

CARACTERIZAÇÃO DOS ÍONS DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAs) PRESENTES NA CARAPAÇA DO SIRI CALLINECTES VIA GC/MS

Jessyca Alsina G. Sampaio¹, Isabella Bordon², Jorge Eduardo de Souza Sarkis³ e Maria
Teresa Crewe⁴ e Oscar Vega Bustillos⁵

Centro de Química e Meio Ambiente (CQMA)
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN / CNEN - SP)
Av. Professor Lineu Prestes 2242
05508-000 São Paulo, SP
mmhamada@ipen.br

RESUMO

- 1) Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são associados com aumento da incidência de vários tipos de cânceres no ser humano. Estudos em diversas matrizes ambientais como o efluente da combustão de carvão, a exaustão veicular, óleos lubrificantes, fumaça do cigarro, entre outras, têm demonstrado que os HPAs presentes nestas misturas são os principais responsáveis pelo seu potencial de toxicidade. Estas moléculas são formadas principalmente na queima incompleta de matéria orgânica, sendo encontradas em todos os compartimentos ambientais. Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são considerados poluentes prioritários, sendo agentes mutagênicos e cancerígenos comprovados. Alguns HPAs de baixo peso molecular são extremamente tóxicos e a maioria dos HPAs com quatro ou mais anéis aromáticos, são considerados agentes genotóxicos e capazes de se acumularem na cadeia alimentar. Os HPAs são eliminados para o meio ambiente através de queimadas, processos industriais, derramamentos de óleo e seus derivados, dentre outras fontes. Devido ao potencial tóxico desses compostos, muitas pesquisas vêm sendo desenvolvidas para definir os possíveis destinos dos HPAs no meio ambiente. Este trabalho apresenta um método de análise de HPAs na carapaça do siri "Callinectes sp" utilizando a cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (GC / MS). Esta técnica é usada para separar e quantificar diferentes compostos químicos. Neste experimento foram analisadas 13 carapaças de siri "Callinectes sp", coletadas na região de São Vicente, SP. Para os resultados, no cromatograma, foram identificados 4 compostos entre os tempos de 11 min até 18 min de tempo de retenção TR e o espectro de massas destes compostos. Os compostos identificados foram os seguintes:

Ácido acetilbenzóico com 73% de probabilidade

Dibutil Ftalato com 82% de probabilidade

Ácido benzenodicarboxílico com 82% de probabilidade

Ácido hexanodióico com 83% de probabilidade

Estes compostos não apresentam características de HPA's, portanto podemos concluir que, nesta análise não foi possível identificar HPAs na carapaça do siri. Possivelmente por serem estes compostos, lipofílicos, apresentam alta afinidade com a gordura, os HPAs são absorvidos pela camada de gordura do siri. Portanto podemos concluir que segundo estas análises, a carapaça do siri não apresenta contaminantes de HPAs, e nenhum tipo de compostos com características semelhantes nem em sua estrutura, nem em sua função.

1. INTRODUÇÃO

Com o processo de industrialização e o crescimento acelerado de cidades sem o planejamento adequado às necessidades de sobrevivência do ser humano, tem afetado muito a saúde da população. Muitos estudos estão sendo desenvolvidos a fim de solucionar os problemas que afetam a saúde do homem. Os hidrocarbonetos policíclicos e aromáticos estão presentes em compartimentos ambientais e em diversos processos industriais. Este trabalho tem como objetivo principal a análise destes hidrocarbonetos via GC/MS para qualificar e quantificar os HPAs presentes na carapaça do siri. Estes HPAs em sua maioria são lipofílicos e se depositam na camada de gordura de crustáceos, como o siri, além de serem compostos semivoláteis, que se formam pela fusão de dois ou mais anéis benzênicos, estes compostos também são absorvidos pelas as partículas atmosféricas.

Acredita-se que a formação dos HPAs através da combustão se deve a dois processos: em altas temperaturas, compostos orgânicos são convertidos em moléculas pequenas não estáveis (pirólise). Estes e outros radicais se recombinaem para produzir moléculas maiores e mais estáveis de HPAs pirossíntese, (Bettin e Franco, 2005). Em geral, todos os compostos orgânicos contendo carbono e hidrogênio, podem servir como precursores de HPAs. A área de coleta dos siris, foi na região costeira de São Vicente, SP, por apresentar as condições adequadas para o estudo, pois as regiões Sudeste e Centro-Oeste sofrem influência tanto de sistemas tropicais como de latitudes médias, com estação seca bem definida no inverno e estação chuvosa no verão com a presença de chuvas convectivas (NERY, 2005, p. 62), isto faz com que a chuva e a poluição contaminem as águas e o ar. [1]

2. ANÁLISE

2.1. Cromatografia a Gás

São duas técnicas analíticas combinadas para formar um único método de análise. A Cromatografia a gás (GC) separa os componentes de uma mistura e a espectrometria de massas (MS) caracteriza cada um dos componentes individualmente. As utilizações do GC/MS são numerosas, na área médica, farmacológica, ambiental e forense.

Na cromatografia a separação ocorre quando a mistura da amostra é injetada em uma fase móvel, neste caso o gás hélio. A fase móvel leva a mistura até a fase estacionária presente na coluna, esta pode ter afinidade com alguns dos componentes da mistura. Cada composto é detectado em tempos diferentes. Alterando as características da fase móvel e a fase estacionária, as diferentes misturas de produtos químicos podem ser separados. Aperfeiçoamentos a este processo de separação podem ser feitos alterando a temperatura da fase estacionária ou a pressão da fase móvel. A coluna capilar situa-se em um forno que pode ser programado para aumentar a temperatura gradualmente, isso facilita a separação. Quando a temperatura aumenta, os compostos que tem ponto de ebulição baixos saem da coluna antes dos que tem ponto de ebulição altos. Como os compostos são separados, eles saem da coluna e dirigem-se a um detector. O detector é capaz de criar um sinal eletrônico sempre que a presença de um composto é detectado. Quanto maior a concentração da amostra, maior o sinal. O sinal é então processado por um computador. O tempo inicial da injeção é atribuído como tempo zero, quando a detecção do composto químico ocorre é referido como o tempo

de retenção (RT). Enquanto o instrumento gera dados, o computador gera um gráfico (cromatograma) a partir do sinal eletrônico. Cada um dos picos no cromatograma representa o sinal criado pelo detector quando um composto elui na coluna cromatográfica. Ao se identificar o tempo de retenção para um determinado composto, podemos identificar o composto. [3,4]

2.1.2. Espectrometria de Massa

Assim que os compostos individualmente saem da coluna, são direcionados a fonte de íons na qual sofrem ionização por impacto de elétrons. Lá, eles são bombardeados com uma corrente de elétrons fazendo com que eles se quebrem em fragmentos. Estes fragmentos podem ser grandes ou pequenos pedaços das moléculas originais. Os fragmentos são realmente íons carregados com uma certa massa. A massa do fragmento dividido pela carga é chamado razão massa/carga (m/z). Um grupo de quatro eletroímãs, chamados de quadrupolo, discrimina cada um dos fragmentos através de sua relação m/z . O quadrupolo são programados pelo computador para dirigir somente determinados fragmentos de acordo com sua m/z , através da fenda. O computador registra um gráfico para cada varredura “scan”. O espectrômetro de massa trabalha com dois modos diferentes, SCAN (massas scan) e SIM (Monitoramento de Íons Selecionados).

2.1.3 Materiais

Foram utilizadas 13 carapaças de siri “Callinectes sp” coletadas na região do Casqueiro em São Vicente, SP. Foi utilizado o processador para triturar as carapaças. Foram usados também os seguintes padrões (mix) de HPAs, naftaleno, acenafteno, fenantreno e criseno a concentração de 1ppm e o solvente foi acetonitrila. Para a extração foram utilizados 60 ml de Hexano e 60 ml de Diclorometano, foi utilizado o aparelho para extração Soxhlet da marca Fisatom e o rotovapor, aparelho usado para concentração dos materiais. Para a análise foi utilizado o GC/MS 500 da marca Shimadzu.

2.1.4 Metodologia

Inicialmente foi feita a coleta do “siri callinectes sp” em São Vicente na região do “Casqueiro.” Foram utilizadas 13 carapaças do siri “callinectes sp”, foram retirados os tecidos e músculos do siri, que foram utilizados na pesquisa da aluna de mestrado Isabella Bordon. A carapaça do siri foi lavada com água Mili Q, água deionizada que foi purificada somente em um sistema Milli-Q fornecido pela Millipore Corporation, ou seja, é água que não apresenta íons. As carapaças foram reservadas em um vidro pirex e levadas a estufa durante 24 h, a 40°C. Logo após foram trituradas em um processador, e pulverizadas em almofariz para melhores resultados. As carapaças foram então, pesadas em balança e deram 24,801g. Foram divididas em 2 béquers, onde cada um pesou 12,4005g. No béquer 1 foram colocados 12,4005g de pó de siri e foi feito um “Spyke” com padrões (naftaleno, acenafteno, fenantreno e criseno). Estes padrões foram adicionados ao pó do siri e permaneceram por 3 dias para melhor absorção. No béquer 2 foram colocados 12,4005g do pó de siri somente. Cada amostra de pó de siri foi colocada num filtro e levada ao soxhlet (extrator que faz extração sólido-líquido), sendo assim, os componentes da fase sólida passam para a fase líquida, onde o solvente presente no balão volumétrico é Hexano (60 ml) e

Diclorometano (60 ml). Permaneceram durante 4 h. As amostras de cada balão foram levadas ao rotavapor (evaporador rotatório) e permaneceram por 20 minutos cada amostra a 70 rpm, para concentrar a solução, a uma temperatura de 40°C em banho maria. Logo após foram retiradas as duas amostras e acrescentadas em 2 viels (viel 1-amostra pó de siri e padrões e viel 2- amostra pó de siri somente). E foi realizada a análise via GC/MS. Utilizou-se um cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massa GC/MS, marca Shimadzu, Modelo: 5000A. O GC possui uma coluna cromatográfica DB5 (5% Siloxana) de comprimento 30 m , diâmetro interno 0,25 mm e espessura do filme 0,25 µm. A amostra foi introduzida no GC/MS via “on line” no injector “split” com razão 1/30 com fluxo constante de 10 mL.min⁻¹. O tempo de retenção foi de 35 min. O volume do analito injetado foi de 1 µL e a concentração deste representava 1 ppm.

2.1.5. Extração por Soxhlet

O extrator de Soxhlet é a melhor forma de extração contínua utilizando um solvente quente. Isso porque, utiliza uma quantidade relativamente pequena de solvente e apresenta bons resultados. Consiste basicamente de um reservatório de vidro que fica entre um balão na parte inferior e um condensador no topo. Dentro do reservatório é colocado o material sólido envolto em papel de filtro na forma de um pequeno cartucho. No balão fica o solvente escolhido e no condensador há fluxo de água. O balão é aquecido com uma manta elétrica de modo que o solvente entre em ebulição. O vapor condensa e goteja sobre o cartucho, solubilizando a substancia a ser extraída. O aparelho de Soxhlet possui um sifão que permite o refluxo contínuo do solvente. Quando o reservatório enche e atinge a altura do sifão, este transborda levando o solvente e o extrato para o balão. A eficiência do método depende da natureza do material a ser analisado. O objetivo deste aparelho é a extração do analito.

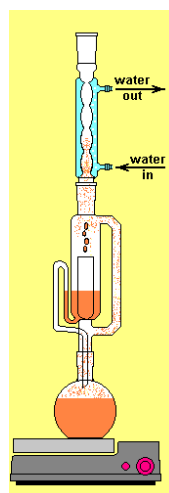


Figura 1. Representação do Soxhlet

2.1.6 Rotovapor

É um evaporador rotatório (fig 2), usado para destilar e concentrar o material contido no balão, é um dispositivo usado em laboratórios de química para a remoção eficiente e suave de solventes a partir de amostras por evaporação. Um simples sistema de evaporador rotativo foi inventado por Lyman C. Craig. O primeiro foi comercializado pela empresa suíça Büchi, em 1957.



Figura 2. Representação do rotovapor

2.1.7 Resultados

Na figura 3, o gráfico representa a análise qualitativa realizada pelo GC/MS, isto é, o cromatograma, onde são identificados 4 compostos entre os tempos de 11 min até 18 min de tempo de retenção TR e no gráfico inferior representa o espectro de massas que identificaram os seguintes compostos.

Nesta análise foi possível identificar 4 compostos:

- 1)Ácido acetilbenzóico com 73% de probabilidade.
- 2)Dibutil Ftalato com 82% de probabilidade. Apresenta-se uma descrição do composto analisado.
- 3)Ácido benzenodicarboxílico com 82% de probabilidade.
- 4)Ácido hexanodióico com 83% de probabilidade.

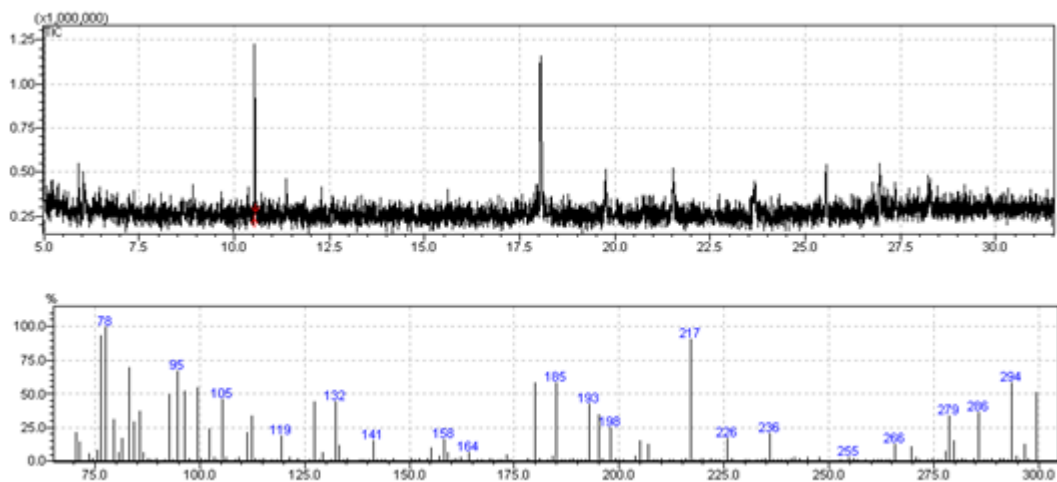


Figura 3. Análise da amostra contendo Hexano, Diclorometano, pó do siri e padrões Via GC/MS

Nas análises foram identificados apenas fragmentos de compostos químicos da carapaça do siri em quantidades desprezíveis. Portanto podemos concluir que segundo estas análises, a carapaça do siri não apresenta contaminantes de HPAs, e nenhum tipo de compostos com características semelhantes nem em sua estrutura, nem em sua função.

3. CONCLUSÕES

Nesta análise não foi possível identificar HPAs na carapaça do siri. Possivelmente por serem estes compostos, lipofílicos, ou seja, eles apresentam alta afinidade com a gordura, os HPAs são absorvidos pela camada de gordura do siri. A metodologia para análise deve ser modificada para atingir menor limite de detecção. Será feita uma análise mais detalhada utilizando metodologia diferente e método de extração por ultrassom e a secagem por liofilização.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Oscar Vega pelo incentivo e ajuda na realização desta pesquisa, agradeço á todos que me auxiliaram para que esta se concluísse e agradeço á CNPQ pelo auxílio de bolsa.

REFERÊNCIAS

1. , **M.S.**Baxter, Fanner, J.G., McKinley, I.G., Swan, **D.S.** and Jack,W. Evidence of the unsuitability of gravity coring for collecting sediment in pollution and sedimentation rate studies.*Environ. Sci. Technol.* **15** : 843-846. 1981

2. **RM.,**ATLAS Boehm, **P.D.** & Odder, J.A. Chemical and biological weathering of oil, from the **Amoco Cadiz** Spillage, within the littoral zone. *Estuar. Cstl. ShelfSci.* **12** : 589-698. 1981
3. J. Albaiges, & Albrecht, P. Fingerprinting of marine pollutant hydrocarbons by computerized gas chromatography-mass spectrometry. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **6** : 171-190. 1979
4. R.R Freeman. High resolution gas chromatography second edition. Hewlett Packard, Co.197 pp. 1981
5. D.M., Jones, Douglas, A.G. Parkes, R.J., Taylor, J., Giger, W., & Schaffner, C. The recognition of biodegraded petroleum-derived aromatic hydrocarbons in recent marine sediments *Mar. Pollut. Bull.* **14** : 103-108. 1983