contínua rede sólida tridimensional formada pela união de moléculas, ou seja, por ligações químicas ou físicas. A gelificação (formação de géis) ocorre no chamado processo sol-gel e se dá através da formação de ligações covalentes e é um processo irreversível<sup>28</sup>.

No processo *grafting* (muitas vezes traduzido por enxerto), ocorre a reação química, covalente entre um grupo reativo do composto a ser imobilizado (ligantes como alcóxido, haletos, hidretos) com o hidrogênio (que funciona como ácido de Brønsted) dos

grupos OH da superfície do óxido. O teor incorporado se mostra dependendo da disponibilidade desses grupos (densidade de grupos na superfície), bem como do efeito estérico desempenhado pela própria superfície do óxido.

A tabela 3 apresenta exemplos de sílicas funcionalizadas comercializadas e sua aplicação.

**Tabela 3** - Sílicas funcionalizadas, comercialmente disponíveis para pré-concentração de analitos em diferentes matrizes.

Fase	Aplicação
Sílica Bondesil – ODS	Pesticidas em sucos de frutas <sup>29</sup>
Sílica monolítica-ODS/sílica-ODS-titânio	Purificação de proteínas <sup>30</sup>
Sílica gel-2-mercaptobenzotiazol	Íons prata em água <sup>31</sup>
Fibras recobertas com sílica gel-polidimetilsiloxano	Hidrocarbonetos poliaromáticos em água <sup>32</sup>
Sílica-aminopropil com cafeína como molécula modelo	Metabólitos da cafeína em água <sup>33</sup>
Sílica-aminopropil com bisfenol-A como molécula modelo	Bisfenol-A em água <sup>34</sup>
Sílica-polimetiloctilsiloxano	Pesticidas <sup>35</sup>
Sílica-polimetiltetradecilsiloxano	Pesticidas em água <sup>36</sup>
Blocos de sílica-polidimetilsiloxano	Benzeno, tolueno e xileno em água e ar <sup>37</sup>

### 2.3. VALIDAÇÃO DE PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

A validação de um procedimento analítico pode ser considerada como a soma de diferentes etapas de validação a serem incluídas no processo analítico. Em geral, envolve a execução e a interpretação de uma série de experimentos planejados a fim de avaliar as características do procedimento. Desta forma, todas as variáveis devem ser consideradas, tais como a estratégia de amostragem, preparação da amostra, detecção e avaliação dos dados<sup>38</sup>.

Os parâmetros analíticos normalmente utilizados para validação de métodos de são: curva analítica, linearidade, seletividade, recuperação, precisão, limites de detecção e de quantificação e robustez<sup>39</sup>.

### 2.3.1. Curva analítica

A curva analítica é o método de quantificação mais frequentemente utilizado e consiste na determinação da resposta de determinado instrumento às várias concentrações da substância em estudo (PRIMEL, Tese de Doutorado, 2003).

Cinco níveis de concentração, no mínimo, são sugeridos pelo Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas (GARP) e ANVISA para que seja construída uma curva analítica, sendo analisados em ordem crescente de concentração, por no mínimo três vezes cada. Já a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC, do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*) recomenda por sua vez seis ou mais níveis de concentração<sup>40</sup>.

Pode-se construir a curva analítica utilizando-se soluções analíticas de referência em solvente ou no extrato obtido com a matriz. A curva preparada em solvente relaciona o sinal do instrumento com a quantidade de analito, sem considerar a interferência da matriz. Para determinadas técnicas instrumentais, certos compostos sofrem interferências como, por exemplo, a adsorção nas paredes do vidro. Assim, recomenda-se a preparação das curvas analíticas no extrato das matrizes como forma de minimizar este efeito de adsorção<sup>41</sup>.

Para a maioria das técnicas analíticas instrumentais, uma relação linear de primeira ordem é observada entre a resposta do detector (y) e a concentração (x) do analito em estudo, podendo ser descrita pela equação da regressão linear:  $y = ax + b$ , onde  $b$  é a intersecção com o eixo y (coeficiente linear), quando  $x = 0$ , e  $a$  é a inclinação da curva (coeficiente angular) (PIMENTEL & BARROS NETO, Calibração: Uma revisão para químicos analíticos, 1996).

### 2.3.2. Linearidade

Define-se linearidade como a capacidade de um método analítico gerar resultados proporcionais à concentração da espécie em análise, dentro de uma faixa analítica especificada, na qual é possível relacionar o valor de uma variável dependente (medida) através do conhecimento da variável independente (concentração)<sup>39</sup>.

A linearidade é determinada através da análise de uma série de soluções analíticas de diferentes concentrações, variando-se estas de acordo com a finalidade da análise (MISTURA, Dissertação de Mestrado - UPF, 2003).

Para verificar se os pontos encontram-se dentro da região linear da curva utiliza-se o teste da razão entre o sinal (S) e a concentração (Q), definida pela equação 1:

$$(S/Q)_i \% = \left( \frac{S_i - b}{Q_i} \right) \times 100/a \quad (1)$$

Onde: b = coeficiente linear; a = coeficiente angular.

Os valores de S e Q são obtidos na construção da curva analítica, através dos parâmetros de área ou altura do pico e concentração do analito.

Na ausência de erros indeterminados, isto é, com  $r^2 = 1$ , e dentro da faixa linear, pode-se provar que  $(S/Q)_i = a$  para todos os pares de valores experimentais usados para construir a curva. Na presença de erros indeterminados ( $r^2 < 1$ ), que é o que ocorre na prática, e dentro da faixa linear,  $(S/Q)_i \approx a$ . Se  $(S/Q)_i \ll a$  ou  $(S/Q)_i \gg a$ , então o resultado pode ser assumido como fora da faixa linear. Conforme normas da União Internacional de Química Pura e Aplicada, (IUPAC, do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*), são considerados dentro da faixa linear, os pontos cujas razões sinal/concentração não ultrapassam mais de 5% do coeficiente angular da reta<sup>42</sup>.

### 2.3.3. Limite de Detecção e Limite de Quantificação

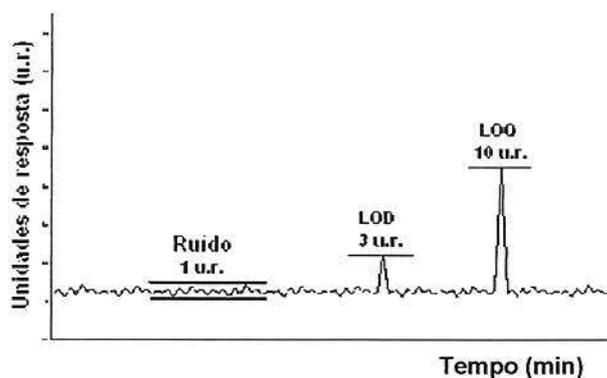
Quando são realizadas medidas em amostras com baixos níveis do analito ou de uma propriedade é importante saber qual o menor valor de concentração do analito ou da propriedade que pode ser detectado pelo método. (INMETRO, 2003).

O Limite de Detecção (LOD, do inglês *Limit of Detection*) representa a menor concentração da substância em análise que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada. É geralmente expresso em unidades de concentração e definido como a relação de 2:1 ou 3:1 em relação ao sinal-ruído<sup>40</sup>.

Já o Limite de Quantificação (LOQ, do inglês *Limit of Quantification*) é a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível de precisão e veracidade (*trueness*). Pode ser considerado como sendo a concentração do analito correspondente ao

valor da média do branco mais 5, 6 ou 10 desvios-padrão. Na prática, corresponde normalmente ao padrão de calibração de menor concentração. (INMETRO, 2003).

Uma definição aceita para estes parâmetros denomina como unidades de resposta (u.r.) as medidas realizadas para determinar os valores de LOD, LOQ e ruído da linha base, conforme Figura 2.



**Figura 2:** Diagrama demonstrando o ruído da linha base, o LOD e o LOQ.<sup>42</sup>

Assim, o ruído consiste na flutuação da linha base obtida na medida sendo a diferença entre a maior altura e a maior profundidade dos picos, não relacionando a nenhum composto detectado. Com o tempo, o ruído pode mudar, e conseqüentemente o LOD e o LOQ. Assim, os instrumentos necessitam ser averiguados rotineiramente e os dados relatados de acordo com a variação em cada aquisição<sup>42</sup>.

#### 2.3.4. Recuperação

A recuperação de um analito pode ser estimada pela análise de amostras adicionadas com quantidades conhecidas do mesmo (*spike*), em pelo menos três diferentes concentrações. A recuperação, em termos de porcentagem, é calculada segundo a equação (2) (INMETRO, 2003):

$$R (\%) = \frac{\text{massa obtida}}{\text{massa real}} \times 100 \quad (2)$$

#### 2.3.5. Precisão

A precisão representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições definidas. É expressa através da estimativa do desvio padrão relativo (RSD, do inglês

*Relative Standard Deviation*), calculado pela equação (3) e pode ser determinada em termos de repetitividade e precisão intermediária<sup>40</sup>.

$$\text{RSD} = \frac{s}{X_m} \times 100 \quad (3)$$

Onde:

$s$  = estimativa do desvio padrão absoluto =  $\{\sum(x_i - x_m)^2 / n - 1\}^{1/2}$ ;

$x_i$  = valores individuais;

$x_m$  = média de uma série de medidas (replicatas);

$n$  = número de medidas.

A repetitividade representa o grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo mensurando, realizadas sob as mesmas condições de medição, denominadas condições de repetitividade, com o mesmo procedimento, mesmo analista, mesmo instrumento usado sob as mesmas condições, no mesmo local e com repetições em curto intervalo de tempo (INMETRO, 2003).

Já a precisão intermediária indica o efeito das variações dentro do laboratório devido a eventos como diferentes dias ou diferentes analistas, diferentes equipamentos ou uma combinação destes fatores. Esta medida da precisão é reconhecida como a mais representativa da variabilidade dos resultados em um único laboratório e, como tal, mais aconselhável de ser adotada. O objetivo da validação da precisão intermediária é verificar que no mesmo laboratório o método fornecerá os mesmos resultados depois que esteja finalizado<sup>40</sup>.

#### 2.4. ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

A cromatografia é um processo de separação física que permite a análise qualitativa e/ou quantitativa de uma mistura. Esta separação baseia-se nas interações seletivas do analito com a fase estacionária (que esta dentro de uma coluna cromatográfica) e com a fase móvel.

A cromatografia a gás (CG) é uma técnica de grande resolução que utiliza como fase móvel um gás inerte, denominado gás de arraste, que tem por função arrastar os analitos através da coluna de separação até o detector.

Os gases mais usados em cromatografia a gás são: Hélio (He), Hidrogênio (H<sub>2</sub>) e Nitrogênio (N<sub>2</sub>).

Na CG podem ser usadas colunas empacotadas ou colunas tubulares abertas que devido ao pequeno diâmetro, são denominadas colunas capilares. Uma coluna capilar é constituída de sílica fundida e as paredes internas são recobertas por um sólido ou por uma película de um líquido, que é a fase estacionária.

Na CG, as amostras líquidas são vaporizadas no injetor do cromatografo e são arrastadas pelo gás de arraste através da coluna. Quanto maior a interação com a fase estacionária, maior será o tempo de retenção do composto. À medida que os compostos são eluídos da coluna eles vão para um detector no qual serão analisados para posterior análise qualitativa e quantitativa<sup>41</sup>.

Vários detectores podem ser utilizados em CG, dentre eles pode-se citar o detector de captura de elétrons, de ionização em chama, de condutividade térmica e sistema de acoplamento com espectrômetro de massas.

Um sistema de cromatografia a gás acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM) tem a vantagem de gerar o espectro de massas dos compostos que eluem da coluna cromatográfica. Com este dado adicional é possível identificar a substância com maior certeza, do que apenas a comparação por tempo de retenção, que é o caso dos outros detectores utilizados em CG.

#### **2.4.1. Cromatografia a Gás acoplada a espectrômetro de Massas (CG/MS)<sup>44</sup>**

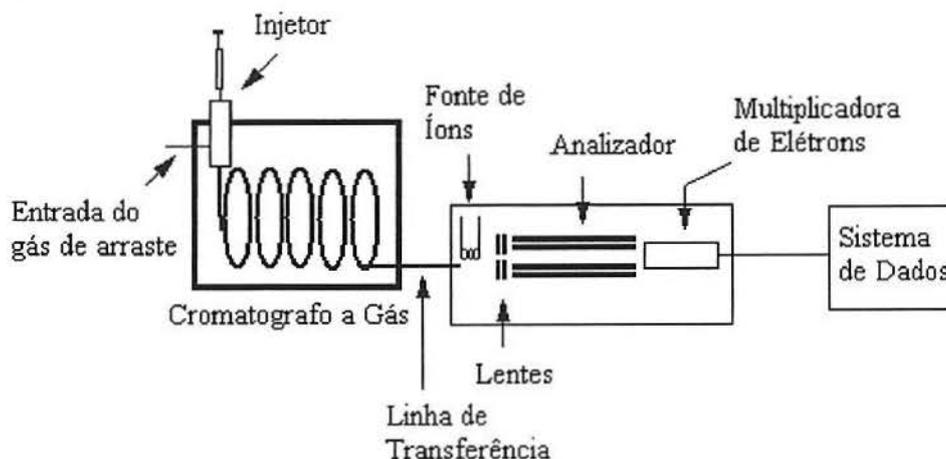
A Cromatografia a Gás com Detector de Massas (GC/MSD) combina alta resolução com alta seletividade e sensibilidade de detecção na separação de componentes. Seu uso em todas as áreas da ciência tem se estendido no ponto de vista de análise de rotina.

A Espectrometria de Massas foi descoberta no século passado pelo físico J. J. Thomson em suas investigações de “raios de eletricidade positiva”. Mais tarde Aston realizou estudos no uso da técnica para a determinação de isótopos elementares. Na década de 50, com a disponibilidade de instrumentos comerciais, a Espectrometria de Massas passou a ser utilizada na pesquisa em química, pela indústria de petróleo. Apenas em 1957, Homes e Morrell realizaram o primeiro acoplamento da Cromatografia a Gás com a Espectrometria de Massas<sup>45</sup>.

A partir de então vários aprimoramentos têm sido realizados em termos instrumentais. Hoje em dia, a Cromatografia a Gás com Detector de Massas é uma técnica

instrumental muito utilizada para auxiliar na elucidação estrutural de moléculas, bem como instrumento analítico para quantificação de poluentes ambientais em níveis de traços<sup>26</sup>.

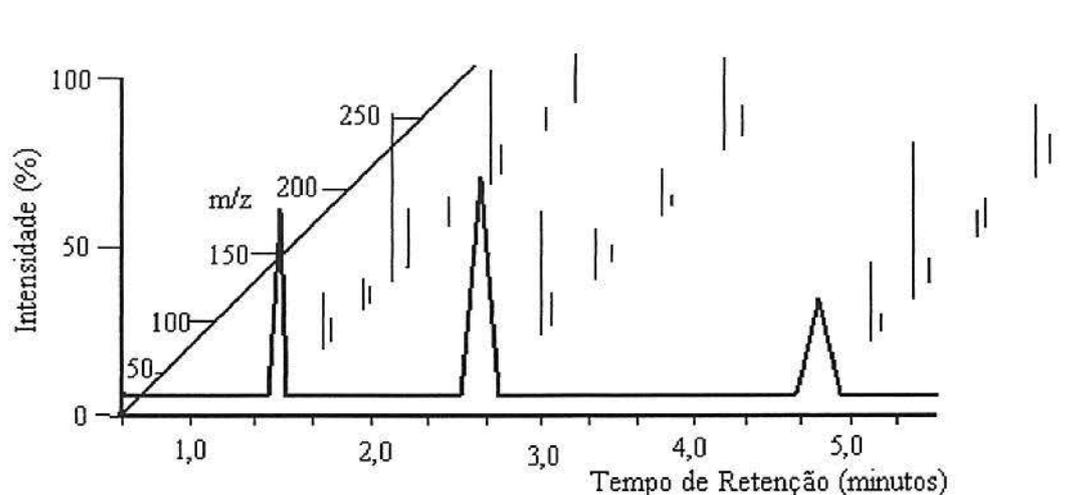
A Figura 3, apresenta um equipamento de Cromatógrafo a Gás com Detector de Massas (GC/MSD).



**Figura 3:** Representação de um Cromatógrafo a Gás com Detector de Massas.

Genericamente, o funcionamento de um GC/MSD, pode ser resumido da seguinte forma:

- os analitos separados na coluna cromatográfica, passam pela interface entre o GC e o analisador de massas (MS). Os analitos vaporizados são então ionizados, produzindo fragmentos moleculares e/ou íons, os quais são separados em função de sua razão carga/massa ( $m/z$ ) e analisados. Com o resultado, cada composto gera um espectro de massas disposto em um gráfico de intensidade relativa dos íons *versus* sua razão carga/massa ( $m/z$ ). Como a maioria dos íons produzidos possui carga +1, os valores de  $m/z$  correspondem as massas dos fragmentos. As intensidades dos íons de todos os valores de  $m/z$ , para cada varredura, são então somadas para gerar um pico cromatográfico chamado de cromatograma do íon total. A Figura 4, ilustra os dados tridimensionais gerados por um CG/MSD.



**Figura 4:** Representação tridimensional dos dados gerados por Cromatografia a Gás acoplado à Espetrômetro de Massas (GC/MS).

Os espectrômetros de massas operam em baixas pressões, na faixa de  $10^{-5}$  a  $10^{-7}$  Torr. A baixa pressão se faz necessária para minimizar colisões ion-molécula sendo que neste ponto o interfaciamento do sistema é muito importante. A cromatografia a gás capilar oferece vantagens adicionais para facilitar este interfaciamento devido ao menor fluxo de gás se comparada com o fluxo das colunas empacotadas.

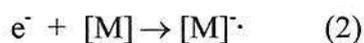
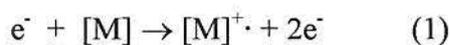
#### 2.4.1.1. Ionização

A ionização das moléculas que eluem da coluna cromatográfica, ocorre nos filamentos que são a fonte de íons, que tem por objetivo fornecer a energia necessária para ionizar as moléculas do analito, enquanto é mantida a temperatura alta o suficiente para prevenir a condensação do analito. Além disso, a lente de foco eletrostático é usualmente incluída no sistema para acelerar os íons e colimarem os feixes de íons. Os dois tipos de ionização mais utilizados no GC/MSD são a ionização por impacto eletrônico (EI) e ionização química (CI).

#### 2.4.1.2. Ionização por impacto eletrônico (EI)

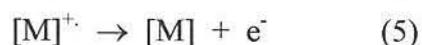
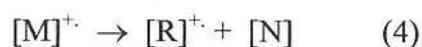
As moléculas neutras [M] que eluem da coluna cromatográfica devem ter carga positiva ou negativa para que sejam separadas no analisador de massas. Como essas moléculas neutras randomicamente se difundem através da fonte de íons, elas são bombardeadas com elétrons com energia de 70 elétrons volts (eV). Se um elétron com

energia suficiente colide e retira da órbita um dos elétrons da molécula neutra, ocorre a formação de um radical  $[M]^{\cdot+}$ . Esse cátion radical refere-se ao íon molecular. Se a molécula captura um elétron, um ânion radical  $[M]^{\cdot-}$  é formado.



Poucas centenas de moléculas são ionizadas a íons moleculares nessas condições, um grande volume de moléculas é removido pelas bombas de vácuo. Íons negativos são  $10^4$  menos abundantes que íons positivos a 70 eV. Pode-se pensar que, com concentrações baixas de íons sendo formados, a técnica de EI poderia não ser sensível. Ao contrário, apenas nanomoléculas da amostra são necessárias para serem detectadas.

Os elétrons que são emitidos do filamento na fonte de íons têm uma distribuição de energia de 0 eV até maior que 20 eV ( $1 \text{ eV} = 96,3 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ). Então, alguns radicais catiônicos  $[M]^{\cdot+}$  e ânions radicais  $[M]^{\cdot-}$  possuem considerável excesso de energia e outros muito poucos. Esse excesso de energia deixa os radicais instáveis e facilita que a fonte de energia fragmente quase todas as ligações simples presentes nas moléculas. Moléculas orgânicas têm energia de ligação aproximadamente na faixa de 193 a 578  $\text{kJ.mol}^{-1}$ . O íon molecular com esse excesso de energia sofre uma reação de decomposição unimolecular onde um fragmento retém a carga positiva  $[F_1]^+$  e o outro é um radical neutro  $[N_1]^{\cdot}$ . O íon molecular pode fragmentar via clivagem de ligação simples para diferentes tipos de fragmentos:  $[F_1]^+$ ,  $[F_2]^+$ ,  $[F_3]^+$ , etc. Em alguns casos, o íon molecular pode rearranjar quando duas ligações são clivadas e duas são formadas para produzir um cátion radical e uma molécula neutra. Como todas as ligações químicas não têm forças iguais, a fragmentação não é randômica e produzem fragmentos estruturalmente característicos. O excesso de energia em  $[M]^{\cdot+}$  pode convertê-lo de volta a uma molécula neutra (reação 5), o qual explica sua baixa concentração na fonte de íons. Simultaneamente, na fonte de íons, as reações 1 a 4 também ocorrerão.



A relação termoquímica da reação 3 pode ser expressa como a energia de ionização (IE) do fragmento radical  $[F\cdot]$ , menos o IE da molécula neutra  $[M]$ , mais a energia de dissociação da ligação  $[D]$  da ligação F-N; isto é,  $\Delta H$  (reação 3) = IE ( $F\cdot$ ) - IE(M) + D(F-N). A energia de ionização é a quantidade de energia necessária para remover um elétron das espécies em consideração. A energia de dissociação da ligação é a quantidade de energia necessária para produzir uma clivagem homolítica da ligação. Várias fontes de dados termoquímicos podem ser usadas para calcular a exotermicidade da reação 3. A importância da estabilização da carga positiva e a força da ligação são refletidas em  $\Delta H$  (Reação 3). Então, uma comparação de duas reações de fragmentação competitivas de uma mesma molécula, a diferença no IEs, e a diferença no D's, controlam a abundância desses caminhos. Em outras palavras, o fragmento que melhor estabiliza a carga positiva irá predominar no espectro de EI.

O íon molecular é observado no espectro de massas em abundância variada. Quando o íon molecular retém uma grande quantidade de excesso de energia, o cátion  $[M]^+$  fragmenta totalmente e não pode ser observado no espectro. Uma voltagem menor do filamento, em torno de 10-15 eV, pode aumentar a abundância do íon molecular. A fragmentação do íon molecular diminui quando menor excesso de energia é transferida para  $[M]^+$ . Elétrons com menores energias alteram drasticamente todo o espectro tanto quanto maximizam a produção do íon molecular. Entretanto, a produção do íon molecular total diminui, causando menor sensibilidade. Variações nas energias de elétrons dentro da faixa de 55-85 eV são um pouco insignificantes na aparência total da técnica de GC/EI. Por essa razão, os espectrômetros de massas EI são operados a 70 eV, e o espectro de vários instrumentos são comparáveis.

#### 2.4.1.3.Considerações Instrumentais

Na preparação das amostras para GC/MSD é preciso ter em mente que tudo que se injeta dentro da coluna cromatográfica será depositado dentro do espectrômetro de massa, com a exceção daqueles componentes que permanecem no injetor ou na coluna. Portanto, materiais semi-voláteis podem se depositar na fonte de íons do espectrômetro de massas resultando perda de sensibilidade, aumentando a manutenção, etc. Isso é comum em colunas que normalmente sangram e podem comprometer a performance do sistema.

Amostras com matrizes muito complexas devem passar por um sistema de *clean-up* a fim de evitar que compostos indesejáveis possam chegar ao detetor de massas podendo provocar danos ao sistema.

A seleção do solvente também é um item importante na GC/MSD. Como o espectrômetro de massas realiza uma varredura ao longo de uma faixa de massas durante a aquisição de valores, é importante minimizar a possibilidade de picos de interferência. Isso pode ser realizado pela escolha de solvente que não gere picos na faixa de massa de interesse. O metanol é um bom solvente na detecção de componentes com  $MW < 100u$  e detecção de picos próximos ao do solvente, uma vez que ele apresenta uma baixa massa molecular de apenas  $32u$ . Solventes como o clorofórmio ou cloreto de metileno, com suas altas massas ( $118$  e  $84u$ , respectivamente), devem ser evitados nesses casos.

Com relação ao fluxo de gás de arraste, normalmente não é maior que  $1\text{mL min}^{-1}$  para instrumentos padrões, com limites de diâmetros de colunas em  $0,25$  ou  $0,32$  mm de diâmetro interno. Fluxos maiores são possíveis com certos instrumentos de acordo com as indicações do fabricante. Injetores do tipo *split/splitless* ou injeções *on-column* pode ser usado na GC/MS. Injeções *split* são evitadas em casos onde componentes em níveis de traços estão sendo analisados. Frequentemente injeções *splitless* são feitos com *liners* de *split*, os quais são empacotados com uma pequena quantidade de lã silanizada para concentrar os não-voláteis, materiais polares que podem contaminar a coluna e/ou o MSD. Injeções *split* podem ser utilizadas, quando possível, para evitar a contaminação do solvente das bombas de vácuo e prevenir perda prematura do filamento.

Em geral, não há limitações significativas nos parâmetros operacionais cromatográficos na GC/MSD, com a exceção das taxas de fluxos, como já discutido. Recomendações também no uso de programas de colunas que utilizam temperaturas próximas de suas temperaturas máximas de operação por longos períodos, porque o aumento da sangria da coluna pode comprometer os resultados obtidos.

#### 2.4.1.4. Analisadores de Massas

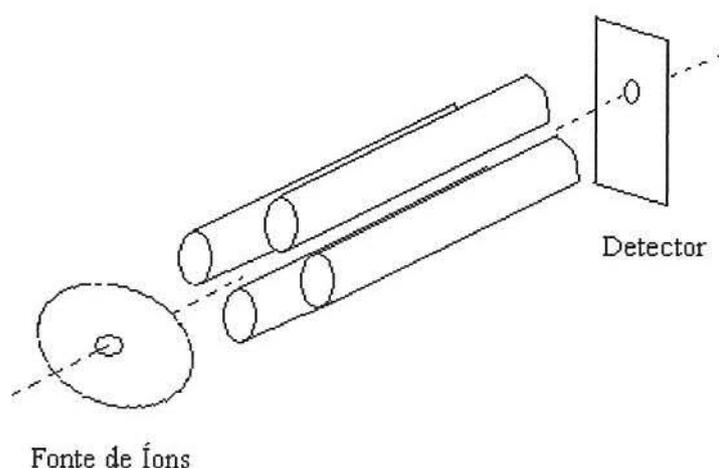
Quando os íons deixam a fonte, eles entram no analisador de massas onde são separados baseados em suas razões carga/massa. A faixa de massas de interesse é monitorada levando a separação de íons no espaço ou no tempo. Os dois analisadores de massas mais usados, são o magnético e o quadrupolo. O analisador magnético utiliza um eletromagneto para separar íons no espaço de acordo com os raios de suas trajetórias. A relação da força do campo magnético com a razão carga/massa é dada por,

$$m/z = B^2 r^2 e / 2V \quad (6)$$

onde: B - campo magnético; r - raio da trajetória; e - carga do elétron; z - número de cargas; V – voltagem de aceleração.

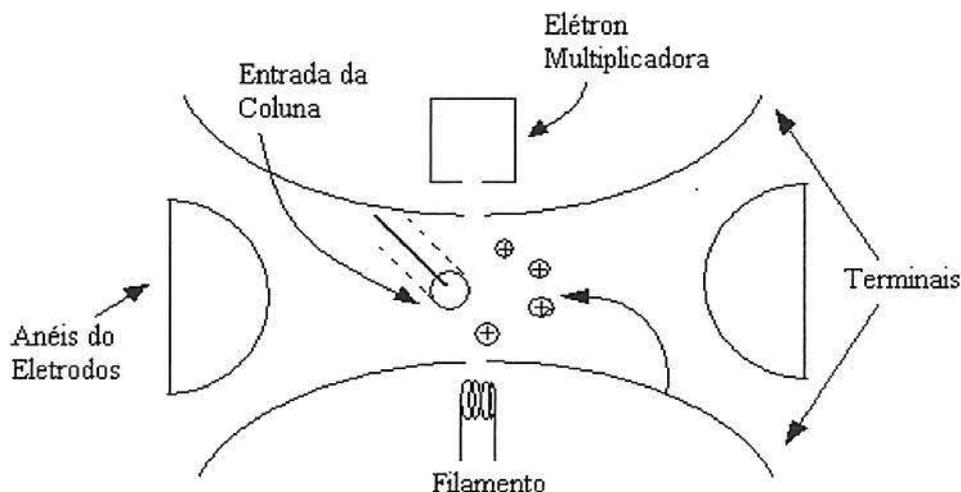
Em um típico analisador magnético, a força do campo magnético é variada, direcionando o feixe de íons através de uma fenda estreita, no qual os íons com pequena ou grande razão  $m/z$  são selecionados. Nesse caminho é gerado o espectrograma. É importante que o magneto seja varrido com velocidade suficiente para amostrar um pico cromatográfico quando ele eluir. Isso requer que para uma faixa de 40 a 500  $m/z$  a velocidade seja de 0,5 segundos.

O analisador quadrupolar, consiste de 4 cilindros orientados em um arranjo quadrado, como mostrado na Figura 5. A radio frequência (**rf**) e o potencial de corrente direta (**dc**) são aplicados nos cilindros, possibilitando que íons com uma razão  $m/z$  específica tenham uma trajetória estável e passem para o detector. Pelo aumento simultâneo de **rf** e **dc**, íons com  $m/z$  grandes passam através do analisador e são detectados. Equações descrevendo tais trajetórias são discutidas na literatura. Duas vantagens do quadrupolo são sua velocidade de varredura e menor custo. Por essas razões, esse analisador é o mais usado na GC/MSD.



**Figura 5:** Representação esquemática do analisador quadrupolar de massas.

Outro analisador bastante utilizado é o *ion trap* (Figura 6). Neste os íons podem ser confinados pelo campo elétrico e magnético. Íons de  $m/z$  específicos circulam em órbitas estáveis dentro do analisador. Quando  $rf$  é aumentado, os íons de menores  $m/z$  são desestabilizados e passam para dentro do detector. Os íons são introduzidos da fonte de íons em um modo pulsado tendo-se uma varredura rápida do  $rf$  para produzir o espectro. Esse analisador é mais caros e mais sensível que o quadrupolo.

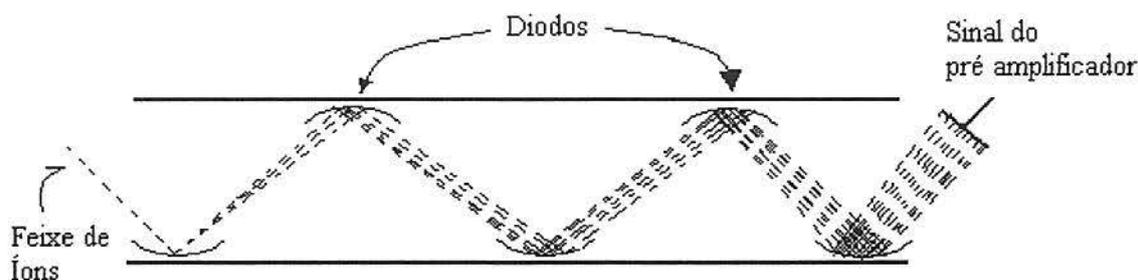


**Figura 6:** Representação esquemática de um analisador do tipo Ion Trap.

#### 2.4.1.5. Detectores para Espectrômetro de Massas

A massa dos íons viaja do analisador para o detector de íons. Os detectores usados em MS necessitam resposta rápida e possibilidade para converter as pequenas correntes de íons em sinais registráveis.

O detector mais popular, o multiplicador de elétrons, é mostrado na Figura 7. Os íons colidem com o primeiro de uma série de diodos. Os diodos operam entre 1 e 3 kV, cada um em série, mantidos em alta voltagem. O efeito é a multiplicação de um feixe de íons primário para um ganho de corrente de cerca de  $10^5$ . Frequentemente o diodo de conversão de alta voltagem (5-20kV) é inserido antes da multiplicadora para aumentar a energia do feixe antes de atingir o detector.



**Figura 7:** Representação esquemática de um multiplicador de elétrons.

#### 2.4.1.6. Técnicas de varredura

O espectrômetro de massas é usado para realizar muitas tarefas, incluindo análises de compostos desconhecidos, análises de traços, análises de compostos alvo e medidas de massas precisas, entre outras. Cada uma dessas análises tem um número de requisitos instrumentais, incluindo o modo de varredura.

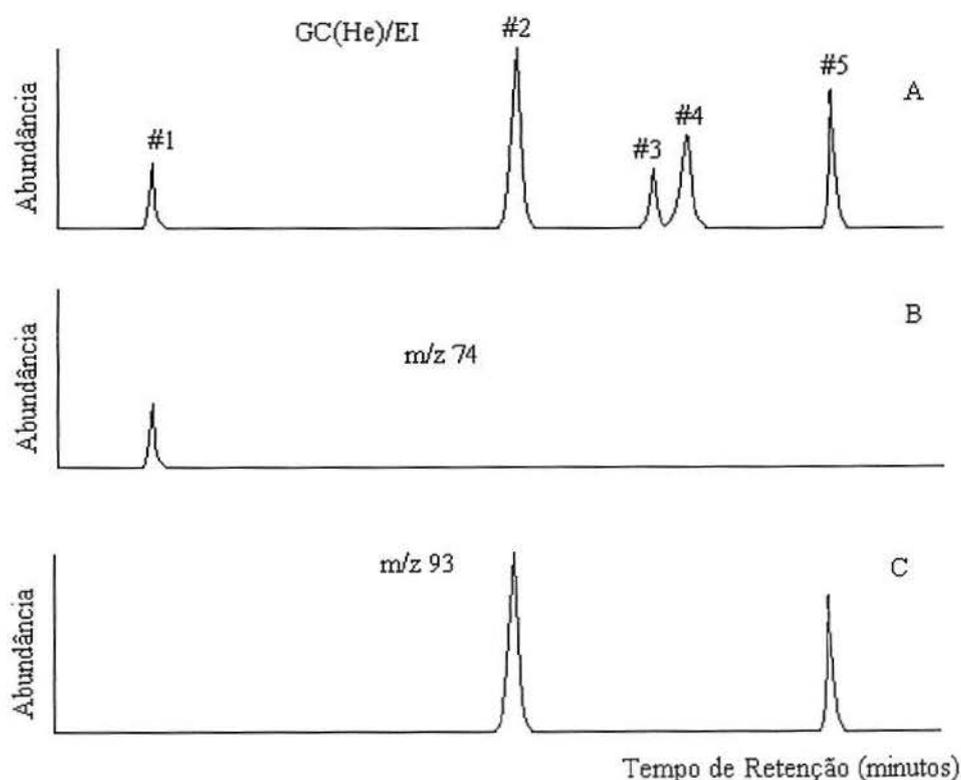
O mais conveniente método de varredura de massas é a varredura em uma faixa de massas completa. Nesse modo *SCAN*, o espectrômetro realiza uma varredura sobre uma faixa de massas cobrindo todos os íons moleculares e fragmentados produzidos para uma amostra complexa de múltiplos componentes. Para a análise de compostos desconhecidos, a varredura deve ser de 50 a 600 u. Massas menores (50u) são excluídas porque podem fazer parte do *background* do ar, dos gases de arraste e dos reagentes gasosos normalmente usados na CI. O limite superior é baseado na volatilidade dos analitos. Muitos compostos acima dessa massa molecular (600u), com a exceção de derivados voláteis especificamente preparados, têm pressão de vapor insuficiente para as análises. Por isso, para muitos espectrômetros isso representa o máximo da faixa de massas ao usar uma coluna capilar, porque o uso de velocidades de varredura de 0.5 *seg/scan* tornam-se mais difíceis acima dessa faixa.

Outro modo de varredura muito utilizado é o monitoramento seletivo de íon (SIM). Nesse método o analisador de massas pode ser programado para amostrar um único valor de  $m/z$  no decorrer da separação cromatográfica. No monitoramento de apenas um  $m/z$ , a sensibilidade é aumentada em três ordens de magnitude, dependendo da faixa de massas, assim o aparelho não gasta tempo na amostragem de massas indesejáveis. Essa técnica é útil para análise quantitativa de compostos alvos, onde o pico base do analito é normalmente escolhido para o monitoramento de  $m/z$ . Ele é também útil para analitos que são parcialmente resolvidos, assim um único íon pode ser escolhido, o qual não é

produzido pelas espécies co-eluídas. O controle computadorizado possibilita, em espectrômetros modernos, que a seleção das massas de íons seja mudada durante o curso da separação, facilitando a otimização das análises para todos os componentes individuais na mistura. A análise por SIM sintetiza a seletividade e sensibilidade do GC/MSD.

#### 2.4.1.7. Apresentação dos dados

Um resumo do formato de apresentação de dados usados em GC/MSD é dado na Figura 8. O formato mais comum com a varredura completa de massas é o cromatograma do íon total (TIC) - Figura 8 (A). Nele, o sinal representa a soma de todos os íons dos picos detectados em cada *SCAN* de massas. Dependendo dos fatores de resposta, esse cromatograma freqüentemente assemelha-se ao traço do detector de ionização de chamas. Normalmente, o espectro de massas *SCAN*, registrado no máximo da corrente de íon para cada pico cromatográfico, é apresentado como seu espectro característico.



**Figura 8:** (A) Cromatograma do íon total (TIC) obtido por Impacto Eletrônico dos seguintes compostos: (#1) N-nitrosodimetilamina; (#2) bis(2-cloroetil) éter; (#3) bis(2-cloroisopropil) éter; (#4) N-nitroso-di-n-propilamina; e (#5) bis(2-cloroetoxi) metano; (B) Cromatograma para monitoramento do íon  $m/z$  74; (C) Cromatograma para monitoramento do íon  $m/z$  93.

Quando os compostos de interesse (*target compound*) estão sendo analisados, podem ser gerados cromatogramas nos quais apenas um  $m/z$  seja registrado. Normalmente é um pico intenso ou que reflete as características estruturais do analito de interesse. Os dados obtidos são freqüentemente referidos como seleção de íon ou cromatogramas de massas, e o método de dados de busca é chamado de extração de íon. Ele difere do SIM no fato que o íon é selecionado após a aquisição dos dados completos de massas. Essa técnica é também válida nos casos onde 2 ou mais componentes não são cromatograficamente resolvidos. Tomando os íons selecionados característicos de cada um desses analitos e graficando-se seus cromatogramas de massas, um pico largo pode ser desdobrado em seus componentes individuais permitindo que picos dos componentes puros sejam determinados. Os cromatogramas de massas são mostrados na Figura 8 B e C. Para complementar o método SIM de íons múltiplos, a extração múltipla pode ser também realizada para diferenciar componentes que exibem picos com intensidade parecidas mas com poucas diferenças, assim como no caso de um hidrocarboneto ou outras séries químicas.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A análise de resíduos de agrotóxicos em matrizes ambientais e em alimentos, tem sido objeto de estudo desde os anos 40 juntamente com o aparecimento dos primeiros compostos organoclorados utilizados para o aumento da produção agrícola. Desde então, muitos procedimentos tem sido estudados e implementados, todos com o objetivo comum de poder analisar concentrações cada vez menores destes compostos, tanto no meio ambiente (solo, ar e água) como nos produtos agrícolas e animais que direta ou indiretamente fazem uso destes compostos.

Na tabela abaixo, temos um apanhado geral de artigos publicados tendo como objetivo a análise residual de agrotóxicos em solo, alimentos e água.

**Tabela 4 -** Resumo de alguns artigos encontrados na literatura para a determinação de pesticidas organoclorados.

Composto	Amostra	Tratamento da amostra	Pré-concentração	Instrumentação	Recuperação (%)	Ref.
Aldrin, Bromopropilato, Clorotalonil, Dicofol, Endosulfan Alfa, Endosulfan Beta, Endosulfan Sulfato, Hexaclorobenzeno, Lindano, Metoxicloro e Tetradifom.	Mel	As amostras de mel, de 500 a 1000 g, foram coletadas em frascos de vidro, estocadas em geladeira a 10 °C e armazenadas até o momento da extração.	EFS – cartuchos Florisil 500 mg condicionados com aproximadamente 5 mL de acetona. Eluição: duas porções de 10 mL de hexano/acetato de etila (50:50, v/v) reduzidas até 1mL.	CG – MS T <sub>detec</sub> : 300 °C; T <sub>inj</sub> : 250° C.; Coluna :LM-5 (35 m X 0,25 mm; 0,25 µm) Programa de T: 60 °C (1 min) 25 °C/min, 150 °C, 3 °C/min, 200°C, 8 °C/min, 290 °C (8 min) splitless	76-95	46
m-azínphos ,Phosmet , Methadithion,Tetrachlorvinphos. Dimethoate,Diazinon , Parathion,Allidochlor e Lindano	Alimentos com alto teor de açúcar	10 g amostra diluídos em 100 mL de água deionizada.	EFS: cartuchos Nexus 500mg/12 mL Eluição: 10 mL acetonitrila : toluene (3:1 v/v) e 10 mL de acetona.	CG-DCE CP-Sil 5 CB: (30m x 0,53mm; 1,5µm)	>80%	47
Aldrin, Dieldrin, Endrin, Clordano, Heptacloro, DDT, DDE, Mirex e Toxaphene	Água mineral	50 ng de padrão diluídos em 500mL de água mineral contendo 1% de metanol.	EFS: cartuchos C-18 (FMS. Waltham, MA, USA) Eluição: 20 mL de acetonitrila e 10 mL de isoctano	CG-MS MD-800 da ThermoFinnigan.	5-100	48
Lindano, Heptacloro, Aldrin, Dieldrin, DDT e Endrin.	Solo	5g de solo não contaminado foram misturados a uma solução de pesticidas diluídos em metanol. Após a evaporação do solvente, o solo foi extraído com 50mL de acetona:água (2:1), metanol:água (2:1) e metanol por 2h.	EFS: C-8 e C-18 Eluição: 2mL de metanol	CG-DCE: coluna DB-5 (30m x 0,32mm x 0,25 µm) T <sub>detec</sub> : 300 °C; T <sub>inj</sub> : 250° C.; Gás de arraste N <sub>2</sub> Gás de make-up: N <sub>2</sub>	69-99	49

## 4. OBJETIVOS

### 4.1. OBJETIVO GERAL

Determinar a capacidade de adsorção/dessorção de organoclorados, em meio aquoso, frente a novos materiais sintetizados em laboratório e implementar metodologia analítica para análise de amostra real.

### 4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a recuperação dos organoclorados com as sílicas quimicamente modificadas, sintetizadas no laboratório;
- Determinar o melhor solvente para a etapa de eluição;
- Determinar o volume de quebra para os organoclorados, em solução aquosa;
- Avaliar a influência do pH da solução de organoclorados, na adsorção/dessorção;
- Avaliar a influência da quantidade de adsorvente;
- Implementar e validar metodologia para análise de amostra real usando as FS a base de sílica modificada sintetizada em laboratório;
- Analisar amostras de água potável.

## 5. PARTE EXPERIMENTAL

### 5.1. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 5.1.1. Materiais

##### 5.1.1.1. Solventes e Reagentes

Acetona comercial (Eflutec), hexano comercial (Quimex). Acetona (Vetec), *n*-hexano (Vetec), metanol (Fischer Chemicals) e acetato de etila (Fischer Chemicals) todos grau pesticida. Sulfato de sódio anidro (Merck) previamente seco ao forno a 400° C *overnight*. Lã de quartzo (Merck). Cartuchos comerciais polipropileno (Supelco) 10 mL, filtros (*frits*) com diâmetro de poro 10µm (Supelco) foram colocados dentro dos cartuchos para o suporte das fases de sílica.

Os padrões de organoclorados: hexaclorobenzeno, lote LA90320; lindano, lote LA87945; heptacloro, lote LA85751; heptacloro epóxido, lote LA241-62A; endrin, lote LA90516 todos da Supelco e aldrin e dieldrin do lote P8224K da Polyscience.

#### **5.1.1.2.Preparo das Soluções**

As soluções padrão, inclusive o padrão interno, foram feitas individualmente na concentração de  $1000 \text{ mg.L}^{-1}$  em acetona. A partir delas, foram feitas soluções mistas de 100, 10 e  $1 \text{ mg.L}^{-1}$  também em acetona, as quais foram utilizadas ao longo do trabalho.

#### **5.1.1.3.Limpeza da vidraria**

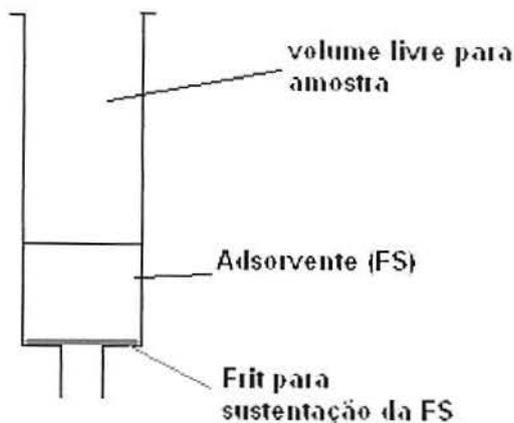
A vidraria foi lavada com detergente neutro e água da torneira. Após, enxaguada com água destilada e acetona. A vidraria volumétrica, depois de seca, foi enxaguada com hexano e a não volumétrica foi colocada ao forno por 2 horas a  $300^\circ \text{ C}$ .

### **5.1.2. Métodos**

#### **5.1.2.1. Estudos de adsorção**

Os estudos de adsorção foram realizados com sílicas quimicamente modificadas, que foram sintetizadas no Laboratório Ziegler-Natta, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. As sílicas foram desenvolvidas e caracterizadas por alunos de mestrado e de iniciação científica. A fim de avaliar a capacidade de adsorção/dessorção dos organoclorados frente a estes adsorventes, a grandeza controlada foi o percentual de RECUPERAÇÃO. Para definir as melhores condições de trabalho, considerou-se a maior recuperação dos analitos com relação à variável estudada.

Cartuchos foram empacotados com determinada massa de adsorvente, de acordo com a figura abaixo:



**Figura 9:** Representação esquemática dos cartuchos empacotados em laboratório.

Após o empacotamento dos cartuchos, o seguinte procedimento foi realizado:

- (A) Condicionamento da FS: 5 mLs de metanol seguido de 10 mL de água ultra-pura (18,2 M $\Omega$ cm);
- (B) Percolação da amostra: volume conhecido de solução padrão (ou de amostra) é passado através da FS a uma velocidade controlada de 5 mL/min;
- (C) Eluição dos analitos retidos na FS: passa-se 5 mL de solvente para remover os analitos;

Obtém-se assim o extrato em solvente orgânico que é passado por uma coluna contendo 3 g de sulfato de sódio anidro, para a remoção de traços de umidade. Após o volume do extrato é reduzido a 1 mL sob fluxo suave de N<sub>2</sub> (g) e analisado por CG-EM.

#### **5.1.2.2. Determinação do melhor solvente para a etapa de eluição**

Três solventes foram avaliados na etapa de eluição dos analitos: acetona, hexano e acetato de etila. Estes foram escolhidos por não afetarem a coluna cromatográfica, não destruírem a sílica e por terem diferentes polaridades.

#### **5.1.2.3. Determinação da quantidade de FS**

Os cartuchos foram empacotados com duas massas diferentes de FS: 150 e 300 mg. Após o procedimento descrito no item 5.1.2.1 foi realizado, e as recuperações obtidas foram graficadas e comparadas.

#### 5.1.2.4. Determinação do volume de quebra

Para determinar o volume de quebra, utilizaram-se as seguintes soluções mistas aquosas:

- 20 µg/L (50 mL);
- 10 µg/L (100 mL);
- 4 µg/L (200 mL) e
- 2 µg/L (500 mL).

Em todas as soluções manteve-se constante a massa dos analitos e variou-se o volume do solvente. Nesta etapa foi utilizado apenas a sílica modificada e o solvente de eluição que apresentaram a melhor recuperação nas etapas descritas nos itens 5.1.2.2 e 5.1.2.3.

#### 5.1.2.5. Avaliação da influência do pH

Para avaliar a influência do pH no processo de adsorção, as soluções padrão dos organoclorados tiveram o pH ajustado em 2; 3; 4 e 5. Para o ajuste do pH foi utilizado solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> na concentração de 0,5 mol.L<sup>-1</sup>.

#### 5.1.2.6. Análise da amostra real

A amostra de água potável foi coletada no laboratório E-206 da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. A torneira permaneceu aberta, em fluxo constante por 20 minutos. Então foram coletados 200 mL de água a qual teve seu pH ajustado em 4 com solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 mol.L<sup>-1</sup>.

A amostra foi dividida em quatro partes de 50,0 mL. Após ter o pH ajustado, a amostra seguiu o procedimento descrito no item 2.1.5.1.

## 5.2. ANÁLISE INSTRUMENTAL

As amostras foram analisadas em um Cromatógrafo Varian Saturn 2000, com coluna Supelco HP-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), tendo como gás de arraste Hélio 5.0 (grau analítico) nos modos SCAN e µSIS.

A partir dos dados obtidos no modo SCAN, foram estabelecidos os parâmetros para o modo µSIS.

### 5.3. VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA

#### 5.3.1. Curva Analítica e Linearidade

Neste trabalho foi utilizada a quantificação por padronização interna em que as concentrações dos analitos na solução padrão foram valores em torno da concentração para 100% de recuperação. Neste caso pode-se abrir mão da curva analítica.

#### 5.3.2. Determinação dos Limites de Detecção e de Quantificação

O limite de detecção (LOD) para cada analito foi determinado multiplicando-se por 3 a razão sinal ruído de uma solução padrão aquosa na concentração de 1 mg L<sup>-1</sup>.

O limite de quantificação (LOQ) foi medido com a mesma relação de sinal e ruído, porém este valor é multiplicado por 10.

#### 5.3.3. Recuperação

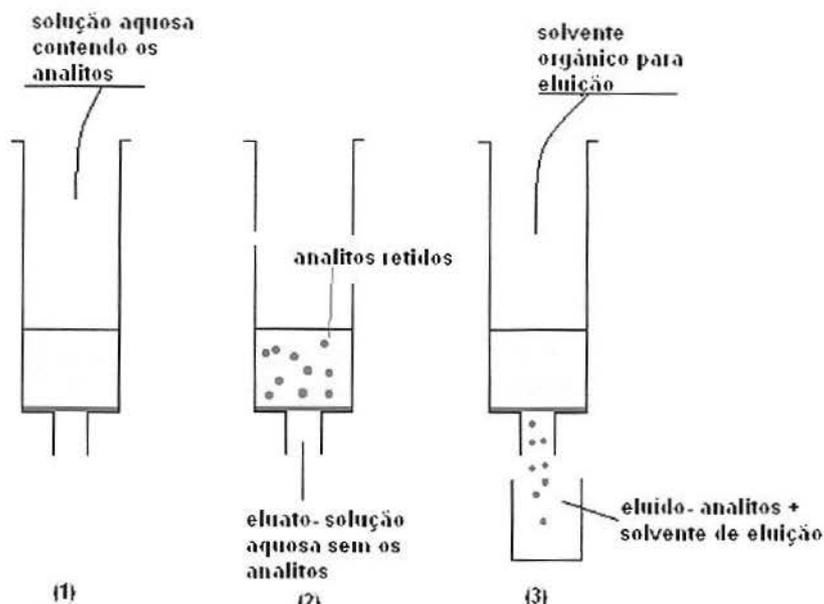
Quando a solução contendo os analitos é percolada pela FS, os analitos são seletivamente retidos nesta fase. Posteriormente, com a passagem de um solvente orgânico adequado, os analitos são desorvidos da FS (Figura 10). A recuperação indica a quantidade de analito que ficou retido e que foi desorvido neste processo. Para tanto prepara-se uma solução em solvente orgânico (acetona) na mesma concentração que os analitos se encontrariam no extrato orgânico se o processo de adsorção/dessorção fosse totalmente eficiente, ou seja, recuperação de 100%. Portanto a recuperação será:

$$\text{Rec}\% = (\text{massa}_1 / \text{massa}_2) * 100$$

Onde,

m<sub>1</sub> – massa de analito no extrato;

m<sub>2</sub> – massa de analito na solução padrão



**Figura 10** : Representação esquemática do procedimento de EFS.

#### 5.3.4. Precisão

Determinou-se a repetitividade para as amostras analisadas no mesmo dia. Assim cada amostra foi analisada, por CG-EM em triplicata.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 6.1. CARACTERÍSTICAS DAS SÍLICAS MODIFICADAS

A modificação e caracterização das utilizadas neste trabalho fizeram parte do trabalho de mestrado de Rodrigo Brambilla (Dissertação de Mestrado- UFRGS 2007). As características mais importantes para as discussões são apresentadas na Tabela 5.

**Tabela 5** - Percentual atômico de C e O nas sílicas funcionalizadas com ODS pelo método sol-gel determinada pelo método de CHN e distribuição de tamanho de partícula ou aglomerados determinada por espalhamento de luz.

Sílica	C (%)	O (%)	Diâmetro médio ( $\mu\text{m}$ )
SG100	44,8	43,4	14,3
SG10A	58,5	32,6	30,0
SG2A	72,5	21,0	13,5

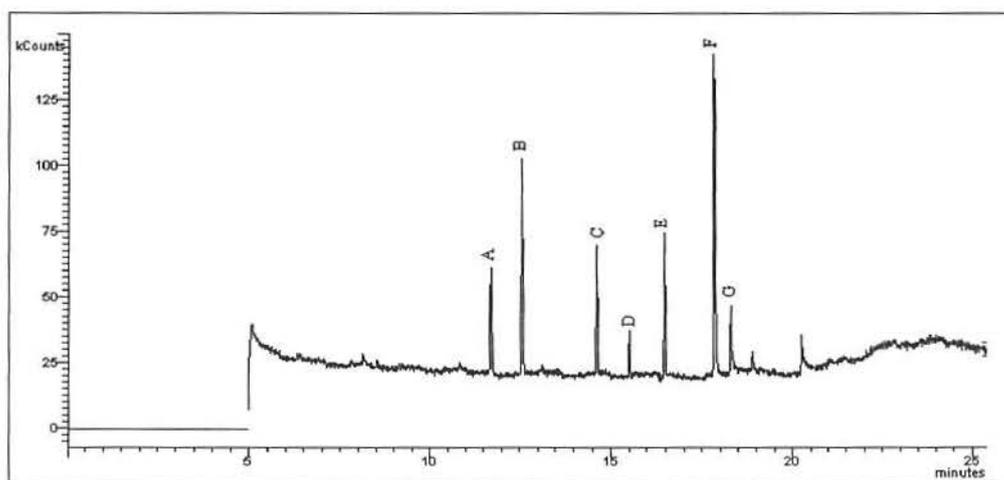
O percentual de carbono é um dado importante, pois indica o grau de hidrofobicidade da FS. O diâmetro médio pode ser relacionado com a área superficial. Para partículas não porosas, quanto menor o diâmetro médio, maior a área superficial.

## 6.2. ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA A GÁS ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS

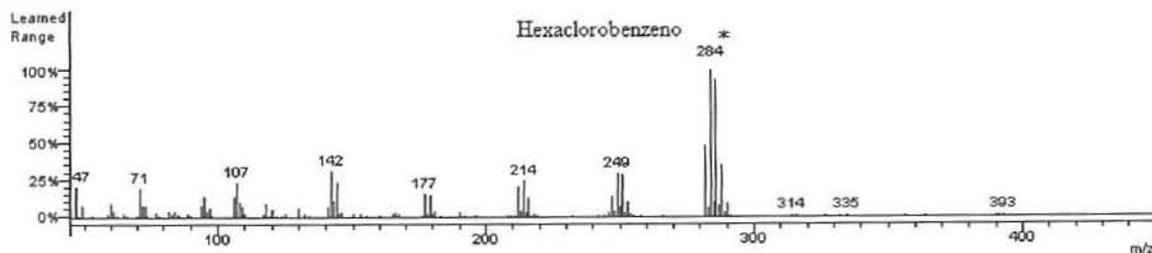
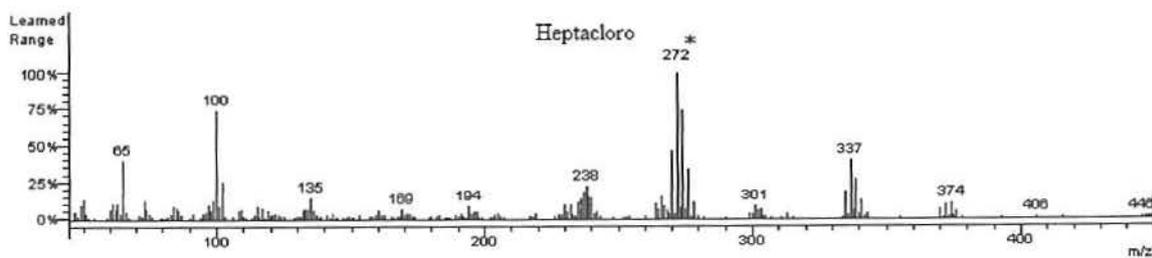
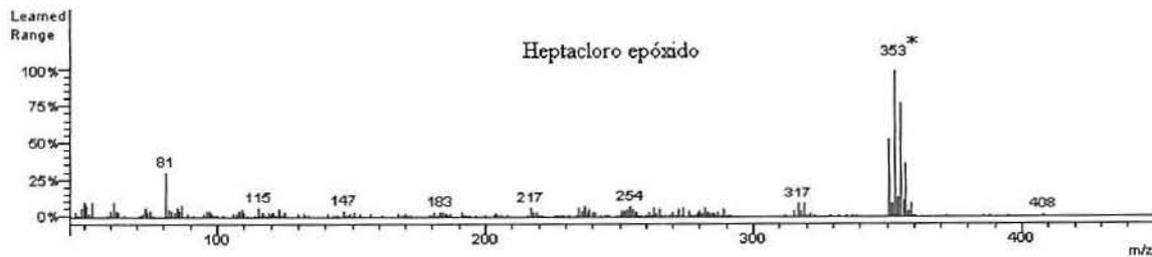
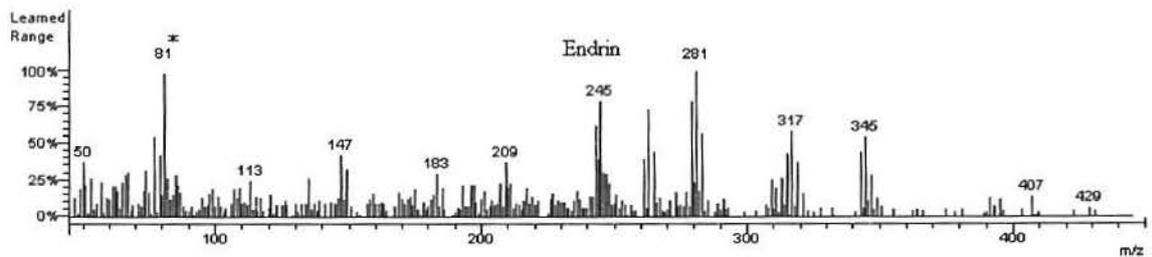
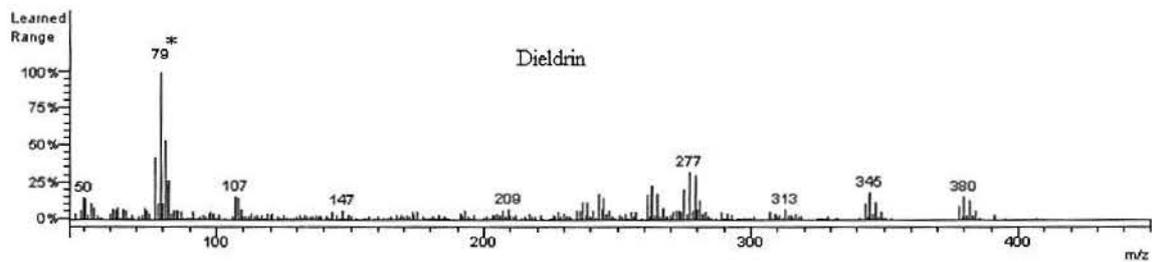
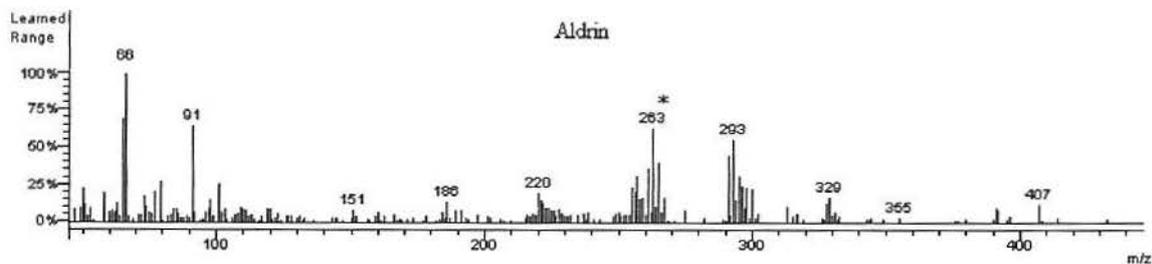
Na tabela 6 estão listadas as condições cromatográficas utilizadas no modo SCAN e na Figura 11 tem-se o cromatograma obtido nestas condições e na figura 12 estão os espectros de massas dos organoclorados estudados, onde o símbolo (\*) significa o íon majoritário do analito.

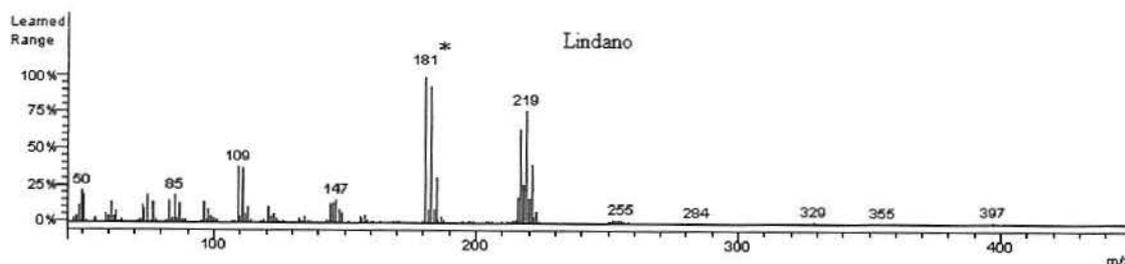
**Tabela 6** - Condições cromatográficas utilizadas no modo SCAN.

Parâmetro	Valor
Temperatura do injetor	250° C
Temperatura do <i>trap</i>	170° C
Temperatura do <i>Mainfold</i>	60° C
Temperatura do <i>Transferline</i>	270° C
Programa de aquecimento da coluna	100 °C (2 min), 170° C, 10 °C min <sup>-1</sup> (21 min) até 280 °C (3 min)
Volume injetado	1 µL
Modo de análise	SCAN e µSIS
Modo de injeção	<i>Splitless</i>



**Figura 11:** Cromatograma da solução padrão, em acetona na concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup> com padrão interno (aldrin) dos pesticidas organoclorados estudados, no modo SCAN (A- Hexaclorobenzeno; B- Lindano; C- Heptacloro; D- Aldrin; E- Heptacloro epóxido; F- Dieldrin; G- Endrin).



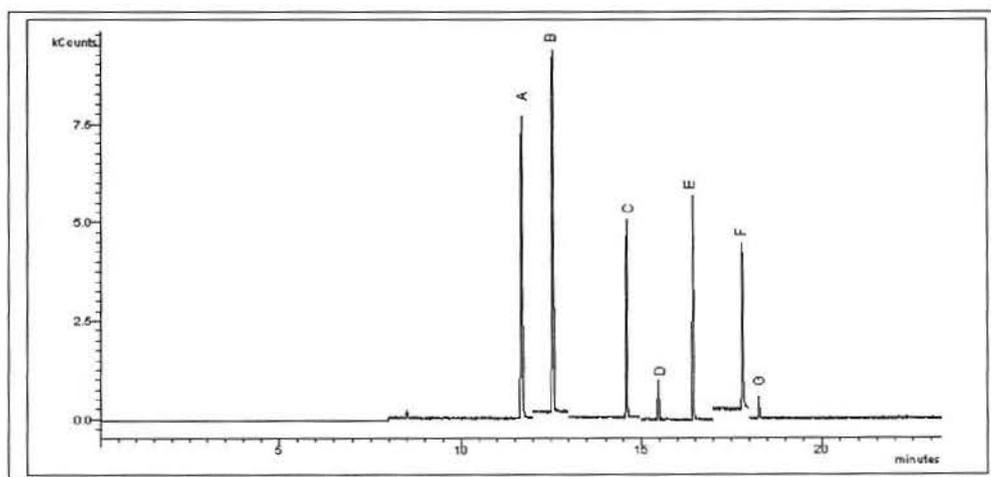


**Figura 12:** Espectros de massas para os organoclorados estudados no modo SCAN.

Na tabela 7 estão os tempos de retenção e o programa de análise pelo modo  $\mu$ SIS. Na figura 12, tem-se o cromatograma da mistura padrão no modo  $\mu$ SIS.

**Tabela 7** – Tempos de retenção e programa de análise dos organoclorados no método  $\mu$ SIS de acordo com as condições da tabela anterior.

Agrotóxico	Tempo de Retenção (min)	Tempo Inicial de Leitura (min)	Tempo Final de Leitura (min)	Fragmento monitorado (m/z)
Hexaclorobenzeno	11.67	8	12	284
Lindano	12.37	12	13	181
Heptacloro	14.59	13	15	272
Aldrin (PI)	15.47	15	16	263
Heptacloro epóxido	16.44	16	17	353
Dieldrin	17.81	17	18	79
Endrin	18.26	18	20	81



**Figura 13:** Cromatograma da solução mista de organoclorados na concentração de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ , em acetona, no CG-EM., no modo  $\mu$ SIS (A- Hexaclorobenzeno; B- Lindano; C- Heptacloro; D- Aldrin (PI); E- Heptacloro epóxido; F- Dieldrin; G- Endrin.).

### 6.3. LIMITE DE DETECÇÃO E DE QUANTIFICAÇÃO

Como demonstrado na figura 2 e com o procedimento descrito no item 5.3.2, foram determinados os limites de detecção e quantificação para os modos SCAN e  $\mu$ SIS. Os valores calculados estão descritos na tabela 8 a seguir.

**Tabela 8:** Limites de detecção e quantificação para os organoclorados estudados, em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , nos modos SCAN (\*) e  $\mu$ SIS (\*\*).

Agrotóxico	LD*	LQ*	LD**	LQ**
Hexaclorobenzeno	2,82	9,4	4,2	14
Lindano	1,04	3,4	4,2	13,8
Heptacloro	1,92	6,4	1,02	3,4
Aldrin	3,9	13	0,66	2,2
Heptacloro epóxido	1,56	5,2	0,56	1,84
Dieldrin	6,6	2,2	0,32	11
Endrin	4,26	1,4	0,34	11,4

### 6.4. ESTUDOS DE ADSORÇÃO/ DESSORÇÃO

#### 6.4.1. Avaliação da capacidade de adsorção das diferentes sílicas modificadas

A fim de definir a sílica modificada que apresenta a melhor recuperação para todos os organoclorados, estudos de adsorção/dessorção foram realizados com diferentes solventes na etapa de eluição, avaliação da influência o pH e da quantidade de FS.

#### 6.4.2. Determinação do melhor solvente de eluição e da quantidade de adsorvente de acordo com as sílicas estudadas

A cromatografia de adsorção depende do adsorvente e do eluente em função da polaridade dos analitos. Adsorventes fortes e eluentes fracos formam sistemas adequados para a separação de misturas pouco polares e vice-versa.

Para esta parte do trabalho, foram realizadas EFS para as três sílicas com duas massas diferentes (150 e 300 mg) e com três solventes diferentes a fim de verificar a diferença na recuperação de acordo com a polaridade dos solventes e dos analitos.

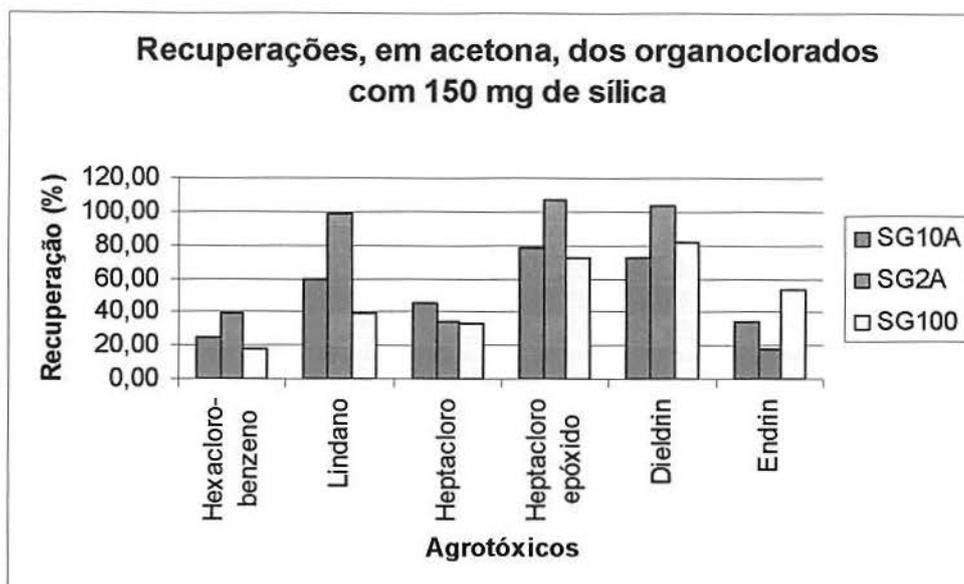
As amostras foram analisadas por CG-EM no modo  $\mu$ SIS nas condições estabelecidas na Tabela 6.

Os resultados das análises estão listados na tabela 9 e nas figuras 13, 14, 15 e 16.

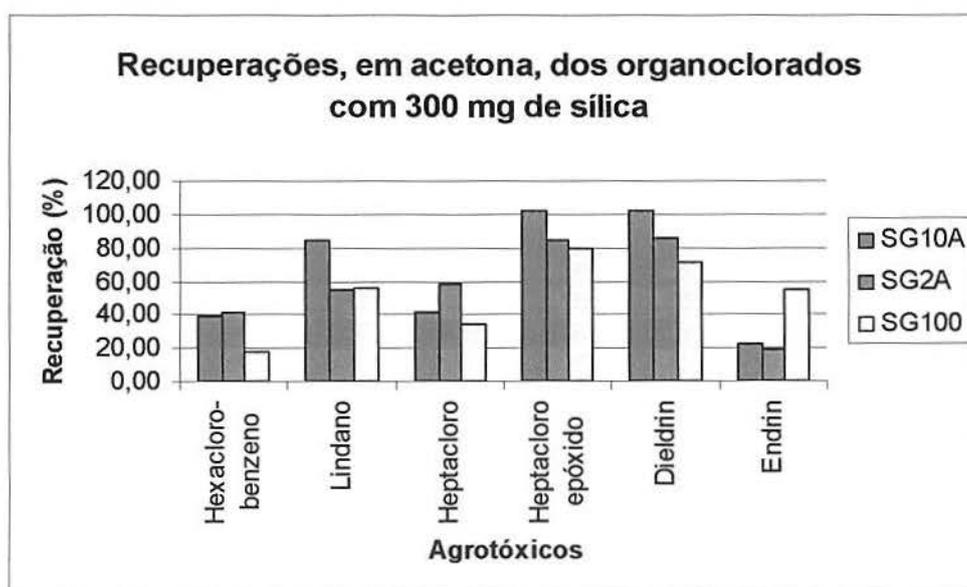
Os melhores valores de recuperação para todos os organoclorados foram obtidos com a sílica SG10A com acetona como solvente de eluição. Esta sílica possui 58% de teor de Carbono, que é um valor intermediário as outras duas. No entanto o diâmetro de partícula é o dobro (30  $\mu$ m) das demais. Portanto pode-se verificar que o grau de hidrofobicidade é importante, mas o diâmetro de partícula aumenta a disponibilidade dos sítios adsorventes o que leva a melhores resultados de recuperação.

**Tabela 9** - Dados de recuperação dos compostos em estudo frente à quantidade de adsorvente e diferentes solventes.

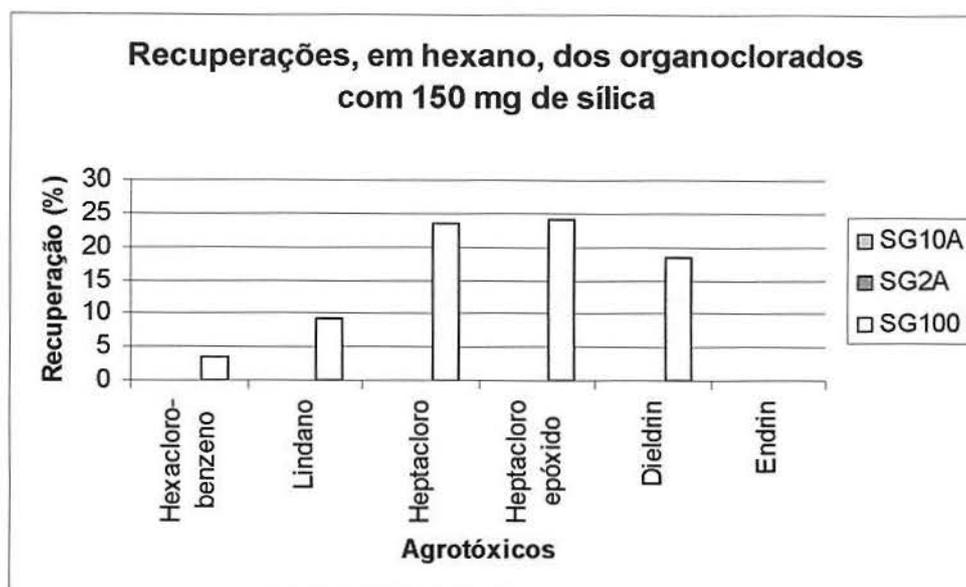
	Acetona, 150 mg			Acetona 300mg			Hexano 150mg			Hexano 300mg		
	SG10A	SG2A	SG100	SG10A	SG2A	SG100	SG10A	SG2A	SG100	SG10A	SG2A	SG100
Dieldrin	73	104	82	103	85	71	0	0	19	0	22	27
Endrin	35	18	54	23	19	55	0	0	0	0	0	0
Heptaclo Heptaclo epóxido	45	34	33	41	58	34	0	0	23	0	2	0
Hexaclorobenzeno	79	107	73	103	85	79	0	0	24	0	79	27
Lindano	25	39	17	39	42	18	0	0	4	0	7	8
	59	99	39	85	54	56	0	0	9	0	7	0



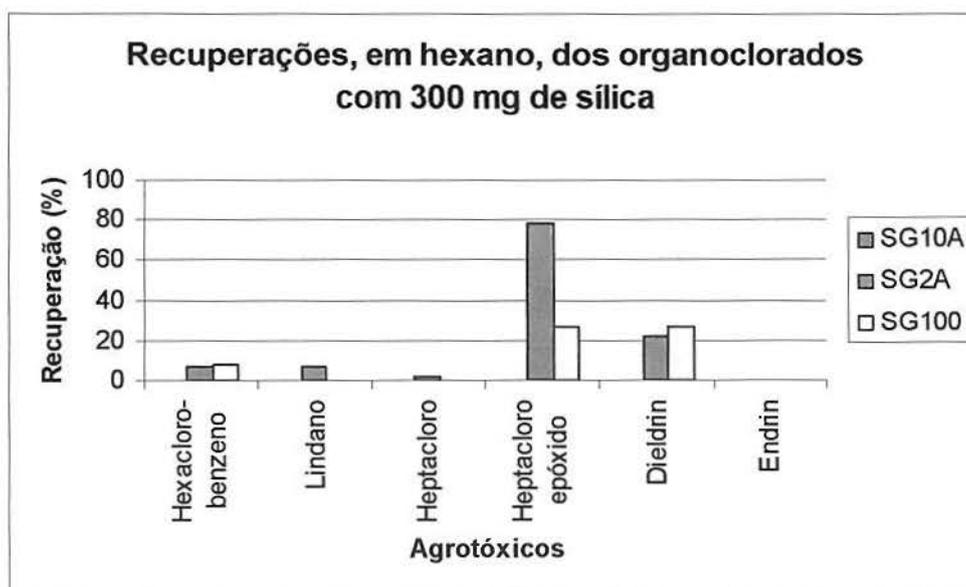
**Figura 14:** Recuperação dos organoclorados com os adsorventes SG10A, SG2A e SG100 utilizando acetona como eluente e 150 mg de FS.



**Figura 15:** Recuperação dos organoclorados com os adsorventes SG10A, SG2A e SG100 utilizando acetona como eluente e 300 mg de FS.



**Figura 16:** Recuperação dos organoclorados com os adsorventes SG10A, SG2A e SG100 utilizando hexano como eluente e 150 mg de FS.



**Figura 17:** Recuperação dos organoclorados com os adsorventes SG10A, SG2A e SG100 utilizando hexano como eluente e 300 mg de FS.

#### 6.4.3. Determinação da influência do pH nas amostras

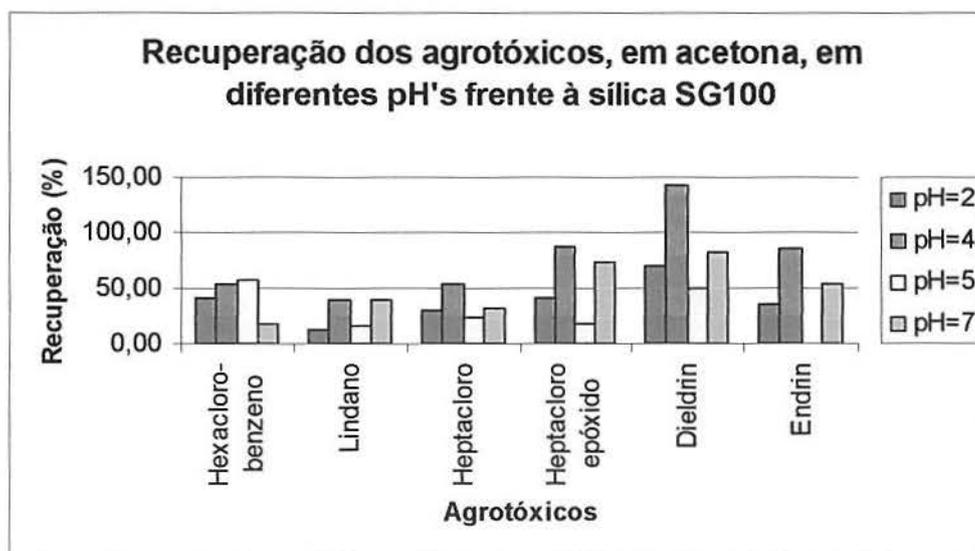
Para esta etapa do trabalho foi utilizada a sílica SG100, com 150 mg de fase. Fez-se EFS de diferentes valores de pH: 2, 4 e 5, os quais foram comparados com o pH 7 que já

havia sido feito na etapa de determinação do melhor solvente de eluição com a mesma quantidade de fase sólida.

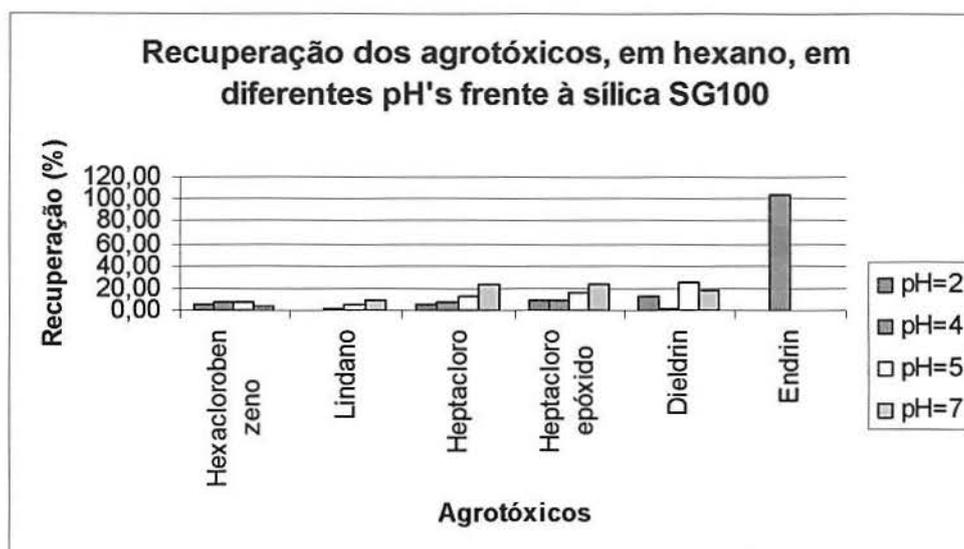
Segue, abaixo, a tabela 11, e as figuras 10 e 11 referentes a recuperação dos analitos em diferentes pH's.

**Tabela 10** - Dados referentes às recuperações frente a diferentes valores de pH's e solventes de eluição

pH	Acetona				Hexano				Acetato de etila			
	2	4	5	7	2	4	5	7	2	4	5	7
Hexaclorobenzeno	41	53	57	17	6	7	8	4	0	0	0	0
Lindano	13	40	16	39	0	2	5	9	0	0	0	0
Heptacloro	30	54	23	33	5	7	12	23	0	0	0	0
Heptacloro epóxido	41	88	18	73	9	9	15	24	0	0	0	0
Dieldrin	69	142	50	82	13	2	25	19	0	0	0	0
Endrin	35	86	0	54	0	103	0	0	0	0	0	0



**Figura 18:** Recuperação dos organoclorados com a FS SG100 utilizando acetona como eluente e 150 mg de fase com diferentes valores de pH.



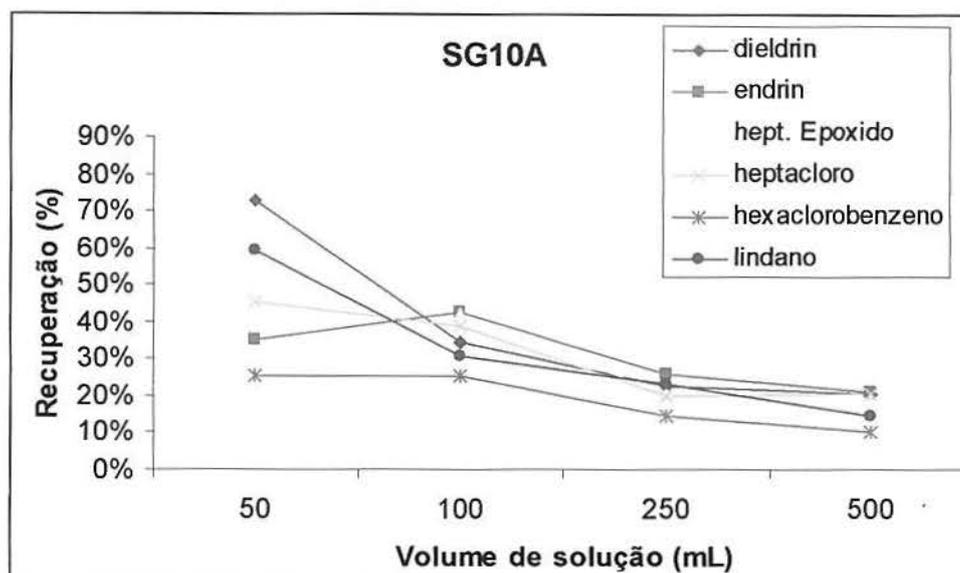
**Figura 19:** Gráfico de recuperação dos agrotóxicos no processo de EFS, com o adsorvente SG100 utilizando hexano como eluente e 150 mg de fase com diferentes pH's.

#### 6.4.4. Determinação do “volume de quebra” para a sílica SG10A

A tabela 8 e a figura 13 mostram os valores de recuperação, em percentual, obtidos para os organoclorados estudados frente à adsorção para a sílica SG10A com volumes de 50, 100, 250 e 500 mL.

**Tabela 11** – Recuperação (%) dos organoclorados em diferentes volumes de amostra percolados, para determinação do volume de quebra.

Volume (mL)	50	100	250	500
dieldrin	73%	35%	23%	20%
endrin	35%	42%	26%	21%
hept. Epoxido	79%	42%	21%	19%
heptacloro	45%	39%	20%	20%
hexaclorobenzeno	25%	25%	15%	10%
lindano	59%	31%	23%	15%



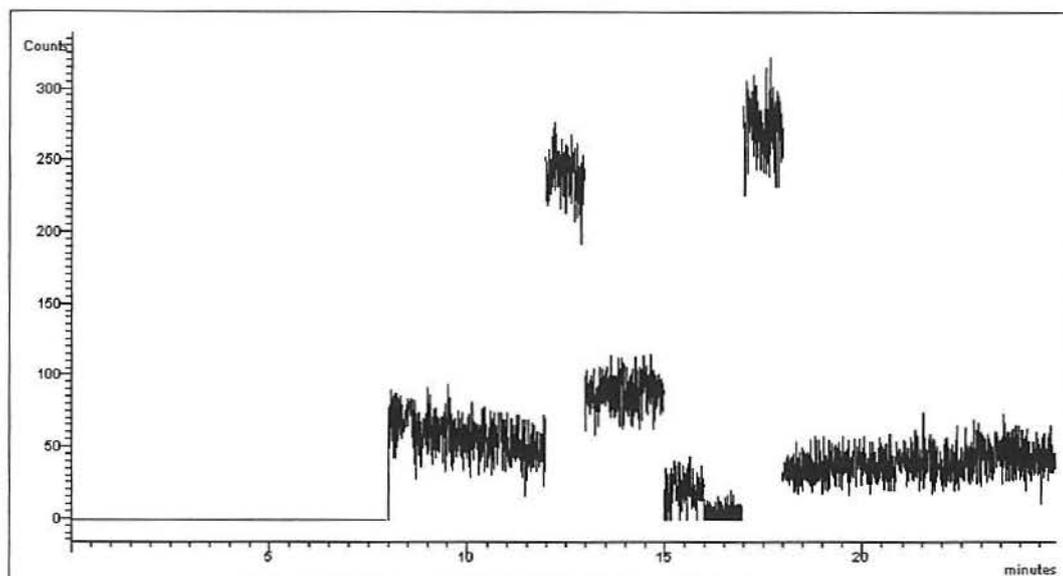
**Figura 20:** Recuperação dos organoclorados na sílica SG10A frente a diferentes volumes.

Nas soluções para determinação do volume de quebra, a massa dos analitos é mantida constante enquanto que o volume de solvente (no caso água, pois as amostras a serem analisadas são aquosas) é variado. Com isso pode-se avaliar o efeito da quantidade de solvente sobre a remoção dos analitos retidos. Observa-se valor máximo de recuperação para os analitos, em 50 mL. Isso significa que em volumes maiores que este a própria água na qual estão os analitos começa a remover aqueles que ficaram retidos. Isto é denominado lixiviação, e o volume com a máxima recuperação é o VOLUME DE QUEBRA.

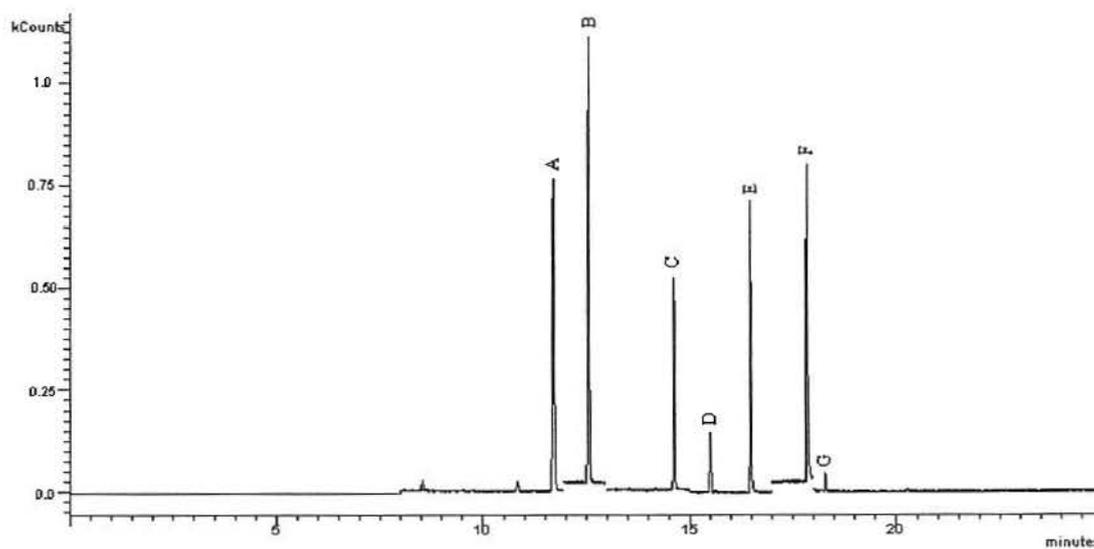
Para a determinação do volume de quebra com 300 mg de sílica, obtivemos praticamente o mesmo resultado.

## 6.5. ANÁLISE DAS AMOSTRAS REAIS

A eluição da amostra real foi realizada em quadruplicata, onde em uma das amostras foi adicionada uma solução padrão em acetona contendo todos os organoclorados em estudo na concentração de  $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ . Na figura 13 está apresentado o cromatograma da amostra real e na figura 14 o cromatograma da amostra onde foi adicionada a solução padrão.



**Figura 21** - Cromatograma da amostra real analisado por CG-EM no modo  $\mu$ SIS.



**Figura 22:** Cromatograma da amostra real contaminada analisada por CG-EM no modo  $\mu$ SIS (A- Hexaclorobenzeno; B- Lindano; C- Heptacloro; D- Aldrin (PI); E- Heptacloro epóxido; F- Dieldrin; G- Endrin)

## 7. CONCLUSÕES

As recuperações foram satisfatórias (maior que 50%), com o eluente acetona, tanto para a massa de 150 e 300 mg para os compostos: lindano, heptacloro, heptacloro epóxido. Houve recuperação média (aproximadamente 40%) para o hexaclorobenzeno e rendimento baixo (menor que 40%) para o endrin.

Em hexano, os rendimentos foram baixos, tendo como melhor recuperação o heptacloro epóxido. Já com o solvente acetato de etila, os resultados não foram satisfatórios, não tendo sido obtida nenhuma recuperação dos compostos analisados.

Frente à quantidade de adsorvente, os resultados não mostraram uma diferença significativa.

De acordo com os resultados obtidos com a mudança de pH das soluções, com a sílica SG100 como adsorvente e com o eluente acetona, a solução com pH 4 obteve a melhor recuperação (40-140%), seguido da solução de pH 7 com recuperações entre 17 e 82%. As soluções de pH 2 e 5 tiveram recuperações entre 12 e 69%, sendo que a solução de pH 5 não obteve recuperação para o analito endrin. Com o eluente hexano, as recuperações tiveram um resultado um pouco menor, o que já era esperado frente aos resultados obtidos no estudo da quantidade de adsorvente. Assim como em acetona, a solução de melhor recuperação foi a de pH 4 com resultados entre 2 a 103%. As soluções de pH 5 e 7 obtiveram praticamente os mesmos resultados, não recuperando o analito endrin. A solução de pH 2, além de obter recuperações muito baixas (5-12%) não reteve os analitos endrin e lindano.

As sílicas que obtiveram as melhores recuperações são as SG10A e SG2A devido ao fato de terem octadecilsilano na fórmula o que deixa a estrutura da sílica mais densa e uniforme, sendo assim, mais estável e mais suscetível a interações.

De acordo com o esperado, a amostra real não estava contaminada com os organoclorados aqui estudados.

## 8. BIBLIOGRAFIA

1. Freire, R.S.; Pelegrini, R.; Kubota, L.T.; Durán, N. *Quím. Nova* **2000**, 23, 504.
2. [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br), acessado em 19/05/2007.
3. Lei 7.802, de 11 de julho de 1989, e do decreto regulamentar n.º 98.816, de 11/01/1990.
4. [http://www.portoalegre.rs.gov.br/dmae/doc\\_usu/SDDVP-portaria518.pdf](http://www.portoalegre.rs.gov.br/dmae/doc_usu/SDDVP-portaria518.pdf), acessado em 19/05/2007.
5. [www.fetagr.com.br](http://www.fetagr.com.br), acessado em 19/05/2007.
6. [www.ilo.org/public/english/protection/safework/cis/products/icsc/dtasht/h\\_index.htm](http://www.ilo.org/public/english/protection/safework/cis/products/icsc/dtasht/h_index.htm), acessado em 09/07/2007.
7. [www.sigma-aldrich.com.br](http://www.sigma-aldrich.com.br), acessado em 31/05/2007.
8. The Index Merck, *An Encyclopedia of Chemical, Drugs, and Biologicals* **1996**, 12º Ed., Whitehouse Station: Nova Iorque.
9. Lino, C.M.; Silva, L.J.G.; *Quím. Nova* **2006**, 29(2), 293.
10. Kubota, L. et al. *Quím. Nova* **2005**, 28 (6), 1076.
11. Fernandes, A.; Cunha, S. *J. Chromatography A*, **2006**, 1128, 220.
12. Qiao, F., *Chromatographia* **2006**, 64, 625.
13. R.K. Iler. *The chemistry of silica*. Wiley, Nova Iorque, **1979**.
14. C.Ó Riordáin, E. Gillespie, D. Connolly, P. Nesterenko. *J. Chromatography A.*, **2007**, 1142, 185.
15. W. Ngeontae, W. Aeungmaitrepirom, T. Tuntulani, *Talanta* **2007**, 71, 1075.
16. A.M. Faria, L. Maldaner, C.C. Santana, I.C.S.F. Jardim, C.H. Collins, *Anal. Chem. Acta* **2007**, 582, 34.
17. F. Silveira, G.P. Pires, C.F. Petry, D. Pozebon, F.C. Stedile, J.H.Z. dos Santos, *J. Mol. Catal. A. Chem.* **2006**, 265, 167.
18. T. Takei, E. Eriguchi. *Thermochim. Acta* **1998**, 308, 139.
19. P. Staszczuk, *Thermochim. Acta* **1998**, 308, 147.
20. T. J. Horr, J. Ralston, *Colloids Surf. A* **1992**, 63, 21.
21. K. Hamdani, K.L. Cheng, *Colloids Surf. A* **1992**, 63, 29.
22. M. Ito, K. Yamauchi, K. Matsuzawa, *Colloids Surf. A* **1993**, 74, 107.
23. J. Goworek, A. Nieradka, *J. Termal. Anal.* **1996**, 46, 417.
24. C. Airoidi, L.S. Santos Jr., *Thermochim. Acta* **1996**, 104, 111.
25. I. Ahmad, T.J. Dines, J.A. Anderson, *J. Colloid Interface Sci.* **1997**, 195, 216.

26. Schwarzenbach, R., Gschwend, P.M., Imboden, D.M. *Environmental Organic Chemistry*, 1993; John Wiley: Nova Iorque.
27. Antonio A. S. Alfaya e Lauro T. Kubota, *Quim. Nova* 2002, 25, 835.
28. H.E. Bergna, W.O. Roberts, *Colloidal silica: fundamentals and applications*. CRC Press: Boca Raton, 2006.
29. B. Albero, C. Sánchez – Brunete, J. L. Tadeo, *Talanta* 2005, 66, 917.
30. S. Miyazaki, K. Morisato, N. Ishizuka, H. Minakuchi, Y. Shintani, N. Furuno, K. Nakanishi, *J. Chromatography A* 2004, 1043, 19
31. A.Safavi, N. Iranpoor, N. Saghir, *Separation and Purification Technology*, 2004 40, 3003.
32. W.Liu, H. Wang, Y. Guan, *J. Chromatography* , 2004, 1045, 15.
33. R.G. da Costa Silva, f. Augusto, *J. Chromatography A* 2006, 114, 216.
34. X. Jiang, W. Tian, C. Zhao, H. Zhang, M. Liu, *Talanta* (in press) 2006.
35. C. R. M. Vigna, L. S. R. Morais, C.H. Collins, L.C.S.F Jardim, *J. Chromatography A* 2006, 1114, 211.
36. A.M. Faria, L. Maldaner, C.C. Santana, I.C.S.F. Jardim, V.H.Collins, *Anal.Chem. Acta* 2006 582, 34.
37. M. Lamotte, P.F. de Violet, P. Garrigues, M. Hardy, *Anal. Bioanal. Chem.* 2002, 372, 169.
38. ZANELLA, *et al.*, *Pest Menagem Sci*, Sussex, 2000, 56, 804.
39. CHASIN, A. A. M. *et al*; *Rev. Bras. Toxicol*, 1998, 11 (1), 1-6.
40. RIBANI. M. *Dissertação de Mestrado*, 2004, UNICAMP.
41. SCHENCK, LEHOTAY, *Journal of Separation Science*, 2000, 25 (14), 883.
42. CLIFTON & MELOAN, *Pesticides Laboratory Training Manual*, 1996.
43. <http://hiq.aga.com.br/international/web/ig/br/likelgspgbr.nsf/docbyalias/homepage>, acessado em 02/06/2007.
44. Grob, R.L.; *Modern Practice of Gas Chromatography*, 3ªEd. John Willey & Sons, Inc, New York, 1995.
45. Holmes, J.C. and Morrel, F.A. *Appl. Spectrosc.* 11, 86, 1957.
46. S.M. Rissato, M.S. Galhiane. *Quim. Nova* 2006, 29, 250.
47. [www.varianinc.com/image/vimage/docs/worldwide/websites/brasil/consumiveis/Nexus-pesticidas\\_em\\_acucar.pdf](http://www.varianinc.com/image/vimage/docs/worldwide/websites/brasil/consumiveis/Nexus-pesticidas_em_acucar.pdf), acessado em 09/06/2007.
48. [www.fms-inc.com/applications/SPE\\_water.pdf](http://www.fms-inc.com/applications/SPE_water.pdf) , acessado em 09/06/2007.
49. M.A. Mottaleb, Abedin M.Z. *Analytical Sciences* 1999, 15,283.

## ANEXO I

<b>Organoclorado</b>	<b>CAS N.º:</b>	<b>Nomenclatura IUPAC</b>	<b>Fórmula e M.M.</b>
<i>Aldrin</i>	309-00-2	Hexahidro-1,4,5,8- endo- hexodimetanonaftaleno	$C_{12}H_8Cl_6$ Massa molecular: 364.9 u.m.a.
<i>Lindano</i>	58-89-9	gamma-1,2,3,4,5,6- Hexaclorociclohexano	$C_6H_6Cl_6$ Massa molecular: 290.8 u.m.a.
<i>Endrin</i>	72-20-8	1,2,3,4,10,10- Hexachloro- 1,4,4a,5,6,7,8,8a- octahydro-6,7-epoxy- 1,4:5,8- dimethanonaphthalele	$C_{12}H_8Cl_6O$ Massa molecular: 380.9 u.m.a.
<i>Dieldrin</i>	60-57-1	1,2,3,4,10,10- Hexachloro-6,7-epoxi- 1,4,4a,5,6,7,8,8a- octahidro-1,4- ,endo,exo- 51,2,3,4,10,10-hexa-8- dimetanaftaleno	$C_{12}H_8Cl_6O$ Massa molecular: 380.9 u.m.a.
<i>Heptacloro</i>	76-44-8	1,4,5,6,7,8,8- Heptachloro-3a,4,7,7a- tetrahydro-4,7- methanoindene	$C_{10}H_5Cl_7$ Massa molecular: 373.3 u.m.a.
<i>Heptacloro epóxido</i>	1024-57-3	exo-1,4,5,6,7,8,8- Heptachloro-2,3-epoxy- 4,7-methano-3a,4,7,7a- tetrahydroindan	$C_{10}H_5Cl_7O$ Massa molecular: 389.3 u.m.a.
<i>Hexacloro- benzeno</i>	118741	Hexachlorobenzene	$C_6Cl_6$ Massa molecular: 284.8 u.m.a.