

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**APLICAÇÃO DA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA  
NA PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS  
FENÓLICOS CLORADOS EM EFLUENTES DE  
BRANQUEAMENTO DE CELULOSE**

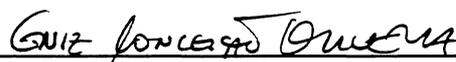
**ENIZ CONCEIÇÃO OLIVEIRA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química da  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul para a obtenção do Título de  
Mestre em Química

abril de 1999

INSTITUTO DE QUÍMICA  
BIBLIOTECA

O presente trabalho foi realizado entre março de 1997 e março de 1999, no Instituto de Química da UFRGS, sob a orientação da professora Doutora Elina Bastos Caramão e co-orientação da professora Doutora Maria do Carmo Ruaro Peralba, inteiramente pelo autor, salvo eventuais agradecimentos que apareçam no texto.

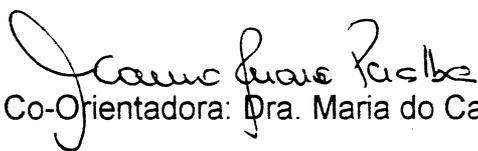


Eniz Conceição Oliveira

Esta Dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de **MESTRE EM QUÍMICA**, e aprovada em sua forma final, pela orientadora, pela co-orientadora e pela Comissão Examinadora, no Curso de Pós-Graduação em Química da UFRGS.

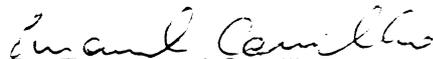


Orientadora: Dra. Elina Bastos Caramão



Co-Orientadora: Dra. Maria do Carmo Ruaro Peralba

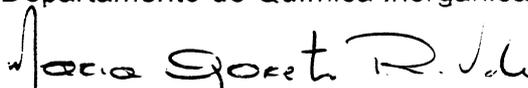
Comissão Examinadora:



Dr. Emmanuel Carrilho  
Instituto de Química de São Carlos - USP



Dra. Tânia Mara Pizzolato  
Departamento de Química Inorgânica - IQ - UFRGS



Dra. Maria Goreti Rodrigues Vale  
Departamento de Química Inorgânica - IQ - UFRGS

Coordenador do Curso: prof. Dr. Valentim Emílio Uberti Costa

INSTITUTO DE QUÍMICA UFRGS  
BIBLIOTECA

*Dedico ao Cláudio este trabalho, pelo  
companheirismo de sempre, e ao Tomás que nasceu ao  
longo desta caminhada iluminando-a.*

INSTITUTO DE ODONTOLOGIA  
BIBLIOTECA

---

## AGRADECIMENTOS

É preciso agradecer a muitos que participaram na construção deste trabalho: no incentivo, nas palavras amigas, acompanhando-me nesta caminhada.

Como bolsista de um órgão público (CAPES) faço a devida referência aos homens e mulheres que, através de seus impostos, participaram do financiamento desta pesquisa.

À Celulose Cambará Produtos Florestais S.A. pelo fornecimento das amostras e pela solicitude com que recebeu este trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Química Ambiental da UFRGS, com os quais compartilhei alguns momentos de incertezas e outros tantos de alegrias durante a construção deste estudo, deixo um agradecimento muito especial.

Em particular, gostaria de agradecer aos colegas José Luiz Foschiera, Maria Tereza Friedrich e Patrícia Schossler pela presença amiga durante todo o trabalho.

As bolsistas de iniciação científica, Carina, Andréia e Cássia pelo trabalho responsável.

Agradeço aos colegas, professores e funcionários desta Universidade, de modo especial aos ligados ao Programa de Mestrado em Química, pela companhia durante o tempo que aqui estive. De maneiras diferentes cada um teve sua parcela de contribuição para que eu chegasse até aqui.

Não poderia deixar de agradecer ao professor Celso Camilo Moro e às professoras Tania Mara Pizzolato e Maria Goreti Vale pelas contribuições durante o desenvolvimento deste trabalho.

De modo muito especial às professoras Elina Bastos Caramão e Maria do Carmo Ruaro Peralba, minhas orientadora e co-orientadora, pela palavra de estímulo quando o desânimo queria insinuar-se, e também pelos constantes questionamentos, que me fizeram construir esta reflexão.

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de metodologia analítica na técnica de extração em fase sólida para a análise de compostos fenólicos clorados em efluentes aquosos oriundos do processo de branqueamento de celulose, de modo a comparar com a técnica clássica de extração líquido-líquido.

Primeiramente, foram utilizadas amostras de soluções padrão de compostos fenólicos clorados, a fim de verificar qual a melhor técnica de extração, extração líquido-líquido (LL) ou extração em fase sólida (SPE), utilizando cartuchos comerciais de fase C18 e de fase tC18. Foram realizados vários experimentos para o estabelecimento das melhores condições de extração para a SPE sendo os resultados comparados com o da extração LL. Os dados obtidos, revelaram que a extração em fase sólida utilizando cartucho com fase C18 demonstrou maior eficiência, sendo a mesma escolhida para análise das amostras dos efluentes de branqueamento de celulose da empresa Cambará Celulose S.A.

A análise dos efluentes de branqueamento pela técnica SPE com cartucho comercial de fase C18 foi realizada com o auxílio das técnicas de cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons e cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas. A identificação dos compostos se deu através da comparação dos tempos de retenção e dos espectros de massas com padrão dos respectivos compostos, sendo identificados os seguintes clorados: 3,5-diclorofenol, 2,4,6-triclorofenol, 4-clorocatecol, 4,5-dicloroguaiacol, 3,5-diclorocatecol, 6-clorovanilina, 4,5-diclorocatecol, 4,5,6-tricloroguaiacol, 5,6-diclorovanilina, 3,4,5,6-tetraclorocatecol, 3,4,5-triclorosiringol e 3,4,5,6-tetraclorocatecol, dos quais somente nove foram quantificados pela técnica da padronização interna.

Também foram determinadas as toxicidades referentes ao pentaclorofenol e o Fator de Toxicidade Equivalente Total (TEF) para cada efluente estudado. Os valores obtidos,  $0,110 \text{ mg.L}^{-1}$  para o primeiro efluente,

---

512 mg.L<sup>-1</sup> para o segundo e 103 mg.L<sup>-1</sup> para o terceiro efluente, estes valores foram superiores ao valor de LD<sub>50</sub> para o pentaclorofenol que é de 0,096 mg.L<sup>-1</sup>, indicando um grau significativo de toxidez para os mesmos.

---

## ABSTRACT

The present work aims the development of an analytical methodology for the solid phase extraction technique applied to the analysis of chlorinated phenolic compounds in aqueous effluents from the cellulose bleaching process by comparison with the classical liquid-liquid extraction technique.

Firstly, samples of standard solutions of chlorinated phenolic compounds were employed in order to verify which extraction technique was the best; liquid-liquid extraction (LL) or solid phase extraction (SPE) using commercial cartridges of C18 phase and tC18 phase. Several experiments were performed for establishing the best SPE extraction conditions. The results were compared to those for the LL extraction. Results obtained showed better efficiency for the solid phase extraction with C18 phase cartridge being this extraction chosen for the analysis of samples from the cellulose bleaching effluents produced by Cambará Celulose S.A.

The bleaching effluent analysis by SPE technique with C18 phase cartridge was carried out by gas chromatography using electron capture detector and gas chromatography coupled to mass spectrometry. Compounds identification was made by comparing retention times and mass spectra with those of standards of the respective compounds. The following chlorinated compounds have been identified: 3,5-dichlorophenol, 3,4,6-trichlorophenol, 4-chlorocatechol, 4,5-dichloroguaiacol, 3,5-dichlorocatechol, 6-chlorovanillin, 4,5-dichlorocatechol, 4,5,6-trichloroguaiacol, 5,6-dichlorovanillin, 3,4,5,6-tetrachlorocatechol, 3,4,5-trichlorosyringol and 3,4,5,6-tetrachlorocatechol, from which nine have been quantified by internal standard technique.

Toxicity relative to pentachlorophenol and the Total Equivalent Toxicity Factor (TEF) for each effluent were also determined. The obtained values; 0.110 mg.L<sup>-1</sup> for the first effluent and 512 mg.L<sup>-1</sup> and 103 mg.L<sup>-1</sup> for the second

---

and third effluents are bigger than the  $LD_{50}$  for pentachlorophenol which is  $0.096 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , pointing for a significative toxicity of the studied compounds.

---

## ÍNDICE GERAL

	pag.
AGRADECIMENTOS .....	i
RESUMO .....	ii
ABSTRACT .....	iv
ÍNDICE GERAL .....	vi
LISTA DE TABELAS .....	x
LISTA DE FIGURAS .....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....	xii
OBJETIVOS .....	xiv
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. ASPECTOS TEÓRICOS .....	4
2.1. Considerações Gerais .....	4
2.2. Polpação .....	5
2.3. Processos de Branqueamento .....	5
2.4. Compostos de Baixa Massa Molecular .....	7
2.4.1. Compostos Fenólicos Clorados .....	8
2.5. Toxicidade .....	9
2.6. Organoclorados como Precursores de Dioxinas .....	10
3. TÉCNICAS DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE CoFCs .....	12
3.1. Métodos Clássicos Baseados na Extração Líquido-Líquido .....	13
3.2. Métodos Cromatográficos de Pré-concentração .....	13
3.3. Aspectos Teóricos Relacionados à Extração em Fase Sólida (SPE) .....	15
3.3.1. Mecanismos de Retenção no Suporte Sólido .....	16

---

	pag.
a – Adsorção: .....	16
b – Partição: .....	17
3.3.2. Fatores que Afetam a Extração em Fase Sólida .....	19
a – Características da Matriz .....	19
b – Volume de Amostra .....	20
c – Efeito do pH .....	21
d – Tratamento do Sorvente .....	21
3.3.3. Teoria de Separação .....	22
3.3.4. Etapas Típicas para a SPE .....	25
3.3.5. HPLC versus SPE .....	26
3.3.6. Avanços Recentes na SPE: SPME .....	28
4. TÉCNICAS ANALÍTICAS APLICADAS A CoFCs .....	31
4.1. Derivatização .....	31
4.2. Cromatografia Gasosa com Detector de Captura de Elétrons .....	33
4.3. Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas .....	35
5. ASPECTOS EXPERIMENTAIS .....	37
5.1. Reagentes e Solventes .....	37
5.1.1. Adsorventes: Cartuchos com Sílica Ligada a Grupos Octadecil .....	37
5.1.2. Solventes e Padrões .....	38
5.1.3. Preparação dos Reagentes e da Vidraria .....	38
5.1.3.1. Limpeza da Vidraria .....	38
5.1.3.2. Purificação da Água .....	38
5.1.3.3. Destilação do Anidrido Acético .....	38
5.1.3.4. Secagem e Estocagem do Sulfato de Sódio .....	38

pag.

---

5.2. Preparação das Soluções Estoque e Padrões dos CoFCs .....	39
5.3. Caracterização da Amostra .....	40
5.4. Extração Líquido/Líquido .....	40
5.5. Extração com C18 e tC18 .....	40
5.6. Derivatização .....	42
5.7. Preparação do Padrão Interno .....	43
5.8. Determinação Saturação da Fase Sólida .....	43
5.9. Determinação do Melhor Volume a ser Usado .....	44
5.10. Análise Instrumental .....	44
5.10.1. Determinação dos Limites de Detecção para o GC/ECD .....	45
5.10.2. Determinação da Faixa de Linearidade do Detector (ECD) .....	45
5.10.3. Confirmação da Identidade dos CoFCs por GC/ECD .....	46
5.10.4. Identificação dos CoFCs por GC/MS .....	47
5.10.5. Análise Quantitativa dos CoFCs por GC/ECD .....	48
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	50
6.1. Determinação dos Limites de Detecção .....	50
6.2. Identificação dos CoFCs na Mistura Padrão .....	51
6.2.1. Identificação por GC/ECD .....	51
6.2.2. Identificação por GC/MS .....	51
6.3. Desenvolvimento de Metodologia para C18 .....	53
6.3.1. Determinação do Melhor Fluxo de Eluição na SPE .....	54
6.3.2. Determinação da Saturação da Fase Sólida .....	54
6.3.3. Determinação do Melhor Volume da Amostra para em SPE .....	54
6.4. Determinação do Comportamento de Resposta do ECD .....	56
6.5. Comparação da SPE com a LLE .....	59
6.6. Aplicação da SPE com Cartuchos C18 aos Efluentes .....	60

---

6.6.1. Análise Qualitativa .....	60
6.6.2. Análise Quantitativa .....	65
6.7. Avaliação da Toxicidade dos Efluentes Estudados .....	67
7. CONCLUSÕES .....	68
8. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	70
9. PRODUÇÃO CIENTÍFICA GERADA .....	71
10. BIBLIOGRAFIA .....	73

---

## LISTA DE TABELAS

	Pag.
Tabela I: Notação dos Estágios de Branqueamento .....	6
Tabela II: Classes de Compostos Orgânicos de Baixa Massa Molecular Identificados em Efluentes de Branqueamento de Celulose .....	7
Tabela III: Toxicidade de Vários Compostos Fenólicos Clorados .....	9
Tabela IV: Equivalentes de Toxicidade de CoFCs .....	11
Tabela V: Resumo dos Mecanismos de Separação para a SPE .....	23
Tabela VI: Adsorventes Comerciais para Pré-concentração de Analitos Apolares ..	27
Tabela VII: Adsorventes Comerciais para Pré-concentração de Analitos Polares ...	27
Tabela VIII: Identificação Numérica dos CoFCs Contidos na Solução Padrão .....	39
Tabela IX: Condições Cromatográficas Utilizadas na Análise por GC/ECD e GC/MS.....	45
Tabela X: Principais Fragmentos de Massa Monitorados para os 24 CoFCs Presentes na Solução Padrão .....	47
Tabela XI: Comparação dos tempos de retenção relativos (TRRs) dos picos da mistura padrão total com o das soluções padrões parciais .....	53
Tabela XII: Coeficiente de Correlação com o Respectivo Desvio Padrão para a Regressão Linear da Resposta do Detector.....	56
Tabela XIII: Comparação entre SPE (C18 e tC18) e LLE para CoFCs e Coeficientes de Variação para cada Medida .....	60
Tabela XIV: Concentrações dos CoFCs nos Efluentes de Branqueamento de Celulose .....	66
Tabela XV: Toxicidade dos Efluentes de Branqueamento de Celulose .....	67

## LISTA DE FIGURAS

	pag.
Figura 1: CoFCs Encontrados em Efluentes de Branqueamento de Celulose .....	8
Figura 2: Reação de Formação da Dioxina a partir de Ânions Triclorofenóxi .....	10
Figura 3: Representação das Ligações na Molécula de Água .....	24
Figura 4: Reação de Acetilação do Fenol .....	33
Figura 5: Esquema da Emissão e Captura de Elétrons .....	34
Figura 6: Sistema Utilizado para SPE com Cartuchos Comerciais .....	41
Figura 7: Fluxograma do Procedimento Geral para SPE .....	42
Figura 8: Cromatograma de GC/ECD da Solução Padrão na Concentração .....	52
Figura 9: Cromatograma (GC/ECD) das Soluções Usadas para Medir a Saturação da Fase Sólida .....	55
Figura 10: Determinação do Melhor Volume para a SPE.....	56
Figura 11: Linearidade de Resposta do GC/ECD à concentração de Clorofenóis .....	57
Figura 12: Linearidade de Resposta do GC/ECD à concentração de Cloroguaicóis ..	58
Figura 13: Linearidade de Resposta do GC/ECD à concentração de Clorocatecóis, Clorovanilina e Clorossiringol .....	58
Figura 14: Comparação entre SPE (C18 e tC18) e LLE para CoFCs .....	59
Figura 15: Cromatograma (GC/ECD) do Primeiro Efluente de Branqueamento de Celulose Analisado .....	61
Figura 16: Cromatograma (GC/ECD) do Segundo Efluente de Branqueamento de Celulose Analisado .....	62
Figura 17: Cromatograma (GC/ECD) do Terceiro Efluente de Branqueamento de Celulose Analisado .....	63
Figura 18: Cromatograma (GC/MS – modo SIM) da Mistura dos Três Efluentes de Branqueamento de Celulose Analisados .....	64

---

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CoFCs	<i>Compostos Organicos Clorados</i>
SPE	<i>Extração em Fase Sólida</i>
SPME	<i>Micro Extração em Fase Sólida</i>
GC/ECD	<i>Cromatografia Gasosa com Detector de Captura de Elétrons</i>
GC/MS	<i>Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas</i>
HPLC	<i>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência</i>
GC	<i>Cromatografia Gasosa</i>
LC	<i>Cromatografia Líquida</i>
SFE	<i>Extração com Fluido Supercrítico</i>
LLE	<i>Extração Líquido-Líquido</i>
US-EPA	<i>Agência de Proteção Ambiental Americana</i>
AOX	<i>Halogênio Organicamente Ligado</i>
DBO	<i>Demanda Bioquímica de Oxigênio</i>
STS	<i>Sólidos Totais Suspensos</i>
ECF	<i>Branqueamento Livre de Cloro Elementar</i>
TCF	<i>Branqueamento Totalmente Livre de Cloro</i>
PCBs	<i>Bifenilas Policloradas</i>
TCDD	<i>Tetra Cloro Dibenzo Dioxina</i>
PCDD	<i>Poli Cloro Dibenzo Dioxina</i>
TCDF	<i>Poli Cloro Dibenzo Furano</i>
TEQ	<i>Equivalente de Toxicidade Internacional</i>

---

TEF	<i>Fator de Toxicidade Equivalente</i>
CI	<i>Ionização Química</i>
EI	<i>Impacto Eletrônico</i>
LD <sub>50</sub>	<i>Dose Letal para 50 % dos Indivíduos</i>
SPI	<i>Injetor com Programação de Temperatura</i>
TRR	<i>Tempo de Retenção Relativo</i>

## OBJETIVOS

---

Os principais objetivos do presente estudo podem ser resumidos em:

1. Desenvolver uma metodologia analítica baseada na extração em fase sólida, que permita a análise rápida e reprodutiva de CoFCs em efluente de branqueamento de celulose;
2. Comparar a Extração em Fase Sólida usando dois tipos de fases: C18 e tC18, usando soluções padrão;
3. Comparar a SPE, usando a melhor fase estacionária, com a extração líquido-líquido, usada como referência;
4. Caracterizar qualitativamente e quantitativamente efluentes de branqueamento de celulose, usando técnicas cromatográficas e espectroscópicas.

# 1 INTRODUÇÃO

---

A determinação de traços de compostos fenólicos clorados (CoFCs) em amostras aquosas é necessária para resolver vários problemas ambientais e biológicos. Estes compostos podem estar no meio ambiente oriundos de diversas fontes, entre estas os efluentes de branqueamento de celulose.

As fibras das pastas celulósicas provenientes da digestão química (cozimento), ou de processos mecânicos, são coloridas. Dependendo dos tipos de madeiras das quais provêm e do processo aplicado para o desfibramento, a cor destas fibras varia do marrom escuro até o branco amarelado (D'ALMEIDA, 1978).

Até a descoberta do cloro elementar em 1944 por Scheele, o método utilizado para o branqueamento de fibras vegetais era a exposição aos raios solares. Este tipo de branqueamento era largamente utilizado na Holanda, onde se podia dispor de grandes campos gramados e longas horas de sol durante os meses de primavera e verão. Porém, a descoberta do cloro e a aplicação do

hipoclorito de cálcio, sódio e potássio veio introduzir agentes alvejantes novos e poderosos, considerados mais eficientes para pastas celulósicas (D'ALMEIDA, 1978).

Durante os anos de 1920 a 1930, o uso do dióxido de cloro foi pesquisado, porém só foi empregado em indústrias por volta de 1940. Com a Segunda Guerra Mundial, a demanda de pastas celulósicas purificadas para a fabricação de nitrocelulose levou à pesquisa de muitos outros agentes alvejantes, como por exemplo os peróxidos de hidrogênio e sódio (D'ALMEIDA, 1978) (SCHWANTES, 1994) (NI, 1994).

A determinação de CoFCs em efluentes e águas naturais envolve metodologias analíticas usando pré-concentração, análise qualitativa e quantitativa.

A exatidão e precisão das análises dependem igualmente do método empregado para a preparação da amostra e da resolução dos instrumentos. As medidas instrumentais são, geralmente, realizadas usando cromatografia gasosa (*GC – gas chromatography*) ou cromatografia líquida (*LC – liquid chromatography*), que requerem técnicas eficientes de fracionamento e pré-concentração das amostras. As técnicas comumente utilizadas para pré-concentração são a extração líquido/líquido (*LLE – liquid/liquid extraction*), extração com fluido supercrítico (*SFE – supercritical fluid extration*) e extração em fase sólida (*SPE – solid - phase extraction*). A SPE tem sido muito pesquisada por ser uma alternativa vantajosa à LLE, para amostras aquosas de baixas concentrações, sendo também utilizada como “clean up”. A determinação a nível de traços de micropoluentes em amostras aquosas requer a pré-concentração antes da análise cromatográfica, sendo para isto, muito usada a SPE na maior parte da química analítica ambiental. O grande progresso desta técnica está, também, relacionado ao desenvolvimento de novos materiais adsorventes especialmente desenvolvidos para a SPE (SLOBODNÍK, 1996).

A SPE vem substituindo a LLE em muitas metodologias analíticas, incluindo as usadas pela US-EPA (United States Environmental Protection Agency) (MAJORS, 1998).

---

A necessidade da análise de traços tem impulsionado o desenvolvimento e a síntese de novas fases para a SPE em elevado grau de pureza. Os fabricantes tem respondido à demanda com novos desenhos de materiais, tais como tubos (cartuchos) de vidro e plástico empacotados com fases estacionárias sintéticas. Apesar dos cartuchos para a SPE serem de formato favorável o uso de discos para a SPE também tem crescido nos últimos anos.

SPE é muito semelhante a cromatografia líquida (LC), de tal forma que se pode considerar a SPE, em uma primeira aproximação, como sendo um processo cromatográfico com fase móvel líquida. A principal fase estacionária comercial para SPE é também uma das mais usadas em colunas e/ou pré-colunas de HPLC, C18, ou seja sílica com grupos octadecil quimicamente ligados (MAJORS, 1997). A fase C18 é muito hidrofóbica, tendo preferência para reter compostos orgânicos (menos polares) presentes em amostras aquosas.

Neste trabalho, utiliza-se a SPE para extrair e pré-concentrar traços de compostos fenólicos clorados (CoFCs) em água e efluentes de branqueamento de celulose, usando duas fases estacionárias (C18 e tC18) e comparando-as com a tradicional extração líquido-líquido.

---

## 2 ASPECTOS TEÓRICOS

---

### 2.1 Considerações Gerais

A matéria prima mais utilizada na fabricação da celulose e papel é a madeira de árvores do reino das dicotiledôneas (madeiras folhosas – hardwood) e das coníferas (madeiras resinosas – softwood) (FURTADO, 1997).

A lignina produzida após o processo de polpação é responsável pela coloração marrom da polpa produzida. Durante o branqueamento com cloro, ou com um derivado clorado, forma-se uma série de compostos orgânicos clorados, destes destacam-se os CoFCs.

Com relação à fabricação de polpas químicas, as reações que removem a lignina da polpa são a degradação a solubilização e, os processos industriais que envolvem essas reações são a polpação e o branqueamento.

## 2.2 Polpação

O objetivo do processo de polpação é a liberação das fibras de celulose unidas pela lignina. Nas fábricas de polpa de celulose o processo de polpação pode ser de dois tipos: o mecânico e químico. Nos processos de polpação mecânica, as fibras são separadas por meios mecânicos, portanto a lignina permanece com as fibras. Na polpação química a lignina é degradada e dissolvida e as fibras são mantidas intactas. As polpas químicas são a *polpa kraft* ou *polpa sulfato*, *polpa sulfito* e *polpa soda*. A polpa kraft não branqueada possui coloração marrom e não é adequada para papel de escrever. Para o seu branqueamento usa-se cloro, hipoclorito e/ou dióxido de cloro (FURTADO, 1997).

## 2.3 Processos de Branqueamento

A celulose pura é branca, porém a polpa obtida pelos processos industriais é colorida, variando desde o amarelo claro até o marrom escuro devido à presença de impurezas como lignina, resinas, materiais degradados, íons metálicos e outros. Para tornar a polpa mais branca, esses materiais devem ser quimicamente modificados. Geralmente, o branqueamento tem como principal objetivo obter, por processos economicamente viáveis, uma polpa alva e de brancura estável. As principais substâncias da pasta celulósica que absorvem luz dentro do espectro visível, têm relação com a lignina. O custo específico da remoção destas e de outras impurezas através do branqueamento é bem mais elevado do que através do cozimento. Por isso, procura-se remover o máximo de impurezas durante o cozimento e completar a remoção com o branqueamento (D'ALMEIDA, 1978).

Muitos trabalhos apontam o cloro molecular utilizado no branqueamento da polpa de celulose como o principal responsável pela produção de efluentes com elevadas concentrações de compostos fenólicos clorados (CoFCs) (ROGERS, 1973). Entretanto, o cloro molecular ainda vem sendo utilizado por ser um agente de branqueamento eficiente e economicamente viável. O teor total de

CoFCs em efluentes de branqueamento de celulose é avaliado pelo parâmetro AOX (*Adsorbible Organic Halogen*), o qual determina o conteúdo de cloro organicamente ligado. Este parâmetro, juntamente com a demanda química de oxigênio (DQO), tem sido utilizado para estabelecer os limites de descarga de material organoclorado e orgânico, respectivamente, em efluentes (US-EPA, 1993). Também são monitorados pela US-EPA em plantas de branqueamento, cor, DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio), STS (Sólidos Totais Suspensos) e o conteúdo de CoFCs.

Os processos de branqueamento onde não se utilizam cloro molecular são conhecidos como ECF (*Elemental Chlorine Free*), podendo-se, entretanto, usar cloro combinado. A substituição completa do cloro por dióxido de cloro como agente branqueador no primeiro estágio de branqueamento reduz consideravelmente os níveis de CoFCs (NONNI, 1981).

Atualmente existem outras duas tendências nos processos de branqueamento de celulose tendo por objetivo reduzir o impacto ambiental. A primeira é o branqueamento totalmente livre de cloro (TCF – *Total Chlorine Free*) e a segunda envolve o conceito de ciclo fechado, ou seja, não havendo geração de efluente na planta de branqueamento (AXEGARD, 1993).

A existência de diferentes processos de branqueamento levou a uma padronização da notação dos mesmos, onde cada estágio é representado por uma letra como mostra a Tabela I.

Tabela I: Notação dos Estágios de Branqueamento

Notação	Significado	Notação	Significado
C	Cloração	EP	Extração alcalina com peróxido
E	Extração alcalina	DC	Cloração com dióxido de cloro
H	Hipocloração	P	Peróxido de sódio ou hidrogênio
D	Dióxido de cloro	N	Óxidos de nitrogênio
O	Oxigênio	Z	Ozônio

## 2.4. Compostos de Baixa Massa Molecular

Um grande número de compostos orgânicos de baixa massa molecular tem sido identificado em efluentes de branqueamento de polpa *kraft*. A Tabela II mostra alguns dos mais importantes tipos de compostos identificados em efluentes de branqueamento de celulose.

Tabela II: Classes de Compostos Orgânicos de Baixa Massa Molecular Identificados em Efluentes de Branqueamento de Celulose (AXEGARD, 1993)

<b>Compostos ácidos</b>	-ácidos alcanóicos (ácido fórmico, ácido acético, ácidos graxos saturados) -ácidos alcenóicos (ácidos graxos insaturados) -hidroxiácidos -ácidos aromáticos -ácidos resinosos
<b>Compostos fenólicos</b>	-fenóis -catecóis -guaiacóis -siringóis -vanilinas -siringaldeídos (apenas em hardwood)
<b>Compostos neutros</b>	-alcanos clorados (principalmente clorofórmio) -álcoois alifáticos (principalmente metanol) -aldeídos aromáticos e alifáticos -cetonas aromáticas e alifáticas -benzeno -PCDDs (policlorodibenzodioxinas) e PCDFs (policlorodibenzofuranos) -sulfonas (principalmente dimetilsulfonas cloradas) -tiofenos -terpenos e terpenóides -esteróis

Como indicado na Tabela II os compostos identificados podem ser separados em três classes de acordo com suas propriedades químicas: ácidos, compostos fenólicos e compostos neutros.

Os compostos fenólicos e alguns ácidos são produtos originados principalmente da degradação da lignina e podem estabelecer uma coloração marrom ao efluente.

#### 2.4.1. Compostos Fenólicos Clorados – CoFCs

Os CoFCs encontrados com maior frequência em efluentes de branqueamento de celulose são originários da degradação da lignina.

A Figura 1 mostra os CoFCs encontrados em efluentes de branqueamento de celulose do tipo *Softwood* e *Hardwood*.

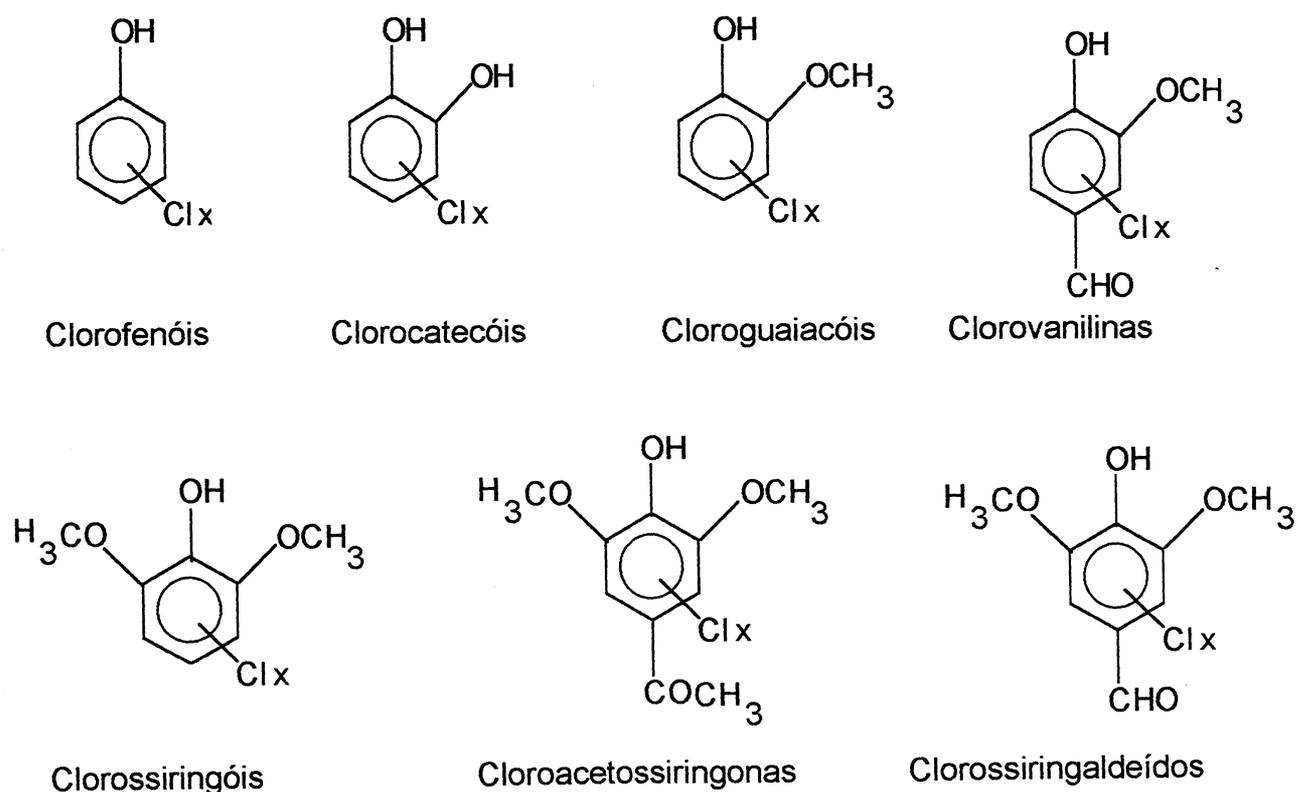


Figura 1: CoFCs Encontrados em Efluentes de Branqueamento de Celulose

## 2.5. Toxicidade

A maior parte dos CoFCs presentes em efluentes de branqueamento podem ser agrupados em seis classes que são: clorovanilinas, clorocatecóis, clorofenóis, cloroguaiacóis, clorossiringóis e clorossiringaldeídos. A série de CoFCs descritas no trabalho de Voss (VOSS, 1980) contém clorovanilinas, clorohidroxibenzaldeídos, clorossiringaldeídos, clorossiringóis e clorossiringonas. As quantidades destes compostos podem variar dependendo das condições de branqueamento utilizadas.

A Tabela III apresenta os dados de toxicidade de vários CoFCs compilados da literatura e sua variação com o pH. Observa-se a partir desta Tabela que aumentando-se o número de cloros na molécula, diminui-se a LD (*lethal dosage*)(VOSS,1980), aumentando, portanto a toxicidade do composto. Os testes foram realizados com peixes da espécie *Rainbow Trout* a uma temperatura média de 10° C.

Tabela III: Toxicidade de Vários Compostos Fenólicos Clorados (VOSS, 1980)

composto	pH	Toxicidade 96hLD <sub>50</sub> mg/L**	composto	pH	Toxicidade 96hLD <sub>50</sub> mg/L**
P	7,8	7,8	2345P	7,3 – 8,1	<0,5
P	7,3 – 8,1	7,7	23456P	7,0	0,096
3-P	7,3 – 8,1	2,1	34C	*	2,7
2-P	7,3 – 8,1	2,9	G	7,3 – 8,1	44
25P	*	1,7	45G	7,3 – 8,1	2,3
24P	7,3 – 8,1	2,8	345G	6,4	0,75
246P	*	0,45	3456G	7,3 – 8,1	1,7
246P	7,3 – 8,1	2,6	3456G	6,4	0,32

\* não especificado;

\*\*dose letal para 50% dos indivíduos numa exposição de 96 horas.

## 2.6. Organoclorados como Precursores de Dioxinas

Tradicionalmente, durante a síntese industrial do 2,4,5-T (ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético – herbicida), iniciada com 2,4,5-triclorofenol, hidróxido de sódio e quantidade apropriada de tetraclorobenzeno, pode ocorrer paralelamente a reação de conversão de uma pequena quantidade do triclorofenol em “dioxina”. Nesta reação paralela (Figura 2), dois ânions triclorofenóxi reagem resultando a eliminação de dois cloretos.

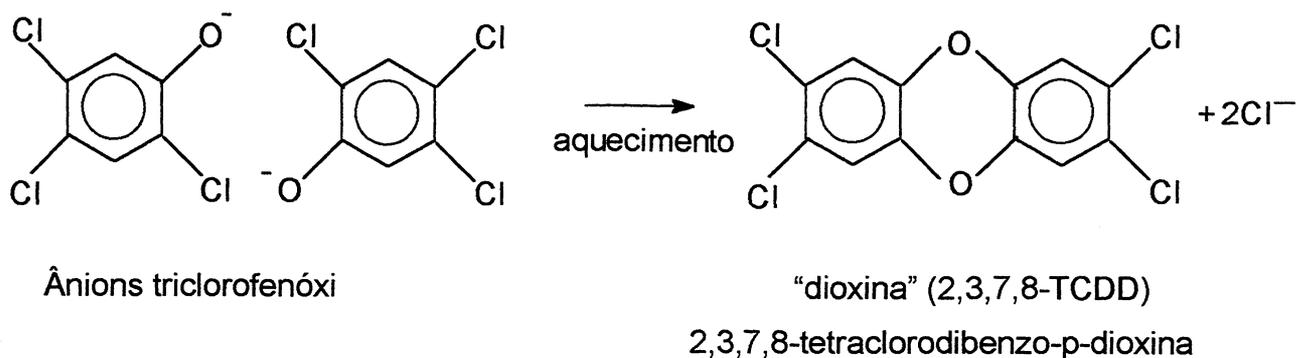


Figura 2: Reação de Formação da Dioxina a partir de Ânions Triclorofenóxi

Estes processos com novos anéis de seis membros são formados com dois anéis benzênicos clorados. O anel central tem dois átomos de oxigênio localizados em posição para, isto é a base da molécula simples 1,4-dioxina ou para-dioxina.

Muitos pesquisadores indicam que reações semelhantes à esta podem ocorrer com outros CoFCs presentes nos efluentes de branqueamento de celulose (BAIRD, 1995).

As dioxinas bioacumulam-se na cadeia alimentar porque apresentam a tendência de se dissolver em tecido adiposo, o que as torna potencialmente muito mais tóxicas.

Os resultados de estudos em animais indicam que a toxicidade de dioxinas, furanos, PCBs e fenóis clorados depende extraordinariamente do grau de substituição do cloro. Frequentemente relacionam-se as concentrações de organoclorados em termos de quantidade equivalente do congêneres mais tóxico.

No caso das dioxinas, usa-se a 2,3,7,8-TCDD, à qual se atribui o valor 1,0, e calcula-se o fator de toxicidade equivalente internacional (TEQ), definido como a razão da toxicidade de cada dioxina, furano e PCB em relação a esta dioxina, para cada composto.

De forma semelhante, no caso dos CoFCs, o pentaclorofenol é o congênere mais tóxico, ao qual é atribuído o valor do TEF (fator de toxicidade equivalente crônica) 1,0, classificando-se os demais a partir deste (KOVACS, 1993). Os valores obtidos podem ser vistos na Tabela IV.

Tabela IV: Equivalentes de Toxicidade de CoFCs (KOVACS, 1993)

Número de átomos de cloro na molécula	TEF*
monoclorado	0,04
diclorado	0,1
triclorado	0,2
tetraclorado	0,5
pentaclorado	1,0

\*TEF: Fator de Toxicidade Equivalente Crônica

Obviamente esta não é uma medida absolutamente correta, pois considera apenas o efeito do número de átomos de cloro e não a posição relativa dos átomos de cloro na molécula. Entretanto, de maneira geral, pode ser um interessante auxiliar na determinação da toxicidade de uma dada mistura de CoFCs.

Também de forma geral, mede-se a toxicidade de compostos de famílias diferentes, usando este mesmo índice. Por exemplo, a toxicidade dos clorossiringóis, clorocatecóis, cloroguaiacóis, comumente presentes em efluentes de branqueamento de celulose, pode ser grosseiramente avaliada a partir da concentração destes compostos multiplicada pelo TEF correspondente ao número de átomos de cloro na molécula.

---

### **3 TÉCNICAS DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE CoFCs**

---

A pesquisa de novas técnicas de preparação de amostra para a química analítica tendem a desenvolver processos que produzam amostras mais representativas, em menor tempo e com menor uso de solventes.

As técnicas de pré-concentração, extração e isolamento, necessárias para preparar estas amostras para a injeção na cromatografia gasosa, variam desde métodos clássicos como a extração líquido-líquido até modernas técnicas como a micro extração em fase sólida.

O número de substituintes clorados, a estabilidade química e o caráter semi-volátil fazem com que a melhor técnica analítica para a determinação dos CoFCs seja a cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons e/ou acoplada à espectrometria de massas.

A seguir discute-se alguns aspectos dos métodos comumente aplicados a CoFCs em amostras aquosas.

### 3.1. Métodos Clássicos Baseados na Extração Líquido-Líquido

O método EPA-625, aplicado pela US-EPA para a determinação analítica de compostos orgânicos em águas, consiste na extração líquido-líquido de compostos orgânicos semi-voláteis presentes na amostra a partir de suas propriedades ácidas, básicas ou neutras.

A amostra é extraída com diclorometano usando funil de separação ou extrator contínuo. Em pH 11 extrai-se a fração base/neutra. Em pH inferior a 2 extrai-se a fração ácida. As frações são secas e concentradas a 1,0 mL para posterior análise por GC/MS (US-EPA 625).

As desvantagens deste método estão no uso da extração líquido/líquido, que geralmente envolve grandes tempos de análise, consumo exagerado de solvente e perdas quantitativas, e na pureza dos solventes empregados.

Outro método usado para CoFCs em água é o proposto por Lee e colaboradores (LEE, 1989) para efluentes de branqueamento de fábrica de celulose. Este procedimento é conhecido como método de acetilação extração "*in situ*". O pH da amostra é ajustado em 7, e a amostra é acetilada com anidrido acético. Extrai-se a fase orgânica, com isoctano, a qual deve conter os CoFCs acetilados e analisa-se por GC/ECD.

### 3.2. Métodos Cromatográficos de Pré-concentração

A cromatografia líquida de adsorção em coluna é o tipo mais antigo de cromatografia em escala preparativa conhecido. O processo se baseia na adsorção seletiva de compostos sobre um suporte sólido empacotado em uma coluna, que geralmente pode ser um tubo de vidro semelhante a uma bureta.

Vários procedimentos cromatográficos em escala preparativa têm sido desenvolvidos e usados para compostos orgânicos em matrizes não aquosas (VERZELE, 1980). Para amostras reais os procedimentos mais usados são a troca iônica.

Uma variante da cromatografia líquida de adsorção é a extração em fase sólida (SPE). A SPE (LA COLINA, 1995) envolve a passagem da amostra

dissolvida em um solvente através de um leito de pequenas partículas de um adsorvente. Este material é usualmente empacotado dentro de pequenos tubos que se assemelham a pequenas colunas cromatográficas. Pode-se ou não usar vácuo ou alta pressão para facilitar a passagem da amostra (PIZZOLATO, 1997).

O princípio da SPE está na partição dos compostos entre duas fases (uma sólida e uma líquida). Os analitos devem ter maior afinidade pela fase sólida do que pela matriz da amostra (etapa de retenção ou adsorção). Os compostos retidos devem ser removidos posteriormente, na etapa de eluição, com um solvente que tenha maior afinidade pelos analitos (etapa de eluição ou dessorção).

A SPE é uma técnica simples no modo *off-line*. Pode-se utilizar para a SPE discos de membrana (JÁUREGUI, 1997) (ESTEBAN, 1996) (CHIRON, 1994) (CHEE, 1996) (BAO, 1996) (BELTRAN, 1993) ou cartuchos com fases sólidas empacotadas em alta pressão, com diferentes sorventes como carbono grafitizado preto (TURNES, 1996) (GUENU, 1996) (DI CORCIA, 1993) (RODRÍGUEZ, 1997) C18 ou C8 (VIANA, 1996) (RODRÍGUEZ, 1996) (VIDAL, 1994) (BELTRAN, 1993) (MUßMANN, 1994) e copolímeros do estireno divinilbenzeno (AGUILAR, 1996) (RODRÍGUEZ, 1997) (ONEDERA, 1993) (PIZZOLATO, 1996) entre outros sorventes.

Recentemente tem surgido novos sorventes de copolímeros altamente entrecruzado (BUCHHEIT, 1996), os quais são preferidos por terem alta capacidade de adsorção para diferentes classes de poluentes ambientais. Um destes sorventes é o copolímero etilvinilbenzeno-divinilbenzeno, comercializado como LiChrolut EN (AGUILAR, 1997).

Outra técnica recente, para a pré-concentração de analitos é a micro-extração em fase sólida (SPME) desenvolvida por Pawliszyn e colaboradores (BOYD-BOLAND, 1995) (MAGDIC, 1996) (LORD, 1998).

### 3.3. Aspectos Teóricos Relacionados à Extração em fase sólida (SPE)

Conforme já foi citado, o princípio da SPE está na partição dos compostos entre duas fases (uma sólida e uma líquida). Os analitos são retidos por adsorção no sólido ou solubilização na fase líquida quimicamente ligada e, posteriormente, através da troca do solvente, são removidos, produzindo-se, assim, a pré-concentração da amostra.

O procedimento para SPE é relativamente simples, barato, requer pouca quantidade de solvente, pode ser aplicado a várias amostras ao mesmo tempo com um único operador e pode ser automatizado.

O material adsorvente, chamado de *SORVENTE*, irá reter seletivamente alguns dos componentes presentes na amostra original. Alguns ou todos os componentes retidos podem ser retirados com o uso de solventes adequados. Este solvente é coletado para análise ou simplesmente descartado no caso de “clean-up” da amostra.

As propriedades dos solventes e sorventes determinarão a quantidade de compostos retidos e a facilidade de remoção dos mesmos. Através de uma seleção cuidadosa destes dois pode-se atingir as separações adequadas para cada amostra coletada (PIZZOLATO, 1997).

Nos sistemas comerciais de SPE o sorvente é empacotado em alta pressão entre dois discos porosos, numa seringa de polipropileno. O líquido passa pela fase sólida, tanto por sucção como por pressão positiva. Ficam retidos ou as impurezas (*clean-up*) ou os analitos de interesse. Estes podem ser removidos pela passagem de um solvente adequado.

A SPE é uma técnica ideal para concentrar analitos de uma matriz líquida (em nível de traços); utiliza pequenas quantidades de solvente; apresenta boa recuperação; é um método rápido e pode ser facilmente adaptado para sistema “on-line”.

Esta técnica tem demonstrado grandes vantagens, tais como a redução no tempo de manuseio da amostra e no tempo total de análise, redução no volume de solvente usado, eliminação da formação de emulsões, comuns em extrações líquido-líquido, e enriquecimento nos constituintes presentes a nível de

traços. A SPE é uma técnica que se adapta perfeitamente à análise de águas naturais e é predominantemente usada como método de pré-concentração de pesticidas em matrizes aquosas (BALINOVA,1996).

### **3.3.1. Mecanismos de Retenção no Suporte Sólido**

Os dois principais mecanismos de retenção dos analitos no suporte sólido são a **adsorção** e a **partição**. A extração de quantidades de compostos orgânicos, a nível de traços de matrizes aquosas com sorvente sólido é um método no qual a adsorção na substância sólida é seletiva. O mecanismo da SPE baseia-se na distribuição do composto dissolvido entre o sorvente sólido, água e o solvente extrator. Em muitos casos, o suporte sólido está quimicamente ligado a um polímero líquido, como na cromatografia líquida com fase quimicamente ligada, tendo-se então o processo de retenção do analito predominantemente por partição.

#### **a - Adsorção**

A adsorção é um fenômeno de superfície que é definido como o aumento da concentração de um componente na superfície ou interface de duas fases, sendo uma delas sólida. Os pesticidas, por exemplo, tem grande afinidade para se ligarem em superfícies sólidas. Adsorventes bastante comuns são o carvão ativo e polímeros porosos.

A capacidade de adsorção depende em parte do tratamento, ou condições de fabricação, e da composição do adsorvente. O carvão foi o primeiro sorvente usado para a extração de compostos orgânicos de águas (purificação de água) e alguns polímeros orgânicos tem sido utilizados como sorventes alternativos ao carvão para o enriquecimento de compostos traços em matrizes aquosas desde o final dos anos sessenta (FONT,1993). A maior vantagem do uso do carvão ativo está na grande retenção dos pesticidas polares com baixa massa molar e seus metabólitos (BATTISTA, 1989).

Alguns polímeros são utilizados como sorventes alternativos ao carvão, para o enriquecimento à nível de traços desde 1960. Sua estrutura homogênea resulta em grande reprodutibilidade nos experimentos à níveis de traços.

A quantidade de material retido por peso unitário de fase sólida, à uma dada temperatura, depende, também, da concentração do soluto. Há um valor de saturação definido para cada fase sólida, ou seja, uma vez alcançadas as condições máximas de adsorção, qualquer aumento na concentração do soluto não aumenta a quantidade de analito adsorvida (CROCKFORD, 1973).

A seguir são apresentadas algumas citações bibliográficas referentes ao uso de polímeros porosos em SPE:

- -copolímeros do estireno divinil-benzeno: Amberlite XAD-2 (DIETRICH, 1988) (MAKUCH, 1993) (ONODERA, 1993) (KONTSAS, 1993) (VIDAL, 1994) e XAD-4 (MAKUCH, 1993) (PIZZOLATO, 1996) (FROBE, 1988), (MORO, 1987).
- -polímeros de acrilato: Amberlite XAD-7 e XAD-8 (DIETRICH, 1988)
- -etilvinilbenzeno-divinilbenzeno: Poropak Q .

A dessorção dos compostos retidos na coluna de pré-concentração é feita com pequenas quantidades de solvente. Esta dessorção é baseada no coeficiente de partição entre o polímero e o eluente.

Outro sistema utilizado é a dessorção térmica, que pode ser aplicada para determinação de vários pesticidas organoclorados. O processo de dessorção térmica é similar a análise por *headspace*. A dessorção térmica pode ser pouco eficiente quando as interações entre o analito e o sorvente forem muito fortes. Uma temperatura suficientemente alta para a dessorção do analito pode destruir o sorvente, o analito ou ambos. Se o analito é termicamente instável, a dessorção térmica pode invalidar a quantificação.

## **b - Partição**

De maneira geral a retenção por partição é descrita em termos de força hidrofóbica e de teoria solvofóbica, sendo esta última ainda largamente citada. A partição é definida como a distribuição do soluto entre o solvente e a fase sólida recoberta por um fino filme líquido, através de um mecanismo de solubilização. A

partição é regulada pela diferença de potencial químico do soluto entre as duas fases e as energias do solvente em ambas as fases. Apesar do termo hidrofóbico ser antes usado para descrever a força da ligação do analito com a fase sólida, o estreito significado desta palavra implica em uma certa dependência da temperatura de solubilidade que não é usualmente observada nestes processos (SENTELL, 1989a, 1989b).

A teoria mais recente sobre o processo de retenção foi descrita por Dill (DILL, 1987) que propõe que duas forças dominam o processo de retenção. Uma é a diferença na energia livre atribuída as interações do soluto com as moléculas vizinhas na fase estacionária (sorvente) e fase móvel. A outra é a ordenação parcial da corrente da fase estacionária enxertada, com alta densidade de ligação induzindo para a expulsão do soluto da fase estacionária (DORSEY, 1994).

O desenvolvimento de materiais com superfícies modificadas para a cromatografia líquida, tem oportunizado novas tecnologias aplicadas à pesquisa. As fases ligadas foram originalmente introduzidas para uso na cromatografia líquida devido as limitações da sílica gel quando utilizada para separar misturas altamente polares e substâncias iônicas (LOCKE, 1974). Estas fases podem ser preparadas pela reação da sílica gel com mono, di ou tricloro-silano orgânico, produzindo uma superfície coberta de material orgânico substituindo os grupos hidroxila da superfície da sílica. Pode-se dizer que há a formação de uma fina película líquida (grupos orgânicos substituintes) na superfície da sílica.

Os grupos orgânicos substituintes podem ser simples cadeias de hidrocarbonetos, como materiais de fase reversa, cadeias de hidrocarbonetos com grupo funcional terminal, como fase polar ligada ou troca iônica.

As primeiras tentativas para o uso de fases ligadas em pré-concentração datam de 1971, porém a técnica moderna de pré-concentração iniciou em 1978 com a introdução no mercado dos cartuchos Sep-Pak da Waters, Milford (SANER, 1979).

Hoje a SPE tem se desenvolvido como uma técnica de grande aplicação pois existem mais de 30 fornecedores de fases para a HPLC convencional, tais como C18, C8, ciano, amino. O método 525 da US-EPA recomenda o uso da SPE com octadecil ligado.

Apesar da SPE *off-line* ser um processo rápido, um certo número de etapas demoradas ainda persistem. Os meios para a redução deste tempo consumido no trabalho é a automatização do processo, através da SPE *on line*. O uso de pré-colunas para a pré-concentração *on-line* com C18 ou C8 em conjunto com a HPLC (AKERBLOM, 1985) (MARVIN, 1990) é mais comum do que em conjunto com a cromatografia gasosa.

A automatização da preparação da amostra para a análise de traços é essencial quando se utiliza grandes volumes de amostra. O Varian AASP (*advanced automated sample processor*), por exemplo, é um sistema automatizado proposto pela Varian para análise de pesticidas em água.

Uma nova geração disponível de SPE tem surgindo recentemente, são as chamadas membranas líquidas imobilizadas para a separação. Elas tem sido mais freqüentemente usadas para separação de metais além da separação de moléculas orgânicas (FONT, 1993).

### **3.3.2. Fatores que Afetam a Extração em Fase Sólida**

A recuperação da extração de pesticidas de amostras aquosas depende de um número de fatores tais como: características da matriz (presença de material particulado, força iônica da água), pH e tratamento do sorvente.

#### **a – Características da Matriz**

Infelizmente alguns experimentos são usualmente realizados em amostras aquosas com baixa força iônica e livres de particulados colidais, tais como, água destilada, deionizada ou água da torneira, sendo a matriz real muito diferente, por exemplo, água natural e particularmente água do mar (NAMIESNIK, 1990).

Tem sido observadas perdas significativas em testes de recuperação com SPE quando são analisadas amostras de águas com alto conteúdo de matriz orgânica, devido à competição entre o hidrocarboneto clorado e outros grupos hidrofóbicos presentes na amostra, pelos sítios ativos do adsorvente (MAÑES, 1990).

Em análises de águas marinhas e águas superficiais contendo particulados sólidos em suspensão, a recuperação das águas filtradas é substancialmente mais baixa do que o esperado para alguns pesticidas (PANKOW, 1988).

Substâncias húmicas presentes em águas, tais como, compostos orgânicos ligantes ou com ligação covalente como complexos de transferência de carga, ou com ligações por ligações de hidrogênio ou interações de Van der Waals, podem aumentar a solubilidade aparente dos compostos. Estas substâncias são adsorvidas nos particulados sólidos em suspensão.

Detergentes também podem diminuir a retenção de pesticidas na fase sólida, este efeito é provavelmente devido ao aumento de solubilidade do pesticida em água (MAÑES, 1990).

#### **b - Volume de Amostra**

O efeito do volume de amostra na recuperação é muito importante para amostras de interesse ambiental uma vez que volumes de amostra de 200 mL a 1 L são necessários para determinar poluentes em baixas concentrações.

Na SPE, como a quantidade de fase sólida é muito pequena, o solvente no qual o soluto está dissolvido (água para amostras ambientais) é capaz de eluir o soluto da coluna. Se o volume de amostra exceder em muitas vezes o volume da coluna, o soluto começa a ser eluído da mesma, isto resulta em um decréscimo da recuperação. O volume máximo de amostra, para 100 % de recuperação, e além do qual o soluto começa a eluir da coluna é chamado de volume *breakthrough*, ou volume de quebra. O volume de *breakthrough* é determinado pelo fator de capacidade do soluto na amostra, ou, em outras palavras, a força do solvente na amostra. Para sorventes de fases reversas o volume de *breakthrough* é uma função da hidrofobicidade do soluto e da massa do sorvente utilizada (POPL, 1983) (WELLS, 1987).

### c - Efeito do pH

O efeito do pH na retenção dos compostos na fase sólida é mais sentido na análise de compostos ionizáveis, devendo-se, para isso, determinar a faixa de pH em que o composto apresenta maior retenção na fase sólida e, portanto, menor dissociação no solvente. Alguns estudos tem sido realizados sobre este efeito na retenção de pesticidas (POPL, 1983) (WELLS, 1987). Portanto, é necessário o ajuste do pH da amostra para assegurar que os compostos estão na forma apropriada para alcançar uma eficiente retenção na fase sólida (WELLS, 1987).

### d - Tratamento do Sorvente

Uma seqüência típica de tratamento de sorvente envolve: ativação do sorvente (umidecimento); lavagem da fase ligada; eluição e regeneração da coluna.

**Ativação:** uma exigência para a efetiva adsorção é o perfeito contato entre o soluto e sorvente. Por exemplo, o tipo de carvão ativo geralmente utilizado para enriquecimento de pesticidas deve ser granular com grande área superficial (300-2000 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>) e com largo diâmetro de poro, para facilitar a adsorção dos analitos.

**Lavagem:** após a extração, alguns interferentes podem ser removidos pela lavagem da coluna com solventes de força variada. Para fases apolares, pode-se utilizar a água para remover muitos constituintes polares da amostra de água sem eluir os analitos. Contaminantes menos polares podem ser removidos adicionando soluções fracas de metanol ou acetonitrila em água. Contudo, para assegurar que o volume de *breakthrough* não seja atingido e que não haja perda dos analitos durante o processo de lavagem, devem ser realizadas análises preliminares.

**Dessorção:** a dessorção é usualmente acompanhada do uso de solventes. Os resultados experimentais de adsorção e partição em cromatografia líquida podem ser aplicados para a seleção do eluente mais apropriado.

Estudos preliminares com colunas C18 para a SPE revelaram a presença de interferentes co-eluído com os analitos de interesse. Os ftalatos são citados com frequência como interferentes (JUNK, 1988), em função da sua utilização na produção do plástico do qual são construídos os cartuchos que contém a fase sólida. Apesar da redução da quantidade de picos dos interferentes nos processos de lavagem, os mesmos nem sempre são totalmente eliminados. Este fenômeno é também observado com outros aditivos usados para solventes poliméricos (JAMES, 1981).

### 3.3.3. Teoria de Separação

Os mecanismos envolvidos na SPE, os quais, se bem compreendidos, facilitam o rápido desenvolvimento do método e o sucesso do uso da técnica envolvem os conceitos de:

- forças intermoleculares
- cromatografia de fase normal com adsorventes polares
- síntese de solventes ligados
- cromatografia de fase normal com solventes polares ligados
- cromatografia de troca iônica com solventes carregados ligados
- troca iônica
- solventes porosos ligados
- exclusão por tamanho

A Tabela V mostra os mecanismos de separação para facilitar o rápido desenvolvimento de um método para a SPE.

Os mecanismos de separação da SPE assemelham-se aos da cromatografia líquida, por exemplo, o termo fase normal refere-se a sistemas os quais o solvente é mais polar que a fase móvel ou que a amostra e o termo fase reversa refere-se a qualquer sistema no qual o solvente é menos polar que a fase móvel ou a amostra.

A Tabela V apresenta um resumo dos principais mecanismos de separação e suas características, aplicados à SPE.

Tabela V: Resumo dos Mecanismos de Separação para a SPE

Mecanismo	Tipo de fase	Tipo de analito	Força do solvente de diluição	Solvente para a eluição
Adsorção	Fase normal (sílica)	Levemente a moderadamente polar	Baixo $\epsilon^\circ$ (hexano, clorofórmio)	Alto $\epsilon^\circ$ (metanol)
Partição	Fase normal (fase polar ligada)	Moderadamente e a fortemente polar	Baixo $\epsilon^\circ$ (hexano e clorofórmio)	Alto $\epsilon^\circ$ (metanol)
	Fase reversa (fase apolar ligada)	Apolar	Alto $\epsilon^\circ$ (metanol/água, acetonitrila/água)	Para analitos apolares: baixo $\epsilon^\circ$ (hexano, clorofórmio); para analitos polares: Alto $\epsilon^\circ$ (metanol)
Interação eletrostática	Troca aniônica	Ácido iônico	Água ou tampão (pH=pKa+2)	- Tampão (pH=pKa-2) - pH do sorvente ou analito é neutro - solvente com alta força iônica
	Troca catiônica	Base iônica	Água ou tampão (pH=pKa-2)	- Tampão (pH=pKa+2) - pH do sorvente ou analito é neutro - solvente com alta força iônica
	Exclusão por tamanho	Proteínas	Água ou tampão	Água ou tampão

$\epsilon^\circ$  = força do solvente

pKa =  $-\log_{10} K_a$  onde  $K_a$  é a medida da atividade iônica do analito

Os mecanismos de separação citados na Tabela V ocorrem devido, principalmente, as interações intermoleculares entre as moléculas do analito e os grupos funcionais do sorvente. Estas forças são do tipo:

- iônicas
- ligação de hidrogênio
- dipolo-dipolo
- dipolo-induzido
- forças de dispersão (dipolo-induzido - dipolo-induzido)

As interações **iônicas** são forças elementares envolvidas na extração com troca iônica. As interações ocorrem entre os grupos carregados ligados covalentemente e os íons da solução de carga oposta, caracterizando-se como uma atração eletrostática reversível.

As **ligações de hidrogênio** ocorrem entre moléculas quando o hidrogênio está ligado covalentemente a um elemento fortemente eletronegativo, tal como o oxigênio, nitrogênio ou flúor. A Figura 3 representa as ligações entre os átomos e entre as moléculas na água. As linhas tracejadas representam as ligações de hidrogênio.

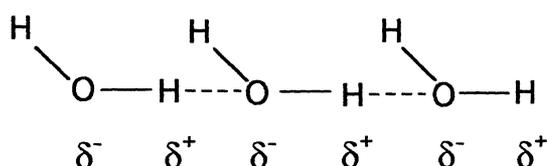


Figura 3: Representação das Ligações na Molécula de Água.

As ligações de hidrogênio podem ser forças importantes que atuam na superfície da fase ligada. Na síntese de fases modificadas com grupos silanóis, alguns destes grupos podem permanecer ligados na superfície da sílica após a ligação. Estes grupos podem estar isolados ou serem vizinhos. Os silanóis próximos na superfície da sílica farão ligações de hidrogênio entre si, enquanto os silanóis isolados não farão. Moléculas de analito ou interferentes com capacidade para ligação de hidrogênio podem interagir com os grupos silanóis isolados, pois os grupos silanóis vizinhos já estão comprometidos.

Forças **dipolo-dipolo** resultam da interação do momento dipolar de moléculas polares. A existência do dipolo molecular é devido a diferenças de eletronegatividade entre os átomos e sua geometria molecular. As interações dipolo-dipolo entre moléculas são mais fracas que as ligações de hidrogênio.

Forças de **dispersão** (de Van der Waals ou forças de London) são interações entre moléculas apolares resultando em dipolos induzidos. Forças de dispersão podem ser de atração ou repulsão, dependendo da distância intermolecular e da natureza dos grupos envolvidos, e são mais fracas que as

ligações de hidrogênio ou interações dipolo-dipolo. As forças de dispersão embora fracas individualmente, tornam-se significantes em moléculas com grande número de átomos.

### 3.3.4. Etapas Típicas para a SPE

As etapas típicas para a SPE de analitos apolares e moderadamente polares utilizando-se fases reversas (octadecil, octil, etil, ciclohexil, fenil e ciano) são:

- modificação da matriz
- condicionamento da coluna
- adição da amostra
- lavagem da coluna
- eluição dos analitos

**Modificação da matriz:** para matrizes de amostras complexas ou concentradas é necessário a modificação da matriz para facilitar a extração dos analitos.

**Condicionamento da coluna:** a coluna deve ser condicionada com volumes específicos de solvente, sendo que, após o condicionamento, a coluna não deve secar. O fluxo do solvente para o condicionamento da coluna e o fluxo para a extração podem ser diferentes visto que a etapa não é crítica.

**Adição da amostra:** a transferência da amostra para a extração em colunas deve ser exata, devendo-se percolar a amostra na coluna a uma velocidade de fluxo de 5 mL/min ou menor. Para volumes grandes de amostra usam-se adaptadores de volumes que possuem tamanhos diferentes.

**Lavagem da coluna:** a lavagem deve ser realizada com um volume específico de solvente. Quando necessário, secar a coluna com bomba de vácuo por tempo pré-determinado. Colunas de 1,0 mL podem ser secas de 1 a 5 minutos, colunas de 3,0 mL e 6,0 mL requerem de 3 a 10 minutos. Estes tempos podem mudar com o solvente e o tipo de amostra. Para amostra aquosas a água

residual pode ser removida da coluna após a extração com pequenas quantidades de metanol/água (50 a 90%) ou um solvente apolar miscível na água.

**Eluição dos analitos:** utilizam-se alíquotas pré-determinadas de solvente para extrair os analitos da coluna. Obtém-se uma melhor recuperação dos analitos quando se utiliza duas ou mais alíquotas do solvente de eluição.

### 3.3.5. Mecanismos de retenção de LC e SPE

A extração em fase sólida utiliza colunas ou cartuchos empacotados contendo determinada quantidade de sorvente (fase sólida) para a retenção dos analitos. O material usado para o empacotamento dos cartuchos é, em geral, o mesmo usado em cromatografia líquida de alta performance (HPLC do inglês *High Performance Liquid Chromatography*).

A SPE pode ser *on-line* ou *off-line*, dependendo se está acoplada ou não a algum equipamento que permita a análise direta do material retido ou se o mesmo deverá ser extraído do cartucho ou coluna. Para a SPE *on-line* a preparação da amostra está conectada diretamente ao liner do cromatógrafo gasoso ou líquido, enquanto que no processo *off-line* a preparação da amostra é realizada separadamente da análise cromatográfica.

Nas Tabelas VI e VII tem-se as principais fases sólidas comercialmente disponíveis para a pré-concentração de analitos polares e apolares e seus mecanismos de retenção. Nestas Tabelas são apresentados o nome comercial, o grupo funcional que os caracteriza e o mecanismo de retenção envolvido para os adsorventes (PIZZOLATO, 1997).

Tabela VI: Adsorventes Comerciais para Pré-concentração de Analitos Apolares (PIZZOLATO, 1997).

Abreviatura	Grupo Funcional	Intensidade da Interação	Tipo de Amostra
C18	octadecil	fortemente apolar	água, fluido biológico aquoso
C8	octil	moderadamente apolar	água, amostra biológica aquosa
C2	etil	fracamente apolar	plasma, urina, amostra aquosa
C1	metil	muito fracamente apolar	plasma, urina, amostra aquosa
PH	fenil	moderadamente apolar	água, fluido biológico
CH	ciclohexil	moderadamente apolar	água, amostra aquosa
CN-E	cianopropil	moderadamente apolar (matriz aquosa) ou polar (matriz orgânica apolar)	aquosa (apolar), orgânica (polar)
C18/OH	octadecil	moderadamente apolar mas com significativas interações polares secundárias	matriz biológica, amostra aquosa

Tabela VII: Adsorventes Comerciais para Pré-concentração de Analitos Polares (PIZZOLATO, 1997).

Abreviatura	Grupo Funcional	Intensidade da Interação	Tipo de Amostra
CN-U	cianopropil	polar (matriz orgânica apolar) fracamente apolar (matriz aquosa)	solventes polares e extratos orgânicos de amostras aquosas
NH <sub>2</sub>	aminopropil	troca iônica fraca (matriz aquosa), polar (matriz orgânica apolar)	água, fluido biológico, extratos orgânicos
2OH	diol	polar	extratos orgânicos apolares, óleos, lipídios
SiOH	silica não funcionalizada	fracamente polar	extratos orgânicos apolares, óleos, lipídios
Al-A	alumina ácida	ácido/base de Lewis, polar e troca iônica	
Al-B	alumina básica	ácido/base de Lewis, polar e troca iônica	
Al-N	alumina neutra	ácido/base de Lewis, polar e troca iônica	
FL	florisil	polar	amostras ambientais, extratos orgânicos

A reprodutibilidade da fase é o principal motivo de reclamação dos usuários da SPE (MAJORS, 1996) e HPLC (MAJORS, 1997). A partir dos dados de preparação de amostras e colunas de HPLC citados por MAJORS em 1996, pode-se observar que a fase C18 é a mais usada tanto na HPLC como na SPE.

A popularidade da fase C18 na SPE é espantosa, porém, evidentemente é uma conseqüência da popularidade na HPLC. A fase C18 é muito hidrofóbica, tem preferência para reter mais compostos orgânicos aquosos e mostra pequena discriminação para muitas moléculas orgânicas provenientes de solventes fracos como a água.

### **3.3.6. Avanços Recentes na SPE: SPME (*Solid Phase Microextraction*)**

A SPME é uma técnica nova e foi introduzida em 1989 por Pawliszyn e colaboradores. É uma técnica alternativa à SPE que envolve a extração direta do analito com o uso de uma fibra de sílica de pequeno diâmetro recoberta com uma fase polimérica (polidimetilsiloxano ou poliacrilato) acondicionada dentro de uma agulha para proteção.

A amostragem e a extração são feitas em uma única etapa devido a difusão do analito no filme de SPME, onde este é concentrado. A micro-seringa é colocada diretamente no injetor do cromatógrafo gasoso onde todos os analitos são termicamente desorvidos e depositados na cabeça da coluna cromatográfica (BOYD-BOLAND, 1996). Deve-se utilizar um *liner* (pré-coluna) especial para a SPME, pois os *liners* comumente utilizados nos cromatógrafos gasosos, provocam um alargamento nos picos, por terem maior volume. Este método apresenta vantagens adicionais importantes para a extração de poluentes orgânicos em amostras aquosas a nível de traços. É um método muito simples, de rápida extração e introdução direta no equipamento analítico, não perturba o equilíbrio de um sistema vivo, é fácil de automatizar, não utiliza solvente para extração, provoca a redução do tempo e melhor performance analítica. A SPME pode ser aplicada para extração de diferentes matrizes, incluindo ar, água e solo.

O instrumento para a SPME consiste em uma micro-seringa com uma fibra recoberta com uma película de filme líquido, que fica ajustada dentro de uma

agulha. Na parte superior da micro-seringa, há um filete de metal que serve como pistão para expor e recolher a fibra para fora da agulha, na etapa de adsorção, e dessorção dos analitos.

Para a SPME podem ser utilizados três tipos básicos de extração: extração direta, *headspace* e proteção com membrana.

Na extração direta a fibra é inserida diretamente dentro da amostra e os analitos são transportados diretamente da matriz da amostra para a fibra. Os analitos são fácil e rapidamente extraídos, sob agitação, que é requerida para facilitar o transporte dos analitos da solução para as proximidades da fibra.

Na técnica de *headspace* os analitos precisam ser transportados para a fase vapor, atravessando a barreira do ar antes de alcançarem a fibra. Esta modificação serve primeiramente para proteger a fibra de danos por exposição a compostos de massa molecular alta e outros interferentes não voláteis presentes na matriz da amostra, como materiais húmicos e proteínas. Também permite modificações na matriz, como trocas de pH, sem danificar a fibra. A quantidade de analito extraída utilizando extração direta e *headspace* são idênticas, isto é devido ao fato de que a extração ocorre em equilíbrio, sendo a concentração independente da localização da fibra na amostra. A técnica de *headspace* é um procedimento bastante utilizado e de alta sensibilidade, permitindo a determinação de compostos em concentrações inferiores a  $10^{-12}$  g/L. A desvantagem desta técnica é a sua limitação a substâncias voláteis e baixas concentrações.

O principal objetivo da proteção da fibra com membrana é proteger a mesma de danos. É vantajosa para determinações de analitos com baixa volatilidade, além disso a membrana pode aumentar a seletividade no processo de extração. A cinética da extração com membrana é substancialmente mais baixa do que para extração direta, em função dos analitos terem a necessidade de atravessar a membrana e depois alcançar a fibra. A utilização de membranas delgadas e aumento na temperatura resultam um tempo de extração menor.

A fibra de SPME consiste em uma haste de sílica fundida coberta por um polímero, cuja espessura pode variar. O volume da cobertura determina a sensibilidade do método, mas um filme muito espesso resulta em um longo tempo

de extração. É importante o uso de filmes apropriados para cada aplicação (LORD, 1998) (PAWLISZYN, 1997).

---

## 4 TÉCNICAS ANALÍTICAS APLICADAS A CoFCs

---

Após a etapa de pré-concentração dos analitos, os mesmos devem ser analisados qualitativa e quantitativamente. A melhor técnica de análise instrumental para compostos orgânicos clorados voláteis em misturas completas é, sem dúvida, a cromatografia gasosa, usando detectores seletivos (Captura de Elétrons – GC/ECD) ou universais (Espectrômetro de Massas – GC/MS).

Entretanto, para que a amostra seja analisada de forma correta, com picos bem definidos e sem retenção irreversível na coluna cromatográfica, é necessário promover a derivatização dos grupos polares (OH, no caso dos fenóis clorados).

### 4.1. Derivatização

O termo derivatização, em cromatografia refere-se à transformação de um composto químico em outro com a finalidade de obter-se uma análise mais rápida, conveniente ou mais exata. Esta melhora pode ser obtida tanto na etapa

de preparo da amostra quanto na de análise. O novo composto formado geralmente apresenta uma ou mais das seguintes vantagens em relação ao composto de partida: mais fácil de ser extraído e de ser cromatografado; medido com maior sensibilidade ou exatidão; ou mais facilmente separado dos interferentes.

As maiores limitações da cromatografia gasosa podem ser contornadas através da derivatização, que são, a elevada polaridade, baixa volatilidade e/ou estabilidade térmica de vários compostos orgânicos. Compostos contendo massa molecular elevada e grupos polifuncionais não são, usualmente, adequados à análise direta por cromatografia gasosa. Por exemplo, a conversão dos ácidos carboxílicos em ésteres metílicos permite a análise quantitativa, transformando o grupo OH (hidroxila) da carboxila (COOH) em OCH<sub>3</sub> (metóxi). Neste caso diminui-se a polaridade da molécula, aumenta-se a sua volatilidade e reduz-se significativamente o tempo de análise.

Compostos com alta polaridade, quando analisados por cromatografia gasosa, geralmente sofrem adsorção na coluna ou decomposição, dificultando a obtenção de dados quantitativos confiáveis. Em geral, os grupos carboxila e hidroxila causam maiores problemas sendo seguidos pelos grupos amino (NH<sub>2</sub>) e imino (=NH), os quais devem ser derivatizados para uma análise mais adequada.

Apesar da derivatização ser uma reação que poderá viabilizar uma análise, é também uma potencial fonte de erros quantitativos se não conduzida de forma adequada (LANÇAS 1993). Os principais erros estão associados à derivatização incompleta e a contaminantes oriundos do agente derivatizante usado.

Um dos exemplos mais comuns de reação de derivatização é a acetilação, que consiste na conversão do grupo hidroxila (OH) em acetato pela reação com anidrido acético, conforme mostra a Figura 4.

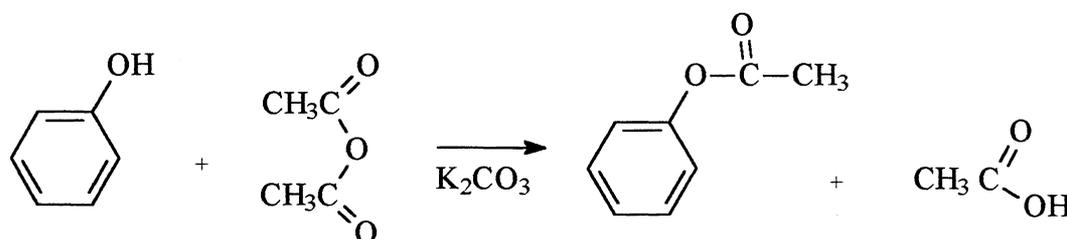


Figura 4: Reação de Acetilação do Fenol

#### 4.2. Cromatografia Gasosa com Detector de Captura de Elétrons (GC/ECD)

A detecção por captura de elétrons tem seu funcionamento baseado na captura de elétrons pela amostra. Os elétrons são gerados pela ionização do gás de arraste por uma fonte radioativa.

A medida em que o gás de arraste flui através do detector, uma lâmina contendo a fonte radioativa no interior do detector ioniza as moléculas do gás e forma elétrons lentos. O material radioativo é normalmente um composto de Trítio (<sup>3</sup>H) ou Níquel 63 (<sup>63</sup>Ni), que fornecem elétrons diretamente pela emissão de partículas β, ou, indiretamente, através da ionização das moléculas do gás carregador ao serem bombardeadas pelas partículas β emitidas (GROB, 1995) (CHRISTIAN, 1996).

Os elétrons produzidos são imobilizados para se obter uma corrente eletrônica mensurável. Isto é conseguido aplicando-se uma diferença de potencial de 90 V entre um eletrodo central e o corpo do detector onde está colocado o material radioativo. A Figura 5 apresenta um esquema da emissão e captura dos elétrons.

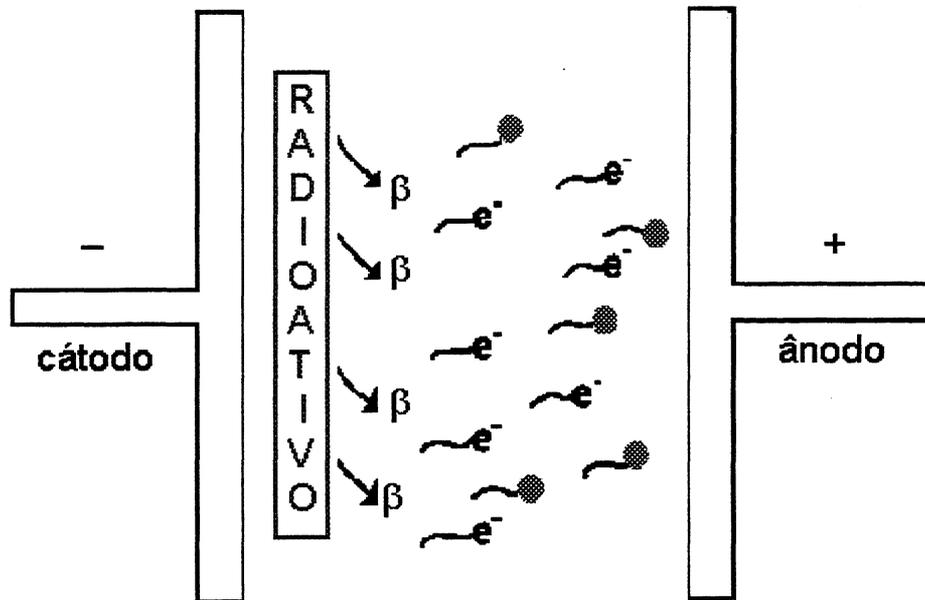


Figura 5: Esquema da Emissão e Captura de Elétrons

A corrente obtida é chamada de corrente permanente e, após ser ampliada convenientemente, é mandada a um registrador onde aparecerá na forma de linha base. A captura de elétrons devido a presença de substâncias com eletroafinidade provocará um decréscimo desta corrente determinando o aparecimento de picos. As substâncias absorverão mais ou menos elétrons, dependendo da afinidade de cada uma delas por elétrons e também da sua concentração.

O decréscimo da corrente é observado no registrador sob a forma de um pico cuja direção dependerá da polaridade do registrador. A utilização, a cada dia crescente, deste tipo de detector deve-se a necessidade de detectar certos compostos presentes em quantidades muito pequenas na amostra, e que não seriam detectados por outros detectores

Essas características, que diferem o detector de captura eletrônica dos demais, são responsáveis pela elevada seletividade e sensibilidade, detectando apenas os compostos que possuam afinidade por elétrons. Entre estes compostos estão os CoFCs. A quantidade mínima detectável é de  $10^{-9}$  g e a linearidade é baixa (500 a 10000).

Esta elevada sensibilidade é responsável também pela maior desvantagem deste detector, que é a sua pequena faixa de linearidade, devendo-se determinar a faixa de resposta linear para cada grupo de compostos a ser analisados.

#### **4.3. Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (GC/MS)**

A técnica de cromatografia gasosa (GC) combinada com espectrometria de massa (MS) tem sido cada vez mais utilizada na análise de matrizes ambientais, como forma de identificar e quantificar um grande número de compostos orgânicos presentes no sistema (LANÇAS, 1993).

KNUUTINENN (1982a, 1982b, 1983c, 1983, 1984a, 1984b) realizou um extenso trabalho envolvendo a análise de CoFCs em matrizes aquosas por GC/MS.

Quando se fala em análise envolvendo identificação e quantificação de compostos orgânicos no ambiente, algumas dificuldades inerentes devem ser consideradas (REEVE, 1994):

- a presença de uma grande variedade de diferentes tipos de compostos;
- um grande número de compostos que podem ser detectados em uma simples amostra;
- a complexidade, muitas vezes necessária, no pré-tratamento das amostras (por exemplo, extração, concentração e separação).

Quando se usa um GC/MS, os dois primeiros itens deixam de ser tão problemáticos, pois este sistema possibilita a determinação de um número razoável de compostos individuais que já sejam conhecidos. Além disso a técnica GC/MS permite alguns refinamentos inexistentes em outros métodos de análise (monitoramento de íons, impacto eletrônico e ionização química positiva).

No desenvolvimento do método a escolha por ionização química (CI) e/ou impacto eletrônico (EI), bem como do íon a ser monitorado, deve levar em consideração a especificidade e a sensibilidade da análise, para que possam ser obtidos bons limites de detecção.

Adicionalmente a estas peculiaridades citadas, deve-se enfatizar que em trabalhos desta natureza a exatidão dos resultados analíticos é grandemente influenciada pelas etapas de pré-tratamento.

Os limites de detecção para GC/MS variam de composto para composto em função do tipo de pré-tratamento usado e com as condições empregadas nos estágios, tanto de GC como de MS. Os limites de detecção ficam na faixa de sub-micrograma por litro e, quando do monitoramento de um único íon, pode-se atingir a faixa de pg/L.

Por todos os motivos acima citados, a técnica de GC/MS tem sido amplamente utilizada em trabalhos de pesquisa relacionados com análise ambiental, principalmente pela facilidade que este sistema oferece quanto à obtenção de informações para os mais diferentes compostos. A principal aplicação da técnica de GC/MS, tem sido na identificação de um grande número de compostos orgânicos, particularmente no que diz respeito a avaliação de níveis de poluição por materiais sintéticos e/ou na detecção de substâncias potencialmente prejudiciais produzidas nos processos de purificação de água para consumo humano e incineração de resíduos sólidos.

O funcionamento do GC/MS pode ser resumidamente descrito como: a amostra proveniente da coluna cromatográfica entra na fonte de íons onde, através de um processo de impacto com elétrons de alta energia (geralmente 70 eV) são gerados íons positivos e negativos. Os íons positivos formados são acelerados em direção ao analisador de massas que pode ser um quadrupolo. Variando-se o campo elétrico no quadrupolo pode-se efetuar uma varredura de massas sendo os íons selecionados, direcionados para um sistema de detecção de íons, geralmente uma multiplicadora de elétrons. Como resultado obtém-se um espectro de massas típico do composto em análise. Neste processo, estudando-se os íons produzidos pode-se determinar a estrutura da molécula que foi fragmentada. Em geral, os detectores de massas são dotados de biblioteca de dados que armazena dezenas de milhares de espectros de massas. Desta forma, torna-se possível confrontar-se o espectro obtido para o composto de interesse com aquele da biblioteca (LANÇAS, 1993).

## **5 ASPECTOS EXPERIMENTAIS**

---

### **5.1. Reagentes e Solventes**

#### **5.1.1. Adsorventes: Cartuchos com Sílica Ligada a Grupos Octadecil (C18 ou tC18)**

Para a SPE utilizou-se cartuchos comerciais do tipo Sep-Pak Plus da Waters com 360,0 mg de fase sólida, C18 e tC18 sem qualquer tratamento prévio. O controle da pureza dos cartuchos foi realizado através de um teste em branco por GC/ECD.

### **5.1.2. Solventes e Padrões**

Utilizaram-se padrões clorados grau p.a. (Aldrich e Helix Biotec), e solventes grau p.a. (Merck) e grau pesticida (Grupo Química).

### **5.1.3. Preparação dos Reagentes e da Vidraria**

#### **5.1.3.1. Limpeza da Vidraria**

A vidraria utilizada é lavada com água e detergente neutro seguida de lavagem com água em abundância e enxaguada com água destilada.

A vidraria comum após lavagem é colocada em forno por 30 min a 300 °C. O material volumétrico ou plástico é lavado com acetona p.a. seguida de hexano p.a. e secagem à temperatura ambiente. A vidraria é, então, envolta em papel alumínio e estocada em ambiente limpo.

#### **5.1.3.2. Purificação da Água**

Utilizou-se em todo o processo água bidestilada.

#### **5.1.3.3. Destilação do Anidrido Acético**

O anidrido acético utilizado no trabalho é tridestilado, sendo coletadas a fração destilada entre 138 °C e 140 °C. O anidrido acético tridestilado é acondicionado em frasco escuro e mantido na temperatura de -4 °C, a fim de minimizar a decomposição para ácido acético. O anidrido acético tridestilado é utilizado por no máximo um mês.

#### **5.1.3.4. Secagem e Estocagem do Sulfato de Sódio**

O sulfato de sódio anidro é seco por 12 h a 400 °C e guardado em dessecador.

## 5.2. Preparação das Soluções Estoque e Padrões dos CoFCs

Foram preparadas 25 soluções estoques individuais (24 CoFCs e o Padrão Interno – 2,4,6-tribromofenol), conforme a identificação apresentada na Tabela VIII, na concentração de  $1000,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  por dissolução de 100,0 mg de cada padrão analítico puro em acetona grau pesticida e diluição a 100,0 mL em balão volumétrico.

A partir das soluções estoques preparou-se duas soluções padrão: uma contendo os 24 compostos fenólicos clorados (CoFCs) na concentração de  $10,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , outra contendo apenas nove dos 24 CoFCs. Os nove CoFCs presentes na mistura padrão parcial estão assinalados na Tabela VIII. A mistura padrão parcial foi preparada para facilitar o tratamento dos dados no desenvolvimento da metodologia. As misturas padrão total e parcial foram produzidas por meio da adição de alíquotas de 100  $\mu\text{L}$  das soluções estoque em balão volumétrico de 10,0 mL. O volume foi completado com água bidestilada. As soluções estoque e padrão foram guardadas no refrigerador a  $4^\circ\text{C}$  envoltas em alumínio, para minimizar a decomposição.

Tabela VIII: Identificação Numérica dos CoFCs Contidos na Solução Padrão

Nome	Sigla	Número	Nome	Sigla	Número
2-Clorofenol	2P	1	4-Clorocatecol	4C	13
3-Clorofenol	3P	2	4,6-Dicloroguaicol	*46G	14
4-Clorofenol	4P	3	4,5-Dicloroguaicol	45G	15
2,6-Diclorofenol	26P	4	3,5-Diclorocatecol	*35C	16
2,4-Diclorofenol	24P	5	6-Clorovanilina	6V	17
3,5-Diclorofenol	*35P	6	4,5-Diclorocatecol	45C	18
2,3-Diclorofenol	23P	7	4,5,6-Tricloroguaicol	*456G	19
3,4-Diclorofenol	34P	8	5,6-Diclorovanilina	*56V	20
2,4,6-Triclorofenol	246P	9	2,3,4,5,6-Pentaclorofenol	*23456P	21
2,3,6-Triclorofenol	236P	10	3,4,5,6-Tetracloroguaicol	3456G	22
2,3,5-Triclorofenol	*235P	11	3,4,5-Triclorosiringol	*345S	23
2,4,5-Triclorofenol	245P	12	3,4,5,6-Tetraclorocatecol	*3456C	24

\*compostos presentes na mistura padrão parcial

As soluções padrões nas concentrações de  $1,0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  $5,0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  $10,0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  $20,0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  e  $320,0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  utilizadas no trabalho foram preparadas por

diluição do padrão na concentração de  $10,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , e o volume completado com água bidestilada.

### 5.3. Caracterização da Amostra

A amostra consistiu no efluente da fábrica de celulose Cambará S/A Produtos Florestais, localizada no município de Cambará do Sul/RS. As amostras foram acondicionadas em frasco escuro no refrigerador a  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  por no máximo 24 h. A fábrica de celulose utiliza como madeira o *Pinus Taeda* (softwood). O processo de branqueamento da celulose utilizado pela indústria é CCoD (Cloração, Extração Alcalina, Dióxido de Cloro) e o ponto de coleta da amostra foi a entrada da estação de tratamento de efluentes. O efluente encontrava-se em pH 2.

### 5.4. Extração Líquido/Líquido

A LLE foi usada como método referência para fins de comparação.

#### **Procedimento:**

A solução padrão (10,0 mL), contendo os CoFCs derivatizados conforme item 5.6, foi transferida para um funil de separação onde é extraída com três porções de 10,0 mL de hexano grau pesticida. O extrato assim obtido passa por uma coluna contendo 6,0 g de sulfato de sódio anidro para reter a umidade e é evaporado a 1,0 mL com nitrogênio ultra puro.

### 5.5. Extração com C18 e tC18

Apesar da existência de um sistema comercial que utiliza SPE para pré-concentração, consistindo de uma caixa de vácuo, onde se pode trabalhar com vários cartuchos ao mesmo tempo, optou-se no presente trabalho por um sistema de manuseio individual das amostras e colunas, reduzindo, assim, a possibilidade

de contaminação. A Figura 6 mostra o sistema construído para o desenvolvimento deste trabalho e a Figura 7 apresenta um esquema do procedimento usado.

**Procedimento:**

O cartucho é adaptado na rolha de teflon, que fecha o kitasato. Condiciona-se a fase sólida com 5,0 mL de metanol e 20,0 mL de água bidestilada, tendo-se o cuidado de não secar o cartucho (BELTRAN, 1993). A amostra (ou solução padrão) derivatizada, é percolada através do cartucho, mantendo-se um fluxo de 5,0 mL/min, utilizando bomba d'água para produzir o vácuo necessário ao sistema.

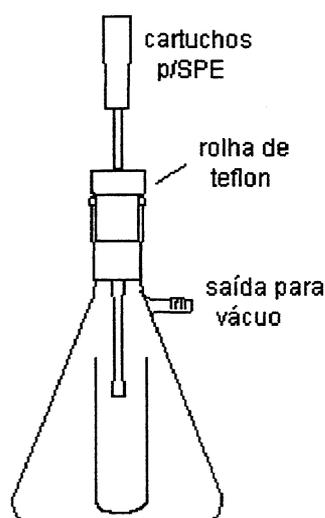


Figura 6: Sistema Utilizado para SPE com Cartuchos Comerciais

O eluato (volume total da solução aquosa que passou pelo cartucho de SPE) foi reservado para posterior extração líquido/líquido com hexano a fim de verificar a presença de analitos que não tenham ficado retidos na fase sólida.

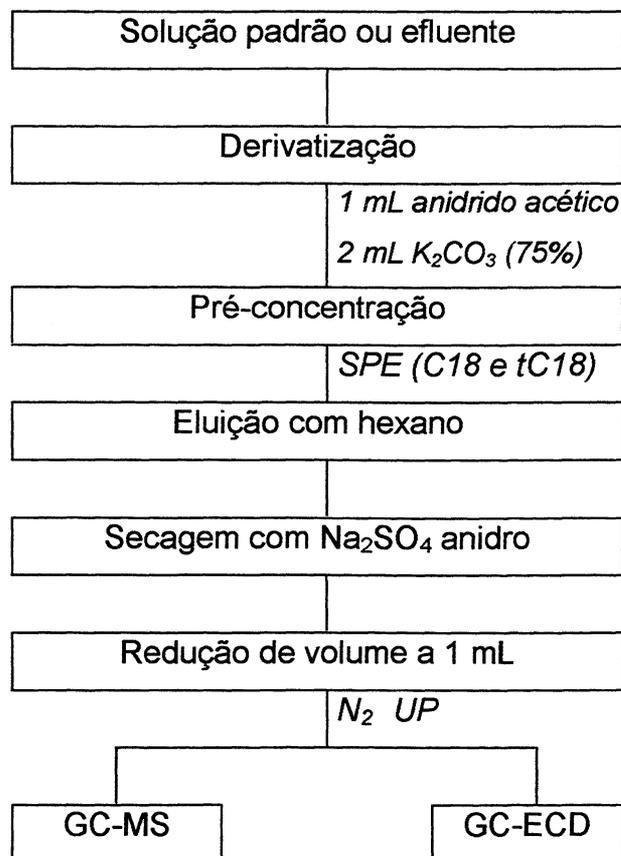


Figura 7: Fluxograma do Procedimento Geral para SPE

Adiciona-se 0,3 mL de acetona grau pesticida, para retirar a água do sistema, os analitos foram eluídos com 10,0 mL de hexano grau pesticida. O eluído é coletado em um tubo de ensaio adaptado dentro do kitasato. O hexano com os analitos foi seco ao passar por uma coluna contendo 6,0 g de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, sustentada com lã de quartzo. Adicionou-se 10,0 µL do P.I. preparado conforme o item 5.7. Reduziu-se o volume do eluído a 1,0 mL, usando nitrogênio gasoso (99,999% de pureza UP) e 1,0 µL do extrato assim obtido foi analisado cromatograficamente.

## 5.6. Derivatização

A amostra (ou solução padrão) foi transferida para um erlenmeyer, sendo que para o efluente ajustou-se o pH até 7,0 com K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, procede-se a

derivatização adicionando 2,0 mL de  $K_2CO_3$  (75%) e 1,0 mL de anidrido acético tridestilado. O sistema foi mantido sob agitação magnética durante 15 minutos (tempo necessário para que a reação de derivatização se complete) (PIZZOLATO, 1997).

### 5.7. Preparação do Padrão Interno

O padrão interno foi derivatizado em separado para garantir que não haja influência da SPE na sua concentração. Isto foi necessário por não existir padrão interno acetilado comercial.

Preparou-se 10,0 mL de solução contendo apenas o padrão interno, em água bidestilada, a partir de uma alíquota de 250  $\mu$ L da solução estoque na concentração de 1000  $mg.L^{-1}$ . Esta solução de padrão interno em água na concentração de 25,0  $\mu g.L^{-1}$  foi derivatizada com 4,0 mL de  $K_2CO_3$  (75%) e 2,0 mL de anidrido acético tridestilado. O sistema foi mantido sob agitação magnética durante quinze minutos. A solução foi transferida para um funil de separação e extraída com três porções de 10,0 mL de hexano grau pesticida. O extrato passou por uma coluna contendo 6,0 g de  $Na_2SO_4$  anidro e evaporado a 10,0 mL com nitrogênio ultra puro. Alíquotas de 10,0  $\mu$ L do PI foram adicionadas, no momento da evaporação, nas soluções padrão e no efluente.

### 5.8. Determinação da Saturação da Fase Sólida

Para a determinação da saturação da fase sólida preparou-se 10 mL das soluções padrão parciais nas concentrações de 10,0  $mg.L^{-1}$ , 15,0  $mg.L^{-1}$ , 20,0  $mg.L^{-1}$  e 25,0  $mg.L^{-1}$ . Utilizou-se dois cartuchos conectados em série (MUBMANN, 1994). Desta forma, quando ocorrer a saturação do primeiro cartucho, os analitos excedentes ficarão retidos no segundo cartucho. Fez-se a eluição somente do segundo cartucho conforme descrito no item 5.4., sendo realizada a análise cromatográfica do material retido no segundo cartucho.

### 5.9. Determinação do Melhor Volume a ser Usado

O melhor volume de amostra a ser utilizado foi definido a partir de soluções padrão contendo a mesma quantidade de analito (0,125 µg) e variando o volume. Foram utilizados os volumes de 10 mL, 50 mL, 100 mL, 500 mL e 1.000 mL, nas concentrações de 12,5 µg.L<sup>-1</sup>, 2,5 µg.L<sup>-1</sup>, 1,25 µg.L<sup>-1</sup>, 0,250 µg.L<sup>-1</sup> e 0,125 µg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. O eluato de cada experimento (volume total de solução aquosa que passou pelo cartucho) foi submetido à extração líquido-líquido, a fim de verificar a presença de CoFCs não retidos por SPE. Os concentrados de CoFCs dos dois procedimentos para cada volume extraído (SPE e LLE), foram analisados cromatograficamente.

### 5.10. Análise Instrumental

Para análise quantitativa dos CoFCs foi utilizado um cromatógrafo gasoso (GC) da Varian Equipamentos Científicos S/A, modelo 3400Cx, com detector de captura de elétrons (ECD) com fonte de <sup>63</sup>Ni, no modo de injeção SPI. A coluna capilar utilizada foi uma SPB-5 (30,0 m x 0,32 mm x 0,25 µm).

Para a confirmação e identificação dos CoFCs utilizou-se um cromatógrafo gasoso (GC) da Hewlett Packard, com detector seletivo de massas modelo HP5960/HP5973, com sistema de injeção split/splitless, tendo sido utilizado no modo splitless. A coluna capilar utilizada foi HP-1 (50,0 m x 0,25 mm x 0,20 µm).

As condições usadas para a análise tanto dos padrões clorados como das amostras reais estão apresentadas na Tabela IX.

Tabela IX: Condições Cromatográficas Utilizadas na Análise por GC/ECD e GC/MS

	<b>GC/ECD</b>	<b>GC/MS</b>
Modo de injeção	SPI	Splitless
Volume de amostra	1,0 $\mu\text{L}$	2,0 $\mu\text{L}$
Temperatura do injetor	250 $^{\circ}\text{C}$	250 $^{\circ}\text{C}$
Temperatura do detector	324 $^{\circ}\text{C}$	250 $^{\circ}\text{C}$
Temperatura inicial	70 $^{\circ}\text{C}$	70 $^{\circ}\text{C}$
Tempo inicial	0	0
Vel. de aquecimento 1	10 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$	1 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$
Temperatura final 1	120 $^{\circ}\text{C}$	290 $^{\circ}\text{C}$
Tempo final 1	0	15 min
Vel. de aquecimento 2	3 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$	-
Temperatura final 2	180 $^{\circ}\text{C}$	-
Tempo final 2	5 min	-
Vel. de aquecimento 3	10 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$	-
Temperatura final 3	290 $^{\circ}\text{C}$	-
Tempo final 3	15 min	-
Gás de arraste	Hidrogênio	Hélio
Pressão na cabeça da coluna	5 PSI	12 PSI
Gás do detector	Nitrogênio (21 mL $\cdot$ min $^{-1}$ )	-

### 5.10.1. Determinação dos Limites de Detecção para o GC/ECD

O Limite de Detecção é normalmente definido como o valor da concentração de um composto requerido para produzir um sinal três vezes maior que o desvio padrão do sinal de fundo (ruído) (CHRISTIAN, 1996). Um composto será considerado detectado se a sua concentração na matriz for igual ou superior ao seu limite de detecção. Para os CoFCs monoclorados o limite de detecção foi determinado preparando-se soluções padrão derivatizadas contendo todos os monoclorados e o PI em concentrações crescentes partindo-se de 1,0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Para os CoFCs diclorados utilizou-se o mesmo procedimento dos monoclorados. Para os demais CoFCs não foi determinado o limite de detecção.

### 5.10.2. Determinação da Faixa de Linearidade do Detector (ECD)

A determinação da linearidade do detector de captura de elétrons foi realizada usando-se misturas padrão nas concentrações de 5,0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,

10,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$  e 20,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Usou-se 10,0 mL de cada solução no procedimento descrito conforme a Figura 7.

### 5.10.3. Confirmação da Identidade dos CoFCs por GC/ECD

Foram adquiridos 24 padrões de CoFCs sendo todos usados na análise qualitativa e apenas nove usados na análise quantitativa. Para determinar o tempo de retenção de cada composto e para confirmação da identidade dos CoFCs por GC/ECD, foi preparada 10,0 mL de uma solução padrão contendo todos os padrões e o PI na concentração de 10,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Esta solução foi preparada em balão volumétrico, pela adição de 10,0  $\mu\text{L}$  da solução padrão contendo todos os analitos na concentração de 10,0  $\text{mg.L}^{-1}$  e o volume completado com água bidestilada. A solução preparada foi submetida ao procedimento descrito no item 5.5. As condições cromatográficas estão descritas na Tabela IX.

Para confirmação da ordem de eluição dos CoFCs descrita na literatura (LEE, 1989) foram preparadas cinco soluções padrão para identificação individual dos analitos. As soluções foram submetidas ao procedimento descrito no item 5.5.

Solução 1: 2,6-diclorofenol; 3,4-diclorofenol; 2,4,5-triclorofenol; 4,5-diclorocatecol; 5,6-diclorovanilina; padrão interno, todos na concentração de 10,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$ .

Solução 2: 2,4-diclorofenol; 2,4,6-triclorofenol; 2,3,5-triclorofenol; 4,5-dicloroguaiacol; 4,5,6-tricloroguaiacol; 3,4,5-triclorosiringol; padrão interno, todos na concentração de 10,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$ .

Solução 3: 3,5-diclorofenol; 2,3,6-triclorofenol; 4,6-dicloroguaiacol; 3,5-diclorocatecol; 3,4,5,6-tetracloroguaiacol; padrão interno, todos na concentração de 10,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$ .

Solução 4: 2,3-diclorofenol; 6-clorovanilina; 2,3,4,5,6-pentaclorofenol; 3,4,5,6-tetraclorocatecol; padrão interno, todos na concentração de 10,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$ .

Solução 5: 2-clorofenol; 3-clorofenol; 4-clorofenol; 4-clorocatecol, na concentração de 320,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$  e padrão interno na concentração de 10,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$ .

#### 5.10.4. Identificação dos CoFCs por GC/MS

Para identificação dos CoFCs por GC/MS, preparou-se uma solução padrão de concentração  $10,0 \text{ mg.L}^{-1}$  para cada CoFC e o PI. A solução foi submetida ao procedimento descrito no item 5.5, sem a etapa de ajuste de pH. O padrão assim preparado foi reduzido quase a secura, para posterior injeção no GC/MS.

Para a análise da amostra, preparou-se 10,0 mL de efluente conforme o descrito no item 5.5. O mesmo, foi evaporado, até quase a secura e injetado no GC/MS.

Para análise via GC/MS usou-se as condições apresentadas na Tabela X, usando o método de detecção SIM. Os íons monitorados foram selecionados a partir dos espectros de massas dos padrões (PIZZOLATO, 1997), e estão apresentados na Tabela X.

Tabela X: Principais Fragmentos de Massa (m/e) Monitorados para os 24 CoFCs Presentes na Solução Padrão

Composto	(m/e)	Composto	(m/e)
2P	170, 128	4C	228, 186, 144
3P	170, 128	46G	234, 192, 177
4P	170, 128	45G	234, 192, 177
26P	204, 162	35C	262, 220, 178
24P	204, 162	6V	228, 186, 171
35P	204, 162	45C	262, 220
23P	204, 162	456G	268, 226, 211
34P	204, 162	56V	262, 220, 205
246P	238, 196	23456P	306, 264
236P	238, 196	3456G	302, 260, 245
235P	238, 196	345S	298, 256, 241
245P	238, 196	3456C	330, 288, 246

### 5.10.5. Análise Quantitativa dos CoFCs por GC/ECD

Os fatores de resposta e os cálculos das concentrações dos CoFCs nos efluentes analisados foram determinados a partir da injeção de uma mistura padrão a  $20,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ , preparada no mesmo dia em que foi realizada a extração de cada efluente. Todas as determinações foram realizadas em triplicata de extração e triplicata de injeção. Utilizou-se o método de padronização interna para a quantificação dos CoFCs nos efluentes.

A partir das áreas da solução padrão na concentração de  $20,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ , calcula-se os fatores de resposta relativos (FRR) dos analitos em relação ao padrão interno (PI). O FRR de cada analito é introduzido no cálculo da concentração do mesmo no efluente.

Os cálculos das concentrações foram baseados nas equações de 1 a 3:

Para a solução padrão na concentração de  $20 \mu\text{g.L}^{-1}$ :

$$\text{FR}_{\text{AP}} = \frac{\text{área do pico Ap}}{[\text{Ap}]} \quad (1.a)$$

e

$$\text{FR}_{\text{PI}} = \frac{\text{área do pico PI}}{[\text{PI}]} \quad (1.b)$$

Logo:

$$\text{FRR}_A = \frac{\text{FR}_{\text{AP}}}{\text{FR}_{\text{PI}}} \quad (1.c)$$

ou ainda:

$$\text{FRR}_A = \left[ \frac{\text{área do pico Ap}}{[\text{Ap}]} \right] \times \left[ \frac{[\text{PI}]}{\text{área do pico PI}} \right] \quad (2)$$

Onde:  $\text{FR}_{\text{AP}}$  = fator de resposta do composto A na solução padrão

$\text{FR}_{\text{PI}}$  = fator de resposta do composto adicionado como padrão interno, na solução padrão

$\text{FRR}_A$  = fator de resposta relativo do composto A

$[\text{Ap}]$  = concentração do composto A na solução padrão

$[\text{PI}]$  = concentração do padrão interno na solução padrão

Para os dados dos efluentes temos:

$$[A]_E = \left[ \frac{\text{área do pico } A_E}{FRR_A} \right] \times \left[ \frac{[PI]_E}{\text{área do pico } PI_E} \right] \quad (3)$$

Onde:

$[A]_E$  = concentração do composto A no efluente

$[PI]_E$  = concentração do PI no efluente

## **6 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

---

### **6.1. Determinação dos Limites de Detecção**

Cromatografando (GC/ECD) as soluções padrão com diferentes concentrações, encontrou-se um valor mínimo detectável de 320,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$  para os compostos monoclorados e para os diclorados encontrou-se o valor de 2,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$ .

## 6.2. Identificação dos CoFCs na Mistura Padrão

### 6.2.1. Identificação por GC/ECD

O cromatograma da solução padrão dos CoFCs na concentração de 10,0 µg/L obtido por GC/ECD, é apresentado na Figura 8. Os compostos estão numerados conforme apresentado na Tabela VIII. A identificação dos picos desta mistura padrão foi realizada comparando-se os tempos de retenção relativos das 5 misturas padrões parciais descritas no item 5.10.3. com os tempos de retenção relativos da mistura padrão total e utilizando-se a ordem de eluição dos compostos propostas por LEE (1989).

Como todas as misturas padrões parciais foram injetadas nas mesmas condições (Tabela IX) que a mistura padrão total, os picos da mistura padrão total foram identificados comparando-se seus tempos de retenção relativos com os tempos de retenção relativos das misturas padrões parciais.

A Tabela XI apresenta a comparação dos tempos de retenção relativos ao padrão interno das misturas padrões parciais com os tempos da mistura padrão total.

### 6.2.2 Identificação por GC/MS

A partir da mistura padrão preparada conforme os itens 5.2. e 5.5., todos os compostos foram identificados, conforme mostra o TIC (*Total Ion Chromatogram*) apresentado na Figura 9.

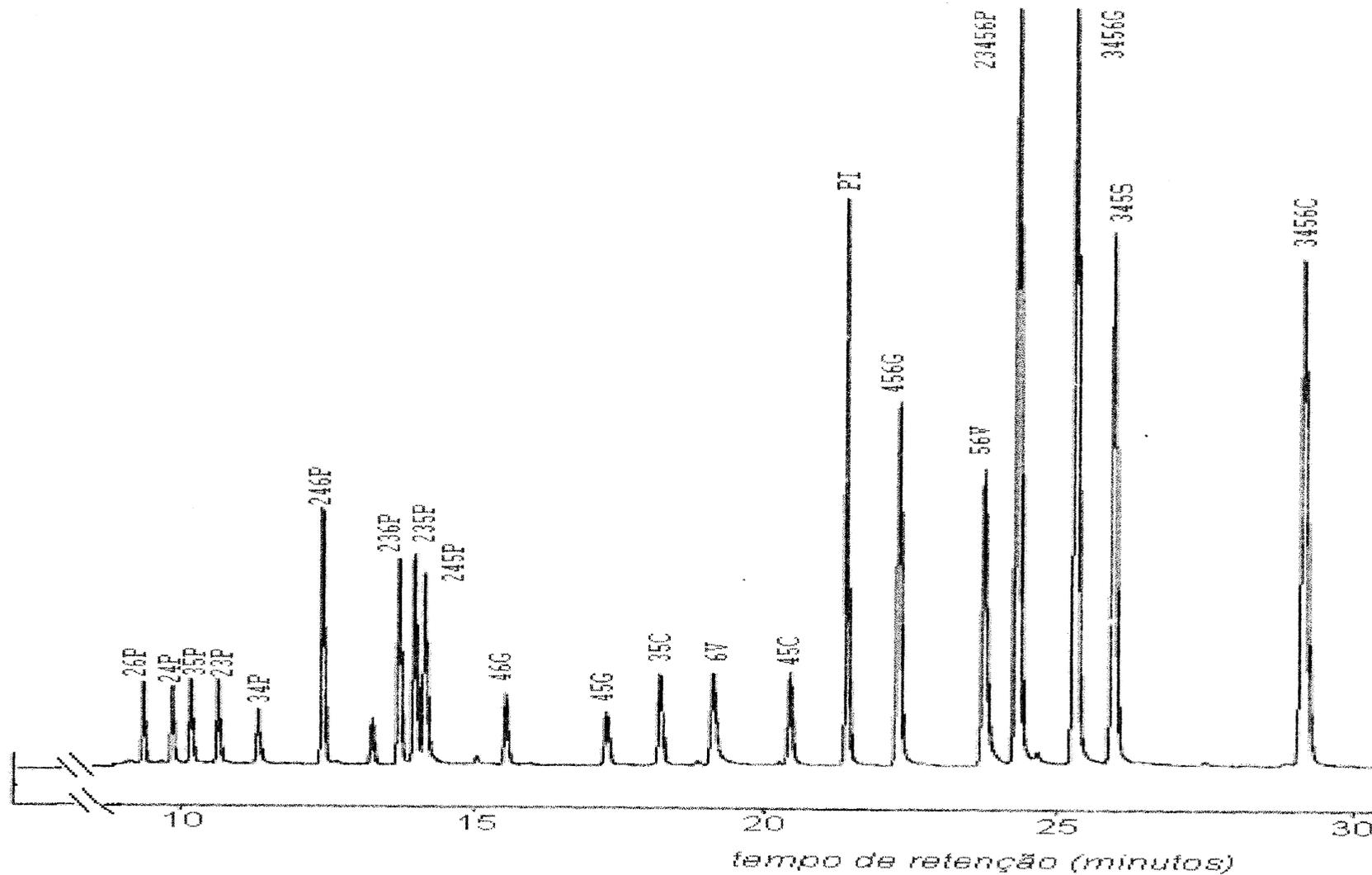


Figura 8 – Cromatograma de GC/ECD da Solução Padrão na Concentração de 10,0  $\mu\text{g/L}$  (condições cromatográficas descritas na Tabela IX e identificação dos picos na Tabela X).

Tabela XI: Comparação dos Tempos de Retenção Relativos (TRRs) dos Picos da Mistura Padrão Total com o das Soluções Padrões Parciais

Composto	solução total	solução 1	solução 2	solução 3	solução 4	solução 5
2P	*	-	-	-	-	0,34
3P	*	-	-	-	-	0,35
4P	*	-	-	-	-	0,36
26P	0,45	0,46	-	-	-	-
24P	0,47	-	0,48	-	-	-
35P	0,49	-	-	0,50	-	-
23P	0,51	-	-	-	0,51	-
34P	0,54	0,55	-	-	-	-
246P	0,59	-	0,60	-	-	-
236P	0,65	-	-	0,66	-	-
235P	0,66	-	0,67	-	-	-
245P	0,67	0,68	-	-	-	-
4C	*	-	-	-	-	0,72
46G	0,74	-	-	0,74	-	-
45G	0,81	-	0,82	-	-	-
35C	0,85	-	-	0,86	-	-
6V	0,89	-	-	-	0,90	-
45C	0,95	0,95	-	-	-	-
PI	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
456G	1,04	-	1,04	-	-	-
56V	1,10	1,10	-	-	-	-
23456P	1,13	-	-	-	1,13	-
3456G	1,18	-	-	1,17	-	-
345S	1,21	-	1,21	-	-	-
3456C	1,36	-	-	-	1,36	-

\* não detectado na concentração de  $10 \mu\text{g.L}^{-1}$

### 6.3. Desenvolvimento de Metodologia para C18

A metodologia para a SPE foi desenvolvida usando cartuchos de C18, supondo-se que os valores encontrados poderiam ser usados também para o tC18.

Foram investigados a saturação da fase sólida, o melhor volume de amostra a ser usado e o melhor fluxo para a eluição.

### 6.3.1. Determinação do Melhor Fluxo de Eluição na SPE

Foram testados três fluxos ( $1,0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  $2,0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  e  $5,0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ), sendo que não foram observadas diferenças significativas no resultados para os três fluxos, optando-se pelo fluxo de  $5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , o qual permite um menor tempo de análise. O fluxo de  $5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  foi usado na etapa de retenção e de eluição da amostra.

### 6.3.2. Determinação da Saturação da Fase Sólida

A Figura 9 apresenta a comparação entre os cromatogramas (GC/ECD) obtidos para os eluatos (solução aquosa eluída do primeiro cartucho C18 e retida no segundo cartucho, conforme descrito no item 5.8 para cada uma das soluções a  $15,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $20,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  e  $25,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . A solução para  $10,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  não apresentou picos, indicando que não ocorreu saturação da fase sólida para nenhum dos compostos analisados.

Percebe-se pela análise daquela Figura que em  $15,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  saturaram a fase sólida os compostos 456G, 56V, 23456P, 345S e 3456C, em  $20,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  além destes, o composto 35C e em  $25,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  todos os demais usados na solução padrão.

### 6.3.3. Determinação do Melhor Volume da Amostra a ser Analisado em SPE

O melhor volume de amostra a ser utilizado na SPE foi definido a partir dos valores das áreas relativas ao padrão interno de cada composto nas misturas de padrões, conforme mostra da Figura 10. Variou-se o volume de 10,0 a 1000 mL, mantendo a quantidade de analito constante ( $0,125 \mu\text{g}$ ).

Como a quantidade de analito é a mesma, a comparação entre as áreas relativas ao padrão interno dá uma medida da eficiência do procedimento de pré-concentração usado. Conforme se observa nesta Figura, a variação obtida na área não é muito significativa, por esta razão e pensando em se ter o menor tempo total de análise, optou-se pelo volume de 10,0 mL.

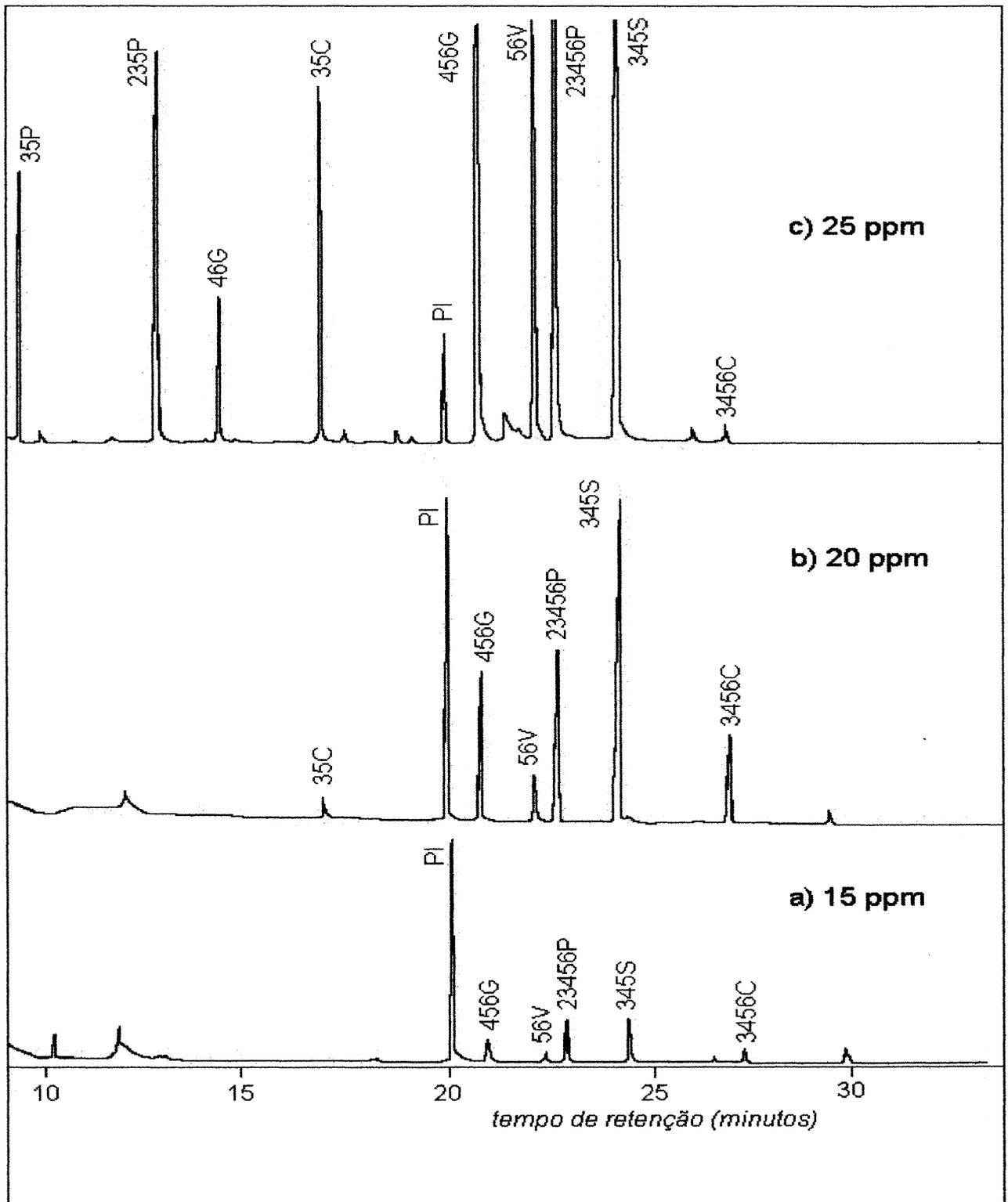


Figura 9: Cromatograma (GC/ECD) dos CoFCs Retidos no Segundo Cartucho para as Soluções: (a) 15,0 mg.L<sup>-1</sup>, (b) 20,0 mg.L<sup>-1</sup> e (c) 25,0 mg.L<sup>-1</sup>

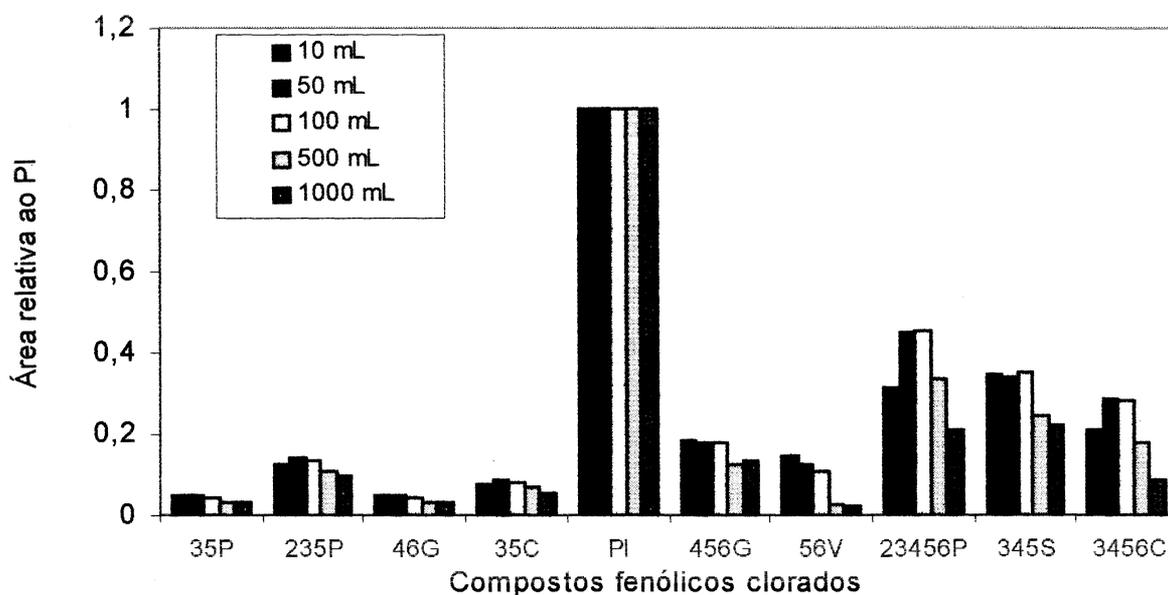


Figura 10: Determinação do Melhor Volume para a SPE

#### 6.4. Determinação do Comportamento de Resposta do Detector de Captura de Elétrons

A Tabela XII apresenta os coeficientes de correlação e o desvio padrão para cada composto na faixa de concentração entre 5,0 e 20,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Os coeficientes de correlação foram obtidos utilizando-se todos os pontos.

Tabela XII: Coeficiente de Correlação com o Respetivo Desvio Padrão para a Regressão Linear da Resposta do Detector

Composto	Coeficiente de correlação	$\sigma$	Composto	Coeficiente de correlação	$\sigma$
26P	0,997	0,012	46G	0,993	0,019
24P	1,000	0,005	45G	0,999	0,002
35P	1,000	0,000	35C	0,993	0,022
23P	0,998	0,014	456G	0,998	0,063
34P	0,999	0,008	56V	1,000	0,001
246P	0,994	0,048	23456P	0,996	0,166
236P	0,997	0,037	3456G	0,992	0,270
235P	0,998	0,029	345S	0,996	0,140
245P	0,998	0,028	3456C	0,993	0,068

Faixa de linearidade de 5,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$  a 20,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$

A Figuras 11, 12 e 13 apresentam os gráficos de área relativa ao padrão interno (PI) em função da quantidade de analito presente nas soluções padrão analisadas. Observa-se uma relação linear entre estas variáveis, que é comprovada pelo coeficientes de correlação muito próximos da unidade (Tabela XII).

Pela análise destas Figuras e da Tabela XII pode-se afirmar que nesta faixa de concentração (entre  $5,0 \mu\text{g.L}^{-1}$  e  $20,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) o detector de captura de elétrons usado apresentou linearidade de resposta.

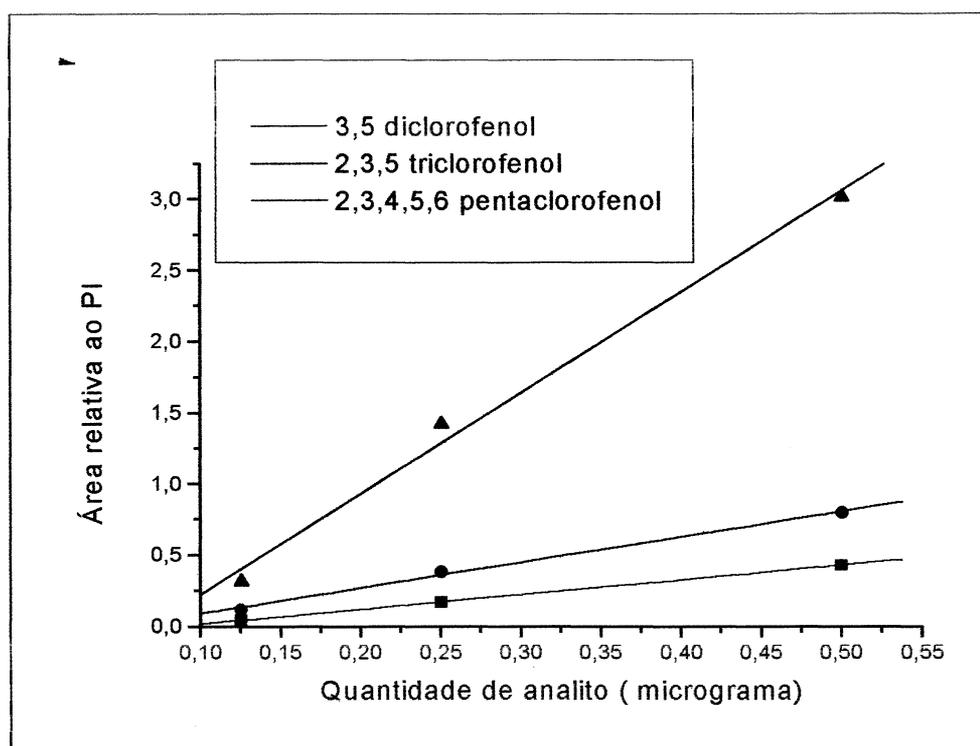


Figura 11: Linearidade de Resposta do GC/ECD à concentração de Clorofenóis

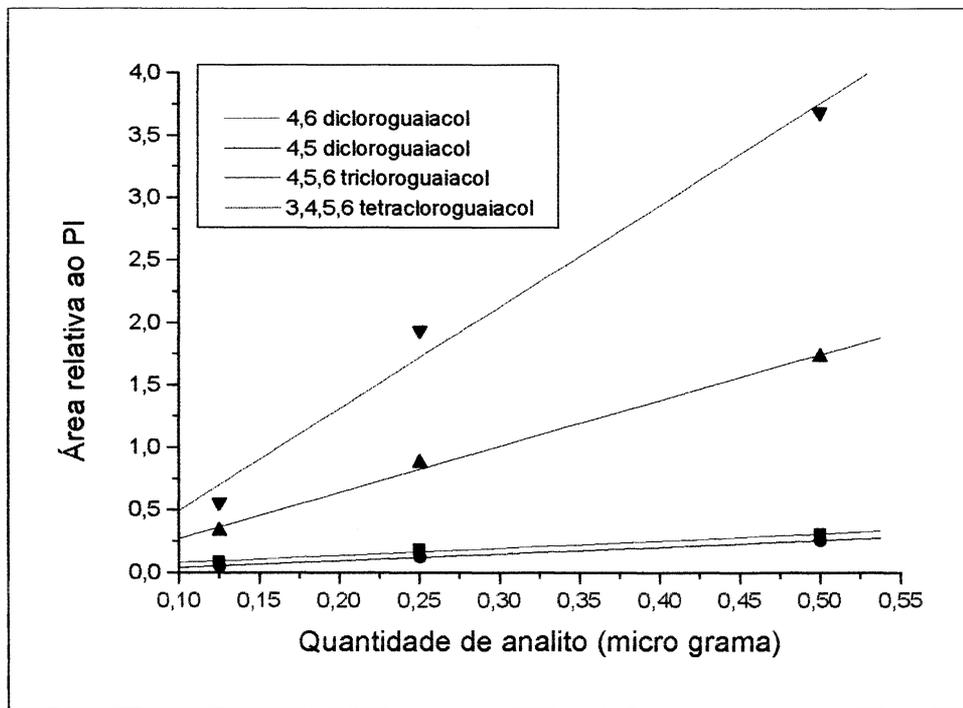


Figura 12: Linearidade de Resposta do GC/ECD à concentração de Cloroguaicóis

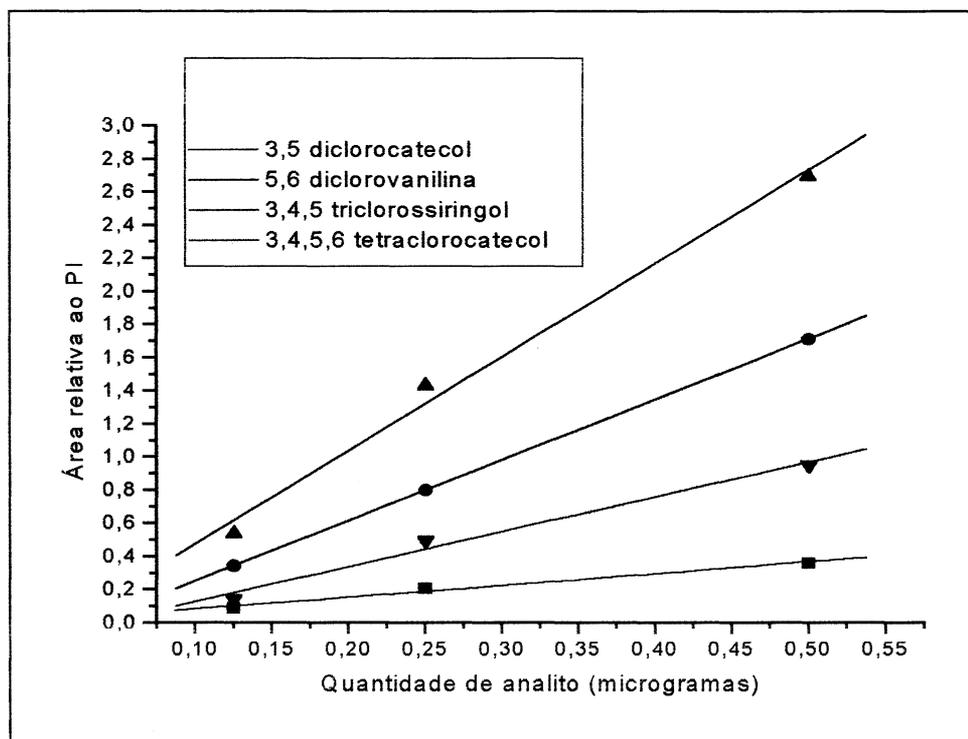


Figura 13: Linearidade de Resposta do GC/ECD à concentração de Clorocatecóis, clorovanilina e clorossiringol

### 6.5. Comparação da SPE com a LLE

A Tabela XIII e a Figura 14 apresentam a comparação entre as áreas relativas de cada CoFC, obtidas a partir das três metodologias usadas: SPE com C18, SPE com tC18 e LLE da solução padrão a  $20,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

Na Tabela XIII encontra-se, também, uma coluna com os coeficientes de variação obtidos para análises realizadas em triplicata e com triplicata de injeção. Estes dados indicam que os resultados são bastante repetitivos.

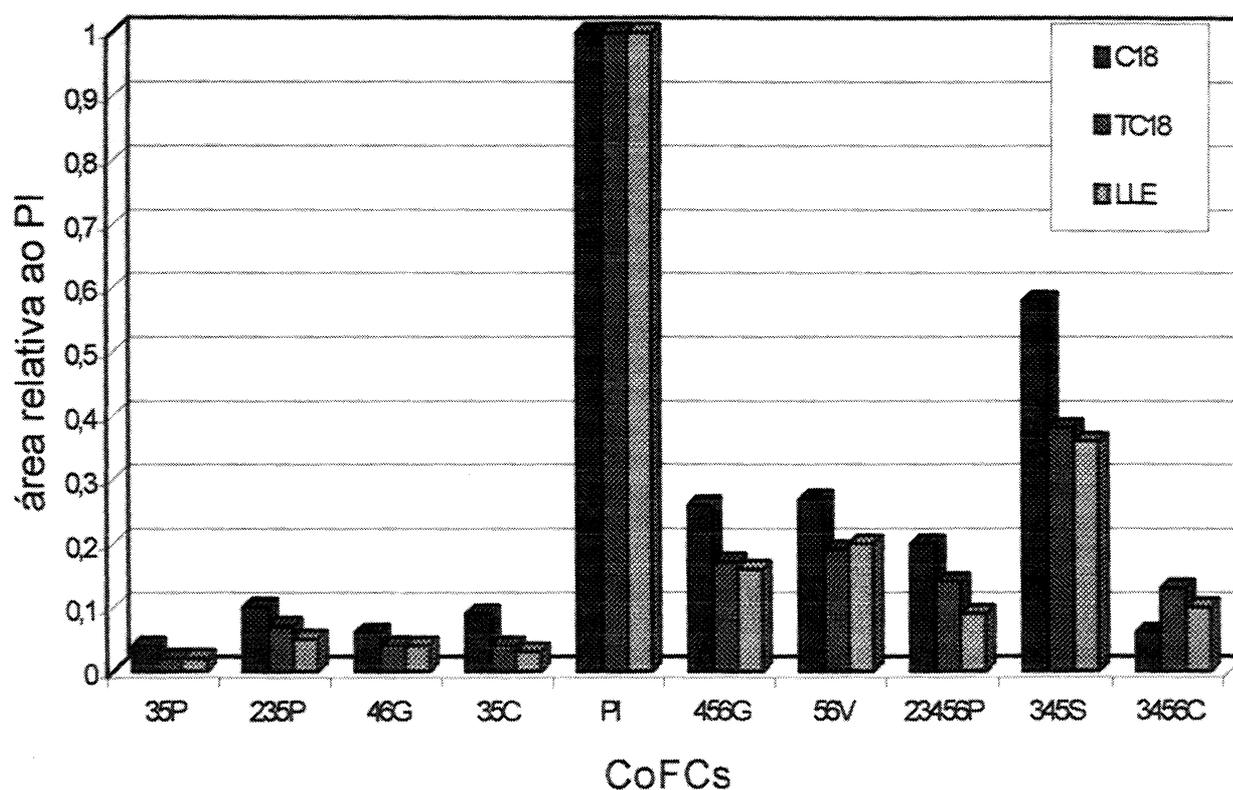


Figura 14: Comparação entre SPE (C18 e tC18) e LLE para CoFCs

Em linhas gerais, pode-se afirmar que a SPE apresenta performance significativamente melhor que a LLE. Observa-se que a SPE com cartuchos C18 apresentou melhor desempenho, com maiores áreas relativas por composto, que as outras duas metodologias.

Tabela XIII: Comparação entre SPE (C18 e tC18) e LLE para CoFCs e Coeficientes de Variação para cada Medida

compostos	C18		tC18		LLE	
	AR(*)	CV(**)	AR	CV	AR	CV
35P	0,04	5,51	0,02	3,66	0,02	2,97
235P	0,10	5,81	0,07	2,43	0,05	2,55
46G	0,06	6,12	0,04	2,58	0,04	2,65
35C	0,09	7,85	0,04	6,27	0,03	11,3
PI	1,00	4,45	1,00	1,97	1,00	2,19
456G	0,26	8,49	0,17	3,80	0,16	3,02
56V	0,27	8,21	0,19	2,29	0,20	3,72
23456P	0,20	6,02	0,14	1,00	0,09	2,49
345S	0,58	6,07	0,38	4,73	0,36	4,10
3456C	0,06	7,78	0,13	3,94	0,10	4,91

(\*) AR = área relativa ao PI

(\*\*) coeficiente de variação  $CV = \frac{\sigma \times 100}{\text{média}}$ 

## 6.6. Aplicação da SPE com Cartuchos C18 aos Efluentes de Branqueamento de Celulose

### 6.6.1. Análise Qualitativa

As Figuras 15, 16 e 17 apresentam os cromatogramas obtidos por GC/ECD para os extratos dos três efluentes de branqueamento de celulose analisados. Os compostos identificados nos efluentes foram: 3,5-diclorofenol, 2,4,6-triclorofenol, 4-clorocatecol, 4,5-dicloroguaiacol, 3,5-diclorocatecol, 6-clorovanilina, 4,5-diclorocatecol, 4,5,6-tricloroguaiacol, 5,6-diclorovanilina, 3,4,5,6-tetracloroguaiacol, 3,4,5-triclorosiringol e 3,4,5,6-tetraclorocatecol.

Foi realizada uma análise via GC/MS para comprovar a identificação dos CoFCs. Esta análise foi realizada no modo SIM e aplicada a um dos efluentes em maior concentração afim de atingir o limite de detecção do GC/MS. Este cromatograma está apresentado na Figura 18.

Como pode ser visto nas Figuras 15, 16 e 17 os efluentes apresentam uma série de outros compostos não identificados, devendo, entretanto, apresentar átomos de cloro ou um outro elemento ávido por elétrons.

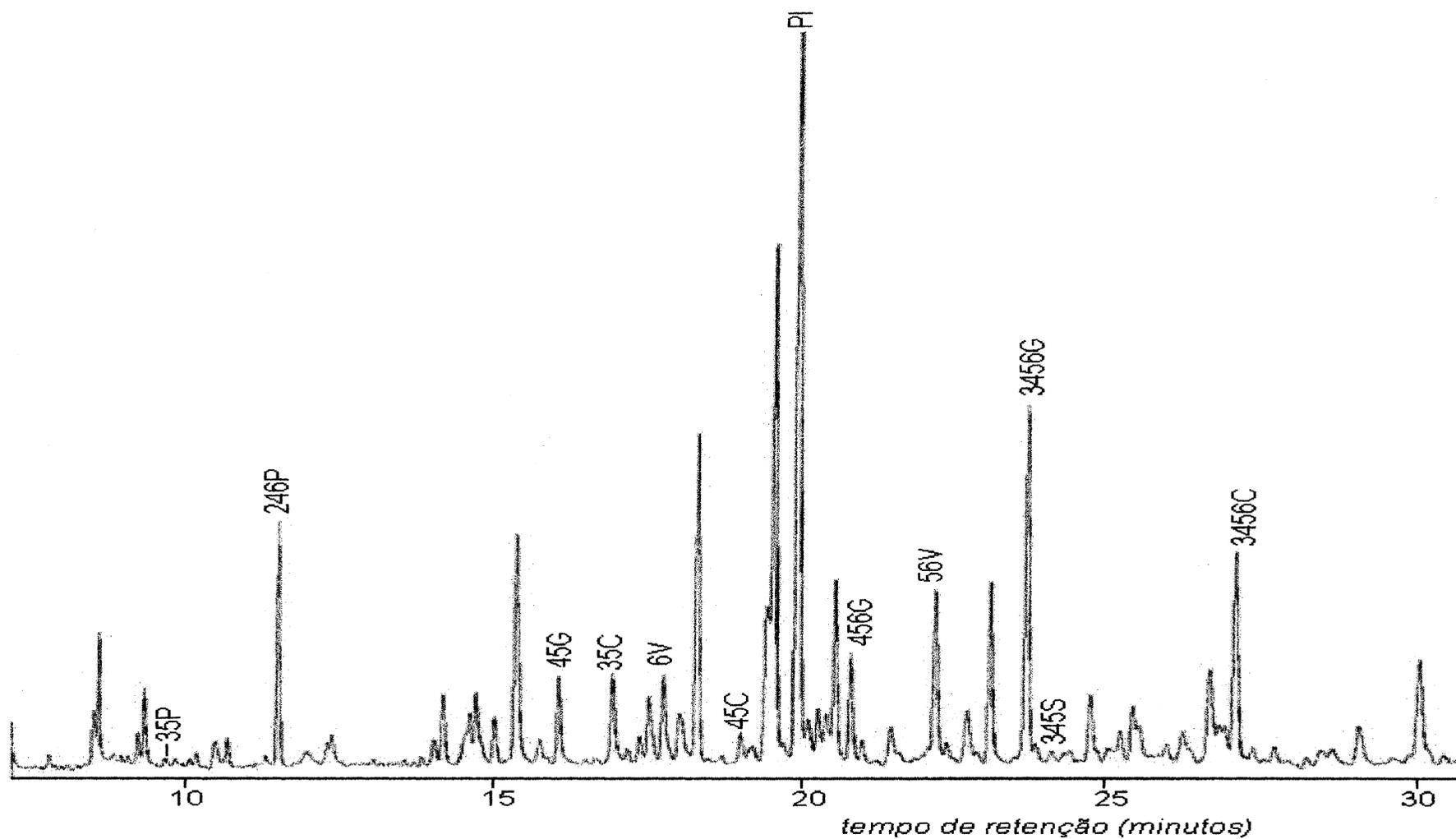


Figura 15: Cromatograma (GC/ECD) do Primeiro Efluente de Branqueamento de Celulose Analisado (condições cromatográficas descritas na Tabela IX e identificação dos picos na Tabela X).

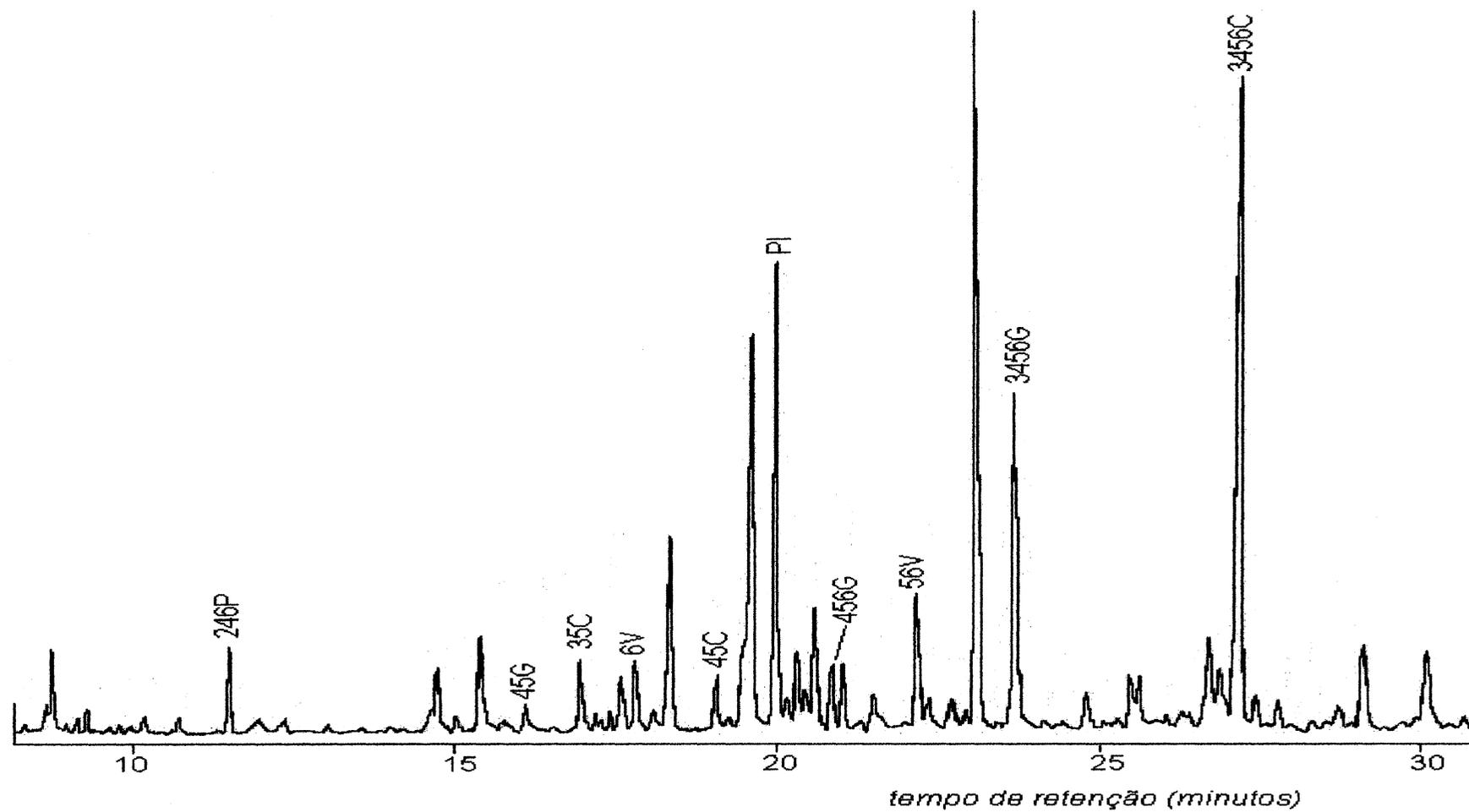


Figura 16: Cromatograma (GC/ECD) do Segundo Efluente de Branqueamento de Celulose Analisado (condições cromatográficas descritas na Tabela IX e identificação dos picos na Tabela X).

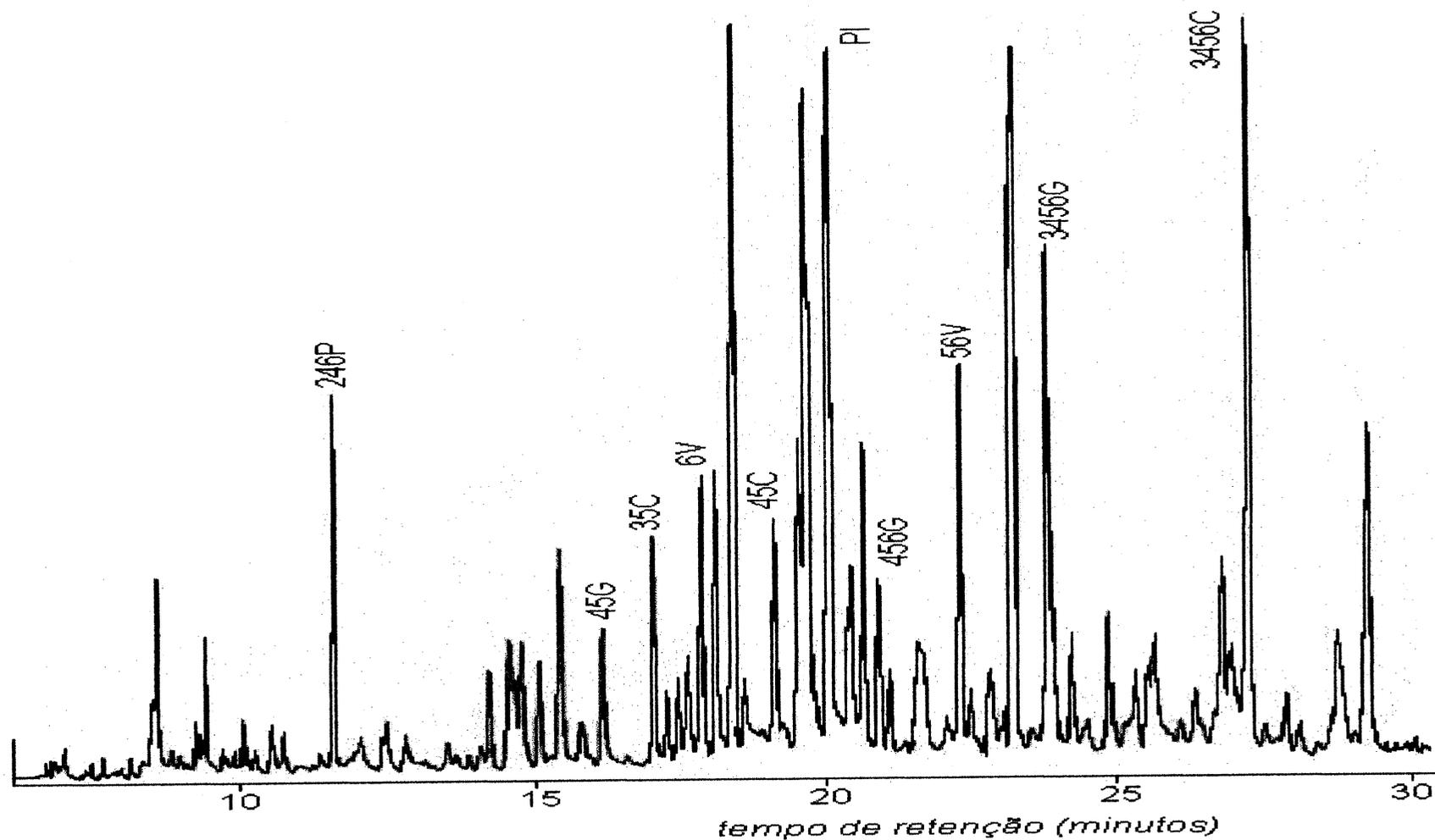


Figura 17: Cromatograma (GC/ECD) do Terceiro Efluente de Branqueamento de Celulose Analisado (condições cromatográficas descritas na Tabela IX e identificação dos picos na Tabela X).

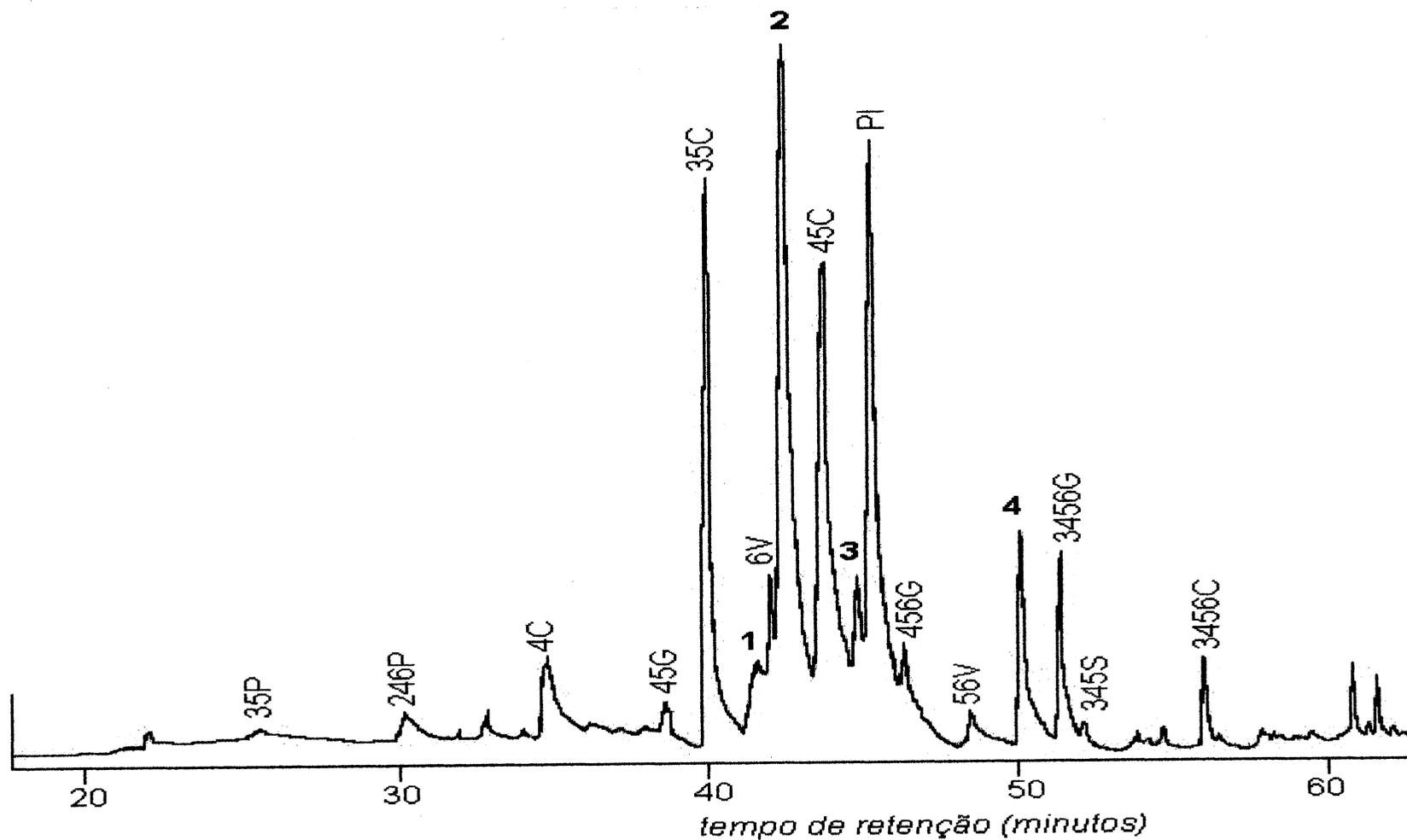


Figura 18: Cromatograma (GC/MS – modo SIM) da Mistura dos Três Efluentes de Branqueamento de Celulose Analisados (condições cromatográficas descritas na Tabela IX e identificação dos picos na Tabela X).

Esta situação não é vista na Figura 19 porque a análise é realizada no modo SIM, monitorando apenas os íons correspondentes aos CoFCs em estudo.

Na Figura 19 são identificados doze CoFCs, ou seja, três compostos além daqueles já identificados via GC/ECD, que são: 35P, 4C e 345S. A concentração destes compostos em cada efluente está abaixo do limite de detecção do GC/ECD, razão pela qual não foram identificados naquele instrumento.

Também, na Figura 19 tem-se a identificação (provável) de outros picos que correspondem a isômeros dos padrões estudados, ou seja, apresentam os mesmos fragmentos de massa. Estes picos estão assinalados com números arábicos e sua identificação está apresentada a seguir:

pico 1 = monoclorovanilina

pico 2 = diclorocatecol

pico 3 = tricloroguaiacol

pico 4 = triclorossiringol

A confirmação da identificação destes compostos só poderia ser realizada com o auxílio de padrões.

### **6.6.2. Análise Quantitativa**

A Tabela XIV apresenta as concentrações encontradas para cada um dos efluentes cujos cromatogramas estão apresentados nas Figuras 16, 17 e 18. A concentração de cada CoFC foi calculada a partir de uma solução padrão a  $20,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ , extraída e injetada no mesmo dia, e usando os cálculos discutidos no item 5.10.5.

Tabela XIV: Concentrações dos CoFCs nos Efluentes de Branqueamento de Celulose

CoFCs	efluente 1		efluente 2		efluente 3	
	conc. $\mu\text{g.L}^{-1}$	$\sigma$ %(*)	conc. $\mu\text{g.L}^{-1}$	$\sigma$ %(*)	conc. $\mu\text{g.L}^{-1}$	$\sigma$ %(*)
246P	38,3	3,5	102	16,5	45,4	18,2
45G	48,5	4,1	42,9	3,9	8,8	5,8
35C	37,9	1,9	73,1	8,8	24,2	11,4
6V	42,4	0,7	55,1	5,4	15,1	1,1
45C	48,9	3,8	120	6,8	17,8	9,2
456G	10,5	3,3	37,3	2,5	11,2	8,7
56V	24,5	5,2	45,0	5,9	12,8	3,2
3456G	15,9	3,2	68,8	10,9	64,9	9,2
3456C	150	5,1	839	8,8	105	1,7

(\*) $\sigma$  % desvio padrão percentual

Como pode ser observado a partir dos dados, apesar dos três efluentes apresentarem os mesmos componentes, a composição quantitativa dos efluentes analisados variou muito, provavelmente devido a pequenas mudanças na carga de cloro ou mesmo no tipo de polpa branqueada.

Os valores de desvios padrão percentual obtidos para a técnica de SPE, vem confirmar o que foi citado no item 3.3.5, sendo esta uma das maiores desvantagens desta técnica, ou seja podem ocorrer grandes variações provocadas por mudanças de lote dos cartuchos comerciais e mesmo entre cartuchos de um mesmo lote. Estas mudanças podem ser provocadas por diferenças no empacotamento ou mesmo na fabricação da fase quimicamente ligada.

Os compostos identificados nos efluentes coincidem com dados da literatura (LEE, 1993). Entretanto, é interessante destacar que vários outros compostos, provavelmente clorados, se encontram nestes efluentes, conforme pode ser visualizado nas Figuras 16, 17 e 18, e não foram identificados nem quantificados. Muitos dos picos apresentam áreas consideravelmente maiores que os CoFCs identificados. A impossibilidade de identificação deve-se a inexistência de padrões no mercado.

### 6.7. Avaliação da Toxicidade dos Efluentes Estudados

Aplicando-se o método sugerido por KOVACS (1993) apresentado na Tabela IV, item 2.6., pode-se calcular a toxicidade total dos três efluentes estudados. Estes dados se encontram na Tabela XV.

Tabela XV: Toxicidade dos Efluentes de Branqueamento de Celulose

	TEF*		
	efluente 1	efluente 2	Efluente 3
246P	7,66	20,5	9,08
45G	4,85	4,29	0,88
35C	3,79	7,31	2,42
6V	1,69	2,20	0,60
45C	4,89	12,0	1,78
456G	2,10	7,46	2,24
56V	2,45	4,50	1,28
3456G	7,95	34,4	32,4
3456C	75,0	420	52,5
toxicidade total	110	512	103

\* TEF Fator de Toxicidade Equivalente

Percebe-se a toxicidade total também sofreu grande variação nos três efluentes e o principal responsável pela mesma é o 3456C, devido à sua elevada concentração e elevado TEF individual.

A toxicidade calculada é medida em ppb (ou  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) e refere-se ao pentaclorofenol, que é congênere mais tóxico dos clorofenóis.

Por exemplo: O efluente 1 tem um TEF = 110 ou a toxicidade equivalente a  $110 \mu\text{g.L}^{-1}$  (ou  $0,110 \text{ mg.L}^{-1}$ ) de pentaclorofenol.

Usando-se os dados da Tabela III (VOSS,1980), segundo a qual a  $\text{LD}_{50}$  para o pentaclorofenol (23456P) é  $0,096 \text{ mg.L}^{-1}$ , pode-se considerar que os três efluentes estão bastante acima deste valor, sendo portanto altamente tóxicos.

## 7 CONCLUSÕES

---

A partir dos resultados apresentados e discutidos, pode-se elaborar as seguintes conclusões:

Entre as metodologias usadas para a extração de CoFCs de soluções aquosas a Extração em Fase Sólida (SPE) apresentou melhor desempenho, sendo que a SPE usando cartuchos C18 apresentou melhores resultados que a SPE usando cartuchos tC18.

A metodologia proposta para SPE apresenta-se como uma técnica rápida, simples e com pouco gasto de solventes. A maior desvantagem apresentada por esta técnica é a baixa reprodutibilidade, com elevados coeficientes de variação.

---

Foram identificados doze CoFCs nos efluentes, sendo nove destes quantificados. A técnica de GC/MS permitiu ainda que se identificasse, de forma tentativa, mais quatro isômeros dos CoFCs padrões usados.

Os três efluentes de branqueamento de celulose analisados apresentaram elevada toxicidade, usando-se a escala de comparação com o pentaclorofenol, que é o congênere mais tóxico dessa espécie.

## **8 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

---

Sugere-se os seguintes trabalhos para a continuação da presente Dissertação de Mestrado:

- 1 Aplicação da Microextração em Fase Sólida na Extração e Análise de CoFCs em Efluentes e Águas Naturais;
- 2 Análise dos demais constituintes encontrados nos efluentes de branqueamento de celulose, usando GC/MS;
- 3 Validação do procedimento.

---

## 9 PRODUÇÃO CIENTÍFICA GERADA

---

O trabalho desenvolvido nesta Dissertação, até a presente data, deu origem a produção científica detalhada abaixo:

1. Título: Compostos Fenólicos Clorados em Efluentes de Branqueamento de Celulose Usando SPE e GC

Evento: COLACRO VII ( Sétimo Congresso Latino-Americano de Cromatografia)

Local: Águas de São Pedro - SP

Data: 25 a 27 de março de 1998

Resumo Publicado nos Anais do Congresso

INSTITUTO DE QUÍMICA, USP  
BIBLIOTECA

---

2. Título: Extração em Fase Sólida aplicada ao estudo de compostos Fenólicos Clorados

Evento: Salão de Iniciação Científica (SIC) - UFRGS

Local: Porto Alegre – RS

Data: Outubro de 1998.

Resumo Publicado nos Anais do Congresso

3. Título: Extração em fase sólida aplicada ao estudo de compostos fenólicos clorados em efluentes aquosos

Evento: VI Encontro de Química da Região Sul

Local: Maringá – PR

Data: 04 a 06 de Novembro de 1998

Resumo Publicado nos Anais do Congresso

4. Título: Extração em Fase Sólida Aplicada ao Estudo de Compostos Fenólicos Clorados em Efluentes Aquosos

Evento: 21ª Reunião Anual da SBQ

Local: Poços de Caldas, MG

Data: maio 1999

Trabalho aceito

## 10 BIBLIOGRAFIA

---

- AGUILAR, C.; BORRULL, F. and MARCÉ, R. M., *J. Chromatogr. A*, v.754, p.77-84, 1996.
- AGUILAR, C.; BORRULL, F. and MARCÉ, R. M., *J. Chromatogr. A*, V. 771, P.221-231, 1997.
- AKERBLOM, M., *J. Chromatogr.*,v.319, p.427-431, 1985.
- D'ALMEIDA, M. L. O. "*Branqueamento de pastas celulósicas*", Centro Técnico em Celulose e Papel, Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo, SP, 1978.
- AXEGARD, P; DAHLMAN, O.; HAGLIND, I.; JACOBSON, B.; MÖRCK, R. and STRÖMBERG, L., *STFI – Meddelande*, n.A994, 1993.
- BAIRD, Colin, "*Environmental chemistry*", W. H. Freeman and Company, New York, 1995.
- BALINOVA, A., *J. Chromatogr. A*, v.754, p.125, 1996.
- BAO, M. L.; PANTANI, F.; BARBIERI, K.;BURRINI, D. and GRIFFINI, O., *Chromatographia*, v.42, p.227-233, 1996.

- BATTISTA, M.; DI CORCIA, A. and MARCHETTI, *Anal. Chim.*, v.61, p.935-939, 1989.
- BELTRAN, J.; LÓPEZ, F. J. and HERNÁNDEZ, F., *Anal. Chim. Acta*, v.283, p.297-303, 1993.
- BOYD-BOLAND, A. A. and PAWLISZYN, J., *J. Chromatogr. A*, v.704, p.163-172, 1995.
- BOYD-BOLAND, A. A., MAGDIC, S., PAWLISZYN, J. B.; *Analyst*, v.121, p.929-938, 1996.
- BUCHHEIT, A. J. and WITZENBACHER, M., *J. Chromatogr. A*, v.736, p.67-74, 1996.
- CHEE, K. K.; WONG, M. K. and LEE, H. K., *J. Chromatogr. A*, v.736, p.211-218, 1996.
- CHRISTIAN, G.D., *“Modernan Practice of Gas Chromatography”*, New York, John Wiley & Sons, 1996.
- CHIRON, S.; DUPAS, S.; SCRIBE, P. and BARCELÓ, D., *J. Chromatogr. A*, v.665, p.295-305, 1994.
- CROCKFORD H. D. and KNIGHT S.B.; *Fundamentos de Fisicoquímica*, 2ª ed.; Companhia Editorial Continental, S.A, México, D.F., 1973.
- DI CORCIA, A.; SAMPERI, R.; MARCOMINI, A. and STELLUTO, S., *Anal. Chem.*, v.65, 1993.
- DIETRICH, A. M.; MILLINGTON, D. S. and SEO, Y. H., *J. Chromatogr.*, v.436, p.229-241, 1988.
- DILL, K.A., *J. Phys. Chem.*, v.91, p.1980, 1987.
- DORSEY, J. G. and COOPER, W. T., *Anal. Chem.*, V.66, p.857-867, 1994.
- EPA Method 625, Base/Neutrals and Acids, 40CFR ch.I, (7-1-96 edition), pt.136, App.A, Meth. 625.
- ESTEBAN, A. M.; FERNÁNDEZ,P. and CÁMARA, C., *J. Chromatogr. A*, v.752, p.291-297, 1996.
- FONT, G.; MAÑAES, J.; MOLTÓ, J. C. and PICÓ, Y., *J. Chromatogr. A*, v.642, p.135, 1993.
- FRÖBE, Z.; DREVENKAR, V. and STENGL, B., *Anal. Chim. Acta*, v.206, p.299-312, 1988.

- FURTADO, J. L. F., *Dissertação de Mestrado*, "Análise dos Compostos Fenólicos Clorados em Efluentes de Processos de Branqueamento", PGQUI-UFRGS, 1997.
- GROB, R.L., "Modern Practice of Gas Chromatography", New York, John Wiley & Sons, 1995.
- GUENU, S. and HENNION, C., *J. Chromatogr. A*, v.725, p.57-66, 1996.
- JAMES, H. A.; STEEL, C. P. and WILSON, I., *J. Chromatogr.*, v.214, p.89, 1981.
- JÁUREGUI, O.; GALCERAN, M. T., *Anal. Chim. Acta*, V.340, P.191-199, 1997.
- JUNK, G. A.; AVERY, M. J. and RICHARD, J. J., *Anal. Chem.*, v.60, p.1347-1350, 1988.
- KNUUTINEN, J., *Doctoral Dissertation*, "Synthesis, Structure Verification and Gas Chromatographic Determination of Chlorinated Catechols and Guaiacols Occurring in Spent Bleach Liquors of Kraft Pulp Mills", University of Jyväskylä, Finland, 1984a.
- KNUUTINEN, J., *J. Chromatogr.*, v.248, p.289, 1982.
- KNUUTINEN, J., *Org. Mass Spectrom*, v.19, n.2, p.96, 1984b.
- KNUUTINEN, J., *J. Chromatogr.*, v.257, p.127, 1983.
- KNUUTINEN, J., *Chromatographia.*, v.15, n.1, 1982b.
- KNUUTINEN, J., *J. Chromatogr.*, v.248, p.289, 1982c.
- KNUUTINEN, J., *Org. Mass Spectrom*, v.19, n.2, p.96, 1984b.
- KONTSAS, H.; ROSENBERG, C.; JÄPPINEN, P. and RIEKKOLA, M. L., *J. Chromatogr.*, v.636, p.255-261, 1993.
- KOVARCS, T. G.; MARTEL, P. H.; VOSS, R.H.; WRIST, P. E. and WILLES, R. F., *Environ. Toxic. and Chem.*, v.12, p.281-289, 1993.
- LA COLINA, C.; SÁNCHEZ-RASERO, F.; CANDELA, G. D.; TABOADA, E.R. and PEÑA, A., *Analyst*, v.120, p.1723-1728, 1995.
- LANÇAS, F. M., "Cromatografia em Fase Gasosa", São Carlos-SP, Acta, 1993.
- LEE, H. B.; HONG-YOU, R. L. and FOWLIE, P. J. A., *J. Assoc. off. Anal. Chem.*, v.72, n.6, p.979, 1989.
- LEE, H. B. and PEART, T. E., *J. Chromatogr.*, v.636, p.263-270, 1993.
- LOCKE, D.C., *J. Chromatogr. Sci.*, v.12, p.433, 1974.
- LORD, H.L. and PAWLISZYN, J. *LC-GC*, v.16, p.41-46, 1998.

- MADIK, S.; BOYD-BOLAND, A. A.; JINNO, K. and PAWLISZYN, J., *J. Chromatogr. A*, v.736, p.219-228, 1996.
- MAKUCH, B.; GAZDA, K. and KAMINSKI, M., *Anal. Chim. Acta*, v.284, p.5358, 1993.
- MAJORS, R. E.; *LC-GC*, v.16, p.8-15, 1998.
- MAJORS, R. E.; *LC-GC*, v.14, p.754-766, 1996.
- MAJORS, R. E.; *LC-GC*, v.15, p.1008-1015, 1997.
- MAÑAES, J.; PICÓ, Y.; MOLTÓ, J. C. and FONT, G., *J. High Resolut. chromatograf.*, v.13, p.843, 1990.
- MARVIN, C.H.; BRINDLE, I.D.; HALL, C.D. and CHIBA, M., *J. Chromatogr.*, v.503, p.167, 1990.
- MATTERN, G. C.; LOUIS, J. B. and ROSEN, J. D., *J. Assoc. off. Anal. Chem.*, v.74, p.983, 1991.
- MORALES, A.; BIRKHOLZ, D. A.; HRUDEY, S. E; *Water Environm. Res.*, v. 64, p. 669-681, 1992.
- MORO, C.C., *Dissertação de Mestrado*, "Análise de Compostos Organoclorados em Efluentes de Branqueamento de Celulose por Cromatografia Gasosa com Colunas Capilares", PPGEM – UFRGS, 1987.
- MUßMANN, P.; LEVSEN, K. and RADEK, W., *Fresenius' J. Anal. Chem.*, v.348, p.654-659, 1994.
- NAMIESNIK, J.; GÓRECKI, T. and BIZIUK, M., *Anal. Chim. Acta*, v.237, p.1-60, 1990.
- NI, Y.; KUBES, G. J. and VAN HEININGEN, A. R. P., *Tappi Journal*, v.77, n.9, 1994.
- NONNI, A. J. and DENCE, C. W., *Svensk Papperstidn.*, v.84, n.17, 1981.
- ONODERA, S.; NAGATSUKA, A.; ROKUHARA, T.; HIRAYAMA, N. and SUZUKI, S., *J. Chromatogr.*, v.642, p.185-194, 1993.
- PANKOW, J. F.; LIGOCKI, M.P.; ISABELLE, L.M. and HART, K. M., *Anal. Chem.*, v. 60, p.40-47, 1989.
- PAWLISZYN, J., *Solid phase microextraction*, 1<sup>a</sup> ed., John Wiley, New York, 1997.
- PIZZOLATO, T. M.; CARAMÃO, E. B. and MARTINS, A. F., *J. Microcolumn Separations*, v.8, p.5-12, 1996.

- PIZZOLATO, T. M., *Tese de Doutorado*, "Desenvolvimento de Metodologia Analítica para a Determinação de Compostos Orgânicos, por Cromatografia Gasosa, Utilizando Extração em Fase Sólida", PPGEM – UFRGS, 1997.
- REEVE, R.N., "Environmental Analysis", Analytical Chemistry by Open Learning, John Wiley & Sons, ACOL Office, London, 1994.
- POPL, M.; VOZNAKOVA, Z.; TATAR, V. and STINADOVA, J., *J. Chromatogr. Sci.*, v.21, p.39, 1983.
- REEVE, R.N., "Environmental Analysis" Analytical Chemistry by Open Learning, John Wiley & Sons, ACOL office, London, 1994.
- RODRÍGUEZ, I.; TURNES, M.I.; MEJUTO, M.C. and CELA, R., *J. Chromatogr. A*, v.721, p.297-304, 1996.
- RODRÍGUEZ, I.; MESUTO, M. C.; BOLLAÍN, M.H. and CELA, R., *J. Chromatogr. A*, v.786, p.285-292, 1997.
- ROGERS, I. H., *Pulp Paper Mag. Can.*, v.74, n.9, p.111, 1973.
- SANER, W. A.; JADAMEC, J. R. and SAGER R. W., *Anal. Chem.*, V.51, P.2180-2188, 1979.
- SCHWANTES, T. A. and MCDOUNOUGH, T. J., *Tappi Journal*, v.77, n.9, 1994.
- SENTELL, K. B. and DOERSEY, J. G., *Anal. Chem.*, v.61, p.930, 1989a.
- SENTELL, K. B. and DOERSEY, J. G., *J. Chromatogr.*, v.461, p.193, 1989b.
- SLOBODNÍK, J.; ÖZTEZKIZAN, Ö.; LINGEMAN, H. and BRINKMAN, U. A. T., *J. Chromatogr. A*, v.750, p.227-238, 1996.
- TURNES, I.; RODRÍGUEZ, I.; GARCÍA, C. M. and CELA, R., *J. Chromatogr. A*, v.743, p. 283-292, 1996.
- US-EPA, v.58, P.66077, 1993.
- VERZELE, M. and GEERAERT, E., *J. of Chromatogr. Sci.*, v.18, p.559, 1980.
- VIANA, E.; REDONDO, M. J.; FONT, G. and MOLTÓ, J.C., *J. Chromatogr. A*, v.733, p.267-274, 1996).
- VIDAL, L. H.; TREVELIN, W.R.; LANDGRAF, M. D. and REZENDE, M. O. O., *J. Environ. Anal. Chem.*, v.56, p.23-31, 1994.

VOSS, R. H.; WEARING, J.T.; MORTIMER, R. D.; KOVACS, T. and WONG, A., *Paperi já Puu – Paper och Trä*, v.12, p.809, 1980.

WELLS, M. J. M. and MICHAEL, J. L., *J. Chromatogr. Sci.*, v.24, p.345, 1987.