



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA  
DETERMINAÇÃO DE ALGUNS PESTICIDAS EM ÁGUAS  
EMPREGANDO MICROEXTRAÇÃO EM FASE  
SÓLIDA (SPME)

EMY KOMATSU

Dissertação apresentada como parte dos  
requisitos para obtenção do Grau de  
Mestre em Ciências na Área de  
Tecnologia Nuclear-Materiais.

Orientador:  
Dr. Jorge Moreira Vaz

São Paulo  
2004

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia associada à Universidade de São Paulo

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE  
ALGUNS PESTICIDAS EM ÁGUAS EMPREGANDO MICROEXTRAÇÃO EM  
FASE SÓLIDA (SPME)

EMY KOMATSU



Dissertação apresentada como parte  
dos requisitos para obtenção do Grau  
de Mestre em Ciências na Área de  
Tecnologia Nuclear – Materiais.

Orientador:

Dr. Jorge Moreira Vaz

SÃO PAULO

2004

*Versão revisada pelo autor*

*Dedico esse trabalho  
para a pessoa que sempre acreditou em mim,  
me incentivou e ajudou em tudo, sempre,  
tornando possível esse trabalho...*

*Para o Marcos Lemes,  
com muito amor e carinho...*

*Dedico esse trabalho  
para a pessoa que antes de tudo,  
acreditou em mim...*

*Para o Jorge Vaz,  
com carinho...*

## **AGRADECIMENTOS**

Aos amigos Angélica, Carla, Cleide, Cristina, Elias, Luiz, Maria, Marta, Patrícia Ricardo e Sérgio, sempre presentes.

Aos amigos Alexandre, Andrea, Cristina, Heliara, José Carlos, Regiane e Silvana pelo companheirismo nessa etapa.

Às minhas amigas Adriana e Cristiane pelo incentivo, amizade e carinho.

À Deise pela amizade.

À minha mãe Kazuko e irmão Wilson; Elzira e José pelo apoio e compreensão.

Ao departamento CQMA pela utilização da infra-estrutura na realização deste trabalho.

À SABESP pelas amostras concedidas.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

# DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE ALGUNS PESTICIDAS EM ÁGUAS EMPREGANDO MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPME)

Emy Komatsu

## RESUMO

A utilização dos pesticidas em escala mundial possibilita sua detecção em vários compartimentos ambientais. Como consequência, muitos deles podem ser encontrados em baixas concentrações necessitando que metodologias analíticas, com alta sensibilidade e confiabilidade, sejam desenvolvidas para aplicação nas mais diversas matrizes.

Neste trabalho foi desenvolvida metodologia para extração e determinação de algumas classes de pesticidas em águas empregando microextração em fase sólida (SPME), associada à cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (GC/MS). A metodologia foi aplicada a pesticidas pertencentes às classes das dinitroanilinas, triazinas, organoclorados e piretróides em amostras de águas. Estes pesticidas foram escolhidos devido a seu elevado consumo mundial, potencial xenobiótico e ubiquidade. Foram otimizadas as condições cromatográficas e do processo de microextração em fase sólida (SPME). As melhores condições para extração com SPME foram: fibra de poliacrilato e extração direta por 30 minutos.

Nestas condições a recuperação obtida com a metodologia proposta variou de 94% a 108% e a sensibilidade do método, calculada pelo limite de detecção, variou de 0,004 a 0,1  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Os valores obtidos para recuperação em amostras reais, com *spike* em três níveis de concentração, apresentaram boa concordância com os valores esperados.

# **DEVELOPMENT OF METHODOLOGY FOR DETERMINATION OF SOME PESTICIDES IN WATERS USING MICROEXTRACTION IN SOLID PHASE (SPME)**

**Emy Komatsu**

## **ABSTRACT**

The widespread global use of pesticides leads to their distribution in several environmental compartments. Since most pesticides can be found at very low concentrations in the environmental samples, highly sensitive and reliable analytical methodologies are necessary for their determination.

In this work a methodology was developed for extraction and determination of some pesticides classes in water samples using solid phase microextraction (SPME) coupled with gas chromatography and mass spectrometry (GC/MS). The developed methodology was applied for dinitroaniline, triazine, organochlorine and pyrethroides. The choice of these pesticides was based mainly on their extensive global use, xenobiotic potential and ubiquity. During method development the chromatographic and SPME conditions were optimized. Best results were obtained using polyacrilate fiber for direct SPME extractions for 30 minutes.

Under these conditions the sample recovery of the proposed method ranges from 94% to 108% and the sensitivity of the method as determined by the detection limite (DL) of the system ranged from 0.004 to 0.1  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Results obtained with spiked samples at three concentration levels showed acceptable agreement with the expected values.

## SUMÁRIO

	Página
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>iii</b>
<b>ÍNDICE DE TABELAS</b> .....	<b>v</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>vi</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1. Pesticidas.....	2
1.1.1. Trifluralina.....	4
1.1.2. Simazina.....	5
1.1.3. Atrazina .....	6
1.1.4. Pentaclorofenol.....	7
1.1.5. Bifentrina .....	8
1.1.6. Permetrina.....	9
1.2. Microextração em fase sólida (SPME).....	12
1.2.1. Introdução.....	12
1.2.2. Recobrimentos poliméricos .....	14
1.2.3. Aspectos teóricos da SPME .....	16
1.2.4. Otimização das condições de extração .....	19
1.3. Separação e análise .....	19
1.3.1. Cromatografia a gás.....	19
1.3.2. Espectrometria de massas .....	20
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>22</b>
2.1. Objetivos Gerais.....	22
2.2. Objetivos Específicos.....	22
<b>3. PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>23</b>
3.1. Reagentes e Solventes.....	23
3.2. Otimização das condições cromatográficas.....	24
3.2.1. Ajuste das condições cromatográficas .....	24
3.2.2. Ajuste das condições do espectrômetro de massas.....	24
3.3. SPME.....	25
3.3.1. Procedimento .....	25
3.3.2. Fibras utilizadas .....	25
3.3.3. Otimização das condições de extração.....	26
3.3.3.1. Escolha do tipo de fibra e modo de extração .....	26
3.3.3.2. Tempo de extração .....	27
3.3.3.3. Velocidade de agitação .....	27
3.3.3.4. Efeito da concentração salina .....	27
3.3.3.5. Efeito do pH.....	28
3.3.4. Curvas analíticas e limite de detecção.....	28
3.3.5. Efeito <i>carryover</i> .....	29
3.3.6. Recuperação do método.....	29
3.3.7. Aplicação em amostras.....	29

<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>30</b>
4.1. Otimização das condições cromatográficas .....	30
4.1.1. Ajuste das condições cromatográficas .....	30
4.1.2. Ajuste das condições do espectrômetro de massas .....	33
4.1.3. Condições otimizadas para o GC/MS .....	36
4.2. SPME .....	36
4.2.1. Otimização das condições de extração .....	36
4.2.1.1. Escolha do tipo de fibra e modo de extração .....	36
4.2.1.2. Tempo de extração .....	37
4.2.1.3. Velocidade de agitação .....	38
4.2.1.4. Efeito da concentração salina .....	39
4.2.1.5. Efeito do pH .....	40
4.2.2. Curvas analíticas e limites de detecção .....	41
4.2.3. Efeito <i>carryover</i> .....	43
4.2.4. Recuperação do método .....	44
4.2.5. Aplicação em amostras .....	45
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	<b>48</b>
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>49</b>
<b>7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b> .....	<b>50</b>
<b>APÊNDICE</b> .....	<b>51</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>53</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1	. Fórmula estrutural e espectro de massas da trifluralina.....	4
FIGURA 2	. Fórmula estrutural e espectro de massas da simazina .....	5
FIGURA 3	. Fórmula estrutural e espectro de massas da atrazina.....	6
FIGURA 4	. Fórmula estrutural e espectro de massas do pentaclorofenol .....	7
FIGURA 5	. Fórmula estrutural da forma geométrica <i>cis</i> nas formas ópticas 1R e 1S da bifentrina e espectro de massas, obtidos neste trabalho .....	8
FIGURA 6	. Fórmula estrutural e espectro de massas da 1R- <i>cis</i> -Permetrina.....	9
FIGURA 7	. Fórmula estrutural e espectro de massas da 1R- <i>trans</i> -Permetrina	10
FIGURA 8	. Fibra: a) esquema dos componentes da fibra (Wercinski, 1999); b) fibra rosqueada ao êmbolo; c) fibra adaptada ao holder .....	13
FIGURA 9	. Modos de extração: a) modo direto e b) modo <i>headspace</i> ; a parte cinza representa o recobrimento polimérico da fibra (Pawliszyn, 1997).....	14
FIGURA 10	. Comparação entre os modos de extração: direto e <i>headspace</i> (HS) com as diferentes fibras avaliadas. Resposta normalizada para 1 µg L <sup>-1</sup> para cada pesticida em água deionizada, extraídos sob agitação constante de 900 rpm e temperatura ambiente (25° C) .....	37
FIGURA 11	. Perfil de extração dos pesticidas com adição dos pesticidas em água deionizada, extraídos com imersão direta utilizando fibra de PA, sob agitação constante de 900 rpm e temperatura ambiente (25° C). Trifluralina, 0,13 µg L <sup>-1</sup> ; Simazina, 2,14 µg L <sup>-1</sup> ; Atrazina, 1,03 µg L <sup>-1</sup> ; Pentaclorofenol, 0,10 µg L <sup>-1</sup> ; Bifentrina, 0,09 µg L <sup>-1</sup> ; <i>cis</i> -Permetrina 0,10 µg L <sup>-1</sup> ; <i>trans</i> -Permetrina, 0,10 µg L <sup>-1</sup> .....	38
FIGURA 12	. Influência da velocidade de agitação na extração, com adição dos pesticidas em água deionizada, extraídos durante 30 minutos com fibra de PA e temperatura ambiente (25° C). Trifluralina, 0,13 µg L <sup>-1</sup> ; Simazina, 2,18 µg L <sup>-1</sup> ; Atrazina, 1,03 µg L <sup>-1</sup> ; Pentaclorofenol, 5,07 µg L <sup>-1</sup> ; Bifentrina, 0,09 µg L <sup>-1</sup> ; <i>cis</i> -Permetrina, 0,10 µg L <sup>-1</sup> ; <i>trans</i> -Permetrina 0,10 µg L <sup>-1</sup> .....	39
FIGURA 13	. Efeito da concentração salina na extração com adição dos pesticidas em água deionizada, extraídos durante 30 minutos com fibra de PA, sob agitação constante de 900 rpm e temperatura ambiente (25° C). Trifluralina 0,13 µg L <sup>-1</sup> ; Simazina, 2,18 µg L <sup>-1</sup> ; Atrazina, 1,03 µg L <sup>-1</sup> ; Pentaclorofenol, 5,07 µg L <sup>-1</sup> ; Bifentrina, 0,09 µg L <sup>-1</sup> ; <i>cis</i> -Permetrina, 0,10 µg L <sup>-1</sup> ; <i>trans</i> -Permetrina 0,10 µg L <sup>-1</sup> .....	40

- FIGURA 14** . Efeito do pH na extração com adição dos pesticidas em água deionizada, extraídos durante 30 minutos com fibra de PA, sob agitação constante de 900 rpm, concentração salina de 20% m/v de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e temperatura ambiente (25° C). Trifluralina, 0,13 µg L<sup>-1</sup>; Simazina, 2,18 µg L<sup>-1</sup>; Atrazina, 1,03 µg L<sup>-1</sup>; Pentaclorofenol, 5,07 µg L<sup>-1</sup>; Bifentrina, 0,09 µg L<sup>-1</sup>; *cis*-Permetrina, 0,10 µg L<sup>-1</sup>; *trans*-Permetrina 0,10 µg L<sup>-1</sup> ..... 41
- FIGURA 15** . Cromatograma obtido no modo SIM com a metodologia proposta para o nível 1 de recuperação (TABELA 11). Identificação dos picos: 1 – Trifluralina; 2 – Simazina; 3 – Atrazina; 4 – Pentaclorofenol; 5 – Bifentrina; 6 – *cis*-Permetrina; 7 – *trans*-Permetrina. Demais picos não foram identificados ..... 42
- FIGURA 16** . Efeito *carryover* na desorção para extração com adição dos pesticidas em água deionizada, extraídos durante 30 minutos com fibra de PA, sob agitação constante de 900 rpm, concentração salina de 20% m/v de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e temperatura ambiente (25° C). Onde a concentração para N3 foi 0,5 µg L<sup>-1</sup> e para N5 foi 2 µg L<sup>-1</sup> para cada pesticida ..... 44
- FIGURA 17** a) Cromatograma obtido no modo SIM para amostra coletada em Cananéia. b) Cromatograma obtido no modo SIM para amostra coletada em Cananéia com adição de 0,1 µg L<sup>-1</sup> de cada pesticida. Identificação dos picos: 1 – Trifluralina; 2 – Simazina; 3 – Atrazina; 4 – Pentaclorofenol; 5 – Bifentrina; 6 – *cis*-Permetrina. Demais picos não foram identificados ..... 46

## ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1	. Características gerais dos compostos estudados (Anvisa, 2004, Tomlin, 1994, WHO, 2004).....	11
TABELA 2	. Tipos de fibras comercializadas pela Supelco.....	15
TABELA 3	. Fragmentos de massa utilizados para quantificação no modo SIM.....	25
TABELA 4	. Descrição das fibras utilizadas no trabalho.....	26
TABELA 5	. Concentrações utilizadas nas curvas analíticas.....	28
TABELA 6	. Condições cromatográficas utilizadas.....	30
TABELA 7	. Resolução dos compostos simazina/atrazina e <i>cis</i> -permetrina / <i>trans</i> -permetrina, áreas dos picos dos compostos trifluralina e simazina e tempo total de análise.....	31
TABELA 8	. Condições utilizadas no espectrômetro de massas.....	34
TABELA 9	. Áreas dos picos dos compostos trifluralina e simazina e tensão do detector.....	35
TABELA 10	. Coeficientes de correlação linear e limites de detecção obtidos para a metodologia proposta.....	43
TABELA 11	. Recuperação dos níveis 1, 2 e 3 com a adição dos pesticidas em água deionizada.....	45
TABELA 12	. Recuperação em amostra de água bruta, com adição de 0,1 µg L <sup>-1</sup> dos pesticidas estudados.....	47
TABELA 13	. Valores de $\eta$ e $K_{fs}$ utilizando o modo SIM.....	52

## LISTA DE ABREVIATURAS

CAR/PDMS	<i>Carboxen/Poly(dimethylsiloxane)</i> – <i>Carboxen/Polidimetilsiloxano</i>
CAS RN	<i>Chemical Abstracts Service Registry Number</i>
CW/DVB	<i>Carbowax/Divinylbenzene</i> – <i>Carbowax/Divinilbenzeno</i>
CW/TPR - HPLC	<i>Carbowax/Templated Resin</i>
DDT	1,1,1-tricloro-2,2-bis(p-clorofenil) etano - dicloro-difenil-tricloroetano
DL <sub>50</sub>	dose letal a 50%
ECD	<i>Electron capture detector</i> – Detector de captura de elétrons
EI	<i>Electron impact</i> – Ionização por impacto de elétrons
FD	<i>Fluorescence detector</i> – Detector de fluorescência
FID	<i>Flame ionization detector</i> – Detector de ionização por chama
FPD	<i>Flame photometric detector</i> – Detector fotométrico de chama
GC/MS	<i>Gas chromatography/mass spectrometry</i> – Cromatografia a gás/espectrometria de massas
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> – Cromatografia a líquido de alto desempenho
IARC	<i>The International Agency for Research on Cancer</i>
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
LLE	<i>Liquid-liquid extraction</i> – Extração líquido-líquido
m/z	Massa/carga
NPD	<i>Nitrogen phosphorus detector</i> – Detector de nitrogênio fósforo
PA	<i>Polyacrilate</i> – Poliacrilato
PAHs	<i>Polycyclic aromatics hydrocarbons</i> – Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
PCBs	<i>Polychlorinated biphenyls</i> – Bifenilas policloradas
PDMS	<i>Poly(dimethylsiloxane)</i> – Polidimetilsiloxano
PDMS/DVB - HPLC	<i>Poly(dimethylsiloxane) Divinylbenzene</i> – Polidimetilsiloxano

PTFE	Politetrafluoroetileno
SIM	<i>Selected ion monitoring</i> – monitorando o íon selecionado
SPE	<i>Solid phase extraction</i> – Extração em fase sólida
SPME	<i>Solid phase microextraction</i> – Microextração em fase sólida
TIC	<i>Total ion chromatogram</i> – Cromatograma do íon total
UV	<i>Ultraviolet</i> – Ultravioleta
VOCs	<i>Volatile organic compounds</i> – Compostos orgânicos voláteis
WHO	<i>World Health Organization</i>

## 1. INTRODUÇÃO

A água é um meio importante sendo utilizada em diversos processos biológicos, irrigação de plantações, como veículo na navegação, como auxiliar em processos para obtenção de energia elétrica, refrigeração de máquinas, limpeza de ruas, entre outros.

Na água são encontrados diversos elementos e compostos, sólidos, líquidos ou gasosos em diferentes proporções, provenientes do ar através de condensação e chuva, dos solos e rochas por onde circula ou é armazenada e também do contato com as atividades humanas (Branco, 1991).

A água é classificada como água natural (Branco, 1991) ou água de descarte. A primeira é dividida em três formas: água subterrânea, água de superfície e água potável. A principal fonte da água subterrânea é a percolação da chuva através do solo. A composição da água subterrânea pode variar dependendo da composição geológica de rochas e solos. As águas de superfície são constituídas pelos rios e lagos. A água potável pode ser obtida através da água subterrânea ou pelas águas superficiais. A água de descarte é aquela cuja composição foi alterada pela atividade humana, podendo ser uma fonte de contaminação às águas naturais (Dean, 1998).

A contaminação nos compartimentos ambientais geralmente é causada por diversas atividades tais como: agricultura (ar – pesticidas na forma de aerossóis; água – derramamentos de pesticidas, carreamento pelas chuvas, derramamentos de combustíveis; solo – presença de pesticidas orgânicos persistentes, como DDT e lindano, derramamentos de combustíveis), geração de energia (ar – PAHs provenientes do carvão; água – PAHs provenientes de cinzas; solo – cinzas e pó de carvão); indústrias metalúrgicas (ar – VOCs; água – solventes provenientes da limpeza de metais; solo – solventes); indústrias químicas e eletrônicas (ar – VOCs e outros compostos voláteis; água – compostos químicos diversos presentes em efluentes, solo – materiais particulados de chaminés, pequenos pedaços de componentes eletrônicos danificados); descartes ilegais e transportes de outras fontes (Dean, 1998).

Dentre os principais tipos de contaminação os poluentes orgânicos têm maior destaque devido sua complexidade e diversidade. Os Estados Unidos da América e a Comunidade Européia possuem uma lista dos compostos mais preocupantes que são monitorados freqüentemente (Dean, 1998). No Brasil os

padrões de potabilidade de água são estabelecidos através da Portaria nº 518, do Ministério da Saúde de 25/03/04 (Saúde, 2004).

Entre diversas espécies químicas encontradas na água potável (e nos outros compartimentos ambientais), os pesticidas ocupam uma posição única dentro da classe de poluentes orgânicos, sendo um caso de estudo ambiental, uma vez que eles são usados deliberadamente para o controle de pragas.

Por causa de seu uso difundido, os pesticidas podem ser carreados para águas superficiais e águas subterrâneas, podendo estar presentes na água potável (Younes, 2000).

### **1.1.Pesticidas**

Segundo a EPA um pesticida é uma substância ou mistura de substâncias com capacidade de prevenir, destruir, repelir ou atenuar qualquer peste. Os pesticidas podem ser classificados de acordo com o tipo de peste – algicidas, fungicidas, herbicidas, inseticidas, acaricidas, moluscidas, nematocidas, ovicidas, entre outros. Além disso podem ser incluídas substâncias desfolhantes, dessecantes e reguladoras do crescimento de insetos e plantas (EPA, 2004).

Muito utilizados na agricultura, os pesticidas também são usados em campanhas de saúde pública e podem ser classificados de acordo com sua estrutura química; assim dentro da classe dos inseticidas organossintéticos existem os benzoiluréticos, piretróides, organoclorados, organofosforados, carbamatos, além dos inseticidas de origem vegetal como a nicotina, estricnina e as piretrinas. Existem também fungicidas do tipo ditiocarbamatos, organofosforados, imidazólicos, triazólicos e succinimídicos, e herbicidas como os benzonitrílicos, uréticos, dinitrobenzenamínicos, tiocarbamatos, triazínicos e carbanílicos (Koh, 1996, Larini, 1999, Younes, 2000).

Com a descoberta das propriedades inseticidas do DDT, o controle de pragas é marcado por uma mudança na utilização de pesticidas que antes utilizavam somente compostos inorgânicos e extratos vegetais (Larini, 1999).

Muito utilizados principalmente após a II Guerra Mundial, os pesticidas foram aplicados visando o aumento de produtividade e a diminuição da mão-de-obra nas lavouras (Barnard, 1997, Ecobichon, 2001). Os primeiros pesticidas sintéticos foram utilizados em 1940 trazendo grandes benefícios na produção de alimentos. Entretanto em 1962, Rachel Carson relata em seu livro *Silent Spring*

(Primavera Silenciosa), a persistência e os danos ambientais causados pela utilização dos pesticidas, levantando questões sobre os riscos e benefícios do seu uso (Werf, 1996).

Os principais inseticidas utilizados no Brasil em 1936 eram compostos de origem inorgânica como os compostos de arsênio e chumbo e de extratos vegetais como a nicotina e o piretro. O DDT foi o primeiro composto orgânico utilizado na agricultura brasileira em 1943, sendo ainda utilizado como inseticida e carrapaticida em bovinos. Entretanto seu alto poder residual foi determinante para a restrição de sua utilização apenas nas campanhas contra malária e foi proibido em diversos países (Larini, 1999).

Quando utilizados de forma correta os pesticidas aumentam a produção em 40%, porém sua má utilização pode acarretar em danos ambientais e pode trazer sérias conseqüências à saúde humana (Richardson, 1998) tais como: problemas respiratórios, dermatites, irrigações na garganta, neurotoxicidade e efeitos carcinogênicos, teratogênicos e mutagênicos (Barnard, 1997).

Com o uso deliberado (Belfroid, 1998, Kolpin, 2000) de pesticidas, estes e seus metabólitos (originários de processos físicos, químicos e biológicos de degradação) podem ser encontrados, por contaminação de fontes pontuais ou difusas, em águas de superfície, águas subterrâneas e água potável (Kodama, 2001, Uri, 1997, Werf, 1996). Exemplos de fontes pontuais de contaminação de pesticidas são os efluentes industriais e a aplicação direta em águas como no controle de ervas-daninhas em rios. Como fontes difusas podem ser citadas as chuvas e dispersão por aerossol durante a aplicação nas culturas agrícolas. Embora proibidos, os pesticidas orgânicos persistentes ainda estão presentes no meio ambiente e na água potável (Biziuk, 1996, Dean, 1998, Younes, 2000).

Neste trabalho são estudados os pesticidas trifluralina, simazina, atrazina, pentaclorofenol, bifentrina e permetrina (isômeros *cis* e *trans*). A escolha destes pesticidas se deve a sua grande utilização tanto em escala mundial quanto nacional, seu elevado potencial tóxico e pela ubiquidade apresentada em alguns estudos (Hoff, 1999, Levitan, 2000).

### 1.1.1. Trifluralina

A trifluralina é um herbicida do grupo químico das dinitroanilinas e segundo a IUPAC possui nomenclatura  $\alpha,\alpha,\alpha$ -trifluoro-2,6-dinitro-*N,N*-dipropil-*p*-toluidina. Sua nomenclatura referente ao CAS número 1582-09-8 é 2,6-dinitro-*N,N*-dipropil-4-(trifluorometil)benzenamida. Sua fórmula estrutural e espectro de massas (NIST, 1993) são apresentados na FIGURA 1. É um composto estável em altas temperaturas e decompõe-se sob luz ultra-violeta (Tomlin, 1994).

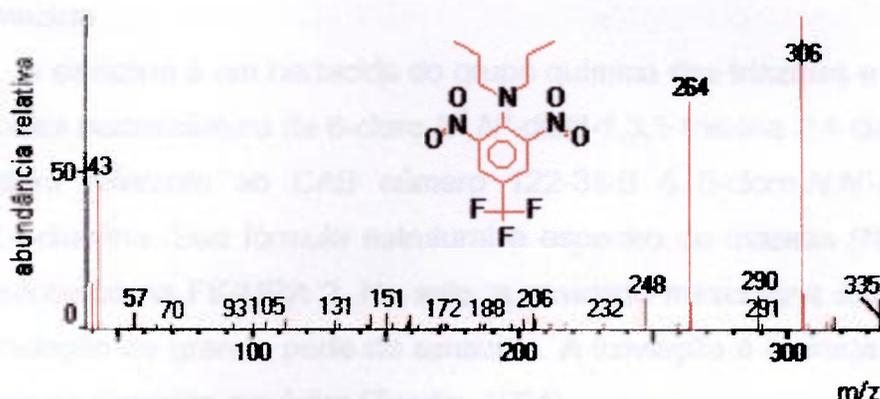


FIGURA 1. Fórmula estrutural e espectro de massas da trifluralina

Segundo a IARC, a trifluralina (grau técnico) é classificada como um pesticida do grupo III – não classificado como carcinogênico (WHO, 2004). Pesticidas pertencentes a essa classe são pouco absorvidos pela via oral e dérmica em mamíferos. Uma grande parte da trifluralina administrada pela via oral, em ratos, é excretada nas fezes. Após a absorção oral, a trifluralina é depositada principalmente no fígado, rins, baço e pulmões, sendo excretada em 70% através da urina. São compostos pouco tóxicos para mamíferos, em termos de efeitos agudos, a toxicidade oral em ratos machos é de  $DL_{50} > 5000 \text{ mg kg}^{-1}$ . Entretanto, esses compostos podem conter impurezas nas suas formulações como as Nitrosaminas (*N,N*-dealquilnitrosaminas), que são considerados agentes genotóxicos na classificação de compostos químicos carcinogênicos. A trifluralina pode conter até  $150 \text{ mg L}^{-1}$  de *N*-nitroso-*N*-propilamina, entretanto a ANVISA limita o valor máximo de  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  de *N*-nitrosaminas nas formulações de trifluralina (Anvisa, 2004, Larini, 1999).

A trifluralina é um herbicida seletivo que atua penetrando na muda da planta, atrapalhando a divisão celular inibindo o desenvolvimento da raiz. No

Brasil, a trifluralina é aplicada incorporada ao solo antes do plantio nas culturas de algodão, alho, amendoim, arroz, berinjela, cana-de-açúcar, cebola, cenoura, citros, couve, couve-flor, feijão, feijão-vagem, girassol, mamona, milho, pimentão, quiabo, repolho, rosa, soja e tomate. Também é aplicada em situações de pré-emergência das plantas infestantes, no pré-plantio de eucalipto, pinus e seringueira ou no pós-plantio para evitar vegetações indesejadas (Anvisa, 2004, Tomlin, 1994).

### 1.1.2. Simazina

A simazina é um herbicida do grupo químico das triazinas e segundo a IUPAC possui nomenclatura de 6-cloro- $N^2,N^4$ -dietil-1,3,5-triazina-2,4-diamina. Sua nomenclatura referente ao CAS número 122-34-9 é 6-cloro- $N,N'$ -dietil-1,3,5-triazina-2,4-diamina. Sua fórmula estrutural e espectro de massas (NIST, 1993) são apresentados na FIGURA 2. No solo, a atividade microbiana é responsável pela degradação de grande parte de simazina. A lixiviação é limitada pela baixa solubilidade da simazina em água (Tomlin, 1994).

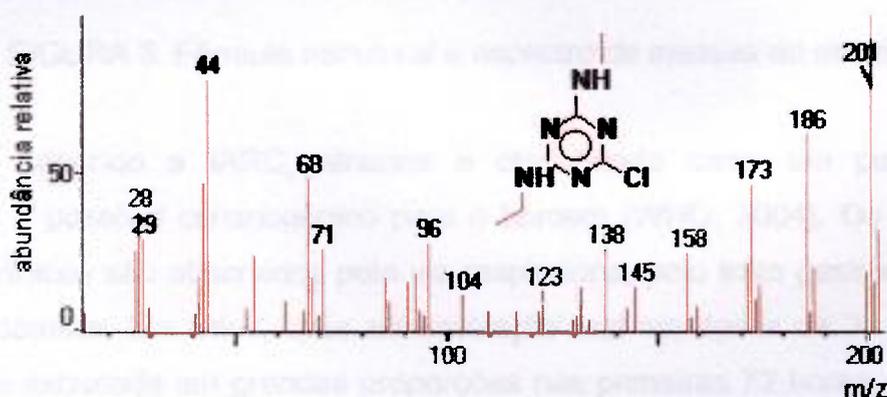


FIGURA 2. Fórmula estrutural e espectro de massas da simazina

Segundo a IARC, a simazina é classificada como um pesticida do grupo III – não classificado como carcinogênico (WHO, 2004). Os herbicidas triazínicos apresentam baixa toxicidade aguda, a  $DL_{50}$  de simazina em ratos é  $> 5000 \text{ mg kg}^{-1}$  para via oral. Em relação à toxicidade da simazina o fígado é o órgão alvo durante as exposições prolongadas (Larini, 1999).

A simazina é um herbicida seletivo sistêmico absorvido pela raiz. No Brasil, a simazina é utilizada em situações de pré e pós-emergência nas culturas

de abacaxi, banana, cacau, café, cana-de-açúcar, citros, maçã, milho, pinus, seringueira, sisal e uva (Anvisa, 2004, Tomlin, 1994).

### 1.1.3. Atrazina

A atrazina é um herbicida do grupo químico das triazinas e segundo a IUPAC possui a seguinte nomenclatura: 6-cloro-*N*<sup>2</sup>-etil-*N*<sup>4</sup>-isopropil-1,3,5-triazina-2,4-diamina. Sua nomenclatura referente ao CAS número 1912-24-9 é 6-cloro-*N*-etil-*N'*-(1-metiletil)-1,3,5-triazina-2,4-diamina. (Tomlin, 1994). Sua fórmula estrutural e espectro de massas (NIST, 1993) são apresentados na FIGURA 3.

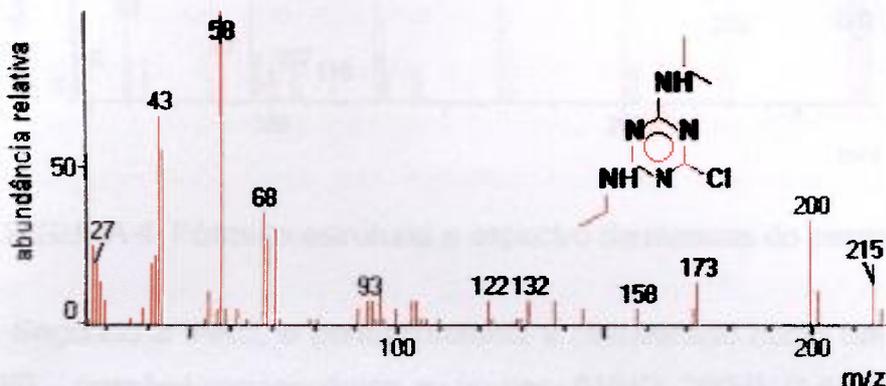


FIGURA 3. Fórmula estrutural e espectro de massas da atrazina

Segundo a IARC, atrazina é classificada como um pesticida do grupo IIB – possível carcinogênico para o homem (WHO, 2004). Os herbicidas 1,3,5-triazínicos são absorvidos pela via respiratória, pelo trato gastrointestinal e pela via dérmica. Em ratos, após administração oral em doses de 30 mg kg<sup>-1</sup>, a atrazina é excretada em grandes proporções nas primeiras 72 horas, através da urina e fezes. A absorção dérmica da atrazina representa cerca de 16% da aplicação direta sobre a pele humana. Mesmo apresentado baixa toxicidade aguda a atrazina apresenta atividade mutagênica (Larini, 1999).

A atrazina é um herbicida seletivo sistêmico absorvido pela raiz e pelas folhas, que atua inibindo a fotossíntese e interferindo em outros processos enzimáticos. No Brasil, a atrazina é aplicada em situações de pré e pós-emergência das plantas infestantes nas culturas de cana-de-açúcar, milho, abacaxi, pinus, seringueira e sisal (Anvisa, 2004, Tomlin, 1994).

### 1.1.4. Pentaclorofenol

O pentaclorofenol é um biocida utilizado como inseticida, fungicida e herbicida do grupo químico dos organoclorados. Também conhecido como PCP, pentaclorofenol é a nomenclatura segundo a IUPAC e também refere-se ao CAS número 87-86-5 (Tomlin, 1994). Sua fórmula estrutural e espectro de massas (NIST, 1993) são apresentados na FIGURA 4.

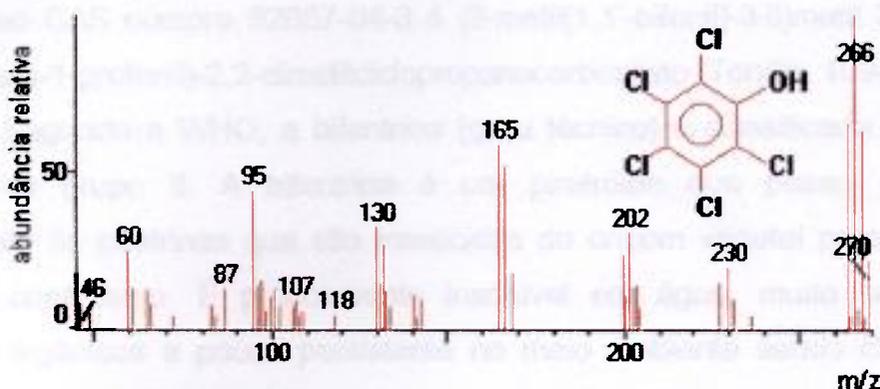


FIGURA 4. Fórmula estrutural e espectro de massas do pentaclorofenol

Segundo a IARC, o pentaclorofenol é classificado como um composto do grupo IIB – possível carcinogênico ao homem (WHO, 2004). O pentaclorofenol é irritante para a pele, mucosas e trato respiratório. As intoxicações ocorrem por inalação de seus vapores e de suas partículas, durante sua produção, formulação, manipulação e aplicação. Devido sua lipossolubilidade é facilmente absorvido pela via dérmica e pelo trato gastrointestinal quando ingerido acidental ou intencionalmente.

Após a absorção, o pentaclorofenol é distribuído pelo organismo concentrando-se especialmente no fígado, rins, coração, cérebro, e nos tecidos gordurosos. No homem, o pentaclorofenol é excretado na urina em concentrações proporcionais à quantidade ingerida.

A toxicidade aguda do pentaclorofenol em ratos machos através de via oral é de  $DL_{50}$  145 mg  $kg^{-1}$  (Larini, 1999).

O pentaclorofenol é utilizado no controle de fungos evitando o apodrecimento de madeiras, no controle de cupins e como herbicida. No Brasil, é utilizado exclusivamente para tratamento de madeiras destinadas para dormentes, postes, mourões para cercas rurais, esteios e vigas, com a finalidade de registro no IBAMA (Anvisa, 2004, Larini, 1999, Tomlin, 1994).

### 1.1.5. Bifentrina

A bifentrina é um inseticida e acaricida pertencente ao grupo químico dos piretróides. Possui dois isômeros cuja nomenclatura segundo a IUPAC são 2-metilbifenil-3-ilmetil(Z)-(1*RS*,3*RS*)-3-(2-cloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato e 2-metilbifenil-3-ilmetil(Z)-(1*RS*)-*cis*-3-(2-cloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato. Sua nomenclatura referente ao CAS número 82657-04-3 é (2-metil[1,1'-bifenil]-3-il)metil 3-(2-cloro-3,3,3-trifluoro-1-profenil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato (Tomlin, 1994).

Segundo a WHO, a bifentrina (grau técnico) é classificada como um pesticida do grupo II. A bifentrina é um piretróide que possui estruturas semelhantes às piretrinas que são inseticidas de origem vegetal presentes nas flores de crisântemo. É praticamente insolúvel em água, muito solúvel em solventes orgânicos e pouco persistente no meio ambiente sendo classificada como não persistente. Devido sua estrutura química com anel ciclopropano existem isômeros geométricos (*cis* e *trans*) e ópticos (1*R* e 1*S*). A fórmula estrutural do isômero *cis* da bifentrina e suas formas 1*R* e 1*S* e seu espectro de massas (NIST, 1993) são apresentados na FIGURA 5, o padrão de bifentrina utilizado neste trabalho foi obtido do *Institute of Industrial Organic Chemistry Analytical Department - Reference Material N° IPO 053*.

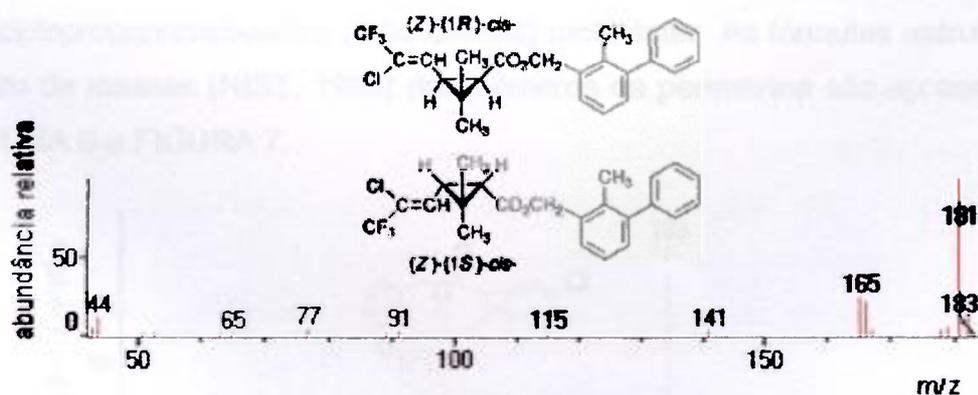


FIGURA 5. Fórmula estrutural da forma geométrica *cis* nas formas ópticas 1*R* e 1*S* da bifentrina e espectro de massas, obtidos neste trabalho

As principais vias de absorção no homem são a oral, gástrica, dérmica e inalatória, sendo absorvidos rapidamente pelo trato gastrintestinal. A bifentrina é menos tóxica através de via dérmica apresentando uma  $DL_{50} > 2000 \text{ mg kg}^{-1}$  para coelhos, do que através da via oral com uma  $DL_{50} > 56 \text{ mg kg}^{-1}$  para ratas (Larini, 1999, WHO, 2004).

A bifentrina é um pesticida que atua no estômago dos insetos. No Brasil o pesticida é aplicado nas partes aéreas das culturas de algodão, citros, couve, crisântemo, feijão, fumo, melão, pepino e tomate. Também é nebulizado no solo, em volumes pequenos, no controle de formigas cortadeiras; é pulverizado em grãos armazenados (arroz, milho e trigo) e aplicado ao solo durante o plantio de cana-de açúcar (Anvisa, 2004, Tomlin, 1994).

### 1.1.6. Permetrina

A permetrina é um inseticida pertencente ao grupo químico dos piretróides. Sua nomenclatura segundo a IUPAC é 3-fenoxibenzil (1*RS*,3*RS*;1*RS*,3*SR*)-3-(2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato (Tomlin, 1994). A nomenclatura da *cis*-Permetrina, referente ao número CAS 54774-45-7, é (1*R*-*cis*)-(2,2-dicloroetenil)-2,2-ácido dimetilciclopropanocarboxílico (3-fenoxifenil) metil éster. A nomenclatura da *trans*-Permetrina, referente ao número CAS 51877-74-8, é (1*R*-*trans*)-3-(2,2-dicloroetenil)-2,2-ácido dimetilciclopropanocarboxílico (3-fenoxifenil) metil éster. As fórmulas estruturais e espectro de massas (NIST, 1993) dos isômeros da permetrina são apresentados na FIGURA 6 e FIGURA 7.

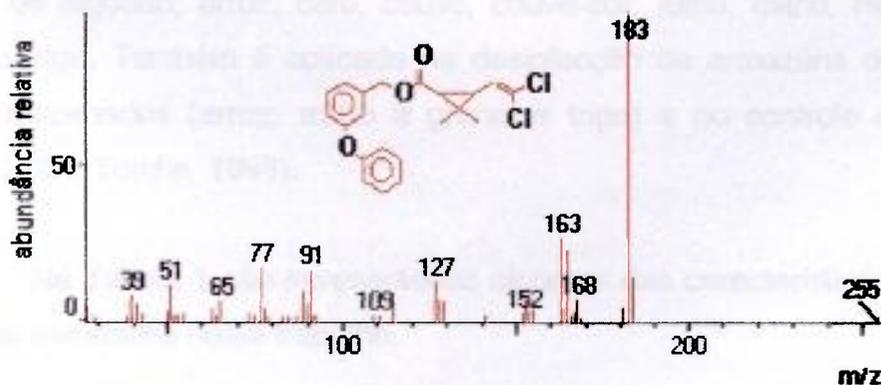


FIGURA 6. Fórmula estrutural e espectro de massas da 1*R*-*cis*-Permetrina

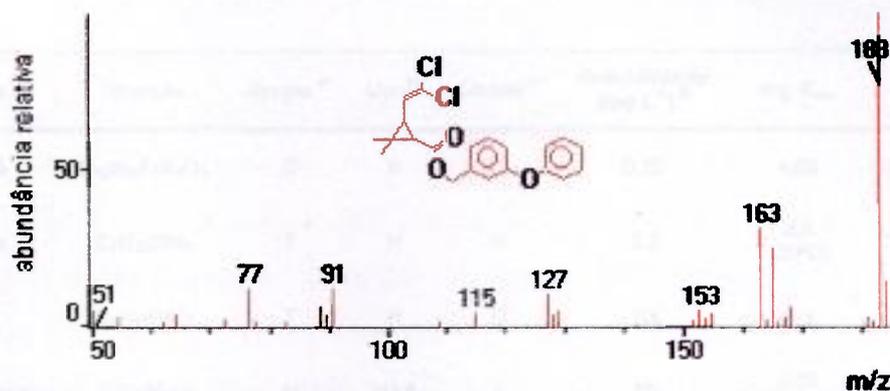


FIGURA 7. Fórmula estrutural e espectro de massas da 1R-*trans*-Permetrina

Segundo a IARC, a permetrina é classificada como um pesticida do grupo III – não classificado como carcinogênico (WHO, 2004). Em relação à exposição, a toxicidade depende de fatores como a proporção dos isômeros; para valores na proporção de 40:60 dos isômeros *cis/trans* através da via oral a  $DL_{50}$  em ratazanas é de 430-4000  $mg\ kg^{-1}$  e para ratos 540-2690  $mg\ kg^{-1}$ . Para a via dérmica a toxicidade aguda apresenta  $DL_{50} > 4000\ mg\ kg^{-1}$  para ratazanas e  $> 2000\ mg\ kg^{-1}$  para coelhos (Tomlin, 1994). A permetrina é encontrada na proporção de 3:2:3:2 para seus isômeros [1R, *trans*], [1R, *cis*], [1S, *trans*] e [1S, *cis*], sendo que o isômero [1R, *cis*] possui maior característica inseticida seguida pelo isômero [1R, *trans*] (WHO, 2004).

A permetrina é um pesticida que atua no estômago dos insetos tendo um efeito repelente. No Brasil o pesticida é aplicado nas partes aéreas das culturas de algodão, arroz, café, couve, couve-flor, fumo, milho, repolho, soja, tomate e trigo. Também é aplicado na desinfecção de armazéns de fumo, em grãos armazenados (arroz, milho a granel e trigo) e no controle de formigas (Anvisa, 2004, Tomlin, 1994).

Na Tabela 1 são apresentadas algumas das características gerais dos pesticidas estudados neste trabalho.

TABELA 1. Características gerais dos compostos estudados (Anvisa, 2004, Tomlin, 1994, WHO, 2004)

Pesticida	Fórmula	Grupo <sup>a)</sup>	Uso <sup>b)</sup>	Classe <sup>c)</sup>	Solubilidade (mg L <sup>-1</sup> ) <sup>d)</sup>	log K <sub>ow</sub>	PM	pK <sub>a</sub>
Trifluralina	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	D	H	III	0,22	4,69	335,3	-
Simazina	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> ClN <sub>5</sub>	T	H	III	6,2	2,1 (25°C)	201,7	1,7
Atrazina	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> ClN <sub>5</sub>	T	H	III	33	2,3	215,7	1,7
Pentaclorofenol	C <sub>6</sub> Cl <sub>5</sub> NaO	O	H;I;F	I	80	3,56 (pH=6,5)	266,3	4,71
Bifentrina	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> ClF <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	P	I; A	II	0,1	>6	422,9	-
Permetrina	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	P	I	III	0,2	6,5	391,3	-

a) D = dinitroanilina; T = triazina; O = organoclorado; P = piretróide

b) A = Acaricida; F = Fungicida; H = Herbicida; I = Inseticida

c) Classe I – Produtos Extremamente Tóxicos (faixa vermelha); Classe II – Produtos Altamente Tóxicos (faixa amarela); Classe III – Produtos Medianamente Tóxicos (faixa azul); Classe IV – Produtos Pouco Tóxicos (faixa verde)

d) em água a 20° C

Tendo em vista a preocupação com a saúde humana e o equilíbrio ecológico aquático existe a necessidade de se desenvolver métodos alternativos para avaliar a qualidade das águas em relação aos contaminantes orgânicos em níveis ambientais.

De acordo com a Legislação Nacional, segundo a Portaria 518 do Ministério da Saúde (Saúde, 2004) os valores permitidos em água potável para os pesticidas estudados são: trifluralina 20 µg L<sup>-1</sup>, simazina 2 µg L<sup>-1</sup>, atrazina 2 µg L<sup>-1</sup>, pentaclorofenol 9 µg L<sup>-1</sup> e permetrina 20 µg L<sup>-1</sup>. Entretanto, na Europa os valores são bem mais restritos: 0,1 µg L<sup>-1</sup> para cada pesticida sendo que a soma de todos os pesticidas não deve ultrapassar 0,5 µg L<sup>-1</sup> (Balnova, 1996, Dean, 1998). A bifentrina não foi citada na Portaria do Ministério da Saúde e segundo a Organização Mundial da Saúde, o pesticida será monitorado para avaliação toxicológica até 2009 (WHO, 2004). A análise de pesticidas em matrizes aquosas geralmente ocorre em duas etapas: a extração e pré-concentração e a quantificação. As técnicas mais utilizadas como etapas de extração e pré-concentração são a extração líquido-líquido (LLE) e a extração em fase sólida

(SPE). A cromatografia a gás e a cromatografia a líquido de alto desempenho (HPLC) são as técnicas mais utilizadas na etapa de quantificação de amostras ambientais em matrizes aquosas (Balnova, 1996, Biziuk, 1996, Dean, 1998, Dean, 1996, Hoff, 1999, Tekel, 1996, Vreuls, 1999).

Neste trabalho utilizaram-se uma técnica de extração alternativa, a microextração em fase sólida (SPME) e a cromatografia a gás acoplada ao espectrômetro de massas, visando conseguir valores próximos aos limites recomendados.

A SPME (Alpendurada, 2000, Lord, 2000, Pawliszyn, 1997, Pawliszyn, 1995, Peñalver, 1999) difere das outras técnicas de extração para amostras aquosas, pelo menor tempo de análise e a não utilização de solventes, minimizando a geração de descartes e a exposição ocupacional. Em relação às outras, é uma técnica simples, rápida e de fácil manuseio, além da vantagem da utilização de pequena quantidade de amostra, podendo ser aplicada em diversas áreas tais como: farmacêutica (Krog, 1995, Moeder, 2000), ambiental (Aguilar, 1998, Barták, 1997, Beltran, 2000, Berrada, 2000, Bouaid, 2001, Dugay, 1998, Eisert, 1996, Eisert, 1994, Eisert, 1996, Frías, 2003, Krutz, 2003, Lambropoulou, 2000, Natangelo, 1999, Rogers, 1998), alimentícia (Fernández, 2001, Kataoka, 2000), aromas (Augusto, 2000), forense e toxicológica (Langenfeld, 1996, Pawliszyn, 1999, Wercinski, 1999). Entretanto, embora seja uma técnica versátil, as condições de extração devem ser otimizadas para cada tipo de amostra e analito. Neste caso os principais parâmetros a serem avaliados são: modo de extração (*headspace* ou imersão direta na amostra líquida); tipo de fibra; pH; velocidade de agitação; concentração iônica; temperatura e volume da amostra.

## **1.2. Microextração em fase sólida (SPME)**

### **1.2.1. Introdução**

A SPME é um processo que basicamente se divide em duas partes: na primeira ocorre a adsorção do analito de interesse na superfície de um fio de fibra de sílica fundida, e na segunda, ocorre a desorção desses analitos sob alta temperatura no injetor de um cromatógrafo a gás.

A SPME consiste em um fio de fibra de sílica fundida recoberto com uma camada polimérica adaptada a um suporte similar a uma seringa. Nessa

camada polimérica ocorre o fenômeno de adsorção e/ou absorção dos analitos presentes nas amostras que podem ser de diferentes matrizes (aquosas ou gasosas).

Na etapa de adsorção a fibra é exposta diretamente na amostra líquida ou gasosa. A amostra é armazenada em um *vial* com tampa contendo um septo de silicone/PTFE, então o dispositivo da SPME é introduzido furando o septo. A fibra é exposta na amostra empurrando-se o êmbolo para baixo e "travando-o" na metade da guia em "Z". Após o tempo de extração a fibra é retraída puxando o êmbolo para cima nesse suporte (*holder*), como forma de proteção até que seja exposta novamente na etapa de desorção. Um esquema do primeiro dispositivo comercial fabricado pela SUPELCO está representado na FIGURA 8.

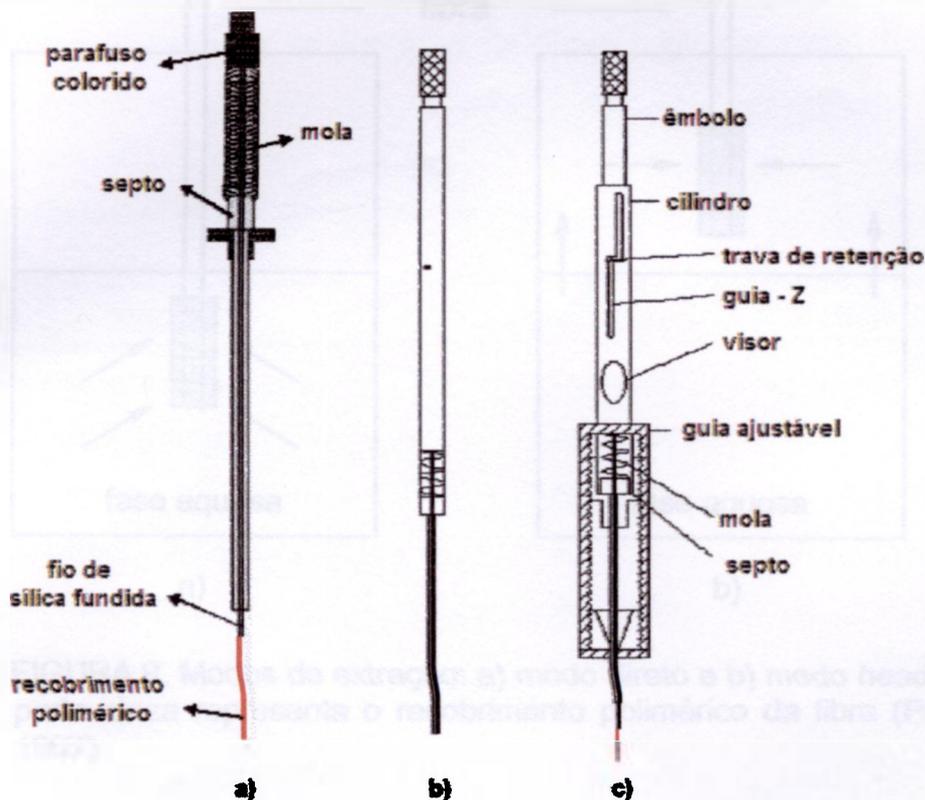


FIGURA 8. Fibra: a) esquema dos componentes da fibra (Wercinski, 1999); b) fibra rosqueada ao êmbolo; c) fibra adaptada ao holder

Quando a cromatografia a gás é utilizada para a separação e quantificação dos analitos, a etapa de desorção térmica é realizada no próprio injetor do cromatógrafo. A desorção no HPLC é realizada através de uma interface montada no lugar do *loop* de injeção onde o solvente carregará os

analitos até a coluna para a separação e seguinte quantificação (Pawliszyn, 1997, Pawliszyn, 1999, Wercinski, 1999).

Há dois tipos de amostragem, o modo direto, onde a fibra é exposta inserida diretamente na amostra líquida e o modo *headspace*, onde a fibra é inserida na fase gasosa da amostra. Um esquema representando os dois tipos de injeção são apresentados na FIGURA 9. As setas indicam a migração dos analitos da amostra para o recobrimento polimérico da fibra, no caso do *headspace* os analitos entram em equilíbrio com a fase gasosa antes de serem adsorvidos e/ou absorvidos no recobrimento polimérico da fibra.

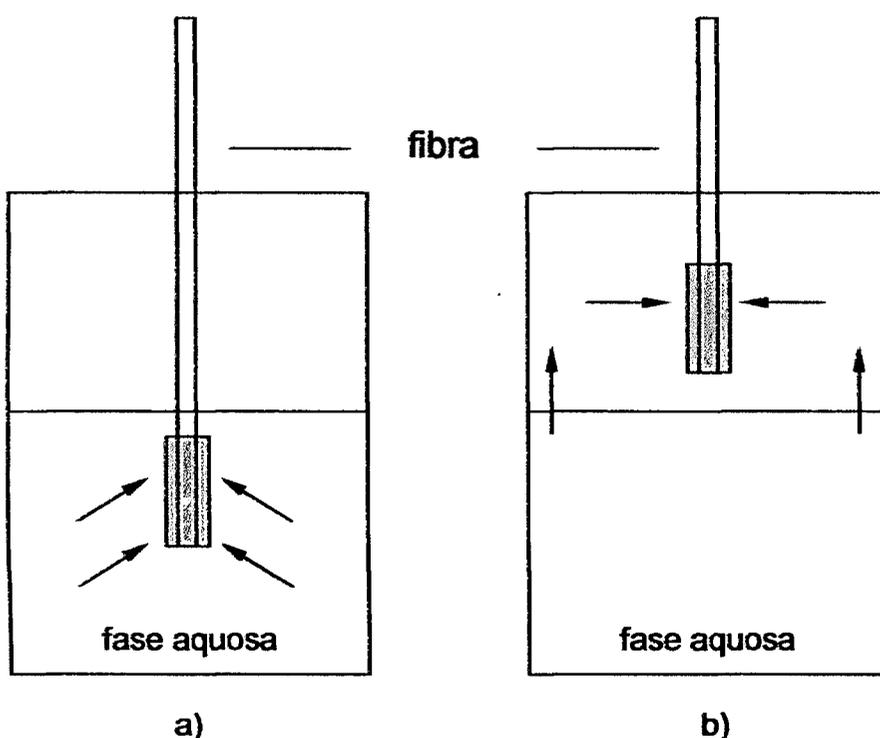


FIGURA 9. Modos de extração: a) modo direto e b) modo *headspace*; a parte cinza representa o recobrimento polimérico da fibra (Pawliszyn, 1997)

### 1.2.2. Recobrimentos poliméricos

Comercialmente existem fibras fabricadas com diferentes tipos de fases poliméricas. A identificação é visualizada pela coloração do parafuso que pode ser observada através do visor do dispositivo da SPME. As fibras agem por dois tipos de mecanismos – adsorção e absorção. As fibras adsorventes são constituídas de material poroso e possuem alta área superficial, têm capacidade de adsorção limitada e agem por meio de interação física através das forças de

Van der Walls. Já as fibras absorventes são constituídas por material que contém fase líquida formando um filme, possuem capacidade de absorção que depende da espessura do filme e a extração ocorre por meio de partição. Semelhante às colunas cromatográficas onde o princípio “semelhante dissolve semelhante” é aplicado, a fibra é escolhida baseada na seletividade para certos analitos de interesse e suas faixas de volatilidade. Assim sendo fibras apolares como a PDMS, retêm hidrocarbonetos muito bem, ao contrário das fibras polares como a PA e *Carbowax*, que extraem compostos polares como fenóis e ácidos carboxílicos. A afinidade da fibra é um ponto crucial para a extração, pois tanto a fibra como a matriz, irão competir pelos analitos. Citando como exemplo a extração de compostos polares de uma matriz aquosa, a fibra deve ter alta polaridade a fim de ter uma afinidade maior aos analitos do que a água. Na Tabela 2 são apresentadas alguns tipos de fibras comercializadas (Wercinski, 1999).

TABELA 2. Tipos de fibras comercializadas pela Supelco

Fibra	Mecanismo	Polaridade
Sílica fundida	Adsorção	-
PDMS – 7 $\mu\text{m}$	Absorção	Apolar
PDMS – 30 $\mu\text{m}$	Absorção	Apolar
PDMS – 100 $\mu\text{m}$	Absorção	Apolar
PA – 85 $\mu\text{m}$	Absorção	Polar
PDMS-DVB – 65 $\mu\text{m}$	Adsorção	Bipolar
CW-DVB – 65 $\mu\text{m}$	Adsorção	Polar
Carboxen-PDMS – 85 $\mu\text{m}$	Adsorção	Bipolar
DVB/Carboxen-PDMS – 55 $\mu\text{m}$ /30 $\mu\text{m}$	Adsorção	Bipolar
CW-TPR HPLC – 60 $\mu\text{m}$	Adsorção	Polar
PDMS-DVB HPLC – 50 $\mu\text{m}$	Adsorção	Bipolar

A forma pela qual o recobrimento é ligado à sílica fundida, na fibra, determina sua estabilidade. Existem recobrimentos ligados às fibras com três tipos de ligações: não ligadas quimicamente; ligadas quimicamente e com ligações cruzadas. As fibras com fases não ligadas são apenas filmes que

recobrem a fibra, são estabilizadas, mas não contém qualquer agente que faça ligações cruzadas entre si e com a fibra; essas fases não são muito resistentes a solventes, principalmente clorados, e tendem a inchar, porém podem resistir em alguns solventes polares como metanol e acetonitrila. Essas fases também possuem menor estabilidade térmica do que as fibras ligadas quimicamente.

As fibras com fases com ligações cruzadas possuem agentes que fazem ligações cruzadas entre si, contendo agentes ligantes como os grupos vinil. Essa é uma fase mais estável, porém o recobrimento ainda não está ligado à fibra de sílica fundida. São mais resistentes a solventes do que as fibras com fases não ligadas e possuem melhor estabilidade térmica. As fibras com fases ligadas contêm agentes que têm ligações cruzadas como as fibras de ligações cruzadas, porém a diferença é que as ligações estão cruzadas entre si e com a fibra de sílica fundida. Uma vez que o recobrimento está diretamente ligado com a fibra, elas são mais resistentes a maior parte dos solventes orgânicos e possuem boa estabilidade térmica, podendo até ser enxaguadas com solvente orgânico produzindo um inchamento mínimo (Wercinski, 1999).

### 1.2.3. Aspectos teóricos da SPME

Dependo do modo de extração empregando a SPME, podem existir três formas de equilíbrio formado entre as três fases: a) a fibra e a fase aquosa; b) o *headspace* e a fase aquosa e c) a fibra e a fase gasosa. O analito extraído pela fibra é o resultado desse equilíbrio entre as fases contidas dentro do *vial*.

Segundo Pawliszyn (Pawliszyn, 1997), no modo *headspace*, a quantidade de analito ( $\eta$ ), extraída no filme polimérico da fibra, pode ser expressa pela seguinte equação:

$$\eta = \frac{C_0 V_1 V_{liq} K}{KV_1 + k_2 V_{HS} + V_{liq}} \quad (\text{Equação 1})$$

onde:

$\eta$  = quantidade de analito no filme polimérico

$C_0$  = concentração inicial do analito na fase aquosa

$V_1$  = volume do filme polimérico

$V_{liq}$  = volume da fase aquosa

$V_{HS}$  = volume da fase gasosa

$$K = k_1 k_2$$

$k_1$  = coeficiente de partição do analito entre o filme polimérico e a fase gasosa

$k_2$  = coeficiente de partição do analito entre a fase gasosa e a fase aquosa

$$k_1 = C_1/C_3$$

$$k_2 = C_3/C_2$$

$C_1$  = concentração do analito no filme polimérico

$C_2$  = concentração do analito na fase aquosa

$C_3$  = concentração do analito na fase gasosa

$D_1$  = coeficiente de difusão do analito no filme polimérico

$D_2$  = coeficiente de difusão do analito na fase aquosa

$D_3$  = coeficiente de difusão do analito na fase gasosa

A concentração de analito no *headspace* ( $C_3$ ) depende de seu potencial químico ( $\mu$ ), que no estado de equilíbrio deve ser o mesmo em todas as fases. Desta forma, de acordo com a lei de Henry, tem-se a relação direta entre o potencial químico (que depende da pressão parcial do analito) e a sua concentração em cada uma das fases componentes do sistema conforme as equações, segundo Pawliszyn:

$$k_1 = C_1/C_3 = RT/K_F \text{ e } k_2 = C_3/C_2 = K_H/RT$$

onde:

$K_F$  = constante de Henry do analito no filme polimérico

$K_H$  = constante de Henry do analito na fase aquosa

$R$  = constante dos Gases

Quando  $k_2$  for relativamente pequeno e o volume do *headspace* for menor que o volume da fase aquosa ( $V_{HS} < V_{liq}$ ), a quantidade de analito extraída pelo filme polimérico ( $\eta$ ) causará pouca diminuição de sua concentração na fase gasosa ( $C_3$ ).

Quando o equilíbrio químico entre a fase gasosa e a aquosa é atingido e a SPME é inserida no *headspace* inicia-se o processo de extração pelo filme polimérico. Desconsiderando-se a composição química do filme polimérico a extração depende, principalmente, dos seguintes fatores:

- a) Coeficientes de difusão ( $D_1$ ,  $D_3$  e  $D_2$ ) entre cada fase, ocorrendo tanto na direção axial quanto na direção radial;

- b) Espessura do filme polimérico;
- c) Espessura da fase gasosa e
- d) Espessura da fase líquida

No caso do HD-SPME um parâmetro muito importante a ser avaliado é a relação  $V_{HS}/V_{liq}$ , onde com a utilização de pequenos  $V_{HS}$  (volume da fase gasosa) em conjunto com filmes poliméricos com maior espessura aumenta-se a quantidade de analito ( $\eta$ ) que pode ser extraída pela fibra.

No modo direto, a quantidade de analito ( $\eta$ ), no filme polimérico da fibra pode ser expressa pela seguinte equação:

$$\eta = \frac{C_0 V_1 V_{liq} K}{K V_1 + V_{liq}} \quad (\text{Equação 2})$$

Uma vez que não existe o volume do *headspace*, os parâmetros relacionados com os equilíbrios que envolvem a fase gasosa podem ser eliminados, na prática isso representa que o *vial* é totalmente preenchido pela amostra no modo direto de extração.

Tanto no modo *headspace* como no modo direto de extração, a dinâmica de extração segue a 2ª. Lei de Fick (Pawliszyn, 1997), com os perfis de extração variando com as condições hidrodinâmicas – utilizando ou não agitação. No modo direto a agitação afeta diretamente a extração.

A quantidade extraída pelo filme polimérico ( $\eta$ ), que recobre a fibra do sistema SPME, depende do coeficiente de partição ( $K$  nas equações 1 e 2) dos analitos entre o filme polimérico e a fase gasosa ou líquida, tanto no modo *headspace* quanto no modo direto.

O coeficiente de partição é um parâmetro intrínseco para cada tipo de filme polimérico e descreve aproximadamente o grau de seletividade para extração do analito, aumentando a sensibilidade em relação aos outros componentes da amostra. A capacidade de extração dos analitos depende da espessura do filme polimérico que afetará diretamente na sensibilidade da extração. Entretanto o aumento da espessura do filme (volume) acarretará no aumento do tempo de extração, pois o processo é controlado pelo coeficiente de difusão ( $D_1$ ) do analito no filme polimérico (Wercinski, 1999).

### 1.2.4. Otimização das condições de extração

A otimização do processo de microextração em fase sólida, além de incluir a escolha do tipo de recobrimento e a espessura de filme mais adequada, depende do ajuste das condições experimentais que afetam o transporte de massa durante o processo de microextração.

Dentre os parâmetros mais significativos que aumentam a sensibilidade da SPME estão: temperatura, tipos de agitação (ultra-som ou magnética), velocidade de agitação ou potência de sonicação, volume de amostra, concentração salina (efeito "*salting out*"), pH do meio (no caso de espécies ionizáveis) e tempo de extração. O controle desses parâmetros é extremamente importante para que o processo de SPME possa ser repetitivo garantindo assim a aplicação prática (Pawliszyn, 1997).

Embora a microextração em fase sólida seja um processo fundamentado no equilíbrio entre fases, não é preciso obter a extração exaustiva dos analitos, a extração pode ser empregada sem que o estado de equilíbrio tenha sido alcançado, bastando para tanto padronizar as condições experimentais.

### 1.3. Separação e análise

As técnicas comuns mais utilizadas para separação de um analito de outros compostos, em amostras ambientais, são a cromatografia a gás (GC) (Dean, 1998, Dean, 1996, Hoff, 1999) e a cromatografia a líquido de alto desempenho (HPLC) (Balinova, 1996, Biziuk, 1996, Dean, 1998, Hogendoorn, 2000, Tomlin, 1994).

A determinação quantitativa ou qualitativa ocorre através de detectores específicos: FID, ECD, NPD, FPD e MS utilizados acoplados ao GC e UV e FD acoplados ao HPLC (Dean, 1998, Tadeo, 2000, Tekel, 1996).

#### 1.3.1. Cromatografia a gás

A técnica de cromatografia se baseia na separação da amostra por partição entre duas fases. As fases são denominadas, móvel e estacionária. A fase móvel percola através da fase estacionária que possui grande área superficial. A diferença entre as duas técnicas basicamente está na partição da

amostra, na cromatografia a gás o analito é particionado entre uma fase móvel, constituída por um gás, e a fase estacionária que pode ser sólida ou líquida. Na cromatografia a líquido, o analito é particionado entre uma fase móvel constituída por um líquido e a fase estacionária que pode ser sólida ou líquida. O princípio é o mesmo para as duas técnicas: o analito é separado pela afinidade relativa com a fase estacionária - quanto maior a afinidade mais os analitos são retidos pela fase estacionária.

Tanto para a cromatografia a gás como para a cromatografia a líquido, para realizar as análises é preciso um sistema que realize a detecção do analito desejado. Entre os detectores utilizados em cromatografia a líquido, o UV é o mais utilizado, medindo as variações na absorbância da luz na região de 190 a 350 nm. Já os detectores FD medem as mudanças de fluorescência em comprimentos de onda selecionados (Ciola, 1998).

Dentre os detectores utilizados em cromatografia a gás existem os detectores seletivos (ECD, NPD e FPD), que possuem alta sensibilidade a determinados elementos e os detectores universais (FID e MS) que podem ser, a princípio, utilizados para qualquer composto.

Embora o detector ECD seja o mais recomendado para análise de pentaclorofenol e o NPD, o mais recomendado para a análise dos herbicidas simazina e atrazina, neste trabalho foi utilizada a cromatografia a gás acoplada ao espectrômetro de massas.

### **1.3.2. Espectrometria de massas**

A espectrometria de massas baseia-se no fato de que um grupo característico de íons de diferentes massa/carga ( $m/z$ ), é formado quando uma molécula é ionizada sob vácuo. Obtém-se então um espectro de massas através da separação desses íons sendo registrada num gráfico, com a abundância relativa *versus* a  $m/z$ . Um espectrômetro de massas tem os seguintes componentes: uma fonte de íons, um analisador de íons, um detector e um sistema de vácuo.

Após o processo de separação realizado pela coluna cromatográfica do GC, as moléculas da amostra são ionizadas na câmara de ionização, onde são separadas no quadrupolo, pelos diferentes tipos de massa/carga interagindo com

os campos elétricos do espectrômetro de massas. Entre os tipos de ionização os mais utilizados são a Ionização por Impacto de Elétrons (EI) e a Ionização Química (CI).

Na técnica mais comum, ionização por impacto de elétrons, as moléculas são bombardeadas com elétrons emitidos por um filamento de Rênio através da câmara de ionização; um íon é formado sendo que os elétrons interagem com as moléculas do gás de arraste do cromatógrafo (He), formando uma energia capaz de levar a molécula a um estado excitado com quantidade suficiente de energia, que resulta em fragmentos eletricamente carregados.

Os fragmentos formados, de carga positiva, são levados por campos elétricos da fonte de íons até os analisadores de massa, sendo o quadrupolo mais utilizado. Os íons são separados de acordo com sua massa/carga, passando no centro das quatro barras cilíndricas paralelas no qual é aplicada uma voltagem.

Cada íon normalmente carrega somente uma carga elétrica. Os níveis geralmente são em torno de  $10^{-11}$  a  $10^{-10}$  A, então os íons formados são levados a uma eletromultiplicadora. Após a eletromultiplicadora, os íons passam por um amplificador eletrônico ou eletrômetro. Todo o sistema é mantido a vácuo, em torno de  $1,3 \times 10^{-3}$  Pa ( $10^{-5}$  torr), para garantir a *performance* e um alto vácuo.

O espectrômetro de massas foi escolhido por ser um detector universal, podendo ser utilizado tanto no modo qualitativo utilizando o *full-scan*, obtendo-se assim o cromatograma do íon total (TIC);<sup>4</sup> como para quantificar os fragmentos escolhidos pela relação *m/z* (massa/carga), obtidos no cromatograma no modo SIM (*selected ion monitoring*) (Karasek, 1998, Message, 1984).

A técnica de GC/MS é uma ferramenta muito importante na análise de elementos em níveis traços, chegando a limites de detecção em níveis de picogramas ( $10^{-12}$  g), servindo perfeitamente como técnica de separação e análise com a utilização da SPME, que é uma técnica de extração rápida e fácil e tem a principal vantagem de não utilizar solventes na extração, sendo favorável seu acoplamento a espectrometria de massas, diminuindo as interferências dos solventes.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivos Gerais**

Desenvolver método analítico multiresíduo para determinação dos pesticidas trifluralina, simazina, atrazina, pentaclorofenol, bifentrina e permetrina pertencentes às diferentes classes como: *dinitroanilinas*; *triazinas*; *piretróides* e *organoclorados*, utilizando microextração em fase sólida (SPME) e cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (GC/MS).

### **2.2. Objetivos Específicos**

Otimizar as condições de extração da SPME, avaliando parâmetros como: escolha da fibra, modo de extração, tempo de extração, velocidade de extração, efeito da concentração salina, efeito do pH e avaliar o efeito *carryover*, aplicando o método proposto em amostras de água natural.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1. Reagentes e Solventes

Os padrões analíticos foram obtidos do *Institute of Organic Industrial Chemistry*: trifluralina se apresenta na forma sólida de coloração amarela com 99,5% de pureza; simazina, sólido branco com 99,2% de pureza; atrazina, sólido branco com 98,7% de pureza; e bifentrina, sólido branco com 99,5% de pureza; o padrão de pentaclorofenol obtido da Supelco se apresenta na forma sólida de coloração branca com 99,6%; a *cis*-permetrina obtida do *Laboratory of the Government Chemist* se apresenta na forma de um sólido branco e a *trans*-permetrina foi adquirida da *Riedel-de-Häen* em solução de cicloexano, a 10,1 mg L<sup>-1</sup>. Soluções estoque na concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup> foram preparadas dissolvendo-se os padrões em acetonitrila (grau HPLC, *J. T. Baker*) em balões volumétricos de 5mL sendo armazenadas a 4° C. Essas soluções foram utilizadas para preparar soluções padrão diluídas e para o *spike* em água. A água deionizada foi obtida por um sistema Milli-Q (*Barnstead*). O sulfato de sódio (anidro, P.A.), tratado a 600° C durante 12 horas em mufla, hidróxido de sódio (pastilhas, P.A.) e ácido clorídrico (37%) foram adquiridos da *Merck*.

Devido à alta sensibilidade da técnica SPME-GC/MS, o trabalho exigiu um procedimento rígido de limpeza de vidrarias e seringas. A lavagem das vidrarias e dos *vials* foi efetuada utilizando solução sulfocrômica, devidamente encaminhada para um laboratório de tratamento.

Além desse procedimento foi necessário efetuar as lavagens semanalmente, para evitar as contaminações que apareceram no ambiente e proveniente dos próprios padrões estudados.

Apesar do uso constante de capelas, as vidrarias eram armazenadas submersas em metanol em frasco fechado, no caso dos *vials* e os balões volumétricos foram secos com N<sub>2</sub> (g) e guardados fechados para evitar as contaminações presentes no próprio ar do ambiente do laboratório.

As micro-seringas foram lavadas, com solução de ácido fórmico em água deionizada a 10% com auxílio de ultra-som e secadas com N<sub>2</sub> (g), a cada preparo de novas soluções padrão e soluções intermediárias para o estudo da otimização das condições de extração, construção de curvas analíticas, no estudo de recuperação e aplicação do método em amostras.

### 3.2. Otimização das condições cromatográficas

A determinação dos pesticidas foi realizada em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas (GC/MS), Shimadzu – modelo GCMS-QP5000 equipado com injetor tipo “*split/splitless*”. A aquisição dos dados, efetuada através do *software Class – 5000*, versão 2.10. No cromatógrafo utilizou-se coluna capilar de sílica fundida com fase estacionária de (5% fenil)-metilpolisiloxano - DB-5MS com 30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno x 0,25 µm de espessura do filme (*J&W Scientific*), e como gás de arraste, Hélio ultra-puro (99,999%).

O espectrômetro de massas com fonte de ionização por impacto de elétrons (EI – 70 eV) e analisador de massas – quadrupolo, foi operado nos modos *scan* e SIM (*selected ion monitoring*).

#### 3.2.1. Ajuste das condições cromatográficas

Para otimizar as condições do cromatógrafo a gás e do espectrômetro de massas preparou-se uma solução mista com todos os padrões em acetonitrila com concentração de 25 mg L<sup>-1</sup>, denominada de solução *mix 25 mg L<sup>-1</sup>*, onde injetou-se 1 µL desta solução no modo *scan*.

Foram efetuados 19 experimentos, com a injeção de uma mistura dos pesticidas na concentração de 25 mg L<sup>-1</sup>, onde foram avaliadas diferentes condições de temperatura, de rampa, fluxo, temperatura de injetor, temperatura de interface e tempo de corrida.

#### 3.2.2. Ajuste das condições do espectrômetro de massas

Para o ajuste das condições do espectrômetro de massas foram efetuados 12 experimentos, com a injeção, de 1 µL, de uma mistura dos pesticidas na concentração de 25 mg L<sup>-1</sup>, onde foram avaliados diferentes condições de tensão da eletromultiplicadora e tempos de scan.

Para o estudo no modo SIM, os fragmentos de massa utilizados em cada método estão relacionados na Tabela 3, apresentada a seguir.

TABELA 3. Fragmentos de massa utilizados para quantificação no modo SIM

<b>Analito</b>	<b>Massas selecionadas (<i>m/z</i>)</b>
Trifluralina	306* - 264 – 307
Simazina	201* - 203 – 186
Atrazina	200* - 215 – 217
Pentaclorofenol	266* - 264 – 268
Bifentrina	181* - 182 – 165
<i>cis</i> -Permetrina	183* - 184 – 163
<i>trans</i> -Permetrina	183* - 184 - 163

\* fragmentos utilizados para quantificação; demais utilizados para confirmação

### 3.3. SPME

#### 3.3.1. Procedimento

As soluções foram preparadas a partir da adição de alíquotas de soluções com concentrações conhecidas dos pesticidas em água deionizada, onde o pH foi ajustado para 3,00 com ácido clorídrico 5 mol L<sup>-1</sup> e hidróxido de sódio 5 mol L<sup>-1</sup> e a concentração iônica foi ajustada com solução de sulfato de sódio a 20% (m/v). Foi utilizado um volume de 4.500 µL de água deionizada em vial âmbar de 4 mL (com capacidade de 4,7 mL), com agitação constante de 900 rpm, fechado com um septo de silicone/PTFE. A fibra, previamente condicionada no injetor do cromatógrafo, foi exposta na fase aquosa por 30 minutos a temperatura ambiente (~25° C) onde ocorreu a adsorção dos analitos na fibra. Após a extração a fibra foi inserida diretamente no injetor do cromatógrafo onde ocorreu a desorção dos analitos a 260° C, durante 5 minutos.

#### 3.3.2. Fibras utilizadas

Foram utilizados quatro tipos de fibra, com diferentes recobrimentos poliméricos: PDMS, (polidimetilsiloxano), CAR/PDMS (*carboxen*/polidimetilsiloxano), CW/DVB, (*carbowax*/divinilbenzeno) e PA (poliacrilato), todas da Supelco. As descrições das fibras estão na Tabela 4. Antes do uso, as fibras foram condicionadas no injetor do cromatógrafo de acordo com tempo e

temperatura recomendados pelo fabricante. O condicionamento foi realizado, com a válvula de *split* aberta, para reduzir contaminação da coluna com o sangramento da fibra e para remover contaminantes que possam causar ruídos na linha base ou a ocorrência de artefatos.

TABELA 4. Descrição das fibras utilizadas no trabalho

Tipo de recobrimento da fibra	Estabilidade do recobrimento	Temperatura máxima (°C)	Temperatura de condicionamento (°C)	Polaridade
PDMS 100µm	Não ligada	280	250	Apolar
CAR/PDMS 75µm	Ligações cruzadas	340	280	Bipolar
CW/DVB 65µm	Ligações cruzadas	260	250	Polar
PA 85µm	Ligações cruzadas	320	300	Polar

### 3.3.3. Otimização das condições de extração

Para serem obtidas as melhores condições de extração, que afetam diretamente na sensibilidade do método, foram avaliados os seguintes parâmetros: tipo de fibra, modo de extração, tempo de extração, agitação, efeito da concentração salina e efeito do pH.

#### 3.3.3.1. Escolha do tipo de fibra e modo de extração

Para a escolha do melhor tipo de fibra foram efetuados ensaios no modo *scan*, com as fibras PDMS, CAR/PDMS, CW/DVB e PA em soluções onde foi adicionado uma quantidade conhecida dos pesticidas em água deionizada.

Foram realizadas extrações no modo direto e no modo *headspace* utilizando as quatro fibras, em soluções com o *spike* dos pesticidas, sob agitação constante (aproximadamente 900 rpm), temperatura ambiente e tempo de extração de 15 minutos. No modo direto, a fibra foi inserida na fase líquida da amostra (4 mL), próximo à parede do *vial* para evitar a região central onde é

formado um vórtice devido à agitação. Para o modo *headspace* o volume foi reduzido à metade e a fibra foi inserida na fase gasosa da amostra, na região central do *vial*.

### **3.3.3.2. Tempo de extração**

Uma vez definidos o tipo de fibra e o modo de extração, determinou-se o tempo de extração entre os analitos na fase aquosa e a fibra. Para este estudo foi utilizada uma solução aquosa contendo os pesticidas em água deionizada, extraídos com tempos entre 5 e 90 minutos, sob agitação constante.

### **3.3.3.3. Velocidade de agitação**

A quantidade de analito extraído depende da velocidade no qual o processo de SPME alcança o equilíbrio através da razão de transferência de massa da fase aquosa para a fibra. Usualmente essa transferência de massa pode ser melhorada através da agitação (Lambropoulou, 2000). A extração torna-se eficiente utilizando-se a agitação e é utilizada para facilitar o transporte de massa entre a fase aquosa e a fibra (Pawliszyn, 1997). A melhor velocidade de agitação foi determinada utilizando uma solução aquosa dos pesticidas analisados em água deionizada com a fibra de PA, imersão direta na fase líquida da amostra por 30 minutos, com velocidade de agitação entre 150 e 900 rpm.

### **3.3.3.4. Efeito da concentração salina**

A sensibilidade do método de extração freqüentemente aumenta na presença de sal na solução; aumentando a concentração iônica da fase aquosa, os analitos são conduzidos da solução para a fibra devido ao efeito *salting out*. Para a determinação da concentração salina ideal utilizaram-se concentrações de 0%, 1%, 5%, 10%, 15% e 20% de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  em solução aquosa dos pesticidas em água deionizada, sob agitação constante e extração com fibra de PA, durante 30 minutos no modo direto.

### 3.3.3.5. Efeito do pH

Para compostos com grupamentos ácidos ou básicos, o método de extração para amostras aquosas no modo direto pode ser um fator complicador devido à alta afinidade do analito com a matriz. Para avaliar essa situação estudou-se a influência do pH da matriz (Pawliszyn, 1997) no processo de SPME.

A determinação do pH ideal foi realizada utilizando pH de 2 a 7 em solução aquosa dos pesticidas em água deionizada, utilizando a fibra de PA (85  $\mu\text{m}$ ), durante 30 minutos no modo direto, com 900 rpm de agitação em temperatura ambiente.

### 3.3.4. Curvas analíticas e limite de detecção

Com o método analítico definido, foram injetadas diferentes faixas de concentrações divididas entre os níveis 1 a 6 (N1 SPME a N6 SPME), para os pesticidas estudados e determinados os limites de detecção (Karasek, 1998) para os compostos.

O procedimento utilizando a SPME foi efetuado em triplicata para as curvas analíticas e para a determinação dos limites de detecção.

As concentrações utilizadas para a construção das curvas analíticas são apresentadas na Tabela 5.

TABELA 5. Concentrações utilizadas nas curvas analíticas

Compostos	Concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$					
	N1 SPME	N2 SPME	N3 SPME	N4 SPME	N5 SPME	N6 SPME
<b>Trifluralina</b>	0,17	0,34	0,69	1,38	2,87	5,16
<b>Simazina</b>	0,30	0,60	1,20	2,40	5,00	9,00
<b>Atrazina</b>	0,29	0,59	1,17	2,35	4,89	8,80
<b>Pentaclorofenol</b>	0,13	0,25	0,51	1,01	2,11	3,80
<b>Bifentrina</b>	0,12	0,25	0,49	0,98	2,04	3,68
<b>cis-Permetrina</b>	0,12	0,25	0,49	0,98	2,04	3,68
<b>trans-Permetrina</b>	0,13	0,27	0,54	1,08	2,24	4,04

### 3.3.5. Efeito *carryover*

Na técnica de SPME, uma quantidade significativa dos analitos freqüentemente permanece adsorvida na fibra mesmo após a desorção no injetor do cromatógrafo a gás. Esse problema torna-se mais grave ao efetuarem-se análises de compostos de baixa volatilidade ou compostos com alta afinidade pela fibra (Pawliszyn, 1997).

Para este estudo foram utilizados pontos intermediários da curva de referência, os níveis 3 e 5 (N3 SPME e N5 SPME). A extração foi efetuada com a metodologia otimizada, sendo que a desorção total foi avaliada por meio de injeções seqüenciais e consecutivas para uma única etapa de extração. Essas injeções, chamadas de *carryover*, indicam a porcentagem de massa ainda adsorvida na fibra, representada pela área obtida pelo cromatograma. O efeito *carryover* representa a desorção incompleta da fibra e também é conhecido como “efeito memória” (Wercinski, 1999).

### 3.3.6. Recuperação do método

Foram utilizados três níveis de concentração para o estudo de recuperação do método analítico proposto. O nível 1 (N1 recuperação) representa o dobro da concentração do limite de detecção para a trifluralina e simazina, para a atrazina representa uma vez e meia o LD, para a bifentrina, *cis*-permetrina, *trans*-permetrina e o pentaclorofenol são os próprios valores do LD. O nível 2 (N2 recuperação) é exatamente o triplo do valor do N1 recuperação e o nível 3 (N3 recuperação), representa um aumento de nove vezes o nível 1, os níveis são apresentados na Tabela 11. O estudo foi realizado injetando-se a amostra cinco vezes em dias diferentes.

### 3.3.7. Aplicação em amostras

O método foi aplicado em uma amostra de água bruta coletada no município de Cananéia, no Rio Itapitanguí, classificada como corpo d'água de Classe 2 e realizou-se também *spike* dos pesticidas estudados nessa amostra.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Otimização das condições cromatográficas

#### 4.1.1. Ajuste das condições cromatográficas

Foram efetuados 19 experimentos, com a injeção da mistura dos padrões, onde avaliaram-se diferentes condições de temperatura, rampa, temperatura do injetor, temperatura da interface, fluxo e tempo de corrida; os resultados são apresentados na Tabela 6.

TABELA 6. Condições cromatográficas utilizadas

Experimento	$t_1$ (°C)	$r_1$ (°C/min)	$t_2$ (°C)	$r_2$ (°C/min)	$t_3$ (°C)	Injetor (°C)	Interface (°C)	Fluxo (mL/min)	Tempo de corrida (min)
1	40	40	70	30	310	250	240	1	15,25
2	40	40	110	30	310	250	240	1	14,92
3	40	40	150	30	310	250	240	1	14,58
4	40	40	70	40	310	250	240	1	13,25
5	40	40	70	20	310	250	240	1	31,25
6	40	40	70	10	310	250	240	1	31,25
7	40	40	70	5	310	250	240	1	55,25
8	40	40	70	10	275	250	240	1	27,75
9	40	40	70	10	295	250	240	1	29,75
10	40	40	70	10	325	250	240	1	32,75
11	40	40	70	10	325	190	240	1	32,75
12	40	40	70	10	325	310	240	1	32,75
13	40	40	70	10	325	250	200	1	32,75
14	40	40	70	10	325	250	280	1	32,75
15	40	40	70	10	325	250	320	1	32,75
16	40	40	70	10	325	250	320	0,8	32,75
17	40	40	70	10	325	250	320	1,2	32,75
18	40	40	70	10	325	250	320	2	32,75
19	40	40	70	10	325	250	320	1	32,75

Tensão do detector = 1,6 kV;

Scan = 0,5 s;

Range = 45 – 450;

Threshold = 1000;

Split = 1:30;

Volume de injeção = 1  $\mu$ L;

Padrão injetado = mix 25 mg L<sup>-1</sup>

Os critérios para a escolha das melhores condições, para o cromatógrafo a gás como para o espectrômetro de massas, foram o estudo da resolução de picos, que se apresentaram muito próximos devido às co-eluições, dos compostos simazina, atrazina, *cis*-permetrina e *trans*-permetrina; e a avaliação da intensidade dos picos, que apresentaram menor sensibilidade para a trifluralina e simazina através das áreas dos mesmos.

Na Tabela 7 apresenta-se os valores calculados para a resolução (Karasek, 1998) dos compostos simazina/atrazina e *cis*-permetrina/*trans*-permetrina e as áreas dos picos dos compostos trifluralina e simazina estudados para avaliar as condições do cromatógrafo a gás.

TABELA 7. Resolução dos compostos simazina/atrazina e *cis*-permetrina/*trans*-permetrina, áreas dos picos dos compostos trifluralina e simazina e tempo total de análise.

Compostos	SMZ/ATZ	<i>cis/trans</i> - PER	TFL	SMZ	Tempo
Experimentos	resolução		Áreas		corrida (min)
1	co-eluição	0,976	674.576	co-eluição	15,25
2	co-eluição	0,947	736.939	co-eluição	14,92
3	co-eluição	1,008	745.424	co-eluição	14,58
4	co-eluição	0,960	279.881	co-eluição	13,25
5	0,552	1,128	823.135	1.306.267	31,25
6	0,962	1,034	665.527	1.066.541	31,25
7	1,349	2,302	634.033	1.157.040	55,25
8	0,967	1,326	574.211	1.087.424	27,75
9	1,040	0,833	976.257	1.570.288	29,75
10	1,029	1,298	703.549	1.319.597	32,75
11	0,979	1,281	299.674	567.481	32,75
12	0,953	1,260	350.874	808.961	32,75
13	0,937	1,320	238.365	476.969	32,75
14	0,958	1,267	616.957	1.003.690	32,75
15	0,995	1,183	1.194.235	1.644.426	32,75
16	0,890	1,200	404.105	917.235	32,75
17	1,074	1,292	555.978	1.287.470	32,75
18	co-eluição	1,250	1.167.671	2.273.388	32,75
19	1,005	1,230	1.258.974	1.725.245	32,75

O método consiste em 3 temperaturas com duas rampas. A temperatura 1 foi fixada em 40° C.

Para a escolha da temperatura 2 foram comparados os experimentos 1 a 3; embora a resolução dos picos de simazina e atrazina e a área da trifluralina representados no experimento 3, tenham apresentado um valor maior do que o experimento 1, o mesmo foi escolhido por apresentar melhor separação dos picos de *cis*-permetrina e *trans*-permetrina, visto que os componentes simazina e atrazina sofreram co-eluição.

Para escolha do melhor valor para a rampa 2, foram comparados os valores dos experimentos 1 e de 3 a 7. Apesar do experimento 7 ter apresentado os maiores valores de resolução tanto para simazina/atrazina como para *cis/trans*-permetrina, o tempo total de corrida apresentou-se muito extenso portanto o experimento 6 foi escolhido como o melhor.

Em relação aos experimentos 8 a 10, verificou-se que o primeiro apresentou o maior valor de resolução para *cis/trans*-permetrina, mas também menor valor de área para a trifluralina. Observou-se também que o experimento 9 apresentou o maior valor de área para a trifluralina, porém, como as resoluções da simazina/atrazina nos experimentos 9 e 10 apresentaram valores próximos e no experimento 10 o valor de resolução da *cis/trans*-permetrina foi maior, optou-se pela escolha do experimento 10.

Para a avaliação da melhor temperatura do injetor foram comparados os resultados das injeções dos experimentos 10 a 12. O experimento 10 foi novamente escolhido por apresentar os maiores valores de resolução para simazina/atrazina e *cis/trans*-permetrina assim como as maiores áreas para trifluralina e simazina.

Os experimentos 13 a 15 foram efetuados para avaliar a melhor temperatura da interface. O experimento 15 foi o que apresentou os melhores valores de área para trifluralina e simazina e maior valor de resolução para a simazina/atrazina.

A avaliação da influência do fluxo da coluna foi realizada através dos experimentos 15 a 18. O experimento 15 foi o que apresentou melhores resultados com maiores valores de área para trifluralina e simazina, uma vez que a área maior da simazina apresentada no experimento 18 se deve ao fato de existir uma co-eluição da simazina com a atrazina. Também foi observado que os

valores de resolução da simazina/atrazina e *cis/trans*-permetrina são maiores no experimento 17, entretanto a área da trifluralina é praticamente a metade do valor de área da trifluralina no experimento 15.

Efetuuou-se então um novo experimento, de número 19, com todos os parâmetros definidos anteriormente. Comparou-se este novo experimento com o experimento 10 onde a única diferença foi a temperatura da interface. Observou-se que apesar do valor de área da trifluralina no experimento 19 ser quase o dobro do valor apresentado no experimento 10, este apresentou melhor valor de área para a simazina e maiores valores de resolução para simazina/atrazina e *cis/trans*-permetrina.

Fixadas as condições para o cromatógrafo a gás, foram estudados diferentes tensões e tempos de *scan* para avaliar o melhor método de análise a ser utilizado para os compostos estudados.

#### **4.1.2. Ajuste das condições do espectrômetro de massas**

Para o ajuste das condições do espectrômetro de massas efetuaram-se 12 experimentos, mostrados na Tabela 8, nos quais foram avaliadas diferentes condições de tensão do detector e tempos de *scan*.

Na Tabela 9 são apresentados os valores das áreas dos picos dos compostos trifluralina e simazina estudados utilizando diferentes valores de tensão e tempo de *scan* para avaliar as condições do espectrômetro de massas.

Foram testados os valores de tensão 1,3; 1,6 e 1,9 kV e os tempos de *scan* 0,1; 0,5 e 1,0 s. De acordo com os resultados das áreas da trifluralina, listados na Tabela 9, observa-se que as áreas aumentam de acordo com o aumento de tensão do detector, caracterizando um aumento na sensibilidade do equipamento.

Apesar da tensão do detector mais elevada, 1,9 kV, apresentar maior sensibilidade os cromatogramas obtidos mostram uma elevação na linha base.

Em relação aos tempos de *scan*, observou-se que diminuindo o tempo há um aumento no sinal/ruído na linha base. Ao contrário, a sensibilidade diminui com o aumento do tempo de *scan*, e a linha base torna-se mais retilínea.

TABELA 8. Condições utilizadas no espectrômetro de massas

Experimento	t <sub>1</sub> (°C)	r <sub>1</sub> (°C/min)	t <sub>2</sub> (°C)	r <sub>2</sub> (°C/min)	t <sub>3</sub> (°C)	Injetor (°C)	Interface (°C)	Tensão (kV)	scan (s)
1	40	40	70	10	325	250	240	1,3	0,1
2	40	40	70	10	325	250	240	1,3	0,5
3	40	40	70	10	325	250	240	1,3	1
4	40	40	70	10	325	250	240	1,6	0,1
5	40	40	70	10	325	250	240	1,6	0,5
6	40	40	70	10	325	250	240	1,6	1
7	40	40	70	10	325	250	240	1,9	0,1
8	40	40	70	10	325	250	240	1,9	0,5
9	40	40	70	10	325	250	240	1,9	1
10	40	40	70	10	325	250	240	1,6	0,5
11	40	40	70	10	325	250	240	1,6	0,5
12	40	40	70	10	325	250	240	1,6	0,5

Range = 45 – 450; exceto experimento 11 = 30 – 450; experimento 12 = 42 – 450;

Split = 1:30;

Fluxo = 1 mL min<sup>-1</sup>;

Volume de injeção = 1 µL;

Padrão injetado = mix 25 mg L<sup>-1</sup>;

Threshold = 1000; exceto experimento 10 = 500;

Tempo de corrida = 32,75 min

Comparando-se os experimentos 1 a 9 verifica-se que onde foi utilizada a tensão de 1,3 kV os valores de área obtidos foram muito baixos para a trifluralina e simazina, ao contrário dos experimentos onde a tensão 1,9 kV foi utilizada, que apresentaram valores altos com um aumento na linha base, sendo portanto, descartados. Também foram descartados os experimentos com tempo de scan de 0,1 e 1,0 s, pelo aumento de ruído de fundo e perda de sensibilidade, respectivamente, optando-se pelo tempo intermediário de 0,5 s.

O experimento 5 foi repetido variando-se outras condições. No experimento 10 diminui-se o valor de *threshold* de 1000 para 500, que resultou em um valor de área menor para a simazina, sendo aproximadamente a metade da área do experimento 5. No experimento 11 o valor de *threshold* foi retomado para 1000 e aumentou-se o *range* de massa para 30-450 m/z.

TABELA 9. Áreas dos picos dos compostos trifluralina e simazina e tensão do detector

Experimentos	TFL áreas	SMZ	scan (s)	Tensão do Detector (kV)
1	27.998	99.798	0,1	
2	22.145	89.532	0,5	1,3
3	25.060	110.960	1,0	
4	928.774	1.699.343	0,1	
5	510.767	1.154.129	0,5	1,6
6	277.287	703.441	1,0	
7	3.204.473	5.605.855	0,1	
8	2.215.439	3.413.690	0,5	1,9
9	2.453.155	3.908.946	1,0	
10	622.043	791.139	0,5	
11	1.276.187	1.891.720	0,5	1,6
12	448.523	1.048.290	0,5	

Finalmente a melhor condição foi estabelecida no experimento 12, com o valor do *threshold* de 1000 e o *range* de 42-450 m/z, uma vez que com um *range* maior, os espectros continham fragmentos do solvente (acetonitrila), os quais não são interessantes ao método.

De acordo com o estudo realizado utilizando diferentes condições de análise, os melhores resultados em relação à separação dos componentes foi o experimento 19 para as variáveis cromatográficas e o experimento 12, para o desempenho do espectrômetro de massas.

Otimizadas as condições de análise, o experimento 12 foi escolhido como o melhor método e a partir deste, foi desenvolvido o método cromatográfico para separação dos componentes e para a determinação das faixas lineares dos compostos estudados.

### 4.1.3. Condições otimizadas para o GC/MS

As determinações foram efetuadas utilizando-se um GC-MS com injetor tipo *split/splitless* a 260° C. A temperatura da interface foi de 240° C e foi utilizado hélio como gás de arraste com fluxo de 0,8 mL min<sup>-1</sup>. O tempo de *splitless* foi de 5 minutos. O forno foi utilizado na temperatura inicial de 40° C, durante 5 minutos, programado para 70° C em uma razão de 40° C/min e de 70° C a 325° C na razão de 10° C/min, mantendo a temperatura de 325° C por 5 minutos.

A aquisição do sinal foi efetuada tanto nos modos *full scan* e SIM empregando-se impacto eletrônico. A tensão da eletromultiplicadora empregada no modo *full scan* foi de 1,6 kV e de 2,50 kV no modo SIM.

## 4.2. SPME

### 4.2.1. Otimização das condições de extração

#### 4.2.1.1. Escolha do tipo de fibra e modo de extração

Na FIGURA 10 são apresentados os comportamentos dos diferentes tipos de fibra, com as extrações no modo direto e no modo *headspace* em relação à área dos analitos estudados.

A fibra que apresentou o melhor desempenho foi a de PA, 85 µm, no modo direto, onde foram obtidas as melhores respostas para pentaclorofenol e atrazina, além de boas respostas para bifentrina e *cis*-permetrina.

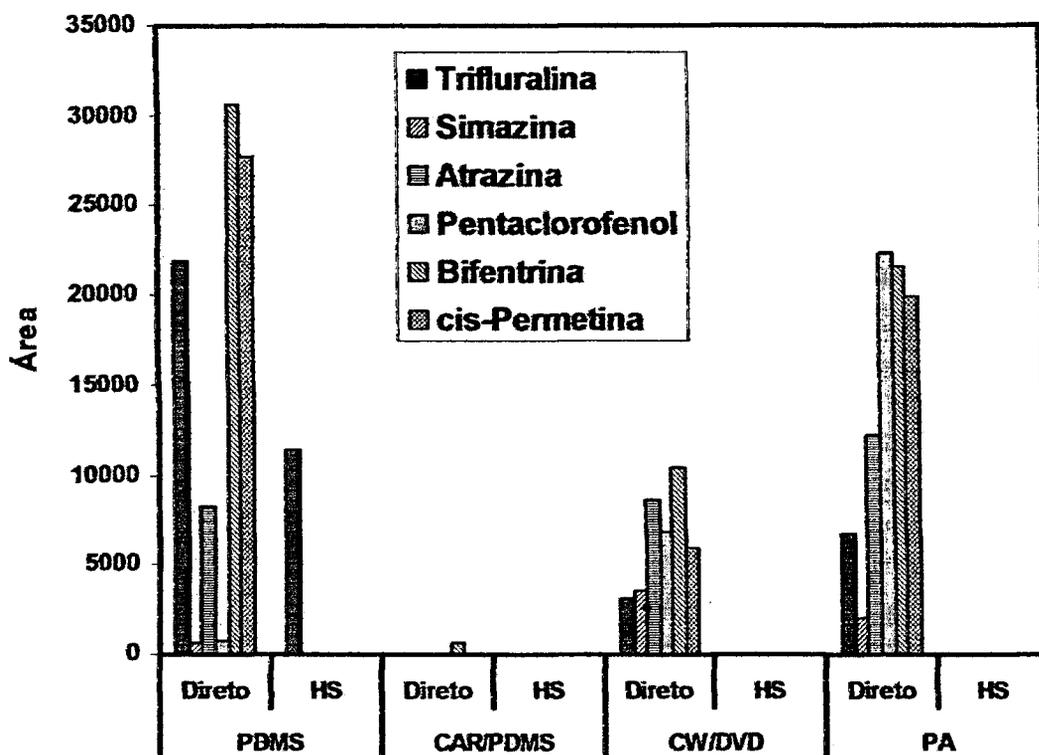


FIGURA 10. Comparação entre os modos de extração: direto e *headspace* (HS) com as diferentes fibras avaliadas. Resposta normalizada para  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  para cada pesticida em água deionizada, extraídos sob agitação constante de 900 rpm e temperatura ambiente ( $25^\circ\text{C}$ )

#### 4.2.1.2. Tempo de extração

Com a definição do tipo de fibra e o modo de extração avaliou-se o tempo de extração no intervalo de 5 a 90 minutos, sob agitação constante. Os resultados obtidos são apresentados na FIGURA 11. Apesar dos bons resultados em relação às áreas obtidas dos analitos, mesmo após 90 minutos o equilíbrio não foi alcançado. Entretanto, para análise de rotina o equilíbrio não é necessário desde que as condições de extração sejam mantidas; portanto, para os estudos posteriores foi escolhido o tempo de 30 minutos.

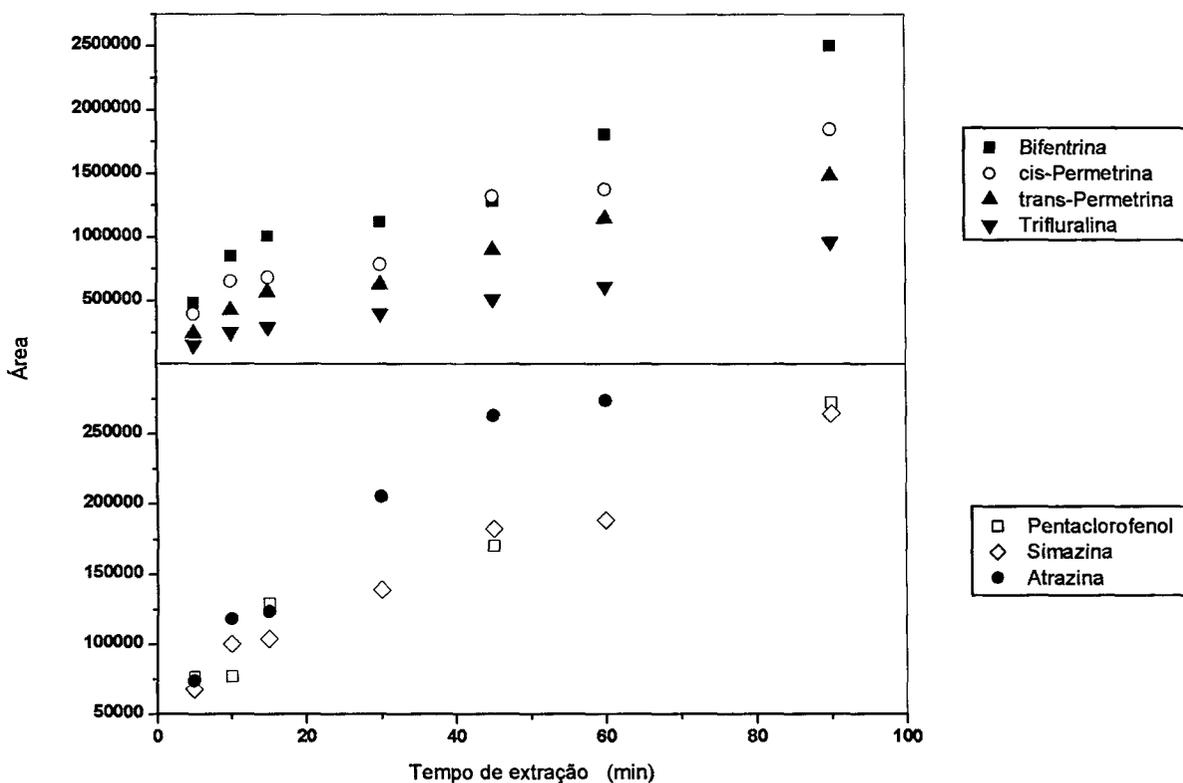


FIGURA 11. Perfil de extração dos pesticidas com adição dos pesticidas em água deionizada, extraídos com imersão direta utilizando fibra de PA, sob agitação constante de 900 rpm e temperatura ambiente (25° C). Trifluralina, 0,13  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Simazina, 2,14  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Atrazina, 1,03  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Pentaclorofenol, 0,10  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Bifentrina, 0,09  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; cis-Permetrina 0,10  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; trans-Permetrina, 0,10  $\mu\text{g L}^{-1}$

#### 4.2.1.3. Velocidade de agitação

A influência da velocidade de agitação foi determinada empregando-se a fibra de PA no modo direto com tempo de extração em 30 minutos. Os resultados obtidos são apresentados na FIGURA 12. Pode ser observado que a quantidade extraída de simazina e atrazina não depende da velocidade de agitação. Já para a trifluralina e o pentaclorofenol a velocidade de agitação de 900rpm parece ser a melhor, com diferença acentuada para o pentaclorofenol. Somente para a bifentrina, cis-permetrina e trans-permetrina a melhor velocidade de agitação foi a de 750 rpm, embora com pouca diferença com relação à de 900 rpm. Portanto, de acordo com a melhor resposta em relação às áreas obtidas nos cromatogramas, a velocidade de agitação de 900 rpm foi escolhida para as extrações dos analitos.

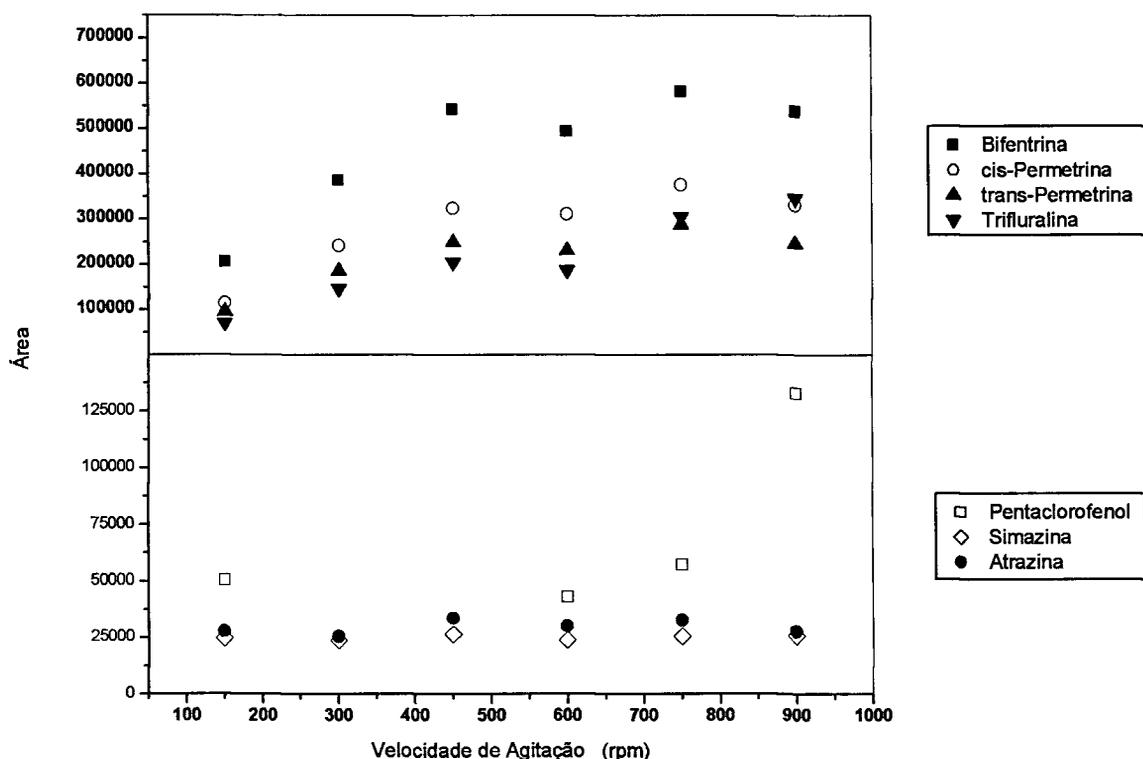


FIGURA 12. Influência da velocidade de agitação na extração, com adição dos pesticidas em água deionizada, extraídos durante 30 minutos com fibra de PA e temperatura ambiente (25° C). Trifluralina, 0,13  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Simazina, 2,18  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Atrazina, 1,03  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Pentaclorofenol, 5,07  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Bifentrina, 0,09  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; *cis*-Permetrina, 0,10  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; *trans*-Permetrina 0,10  $\mu\text{g L}^{-1}$

#### 4.2.1.4. Efeito da concentração salina

A influência da concentração iônica foi determinada empregando-se a fibra de PA no modo direto com tempo de extração em 30 minutos e velocidade de agitação de 900 rpm. Os resultados obtidos são apresentados na FIGURA 13. Dos compostos analisados a trifluralina apresentou um comportamento totalmente oposto aos demais; tendo-se obtido o maior valor de área sem a adição de sulfato de sódio. Já os piretróides apresentaram um comportamento peculiar para o perfil de extração com a presença de um mínimo ao redor de 5% de sal. Os perfis de extração para atrazina e simazina foram pouco afetados com a variação da concentração salina, enquanto que o perfil do pentaclorofenol aumentou com o aumento da concentração salina. Para os estudos seguintes foi adotada a concentração de 20% m/v de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .

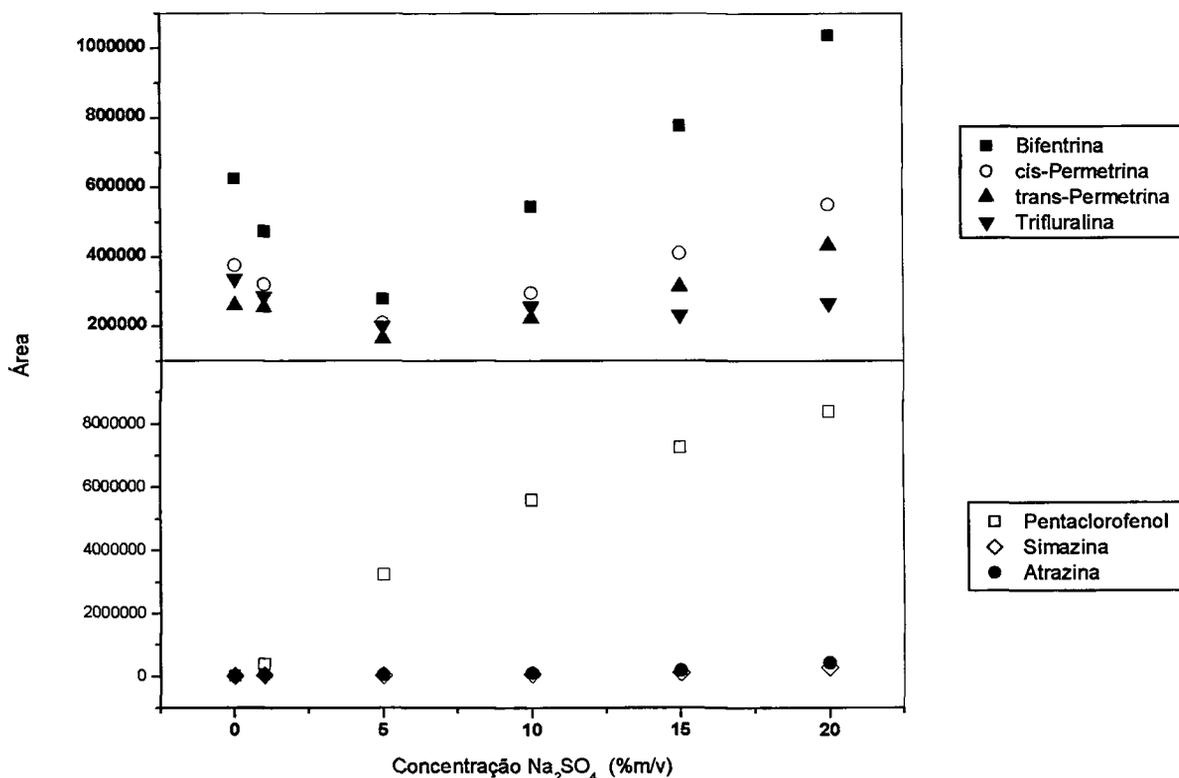


FIGURA 13. Efeito da concentração salina na extração com adição dos pesticidas em água deionizada, extraídos durante 30 minutos com fibra de PA, sob agitação constante de 900 rpm e temperatura ambiente (25° C). Trifluralina 0,13  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Simazina, 2,18  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Atrazina, 1,03  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Pentaclorofenol, 5,07  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Bifentrina, 0,09  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; cis-Permetrina, 0,10  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; trans-Permetrina 0,10  $\mu\text{g L}^{-1}$

#### 4.2.1.5. Efeito do pH

A influência do pH foi determinada empregando-se a fibra de PA no modo direto com tempo de extração em 30 minutos, velocidade de agitação de 900rpm e concentração salina de 20% m/v de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Os resultados obtidos são apresentados na FIGURA 14. Pode ser observado que o pentaclorofenol, por possuir grupamentos protonáveis, foi o pesticida mais influenciado pela variação do pH. Os outros compostos apresentaram uma variação mínima entre os diferentes valores de pH. Embora o melhor valor de área tenha sido com o pH=2 para o pentaclorofenol e o pH=4 tenha sido um pouco melhor do que o pH=3 para os pesticidas trifluralina, bifentrina, cis-permetrina e trans-permetrina, o pH=3 foi escolhido para ser utilizado no método analítico por apresentar um valor de área melhor que o pH=4 (20% menor que a área do pH=2) para o pentaclorofenol, uma vez que o pH=2 pode, a longo prazo, ser prejudicial à fibra de PA.

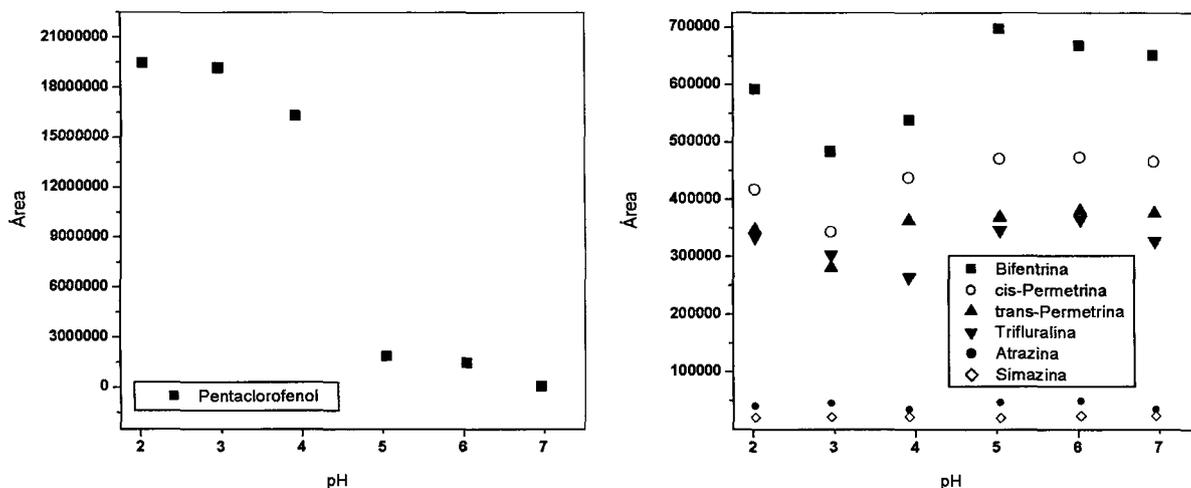


FIGURA 14. Efeito do pH na extração com adição dos pesticidas em água deionizada, extraídos durante 30 minutos com fibra de PA, sob agitação constante de 900 rpm, concentração salina de 20% m/v de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e temperatura ambiente ( $25^\circ \text{C}$ ). Trifluralina,  $0,13 \mu\text{g L}^{-1}$ ; Simazina,  $2,18 \mu\text{g L}^{-1}$ ; Atrazina,  $1,03 \mu\text{g L}^{-1}$ ; Pentaclorofenol,  $5,07 \mu\text{g L}^{-1}$ ; Bifentrina,  $0,09 \mu\text{g L}^{-1}$ ; *cis*-Permetrina,  $0,10 \mu\text{g L}^{-1}$ ; *trans*-Permetrina  $0,10 \mu\text{g L}^{-1}$

Portando o método analítico proposto foi definido com as seguintes condições: fibra de PA de  $85 \mu\text{m}$ ; volume de amostra 4 mL; extração no modo direto; tempo de extração de 30 minutos; velocidade de agitação 900 rpm; concentração iônica 20% m/v de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e  $\text{pH}=3,00$ .

#### 4.2.2. Curvas analíticas e limites de detecção

Na FIGURA 15, é apresentado o cromatograma reconstruído, no modo SIM, para os compostos estudados obtido pela metodologia SPME proposta para uma concentração próxima ao limite de detecção (LD). Na Tabela 10 são apresentados os resultados obtidos para as curvas analíticas (inclinação e intersecção), o coeficiente de correlação linear ( $r^2$ ) e o limite de detecção determinado para a relação  $S/N=3$ . As curvas apresentaram um bom comportamento linear nas faixas de concentração avaliadas e os limites de detecção obtidos apresentaram melhores valores dos que os recomendados por organismos mundiais ( $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ) (Dean, 1998). Em princípio, este trabalho foi

realizado com a meta de atingir os valores estabelecidos pela Portaria nº 518 do Ministério da Saúde, entretanto o método desenvolvido apresentou uma sensibilidade muito maior que esses limites, sendo escolhido então o valor estabelecido pela Comunidade Européia, como valor de referência.

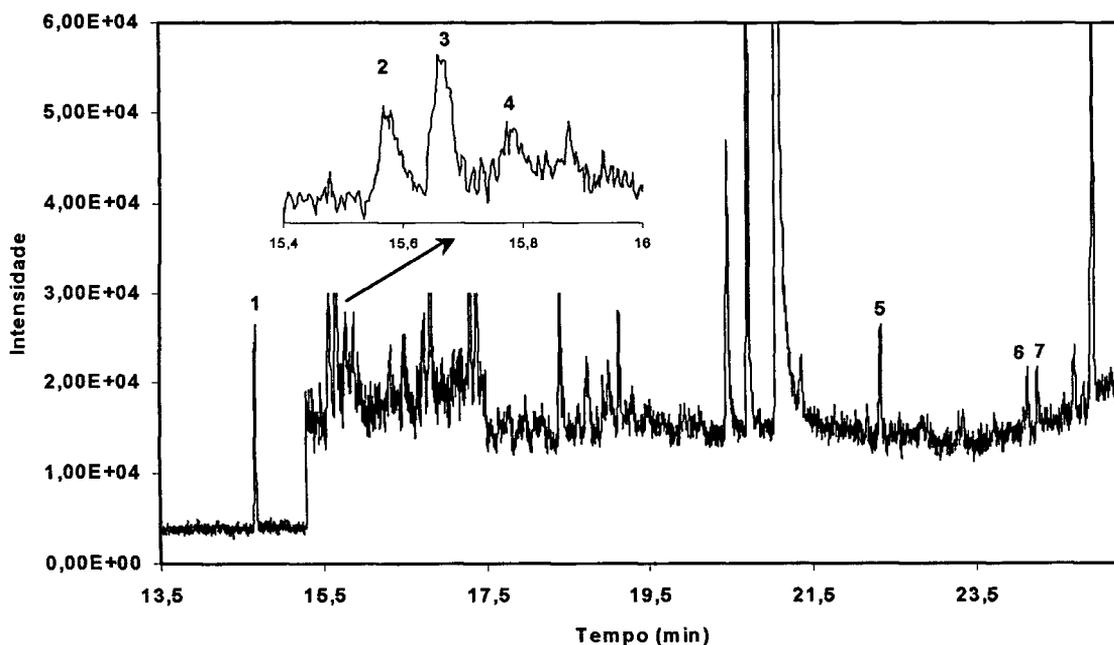


FIGURA 15. Cromatograma obtido no modo SIM com a metodologia proposta para o nível 1 de recuperação (TABELA 11). Identificação dos picos: 1 – Trifluralina; 2 – Simazina; 3 – Atrazina; 4 – Pentaclorofenol; 5 – Bifentrina; 6 – *cis*-Permetrina; 7 – *trans*-Permetrina. Demais picos não foram identificados

TABELA 10. Coeficientes de correlação linear e limites de detecção obtidos para a metodologia proposta

Pesticida	Inclinação	Intersecção	Correlação	LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Trifluralina	$4,68 \times 10^5$	$3,59 \times 10^4$	0,9979	0,006
Simazina	$1,95 \times 10^4$	$1,23 \times 10^4$	0,9932	0,10
Atrazina	$7,12 \times 10^4$	$2,59 \times 10^4$	0,9977	0,04
Pentaclorofenol	$1,12 \times 10^6$	$1,37 \times 10^5$	0,9929	0,004
Bifentrina	$4,93 \times 10^5$	$4,49 \times 10^4$	0,9914	0,005
<i>cis</i> -Permetrina	$4,05 \times 10^5$	$3,28 \times 10^4$	0,9959	0,010
<i>trans</i> -Permetrina	$3,55 \times 10^5$	$3,75 \times 10^4$	0,9964	0,010

#### 4.2.3. Efeito *carryover*

Por ser uma técnica de adsorção, a SPME pode estar sujeita aos chamados “efeitos de memória” ou *carryover* que são caracterizados pela desorção incompleta dos analitos adsorvidos na fibra, que pode ser mais acentuada para compostos com alta afinidade pelo recobrimento da fibra. Os resultados obtidos para o efeito *carryover*, em duas concentrações diferentes, para a metodologia proposta são apresentados na FIGURA 16. Como pode ser observado foram necessários cerca de nove ciclos de desorção para que os analitos fossem completamente extraídos da fibra. Dessa forma para eliminar o efeito *carryover*, foi necessário deixar a fibra inserida no injetor durante toda a corrida cromatográfica para a remoção total dos analitos adsorvidos.

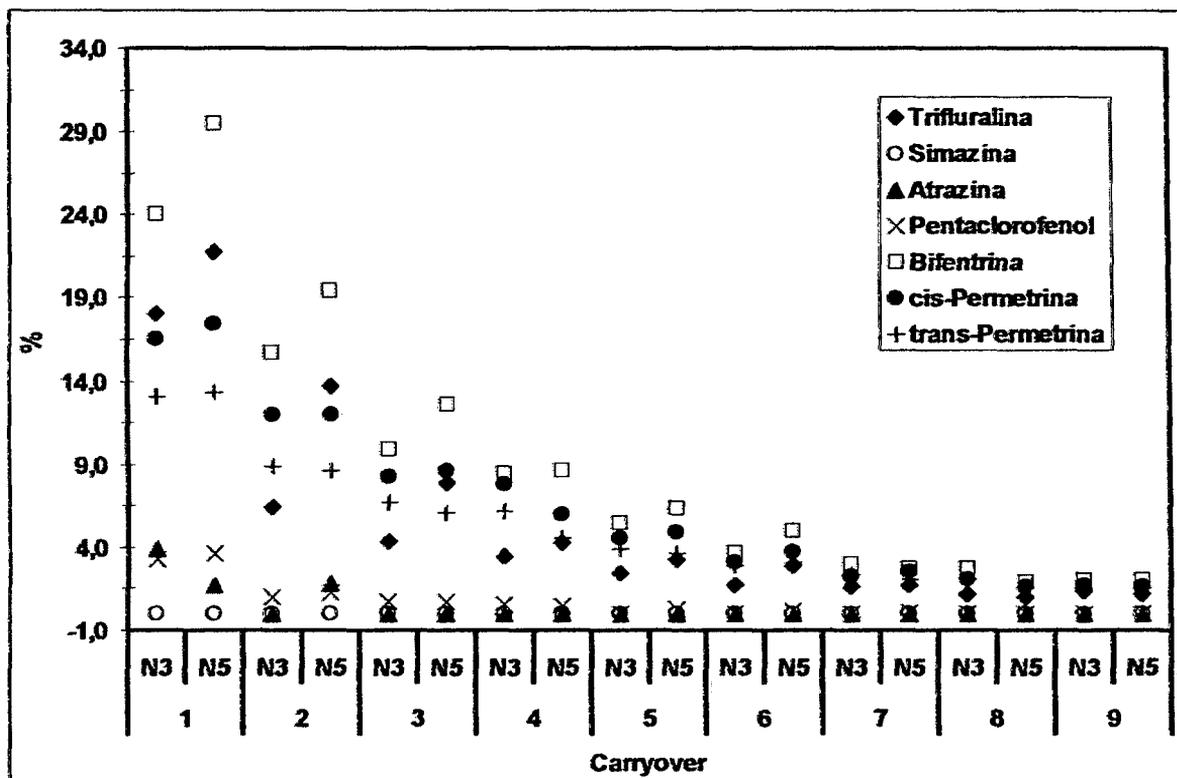


FIGURA 16. Efeito *carryover* na desorção para extração com adição dos pesticidas em água deionizada, extraídos durante 30 minutos com fibra de PA, sob agitação constante de 900 rpm, concentração salina de 20% m/v de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e temperatura ambiente ( $25^\circ \text{C}$ ). Onde a concentração para N3 foi  $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$  e para N5 foi  $2 \mu\text{g L}^{-1}$  para cada pesticida

#### 4.2.4. Recuperação do método

Os valores obtidos para o estudo de recuperação, em água deionizada, com o método proposto são apresentados na Tabela 11 e foram determinados em três níveis de concentração. Como pode ser observado o valor obtido para as recuperações encontram-se na faixa de 94% a 108%, comprovando o bom desempenho do método proposto, mesmo em concentrações muito próximas ao limite de detecção.

TABELA 11. Recuperação dos níveis 1, 2 e 3 com a adição dos pesticidas em água deionizada

Pesticida	Nível 1		Nível 2		Nível 3	
	Conc. ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	% Rec <sup>a)</sup>	Conc. ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	% Rec <sup>a)</sup>	Conc. ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	% Rec <sup>a)</sup>
Trifluralina	0,020	98 ± 13	0,060	97 ± 8	0,180	96 ± 9
Simazina	0,400	101 ± 12	1,200	100 ± 9	3,600	98 ± 8
Atrazina	0,080	107 ± 17	0,240	104 ± 13	0,720	97 ± 7
Pentaclorofenol	0,004	103 ± 10	0,012	97 ± 9	0,036	95 ± 15
Bifentrina	0,010	100 ± 24	0,030	93 ± 16	0,090	106 ± 22
<i>cis</i> -Permetrina	0,010	94 ± 16	0,030	98 ± 6	0,090	95 ± 17
<i>trans</i> -Permetrina	0,010	100 ± 11	0,030	100 ± 9	0,090	108 ± 22

a) Resultados para 3 determinações, (média ± desvio padrão)

#### 4.2.5. Aplicação em amostras

O método proposto neste trabalho foi aplicado em uma amostra de água bruta coletada em Cananéia. Na FIGURA 17 a) é apresentado o cromatograma reconstruído no modo SIM obtido para esta amostra. Apesar de ser uma região com intensa atividade agrícola, sendo a banana o produto mais comum, não foi detectado a presença dos pesticidas estudados.

Para verificar a eficácia do método proposto realizou-se um estudo onde foi adicionada a concentração de  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$  para cada pesticida, recomendado pela Comunidade Européia como o máximo permitido para água potável, na mesma amostra de água bruta, coletada em Cananéia. Na FIGURA 17b) é apresentado o cromatograma reconstruído no modo SIM obtido para o estudo. Os resultados para recuperação obtidos para a média de três determinações efetuadas em dias diferentes são apresentados na Tabela 12.

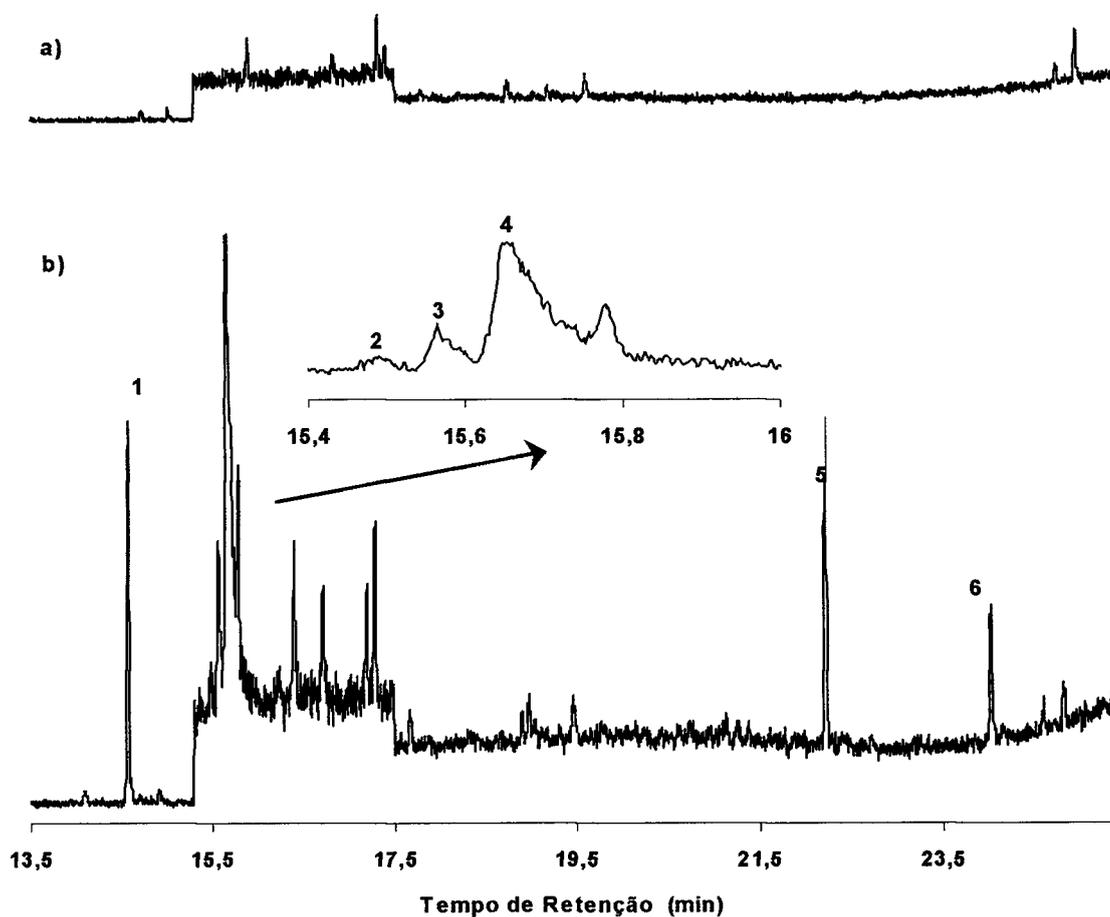


FIGURA 17a) Cromatograma obtido no modo SIM para amostra coletada em Cananéia. b) Cromatograma obtido no modo SIM para amostra coletada em Cananéia com adição de  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$  de cada pesticida. Identificação dos picos: 1 – Trifluralina; 2 – Simazina; 3 – Atrazina; 4 – Pentaclorofenol; 5 – Bifentrina; 6 – *cis*-Permetrina. Demais picos não foram identificados

TABELA 12. Recuperação em amostra de água bruta, com adição de  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$  dos pesticidas estudados

<b>Pesticida</b>	<b>% Recuperação*</b>
<b>Trifluralina</b>	106±13
<b>Simazina</b>	110±10
<b>Atrazina</b>	103±20
<b>Pentaclorofenol</b>	132±18
<b>Bifentrina</b>	98±8
<b><i>cis</i>-Permetrina</b>	93±15

\* resultados para 3 determinações, (média ± desvio padrão)

## 5. CONCLUSÕES

O método analítico desenvolvido nesse estudo, utilizando SPME-GC/MS para a determinação dos pesticidas trifluralina, simazina, atrazina, pentaclorofenol, bifentrina, *cis*-permetrina e *trans*-permetrina mostrou ser simples, rápido e sensível. Dentre suas principais vantagens pode ser destacada a pequena quantidade de amostra necessária para as determinações (4 mL), o que pode ser útil para amostras onde o volume é limitado.

O método proposto apresentou boa recuperação e reprodutibilidade, dentro dos intervalos recomendados por diferentes critérios de validação, mesmo em concentrações muito próximas ao limite de detecção. Por outro lado os valores encontrados para os limites de detecção foram, no geral cerca de uma ordem de grandeza inferior aos sugeridos ( $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ) por organismos de regulação mundial para determinação de pesticidas em água potável.

Uma das vantagens do método desenvolvido é a extração simultânea dos pesticidas estudados, sem a necessidade de etapas de *clean-up* ou derivatização da amostra. A identificação e quantificação em concentrações baixas, para esses diferentes tipos de compostos, foram possíveis devido à utilização do espectrômetro de massas acoplado ao cromatógrafo a gás, que possui alta sensibilidade.

Quando comparado à extração líquido-líquido (LLE) e à extração em fase sólida (SPE) possui a vantagem da utilização de pequenas quantidades de amostra e a não utilização de solventes, sendo uma técnica de extração simples e rápida. Além disso, a microextração em fase sólida possui a vantagem de não necessitar de etapas de filtração, secagem e concentração, pois é uma técnica concentradora.

## **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Devido à alta sensibilidade da metodologia proposta, torna-se necessária a utilização de um laboratório extremamente limpo para evitar problemas de contaminação do ambiente onde são realizados a preparação de padrões e amostragem.

## 7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- ✓ Aplicar o método a mais amostras de água potável e água bruta, avaliando a interferência de amostras com altos índices de contaminação.
- ✓ Avaliar a aplicabilidade da amostragem em campo, com a etapa de adsorção sendo realizada com volume conhecido da amostra em *vials* ou diretamente em rios desde que seja conhecida a vazão dos mesmos.
- ✓ Aplicar o método em trabalhos de rotina com a utilização de amostrador automático.
- ✓ Verificar a validade da metodologia proposta para matrizes mais complexas tais como: solo, sedimento, ar, alimentos, resíduos, medicamentos e amostras biológicas.

## APÊNDICE

### ✓ CÁLCULO DO COEFICIENTE DE PARTIÇÃO

A quantidade de analito extraída ( $\eta$ ), representa a massa do analito adsorvida na superfície do recobrimento da fibra; é dada pela seguinte expressão:

$$\eta = \eta^{\text{inf}} [1 - \exp(-a_s t)]$$

onde,  $\eta$  é a massa adsorvida (pg),  $t$  é o tempo de adsorção,  $a_s$  é a relação com transferência de massa obtida através do gráfico  $\eta \times t$ .

A constante de distribuição ( $K_{fs}$ ) define a sensibilidade do método que é proporcional ao número de mols do analito extraído da amostra ( $\eta$ ); é dada pela seguinte expressão:

$$K_{fs} = \frac{\eta V_s}{V_f (C_0 V_s - \eta)}$$

onde  $\eta$  é a massa adsorvida (pg),  $C_0$  é a concentração inicial (pg mL<sup>-1</sup>),  $V_f$  é o volume da fibra (mL) e  $V_s$  é o volume da solução (mL).

A constante de distribuição foi calculada com as seguintes condições de extração: os analitos foram extraídos no modo direto com fibra de PA em 4,5 mL de solução contendo as seguintes concentrações dos pesticidas trifluralina, 129,0 pg mL<sup>-1</sup>; simazina, 2144,0 pg mL<sup>-1</sup>; atrazina, 1032,0 pg mL<sup>-1</sup>; pentaclorofenol, 97,4 pg mL<sup>-1</sup>; bifentrina, 89,0 pg mL<sup>-1</sup>; *cis*-permetrina, 100,6 pg mL<sup>-1</sup>; *trans*-permetrina, 101,6 pg mL<sup>-1</sup>; sob temperatura ambiente (25° C) e agitação constante de 900 rpm.

Os valores da massa do analito adsorvida ( $\eta$ ) e das constantes de distribuição ( $K_{fs}$ ) determinadas para a fibra de PA, encontrados para cada um dos pesticidas estudados, utilizando o modo SIM são apresentados na Tabela 13.

TABELA 13. Valores de  $\eta$  e  $K_{fs}$  utilizando o modo SIM

Composto	$m/z$	SIM	
		$\eta$ (pg)	$K_{fs}$
Trifluralina	306	363	$1,44 \times 10^4$
Simazina	201	132	$1,20 \times 10^2$
Atrazina	215	221	$4,33 \times 10^2$
Pentaclorofenol	266	283	$1,58 \times 10^4$
Bifentrina	181	147	$5,05 \times 10^3$
<i>cis</i> -Permetrina	183	255	$1,12 \times 10^4$
<i>trans</i> -Permetrina	183	372	$3,91 \times 10^4$

A constante de distribuição,  $K_{fs}$ , representa a afinidade do recobrimento da fibra por um determinado analito. Quanto maior for o coeficiente de distribuição do analito, maior é a afinidade deste com a fibra e conseqüentemente maior quantidade de analito é extraído pela mesma. Os recobrimentos utilizados nas fibras possuem alta afinidade com compostos orgânicos, razão pela qual os valores das constantes de distribuição são altos, onde a capacidade concentradora da SPME induz a alta sensibilidade (Wercinski, 1999).

A alta sensibilidade da SPME pode ser comprovada pela constante de distribuição justamente nos casos do pentaclorofenol, trifluralina, *cis* e *trans*-permetrina e bifentrina; onde as altas afinidades foram observadas nos estudos de *carryover*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguilar, C. P., S.; Pocurull, E.; Borrull, F.; Marcé, R. M. Solid-phase microextraction and gas chromatography with mass spectrometric detection for the determination of pesticides in aqueous samples. *Journal of Chromatography A*, v. 795, p. 105-115, 1998.
2. Alpendurada, M. F. Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. *Journal of Chromatography A*, v. 889, p. 3-14, 2000.
3. Anvisa, <http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/monografias.pdf>, Acesso em 19 jan 2004.
4. Augusto, F. V., A.L.P.; Tada, E. S.; Rivellino, S.R. Screening of Brazilian fruit aromas using solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v. 873, p. 117-127, 2000.
5. Balinova, A. Strategies for chromatographic analysis of pesticide residues in water. *Journal of Chromatography A*, v. 754, p. 125-135, 1996.
6. Barnard, C. D., S.; Padgitt, M.; Smith, M. E.; Uri, N. D. Alternative measures of pesticide use. *The Science of the Total Environment*, v. 203, p. 229-244, 1997.
7. Barták, P. C., L. Determination of phenols by solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, v. 767, p. 171-175, 1997.
8. Belfroid, A. C. D., M. van; Beek, M. A.; Schrap, S. M.; Gestel, C. A. M. van; Hattum, B. van. Relative risks of transformation products of pesticides for aquatic ecosystems. *The Science of the Total Environment*, v. 222, p. 167-183, 1998.
9. Beltran, J. L., F. J.; Hernández, F. Solid-phase microextraction in pesticide residue analysis. *Journal of Chromatography A*, v. 885, p. 389-404, 2000.
10. Berrada, H. F., G.; Moltó, J. C. Indirect analysis of urea herbicides from environmental water using solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, v. 890, p. 303-312, 2000.
11. Biziuk, M. P., A.; Czerwinski, J.; Wierowski, M. Occurrence and determination of pesticides in natural and treated waters. *Journal of Chromatography A*, v. 754, p. 103-123, 1996.
12. Bouaid, A. R., L.; Gonzalez, M.J.; Fernández, P.; Cámara, C. Solid-phase microextraction method for the determination of atrazine and four organophosphorus pesticides in soil samples by gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 939, p. 13-21, 2001.

13. Branco, S. M. **Hidrologia Ambiental**. São Paulo: Edusp - Editora da Universidade de São Paulo, 1991.
14. Ciola, R. **Fundamentos da Cromatografia a Líquido de Alto Desempenho**. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda., 1998.
15. Dean, J. R. **Extraction Methods for Environmental Analysis**. England: John Wiley & Sons Ltd, 1998.
16. Dean, J. R. W., G.; Barnabas, I. J. Determination of triazine herbicides in environmental samples. **Journal of Chromatography A**, v. 733, p. 295-335, 1996.
17. Dugay, J. M., C.; Hennion, M. C. Effect of the various parameters governing solid-phase microextraction for the trace-determination of pesticides in water. **Journal of Chromatography A**, v. 795, p. 27-42, 1998.
18. Ecobichon, D. J. Pesticide use in developing countries. **Toxicology**, v. 160, p. 27-33, 2001.
19. Eisert, R. L., K. Development of a prototype system for quasi-continuous analysis of organic contaminants in surface or sewage water based on in-line coupling of solid-phase microextraction to gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 737, p. 59-65, 1996.
20. Eisert, R. L., K.; Wünsch, G. Element-selective detection of pesticides by gas chromatography-atomic emission detection and solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 683, p. 175-183, 1994.
21. Eisert, R. L. K. Solid-phase microextraction coupled to gas chromatography: a new method for the analysis of organic in water. **Journal of Chromatography A**, v. 733, p. 143-157, 1996.
22. EPA, <http://www.epa.gov/pesticides/about>, Acesso em 04 jan 04.
23. Fernández, M. P., C.; Marconi, L.; Ghini, S.; Colombo, R.; Sabatini, A. G.; Girotti, S. Determination of organophosphorus pesticides in honeybees after solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 922, p. 257-265, 2001.
24. Frías, S. R., M.A.; Conde, J.E.; Pérez-Trujillo, J.P. Optimisation of a solid-phase microextraction procedure for the determination of triazines in water with gas chromatography-mass spectrometry detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1007, p. 127-135, 2003.
25. Hoff, G. R. v. d. Z., P. van. Trace analysis of pesticides by gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 843, p. 301-322, 1999.

26. Hogendoorn, E. Z., P. van. Recent and future developments of liquid chromatography in pesticide trace analysis. *Journal of Chromatography A*, v. 892, p. 435-453, 2000.
27. Karasek, F. W. C. *Basic Gas Chromatography - Mass Spectrometry*. Netherlands: Elsevier Science Publishers B. V., 1998.
28. Kataoka, H. L., H. L.; Pawliszyn, J. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A*, v. 880, p. 35-62, 2000.
29. Kodama, T. D., L.; Yoshida, M.; Yajima, M. Biodegradation of an s-triazine herbicide, simazine. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 11, p. 1073-1078, 2001.
30. Koh, D. J., J. Pesticides hazards in developing countries. *The Science of the Total Environment*, v. 188, p. S78-S85, 1996.
31. Kolpin, D. W. T., E. M.; Linhart, S. M. Finding minimal herbicide concentrations in ground water? Try looking for their degradates. *The Science of the Total Environment*, v. 248, p. 115-122, 2000.
32. Krog, M. J., K.; Finn, T.; Rasmussen, K. E. Solid-phase microextraction for the determination of the free concentration of valproic acid in human plasma by capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography B*, v. 673, p. 299-305, 1995.
33. Krutz, L. J. S., S.A.; Sciumbato, A.S. Solid-phase microextraction for herbicide determination in environmental samples. *Journal of Chromatography A*, v. 999, p. 103-121, 2003.
34. Lambropoulou, D. A. K., K.; Albanis, T. A. Determination of fungicides in natural waters using solid-phase microextraction and gas-chromatography coupled with electron-capture and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, v. 893, p. 143-156, 2000.
35. Lengenfeld, J. J. H., S. B.; Miller, D. J. Optimizing split/splitless injection port parameters for solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, v. 740, p. 139-145, 1996.
36. Larini, L. *Toxicologia dos Praguicidas*. São Paulo: Editora Manole, 1999.
37. Levitan, L. "How to" and "why": assessing the enviro-social impacts of pesticides. *Crop Protection*, v. 19, p. 629-636, 2000.
38. Lord, H. P., J. Evolution of solid-microextraction technology. *Journal of Chromatography A*, v. 885, p. 153-193, 2000.
39. Message, G. M. *Practical Aspects of Gas Chromatography / Mass Spectrometry*. England: John Wiley & Sons, Inc., 1984.

40. Moeder, M. S., S.; Winkler, M.; Popp, P. Solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry of biologically active substances in water samples. *Journal of Chromatography A*, v. 873, p. 95-106, 2000.
41. Natangelo, M. T., S.; Fanelli, R.; Benfenati, E. Analysis of some pesticides in water samples using solid-phase microextraction-gas chromatography with different mass spectrometric techniques. *Journal of Chromatography A*, v. 859, p. 193-201, 1999.
42. NIST. *LIBRARY NIST - Base de Dados de Espectros de Massas*. Shimadzu, 1993.
43. Pawliszyn, J. *Solid Phase Microextraction: Theory and Practice*. New York: Wiley-VCH, Inc., 1997.
44. Pawliszyn, J. *Applications of Solid Phase Microextraction*. London, UK: The Royal Society of Chemistry, 1999.
45. Pawliszyn, J. New directions in samples preparation for analysis of organic compounds. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 14, p. 113-122, 1995.
46. Peñalver, A. P., E.; Borrul, F.; Marcé, R. M. Trends in solid-phase microextraction for determining organic pollutants in environmental samples. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 18, p. 557-568, 1999.
47. Richardson, M. Pesticides - friend or foe? *Water Science Technology*, v. 37, p. 19-25, 1998.
48. Rogers, H. R. C., S. D.W. Solid-phase micro-extraction (SPME) fibre performance in turbid aqueous samples. *Chemosphere*, v. 8, p. 1413-1418, 1998.
49. **Saúde, Ministério da Saúde, Portaria MS nº 518, de 25 de março de 2004.**
50. Tadeo, J. L. S.-B., C.; Pérez, R. A.; Fernández, M. D. Analysis of herbicide residues in cereals, fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*, v. 882, p. 175-191, 2000.
51. Tekel, J. H., S. Pesticide residue analyses in plant material by chromatographic methods: clean-up procedures and selective detectors. *Journal of Chromatography A*, v. 754, p. 397-410, 1996.
52. Tomlin, C. *The Pesticide Manual - Incorporating The Agrochemicals Handbooks*. United Kingdom: Crop Protection Publications, 1994.
53. Uri, N. D. A note on the development and use of pesticides. *The Science of the Total Environment*, v. 204, p. 57-74, 1997.

54. Vreuls, J. J. L., A. J. H.; Brinkman, U. A. Th. On-line combination of aqueous-sample preparation and capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 856, p. 279-314, 1999.
55. Wercinski, S. A. S. *Solid Phase Microextraction - A Practical Guide*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1999.
56. Werf, H. M. G. v. d. Assessing the impact of pesticides on the environment. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, v. 60, p. 81-86, 1996.
57. WHO, *Guidelines for Drinking Water Quality*, [http://www.who.int/docstore/water\\_sanitation\\_health/GDWQ/Chemicals](http://www.who.int/docstore/water_sanitation_health/GDWQ/Chemicals), Acesso em 19 jan 04.
58. WHO, *Guidelines for Drinking Water Quality*, [http://www.who.int/docstore/water\\_sanitation\\_health/GDWQ/Chemicals/trifluralinfull.htm#General](http://www.who.int/docstore/water_sanitation_health/GDWQ/Chemicals/trifluralinfull.htm#General), Acesso em 19 jan 04.
59. WHO, *Guidelines for Drinking Water Quality*, [http://www.who.int/docstore/water\\_sanitation\\_health/GDWQ/Chemicals/simazinefull.htm](http://www.who.int/docstore/water_sanitation_health/GDWQ/Chemicals/simazinefull.htm), Acesso em 19 jan 04.
60. WHO, *Guidelines for Drinking Water Quality*, [http://www.who.int/docstore/water\\_sanitation\\_health/GDWQ/Chemicals/atrazinefull.htm](http://www.who.int/docstore/water_sanitation_health/GDWQ/Chemicals/atrazinefull.htm), Acesso em 19 jan 04.
61. WHO, *Guidelines for Drinking Water Quality*, [http://www.who.int/docstore/water\\_sanitation\\_health/GDWQ/Chemicals/pentachlorophenolfull.htm](http://www.who.int/docstore/water_sanitation_health/GDWQ/Chemicals/pentachlorophenolfull.htm), Acesso em 19 jan 04.
62. WHO, *Guidelines for Drinking Water Quality*, [http://www.who.int/docstore/water\\_sanitation\\_health/GDWQ/Chemicals/permethrinfull.htm](http://www.who.int/docstore/water_sanitation_health/GDWQ/Chemicals/permethrinfull.htm), Acesso em 19 jan 04.
63. WHO, *5thWHOPESWGmeeting*, <http://www.who.int/ctd/whopes/docs/5thWHOPESWGmeeting.pdf>, Acesso em 19 jan 04.
64. Younes, M. G.-G., H. Pesticides in drinking water - a case study. *Food and Chemical Toxicology*, v. 38, p. S87-S90, 2000.