



SEI-SICITE 2021

Pesquisa e Extensão para um mundo em transformação

XI Seminário de Extensão e Inovação
XXVI Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica
08 a 12 de Novembro - Guarapuava/PR



ANÁLISE DE HPAs E PESTICIDAS POR HEADSPACE GC-MS EM FILTROS DE AMOSTRAGEM

ANALYSIS OF PHAs AND PESTICIDES BY HEADSPACE GC-MS IN SAMPLING FILTERS

Maria Angélica Araujo*, **Oldair Donizeti Leite (orientador)†**;

Éder Lisandro de Moraes Flores; **Marilia Silva Pires‡**; **Moacir Rossi Forim§**.

RESUMO

No presente trabalho, foi desenvolvido um procedimento analítico para a determinação de dez (10) Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) e, sete pesticidas, em filtros de amostragem de material particulado, pela técnica de CG-MS, e, preparo e injeção da amostra por headspace. Após otimização das condições operacionais de análise por CG/MS e injeção da amostra por headspace, foi possível a separação, identificação e quantificação de 17 compostos orgânicos num tempo estimado de 19 min. O procedimento de preparo da amostra e injeção por headspace, apresentou-se vantajoso, quando comparado com o método tradicional de preparo de amostra de HPAs e pesticidas, devido ao volume reduzido de solvente utilizado (100 uL), da não necessidade de implementação de etapas de extração, clean up e pré-concentração dos compostos dos filtros, e, do menor tempo empregado nesta etapa (10 min), sendo 1/3 menor daquele utilizado no procedimento clássico de preparo de amostras, tempo estimado de 30 min.

Palavras-chave: material particulado inalável, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), pesticidas, headspace

ABSTRACT

In the present work, an analytical procedure was developed for the determination of ten (10) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) and, seven pesticides, on particulate sampling filters, by GC-MS technique, and sample preparation and injection by headspace. After optimization of the operational conditions for GC/MS analysis and headspace injection of the sample, it was possible to separate, identify, and quantify 17 organic compounds in an estimated time of 19 min. The sample preparation and headspace injection procedure was advantageous compared to the traditional sample preparation method for PAHs and pesticides because of the reduced solvent volume used (100 uL), the absence of the need to implement extraction, clean up and pre-concentration steps for the compounds on the filters, and the shortest time used in this step (10 min), which is 1/3 less than that used in the classic sample preparation procedure, estimated time of 30 min.

Keywords: inhalable particulate matter, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), pesticides, headspace.

* Licenciatura em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, PR, Brasil, mariaangelica_araujo@hotmail.com

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Medianeira, PR, Brasil; oldair.leite@gmail.com

‡ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Medianeira, PR, Brasi; eder.utfpr@gmail.com

§ Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil, masipires@yahoo.com.br

¶ Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil, mrforim@gmail.com



1 INTRODUÇÃO

Os materiais particulados atmosféricos inaláveis MPs (com destaque para partículas com diâmetro aerodinâmico inferior a 2,5 µm (MP 2,5) são prejudiciais para a saúde humana, pois estão diretamente ligadas a doenças respiratórias devido à sua alta capacidade de penetração nos pulmões^{1,2,3}. Segundo Lelieveld et al.¹, as estimativas de mortes prematuras atribuídas a inalação de MP 2,5 foram de 3,3 milhões de pessoas em todo o mundo em 2010 e estima-se que sejam mais de 6,5 milhões de mortes prematuras em 2050.

O material particulado (MP) é uma mistura complexa composta por substâncias sólidas/líquidas orgânicas e inorgânicas, geralmente tem tempos de vida atmosféricos variando de 3 a 10 dias e, que podem ser transportadas por milhares de quilômetros, dependendo das condições meteorológicas⁴. Assim, compostos orgânicos como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e agrotóxicos ou outras substâncias perigosas são adsorvidos no MP e, conseqüentemente transportados pela ação dos ventos por longas distâncias, tornando-se materiais perigosos por inalação para populações localizadas distantes das fontes de emissão^{5,6}. Considerando a quantidade de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e agrotóxicos, este último, estima-se globalmente que entre 1 a 2,5 milhões de toneladas de ingredientes de pesticidas ativos^{6,7}, aliada à sua persistência no meio ambiente e às características bioacumulativas⁸, pode ser uma importante preocupação com relação à qualidade do ar e à saúde humana.

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são de grande interesse ambiental, em virtude do seu potencial tóxico, mutagênico e carcinogênico^{1,2}. Os HPAs que apresentam entre 4 e 6 anéis aromáticos são altamente mutagênicos e carcinogênicos, enquanto os de 2 a 3 anéis aromáticos, apesar de menos mutagênicos, são altamente tóxicos^{9, 10, 11}.

O consumo de agrotóxicos tem aumentado nos últimos anos, principalmente no setor agrícola, onde a alta produtividade é uma exigência para o abastecimento do mercado¹². No entanto, o aumento do consumo de agrotóxicos tornou-se um caso alarmante de saúde pública. Por causa de suas toxicidades e exposição prolongada (voluntária ou não) de humanos a esses compostos, isso não está apenas diretamente relacionado a uma maior incidência de câncer¹³, mas também é suspeito de causar perturbação do sistema endócrino⁷, e afetar o sistema central sistema nervoso, sendo um risco para as doenças de Alzheimer e Parkinson^{14,15}.

Assim, a importância da determinação confiável destes compostos, com precisão e exatidão é de grande interesse para a saúde pública. Na determinação de contaminantes ambientais por institutos de metrologia, bem como por laboratórios de pesquisa, tem sido empregada a técnica de Espectrometria de Massas, porém, as espécies orgânicas associados ao material particulado amostrado necessita de uma etapa de preparo de amostra para a extração/solubilização bem como limpeza (clean up) e, pré-concentração para posterior análise por CG-MS.

Para a determinação dos níveis de HPAs e pesticidas, utilizam-se protocolos da US-EPA¹⁰ ou “Standard Methods”¹⁶ e, em ambos, na etapa de preparo da amostra, é recomendada a extração líquido-líquido (ELL), seguida de pré-purificação (“clean-up”) com sílica, ou empregando extração em fase sólida SPE, para posterior quantificação por técnicas cromatográficas (CG ou CLAE).

No presente trabalho, foi desenvolvido um procedimento de quantificação de 10 HPAs e 7 pesticidas em filtros de amostragem de material particulado, por CG-MS, com injeção por headspace, em substituição as etapas clássicas de preparo de amostra.

2 METODOLOGIA

2.2 Análises de HPAs e Pesticidas nos filtros de amostragem



Os solventes utilizados para as análises foram de grau analítico e água ultra pura, utilizando um sistema de purificação Mili-Q resistividade de $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$.

Inicialmente foram preparadas uma solução estoque na concentração de 100 mg L^{-1} contendo os 13 padrões de HPAs, EPA 525 PAH Mix B (48249 Supelco: Acenaftileno; Fluoreno; Antraceno; Fenantreno; Pireno; Indeno[1,2,3-cd]pireno; Dibenzo[a,h]antraceno; Benzo[a]antraceno; Crisene; Benzo[ghi]pirieno; Benzo[k]fluoranteno Benzo[b]fluoranteno; Benzo[a]pireno)) e 7 padrões de pesticidas, Organophosphate Pesticide Mix 2 (861283 Supelco - (Prometon; Simazina; Atrazina; Alacloro; Bromacil; Metacloro; Butacloro) em acetona.

Para a otimização do método analítico por CG-MS foi utilizada uma solução de trabalho na concentração de 10 ppm, resultado da diluição da solução estoque. Junto aos padrões foi adicionado o composto usado como padrão interno, o 1,2,4,5-tetraclorobenzeno. As análises foram realizadas (parceria com o Prof. Moacir R. Forim da UFSCar) em um Cromatógrafo a Gás Multidimensional Shimadzu MDGC 2010AF Plus com injetor headspace AOC-5000 e detector Espectrômetro de Massas Sequencial TQ8040 (GC-MS/MS), empregando uma coluna DB-5 UI (30m x 0.250 mm x 0.25 μm) fundida com sílica e gás Hélio como gás de arraste. As análises foram realizadas no modo de aquisição do sinal analítico SIM (do inglês, singular ion Monitoring) na qual foram selecionados os íons característicos de cada substâncias.

Para a otimização das condições de injeção por headspace, filtros de quartzo (branco) foram recortados no formato de discos de tamanho compatível com o fundo do vial de headspace (vial de 10 mL). Em cada vial contendo um disco, foram adicionados 10 μL da solução padrão de HPAs e pesticidas contendo 10 mg L^{-1} e, para evaporar o solvente, ficaram expostos ao ar ambiente por aproximadamente 5 cinco minutos. As variáveis operacionais do Headspace, tempo (s), temperatura (T °C) e, agitação do vial (rpm) foram estudados.

3 RESULTADOS

Na tabela 1 são apresentadas as melhores condições operacionais obtidas para análise por CG/MS, dos 10 HPAs e 07 pesticidas, fortificados nos filtros de amostragem. Detalhes das condições operacionais do gradiente de separação térmica estabelecido para a separação dos compostos analisados são apresentados na Tabela 2.

Tabela 1- Condições otimizadas dos parâmetros operacionais do protocolo de análise por CG/MS de HPAs e pesticidas

Parâmetro operacional do método	Condição otimizada
Temperatura do forno da coluna	90°C
Temperatura de injeção	280°C
Volume de injeção	1 μL
Pressão	78,6 kPa
Fluxo total	14 mL/min
Fluxo na coluna	1 mL/min
Velocidade linear	37 cm/sec
Fluxo de purga	3 mL/min
Razão de fracionamento	10

Fonte: Autoria própria (2021).

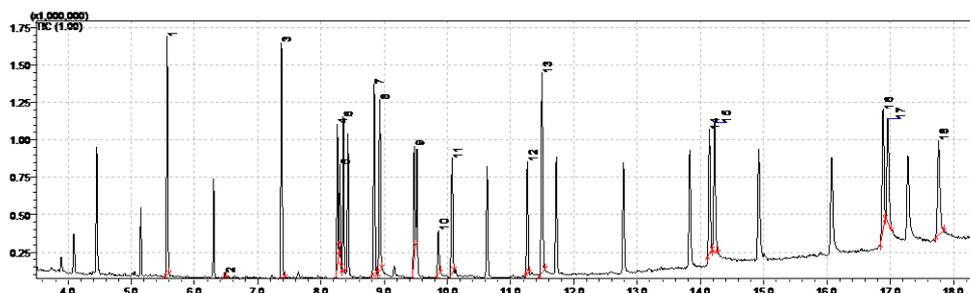
Os parâmetros (tempo (s), Agitação(s) e Temperatura (T °C), volume de injeção (mL) de preparo de amostra e injeção por Headspace também foi estudado, e, visando um procedimento reprodutível e com menor tempo de preparo, as seguintes condições operacionais estabelecidas foram: cinco minutos de aquecimento do vial com a amostra a 200°C, e sem agitação e, volume de injeção de 1 mL.

Tabela 2- Condições operacionais otimizadas da separação térmica, rampa de aquecimento, empregada no procedimento analítico empregando a coluna DB-5 UI (30m x 0.250 mm x 0.25 µm) fundida com sílica e gás de arraste Hélio a 1mL/min.

Etapa	Taxa de aquecimento (°C/min)	Temperatura (°C)	Tempo das etapas (min)
0		90	1
1	20	200	10
2	10	270	7
3	5	290	4

Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 1- Cromatograma obtido das análises dos compostos HPAs e pesticidas, nas condições otimizadas do protocolo de análise apresentados nas Tabelas 1 e 2 com o método otimizado.



Fonte: Autoria própria (2021).

Tabela 3 – Apresentação dos resultados obtidos dos tempos de retenção (identificação dos compostos), as equações de linearidade obtida para o intervalo de concentração entre 0,05 µg a 0,5 µg de HPAs e pesticidas estudados (Figura 1), bem como os respectivos coeficientes de correlação.

Pico	Identificação do Composto	Tempo de retenção (min)	Equação da Reta (Linearidade de 0,05 a 0,5 µg)	R ²
1	Benzene, 1,2,3,5-tetrachloro	5.568	$y = 636031x - 39168$	R ² = 0,9933
2	Acenaphthylene	6.477	$y = 211460x - 7893$	R ² = 0,9933
3	Fluorene	7.374	$y = 1E+06x + 102109$	R ² = 0,9523
4	Prometon	8.259	$y = 636031x - 39168$	R ² = 0,9926
5	Simazine	8.299	$y = 456183x - 23091$	R ² = 0,9945
6	Atrazine	8.354	$y = 898264x - 42653$	R ² = 0,9946
7	Phenanthrene	8.840	$y = 4E+06x + 100043$	R ² = 0,9889
8	Anthracene	8.927	$y = 4E+06x + 84768$	R ² = 0,9862
9	Alachlor	9.473	$y = 657084x - 20198$	R ² = 0,9866
10	Bromacil	9.855	$y = 66256x - 2299,3$	R ² = 0,9868



11	Metolachlor	10.071	$y = 62E+06x - 95309$	$R^2 = 0,9981$
12	Butachlor	11.261	$y = 892606x - 55924$	$R^2 = 0,994$
13	Pyrene	11.493	$y = 82E+06x - 792309$	$R^2 = 0,9981$
14	Benz[a]anthracene	14.140	$y = 4E+06x - 64489$	$R^2 = 0,9989$
15	Chrysene	14.223	$y = 4E+06x - 56949$	$R^2 = 0,998$
16	Benzo[k]fluoranthene	16.887	$y = 1E+06x + 74176$	$R^2 = 0,9856$
17	Benzo[b]fluoranthene	16.959	$y = 954908x + 63501$	$R^2 = 0,9846$
18	Benzo[a]pyrene	17.763	$y = 776955x + 45369$	$R^2 = 0,9894$

Fonte: Autoria própria (2021).

A exatidão do procedimento foi estimada empregando ensaios de recuperação nas concentrações de 0,1 e 0,3 ug para cada HPA e pesticida analisado. Os valores encontrados variaram entre 94 % e 103 %, para os compostos orgânicos, considerado aceitável para o método.

4 CONCLUSÃO

O método CG-MS/MS com injeção por headspace, foi otimizado para a determinação de x HPAs e y pesticidas em filtros de amostragem de material particulado. O procedimento apresentou linearidade entre 0,05 a 0,5 ug para os compostos analisados. O tempo de análise estabelecida para determinação dos elementos foi de aproximadamente 19 minutos. O procedimento de preparo da amostra e injeção por headspace durou em torno de 10 min (cortar os filtros, acondicionar nos vials, 5 minutos de aquecimento e injeção), apresentando grande vantagem quando comparado com os métodos tradicionais de solubilização dos compostos orgânicos dos filtros, pré purificação, pré-concentração para posterior injeção em solução no CG-MS (tempo estimado em 30 min).

AGRADECIMENTOS

Agradeço a UTFPR-MD pelo espaço e oportunidade, a Universidade Federal de São Carlos pela parceria com os equipamentos ao Prof. Dr. Oldair Donizeti Leite pela orientação e aos órgãos de fomentos CAPES, CNPq e Fundação Araucária pela bolsa, auxílio financeiro e apoio.

REFERÊNCIAS

1. LELIEVELD, J. et al. The contribution of outdoor air pollution sources to premature mortality on a global scale. **Nature** 525, 367–71, 2015.
2. WANG, Z. Energy and Air Pollution. **Comprehensive Energy Systems**, v. 1–5, p. 909–949, 2018.
3. POPE, C. A.; DOCKERY, D. W. Health effects of fine particulate air pollution: Lines that connect. **Journal of the Air and Waste Management Association**, v. 56, n. 6, p. 709–742, 2006.
4. SOCORRO, J. et al. The persistence of pesticides in atmospheric particulate phase: An emerging air quality issue. **Sci. Rep.** 6, 33456, 2016.



5. BOSSI, R; VORKAMP, K; SKOV, H. Concentrations of organochlorine pesticides, polybrominated diphenyl ethers and perfluorinated compounds in the atmosphere of North Greenland. **Environ. Pollut.** 1–7, 2016.
6. FENNER, K. et al. Evaluating pesticide degradation in the environment: blind spots and emerging opportunities. **Science** 341, 752–758, 2013.
7. ZHANG, J. et al. Endocrine-disrupting effects of pesticides through interference with human glucocorticoid receptor. **Environ. Sci. Technol.** 50, 435–443, 2016.
8. DEGRENDEL, C. et al. Pesticides in the atmosphere: a comparison of gas-particle partitioning and particle size distribution of legacy and current-use pesticides. **Atmos. Chem. Phys.** 16, 1531–1544, 2016.
9. BRAY, F. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394–424, 2018.
10. AGÊNCIA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL DOS ESTADOS UNIDOS -EPA. Métodos Analíticos de pesticidas. Estados Unidos, 2002.
11. PEREIRA, N. A. D. et al. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica. **Quim. Nova.** 23, 765, 2000.
12. MENEZES, A. et al. Development, validation and application of a method based on DI-SPME and GC – MS for determination of pesticides of different chemical groups in surface and groundwater samples. **Microchem. J.** 96, 139–145, 2010.
13. PARRÓN, T. et al. Environmental exposure to pesticides and cancer risk in multiple human organ systems. **Toxicol. Lett.** 230(2), 157–165, 2013.
14. MASCARELLI, A. Growing up with pesticides. **Science** 341, 740–741, 2013.
15. KAMEL, F. Paths from pesticides to Parkinson's. **Science** 341, 722–723, 2013.
16. Standard methods for the examination of water and wastewater. Individual organic compounds- Part 6000, PAH 6440, 20th ed. (CD), 1998.