

MODIFICAÇÃO DE UM MICRO-EXTRATOR DE VIDRO PARA PRÉ-ENRIQUECIMENTO DE TRAÇOS DE PESTICIDAS ORGANOCLORADOS DE ÁGUA PARA ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA GASOSA

Eduardo Carasek da Rocha, Glauca Falleiros Pini, Fabio Augusto e Antonio Luiz Pires Valente*
Instituto de Química - UNICAMP - CP 6154 - 13081-970 - Campinas - SP

Recebido em 23/1/97; aceito em 21/5/97

MODIFICATION OF A GLASS MICRO-EXTRACTOR AIMING TO ENRICHMENT OF TRACES OF WATER CONTAMINATING ORGANOCHLORINATED PESTICIDES AND THEIR QUANTITATIVE GAS CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS. Two models of a glass micro-extractor were constructed after modification of a model proposed in the literature. The two models were used for the simultaneous extraction and enrichment of organochlorinated pesticides from aqueous matrixes to an organic solution appropriate for the gas chromatographic analysis of the pesticide. It was established that the performance of one of the modified micro-extractors permits the pre-concentration of the pesticides to a level that allow their quantitation at the trace level with electron capture detection. It is thus concluded that the glass micro-extractor is a suitable tool for the sample preparation step in the gas chromatographic analysis of environmental pollutants of the class of pesticides.

Keywords: pre-concentration of aqueous samples; organochlorinated pesticide; GC analysis.

INTRODUÇÃO

A análise de pesticidas organoclorados em água é comumente realizada por CGAR-DCE (Cromatografia Gasosa de Alta Resolução com Detecção por Captura de Elétrons) porque, aliando-se a capacidade de resolução cromatográfica da CGAR, com a seletividade e sensibilidade do DCE para organoclorados, é possível processar amostras complexas e viabilizar as monitorações destes compostos em níveis de concentrações tão baixas como $0,1 \mu\text{gL}^{-1}$, que é a máxima permitida para cada pesticida, segundo a União Européia^{1,2}. Embora existam menções de que estas análises sejam realizadas por injeção cromatográfica direta da água contaminada, a alternativa mais divulgada é a de pré-processamento da matriz aquosa, para gerar uma amostra analítica apropriada para a análise por CGAR-DCE. Isto é decorrente das dificuldades analíticas impostas pelas amostras aquosas, que geralmente são altamente complexas, incompatíveis com os sistemas CGAR-DCE e contêm os poluentes em altos graus de diluição^{3,4}. A pré-concentração de compostos agroquímicos de matrizes aquosas pode ser realizada por métodos de extração líquido-líquido^{5,6} e de extração em fase sólida^{7,8}. No caso dos pesticidas organoclorados, é viável a extração com destilação por arraste com vapor d'água⁴, com a qual é possível conseguirem-se eficiências de extração superiores às realizadas por headspace e processos de stripping com gás⁹. Para extração com arraste por vapor d'água e pré-concentração de pesticidas de amostras aquosas, Verzele e colaboradores⁹ desenvolveram um microextrator de vidro (Figura 1C), no qual pode-se operar com 1 ml de solvente orgânico, para extrações de 50 ml, ou mais, da fase aquosa. No microextrator a destilação ocorre simultaneamente com processos de extração líquido-líquido, líquido-vapor e vapor-vapor, entre a fase aquosa e a fase orgânica. O enriquecimento da fase orgânica decorre da proporção volumétrica favorável entre o solvente e a fase aquosa. Resultados analíticos obtidos com o microextrator, tanto na forma original¹⁰, quanto após modificações¹¹, indicaram potencialidades desta metodologia de extração e pré-concentração em uma única etapa, que motivaram os estudos aqui relatados, de exploração deste dispositivo para análises de pesticidas organoclorados em águas. Foram construídos e testados dois modelos de microextratores, que têm geometrias modificadas em relação à originalmente proposta⁹. Os testes realizados, com pré-processamentos de amostras

aquosas de hexaclorobenzeno, lindano, aldrin, endrin e dieldrin, seguidos de análise por CGAR-DCE, revelaram que um dos microextratores possibilita extrações com rendimentos e repetibilidades apropriadas para as análises cromatográficas destes pesticidas.

PARTE EXPERIMENTAL

Equipamentos

- Cromatógrafo gasoso PU-104 (Pye Unicam Ltd) equipado com um DCE (⁶³Ni). Condicionamento dos sinais cromatográficos com um eletrômetro Pye Wide Range Amplifier (Pye Unicam Ltd). Coleta de dados com o programa Lecrom¹² após digitalização. Digitalização com um conversor analógico-digital de 12 bits modelo DACA (IBM Corp., Boca Raton, FL). Análise dos dados digitalizados com o programa ANACROM¹². O DCE foi adaptado¹³ para uso com colunas capilares de 0,5 mm de diâmetro interno. Coluna capilar de sílica fundida modelo HP-1 (Hewlett-Packard, USA), 5 metros de comprimento, diâmetro interno de 0,5 mm e espessura de filme de 2,65 μm , operada isotermicamente a 200 °C e com vazão de gás de arraste de 6 mLmin⁻¹. Temperatura do injetor de 250 °C e detector de 235 °C. Período de pulso do amplificador em 150 μs e volume injeção de 0,1 μL "on-column".

- Micro-extratores. Os dois modelos construídos, daqui por diante indicados como Protótipo #1 e Protótipo #2, são mostrados nas figuras 1A e 1B. Comparativamente ao modelo original, representado na figura 1C, nos dois protótipos foi feita uma simplificação e reposicionamento do braço F, pela suposição de que o seu formato e posicionamento originais dificultavam a mistura dos vapores de solvente extrator e fase aquosa, do que resultaram rendimentos em geral inferiores a 40%. Posteriormente, foi localizada referência a modificação semelhante (Fig. 1D) mas de maior complexidade de construção¹¹.

Solventes, reagentes e preparação das amostras

Isooctano (Aldrich Chemical Company Inc.) e acetona (Merck Indústrias Químicas) grau analítico. Padrões dos pesticidas organoclorados hexaclorobenzeno, aldrin, dieldrin, endrin, lindano (PolyScience Corp.).

Operação do Microextrator

Para os três modelos de microextrator mostrados na figura 1, no frasco A coloca-se 50,0 mL de solução aquosa dos pesticidas; no frasco B adiciona-se de 1 a 3 ml de solvente orgânico extrator (isooctano). Água destilada é introduzida em C até que o braço E fique totalmente preenchido; em seguida adiciona-se isooctano, até preencher o braço D. A circulação de água gelada pelo dedo frio é iniciada e o frasco B é aquecido e mantido a 140 °C, garantindo o refluxo do isooctano. Após 15 minutos é iniciado o arraste por vapor de água, aquecendo-se o frasco A a 140 °C. Para garantir que os vapores de água e de solvente extrator atinjam o dedo frio, os braços F e G do microextrator são aquecidos por resistências elétricas. A contagem do tempo de extração é iniciada quando o vapor de água penetra, pelo braço G, no corpo do microextrator. Durante a extração, os vapores de fase aquosa e solvente extrator são condensados no dedo frio, gotejam sobre as fases líquidas na região C do microextrator e, devido às diferenças entre suas densidades e baixa miscibilidade, refluxam para os respectivos balões A e B. Decorrido o tempo de extração, a geração dos vapores é interrompida e a fase orgânica é tomada diretamente do frasco B e injetada no cromatógrafo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação dos Microextratores Construídos - Protótipo #1 e Protótipo #2

Uma avaliação do efeito do tempo de extração sobre a recuperação dos pesticidas revelou características dos dois microextratores construídos que determinaram o prosseguimento dos estudos utilizando-se somente o Protótipo #1. O efeito do tempo de extração sobre a recuperação pode ser visto nas figuras 2A e 2B para, respectivamente o Protótipo #1 e o Protótipo #2. Neste estudo as extrações foram feitas em triplicata, a concentração de cada pesticida foi mantida em torno de 25 μgL^{-1} e utilizaram-se 50,0 mL de amostra aquosa e 1 a 3 mL de isooctano como solvente extrator. Os tempos de extração foram de 15 a 75 minutos. A figura 2A indica que, com o Protótipo #1, as recuperações aproximam-se de 100%, para os cinco pesticidas estudados, com um tempo de extração de 75 minutos. O comportamento para o Protótipo #2, mostrado na figura 2B, sugere máxima recuperação para o aldrin com cerca de 65 minutos de extração. Para os outros quatro pesticidas a recuperação máxima ocorre com cerca de 45 minutos de extração e diminui para tempos maiores. Estas diminuições das eficiências

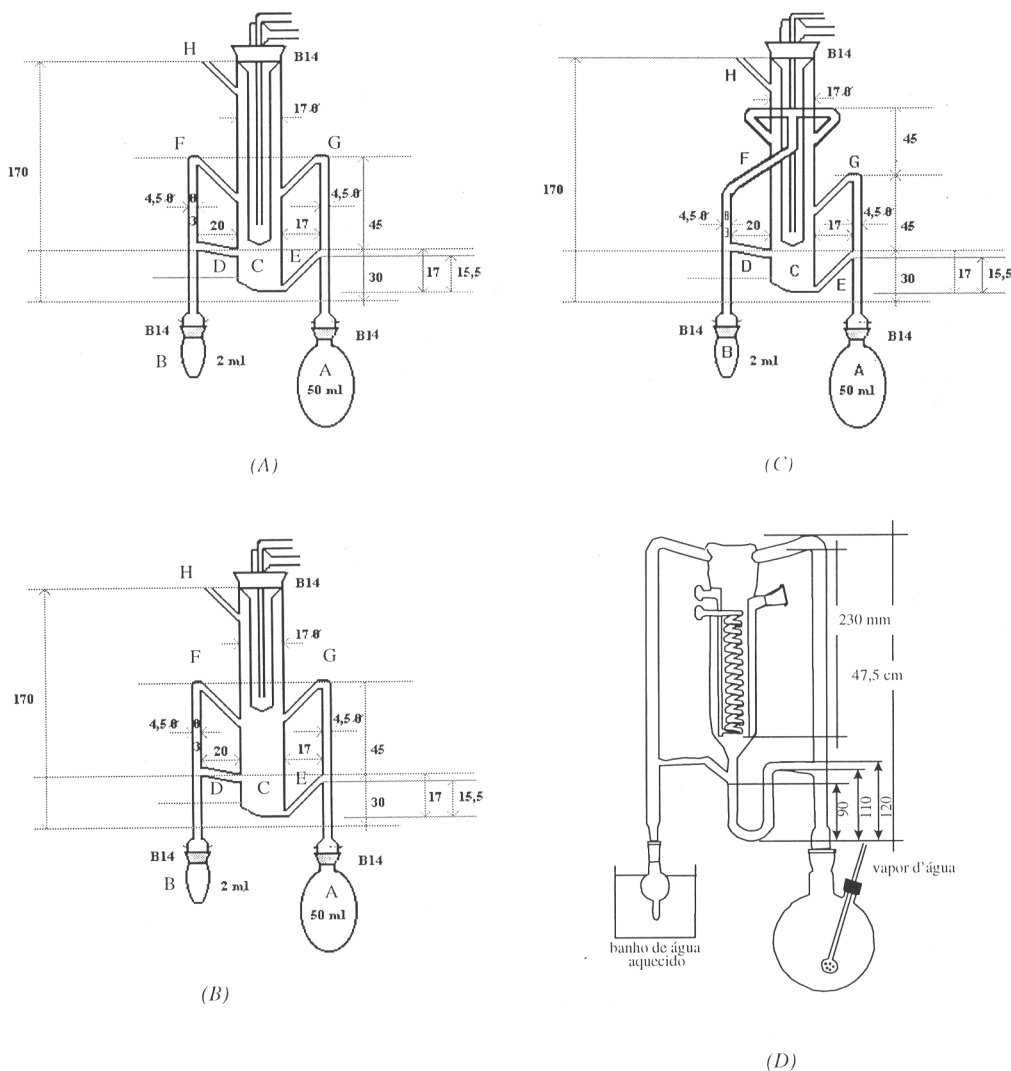


Figura 1. A: Protótipo #1, B: Protótipo #2 dos microextratores baseados em extração por arraste de vapor e extração líquido-líquido contínuas e simultâneas. C: Modelo original⁹, D: Modelo alternativo ao original proposto na literatura¹¹.

de extração foram atribuídas a uma instabilidade de operação notada no Protótipo #2. Devido à altura de queda das gotas, de água e de solvente extrator, da extremidade inferior do dedo frio até os líquidos presentes na região C do microextrator, estes são agitados a ponto de provocar o deslocamento do solvente extrator para o balão A, que durante a extração só deve conter a fase aquosa. Por causa desta instabilidade o Protótipo #2 não foi mais utilizado.

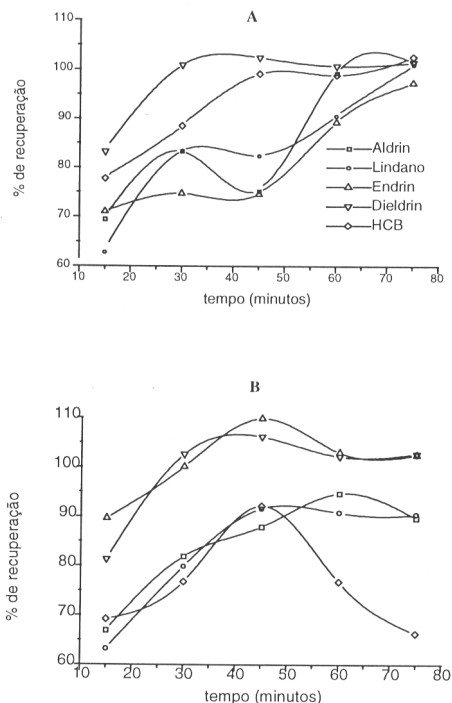


Figura 2. Efeito do tempo de extração sobre a eficiência de extração. (A) protótipo #1 e (B) protótipo #2.

Contorno de Perdas de Analitos nas Extrações

Em ensaios realizados com o Protótipo #1, utilizando-se como amostras de teste soluções em isooctano de dieldrin e hexaclorobenzeno em concentrações de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ observaram-se, sistematicamente, recuperações próximas de 100% para o dieldrin, mas excessivamente baixas para o hexaclorobenzeno - em torno de 10%¹³. Uma causa destes resultados inadequados poderia ser a de variação de volumes dos vapores no interior do microextrator, com consequente entrada e saída de ar pelo suspiro H (Fig. 1A) e arraste de parte do hexaclorobenzeno. Para verificar esta possibilidade um tubo de vidro, em forma de U, contendo água, foi ligado ao suspiro H do microextrator, tendo a sua outra extremidade imersa em água, num bequer. Este recurso permitiu observar oscilações das alturas das colunas de água no tubo em U, atribuídas à variações dos volumes dos vapores. Experimentos de extração com as solu-

ções dos mesmos dois pesticidas foram realizados mantendo-se o tubo em U interligado ao microextrator. Com esta forma de operação os rendimentos para o dieldrin mantiveram-se como anteriormente e, para o hexaclorobenzeno repetiram-se com valores próximos de 100%¹³; devido a estes resultados o microextrator passou a ser operado com o tubo em U conectado.

Avaliação do Efeito das Concentrações dos Analitos sobre as Recuperações.

Utilizando o Protótipo #1 foram determinadas recuperações com soluções individuais, em isooctano, de hexaclorobenzeno, aldrin, endrin, dieldrin e lindano com as concentrações relacionadas na tabela 1. O tempo de extração foi de 75 minutos; para cada pesticida a extração foi feita em triplicata. As porcentagens de recuperação foram determinadas por interpolação em curvas de calibração obtidas para cada pesticida no mesmo dia da análise dos extratos. A tabela 1 contém os resultados de recuperação, com respectivas repetibilidades, obtidos para cada pesticida. As recuperações, de cerca de 90% ou mais, e as repetibilidades, expressas como estimativas do desvio padrão relativo (S_R), entre 1,6% e 2,9%, indicam que a metodologia de pré-processamento com este microextrator é adequada para o uso em análises dos pesticidas em amostras de água, nas concentrações utilizadas.

Avaliação do Efeito das Concentrações dos Analitos Sobre as Eficiências de Extração.

Os estudos do efeito da variação da concentração dos pesticidas sobre a eficiência de extração, realizados para o Protótipo #1, estão resumidos na tabela 2. Foram utilizadas as soluções dos pesticidas em isooctano, cujas concentrações estão relacionadas na tabela 2; nesta tabela também constam as porcentagens de recuperação e as estimativas dos desvios padrão relativos obtidos para extrações em triplicata. Como anteriormente mencionado, as porcentagens de recuperação foram estabelecidas com o uso de curvas de calibração. Os dados da tabela 2 indicam que, de maneira geral, as repetibilidades conseguidas nos pré-processamentos das amostras podem ser consideradas bastante satisfatórias, pois de 19 valores tabelados, 15 estão abaixo de $S_R = 5\%$. O nível de $S_R = 5\%$ é considerado por vários autores como representativo de boa qualidade química-analítica para o tipo de pré-processamento de amostra aqui discutido^{9,11,14}; por outro lado, S_R de 10% ou mais também já foram reportados em trabalhos quantitativos².

Os resultados apresentados na tabela 2 também indicam que, para os cinco compostos, a variação das eficiências de extração entre 53,6% ($S_R = 2,8$) e 100% ($S_R = 1,0$) não prejudica as suas análises quantitativas por CGAR-DCE, o que é apoiado pelos resultados mostrados na figura 3. Nesta figura são mostrados três cromatogramas obtidos nos experimentos, sendo que o cromatograma A refere-se às menores concentrações estudadas para lindano, aldrin e endrin. Estes três cromatogramas foram selecionados para compor a figura 3 porque incluem picos do endrin que, conforme os dados da tabela 2 foi o pesticida para o qual os resultados quantitativos foram os menos favoráveis.

Tabela 1. Porcentagens de recuperação e respectivas estimativa do desvio padrão relativo obtidos com o protótipo #1 para alguns pesticidas organoclorados.

| Composto | Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$) | Recuperação (%) | S_R^a |
|------------------|---------------------------------------|-----------------|---------|
| hexaclorobenzeno | 20,2 | 99,5 | 1,6 |
| aldrin | 30,0 | 89,6 | 2,6 |
| endrin | 26,0 | 91,2 | 2,6 |
| dieldrin | 28,3 | 100 | 2,9 |
| lindano | 28,0 | 100 | 1,0 |

a = extrações feitas em triplicata.

Tabela 2. Efeito da variação na concentração dos pesticidas sobre a eficiência de extração.

| Composto | Concentração ($\mu\text{g.L}^{-1}$) | % de recuperação | SR^a |
|------------------|---------------------------------------|-----------------------------|---------------|
| hexaclorobenzeno | 11 | 72,0 | 5,3 |
| | 5,6 | 92,9 | 3,5 |
| | 1,7 | 53,6 | 2,8 |
| | 0,56 | 55,0 | 5,1 |
| lindano | 27 | 100 | 1,0 |
| | 7,3 | 80,9 | 2,5 |
| | 2,2 | 61,5 | 1,4 |
| | 0,73 | 71,5 | 2,5 |
| aldrin | 30 | 90,2 | 3,0 |
| | 12 | 83,8 | 3,5 |
| | 1,9 | 59,0 | 1,3 |
| | 0,64 | 69,7 | 1,7 |
| endrin | 26 | 97,2 | 1,2 |
| | 6,9 | 79,4 | 2,1 |
| | 2,1 | 85,7 | 1,4 |
| | 0,73 | não detectável ^b | - |
| dielldrin | 12 | 93,8 | 6,0 |
| | 6,0 | 72,0 | 7,2 |
| | 1,8 | 69,6 | 5,5 |
| | 0,60 | 60,7 | 4,8 |

a = extrações em triplicata; b = vide cromatograma A na figura 3.

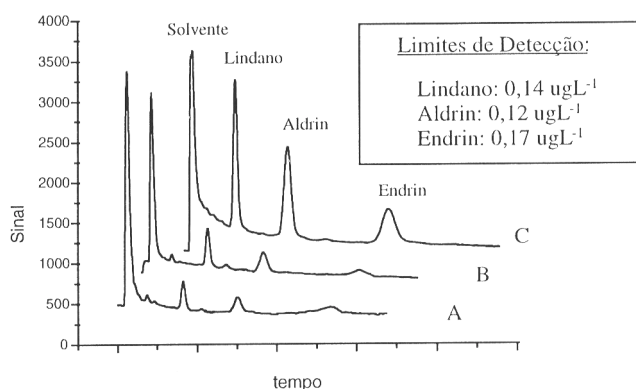


Figura 3. Cromatogramas obtidos no estudo da eficiência do micro-extrator variando-se as concentrações dos pesticidas. As concentrações para lindano, aldrin e endrin foram, respectivamente, (A) 0,73 $\mu\text{g.L}^{-1}$, 0,64 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e 0,73 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (B) 2,2 $\mu\text{g.L}^{-1}$, 1,9 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e 2,1 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (C) 7,3 $\mu\text{g.L}^{-1}$, 12,0 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e 6,9 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Condições Cromatográficas: temperatura da coluna 200 °C, temperatura do detector 238 °C, temperatura do injetor 200 °C, gás make-up 15 psi, vazão da coluna 5,5 mLmin⁻¹, período de pulso de 150 μs e 0,1 μL injetados on-column

Na tabela 3 estão os valores de limite de detecção para os cinco compostos que são muito próximos do limite máximo permitido de 0,1 $\mu\text{g.L}^{-1}$ anteriormente citado. Portanto, pode-se concluir que os níveis e repetibilidades das eficiências de extração permitidas pela metodologia aqui discutida pode viabilizar a análise de pesticidas organoclorados em água.

CONCLUSÕES

Nos estudos aqui discutidos o Protótipo #1 do microextrator apresentou melhor desempenho do que o modelo originalmente proposto na literatura, além de ser de construção mais simples. Uma forma simples e eficiente de melhorar o desempenho do Protótipo #1 e evitar perdas de analitos, é a de ligar ao seu respiro o tubo em U contendo água. Trabalhando com faixas

Tabela 3. Limites de detecção para alguns pesticidas organoclorados.

| Composto | Limite de detecção ($\mu\text{g.L}^{-1}$) |
|------------------|---|
| lindano | 0,14 |
| aldrin | 0,12 |
| endrin | 0,17 |
| hexaclorobenzeno | 0,13 |
| dielldrin | 0,14 |

de concentrações relativamente amplas de hexaclorobenzeno, lindano, aldrin, endrin e dielldrin (no presente caso, conforme tabela 2, as maiores concentrações são 20 a 30 vezes maiores do que as menores concentrações), foi possível isolar estes cinco pesticidas da matriz aquosa com repetibilidades adequadas e níveis de recuperação variando entre 53,6 % e 100,9 %. Conforme os dados das tabelas 1 e 2, para 24 dos 25 casos estudados foi possível realizar as análises quantitativas por CGAR-DCE, o que indica que a metodologia analítica estudada é adequada para aplicação na análise de hexaclorobenzeno, lindano, aldrin, endrin e dielldrin em água. É admissível que esta metodologia também seja aplicável a outros pesticidas.

Os resultados quantitativos aqui discutidos não permitem inferir que os limites mínimos de concentrações processáveis pelo Protótipo #1 foram explorados, pois estes foram efetivamente limitados pelo uso do cromatógrafo PU-104, que não foi projetado para uso com colunas capilares e possui um DCE de projeto antigo. Contudo, estas limitações reforçam que a metodologia de isolamento/pré-concentração com o microextrator de vidro é eficiente, pois permitiu compensar deficiências instrumentais para viabilizar a realização de análises dos pesticidas em concentrações não excessivamente superiores a valores máximos legalmente permitidos. A consideração de custo dos microextratores aqui descritos, que são comercializados no exterior por cerca de US\$ 500,00, mas que reduz-se a menos de R\$ 50,00 desde que se disponha de serviços de vidraria, é relevante para a consideração de que o uso de tais dispositivos de bancada pode viabilizar análises químicas de interesse atual e com custos assimiláveis por muitos laboratórios.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP e ao CNPq pelo apoio que permitiu este trabalho.

REFERÊNCIAS

1. Mol, H. G. S.; Janssen, H. M.; Cramers, C. A.; Vreuls, J. J.; Brinkman, U. A.; *J. Chromatogr.* **1995**, *703*, 277.
2. Zapf, A.; Heyer, R.; Stan, H.; *J. Chromatogr.* **1995**, *694*, 453.
3. Namiesnik, J.; Górecki, T.; Biziuk, M.; Torres, L.; *Anal. Chim. Acta*, **1990**, *237*, 1.
4. Polle, S. K.; Dean, T. A.; Udsema, J. W.; Polle, C. F.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, *236*, 3.
5. Onuska, F. I.; *J. High Resolut. Chromatogr.* **1989**, *12*, 4.
6. Durand, G.; Bouvot, V.; Barceló, D.; *J. Chromatogr.* **1992**, *607*, 319.
7. Di Corsia, A.; Marchetti, M.; *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 580.
8. Marvin, C. H.; Brindle, I. D.; Hall, C. D.; Chiba, M.; *J. Chromatogr.* **1990**, *503*, 167.
9. Godefroot, M.; Stechele, M.; Sandra, P.; Verzele, M.; *J. High Resolut. Chromatogr.* **1982**, *5*, 75.
10. Curves, J.; Noij, T.; Cramers, C.; Rijks, J.; *Chromatographia* **1984**, *19*, 225.
11. Seidel, V.; Lindner, W.; *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 3677.
12. Augusto, F.; Dissertação de Mestrado, Unicamp, Campinas, 1990.
13. Rocha, E. C.; Dissertação de Mestrado, Unicamp, Campinas, 1994.
14. Katherine, F. P.; Pawliszyn, J.; *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 2107.