

**DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS EM ÁGUA USANDO MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA E CGAR-EM**

Fernando Carvalho Silva\* e Zenilda de Lourdes Cardeal

Departamento de Química - Universidade Federal de Minas Gerais - 31270-901 - Belo Horizonte - MG

Ciomara Rabelo de Carvalho

Laboratório de Análise Ambiental - Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais - 31170-000 - Belo Horizonte - MG

Recebido em 13/1/98; aceito em 21/7/98

**DETERMINATION OF ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDES IN WATER USING SPME-GC-MS.** Solid-phase microextraction (SPME) has been applied to direct extraction of 11 organophosphorus pesticides in water using a 100  $\mu\text{m}$  fiber polydimethylsiloxane. The method was evaluated with respect time of exposure, detection limits (LODs), linearity and precision. The detection limits ( $S/N = 3$ ) depend of each pesticide and varie about ng/L levels. The linearity was satisfactory with coefficients of correlation usually greater than 0.993. The precision of the method was determined by extraction from 4.0  $\mu\text{g/L}$  aqueous standard with coefficients of variation between 5.7 to 17.2%.

**Keywords:** organophosphorus pesticides; solid phase microextraction; GC-MS.

**INTRODUÇÃO**

Os pesticidas organofosforados constituem uma classe importante de inseticidas usados atualmente no combate a diversos tipos de pragas na agricultura. A aplicação indiscriminada no campo tem originado graves problemas ao meio ambiente. Entre eles, ressalta-se a contaminação dos mananciais usados no abastecimento de água potável das cidades. Embora estes pesticidas se degradem rapidamente em água, existe sempre a possibilidade de permanecerem resíduos e subprodutos, em níveis relativamente nocivos para o consumo humano. Eles apresentam uma alta toxicidade com os valores  $DL_{50}$  variando entre 10-50 mg/Kg e a sua ação tóxica no organismo se processa pela inibição da enzima colinesterase com conseqüente acúmulo de acetilcolina nas fibras nervosas, o que impede a transmissão de novos impulsos gerando uma série de efeitos no organismo tais como convulsões, paradas respiratórias e coma<sup>1</sup>. A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda como valor máximo permitido em água 0,1  $\mu\text{g/L}$  para cada pesticida e 0,5  $\mu\text{g/L}$  para o total de pesticidas<sup>2</sup>.

Em geral, os métodos usados na análise de resíduos de pesticidas em água exigem que se efetue previamente a extração e pré-concentração destes compostos. Os métodos oficiais utilizam técnicas analíticas de extração líquido-líquido (ELL) e extração por fase sólida (EFS). A ELL envolve grandes quantidades de solventes caros e tóxicos e elevados tempos de análise; já a EFS, embora apresente uma série de vantagens em relação à ELL, tem como desvantagens entupimento, falta de reprodutibilidade e a não reutilização dos cartuchos<sup>3</sup>.

Uma nova técnica de extração e pré-concentração, denominada microextração em fase sólida (MEFS) foi desenvolvida pelo grupo de Pawliszyn<sup>4</sup> a partir de 1989 e aplicada na extração de diversos grupos de analitos voláteis e semivoláteis em matrizes, tais como água, ar e solo. Esta técnica de extração apresenta uma série de vantagens com relação à simplicidade da amostragem, baixo custo, a não utilização de solventes, maior precisão, menor limite de detecção, reutilização da fibra e fácil automação<sup>5-8</sup>. Basicamente, este processo ocorre em duas etapas: na primeira etapa, uma fibra de sílica fundida coberta

com uma fase estacionária e adaptada em uma seringa é colocada em contato direto com amostra ou em "headspace" para efetuar a extração dos analitos. Em seguida a fibra é introduzida diretamente no injetor de um cromatógrafo a gás, onde os compostos são liberados termicamente e analisados. Pawliszyn e colaboradores em recentes publicações mostram a aplicação da MEFS no desenvolvimento de metodologias para análise de pesticidas organofosforados, herbicidas nitrogenados em águas e solos<sup>9-15</sup>.

A proposta deste trabalho foi a de desenvolver e avaliar um método para análise de vários pesticidas organofosforados em níveis de ppt em água, utilizando como técnica de extração e pré-concentração a microextração em fase sólida, seguida de análise por cromatografia gasosa de alta resolução usando um detector seletivo de massas.

**PARTE EXPERIMENTAL****Reagentes**

Utilizou-se uma mistura padrão EPA 8270 (Supelco, Bellefonte, USA) constituída pelos pesticidas O,O,O-Trietil fosforotioato, Tionazin, Sulfotepp, Forate, Dimetoato, Disulfoton, Paration Metílico, Paration Etfílico, Famphur e mais os pesticidas Etion e Diazinon (POLYSCIENCE, Niles, USA). A mistura padrão foi preparada em metanol grau HPLC (Carlo Erba, Roma, Itália) para uma concentração de 200,0 mg/L e as diluições feitas em água pura proveniente do sistema MILLI-Q (Millipore, São Paulo, Brasil).

**Aparelhagem**

As análises foram efetuadas usando um cromatógrafo a gás modelo Hewlett Packard 5890 serie II, equipado com um injetor com e sem divisão de fluxo (split/splitless) e um detector seletivo de massas HP modelo 5971 A com o multiplicador de elétrons à 2300 volts e operado no modo de monitoração de íons selecionados (SIM). A temperatura da linha de transferência e o tempo de não ionização (delay time) foram respectivamente 280°C e 5 min. O injetor sem divisão de fluxo (splitless) foi mantido a 240°C e a purga do divisor fechada por 5 min. Utilizou-se uma coluna capilar HP-5 de 30 m x 0,2 mm d. i. e 0,33  $\mu\text{m}$  de espessura do filme com a pressão na cabeça da

\* Endereço permanente: Departamento de Química - CT - Universidade Federal do Maranhão - 65080-040 - São Luís - MA

coluna de 15 psi e a seguinte programação de temperatura no forno: 50°C por 5 min, 20°C/min de 50 a 195°C, 5°C/min de 195 a 220°C, 10°C/min de 220 a 280°C mantendo por 2 min a 280°C. As amostras foram coletadas em frascos de 1L de cor âmbar com tampa de teflon, resfriadas entre 2-5°C e analisadas em 24 horas.

### Procedimento para a microextração em fase sólida (MEFS)

Efetou-se a microextração em fase sólida com uma seringa manual e fibras com a fase de polidimetilsiloxano com 100 µm de espessura (SUPELCO). Um agitador magnético Cimarec (Thermolyne) e barras magnéticas de teflon foram usados na agitação das amostras aquosas durante o processo de microextração.

A extração e pré-concentração dos pesticidas organofosforados foi feita usando o procedimento padrão de extração direta (Figura 1), onde a fibra é imersa na amostra aquosa por um determinado tempo. Em seguida os compostos extraídos são desorvidos termicamente dentro do injetor de um CG. As fibras novas foram condicionadas a 250°C por 3-4 horas no injetor do cromatógrafo antes da sua utilização. No processo de microextração utilizou-se um volume constante de 16,00 mL dos padrões e amostras em frascos tipo espaço confinado (headspace) de 20 mL com septos de borracha butílica faceados com teflon e sob agitação magnética. O tamanho da agulha foi de 2 cm, o tempo de extração foi de 25 minutos e o tempo de desorção térmica foi de 5 minutos para evitar efeito memória.

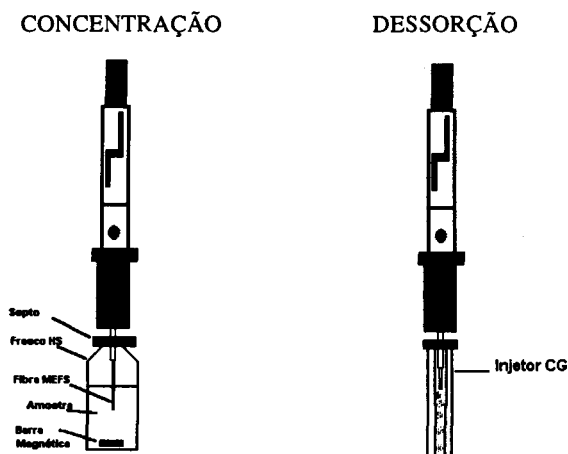


Figura 1. Ilustração do processo de concentração e desorção na microextração em fase sólida (MEFS).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Processo de Concentração

Durante a microextração, a partição dos pesticidas organofosforados entre a fase aquosa e a fase polimérica de polidimetilsiloxano se processa até que o equilíbrio seja obtido. A constante de equilíbrio de cada pesticida depende da maior ou menor solubilidade dos pesticidas na fibra. A Figura 2 mostra o estudo da otimização do tempo de extração usando um padrão de 1,60 ng/mL, onde se pode observar que para a maioria dos compostos o equilíbrio é alcançado após 60 min de extração. Como em MEFS não há a necessidade de se usar o tempo de equilíbrio desde que seja mantido o tempo de extração constante, o tempo determinado experimentalmente foi de 25 min, pois apresentou uma boa relação entre as áreas dos picos e um tempo de análise aceitável. O tempo de desorção e a profundidade da agulha também foram determinados experimentalmente verificando as intensidades das áreas dos picos com a mudança destes parâmetros.

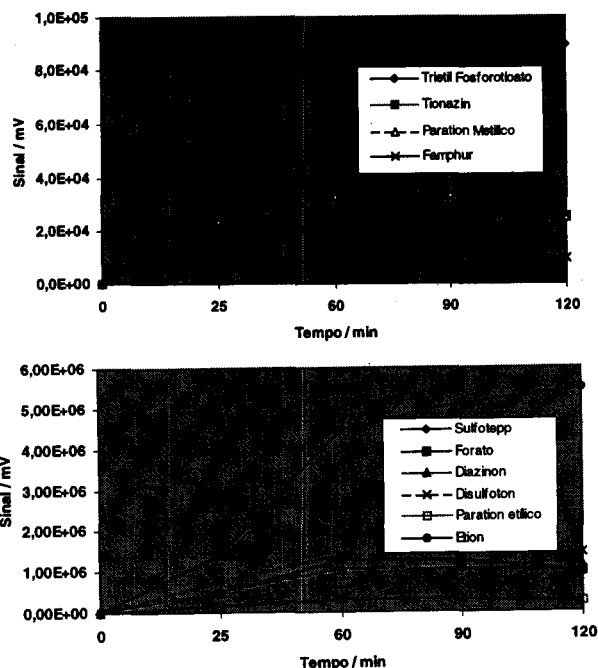


Figura 2. Gráficos referentes ao estudo do tempo de extração dos pesticidas organofosforados utilizando uma solução de 1,60 ng/mL.

O dimetoato apresentou problemas no processo de extração, provavelmente devido à sua alta solubilidade em água, que é em torno de 25 g/L<sup>16</sup>. Foram feitas algumas tentativas com solução saturada de NaCl para aumentar a recuperação do dimetoato através do aumento da força iônica da solução. Os resultados não mostraram grandes variações no índice de recuperação do dimetoato, entretanto, observou-se uma redução no número de reutilizações da fibra, o que se deve provavelmente a alta concentração do sal.

Soluções tampão<sup>17</sup> de glicina 0,1 mol/L, NaCl 0,1 mol/L, HCl 0,1 mol/L com pH 2 e ácido cítrico 0,1 mol/L e hidrogenofosfato dissódico 0,1 mol/L com pH 4 foram testadas no preparo dos padrões. Verificou-se que não houve uma mudança significativa no índice de recuperação dos pesticidas organofosforados pela variação do pH.

### Validação do Método

A determinação qualitativa dos pesticidas organofosforados foi realizada através da injeção de uma mistura padrão de 5,00 mg/L com o detector seletivo de massas no modo varredura (SCAN). Na análise quantitativa utilizou-se o detector de massas no modo monitoração de íons selecionados (SIM) para a construção das curvas de calibração dos pesticidas da mistura padrão. Na Tabela 1 encontram-se os tempos de retenção e os íons selecionados, sendo um deles como íon quantitativo e os outros dois como íons qualitativos.

A linearidade do método foi determinada usando padrões aquosos dos pesticidas organofosforados na faixa de concentração de 0,20 a 20,00 ng/mL. Na construção das curvas de calibração foram utilizados cinco pontos com as seguintes concentrações: 0,20; 0,50; 0,80; 4,00 e 20,00 ng/mL. A mistura padrão aquosa foi extraída e analisada por três vezes e calculou-se as equações de regressão e os coeficientes de correlação para cada pesticida, que se encontram relacionados na Tabela 2. Pode-se observar que a maioria dos coeficientes de correlação está acima de 0,999, mostrando que as equações são lineares e que é possível quantificar estes pesticidas por padronização externa. Fez-se através de um programa de Análise de Variância<sup>18</sup>, a validação dos modelos e a significância estatística das curvas de

**Tabela 1.** Tempos de retenção e íons quantitativos e qualitativos dos pesticidas organofosforados usados na monitoração de íons selecionados (SIM).

Picos	Tempo de Retenção(min)*	Compostos	Íons Quantitativos	Íons Qualitativos
1	6,90	Trietilfosforotioato	121	198
2	10,70	Tionazin	97	107, 248
3	11,40	Sulfotepp	322	97, 202
4	11,70	Forato	75	121, 260
5	12,10	Dimetoato	87	93, 125
6	12,70	Diazinon	137	152, 179
7	13,05	Disulfoton	88	89, 97
8	14,10	Paration Metílico	109	125, 263
9	15,30	Paration Etilico	291	97, 109
10	18,50	Etion	231	97, 153
11	19,00	Famphur	218	325

\* Tempos de retenção usado na monitoração dos íons selecionados

**Tabela 2.** Curvas de calibração e coeficientes de correlação dos pesticidas organofosforados.

Compostos	Equação de regressão	Coefficiente de Correlação (r)
Trietil Fosforotioato	$C = 1,8034 \times 10^{-5} A + 0,2564$	0,9997
Tionazin	$C = 1,5220 \times 10^{-4} A + 0,7930$	0,9966
Sulfotepp	$C = 2,4160 \times 10^{-6} A + 0,1115$	0,9999
Forato	$C = 1,5800 \times 10^{-6} A + 0,2472$	0,9999
Diazinon	$C = 3,6530 \times 10^{-6} A + 0,1635$	0,9999
Disulfoton	$C = 2,2380 \times 10^{-6} A + 0,1200$	0,9998
Paration Metílico	$C = 7,7310 \times 10^{-5} A + 0,4633$	0,9933
Paration Etilico	$C = 7,8000 \times 10^{-6} A + 0,2681$	0,9999
Etion	$C = 1,1000 \times 10^{-6} A + 0,3030$	0,9998

calibração de cada pesticida. Os resultados mostraram que não há evidências de falta de ajuste das curvas, ou seja, as razões das médias quadráticas ( $MQ_{faj}/MQ_{ep}$ ) é bem menor que o valor da distribuição F no nível de confiança de 95% ( $F_{v,faj,vep}$ ). Os altos valores da razão  $Mq_{reg}/MQ_r$  com relação ao  $F_{vreg, vr}$  e os erros relativamente pequenos indicam que as regressões são estatisticamente significativas. Os pesticidas dimetoato e o famphur não foram relacionados na Tabela 2, pois apresentaram variações significativas nas suas respostas impossibilitando a quantificação destes compostos. A precisão do método foi determinada extraindo e injetando por sete vezes consecutivas a mistura padrão aquosa de 4,00 ng/mL dos pesticidas organofosforados. Os valores de desvio padrão relativo (S%) calculados para os pesticidas se encontram entre 5,70 a 10,20%, exceção ao etion que apresenta o S% de 17,20. Na Tabela 3, estão relacionados os limites de detecção calculados por comparação da relação sinal-ruído (S/R) determinados com um padrão de 25,00 ng/L usando uma relação S/R igual a três (S/R=3).

Foram analisadas amostras de águas coletadas nos rios Paraopeba, Rio Serra Azul, Ribeirão Serra Azul, Ribeirão,

Córrego Barro Preto e Córrego Laranjo, que abastecem a cidade de Belo Horizonte e municípios vizinhos, pois próximo a estes rios encontram-se grandes plantações de hortaliças que utilizam vários pesticidas da nossa mistura padrão tais como diazinon, etion e forato. Tentou-se, inicialmente, determinar qualitativamente os compostos presentes nas amostras usando o detector de massas no modo varredura (scan). Neste modo de detecção a sensibilidade é limitada e não foi possível identificar os poucos compostos presentes nas amostras, visto que os íons apresentavam abundâncias relativamente baixas. Em seguida foram feitas as análises das amostras dos rios usando as curvas de calibração construídas para cada pesticida da mistura padrão com o detector de massas no modo monitoração de íons selecionados (SIM). Os resultados obtidos não evidenciaram a presença de resíduos ou subprodutos dos pesticidas organofosforados usados na mistura padrão nas amostras de água dos rios. Existem duas possibilidades para este resultado negativo: a primeira é que, devido ao controle da EMATER (BH) sobre o uso de pesticidas nesta região, os agricultores reduziram substancialmente a aplicação dos mesmos. A segunda, pode estar

**Tabela 3.** Precisão e limite de detecção dos pesticidas organofosforados após análise MEFS-CG-EM.

Nº. Pico	Tempo de Retenção (min)	Composto	Precisão (S%)	Limite de detecção (ng/mL)
1	7,00	Trietil Fosforotioato	6,70	0,018
2	10,87	Tionazin	10,00	0,020
3	11,64	Sulfotep	9,40	0,016
4	11,86	Phorate	11,20	0,015
5	12,32	Dimetoato	-	-
6	12,97	Diazinon	8,30	0,018
7	13,24	Disulfoton	9,40	0,019
8	14,36	Paration Metílico	10,20	0,020
9	15,54	Paration Etilico	5,70	0,020
10	18,75	Etion	17,20	0,008
11	19,24	Famphur	-	-

relacionada a degradação química (hidrólise<sup>19</sup>) destes pesticidas em água. Não foi constatado, também, efeitos significativos da matriz conforme cromatogramas apresentados na Figura 3 a-b, da mistura padrão (a) e da amostra do rio Serra Azul (b) contaminadas com 0,50 ng/mL.

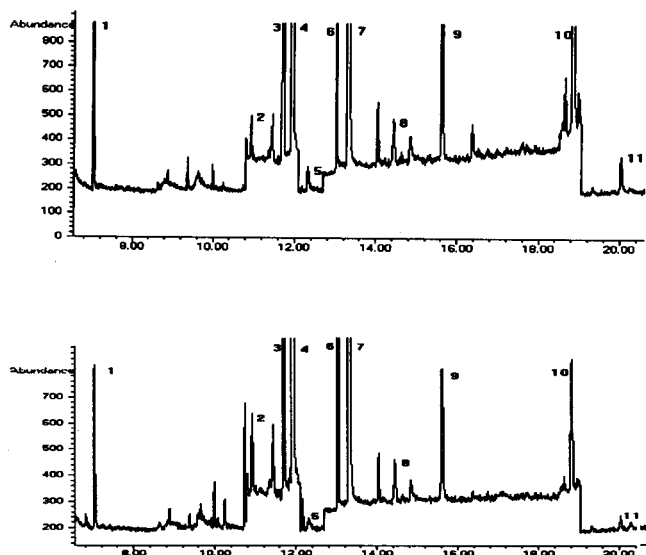


Figura 3. Cromatogramas dos 11 pesticidas organofosforados: (a) mistura padrão aquosa 0,5 ng/mL e (b) amostra do rio contaminada com 0,5 ng/mL de pesticidas organofosforados.

## CONCLUSÕES

A análise de pesticidas organofosforados em matrizes aquosas usando a técnica de extração de MEFS associada com CG-EM no modo íons selecionados (SIM) apresenta grandes vantagens em relação aos métodos tradicionais, tais como, a simplicidade da técnica de pré-concentração e extração, tempo de análise reduzido, fácil automação e a não utilização de solventes. O processo de validação para esta metodologia apresentou uma boa série de linearidade e precisão. Os limites de detecção em níveis de ppt são adequados aos valores estabelecidos pelas normas oficiais usadas no controle ambiental de pesticidas organofosforados. Caso seja necessário, existe a possibilidade de se aumentar a sensibilidade do método usando maiores quantidades de amostra ou aumentando o tempo de extração. Efeitos de matriz significativos não foram observados quando se efetuou a contaminação da amostra de água do rio Serra Azul com a mistura padrão dos pesticidas. Outra vantagem é que o

processo de extração via MEFS pode ser totalmente automatizado através de um amostrador automático, resultando em uma melhor precisão, além do que a automação permite a análise de um grande número de amostras.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG e CAPES pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

1. Environmental Health Criteria 63; *Organophosphorus Insecticides: A General Introduction*; World Health Organization; Geneva 1986; p 86.
2. Hatrík, S.; Tekel, J.; *J. Chromatogr.* **1996**, *733*, 217.
3. Arthur, C. L.; Potter, D. W.; Buchholz, K. D.; Motagh, S.; Pawliszyn, J.; *LC-GC* **1991**, *10*, 656.
4. Pawliszyn, J.; *Solid Phase Microextraction-Theory and Practice*; Wiley-VCH, Inc.; New York 1997.
5. Arthur, C. L.; Killam, L. M.; Motagh, S.; Lim, M.; Potter, D. W.; Pawliszyn, J.; *J. Environ. Sci. Technol.* **1992**, *26*, 979.
6. Arthur, C. L.; Pratt, K. M.; Motagh, S.; Pawliszyn, J.; *J. High Res. Chromatogr.* **1992**, *15*, 741.
7. Louch, D.; Motagh, S.; Pawliszyn, J.; *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 1187.
8. Pawliszyn, J.; *Trends Anal. Chem.* **1995**, *14*, 113.
9. Eisert, R.; Levsen, K.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1995**, *351*, 555.
10. Boyd-Boland, A. A.; Pawliszyn, J.; *J. Chromatogr.* **1995**, *704*, 163.
11. Shirey, E. R.; *J. High Resol. Chromatogr.* **1995**, *18*, 495.
12. Boyd-Boland, A. A.; Jinno, K.; Pawliszyn, J.; *J. Chromatogr.* **1996**, *736*, 219.
13. Young, R.; Lopez-Avila, V.; *J. High. Resol. Chromatogr.* **1996**, *19*, 247.
14. Boyd-Boland, A. A.; Magdic, S.; Pawliszyn, J.; *Analyst* **1996**, *121*, 929.
15. Górecki, T.; Mindrup, R.; Pawliszyn, J.; *Analyst* **1996**, *121*, 1381.
16. Worthing, R. C.; D. Phil, M. A.; *The Pesticide Manual : A World Compendium*; British Crop Protection Council; London 1990; p 298-299.
17. Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F.; Perrin, D. R.; *Purification of Laboratory Chemicals*; Pergamon Press, 1980; p 56.
18. Barros, N. B.; Scarmínio, S. I.; Bruns, E. R.; *Planejamento e Otimização de Experimentos*; Editora Unicamp; Campinas 1995.
19. Hong, F.; Pehkonen, S.; *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 1192.