

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**

**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**Departamento de Química Analítica**

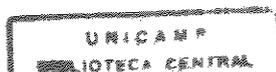
**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS DE  
PESTICIDAS ORGANOCLORADOS E COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS, EM  
UMA ÚNICA ETAPA, PARA ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA GASOSA.**

**Eduardo Carasek da Rocha** *016*

**Tese de Doutorado**

**Orientador: Prof.Dr. Antonio Luiz Pires Valente** *016*

**Campinas, Abril de 1997**



CHAMADA:	UNICAMP
	R582d
Ex.	
WBO BC/	32100
DC.	281197
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
ECO	2811,00
TA	18/11/97
CPD	

CM-00102562-5

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA  
UNICAMP**

R582d Rocha, Eduardo Carasek da  
Desenvolvimento de métodos de preparação de amostras de pesticidas organoclorados e compostos orgânicos voláteis, em uma única etapa, para análise por cromatografia gasosa. / Eduardo Carasek da Rocha. -- Campinas, [SP : s.n.], 1997.

Orientador: Antonio Luiz Pires Valente.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química.

1. Pré-concentração. 2. Poluentes. 3. Microanálise.  
I. Valente, Antonio Luiz Pires. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

## AGRADECIMENTOS

- Ao pessoal do laboratório de Cromatografia Gasosa: Glaúcia, Larisse, Ana Lúcia, Milton, Ana Cláudia, Kátia, Alessandro, Sílvio, Enrico e Ataulpa, pelo convívio durante a realização deste trabalho;

- Ao Prof. Dr. Fábio Augusto pela amizade e sugestões dadas para enriquecer este trabalho;

- Aos funcionários do Instituto de Química pela colaboração prestada no decorrer deste trabalho - especialmente ao Sr. Mário e ao Sr. Natanael, pela execução de componentes mecânicos e elétricos;

- Ao CNPq pela bolsa concedida e a FAPESP pelo suporte financeiro ao projeto;

- Em especial ao meu orientador, Prof. Dr. Antonio Luiz Pires Valente, pela amizade e exemplo durante todos os anos de Iniciação Científica, Mestrado e Doutorado.

*“ Na infinidade da vida onde estou, tudo é perfeito, pleno e completo, e no entanto a vida está sempre mudando.*

*Não existe começo nem fim, somente um constante ciclar e reciclar de substâncias e experiências.*

*A vida nunca está emperrada, estática ou rançosa, pois cada momento é sempre novo e fresco.*

*Eu sou uno com o Poder que me criou e esse Poder me deu o poder de criar minhas próprias circunstâncias.*

*Regozijo-me no conhecimento de que eu tenho o poder da minha própria mente para usar de qualquer forma que eu escolher.*

*Cada momento da vida é um novo ponto de começo à medida que nos afastamos do velho. Este momento é um novo ponto de começo para mim bem aqui e agora mesmo.”*

*Louise L. Hay*

---

Este trabalho só foi possível devido a compreensão e apoio incondicional de minha família. É a ela - minha esposa Marjorie e a minha filha Carolina - que dedico este trabalho.

# ÍNDICE GERAL

Agradecimentos .....	ii
Citação e Dedicatória .....	iii
Índice Geral .....	iv
Índice de Figuras e Tabelas .....	vi
Resumo .....	x
Abstract .....	xi
Apresentação .....	xii
1 - Introdução .....	1
2 - Objetivos .....	5
3 - Técnicas de Preparação de Amostras em Microescala .....	6
3.1 - Extração por permeação em membrana .....	6
3.2 - Microextração em Fase Sólida .....	15
3.3 - Microextratores Líquido-Líquido .....	23
3.4 - Extração por Destilação a vapor e Líquido-Líquido contínuas e simultâneas .....	31
4 - Sistema de Preparação de Amostras Baseado em Permeação por Membrana .....	36
4.1 - Construção do módulo de membrana .....	37
4.2 - Construção do módulo de trapeamento .....	38
4.3 - Operação do sistema .....	39
4.4 - Limpeza da membrana .....	40
4.5 - Otimização da operação do sistema de preparação de amostra .....	49
4.5.A - Vazão da amostra .....	49
4.5.B - Tipos de <i>traps</i> .....	51
4.5.C - Material congelante .....	52
4.5.D - Tempo de extração .....	53
4.5.E - Avaliação do tempo de espera de aquecimento do <i>trap</i> .....	56
4.5.F - Reprodutibilidade .....	58
4.5.G - Comparação dos 2 modos de operação do módulo de extração.....	60
4.6 - Limite de detecção do sistema de preparação de amostra .....	63

5 - Microextrator Líquido-Líquido .....	68
5.1 - Protótipos .....	68
5.2 - Operação do protótipo #2 .....	69
5.3 - Otimização da operação do protótipo #2 .....	70
5.3.A - Seleção do solvente extrator .....	71
5.3.B - Forma de agitação do $\mu$ ELL .....	72
5.3.C - Volumes de solvente extrator .....	76
5.3.D - Efeito de salificação ( <i>salting-out</i> ) .....	83
5.4 - Recuperação dos pesticidas .....	85
5.5 - Linearidade e limite de detecção .....	88
6 - Microextrator por destilação a vapor e extração líquido-líquido contínuas e simultâneas .....	94
6.1 - Protótipos do microextrator .....	94
6.2 - Estudo dos fatores experimentais dos protótipos #3 e #4 .....	101
6.2.A - Tempo de extração .....	101
6.2.B - Variação da concentração dos pesticidas .....	103
6.3 - Análise de amostra real e comparação com métodos clássicos de pré-concentração .....	105
7 - Conclusões .....	108
Bibliografia Citada .....	111

# ÍNDICE DE FIGURAS E TABELAS

Nota: Por conveniência de espaço, alguns dos títulos estão abreviados.

## FIGURAS

1 - Fluxograma das etapas desenvolvidas para convecção dos microextratores.....	XIII
2 - Fórmulas estruturais dos pesticidas organoclorados.....	XIV
3.1 - Conexão direta do módulo de membrana de fibra ôca para o cromatografo gasoso .....	7
3.2 - Cromatogramas de um sistema de extração por membrana .....	9
3.3 - Retenção de compostos halogenados pela fibra de polipropileno microporosa .....	10
3.4 - Esquema mostrando os principais componentes do sistema MESI .....	11
3.5 - Cromatograma de um sistema de membrana tubular e CG multiplex .....	12
3.6 - Diferentes configurações do módulo de extração por membrana .....	13
3.7 - Efeito da vazão da amostra sobre a intensidade de sinal .....	15
3.8 - Ilustração do processo de SPME e equipamento de amostragem .....	16
3.9 - Cromatograma de um ensaio por SPME .....	18
3.10 - Cromatograma de corrente iônica, obtido por SPME, de compostos da EPA 624 .....	19
3.11 - Dispositivo da SPME ajustado para congelamento interno .....	21
3.12 - Dispositivo <i>gastight</i> - SPME .....	22
3.13 - Micro reator Keele .....	24
3.14 - Frasco de microextração .....	26
3.15 - Equipamento simples para levar a fase de tolueno para o pescoço do frasco .....	28
3.16 - Cromatograma de um extrato obtido com o microextrator da figura 3.15 .....	29
3.17 - (A) Projeto modificado do microextrator (B) projeto original .....	32
3.18 - Cromatograma de um extrato obtido do microextrator da figura 3.17 (B) .....	34
3.19 - (A) Microextrator modificado por Lindner e (B) modificado por Churacek .....	35
4.1 - Esquema geral do sistema de preparação de amostra por permeação por membrana ..	36
4.2 - Modos alternativos de operar o módulo de extração .....	37
4.3 - Tipos de módulos de trapeamento .....	38
4.4 - Comparação de 3 técnicas de limpeza da membrana para compostos halogenados .....	42
4.5 - Comparação de 3 técnicas de limpeza da membrana para compostos aromáticos .....	43
4.6 - Cromatogramas obtidos durante o processo de limpeza da membrana .....	46
4.7 - Comparação das técnicas de limpeza da membrana com o modo B de operação .....	47

4.8 - Estudo da influência da vazão da amostra .....	49
4.9 - Relação entre intensidade de sinal e tempo de extração para 2 tipos de <i>traps</i> .....	50
4.10 - Cromatogramas obtidos de extrações do tipo PMTC para diferentes <i>traps</i> .....	52
4.11 - Cromatogramas obtidos com o uso de N <sub>2</sub> líquido como congelante .....	53
4.12 - Relação entre o tempo de extração e intensidade de sinal para PMTC .....	54
4.13 - Relação entre a intensidade de sinal por minuto de extração e tempo de extração .....	55
4.14 - Tempo de espera antes de acionar o aquecimento do <i>trap</i> .....	57
4.15 - Comparação entre cromatogramas no estudo de reprodutibilidade .....	59
4.16 - Comparação entre os modos A e B de operação do sistema MESI .....	60
4.17 - Comparação entre os modos A e B de operação do sistema PMTC .....	61
4.18 - Cromatograma utilizado para os cálculos de limite de detecção para halogenados .....	64
4.19 - Cromatograma utilizado para os cálculos de limite de detecção para aromáticos .....	65
4.20 - Cromatograma utilizado para os cálculos de limite de detecção .....	66
5.1 - Esquema e modo de operação do protótipo #2 do $\mu$ ELL .....	69
5.2 - Efeito do tipo de solvente extrator sobre a recuperação dos pesticidas .....	72
5.3 - Cromatograma do extrato obtido por agitação manual .....	74
5.4 - Cromatograma do extrato obtido por agitação mecânica .....	74
5.5 - Cromatograma do extrato obtido por agitação com ultrasom .....	75
5.6 - Influência do volume extrator sobre a recuperação dos pesticidas .....	77
5.7 - Comparação entre cromatogramas obtidos em diferentes condições de extração .....	78
5.8 - Variação da intensidade de sinal em função da variação de solvente extrator .....	79
5.9 - Eficiência relativa versus volume de solvente extrator .....	80
5.10 - Cromatograma obtido de extrato com 175 $\mu$ L .....	82
5.11 - Cromatograma obtido de extrato com 320 $\mu$ L .....	82
5.12 - Cromatograma obtido de extrato com 455 $\mu$ L .....	83
5.13 - Efeito do <i>salting-out</i> sobre a recuperação dos pesticidas .....	84
5.14 - Cromatograma obtido após 3 estágios de extração .....	87
5.15 - Cromatograma obtido após 1 estágio de extração .....	88
5.16 - Curva analítica obtida para Lindano <sup>TM</sup> .....	89
5.17 - Curva analítica obtida para Aldrin <sup>TM</sup> .....	90
5.18 - Cromatograma obtido para 1 estágio de extração .....	91
5.19 - Cromatograma obtido para 1 estágio de extração .....	91
5.20 - Cromatograma obtido para 1 estágio de extração do "branco" .....	92

6.1 - Protótipos do microextrator .....	97
6.2 - Efeito do tempo de extração sobre a eficiência de extração .....	102
6.3 - Cromatogramas obtidos no estudo da eficiência do microextrator .....	105
6.4 - Cromatogramas obtidos para diferentes técnicas de extração .....	107

## TABELAS

1.1 - Limite de detecção e faixa dinâmica linear de vários detectores de CG .....	3
3.1 - Dados de calibração obtidos por um sistema de permeação por membrana .....	12
3.2 - Dados de calibração de diferentes módulos de extração por membranas .....	14
3.3 - Comparação dos limites de detecção .....	20
3.4 - Recuperação da água destilada usando o reator Keele .....	25
3.5 - Recuperação da água usando microextrator líquido-líquido .....	27
3.6 - Recuperação de amostra aquosa dopadas com 50, 100 e 500 ng.L <sup>-1</sup> .....	30
3.7 - Recuperação de compostos testes .....	33
4.1 - Propriedades físicas dos compostos orgânicos voláteis .....	44
4.2 - Comparação da percentagem de decaimento dos compostos em função da limpeza ...	45
4.3 - Dados das variáveis do módulo de membrana .....	48
4.4 - Resultado dos cálculos de volume e velocidade linear .....	48
4.5 - Parâmetros estatísticos da regressão de cada curva obtido pelo EXCEL .....	54
4.6 - Dados numéricos do estudo do tempo de espera após passagem da amostra .....	57
4.7 - Dados das estimativas de desvio padrão relativo para halogenados por PMTC .....	58
4.8 - Comparação dos coeficientes angulares .....	63
4.9 - Dados das curvas analíticas obtidos do estudo da linearidade .....	64
4.10 - Limites de detecção estipulados .....	67
5.1 - Eficiência relativa das formas de agitação do $\mu$ ELL .....	73
5.2 - Comparação de duas formas de agitação .....	75
5.3 - Recuperação em função da variação de volume de solvente extrator .....	81
5.4 - Efeito da adição de sal na amostra sobre a recuperação dos pesticidas .....	85
5.5 - Recuperação dos pesticidas com 1e 3 estágios de extração sem <i>salting-out</i> .....	86
5.6 - Recuperação dos pesticidas com 1e 3 estágios de extração com <i>salting-out</i> .....	86
5.7 - Valores de limite de detecção obtidos com o protótipo #2 .....	93

6.1 - Dados preliminares das recuperações dos pesticidas quando utilizado o protótipo #3 .	101
6.2 - Efeito da variação na concentração dos pesticidas sobre a eficiência de extração .....	104
6.3 - Resultado da determinação de hexaclorobenzeno em resíduo industrial .....	107

## RESUMO

Foram desenvolvidas e testadas três técnicas de preparação de amostras aquosas em microescala, para análise por cromatografia gasosa, de compostos orgânicos voláteis e pesticidas organoclorados. Com uma técnica baseada em permeação seletiva em membrana de silicone estudaram-se os compostos orgânicos voláteis na concentração de  $0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$  a  $1500 \mu\text{g.L}^{-1}$ . A metodologia de permeação em membrana permite limites de detecção da ordem de  $\text{pg.L}^{-1}$ , com estimativas de desvio padrão inferiores a 5% e relações lineares entre as intensidades dos sinais cromatográficos e as concentrações dos analitos.

Uma técnica baseada em microextração líquido-líquido foi utilizada para pesticidas organoclorados, com concentrações na faixa de  $10 \text{ ng.L}^{-1}$  a  $1000 \text{ ng.L}^{-1}$ . Com uma etapa de concentração obtiveram-se limites de detecção da ordem de  $\text{pg.L}^{-1}$ , a partir de recuperação em torno de 50% com estimativa de desvio padrão menor que 7%. As recuperações aumentam para cerca de 90% com três extrações sucessivas.

Para pesticidas organoclorados com concentrações na faixa de  $0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$  a  $30 \mu\text{g.L}^{-1}$  foi explorada uma técnica baseada em processos simultâneos de equilíbrio de partição líquido-líquido, líquido-vapor e vapor-vapor. Esta metodologia permitiu limites de detecção de  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , com recuperações dos pesticidas variando de 60% a 100% e estimativa de desvio padrão menor que 6%.

## ABSTRACT

Three methods of sample preparation at the micro scale level for the chromatographic analysis of volatile organic compounds and organochlorinated pesticides were studied. One of the micro-methods is based on the selective permeation of the analytes through a silicone membrane. After applying this method to the volatile organic compounds it was possible to achieve detection limits (LOD) at the low  $\text{pg.L}^{-1}$  range, with relative standard deviations (RSD) below 5% and the linear relation chromatographic peak size to the concentration of the analytes in the range from  $0.5 \mu\text{g.L}^{-1}$  to  $1500 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

A second micro-method, based on liquid-liquid extraction, was used for the organochlorinated pesticides at the concentration range of  $10 \text{ng.L}^{-1}$  to  $1000 \text{ng.L}^{-1}$ . After applying this method with one extraction step the results show the LOD in the low  $\text{pg.L}^{-1}$  range, with recoveries of about 50% and less than 7% RSD. With three successive extraction steps the recoveries increase up to 90% without changing of the LOD and of the RSD.

The third micro-method is based on a apparatus where steam distillation of the organochlorinated pesticides occurs simultaneously with their extraction from the aqueous media to an organic solvent. After processing the pesticides in this apparatus at concentrations of  $0.5 \mu\text{g.L}^{-1}$  to  $30 \mu\text{g.L}^{-1}$ , the results show the LOD in the low  $\mu\text{g.L}^{-1}$  range with recoveries of 60% to 100% and less than 6% of RSD.

## APRESENTAÇÃO

Neste trabalho foram desenvolvidas e testadas três técnicas de preparação de amostras em microescala. As técnicas escolhidas são alternativas àquelas usadas comercialmente e recomendadas por agências ambientais, entre as quais encontram-se técnicas de extração líquido-líquido, purga e trapeamento e *headspace*. Para os trabalhos com as três técnicas foram montados e testados protótipos sugeridos na literatura. Nossos resultados, juntamente com a experiência adquirida com estes protótipos levou à necessidade de modificá-los, para adequação com as nossas condições de trabalho. Estas modificações proporcionaram resultados compatíveis ou melhores que os apresentados nas literaturas originais. Com os protótipos finais foram realizadas otimizações de seus modos de operação, que resultaram em condições adequadas para as preparações de amostras, tempos de análise adequados e resultados satisfatórios de extração. O figura 1 mostra um fluxograma que ilustra as etapas realizadas para as três diferentes técnicas desenvolvidas.

No capítulo 3 desta tese é apresentado uma breve discussão sobre algumas técnicas de preparação de amostras em microescala, incluindo aquelas utilizadas neste trabalho. Em capítulos separados são enfocadas cada uma das técnicas explorada, apresentando-se os procedimentos experimentais, as discussões e os resultados obtidos. Assim, o capítulo 4 trata da técnica de preparação de amostra baseada em permeação seletiva por membrana tubular de silicone. Esta técnica foi desenvolvida para a determinação de compostos orgânicos voláteis. O capítulo 5 descreve uma técnica baseada em microextração líquido-líquido testada, neste trabalho, para pesticidas organoclorados. No capítulo 6 é descrita outra técnica, baseada em destilação contínua e simultânea com extração líquido-líquido, com o uso de pesticidas organoclorados como compostos de teste. A figura 2 apresenta as fórmulas estruturais dos pesticidas utilizados neste estudo.

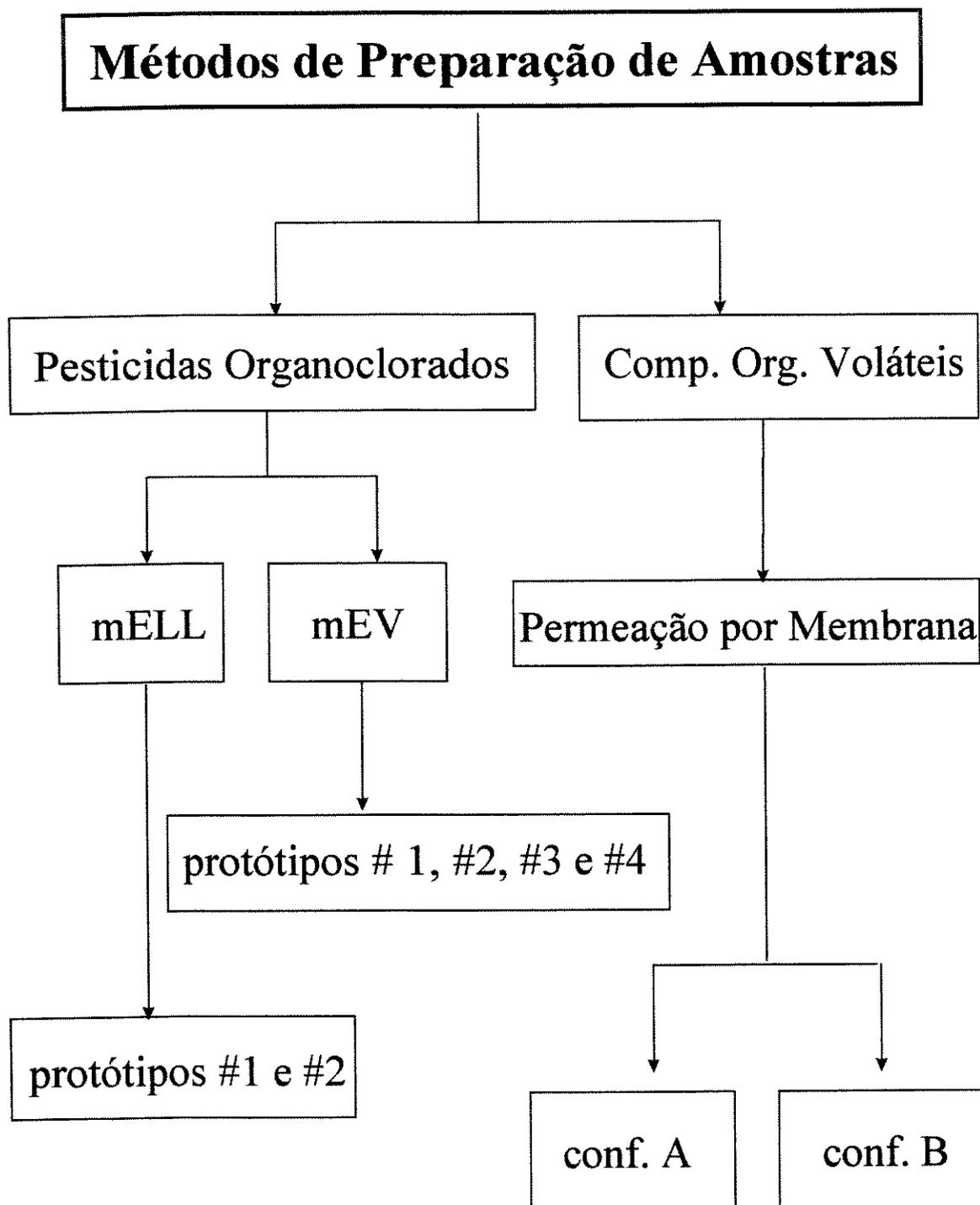


Figura 1 - Descrição das etapas realizadas para as três técnicas desenvolvidas.

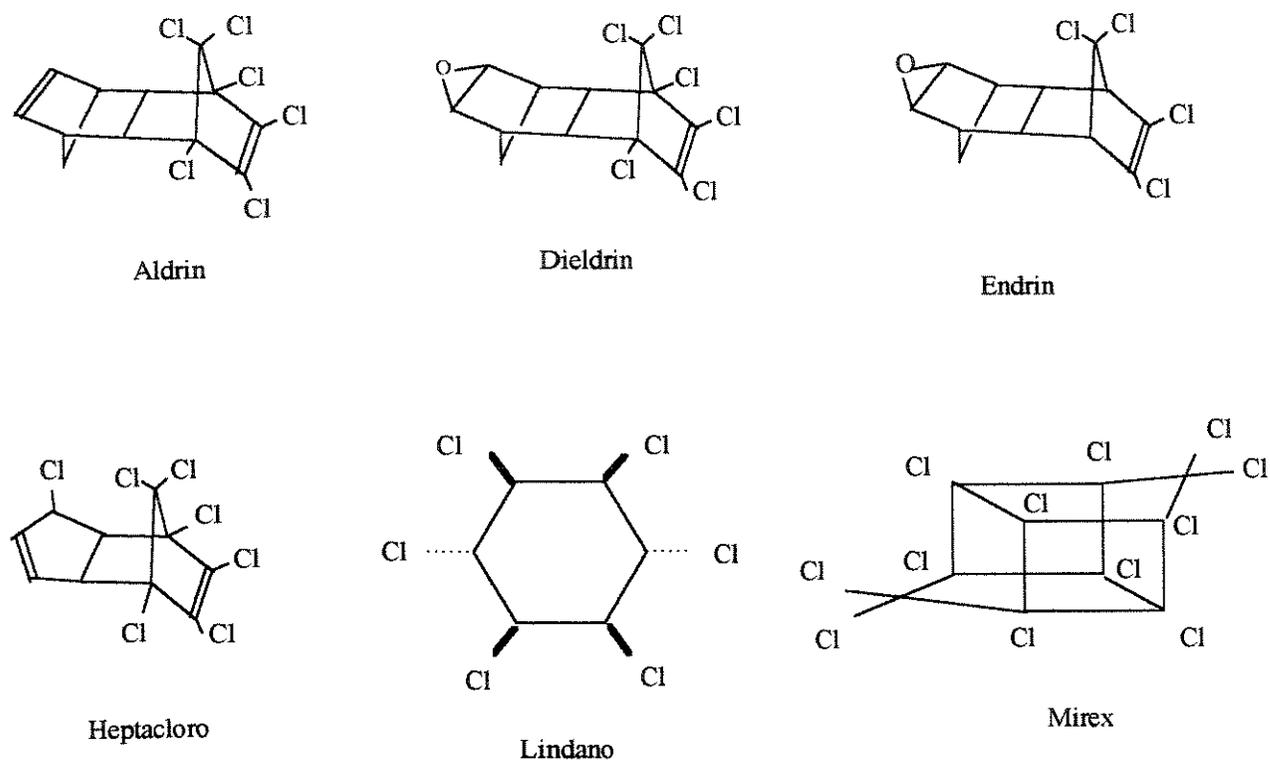


Figura 2 - Fórmulas estruturais dos pesticidas organoclorados usados para testar os métodos de preparação de amostras desenvolvidos.

# 1 - INTRODUÇÃO

Uma preocupação crescente com relação à questão ambiental e controle de dejetos químicos vem ocorrendo nos últimos anos. A análise de pesticidas nas safras agrícolas tornou-se rotina nos países desenvolvidos desde a descoberta de resíduos de DDT no início de 1960, sendo que nos últimos 8 anos o monitoramento de resíduos de pesticidas em diversas matrizes tem sido feito em bases regulares. Isto ocorreu nos Estados Unidos principalmente desde que elevados níveis de resíduos foram detectados em vários lençóis freáticos e águas superficiais [1].

Como muitos contaminantes orgânicos são direta ou indiretamente introduzidos no ambiente aquático, a análise de amostras de água tornou-se de fundamental importância. Devido ao fato de mananciais de água serem fontes de água potável, muitas agências ambientais têm imposto rigorosa legislação a respeito da qualidade dessas águas. Por exemplo, a União Européia estabeleceu a concentração máxima permitida de  $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$  para pesticidas individuais em água potável [2,3]; a organização Mundial de Saúde recomenda um limite de  $30 \mu\text{g.L}^{-1}$  para clorofórmio e a legislação dos Estados Unidos da América estabelece um limite total de  $100 \mu\text{g.L}^{-1}$  para os compostos halogenados voláteis encontrados em água potável [4]. A análise quantitativa de tais níveis de concentração tem exigido o desenvolvimento de métodos analíticos para determinações quantitativas compativelmente com os crescentes níveis de exigência. À medida que se adotam controles mais rigorosos dos poluentes ambientais, torna-se mais importante o seu monitoramento, preferencialmente através de métodos analíticos simples, rápidos e eficientes, e que consigam detectar e quantificar em níveis cada vez mais baixos uma ampla faixa de contaminantes [5,6]. Uma idéia deste crescente nível de exigência pode ser obtida lembrando que, para os químicos analíticos das décadas de 60 e 70, a palavra "traço" referia-se a valores da ordem de  $\text{mg.L}^{-1}$ , enquanto que, hoje, este termo se refere a  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , e com a busca de  $\text{ng.L}^{-1}$ . Desde modo uma variedade de técnicas e instrumentos têm sido desenvolvidos e aperfeiçoados para análises de contaminantes em matrizes ambientais.

O desenvolvimento de métodos analíticos para análises de traços em matrizes ambientais inclui etapas que englobam desde a coleta da amostra até o registro final

dos resultados. Estágios intermediários envolvem estocagem e preparação da amostra, isolamento dos analitos e suas identificações e quantificações. Nas últimas duas décadas, instrumentos sofisticados têm sido desenvolvidos para separação e detecção de compostos químicos a nível de traços. Neste campo, a Cromatografia Gasosa capilar (CG capilar) que associa a técnica de separação de cromatografia com vários tipos de detectores, tem sido constantemente aperfeiçoado. A alta eficiência, a velocidade de análise e a combinação com vários dispositivos de detecção tornam a CG capilar uma poderosa técnica analítica em análises de água. Em termos de detecção, a CG é, entre os métodos de separação, o que dispõe de maior diversidade de detectores [7,8], sendo muitos deles altamente sensíveis e seletivos; com isto a CG facilita as medidas de baixas concentrações de componentes em amostras complexas. O uso de detectores seletivos em CG é muito comum, porque associando-os à uma técnica de separação pode-se eliminar parte das etapas, trabalhosas e demoradas, de limpeza e pré-concentração da metodologia analítica. Além disto, a detecção seletiva reduz o risco de falsa identificação de compostos e pode simplificar a otimização da separação cromatográfica, pois possibilita que os compostos de interesse possam ser discriminados de interferentes.

A tabela 1.1 [2] mostra algumas características de detectores seletivos de CG usados em análises ambientais. A quantidade mínima detectada refere-se à quantidade de componente necessária para se obter, em condições experimentais otimizadas, um pico cromatográfico com razão sinal-ruído igual a 3. Supondo uma amostra aquosa contendo pesticidas no limite estabelecido pela União Européia e detectores capazes de quantificar massas conforme a tabela 1.1, haveria a necessidade de injeção na coluna cromatográfica de 100  $\mu\text{L}$  dessa amostra. Por duas razões tal quantidade de amostra não pode ser introduzida diretamente numa coluna cromatográfica capilar. Uma das razões é a de que 100  $\mu\text{L}$  de água vaporizado no injetor pode gerar um volume de vapor de cerca de 100 mL, que seria dezenas de vezes o volume de uma coluna cromatográfica capilar de, por exemplo, 30 m de comprimento e diâmetro interno de 0,5 mm. A outra razão é que a introdução de água na coluna cromatográfica causa efeitos adversos sobre a camada de desativação, assim como sobre a fase estacionária da coluna, devido a hidrólise de ligações siloxano [2].

Portanto, comumente a análise de amostra aquosa por CG demanda métodos prévios de preparação da amostra, para isolar os compostos de interesse da fase aquosa antes da introdução na coluna cromatográfica. Infelizmente, comparativamente aos métodos de separação e identificação, os avanços no campo de preparação de amostras têm sido muito modestos [9]. Portanto, a preparação da amostra é, via de regra, a maior fonte da imprecisão e inexatidão de toda a análise.

Tabela 1.1 - Limites de detecção e Faixa Dinâmica Linear de vários detectores de Cromatografia Gasosa.

Detector	Quantidade mínima (g)	Variação dinâmica
Detector por ionização em chama	$5 \times 10^{-11}$	$10^6$
Detector por captura de elétrons	$1 \times 10^{-12}$	$10^4$
Detector fotométrico de chama	$1 \times 10^{-11}$	$10^3$
Espectrometro de massas		
No modo de detecção:		
varredura total	$5 \times 10^{-10}$	$10^3$
monitoramento de íons	$5 \times 10^{-12}$	$10^3$

De modo geral, os métodos de preparação de amostras aquosas podem ser agrupados em três categorias:

A. Stripping de fase gasosa: são, por exemplo, as análises por *headspace*, ou baseadas em técnicas de purga e trapeamento. Na análise por *headspace* é analisada a fase gasosa em equilíbrio com a fase aquosa. Na técnica de purga e trapeamento o gás de purga extrai os analitos voláteis, que são coletados em um *cryotrap* para injeção posterior na coluna cromatográfica [2].

B. Transferência de fases: baseia-se na transferência dos analitos de interesse da fase aquosa para um solvente orgânico com propriedades mais favoráveis para introdução no cromatógrafo gasoso. Nestes procedimentos comumente usam-se a extração líquido-líquido, ou a extração em fase sólida, também conhecida como extração

líquido-sólido, visando concentrar e isolar os analitos da fase aquosa. Com a transferência entre fases os analitos podem ser extraídos de grandes volumes de amostra aquosa com pequenos volumes de solvente orgânico [2].

C. Sorção-dessorção: nestes métodos a eliminação da água é baseado na sorção (adsorção e absorção) do analito num sólido, ou num líquido imobilizado, e subsequente dessorção térmica [2].

Muitas das técnicas de preparação de amostras podem ser executadas *on-line* ou *off-line* com o cromatógrafo gasoso. A combinação *on-line* tem significantes vantagens sobre os trabalhos realizados de modo *off-line*. O método *on-line* não necessita de etapas intermediárias de manipulação da amostra, o que reduz riscos de contaminação e de perda de analitos. A combinação *on-line* facilita automatizar a preparação da amostra e sua injeção nos equipamentos de cromatografia. Este sistema também possibilita melhorar o limite de detecção pela eliminação de problemas associados à injeção convencional com micro-seringas [2]. Apesar das suas vantagens, os sistemas *on-line* são, via de regra bastantes dispendiosos e projetados para trabalhos de rotina com grande número de análises diárias. Estas duas características dificultam sobremaneira o uso generalizado de sistemas *on-line* em laboratórios pequenos e não especializados.

## 2 - OBJETIVOS

A discussão anterior revela que as metodologias de preparação de amostras aquosas alternativas às comerciais e/ou aceitas pelas agências ambientais continuam sendo objeto de pesquisas. Assim, o objetivo do presente trabalho foi estudar alternativas de bancada para preparo de amostras para análise em CG, baseadas em dispositivos de baixo custo e confiabilidade, o que levou aos seguintes objetivos para o presente trabalho:

- 1 - Desenvolver e/ou aperfeiçoar métodos de preparação de amostras aquosas de pesticidas organoclorados e de compostos orgânicos voláteis, com uma única etapa de manipulação, para análise por CG.
- 2 - Comparar os métodos de preparação de amostras estudados com os existentes na literatura, visando estabelecer suas recuperações, repetibilidades, facilidade de uso e compatibilidade com as sensibilidades dos detectores por ionização de chama e por captura de elétrons.
- 3 - Utilizar os métodos de preparação de amostras estudados com amostras sintéticas e com amostras reais, com os poluentes a nível de traços ( $\mu\text{gL}^{-1}$  e  $\text{sub-}\mu\text{gL}^{-1}$ ).

### 3 - TÉCNICAS DE PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS EM MICROESCALA

A seguir são apresentadas quatro técnicas de preparação de amostras em microescala, sendo que três destas técnicas foram utilizadas neste trabalho.

#### 3.1 - Extração por permeação em membrana

Membranas apresentam uma grande diversidade de aplicações, tais como filtração com microporos, ultrafiltração, osmose reversa, diálises, eletrodiálises e separação gasosa [10]. Graças à sua natureza seletiva, as membranas são adequadas para determinações analíticas rápidas ou monitoramento contínuo *on-line* [11]. Após a sua primeira aplicação analítica, descrita por Hock e Kok em 1963 [12], diversos trabalhos com membranas foram realizados para o interfaceamento de amostras de ar e água diretamente ao espectrômetro de massas (EM). As membranas planas foram inicialmente as mais utilizadas. Em 1974 Westover e col. [13] apresentaram a primeira aplicação de membrana tubular de silicone, de geometria mais adequada para certas aplicações analíticas. Desde então procedimentos analíticos com membranas estão voltados para o uso de membranas tubulares [14,15,16]. Apesar de três décadas de desenvolvimento de tecnologia de membrana para fins analíticos, ainda existe pouca informação de seu uso em preparação de amostra para cromatografia [17].

Na utilização de membranas em métodos de preparação de amostras para CG há necessidade de um gás inerte que atue como fase de *stripping* para determinar o processo de extração sem a presença de solventes líquidos. As membranas podem ser divididas em duas categorias: membranas não porosas e membranas porosas. Em membranas não porosas, o mecanismo de permeação dos compostos orgânicos voláteis envolve as seguintes etapas: (1) os compostos orgânicos voláteis migram da fase aquosa para a superfície da membrana e são dissolvidos na camada da parede da membrana, (2) os compostos dissolvidos migram através da camada da parede da membrana por gradiente de concentração e (3) este processo é acompanhado de evaporação ou *stripping* dos compostos orgânicos voláteis para o outro lado da

superfície da membrana, de onde são arrastados pelo gás de *stripping*. No caso de uma membrana microporosa (por exemplo, polipropileno) os compostos orgânicos voláteis difundem diretamente através dos poros [18]. Membrana de silicone não porosa e hidrofóbica é seletiva para compostos orgânicos e reduz a difusão de água através da membrana [18]. Blanchard e Hardy [19] foram os primeiros a utilizar N<sub>2</sub> como gás de *stripping* para transferir os analitos permeados da superfície de uma membrana plana para a adsorção em um dispositivo com carvão ativado. O tempo de exposição das amostras variou de 1 hora a 10 dias, sendo então os analitos dessorvidos pelo contato com 5 mL de dissulfeto de carbono por 30 minutos. Uma alíquota de 5 µL era analisada por CG.

Em 1992 Pawliszyn e Pratt [20] desenvolveram um dispositivo para realizar extração exaustiva de amostras aquosas utilizando 8,0 cm de membrana tubular de polipropileno e borracha de silicone não porosa. A figura 3.1 ilustra o dispositivo desenvolvido. Neste dispositivo 1,1,1 tricloroetano, tricloroetano e tetracloroetano foram quantitativamente removidos da água.

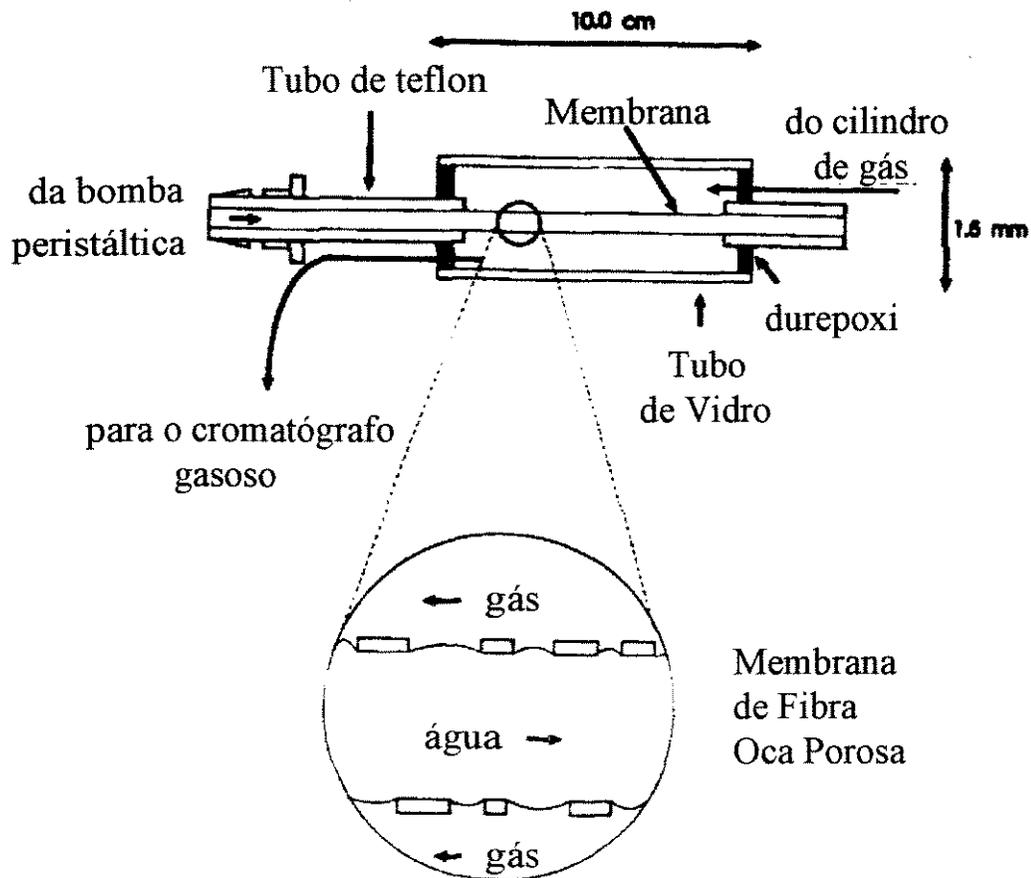


Figura 3.1 - Conexão direta do módulo de membrana de fibra ôca para o Cromatógrafo gasoso.

Este dispositivo envolve o bombeamento de água contendo os compostos orgânicos voláteis pelo interior da membrana tubular enquanto um gás inerte flui em contra-corrente ao redor do exterior da membrana. Os analitos permeiam pela parede da membrana e são arrastados pela fase gasosa para o cromatógrafo gasoso. Neste trabalho foi utilizado bombeamento da amostra com vazão extremamente baixa (da ordem de  $0,02 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ), a qual facilita a extração total dos compostos de interesse [21]. Duas configurações foram testadas: (1) uso de válvula de 10 vias para introduzir o extrato e então chavear a fonte de gás de arraste para análise e (2) conexão direta do módulo de membrana ao injetor modificado do cromatógrafo gasoso. A figura 3.2 ilustra os cromatogramas obtidos neste estudo e fornece dados sobre as condições de extração e concentrações das amostras.

Pela relação sinal-ruído foi estimado um limite de detecção de  $32 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  para tetracloroetano e menores valores para os demais (aproximadamente  $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ). O sistema forneceu curvas analíticas lineares, porém para concentrações de tetracloroetano superiores a  $500 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  ocorre desvio da linearidade, atribuído a efeito de memória da membrana. A figura 3.3 ilustra o efeito de memória da membrana quando é monitorado o decaimento da concentração dos analitos por lavagem da membrana com água pura. Como se nota na figura 3.3 o tetracloroetano exige a passagem de maior volume de água que os outros dois compostos para a completa limpeza da membrana. Portanto, dificuldades podem ser encontradas devido a tempos de limpeza da membrana excessivos.

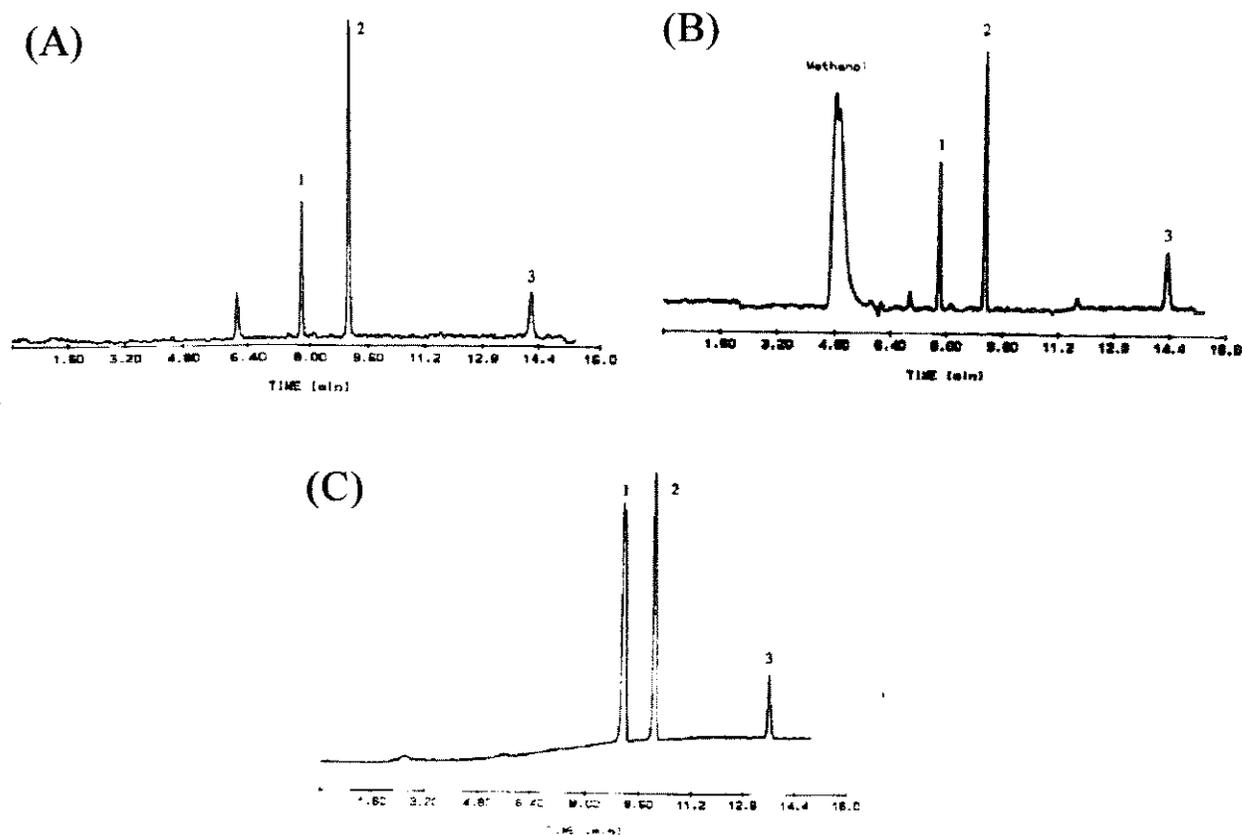


Figura 3.2 - (A) cromatograma de um sistema on-line usando válvula de 10 vias com fibra de polipropileno de 8,0 cm de comprimento e 305  $\mu\text{m}$  de diâmetro interno; (1) 268  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de 1,1,1 tricloroetano, (2) 293  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de tricloroeteno e (3) 325  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de tetracloroeteno. Condições cromatográficas: temperatura do injetor de  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  (1 min) aquecimento de  $250\text{ }^{\circ}\text{C.min}^{-1}$  até  $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ . A coluna foi mantida a  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  (2 min) e aquecida a  $50\text{ }^{\circ}\text{C.min}^{-1}$  até  $55\text{ }^{\circ}\text{C}$  (10 min). O DIC foi mantido aquecido a  $275\text{ }^{\circ}\text{C}$ . (B) cromatograma de um sistema on-line usando válvula de 10 vias com fibra de silicone de 8,0 cm de comprimento e 305  $\mu\text{m}$  de diâmetro interno; (1) 268  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de 1,1,1 tricloroetano, (2) 293  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de tricloroeteno e (3) 325  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de tetracloroeteno. Condições cromatográficas como as da figura 3.2 A. (C) cromatograma de um sistema on-line com fibra de polipropileno de 8,0 cm de comprimento e 100  $\mu\text{m}$  de diâmetro interno; (1) 13400  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de 1,1,1 tricloroetano, (2) 14600  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de tricloroeteno e (3) 16200  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de tetracloroeteno. Condições cromatográficas como as da figura 3.2 A.

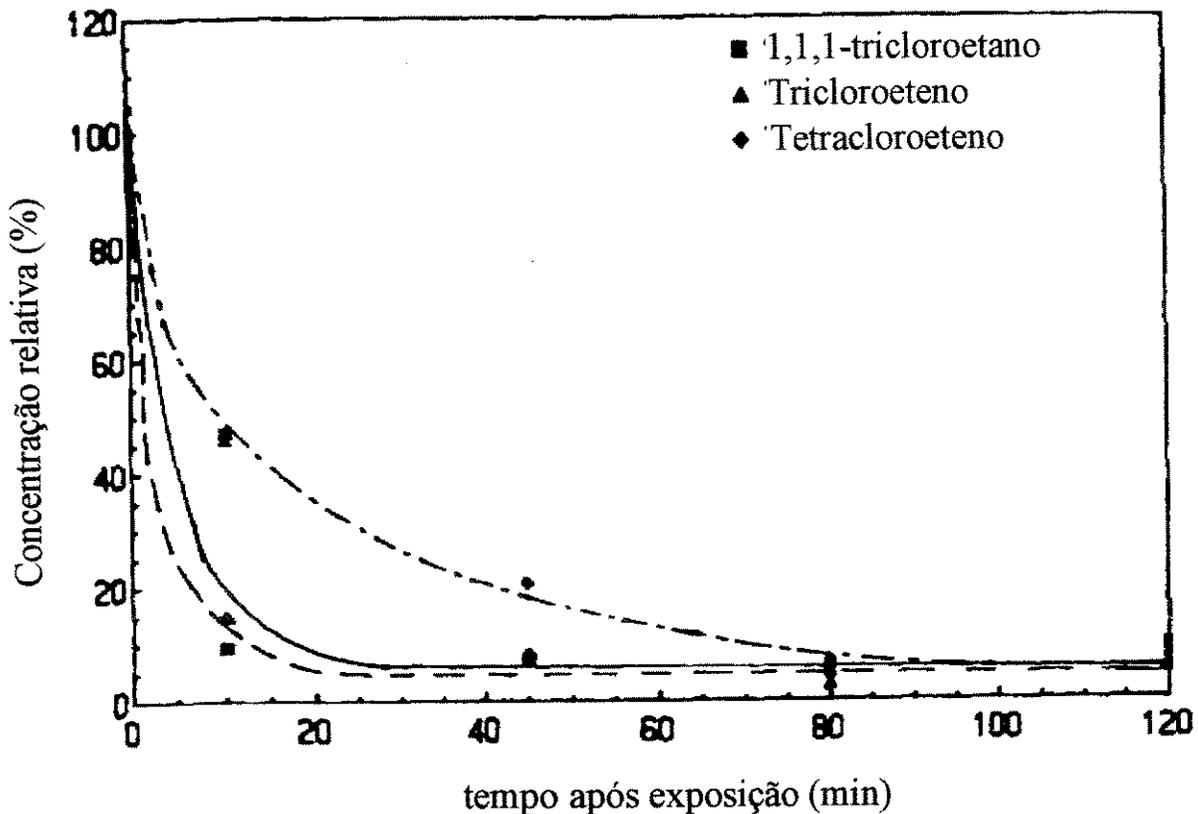


Figura 3.3 - Retenção de 1,1,1 tricloroetano, tricloroeteno e tetracloroeteno pela fibra de polipropileno microporosa.

Em 1993 Pawiszyn e Yang [22] utilizaram um sistema de extração por membranas em conjunto com um sistema multiplex de CG para o monitoramento de compostos orgânicos voláteis. O sistema multiplex permite várias injeções cromatográficas sem necessidade de esperar que o último componente de uma mistura elua da coluna. Neste sistema a coluna responde independentemente para cada injeção e o cromatograma apresenta uma sobreposição dos picos cromatográficos das diferentes injeções. Este cromatograma pode ser interpretado por programas computacionais relacionando o sinal da injeção com o sinal do detector. Assim, em relação ao sistema convencional de injeção em CG ocorre sensível redução no tempo entre cada injeção pois estas são realizadas com elevada frequência para dentro da coluna cromatográfica. A figura 3.4 ilustra o esquema geral dos principais componentes deste sistema, o qual utilizou os primeiros 8 cm da coluna cromatográfica em conjunto com baixas temperaturas para reter os compostos

orgânicos voláteis - o qual foi denominado por MESI, do inglês *Membrane Extration Sorbent Interface*.

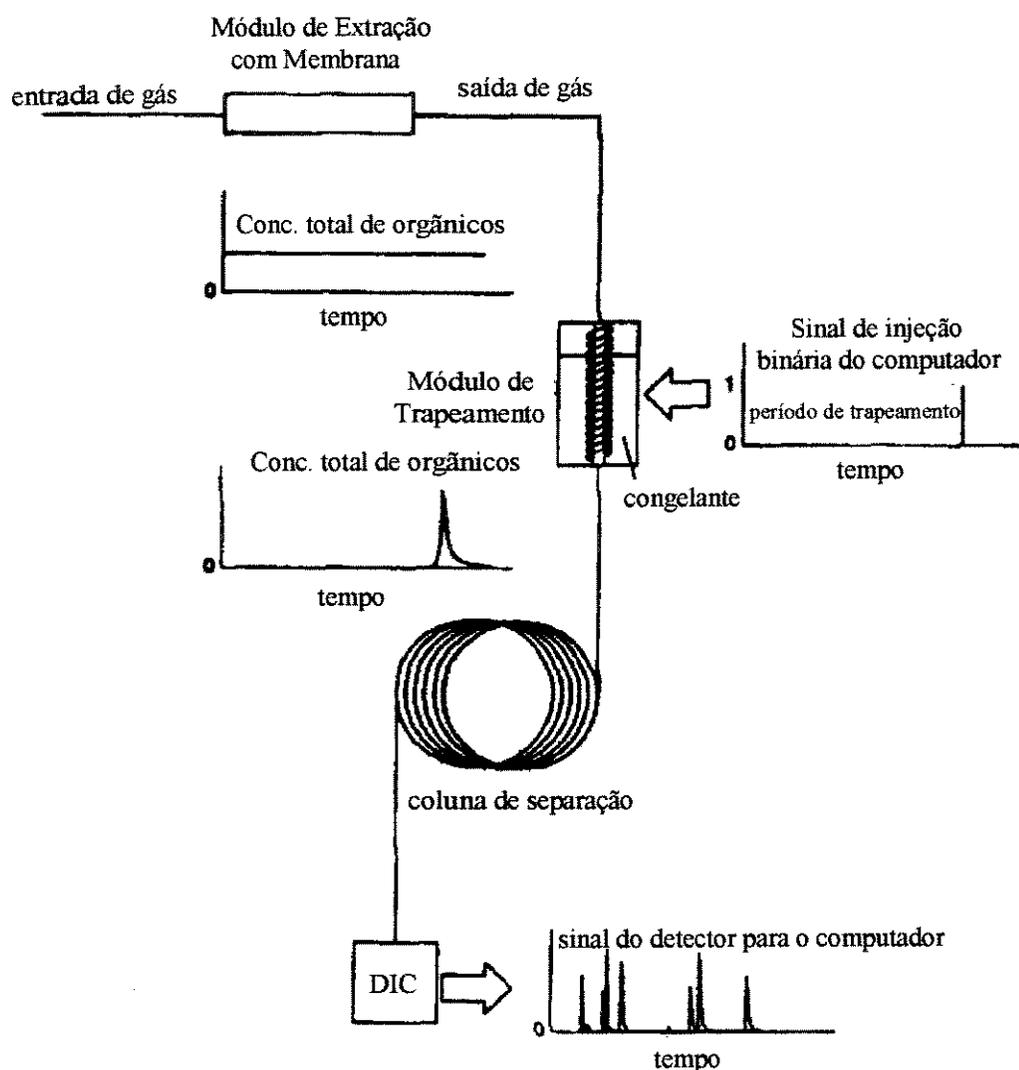


Figura 3.4 - Esquema mostrando os principais componentes do sistema MESI

Temperatura suficientemente alta para garantir a dessorção dos analitos é conseguida por aquecimento da coluna com resistência elétrica. A passagem de corrente elétrica pela resistência é controlada por um computador. Os estudos com o sistema multiplex apresentaram boa linearidade para os compostos testados e baixos valores de desvio padrão relativos. A tabela 3.1 contém os resultados obtidos pelo sistema multiplex e a figura 3.5 mostra um cromatograma obtido para uma amostra aquosa de vários compostos orgânicos voláteis em concentrações de  $200 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

Tabela 3.1 - Dados de calibração baseado na intensidade de sinal dos picos dos componentes obtidos com uma vazão de amostra de 2,7 mL.h<sup>-1</sup>.

Conc. (µg.L <sup>-1</sup> )	1,1,1 tricloroetano		tricloroetano	
	Intensidade de Sinal	DPR <sup>a</sup> (%)	Intensidade de Sinal	DPR (%)
533	35217	3,1	55840	2,7
888	53235	3,0	99026	2,8
1331	93079	2,7	133973	2,7
2663	165010	2,3	243924	2,2

<sup>a</sup> desvio padrão relativo

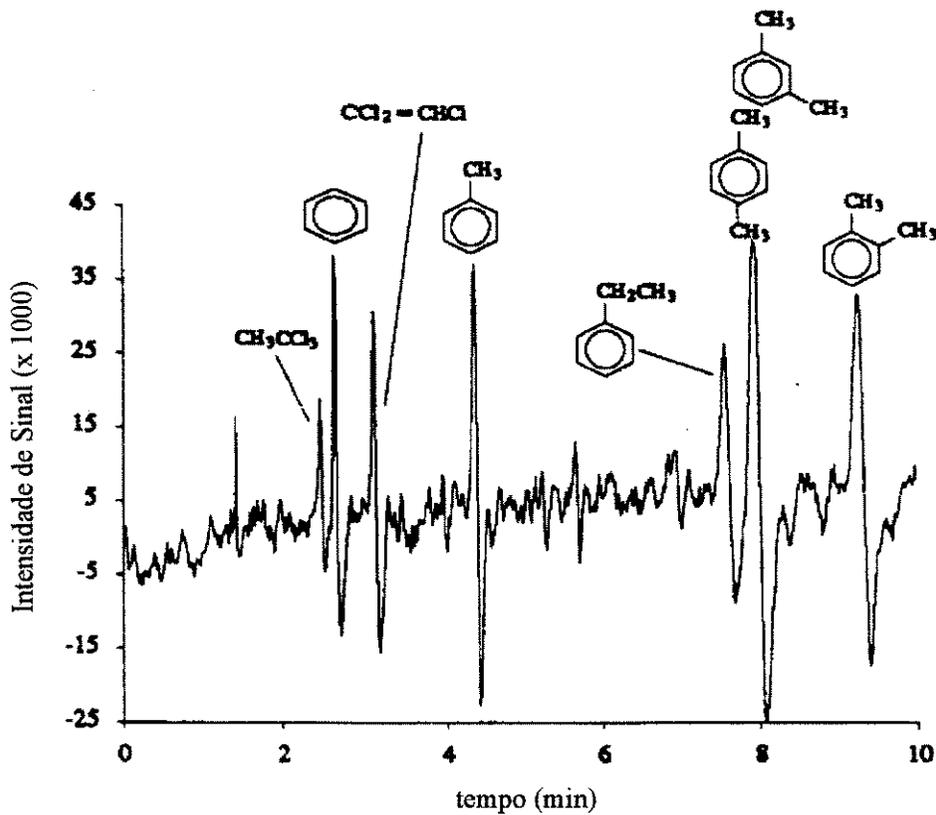


Figura 3.5 - Cromatograma mostrando a detecção de uma mistura de vários compostos orgânicos voláteis, em concentrações de 200 µg.L<sup>-1</sup>, da análise de água usando o sistema de membrana tubular e CG multiplex. A análise durou 2046 s, e a temperatura da coluna foi mantida em 70 °C. A amostra de água foi introduzida a uma vazão de 1 mL.h<sup>-1</sup>.

Um sistema de membranas usado em condições de altas pressões para a análise de compostos orgânicos semi-voláteis foi testado [23]. Neste sistema CO<sub>2</sub>

líquido foi utilizado a pressão de 3000 psi e temperatura ambiente (23 °C) como fase de stripping. Amostras aquosas contendo 2,4 dimetilfenol e 2,4 diclorofenol em concentrações de 20 mg.L<sup>-1</sup> foram usadas neste estudo. A recuperação dos fenóis foi de aproximadamente 70% e os desvios padrão relativo de 7%.

Recentemente, Pawliszyn e col. [24] testaram várias configurações do módulo de extração por membrana utilizando o sistema MESI. Os diferentes módulos de membrana são mostrados na figura 3.6 e a tabela 3.2 contém os dados que relacionam intensidade de pico cromatográfico dos vários módulos de membrana para diferentes concentrações de tricloroetano em água.

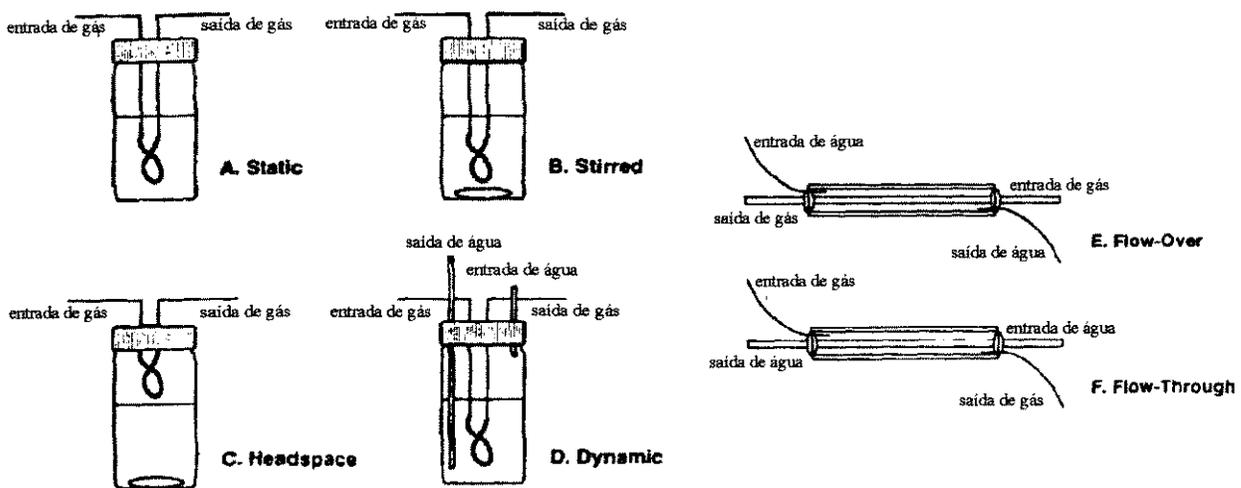


Figura 3.6 - Diferentes configurações do módulo de extração por membrana para análise de compostos orgânicos voláteis. Obs: Na tabela 3.2 os nomes dos módulos de extração estão em inglês para concordar com a figura 3.6, inclusive pela dificuldade de traduzir "flow-over" e "flow-through".

Tabela 3.2 - Intensidade de picos cromatográficos obtidos com vários módulos de membrana para diferentes concentrações de tricloroeteno em água.

Módulo	Intensidade de pico <sup>e</sup>						DPR <sup>d</sup> (%)
	1 $\mu\text{g.L}^{-1}$	10 $\mu\text{g.L}^{-1}$	50 $\mu\text{g.L}^{-1}$	100 $\mu\text{g.L}^{-1}$	500 $\mu\text{g.L}^{-1}$	1000 $\mu\text{g.L}^{-1}$	
Static <sup>a</sup>	nada	nada	1755	2280	11560	21600	12,8
Stirred <sup>a</sup>	nada	nada	5180	10400	58100	100100	3,0
Headspace <sup>a</sup>	nada	nada	4230	9920	46200	103400	2,0
Dynamic <sup>b</sup>	nada	2120	4270	12090	58600	124900	4,0
Flow-Over <sup>c</sup>	nada	nada	973	2320	9920	21700	5,8
Flow-through <sup>c</sup>	53	305	1649	3870	16660	36100	2,6

<sup>a</sup> tempo de trapeamento de 17 min; <sup>b</sup> tempo de trapeamento de 17 min com vazão da amostra de  $0,33 \text{ mL.min}^{-1}$ ; <sup>c</sup> tempo de trapeamento de 5 min com vazão de amostra de  $0,14 \text{ mL.min}^{-1}$ ; <sup>d</sup> 4 replicatas a concentração de  $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ ; <sup>e</sup> unidades arbitrárias.

Em condições otimizadas o limite de detecção para tricloroeteno foi de  $1 \mu\text{g.L}^{-1}$  e o desvio padrão relativo abaixo de 3%. Neste trabalho, Pawliszyn e col. estudaram alguns parâmetros que influenciam a sensibilidade e precisão do sistema MESI, como por exemplo a influência da vazão da amostra aquosa sobre a sensibilidade do sistema. A figura 3.7 demonstra a relação entre a intensidade do pico de um composto e a vazão da amostra. Esta figura sugere que o aumento da vazão da amostra levaria a um patamar de permeação dos analitos pela membrana.

Nesta mesma época Mitra e Xu [18] desenvolveram um sistema de monitoramento contínuo de compostos orgânicos voláteis em água baseado em extração por membrana e *microtrap*. Neste sistema foi utilizado membrana de silicone de 20 cm de comprimento com espessura de parede de  $16 \mu\text{m}$ . O *microtrap* era composto de um tubo de aço inoxidável de  $0,52 \text{ mm}$  de diâmetro interno e  $14 \text{ cm}$  de comprimento preenchido com Carboxen 100 de 60 mesh ( $0,25 \text{ mm}$ ). Mitra e Chen [25] utilizaram as configurações “flow-over” e “flow-through” e  $\text{N}_2$  como gás extrator. Devido ao tempo de *break through* - tempo máximo de capacidade de reter os analitos - o

tempo máximo de extração foi de 2 min. Este sistema forneceu limites de detecção abaixo de  $\mu\text{g.L}^{-1}$ .

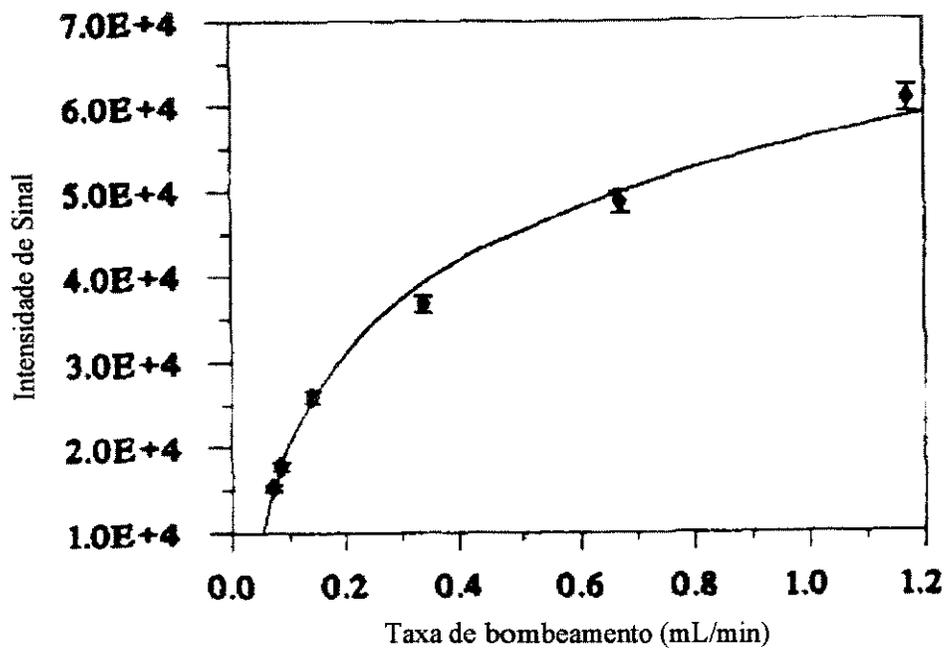


Figura 3.7 - Efeito da taxa de bombeamento sobre a intensidade do pico do composto na análise de uma amostra de  $500 \mu\text{g.L}^{-1}$  de tricloroeteno usando modo de membrana *flow-through*.

### 3.2 - Microextração em Fase Sólida

A microextração em fase sólida, mais conhecida pela sigla SPME - de Solid Phase Microextraction, foi recentemente introduzida por Pawliszyn conforme descrito por Eisert e Levsen [26]. Trata-se de recobrir uma fina haste de sílica fundida de diâmetro em torno de 0,3 mm com um adsorvente. Exemplificando, seria como uma coluna capilar de sílica fundida invertida, onde o filme polimérico está do lado de fora. A base deste método está na fase imobilizada (polidimetilsiloxano, poliacrilatos) atuando como uma fase estacionária, para extração direta de traços de compostos orgânicos da água, onde a fibra é imersa. Deste modo, ocorre a partição dos analitos entre a amostra aquosa e o filme polimérico, com uma relação linear entre a concentração do analito na solução aquosa e a quantidade absorvida pela fibra [26].

Após a absorção, a fibra é transferida para dentro do injetor aquecido do cromatógrafo gasoso. Os analitos são dessorvidos da fase polimérica devido ao injetor aquecido e ao fluxo de gás de arraste do cromatógrafo. Se as condições de absorção na amostra e as condições de dessorção no injetor do cromatógrafo forem reproduzíveis haverá uma resposta linear do detector de CG [26]. A figura 3.8 ilustra o processo de extração da SPME e o equipamento de amostragem.

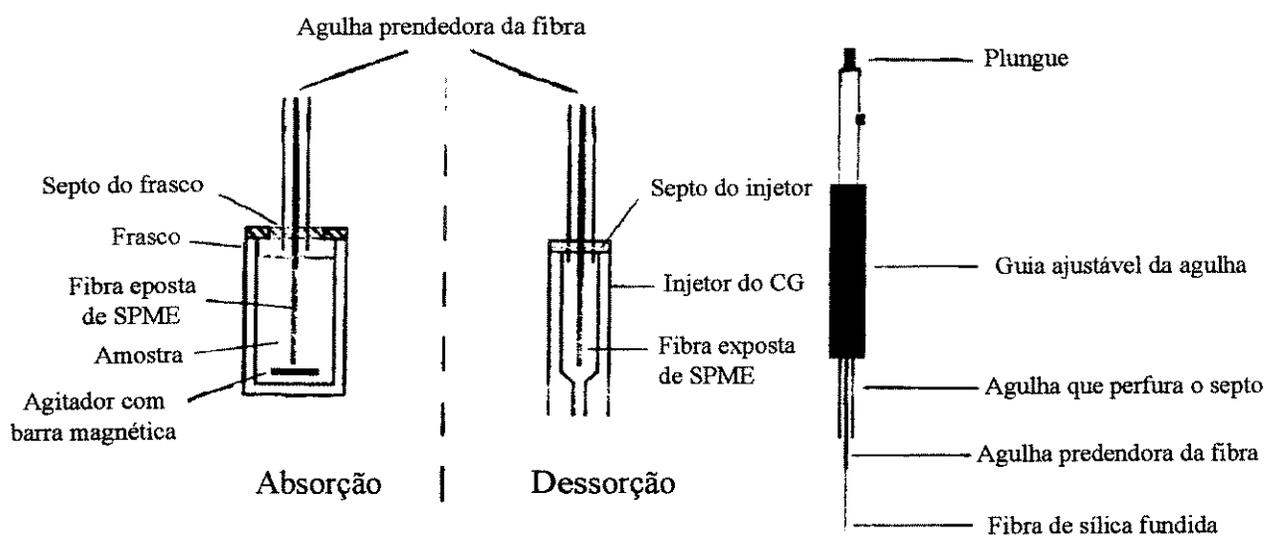


Figura 3.8 - Ilustração do processo de SPME e equipamento de amostragem.

A fibra pode ser utilizada para muitos ciclos de extrações e a quantidade de amostra necessária para análise é muito pequena (1-5 mL). A SPME é aplicável nas mais diversas matrizes, incluindo ar [27], água [28] e solo [29].

O desenvolvimento de métodos analíticos utilizando SPME envolve a realização de 2 etapas: (1) estabelecer o tempo de equilíbrio de partição dos analitos entre a fase estacionária e a matriz da amostra e (2) otimizar as condições cromatográficas. O estabelecimento do tempo de equilíbrio de partição depende do modo que o SPME é utilizado. Tempos relativamente curtos de equilíbrio são conseguidos se a amostra aquosa sofre agitação. Neste caso, uma camada de água permanece sobre a superfície da fibra polimérica permitindo que o tempo de equilíbrio final seja determinado pela difusão através desta camada. No caso de um processo estático o

transporte dos analitos é limitado pela difusão na fase aquosa e na camada de água sobre a fibra; durante o processo de absorção, o gradiente de concentração nesta camada está constantemente diminuindo, implicando na redução do fluxo de analitos para a fibra. Alguns estudos indicaram tempos de equilíbrio dos compostos BTEX (Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e os isômeros Xilenos) variam de 2 a 5 min. Quanto à otimização das condições cromatográficas, alguns fatores tem de ser considerados. A fibra deve sofrer o processo de dessorção por um período de 1-2 min a uma temperatura levemente acima do ponto de ebulição do analito menos volátil. Como o processo de dessorção dos analitos da fibra pode demandar 20-30 s, o qual é muito maior do que o tempo de largura de um pico cromatográfico em uma coluna capilar, é necessário reter (trapear) os analitos no início da coluna utilizando baixas temperaturas. Em condições otimizadas foi possível alcançar limites de detecção de  $1 \mu\text{g.L}^{-1}$  e desvios padrão relativo de 4-6% para compostos BTEX utilizando um detector por ionização em chama (DIC) [30].

A primeira aplicação da SPME utilizou uma fibra recoberta com 1 mm de espessura de poliimida que foi exposta a solução de 1,1,1 tricloroetano, tricloroeteno e percloroeteno [31]. A figura 3.9 mostra um cromatograma obtido pela dessorção dos analitos da fibra. O aparecimento de cauda nos picos cromatográficos foi atribuído à isoterma de dessorção do polímero constituinte da fibra.

A diminuição das caudas dos picos cromatográficos foi conseguida com fibra não recoberta para a determinação de compostos bifenólicos policlorados e BTEX [31]. Nos trabalhos subsequentes este problema foi solucionado pela utilização de temperaturas do forno do cromatógrafo abaixo do ponto de ebulição do componente que primeiro elui da coluna. Modelos matemáticos foram estudados para o processo de extração com SPME utilizando BTEX como compostos teste [32,33].

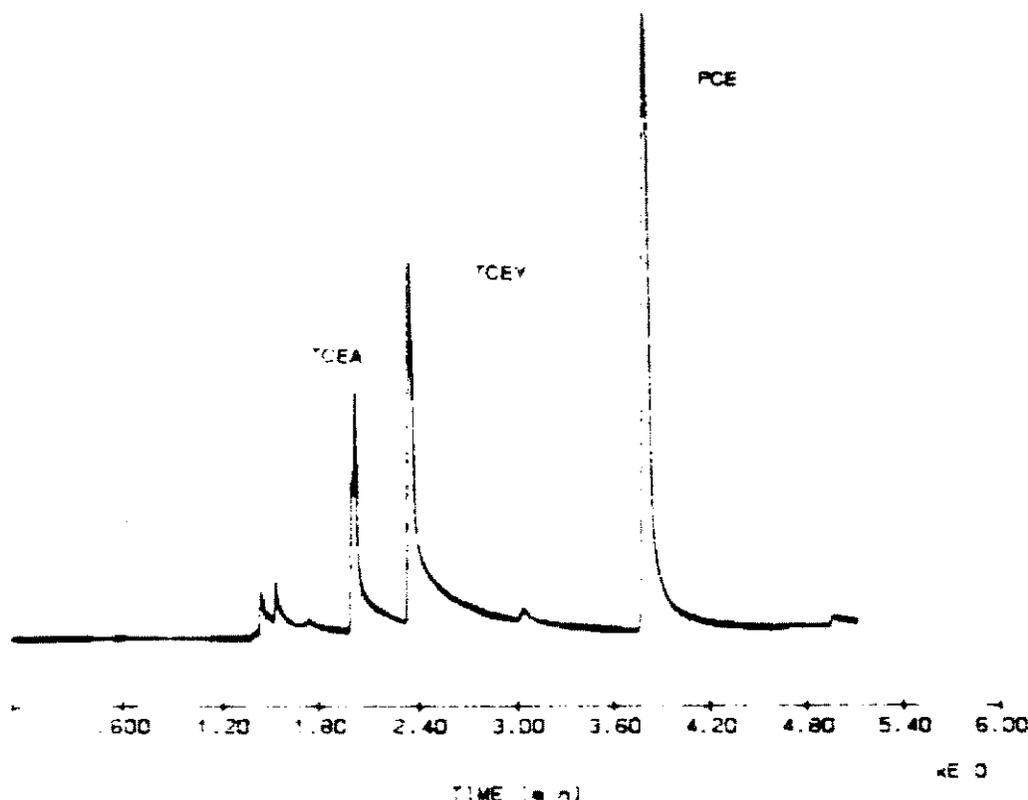


Figura 3.9 - Separação de 1,1,1 tricloroetano (TCEA), tricloroeteno (TCE) e percloroetileno (PCE) após dessorção da fibra encamisada com poliimida. As concentrações foram, respectivamente, 0,69, 0,75 e 0,83  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Condições cromatográficas foram: gás de arraste: 29  $\text{cm.s}^{-1}$ , make-up ( $\text{N}_2$ ): 24  $\text{mL.min}^{-1}$ , temp. do injetor: 275  $^{\circ}\text{C}$ , temp. do forno: 60  $^{\circ}\text{C}$  (isotérmica) e temp. do detector: 325  $^{\circ}\text{C}$ .

Os fatores que afetam a amostragem, precisão e exatidão do método da SPME foram extensivamente estudados para BTEX [32,34], benzenos substituídos [35] e compostos orgânicos clorados [36]. Entre estes fatores estão o efeito da posição da fibra no injetor durante o processo de dessorção, temperatura de dessorção, agitação e temperatura da amostra durante o processo de absorção, concentração de NaCl e variação de pH, temperatura crioscópica do forno do cromatógrafo e espessura do filme da fibra. A figura 3.10 representa um cromatograma de corrente iônica obtido da análise de uma mistura de compostos orgânicos.

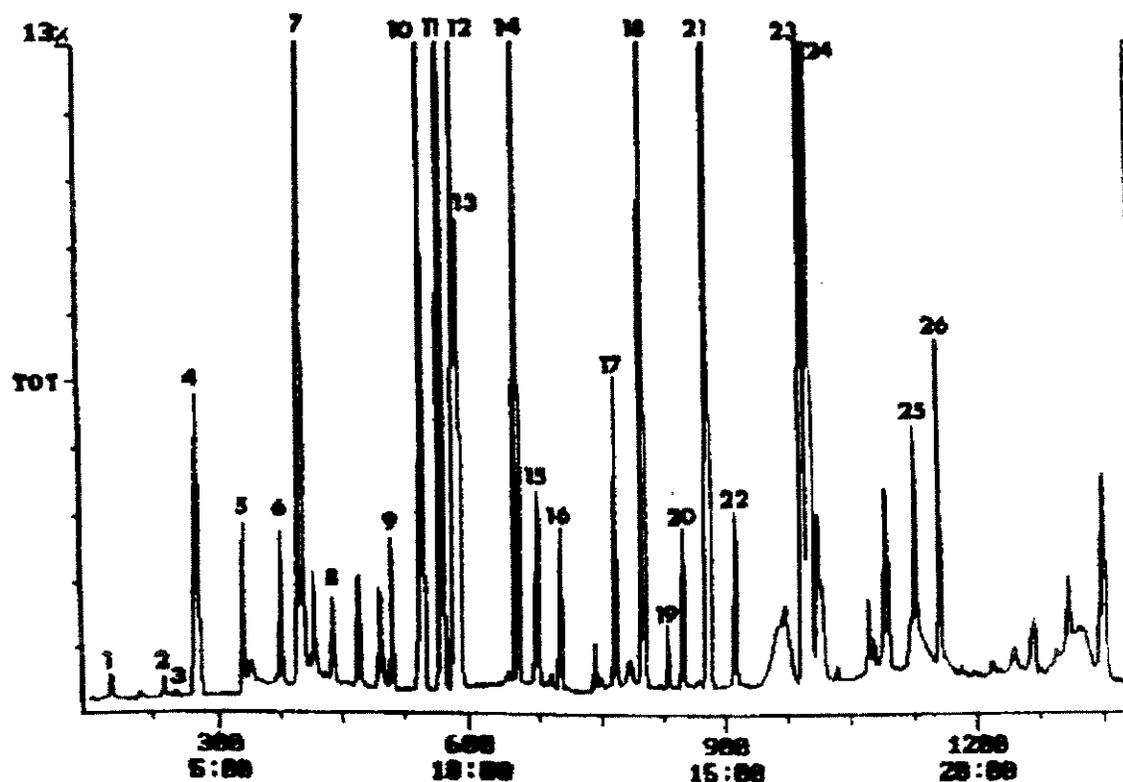


Figura 3.10 - Cromatograma de corrente iônica obtido pela análise de uma mistura contendo os componentes determinados pela EPA método 624: (1) cloreto de vinila, (2) bromometano, (3) cloroetano, (4) triclorofluormetano, (5) 1,1 dicloroetano, (6) diclorometano, (7) trans dicloroetano, (8) 1,1 dicloroetano, (9) clorofórmio, (10) 1,1,1 tricloroetano, (11) tetracloreto de carbono, (12) d6-benzeno, (13) benzeno, (14) tricloroetano, (15) 1,2 dicloropropano, (16) bromodiclorometano, (17) cis-dicloropropeno, (18) tolueno, (19) trans-dicloropropeno, (20) 1,1,2 tricloroetano, (21) percloroetano, (22) dibromoclorometano, (23) clorobenzeno, (24) etilbenzeno, (25) bromofórmio e (26) tetracloroetano.

Os dados da tabela 3.3 confrontam os limites de detecção obtidos pelo uso da SPME com os métodos EPA 624 e 524.2 (respectivamente, *head-space* e purga e trapeamento), com detecção por espectrometria de massas, para os compostos mostrados no cromatograma da figura 3.10 [36].

Tabela 3.3 - Comparação dos limites de detecção ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )

Composto	SPME	Método 624	Método 524.2
Clorometano	-	n.d. <sup>a</sup>	0,13
Cloreto de vinila	0,3	n.d.	0,17
Bromometano	1	n.d.	0,11
Cloroetano	-	n.d.	0,1
Triclorofluormetano	0,03	n.d.	0,08
1,1 dicloroetano	1	2,8	0,12
Diclorometano	3	2,8	0,03
trans 1,2 dicloroetano	3	2,8	0,06
1,1 dicloroetano	0,1	4,7	0,04
Clorofórmio	0,1	1,6	0,03
1,1,1 Tricloroetano	0,03	3,8	0,08
Tetracloroeto de carbono	0,01	2,8	0,21
Benzeno	0,03	4,4	0,04
Tricloroetano	0,07	1,9	0,19
1,2 Dicloropropano	0,2	6,0	0,04
Bromodiclorometano	0,07	2,2	0,08
cis 1,3 Dicloropropeno	1,0	5,0	0,04
tolueno	0,07	6,0	0,11
trans 1,3 Dicloropropeno	1,0	5,0	0,04
1,1,2 Tricloroetano	0,5	5,0	0,10
Tetracloroetano	0,005	4,1	0,14
Dibromoclorometano	0,03	3,1	0,05
Clorobenzeno	0,007	6,0	0,04
Etilbenzeno	0,001	7,2	0,06
Bromofórmio	0,07	4,7	0,12
1,1,2,2 Tetracloroetano	0,01	6,9	0,04

<sup>a</sup> n.d. - não detectado

Um modelo matemático e fatores experimentais foram estudados para a extração por SPME do *headspace* de soluções aquosas de BTEX e compostos

aromáticos polinucleares [37]. Um dispositivo de SPME com resfriamento interno foi utilizado para a análise do *headspace* de amostras de diferentes matrizes [38]. Neste arranjo é feito simultaneamente o aquecimento da matriz da amostra e o resfriamento da fibra encamisada. Isto facilita a transferência de massa dos analitos para o *headspace* da amostra e também cria uma diferença de temperatura entre a fibra encamisada e o *headspace*, o qual aumenta significativamente os coeficientes de partição dos analitos, elevando o limite de detecção para níveis de sub-partes por trilhão. A figura 3.11 mostra esta modificação da SPME.

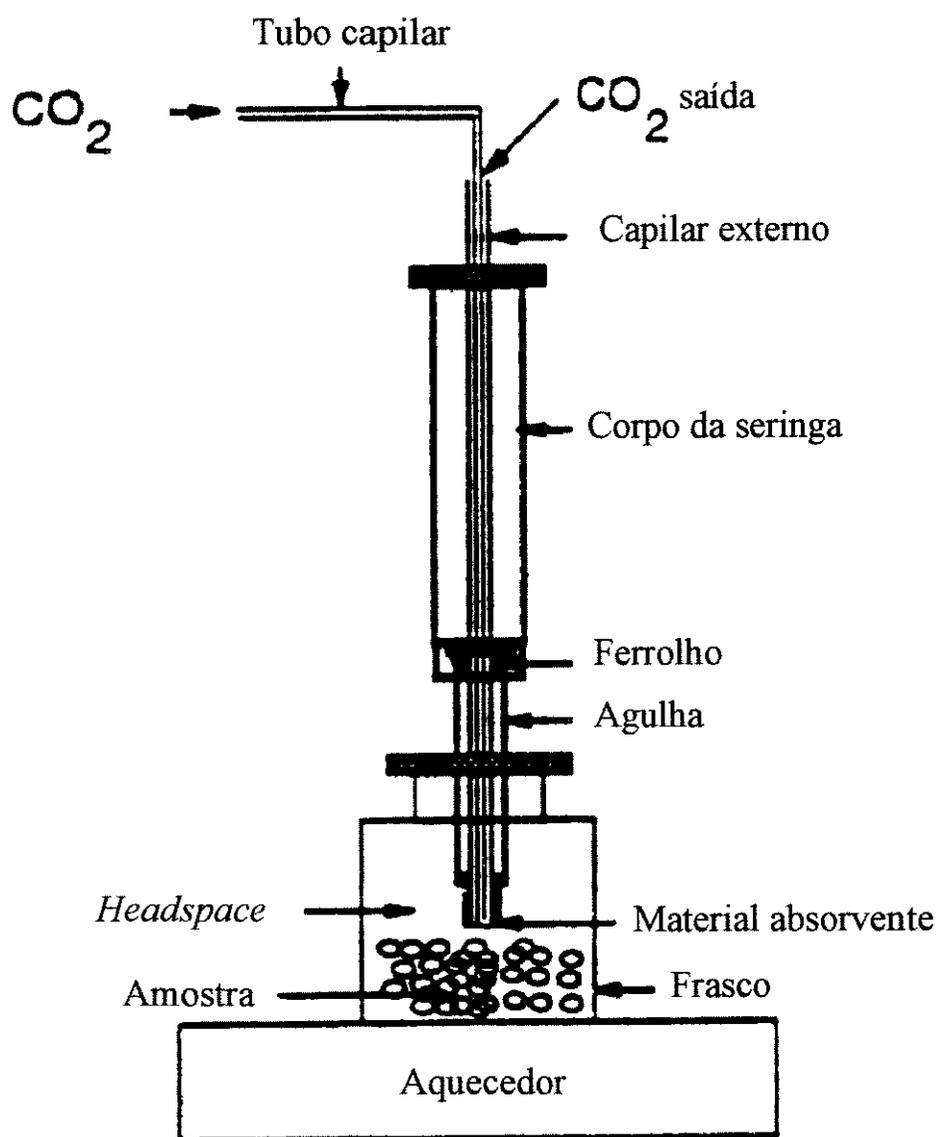


Figura 3.11 - Dispositivo de SPME ajustado para congelamento interno.

Outro arranjo desenvolvido por Pawliszyn e Zhang, figura 3.12, foi a combinação da SPME com uma seringa *gastight* [39]. Para compostos muito voláteis este arranjo apresenta sensibilidade melhor do que a SPME e para compostos menos voláteis este arranjo apresenta sensibilidade melhor do que análise de *headspace* estático. O limite de detecção estimado para este arranjo está abaixo de  $\text{ng.L}^{-1}$  (partes por trilhão).

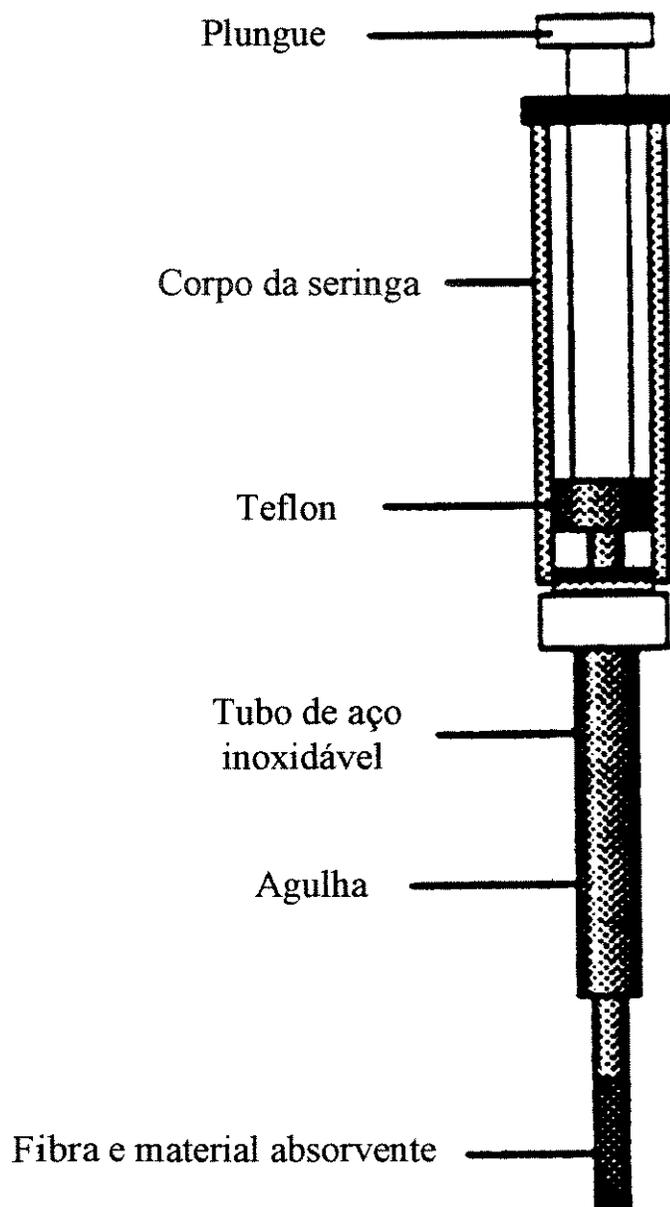


Figura 3.12 - Dispositivo *gastight* - SPME.

Eisert e Levsen [28] utilizaram pela primeira vez a SPME para a análise de 34 pesticidas tais como triazinas, organofosforados e 2,6 dinitroanilina em níveis de concentração exigido pela União Européia. Neste trabalho, o limite de detecção do método utilizando um detector de nitrogênio-fósforo variou de 0,005 a 0,09  $\mu\text{g.L}^{-1}$  e a precisão de 1 a 18 %. Pawliszyn e Boyd-Boland [40] analisaram herbicidas contendo nitrogênio em sua estrutura utilizando detectores de nitrogênio-fósforo, ionização em chama e espectrômetro de massas. O limite de detecção encontrado variou de níveis de  $\text{ng.L}^{-1}$  a sub  $\text{ng.L}^{-1}$ . Dean e col. [41] automatizaram a análise por SPME de herbicidas s-triazinas semi-voláteis utilizando amostradores automáticos. Eles também estudaram a influência de alguns fatores experimentais: tempo de absorção, temperatura de dessorção, variação da espessura do filme polimérico e temperatura crioscópica do forno.

### 3.3 - Microextratores Líquido-Líquido

Nas extrações convencionais líquido-líquido, os extratos obtidos são comumente muito diluídos e impedem a detecção de traços de compostos a nível de  $\text{ng.L}^{-1}$ . A redução da razão solvente-água, o uso de detectores mais sensíveis, a injeção de grandes quantidades de amostra ou a pré-concentração do extrato são providências necessárias para contornar este problema. Processos de redução da razão solvente-água levam a extratos mais concentrados, porém podem acarretar perdas de componentes-traço. Além disto, podem aumentar interferências, pois as impurezas do solvente extrator são concentradas juntamente com os analitos. Grandes volumes de solvente extrator podem ser evaporados usando um evaporador rotatório ou um concentrador evaporativo Kuderna-Danish [42,43]. Entretanto não é possível a redução de centenas de mililitros para menos que 1 mL utilizando um único aparelho. Por isto, inicialmente as amostras são concentradas para 5-10 mL e, depois, transferidas para um micro evaporador Kuderna-Danish ou um concentrador evaporativo com taxa de evaporação controlada [42]. Como o processo de evaporação do solvente é vagaroso e há possibilidades de contaminação da amostra pelo solvente e pelo material de vidro, métodos de microextração líquido-líquido, utilizando

pequenos volumes de solvente, são atrativos e compatíveis com o tamanho da amostra requeridos pelas técnicas cromatográficas [42].

Alguns métodos de microextração líquido-líquido tornaram-se populares devido à economia de solventes, facilidade de extração, rapidez de análise e por não requerem etapas posteriores de concentração [42].

A figura 3.13 representa um micro reator Keele, que permite a realização de reações, derivatizações e extrações da amostra utilizando volumes de amostra e de produtos, compostos derivatizados ou extratos da ordem de microlitros [44].

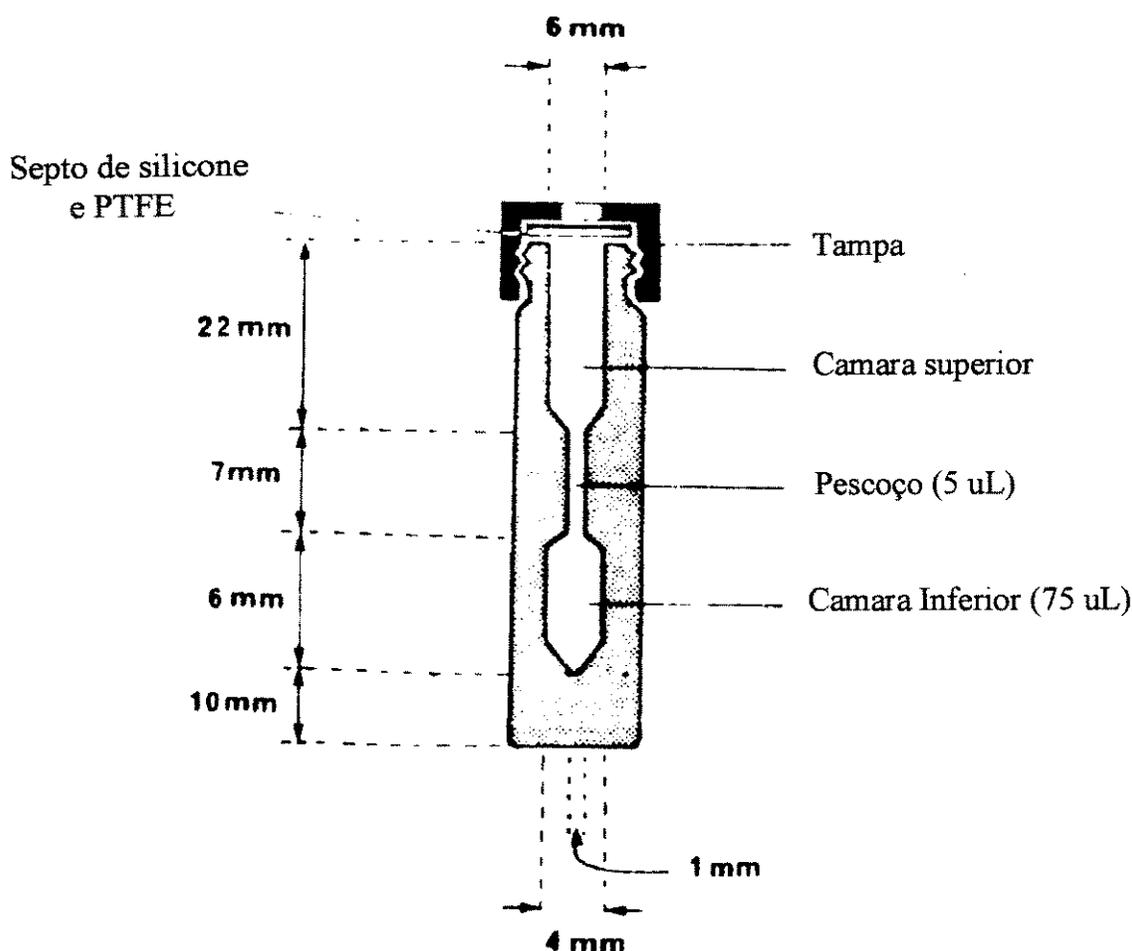


Figura 3.13 - Micro reator Keele.

Este dispositivo pode ser utilizado em condições anidras, pressões moderadas e temperatura abaixo ou acima da ambiente. O solvente extrator pode ter densidade maior ou menor que a da amostra. A tabela 3.4 contém dados de recuperação de alguns compostos em água utilizando o micro reator Keele.

Tabela 3.4 - Recuperação da água destilada usando o procedimento do reator Keele

Composto	massa, ng	% recuperação média $\pm$ DPR <sup>a</sup> (%)		
		1 <sup>a</sup> extração	2 <sup>a</sup> extração	3 <sup>a</sup> extração
Z-5-decenilacetato	80	50,8 $\pm$ 1,3	20,2 $\pm$ 0,9	8,9 $\pm$ 0,8
2,3,5 trimetilpirazina	75	45,5 $\pm$ 3,5	18,7 $\pm$ 1,3	11,8 $\pm$ 1,2
pentadecano	85	61,7 $\pm$ 1,6	17,4 $\pm$ 1,4	7,8 $\pm$ 0,3
6 pentadecano	90	63,7 $\pm$ 1,4	18,2 $\pm$ 1,2	9,6 $\pm$ 0,4
metil-9-oxo-2E-decenoato	85	54,7 $\pm$ 1,5	22,4 $\pm$ 0,9	6,9 $\pm$ 0,5
3 octanol	70	41,7 $\pm$ 1,0	19,9 $\pm$ 1,6	11,3 $\pm$ 0,8

<sup>a</sup> média de 5 extrações

Um outro microextrator, de operação rápida e simples, onde volumes como de 1 L de solução aquosa são extraídos com 0,5-1 mL de solvente extrator, com imediata análise por CG, foi desenvolvido por Grob [45]. Este microextrator permite determinações a nível de  $\text{ng.L}^{-1}$ . Posteriormente, um dispositivo de microextração rápida similar ao de Grob [45] foi desenvolvido e está representado na figura 3.14 [46].

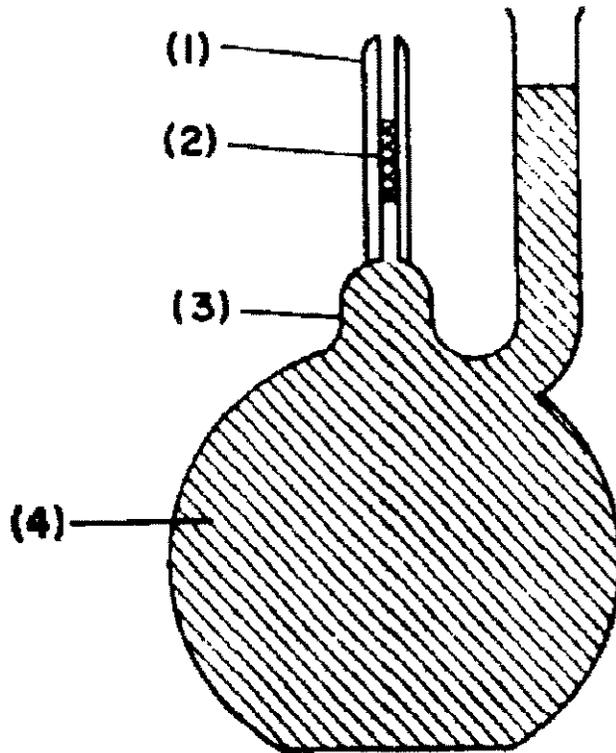


Figura 3.14 - Frasco de microextração. (1) Tubo capilar, (2) camada de solvente, (3) frasco volumétrico de 1 L modificado e (4) amostra de água.

Este dispositivo permite extrações de até 980 mL de amostra de água utilizando 200  $\mu\text{L}$  de solvente extrator. Os analitos são extraídos por agitação e, após separação das fases por decantação, adiciona-se água através do braço lateral, forçando o solvente a sair pelo tubo capilar, onde ele pode ser amostrado por uma seringa. A tabela 3.5 contém informações sobre as recuperações alcançadas com este dispositivo, com uma e três etapas sucessivas de extração.

Tabela 3.5 - Recuperações da água usando o microextrator líquido-líquido

Composto	Conc.	1 estágio extração (%)	DPR <sup>a</sup>	3 estágios extração (%) <sup>b</sup>
Aldrin	10 ng.L <sup>-1</sup>	47,9	5,6	89,4
Heptaclor epoxi		58,5	8,2	91,3
$\alpha$ -cis-Clordano		59,2	10,2	92,0
Dieldrin		62,2	10,0	92,6
n Decano	50 $\mu$ g.L <sup>-1</sup>	69,3	3,7	98,6
n Dodecano		60,3	3,3	97,3
n Tetradecano		56,0	3,9	96,7
n Hexadecano		52,9	2,9	96,4
Dibutil ftalato	2,5 $\mu$ g.L <sup>-1</sup>	65,5	5,9	96,6
Butilglicoliilbutilftalato	25 $\mu$ g.L <sup>-1</sup>	43,6	4,0	89,7

<sup>a</sup> 4 análises de 4 extratos; <sup>b</sup> os 3 extratos são misturados.

Recentemente, um microextrator líquido-líquido, representado na figura 3.15, foi desenvolvido [3]. Neste dispositivo 400 mL de amostra aquosa é saturada com NaCl e extraída com 500  $\mu$ L de solvente extrator. Após 20 min de agitação mecânica, uma solução de NaCl saturada é adicionada do balão A para o frasco que contém a amostra, com o que o extrato é deslocado para o topo do frasco para coleta. O extrato é então analisado diretamente por CG. Níveis de concentração de pesticidas testados variaram de 50 a 500 ng.L<sup>-1</sup> e os resultados de porcentagens de recuperação e desvios padrão relativo estão indicados na tabela 3.6. Um cromatograma obtido utilizando este microextrator líquido-líquido esta representado na figura 3.16.

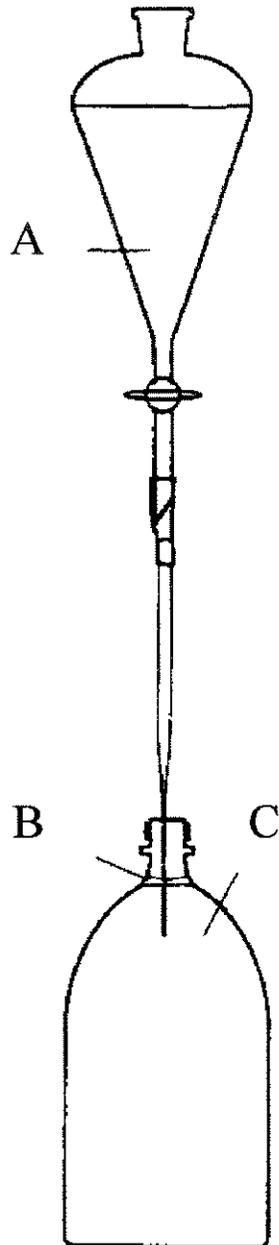


Figura 3.15 - Equipamento simples para levar a fase de tolueno para o pescoço do frasco. (a) funil de separação preenchido com solução de NaCl saturada, (b) camada de solvente e (c) amostra.

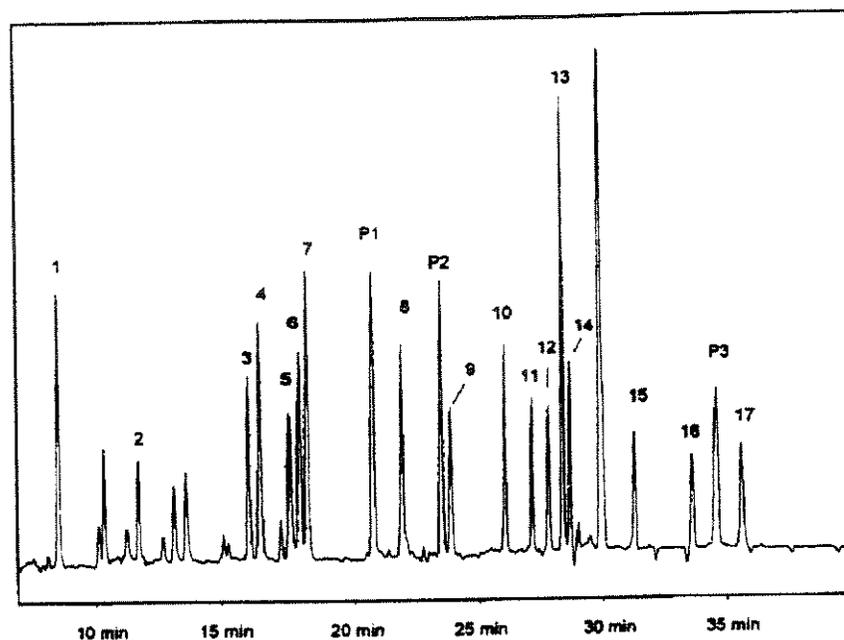


Figura 3.16 - Cromatograma de um extrato obtido com o microextrator da figura 3.15 quando analisada uma amostra aquosa fortificada com inseticidas clorados ( $100 \text{ ng.L}^{-1}$ ). Picos: (1) diclobenil, (2) pentaclorobenzeno, (3)  $\alpha$ -HCH, (4) hexaclorobenzeno, (5)  $\beta$ -HCH, (6) lindano, (7) quinzona, (8) heptacloro, (9) aldrin, (10) heptacloro epoxi - trans, (11) o,p DDE, (12) clorofenson, (13) dieldrin, (14) o,p DDD, (15) p,p DDT, (16) metoxyclo, (17) mirex, (P1) dibutilftalato, (P2) diisobutilftalato e (P3) di-2-etilexilftalato. Sendo P1, P2 e P3 padrões internos. Detector utilizado: DCE

Tabela 3.6 - Recuperação de amostra aquosa dopadas com 50, 100 e 500 ng.L<sup>-1</sup> de alguns pesticidas utilizando o microextrator desenvolvido por Zapf e col. [3].

Composto	50 ng.L <sup>-1</sup>		100 ng.L <sup>-1</sup>		500 ng.L <sup>-1</sup>		Det.
	% rec.	DPR	% rec.	DPR	% rec.	DPR	
Aldrin	46	8,0	52	11	61	7,6	DCE
Clorofenson	61	13	67	6,8	80	13	DCE
o,p DDD	66	3,5	71	1,8	71	3,4	DCE
o,p DDE	53	17	62	3,4	71	3,6	DCE
p,p DDT	68	3,7	69	2,0	76	4,7	DCE
Diclorobenil	70	6,1	70	3,5	65	4,5	DNP
Dieldrin	66	4,1	68	2,1	70	6,3	DCE
α HCH	70	1,4	66	3,3	68	3,5	DCE
β HCH	50	8,0	61	3,6	67	2,4	DCE
Heptaclor	70	10	69	9,5	73	5,1	DCE
Heptaclor epoxi, trans	61	6,8	66	2,9	70	3,3	DCE
Hexaclorobenzeno	35	12	52	12	64	7,6	DCE
Lindano	65	4,3	62	3,2	65	2,4	DCE
Methoxiclor	80	14	81	4,0	81	3,7	DCE
Mirex	49	18	64	2,0	66	3,4	DCE
Pentaclorobenzeno	-	-	41	14	56	11	DCE
Quintozeno	60	4,2	62	3,6	64	4,7	DCE
Ametrin	76	3,9	73	3,2	74	2,9	DNP
Atraton	70	4,3	62	2,4	61	3,6	DNP
Atrazina	67	2,1	64	5,3	64	3,4	DNP
Desetilatrazina	nda	-	nda	-	nda	-	DNP
Desisopropilatrazina	nda	-	nda	-	nda	-	DNP
Desmetrin	105	19	79	14	74	2,9	DNP
Metazaclor	79	1,5	75	2,1	71	3,4	DNP
Methoprotrin	93	4,0	84	2,7	82	3,3	DNP
Metolaclor	73	10,2	68	4,3	69	2,3	DNP
Metribuzin	53	6,2	41	19	41	3,5	DNP

<sup>a</sup> DCE - detector por captura de elétrons; DNP - detector nitrogênio-fósforo

### 3.4 - Extração por Destilação a vapor e Líquido-Líquido contínuas e simultâneas

A destilação por arraste com vapor é uma técnica adequada para o isolamento de compostos orgânicos de amostras líquidas ou a porção solúvel de amostras sólidas. A base física do processo de separação depende da distribuição dos constituintes entre a mistura líquida e o vapor em equilíbrio com a mistura [43]. Os processos de destilação são de três tipos: simples, fracionária e a vapor. No processo de destilação simples não há equilíbrio entre as fases, porque o condensado é constantemente retirado. É uma técnica pouco eficiente e não serve para concentração de traços. A destilação fracionada apresenta um processo de refluxo. É mais eficiente que a destilação simples, devido aos equilíbrios entre os vapores e o líquido que refluga pelo vapor, estabelecidos nos estágios sucessivos das colunas de destilação. O processo da destilação a vapor é muito usado para pré-concentração de amostras muito diluídas.

A destilação a vapor é um procedimento de destilação simples na qual a vaporização da mistura é realizada pela passagem contínua de vapor através da mistura, ou pela ebulição da água e amostra juntos [43]. Apesar de ser um dos mais antigos métodos de concentração, a destilação a vapor não é frequentemente usada em pesquisas ambientais. Entretanto, sua eficiência de extração, especialmente para compostos mais polares e menos voláteis é um pouco superior àquela conseguida por *headspace* convencional ou processos de *stripping* a gás [47]. A desvantagem da destilação a vapor é a necessidade de um solvente adequado para a extração e a evaporação do solvente extrator [47]. Para amostras muito grandes, a separação de fase ocorre após a condensação do destilado, enquanto que para pequenos volumes de amostra é necessário uma extração líquido-líquido para a recuperação do analito.

Um microextrator, representado na figura 3.17.B, que utiliza extração líquido-líquido contínua e simultânea com destilação a vapor foi desenvolvido por Verzele e col. [47]. Neste dispositivo 50,0 mL de amostra de água é colocada no frasco A, cuja capacidade pode ser de 250 mL. No frasco B, com capacidade para 2 mL, é adicionado 1 mL de pentano. Nos frascos são colocadas pérolas de vidro. Antes de

iniciar o procedimento de extração, água e pentano são introduzidos em C de forma que os braços D e F fiquem preenchidos, respectivamente, com pentano e água.

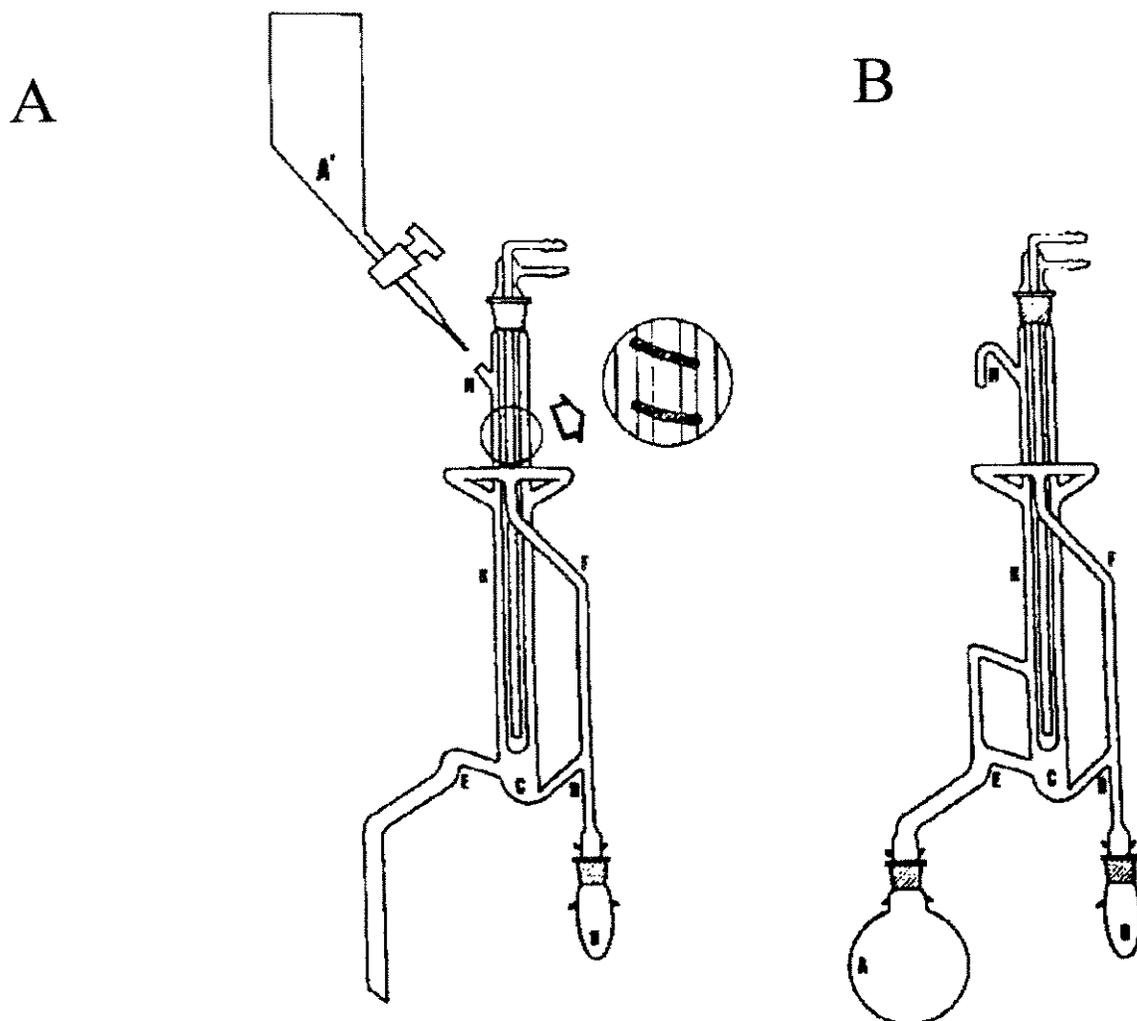


Figura 3.17 - (A) Projeto modificado do microextrator [48] e (B) projeto original [47].

Isto garante o equilíbrio entre as duas camadas de solvente em C. Água gelada é circulada pelo dedo frio e o refluxo de pentano é iniciado pelo aquecimento do frasco B a 80 °C, por meio de um banho de água. Após 15 minutos é iniciado o arraste de vapor d'água, por aquecimento do frasco A, com banho de óleo a 140 °C. Os braços de vapor F e G são isolados termicamente. A contagem do tempo de extração é iniciada quando o vapor d'água penetra no corpo central do microextrator. Os vapores são condensados pelo contato com o dedo frio e seguem para os respectivos frascos,

devido às diferenças das densidades e imiscibilidade dos líquidos contidos em C. Após 1 hora, a geração de vapor d'água é interrompida e a extração com solvente é mantida por mais 20 min. O conteúdo do frasco B é amostrado diretamente e analisado por CG. Durante este experimento podem ocorrer perdas de pentano de C para o frasco B, ou perdas devido a evaporação, as quais são compensadas pelo uso de um padrão interno [47].

A tabela 3.7 contém os resultados de recuperação e as concentrações dos pesticidas utilizadas nas extrações. Os números da primeira coluna referem-se aos picos de um cromatograma típico obtido com este microextrator (figura 3.18).

Tabela 3.7 - Recuperação de compostos testes.

n° do pico	Composto	Quantidade em 50 mL de água (ng)	Conc.( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	exp. 1 (%)	exp. 2 (%)	média (%)
1	HCH-isomero	20	0,4	100,8	101,7	101,3
2	HCB	20	0,4	80,4	85,2	82,8
3	HCH-isomero	20	0,4	104,9	107,6	106,3
4	Lindano	25	0,5	95,6	110,4	103,0
5	Aldrin	25	0,5	103,2	104,5	103,9
6	Heptaclor	50	1	102,0	98,3	100,2
7	p, p' - DDE	50	1	101,4	95,2	98,3
8	Dieldrin	100	2	98,9	97,5	98,2
9	Endrin	100	2	103,1	99,8	101,5
10	o,p'-DDT	100	2	98,4	96,9	97,7
11	DDD	100	2	98,5	94,8	96,7
12	p,p'-DDT	200	4	98,4	105,1	101,8
Total		810	16,2	99,9	99,4	99,7

O fator limitante do microextrator de Verzele e col. [47], especialmente para compostos polares e de alto ponto de ebulição, é a etapa gás líquido [48]. Esta etapa pode ser evitada introduzindo diretamente a amostra aquosa no topo do condensador do dispositivo de Verzele e col. [47], conforme mostrado na figura 3.17.A. Este

dispositivo permitiu recuperações de 100% e desvios padrão relativos de até 3% para compostos fenólicos em concentrações de  $30 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

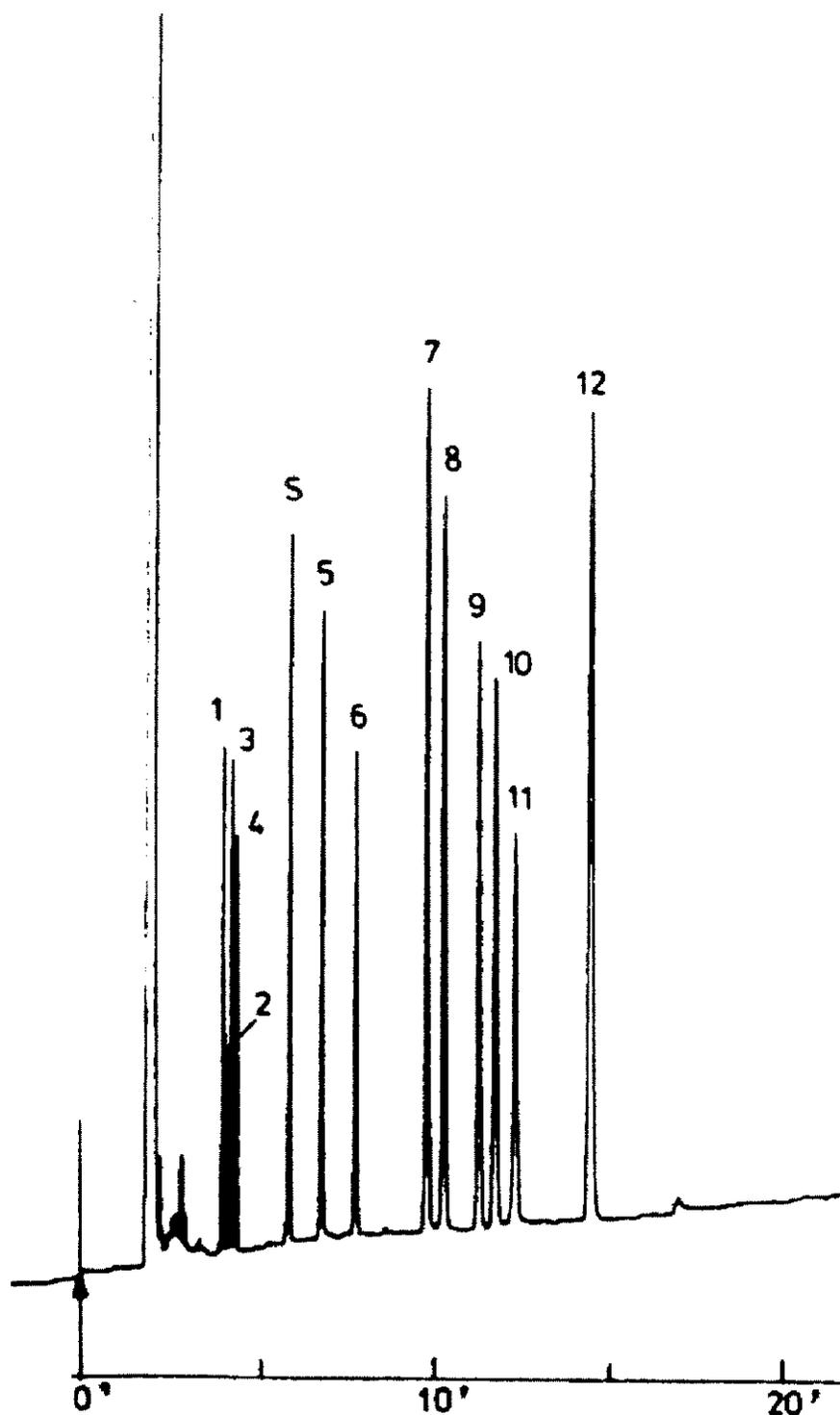


Figura 3.18 - injeção de  $2 \mu\text{L}$  do solvente extrator em injetor split (1:10) com a técnica da agulha quente;  
 Coluna:  $230 \text{ }^\circ\text{C}$ , injetor:  $270 \text{ }^\circ\text{C}$ , detector:  $360 \text{ }^\circ\text{C}$ , vazão:  $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  e gás make-up:  $30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$

As figuras 3.19.A e 3.19B apresentam as modificações mais recente do microextrator anterior realizada, respectivamente, por Lindner e Seidel [49] e Churacek e col. descrita por Kurán e Soják [50] para determinação de traços de pesticidas e compostos orgânicos voláteis em matrizes ambientais e biológicas. O projeto do microextrator da figura 3.19.A promove uma mistura mais completa entre os vapores de solvente e de água e contém uma maior área de superfície de contato. Recuperações de pesticidas, nas diversas matrizes, variaram de 73 a 98% e dos desvios padrão relativos ficaram na faixa de 4 a 11%. O microextrator da figura 3.19.B teve o braço de vapor de solvente aproximado da saída de vapor d'água.

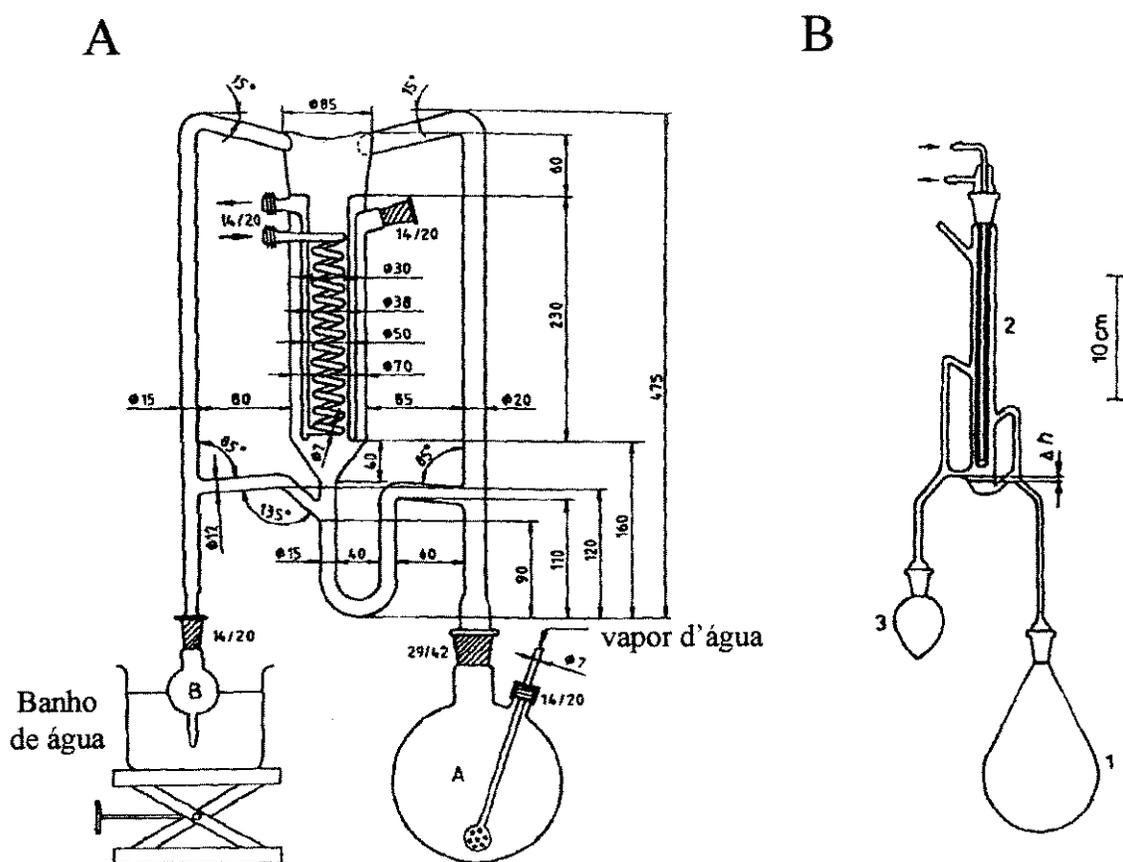


Figura 3.19 - (A) Microextrator modificado por Lindner [49] e (B) microextrator modificado por Churacek [50].

## 4 - SISTEMA DE PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS BASEADO EM PERMEAÇÃO POR MEMBRANA

No nosso trabalho foi desenvolvido, para a determinação de traços de compostos orgânicos voláteis, um sistema de preparação de amostras baseado em permeação por membrana tubular de silicone. Este sistema, cujas as partes são mostradas na figura 4.1, opera diretamente acoplado a um cromatógrafo gasoso HP 5890 série I equipado com detector por ionização em chama (DIC). Hidrogênio foi utilizado como gás de arraste e extrator. Para coleta dos dados foi utilizado o integrador HP 3392 A. Coluna capilar HP5 (5% fenil metil silicone) de 30 m de comprimento e 0,33 mm de diâmetro interno ou coluna "megabore" LM1 (metil silicone) de 25 m de comprimento e 0,53 mm de diâmetro interno foram utilizadas para a separação cromatográfica.

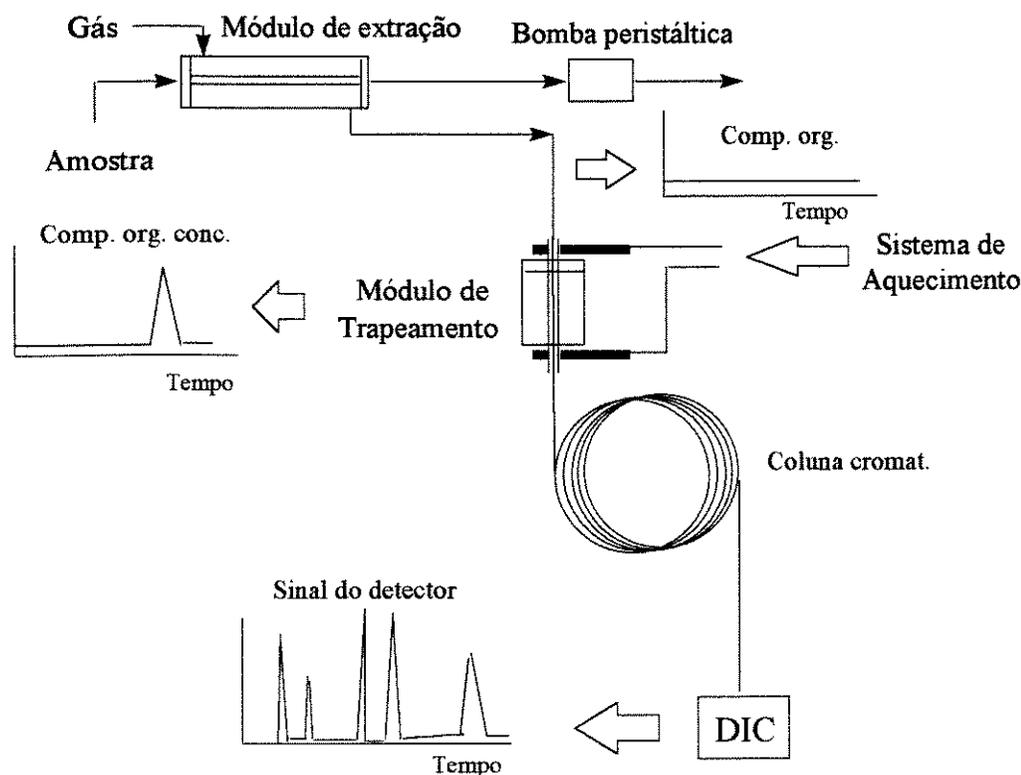


Figura 4.1 - Esquema geral do sistema de preparação de amostras baseado em permeação por membranas

## 4.1 - Construção do Módulo de Membrana

O Módulo de Membrana está esquematizado na figura 4.2.

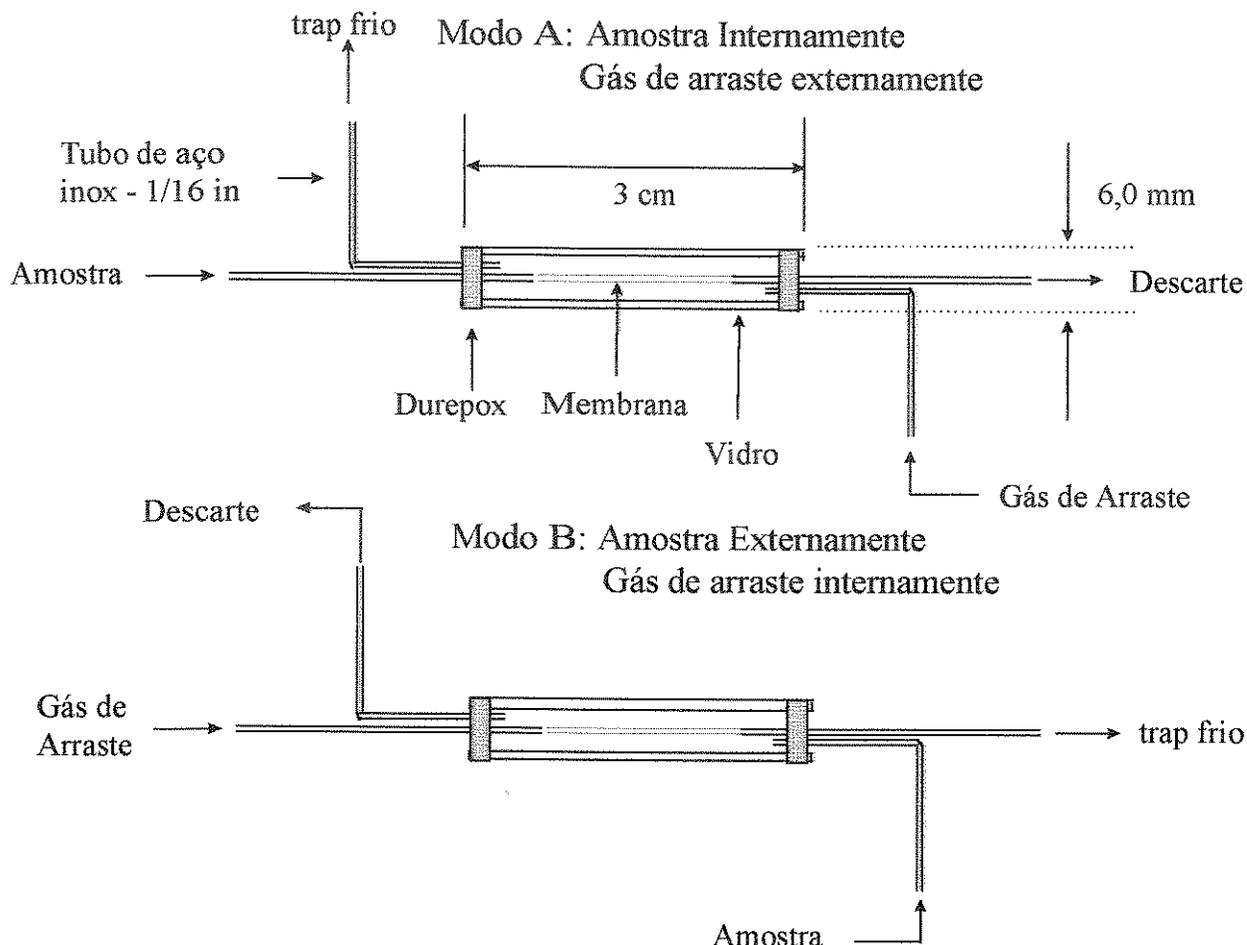


Figura 4.2 - Modos alternativos para os fluxos de gás de arraste e amostra aquosa pelo Módulo de Membrana.

Ele consiste de 1,5 cm de fibra tubular de silicone com diâmetro externo de 196  $\mu\text{m}$  e espessura de parede de 24  $\mu\text{m}$  (Dow Corning Canada Inc.) presa a dois pedaços de tubos de aço inoxidável de diâmetro externo de 1/16 polegada. Este arranjo fica encapsulado num envólucro de vidro de 3 cm de comprimento e diâmetro externo de 6,0 mm, pelo qual circula o gás de arraste, enquanto a amostra aquosa flui pelo interior da membrana (figura 4.2 - modo A). Os fluxos podem ser alternados, para o gás de arraste fluir internamente à membrana e a amostra externamente (figura 4.2 - modo B). Para a montagem do Módulo de Membrana, as extremidades da membrana

tubular são mergulhadas em metanol por aproximadamente 10 s e expandem, facilitando o encaixe de aproximadamente 1 cm de cada extremidade da membrana nos tubos de aço inoxidável; com a evaporação do metanol a membrana encolhe e fica presa aos tubos. Então o sistema “tubo-membrana-tubo” mais os tubos de entrada e saída são fixados as extremidades do envólucro de vidro com Durepoxi™.

## 4.2 - Construção do Módulo de Trapeamento\*

Três tipos de Módulo de Trapeamento foram testados para estudos com o aprisionamento dos analitos e estão esquematizados na figura 4.3.

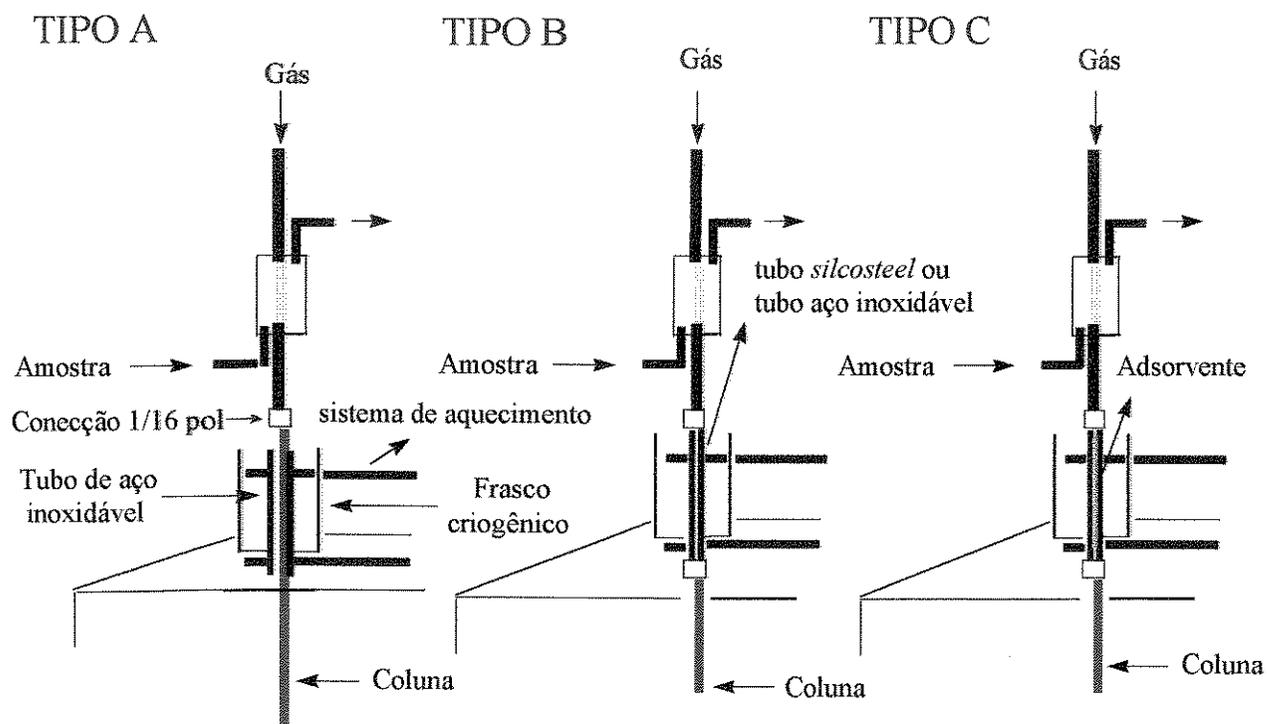


Figura 4.3 - Tipos de módulos de trapeamento testados.

O trapeamento Tipo A consiste de um pedaço da própria coluna cromatográfica atuando como adsorvente auxiliado por refrigeração com material congelante. Neste caso 6 cm da coluna cromatográfica foi trazida para fora do injetor do cromatógrafo e introduzida no tubo de aço inoxidável de 1/16 polegada e 5 cm de comprimento.

\* A palavra trapeamento será utilizada com o significado de aprisionamento.

O pedaço de coluna que ultrapassou o tubo de aço inoxidável foi utilizado para a conexão com o módulo de extração. Este arranjo será denominado neste trabalho como MESI, denominação da literatura original que significa Membrane Extration Sorbent Interface. O trapeamento crioscópico está representado na figura 4.3 - Tipo B. Neste tipo de trapeamento a configuração era mais elaborada e dependente do tipo de tubulação a ser refrigerada. Tubo de aço inoxidável de 1/16 polegada e tubo *Silcosteel*<sup>TM</sup> de 1/16 polegada com 7 cm de comprimento foram testados. As extremidades destes tubos foram utilizadas, respectivamente, para as conexões com o módulo de extração e com a coluna cromatográfica, restando 5 cm para refrigeração com material congelante. A configuração que possibilitou os melhores resultados para o trapeamento utilizou o tubo de *Silcosteel*<sup>TM</sup> e é aqui discutida pela sigla PMTC, de Permeação por Membrana e Trapeamento Crioscópico. O *Silcosteel*<sup>TM</sup> é um tubo de aço inoxidável de diâmetro externo de 1/16 polegada, revestido internamente por uma fina camada de sílica fundida. O arranjo Tipo C do módulo de trapeamento é idêntico ao anterior, diferenciado apenas pelo uso de adsorventes dentro de uma secção de 3 cm do tubo de aço inoxidável. Tenax, Carvão ativado e Carbo-pack foram os materiais testados.

Nos três casos os tubos de aço inoxidável foram fixados verticalmente e no centro de um "vaso crioscópico" - um recipiente feito de Teflon<sup>TM</sup> com diâmetro interno de 3 cm e altura de 4 cm. A posterior liberação dos analitos, para os três tipos de módulo de trapeamento, era feita por aquecimento. O sistema de aquecimento consiste de um transformador, um controlador de temperatura RS e as conexões com o tubo de aço inoxidável. Graças a capacidade do transformador fornecer alta corrente e baixa voltagem, foi possível obter grandes variações de temperatura em um curto período de tempo, tipicamente 20 s para aumentar a temperatura de -150 °C a +150 °C.

### 4.3 - Operação do sistema

No vaso crioscópico é mantido material gelo seco ou N<sub>2</sub> líquido durante todo o processo de extração. A amostra aquosa, impulsionada por uma bomba peristáltica situada após o Módulo de Extração, passa interna ou externamente à membrana de

silicone. Esta bomba está situada após o Módulo de Extração para evitar possíveis problemas de contaminação no tubo de tygon (veja figura 4.1). No momento em que a amostra penetra no Módulo de Extração é iniciado a contagem de tempo. Na extração, os analitos permeiam pela membrana e são carregados pelo gás de arraste para o Módulo de Trapeamento, onde são retidos por adsorção e/ou congelamento. Ao término do tempo estipulado de extração, a bomba peristáltica é desligada, o congelamento é interrompido e o aquecimento do trap é iniciado. O integrador e a programação de temperatura são acionados juntamente com o início do aquecimento do trap. A amostra que permanece no Módulo de Trapeamento após desligada a bomba peristáltica é retirada e a limpeza da membrana, pelo método usual ou pelos propostos neste trabalho, iniciada. O sistema de aquecimento do trap é desligado após 30-45 s. Os analitos concentrados no trap são carregados pelo gás de arraste para dentro da coluna, separados cromatograficamente e detectados no DIC.

#### 4.4 Limpeza da Membrana

No sistema de preparação de amostra baseado em permeação por membrana a amostra é tratada sequencialmente, sem interrupções e enviada diretamente para o cromatógrafo, o que facilita análises sucessivas de amostras com diversas concentrações. Na permeação pela membrana podem ocorrer adsorções parciais dos analitos o que, após análises sucessivas, causa efeitos de memória e superestimação das concentrações em análises subsequentes. Este efeito é acentuado para concentrações dos analitos superiores a  $500 \mu\text{g.L}^{-1}$ , sendo usualmente eliminado por bombeamento de água pura, em substituição a amostra, através da membrana [11,20], o que pode demandar mais de 80 minutos, principalmente para os compostos menos voláteis. A figura 3.3 (pp 09) ilustra o excessivo tempo necessário para a completa limpeza da membrana de polipropileno e portanto é uma limitação desta técnica emergente de análise de compostos orgânicos voláteis em água.

Objetivando reduzir o tempo de limpeza da membrana e, portanto, o tempo entre as análises, testamos duas novas técnicas para limpeza da membrana: (I) substituição de água pura por  $\text{N}_2$  gasoso e (II) a substituição da água pura por  $\text{N}_2$  gasoso com o sistema de membrana aquecido. As técnicas de limpeza propostas

foram comparadas com a técnica usual. Duas classes de compostos voláteis foram usados separadamente para este trabalho: os compostos orgânicos halogenados e os compostos orgânicos aromáticos (o composto clorobenzeno foi utilizado como sendo aromático). Foram usadas como amostras-teste misturas de clorofórmio, tricloroeteno, tetracloroeteno e dibromoclorometano e benzeno, tolueno e clorobenzeno, dissolvidos em água em concentrações propositadamente altas (aproximadamente 50 mg.L<sup>-1</sup>). Cada solução foi processada pelo sistema MESI, no modo A de operação (amostra aquosa por dentro da membrana e gás de arraste por fora), por 5 minutos e o processo de limpeza foi realizado com N<sub>2</sub> gasoso com vazão de 35 mL.min<sup>-1</sup>. O monitoramento foi realizado por um período de 35 min. O mesmo procedimento foi realizado com a utilização de água pura e de N<sub>2</sub> gasoso, com vazão de 35 mL.min<sup>-1</sup>, passando pelo sistema de membrana aquecido à 80 °C. As figuras 4.4 e 4.5 mostram, respectivamente, para os compostos orgânicos halogenados e para os compostos orgânicos aromáticos a queda das suas concentrações em função do tempo de limpeza com água pura, N<sub>2</sub> gasoso e N<sub>2</sub> gasoso com o sistema de membrana aquecido.

#### 4 - Sistema de preparação de amostras baseado em permeação por membrana

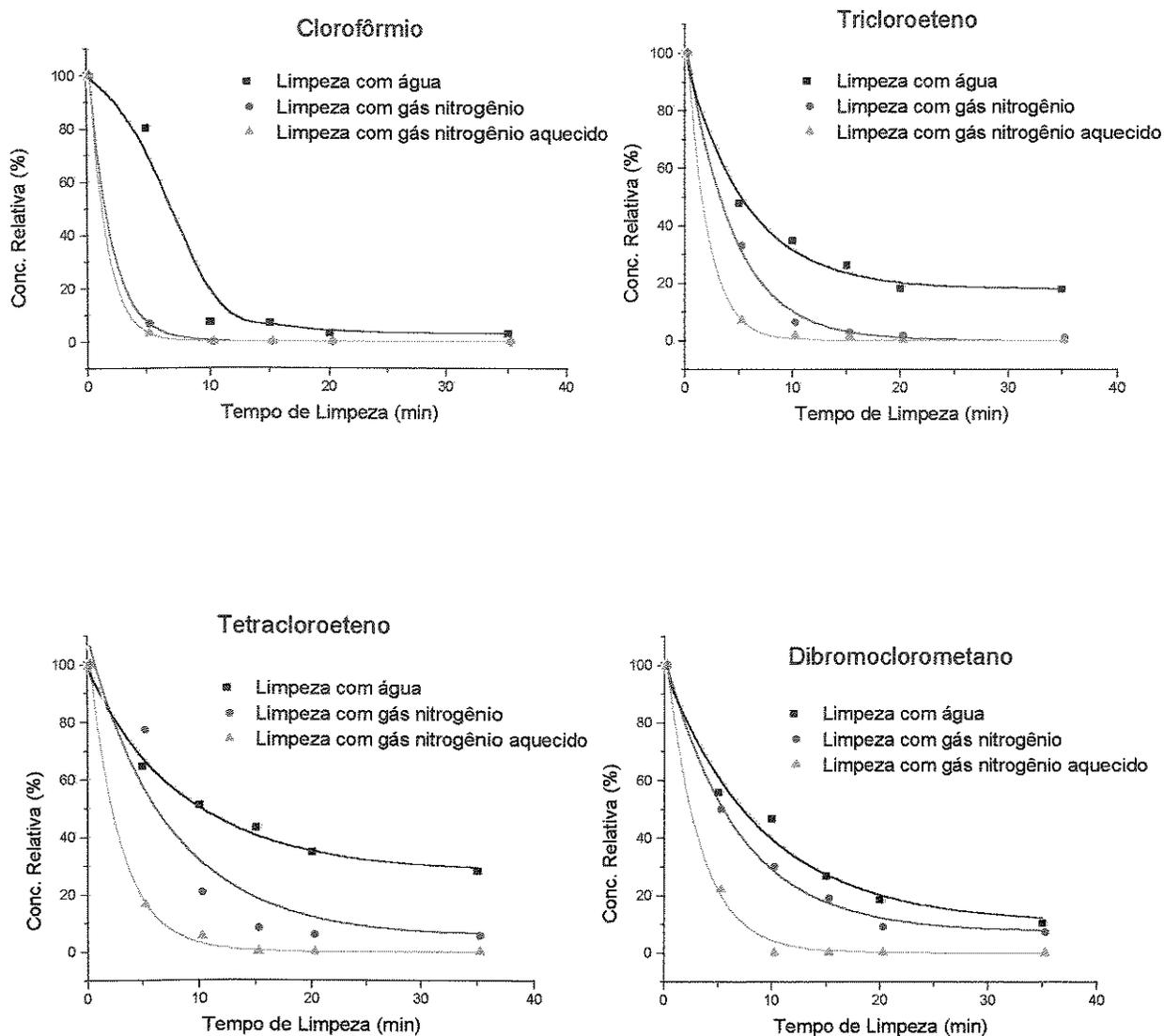


Figura 4.4 - Comparação de 3 técnicas de limpeza da membrana para compostos halogenados voláteis.

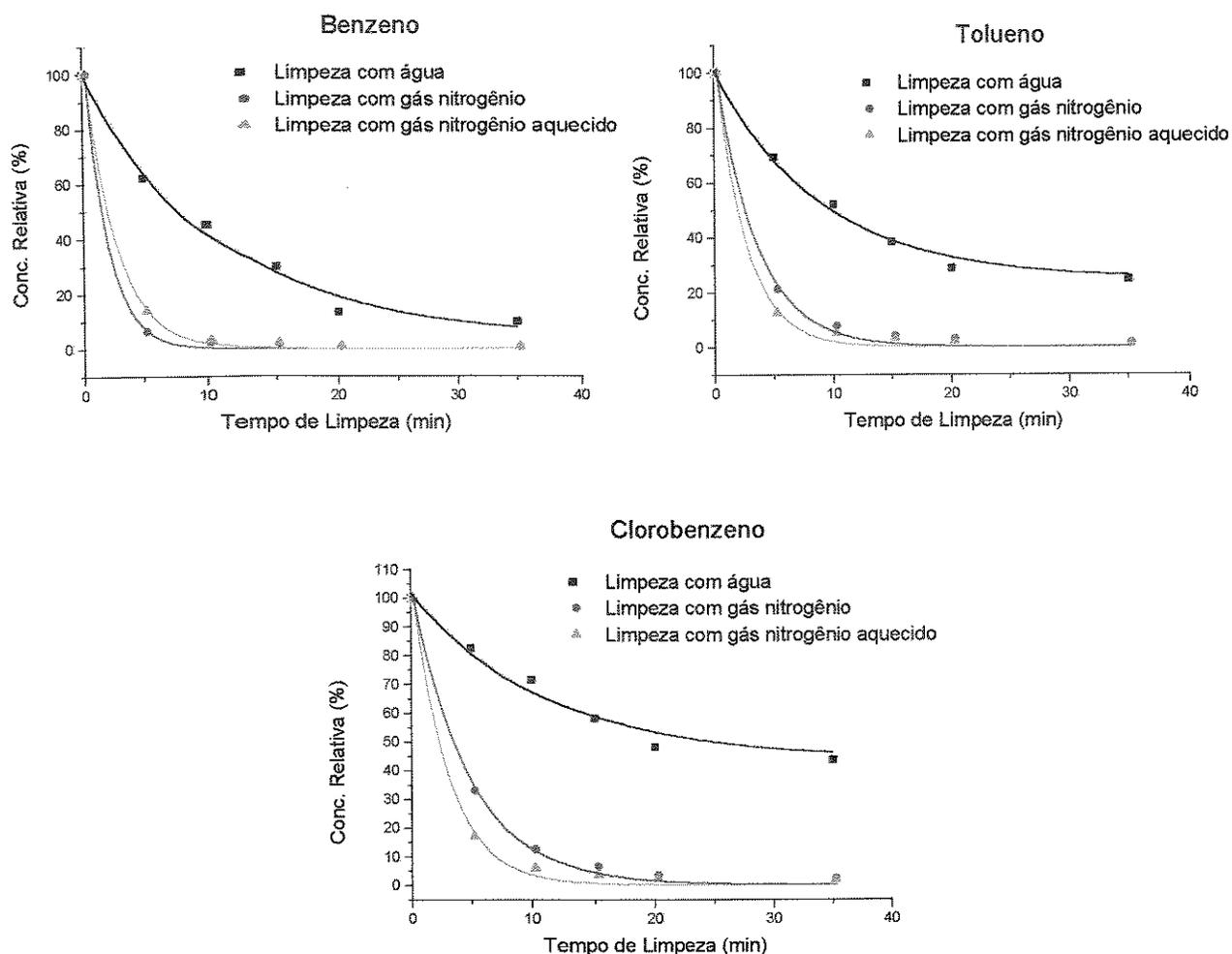


Figura 4.5 - Comparação de 3 técnicas de limpeza da membrana para compostos aromáticos voláteis.

A tabela 4.1 contém informações sobre as propriedades físicas dos compostos orgânicos voláteis estudados. A observação destas figuras permite concluir que existe uma grande diferença na eficiência dos modos de limpeza da membrana. Também é possível observar que o tempo de retirada dos compostos mais voláteis da parede da membrana é significativamente menor que aqueles menos voláteis. Os resultados de limpeza da membrana com gás  $N_2$  e os dados da tabela 4.1 tornam esta observação mais evidente. O tempo para o decaimento total dos sinais dos compostos é crescente com o aumento do ponto de ebulição destes compostos, exceto para clorobenzeno. Para dibromoclorometano e tetracloretoeno, cujos ponto de ebulição são praticamente iguais, o decaimento para concentração relativa de 10% é de 35 min.

Tabela 4.1 - Propriedades físicas dos compostos orgânicos voláteis.

Composto	PM <sup>a</sup>	PF <sup>b</sup> (°C)	PE <sup>c</sup> (°C)	d <sup>d</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )
Clorofórmio	119,4	-63	61	1,49
Benzeno	78,1	5,5	80	0,87
1,2 dicloroetano	98,9	-35	83	1,26
Tricloroetano	131,4	-84,8	86,7	1,46
Tolueno	92,1	-93	110,6	0,86
Dibromoclorometano	208,3	-22	120	2,45
Tetracloroetano	165,8	-22	121	1,62
Clorobenzeno	112,6	-45	132	1,11
Etilbenzeno	106,2	-43	136	0,86
o Xileno	106,2	-25	145	1,50
Bromofórmio	252,8	8,3	151	2,89
p Clorotolueno	126,6	-4,3	181	1,10

<sup>a</sup> peso molecular; <sup>b</sup> ponto de fusão; <sup>c</sup> ponto de ebulição; <sup>d</sup> densidade.

No caso do clorofórmio, o composto mais volátil neste estudo, há uma diferença de apenas 5 min para a completa limpeza da membrana quando comparados a limpeza com água e os métodos propostos. Entretanto, para os demais compostos esta diferença é muito significativa, atingindo cerca de 20 min quando é usado N<sub>2</sub> aquecido. A tabela 4.2 dá uma idéia numérica da diferença da eficiência das três técnicas de limpeza de membrana para alguns compostos menos voláteis que o clorofórmio.

Tabela 4.2 - Comparação da porcentagem de decaimento na concentração dos analitos em função do tempo durante o processo de limpeza da membrana.

Água pura				
Tempo (min)	% de decaimento concentração dos analitos na membrana			
	tricloroeteno	tetracloroeteno	dibromoclorometano	clorobenzeno
5	52	35	44	17
10	65	49	53	28
15	74	57	73	42
20	81	65	81	52
35	82	72	89	56
N <sub>2</sub> gasoso				
Tempo (min)	% de decaimento concentração dos analitos na membrana			
	tricloroeteno	tetracloroeteno	dibromoclorometano	clorobenzeno
5	67	23	50	67
10	94	79	70	88
15	97	92	81	93
20	98	94	91	97
35	99	95	93	98
N <sub>2</sub> gasoso com o Módulo de extração aquecido				
Tempo (min)	% de decaimento concentração dos analitos na membrana			
	tricloroeteno	tetracloroeteno	dibromoclorometano	clorobenzeno
5	93	84	78	83
10	98	95	100	94
15	99	100	100	97
20	100	100	100	98
35	100	100	100	99

Nesta tabela são comparados os decaimentos das concentrações dos analitos (%) em função do tempo de limpeza da membrana. Quanto maior o valor % de decaimento da concentração do analito maior a quantidade de analito retirada da parede da membrana em função do tempo de limpeza. Deste estudo conclui-se que a maior eficiência de limpeza ocorre com o fluxo de gás N<sub>2</sub> pelo sistema de membrana

aquecido. Pela tabela 4.2, é possível observar que ocorre limpeza completa da membrana para 3 compostos (tricloroetano, tetracloroetano e dibromoclorometano) e limpeza praticamente completa para o clorobenzeno em um tempo inferior a 20 min. No caso do uso de  $N_2$  gasoso à temperatura ambiente, há eliminação de aproximadamente 95% dos compostos da parede da membrana em 20 min de limpeza. A extrapolação das curvas de limpeza da membrana com água das figuras 4.4 e 4.5 sugere tempos de limpeza de várias horas para os compostos de volatilidade superiores a do clorofórmio. A figura 4.6 compara o cromatograma obtido da extração de compostos aromáticos da solução-teste com os cromatogramas obtidos após 10 min de limpeza da membrana utilizando água pura e  $N_2$  gasoso com o sistema de membrana aquecido.

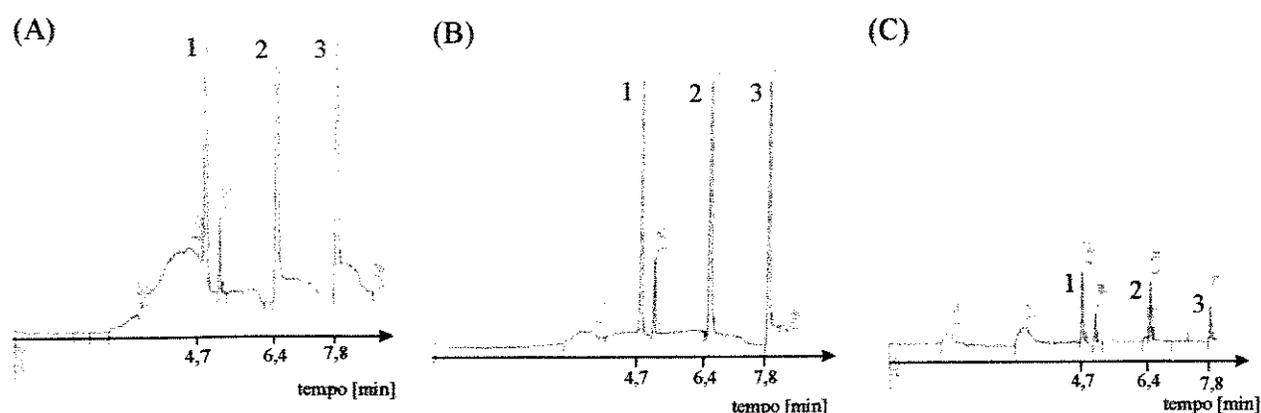


Figura 4.6 - Cromatogramas: A - obtido por 5 min de extração da solução teste; B - obtido após 10 min de limpeza com água pura e C - obtido após 10 min de limpeza com  $N_2$  gasoso aquecido. Picos cromatográficos: 1. Benzeno; 2. tolueno e 3. clorobenzeno. Cond. Cromatográficas: coluna capilar HP5, vazão da coluna =  $0,8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , temp. do detector =  $275 \text{ }^\circ\text{C}$ , temp. da coluna =  $35 \text{ }^\circ\text{C}$  mantido por 2 min e aquecimento a  $10 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  até  $120 \text{ }^\circ\text{C}$ , aquecimento do trap a  $150 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Para verificar se a forma de operação do Módulo de Extração não interfere no processo de limpeza da membrana foi feita a comparação da técnica de lavagem com água pura e  $N_2$  gasoso utilizando o modo B de extração (amostra aquosa por fora da membrana e gás de arraste por dentro). Os compostos utilizados foram o clorofórmio e o tetracloroetano. A figura 4.7 mostra a percentagem de decaimento destes compostos em função do tempo de limpeza.

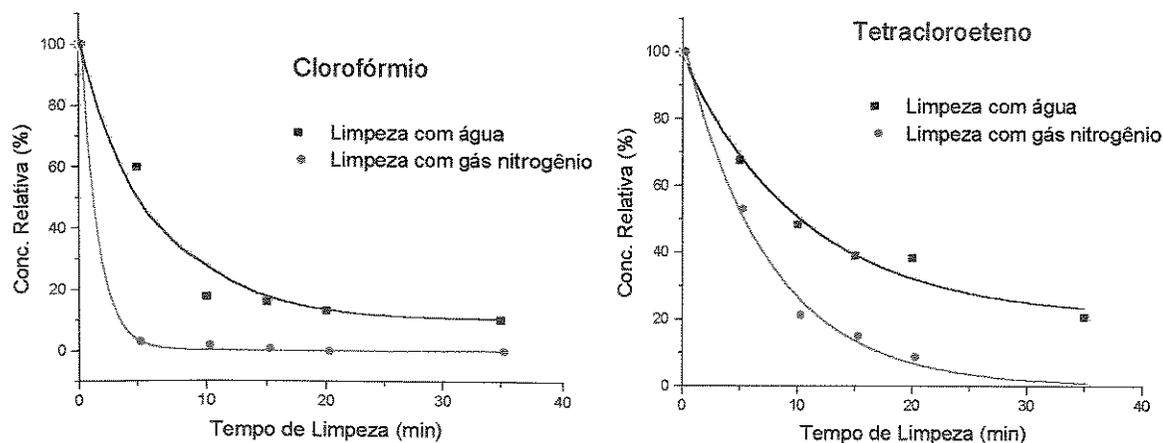


Figura 4.7 - Comparação de 2 modos distintos de limpeza da membrana utilizando o modo B de extração.

A inspeção desta figura permite concluir que os métodos de limpeza de membrana sugeridos neste trabalho são mais eficientes que a passagem de água pura. Além disto, é possível observar pela comparação das figuras 4.7 e 4.4, que para o tetrachloroeteno atingir 10% da concentração relativa é necessário 20 min quando utilizado o modo B e 30 min quando utilizado o modo A. A busca da interpretação deste resultado levou-nos a calcular os volumes ocupado pelo gás de limpeza no modo A e B de operação e as velocidades lineares com que o gás de limpeza percorre pelos modos A e B de operação. Através das equações 4.1 e 4.2 e tabela 4.3, que contém os dados do Módulo de Membrana, foram calculados, respectivamente, os volumes da membrana e do tubo de vidro e as velocidades lineares do gás extrator passando pela membrana e pelo tubo de vidro.

$$Vol. = \pi \cdot r^2 \cdot L \quad (\text{equação 4.1})$$

$$Veloc. = F/\phi \quad (\text{equação 4.2})$$

onde, Vol. é o volume, r é o raio, L é o comprimento do tubo, Veloc. é a velocidade do gás e  $\phi$  é a área de secção transversal.

Tabela 4.3 - Dados das constantes do módulo de membrana.

Variáveis	Modo A e B
diâmetro externo da membrana	1,956 mm
diâmetro interno da membrana	1,473 mm
diâmetro interno do tubo de vidro	6,0 mm
comprimento do tubo de vidro	30 mm
comprimento da membrana	15 mm

A tabela 4.4 contém os resultados destes cálculos e as diferenças percentuais encontradas entre os modos A e B de operação para as duas variáveis.

Tabela 4.4 - Resultados dos cálculos de volume e velocidade linear.

	Modo A	Modo B	Diferença (%)
Volume	52 $\mu\text{L}$	848 $\mu\text{L}$	1530
Velocidade linear	2059 $\text{mm}\cdot\text{min}^{-1}$	125 $\text{mm}\cdot\text{min}^{-1}$	1523

obs: vazão de gás de limpeza de 35  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$

Deste tabela pode-se perceber que a velocidade linear com que o gás de limpeza passa pela membrana é definitiva no processo de limpeza. Deste modo, quanto menor a velocidade de passagem do gás pela membrana (cujo menor valor não foi determinado neste estudo) maior seu tempo de permanência no módulo e melhor o seu processo de retirada dos analitos da membrana.

A grande vantagem de utilizar métodos mais eficientes de limpeza da membrana é a possibilidade de análise de um número bem maior de amostras por dia de trabalho. Suponha uma análise cujo o tempo de extração é de 10 min e uma subsequente corrida cromatográfica com duração de 10 min. Se o método convencional de limpeza de amostra for utilizado há necessidade de no mínimo 40 min de limpeza. Supondo que o processo de limpeza comece imediatamente após encerrado o tempo de extração, ainda haverá um tempo de espera de 30 minutos antes de iniciar a nova extração. Isto significa 40 min entre o início de uma extração e o início da extração seguinte. Com o método alternativo, aproximadamente 15 min são suficientes para a limpeza da membrana, o que significa 5 minutos de espera antes da nova extração.

Assim, apenas 15 min são necessários entre o início de uma extração e o início da extração seguinte. Então, supondo um dia de trabalho de 8 horas, é possível realizar até 12 extrações por dia se lavagem com água pura é utilizada e 32 extrações por dia se o método proposto for utilizado.

## 4.5 Otimização da operação do sistema de preparação de amostra

Alguns parâmetros que poderiam afetar o desempenho do sistema de preparação de amostra, especificamente nos Módulos de Membrana e de Trapeamento, foram estudados. Para o Módulo de Membrana foi estudado o Modo de operação mais eficiente (Modo A ou B) e o comportamento do sistema em função da variação da vazão de amostra. No caso do Módulo de Trapeamento foram comparados os tipos de *traps* e dois materiais congelantes (gelo sêco e N<sub>2</sub> líquido). As condições cromatográficas foram particularizadas para cada caso e estão descritas nas figuras 4.10, 4.11, 4.15, 4.18, 4.19 e 4.20.

### 4.5.A - Vazão da Amostra

O efeito da vazão da amostra sobre a eficiência de permeação dos analitos pela membrana foi verificado para os dois modos de operação, como mostrado na figura 4.2. Em ambos foi utilizado o sistema MESI. Os testes foram feitos com uma solução aquosa com 700 µg.L<sup>-1</sup> de 1,2 dicloroetano. O sistema foi operado como descrito no item 4.3 e o tempo de extração foi de 5 min. A figura 4.8 ilustra a relação entre a intensidade do pico do 1,2 dicloroetano e o fluxo de amostra circulando pelo sistema.

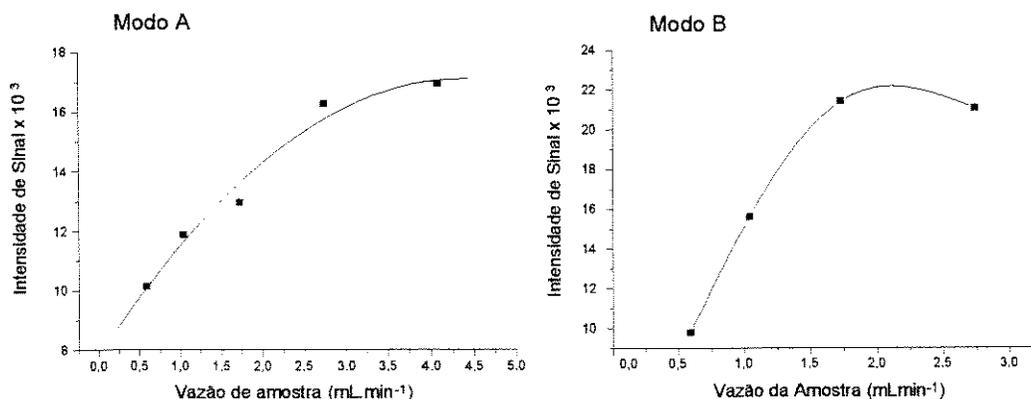


Figura 4.8 - Estudo da influência da vazão da amostra sobre a eficiência de permeação dos analitos.

Nos dois casos, a máxima intensidade de sinal foi obtido a partir de 2,5 mL.min<sup>-1</sup>. O aumento da vazão de amostra permite que uma maior quantidade de analito entre em contato com a membrana durante um período pré-estabelecido. Portanto o aumento da intensidade de sinal devido a elevação da vazão de amostra era esperado. Vazões acima de 2,5 mL.min<sup>-1</sup> promovem a saturação da membrana e portanto não acrescentam nenhum aumento do contato quantidade de analito - parede da membrana. Assim, a intensidade do sinal atinge um valor máximo em torno de 2,5 mL.min<sup>-1</sup>.

A literatura [11] recomenda não usar alta vazão de amostra, pela possibilidade de rompimento da membrana ou da junção membrana-aço inoxidável, pela elevada pressão de bombeamento nas paredes da membrana, principalmente para o Modo A de operação. Alta pressão da amostra também pode causar permeação de água pela membrana, a ponto de entupir o *trap* do sistema MESI, por formação de gelo quando ele é resfriado para reter os componentes da amostra. Por esta razão foi feito um estudo para relacionar o tempo necessário para entupimento do *trap* em função da vazão de amostra. Para vazão de amostra de 0,86 mL.min<sup>-1</sup> e trapeamento em coluna capilar de diâmetro interno de 0,25 mm o tempo de entupimento foi de 12 min; para mesma vazão e coluna de diâmetro interno de 0,53 mm ("*megabore*") o tempo foi de 25 min. A figura 4.9 mostra um estudo relacionando tempo de extração em função da intensidade de sinal quando utilizado *traps* de coluna capilar e "*megabore*".

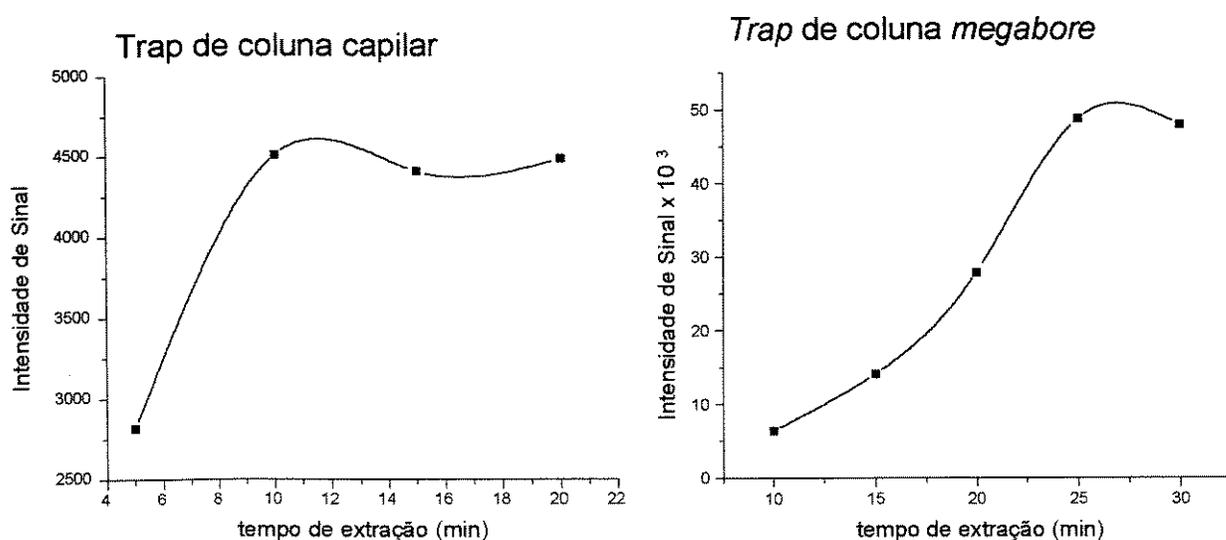


Figura 4.9 - Relação entre intensidade de sinal e tempo de extração para 2 tipos diferentes de traps do sistema MESI.

Nesta figura a intensidade de sinal do 1,2 dicloroetano atinge um patamar a partir de um determinado momento da extração para cada tipo de *trap*. Este fato, aliado ao aumento brusco da pressão na cabeça da coluna, são indicativos de vazão insuficiente de gás para dentro da coluna cromatográfica. Paralelamente, houve substancial perda de qualidade cromatográfica, com distorção dos picos que tornou bastante insegura a determinação de suas áreas. Por outro lado, o tempo de entupimento da coluna *megabore* foi de 25 minutos para vazões da amostra entre 0,33 a 4 mL.min<sup>-1</sup>, o que indica que a permeação de água pela membrana independe da vazão da amostra.

#### 4.5.B - Tipos de *Traps*

O estudo anterior (item 4.5.A) indicou valores máximos de tempos de extração de dois tipos de *traps* que podem ser usados no sistema MESI, ou seja, 12 min para colunas capilares e 25 min para colunas "*megabore*". Como a sensibilidade desta técnica é dependente do tempo de extração, pois quanto maior este tempo maiores quantidades de analito permeiam pela membrana, o entupimento dos *traps* leva a uma limitação da sensibilidade do sistema MESI.

Devido aos problemas de entupimento do *trap* em coluna cromatográfica outras possibilidades de aprisionamento dos analitos foram testadas. Os *traps* de materiais adsorventes (figura 4.3 - Tipo C), como Carboxypack, Carvão Ativo e Tenax produziram picos cromatográficos com caudas muito pronunciadas, motivo pelo qual foram rapidamente descartados. Foi testado o uso de tubo de aço inoxidável de 1/16 polegada e tubo de *silcosteel*<sup>TM</sup> de 1/16 polegada (figura 4.3 - Tipo B). A figura 4.10 mostra os cromatogramas obtidos para uma mistura aquosa de compostos clorados, em concentrações de aproximadamente 1000 µg.L<sup>-1</sup>, após 10 minutos de extração e trapeamento em tubo de aço inoxidável e de *silcosteel*<sup>TM</sup>. Estes cromatogramas indicam que os picos cromatográficos obtidos com o tubo de *silcosteel*<sup>TM</sup> são mais simétricos e estreitos do que os obtidos com tubo de aço inoxidável. Outra observação importante é que cromatogramas como os da figura 4.10.A são similares em altura e largura de pico aos obtidos com o trapeamento em sistemas MESI (figura 4.11A), o que sugere que eventuais problemas de "volumes mortos" devido às conexões são minimizados no PMTC. A diferença no formato dos picos cromatográficos dos analitos

nos cromatogramas obtidos pelos *traps* de *silcosteel*<sup>TM</sup> e de aço inoxidável podem ser atribuídos à adsorção de compostos clorados na superfície metálica. No caso do tubo de *silcosteel*<sup>TM</sup>, a fina camada de sílica fundida elimina ou atenua este efeito de adsorção. Deste modo, o uso de tubo de *Silcosteel*<sup>TM</sup> é mais indicado para análises de amostras ambientais, pois não há a restrição do tempo de extração sem que ocorra prejuízo do formato dos picos cromatográficos.

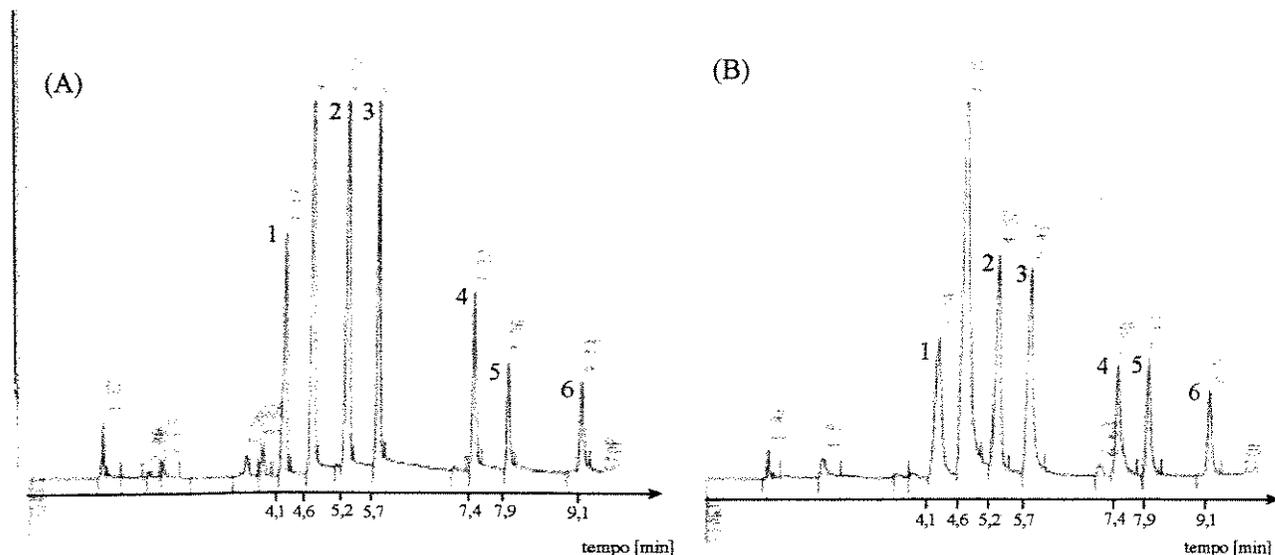


Figura 4.10 - Cromatogramas obtidos de extrações do tipo PMTC com diferentes tipos de *traps*: (A) *silcosteel*<sup>TM</sup> e (B) aço inoxidável. Condições cromatográficas: vazão da coluna = 5,0 mL.min<sup>-1</sup>, temp. da coluna = 40 °C por 2 min e aquecimento de 15 °C.min<sup>-1</sup> até 150 °C, temp. do detector = 275 °C e coluna LM1 tipo *megabore*. Ordem de eluição: (1) clorofórmio, (2) 1,2 dicloroetano, (3) tricloroeteno, (4) dibromoclorometano, (5) tetracloroeteno e (6) bromofórmio.

#### 4.5.C - Material Congelante

Com a extração por permeação em membrana por mais de 10 minutos, e usando gelo seco como material congelante, observou-se que compostos mais voláteis, como clorofórmio, 1,2 dicloroetano, tricloroeteno e benzeno, são pouco retidos nos sistemas MESI e PMTC. Na tentativa de contornar esse problema, foi utilizado N<sub>2</sub> líquido como congelante. Deste estudo concluiu-se que este congelante não pode ser usado para trapeamento em coluna cromatográfica porque os picos cromatográficos obtidos são totalmente irregulares - aparentemente ocorrem até desdobramentos de picos - como pode ser observado pela comparação de dois cromatogramas mostrados na figura 4.11. O cromatograma A foi o único, em uma série

de extrações, que não apresentou os problemas citados anteriormente. O cromatograma B é um representante típico quando foi utilizado  $N_2$  líquido e MESI conjuntamente. Conjecturalmente, este fato pode ser atribuído a alterações da superfície polimérica de fase estacionária na coluna congelada a  $-150\text{ }^\circ\text{C}$  e bruscamente aquecida a  $+150\text{ }^\circ\text{C}$  em 20 s, que afetaria os formatos dos picos. Assim, devido a grande faixa na variação de volatilidade dos compostos de interesse, o uso de  $N_2$  líquido como material congelante é mais adequado devido ao maior tempo de retenção destes compostos no Módulo de Trapeamento.

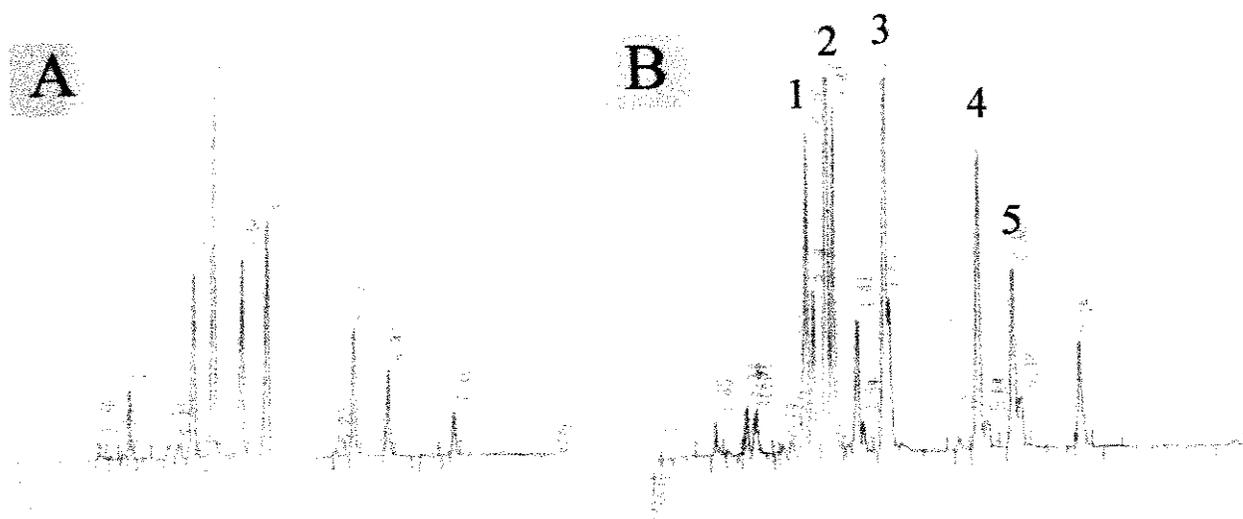


Figura 4.11 - Uso de  $N_2$  líquido como congelante em um sistema MESI. (A) único cromatograma obtido sem ocorrência de desdobramento de picos (B) exemplo típico de desdobramento de picos quando usado  $N_2$  líquido como congelante: (1) de clorofórmio, (2) 1,2 dicloroetano, (3) tricloroetano, (4) dibromoclorometano e (5) tetracloroetano. Condições cromatográficas: vazão da coluna =  $4,5\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , temp. da coluna =  $50\text{ }^\circ\text{C}$  por 2 min e aquecimento de  $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  até  $150\text{ }^\circ\text{C}$ , temp. do detector =  $275\text{ }^\circ\text{C}$  e coluna LM1 tipo *megabore*. Ordem de eluição idêntica a da figura 4.10.

#### 4.5.D - Tempo de Extração

A relação entre o tempo de extração de uma solução de compostos orgânicos clorados voláteis e o sinal de cada composto obtido pelo DIC foi estudada, utilizando o *trap* de *silcosteel*<sup>TM</sup> e  $N_2$  líquido como congelante. Neste estudo, a concentração dos clorados foi de  $1000\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , vazão de amostra de  $0,86\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  e tempo de extração variando de 2 a 60 minutos, sem que se observasse entupimento do *trap* ou perdas

dos compostos mais voláteis. A figura 4.12 mostra a relação linear obtida entre o sinal cromatográfico e o tempo de extração para os compostos estudados e a tabela 4.5 contém os parâmetros estatísticos da regressão de cada curva. A relação entre a intensidade de sinal dos analitos e o tempo de extração utilizando MESI e gelo seco como material congelante foi mostrado na figura 4.9.

Tabela 4.5 - Parâmetros estatísticos da regressão de cada curva obtido pelo EXCEL.

Composto	coef. Correlação	coef. angular	coef. Linear
1,2 dicloroetano	0,999	14808	-9555
tricloroetano	0,9886	6344	-22993
clorofórmio	0,9964	4106	-4796
tetracloroetano	0,9687	4076	-24687
dibromoclorometano	0,9980	3380	-8948
bromofórmio	0,9973	2588	-10198

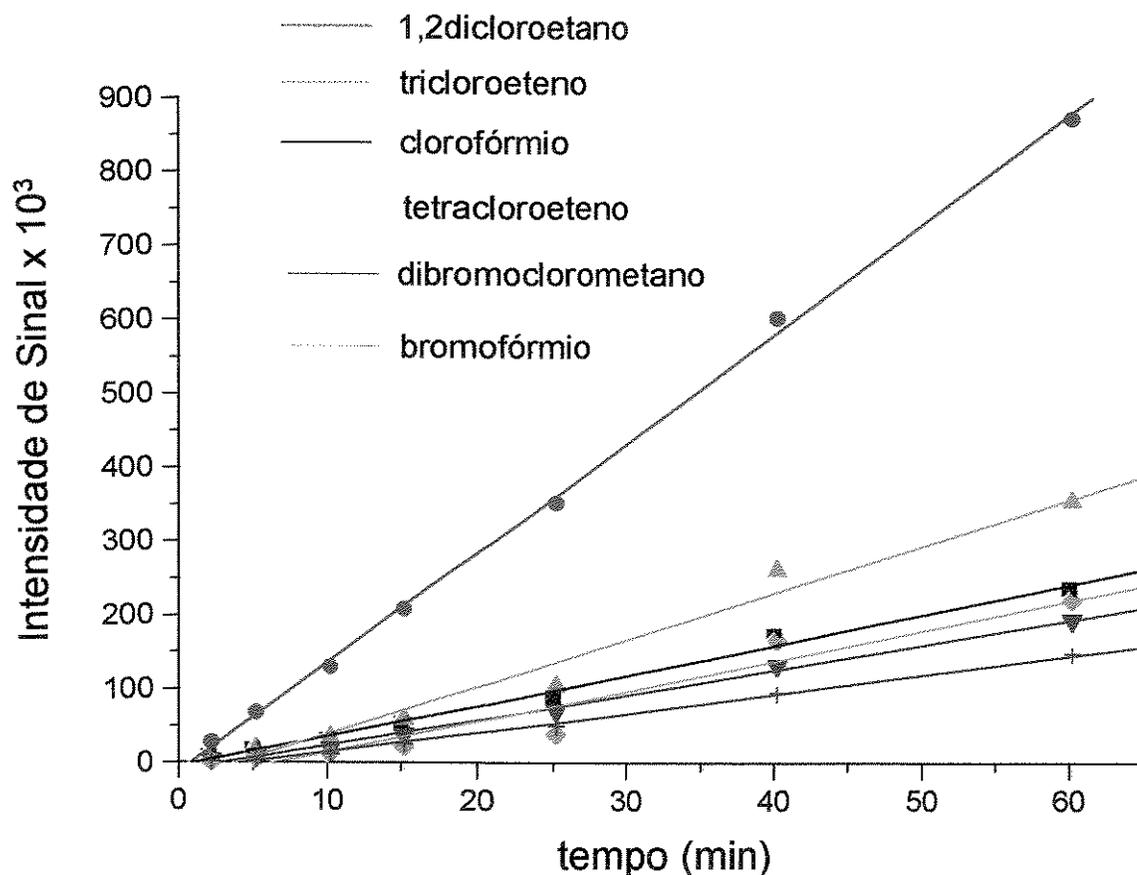


Figura 4.12 - Relação entre tempo de extração e intensidade de sinal cromatográfico de extrações com o sistema PMTC.

A partir dos dados da figura anterior, foi possível relacionar a intensidade do sinal cromatográfico por minuto de extração e o tempo de extração, como mostrado na figura 4.13.

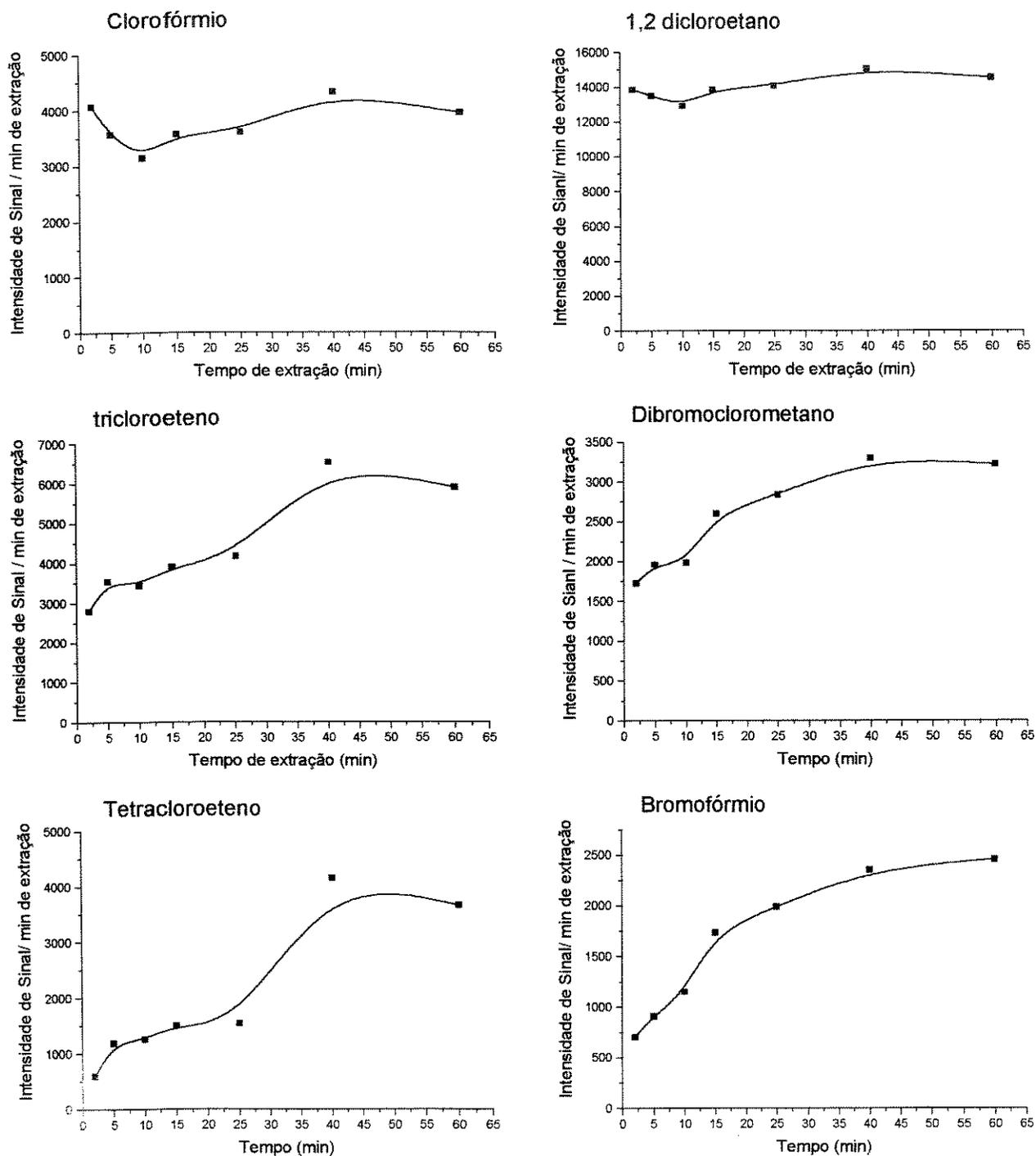


Figura 4.13 - Relação entre intensidade de sinal por minuto de extração e tempo de extração.

Esta figura indica que para os compostos tricloroetano, dibromoclorometano, tetracloroetano e bromofórmio que tem volatilidade inferior ao do 1,2 dicloroetano há um intervalo de tempo para que o fluxo destes analitos através da parede da membrana atinja o equilíbrio. No caso do clorofórmio que é mais volátil que o 1,2 dicloroetano o equilíbrio de permeação é prontamente atingido. Desta forma, discussões a respeito do melhor tempo de extração dependeria dos constituintes da amostra. Aparentemente, para amostras com compostos menos voláteis que o 1,2 dicloroetano, o tempo ideal de extração seria a partir de 40 min, pois a partir deste momento o fluxo de compostos atravessando a membrana atinge o valor máximo.

#### **4.5.E - Avaliação do tempo de espera para início de aquecimento do *trap***

Como discutido no item 4.4 (Limpeza da membrana), os analitos podem ficar adsorvidos na membrana. No item 4.5.D (tempo de extração) verificamos que, para os compostos estudados, a passagem dos analitos pela membrana necessita de um intervalo de tempo para atingir o equilíbrio. Estes fatos sugerem a existência de um compromisso entre o tempo que decorre para a extração no Módulo de Membrana - durante o qual, simultaneamente, os analitos são trapeados crioscópicamente - e o tempo de espera para o início do aquecimento do *trap* para a liberação dos analitos. Isto levou a realização de um estudo do comportamento do sinal cromatográfico após encerrada a passagem da amostra pela membrana. Utilizando o sistema PMTC foram feitas extrações de 5 minutos de soluções de compostos clorados a concentrações de aproximadamente  $1000 \mu\text{g.L}^{-1}$  e o aquecimento do *trap* foi iniciado após diversos intervalos de tempo. O sistema de preparação de amostra foi operado como descrito no item 4.3, inclusive com a retirada do excesso de amostra imediatamente após encerrado o tempo de extração. Os resultados são mostrados na figura 4.14, onde o tempo zero significa que o aquecimento do *trap* foi iniciado logo após encerrado o tempo de extração.

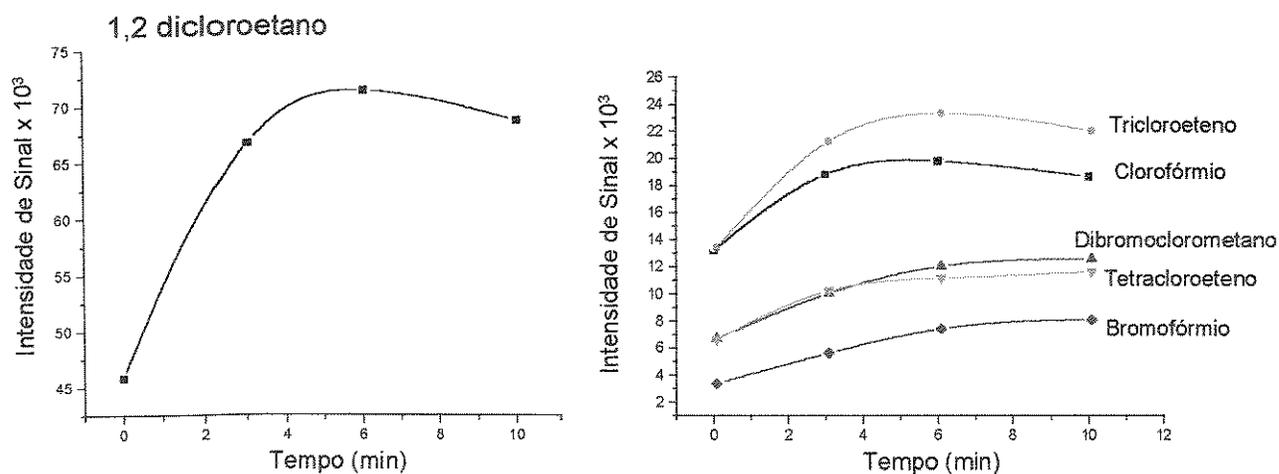


Figura 4.14 - Estudo do comportamento da intensidade do sinal em função da variação de tempo após a extração de compostos clorados

A figura 4.14 mostra que, para os compostos estudados, o sinal do detector tende para um valor máximo em função do tempo de espera para o início do aquecimento do *trap*. A magnitude deste resultado pode ser melhor observado pela tabela 4.6. Esta tabela mostra numericamente a diferença percentual da intensidade do sinal cromatográfico em relação ao tempo zero (veja explicação anterior) para cada intervalo de tempo.

Tabela 4.6 - Dados numéricos do estudo do tempo de espera após passagem da amostra.

Aumento percentual da intensidade do sinal do DIC em função do tempo de espera para iniciar o aquecimento do <i>trap</i> após passagem da amostra						
tempo (min)	CHCl <sub>3</sub>	1,2dicloroetano	tricloroeteno	Dibromoclorometano	Tetracloroeteno	CHBr <sub>3</sub>
3	42,5	45,7	58,3	49,7	54,6	67,4
6	49,7	55,9	73,8	79,6	68,5	118,5
10	41,2	50,1	64,3	87,7	76,0	140,6

Desta tabela é possível verificar que para compostos mais voláteis do que o 1,2 dicloroetano 6 min de espera antes de iniciar o aquecimento do *trap* aumenta em no mínimo 50% o sinal cromatográfico. Já os menos voláteis do que o 1,2 dicloroetano exigem um maior tempo de espera para que o máximo de permeação destes

compostos pela membrana seja alcançada. Neste estudo, 10 min de espera foram suficientes para aumentar em até 140% o sinal cromatográfico. Além do grande aumento da sensibilidade, a espera de um certo tempo antes de acionar o aquecimento do *trap* pode gerar resultados mais reprodutíveis. Isto porque no momento da desorção o fluxo de analitos permeando a membrana está em equilíbrio.

#### 4.5.F - Reprodutibilidade

Utilizando o sistema PMTC e solução aquosa de compostos clorados, com concentrações de aproximadamente  $750 \mu\text{g.L}^{-1}$ , foram feitas 5 extrações de 10 min de cada solução acrescido de 5 min de espera antes de aquecer o *trap*. A tabela 4.7 contém os resultados deste estudo.

Tabela 4.7 - Dados das estimativas de desvios padrão para replicata<sup>(a)</sup> de uma mistura de voláteis clorados obtidos pelo PMTC<sup>(b)</sup>.

Composto	$S_R^{(c)}$ da área cromatográfica	$S_R$ do tempo de retenção
Clorofórmio	2,8	2,2
1,2 dicloroetano	2,6	1,9
Tricloroetano	7,0	1,8
Dibromoclorometano	4,9	2,0
Tetracloroetano	5,9	1,8
Bromofórmio	4,9	1,6

<sup>(a)</sup> análises para extrações em quinduplicata; <sup>(b)</sup> *trap* de *Silcosteel*<sup>TM</sup>, N<sub>2</sub> líquido como congelante; <sup>(c)</sup> estimativa do desvio padrão relativo

Desta tabela verifica-se estimativas do desvio padrão relativo ( $S_R$ ) para as áreas cromatográficas inferiores a 6%, e para os tempos de retenção oscilando em torno de 2%. Estes dados estão coerentes com os apresentados na literatura citada no capítulo 3. A figura 4.15 ilustra 2 cromatogramas obtidos neste estudo, que apresentam grande semelhança.

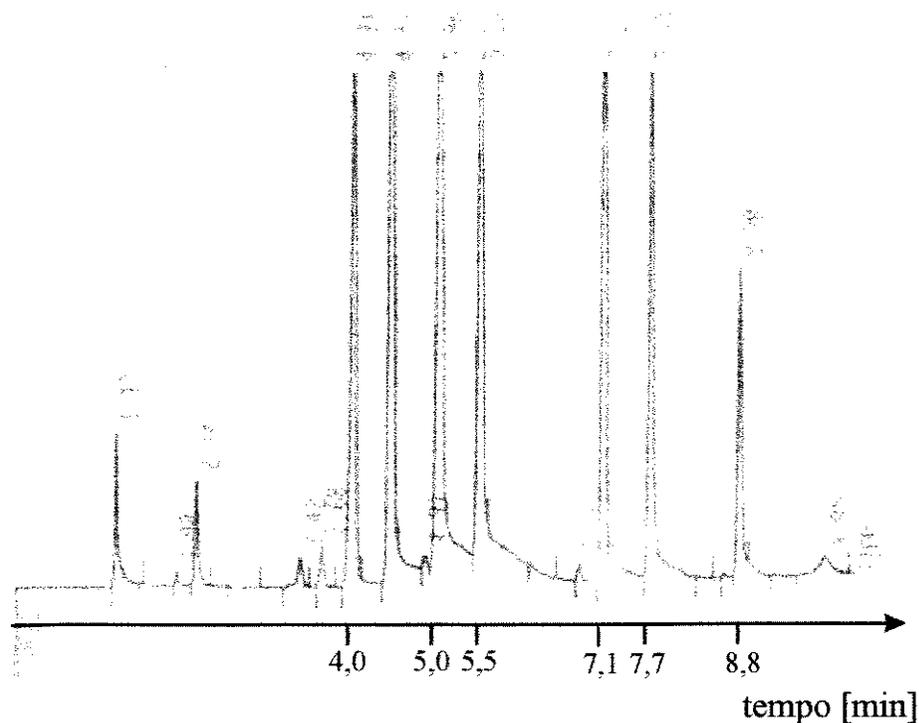
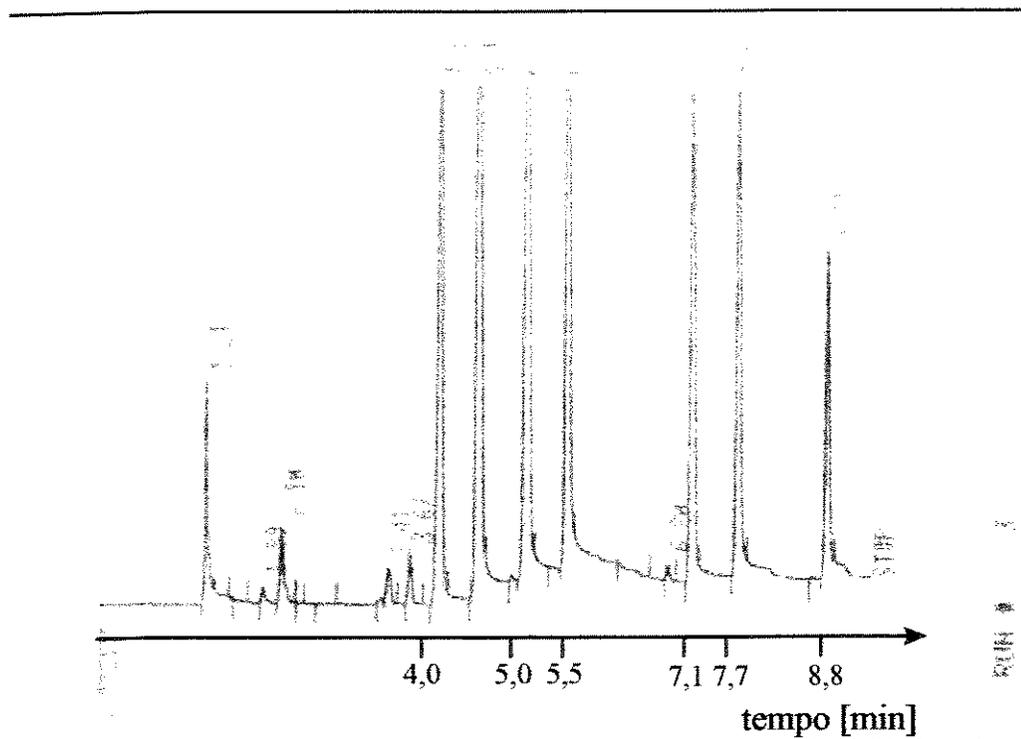


Figura 4.15 - Comparação de 2 cromatogramas obtidos no estudo de reprodutibilidade do PMTC. Condições cromatográficas: vazão da coluna =  $4,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , temp. do detector =  $275 \text{ }^\circ\text{C}$ , temp. da coluna =  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  por 3 min com aquecimento de  $30 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  até  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  seguido de novo aquecimento de  $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  até  $150 \text{ }^\circ\text{C}$ , coluna megabore LM1. Ordem de eluição como figura 4.10.

#### 4.5.G Comparação dos dois modos de operação do Módulo de Extração

Como apresentado no item 4.1 (figura 4.2) o Módulo de Extração pode ser operado no modo de operação A, amostra aquosa pelo interior da membrana e gás de arraste pelo exterior, e no modo B, amostra pelo exterior da membrana e gás de arraste pelo interior. Neste estudo foram comparadas as eficiências de extração, pela comparação das inclinações das curvas analíticas obtidas com os modos A e B de operação. O estudo também permitiu verificar a linearidade do sistema de preparação de amostra para uma faixa relativamente ampla de concentrações de 6 analitos organoclorados. Adicionalmente, as extrações foram realizadas com o uso dos sistemas MESI e PMTC. Nos testes com a configuração MESI foram usadas soluções de tolueno e clorobenzeno com concentrações na faixa de 10 a 1000  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , 0,86  $\text{mL.min}^{-1}$  de vazão da amostra e tempo de extração de 5 min com 10 min de espera para o aquecimento do *trap*. Para a configuração PMTC foram utilizadas soluções de clorofórmio, 1,2 dicloroetano, tricloroetano, dibromoclorometano, tetracloroetano e bromofórmio na faixa de 5 a 1000  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . O tempo de extração foi de 30 min com 5 min de espera para aquecimento do *trap* e vazão de amostra de 0,86  $\text{mL.min}^{-1}$ . O tempo de extração de 30 min foi usado para extração de quantidades dos compostos compatíveis com a baixa sensibilidade do DIC para os organoalogenados empregados. A figura 4.16 mostra as curvas analíticas obtidas para o sistema MESI e a figura 4.17 mostra as curvas analíticas para o sistema PMTC.

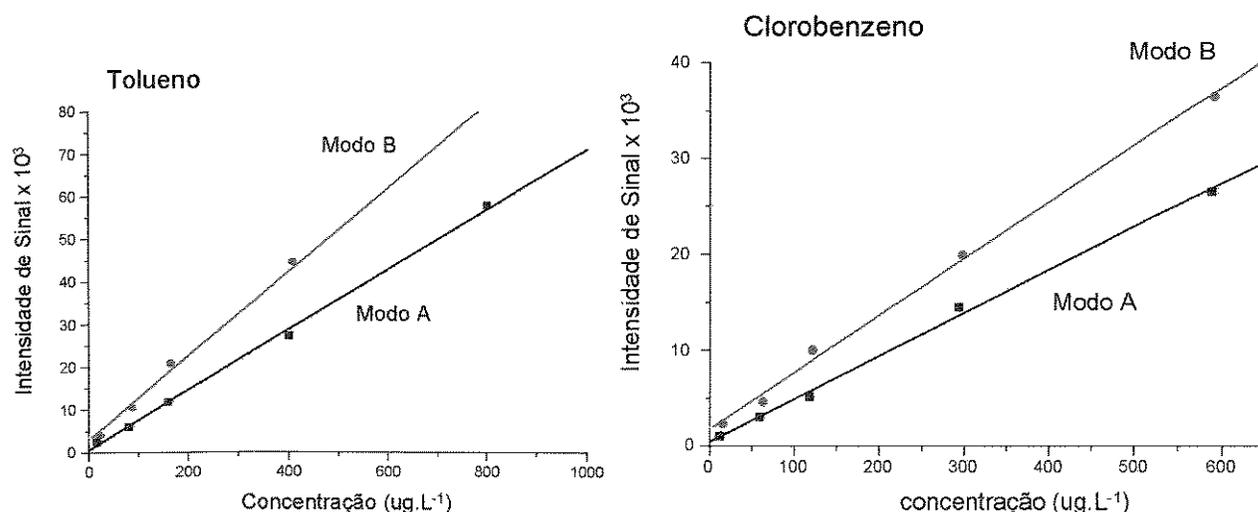


Figura 4.16 - Comparação dos modos A e B de operação do sistema MESI.

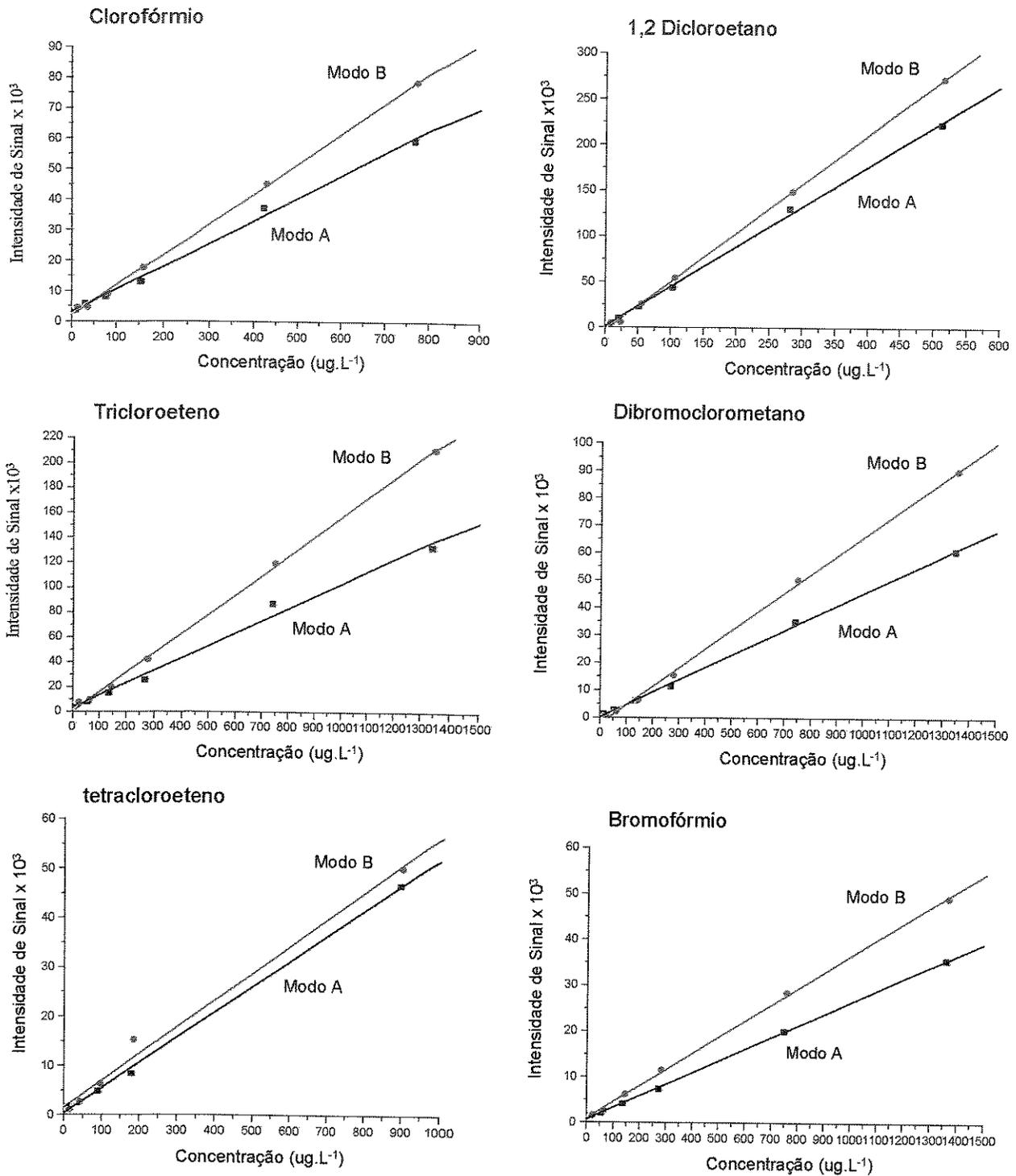


Figura 4.17 - Comparação dos modos A e B de operação do sistema PMTC.

Tanto para MESI quanto para PMTC os melhores resultados foram obtidos com o modo B de operação (amostra aquosa pelo exterior da membrana e gás de arraste pelo interior), pois resultaram nas curvas analíticas intensidade de sinal versus concentração do analito com maiores coeficientes angulares (vide tabela 4.8). Estas

concentração do analito com maiores coeficientes angulares (vide tabela 4.8). Estas figuras também indicam a boa linearidade do método (valores de coeficientes de correlação estão na faixa de 0,995 a 0,999). Três características do modo B poderiam justificar a sua maior sensibilidade.

(1ª) Através da equação 4.3 e com os dados da tabela 4.3 foi possível calcular a área das superfícies interna e externa da membrana. O valor calculado para a área de superfície externa da membrana foi de 92,2 mm<sup>2</sup> e para a superfície interna de 69,4 mm<sup>2</sup>, sendo de 33% a diferença entre essas superfícies. Assim, a maior superfície externa da membrana levaria a um maior contato analito-parede da membrana favorecendo a permeação dos analitos.

$$Sp = 2 \cdot \pi \cdot r \cdot L \quad (\text{equação 4.3})$$

onde, Sp é a superfície da membrana, r é o raio e L é o comprimento da membrana.

(2ª) Por meio da equação 4.1 foi possível calcular o volume de amostra que a membrana é exposta por unidade de tempo. Assim, a membrana é exposta a volumes de 26 µL e 295 µL de amostra por min, respectivamente, no modo de operação A e B. Quanto maior a quantidade de amostra em contato com a membrana maior será a quantidade de analitos permeando pela membrana.

(3ª) Esta característica é especulativa e está relacionada com as velocidades lineares da amostra aquosa nos modos A e B de operação. O fluxo no modo B muito provavelmente é turbulento, pois é um tubo de 5 mm de diâmetro interno com uma "barreira" dentro - a membrana. O fluxo no modo A pode ser laminar - certamente é menos turbulento do que o fluxo no modo B. Assim, por intervalo de tempo, o tipo de fluxo em B favoreceria um melhor contato da amostra aquosa com maior superfície de membrana.

Tabela 4.8 - Coeficientes angulares obtidos no estudo comparativo entre o modo A e o modo B do Módulo de Membrana.

Composto	Coeficiente Angular	
	Modo A	Modo B
Tolueno	70,7	98,6
Clorobenzeno	44,9	59,2
Clorofórmio	74,7	99,4
1,2 dicloroetano	437,2	534,7
Tricloroetano	99,2	155,5
Dibromoclorometano	45,3	68,1
Tetracloroetano	51,4	54,5
Bromofórmio	25,6	35,5

#### 4.6 - Limite de detecção do sistema de preparação de amostra

Após o modo B de operação ter sido selecionado como o mais adequado, foram calculados os limites de detecção estimados para os compostos clorados utilizando o cromatograma obtido da solução menos concentrada do estudo anterior - figura 4.18. Utilizando o modo B de operação, outra curva analítica foi construída para soluções de quatro compostos aromáticos (clorobenzeno, etilbenzeno, o-xileno e o-clorotolueno) com concentrações na faixa de 0,2 a 15  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , 30 min de extração e 5 min de espera para aquecimento do *trap* e vazão de amostra de 0,86  $\text{mL.min}^{-1}$ . O cromatograma obtido da extração da solução de menor concentração foi utilizado nos cálculos dos limites de detecção - figura 4.19. As curvas analíticas de intensidade de sinal versus concentração obtidas para estas soluções, mostradas na tabela 4.9, são concordantes com a expectativa de linearidade decorrentes dos testes anteriores. Para o cálculo do limite de detecção foi adotada a comparação com a razão sinal-ruído igual a 2.

Tabela 4.9 - Dados das curvas analíticas obtidos no estudo de linearidade de alguns compostos aromáticos.

Composto	Coefficiente Angular	Coefficiente Linear	Correlação
clorobenzeno	1475,1	899,6	0,9995
etilbenzeno	1044,7	1051,3	0,9996
o-xileno	1133,4	948,4	0,9996
o-clorotolueno	645,1	492,7	0,9997

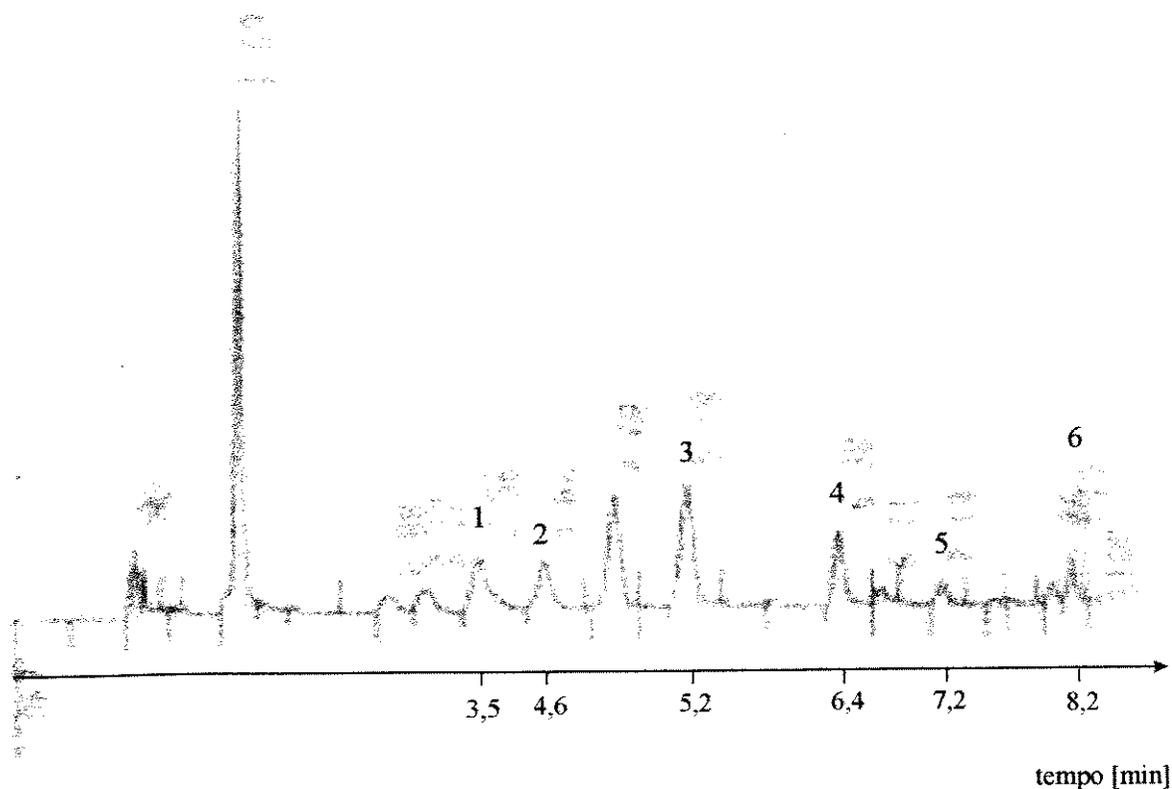


Figura 4.18 - Cromatograma utilizado para os cálculos do limite de detecção para os compostos clorados. Condições cromatográficas: iguais aos da figura 4.15. Ordem de eluição e concentração: [1] clorofórmio ( $7,68 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), [2] 1,2 dicloroetano ( $5,12 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), [3] tricloroetano ( $13,44 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), [4] dibromoclorometano ( $13,48 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), [5] tetracloroetano ( $8,96 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e [6] bromofórmio ( $13,6 \mu\text{g.L}^{-1}$ ).

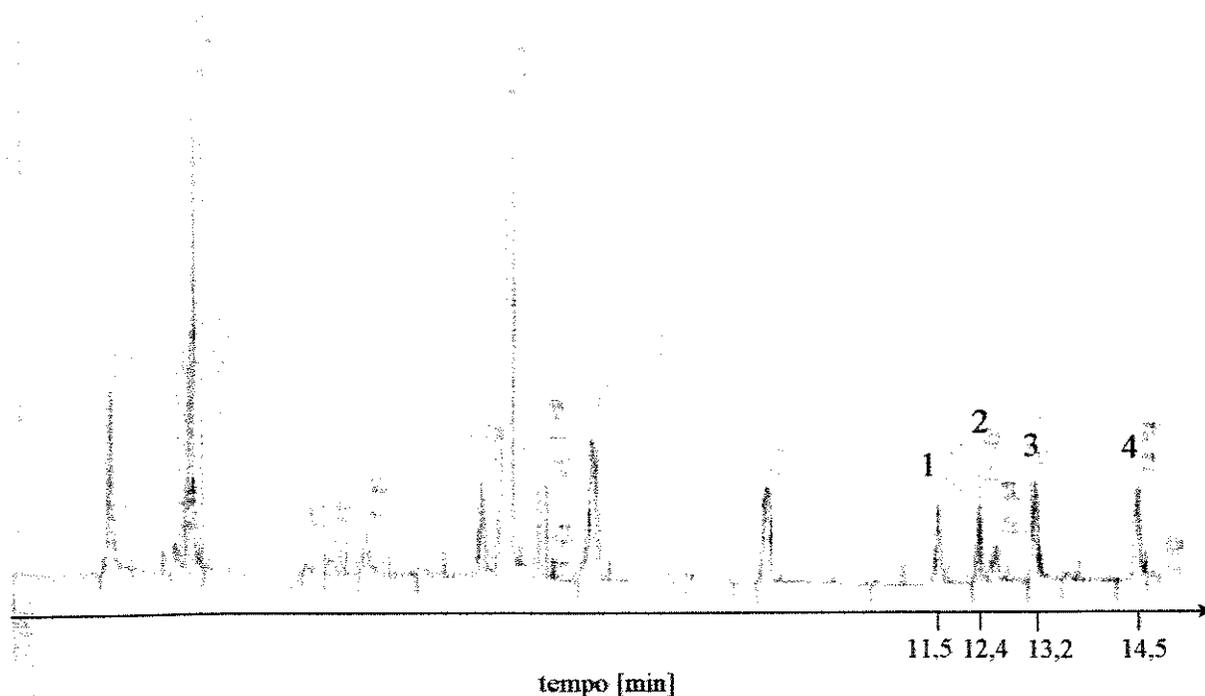


Figura 4.19 - Cromatograma utilizado para os cálculos do limite de detecção para alguns compostos aromáticos. Condições cromatográficas: vazão de gás =  $4,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , temp. detector =  $275 \text{ }^\circ\text{C}$ , temp. da coluna =  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  por 3 min e aquecimento de  $5 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  até  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  e posterior aquecimento de  $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  até  $150 \text{ }^\circ\text{C}$ , coluna *megabore* LM1. Ordem de eluição e concentração: [1] clorobenzeno ( $0,27 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), [2] etilbenzeno ( $0,35 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), [3] o-xileno ( $0,36 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e [4] clorotolueno ( $0,54 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ).

A figura 4.20 representa um cromatograma, de uma mistura de compostos aromáticos, obtido por extração por PMTC, 40 min de extração acrescido de 5 min de espera antes do aquecimento do *trap* e  $2,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  de vazão da amostra. Estas condições reúnem o tempo ideal de extração e a vazão da amostra que fornece a melhor sensibilidade, associado ao fato destes compostos serem muito sensíveis ao detector usado. Os dados de limite de detecção obtidos estão na tabela 4.10.

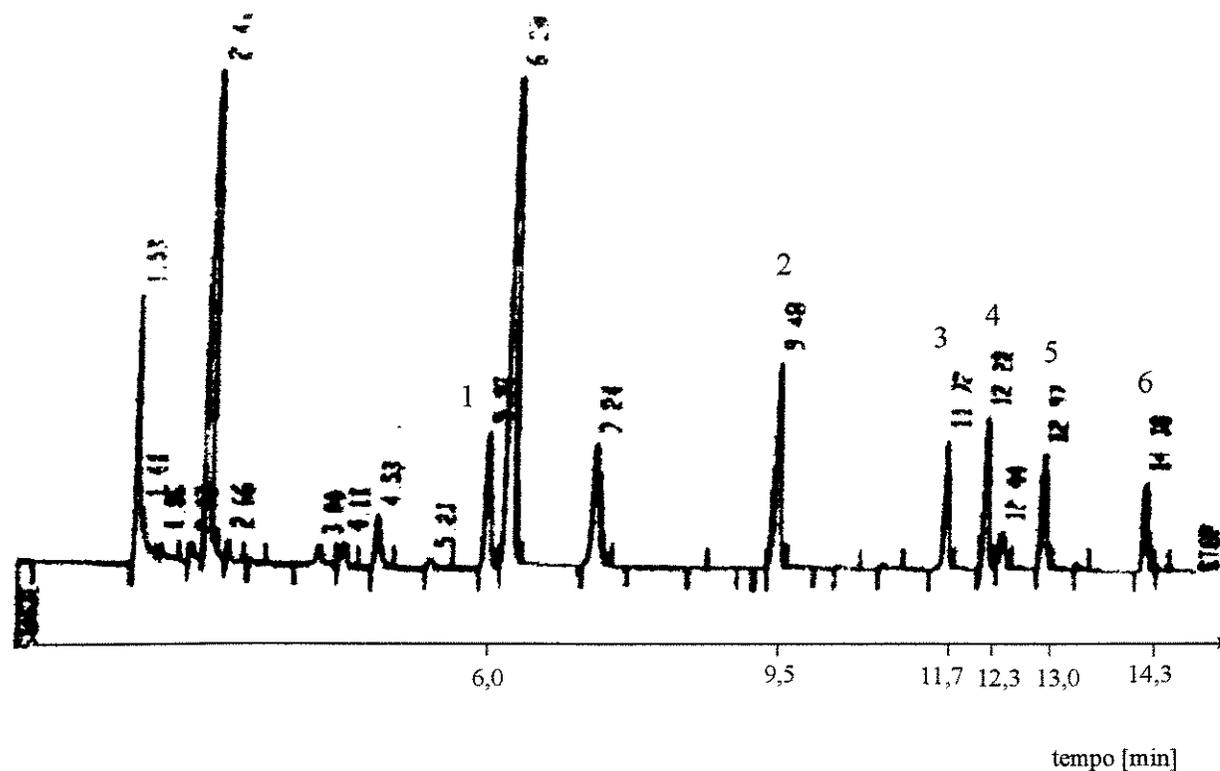


Figura 4.20 - Cromatograma utilizado para os cálculos do limite de detecção para alguns compostos aromáticos obtido em condições ideais de extração. Condições cromatográficas: vazão de gás =  $4,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , temp. detector =  $275 \text{ }^\circ\text{C}$ , temp. da coluna =  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  por 3 min e aquecimento de  $15 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  até  $150 \text{ }^\circ\text{C}$ , coluna *megabore* LM1. Localização e concentração: [1]  $0,055 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , [2]  $0,101 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , [3]  $0,078 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , [4]  $0,076 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , [5]  $0,067 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  e [6]  $0,060 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Os valores da tabela 4.10 indicam a grande sensibilidade do sistema de preparação de amostra desenvolvido. Os valores de limite de detecção da terceira coluna são melhores que os apresentados na literatura. Se condições otimizadas são utilizadas para sistema de preparação de amostra limites de detecção de partes por quatrilhão são alcançados.

Tabela 4.10 - Limites de detecção estipulado em diferentes condições de extração.

Composto	5 min extração e vazão de amostra de 0,86 ml.min <sup>-1</sup>	30 min extração e vazão de amostra de 0,86 ml.min <sup>-1</sup>	40 min extração e vazão de amostra de 2,50 ml.min <sup>-1</sup>
	ng.L <sup>-1</sup>	ng.L <sup>-1</sup>	pg.L <sup>-1</sup>
benzeno	ne	ne	61,4
tolueno	17,8	ne	112,1
clorobenzeno	13,1	0,60	86,7
etilbenzeno	ne	0,77	84,5
o-xileno	ne	0,80	74,3
clorotolueno	ne	1,20	66,7
clorofórmio	ne	8,54	ne
1,2 dicloroetano	ne	5,70	ne
tricloroetano	ne	14,9	ne
Diclorobromometano	ne	15,0	ne
tetracloroetano	ne	10,0	ne
bromofórmio	ne	15,1	ne

ne = não estudado

## 5 - MICROEXTRATOR LÍQUIDO-LÍQUIDO

### 5.1 - Protótipos

A figura 3.14 (pp 23) representa o protótipo #1 do microextrator líquido-líquido ( $\mu$ ELL), que foi reproduzido na vidraria do Instituto de Química da Unicamp a partir do trabalho de Murray [46]. Como descrito no capítulo 3, ítem 3.3, neste microextrator 980 mL de amostra de água contendo pesticidas são misturados com 200  $\mu$ L de hexano e realizada agitação manual por 2 minutos. Em seguida, por meio de adição de água através do braço lateral, a camada de solvente é deslocada para o capilar e então coletada para análise cromatográfica. No trabalho original [46] é citada a possibilidade de realização de 3 extrações sucessivas com 200  $\mu$ L de hexano, com volumes de solvente recuperados após cada extração de 50  $\mu$ L, devido a solubilidade do solvente em água e a perda por evaporação. No nosso uso do protótipo #1, as extrações sucessivas não foram possíveis, porque adição de água pelo braço lateral, que deslocaria o solvente extrator para o tubo capilar, impede extrações sucessivas devido a diluição da amostra. O retorno da amostra para o nível inicial, e portanto em situação para novas extrações, só seria possível pela retirada de uma porção da água, o que levaria a perda dos pesticidas. Uma alternativa para o deslocamento do solvente extrator foi por pressão no braço lateral. Entretanto, a posição do braço lateral no protótipo #1 não permite o deslocamento do solvente por pressão, pois as bolhas seguem pela parede em direção ao capilar, impedindo a amostragem do solvente. Esta situação levou ao desenvolvimento de um novo  $\mu$ ELL cuja operação permitisse extrações sucessivas sem os problemas encontrados no protótipo anterior. A figura 5.1 apresenta o protótipo #2 do  $\mu$ ELL, originado de modificações do anterior em função das observações descritas anteriormente. Esta figura também ilustra o modo de operação deste novo  $\mu$ ELL.

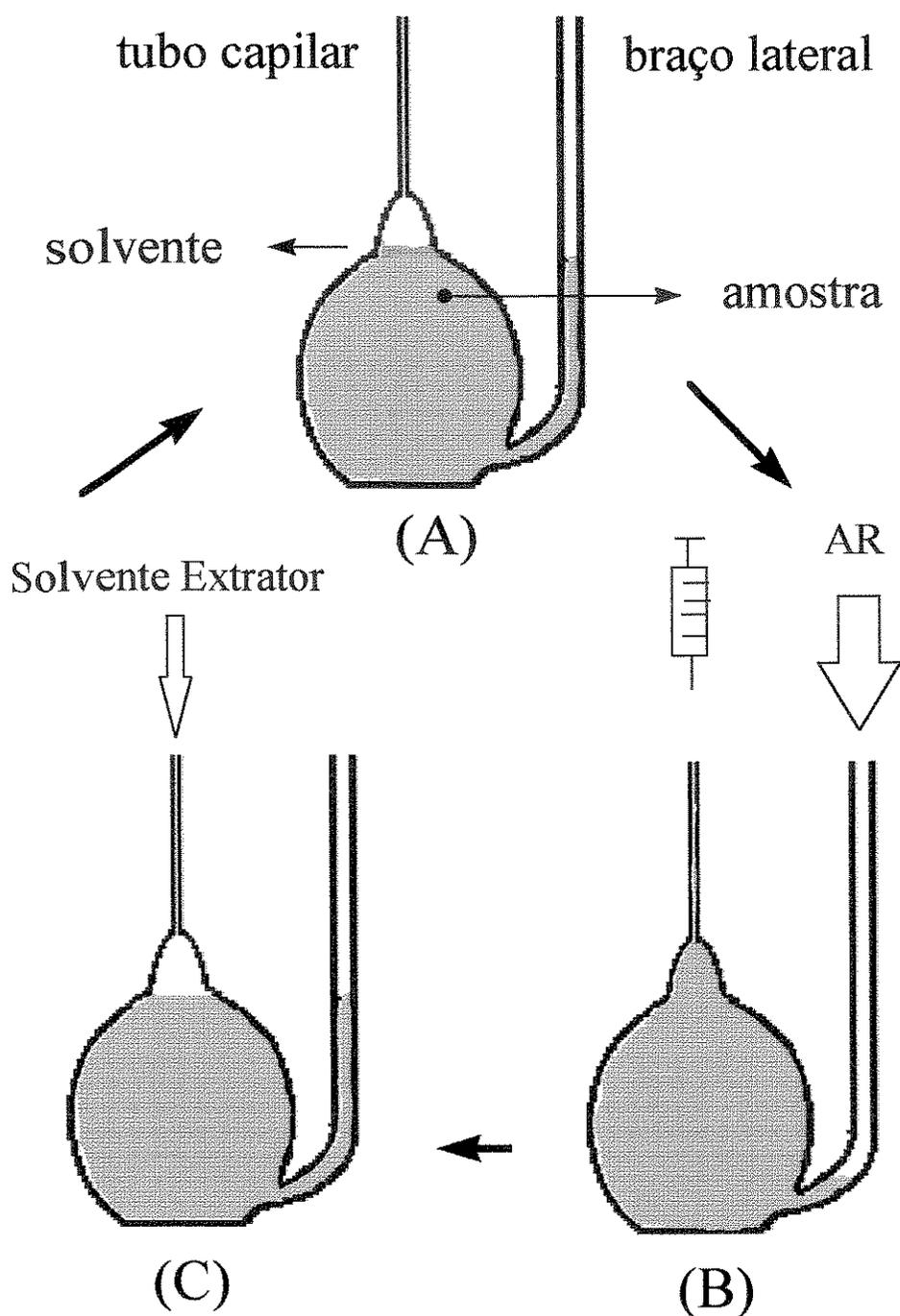


Figura 5.1 - Esquema e modo de operação do protótipo #2 do  $\mu$ ELL

## 5.2 - Operação do Protótipo #2

O protótipo #2 tem seu modo de operação, representado por etapas na figura 5.1, semelhante ao do protótipo #1. No  $\mu$ ELL são adicionados 980 mL de amostra contendo os pesticidas e uma certa quantidade de solvente extrator. Em seguida é

realizada agitação do sistema por um determinado período de tempo. Encerrado o tempo de agitação, o sistema é deixado em repouso até completa separação entre as fases orgânica e aquosa - ítem A da figura 5.1. Em seguida, por meio de pressão de ar no braço lateral, o solvente extrator é deslocado para o tubo capilar. A pressão de ar pode ser obtida com o uso de uma seringa de 25 mL. Então, o solvente extrator é coletado por uma micro seringa Halmilton de 250  $\mu\text{L}$  e estocado em frasco apropriado para posterior análise por CG. A retirada da pressão de ar do braço lateral faz com que o nível da amostra no  $\mu\text{ELL}$  retorne a posição original - ítem C da figura 5.1 - permitindo nova introdução de solvente extrator para iniciar um novo ciclo de extração com a mesma amostra. Estes ciclos podem ser realizados inúmeras vezes e os solventes extratores de cada ciclo acumulados para análise por CG.

### 5.3 - Otimização da operação do protótipo #2

A eficiência de extração do  $\mu\text{ELL}$  depende de uma série de parâmetros experimentais. Objetivando realizar extrações quantitativas de soluções com concentrações abaixo de  $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$  foi feito um estudo da otimização do processo de extração do protótipo #2. Este estudo envolveu o comportamento do  $\mu\text{ELL}$  em relação ao tempo de extração, forma de agitação do sistema, volume de solvente extrator, tipo de solvente extrator e o efeito de salificação (*salting out*). Em todas as extrações foram utilizados volumes de 980 mL de amostra sintética dos pesticidas Aldrin<sup>TM</sup>, Dieldrin<sup>TM</sup>, Lindano<sup>TM</sup>, Endrin<sup>TM</sup>, Hexaclorobenzeno (HCB) e Mirex<sup>TM</sup>. Os extratos obtidos foram diretamente analisados em um cromatógrafo gasoso Perkin Elmer Autosystem XL equipado com detector por captura de elétrons (DCE). Para a separação cromatográfica foi utilizada coluna capilar BP1 de 25 m de comprimento e  $0,25 \mu\text{m}$  de espessura de filme. A aquisição e a análise dos dados foi feita pelo programa Turbochrom 4.0 da Perkin Elmer. As condições cromatográficas estão descritas nos cromatogramas apresentados a seguir. Como a reprodutibilidade é ponto crucial em métodos de preparação de amostra, impondo-se inclusive sobre a eficiência de extração [3], um prévio estudo sobre a reprodutibilidade do  $\mu\text{ELL}$  foi realizada pela análise cromatográfica de 5 replicatas de extrações feitas em um único dia. O tempo de cada extração foi de 60 min e o volume inicial de solvente extrator (isooctano) de 200

$\mu\text{L}$ . A quantidade de solvente extrator recuperada foi de 190  $\mu\text{L}$ . Para a determinação da reprodutibilidade do  $\mu\text{ELL}$  foi utilizado a estimativa do desvio padrão relativo ( $S_R$ ) que é um parâmetro que indica a repetibilidade do método; é recomendável que este parâmetro varia entre 2 a 5% [27]. Os primeiros trabalhos apresentaram desvios padrão de 5,5% para Lindano<sup>TM</sup> e Endrin<sup>TM</sup> e 6,2% para Aldrin<sup>TM</sup>. Como causas prováveis dos desvios entre as extrações podemos citar a dificuldade de manter repetitivamente a mesma agitação da amostra (neste estudo foi utilizado agitação mecânica com barra magnética), variação na temperatura ambiente e possíveis perdas devido a evaporação do solvente. No decorrer dos estudos de otimização do  $\mu\text{ELL}$  todas as extrações foram feitas em triplicata, para a avaliação das repetibilidades conseguidas com o protótipo #2.

### 5.3.A - Seleção do solvente extrator

O fator essencial na escolha do solvente extrator é solubilidade em água [45]. O solvente extrator deve ser pouco solúvel em água, porque mesmo uma pequena fração de solvente dissolvido em água pode carregar consigo traços de material orgânico. De acordo com estudos realizados por Grob e col. [45] os alcanos são solventes eficientes. Neste estudo 980 mL de amostra foram extraídos pela adição de 150  $\mu\text{L}$  dos solventes isoctano, hexano e tolueno, por períodos de 30 minutos e agitação mecânica com barra magnética. O volume de solvente obtido ao final de cada extração variou para cada solvente, sendo que o menor volume recuperado foi do tolueno. A figura 5.2 relaciona, para cada pesticida, o tipo de solvente com a eficiência relativa ao tolueno, obtida pela equação 5.1.

$$E_R = \frac{S_i * V_i}{S_{Tol.} * V_{Tol.}} \quad (\text{equação 5.1}),$$

onde  $E_R$  é a eficiência relativa,  $S_i$  é o sinal obtido quando utilizado um volume de solvente  $i$ ,  $V_i$  é o volume de solvente  $i$ ,  $V_{Tol.}$  é o volume de tolueno e  $S_{Tol.}$  é o sinal obtido quando utilizado tolueno como solvente extrator.

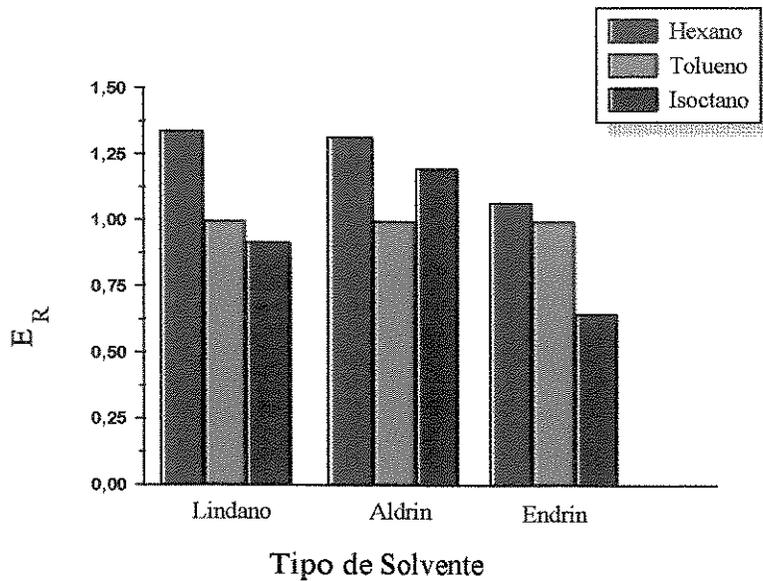


Figura 5.2 - Efeito do tipo de solvente extrator sobre a recuperação dos pesticidas

Para os três pesticidas o hexano foi o solvente mais eficaz no processo de extração. O tolueno não cumpre a principal exigência para atuar como extrator, pois apresentou a maior solubilidade em água. Já o isoctano, apesar de não ter sido o solvente mais eficiente no processo de extração, era o único que dispunhamos com boa qualidade (fator que também é decisivo neste tipo de trabalho) e em grande quantidade. Assim, prosseguimos os estudos com este solvente.

### 5.3.B Forma de agitação do $\mu$ ELL

O contato entre o solvente extrator e a amostra é um fator determinante para boa recuperação dos pesticidas. Para propiciar este contato, foram testadas agitação mecânica, com barra magnética de aproximadamente 2 cm de comprimento, em microextrator com e sem quebra ondas, ultrassom e agitação manual. A tabela 5.1 compara as eficiências de extração para três diferentes formas de agitação do sistema amostra-solvente extrator (isoctano) por um período de 5 minutos: agitação manual, ultrassom e agitação mecânica com barra magnética tendo o  $\mu$ ELL sido acrescido de quebra-ondas. Em todos os casos o tempo de agitação foi de 5 min. A eficiência relativa foi calculada de acordo com a equação 5.1 e referente a agitação com ultrassom.

Tabela 5.1 - Eficiência relativa das formas de agitação do  $\mu$ ELL.

Composto	Eficiência relativa		
	Agitação manual	Agitação mecânica	Ultrassom
Hexaclorobenzeno	8,1	1,9	1
Lindano <sup>TM</sup>	7,5	2,4	1
Heptaclor <sup>TM</sup>	8,1	1,6	1
Aldrin <sup>TM</sup>	7,3	1,4	1
Dieldrin <sup>TM</sup>	7,8	1,6	1
Mirex <sup>TM</sup>	8,1	0,8	1

De acordo com a tabela 5.1, a agitação manual apresentou os melhores resultados, seguida da extração mecânica com barra magnética, o qual foi muito próxima da agitação com ultrassom. A agitação mecânica em microextrator com e sem quebra ondas apresentou a mesma eficiência de extração. Os cromatogramas das figuras 5.3, 5.4 e 5.5 foram obtidos, respectivamente, por injeção de extratos de extrações que utilizaram agitação manual, mecânica e ultrassom. Neles, a escala da intensidade de sinal foi mantida igual para comparação dos tamanhos dos picos cromatográficos em função da forma de agitação. A comparação destes cromatogramas permite concluir que a forma de agitação manual é, sem dúvida, a mais efetiva no processo de extração dos pesticidas, pois apresenta altura dos picos cromatográficos muito superiores aos demais. Além disto, boa reprodutibilidade de extração também foram alcançadas em todos os estudos subsequentes em que a agitação manual do  $\mu$ ELL foi utilizada. A última coluna da tabela 5.3 contém informações sobre a reprodutibilidade de extrações no modo de agitação manual.

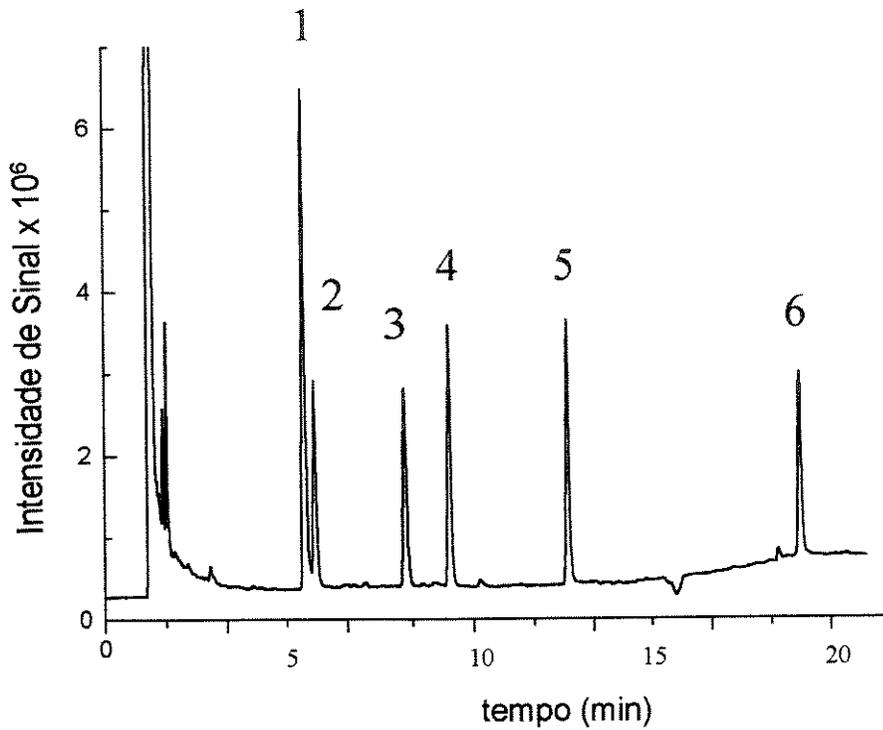


Figura 5.3 - Cromatograma de injeção de extrato obtido por agitação manual do  $\mu$ ELL. Condições cromatográficas: temp. injetor = 260 °C, temp. da coluna = 180 °C (3 min) e aquecimento de 5 °C.min<sup>-1</sup> até 260 °C (1 min), vazão da coluna = 1,1 mL.min<sup>-1</sup>, vazão de gás make-up = 30 mL.min<sup>-1</sup>, volume injetado = 2  $\mu$ L, slipt = 20:1 e atenuação = 2. Ordem de eluição: (1) Hexaclorobenzeno, (2) Lindano<sup>TM</sup>, (3) Heptaclor<sup>TM</sup>, (4) Aldrin<sup>TM</sup>, (5) Dieldrin<sup>TM</sup> e (6) Mirex<sup>TM</sup>.

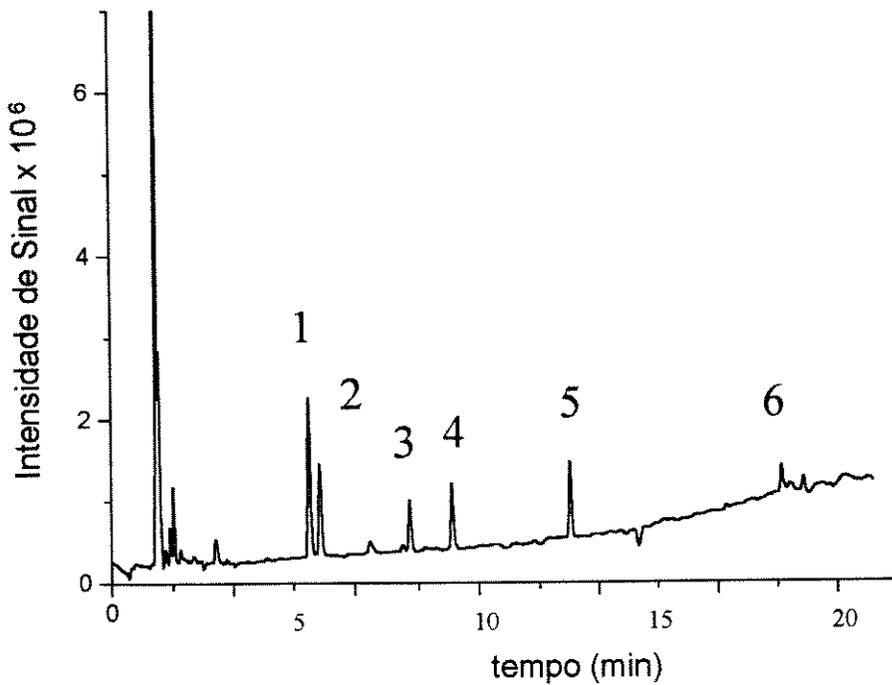


Figura 5.4 - Cromatograma de injeção de extrato obtido por agitação mecânica do  $\mu$ ELL. Condições cromatográficas e ordem de eluição: como figura 5.3

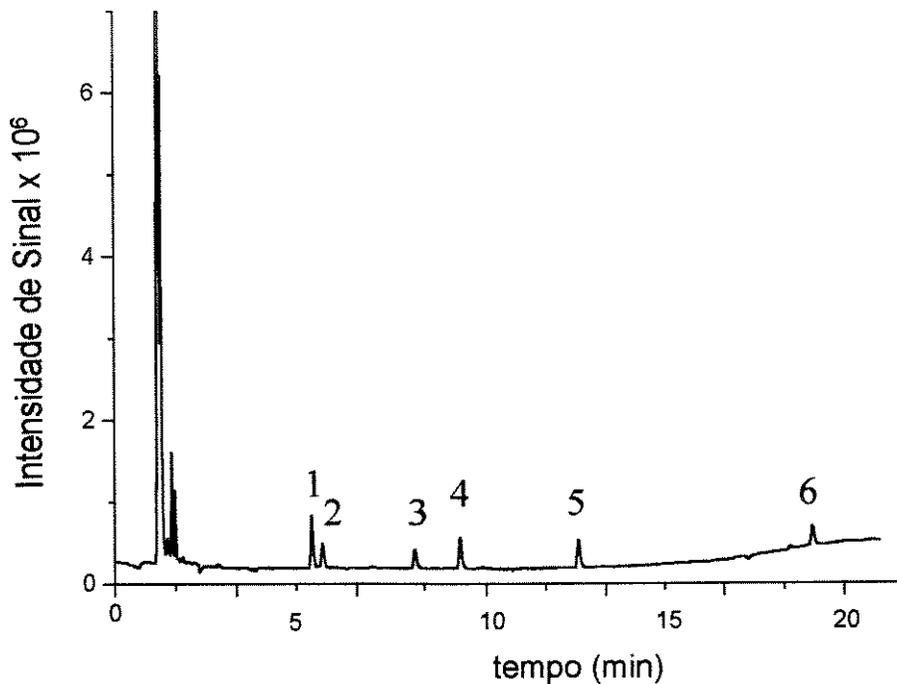


Figura 5.5 - Cromatograma de injeção de extrato obtido por agitação com ultrassom do  $\mu$ ELL. Condições cromatográficas e ordem de eluição: como figura 5.3

Outro estudo comparando a agitação manual e a mecânica com barra magnética foi realizado. Neste estudo foi determinado, através do método de padronização externo, a percentagem de recuperação dos pesticidas quando utilizado agitação manual e agitação mecânica com barra magnética. O período de agitação manual foi de 5 min, enquanto que para a agitação mecânica variou de 45 min a 3 horas, tempo mínimo para que a eficiência de extração atingisse valores semelhantes aos da agitação manual.

Tabela 5.2 - Comparação de duas formas de agitação do  $\mu$ ELL

Composto	Agitação:	mecânica com barra magnética				manual
		Recuperação dos pesticidas (%)				
		0,75 horas	1,5 horas	2,25 horas	3 horas	5 min
HCB		9,9	21,4	38,9	57,1	51,9 $\pm$ 5,3
Lindano <sup>TM</sup>		9,8	22,5	27,5	54,8	46,3 $\pm$ 5,6
Heptaclor <sup>TM</sup>		8,2	16,6	21,6	57,5	55,7 $\pm$ 4,3
Aldrin <sup>TM</sup>		6,3	14,5	20,1	46,5	52,5 $\pm$ 5,1
Dieldrin <sup>TM</sup>		13,9	26	31,3	59,9	57,1 $\pm$ 3,8

Na coluna referente a recuperação dos pesticidas após agitação manual é mostrado a estimativa do desvio padrão relativo para extrações em triplicata, cujos valores são considerados normais para este tipo de trabalho. Os dados da tabela 5.2 evidenciam os efeitos das formas de agitação sobre a eficiência de recuperação dos pesticidas. Desta tabela fica evidente a grande superioridade da agitação manual sobre as demais formas de agitação na recuperação dos pesticidas. Esta discussão deixa em aberto a necessidade de posteriores estudos para encontrar outras formas de agitação mecânica que se sobressaíam sobre a manual.

### 5.3.C - Volumes de solvente extrator

Em um estudo prévio da influência do volume extrator sobre a eficiência de extração do  $\mu$ ELL, volumes de 980 mL de amostras sintéticas de Lindano<sup>TM</sup>, Aldrin<sup>TM</sup> e Endrin<sup>TM</sup> foram extraídas durante 60 minutos, com agitação mecânica e quantidades variadas de isoctano. Volumes de 0,1  $\mu$ L de cada extrato foram injetados no cromatógrafo gasoso e as intensidades de sinal obtidas foram usadas para representar as quantidades de pesticidas extraídos. Neste estudo foi utilizado um cromatógrafo gasoso modelo 104 (Pye Unicam Ltda) equipado com DCE (<sup>63</sup>Ni). O DCE foi adaptado [51] para uso com colunas *megabore* de 0,5 mm de diâmetro interno. O condicionamento dos sinais cromatográficos foi feita com um eletrômetro modelo Pye Wide Range Amplifier (Pye Unicam Ltda). Coleta de dados com o programa Lecrom [52] após digitalização, com um conversor analógico-digital de 12 bits modelo DACA (IBM Corp., Boca Raton, FL). Análise dos dados coletados foi feita com o programa ANACROM.PAS [52]. Para a separação cromatográfica foi utilizada uma coluna *megabore* HP1 de 5 m de comprimento e espessura de filme de 2,65  $\mu$ m. Os resultados, representados na figura 5.6.A, indicam tendência a um valor constante com o aumento do volume de solvente extrator. Isto sugere que a diluição dos pesticidas causada pelo aumento da quantidade de solvente é compensada pelo aumento das recuperações devido ao uso de maiores volumes de solvente. Esta tendência é melhor demonstrada pela figura 5.6.B, na forma da variação da eficiência relativa de extração em função do volume do extrator. A eficiência relativa foi calculada em relação à recuperação do menor volume de isoctano (45  $\mu$ L), de acordo com a equação 5.1.

Como mostrado na figura 5.6B, a eficiência relativa de extração cresce com o volume de isoctano, o que significa que o aumento do rendimento de extração com o aumento do volume de isoctano realmente supera o efeito paralelo de diluição. O efeito da quantidade de solvente extrator também pode ser observado na figura 5.7, onde são comparados cromatogramas obtidos com volumes de solvente de 45  $\mu\text{L}$  e 185  $\mu\text{L}$  (os picos do solvente foram omitidos nestes cromatogramas). Através desta figura também podemos constatar a viabilidade de análises quantitativas do  $\mu\text{ELL}$  observando a relação altura do pico-ruído de fundo para o menor pico (Endrin<sup>TM</sup>), obtido da extração com 185  $\mu\text{L}$  de solvente. A região da linha de base à direita do menor pico deste cromatograma, o do Endrin<sup>TM</sup>, foi usada para calcular o ruído quadrático médio (N). O valor da altura do pico foi dividido pelo N multiplicado por dois, (pois adotamos  $2 \times N$  como referência para cálculos de relação sinal-ruído) obtendo-se o valor 1090. Portanto, como a altura do menor pico foi cerca de 1090 vezes maior que 2 vezes o ruído, considerou-se que todos os picos obtidos, nas diversas condições de extração, são adequados para análises quantitativas. Na figura 5.7 é mostrado o pico do Endrin<sup>TM</sup>, expandido nove vezes, com os valores N, altura e razão altura/2N. Como neste trabalho as concentrações dos pesticidas foram de aproximadamente  $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ , estes resultados sugeriram possibilidade de determinações de amostras com concentrações inferiores à concentração máxima permitida por lei de  $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

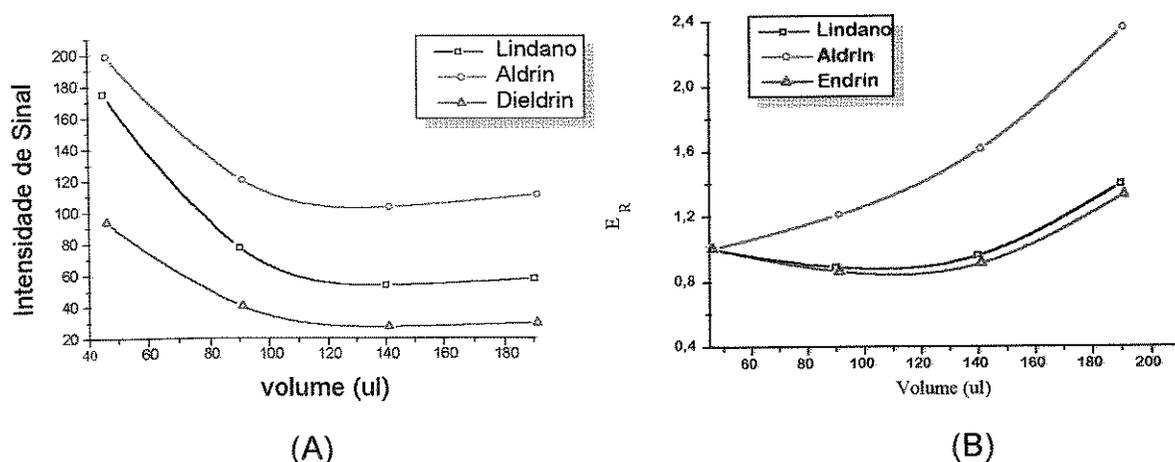


Figura 5.6 - Estudo prévio da influência do volume extrator sobre a recuperação dos pesticidas: (A) Sinal comatografico versus volume de solvente extrator (B) Eficiência versus volume de solvente extrator

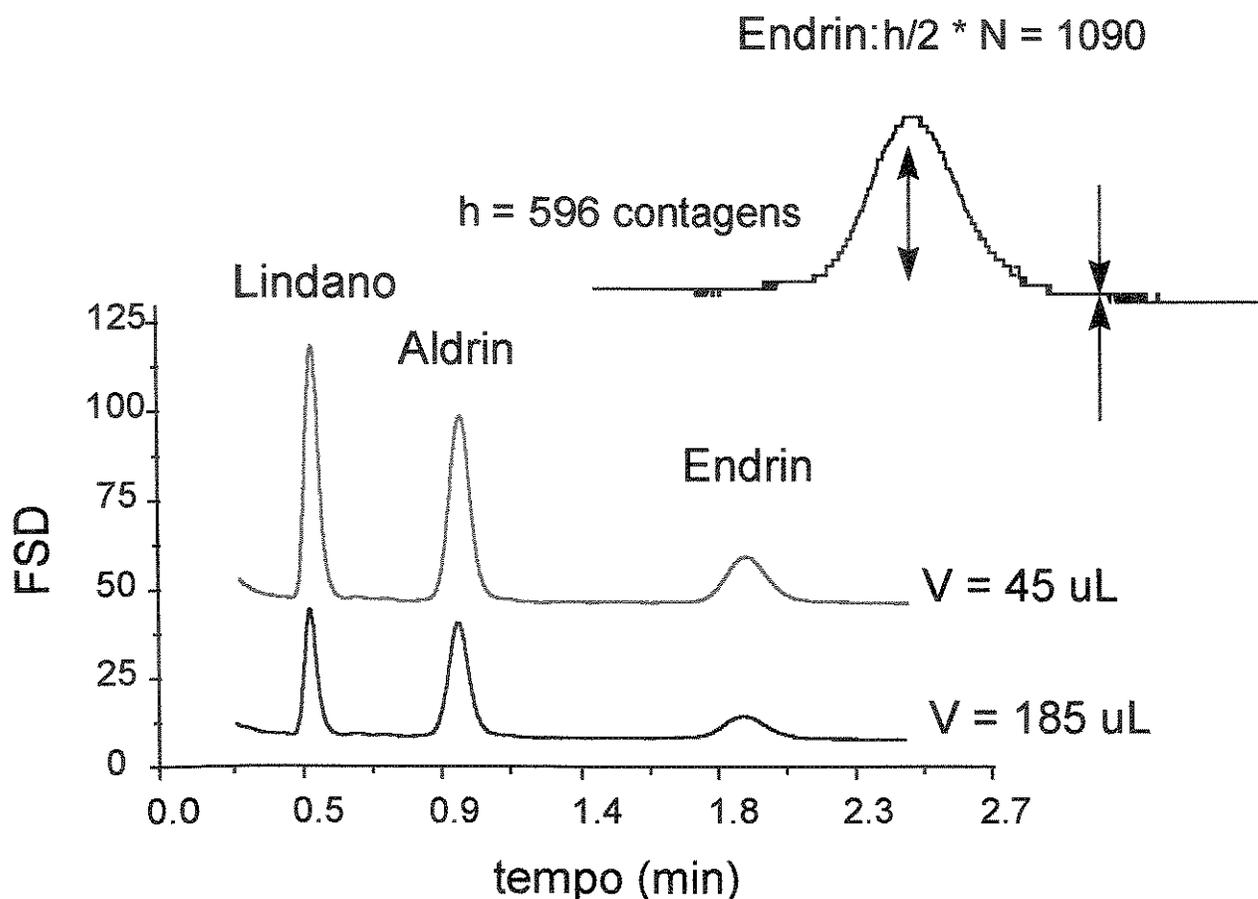


Figura 5.7 - Comparação entre cromatogramas obtidos em diferentes condições de extração. Condições cromatográficas: Temp. da coluna = 200 °C, temp. do injetor = 250 °C, temp. do detector = 235 °C, vazão da coluna = 6 mL.min<sup>-1</sup>, vazão de gás make-up = 30 mL.min<sup>-1</sup>, volume de injeção = 0,1 µL on-column e período de pulso do amplificador = 150 µs.

Em função dos resultados anteriores, foi realizado um estudo mais detalhado da influência do volume extrator sobre a recuperação dos pesticidas. Neste novo estudo foi utilizado um maior número de pesticidas com concentração em torno de 100 ng.L<sup>-1</sup> e uma faixa mais ampla de volume extrator (80 µL a 550 µL). Todas as extrações foram realizadas com agitação manual por 5 min, um único estágio de extração e adição de 3,0 g de NaCl - maiores detalhes da adição de sal estão no item 5.3.D. A figura 5.8 mostra a relação entre a intensidade de sinal e o volume de solvente extrator. Esta figura é semelhante à obtida no estudo prévio. Isto pode significar que realmente o fator diluição dos extratos devido ao aumento de volume de solvente é minimizado pelo aumento de recuperação dos pesticidas. Como antes, esta tendência é melhor demonstrada relacionando a eficiência relativa em função do volume de solvente extrator como apresentado na figura 5.9 - a eficiência relativa permite algumas

conclusões rápidas pois não há a necessidade de construção de curvas analíticas para a determinação das percentagens de recuperação. Esta figura foi dividida em duas para melhor visualização das curvas nelas contida. Desta figura é possível observar que para a maioria dos pesticidas a eficiência relativa atinge um máximo a partir de 250  $\mu\text{L}$ , o que significa que volumes maiores dos que os estudados podem atuar apenas como diluidores dos extratos.

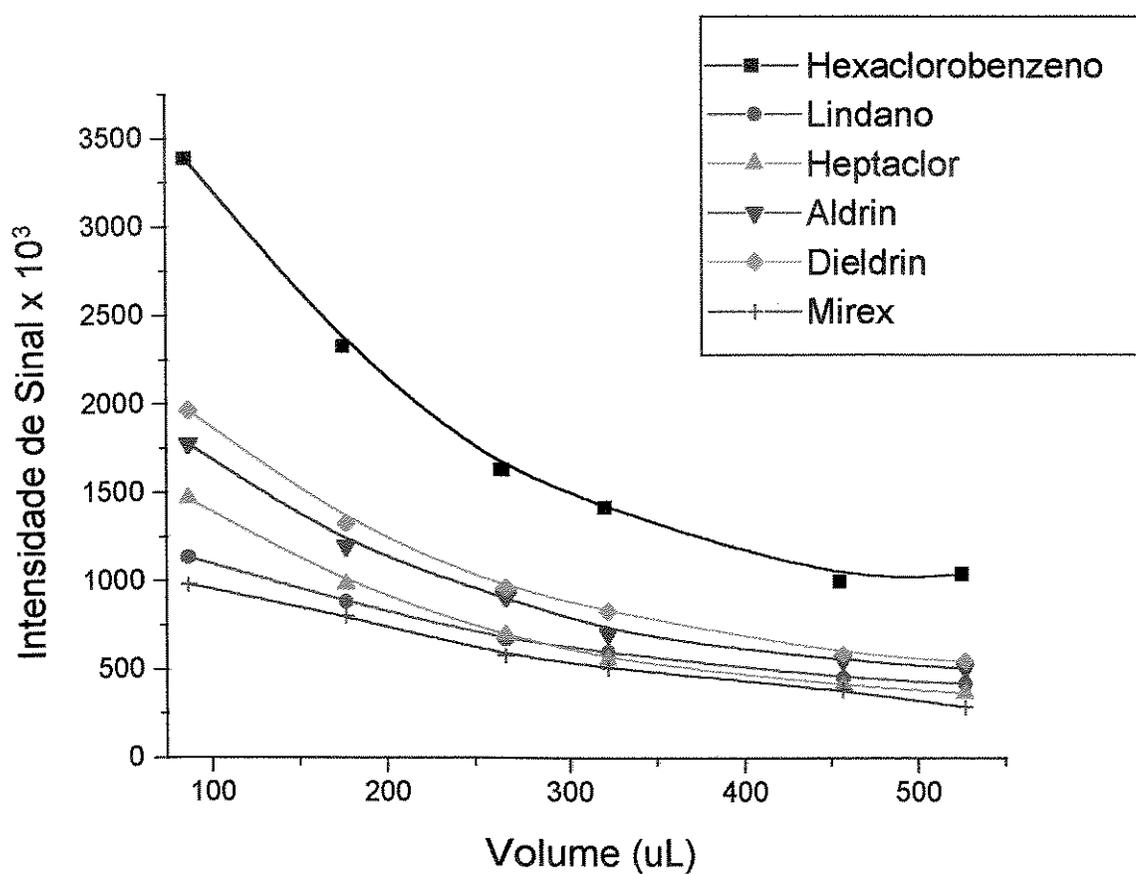


Figura 5.8 - Variação da intensidade de sinal em função da variação do volume de solvente extrator.

Através de padronização externa foi determinado as percentagens de recuperação para cada volume de solvente extrator testado e os resultados estão descritos na tabela 5.3. As extrações foram feitas em triplicata e as suas estimativas de desvio padrão foram inferiores a 6%.

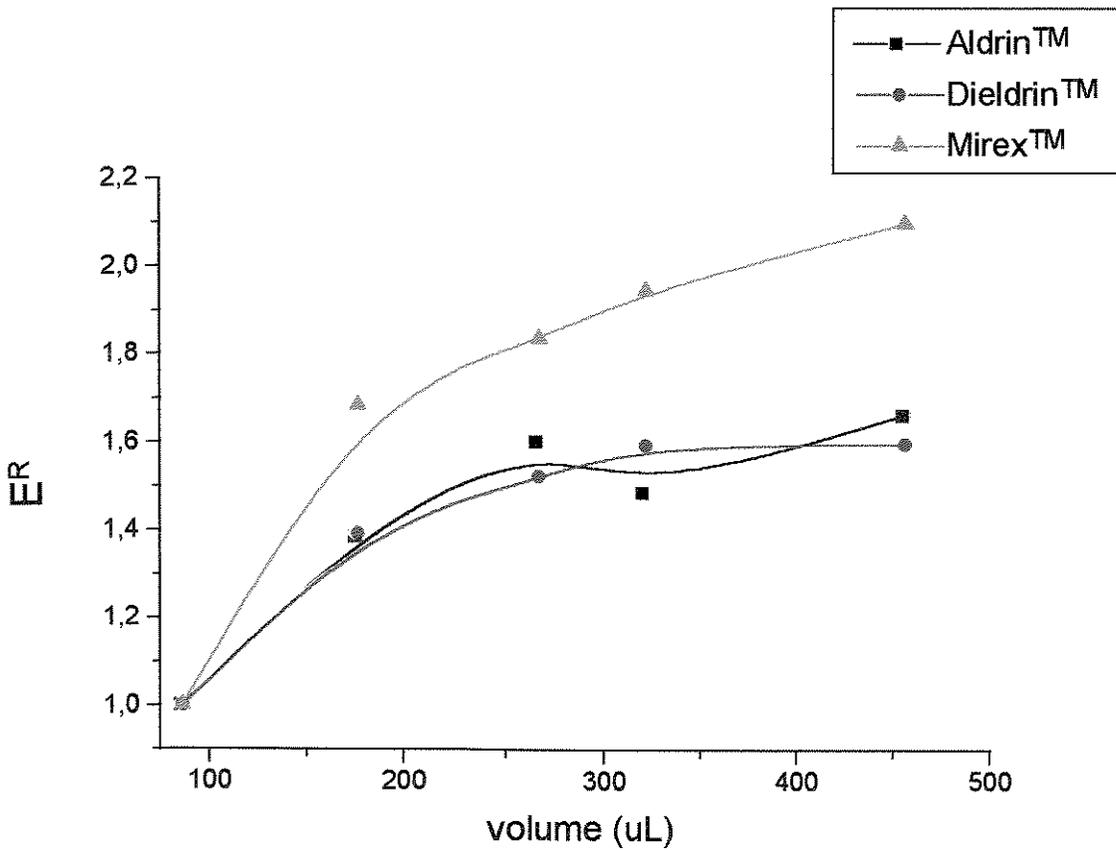
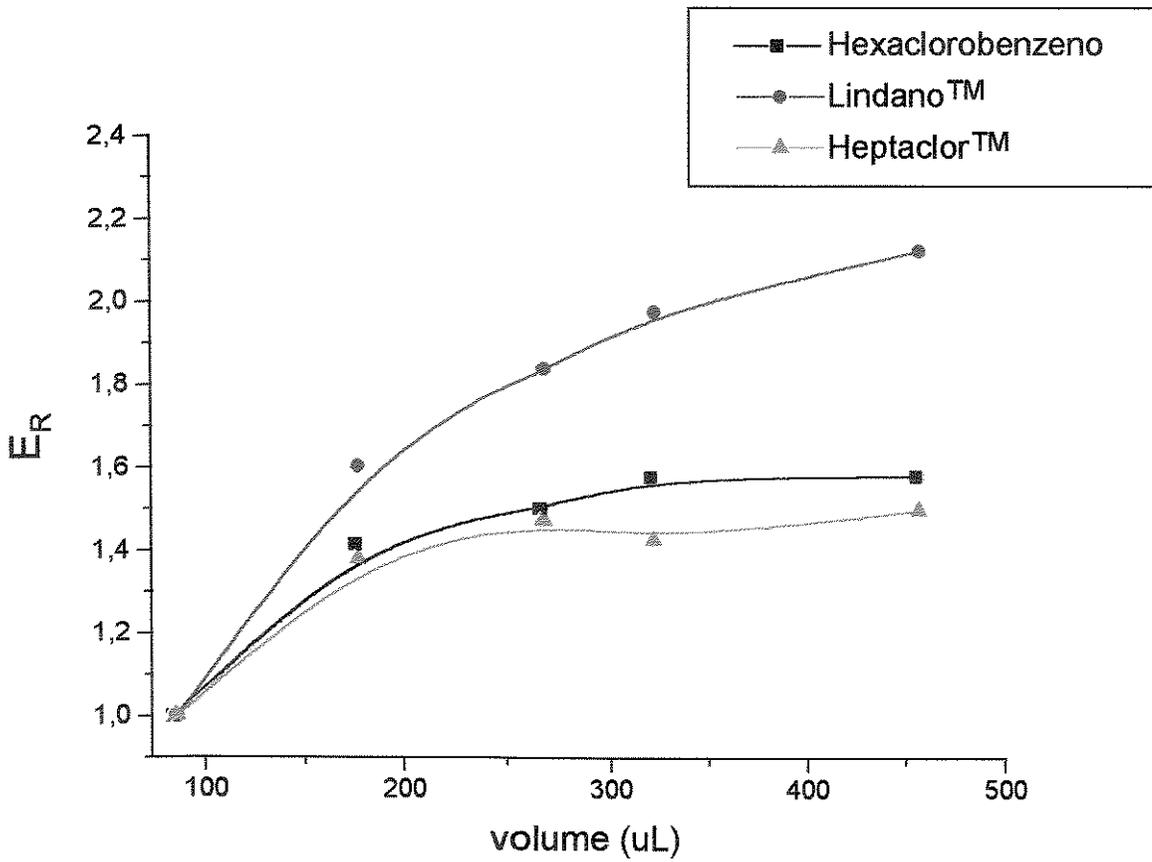


Figura 5.9 - Eficiência relativa versus volume de solvente extrator

Tabela 5.3 - Recuperação dos pesticidas em função da variação do volume de solvente extrator.

Volume ( $\mu\text{L}$ )	% de recuperação					
	HCB	Lindano <sup>TM</sup>	Heptaclor <sup>TM</sup>	Aldrin <sup>TM</sup>	Dieldrin <sup>TM</sup>	Mirex <sup>TM</sup>
85	47	31	54	40	57	30
175	64	48	73	54	77	49
265	66	54	76	61	82	51
320	68	57	72	55	84	53
455	64	54	63	53	74	61

A tabela 5.3 confirma os ensaios anteriores, que permitiram supor existir um volume a partir do qual a eficiência de extração seria constante. Em todos os casos apresentados na tabela 5.3 a máxima recuperação é alcançada utilizando volumes de solvente extrator entre 265  $\mu\text{L}$  e 320  $\mu\text{L}$ , exceto para o Mirex<sup>TM</sup> que necessitou de 455  $\mu\text{L}$ . Isto significa que existe uma faixa de volume de solvente extrator ideal para a máxima recuperação dos pesticidas. Volumes abaixo ou acima desta faixa ideal implicam em, respectivamente, deixar de extrair uma certa quantidade dos pesticidas ou diluir em demasia o extrato que será analisado por CG. Uma visualização do efeito do volume de solvente extrator sobre os picos cromatográficos é possível a partir dos cromatogramas mostrados nas figuras 5.10, 5.11 e 5.12 que representam, respectivamente, os extratos obtidos com 175  $\mu\text{L}$ , 320  $\mu\text{L}$  e 455  $\mu\text{L}$ . Através destas figuras é possível notar a grande queda de altura de picos cromatográficos com o aumento do volume extrator. Como a diferença de recuperação de pesticidas obtida com volume de 175  $\mu\text{L}$  em relação a volumes maiores não é muito significativa como observado da tabela 5.3 (a maior diferença é de 8,9% para Lindano<sup>TM</sup>) é aconselhável o uso de volumes de solvente extrator em torno de 175  $\mu\text{L}$ .

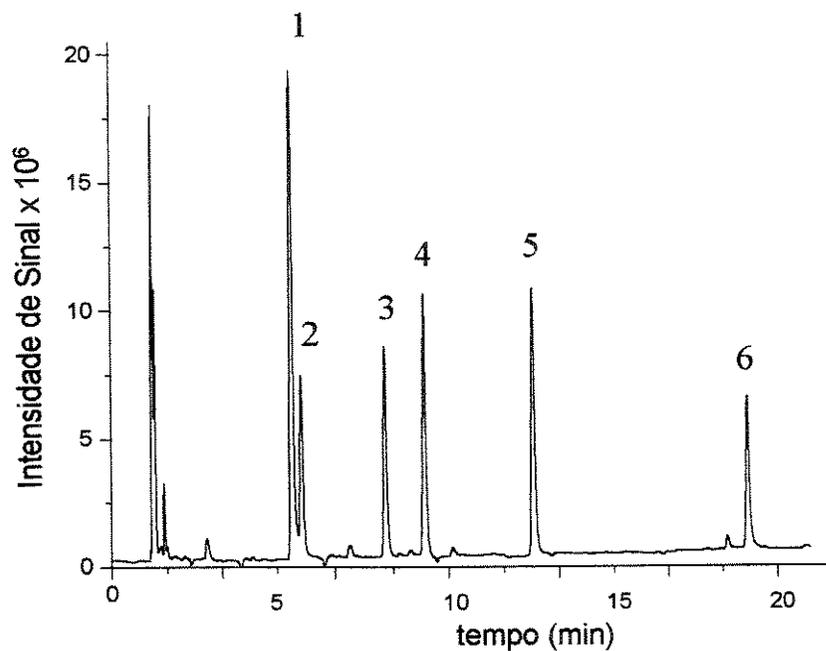


Figura 5.10 - Cromatograma obtido de extrato com 175 µL. Condições cromatográficas e ordem de eluição como na figura 5.3.

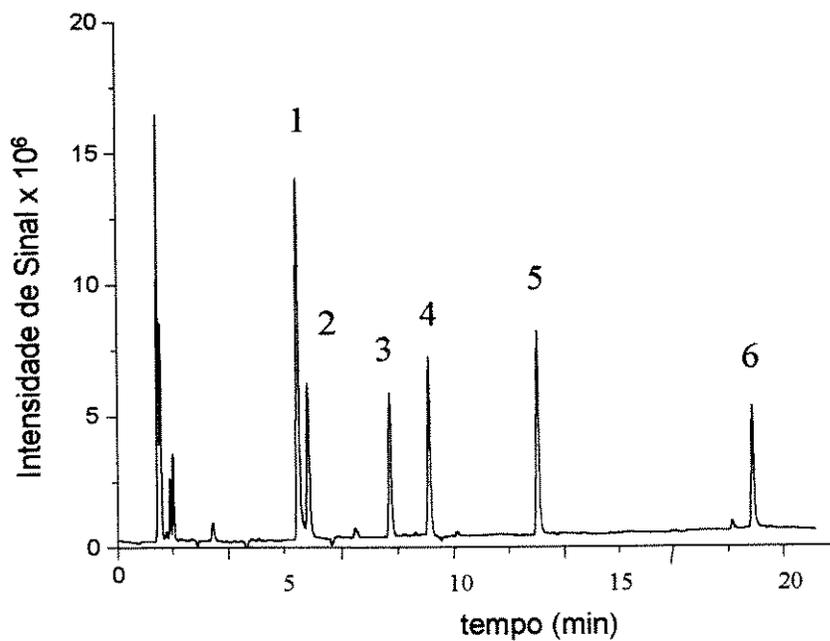


Figura 5.11 - Cromatograma obtido de extrato com 320 µL. Condições cromatográficas e ordem de eluição como na figura 5.3.

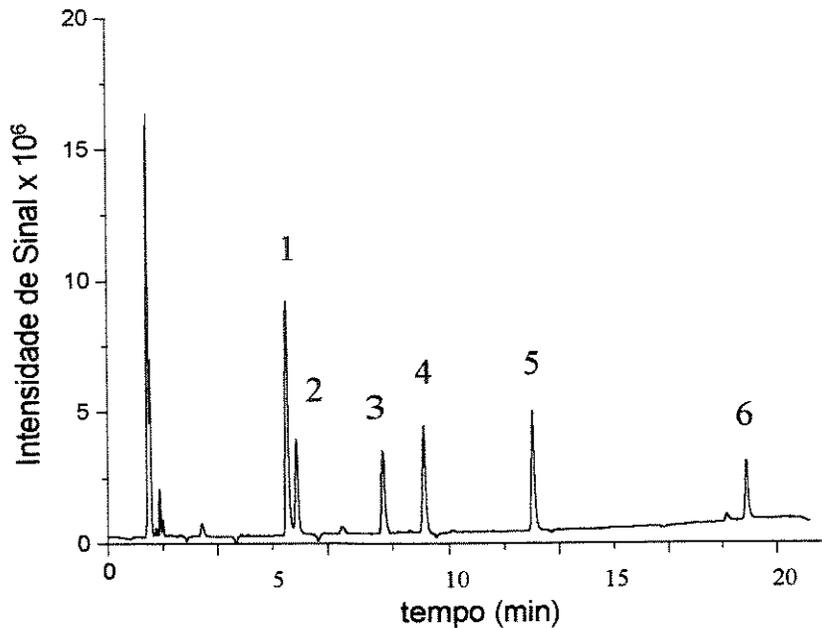


Figura 5.12 - Cromatograma obtido de extrato com 455  $\mu\text{L}$ . Condições cromatográficas e ordem de eluição como na figura 5.3.

#### 5.3.D - Efeito de Salificação (*salting-out*)

Uma forma de alterar a distribuição fase aquosa-fase orgânica, para favorecer o enriquecimento de pesticidas no solvente orgânico, é aumentar a polaridade da fase aquosa. Isto pode ser feito pelo processo chamado *salting-out*, que consiste em adicionar um sal à fase aquosa. Além disto, a adição de sal na fase aquosa minimiza a solubilidade do solvente orgânico na água [3]. Apesar de relatos encontrados na literatura [3] de operação com a fase aquosa saturada com KCl ou NaCl, testamos quantidades menores destes sais, decidindo por operar com quantidades de sal na faixa de 1,0 g a 5,0 g. A figura 5.13 mostra os resultados destes estudos com Lindano<sup>TM</sup>, Aldrin<sup>TM</sup> e Dieldrin<sup>TM</sup> em soluções de concentração de 1  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Estes resultados são referentes à extração do 1º estágio. As extrações foram realizadas com 190  $\mu\text{L}$  de isoctano, 60 minutos de extração com agitação mecânica e adição de diferentes massas de NaCl. Esta figura mostra que são similares as tendências de aumento das extrações dos três pesticidas conforme é aumentada a massa de NaCl na faixa de 1,0 a 5,0 g. Também notamos que as quantidades extraídas ficam constantes para massas de NaCl entre 3,0 a 5,0 g.

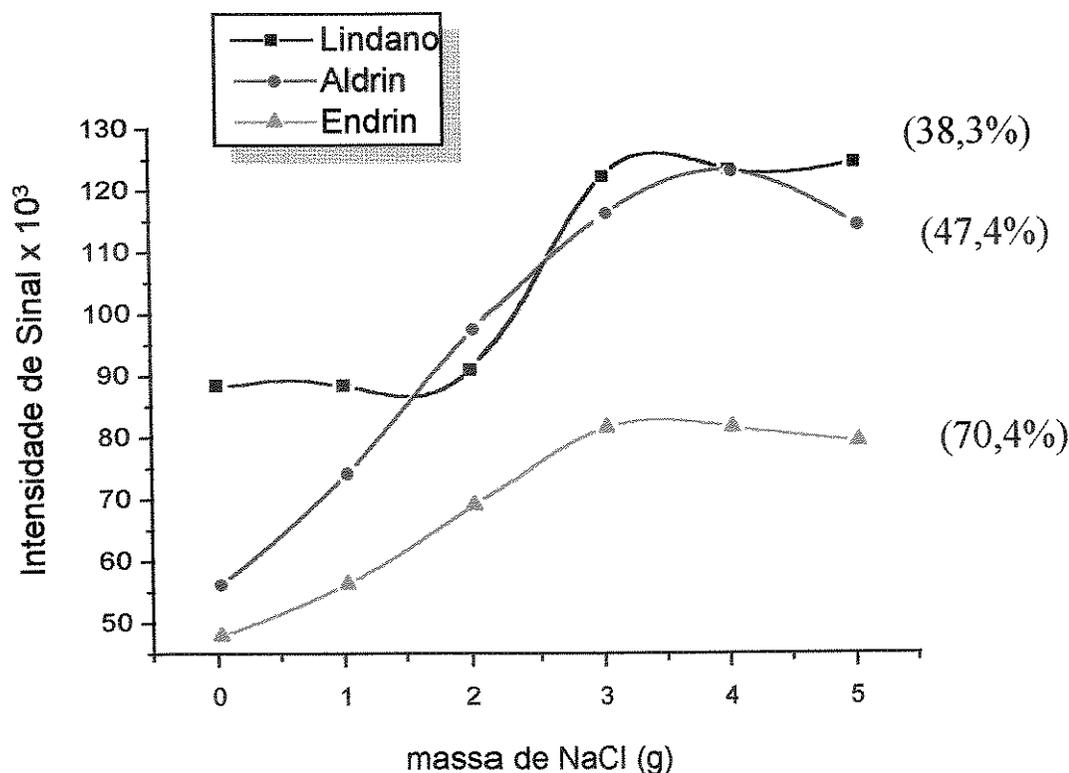


Figura 5.13 - Efeito de *salting-out* sobre a recuperação dos pesticidas. Entre parênteses estão os ganhos de sinal obtido quando comparado extrações realizadas sem o uso de NaCl e com o uso de 3 g deste sal.

Portanto, a partir desses resultados, concluímos que o *salting-out* favorece a passagem dos pesticidas para a fase orgânica e que não há necessidade de saturar a fase aquosa com sal.

Na tabela 5.4 são comparados os resultados de recuperação dos pesticidas obtidos com e sem *salting-out*. Neste estudo foram utilizados pesticidas em concentrações em torno de  $100 \text{ ng.L}^{-1}$ , agitação manual por 5 min, 300  $\mu\text{L}$  de isoctano recuperado e 3 g de NaCl em 980 mL de amostra quando do uso de *salting-out*. Todas as extrações foram feitas em triplicata e as estimativas do desvio padrão relativo ( $S_R$ ) também estão apresentadas na tabela 5.4.

A última coluna desta tabela (Diferença) refere-se a diferença percentual entre a recuperação obtida com e sem *salting-out*. Os valores contidos nesta coluna são indicativos da grande importância da adição de sal na amostra aquosa para favorecer a passagem dos pesticidas para a fase orgânica. Este recurso permitiu aumentos de até 88% na recuperação dos pesticidas, sem que houvesse a necessidade de saturar

a fase aquosa - o que implicaria a adição de mais de 100 g de NaCl para cada extração realizada.

Tabela 5.4 - Efeito da adição de sal na amostra sobre a recuperação dos pesticidas.

Composto	Sem <i>salting-out</i>		Com <i>salting-out</i>		Diferença
	% recup.	S <sub>R</sub> (%)	% recup.	S <sub>R</sub> (%)	
HCB	36	4	66	3	75
Lindano <sup>TM</sup>	31	5	53	4	72
Heptaclor <sup>TM</sup>	44	5	73	7	66
Aldrin <sup>TM</sup>	36	3	57	3	59
Dieldrin <sup>TM</sup>	43	7	81	8	88
Mirex <sup>TM</sup>	30	4	51	3	72

## 5.4 - Recuperação dos Pesticidas

Neste trabalho foram determinadas recuperações dos pesticidas utilizando um único estágio de extração ou três estágios consecutivos. No caso de três estágios de extração os extratos de cada estágio eram misturados em um único frasco. A concentração das amostras de pesticidas foi de aproximadamente 100 ng.L<sup>-1</sup> e foi utilizado agitação manual por 5 min. Na tabela 5.5 e 5.6 são comparados as recuperações dos pesticidas com o uso de um e três estágios de extrações com, respectivamente, ausência e presença de *salting-out*. Estas tabelas também contém os valores das estimativas de desvio padrão relativo (S<sub>R</sub>) da triplicata de extrações.

Tabela 5.5 - Recuperações de pesticidas com 1 e 3 estágios extração sem *salting-out*.

Composto	1 estágio de extração		3 estágios de extração		Diferença
	% recup.	S <sub>R'</sub> (%)	% recup.	S <sub>R'</sub> (%)	
HCB	38	4	55	4	46
Lindano <sup>TM</sup>	31	5	46	6	50
Heptaclor <sup>TM</sup>	44	5	59	6	33
Aldrin <sup>TM</sup>	36	3	49	4	39
Dieldrin <sup>TM</sup>	43	7	66	7	53
Mirex <sup>TM</sup>	30	4	43	2	44

Tabela 5.6 - Recuperações de pesticidas com 1 e 3 estágios extração com *salting-out*.

Composto	1 estágio de extração		3 estágios de extração		Diferença
	% recup.	S <sub>R'</sub> (%)	% recup.	S <sub>R'</sub> (%)	
HCB	66	3	74	3	12
Lindano <sup>TM</sup>	53	4	81	8	52
Heptaclor <sup>TM</sup>	73	5	81	3	11
Aldrin <sup>TM</sup>	57	3	70	7	25
Dieldrin <sup>TM</sup>	81	7	92	5	13
Mirex <sup>TM</sup>	51	4	67	3	32

Os dados das tabelas 5.5 e 5.6 indicam aumentos de até 53% na recuperação de pesticidas quando utilizado três estágios de extração ao invés de um único estágio. Para extrações sem o uso de *salting-out* a média de aumento das recuperações é maior que para extrações com *salting-out*, confirmando a eficácia da adição de sal sobre a distribuição dos pesticidas entre a fase aquosa-fase orgânica. Os resultados obtidos na tabela 5.6 podem ser comparados com os apresentados na literatura [3,46], para saturação da fase aquosa com KCl, mostrados nas tabelas 3.5 e 3.6 do capítulo 3 (pp 24 e 26). Os resultados obtidos com o protótipo #2 são muito próximos aos da literatura, cujos valores estão na tabela 3.6 (pp 26), sendo inclusive melhores em alguns casos. Quando do uso de três estágios sucessivos de extração, os resultados alcançados com o protótipo #2 foram muito superiores aos apresentado por Zapf e col.

[3] que utilizaram apenas uma etapa de extração. Além disto, as estimativas de desvio padrão estão de acordo com os trabalhos descritos na literatura. As figuras 5.14 e 5.15 ilustram os cromatogramas dos extratos obtidos de extrações, respectivamente, em uma única etapa e três etapas consecutivas. Estes cromatogramas mostram melhores alturas de picos cromatográficos quando utilizado três estágios de extração, um vez que a recuperação dos pesticidas é favorecida.

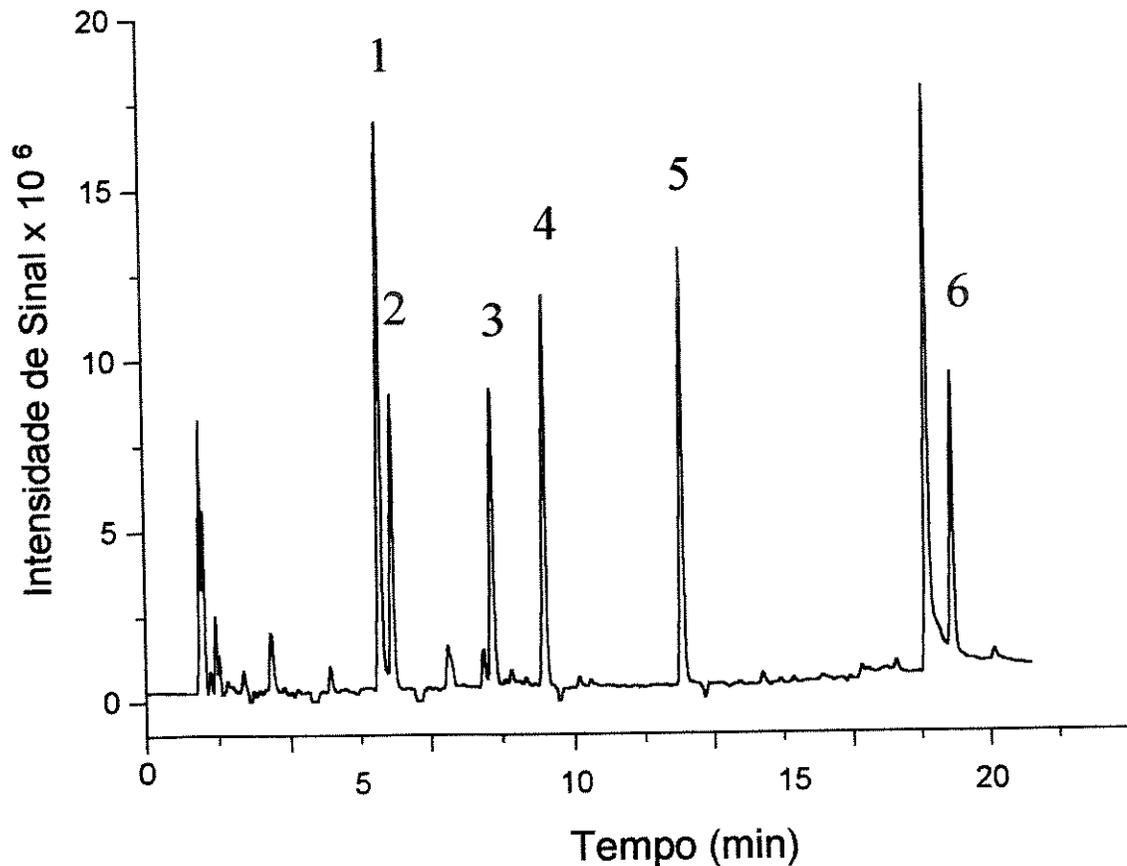


Figura 5.14 - Cromatograma obtido após 3 estágios de extração. Condições cromatográficas foram: Tinjetor = 260°C, Tdetector = 320°C, Tcoluna = 180°C durante 5 minutos e aquecimento de 5°C min<sup>-1</sup> até 260°C durante 1 minuto. Volume de injeção de 2 µL, Vazão da coluna de 1,1 mLmin<sup>-1</sup> e razão de slipt de 30:1. Ordem de eluição: como figura 5.3 e volume do extrato = 395 µL. O pico à esquerda do de nº 6 foi atribuído à impurezas da água destilada, conforme discutido no item 5.5, a seguir.

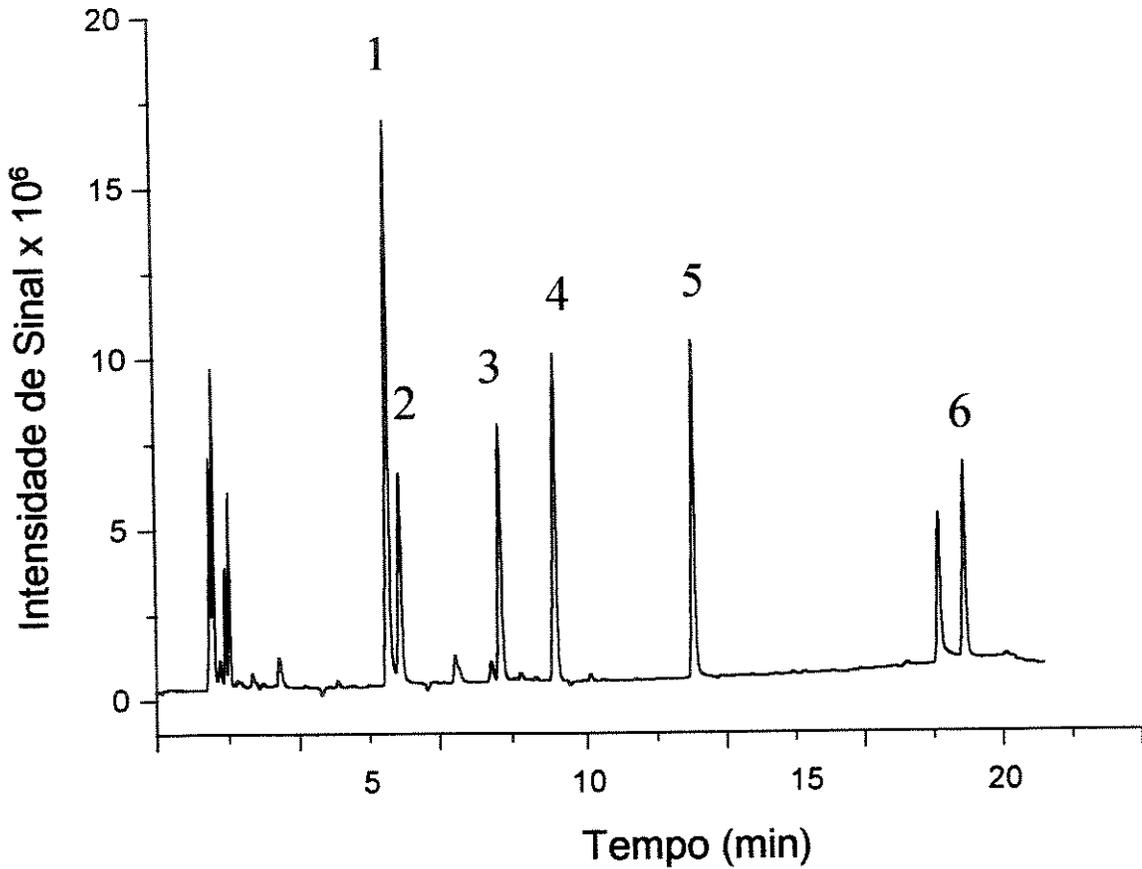


Figura 5.15 - Cromatograma obtido após 1 estágios de extração. Condições cromatográficas foram: Tinjetor = 260°C, Tdetector = 320°C, Tcoluna = 180°C durante 5 minutos e aquecimento de 5°C min<sup>-1</sup> até 260°C durante 1 minuto. Volume de injeção de 2 µL, Vazão da coluna de 1,1 mLmin<sup>-1</sup> e razão de slipt de 30:1. Ordem de eluição: como figura 5.3, volume do extrato = 315 µL.

## 5.5 - Linearidade e Limite de detecção

As figuras 5.16 e 5.17 representam, respectivamente, as curvas analíticas para Lindano™ e Aldrin™ obtidas de extração com o protótipo #2 após três estágios de 60 min cada. Neste trabalho foram utilizadas agitação mecânica com barra magnética e 200 µL de isoctano adicionados em cada estágio. Os extratos foram analisados no cromatógrafo gasoso Pye Unicam - como descrito no início do item 5.3.C. Estas curvas indicam boa linearidade do método na faixa de concentração estudada.

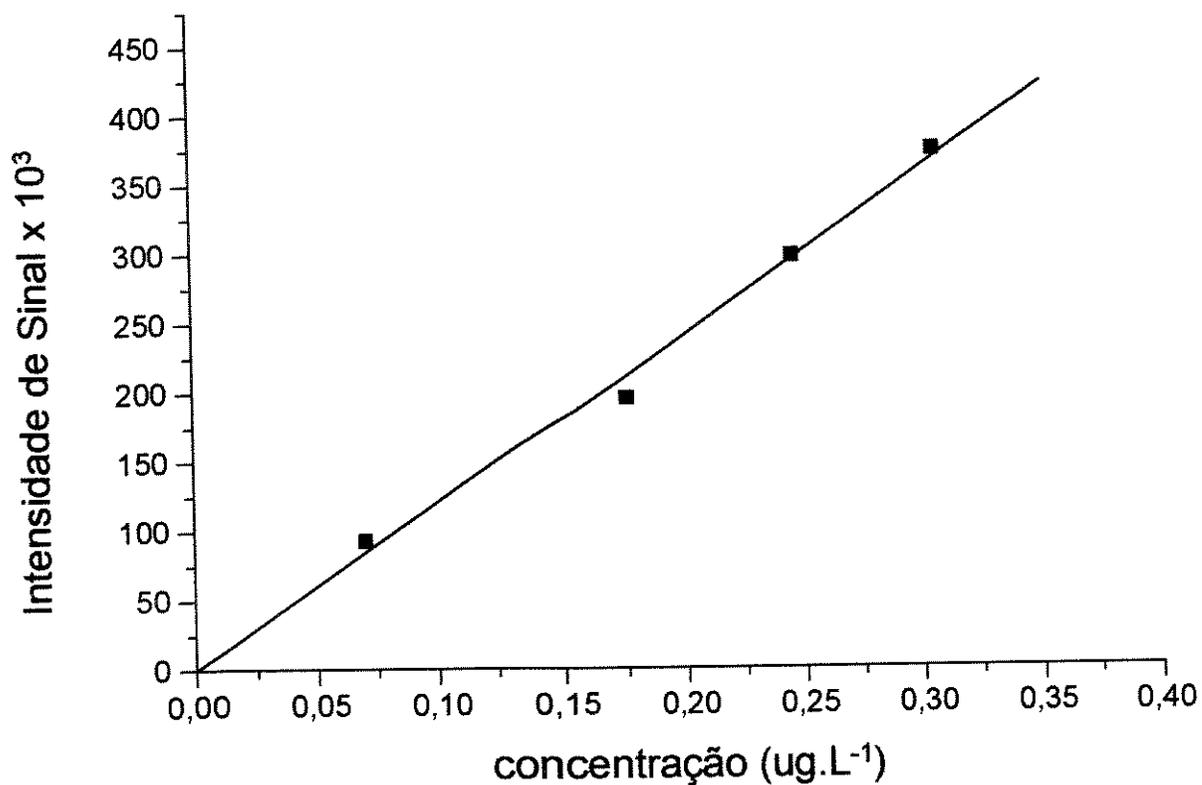
*Lindano*

Figura 5.16 - Curva analítica obtida para Lindano<sup>TM</sup> após extração com o protótipo #2. Dados da curva analítica obtida: coeficiente de correlação = 0,9960; coeficiente angular =  $1,2 \times 10^6$  e coeficiente linear = 374

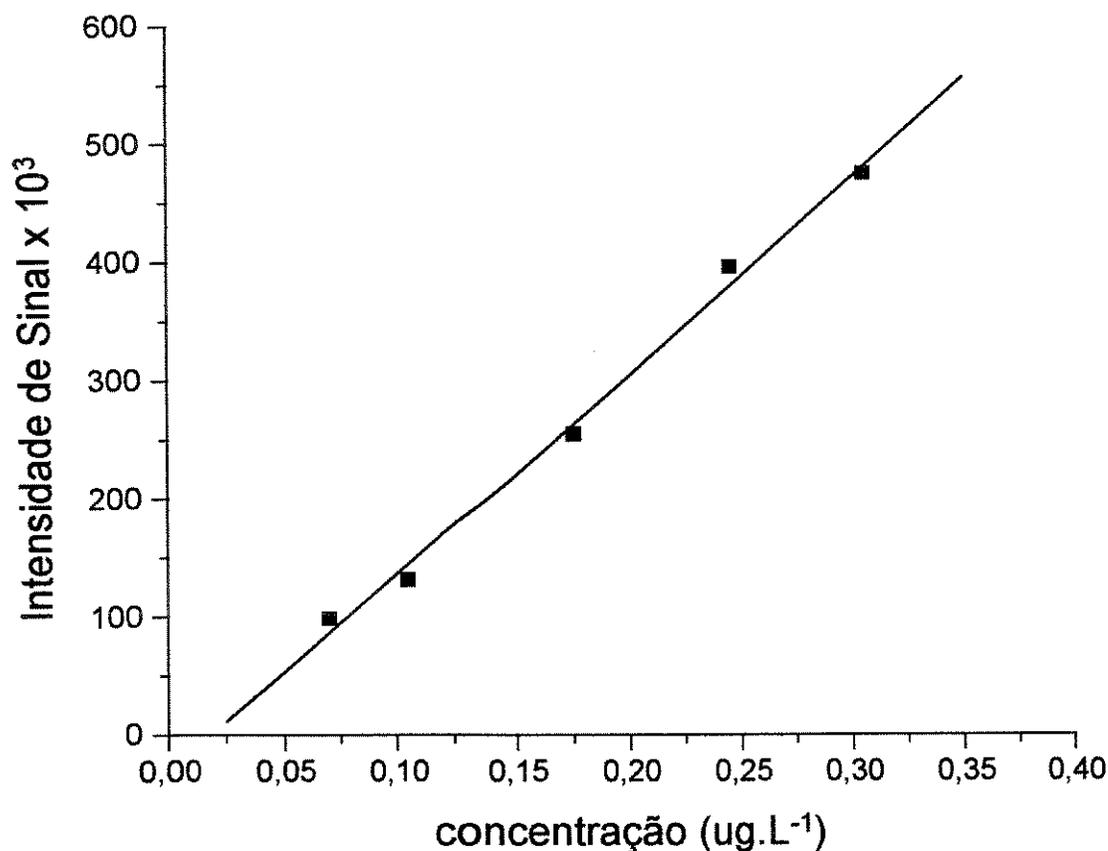
*Aldrin*

Figura 5.17 - Curva analítica obtida para Aldrin<sup>TM</sup> após extração com o protótipo #2. Dados da curva analítica obtida: coeficiente de correlação = 0,9968; coeficiente angular =  $1,7 \times 10^6$  e coeficiente linear = -30970

As figuras 5.18 e 5.19 mostram, respectivamente, os cromatogramas obtidos de extrações, em uma única etapa, dos pesticidas em concentrações de aproximadamente  $40 \text{ ng.L}^{-1}$  e  $10 \text{ ng.L}^{-1}$ . A figura 5.20 mostra um cromatograma obtido pela extração de água destilada isenta dos pesticidas ("branco"). O  $\mu\text{ELL}$  era lavado com detergente, água destilada e acetona e então colocado em estufa para secagem. Os extratos deste ensaio foram analisados no cromatógrafo Perkin Elmer Autosystem XL. Nesta figura, o eixo correspondente a intensidade de sinal foi mantido na mesma escala que a figura 5.19 para melhor comparação dos cromatogramas. Desta comparação é possível perceber que o extrato em "branco" não contém os picos correspondentes aos pesticidas estudados e é possível notar as impurezas

provenientes da água destilada, como o pico muito intenso que é visto à esquerda do pico de nº 6.

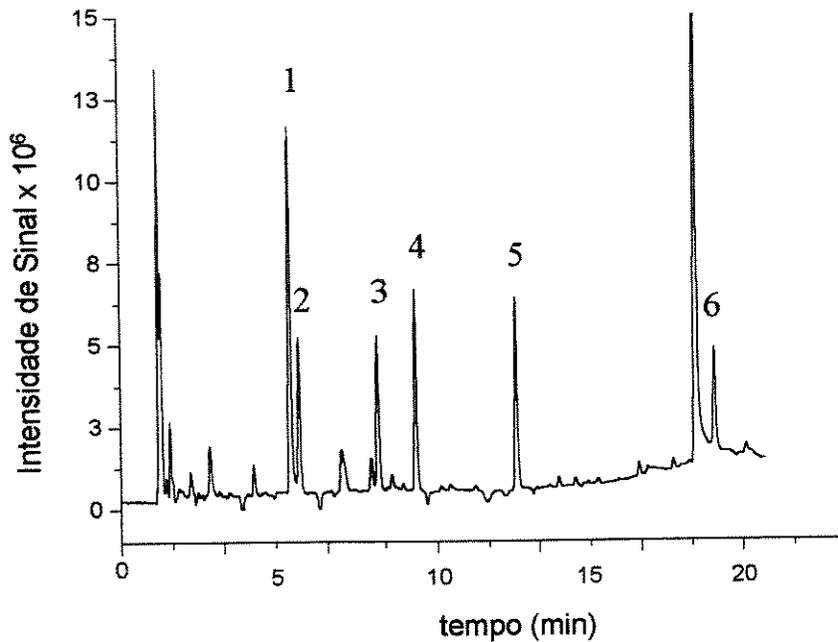


Figura 5.18 - Cromatograma obtido após um único estágio de extração. Condições cromatográficas foram: temp. injetor = 260 °C, temp. detector = 320 °C, temp. coluna = 180 °C durante 5 minutos e aquecimento de 5 °C.min<sup>-1</sup> até 260 °C durante 1 minuto. Volume de injeção de 2 µL, Vazão da coluna de 1,1 mL.min<sup>-1</sup> e razão de slipt de 30:1. Ordem de eluição: como figura 5.3.

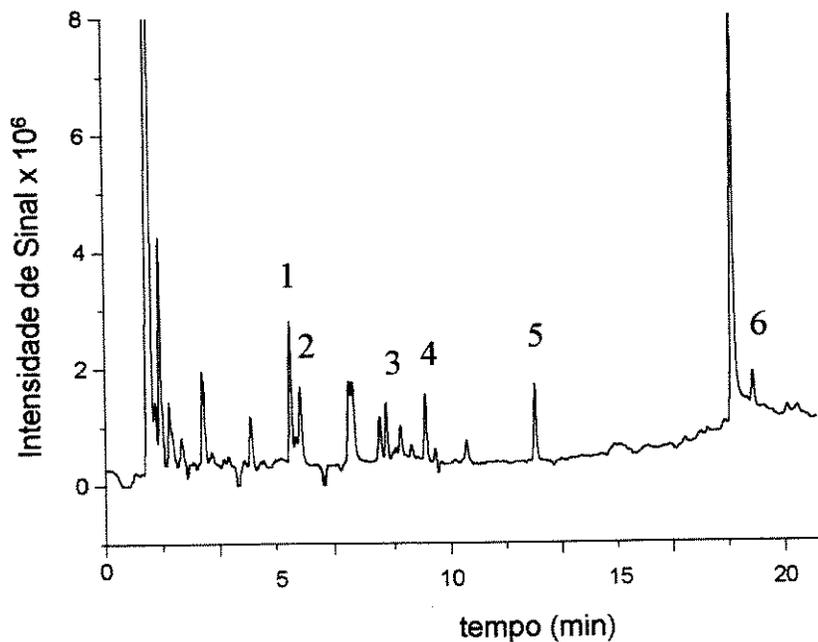


Figura 5.19 - Cromatograma obtido após um único estágio de extração. Condições cromatográficas foram: temp. injetor = 260 °C, temp. detector = 320 °C, temp. coluna = 180 °C durante 5 minutos e aquecimento de 5 °C.min<sup>-1</sup> até 260 °C durante 1 minuto. Volume de injeção de 2 µL, Vazão da coluna de 1,1 mL.min<sup>-1</sup> e razão de slipt de 30:1. Ordem de eluição: como figura 5.3.

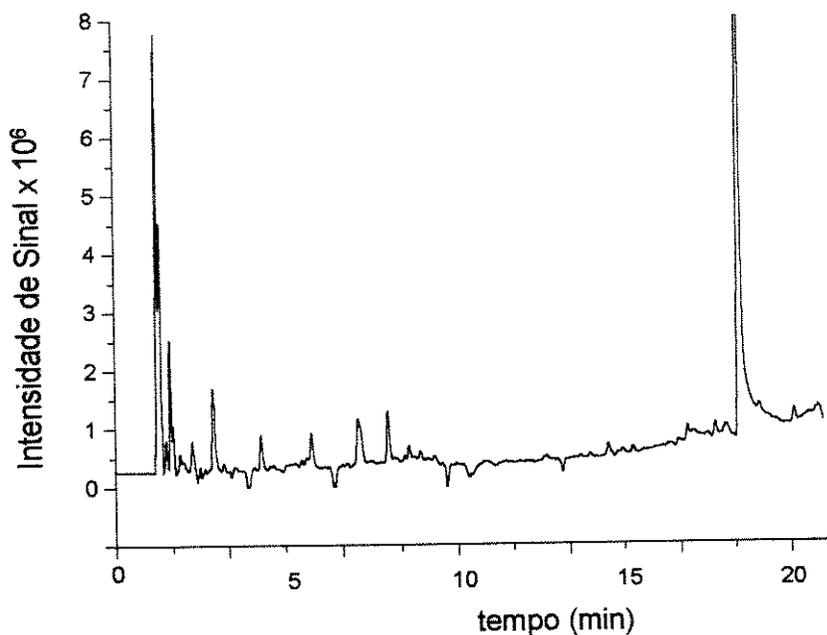


Figura 5.20 - Cromatograma obtido após um único estágio de extração do "branco" com água destilada. Condições cromatográficas foram: temp. injetor = 260°C, temp. detector = 320°C, temp.coluna = 180°C durante 5 minutos e aquecimento de 5°C.min<sup>-1</sup> até 260 °C durante 1 minuto. Volume de injeção de 2 µL, Vazão da coluna de 1,1 mL.min<sup>-1</sup> e razão de slipt de 30:1.

Os limites de detecção para os 6 pesticidas relacionados na figura 5.18 foram calculados considerando que os resultados para este cromatograma continuam sendo lineares em relação as suas concentrações. Seu valor foi calculado considerando que o limite de detecção corresponde a um sinal de 2 vezes o ruído médio quadrático. O ruído médio quadrático foi obtido pelo programa Turbochrom 4.0 da Perkin Elmer e é correspondente ao sinal obtido entre 13 a 19 min de corrida cromatográfica. Seu valor foi de 8,3. A tabela 5.7 contém os valores de concentração dos pesticidas, altura de cada pico e os valores de limite de detecção.

Os valores de limite de detecção obtidos são da ordem de poucos pg.L<sup>-1</sup>, indicando a viabilidade deste método para a determinação de quantidades traços de pesticidas em água. Aliado aos bons valores de limite de detecção há o tempo relativamente curto do processo de extração quando se utiliza agitação manual. Considerando 5 min de extração e uma corrida cromatográfica de 20 min e um dia de 8 horas de trabalho é possível extrair e analisar até 20 amostras. Nestes cálculos não foi

considerado a possibilidade de realização de extrações de amostras durante a corrida cromatográfica, o que elevaria em muito o número de extrações por dia de trabalho.

Tabela 5.7 - Valores de limite de detecção obtidos para o protótipo #2.

Composto	Concentração (ng.L <sup>-1</sup> )	Altura (μV)	Limite de detecção (pg.L <sup>-1</sup> )
HCB	13,6	44721	5,0
Lindano <sup>TM</sup>	14,2	23609	9,9
Heptaclor <sup>TM</sup>	13,7	95750	2,3
Aldrin <sup>TM</sup>	12,5	112091	1,8
Dieldrin <sup>TM</sup>	13,0	132085	1,6
Mirex <sup>TM</sup>	14,8	56786	4,3

## 6 - Microextrator por destilação a vapor e extração líquido-líquido contínuas e simultâneas

### 6.1 - Protótipos do Microextrator

O figura 6.1A representa o protótipo #1 do microextrator reproduzido na Vidraria do Instituto de Química da Unicamp a partir do trabalho de Verzele e col. [47] Neste dispositivo 50,0 mL de amostra de água são colocados no frasco A (cuja capacidade pode ser de 250 mL). No frasco B, com capacidade para 2 mL, é adicionado 1 mL de pentano. Nos frascos são colocadas pérolas de ebulição. Antes de iniciar o procedimento de extração água e pentano são introduzidos em C de forma que os braços D e E fiquem preenchidos, respectivamente, com pentano e água. Isto garante o equilíbrio entre as duas camadas de solvente em C. Água gelada é circulada pelo dedo frio e o refluxo de pentano é iniciado pelo aquecimento do frasco B a 80 °C, por meio de um banho de água. Após 15 minutos é iniciado o arraste de vapor d'água, por aquecimento do frasco A, com banho de óleo a 140 °C. Os braços de vapor F e G são isolados termicamente. A contagem do tempo de extração é iniciada quando o vapor d'água penetra no corpo central do microextrator. Os vapores são condensados pelo contato com o dedo frio e seguem para os respectivos frascos, devido às diferenças das densidades e imiscibilidade dos líquidos contidos em C. Após 1 hora, a geração de vapor d'água é interrompida e a extração com solvente é mantida por mais 20 minutos. O conteúdo do frasco B é amostrado diretamente e analisado por cromatografia gasosa. Durante este experimento podem ocorrer perdas de pentano de C para o frasco B, ou perdas devido a evaporação, os quais são compensadas pelo uso de um padrão interno.

Estudos iniciais com este sistema foram realizados com amostras sintéticas da mistura dos pesticidas Dieldrin<sup>TM</sup> e Hexaclorobenzeno nas concentrações de, respectivamente, 45,6  $\mu\text{g.L}^{-1}$  e 43,8  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . As extrações foram feitas como descrito na literatura, exceto pelo volume de solvente extrator, que foi determinado pela conversão de massa para volume de solvente e não foi necessário o tempo extra após cessar o aquecimento da amostra. O volume de isoctano para cada extração variou entre 1 a 3

ml, pois trabalhamos com o frasco B do protótipo #1 com capacidade para 4 mL. Pérolas de ebulição foram necessárias somente no frasco A. A percentagem de recuperação foi determinada através de curvas de calibração obtidas para cada pesticida no mesmo dia da análise dos extratos. As condições cromatográficas estão descritas juntamente com os cromatogramas apresentados no decorrer do texto. Um cromatógrafo gasoso modelo PU-104 (Pye Unicam Ltd) equipado com um DCE ( $^{63}\text{Ni}$ ) foi utilizado nos testes deste dispositivo. O condicionamento dos sinais cromatográficos foi feito com um eletrômetro modelo Pye Wide Range Amplifier (Pye Unicam Ltd) e a coleta de dados com o programa Lecrom [52] após digitalização. A digitalização foi realizada com um conversor analógico-digital de 12 bits modelo DACA (IBM Corp., Boca Raton, FL) e a análise dos dados digitalizados com o programa ANACROM.PAS [52]. O DCE foi adaptado [51] para uso com colunas capilares (*megabore*) de 0,5 mm de diâmetro interno. A separação cromatográfica foi realizada com uma coluna capilar de sílica fundida modelo HP-1 (Hewlett-Packard, USA), 5 metros de comprimento, diâmetro interno de 0,53 mm e espessura de filme de 2,65  $\mu\text{m}$ .

Os primeiros testes indicaram recuperações dos pesticidas para o protótipo #1 inferiores a 10%, exigindo a realização de testes exploratórios para a determinação das melhores condições operacionais, visando atingir recuperações que possibilitassem o seu uso para determinação de traços de pesticidas.

Os testes exploratórios com o protótipo # 1 foram realizados utilizando-se isoctano como solvente extrator. Optamos pelo isoctano por dispor dele com grau de pureza adequado para uso nas análises cromatográficas, como mencionado no capítulo anterior, e pela suspeita de que os baixos rendimentos observados pudessem ser devidos à volatilidade do pentano usado anteriormente. Observou-se que o isolamento térmico não era suficiente para que os vapores de isoctano atingissem o corpo do microextrator e, por isto, foi adicionado aquecimento do braço F, por meio de uma resistência ligada a um varivolt. Este aquecimento também foi utilizado no braço G, em substituição ao isolante térmico, para se obter temperatura suficiente para que os vapores atingissem o corpo do microextrator. Os resultados obtidos com o isoctano indicaram que ocorreu diminuição dos problemas de perda de solvente por evaporação, porém não no nível desejado. A experiência adquirida pela realização dos testes exploratórios sugeriu a necessidade de modificações, que resultaram no

protótipo #2. A figura 6.1.B mostra que nesse protótipo os braços F e G foram interligados e direcionados em uma única saída para o corpo do microextrator, o que visou melhor contato entre os vapores de isoctano e os vapores da amostra. Entretanto os testes deste protótipo mostraram a inviabilidade desta modificação, pois, vaporizando inicialmente o solvente, a amostra, ou os dois, o vapor d'água cria um caminho preferencial do braço G para o braço F e então segue para o corpo do microextrator através do braço D. Assim, as extrações pretendidas do tipo líquido-líquido, líquido-vapor e principalmente vapor-vapor não são conseguidas e operacionalmente o dispositivo de extração torna-se inviável. Outras modificações resultaram no protótipo #3.

Na figura 6.1.C está representado o protótipo #3. Nesta versão a saída do braço de vapor de solvente (F) foi deslocado para a mesma altura, porém do lado oposto, da saída de vapor d'água - posteriormente, foi verificada modificação semelhante feita por Lindner e Seidel [49], porém em um sistema de maior complexidade de construção, e Churacek e col. descrito por Kurán e Soják [50] que deslocaram o braço de vapor de solvente para uma posição um pouco acima da entrada de vapor d'água, representados, respectivamente, pelas figuras 3.19.A e 3.19.B (pp31). Entre as entradas F e G, no centro do corpo do microextrator, está o dedo frio. Esta modificação permite maior contato para as extrações do tipo líquido-líquido, líquido-vapor e vapor-vapor contínuas e simultâneas. Operacionalmente o protótipo #3 é adequado e permitiu realizar testes de recuperação para Dieldrin<sup>TM</sup> e Hexaclorobenzeno. Estes testes, realizados com as mesmas soluções do protótipo anterior, resultaram em baixa recuperação para Hexaclorobenzeno (menor que 10 %) e excelente recuperação para Dieldrin<sup>TM</sup> (108 %). Os estudos exploratórios do protótipo #3 foram feitos com amostras sintéticas, individuais, de Hexaclorobenzeno e Dieldrin<sup>TM</sup> nas mesmas concentrações usadas nos estudos com o protótipo #1.

Apesar da alteração da posição do braço F, o sistema continuou apresentando perdas de isoctano, com visível diminuição do nível do solvente no frasco B. Este poderia ser um dos motivos do baixo desempenho para Hexaclorobenzeno, que poderia estar sendo perdido para a atmosfera pelo respiro H. Na tentativa de contorno deste problema foi utilizado um banho termostaticado, operado com temperatura abaixo de 5°C, para circular água pelo dedo frio; entretanto, as perdas continuaram.

Um tubo de vidro em forma de U foi interligado entre o braço H e uma coluna de água. Este recurso permitiu observar, pelo deslocamento da água dentro do tubo em U, que ocorrem pulsos de expansão de volumes, que, possivelmente permitem entrada e saída de ar do corpo do microextrator, através de H, com arraste e perda de vapores para a atmosfera. O recurso do tubo em U eliminou as perdas de solvente e tornou o sistema extremamente estável.

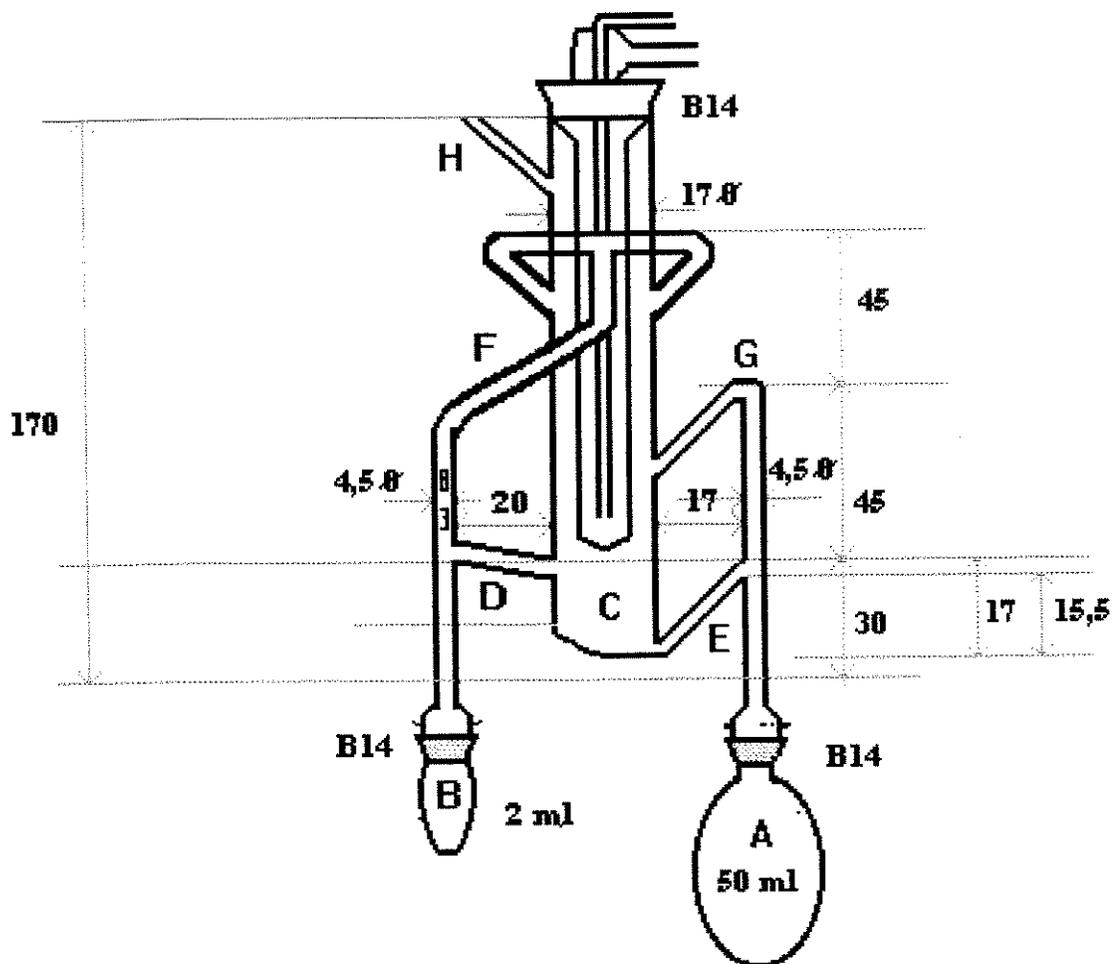


Figura 6.1.A - Protótipo #1 do microextrator baseado em extração por arraste de vapor e extração líquido-líquido contínuas e simultâneas

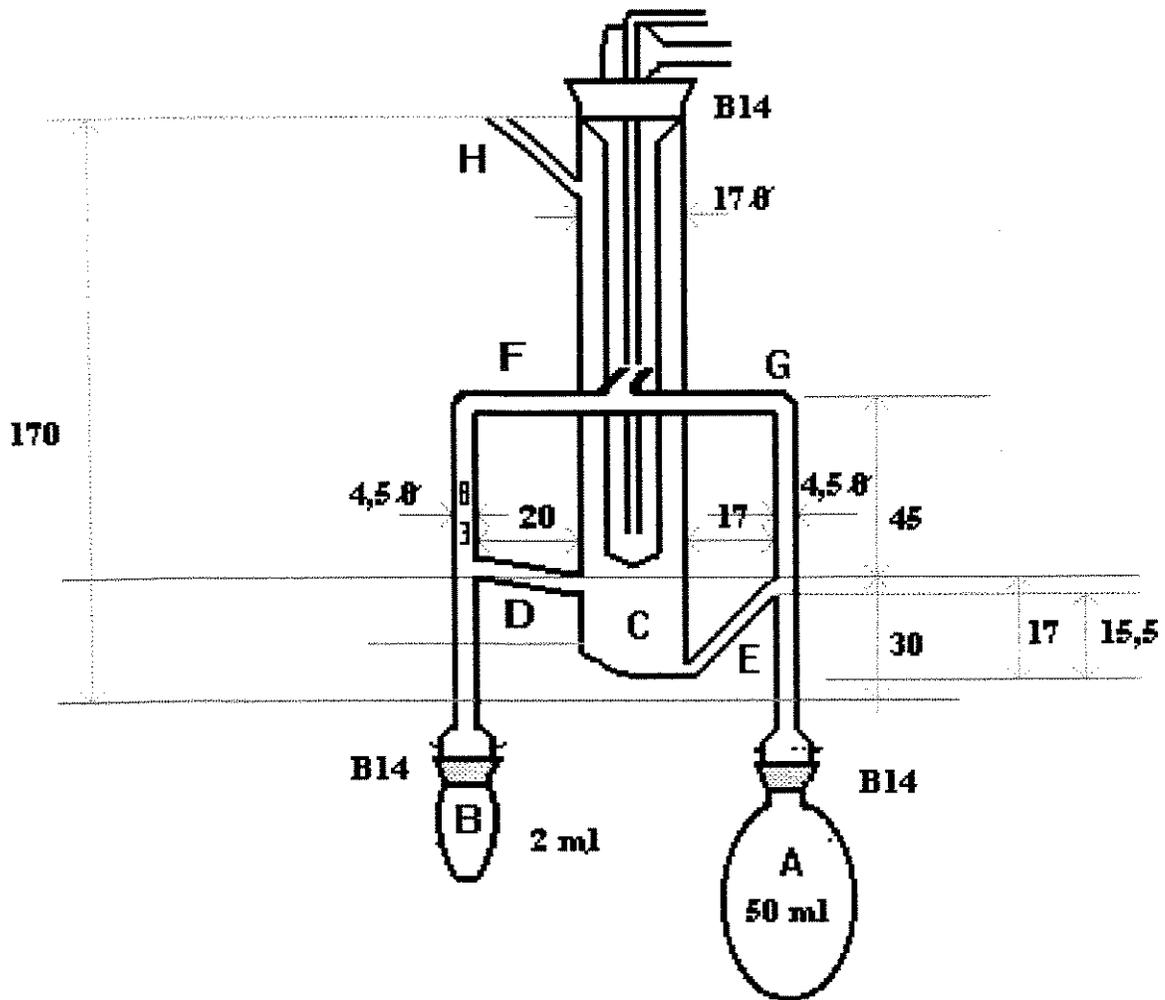


Figura 6.1.B - Protótipo #2 do microextrator baseado em extração por arraste de vapor e extração líquido-líquido contínuas e simultâneas

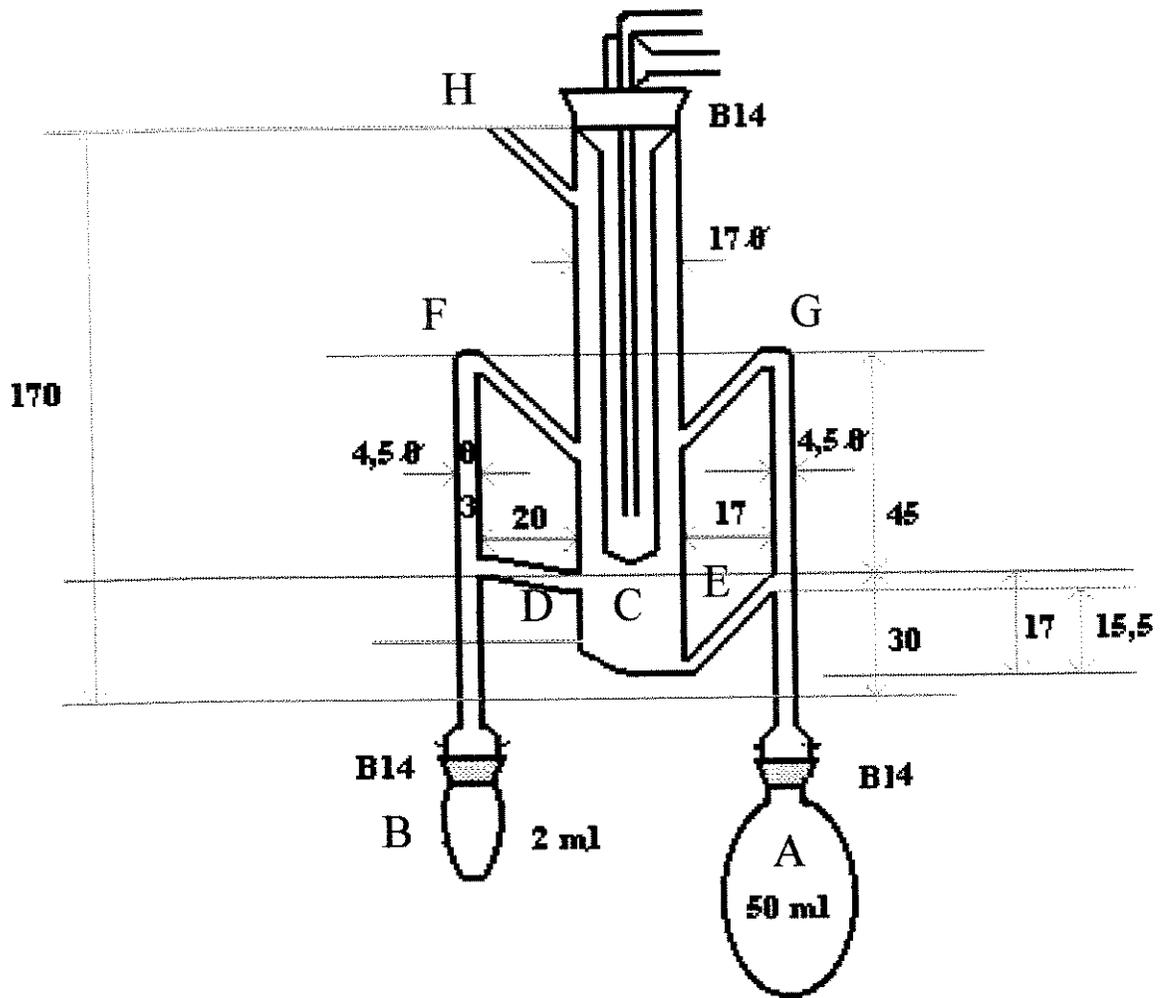


Figura 6.1.B - Protótipo # 3 do microextrator baseado em extração por arraste de vapor e extração líquido-líquido contínuas e simultâneas

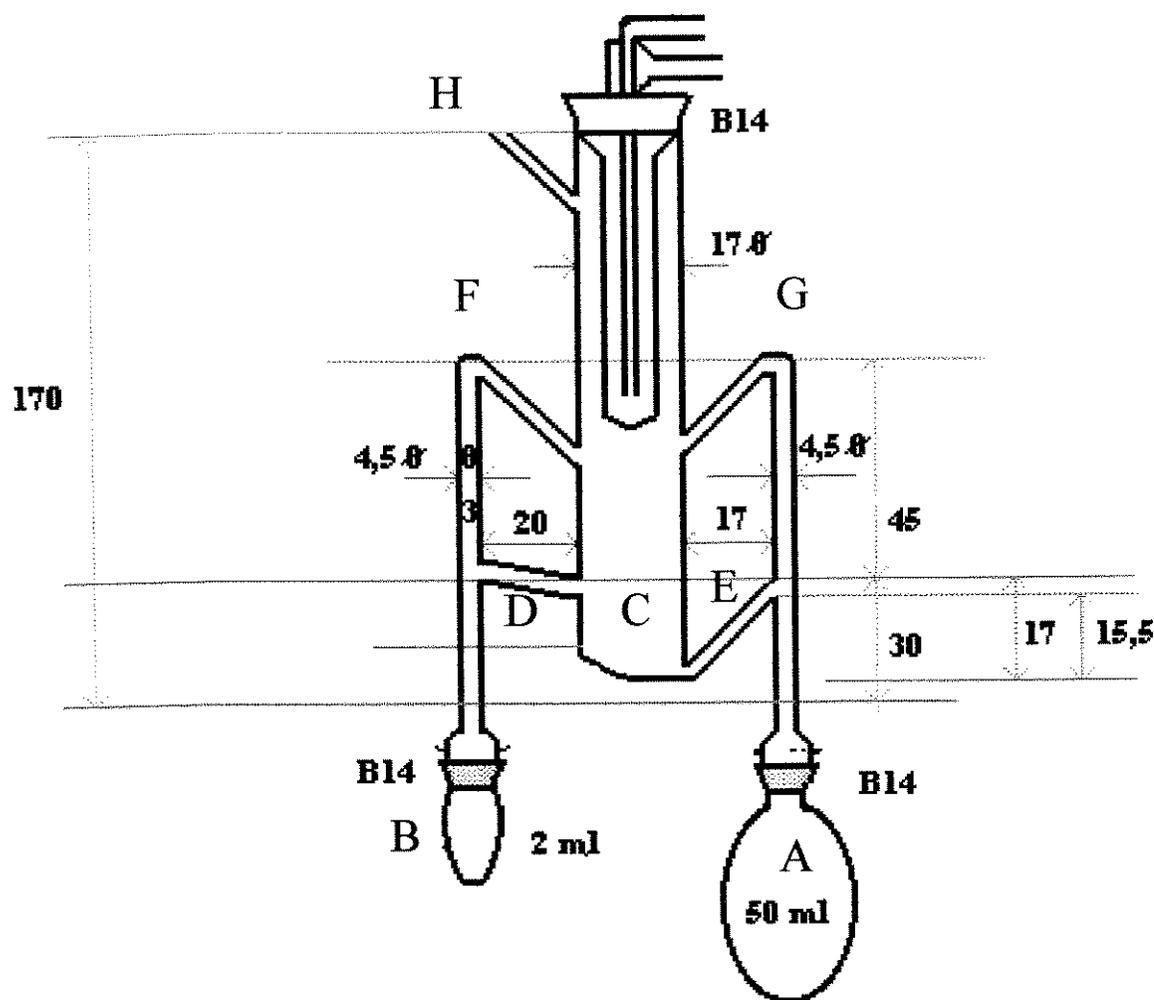


Figura 6.1.D - Protótipo # 4 do microextrator baseado em extração por arraste de vapor e extração líquido-líquido contínuas e simultâneas.

Utilizando o protótipo #3, com o recurso do tubo em U e isoctano como solvente extrator, foram determinadas recuperações com amostras sintéticas individuais de Hexaclorobenzeno, Dieldrin<sup>TM</sup>, Heptaclor<sup>TM</sup>, Aldrin<sup>TM</sup>, Lindano<sup>TM</sup> e Endrin<sup>TM</sup>, em concentrações de, respectivamente, 20,2; 28,3; 28,9; 30,0; 28,0 e 26,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . O tempo de extração foi de 75 minutos e para cada pesticida a extração foi feita em triplicata. A tabela 6.1 contém os resultados das recuperações, com seus desvios padrão relativos, obtidos para cada pesticida. Desta tabela não constam os resultados para o Heptaclor<sup>TM</sup>, pois este sofreu decomposição durante o processo de extração. Os resultados das recuperações e a boa precisão do método indicaram ser viável a

continuação dos estudos com este microextrator para o uso em análises de traços de pesticidas em amostras de água.

Tabela 6.1 - Dados preliminares das recuperações dos pesticidas quando utilizado o protótipo #3.

Composto	Recuperação (%)	S <sub>R</sub> *
Hexaclorobenzeno	100	2
Aldrin™	90	3
Endrin™	91	3
Dieldrin™	101	3

\* estimativa do desvio padrão relativo para extrações feitas em triplicata.

Na tentativa de aumentar o contato entre os vapores de amostra e de solvente foi construído o protótipo #4 representado na figura 6.1.D. Neste protótipo o final do dedo frio termina acima das entradas de vapores de solvente (F) e de amostra aquosa (G). Os resultados obtidos com o protótipo #4 são apresentados e comparados aos obtidos com o protótipo #3 nos próximos itens.

## 6.2 - Estudo dos fatores experimentais dos protótipos #3 e #4

### 6.2.A - Tempo de extração

O efeito do tempo de extração sobre a recuperação pode ser visto nas figuras 6.2.A e 6.2.B para, respectivamente, os protótipos #3 e #4. Neste estudo foram feitas extrações em triplicata, a concentração de cada pesticida foi mantida em torno de 25 µg.L<sup>-1</sup>, 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. As porcentagens de recuperação foram calculadas pelo método da padronização externa com curvas de calibração construídas no mesmo dia da análise dos extratos.

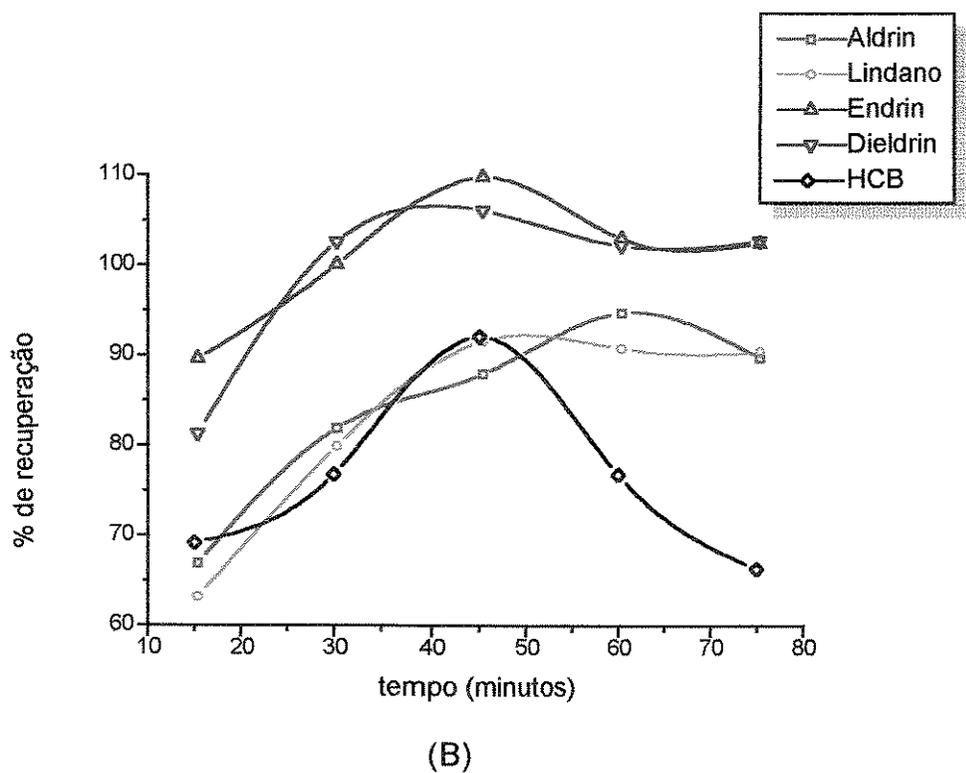
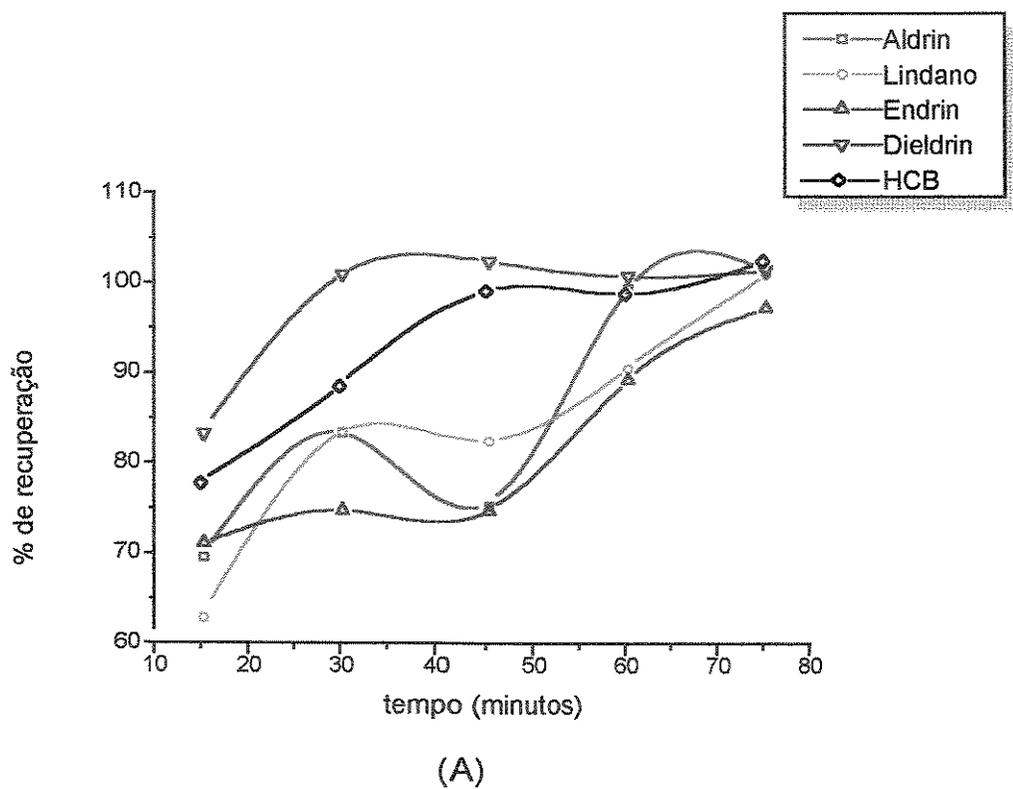


Figura 6.2 - Efeito do tempo de extração sobre a eficiência de extração. (A) protótipo #3 e (B) protótipo #4.

A figura 6.2.A indica que com o protótipo #3 consegue-se recuperações próximas de 100% para todos os pesticidas com um tempo de extração de 75 minutos. O comportamento para o protótipo #4, mostrado na figura 6.2.B, sugere máxima recuperação de 5 dos pesticidas com cerca de 45 minutos de extração, (exceto para Aldrin<sup>TM</sup>). Contudo, para tempos superiores a 45 minutos a eficiência de extração diminui, como é claramente mostrado pelo comportamento do Hexaclorobenzeno. Este comportamento do protótipo #4 foi atribuído à sua menor estabilidade de operação do que o protótipo #3. A menor estabilidade do protótipo #4 é devido a grande agitação na parte C do microextrator provocado pela queda de gotas de água e de solvente após condensação no corpo do dedo frio, fazendo com que, algumas vezes, o solvente siga para o frasco da amostra, exigindo atenção contínua do analista. Em virtude do protótipo #4 não ser operacionalmente tão estável quanto o protótipo #3, optou-se pela continuação dos trabalhos com o protótipo #3.

### **6.2.B - Variação da concentração dos pesticidas**

Também foram realizados estudos do efeito da variação da concentração dos pesticidas sobre a eficiência de extração, que estão resumidos na tabela 6.2. Nesta tabela estão indicados as diferentes concentrações, as porcentagens de recuperação e as estimativas dos desvios padrão relativos obtidos para as triplicatas de extrações para cada pesticida. Os dados da tabela 6.2 indicam uma tendência à estabilidade na eficiência de extração com a redução na concentração dos pesticidas. A potencialidade do método para determinações de pesticidas em água pode ser avaliada por inspeção da figura 6.3 e os valores de limite de detecção mostrados no detalhe, calculados a partir dos cromatogramas desta figura. Notamos que os limites de detecção são muito próximos ao limite máximo permitido por lei para os pesticidas individualmente, indicando a viabilidade do método.

Tabela 6.2 - Efeito da variação na concentração dos pesticidas sobre a eficiência de extração.

Composto	Concentração ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	% de recuperação	$S_R$
Hexaclorobenzeno	11,2	72	5
	5,6	93	4
	1,7	54	3
	0,56	55	5
Lindano	27,8	101	1
	7,3	81	3
	2,2	62	1
	0,73	72	3
Aldrin	30,0	90	3
	12,0	84	4
	1,9	59	1
	0,64	70	2
Endrin	26,0	97	1
	6,9	79	2
	2,1	86	1
	0,73	não detectável	não calculado
Dieldrin	12,0	94	6
	6,0	72	7
	1,8	70	5
	0,60	61	5

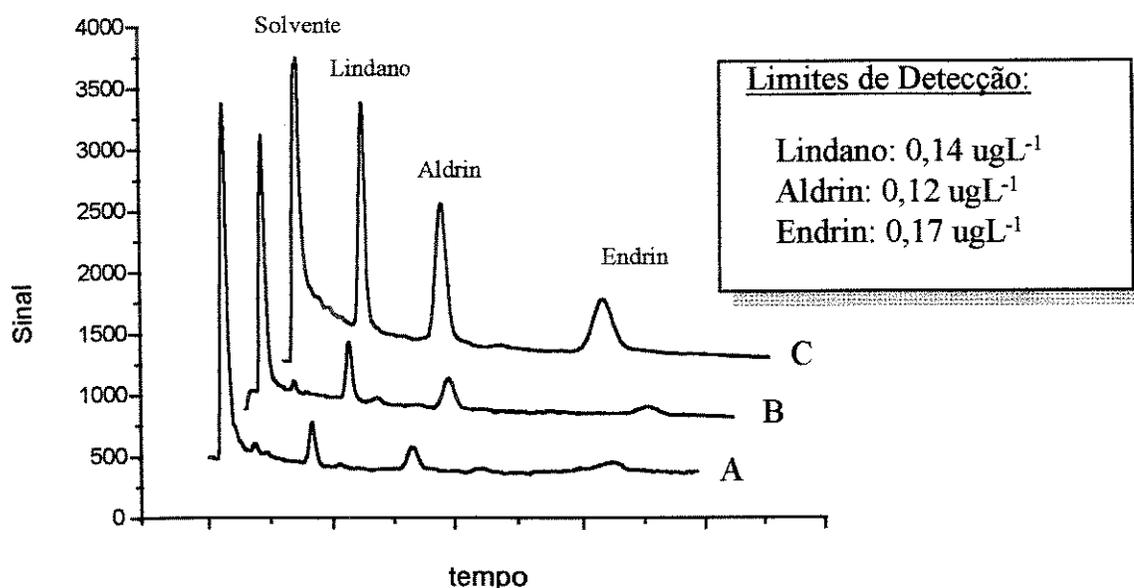


Figura 6.3 - Cromatogramas obtidos no estudo da eficiência do microextrator variando-se as concentrações dos pesticidas. As concentrações para Lindano, Aldrin e Endrin foram, respectivamente, (A) 0,73  $\mu\text{gL}^{-1}$ , 0,64  $\mu\text{gL}^{-1}$  e 0,73  $\mu\text{gL}^{-1}$  (B) 2,2  $\mu\text{gL}^{-1}$ , 1,9  $\mu\text{gL}^{-1}$  e 2,1  $\mu\text{gL}^{-1}$  (C) 7,3  $\mu\text{gL}^{-1}$ , 12,0  $\mu\text{gL}^{-1}$  e 6,9  $\mu\text{gL}^{-1}$ . 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 mL.min<sup>-1</sup>, período de pulso de 150  $\mu\text{s}$  e 0,1  $\mu\text{L}$  injetados on-column.

### 6.3 - Análise de amostra real e comparação com métodos clássicos de pré-concentração.

A eficiência do protótipo #3 do microextrator foi comparada com outras técnicas de pré-concentração na análise de uma amostra de resíduo industrial, fornecido por uma indústria da região de Campinas, para a quantificação de Hexaclorobenzeno. As outras técnicas de preparação utilizadas foram a extração líquido-líquido e a extração líquido-sólido.

Antes da etapa de pré-concentração, duas porções de resíduo (0,6042 g e 0,5564 g) foram pesadas e a elas foram adicionados, respectivamente, 500 mL de água destilada e 500 mL de água da torneira. Cada mistura foi deixada em repouso durante 90 horas e então o líquido foi submetido a triplicatas de extrações e a análise quantitativa. Na extração Líquido-Líquido foram utilizados 10,0 mL de amostra e 50 mL de tolueno como solvente extrator. Na extração Líquido-Sólido foram utilizados

cartuchos Sep-pak™ (fase reversa C-18), 50,0 mL de amostra e 10,0 mL de tolueno. O protótipo #3 do microextrator foi operado durante 75 minutos com 50,0 mL de amostra e 3 mL de isoctano. A quantificação do Hexaclorobenzeno foi realizada pelo método da padronização externa, após a determinação da melhor condição cromatográfica. O pico cromatográfico do Hexaclorobenzeno foi identificado pela comparação dos tempos de retenção dos cromatogramas obtidos para o padrão e para as amostras. A figura 6.4 mostra os cromatogramas da injeção dos solventes extratores obtidos das diferentes técnicas de preparação de amostra. Estes cromatogramas são referentes à solução resultante da mistura de resíduo com água destilada.

Da figura 6.4 nota-se claramente que a extração líquido-líquido não resulta em extração adequada do Hexaclorobenzeno, já que no cromatograma A o seu pico não pode ser distinguido da linha de base. Comparando-se os cromatogramas B e C fica evidente que o procedimento com o protótipo #3 gera maior extração do Hexaclorobenzeno do que a extração Sólido-Líquido, pois o pico do Hexaclorobenzeno é bem menor no cromatograma B. A tabela 6.3 contém informações a respeito das estimativas de desvio padrão obtidos da triplicata de extrações e portanto acrescenta dados indicativos de que o procedimento com o protótipo #3 é preferível aos de extrações Líquido-Líquido e Líquido-Sólido.

Portanto, a partir dos resultados mostrados na figura 6.4 e na tabela 6.3, pode-se concluir que o procedimento para recuperação e análise do Hexaclorobenzeno com utilização do protótipo #3 é mais repetível dos 3 procedimentos.

Da tabela 6.3 observa-se que as recuperações são sistematicamente menores quando o tratamento de 90 horas é feito com água da torneira. Especulativamente estes efeitos poderiam ser atribuídos a material em suspensão na água da torneira, que absorveria o hexaclorobenzeno e dificultaria a extração.

Tabela 6.3 - Resultado da determinação de HCB utilizando 3 técnicas de extração.

	Recuperação do hexaclorobenzeno ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )		
	Protótipo #3	Ext. Sólido-Líquido	Ext. Líquido-Líquido
Água destilada	$23 \pm 2$	$28 \pm 8$	$12 \pm 1$
Água da torneira	$9 \pm 1$	$8 \pm 2$	$7 \pm 3$
%diferença extração	58	71	41

Na última linha da tabela a % diferença extração consiste da % da diferença entre as extrações da amostra obtida com o uso de água destilada e com o uso de água da torneira.

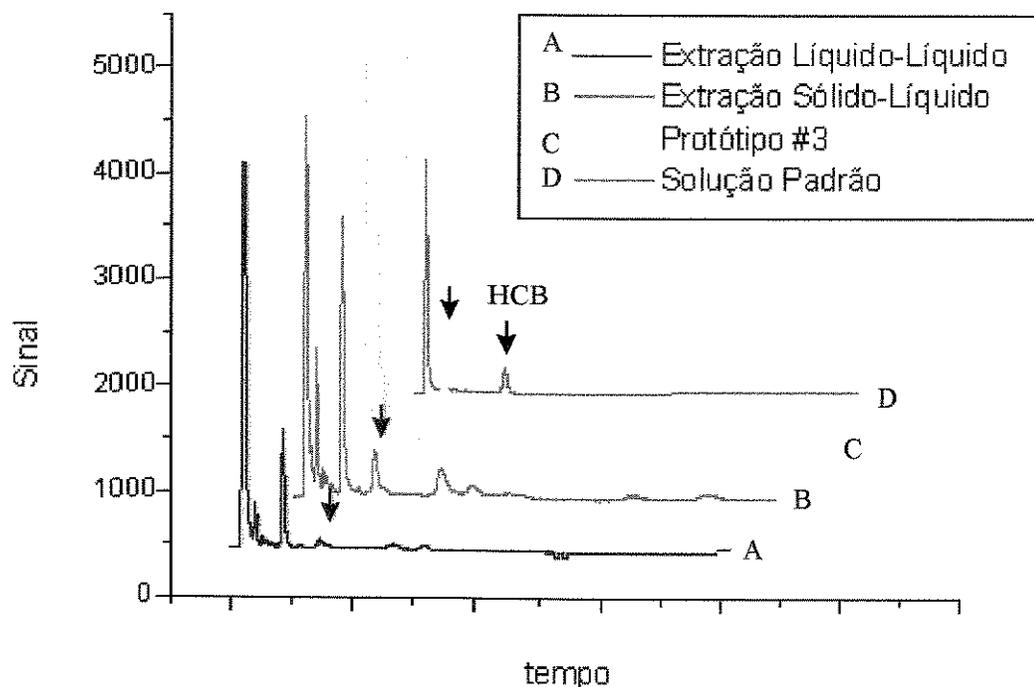


Figura 6.4 - Cromatogramas obtidos para as diferentes técnicas de extração de hexaclorobenzeno (HCB) da água. Condições Cromatográficas: Temperatura da coluna =  $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ , Temperatura do detector =  $240\text{ }^{\circ}\text{C}$ , Temperatura do injetor =  $240\text{ }^{\circ}\text{C}$ , Vazão da coluna =  $5,5\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , pressão de gás make-up = 15 psi, período de pulso  $150\text{ }\mu\text{s}$  e Volume Injetado =  $0,1\text{ }\mu\text{L}$  (exceto ELL Volume Injetado =  $0,2\text{ }\mu\text{L}$ )

## 7 - CONCLUSÕES

O sistema de preparação de amostra baseado em permeação seletiva por membrana de silicone apresentou bom desempenho para a determinação de compostos orgânicos voláteis. Tanto na configuração MESI quanto na PMTC foram atingidos valores de limites de detecção muito inferiores às quantidades máximas permitidas pelas agências ambientais. Além disto, as estimativas dos desvios padrão relativos estão dentro da faixa usualmente aceita para trabalhos de preparação de amostras. Problemas desta técnica, devido ao excessivo tempo de limpeza da membrana, que é necessário entre as extrações, foram solucionados. O uso de N<sub>2</sub> gasoso à temperatura ambiente e o uso de N<sub>2</sub> gasoso aquecido, em substituição a passagem de água pura para a limpeza da membrana, necessita menos de 20 min para limpeza completa, enquanto que com água pura este tempo poderia demandar horas. Também verificamos que a velocidade de passagem do gás utilizado na limpeza da membrana é um parâmetro definitivo neste processo, sendo que menores velocidades levam ao aceleração da limpeza da membrana. A otimização do Módulo de Extração e do Módulo de Trapeamento permitiu um significativo aumento da sensibilidade desta técnica. Neste estudo foi estabelecido o aumento da vazão da amostra facilita permeação dos analitos pela membrana, sendo que vazões de amostra acima de 2,5 mL.min<sup>-1</sup> saturam a membrana com os analitos. O tempo de extração é um dos fatores que afetam diretamente a sensibilidade deste sistema, pois em princípio, quanto maior este tempo maior a quantidade de analito que permeia pela membrana. Entretanto, este tempo é limitado a um máximo dependendo do tipo de *trap* utilizado. *Traps* de coluna capilar podem ser utilizados por até 10 min de extração, *traps* de coluna megabore por 30 min e *trap* de tubo *silcosteel*<sup>TM</sup> por mais de 60 min. Mantendo-se este *trap* não se observou prejuízos ao formato dos cromatogramas devido a problemas de adsorção ou volume "morto". O tempo de extração deste sistema de preparação de amostras baseado em permeação por membrana também depende do material congelante utilizado. Quanto menor a temperatura deste material maior o tempo de extração sem que ocorram perdas de analito pelo material de trapeamento. O uso de N<sub>2</sub> líquido como material congelante permitiu maiores tempos de extração, entanto, não foi possível utilizá-lo em conjunto com o sistema MESI

devido a problemas de desdobramentos de picos. Esta dificuldade foi sanada com o tubo de *Silcostell*<sup>TM</sup>. O tempo de extração também depende da volatilidade dos analitos. Quanto mais volátil o analito (nosso parâmetro foi o 1,2 dicloroetano) menor o tempo para ele atingir o equilíbrio de permeação pela membrana. Finalmente, a comparação de dois modos de operar a membrana permitiu concluir que o uso de amostra de água passando externamente a membrana e gás extrator internamente leva à uma maior sensibilidade do método em relação a passagem de amostra aquosa passando internamente a membrana e gás extrator externamente.

O protótipo desenvolvido que utiliza a técnica de microextração líquido-líquido permitiu três etapas de extrações sucessivas e foi testada em pesticidas organoclorados. A forma de agitação deste protótipo foi fundamental no processo de extração dos pesticidas. Alguns minutos de agitação manual permitiram mesmas taxas de recuperação que várias horas de agitação mecânica com barra magnética. Também ficou constatado a grande importância da adição de sal na amostra para proporcionar aumentos significativos na recuperação dos pesticidas. Entretanto, verificamos que não há a necessidade de saturar a amostra com sal, como sugerido na literatura. Esta técnica, operada em condições otimizadas, de extrações forneceu uma ampla faixa linear de concentração (neste estudo as concentrações foram na faixa de 10 ng.L<sup>-1</sup> a 1000 ng.L<sup>-1</sup>). Quando utilizada uma etapa de concentração limites de detecção da ordem de pg.L<sup>-1</sup> e recuperação em torno de 50% com estimativas de desvio padrão menores que 7% foram obtidos. As recuperações aumentam para cerca de 90% com três extrações sucessivas sem prejuízo na reprodutibilidade. Além disto, com esta faixa de recuperação esta técnica permite fatores de enriquecimento da amostra entre 5000 a 10000 vezes.

A técnica baseada em processos simultâneos de equilíbrio de partição líquido-líquido, líquido-vapor e vapor-vapor foi extensivamente estudada e levou-nos a confecção de 4 protótipos. O protótipo mais adequado teve suas condições operacionais otimizadas e permitiu extrações de pesticidas organoclorados com concentrações na faixa de 0,5 µg.L<sup>-1</sup> a 30 µg.L<sup>-1</sup>. O uso de um tubo de vidro em forma de U interligando o suspiro do protótipo e uma coluna d'água permitiu uma operação extremamente estável. Este recurso é muito prático se alternativas como a modificação do dedo frio para torná-lo crioscópico for realizada. Esta metodologia permitiu limites

de detecção de  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , com recuperações dos pesticidas variando de 60% a 100% e estimativas de desvio padrão menores do que 6%. O fator de enriquecimento para esta técnica é de 50 vezes.

Deste modo, em relação ao propósito deste trabalho, as técnicas desenvolvidas são adequadas para o monitoramento de poluentes orgânicos a nível de traços, de fácil operação, baixo custo, eficientes e relativamente rápidas. Além disto, o sistema PMTC permite fácil automação.

## BIBLIOGRAFIA CITADA

- [1] Kok, A., Hiemstra, M., Brinkman, U.A., *J. Chromatogr.*, **623** (1992), 265
- [2] Mol, H.G.S., Janssen, H.M., Cramers, C.A., Vreuls, J.J., Brinkman, U.A., *J. Chromatogr. A*, **703** (1995) 277
- [3] Zapf, A., Heyer, R., Stan, H., *J. Chromatogr. A*, **694** (1995) 453
- [4] Djozan, D., Assadi, Y., *J. Chromatogr. A*, **177** (1995) 525
- [5] Bauer, S., *Trends in Anal. Chem.*, **15** (1995) 202
- [6] Cothern, C.R., Coniglio, W. A., Marcus, W., *Environ. Sci. Technol.*, **20** (1986) 111
- [7] Perry, J. A., *Recent Advances in Gas Chromatography*, Marcel Dekker Inc., New York, 1971
- [8] Rosemary Buffington e Michael K. Wilson, *Detectors for Gas Chromatography - A Practical Primer*, Hewlett Packard Avondale Division.
- [9] Berrueta, L.A., Gallo, B., Vicent, F., *Chromatography*, **40** (1995), 474
- [10] Warren, D., *Anal. Chem.*, **56** (1984), 1529A
- [11] Yang, M.J., Harms, S., Luo, Y.Z. e Pawliszyn, J., *Anal. Chem.*, **66** (1994) 1339
- [12] Hoch, G., Kok, B., *Arch. Biochem. Biophys.*, **101** (1963), 160
- [13] Westover, L.B., Tou, J.C. and Mark, J.H., *Anal. Chem.*, **46** (1974), 568
- [14] Slivon, L.E., Baner, M.R., Ho, J.S. e Budde, W.L., *Anal. Chem.*, **63** (1991) 1335
- [15] Lapack, M.A., Tou, J.C. e Enke, C.G., *Anal. Chem.*, **62** (1990), 1265
- [16] Brodbelt, J.S., Cooks, R.G., Tou, J.C., Kallos, G.J. e Dryzga, M.D., *Anal. Chem.*, **59** (1987), 454
- [17] Yang, M.J., Luo, Y.Z. e Pawliszyn, J., *Chemtech*, **10** (1994), 31
- [18] Mitra, S. e Xu, Y.H., *J. Chromatogr. A*, **688** (1994), 171
- [19] Blanchard, R.D. e Hardy, J.K., *Anal. Chem.*, **56** (1984), 1621
- [20] Pratt, K.F. e Pawliszyn, J., *Anal. Chem.*, **64** (1992), 2107
- [21] Arthur, C.L., Potter, D.W., Buchholz, K.D., Motlagh, S. e Pawliszyn, J., *LC-GC*, **10** (1992) 656
- [22] Yang, M.J., Pawliszyn, J., *Anal. Chem.*, **65** (1993), 1758
- [23] Yang, M.J. e Pawliszyn, J., *Anal. Chem.*, **65** (1993), 2538
- [24] Yang, M.J., Harms, S., Luo, Y.Z. e Pawliszyn, J., *Anal. Chem.*, **66** (1994), 1339

- [25] Mitra, S. e Chen, Y., *J. Chromatogr.*, **648** (1993) 415
- [26] Eisert, R. and Levsen, K., *J. Chromatogr. A*, **733** (1996), 143
- [27] Arthur, C.L., Chai, M., Pawliszyn, J., Belardi, R.P. and Pratt, K.F., *Analyst*, **351** (1993), 1501
- [28] Eisert, R. and Levsen, K., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **351** (1995), 555
- [29] Popp, P., Kalbitz, K. and Oppermann, G., *J. Chromatogr. A*, **687** (1994), 133
- [30] Arthur, C.L., Potter, D.W., Buchholz, K.D., Motlagh, S. and Pawliszyn, J., *LC-GC*, **10** (1992), 656
- [31] Arthur, C.L. and Pawliszyn, J., *Anal. Chem.*, **62** (1990), 2145
- [32] Arthur, C.L., Killam, L.M., Motlag, S., Lim, M., Potter, D.W. and Pawliszyn, J., *Environ. Sci. Technol.*, **26** (1992), 979
- [33] Louch, D., Motlagh, S. e Pawliszyn, J., *Anal. Chem.*, **64** (1992), 1187
- [34] Arthur, C.L., Killam, L.M., Buchholz, K.D. e Pawliszyn, J., *Anal. Chem.*, **64** (1992), 1960
- [35] Potter, D.W. e Pawliszyn, J., *J. Chromatogr.*, **625** (1992), 247
- [36] Arthur, C.L., Pratt, K., Motlag, S. and Pawliszyn, J., *J. High Resolut. Chromatogr.*, **15** (1992), 741
- [37] Zhang, Z. e Pawliszyn, J., *Anal. Chem.*, **65** (1993), 1843
- [38] Zhang, Z. e Pawliszyn, J., *Anal. Chem.*, **67** (1995), 34
- [39] Zhang, Z. e Pawliszyn, J., *J. High Resol. Chromatogr.*, **19** (1996), 155
- [40] Boyd-Boland, A. A. and Pawliszyn, J., *J. Chromatogr. A*, **704** (1995), 163
- [41] Barnabas, I.J., Dean, J.R., Fowles, I.A. e Owen, S.P., *J. Chromatogr. A*, **705** (1995), 305
- [42] Namiesnik, J., Górecki, T., Biziuk, M. e Torres, L., *Anal. Chim. Acta*, **237** (1990), 1
- [43] Poole, S.K., Dean, T.A., Udsema, J.W. e Poole, C.F., *Anal. Chim. Acta*, **236** (1990), 3
- [44] Attigalle, A. B. e Morgan, E.D., *Anal. Chem.*, **58** (1986), 3054
- [45] Grob, K., Grob Jr, K. e Grob, G., *J. Chromatogr.*, **106** (1975), 299
- [46] Murray, D.A. J., *J. Chromatogr.*, **177** (1979), 135
- [47] Godefroot, M., Stechele, M., Sandra, P. e Verzele, M., *J. High Resolut. Chromatogr.*, **5** (1982), 75

- [48] Curves, J., Noij, T., Cramers, C. e Rijks, J., *Chromatographia*, **10** (1984), 225
- [49] Lindner, W. e Seidel, V., *Anal. Chem.*, **65** (1993), 3677
- [50] Kurán, P. e Soják, L., *J. Chromatogr. A*, **733** (1996), 119
- [51] Eduardo Carasek da Rocha: Determinação por cromatografia gasosa de alguns poluentes halogenados pouco voláteis em água (Dissertação de Mestrado); UNICAMP; Campinas, 1994
- [52] F. Augusto: Desenvolvimento e aplicação de software para cromatografia gasosa (Dissertação de Mestrado); UNICAMP; Campinas, 1990