

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
CURSO SUPERIOR DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

TAYSSA NOGUEIRA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DAS TÉCNICAS DE MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-  
LÍQUIDO DISPERSIVA E MICROEXTRAÇÃO EM GOTA ÚNICA PARA  
ORGANOCORADOS EM ÁGUA, UTILIZANDO CROMATOGRAFIA  
GASOSA ACOPLADA COM ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II

APUCARANA

2015

TAYSSA NOGUEIRA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DAS TÉCNICAS DE MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA E MICROEXTRAÇÃO EM GOTA ÚNICA PARA ORGANOCLORADOS EM ÁGUA, UTILIZANDO CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA COM ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado ao curso Superior de Licenciatura em Química, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como requisito parcial para aprovação na disciplina de TCC II.  
Orientador: Prof. Dr. Elton Guntendorfer Bonafé  
Co-orientadora: Ma. Flavianny B. Silva Mikalowski

APUCARANA

2015

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

---

Prof. Dr. Elton Guntendorfer Bonafé

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Orientador

---

Prof. Dr. Edmilson Antonio Canesin

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Membro

---

Prof. Dra. Silvana Fernandes Montanher

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Membro

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela inefável misericórdia que Ele tem tido para comigo durante todas as etapas vencidas, me proporcionando sabedoria, força e fé nos momentos em que se fosse depender das minhas forças eu jamais teria conseguido.

Ao meu avô José, *em memória*, e a minha avó Maria por mesmo que na simplicidade de não compreenderem o motivo pelo qual ingressei nesta jornada terem sido o meu apoio.

Ao meu namorado Vinícius pelo companheirismo, incentivo, pela paciência e por se mostrar compreensivo nos momentos em que não pôde contar com a minha presença por conta dos vários finais de semana dedicados a minha vida acadêmica.

A professora Dra. Rúbia Michele Suzuki por toda orientação, incentivo e principalmente pelos incontáveis puxões de orelha que me serviram como estímulo para buscar sempre o crescimento intelectual.

A Flavianny B. S. Mikalouski por sempre ter ajudado a sanar muitas dúvidas e questionamentos que surgiram desde meu ingresso a esta linha de pesquisa até o momento de finalização da mesma, os solucionando inclusive aos sábados, domingos e feriados, obrigada por toda a ajuda.

Ao professor Dr. Elton Guntendorfer Bonafé por sempre me passar tranquilidade nos momentos em que pensei que nada iria dar certo me dizendo: - Fica tranquila Tayssa, vai dar tudo certo.

Aos amigos que Deus me deu a honra de poder dividir cada momento desta caminhada. Em especial agradeço a Maria Gabriela por ter sido mais que uma amiga desde o princípio da graduação, me ajudando, aconselhando e ouvindo meus desabafos, ao meu melhor amigo e irmão pela fé Henrique Perfeito pela companhia e pelos momentos de descontração e a minha amiga de laboratório Jéssica Martins pelo companheirismo.

A todos os professores, em especial a prof<sup>a</sup> Angélica Rivelini e o Prof<sup>o</sup> Bento Suart, por serem os principais protagonistas da minha vida acadêmica, me ensinando a construir valores que não se podem ser comprados e por se tornarem inspirações para as minhas futuras atuações na área da docência.

*“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu. Há tempo de nascer, e tempo de morrer; tempo de plantar, e tempo de arrancar o que se plantou.”*

*Eclesiastes 3:1-2*

## RESUMO

SILVA, Tayssa N. Avaliação das técnicas de microextração líquido-líquido dispersiva e microextração em gota única para organoclorados em água, utilizando cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massas. 2015. 40 p. Trabalho de Conclusão de Curso II – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Apucarana, 2015.

Neste trabalho são apresentados os resultados de análises realizadas em amostras de águas coletadas em um monitoramento de 11 meses no Parque da Raposa localizado no município de Apucarana – PR. Este monitoramento foi realizado com a finalidade de verificar a existência de pesticidas organoclorados, tais como  $\alpha$ -BHC;  $\beta$ -BHC,  $\gamma$ -BHC; 4,4´DDT, Aldrin e Dieldrin. Tais análises foram proposta por conta da economia da região estar voltada para a agricultura e principalmente pela característica biocumulativa dos organoclorados, o que acaba por agravar possíveis danos tanto para o quesito ambiental quanto à saúde humana e animal. O monitoramento das amostras foi realizado por meio de dados obtidos das características físico-químicas – pH, cloreto, nitrato, nitrito e amônia; e características microbiológicas, com verificação qualitativa de coliformes totais e coliformes termotolerantes. A partir destas análises foi possível constatar que em determinados períodos as águas do Parque da Raposa apresentavam uma taxa de poluição, apresentando uma concentração de 14,672 ppm de nitrato para amostra coletada no mês de março de 2014 e na análise de coliformes totais realizada em dezembro de 2013 o valor obtido foi de 240 UFC por 100 mL. Além da preocupação com o meio ambiente este trabalho compara dois métodos de microextração para identificação e quantificação dos pesticidas de interesse. Para a preparação das amostras de água foram utilizados a Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME, do inglês *Dispersive Liquid-Liquid Microextraction*) e a Microextração em Gota Única (SDME, do inglês *Single Drop Microextraction*). Após submeter às amostras a análises de pesticidas com a DLLME e a SDME à identificação e quantificação foram realizadas através de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC/MS, do inglês *gas chromatography/mass spectrometry*). Os resultados das análises das amostras preparadas pelo método SDME demonstraram que 10 das 11 amostras apresentaram concentrações de Aldrin superiores a  $1,923 \mu\text{g L}^{-1}$ . Ao fim foi realizada uma comparação da eficiência da técnica SDME com a DLLME.

**Palavras-chave:** DLLME. SDME. Pesticida Organoclorado. Cromatografia.

## ABSTRACT

SILVA, Tayssa N. Avaliação das técnicas de dispersiva líquido-líquido microextração e extração por gota única para organoclorados em água utilizando cromatografia acoplada com espectrometria de massa. 2015. 40 p. Trabalho de Conclusão de Curso II. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Apucarana, 2015.

This work presents the results of analyzes conducted on water samples collected from monitoring hum 11 months in Parque da Raposa located any municipality of Apucarana – PR. This monitoring was carried out in order to verify the existence of organochlorine pesticides, such as  $\alpha$ -BHC;  $\beta$ -BHC,  $\gamma$ -BHC; 4,4' DDT, Aldrin and Dieldrin. Such analyzes were proposed because of the region's economy be focused on agriculture and especially the bioaccumulative characteristic of organochlorine, which ultimately exacerbate potential damage to both the environmental question as to human and animal health. Monitoring of the samples was performed using data obtained from the physical and chemical characteristics - pH, chloride, nitrate, nitrite and ammonia; and microbiological characteristics with qualitative check total coliforms and fecal coliforms. From these analyzes it was found that at certain periods the Parque da Raposa waters showed a pollution tax, with a concentration of 14.672 ppm nitrate to sample collected in March 2014 and total coliform analysis conducted in December in 2013 the value obtained was 240 UFC per 100 ml. In addition to concern for the environment this work brings agility and efficiency microextraction methods for identification and quantification of pesticides of interest. For preparation of water samples were used to *Dispersive Liquid-Liquid Microextraction* (DLLME) and a *Single Drop Microextraction* (SDME). After submitting the samples to pesticide analysis with DLLME and SDME the identification and quantification were done by gas chromatography/mass spectrometry. The results of the analysis of samples prepared by SDME method showed that 10 of the 11 samples showed Aldrin concentrations greater than 1,923  $\mu\text{g L}^{-1}$ . After a comparison was made of the SDME technical efficiency with DLLME.

**Keywords:** DLLME. SDME. Organochlorine Pesticides. Chromatography.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>9</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>11</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	11
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>12</b>
3.1 MICROEXTRAÇÃO .....	12
3.2 MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA.....	13
3.3 MICROEXTRAÇÃO EM GOTA ÚNICA .....	14
3.4 CROMATOGRAFIA GASOSA .....	16
3.5 PESTICIDAS ORGANOCLORADOS .....	18
3.5.1 Poluição de águas urbanas .....	19
<b>4 METODOLOGIA .....</b>	<b>21</b>
4.1 PADRÃO E REAGENTES.....	21
4.2 AMOSTRAGEM .....	21
4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	22
4.4 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	23
4.5 MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA (DLLME).....	23
4.6 MICROEXTRAÇÃO EM GOTA ÚNICA (SDME).....	24
4.7 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA.....	24
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>26</b>
5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	26
5.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	27
5.3 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS PESTICIDAS PARA AS MICROEXTRAÇÕES REALIZADAS PELO MÉTODO DE DLLME .....	28
5.4 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS PESTICIDAS PARA AS MICROEXTRAÇÕES REALIZADAS PELO MÉTODO DE SDME.....	30
5.5 COMPARAÇÃO DAS TÉCNICAS DE DLLME E SDME .....	32
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>34</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>35</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>39</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Algo que tem chamado à atenção de diversos pesquisadores é a busca por métodos analíticos mais rápidos e eficientes, atrelados ao conceito de química verde.

A química verde engloba princípios que estão pautados na necessidade de se desenvolver tecnologias e processos que causem o mínimo de impacto no meio ambiente. Observa-se a preocupação da aplicação de tais princípios por meio dos controles e monitoramentos realizados para se aplicar os tratamentos necessários. Nota-se que além dos benefícios de cunho ambiental esta conscientização gera também um impacto na vertente econômica graças à diminuição de gastos com o armazenamento e tratamento de resíduos, a descontaminação e o pagamento de indenizações (PRADO, 2003; FERREIRA; ROCHA; SILVA, 2014).

Mesmo havendo o conhecimento quanto à taxa de toxicidade que os agrotóxicos geralmente possuem e a possibilidade de causarem problemas de poluição ambiental e de saúde, utiliza-se ainda na agricultura uma grande quantidade destes, no intuito de aumentarem a produtividade e causarem melhora na qualidade dos produtos. Dentre as mais variadas classes de compostos utilizados como agrotóxicos destaca-se o uso dos organofosforados e organoclorados, que trazem em sua composição uma vasta diversidade de substâncias químicas com distintos grupos funcionais e, consecutivamente, com diferentes modos de ação, biotransformação e eliminação (CALDAS et al., 2011; MORALES et al., 2014).

Os pesticidas organoclorados possuem estruturas químicas semelhantes, e conseqüentemente possuem características físico-químicas semelhantes. Algumas de suas similaridades são observadas quanto a sua persistência, toxicidade, bioacumulação e potencial de transporte a longo alcance. Podendo ser classificados como poluentes orgânicos persistentes. Considerando as recentes pesquisas que detectaram a presença do mesmo em águas superficiais e subterrâneas, nos sedimentos, solo, ar e nas calotas polares, além do armazenamento em alimentos, animais e vegetais, e no próprio ser humano, mesmo depois de terem sido proibidos na agricultura em 1985 (ROSA; SARCINELLI, 2008).

Por estarem localizadas, na maioria das vezes, perto de plantações agrícolas, as águas, estão propensas a serem contaminadas após a aplicação de

pesticidas. A sedimentação e até mesmo a aplicação direta em superfícies aquáticas faz com que a água seja considerada uma das principais aliadas da propagação dos agrotóxicos no meio ambiente (ALVES, 2010).

A análise de resíduos de agrotóxicos em águas é relativamente complexa, visto que esses compostos possuem diferentes propriedades físico-químicas e ocorrem em concentrações extremamente baixas, além de compor uma matriz complexa, com inúmeros interferentes. Para que a determinação de agrotóxicos em água seja eficiente a amostra deve receber previamente um tratamento, pois a identificação e a quantificação poderão ser afetadas caso os interferentes não sejam removidos. Este tratamento prévio inclui o isolamento e a pré-concentração dos analitos (CALDAS et al., 2011).

São apresentadas na literatura diversas formas de extração de compostos, entre elas encontramos a Extração Líquido-Líquido (LLE, do inglês *Liquid-Liquid Extraction*), a extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*), a Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME, do inglês *Dispersive Liquid-Liquid Microextraction*), a Microextração em Gota Única (SDME, do inglês *Single Drop Microextraction*), entre outras (ROSA; SARCINELLI, 2008).

A LLE é um procedimento clássico de extração para preparação de amostra, entretanto devido as suas desvantagens, como o uso de grandes quantidades de solventes, geralmente de alta toxicidade, este método tem sido modificado para novas configurações. Entre as novas configurações estão a DLLME (MARTINS et al., 2012) e a SDME. O princípio destes métodos é similar ao da extração líquido-líquido convencional, contudo apresentam vantagens como à minimização na quantidade de solvente utilizado, simplicidade de operação, baixo custo e consumo de tempo (CALDAS et al., 2011).

Neste trabalho foi realizado a comparação das técnicas DLLME e SDME, por meio do monitoramento das águas superficiais do Parque da Raposa do município de Apucarana, PR.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Comparação dos métodos DLLME com o SDME, na extração de pesticidas organoclorados de águas superficiais.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar análises físico-químicas e microbiológicas da água para o monitoramento.
- Avaliar a técnica de SDME na extração de pesticidas organoclorados.
- Comparar a eficiência da técnica SDME com a DLLME.
- Utilizar as técnicas SDME e DLLME para a determinação de pesticidas organoclorados em amostras de águas.
- Fazer o monitoramento da contaminação por pesticidas organoclorados, neste caso  $\alpha$ -BHC;  $\beta$ -BHC;  $\gamma$ -BHC; 4,4´DDT, Aldrin e Dieldrin, e em caso positivo, quantificar essa contaminação, da água do Parque da Raposa da cidade de Apucarana, Pr.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 MICROEXTRAÇÃO

As técnicas de microextração são amplamente utilizadas para a preparação de amostras, visto que, mesmo com os progressos instrumentais ocorridos nas últimas décadas, a determinação dos analitos diretamente na amostra original ainda apresenta muitos inconvenientes. Tais técnicas vêm sendo ajustadas para a realização de procedimentos que utilizem quantidades mínimas de solventes orgânicos, que ocasionem a diminuição das etapas de preparação das amostras e, vinculado a estes dois requisitos, gerem resultados confiáveis (OLIVEIRA et al., 2008).

Diferentes métodos de microextração tem sido propostos a fim de otimizar e propor a aquisição de dados com precisão e detectabilidade no preparo das amostras (MARTINS et al., 2012).

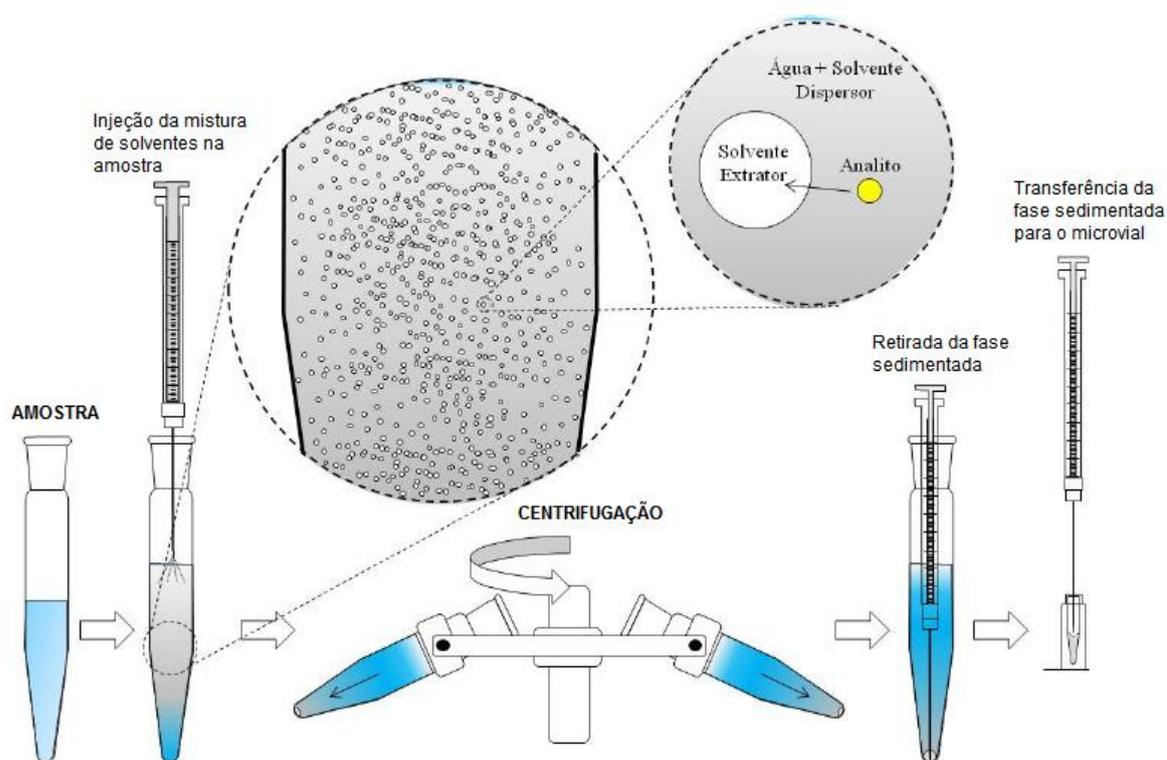
São encontradas na literatura diversas técnicas de microextração, entre as principais destacam-se a Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME, do inglês *Dispersive Liquid-Liquid Microextraction*), a Microextração em Gota Única (SDME, do inglês *Single Drop Microextraction*), a Microextração em Fase Sólida (SPME, do inglês *Solid Phase Microextraction*), a Microextração em Fase Líquida (LPME, do inglês *Liquid Phase Microextraction*) e por fim a Microextração por Emulsificação Assistida por Ultrassom (USAEME, do inglês *Ultrasound-Assisted Emulsification-Microextraction*) (MARTINS et al., 2012).

Uma das aplicações dos métodos de microextração que vem sendo utilizada é a preparação de amostras de águas contaminadas com agrotóxicos, pois caso as interferências não sejam removidas poderão afetar a identificação e a quantificação dos contaminantes (CALDAS et al., 2011). Para este tipo de análise podemos utilizar os métodos de DLLME e o SDME.

### 3.2 MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA

A DLLME foi desenvolvida com o intuito de realizar uma miniaturização da LLE. Rezaee et al. (2006), com auxílio de seus colaboradores, desenvolveram esta técnica como sendo um avanço das técnicas de microextração em fase líquida.

A realização desta técnica é dividida em duas etapas. A primeira é iniciada com a injeção de uma mistura adequada dos solventes, extrator e dispersor, na amostra aquosa contendo os analitos. Nesta etapa o solvente extrator é disperso na fase aquosa em gotas extremamente finas extraíndo os analitos. Por conta da grande área superficial entre o solvente extrator e a amostra aquosa, o equilíbrio é atingido rapidamente e a extração é independente do tempo, sendo esta a principal vantagem deste método. A segunda etapa é a centrifugação da solução turva e a transferência da fase sedimentada para um frasco (microvial) que permitirá a determinação dos analitos (MARTINS et al., 2012). A caracterização das etapas envolvidas no processo pode ser observada na Figura 01.



**Figura 01: Diagrama simplificado demonstrando as etapas da DLLME.**  
**Fonte: MARTINS et al., 2012**

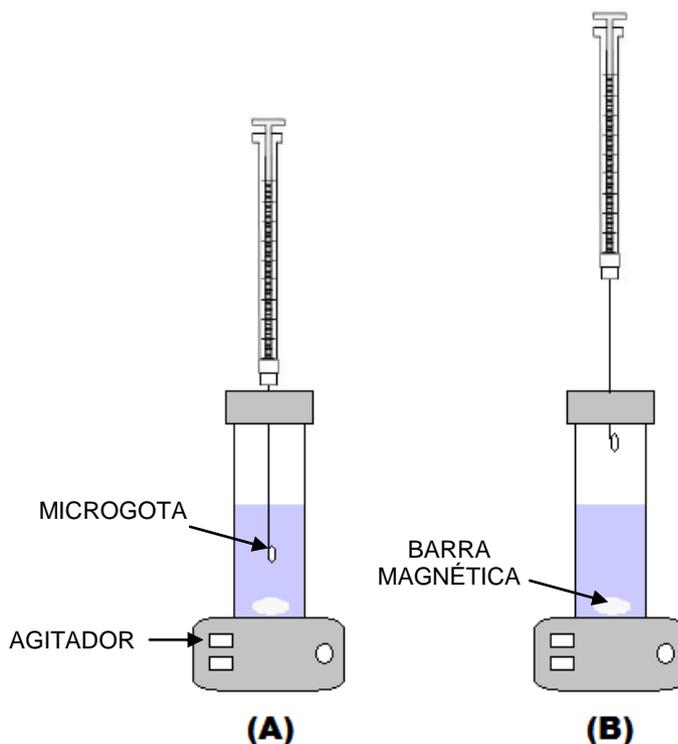
O conceito fundamental desta técnica é a mistura de uma fase aquosa que contém os analitos, com alguns microlitros do solvente de extração (apolar, imiscível com água e tipicamente mais denso que a água), e um pequeno volume do solvente de dispersão (um solvente orgânico miscível com água). Assim, existem duas fases em equilíbrio: uma fase constituída pelo solvente de extração apolar e que pode conter pequenas quantidades do solvente de dispersão e outra fase aquosa na qual está dissolvido o solvente de dispersão (ALVES, 2010).

### 3.3 MICROEXTRAÇÃO EM GOTA ÚNICA

No ano de 1996 a SDME foi descrita por Jeannot e Cantwell. A técnica foi desenvolvida partindo da utilização de uma microgota de solvente orgânico imiscível em água que fora acomodada na parte final de um dispositivo de politetrafluoretileno (PTFE), sendo então imerso na solução contendo a amostra. Após a extração sob agitação, o dispositivo era retirado da amostra e a fase orgânica injetada no cromatógrafo a gás (JEANNOT; CANTWELL, 1996).

A metodologia utilizada na SDME foi atualizada, o suporte de PTFE foi substituído por uma microsseringa, que tem como função acoplar a fase orgânica suspensa na ponta da agulha e que, posteriormente, passara a ser imersa em uma solução amostra (CARLOS et al., 2013).

A SDME traz como principais modos de operação a extração direta e a extração no *headspace*. A Figura 02 ilustra os dois modos de extração. No modo de extração direta, a microgota, que é a fase extratora, é inserida diretamente na matriz da amostra e os analitos são transportados para a fase extratora (OLIVEIRA et al., 2008). No modo *headspace* (HS), a gota é suspensa na região sobre a amostra, contida em um frasco de amostragem, onde os analitos são transportados através da barreira de ar antes de atingirem a gota. Este modo de extração pode ser aplicado para a extração de analitos que possam ser volatilizados (KE et al., 2014). Em ambos os modos faz-se necessária à utilização de um agitador mecânico que é empregado para acelerar o transporte dos analitos do meio da solução para a gota (OLIVEIRA et al., 2008).

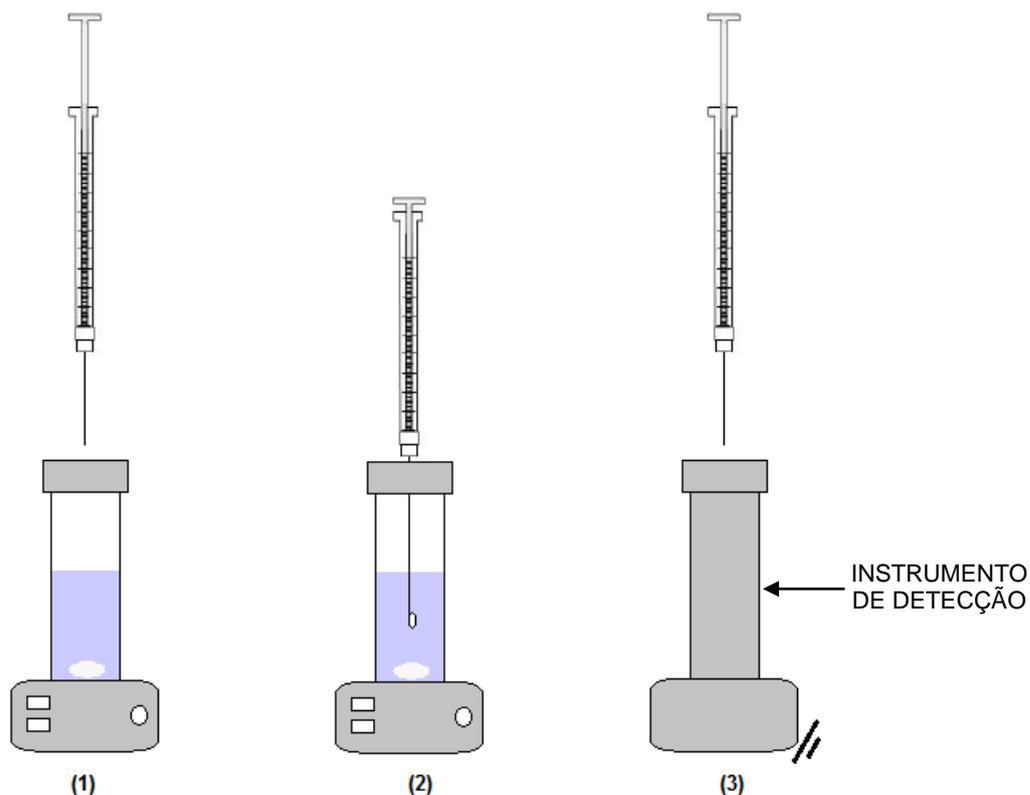


**Figura 02: Desenho esquemático demonstrando os modos de extração em SDME: (a) extração direta, (b) extração no *headspace*.  
Fonte: Autoria própria.**

Na literatura são encontrados trabalhos que relatam a vasta utilização do modo de extração direta na determinação de análises traços de contaminantes em água (CARLOS et al., 2013; MALTEZ, 2007).

O modo de extração direta é realizado em dois passos, no primeiro passo, a seringa, com uma quantidade pré-estabelecida de solvente orgânico, é transferida para a matriz da amostra onde os analitos serão extraídos por via da microgota formada na ponta da agulha. Em um segundo passo, os analitos extraídos pela gota são injetados no instrumento para a detecção dos analitos, tais instrumentos tem a finalidade de identificar e quantificar estes analitos. Uma ilustração de ambos os passos pode ser observada na Figura 03.

A SDME, assim como em outras técnicas, traz consigo fatores experimentais que afetam a eficiência de extração e devem ser otimizados, entre os principais fatores, encontram-se: instabilidade da gota e a sua alta sensibilidade (CARLOS et al., 2013).



**Figura 03: Desenho esquemático demonstrando as etapas de amostragem em SDME no modo de extração direta. (1) agulha perfura o septo do frasco contendo a amostra, (2) a gota é exposta diretamente na matriz da amostra e os analitos são sorvidos, (3) a gota é retraída para dentro da seringa e o extrato é injetado no instrumento de detecção.**

Fonte: Autoria própria.

### 3.4 CROMATOGRAFIA GASOSA

O termo cromatografia foi primeiramente utilizado pelo botânico russo Michael Tswett no ano de 1903. Michael apresentou um trabalho à Sociedade de Ciência de Varsóvia, no qual descreveu os resultados preliminares de suas pesquisas com extratos de folhas, utilizando uma coluna de vidro recheado com carbonato de cálcio, separando os constituintes do extrato da passagem de éter dietílico. Após a primeira utilização da cromatografia muitos modos de realizar esta técnica foram estudados, modos estes que vão desde a cromatografia gasosa a cromatografia líquida (COLLINS, 2006).

Atualmente a cromatografia gasosa (GC, do inglês *gas chromatography*) é grandemente utilizada em análises químicas modernas no que diz respeito à separação, identificação e quantificação de espécies químicas. A popularidade da GC é baseada em sua favorável combinação de alta seletividade e resolução, boa precisão, ampla faixa de concentração analisável e alta sensibilidade (SANTOS; GALCERAN, 2002; WU et al., 2015)

A GC é uma técnica muito eficiente com alta resolução e é largamente utilizado para a determinação de resíduos de pesticidas, especialmente com detecção por espectrometria de massa (MS, do inglês *mass spectrometry*) e de detecção por captura de elétrons (ECD, inglês *Electron Capture Detection*). Esta técnica é amplamente utilizada por conta de sua alta seletividade (FIGUEIREDO; CHIAVELLI; COSTA, 2013; KE et al., 2014; ROSA; SARCINELLI, 2008).

A combinação da cromatografia gasosa com a espectrometria de massas (GC/MS, do inglês *gas chromatography/mass spectrometry*) é relativamente simples, uma vez que as características de funcionamento do cromatógrafo a gás são suficientemente compatíveis com a necessidade de alto vácuo do espectrômetro de massas (CHIARADIA; COLLINS; JARDIM, 2008).

Dois métodos de operação são apontados na GC-MS, o monitoramento seletivo de íons (SIM, do inglês *Selected-Ion Monitoring*) e o espectrometro de massas total em determinada faixa de massas (SCAN, cuja tradução do inglês é *varredura*). O modo SCAN apresenta uma coleta de dados em uma extensa faixa, fornecendo assim resultados quantitativos insatisfatórios. Neste modo a aquisição de dados é obtida em um espaço de tempo muito grande. Já o modo SIM, por sua vez, traz como característica principal a coleta de dados em valores específicos, com a opção de trabalhar em faixas específicas, trazendo ao pesquisador melhores resultados qualitativos, além de contar com mais agilidade (ALVES et al., 2012).

Diversos trabalhos são encontrados da literatura trazendo como resultados a eficiência de tal técnica tanto para identificação quanto para quantificação de substâncias de interesse (ALVES et al., 2012; CALDAS et al., 2011; CARLOS et al., 2013; CHIARADIA; COLLINS; JARDIM, 2008; KE et al., 2014; WU et al., 2015).

### 3.5 PESTICIDAS ORGANOCLORADOS

Nas décadas de 50 e 60 os pesticidas organoclorados foram amplamente utilizados na agricultura, e no controle de epidemiológicos de doenças endêmicas. A partir da década de 70 os organoclorados começaram a ser banidos na maioria dos países desenvolvidos ou ter seu uso restrito a campanhas de saúde pública, como é o caso da Índia até os dias de hoje. No Brasil, foram proibidos na agricultura em 1985, e utilizados para o combate a epidemiológicos até a década de 90 (ROSA; SARCINELLI, 2008; WU et al., 2015).

Dentre os pesticidas organoclorados mais encontrados em análises realizadas em diversas localidades destacam-se os pesticidas BHC (Hexaclorociclohexano), DDT (Diclorodifeniltricloroetano), Aldrin e o Dieldrin (CETESB, 2012), cujas estruturas estão representadas na Figura 04.

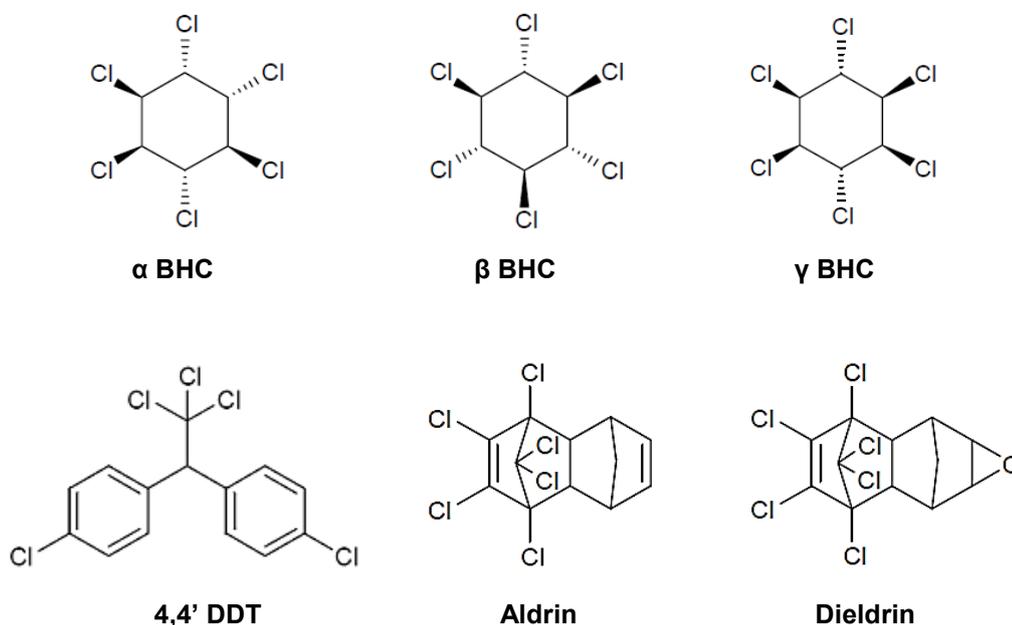


Figura 04: Estrutura dos Organoclorados de Interesse.

O organoclorado BHC (hexacloroeto de benzeno) foi sintetizado pela primeira vez em 1825 e foi muito utilizado entre as décadas de 1940 e 1980. Tal pesticida

corresponde a uma mistura de isômeros, os principais são  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ . O  $\alpha$ -BHC é moderadamente persistente no solo e na água, principalmente em regiões frias. O  $\beta$ -BHC é suscetível à biodegradação e possui baixo potencial de lixiviação. O  $\gamma$ -BHC ou lindano é facilmente bioacumulado na cadeia alimentar devido a sua alta solubilidade em lipídios (CETESB, 2014).

Diclorodifeniltricloroetano (DDT) é o nome comum de 1,1,1-tricloro-2,2-di-(4-clorofenil)etano. Compreendendo uma mistura de até 14 compostos, com ingrediente ativo p,p'-DDT. Os outros compostos incluem o,p'-DDT, p,p'-DDD e o,o'-DDT. Este se degrada facilmente em dichlorodiphenyldichloroethane (DDD) e dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE), que são mais persistentes do que o composto progenitor (KANG; CHANG, 2011).

O pesticida Aldrin foi sintetizado pela primeira vez em 1948 e usado nas décadas de 50 e 70 nas culturas de algodão e milho. Este pesticida se degrada facilmente para Dieldrin. Na maioria dos países, eles são proibidos no uso agrícola e severamente restrito em aplicações não-agrícolas. (CETESB, 2012; KANG; CHANG, 2011).

Os subprodutos desses pesticidas de interesse podem permanecer em níveis relativamente nocivos para o consumo humano, apresentando alta toxicidade com valores DL50 variando entre 10-50 mg kg<sup>-1</sup> (CETESB, 2012).

### 3.5.1 POLUIÇÃO DE ÁGUAS URBANAS

Com o intuito de combaterem pragas agrícolas que alastravam plantações, agricultores, das mais diversas localidades, iniciaram o uso de produtos químicos em suas propriedades, sem conhecimento dos possíveis malefícios que tais produtos poderiam gerar. Esses produtos, conhecidos como pesticidas, trouxeram além da redução das pragas agrícolas um considerável índice de doenças para homens e animais. No Brasil, década de 90, visando à diminuição de tais problemas, foi realizada uma proibição quanto ao uso dos pesticidas. Porém, mesmo havendo um controle quanto ao seu uso ainda são encontrados vestígios em alguns locais, tal fato é observado por conta de dois importantes motivos, o primeiro é caracterizado

pela permanência ativa dos agrotóxicos no meio ambiente por longo período de tempo e o segundo por ainda existir o uso clandestino destes (FLORES et al. 2004).

Ao aplicarem compostos para fins agrícolas uma quantidade importante destes atinge rios, lagos, aquíferos e oceanos das mais variadas formas. As principais fontes de contaminação aquática são dadas pela aplicação direta à superfície aquática e sobre as superfícies inclinadas, carreamento de partículas de solos tratados com agrotóxicos pelas águas das chuvas e ainda pela prática de lavar equipamentos de aplicação e embalagens, jogando restos de agrotóxicos nas águas, um modo de contaminação direta do meio ambiente e que atinge a população em geral. Na vertente poluição ambiental a água trabalha como transportadora eficiente de agrotóxicos de um lugar para o outro, sendo ela capaz de levar a contaminação para locais muito distantes (ALVES, 2010).

Nas cidades onde a economia está voltada pra agricultura existe uma grande necessidade de se realizar monitoramentos quanto à taxa de agrotóxicos encontrados nas águas da região. Este quadro é observado na cidade de Apucarana por ser uma das cidades do Paraná onde a economia local está concentrada na agricultura, com cerca de 20.763 ha de lavoura temporária e 12.425 ha de lavoura permanente, com base principal nas culturas de soja, milho, trigo, café e cana-de-açúcar. A cidade de Apucarana possui área territorial de 555,395 km<sup>2</sup>, localizada na região centro-norte do estado do Paraná (microrregião Norte Central do estado, a 362,7km da capital). Situada a uma altitude de 820 m acima do nível do mar, latitude 23°33'03" sul e longitude 51°27'39" oeste. Na cidade são encontrados córregos, lagos e rios (IPARDES, 2013).

O Parque da Raposa, pertencente ao município de Apucarana, é uma área de conservação e preservação ambiental, sendo integrado por um lago que recuperou os rios São Carlos, Ouro Fino e Raposa e as áreas de florestas que completam 290 ha, na Gleba Três Bocas e parte na Gleba Fazenda Gaúcha. O parque esta localizado na Gleba do Schmidt, região Norte da cidade a uma distância de aproximadamente 8 km do centro da cidade (APUCARANA, 2012).

Todos os corpos hídricos da bacia do Tibagi, no qual se encontra o lago do Parque da Raposa, são enquadrados na classe 2 da Resolução CONAMA nº 357 de acordo com o Comitê de Bacias Hidrográficas (CBH – PARANAPANEMA, 2012; CONAMA, 2015).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 PADRÃO E REAGENTES

Os reagentes utilizados durante a realização de todas as análises foram de grau HPLC. O padrão dos pesticidas organoclorados utilizado foi o Mix EPA 8080, da Sigma-Aldrich, contendo  $\alpha$ -BHC,  $\beta$ -BHC,  $\gamma$ -BHC,  $\delta$ -BHC, Heptacloro, Heptacloro epóxido, Aldrin, Dieldrin, Endrin, Endosulfan I, Endosulfan II, 4,4'DDE, 4,4'DDD, 4,4'DDT, Endrin aldeído, Endosulfan sulfato, nas concentrações de 250 ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ); e metoxicloro, na concentração de 1000 ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Foram preparados dois tipos de soluções, as soluções estoque, contendo os pesticidas organoclorados em acetona, e a partir destas as soluções de trabalho, que foram preparadas também em acetona, em ambas as soluções a acetona utilizada foi a de grau HPLC da Sigma-Aldrich. As soluções foram armazenados sob refrigeração a - 10 °C.

### 4.2 AMOSTRAGEM

As amostras foram coletadas mensalmente, durante o período de agosto do ano de 2013 a outubro de 2014, no Parque da Raposa no município de Apucarana. Durante as coletas foram utilizados dois tipos de frascos. Para as análises físico-químicas e de pesticidas a água coletada foi armazenada em frascos de polietileno de 1,0 L e 0,5 L (limpos conforme a NBR 9898,1987) e para as análises microbiológicas os frascos utilizados foram de borossilicato com capacidade para 250 mL que previamente foram esterilizados em auto-clave. Com o intuito de conservar as amostras as mesmas permaneceram armazenadas em geladeira a uma temperatura de 4°C.

O ponto em que as coletas foram realizadas foi selecionado por se tratar de uma área de lazer de contato secundário com a água. O ponto de interesse é ilustrado na Figura 05, e possui a seguinte localização: S 23.53346° W 51.40932°.



**Figura 05: Ponto de coleta de amostras de águas para monitoramento.**  
**Fonte: GOOGLE EARTH, 2015.**

### 4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Foram realizadas análises físico-químicas nas amostras coletadas no Parque da Raposa com o intuito de verificar a eficiência das metodologias e também com o interesse de analisar a qualidade da água desta região.

As análises físico-químicas selecionadas foram pH, cloreto, nitrito e amônia que serão realizadas de acordo com APHA (2012). E o teor de nitrato foi estimado de acordo com EPA (1971). Todas foram realizadas em triplicata.

#### 4.4 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

A técnica utilizada foi a de Número Mais Provável (NMP), que consiste num método que permite estimar a densidade de microrganismos viáveis presentes em uma amostra sob análise. Esta técnica não permite a contagem de células viáveis ou de unidades formadoras de colônias (UFC), como acontece com a técnica de contagem em placas.

A técnica de NMP foi realizada incluindo as seguintes etapas: teste presuntivo (leitura dos resultados obtidos na série de tubos múltiplos); teste confirmatório para coliformes totais e coliformes termotolerantes (subcultivo dos tubos positivos do teste presuntivo em caldo de maior impediência) (APHA, 2012).

#### 4.5 MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA (DLLME)

Foram utilizados solventes de extração e dispersão, indicados como de melhor eficiência pela literatura, considerando o custo acessível para a aplicação da metodologia.

Em virtude da solubilidade dos solventes as amostras foram mantidas em banho de gelo durante os processos que serão descritos a seguir.

Inicialmente uma alíquota de 5 mL da amostra foi transferida para um tubo de falcon, em seguida esta amostra aquosa contendo os analitos foi fortificada com 50 µL do padrão de pesticida, com concentração de 1 µg mL<sup>-1</sup>, posteriormente foi adicionado 50 µL do solvente extrator, neste caso o clorofórmio, e logo em seguida foi realizada uma injeção rápida de 1 mL do solvente dispersor, acetona. Nesta etapa o solvente extrator é disperso na fase aquosa em gotas muito finas extraíndo os analitos. Concluída a microextração os tubos contendo as soluções turvadas foram levados para uma centrífuga de tubos Quimis – Q222TM -16, em uma rotação de 3.000 rpm, pelo período de 3 minutos com o intuito de sedimentar o solvente extrator, que por sua vez é imiscível em água. Devido à grande área superficial entre o solvente extrator e a amostra, o equilíbrio foi atingido rapidamente e a extração foi

independente do tempo, sendo esta a principal vantagem deste método (MARTINS et al., 2012).

#### 4.6 MICROEXTRAÇÃO EM GOTA ÚNICA (SDME)

O método de extração direto otimizado e validado por Soares et al. (2014) constituiu em adicionar 18 mL da amostra coletada em um frasco de vidro com capacidade de 22 mL com tampa de PTFE e septo de silicone. Esta amostra foi fortificada com 50 µL do padrão de pesticida. No frasco com 10 centímetros de altura e 2 centímetros de diâmetro, a altura da coluna de água foi de 6,5 centímetros. Uma microseringa com capacidade para 10 µL e com agulha de aço (701 RN, Hamilton, USA) contendo hexano foi introduzida no frasco e a ponta da agulha mergulhada na amostra aquosa em 4,0 centímetros de profundidade. O êmbolo foi empurrado lentamente expondo a microgota na solução. Uma microgota de 1,6 µL foi mantida em contato com a amostra sob agitação de 155 rpm, num agitador magnético Quimis - Q221M, durante 30 minutos a 17 °C. Após a extração a gota foi recolhida e 1,0 µL foi injetado em um cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massa (Shimadzu GC-2010 Plus). Antes de cada extração a microseringa foi lavada com solvente extrator para garantir limpeza completa e eliminação de bolhas de ar (SOARES et al., 2014).

#### 4.7 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

As análises foram realizadas utilizando um cromatógrafo a gás GC acoplado a um espectrômetro de massas, equipado com injetor modelo *Split-splitless* e analisador de massas (Shimadzu GC-2010 Plus).

Para a separação cromatográfica foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida, modelo Rtx-5MS (Restek), com fase estacionária de polidimetilsiloxano com 5% de fenila com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro e 0,25 µm de

espessura do filme. O gás de arraste utilizado foi o hélio com teor de pureza de 99,999% a um fluxo constante de  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ .

As condições cromatográficas de otimização foram: temperatura de injeção igual a  $280 \text{ }^\circ\text{C}$ ; temperatura da coluna de  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  por 1 minuto, com rampa de aquecimento de  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  por minuto até  $190 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  por minuto até  $225 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $2 \text{ }^\circ\text{C}$  por minuto até  $240 \text{ }^\circ\text{C}$ , e  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  por minuto até atingir  $280 \text{ }^\circ\text{C}$ , mantido por 1 minuto, e temperatura do detector a  $280 \text{ }^\circ\text{C}$ . O volume injetado foi de  $1,0 \text{ } \mu\text{L}$  para ambas as microextrações (DLLME e SDME) no modo splitless, com vazão do gás de arraste (hélio) de  $1,32 \text{ (mL min}^{-1}\text{)}$ . O modo de operação utilizado durante as análises cromatográficas foi o modo SIM (do inglês, *selected ion monitoring*). O modo de ionização corresponde a ionização por impacto de elétron (IE), com voltagem em  $70 \text{ eV}$  e corrente de emissão de  $60 \text{ } \mu\text{A}$ , a temperatura de ionização correspondeu a  $200 \text{ }^\circ\text{C}$  e temperatura de interface de  $280 \text{ }^\circ\text{C}$ .

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Os dados obtidos através das análises físico-químicas podem ser observados nas Tabelas 1 e 2, nelas são expostos os valores de amônia, nitrato, nitrito, cloreto e pH.

Para o parâmetro de amônia (0,000 – 0,335 ppm), observa-se que essas concentrações estão dentro dos valores permitidos pela Resolução nº 357 do CONAMA para classe 2 de águas doces, que permite concentrações inferiores a 0,5 ppm.

As concentrações de nitrito obtidas variaram de 0,0000 - 0,0076 ppm. Tais resultados correspondem a valores aceitáveis de acordo com o limite previamente definido pela Resolução nº 357 que especifica que os valores de nitrato não podem exceder o limite de 1 ppm (CONAMA, 2015; ENRICH-PRAST, 2006).

Esta mesma resolução preconiza que o valor máximo permitido do produto da oxidação biológica do nitrito, o nitrato, é de 10 ppm o que contraria o valor obtido na análise da amostra coletada no dia 25 de março de 2014 que traz como resultado o valor de 14,672 ppm, demonstrando uma possível contaminação na amostra.

É válido ressaltar que os compostos nitrogenados, tais como amônia, nitrato e nitrito em análise de água referem-se à poluição provocada pela ação de esgoto industrial e doméstico (CETESB, 2015).

**Tabela 1** - Dados obtidos nas análises físico-químicas de compostos nitrogenados, sendo eles amônia, nitrito e nitrato.

Amostra	Amônia (ppm)	Nitrito (ppm)	Nitrato (ppm)
13/08/2013	0,335	0,0017	1,486
28/10/2013	0,000	0,0000	3,060
26/11/2013	0,000	0,0015	2,545
09/12/2013	0,076	0,0052	2,733
29/01/2014	0,080	0,0029	0,000
17/02/2014	0,000	0,0076	2,726
25/03/2014	0,047	0,0006	14,672
17/04/2014	0,047	0,0013	1,343
28/06/2014	0,000	0,0014	4,352
30/08/2014	0,000	0,0022	0,000
12/10/2014	0,000	0,0001	1,745

Os valores obtidos para as análises de cloreto, representados na Tabela 2, estão entre os valores de 3,3762 a 8,088 mg L<sup>-1</sup>, valores estes que correspondem ao valor estipulado pela resolução nº 357 do CONAMA que definiu como aceitáveis os valores inferiores a 250 mg L<sup>-1</sup>.

Os valores de pH das amostras analisadas estão entre 6,7 a 8,9, estando portanto dentro da faixa ideal estabelecida pelo CONAMA, faixa esta que varia de 6,0 a 9,0 (CONAMA, 2015).

**Tabela 2** - Dados obtidos nas análises físico-químicas de cloreto, e pH.

<b>Amostra</b>	<b>Cloreto (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>pH</b>
13/08/2013	8,0888	7,89
28/10/2013	4,1295	7,38
26/11/2013	4,2683	7,5
09/12/2013	7,3536	8,9
29/01/2014	6,8754	7,79
17/02/2014	5,9843	7,43
25/03/2014	4,6422	7,2
17/04/2014	6,7523	7,17
28/06/2014	5,1976	6,9
30/08/2014	5,9083	7,2
12/10/2014	3,3762	6,7

## 5.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Os resultados encontrados nas análises microbiológicas são representados na Tabela 3. Tais valores possuem a função de demonstrarem o grau de contaminação do ambiente. Segundo a Resolução nº 357 do CONAMA os valores de Coliformes não devem exceder o limite de 200 UFC por 100 mL em pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano (CONAMA, 2015).

Na amostra coletada no dia 09 de dezembro do ano de 2013 é possível observar que o nível de coliforme excedeu o valor estabelecido, o valor obtido foi de 240 UFC por 100 mL, demonstrando assim que no período em que a amostra foi coletada as águas do Parque da Raposa estavam contaminadas.

**Tabela 3** - Dados obtidos nas análises microbiológicas.

Data da coleta da amostra	Coliformes Totais (UFC 100 mL <sup>-1</sup> )	Coliformes Termotolerantes (UFC 100 mL <sup>-1</sup> )
13/08/2013	23	< 3,0
28/10/2013	150	9,2
26/11/2013	43	43
09/12/2013	240	15
29/01/2014	75	7,4
17/02/2014	150	3,6
25/03/2014	75	43
17/04/2014	*	*
28/06/2014	*	*
30/08/2014	*	*
12/10/2014	< 3,0	< 3,0

\* As análises não foram realizadas

### 5.3 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS PESTICIDAS PARA AS MICROEXTRAÇÕES REALIZADAS PELO MÉTODO DE DLLME

Para realização da identificação e quantificação dos pesticidas pelo método de DLLME os parâmetros instrumentais do cromatógrafo a gás GC acoplado a um espectrômetro de massas foram otimizados, e partindo do modo SCAN ou TIC, foi possível estabelecer as principais razões massa/carga ( $m/z$ ) para cada composto organoclorado presente no mix padrão. O modo SIM foi aplicado a fim de garantir a seletividade do método, garantindo que o pico de resposta correspondesse ao composto de interesse, eliminando ao máximo a interferência de outros compostos de propriedades similares, impurezas e produtos de degradação. Caso a seletividade não fosse assegurada, a linearidade, a exatidão e precisão da análise estariam comprometidas. A razão  $m/z$  selecionadas para o modo SIM e os tempos de retenção para os compostos de interesse estão presentes na Tabela 4.

A quantificação dos pesticidas de interesse ocorreu por meio das curvas de calibração (Anexo A), que apresentaram coeficiente de correlação linear na faixa de 0,9901 – 0,9961, estando de acordo com a recomendação da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), com os valores acima de 0,99 (Tabela 5) (ANVISA, 2015). Este parâmetro estima a qualidade da curva, logo, a linearidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração do analito. A curva de calibração também possibilitou definir a faixa de aplicação, correspondendo ao

intervalo superior e inferior da substância analisada, atendendo a garantia da qualidade, neste caso a faixa de concentração do padrão utilizado foi o intervalo de 0 – 100 µg L<sup>-1</sup>.

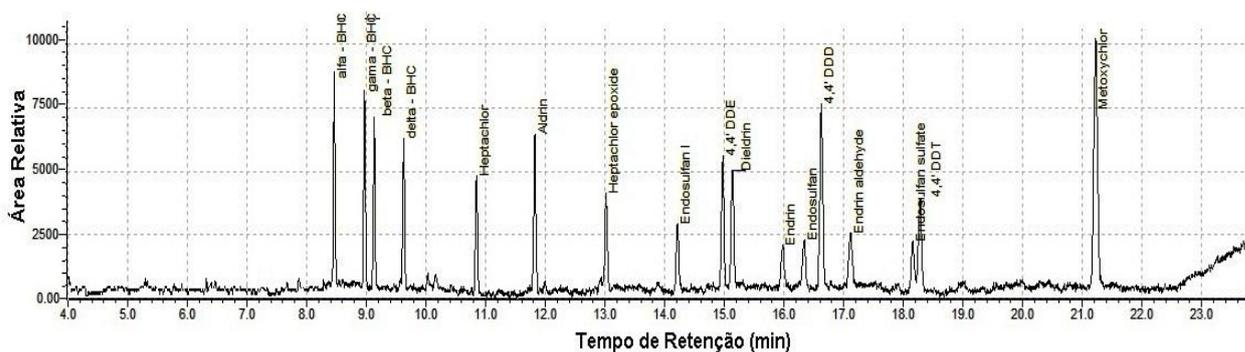
**Tabela 4** - Relação massa/carga e tempos de retenção dos compostos organoclorados

Composto	Relação m/z	Tempo de retenção (min.)
α-BHC	181; 217; 219	8,513
β-BHC	109; 181; 219	9,025
γ-BHC	109; 181; 219	9,186
δ-BHC	181; 217; 219	9,685
Heptacloro	65; 100; 272	10,911
Aldrin	65; 66; 263	11,895
Heptacloro epóxido	239; 351; 353	13,095
Endosulfan I	160; 195; 241	14,299
4,4' DDE	176; 247; 318	15,061
Dieldrin	79; 108; 263	15,227
Endrin	108; 195; 263	16,076
Endosulfan II	160; 195; 241	16,427
4,4' DDD	165; 235; 237	16,728
Endrin aldeído	65; 247; 250	17,221
Endosulfan sulfato	239; 272; 387	18,270
4,4' DDT	165; 235; 239	18,395
Metoxicloro	195; 212; 227	21,351

**Tabela 5** - Equações da reta e os coeficientes de correlação linear (R<sup>2</sup>) dos compostos de interesse extraídos pelo método de DLLME

Composto	Equação da reta	R <sup>2</sup>
α BHC	y = 1660,6 x + 33569	0,9961
β BHC	y = 1768,6 x + 27432	0,9901
γ BHC	y = 1781,7 x + 7809.2	0,9935
4,4' DDT	y = 4619,1 x + 19096	0,9946
Aldrin	y = 3787,7 x + 16871	0,9918
Dieldrin	y = 4501,0 x + 11841	0,9974

A padronização do método DLLME foi realizada por meio da adição de padrão, ou fortificação, consistindo na adição de quantidade conhecida no padrão nas amostras de interesse. Neste caso foram adicionadas as amostras do mix padrão (EPA 8080) na concentração de 10 µg L<sup>-1</sup>, garantindo que todos os picos de interesse estivessem adequadamente separados, conforme pode ser observado na Figura 06, propiciando a identificação e posterior quantificação dos analitos.



**Figura 06: Cromatograma obtido da amostra branco, fortificada com  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  do padrão EPA 8080, por meio da DLLME**

A partir do método da microextração líquido-líquido dispersiva, não se observou nenhum dos pesticidas organoclorados de interesse nas amostras coletadas durante o monitoramento realizado, além do adicionado durante a fortificação.

#### 5.4 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS PESTICIDAS PARA AS MICROEXTRAÇÕES REALIZADAS PELO MÉTODO DE SDME

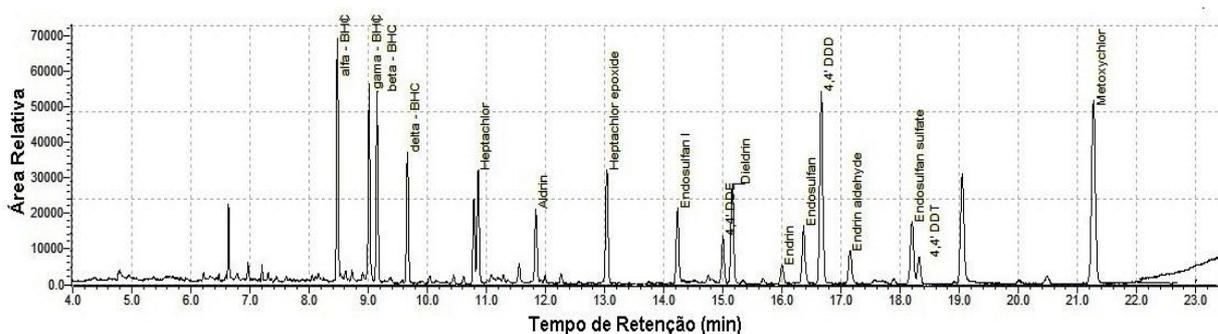
Para realização da identificação e quantificação dos pesticidas pelo método de SDME os parâmetros instrumentais utilizados foram os mesmos da DLLME e consecutivamente as razões massa/carga ( $m/z$ ) representadas na Tabela 4 foram as mesmas.

A quantificação dos pesticidas de interesse também ocorreu por meio das curvas de calibração (Anexo B), que apresentaram coeficiente de correlação linear na faixa de 0,9901 – 0,9946 (Tabela 6), também dentro dos padrões estipulados pela ANVISA (ANVISA, 2015). Da mesma forma citada na DLLME a faixa de concentração do padrão utilizado foi o intervalo de 0 –  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ .

**Tabela 6** - Equações da reta e os coeficientes de correlação linear ( $R^2$ ) dos compostos extraídos interesse pelo método de SDME

Composto	Equação da reta	R <sup>2</sup>
α BHC	$y = 9527,5x + 35687$	0,9903
β BHC	$y = 7282,3x + 34324$	0,9901
γ BHC	$y = 7567,2x + 64648$	0,9914
4,4' DDT	$y = 1148,8x + 8721,3$	0,9946
Aldrin	$y = 8310,3x - 19389$	0,9902
Dieldrin	$y = 6560,7x + 7532,5$	0,9926

A padronização do método SDME foi realizada por meio da adição de padrão, ou fortificação. Diferente da técnica citada anteriormente, a concentração do mix padrão (EPA 8080) utilizado neste método foi de 2,778  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Mesmo havendo uma diminuição significativa na concentração do padrão utilizada para a fortificação os picos de interesse foram separados adequadamente, conforme pode ser observado na cromatograma abaixo (Figura 07).



**Figura 07: Cromatograma obtido da amostra branco, fortificada com 2,778  $\mu\text{g L}^{-1}$  do padrão EPA 8080, por meio da SDME**

A partir do método SDME observou-se que houve a contaminação de algumas amostras por dois pesticidas, o Aldrin e o Dieldrin. O pesticida Aldrin apresentou concentrações superiores às adicionadas na fortificação nos meses de agosto, outubro e novembro de 2013 e em janeiro, fevereiro, março, abril, junho, agosto e outubro de 2014, o Dieldrin por sua vez no mês de agosto de 2013 e em março, abril e agosto de 2014.

As concentrações dos pesticidas organoclorado Aldrin e Dieldrin, representadas nas Tabelas 7 e 8, demonstram que tais valores encontram-se fora dos pré-estabelecidos na Resolução nº 357, que preconiza que a concentração da soma dos pesticidas Aldrin e Dieldrin não pode exceder o limite de 0,005  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

**Tabela 7** – Concentrações do pesticida organoclorado Aldrin quantificadas a partir método de SDME

<b>Data da coleta da amostra</b>	<b>Concentração de Aldrin Quantificada (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>
13/08/2013	2,801
28/10/2013	3,242
26/11/2013	2,902
09/12/2013	N.D.
29/01/2014	1,923
17/02/2014	2,081
25/03/2014	2,567
17/04/2014	2,787
28/06/2014	2,742
30/08/2014	2,962
12/10/2014	1,924
N.D.: Não detectado	

**Tabela 8** – Concentrações do pesticida organoclorado Dieldrin quantificadas a partir método de SDME

<b>Data da coleta da amostra</b>	<b>Concentração de Dieldrin Quantificada (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>
13/08/2013	2,409
28/10/2013	N.D.
26/11/2013	N.D.
09/12/2013	N.D.
29/01/2014	N.D.
17/02/2014	N.D.
25/03/2014	2,600
17/04/2014	1,978
28/06/2014	N.D.
30/08/2014	2,911
12/10/2014	N.D.
N.D.: Não detectado	

Para os demais compostos de interesse,  $\alpha$  BHC,  $\beta$  BHC,  $\gamma$  BHC e 4,4' DDT não foram encontrados nenhum indício de pesticida além do que foi adicionado na fortificação.

## 5.5 COMPARAÇÃO DAS TÉCNICAS DE DLLME E SDME

A técnica da microextração líquido-líquido dispersiva permitiu que o solvente extraísse os analitos sorvidos na amostra de maneira satisfatória e a preparação desta foi de fácil realização. No processo microextração em gota única o solvente também se mostrou eficiente no quesito de extração dos analitos, porém em alguns momentos gotas foram perdidas por conta de fatores como o deslocamento das mesmas do orifício da agulha, bolhas formadas devido à agitação e a perda por solubilidade do solvente, dificultando a realização da técnica.

Uma das desvantagens demonstradas na DLLME refere-se à possível contaminação acumulada no material do tubo utilizado, que por sua vez se tratava de polietileno com possíveis poros, pois foi possível quantificar que quando a microextração era realizada num tubo que já havia sido utilizado para esta mesma finalidade o resultado quantificado se mostrava superior ao obtido numa microextração com tubos novos. Já na realização da SDME o solvente em nenhum momento manteve contato com o frasco, sendo esta uma das vantagens da técnica.

Em relação à busca pela utilização de uma metodologia que faça uso de quantidades mínimas de solventes orgânicos, que são geralmente tóxicos, ambas atendem este quesito, mas a SDME se destaca por usar apenas 1,6  $\mu\text{L}$  de solvente enquanto a DLLME utiliza pouco mais de 1,0 mL.

Para uma melhor resolução dos picos de interesse a técnica de SDME se mostrou mais eficiente por utilizar uma concentração menor do mix padrão, sendo esta uma das maiores vantagens da utilização desta metodologia. É válido ressaltar que na SDME a concentração utilizada foi de 2,778  $\mu\text{L}$  enquanto na da DLLME 10  $\mu\text{L}$ , como citado anteriormente.

## 6 CONCLUSÃO

Analisando os resultados divergentes obtidos pelas técnicas de preparação de amostras abordadas neste trabalho, DLLME e SDME, conclui-se que a técnica SDME mostrou-se mais minuciosa na extração dos pesticidas organoclorados das amostras coletadas no Parque da Raposa, uma vez que, durante a quantificação por este método os pesticidas Aldrin e Dieldrin foram quantificados.

Avaliando a vertente ambiental, tais resultados expõem a necessidade de se ter uma maior fiscalização nesta área pelos responsáveis ambientais do município de Apucarana - PR, já que foram constatadas também não conformidades nas análises físico-químicas e microbiológicas.

Em relação à busca por métodos de extração que se utilize de quantidades mínimas de solventes orgânicos, que são geralmente tóxicos, tanto a DLLME quanto a SDME, demonstraram-se capazes de satisfazer tal necessidade, porém, para a as análises propostas, o método da SDME mostrou-se mais eficiente por se utilizar de quantidades ainda menores de solventes, comparadas a DLLME.

## REFERÊNCIAS

ALVES, A. A. R. et al. Comparison between GC-MS-SIM and GC-ECD for the Determination of Residues of Organochlorine and Organophosphorus Pesticides in Brazilian Citrus Essential Oils. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 2, p. 306-314, 2012.

ALVES, A. C. H. **Determinação de pesticidas em águas por microextração em fase líquida associada à cromatografia gasosa e espectrometria de massa**. 2010. 156 p. Dissertação apresentada na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, para a obtenção do grau de Mestre em Bioorgânica. Lisboa, 2010.

ANVISA, **Resolução RE nº 889, de 29 de maio de 2003**. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/4983b0004745975da005f43fbc4c6735/RE\\_899\\_2003\\_Determina+a+publica%C3%A7%C3%A3o+do+Guia+para+valida%C3%A7%C3%A3o+de+m%C3%A9todos+anal%C3%ADticos+e+bioanal%C3%ADticos.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/4983b0004745975da005f43fbc4c6735/RE_899_2003_Determina+a+publica%C3%A7%C3%A3o+do+Guia+para+valida%C3%A7%C3%A3o+de+m%C3%A9todos+anal%C3%ADticos+e+bioanal%C3%ADticos.pdf?MOD=AJPERES)>. Acesso em 15 mai. 2015.

APHA, American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 22th edition. American Public Health Association. Washington, 2012.

CALDAS, S.S. et al. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1604-1617, 2011.

CARLOS, E. A. et al. Simultaneous Determination of the Organochlorine and Pyrethroid Pesticides in Drinking Water by Single Drop Microextraction and Gas Chromatography. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 8, p. 1217-1227, 2013.

CETESB. **Divisão de Toxicologia, Genotoxicidade e Microbiologia Ambiental**. Aldrin e Dieldrin. Ficha de Informação Toxicológica. Janeiro de 2012.

CETESB. **Divisão de Toxicologia, Genotoxicidade e Microbiologia Ambiental**. Hexaclorociclohexanos. Ficha de Informação Toxicológica. Junho de 2014.

CETESB. **Variáveis de qualidade das águas**. Variáveis Químicas. Maio de 2015.

CHIARADIA, M. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. S. F. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química Nova**. v. 31, n. 3, p. 623-636, 2008.

COLLINS, C. H. Cem anos das palavras cromatografia e cromatograma. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 889-890, 2006.

CONAMA, **Resolução nº 357 de 17 de março de 2005**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em 15 mai. 2015.

EPA. **Método 3521**. Canadá: ALS Environmental – 1971. Disponível em: <<http://www.caslab.com/EPA-Methods/PDF/EPA-Method-3521.pdf>>. Acesso em: 05 out. 2014.

ENRICH-PRAST, A. Effect of pesticides on nitrification in aquatic sediment. **Brazilian Journal of a Biology**. v. 66. n. 2. p. 405-4012, 2006.

FERREIRA, V. F.; ROCHA, D. R.; SILVA, F. C. Química Verde, Economia Sustentável e Qualidade de Vida. **Revista Virtual de Química**. v. 6, n. 1, p. 85-111, 2014.

FIGUEIREDO, L.; CHIAVELLI, L.; COSTA, W. Determination of Concentration Levels of Organochlorine Pesticides in Water from the Mandacaru Stream in Maringá-Paraná-Brazil Employing Gas Chromatography- Mass Spectrometry. **Analytical Letters**. v. 46, n. 10, p. 1597-1606, 2013.

FLORES, A. V. et al. Organoclorados: um problema de saúde pública. **Ambiente & Sociedade**. v. 7, n. 2, p. 113 - 123, 2004.

GOOGLE EARTH. Servidor: <<http://kh.google.com>>. Versão 7.1.5.1557. Acesso em: 30 abr. 2015.

IPARDES, **Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social**. Caderno Estatístico Município de Apucarana - Dezembro de 2013. Disponível em: <<http://www.ipardes.gov.br/cadernos/Montapdf.php?Municipio=86800>>. Acesso em: 17 set. 2014.

JEANNOT, M. A.; CANTWELL, F. F. **Solvent microextraction into a single drop**. *Analytical Chemistry*, v. 68, n. 13, p. 2236 – 2240, 1996.

KANG, J.H.; CHANG, Y.S. **Organochlorine Pesticides in Human Serum, Pesticides – Strategies for Pesticides Analysis** – Julho de 2011. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/pesticides-strategies-for-pesticides-analysis/organochlorinepesticides-in-human-serum>>. Acesso em: 15 out. 2014.

KE, Y. et al. Comparison of fully-automated headspace single drop microextraction and headspace solid phase microextraction techniques for rapid analysis of N°. 6 solvent residues in edible oil. **Microchemical Journal**, v. 117, n. 1, p. 187–193, 2014.

MALTEZ, H. F. **Desenvolvimento de metodologias analíticas baseadas em sistemas de pré-concentração empregando extração em fase sólida e microextração com gota única para determinação de metais-traço em amostras aquosas ambientais**. 2007. 137 p. Dissertação apresentada na Universidade Federal de Santa, para a obtenção do Título de Doutor. Florianópolis, 2007.

MARTINS, M. L. et al. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): fundamentos e aplicações. **Scientia Chromatographica**, v.4, n. 1, p. 35-51, 2012.

MORALES, J. B. L. et al. Uso de plaguicidas en un valle agrícola tecnificado en el noroeste de México. **Revista Internacional de contaminación ambiental**. v. 30, n. 3, p 247-261, 2014

OLIVEIRA, A. R. M. et al. Microextração em fase líquida (LPME): Fundamentos da técnica e aplicações na análise de fármacos em fluidos biológicos. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 637-644, 2008.

PRADO, A. G. S. Química Verde, os desafios da Química no Novo Milênio. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 738-744, 2003.

REZAEI, M. et al. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**. v. 1116, n. 2, p. 1-9, 2006.

ROSA, A.C.S.; SARCINELLI, P.N. Monitoramento da exposição a organoclorados: uma revisão sobre análises em matrizes biológicas. **Caderno Saúde Coletiva**. v. 16 n. 4: p. 659-676, 2008.

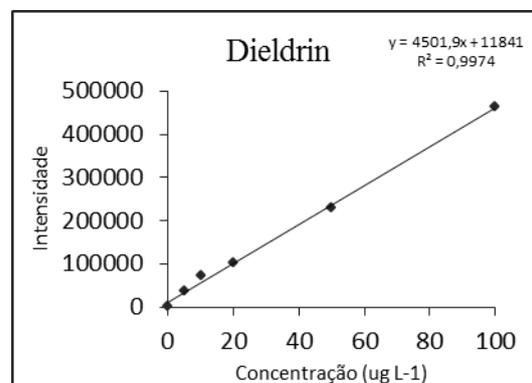
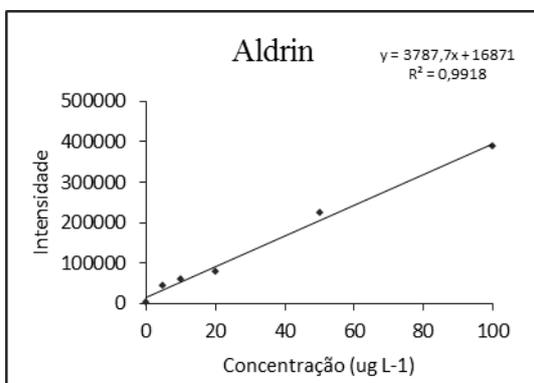
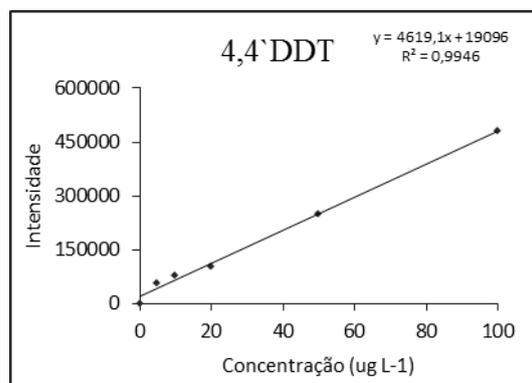
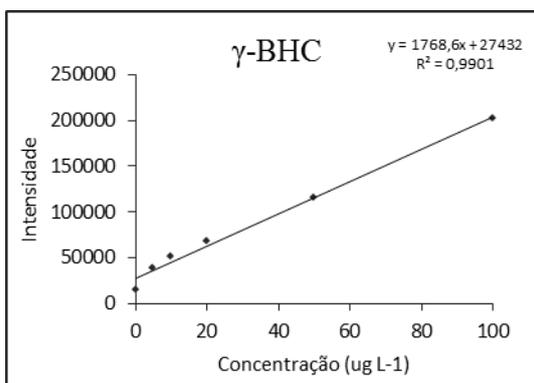
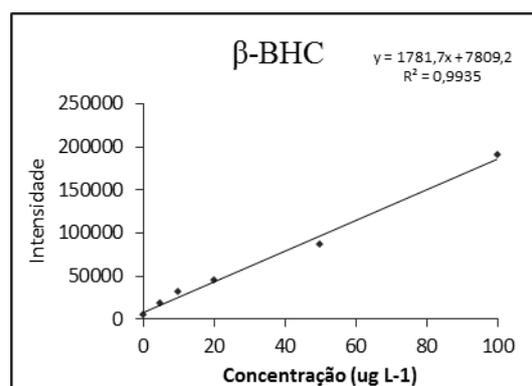
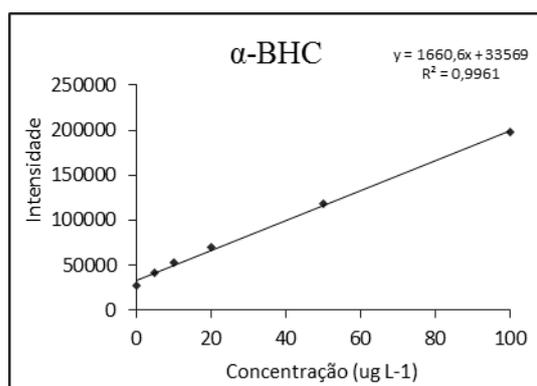
SANTOS F. J.; GALCERAN, M. T. The application of gas chromatography to environmental analysis. **Trend in Analytical Chemistry**, v. 21, n. 9, p. 672-685, 2002.

SOARES, C. E. S. et al. Single Drop Microextraction: a Sensitive Multiresidue Method for Determination of Pesticides in Water Using GC/ECD. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 11, p. 2016-2025, 2014.

WU, X. L. et al. Evaluation of Graphene for Dispersive Solid-Phase Extraction of Triazine and Neonicotine Pesticides from Environmental Water. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 26, n. 1, p. 131-139, 2015.

## ANEXOS

**ANEXO A** – Curvas de calibração dos pesticidas de interesse extraídos pelo método de DLLME.



**ANEXO B** – Curvas de calibração dos pesticidas de interesse extraídos pelo método de SDME.

