

Universidade do Porto
FEUP Faculdade de
Engenharia

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

**POLUENTES ORGÂNICOS PRIORITÁRIOS
EM LIXIVIADOS DE ATERROS SANITÁRIOS**

António Manuel Esteves Ribeiro

Licenciado em Engenharia Química pela
Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

Dissertação submetida para satisfação parcial
dos requisitos do grau de mestre em

Engenharia do Ambiente
(Ramo de Gestão e Tratamento de Resíduos Industriais)

Dissertação realizada sob a supervisão da Professora Doutora Lúcia Santos
e co-supervisão da Professora Doutora Arminda Alves,
do Departamento de Engenharia Química
da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

Porto, Junho de 2001

***“Todos têm direito a um ambiente de vida humano,
sadio e ecologicamente equilibrado
e o dever de o defender.”***

***(Constituição da República Portuguesa,
Ponto 1 do Artigo 66º de 01/01/99)***

Agradecimentos

Agradeço às minhas orientadoras, Professora Doutora Lúcia Santos e Professora Doutora Arminda Alves, pela oportunidade que me concederam para realizar este trabalho, bem como pelo acompanhamento científico, dedicação e amizade demonstradas ao longo deste trabalho.

Aos meus colegas do departamento de Tecnologia Química do IPB, em particular ao Professor Doutor Luís Pais por me ter disponibilizado logo de início, todas as condições técnicas para a realização deste trabalho através do LQA, assim como pela motivação que me deu. À Professora Doutora Filomena Barreiro e ao Professor Doutor José António pelo encorajamento e amizade que sempre me deram.

À colega Engenheira Helena Neves pela colaboração prestada na leitura atenta deste relatório e por ter facultado alguma bibliografia.

Um agradecimento muito especial para a Ana Maria, pela paciência e todo o apoio que me deu.

Não poderia deixar de referir igualmente o Director do Curso de Mestrado em Engenharia do Ambiente, na edição de 1998/2000, o Professor Doutor Carlos Costa, responsável por toda a organização deste.

Finalmente, agradeço a todos os membros do júri, pela disponibilidade para a apreciação deste trabalho.

Resumo

O presente trabalho de dissertação de mestrado tem como principal objectivo o estudo de um método de análise para poluentes orgânicos prioritários, mais especificamente os clorofenóis, em lixiviados de aterros sanitários.

A determinação dos clorofenóis em amostras líquidas é tradicionalmente realizada por cromatografia em fase gasosa com detecção por ECD ou FID, após processos de extracção líquido-líquido. Tendo em atenção a natureza dos lixiviados de aterros sanitários, que constituem matrizes bem mais complexas do que a maioria das águas residuais, e considerando o excessivo tempo de análise que os métodos de extracção líquido-líquido necessitam, procurou-se neste trabalho desenvolver e validar uma nova metodologia analítica, a qual utiliza a microextração em fase sólida (SPME) como única etapa de preparação da amostra. Por outro lado, utilizou-se um sistema de cromatografia gasosa acoplado a um espectrómetro de massa (GC/MS), o que permite a separação, identificação e quantificação de clorofenóis.

Atendendo à polaridade dos clorofenóis, utilizou-se uma fibra de poliacrilato com a qual se realizaram ensaios de modo a otimizar alguns dos parâmetros de extracção: o tempo de extracção, a extracção por imersão comparativamente à extracção na fase gasosa, a temperatura de extracção, a quantidade de sal a adicionar às amostras, o pH das amostras e o tempo de dessorção da fibra no injector.

Após optimização dos principais parâmetros de microextração em fase sólida, realizou-se um estudo da linearidade do método analítico, a qual foi obtida na gama de 5 a 200 µg/L com um C.V. inferior a 10%, para a maior parte dos compostos e para uma concentração de 50 µg/L. Os limites de detecção encontrados encontram-se na gama de 0,005 a 2,5 µg/L, sendo estes inferiores aos conseguidos com os métodos EPA nos quais se utilizam técnicas convencionais para a extracção de compostos orgânicos semi-voláteis. Os limites de detecção, para o método EPA 625 ("Compostos orgânicos semi-voláteis em águas"-detecção com FID) encontram-se entre 2,7 e 3,6 µg/L e para o método EPA 604 ("Fenóis" - detecção com MS) encontram-se entre 0,31 e 7,4 µg/L.

De seguida, realizaram-se experiências para quantificar as eficiências de extracção e o efeito de matriz, no caso deste existir. As eficiências obtidas foram, com excepção do 2-clorofenol (0,3%) e do fenol (12,2%), para a maior parte dos clorofenóis, cerca de 20 a 50% em valores médios, em todos os padrões utilizados. Estas eficiências são, comparáveis às conseguidas com os métodos EPA (cerca de 30 a 40%).

Para se quantificar o efeito de matriz, determinaram-se recuperações quando se substitui a água pura pelo lixiviado. Os valores obtidos variam de 29,8% até 90,6%, pelo que não se observou um efeito de matriz significativo, na gama de valores estudada.

Com o objectivo de implementar este método em lixiviados, analisaram-se amostras de lixiviados de um aterro sanitário, tendo-se detectado pentaclorofenol e quantificado 2,3,4,5-tetraclorofenol e 2,3,4,6-tetraclorofenol nas concentrações de 0,11 µg/L e de 0,06 µg/L, respectivamente.

Abstract

The objective of the present master dissertation is to study a priority organic pollutant method of analysis, chlorophenols more specifically, in landfill leachates.

The determination of chlorophenols in liquid samples is traditionally done by gas chromatography with ECD or FID detectors after liquid-liquid extraction. Having in mind that the matrices that constitute landfill leachates are often more complex than the ones in effluents and considering the large extent of the analysis time of the liquid-liquid extraction procedure, this study intends to develop and validate a new methodology. This uses solid phase microextraction (SPME) as the only sample preparation procedure before analysis. In order to separate, identify and quantify chlorophenols by gas chromatography- mass spectrometry.

Due to the fact that chlorophenols are polar compounds a polyacrylate fiber was used. Several assays were then performed in order to determine optimum extraction conditions as extraction time, solid phase microextraction inserting the fiber directly into the sample or into the headspace, amount of salt added to the samples, samples pH and fiber desorption time in the injector.

After determination of optimum extraction conditions, the linearity of the analytical method was evaluated. The linearity of the detector response was verified in the range of compound concentration between 5 and 200 $\mu\text{g/L}$ with a variation coefficient of less than 10% for most of the compounds. The detection limits obtained range between 0,005 to 2,5 $\mu\text{g/L}$. These are inferior to the detection limits obtained when EPA methods, which use traditional techniques to extract semi-volatile organic compounds were employed. The detection limits obtained when using the method EPA 625, detection of semi-volatile organic compounds using FID detector, range from 2,7 to 3,6 $\mu\text{g/L}$ and the ones obtained when using method 604, detection of phenols by MS range from 0,37 to 7,4 $\mu\text{g/L}$.

Assays were performed in order to quantify extraction efficiencies and matrix effect, if there is one. The average of extraction efficiencies obtained, with exception to 2-chlorophenol, 0,3%, and phenol, 12,2%, to most of chlorophenols in working standards range from 20 to 50%. These extraction efficiencies are similar to the ones obtained when using EPA methods, which range between 30 and 40%.

In order to quantify the matrix effects recoveries were determined when using a leachate instead of water. The values obtained range between 29,8% and 90,6% meaning that matrix effects are not important in the range of concentration values studied.

In order to implement this method when using leachates, samples of landfill leachates were analysed and pentachlorophenol detected. 2,3,4,5-tetrachlorophenol and 2,3,4,6-tetrachlorophenol, were also detected with concentrations of 0,11 µg/L and 0,06 µg/L respectively.

Résumé

Ce travail a comme but principal l'étude d'une méthode de analyse de polluants organiques prioritaires, plus spécifiquement les chlorophénols, dans les eaux des terrassements sanitaires.

La détermination des chlorophénols en moyen liquide est traditionnellement réalisée par chromatographie phase gaz avec détection par ECD ou FID, après des procédés d'extraction liquide-liquide. La nature des eaux des terrassements avec une matrice beaucoup plus complexe de laquelle de la majorité des eaux résiduaires, et en attendant au excèsif temps de analyse que les méthodes d'extraction liquide-liquide on besoin, on a cherché dans cet étude développer et valider une nouvelle méthodologie analytique, laquelle utilise la microextraction en phase solide (SPME) comme la unique étape de préparation de l'échantillon. On a utilisé aussi un système de chromatographie phase gaz accouplé a un spectrophotomètre de masse (GC-MS) pour la détection et la quantification.

Avec l'utilisation d'une fibre de poliacrylate, ont été faits des expériences pour déterminer les conditions optimales d'extraction: le temps d'extraction, l'extraction par immersion en rapport à l'extraction dans la phase gazeuse, la température d'extraction, la concentration de sel, le pH et le temps de desorption de la fibre dans l'injecteur.

A été obtenu de la linéarité entre 5 et 200 µg/L avec une dispersion entre 20 et 30%, pour la majorité des composés, lesquelles sont significativement mieux obtenus avec les méthodes USEPA où on utilise des techniques traditionnelles pour l'extraction des composés organiques semivolatiles (COSV) dans l'eau. Les limites de détection obtenues ont été comprises entre 0,005 et 2,5 µg/L, qui sont inférieures que les réussies avec les méthodes EPA. Ces limites sont 2,7 à 3,6 µg/L avec la méthode 625 et de 0,31 à 7,4 µg/L avec la méthode 604.

En suite, ont été réalisés des expériences pour quantifier les efficacités d'extraction et l'effet de matrice, dans le cas de leur existence. Les efficacités obtenues, ont été, avec l'exception du 2-chlorophénol, 0,3%, et du phénol, 12,2%, par la majorité des composés, entre 20 et 50%, en moyenne, pour tous les standards utilisés. Ces efficacités sont comparables auxquelles réussies avec les méthodes EPA (entre 30 et 40%).

Pour se quantifier l'effet de matrice, on a déterminé des récupérations quand on remplace l'eau pure par l'eau du terrassement. Les valeurs obtenues sont comprises entre 29,8 et 90,6%, lorsque qu'il ne s'observe pas un effet de matrice significatif.

Avec le but d'implémenter cette méthode analytique aux eaux des terrassements sanitaires, ont été analysés des échantillons d'un terrassement et a été détecté pentachlorophénol, et quantifié du 2,3,4,5-tétrachlorophénol et 2,3,4,6-tétrachlorophénol dans les concentrations de 0,11 µg/L et de 0,06 µg/L, respectivement.

ÍNDICE

Abreviaturas	i
Lista de figuras	iii
Lista de tabelas	v
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 IMPORTÂNCIA E MOTIVAÇÃO	1
1.2 OBJECTIVOS	3
1.3 ORGANIZAÇÃO DA TESE	3
2. OCORRÊNCIA E ANÁLISE DE CLOROFENÓIS	4
2.1 POLUIÇÃO GERADA PELO ATERRO SANITÁRIO	4
2.1.1 O aterro sanitário	4
2.1.2 Poluição gerada pelo aterro	6
2.1.3 A carga poluente nos lixiviados	6
2.2 POLUENTES ORGÂNICOS PRIORITÁRIOS	9
2.2.1 Poluentes orgânicos prioritários em lixiviados	9
2.2.1.1 Compostos orgânicos voláteis	9
2.2.1.2 Compostos orgânicos semi-voláteis	11
2.2.1.3 Clorofenóis em lixiviados	12
2.2.2 Parâmetros importantes para o tratamento de lixiviados	17
2.2.3 Tratamentos de lixiviados contaminados com clorofenóis	19
2.3 MÉTODO DE ANÁLISE DE CLOROFENÓIS EM LIXIVIADOS	22
2.3.1 Preparação das amostras por SPME	22
2.3.1.1 Breve descrição da técnica	24
2.3.1.2 Aplicações gerais	26
2.3.1.3 Parâmetros que influenciam a extração	27

2.3.2 A análise por GC/MS	30
2.3.2.1 Breve descrição da técnica	30
2.3.2.2 Aplicações gerais	32
2.3.2.3 Vantagens da combinação das duas técnicas	33
2.3.2.4 Análise de clorofenóis em soluções aquosas	33
3. DESCRIÇÃO EXPERIMENTAL	45
3.1 METODOLOGIA DAS ANÁLISES	45
3.2 PADRÕES E REAGENTES	47
3.3 EQUIPAMENTO PARA ANÁLISE	48
3.3.1 Extracções por SPME	48
3.3.2 Análises por GC/MS	48
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
4.1 OPTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES OPERATÓRIAS EM GC/MS	50
4.2 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DOS PADRÕES INDIVIDUAIS	52
4.3 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA MISTURA PADRÃO	53
4.4 OPTIMIZAÇÃO DE ALGUNS PARÂMETROS QUE INFLUÊNCIAM A EFICIÊNCIA DE EXTRACÇÃO	55
4.4.1 Estudo da influência do modo de extracção	56
4.4.2 Estudo da influência da temperatura de extracção	57
4.4.3 Estudo da influência do tempo de extracção	58
4.4.4 Estudo da influência do valor de pH das amostras	59
4.4.5 Estudo da influência da adição de sal	61
4.4.6 Estudo da influência do tempo de dessorção da fibra no injector	62
4.5 DETERMINAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DE VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO	64
4.5.1 Estudo da linearidade do método, limites de detecção e precisão	64
4.5.2 Determinação das eficiências de extracção	66
4.6 ANÁLISE DE LIXIVIADOS POR GC/MS APÓS SPME	67
4.6.1 Estudo da importância do efeito de matriz	67
4.6.2 Análise de clorofenóis em lixiviados	68

5. CONCLUSÕES E TRABALHO FUTURO	72
5.1 CONCLUSÕES	72
5.2 SUGESTÕES PARA TRABALHO FUTURO	74
 6. REFERÊNCIAS	 77

Anexos

Anexos A

Anexos B

ABREVIATURAS

ATDSR	Agência para o Registro de Substâncias Tóxicas e Patogénicas dos Estados Unidos
CAS	Número de registo químico
CBO	Carência bioquímica em oxigénio
CQO	Carência química em oxigénio
Cont.	Continuação
COV	Compostos orgânicos voláteis
COSV	Compostos orgânicos semi-voláteis
COS	Compostos orgânicos sintéticos
C ₀	Concentração inicial
E	Erro cometido na estimativa do volume de amostra
ECD	Detector de condutividade térmica
EPA	Agência de Protecção Ambiental dos Estados Unidos
eV	Electrão Volt
FID	Detector por ionização de chama
GC	Cromatografia gasosa
HPLC	Cromatografia líquida de alta performance
HSSPME	Microextração em fase sólida na fase gasosa (<i>Headspace</i>)
k _{fs}	Constante de distribuição fibra-amostra
LD	Limite de detecção
LLE	Extração líquido - líquido
MS	Espectrometria de massa
MS/MS	Tipo de detecção por espectrometria de massa
min.	Minutos
N	Número de experiências
n	Número de moles
PA	Poliacrilato
PCB	Policlorobifenilos
PDMS	Polidimetilsiloxano
p.e.	Ponto de ebulição (°C)
p.v.	Pressão de vapor (em mm Hg, a 25 °C)

PHA	Hidrocarbonetos poliaromáticos
pH	Escala de acidez
PM	Peso molecular (g/mole)
pKa	Constante de dissociação de acidez (a 25 °C)
R ²	Coefficiente de correlação quadrático
SIM	Tipo de detecção por espectrometria de massa
Solub.	Solubilidade (a 25 °C, em mg/L)
SPE	Extracção em fase sólida
SPME	Microextracção em fase sólida
TIC	Cromatograma da carga Iónica Total
TOC	Carbono orgânico total
ton.	Toneladas
UE	União Europeia
V _f	Volume de revestimento (mL)
V _s	Volume da amostra (mL)

Abreviaturas utilizadas na nomenclatura dos clorofenóis

CP	clorofenol
2CP	2-clorofenol
24DCP	2,4-diclorofenol
26DCP	2,6-diclorofenol
235TCP	2,3,5-triclorofenol
246TCP	2,4,6-triclorofenol
245TCP	2,4,5-triclorofenol
236TCP	2,3,6-triclorofenol
234TCP	2,3,4-triclorofenol
345TCP	3,4,5-triclorofenol
2345TeCP	2,3,4,5-tetraclorofenol
2346TeCP	2,3,4,6-tetraclorofenol
2356TeCP	2,3,5,6-tetraclorofenol
PCP	pentaclorofenol

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Balanço à água existente num aterro.	8
Figura 2 –	Dispositivo de análise para SPME.	24
Figura 3 –	Formas de microextração em fase sólida: (a) em fase gasosa – HSSPME e (b) por imersão – SPME.	25
Figura 4 –	Diagrama de blocos funcional de um GC/MS.	31
Figura 5 –	Efeito do sal e do pH na extração de fenóis por SPME.	34
Figura 6 –	Comparação das técnicas de SPME com um revestimento de poliacrilato na extração de fenóis.	34
Figura 7 –	Comparação entre os revestimentos de polidimetilsiloxano e poliacrilato.	35
Figura 8 –	Cromatograma obtido por GC-FID após SPME da mistura padrão EPA 604 M Phenols Mix.	36
Figura 9 –	Efeito da adição de ácido e de sal na extração de clorofenóis por SPME.	36
Figura 10 –	Mistura de 20 fenóis com concentração de 20 µg em 30 mL de cada composto.	38
Figura 11 –	Cromatograma obtido por GC/MS após SPME de uma amostra proveniente de um clarificador primário de uma estação de tratamento de águas do Canadá, contaminada com 80 ppb de fenol e 0,3 ppb de 2,4-diclorofenol.	38
Figura 12 –	Cromatograma obtido por GC/MS (sem microextração) de 1 µL de uma mistura padrão contendo 10 ng/µL de fenóis.	39
Figura 13 –	Cromatogramas obtidos por GC-FID após SPME por imersão (com e sem agitação) de uma mistura padrão contendo fenóis, com uma concentração individual de 50 ppb.	40
Figura 14 –	Cromatograma obtido de uma análise por GC/MS após SPME de uma mistura contendo clorofenóis com uma concentração de 50 ppb.	41
Figura 15 –	Efeito do tempo de extração na eficiência de extração de clorofenóis por GC/MS após SPME.	41
Figura 16 –	Factor de incremento por efeito da adição de sal e acidificação das amostras, na análise por GC/MS após SPME.	42

Figura 17 – Cromatograma total iônico (TIC) obtido por GC/MS após SPME de uma amostra de solo contaminado.	43
Figura 18 – Programa de temperaturas utilizado nas análises por GC/MS.	49
Figura 19 – Separação de uma mistura padrão contendo 24 fenóis, com uma concentração individual de 50 mg/L.	51
Figura 20 – Estudo de linearidade para os padrões individuais: 2-clorofenol; 2,4-diclorofenol e 2,4,6-triclorofenol.	52
Figura 21 – Estudo de linearidade para os 14 clorofenóis contidos na mistura padrão.	53
Figura 22 – Estudo do modo de extração: por imersão (SPME) e em fase gasosa (HSSPME) na eficiência de extração.	56
Figura 23 – Estudo da influência da temperatura na eficiência de extração.	57
Figura 24 – Estudo da influência do tempo de imersão da fibra na amostra na eficiência de extração (14 clorofenóis).	58
Figura 25 – Estudo da influência do tempo de imersão da fibra na amostra na eficiência de extração (10 clorofenóis).	59
Figura 26 – Estudo da influência do valor de pH das amostras na eficiência de extração.	60
Figura 27 – Estudo da influência da concentração de sal nas amostras na eficiência de extração.	61
Figura 28 – Estudo da influência do tempo de dessorção da fibra na eficiência de extração.	62
Figura 29 – Ajustes lineares dos ensaios de microextração para 8 clorofenóis contidos na mistura padrão (0,1 a 200 ppb).	64
Figura 30 – Ajustes lineares dos ensaios de microextração para 6 clorofenóis contidos na mistura padrão (0,1 a 200 ppb).	64
Figura 31 – Cromatograma de uma análise por GC/MS após SPME, da mistura padrão contendo fenóis com uma concentração individual de 100 µg/L num lixiviado não contaminado.	69
Figura 32 – Cromatograma de uma análise por GC/MS após SPME, de um lixiviado proveniente da parte do aterro onde se realiza um pequeno tratamento.	70
Figura 33 – Cromatograma de uma análise por GC/MS após SPME, de um lixiviado proveniente da parte do aterro sem controle.	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Exemplos de compostos orgânicos voláteis.	10
Tabela 2 –	Exemplos de compostos orgânicos semi-voláteis.	11
Tabela 3 –	Propriedades físicas de alguns clorofenóis.	13
Tabela 4 –	Etapas necessárias na preparação de uma amostra, utilizando a extracção líquido-líquido (LLE), a extracção em fase sólida (SPE) e a microextração em fase sólida (SPME).	23
Tabela 5 –	Limites de detecção e gama de linearidade obtidos na extracção de fenóis utilizando uma fibra revestida com poliacrilato.	37
Tabela 6 –	Reprodutibilidade obtida na análise por GC/MS após SPME de uma mistura contendo clorofenóis com uma concentração de 50 ppb.	40
Tabela 7 –	Factores de incremento, relativamente à amostra neutra e insaturada, por efeito da saturação com sal e acidificação das amostras de urina.	42
Tabela 8 –	Limites de detecção estimados para a análise de clorofenóis por GC/MS após SPME e comparação com os valores conseguidos com os métodos EPA.	43
Tabela 9 –	Condições operatórias para o sistema GC/MS.	51
Tabela 10 –	Resultados de linearidade da análise cromatográfica (sem microextração) da mistura padrão.	54
Tabela 11 –	Resultados de linearidade da análise por GC/MS após SPME da mistura padrão.	65
Tabela 12 –	Resultados de eficiências de extracção (em %) por SPME da mistura padrão.	66
Tabela 13 –	Efeito de matriz, traduzido nas recuperações obtidas na extracção de clorofenóis em lixiviados.	67

1. INTRODUÇÃO

1.1 IMPORTÂNCIA E MOTIVAÇÃO

Na sociedade actual, a preocupação com o ambiente, em todos os seus domínios, é cada vez maior, fazendo com que da parte da comunidade científica exista uma necessidade constante de reajustar permanentemente todos os métodos analíticos, por forma a aumentar a sua qualidade na detecção e caracterização de poluentes.

O uso generalizado de compostos organoclorados, poluentes persistentes e de solubilidade moderada em água e a sua presença em efluentes líquidos industriais e domésticos, tornou-se num problema ambiental grave (Hügul *et al.*, 2000). Estes podem ser encontrados em lençóis de água superficiais e subterrâneos havendo necessidade de serem removidos de modo a obter água potável.

Na área da determinação de poluentes, encontram-se já efectuados numerosos estudos, sobre alguns dos poluentes prioritários, como por exemplo, em matrizes como água (Barceló, 1993; Sung *et al.*, 1997) amostras biológicas e ambientais (Seidel *et al.*, 1993) e em sedimentos (Onuska *et al.*, 1985).

É neste contexto que surge a presente tese de mestrado de Engenharia do Ambiente, na qual se estuda uma classe específica de poluentes orgânicos prioritários, nomeadamente os clorofenóis.

Na Europa são utilizadas misturas de clorofenóis no tratamento de madeiras. Estão ainda presentes como matéria prima no fabrico de herbicidas, insecticidas, fungicidas, retardadores de chama, diversos solventes, intermediários industriais e na indústria do papel (Atuanya *et al.*, 2000; Melin *et al.*, 1998; Lin *et al.*, 2000; Shin *et al.*, 1999).

Uma das fontes de contaminação das águas resulta da presença de clorofenóis em lixiviados de aterros sanitários e lixeiras. Estes, se não forem devidamente tratados, poderão contaminar solos e cursos de água circundantes. Devido à toxicidade, propriedades lipofílicas e recalcitrantes, os clorofenóis tem tendência a acumular-se nos tecidos gordos dos organismos aquáticos, vítimas directas da contaminação das águas, permanecendo assim ao longo da cadeia alimentar (Hügul *et al.*, 2000).

Um mau uso, derrames acidentais ou deposição imprópria de clorofenóis, resulta em poluição intensiva. Actualmente, a sua utilização e fabrico tende a ser cada vez mais restrito uma vez que são compostos muito tóxicos (SRC-PhysProp Database, 2001) e têm um elevado potencial cancerígeno para o organismo humano (Public Health Assessment, 2001).

Existem referenciados alguns métodos analíticos para a extracção de compostos orgânicos semi-voláteis de matrizes aquosas, como por exemplo a extracção líquido-líquido (Seidel *et al.*, 1993) e para a sua posterior separação e quantificação, como por exemplo a análise por cromatografia gasosa, com detector por ionização de chama ou de massa (Onuska *et al.*, 1985). Contudo, estes métodos revelam ainda alguns aspectos pouco eficientes como, serem muito demorados e utilizarem solventes orgânicos bastante tóxicos e caros, produzindo resíduos perigosos, de difícil tratamento e armazenamento.

A crescente aceitação e consequente utilização em análise da técnica de microextracção em fase sólida (James *et al.*, 1997; Supelco app. note 17, 58, 61, 62, 81, 83 e 84, de 1996 e 1995), deve-se muito em parte a ser uma técnica em que os problemas inerentes à utilização de solventes são eliminados e por outro lado trata-se de uma técnica muito mais rápida, económica e simples do que as utilizadas até ao momento.

Existe também a possibilidade de melhorar o método de separação e quantificação pela hifenização da espectrometria de massa (McMaster, 1998) com a cromatografia gasosa. Esta técnica possui imensas potencialidades aumentando bastante a qualidade do método analítico, uma vez que permite a identificação dos compostos separados por comparação dos seus espectros de massa.

A microextracção em fase sólida (SPME) de compostos orgânicos de diversas matrizes e a sua posterior análise por cromatografia gasosa seguida de espectrometria de massa (GC/MS), é uma técnica que tem vindo a ser bastante utilizada (Potter *et al.*, 1994; Lee *et al.*, 1998; Supelco app. note 94, 1996; Jennison, 1999). Porém, para a análise de clorofenóis é uma técnica ainda pouco utilizada quando comparada com a elevada importância que estes compostos orgânicos possuem, como poluentes.

1.2 OBJECTIVOS

Com o presente trabalho pretende-se contribuir para o desenvolvimento de um método analítico para a extracção, caracterização e quantificação de alguns poluentes orgânicos prioritários que existem em lixiviados de aterros sanitários. Pretende-se que este método seja mais expedito, mais económico e com limites de detecção mais baixos do que os métodos tradicionais que presentemente se utilizam na avaliação de poluentes orgânicos que ocorrem em matrizes aquosas, geralmente em águas residuais.

É igualmente do âmbito deste trabalho, a optimização de alguns parâmetros na eficiência de extracção por SPME destes poluentes (única fase de preparação das amostras), assim como das condições de separação e identificação por GC/MS.

Após a realização desta tese de mestrado, pretende-se contribuir para um maior conhecimento e domínio das metodologias utilizadas neste campo de investigação em Engenharia do Ambiente.

1.3 ORGANIZAÇÃO DA TESE

Os conceitos teóricos para a compreensão do método analítico desenvolvido serão apresentados no capítulo 2, enquadrando este trabalho na linha de investigação que foi e é actualmente desenvolvida nesta área.

O capítulo 3 descreve a parte experimental, descrevendo a metodologia seguida, o equipamento utilizado e o procedimento experimental.

No capítulo 4, serão discutidos e apresentados os principais resultados obtidos no âmbito deste trabalho.

Por fim, no capítulo 5 referem-se as conclusões mais importantes desta dissertação e propõem-se sugestões para um possível trabalho futuro.

2. OCORRÊNCIA E ANÁLISE DE CLOROFENÓIS

2.1 POLUIÇÃO GERADA PELO ATERRO SANITÁRIO

2.1.1 O aterro sanitário

O problema do que fazer aos desperdícios domésticos existe desde que existem habitações. Desde muito cedo, se encararam os desperdícios domésticos, de duas formas distintas: uma como um problema a eliminar e outra como uma fonte de recuperação.

O primeiro problema consistia na protecção da saúde das populações das cidades medievais (EPA R-95-023, 1995) onde eram abundantes as epidemias de febre amarela ou mesmo a cólera. Chegou a haver alturas na história em que os desperdícios eram simplesmente depositados em rios ou em pequenos cursos de água. Outros colocavam-nos em terra abandonada. O problema agravou-se com a revolução industrial, a qual aumentou o volume de desperdícios industriais, o nível de urbanização, o aumento da população e a quantidade crescente de desperdícios domésticos.

Em muitos países em vias de desenvolvimento, as condições de deposição dos desperdícios são ainda muito rudimentares. No Brasil por exemplo, dos desperdícios enviados para aterro, a maioria é colocada em aterros a céu aberto e apenas uma pequena minoria é enviada para aterro sanitário.

Nos países mais desenvolvidos, a maior parte dos desperdícios municipais é depositada em aterros sanitários. Contudo, esta técnica é provavelmente a menos sensível aos problemas inerentes à deposição de produtos potencialmente perigosos, uma vez que a acumulação destes pode provocar o mesmo efeito de uma esponja, retendo-os até atingirem quantidades elevadas.

Quando se realiza a mistura em aterro de uma grande variedade de materiais é praticamente impossível prever quais as reacções químicas que ocorrem entre os diversos desperdícios, ou mesmo assegurar que não exista uma dispersão de lixiviados contendo materiais tóxicos.

O termo “aterro sanitário” foi utilizado pela primeira vez para descrever a operação de enterro e cobertura de desperdícios, na Califórnia, nos Estados Unidos da América na década de 30. A cobertura dos desperdícios compactados era realizada com material inerte ou com terra.

Um aterro sanitário deve ser projectado de forma a reter os desperdícios e os seus produtos de decomposição até que estes se tornem suficientemente inertes que não apresentem riscos para a saúde ou para o ambiente.

A possibilidade de realizar a reutilização e reciclagem de certos materiais ou mesmo a recuperação de energia a partir dos desperdícios, são algumas das vantagens da sua deposição num aterro bem projectado.

Um aterro é composto por áreas delimitadas de desperdícios espalhados e compactados. A compactação é geralmente realizada utilizando tractores “bulldozers”. A densidade resultante chega a atingir valores superiores a 1 ton/m^3 , sendo aproximadamente $0,7$ a $0,8 \text{ ton/m}^3$. No final do dia os desperdícios são cobertos com uma camada de terra, ela própria também compactada, de forma a evitar odores e minimizar o risco de fogo.

Quando o aterro está completo é depositada uma camada superficial de terra com o intuito de reduzir a passagem de água através do aterro, reduzindo os problemas inerentes aos lixiviados e ainda auxiliando o controlo da libertação das emissões gasosas. Esta camada final constitui uma barreira natural entre os desperdícios e o ambiente, permitindo o crescimento de plantas e a reflorestação da área do aterro.

Existe actualmente uma preocupação crescente na implementação de aterros com retenção de lixiviados, através de uma evolução das tecnologias utilizadas.

Os principais meios existentes (Cavalheiro, 1998; Lopes, 1998) são constituídos por uma barreira de retenção com uma camada protectora, uma barreira de drenagem de lixiviados e finalmente uma camada protectora superior. As técnicas mais comuns passam pela utilização de camadas minerais (utilização de gravilha, por exemplo), camadas poliméricas flexíveis (de alta densidade como o polietileno) ou de materiais compósitos (utilizando ambos os materiais).

2.1.2 Poluição gerada pelo aterro

A poluição decorrente de um aterro ocorre de duas grandes formas: através dos lixiviados e através das emissões gasosas.

Quando existe recolha de gases do aterro, são também recolhidos alguns líquidos condensados, os quais necessitam de tratamento semelhante ao tratamento dos lixiviados.

Pretende-se direccionar este trabalho para a poluição resultante da libertação de lixiviados do aterro sanitário. De entre todos os compostos poluentes que existem nos lixiviados, este estudo focaliza os *compostos orgânicos semi-voláteis*, nomeadamente os clorofenóis.

Existem contudo, outros compostos químicos poluentes, que devido à sua extrema toxicidade podem provocar graves consequências à saúde humana e ao ambiente (SRC PhysProp Database, 2001; Public Health Assesment, 2001). Os mais importantes são os compostos orgânicos sintéticos (COS) e os metais pesados. Os COS com uma estrutura hidrogenocarbonada e origem antropogénica ao contrário dos COV não são voláteis, sendo aplicados normalmente na agricultura como pesticidas, herbicidas e fungicidas.

2.1.3 A carga poluente nos lixiviados

O lixiviado é definido como água que esteve em contacto com os desperdícios sólidos. Por este facto, podemos esperar encontrar lixiviados em aterros sanitários. Os desperdícios sólidos existentes num aterro, encontram-se numa mistura com cerca de 55% de água (EPA 542-F-96-023, 1996). Se considerarmos os milhões de toneladas de desperdícios sólidos que entram num aterro, então é fácil constatar a elevada quantidade de água que aí se encontra. À medida que os desperdícios sólidos sofrem degradação, a água neles contida é libertada. Esta por si mesma não é nociva, todavia durante a degradação da matéria orgânica existem quantidades significativas de compostos poluentes que são libertados. É praticamente impossível garantir que não ocorram fugas de lixiviados de um aterro, nem mesmo utilizando as tecnologias mais avançadas. A mistura aquosa deve pois ser recolhida, armazenada e/ou conduzida a um tratamento.

A composição desta mistura aquosa depende, por isso, das características dos desperdícios com que contacta, assim como do tempo desse mesmo contacto (do seu caudal), do tipo de projecto elaborado para o aterro (forma de operação, disposição,...) e do seu tempo de vida no aterro.

Os principais compostos orgânicos contidos nos lixiviados são produtos como o benzeno, tolueno, éteres, cetonas, dioxinas, álcoois, fenóis, pesticidas e organofosfatos entre outros (EPA R-96-025, 1996; Lee *et al.*, 1998; Brás *et al.*, 2000). A sua concentração depende do seu tempo de deposição, diminuindo quando os lixiviados são extraídos do aterro.

Encontram-se frequentemente metais pesados, tais como o mercúrio, crómio, níquel, chumbo, cádmio, cobre e zinco.

A grande parte destes metais são provenientes de resíduos industriais. O mercúrio, por exemplo está relacionado com tintas, termómetros e desperdícios de clínicas dentárias.

Os principais factores que influenciam a *produção de lixiviados* em aterros sanitários são:

O Clima: A pluviosidade afecta fortemente o nível dos caudais de lixiviados no aterro. Em locais onde ocorram chuvas frequentes são de esperar caudais de lixiviados intensos.

A Topografia: O declive do terreno onde se encontra implantado o aterro é outro factor que determina a facilidade de escoamento dos lixiviados. A topografia deve ser projectada de forma a reduzir infiltrações.

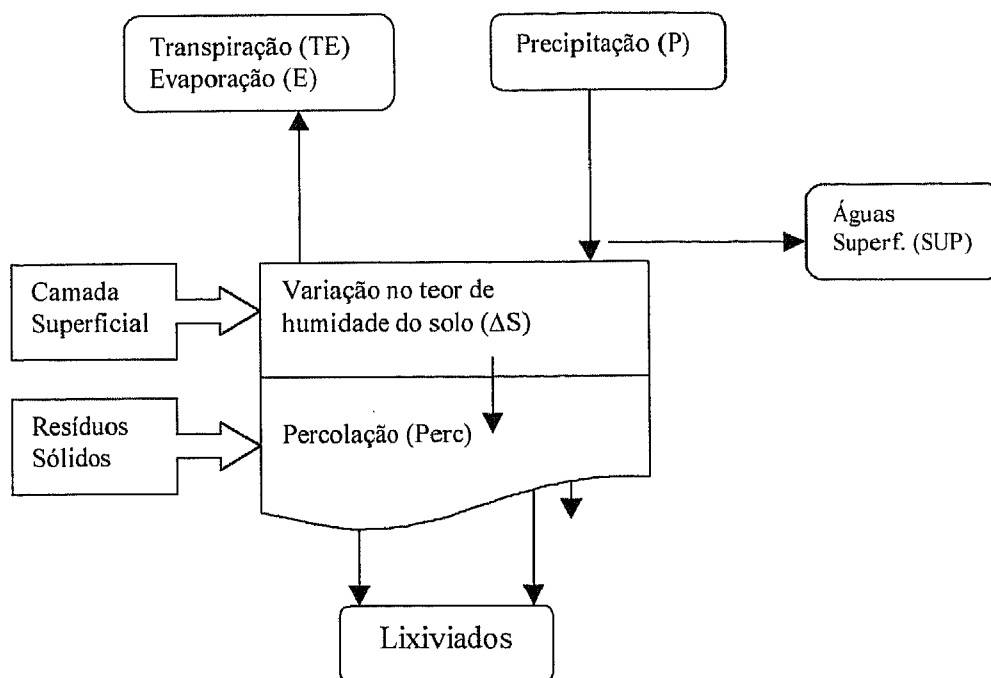
A Cobertura: A forma como é realizada a cobertura das camadas de resíduos determina a quantidade de água que percola no aterro, produzindo lixiviados. Quanto maior for a permeabilidade destas camadas, maior será o nível de infiltração da água. Por este facto, actualmente são utilizadas camadas de baixa permeabilidade, como por exemplo as membranas geosintéticas, tanto nas camadas inferiores como nas camadas superiores do aterro.

A Vegetação: A vegetação funciona como uma parte integrante do sistema de controlo dos lixiviados, diminuindo o teor em água dos solos quer através da sua interposição entre a precipitação e estes, quer através da obtenção da água de que necessita do solo e libertando-a na atmosfera. A vegetação possui também a vantagem de diminuir a erosão dos solos.

O Tipo de resíduos: A forma em que os resíduos se encontram assim como o seu tipo, influencia a produção de lixiviados. Resíduos molhados geram mais lixiviados.

Um bom projecto do aterro requer uma boa estimativa dos caudais de lixiviados, uma vez que estes afectarão os custos de operação da sua recolha e tratamento, e igualmente os custos de manutenção no período pós-encerramento.

Esta previsão requer a elaboração de um balanço à água (McCreanor, 1995) que circula no aterro, tal como se encontra esquematizado na figura 1.



$$Perc = P - (TE + E + SUP) - \Delta S$$

Figura 1 – Balanço à água existente num aterro. (Fonte: P. Mc Creanor, 1995)

Esta equação estima a quantidade de água que percolará através dos leitos de resíduos sólidos, sendo obtida pela diferença entre a água de precipitação e aquela que sai do aterro que por transpiração e evaporação quer pelas águas superficiais e tendo em conta a variação no teor de humidade do solo. Com o tempo, o volume de água que percola aproximar-se-á do volume de lixiviados produzidos. Pode ocorrer uma diferença de tempo entre a entrada de água no leito sólido e o tempo de saída contínua dos respectivos lixiviados na base do aterro. Durante este período, o teor em humidade no aterro aumentará até que se atinja a saturação do aterro. A libertação de alguns lixiviados poderá ocorrer quase imediatamente após a infiltração da água, devido à formação de canais entre as camadas de resíduos, principalmente nos momentos de grande pluviosidade.

2.2 POLUENTES ORGÂNICOS PRIORITÁRIOS

2.2.1 Poluentes orgânicos prioritários em lixiviados

Para além dos compostos orgânicos que não são voláteis, existem duas outras grandes categorias de compostos orgânicos: os voláteis (COV) e os semivoláteis (COSV), podendo ainda dividirem-se em duas subcategorias: os halogenados e os não halogenados.

Dos poluentes orgânicos os COV e os COSV são compostos utilizados, por exemplo como solventes na indústria de tintas (SRC-PhysProp Database, 2001), de forma a reduzir a sua viscosidade aumentando a eficiência de espalhamento. Podem encontrar-se nos mais diversos locais, incluindo: refinarias químicas, aterros sanitários, nos processos de deposição electroquímica, extintores de incêndio, resíduos radioactivos, tanques de oxidação, produção de pesticidas/herbicidas, solventes de desgorduramento, áreas de manutenção de veículos.

2.2.1.1 – Compostos orgânicos voláteis

A contaminação originada por estes compostos ocorre em 4 níveis:

Fase gasosa: Poluentes presentes como vapores.

Fase sólida: Poluentes na forma líquida adsorvidos em partículas sólidas.

Fase aquosa: Poluentes dissolvidos em efluentes.

Fase imiscível: Poluentes presentes em fases não aquosas.

Estes compostos podem ser retidos por capilaridade no suporte sólido formado pela deposição dos resíduos no aterro; os compostos imiscíveis encontram-se em bolsas isoladas. A saturação da fase líquida pode ocorrer por diversos mecanismos.

Um destes processos é a volatilização, a partir de uma fase líquida residual para as bolsas de ar que existam nas imediações. A migração lateral de poluentes no aterro depende quer da direcção do movimento dos lixiviados dentro do aterro, quer do movimento de correntes gasosas que o atravessam.

A libertação de vapores resulta da existência de gradientes de pressão e de densidade. Se ocorrer intersecção da fase gasosa com os lixiviados pode ocorrer a transferência de poluentes para a fase líquida por absorção.

Na tabela que se segue apresentam-se alguns exemplos de COV's, seleccionados devido ao seu grau de toxicidade.

Tabela 1 – Exemplos de compostos orgânicos voláteis. (SRC-PhysProp Database 2001)

COV's	Fórmula Molecular	p.e. (°C)	Solubilidade	Toxicidade (Directiva 67 / 548 EEC)
Metiletilcetona (MEK)	$\text{CH}_3\text{COC}_2\text{H}_5$	80,1	Muito solúvel em água. Muito solúvel em etanol.	Irritante para olhos e pele. Tóxico por inalação e ingestão. Altamente inflamável.
Acetonitrilo	CH_3CN	79,6	Muito pouco solúvel em água. Muito solúvel em etanol.	Irritante para os olhos e vias respiratórias. Altamente inflamável.
1,1-Dicloroetileno	Cl_2CCH_2	59	-----	Extremamente inflamável. Nocivo por inalação.
Freon 113	$\text{CF}_2\text{ClCCl}_2\text{F}$	47,6	Insolúvel em água. Muito solúvel em etanol.	Tóxico.
3-Cloro-1-Propeno	$\text{CH}_2\text{CHCH}_2\text{Cl}$	45	Insolúvel em água. Muito solúvel em etanol.	Altamente inflamável. Muito tóxico por inalação.
Bromometano	CH_3Br	3,6	Muito solúvel na maior parte dos solventes orgânicos.	Muito tóxico por inalação. Irritante para os olhos e pele.
Clorofórmio	CHCl_3	61,2	Muito solúvel na maior parte dos solventes orgânicos. Solúvel em água quente.	Nocivo por exposição prolongada. Irritante para a pele. Cancerígeno. Possibilidade de efeitos irreversíveis.
Pentacloroetano	$\text{CCl}_3\text{CHCl}_2$	162	Extremamente solúvel em éter. Insolúvel em água.	Tóxico por exposição prolongada por inalação. Cancerígeno. Possibilidade de efeitos irreversíveis.

2.2.1.2 Compostos orgânicos semi-voláteis

Os COSV podem-se classificar em diversas classes, como por exemplo: pesticidas, bifenilos policlorados e clorofenóis (Barceló, 1993).

Os pesticidas podem dividir-se em insecticidas, fungicidas, herbicidas, acaricidas, nematocidas e rodenticidas, dependendo do controlo que exercem.

Os bifenilos policlorados (PCB), constituem uma classe de compostos que engloba cerca de 200 variedades de produtos cancerígenos com diferentes características físicas e químicas (Potter *et al.*, 1994; Yang *et al.*, 1998). Estes são normalmente associados à poluição associada à deposição de transformadores eléctricos nos aterros.

Os clorofenóis encontram-se maioritariamente em compostos de protecção de madeiras, não se decompondo quando aquecidos até ao seu ponto de ebulição (Madgic *et al.*, 1996; Lee, *et al.*, 1998). Nestes compostos, o anel clorado aumenta-lhes a estabilidade e o grupo hidróxilo favorecem a sua degradação biológica. A forma básica dos clorofenóis (fenóxidos) é bastante mais solúvel em água do que a respectiva forma ácida (clorofenóis).

Na tabela seguinte encontram-se exemplos de COSV, seleccionados de acordo com a sua maior toxicidade.

Tabela 2 – Exemplos de compostos orgânicos semi-voláteis. (SRC-Database, 2001)

COSV's	Fórmula Molecular	p.e. (°C)	Solubilidade	Toxicidade (Directiva 67 / 548 EEC)
Benzidina	$\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$	400	Muito solúvel em água quente.	Tóxico. Nocivo por ingestão. Cancerígeno.
2,4,5-Triclorofenol	$\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_3\text{OH}$	252	Muito solúvel em etanol.	Nocivo por ingestão. Irritante para os olhos e pele.
Hexaclorobenzeno	C_6Cl_6	322	Solúvel em etanol quente. Insolúvel em água.	Tóxico. Efeitos graves para a saúde por exposição prolongada e por ingestão. Cancerígeno.
Hexaclorohexahidro-endo,exo-dimetanonaftaleno	$\text{C}_{12}\text{H}_8\text{Cl}_6$	---	Muito solúvel em etanol. Muito solúvel em água.	Tóxico por contacto com a pele e por ingestão. Cancerígeno. Possíveis efeitos irreversíveis nas vias respiratórias.
Hexaclorociclohexano	$\text{C}_6\text{H}_6\text{Cl}_6$	---	-----	Tóxico por ingestão. Nocivo por contacto com a pele. Cancerígeno.
Pentaclorofenol	$\text{C}_6\text{Cl}_5\text{OH}$	309,5	Muito solúvel em etanol. Solúvel em água.	Irritante para a pele, olhos e vias respiratórias. Cancerígeno.

2.2.1.3 Clorofenóis em lixiviados

De todos os compostos referidos nos pontos anteriores, optou-se pela classe dos clorofenóis para os quantificar nos lixiviados de aterros sanitários. Estes compostos fenólicos, são geralmente produzidos por síntese química. Fisicamente, a sua estrutura é composta por um anel benzénico com um número variável de átomos de cloro e um grupo hidróxilo ligado directamente ao anel. Apresentam-se na tabela 3, as propriedades físico-químicas de alguns destes clorofenóis (nomeadamente aqueles que foram estudados neste trabalho).

Apartir da observação desta tabela, verifica-se que à medida que o número de cloros no anel aumenta, o valor de pKa diminui. Assim, será lógico associar compostos mais clorados (mais tóxicos) a efluentes mais ácidos. Como o pKa destes compostos varia de 4,7 (pentaclorofenol) até 8,56 (2-clorofenol) e como a água de consumo pode facilmente ter um pH entre 6 e 8 é natural que a maioria destes compostos clorados possam ocorrer nestas águas, na sua forma básica (fenóxidos) e alguns na sua forma ácida (clorofenóis). Em relação aos lixiviados de aterros, poderemos supor que a maior parte do volume das águas será proveniente das águas pluviais, podendo o seu pH ser ligeiramente ácido. Contudo, o tipo de desperdícios contidos no aterro possui uma importância superior na influência do teor de acidez dos seus lixiviados e consequentemente na forma iónica em que este tipo de compostos clorados ocorrem.

Devido à sua elevada toxicidade, propriedades mutagénicas e cancerígenas, os clorofenóis são considerados poluentes prioritários tanto pela União Europeia (UE), como pela Agência de Protecção Ambiental dos EUA (EPA). A UE estabeleceu um limite máximo de 2 µg/l de pentaclorofenol em águas de superfície, águas de estuário, águas costeiras e águas marítimas territoriais (Directiva 86/280/CEE).

Em Portugal o limite estabelecido é de 1 µg/l para águas para consumo humano. Contudo, este limite não é específico dos clorofenóis mas aplicado a “outros compostos organoclorados (sem ser pesticidas)” (Decreto Lei 236/98). A EPA fixou um valor limite máximo de 1 µg/l para o pentaclorofenol presente em águas para consumo humano, águas superficiais e subterrâneas (EPA, 2001). Considerando então os factos anteriormente apresentados é de importância evidente o desenvolvimento de métodos que permitam eliminar ou reduzir a quantidade destes compostos no ambiente nomeadamente em águas residuais.

Tabela 3 – Propriedades físico-químicas de alguns clorofenóis.

Nome	p.e. (°C)	Solub. em água a 25 °C (mg/L)	p.v. (mm Hg)	pK _a (a 25 °C)	Fórmula Estrutural	Métodos Analíticos
Fenol	181,8	8,28 x 10 ⁴	0,35	9,99		EPA Methods 604, 625, 8040A e 8250A
2-clorofenol	174,9	1,13 x 10 ⁴	2,53	8,56		EPA Methods 604, 625, 8040A

Outras propriedades: Apresenta fraca a moderada adsorção quando libertado para o solo; Utilizado na síntese do pentaclorofenol; Quando libertado para atmosfera pode sofrer fotólise com o NO_x do ar poluído; Sofre biodegradação por certas espécies de *Pseudomonas* existentes no solo; Por radiação UV produz catecol; Devido ao seu valor de pKa de 8,56 o seu transporte é afectado pelo pH. Encontra-se em águas superficiais em concentrações na ordem dos 2 a 20 $\mu\text{g/L}$ (EPA).

pH _i , Encontrar-se em águas superficiais em concentrações na ordem de 2 a 20 µg/L (CLAS).			EPA Methods 604, 625, 8040A e 8250A
2,4-diclorofenol	210	$4,5 \times 10^3$	7,89
		0,1155	

Outras propriedades: Libertado para o solo através de processos de metabólismos de vários pesticidas. Quando libertado para a atmosfera pode sofrer fotodecomposição. Devido ao seu pKa de 7,8 pode existir sob as formas não dissociadas ou ionizadas dependendo do pH do meio em que se encontra. Sofre biodegradação em condições aeróbias e anaeróbias tanto no solo como em meio aquoso.

Nome do composto	Ponto de ebulição (a 740 mm Hg)	Índice de refração (a 20 °C)	Estrutura química	Método de análise		
2,6-diclorofenol	219-220 (a 740 mm Hg)	$1,9 \times 10^3$	0,033	6,79	 <chem>Oc1cc(Cl)ccc(Cl)c1</chem>	EPA Methods 8040A e 8250A

Outras propriedades: Utiliza-se juntamente com hormonas para inibição do processo reprodutivo animal; Pode-se formar a partir do processo de cloração da água, pela adição de hipoclorito a águas com fénol; Sofre degradação fotoquímica quando libertado para a atmosfera, formando-se radicais hidroxilo. Devido ao seu pKa de 6,8 pode existir ionizado ou não, em solos ou matrizes aquosas, dependendo do pH do meio. É fortemente degradável em condições de aerobiose, mas essa mesma degradação é fraca em condições anaeróbias. Pode-se encontrar nas cinzas de incineradoras municipais em concentrações de cerca de 40 ppb, e em águas residuais de algumas indústrias na gama de 5 a 300 ppb.

Tabela 3 (cont.) – Propriedades físico-químicas de alguns clorofenóis.

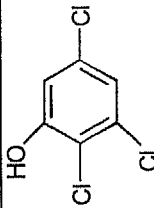
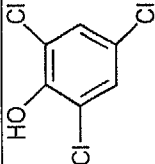
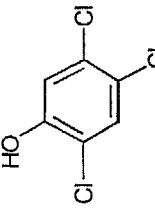
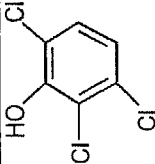
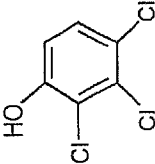
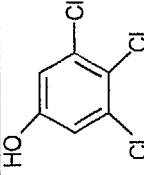
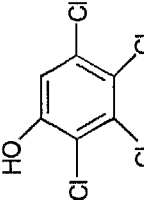
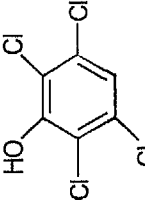
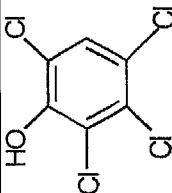
Nome	p.e. (°C)	Solub. em água a 25 °C (mg/L)	p.v. (mm Hg)	pK _a (a 25 °C)	Fórmula Estrutural	Métodos Analíticos
2,3,5-triclorofenol	248-250 (a 250 mm Hg)	90,09	0,022	---		---
2,4,6-triclorofenol	246	800	0,008	6,23		EPA Methods 604, 625, 8040A e 8250A
Outras propriedades: Causa forte irritação das vias nasais e dos olhos. Utiliza-se como herbicida, conservante e desinfetante, bactericida, germicida e fungicida, constituinte de inseticidas e de tetra e pentaclorofenol. Detectado em incineradoras de resíduos municipais e em indústrias de conservantes de madeira e de biocidas. Biodegradável em condições de aerobiose. Foi detectado em águas de consumo na Finlândia em concentrações de 14 a 30 ppt.						
2,4,5-triclorofenol	247	1200	0,0075	7,4 (a 20 °C)		EPA Methods 8040A e 8250A
2,3,6-triclorofenol	253	450	0,00246	5,8		---
2,3,4-triclorofenol	---	97,46	0,00246	---		---

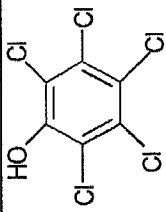
Tabela 3 (cont.) – Propriedades físico-químicas de alguns clorofenóis.

Nome	p.e. (°C)	Solub. em água a 25 °C (mg/L)	p.v. (mm Hg)	pK _a (a 25 °C)	Fórmula Estrutural	Métodos Analíticos
3,4,5-triclorofenol	275	64,49	0,00246	7,84		---
2,3,4,5-tetraclorofenol	---	28,69	0,000339	6,35		---
2,3,5,6-tetraclorofenol	164	54,9	0,000339	5,14		---
2,3,4,6-tetraclorofenol (a 15 mm Hg)	150	23	0,000666	5,22		EPA Methods 8040A e 8250A

Outras propriedades: Irritante para as vias respiratórias.

Contaminante de águas residuais através da sua utilização como conservante na indústria da madeira. Constitui a maior impureza de degradação na síntese do pentaclorofenol. Quando libertado no solo tende a contaminar as águas subterrâneas a menos que o solo apresente um pH ácido. Possível fotodegradação em águas superficiais e biodegradação lenta em solo, após longo período de aclimatização. Encontrado na Holanda em águas superficiais em concentrações até 0,56 ppb.

Tabela 3 (cont.) – Propriedades físico-químicas de alguns clorofenóis.

Nome	p.e. (°C)	Solub. em água a 25 °C (mg/L)	p.v. (mm Hg)	pK _a (a 25 °C)	Fórmula Estrutural	Métodos Analíticos
Pentaclorofenol	309,5	14	5,12	4,7		EPA Methods 515.1, 515.2, 525, 555, 604, 625, 8040A, 8151 e 8250A

Outras propriedades: Irritante para a pele, olhos e vias respiratórias. Utiliza-se como constituinte em revestimento de torres de arrefecimento ou de barcos e piscinas, como fungicida e conservante na indústria da madeira, como herbicida e fungicida na agricultura, como fungicida e conservante na indústria de tintas e colas, como desinfectante e agente antibacteriano, etc. Degradável fotoquimicamente na atmosfera, especialmente a pH elevado. Fracamente biodegradável no solo onde pode ficar acumulado, ou pode escapar-se para águas subterrâneas (possivelmente com as chuvas) dependendo do pH do solo. A biodegradação no solo pode tornar-se possível após algumas semanas de aclimatização. A adsorção no solo é significativa e os processos de hidrólise e volatilização em matrizes aquosas não têm significado. Encontrado nos Estados Unidos em águas de consumo com uma concentração de 98 ppt (Oregon) e em efluentes de indústrias como: madeira e papel (490 ppb), produtos de farmácia (110 ppb), equipamentos fotográficos (350 ppb), serrações (8300 ppb). Encontrou-se também clorofenóis em lixiviados do aterro de Long Island (Nova York) numa gama de concentrações de 7 a 210 ppb. No Canadá foram detectados níveis até 13,2 ppb num aterro em Vancouver.

2.2.2 – Parâmetros importantes para o tratamento de lixiviados

Um parâmetro fundamental no tratamento de lixiviados que contenham este tipo de compostos consiste em saber se os compostos são halogenados, uma vez que esta propriedade pode influenciar bastante o tipo de tratamento a realizar. Por exemplo, no processo de biorremediação, normalmente os compostos halogenados são menos degradados do que os não halogenados (EPA 542-F-96-023, Remediation Technologies, 2001). Quanto mais halogenado for o composto mais resistente será à biodegradação.

De modo a seleccionar o tipo de tratamento a empregar é necessário conhecer igualmente um determinado número de parâmetros como o pH, TOC, CBO, CQO, nível de óleos e gorduras, caracterização qualitativa e quantitativa dos lixiviados e caracterização dos solos (Boaventura, 1998). Outros elementos gerais como a dureza, amónia, sólidos totais dissolvidos e o conteúdo em metais, deverão igualmente ser considerados.

As condições em que se encontra o aterro, bem como a história do mesmo poderão fornecer também informações úteis acerca de poluentes existentes e na escolha dos métodos de degradação ou tratamento a utilizar.

O valor de **pH** deve ser ajustado antes e durante o processo de tratamento. Valores baixos de pH podem interferir com os processos de oxidação-redução. Por outro lado, valores extremos de pH podem limitar a diversidade microbológica dificultando o tratamento, no caso de se optar pela biorremediação. A solubilidade dos poluentes e a sua toxicidade pode ser afectada por variações de pH. As espécies metálicas e os compostos inorgânicos dissolvidos nos lixiviados dependem grandemente do valor de pH, assim como os fenóis e os compostos azotados. Processos como a adsorção por carvão activado, permuta iónica e a flocução também são afectados pelo pH.

As medidas de **CBO**, **CQO** e **TOC** nos lixiviados a tratar, assim como nos solos, fornecem indicadores de biodegradabilidade e oxidabilidade química importantes.

Os **Sólidos suspensos** poderão originar obstruções no sistema de tratamento primário sendo nesses casos aconselhável um pré-tratamento através de processos de coagulação/sedimentação e/ou filtração.

Em complemento aos parâmetros químicos, são também necessárias informações sobre a geologia e a topologia do aterro, assim como uma estimativa dos **caudais médios de lixiviados**.

Os caudais médios de lixiviados são normalmente estimados pela condutividade hidráulica, gradiente hidráulico e porosidade efectiva (Cavalheiro, 1998). Valores de **porosidade efectiva** e **condutividade hidráulica** são geralmente assumidos de valores citados em publicações científicas ou através da realização de testes com bombas.

2.2.3 Tratamento de lixiviados contaminados com clorofenóis

Um dos métodos utilizados na redução e/ou eliminação de clorofenóis em lixiviados é a **Biorremediação**, a qual consiste na degradação ou decomposição de substâncias perigosas em substâncias menos tóxicas ou que não sejam tóxicas. Assim, este processo, aplica-se como forma de remediação de solos, lamas, águas subterrâneas contaminadas, ou a lixiviados de aterros sanitários, sendo um processo natural e eficiente em termos energéticos.

Para que a eficiência de degradação seja elevada, devem-se criar as condições óptimas para que os microorganismos cresçam e se multipliquem degradando o máximo de contaminantes. Para tal, torna-se necessário uma estabilização específica da temperatura, do oxigénio e de nutrientes. O tipo de microorganismos a utilizar está directamente relacionado com o tipo de poluentes a eliminar.

A biodegradação poderá envolver a bioestimulação de microorganismos endógenos presentes em solos contaminados ou lamas municipais (Atuanya *et al.*, 2000; Melin *et al.*, 1998; Ronen *et al.*, 2000; Hollender *et al.*, 1997 e 2000). A partir do enriquecimento de alguns destes meios foram isolados consórcios ou estirpes de bactérias capazes de degradar clorofenóis.

Encontram-se ainda disponíveis comercialmente bactérias ou consórcios de bactérias já testados experimentalmente (Cassady *et al.*, 1997; Farrel *et al.*, 2000).

Se os microrganismos requeridos não existem no solo então é necessário a sua adição e criar as condições necessárias para que estes se fixem adequadamente.

Estas medidas biocorrectivas podem ser aplicadas no próprio terreno ou então após a extracção dos lixiviados do aterro e tratá-los fora do aterro.

A aplicação de um processo de biodegradação no próprio aterro necessita da criação de condições aeróbias adicionando oxigénio e nutrientes aos microorganismos no solo.

Dois dos métodos de adicionar oxigénio (Remediation Technologies, 2001), são o *bio-arejamento* e a *injecção de peróxido de hidrogénio*. A adição de oxigénio pode ser realizada por meio da sua bombagem no solo, ou sob a forma de peróxido de hidrogénio. Quando os solos são argilosos ou os subsolos são muito estratificados a introdução do oxigénio torna-se difícil.

No caso de se aplicar no próprio aterro, possui a vantagem de se evitar o transporte de materiais perigosos para fora deste. Foram estudados os mecanismos e velocidades de degradação e ou mineralização dos clorofenóis. Os principais intermediários identificados na biodegradação do 2-, 3-, e 4-clorofenol foram catecóis (Hollender *et al.*, 1997; Farrell *et al.*, 2000).

A eficiência da biodegradação depende fundamentalmente da toxicidade, da concentração inicial de contaminantes, da sua biodegradabilidade, das propriedades do solo contaminado e do tipo de tratamento adoptado. Em locais de alta concentração de metais, compostos orgânicos fortemente clorados ou de sais inorgânicos, a eficiência diminui uma vez que estes são geralmente tóxicos para a maioria dos microorganismos.

A biorremediação tem como principais vantagens ser uma técnica económica e de fácil implementação em relação a outros métodos de remediação não biológicos (Cassady, 1997).

Este é um processo longo que pode chegar a necessitar de alguns anos para se completar.

Os métodos físico-químicos são uma alternativa à biorremediação e têm como principais objectivos: modificar a estrutura do composto orgânico de forma a que este seja mais facilmente biodegradado, alterar parcialmente a estrutura do composto diminuindo a sua toxicidade e, se possível, oxidar completamente o composto a H_2O e CO_2 .

O processo de adsorção poderá ser igualmente utilizado na remoção de clorofenóis. Um adsorvente usualmente utilizado é o carvão activado (Kao *et al.*, 2000). Kao e os seus colaboradores, observaram valores para a eficiência de remoção de 2-clorofenol e 2,4-diclorofenol entre 90-100% em soluções de 1:1. Porém, apesar de eficiente, o adsorvente necessita de tratamento posterior (Puma *et al.*, 1999).

Outro método não biológico que se tem vindo a desenvolver nos últimos anos é o conjunto de processos designados por **oxidativos avançados**. Estes baseiam-se na formação de radicais hidroxilo, $OH^\bullet$, altamente oxidantes e capazes de reagir com quase todos os substractos orgânicos. Assim, os poluentes são transformados em compostos inofensivos como CO_2 e H_2O e num número reduzido de ácidos e sais.

Os processos oxidativos avançados podem-se dividir em duas categorias: processos homogéneos e processos heterogéneos. Tanto num caso como noutro estes processos têm-se revelado eficientes na remoção de clorofenóis em efluentes (Hügul *et al.*, 2000).

Nos processos heterogéneos são utilizados catalisadores como por exemplo dióxido de titânio, TiO_2 , (Puma *et al.*, 1999; Theurich *et al.*, 1996; Li *et al.*, 1999) e óxido de zinco ZnO .

O principal problema apresentado por este método é a dificuldade em separar o catalisador da solução.

Alguns dos exemplos mais comuns de processos de oxidação avançada do tipo homogéneo são: Ozono/UV, peróxido de hidrogénio/UV, ozono/peróxido de hidrogénio e reagente de Fenton (H_2O_2 e Fe^{2+}).

A degradação do 2-, 3-, 4-clorofenol e pentaclorofenol por **ultra-sons** em água é apresentada num estudo recente (Nagata *et al.*, 2000). O mecanismo de degradação baseia-se na geração de radicais $\text{OH}^\bullet$ a partir de H_2O originando a hidroxilação sucessiva do anel aromático. A adição de reagente de Fenton ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$) numa concentração de 1 milimolar aumentou 2,4 vezes a velocidade de degradação do 3-clorofenol. Uma eficiência de degradação de clorofenóis de quase 100% foi observada numa atmosfera de Argon e de 80-90% em ar para 1 hora de ultra-sons.

Noutro trabalho (Boncz *et al.*, 1997) estudou-se a influência do valor de pH na velocidade de degradação do 2-clorofenol e 4-clorofenol aplicando o processo ozono/UV tendo-se observado que a velocidade de degradação era mais elevada para valores de pH alto. A partir deste facto podemos concluir que a reactividade do anião clorofenolato é maior que a da molécula de clorofenol. O mecanismo de degradação mais importante, embora dependente das condições experimentais, é segundo os mesmos autores a oxidação directa com ozono (Hügul *et al.*, 2000). Os intermediários mais frequentemente identificados são hidroquinonas, quinonas e catecois.

A principal limitação à utilização dos processos oxidativos avançados é o seu custo elevado. Uma solução para este problema baseia-se numa utilização mais eficiente do oxidante, isto é, oxidando apenas poluentes muito tóxicos de forma a transformá-los em compostos menos tóxicos para o sistema biológico. A **oxidação electroquímica**, apesar de ainda terem sido efectuados poucos estudos aplicando este método à degradação de clorofenóis, revelou ser um método eficiente na mineralização do 2-clorofenol e do 2,6-clorofenol (Polcaro *et al.*, 1997). Os produtos finais resultantes da mineralização destes compostos foram CO_2 e ácidos alifáticos. O mecanismo de reacção baseia-se na reacção química entre os radicais $\text{OH}^\bullet$ gerados a partir da oxidação da água e o clorofenol adsorvido no eléctrodo de carvão activado.

O principal factor que influencia a velocidade da reacção é a intensidade de corrente afectando principalmente a concentração de intermediários provenientes da degradação dos clorofenóis.

Uma forma vantajosa de ultrapassar algumas das desvantagens dos métodos de degradação de clorofenóis acima apresentados poderá passar pela associação entre alguns deles. Assim, e a título de exemplo, os clorofenóis poderiam ser tratados primeiramente através de um processo oxidação avançada ou submetidos a ultra-sons, transformando os clorofenóis em compostos menos tóxicos e podendo ser aplicada posteriormente a biodegradação de modo a mineralizar completamente estes compostos. Por fim, a eficiência destes métodos pode ser avaliada utilizando o método de análise desenvolvido neste estudo (GC/MS após SPME).

2.3 MÉTODO DE ANÁLISE DE CLOROFENÓIS EM LIXIVIADOS

2.3.1 Preparação das amostras por SPME

A contaminação do meio ambiente e mais especificamente os lixiviados libertados pelos aterros sanitários, com compostos orgânicos semi-voláteis como sejam os clorofenóis, é de grande interesse devido à sua vasta utilização na indústria e também pela elevada toxicidade destes compostos. Muitas vezes estes compostos existem em quantidades vestigiais, sendo no entanto importante a sua quantificação devido à sua elevada toxicidade.

Os processos de **amostragem, preparação da amostra**, separação analítica, detecção e análise dos resultados são, normalmente, os principais passos de um método analítico. Destes, a recolha da amostra e a sua preparação através de etapas de extracção e concentração, consomem mais de 80% do tempo da análise.

Um dos problemas para a análise deste tipo de compostos, reside no facto de que a grande parte dos equipamentos disponíveis não conseguir lidar directamente com a amostra. Este problema impõe a necessidade de se ter que isolar os componentes de interesse para cada estudo, da matriz da amostra em que estes estão contidos. Idealmente a amostra deveria ser “limpa”, por forma a evitar alguns problemas, nomeadamente: a diminuição do tempo de vida útil das colunas, por adsorção irreversível de constituintes da matriz e consequente perda de resolução; a contaminação dos sistemas de injeção; a saturação dos sistemas de detecção; e finalmente a co-eluição de interferentes.

Atendendo a que muitas vezes os compostos a analisar encontram-se em concentrações vestigiárias, a concentração dos analitos extraídos, constitui um passo muito comum após a **extracção**. Estes compostos estão presentes na amostra em teores bastante inferiores aos limites de detecção dos equipamentos de análise, dificultando a sua análise.

Sendo assim, é normal que durante as etapas de preparação deste tipo de amostras, ocorram perdas de analito, o que faz com que a **reprodutibilidade** e a **repetibilidade** dos ensaios efectuados sejam afectados. Por todos os factos apresentados, a selecção do método de extracção é fundamental para o sucesso do método utilizado.

Apesar dos crescentes avanços nas técnicas de extracção, separação e quantificação, continuam-se a utilizar métodos de análise como sejam os métodos EPA, nomeadamente, os métodos 604 e 8040A para a determinação de fenóis e os métodos 625 e 8270A para a determinação de compostos orgânicos semi-voláteis em água.

Estes métodos baseiam-se em práticas tradicionais de preparação de amostras utilizando grandes quantidades de solventes. As técnicas como a extracção Soxhlet e a extracção líquido-líquido (Rijks *et al.*, 1983; Seidel *et al.*, 1993; Onuska *et al.*, 1985) possuem inúmeras desvantagens, uma vez que utilizam geralmente, solventes caros e bastante tóxicos, sendo os tempos de preparação muito longos (Alpendurada, 2000).

Na tabela seguinte, encontram-se os principais passos de preparação de uma amostra, utilizando diferentes técnicas de extracção.

Tabela 4 – Etapas necessárias para a preparação de uma amostra, utilizando a extracção líquido-líquido (LLE), a extracção em fase sólida (SPE) e a microextração em fase sólida (SPME). (Fonte: M. Alpendurada, 2000)

LLE	SPE	SPME
- Adição de um solvente orgânico à amostra	- Condicionamento das seringas ou membranas	- Exposição da fibra à amostra
- Agitação num funil de decantação	- Eluição do solvente para remover impurezas e dessorção do analito	- Dessorção do analito no injectore
- Separação das fases orgânica e aquosa	- Evaporação/concentração da fase orgânica	
- Evaporação/concentração da fase orgânica	- Injecção para a análise	
- Injecção para a análise		

Nesta tabela, observa-se que a extracção por SPME, devido a ser uma técnica que não utiliza solventes e possuindo um protocolo bastante expedito (além de ser necessário um pré-acondicionamento na primeira utilização da fibra), possui enormes vantagens em relação às técnicas de extracção convencionais.

Esta técnica surgiu pela primeira vez em 1990 por Janusz Pawliszyn tendo sido distinguida em 1994 com inúmeros prémios de investigação de prestígio pelas tecnologias inovadoras que utiliza. Apesar da técnica ter sido introduzida na área ambiental, a sua utilização engloba, actualmente, a

análise de uma grande variedade de compostos como seja: COV em água (Supelco app. note 56, 1995), compostos PAH (Potter *et al.*, 1994; Supelco app. note 99, 1995), pesticidas (Barceló, 1993), fenóis (Buchholz *et al.*, 1994; Barták *et al.*, 1997; Moder *et al.*, 1997), em matrizes tão variadas como sejam os alimentos, o solo (Lee *et al.*, 1998) e urina (Lee *et al.*, 1998; Supelco, app. note 83, 1997).

2.3.1.1 Breve descrição da técnica

A microextração em fase sólida não necessita de solventes nem equipamento muito sofisticado (Pawliszyn, 1997), permitindo a concentração de compostos voláteis e semivoláteis, quer em amostras líquidas quer em amostras gasosas, para uma análise posterior.

Na figura 2, encontra-se representada uma unidade de SPME (Chai *et al.*, 1993), a qual é constituída por um filamento de sílica revestido com uma mistura de adsorventes sólidos, por exemplo, polímeros de divinilbenzeno, resinas ou carvão poroso. Esta fibra é fixa a uma agulha de aço inoxidável suportada por uma seringa.

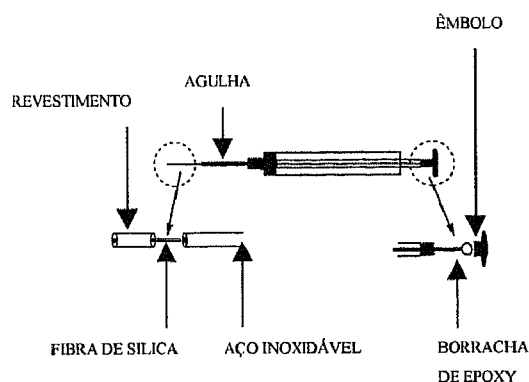


Figura 2 – Dispositivo de análise para SPME. (Fonte: M. Chai *et al.*, 1993)

A selecção do tipo de revestimento (ou seja, do tipo de fibra) está directamente relacionado com as características dos compostos a extrair, assunto a que se voltará mais adiante.

Depois de se ter procedido a esta selecção, podem-se realizar ensaios de microextração, os quais podem ser efectuados de duas formas distintas (ver figura 3): por extração em fase líquida (por imersão) a SPME propriamente dita e por extração em fase gasosa: a HSSPME (*Headspace*).

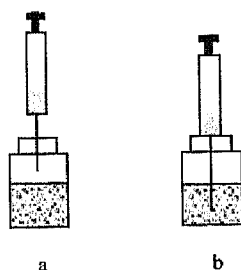


Figura 3 - Formas de microextração em fase sólida:
(a) em fase gasosa - HSSPME e (b) por imersão – SPME.

A extração na fase gasosa revela-se mais importante para compostos que sejam bastante voláteis, como sejam os COV. Para compostos não voláteis ou semi-voláteis é aconselhável a extração pela imersão da fibra na amostra, desde que a matriz não danifique a fibra.

Alguns estudos (Nilsson, *et al.*, 1997), mostram que a microextração em fase sólida utilizando a técnica por imersão da fibra directamente na fase líquida e utilizando as normas padrão ISO, apresenta precisão e reprodutibilidade idênticas às que se obtêm quando se empregam as técnicas tradicionais de análise. Estes resultados são ainda melhorados no caso específico de compostos extraídos pela fase gasosa. Outras investigações, também recentes, (Zhang *et al.*, 1993; Llompart *et al.*, 1996) em que se aplica esta técnica de extração de compostos voláteis (como os PCB), obtêm melhoria nos limites de detecção na ordem das partes por bilião para as partes por trilião, substituindo a microextração por imersão pela microextração na fase gasosa. Os tempos necessários para atingir as condições de equilíbrio são sempre inferiores na microextração na fase gasosa do que os tempos necessários para a microextração por imersão da fibra na fase líquida.

Depois desta etapa de microextração, ou seja de concentração dos compostos de interesse na fibra, procede-se à sua análise propriamente dita, normalmente num sistema de cromatografia, onde após serem injectados sofrem dessorção a uma temperatura geralmente elevada, sendo “encaminhados” para a coluna onde ocorre a separação.

2.3.1.2 Aplicações gerais

Algumas investigações recentes, têm evidenciado vantagens na utilização da técnica de SPME em aplicações tão variadas como sejam as seguintes:

- Pesquisa policial de vestígios de explosivos em casos de terrorismo (até uma concentração limite de partes por bilião);
- Pesquisa policial de vestígios de explosivos em casos de fogo posto;
- Abuso de drogas detectado pela sua identificação em amostras de urina;
- Determinação de odores em águas potáveis (até uma concentração limite de partes por trilião).

É previsível, pelos factos apresentados, a existência de inúmeras vantagens na aplicação desta técnica para a análise quantitativa de poluentes prioritários, nomeadamente os compostos orgânicos voláteis e os semi-voláteis (Page *et al.*, 1997), existentes em lixiviados de aterros sanitários.

As vantagens mais relevantes desta técnica, residem no facto de se reduzirem as perdas de amostra, reduzir o tempo de análise, reduzir a quantidade de solvente utilizado e a sensibilidade ser elevada. Outra vantagem considerável, é a da fibra poder ser reutilizada de 50 a 100 vezes, e tendo em conta o seu preço de compra, se esta for tratada devidamente, o método torna-se pois, mais económico.

Apesar das inúmeras vantagens, apresenta igualmente algumas limitações, como seja a qualidade das fibras que não é constante e depende do fabricante (Alpendurada, 2000). Por outro lado, as fibras são frágeis podendo quebrar-se facilmente. Existe também a necessidade de realizar um condicionamento sempre que se utiliza uma fibra nova ou quando esta não é utilizada durante um longo período de tempo. Ocorre uma degradação progressiva do revestimento da fibra, após o seu condicionamento e na sua utilização posterior, mesmo tomando todas as precauções aconselhadas pelo fabricante.

Outro tipo de problemas pode surgir, quando a fibra sofre contaminação entre extracções consecutivas (mesmo a temperaturas elevadas). Por esta razão, é conveniente realizar regularmente ensaios em branco com o fim de verificar se ocorre contaminação.

Em matrizes com elevadas percentagens de matéria em suspensão, a fibra corre o risco de se quebrar (especialmente com uma agitação forte) para além de existir a possibilidade de uma adsorção irreversível de alguns compostos. Esta adsorção modifica as propriedades da fibra, podendo torná-la ineficiente para os compostos em estudo. Nestes casos é aconselhável a utilização de uma membrana permeável protectora da fibra (Pawliszyn, 1997). Existe ainda a possibilidade, em certos casos, da formação de algumas bolhas de ar sobre a fibra, que poderão dificultar a transferência de massa diminuindo a eficiência da extracção.

2.3.1.3 Parâmetros que influenciam a microextracção

A selecção do tipo de fibra utilizada (polaridade, rugosidade e espessura), a agitação da amostra, o método de amostragem (em fase líquida ou em fase gasosa), o valor de pH, a concentração salina e o volume da amostra são os principais factores (Pawliszyn, 1997; Zhang *et al.*, 1993) necessários para obter resultados credíveis.

Para a *selecção do tipo de fibra* (Supelco app. note 95, 1996) a utilizar deve-se ter em conta dois parâmetros: por um lado, a polaridade do composto a analisar e por outro, a sua volatilidade.

Os compostos polares são “atraídos” para fases polares (por exemplo, poliacrilatos e revestimentos de Carbowax). As fibras de espessura fina (100 µm) são apropriadas para voláteis, sendo igualmente utilizadas para compostos menos voláteis contudo com tempos de extracção mais longos. Fibras porosas (com revestimento de divinilbenzeno ou Carboxen) retêm igualmente compostos de dimensões reduzidas, sendo ideais para compostos com 2 a 6 átomos de carbono. Fibras de espessuras ainda mais reduzidas (7 µm e 30 µm de polidimetilsiloxano) são apropriadas para moléculas de dimensões maiores.

Existe uma relação de proporcionalidade directa entre a rugosidade do revestimento da fibra e a difusão do componente a extrair da amostra. A rugosidade provoca uma retenção de compostos voláteis transferindo-os para o sistema injector de um cromatógrafo, minimizando eventuais perdas. Para a extracção de compostos de elevado peso molecular é aconselhável a utilização de fibras menos rugosas, assegurando uma difusão mais rápida e uma melhor dessorção durante a análise cromatográfica. Fibras mais finas removem componentes com ponto de ebulição mais elevado de modo mais eficiente, contudo a velocidade de dessorção será menor, podendo mesmo alguns compostos ficarem retidos na fibra, afectando a análise.

Especialmente para compostos de elevado peso molecular e coeficientes de difusão elevados, *a agitação da amostra durante a extracção* é de bastante importância, pois aumenta a velocidade de extracção.

A forma de extracção é bastante importante, uma vez que compostos que apresentam alguma pressão de vapor podem ser extraídos da fase gasosa, os outros só podem ser extraídos por imersão directa da fibra na fase líquida. Geralmente o equilíbrio é atingido mais rapidamente em extracção em fase gasosa, uma vez que na extracção por imersão as moléculas de água que rodeiam a fibra, constituem uma barreira estática que os compostos têm que vencer (Arthur e Pawlinszyn, 1990).

A adição de sal à amostra ou *a alteração do seu pH*, pode aumentar a força iónica da solução, e por isso, diminuir a solubilidade de certos componentes. Todavia, o sal pode aumentar a solubilidade de outros compostos, sendo por isso necessário realizar um estudo prévio e específico para cada caso. Geralmente, os componentes básicos e ácidos são mais eficientemente extraídos a pH básico e ácido, respectivamente.

O volume da amostra a utilizar em todas as experiências foi estimado após a recolha na bibliografia, de alguns valores para a constante de distribuição (k_{fs}) entre a fibra e a amostra. Esta estimativa é realizada tendo em conta que a sensibilidade do método de SPME é proporcional ao número de moles (n) extraído da amostra. Para a extracção por imersão directa da fibra na amostra, o número de moles pode ser obtido por,

$$n = \frac{k_{fs} V_f V_s C_0}{V_s + k_{fs} V_f}$$

onde V_f é o volume do revestimento, V_s o volume da amostra e C_0 a concentração inicial.

À medida que aumenta o volume da amostra V_s , também aumenta o número de moles extraído n , até que o volume da amostra se torna significativamente superior ao produto da constante de distribuição pelo volume do revestimento (capacidade da fibra: $V_f k_{fs} \ll V_s$). Neste ponto, a sensibilidade do método não aumenta com o aumento do volume da amostra, reduzindo-se a equação anterior a:

$$n = k_{fs} V_f C_0$$

Na prática, o volume limitante pode ser determinado assumindo um erro de medida, E:

$$V_s = \frac{100 k_{fs} V_f}{E}$$

Por exemplo, para um erro de 5%, pode-se estimar um volume $V_s = 20 k_{fs} V_f$.

Através da análise dos resultados obtidos por Buchholz e Pawliszyn, 1998 e ainda por Barták *et al.*, 1997, verifica-se que as constantes de distribuição entre a fibra de poliacrilato e a amostra, obtidas para os clorofenóis aí estudados têm um valor médio de cerca de 150. Então se admitirmos esta hipótese para a maioria dos compostos e considerando que se utiliza uma fibra com um revestimento de 85 μm , vem:

$$V_s = 20 \times 150 \times \pi \times (85 \times 10^{-4})^2 \Leftrightarrow V_s = 0,68 \text{ mL}$$

Na prática, como se pretendia analisar uma matriz com bastante partículas em suspensão como é a dos lixiviados, decidiu-se para maior protecção da fibra, utilizar um volume de amostra um pouco superior ao dobro deste valor.

Optou-se por utilizar, em todas as experiências, 2 mL de amostra em frascos com a capacidade total de 4 mL.

Existem ainda *outros factores*, com menos influência no controlo, por exemplo, a concentração do componente a extrair. Finalmente, os parâmetros de dessorção-temperatura dos injectores, profundidade da inserção da fibra no injector do sistema cromatográfico e tempo de dessorção, devem ser igualmente optimizados.

2.3.2 A análise por GC/MS

Após o processo de pré-concentração, a análise destes compostos consiste na injeção da fibra no injetor de um sistema cromatográfico de forma a realizar a dessorção, a separação e a quantificação do analito presente na amostra.

Os sistemas cromatográficos, geralmente utilizados, são a cromatografia gasosa (GC) (Onuska *et al.*, 1985; Eisert *et al.*, 1995 e 1996; Paschke *et al.*, 1998), a cromatografia líquida de alta performance (HPLC) (Supelco app. note 98 e 106, 1996), eventualmente seguidos de espectrometria de massa (MS) (Supelco app. note 94, 1996; Jennison, 1999).

A cromatografia gasosa é uma técnica analítica bastante popular, poderosa e de fácil execução. Contudo, os detectores normalmente associados apresentam alguns inconvenientes, como seja a falta de uma prova definitiva de identificação dos compostos detectados após a separação realizada na coluna. Na maior parte dos detectores de GC, a identificação é baseada unicamente nos tempos de retenção dos compostos (baseados na comparação destes valores mas na mistura padrão). Como alguns compostos possuem o mesmo tempo de retenção, com uma mesma coluna, pode-se ficar em dúvida quanto à identificação de um composto num dado pico de eluição. Por este facto, a espectrometria de massa constitui uma excelente ferramenta para a identificação da estrutura dos compostos estudados. Assim, a combinação de um GC ou HPLC com um MS, constitui um sistema analítico poderosíssimo, capaz de separar misturas nos seus componentes individuais, possibilitando o fornecimento de grandes quantidades de informação qualitativa e quantitativa de cada componente na amostra injectada.

2.3.2.1 Breve descrição da técnica

A análise por GC/MS permite, analisar os iões formados na fase gasosa a partir da vaporização da amostra injectada num GC, na forma de razão massa/carga (m/z) e nas suas abundâncias relativas, no espectro resultante.

O espectro de massa consiste numa representação gráfica da intensidade dos iões *versus* a razão massa/carga. Neste trabalho, com o aparelho de GC/MS utilizado (Varian - Saturn Workstation, 1998), o espectro de massa é criado a partir de um analisador designado por “*Ion Trap*”.

Este tipo de analisador difere dos outros tipos de analisadores, como sejam os de sectores magnéticos, os quadrupolos, e os “*time-of-flight*”, na forma de transporte dos electrões. Nestes

últimos os electrões passam através de uma sequência de campos magnéticos fixos. Por seu lado, o “*Ion Trap*” retém os iões numa só região, na qual a intensidade dos campos magnéticos pode ser ajustada.

Na figura 4, encontram-se representados os principais componentes e a sua interligação funcional, do sistema de GC/MS utilizado neste trabalho.

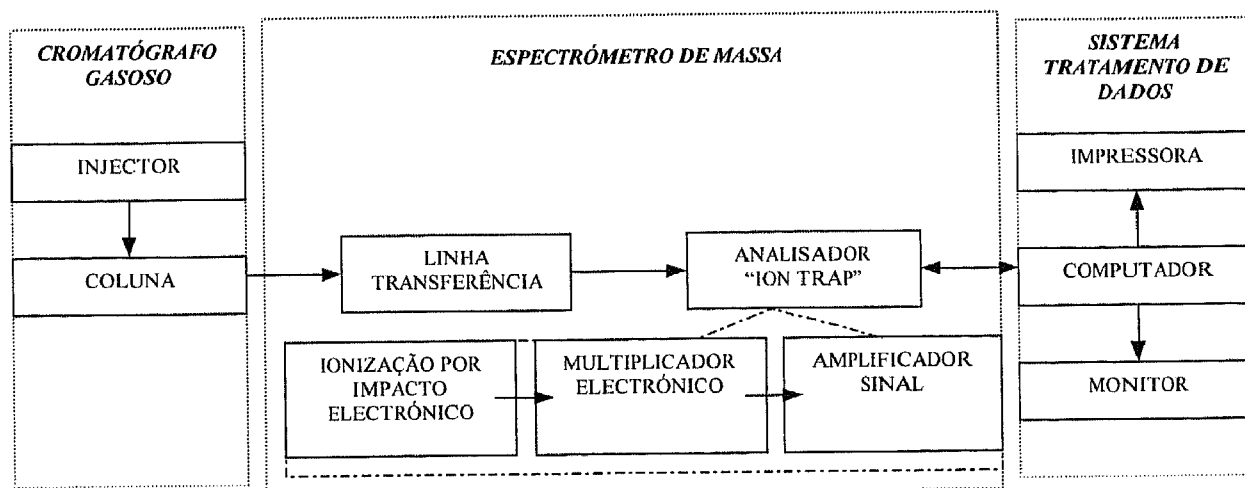


Figura 4 – Diagrama de blocos funcional de um GC/MS. (Fonte: Adaptado de Saturn GC/MS Workstation-Varian, 1998)

Os principais passos na análise por GC/MS seguem a seguinte ordem:

A amostra é introduzida manualmente no injector do GC, sendo de seguida encaminhada para a coluna na qual sofre um processo de separação das suas moléculas. Após a separação, o gás de arraste transporta a amostra através da linha de transferência para o analisador. Nesta altura, as moléculas são ionizadas por impacto electrónico, de acordo com a razão massa/carga. Este processo consiste na destabilização da estrutura molecular, provocando a libertação de um dos electrões da molécula, gerando um catião radical (ião molecular). Dependendo da estrutura original dos compostos e do excesso de energia destabilizante presente na estrutura molecular, o composto ionizado (ião molecular) fragmenta-se em espécies iónicas e neutras.

Após a fragmentação, os iões (moleculares e fragmentados) produzidos, são armazenados e estabilizados na cavidade do analisador, onde se deslocam em orbitais definidas. O gás hélio está também presente nesta cavidade, ajudando a forçar os iões a deslocarem-se em orbitas mais compactas, o que produz um sinal cromatográfico melhor definido. Utiliza-se hélio, uma vez que este não se ioniza tão rapidamente como as moléculas da amostra. Por outro lado, à medida que

se formam cada vez mais iões de hélio na cavidade, estes não são aí armazenados, mas antes projectados para fora do sistema à medida que vão sendo formados.

A análise de iões é feita, com o auxílio do multiplicador electrónico, através da aplicação de uma tensão de rádio frequência (1,1 MHz) ao anel do eléctrodo que rodeia a cavidade do analisador. À medida que a tensão aumenta neste anel, os iões são sequencialmente ejectados da cavidade, de acordo com a sua razão massa/carga. Uma ligeira tensão AC (tensão de modulação axial) de frequência e amplitude definidas é também aplicada durante a análise, por forma a melhorar a resolução na injeção iónica e na unidade de massa.

Finalmente, e após a conversão do sinal obtido este é enviado para um sistema de tratamento de dados. Nesta altura é gerado o cromatograma que representa uma medida da soma de todas as cargas iónicas produzidas em função do tempo (TIC) a partir do qual e seleccionando um determinado tempo, pode-se obter um espectro de massa, ou seja, uma representação da massa molar em função da concentração iónica.

Os principais parâmetros de operação do espectrómetro de massa, a partir dos quais podemos otimizar a identificação, são: a modulação axial, o ganho no multiplicador electrónico, a corrente de emissão dos electrões, e as temperaturas no detector ("*Ion Trap*") no "*Manifold*" e na linha de transferência ("*Xline*"). É conveniente a realização de injeções cromatográficas de forma a evitar a saturação do detector, normalmente o sistema de detecção da massa é muito sensível a este factor. Os parâmetros que se utilizam na espectrometria de massa são normalmente estabelecidos numa calibração diária.

2.3.2.2 Aplicações gerais

A aplicação do método de análise por GC/MS, pode englobar sectores (McMaster, 1998) tão variados como sejam:

- identificação e quantificação de compostos orgânicos voláteis em matrizes variadas;
- determinação de pesos moleculares e (por vezes) composições elementares de compostos orgânicos desconhecidos em matrizes complexas;
- determinação estrutural de compostos orgânicos desconhecidos através da comparação do seu espectro com um espectro de referência e por interpretação do espectro de massa *a priori*.

De entre as aplicações mais comuns, podemos nomear:

- quantificação de poluentes em águas potáveis e residuais, utilizando os métodos oficiais EPA;
- quantificação de drogas e dos seus metabolitos, tanto no sangue como na urina, em aplicações de investigação policial e de farmácia;
- identificação de compostos orgânicos em resíduos tóxicos e perigosos;
- identificação de produtos de reacção na síntese de compostos orgânicos;
- análise de produtos no controlo da qualidade ambiental.

2.3.2.3 Vantagens na combinação das duas técnicas

A utilização da microextração em fase sólida como técnica bastante selectiva de extracção de compostos por adsorção numa fibra específica, constitui uma enorme vantagem devido à vasta gama de compostos que existem num lixiviado de um aterro sanitário e igualmente às baixas concentrações em que estes se encontram, minimizando os possíveis efeitos de matriz.

Por outro lado, o acoplamento de um espectrómetro de massa a um cromatógrafo gasoso, vem melhorar a qualidade na interpretação dos dados obtidos possibilitando a identificação imediata dos poluentes estudados. Esta técnica permite diminuir a possibilidade de erro devido a compostos interferentes, já que fornece o espectro de massa do pico cromatográfico seleccionado e realiza a sua comparação com os espectros de massa que possui em base de dados.

2.3.2.4 Análise de clorofenóis em soluções aquosas

A análise de clorofenóis em soluções aquosas tem vindo a ser apresentada em diversos estudos. Alpendurada (2000), apresenta a SPME como sendo uma técnica promissora quando acoplada a um método de separação e quantificação como o GC/MS, o HPLC, e provavelmente num futuro próximo com a electroforese capilar e a cromatografia supercrítica. Os resultados apresentados neste estudo, referem-se ao efeito da saturação das amostras com sal e a sua acidificação para valores de pH inferiores a 2. Os resultados referem-se a um conjunto de 8 clorofenóis existentes numa mistura de 17 fenóis e encontram-se esquematizados na figura seguinte.

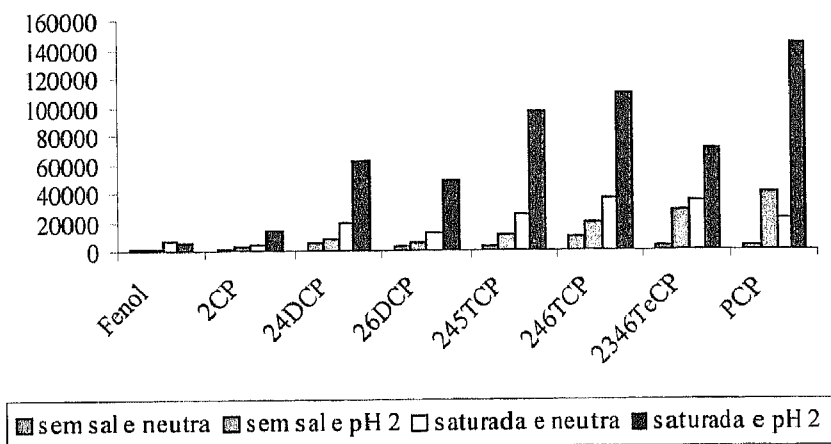


Figura 5 – Efeito do sal e do pH na extração de fenóis por SPME. (Fonte: Alpendurada, 2000)

Nestas análises utilizou-se uma fibra de poliacrilato, sendo a extração por imersão. Os resultados revelam que a adição de sal e a acidificação das amostras aumenta a quantidade de clorofenóis extraída. Este efeito é justificado pela autora como um aumento na força iónica da solução, provocando a diminuição na solubilidade dos compostos polares (como os clorofenóis) e aumentando várias vezes os respectivos coeficientes de partição.

Noutro estudo, Barták *et al.* (1997) comparam os resultados da extração por imersão (SPME), com os resultados da extração a partir da fase gasosa (HSSPME) depois de se acidificar e saturar as amostras com sal. Na figura 6, encontram-se os resultados para 5 clorofenóis contidos numa mistura padrão de 9 fenóis.

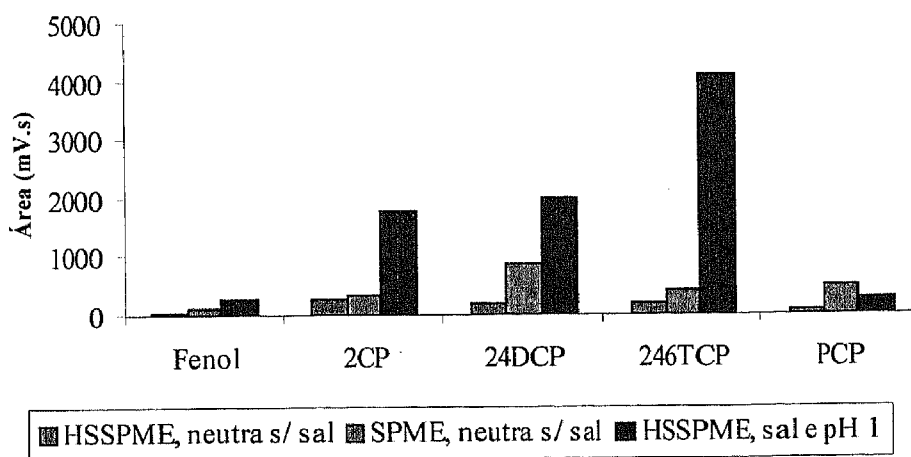


Figura 6 – Comparação das técnicas de SPME com um revestimento de poliacrilato na extração de fenóis.; 2CP = 2-clorofenol; 24DCP = 2,4-diclorofenol; 246TCP = 2,4,6-triclorofenol e PCP = pentaclorofenol) (Fonte: Barták *et al.* ,1997)

Pela análise destes resultados verifica-se que eles confirmam o efeito do aumento da eficiência de extracção através da adição de sal e a acidificação das amostras, também observado por Alpendurada (2000). Revelam também que a extracção partindo da fase gasosa apresenta melhores resultados do que a extracção pela imersão directa da fibra na amostra, com a excepção do pentaclorofenol que apresenta um efeito contrário.

Por último, é apresentado um estudo relativo à utilização de fibras com revestimento de poliácrlato (PA) ou de polidimetilsiloxano (PDMS) na extracção de fenóis. Os resultados esquematizados na figura 7, referem-se à extracção partindo da fase gasosa, utilizando saturação com sal e acidificação das amostras. Não são apresentados dados específicos relativos a clorofenóis, contudo a classe de compostos representada, engloba compostos orgânicos polares, como são os clorofenóis, esperando-se por isso resultados semelhantes.

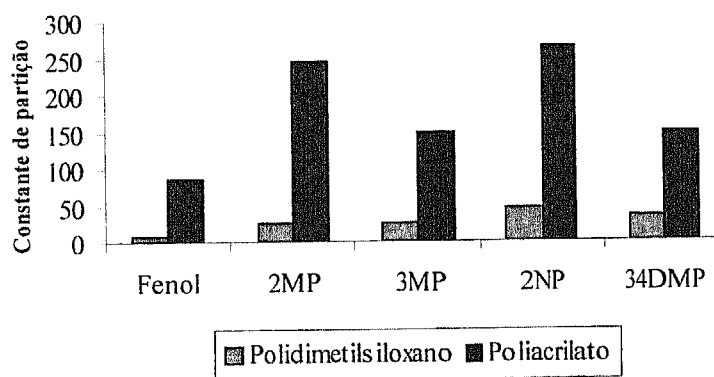


Figura 7 – Comparação entre os revestimentos de polidimetilsiloxano e poliácrlato (HSSPME, com acidificação e saturação; 2MP = 2-metilfenol; 3MP = 3-metilfenol; 2NP = 2-nitrofenol e 34DMP = 3,4-dimetilfenol). (Fonte: Barták *et al.*, 1997)

Estes resultados revelam que o revestimento de poliácrlato permite melhores resultados do que o de polidimetilsiloxano na extracção de compostos polares como os fenóis.

Por fim, Barták *et al.* apresentam um cromatograma típico (ver figura seguinte) da extracção da mistura padrão EPA 604 M Phenols Mix, com uma concentração de 1 mg/L para cada fenol.

Condições experimentais

SPME:

20 mL de amostra saturada e
pH 1 em frascos de 30 mL
Fibra de poliacrilato,
Em fase gasosa durante 60 min.

GC-FID:

Coluna: DB-5 da J&W
Forno: 80 °C durante 2 min.,
Rampa a 4 °C/min. até 250 °C.
Injector a 250 °C durante 8 min.
Hélio a 7 mL/min.

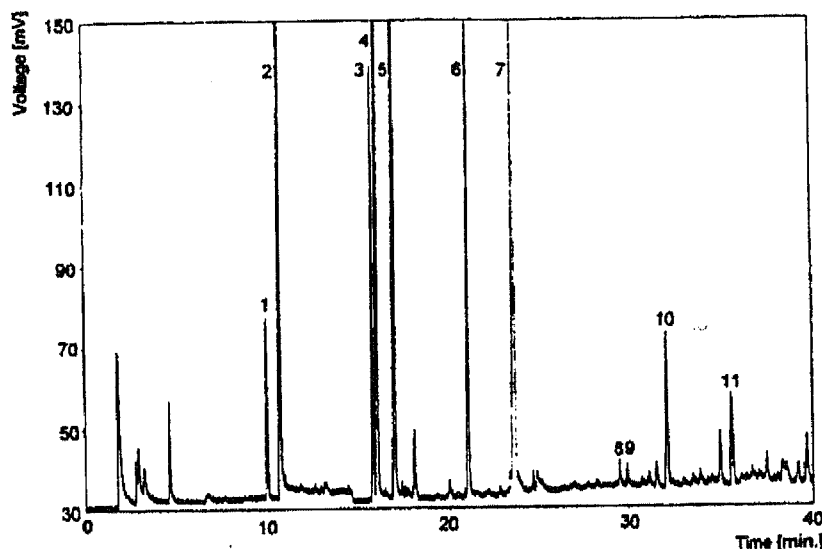


Figura 8 – Cromatograma obtido por GC/FID após SPME da mistura padrão EPA 604 M Phenols Mix. (1 = fenol; 2 = 2-clorofenol; 3 = 2-nitrofenol; 4 = 2,4-dimetilfenol; 5 = 2,4-diclorofenol; 6 = 4-cloro-3-metilfenol; 7 = 2,4,6-triclorofenol; 8 = 2,4-dinitrofenol; 9 = 4-nitrofenol; 10 = 2-metil-4,6-dinitrofenol; 11 = pentaclorofenol). (Fonte: Barták *et al.*, 1997)

Buchholz e Pawliszyn (1994), analisaram fenóis em águas residuais, utilizando uma mistura de 20 fenóis contendo entre eles 11 clorofenóis. Os resultados obtidos neste estudo confirmam o mesmo efeito já referido noutros trabalhos, nomeadamente o aumento da eficiência de extração por SPME quando se acidifica e saturam com sal as amostras. A figura seguinte traduz esses resultados.

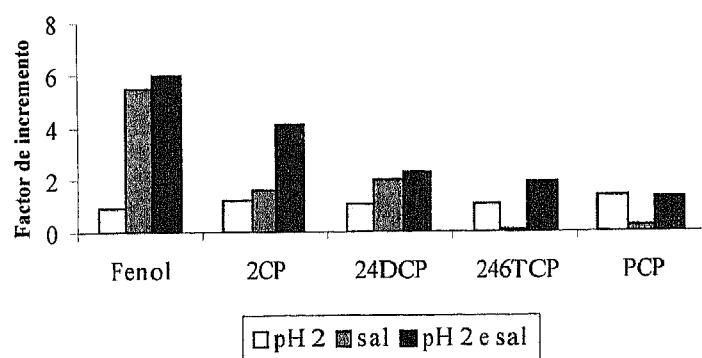


Figura 9 – Efeito da adição de ácido e de sal na extração de clorofenóis por SPME. Os valores representam um factor de aumento no valor das áreas cromatográficas. (Fonte: Buchholz e Pawliszyn, 1994)

Neste estudo é referido que devido à natureza do revestimento de poliacrilato (sólido) esta fibra necessita de um tempo de equilíbrio na extracção, mais longo do que o requerido com um revestimento de polidimetilsiloxano (líquido polimérico). Normalmente necessitam-se cerca de 60 minutos com um revestimento de PA, em comparação com os 30 a 40 minutos requeridos com um revestimento de PDMS, para se atingirem as condições de equilíbrio.

Os autores apresentam ainda uma tabela de resultados das gamas de linearidade e comparam os limites de detecção obtidos com os valores correspondentes utilizando os métodos EPA para análise de compostos orgânicos semi-voláteis em que a preparação da amostra para cromatografia é realizada com procedimentos envolvendo a extracção líquido-líquido. Estes valores estão apresentados na tabela 5, que se apresenta de seguida.

Tabela 5 – Limites de detecção e gama de linearidade obtidos na extracção de fenóis utilizando uma fibra revestida com poliacrilato. (Fonte: Buchholz e Pawliszyn, 1994)

Composto	gama linear SPME (mg/L)		limites detecção (µg/L)		limites detecção EPA (µg/L)	
					método 604	método 625
	GC-FID	GC/MS	GC-FID	GC/MS	GC-FID	GC/MS
<i>Fenol</i>	0,2-2,0	0,007-0,7	30	0,80	0,14	1,5
<i>2-clorofenol</i>	0,02-2,0	0,007-0,7	0,61	0,24	0,31	3,3
<i>2,4-diclorofenol</i>	0,002-2,0	0,007-0,7	0,64	0,02	0,39	2,7
<i>2,4,6-triclorofenol</i>	0,05-5,0	0,007-0,7	0,80	0,08	0,64	2,7
<i>Pentaclorofenol</i>	0,008-8,0	0,007-0,7	1,4	0,11	7,4	3,6

Os valores apresentados foram estimados da seguinte forma: para as análises por GC-FID, compara-se a área cromatográfica obtida com o menor padrão detectado, utilizando um valor fixo máximo ("Peak Threshold") de 10000. Por exemplo, se um padrão de 3 ppb dá uma área de 30000 para um dado composto, o limite de detecção foi estimado em 1 ppb. Nas análises por GC/MS o limite de detecção foi estimado tendo em conta uma razão sinal/ruído (S/N) estabelecida no método utilizado em relação ao menor padrão detectado. Assim, por exemplo, com uma razão S/N de 2 se o menor padrão detectado for o de 10 ppb, então o limite de detecção é considerado como sendo 5 ppb.

Pela observação destes resultados, verifica-se que a utilização da técnica de GC/MS após a extracção por SPME melhora os níveis de detecção de clorofenóis substituindo o método EPA 625. O mesmo efeito não é observado utilizando a análise por GC-FID (método 604).

Buchholz *et al.*, apresentam também 2 cromatogramas relativos à análise de fenóis por GC/MS após extracção por SPME. O primeiro é relativo a uma mistura padrão de fenóis com uma concentração individual de 20 µg em 30 mL de água. O segundo cromatograma refere-se a uma amostra proveniente de um efluente de um clarificador primário de uma estação de tratamento de água no Canadá. Nesta análise detectou-se 80 ppb de fenol e 0,3 ppb de 2,4-diclorofenol.

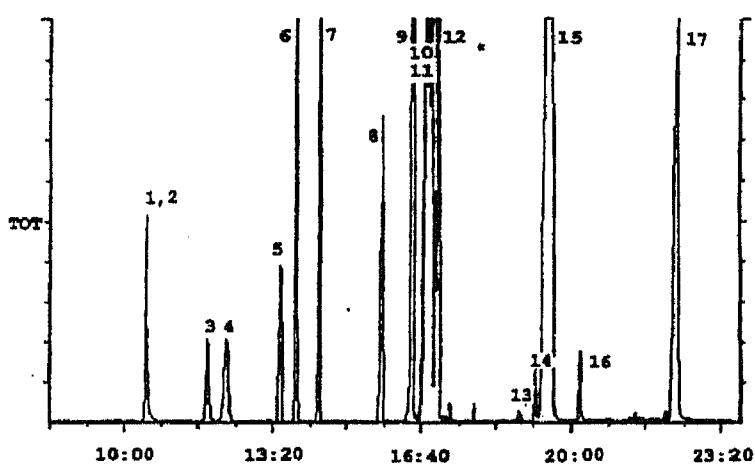
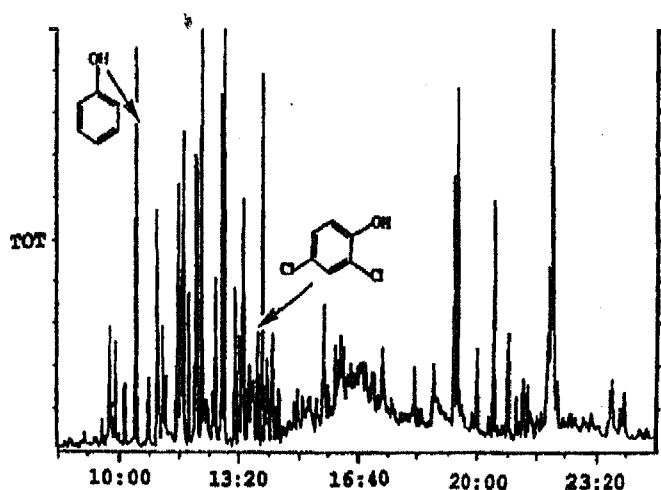


Figura 10 – Mistura de 20 fenóis com concentração de 20 µg em 30 mL de cada composto (1 = 2-clorofenol; 2 = fenol; 3 = o-cresol; 4 = m+p-cresol; 5 = 2,4-dimetilfenol; 6 = 2,4-diclorofenol; 7 = 2,6-diclorofenol; 8 = 4-cloro-3-metilfenol; 9 = 2,3,5-triclorofenol; 10 = 2,4,6-triclorofenol; 11 = 2,4,5-triclorofenol; 12 = 2,3,4-triclorofenol; 13 = 2,4-dinitrofenol; 14 = 4-nitrofenol; 15 = isómeros tetraclorofenol; 16 = 2-metil-4,6-dinitrofenol; 17 = pentaclorofenol). (Fonte: Buchholz e Pawliszyn, 1994)



Condições experimentais

SPME:

5 mL de amostra saturada e pH 1 em frascos de 40 mL
Extracção com fibra de poliácilato, partindo da fase gasosa durante 60 min.

GC-MS:

Injector a 200 °C durante 8 min.
Linha transferência a 280 °C e detector a 250 °C; Hélio a 1 mL/min.
Coluna: PTE-5 da Supelco.
Forno: 35 °C (7 min.), 10 °C/min. até 190 °C e 190 °C (7,7 min)

Figura 11 – Cromatograma obtido por GC/MS após SPME de uma amostra proveniente de um clarificador primário de uma estação de tratamento de águas do Canadá, contaminada com 80 ppb de fenol e 0,3 ppb de 2,4-diclorofenol. (Fonte: Buchholz e Pawliszyn, 1994)

Existem ainda publicadas algumas aplicações comerciais onde se analisam clorofenóis em soluções aquosas. Jennison (Varian app. note 14, 1999) apresenta a análise por GC/MS de uma mistura de 20 fenóis contendo 12 clorofenóis. O cromatograma da mistura padrão em água é apresentado na figura 12.

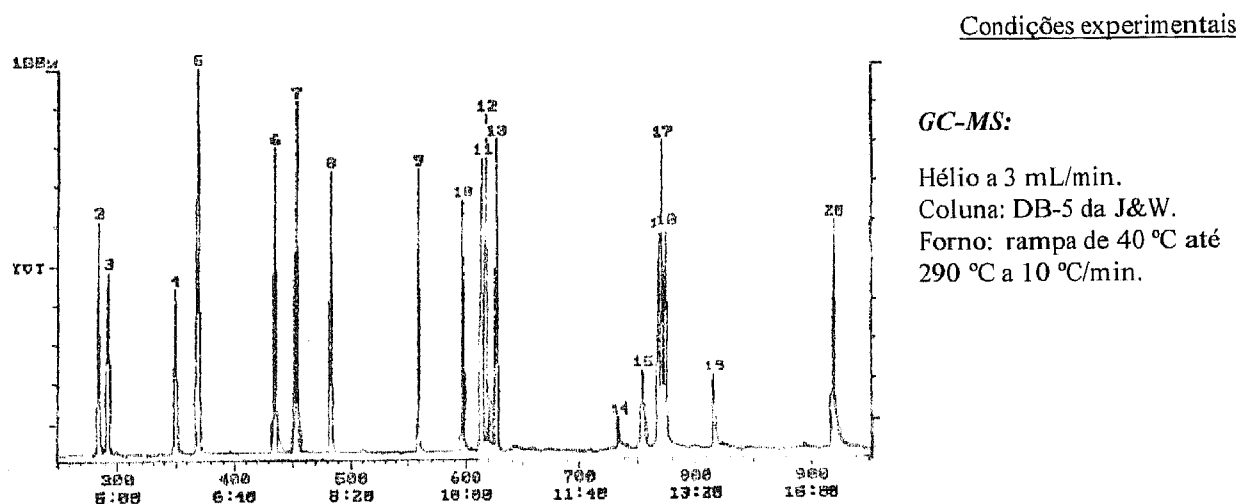
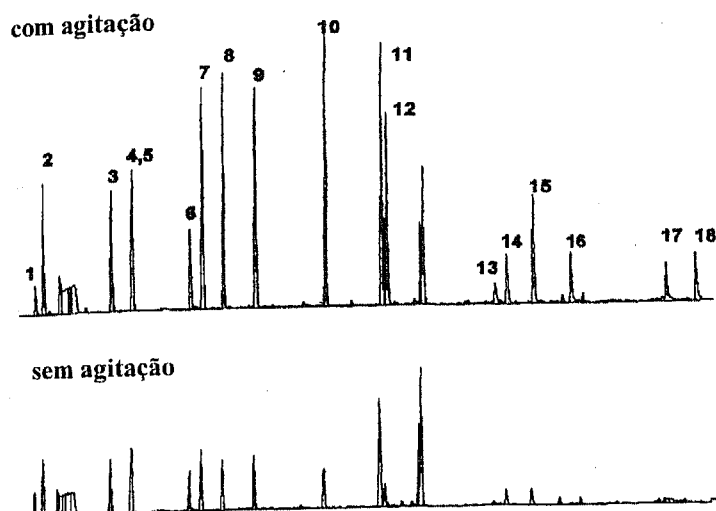


Figura 12 – Cromatograma obtido por GC/MS (sem microextração) de 1 µL de uma mistura padrão contendo 10 ng/µL de fenóis (1 = Z'-DFBP; 2 = fenol; 3 = 2-clorofenol; 4 = o-cresol; 5 = m,p-cresol; 6 = 2,4-dimetilfenol; 7 = 2,4-diclorofenol; 8 = 2,6-diclorofenol; 9 = p-cloro-m-cresol; 10 = 2,3,5-triclorofenol; 11 = 2,4,6-triclorofenol; 12 = 2,4,5-triclorofenol; 13 = 2,3,4-triclorofenol; 14 = 2,4-dinitrofenol; 15 = 4-nitrofenol; 16 = 2,3,5,6-tetraclorofenol; 17 = 2,3,4,6-tetraclorofenol; 18 = 2,3,4,5-tetraclorofenol; 19 = 4,6-dinitro-o-cresol; 20 = pentaclorofenol). (Fonte: Jennison, 1999)

Numa outra aplicação (Varian app. note 11, 1998), Penton e os seus colaboradores apresentam a técnica de SPME para a análise de fenóis em soluções aquosas. Os resultados apresentados sob a forma de 2 cromatogramas distintos (ver figura 13), referem-se ao efeito da agitação da amostra na eficiência da extração. Utilizou-se um detector por ionização de chama (GC-FID).



Condições experimentais

SPME:

1 mL de amostra, saturada e pH 2, em frascos de 2 mL; Fibras de poliacrilato, por imersão durante 60 min.

GC-FID:

Injector a 280 °C (em *splitless*) e detector a 300 °C; Hélio a 1 mL/min.; Coluna: DB-5 da J&W; Forno: 40 °C (4 min.), rampa a 12 °C/min. até 260 °C e 260 °C (1,67 min.)

Figura 13 – Cromatogramas obtidos por GC-FID após SPME por imersão (com e sem agitação) de uma mistura padrão contendo fenóis com uma concentração individual de 50 ppb (1 = fenol; 2 = 2-clorofenol; 3 = 2-metilfenol; 4 = 3-metilfenol; 5 = 4-metilfenol; 6 = 2-nitrofenol; 7 = 2,4-dimetilfenol; 8 = 2,4-diclorofenol; 9 = 2,6-diclorofenol; 10 = 4-cloro-3-metilfenol; 11 = 2,4,5-triclorofenol; 12 = 2,4,6-triclorofenol; 13 = 2,4-dinitrofenol; 14 = 4-nitrofenol; 15 = 2,3,4,6-tetraclorofenol; 16 = 2-metil-4,6-dinitrofenol; 17 = pentaclorofenol; 18 = dinoseb). (Fonte: Penton, 1998)

A Supelco, por seu lado (app. note 17, 1996) também apresenta uma aplicação onde analisam clorofenóis em água por GC/MS após SPME. Neste estudo apresenta-se a reprodutibilidade obtida na microextração por SPME, utilizando um revestimento de poliacrilato (ver tabela 6).

Tabela 6 – Reprodutibilidade obtida na análise por GC/MS após SPME de uma mistura contendo clorofenóis com uma concentração de 50 ppb. (Fonte: Supelco, App. note 17, 1996)

Eficiências de extração: Extrações em triplicado para 3 fibras de poliacrilato (n = 9)			
Composto	média	desvio padrão	C.V. (%)
Fenol	0,44	0,05	12,3
2-clorofenol	1,60	0,17	10,5
2,4-diclorofenol	1,06	0,13	12,7
2,6-diclorofenol	1,02	0,12	12,1
2,4,5-triclorofenol	0,79	0,09	11,3
2,4,6-triclorofenol	0,83	0,09	10,8
2,3,4,6-tetraclorofenol	0,69	0,08	11,9
pentaclorofenol	0,42	0,09	21,3

Desta tabela, pode-se verificar os valores relativamente elevados que se costumam obter nas análises envolvendo SPME. O cromatograma apresentado de seguida refere-se a uma mistura padrão de 18 fenóis onde estão incluídos os 8 clorofenóis referidos na tabela anterior.

Condições experimentais

SPME:

1,8 mL de amostra com concentração de 50 ppb, saturada e pH 2, em frascos de 4 mL; Fibra de poliacrilato, por imersão durante 20 min.

GC-FID:

Injector a 280 °C (em *splitless* a 3 min.) e detector a 300 °C; Hélio a 1 mL/min.; Coluna: PTE-5 da J&W; Forno: 40 °C (4 min.), rampa a 12 °C/min. até 260 °C e 260 °C (1,67 min.)

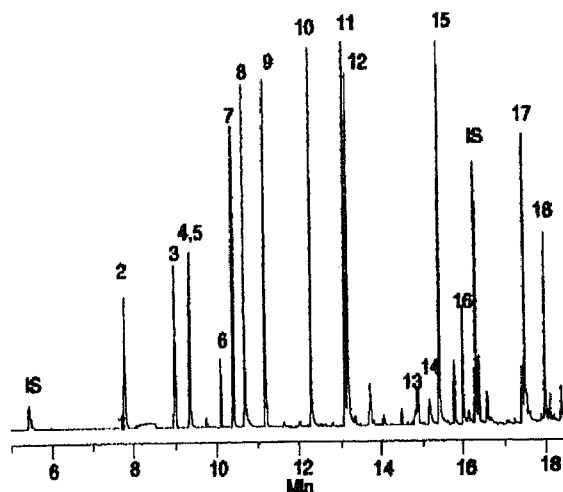


Figura 14 – Cromatograma obtido de uma análise por GC/MS após SPME de uma mistura contendo clorofenóis com uma concentração de 50 ppb. (IS = 2-fluorofenol; 1 = fenol; 2 = 2-clorofenol; 3 = 2-metilfenol; 4 = 3-metilfenol; 5 = 4-metilfenol; 6 = 2-nitrofenol; 7 = 2,4-dimetilfenol; 8 = 2,4-diclorofenol; 9 = 2,6-diclorofenol; 10 = 4-cloro-3-metilfenol; 11 = 2,4,5-triclorofenol; 12 = 2,4,6-triclorofenol; 13 = 2,4-dinitrofenol; 14 = 4-nitrofenol; 15 = 2,3,4,6-tetraclorofenol; 16 = 2-metil-4,6-dinitrofenol; IS = 2,4,6-tribromofenol; 17 = pentaclorofenol; 18 = dinoseb. (Fonte: Supelco, app. note 17, 1996)

Para além destes estudos, existem ainda publicados mais 2 trabalhos sobre a análise de clorofenóis. Lee *et al.* (1998) efectuou duas análises de clorofenóis por GC/MS após SPME em 3 matrizes distintas: em urina humana, em lixiviados de aterros e em solos contaminados.

No primeiro estudo, os resultados obtidos permitiram detectar clorofenóis na urina de trabalhadores de uma serração de madeiras, na gama de 0,02 µg/L (pentaclorofenol) até 1,56 µg/L (2,4-diclorofenol). Lee *et al.* efectuaram ainda experiências com o objectivo de otimizar o tempo de extracção por SPME (resultados apresentados na figura 15) e da acidificação e saturação das amostras (resultados apresentados na tabela 7).

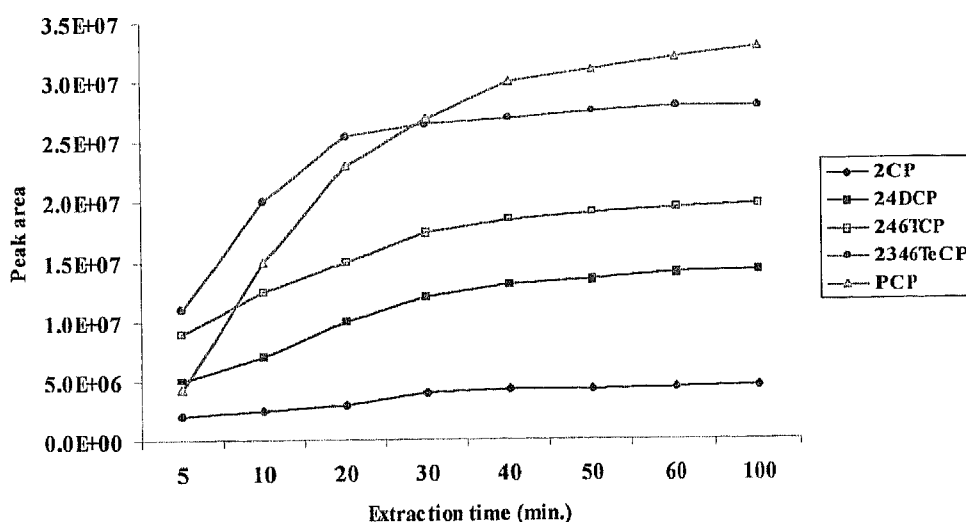


Figura 15 – Efeito do tempo de extracção na área cromatográfica na extracção de clorofenóis por GC/MS após SPME. (Fonte: Lee *et al.*, 1998)

Tabela 7 – Factores de incremento, relativamente à amostra neutra e insaturada, por efeito da saturação com sal e acidificação das amostras de urina. (Fonte: Lee *et al.*, 1998)

Composto	Factor de incremento		
	pH 1	Saturação	pH 1 e saturação
2-clorofenol	1,2	2,5	2,2
2,4-diclorofenol	1,3	1,2	0,8
2,4,6-triclorofenol	2,8	2,2	1,0
2,3,4,6-tetraclorofenol	5,2	1,8	1,0
pentaclorofenol	9,2	3,2	1,1

O único estudo efectuado da análise de clorofenóis em lixiviados de aterros, por GC/MS após SPME, foi também efectuado por Lee *et al.* em 1998. Neste estudo, utiliza-se um padrão interno na análise de 5 clorofenóis em amostras de lixiviados e de solo. Os resultados obtidos, confirmaram algumas das hipóteses propostas noutros trabalhos referidos: a acidificação e saturação das matrizes aumenta a eficiência de extracção de compostos fenólicos por SPME. Na figura 16 apresentam-se estes resultados.

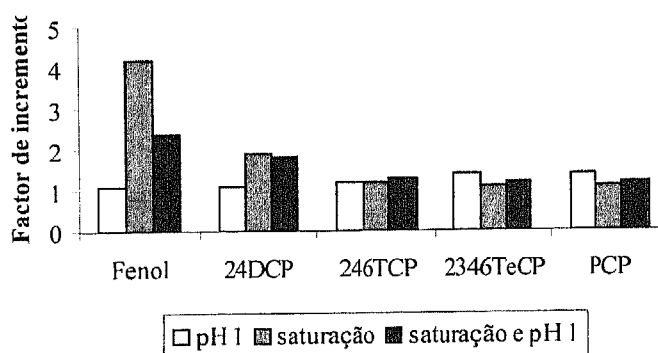


Figura 16 – Factor de incremento por efeito da adição de sal e acidificação das amostras, na análise por GC/MS após SPME. (Fonte: Lee *et al.*, 1998)

O método de análise apresentou uma gama de linearidade compreendida entre 0,01 e 100 µg/L, com coeficientes de correlação da ordem de 0,999 com a excepção do 2-clorofenol com 0,998. Os limites de detecção obtidos foram comparados como os correspondentes valores quando se utilizam os métodos EPA 604 e 625 (com extracção líquido-líquido), como se representa na tabela seguinte.

Tabela 8 – Limites de detecção estimados para a análise de clorofenóis por GC-MS após SPME e comparação com os valores conseguidos com os métodos EPA. (Fonte: Lee *et al.*, 1998)

Composto	SPME ($\mu\text{g/L}$) em água desionizada	métodos EPA ($\mu\text{g/L}$)	
		método 604 (FID)	método 625 (GC/MS)
2-clorofenol	0,03	0,31	3,3
2,4-diclorofenol	0,002	0,39	2,7
2,4,6-triclorofenol	0,001	0,64	2,7
2,3,4,6-tetraclorofenol	0,0005	---	---
pentaclorofenol	0,001	7,4	3,6

Com este método foi possível detectar pentaclorofenol numa concentração de 21,6 $\mu\text{g/L}$ em amostras de solo de um aterro, por quantificação com um padrão interno. O cromatograma obtido está apresentado na figura 17.

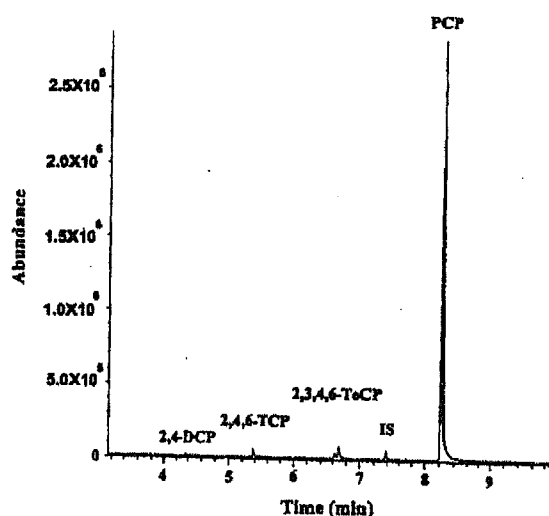


Figura 17 – Cromatograma total iónico (TIC), obtido por GC/MS após SPME de uma amostra de solo contaminado. (Fonte: Lee *et al.*, 1998)

Neste estudo utiliza-se um padrão interno, contudo, este procedimento também apresenta alguns inconvenientes. Devido à grande variedade das áreas obtidas para a elevada gama de clorofenóis em estudo, não é aconselhável a utilização de um único padrão interno, sendo mais apropriada a utilização de mais do que 1 padrão, contudo nesta tese não se utilizou nenhum padrão interno, sendo esse estudo proposto para um trabalho futuro.

Da pesquisa bibliográfica realizada, referente às condições analíticas para a determinação de clorofenóis em soluções aquosas, resultam as seguintes conclusões:

- Para análises em águas parece ser comum a utilização de revestimentos de poliacrilato, com extracção por imersão, sendo variável o tempo e a temperatura de extracção;

- Para análises em águas, a eficiência da extracção aumenta por acidificação da solução e com a sua saturação com sal;
- Existe um único estudo em lixiviados de aterros sanitários, no qual se utiliza uma fibra com revestimento de poliacrilato, a extracção foi realizada por imersão durante 40 minutos numa solução com agitação. As amostras foram saturadas com sal e acidificadas a pH 1. Em cada análise a fibra foi deixada a desorver no injector a 290 °C, durante 2 minutos.

Dada a escassez de informação relativa à análise de lixiviados e tendo em consideração que a matriz é bastante complexa e extremamente carregada de compostos orgânicos em teores muito superiores aos clorofenóis, podendo verificar-se um efeito de competição para a adsorção aos sítios activos da fibra, julgou-se oportuno estudar e optimizar o procedimento analítico mais adequado.

3. DESCRIÇÃO EXPERIMENTAL

3.1 METODOLOGIA DAS ANÁLISES

Para a optimização da separação cromatográfica, realizaram-se injeções utilizando uma mistura padrão de 24 fenóis. A concentração escolhida foi a de 50 mg/L, já que esta apresenta um sinal suficientemente forte e que não satura o detector de massa. Os resultados obtidos nesta primeira parte do trabalho estão resumidos na secção 4.1.

Após se terem obtido as condições necessárias para a separação cromatográfica e posterior detecção, realizaram-se injeções dos 4 clorofenóis individuais disponíveis, realizando para cada um deles uma curva de calibração com a determinação dos respectivos limites de detecção e reprodutibilidade para análises sem realizar qualquer extracção. Estes resultados encontram-se na secção 4.2.

Na terceira fase do trabalho procedeu-se à realização de injeções cromatográficas da mistura padrão previamente referida, realizando uma curva de calibração e determinando os limites de detecção e reprodutibilidades. Estes resultados encontram-se na secção 4.3.

Passou-se então aos ensaios envolvendo a microextracção em fase sólida.

Para a optimização das condições de extracção, utilizou-se uma mistura padrão com a concentração de 50 µg/L por forma a obter um sinal suficiente na detecção pela massa. Os parâmetros estudados foram: a comparação dos resultados da extracção dos clorofenóis, por imersão da fibra na amostra e em fase gasosa (*Headspace*); a temperatura de extracção e o tempo de extracção, a influência da adição de sal à amostra; a variação do valor de pH e o tempo que a fibra permaneceu no injector a dessorver. Os resultados referentes a este estudo estão descritos na secção 4.4.

Com os parâmetros de extracção óptimos, efectuaram-se ensaios de SPME da mistura padrão de 24 fenóis e dos 4 clorofenóis individuais por forma a poderem-se determinar as eficiências de extracção relativamente à mistura (14 clorofenóis) e relativamente aos compostos individuais (4 clorofenóis). Apresentam-se estes resultados na secção 4.5.

Numa fase posterior deste trabalho, realizaram-se ensaios com lixiviados de um aterro sanitário de desperdícios municipais.

Começou-se por estudar a eventual existência de um efeito de matriz, realizando para tal diluições da amostra padrão de 24 fenóis *num lixiviado*. O lixiviado escolhido como solvente foi o que após a análise por GC/MS, não continha nenhum dos clorofenóis em estudo. Esta análise consistiu na confirmação do espectro de massa de todos os “picos” do cromatograma, para que não restassem dúvidas. Compararam-se estes resultados (ver a secção 4.6) com os obtidos para as mesmas concentrações da mistura padrão, mas *em água*.

Finalmente, utilizando o método optimizado procedeu-se à tentativa de detecção de clorofenóis nos lixiviados, procurando quantificá-los, encontrando-se estes resultados na secção 4.7.

3.2 PADRÕES E REAGENTES

Na preparação dos padrões individuais utilizaram-se 4 padrões individuais fornecidos pela Supelco (4-8785), nomeadamente o 2-clorofenol, o 2,4 diclorofenol, o 2,4,6-triclorofenol e o pentaclorofenol.

Para a preparação da mistura padrão, partiu-se de uma amostra de 1 mL da mistura em isopropanol contendo 24 padrões EPA 8040A fornecida pela Supelco (4-7899), com a concentração individual de 500 mg/L, contendo os 14 clorofenóis seguintes:

2-clorofenol;	2,3,5-triclorofenol;	3,4,5-triclorofenol;
2,4-diclorofenol;	2,3,6-triclorofenol;	2,3,4,5-tetraclorofenol;
2,6-diclorofenol;	2,4,5-triclorofenol;	2,3,4,6-triclorofenol;
2,3,4-triclorofenol;	2,4,6-triclorofenol;	2,3,5,6-triclorofenol;
Pentaclorofenol.	Fenol	

A diluição da mistura ou dos padrões individuais foi feita em balão volumétrico de 100 mL, utilizando água para HPLC, da Riedel, nas análises por SPME ou isopropanol P.A. da Riedel nas análises com injeções directas.

As amostras foram guardadas em frascos de ambar de 15 ou 4 mL no frigorífico a 4°C até ao momento da análise, até um período máximo de uma semana, após a qual se prepararam novos padrões.

Nas análises que envolveram SPME, o pH foi ajustado com uma solução de H₂SO₄ P.A. da Riedel e tendo-se utilizado Na₂SO₄, também P.A. da Riedel, para a saturação das amostras.

3.3 EQUIPAMENTO PARA ANÁLISE

3.3.1 Extracções por SPME

Nas extracções utilizou-se uma fibra com um revestimento de poliacrilato com 85 μm de espessura, fornecida pela Supelco (PN 57304). O condicionamento da fibra foi efectuado no injector a 250 $^{\circ}\text{C}$ durante a noite, antes da sua utilização.

Para as extracções, a fibra foi colocada num suporte apropriado (Supelco PN 57330-U), e mergulhada num frasco ambar de 4 mL com 2 mL de solução. Este frasco foi mergulhado num banho aquecido com uma placa com agitação magnética constante de 750 rpm.

3.3.2 Análises por GC/MS

Para as análises cromatográficas utilizou-se um cromatógrafo gasoso modelo 3800 da Varian acoplado a um espectrómetro de massa. A coluna usada na análise de clorofenóis foi uma CP Sil 8 CB MS da Supelco, com 25 m de comprimento, com 0,25 mm diâmetro interno e 0,25 μm espessura de filme.

As amostras foram injectadas, utilizando uma seringa de 5 μL para GC da SGE ou de 1 μL da Hamilton.

Em relação ao injector, foram considerados os seguintes pontos:

- Nas análises que envolvam extracção por SPME, como a quantidade de solvente injectada é residual, quando comparada com as injeções sem extracção, então o injector esteve sempre na posição de *splitless*;
- Nas análises por injeção directa, utilizou-se uma razão de *split* de 30 durante os 3 minutos iniciais;
- Considerou-se que a zona central do injector como sendo a mais quente, sendo ajustada a profundidade da fibra no injector de forma a que a fibra fosse exposta nesta parte central. Deste modo, consegue-se uma melhor resolução cromatográfica;
- A fibra após ser retirada da amostra, foi imediatamente inserida no injector e exposta, por forma a que não exista parte do analito que fique no interior da agulha protectora da fibra;

- Utilizou-se a temperatura de 280 °C no injector, uma vez que se deve utilizar a máxima temperatura (Pawliszyn, 1997) possível atendendo a que não se deve ultrapassar a temperatura máxima de segurança para o septo (neste caso 350 °C) e que não afecte a eficiência do revestimento da fibra (temperatura de acondicionamento de 300 °C). Finalmente deve-se atender à temperatura mais elevada que se utiliza na coluna (220 °C);
- Durante as análises com a fibra, teve-se o cuidado de perfurar previamente o septo com outra agulha, de modo a evitar contaminação do *liner* e da coluna com partículas;
- Em análises envolvendo SPME, utilizou-se um *liner* apropriado para este efeito fornecido pela Supelco (PN 03-925330-00), com um diâmetro interno bastante inferior (0,8 mm) ao utilizado para as análises por injeção sem extracção (3,4 mm). Deste modo, aumenta-se a velocidade linear do gás no injector, o que melhora a separação cromatográfica.

O programa otimizado de separação é composto por um primeiro patamar a 40 °C durante 4 minutos, uma rampa de 12 °C/minuto até 220 °C e mantendo esta temperatura durante 1 minuto para um tempo total de análise de 20 minutos, tal como se representa na figura 18.

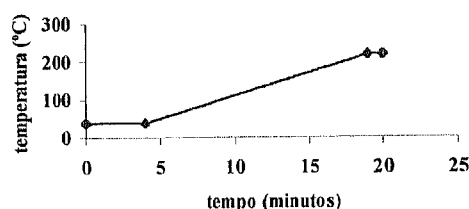


Figura 18 – Programa de temperaturas utilizado nas análises por GC/MS.

O gás de arraste utilizado foi o hélio com um caudal constante de 1 mL/min. O sistema para a detecção utilizado foi um espectrómetro de massa - *Saturn Ion Trap*, da Varian. As temperaturas de operação utilizadas foram as seguintes: *Trap* a 160 °C; *Transferline* a 45 °C e *Manifold* a 250 °C. A velocidade de varrimento utilizada foi de 40 a 650 m/z sendo a corrente do filamento de emissão fixa a 70 eV.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Optimização das condições operatórias no sistema GC/MS

Para a determinação das condições óptimas de separação da coluna cromatográfica e da detecção dos compostos estudados, preparou-se uma solução em isopropanol, de uma mistura padrão contendo 24 fenóis, de entre os quais 14 eram clorofenóis. Injectou-se 5 μL da mistura a várias concentrações, tendo-se escolhido para os ensaios posteriores, uma concentração de 50 mg/L, uma vez que com esta concentração se obtém um sinal suficientemente intenso e que não satura o detector.

A identificação dos clorofenóis foi realizada por comparação dos respectivos espectros de massa que existem na base de dados que o equipamento utilizado disponibiliza. Assim, após a separação da mistura, identificou-se individualmente cada composto construindo-se uma tabela de compostos (*“Compound Table”*) a qual passou a fazer parte do método de separação e identificação. Após isto, a identificação de misturas injectadas em condições operatórias idênticas, sofre um processo automático de identificação pela comparação com os espectros estabelecidos nesta tabela.

Quando a detecção de um determinado composto era difícil, como seja o caso de amostras com concentrações baixas, a identificação era feita individualmente por comparação com a base de dados.

Apresenta-se na figura 19, um cromatograma obtido nestas condições operatórias optimizadas, apresentando-se nos anexos, os respectivos espectros de massa e a sua comparação com aqueles que estão disponíveis na base de dados.

Chromatogram Plot

File: c:\... \Vias e reações cromatogram.ms (m 24_10_1)-(09-05-00)-[1].sm
 Sample: M 24_10_1
 Sample Notes: m 24_10_1 50 ppm 1 09-05-2000 14:46

Operator: AR

Scan Range: 1 - 1462 Time Range: 0.00 - 23.98 min.

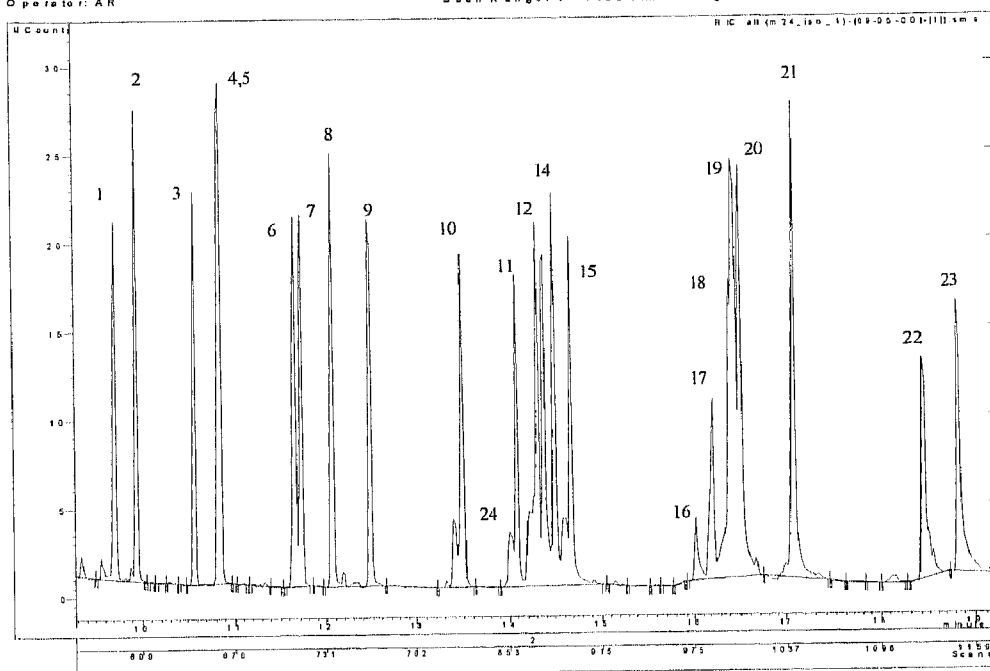


Figura 19 – Separação de uma mistura padrão contendo 24 fenóis, com uma concentração individual de 50 mg/L (1 = fenol; 2 = 2-clorofenol; 3 = 2-metilfenol; 4 = 3-metilfenol; 5 = 4-metilfenol; 6 = 2-nitrofenol; 7 = 2,4-dimetilfenol; 8 = 2,4-diclorofenol; 9 = 2,6-diclorofenol; 10 = 4-cloro-3-metilfenol; 11 = 2,3,5-triclorofenol; 12 = 2,4,6-triclorofenol; 13 = 2,4,5-triclorofenol; 14 = 2,3,6-triclorofenol; 15 = 2,3,5-triclorofenol; 16 = 2,4-dinitrofenol; 17 = 4-nitrofenol; 18 = 2,3,4,5-tetraclorofenol; 19 = 2,3,4,6-tetraclorofenol; 20 = 2,3,5,6-tetraclorofenol; 21 = 3,4,5-triclorofenol; 22 = pentaclorofenol; 23 = dinoseb; 24 = 2-metil-4,6-dinitrofenol).

Os parâmetros de operação foram otimizados, partindo dos dados recolhidos em alguns trabalhos recentes (Lee *et al.*, 1998; Buchholz *et al.*, 1994; Barták *et al.*, 1997; Penton, 1998; Jennison, 1999), tendo-se fixado os valores resumidos na tabela seguinte:

Tabela 9 – Condições operatórias para o sistema GC/MS.

Cromatografia Gasosa	
Injector:	em modo splitless durante 20 minutos a 280 °C
Coluna:	com um caudal constante de 1 mL/min e com o seguinte programa de temperaturas: 4 minutos a 40 °C, depois uma rampa de 12°C/min até 220 °C, finalmente 1 minuto a 220°C, para um tempo total de 20 minutos.
Integração:	Sinal/Ruído = 20; Área mínima para rejeição = 10000 counts
Detector	
Modo de ionização:	ionização por bombardeamento electrónico (EI) com um máximo de 25000 μ s
Varrimento:	com uma corrente de emissão de 10 μ A de 40 a 350 m/z
Temperaturas:	detector (<i>Ion Trap</i>) = 160 °C; <i>Manifold</i> = 250 °C; linha de transferência (<i>Transfer line</i>) = 45 °C

4.2 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DOS PADRÕES INDIVIDUAIS

Com os 4 padrões individuais disponíveis: 2-clorofenol, 2,4-diclorofenol, 2,4,6-triclorofenol e pentaclorofenol, realizaram-se injeções destes padrões preparados em isopropanol, em concentrações abrangendo a gama de 0,2 a 50 mg/L.

Com os parâmetros de análise estabelecidos, não se conseguiu quantificar pentaclorofenol para concentrações abaixo de 20 mg/L. A utilização destes padrões individuais, para além de confirmar as análises realizadas com a mistura de 24 fenóis na qual estão contidos estes 4 clorofenóis, permitiu efectuar um estudo de linearidade em relação a cada padrão individual.

Na figura 20 está representado o estudo de linearidade obtido.

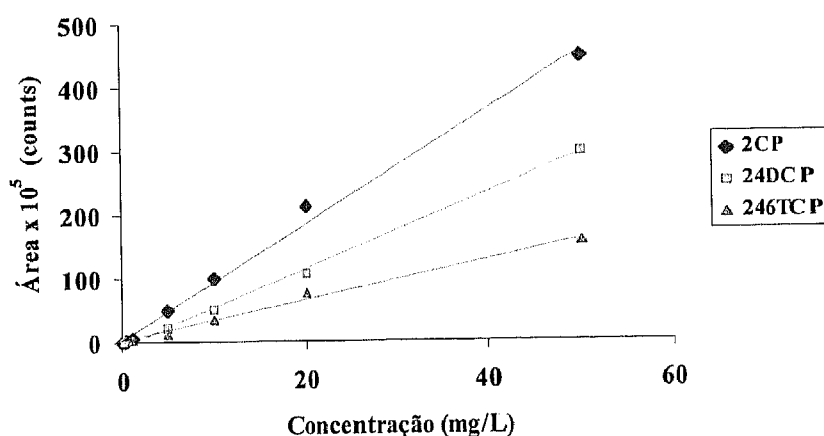


Figura 20 – Estudo de linearidade para os padrões individuais: (2CP = 2-clorofenol; 24DCP = 2,4-diclorofenol e 246TCP = 2,4,6-triclorofenol).

Obtiveram-se, para os padrões individuais, valores para o coeficiente de correlação quadrático, que variaram desde 0,994 a 0,998.

Considerando-se o valor da razão sinal/ruído = 20, então os limites de detecção obtidos são: para o 2-clorofenol de 1 µg/L, para o 2,4-diclorofenol de 10 µg/L, para o 2,4,6-triclorofenol de 50 µg/L e de 1 mg/L para o pentaclorofenol.

Na secção seguinte, apresenta-se um estudo semelhante, mas para um conjunto de 14 clorofenóis, onde os 4 clorofenóis referidos atrás, estão também contidos.

4.3 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA MISTURA PADRÃO

Para além das soluções dos padrões individuais, utilizou-se uma mistura padrão de 24 fenóis, contendo 14 clorofenóis. Nestas análises, prepararam-se diluições da solução mãe (a 500 mg/L) para concentrações na gama de 0,2 a 50 mg/L.

Na figura 21, está representado o estudo de linearidade obtido.

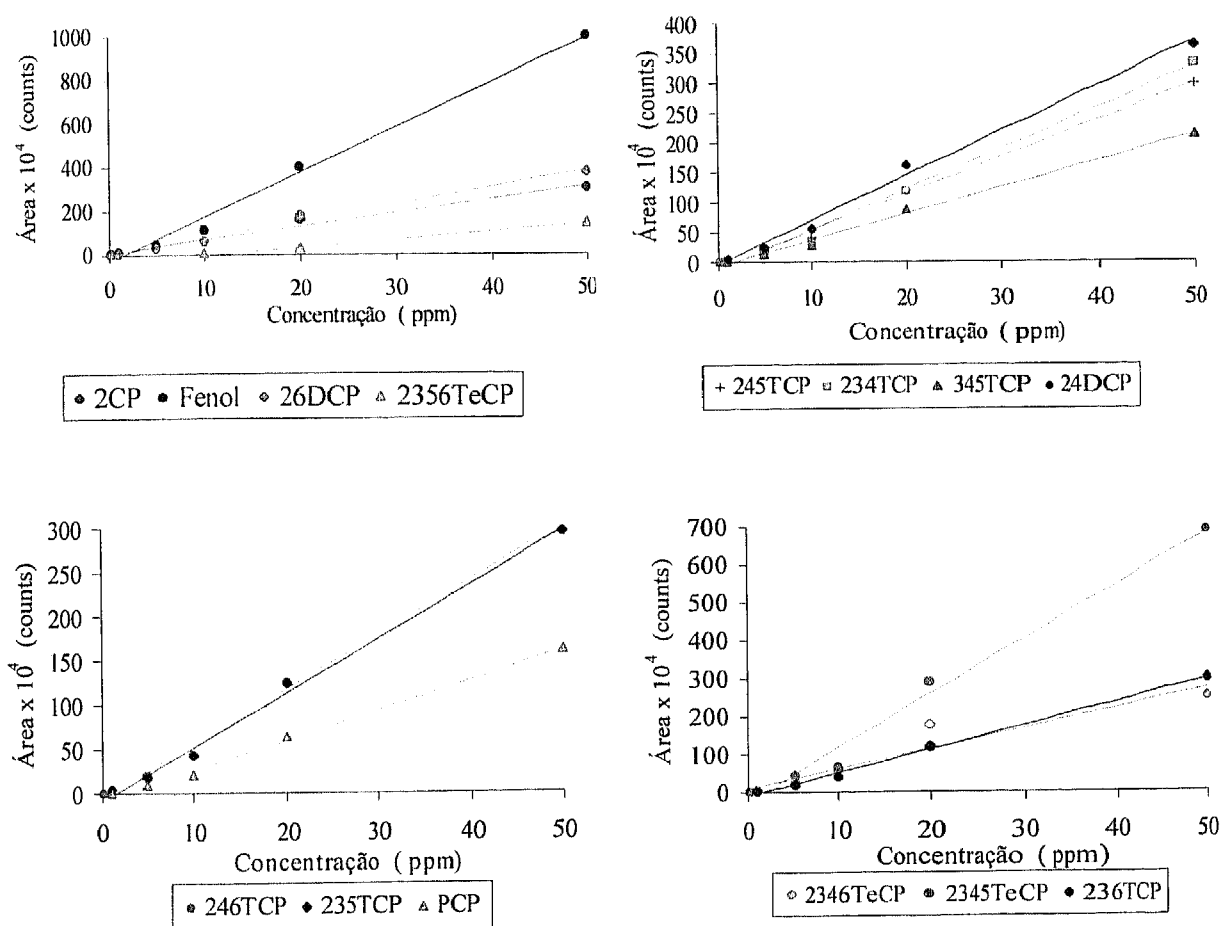


Figura 21 – Estudo de linearidade para os 14 clorofenóis contidos na mistura padrão.

Os limites de detecção apresentados, foram obtidos por estimativa através das áreas cromatográficas obtidas para o padrão de menor concentração detectado em cada clorofenol, entrando em linha de conta com a razão sinal/ruído = 20 que se utilizou em todas as análises (Buchholz *et al.*, 1994). Cada nível de concentração foi injectado **6 vezes em 3 dias diferentes**, sendo a sua reprodutibilidade apresentada na tabela 10.

Tabela 10 – Resultados de linearidade da análise cromatográfica (sem extracção) da mistura padrão (N=número de pontos da recta de calibração; R^2 =coeficiente de correlação quadrático; LD=limite de detecção ($\mu\text{g/L}$); CV%=coeficiente de variação).

Composto	N	Gama (mg/L)	Regressão linear (95%)		R^2	LD ($\mu\text{g/L}$)	CV (%) médio
			Ordenada	Declive			
<i>Fenol</i>	6	0,2 – 50	-339290 $\pm$ 604298	205049 $\pm$ 26908	0,991	10	9,8
<i>2CP</i>	6	0,2 – 50	11905 $\pm$ 54016	60858 $\pm$ 2405	0,999	10	8,2
<i>24DCP</i>	5	1 – 50	-54125 $\pm$ 281674	74784 $\pm$ 11450	0,993	50	9,1
<i>26DCP</i>	6	0,2 – 50	-53285 $\pm$ 138125	76734 $\pm$ 6151	0,997	10	10,2
<i>235TCP</i>	5	1 – 50	-76693 $\pm$ 180754	61184 $\pm$ 7347	0,996	50	12,1
<i>246TCP</i>	5	1 – 50	-80047 $\pm$ 174418	62454 $\pm$ 7090	0,996	50	12,2
<i>245TCP</i>	4	5 – 50	-145316 $\pm$ 217219	62648 $\pm$ 7899	0,997	250	7,2
<i>236TCP</i>	5	1 – 50	-93614 $\pm$ 170479	61412 $\pm$ 6930	0,996	50	6,5
<i>234TCP</i>	5	1 – 50	-167355 $\pm$ 278154	68743 $\pm$ 11307	0,992	50	12,2
<i>2346TeCP</i>	5	1 – 50	49266 $\pm$ 182714	49842 $\pm$ 7427	0,994	50	17,5
<i>2345TeCP</i>	6	0,2 – 50	-176656 $\pm$ 455207	141347 $\pm$ 18504	0,993	10	31,6
<i>2356TeCP</i>	3	10 – 50	-140974 $\pm$ 189181	11431 $\pm$ 5982	0,974	500	5,6
<i>345TCP</i>	5	1 – 50	-82674 $\pm$ 113901	44517 $\pm$ 4630	0,996	50	12,6
<i>PCP</i>	5	1 – 50	-68492 $\pm$ 100184	33519 $\pm$ 4072	0,996	50	6,4

Os coeficientes de variação apresentados referem-se ao valor médio obtido em cada gama de linearidade considerada. Os valores médios dos 3 dias, correspondentes a cada nível de concentração encontram-se no Anexo B (tabela B1). Pela análise destes valores, verifica-se uma reprodutibilidade fraca para o 2,3,4,6-tetraclorofenol e para o 2,3,4,5-tetraclorofenol, provavelmente devido a uma integração variável, proveniente da separação difícil destes compostos.

4.4 OPTIMIZAÇÃO DE ALGUNS PARÂMETROS QUE INFLUÊNCIAM A EFICIÊNCIA DE EXTRACÇÃO

Na optimização dos principais parâmetros que influenciam a eficiência de extracção dos clorofenóis, partiu-se de alguns resultados obtidos em trabalhos desenvolvidos recentemente.

Para estas experiências de microextracção, utilizou-se uma fibra de poliacrilato, uma vez que este tipo de fibra é a mais adequada para a extracção de compostos polares. Este comportamento foi observado por Buchholz *et al.*, 1994, cujos resultados confirmaram uma afinidade elevada dos clorofenóis para este tipo de revestimento.

Decidiu-se, manter uma agitação constante e relativamente alta (cerca de 750 rpm) já que a agitação melhora a resposta obtida por SPME. Esta relação foi apresentada por Llompert *et al.*, 1996, cujos resultados revelam que a agitação constitui um factor importante na cinética da adsorção, aumentando a velocidade de convergência do sistema para o equilíbrio. Noutros estudos, como sejam os de Arthur e Pawliszy, 1990, propõe-se a teoria de que a agitação da amostra provoca uma renovação contínua da interface entre a amostra e a superfície da fibra, destruindo a barreira estática que aí se pode formar, o que poderá facilitar a migração dos compostos para a fibra.

Em relação ao volume de amostra, e tal como já foi explicado na secção 2.3.1, optou-se por utilizar, em todas as experiências, 2 mL em frascos com a capacidade total de 4 mL.

Então, utilizando 2 mL de amostra e uma agitação de 750 rpm, passou-se a estudar outros parâmetros que influenciam eficiência de extracção, como sejam: a comparação da microextracção na fase líquida com a microextracção na fase gasosa (*Headspace*), a temperatura e o tempo de extracção, o ajuste de sal e do valor de pH. Por fim, realizou-se ainda o estudo do tempo de dessorção da fibra no injector do cromatógrafo.

4.4.1 Estudo da influência do modo de extracção

Nestas experiências, estudou-se a quantidade de clorofenóis extraídos em função do tipo de extracção. Assim, realizaram-se ensaios, em que se mergulhou a fibra na amostra (SPME) e ensaios em que a fibra foi mantida na fase gasosa acima da amostra (HSSPME). A temperatura permaneceu a 70 °C, o tempo de extracção em 60 minutos, o pH foi ajustado para o valor de 2 e a amostra saturada com sal. A fibra esteve 3 minutos a dessorver no injector do cromatógrafo. Estas condições foram seleccionadas através da pesquisa dos estudos já realizados e que se comentaram anteriormente. Os resultados estão descritos na figura seguinte.

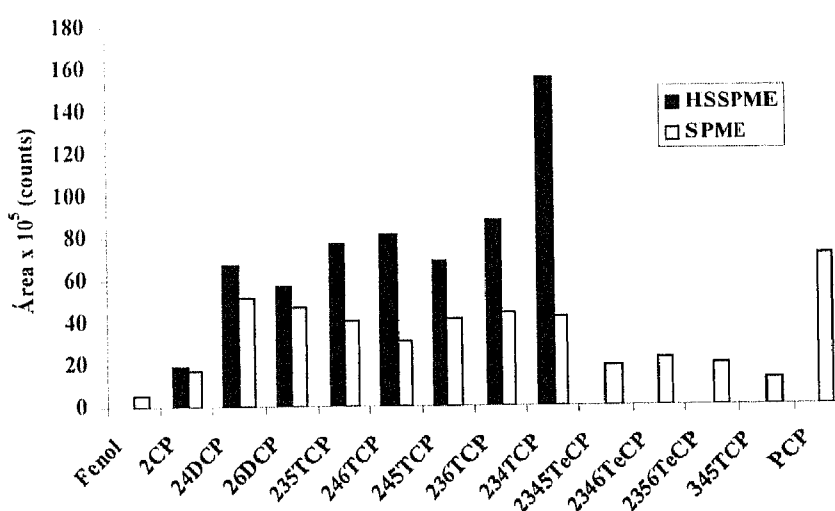


Figura 22 – Comparação da microextracção em fase sólida por imersão (SPME) e em fase gasosa (HSSPME).

Pela observação da figura 22, verifica-se que apesar da extracção na fase gasosa permitir eficiências superiores, ela não permite extrair alguns compostos com interesse neste trabalho. É o caso dos clorofenóis que eluem da coluna mais tarde, como sejam os tetraclorofenóis e o pentaclorofenol, os quais não são extraídos utilizando o tipo em fase gasosa (HSSPME). Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos em trabalhos como os de Barták e Cáp (1997). Uma explicação provável, poder-se-á dever ao facto dos compostos mais clorados, apresentarem uma menor pressão de vapor (ver a tabela 3), tendo maior dificuldade em passar para a fase gasosa. Assim, nos ensaios seguintes, realizaram-se extracções por imersão da fibra na fase aquosa. Contudo, refira-se que inerentes à utilização da técnica por imersão, estão os problemas da interferência de uma matriz bastante complexa e a grande variedade de compostos orgânicos que um lixiviado de um aterro sanitário contém.

4.4.2 Estudo da influência da temperatura de extracção

Para este estudo, e depois dos resultados obtidos nos ensaios anteriores, decidiu-se realizar a extracção por imersão da fibra na amostra. Todos os outros parâmetros de extracção foram os mesmos, ou seja, um tempo de extracção de 60 minutos, o pH foi mantido em 2 e a amostra foi saturada com sal. Depois da extracção, deixou-se a fibra a dessorver no injector do cromatógrafo durante 3 minutos. As temperaturas testadas foram 30, 40, 50, 60 e 70 °C, sendo os resultados esquematizados na figura 23.

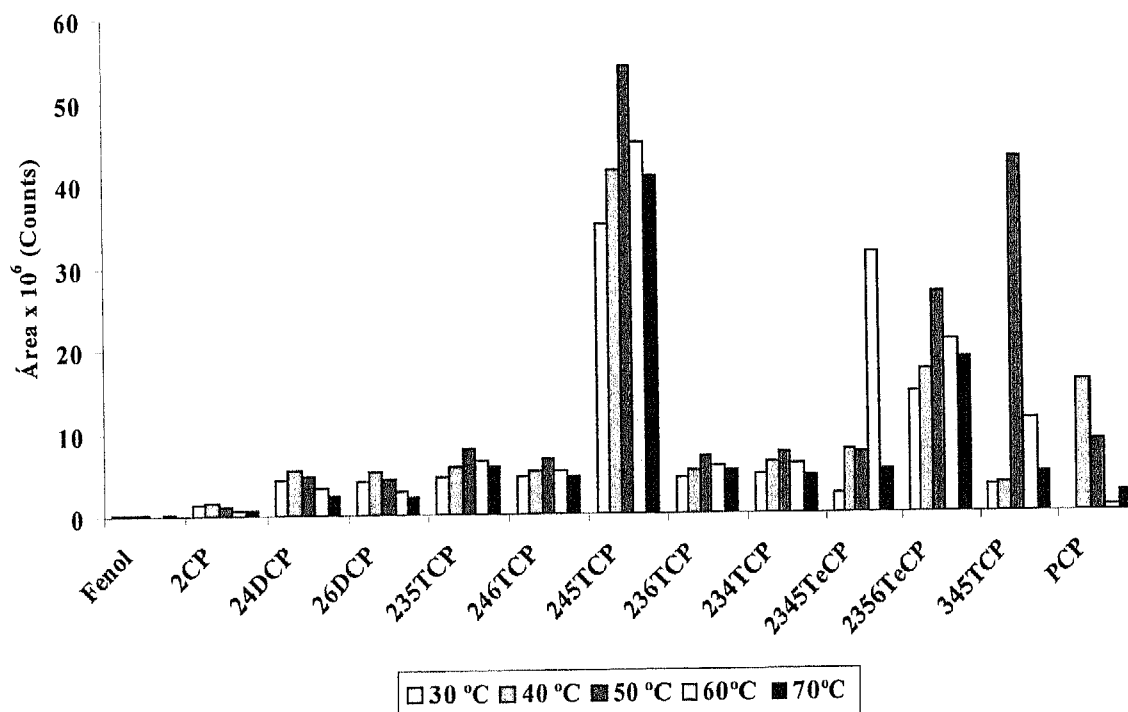


Figura 23 – Estudo da influência da temperatura na eficiência de extracção.

Desta figura, pode-se observar que a temperatura de 40 °C, apesar de não ser a temperatura óptima de extracção para alguns clorofenóis, constitui um bom compromisso, em relação à quantidade extraída, para todos os compostos. Assim, optou-se por utilizar no método de extracção a temperatura constante de 40 °C. Nos trabalhos já efectuados e atrás referidos não existe nenhuma referência à temperatura utilizada na extracção. Todavia, Pawliszyn (1997) refere que um aumento na temperatura de extracção traduz-se num aumento dos coeficientes de difusão e numa diminuição das constantes de distribuição, diminuindo o tempo necessário para se atingir o equilíbrio, devendo-se utilizar a temperatura mais elevada. Contudo a selecção da temperatura de extracção é um pouco complexa, uma vez que com um aumento da temperatura diminui-se a difusão, reduzindo a adsorção, mas promovendo a dessorção.

4.4.3 Estudo da influência do tempo de extracção

Para este estudo, realizaram-se experiências utilizando a temperatura de 40 °C para o banho em que foram mergulhadas as amostras e fazendo variar o tempo em que a fibra estava mergulhada na amostra, respectivamente em 20, 40, 60, 120 e 180 minutos. Mantiveram-se constantes todos os outros parâmetros de extracção: extracção por imersão da fibra directamente na amostra, o pH foi ajustado a 2, saturou-se a amostra com sal e utilizou-se um tempo de 3 minutos para a dessorção no injectador.

Na figura 24, representam-se os resultados obtidos para este estudo.

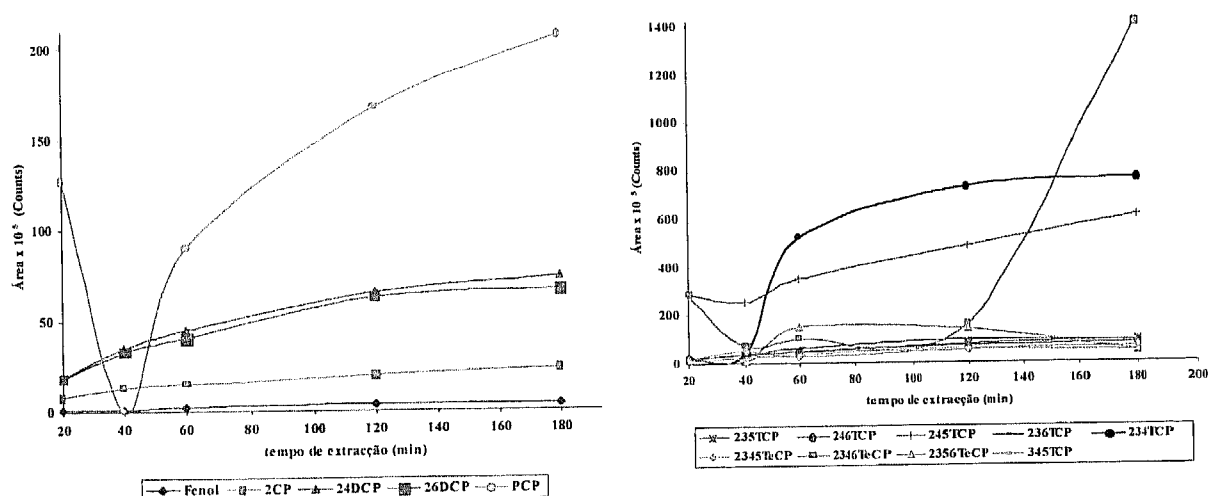


Figura 24 – Estudo da influência do tempo de imersão da fibra na amostra na eficiência de extracção (14 clorofenóis).

Para se poder visualizar melhor, decidiu-se representar só 10 clorofenóis e unicamente a partir dos 40 minutos (ver figura 25).

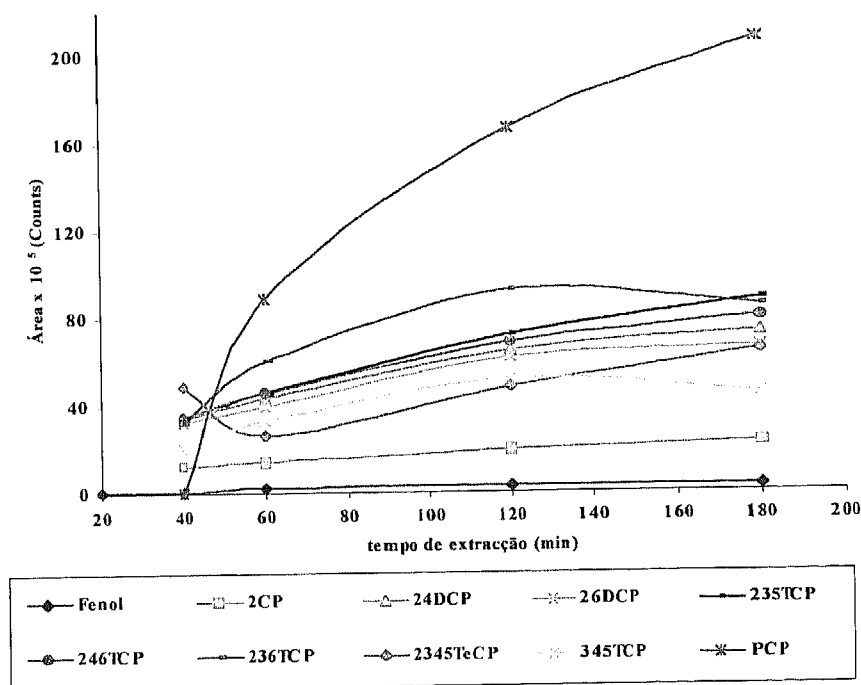


Figura 25 – Estudo da influência do tempo de imersão da fibra na amostra na eficiência de extração (10 clorofenóis).

A partir da observação da figura 25, pode-se verificar que 60 minutos satisfazem o compromisso entre a maior quantidade de clorofenóis extraída e o menor tempo de análise. Poder-se-á dizer que um tempo de extração superior não aumentaria significativamente a quantidade de clorofenóis extraídos pela fibra. Por outro lado pretende-se que o método de análise seja suficientemente rápido, não prejudicando contudo os resultados da análise. Por estes factos decidiu-se optar por realizar todas as extrações durante 60 minutos. Note-se que estes resultados estão de acordo com o trabalho de Buchholz e Pawliszyn (1994), no qual se propõe um tempo de 60 minutos para a fibra com revestimento de poliacrilato e de 20 a 40 minutos para o revestimento de polidimetilsiloxano.

4.4.4 Estudo da influência do valor de pH das amostras

Na preparação prévia das amostras para a extração, o pH foi ajustado com uma solução de ácido sulfúrico 1M, nos valores de 2, 3, 4, 5, e 6. Nestas extrações utilizaram-se os parâmetros otimizados pelas experiências anteriores: extração por imersão da fibra na amostra durante 60 minutos a uma temperatura de 40 °C. Procedeu-se ainda à saturação da amostra com sulfato de sódio. Os resultados estão representados na figura 26.

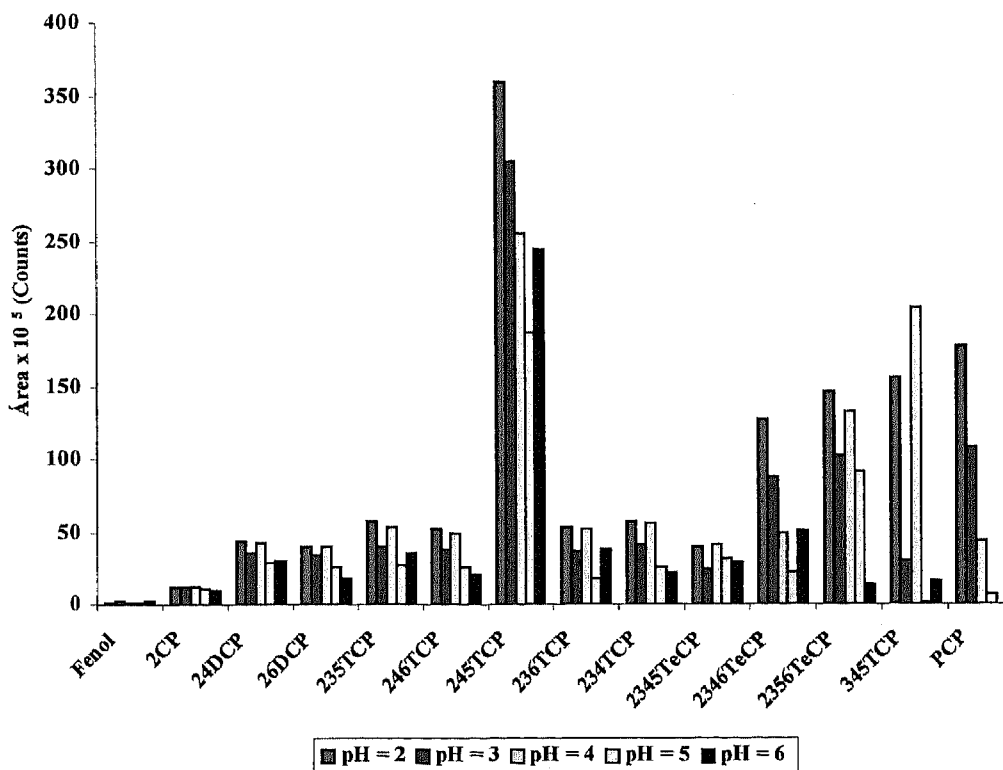


Figura 26 – Estudo da influência do valor de pH das amostras na eficiência de extracção (14 clorofenóis).

Pela observação da figura, verifica-se para a maior parte dos compostos, um aumento da quantidade extraída com a diminuição do valor de pH na amostra. Por este facto, optou-se pelo valor de pH = 2.

Atendendo aos valores de pKa destes compostos (ver tabela 3), um valor reduzido de pH favorecerá a forma ácida (clorofenol) em relação à sua forma básica (clorofenóxido). Como o que pretendemos determinar é a forma ácida (clorofenol) e não o clorofenóxido, é importante garantir a acidez da solução, de forma a minimizar os erros que se poderão cometer relativos a não quantificarmos por defeito uma quantidade que seria, com um procedimento correcto, diferente da observada. Em relação aos trabalhos efectuados e atrás referidos, em todos eles se utiliza um valor de pH bastante reduzido como o de 1 ou de 2, confirmando estes resultados.

4.4.5 Estudo da influência da adição de sal

Este estudo foi efectuado através da elaboração de extracções por imersão, a 40 °C e durante 60 minutos, sendo o valor de pH fixado em 2. Foram adicionadas quantidades crescentes de Na_2SO_4 até saturação completa (cerca de 1,1 g / 30 mL até 7,7 g / 30 mL).

Os resultados obtidos encontram-se representados na figura seguinte.

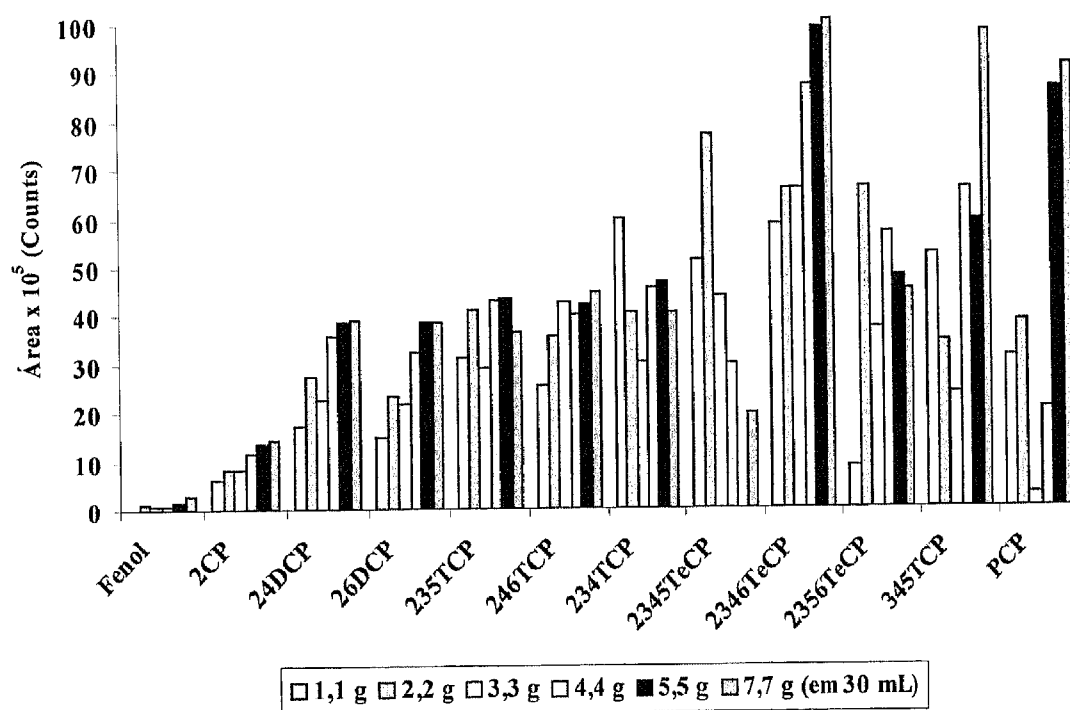


Figura 27 – Estudo da influência da concentração de sal nas amostras na eficiência de extracção.

Observando a figura 27, verifica-se que para a generalidade dos compostos (exceptuando o 2,3,4-triclorofenol, o 2,3,4,5-tetraclorofenol e o 2,3,5,6-tetraclorofenol, para os quais se verifica o fenómeno inverso), a adição de sal às amostras, aumenta a afinidade dos clorofenóis para a fibra, melhorando consequentemente a eficiência de extracção. Assim, nos ensaios seguintes optou-se por adicionar sal numa quantidade estritamente necessária para saturar, a essa temperatura, as amostras. Neste caso, a saturação foi conseguida através da adição de 7,7 g de Na_2SO_4 por cada 30 mL de amostra. Refira-se ainda que estes resultados comprovam os estudos efectuados por outros autores como por exemplo o trabalho de Alpendurada (2000), onde se refere que a adição de sal provoca uma diminuição da solubilidade de compostos polares, como é o caso específico dos clorofenóis.

4.4.6 Estudo da influência do tempo de dessorção da fibra no injector

Realizaram-se extracções em que se estudaram diferentes valores para o tempo em que a fibra foi deixada no injector do cromatógrafo.

Os resultados obtidos encontram-se representados na figura seguinte.

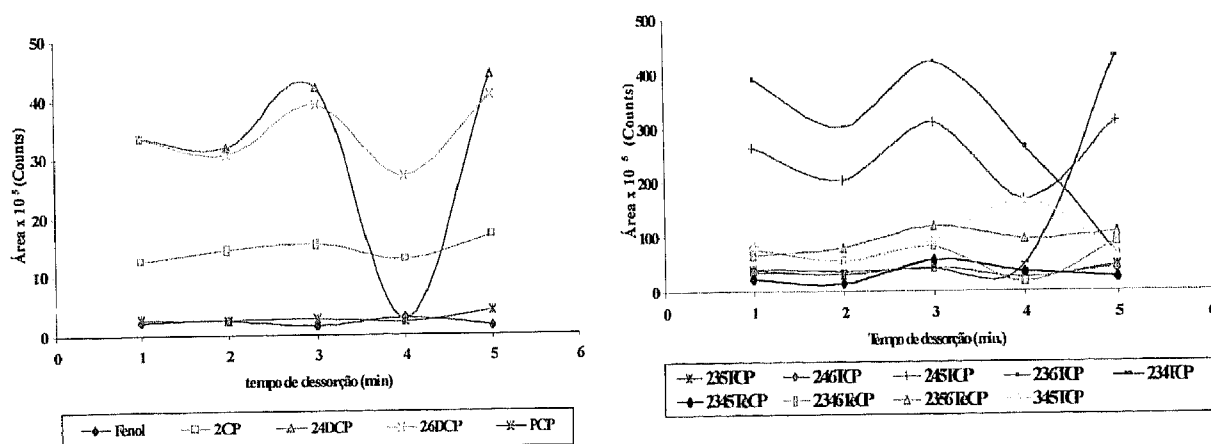


Figura 28 – Estudo da influência do tempo de dessorção da fibra na eficiência da extracção.

Desta figura, e apesar da variação apresentada, observamos que para a generalidade dos clorofenóis, o tempo de 3 minutos corresponde a um máximo de quantidade dessorvida. Com o objectivo de estudar a possibilidade da contaminação da fibra com clorofenóis não dessorvidos, entre experiências consecutivas, realizaram-se ensaios em branco que não confirmaram esta possibilidade. Por este facto, adoptou-se o tempo de 3 minutos como sendo o tempo suficiente para dessorver eficientemente os compostos e sem ocorrer contaminação da fibra. A única referência a um estudo sobre o tempo de dessorção da fibra no injector, encontra-se no 2º estudo de Lee *et al.* (1998). Nesse trabalho Lee *et al.* fizeram variar este tempo entre 0,1 a 5 minutos a uma temperatura de 290°C, tendo chegado à conclusão de que 2 minutos correspondia à máxima quantidade dessorvida de clorofenóis.

Perante os resultados obtidos no estudo da influência dos vários parâmetros na eficiência de extracção, podemos resumir que a extracção dos clorofenóis deve ser realizada por imersão, num banho termostizado a 40 °C, com agitação contínua de 750 rpm durante 60 minutos. Deve-se

adicionar sal às amostras até estas atingirem a saturação e o seu pH deve ser mantido num valor inferior a 2. Finalmente, a fibra deve ser mantida a desorver, no injector do cromatógrafo, durante 3 minutos.

Estas condições foram optimizadas para a extracção de clorofenóis em água pura, podendo surgir a questão se serão válidas também para uma matriz tão complexa como a dos lixiviados, e ainda quando a técnica de microextracção seleccionada é por imersão. Por este facto foi implementado este método já optimizado na análise da mesma mistura num lixiviado não contaminado com clorofenóis. Esta verificação foi realizada previamente através da espectrometria de massa em toda a gama de trabalho no cromatograma obtido. Estes resultados apresentam-se numa das secções seguintes.

4.5 DETERMINAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DE VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

4.5.1 Estudo da linearidade do método, limites de detecção e precisão

Para se determinarem os limites de detecção nos ensaios de microextração, efectuaram-se ensaios nas condições optimizadas. Utilizaram-se diluições da mistura padrão em água pura, em concentrações abrangendo a gama de 0,1 a 200 $\mu\text{g/L}$. O mesmo procedimento de extração foi repetido 3 vezes sendo cada extração realizada em duplicado. Nas figuras 29 e 30, encontram-se representados os resultados obtidos na gama referida.

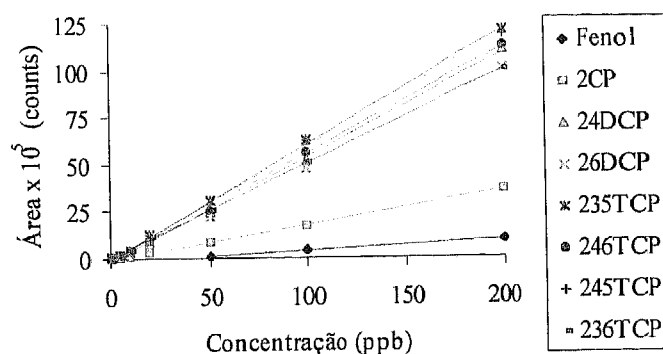


Figura 29 – Ajustes lineares dos ensaios de microextração para 8 clorofenóis contidos na mistura padrão (0,1 a 200 ppb).

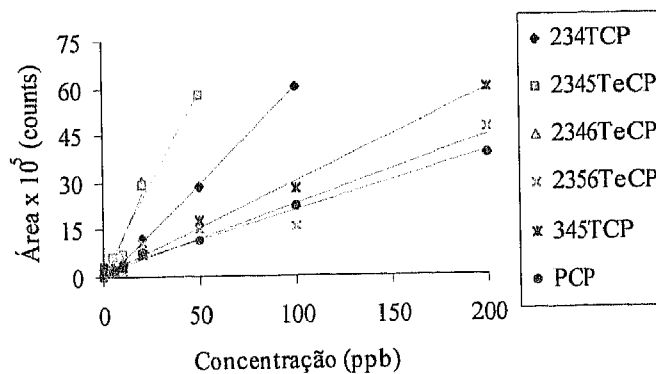


Figura 30 – Ajustes lineares dos ensaios de microextração para 6 clorofenóis contidos na mistura padrão (0,1 a 200 ppb).

À semelhança do tratamento de resultados obtidos na análise cromatográfica da mistura padrão (ensaios sem extração), os limites de detecção apresentados, foram estimados através das áreas cromatográficas obtidas para o padrão com menor concentração detectado em cada clorofenol,

entrando em conta com a razão sinal/ruído = 20 que se utilizou em todas as análises (Buchholz e Pawliszyn, 1994).

Na tabela seguinte, apresenta-se um resumo dos resultados obtidos.

Tabela 11 – Resultados de linearidade da análise por GC/MS após SPME da mistura padrão (N=número de pontos da recta de calibração; R^2 =coeficiente de correlação quadrático; LD=limite de detecção ($\mu\text{g/L}$); CV%=coeficiente de variação).

Composto	N	Gama ($\mu\text{g/L}$)	Regressão linear (95%)		R^2	LD ($\mu\text{g/L}$)	C.V. (%) (50 $\mu\text{g/L}$)
			Ordenada	Declive			
Fenol	3	50 – 200	-215566 $\pm$ 19882	6053 $\pm$ 150	0,9999	2,5	7,0
2-clorofenol	6	5 – 200	-65939 $\pm$ 69482	18279 $\pm$ 739	0,9992	0,25	13,9
2,4-diclorofenol	7	1 – 200	-159655 $\pm$ 185332	55288 $\pm$ 2129	0,9989	0,05	5,2
2,6-diclorofenol	7	1 – 200	-149578 $\pm$ 171663	50667 $\pm$ 1972	0,9989	0,05	3,6
2,3,5-triclorofenol	7	1 – 200	-11409 $\pm$ 142084	60964 $\pm$ 1632	0,9995	0,05	4,9
2,4,6-triclorofenol	7	1 – 200	-93769 $\pm$ 129544	56718 $\pm$ 1488	0,9995	0,05	4,9
2,4,5-triclorofenol	6	5 – 200	-54727 $\pm$ 283340	60032 $\pm$ 3014	0,9987	0,25	4,2
2,3,6-triclorofenol	6	5 – 200	-22624 $\pm$ 173364	49899 $\pm$ 1844	0,9993	0,25	0,4
2,3,4-triclorofenol	5	5 – 100	-130569 $\pm$ 186376	61665 $\pm$ 3652	0,9990	0,25	4,5
2,3,4,6-tetraclorofenol	4	20 – 200	-9220 $\pm$ 35863	1526 $\pm$ 312	0,9918	1	1,8
2,3,4,5-tetraclorofenol	6	0,1 – 50	155258 $\pm$ 335955	115748 $\pm$ 15213	0,9911	0,005	60,5
2,3,5,6-tetraclorofenol	5	5 – 200	110059 $\pm$ 254707	23314 $\pm$ 3008	0,9935	0,25	26,2
3,4,5-triclorofenol	6	5 – 200	91570 $\pm$ 272137	29122 $\pm$ 2895	0,9949	0,25	23,5
Pentaclorofenol	9	0,1 – 200	222408 $\pm$ 107329	18652 $\pm$ 1398	0,9930	0,005	26,6

Da observação destes resultados, verifica-se que a linearidade do método foi obtida numa gama de 5 a 200 $\mu\text{g/L}$, com um C.V. inferior a 10%, para a maior parte dos compostos e para uma concentração de 50 $\mu\text{g/L}$. Os limites de detecção encontram-se entre 0,005 e 2,5 $\mu\text{g/L}$, sendo inferiores aos conseguidos com os métodos EPA.

A fraca reprodutibilidade da análise cromatográfica, em relação aos 4 últimos clorofenóis na tabela anterior, deve-se em parte à dificuldade de integração dos picos cromatográficos devido a estes eluírem bastante próximos entre si e relativamente sobrepostos. Este facto também foi observado por injeção da mistura sem extração. Um programa de temperaturas alternativo entre os minutos 16 e 17 poderá resolver este problema. Os resultados obtidos para todos os níveis de concentração estudados, encontram-se no apêndice B (tabela B2).

4.5.2 Determinação das eficiências de extracção

Para se determinarem as eficiências de extracção, consideraram-se as análises efectuadas com a mistura padrão em isopropanol. A concentração seleccionada para este cálculo foi a de 50 mg/L (injecção de 1 µL que representa 50 ng) já que com esta concentração se obteve nos ensaios de optimização das condições operatórias, a melhor reprodutibilidade para a maior quantidade de clorofenóis. Assim, para cada clorofenol, considerou-se a área média obtida para a massa injectada de 50 ng e determinou-se proporcionalmente qual a área que se deveria obter para a quantidade máxima a extrair. Assim por exemplo, a quantidade máxima a extrair em 2 mL de uma amostra com 10 µg/L seria de 20 ng. A razão entre a área obtida experimentalmente e a área teórica calculada pelo processo descrito, representa a eficiência de extracção. As eficiências foram obtidas para todos os padrões preparados: 0,25 a 50 µg/L. No entanto, a tabela 12 refere-se unicamente aos valores médios das eficiências de extracção cujos padrões se encontram acima do limite de detecção considerado na tabela 11.

Tabela 12 – Resultados de eficiências de extracção (em %) por SPME da mistura padrão.

Composto	N	Gama de concentrações (µg/L)	Eficiência média de extracção (%)	C.V. (%)	L.D. (µg/L)
Fenol	7	2,5 – 50	12,2	14,7	2,5
2-clorofenol	10	0,25 – 50	0,31	43,4	0,25
2,4-diclorofenol	10	0,25 – 50	34,5	13,5	0,05
2,6-diclorofenol	10	0,25 – 50	27,9	8,8	0,05
2,3,5-triclorofenol	10	0,25 – 50	38,8	8,2	0,05
2,4,6-triclorofenol	10	0,25 – 50	32,4	13,3	0,05
2,4,5-triclorofenol	10	0,25 – 50	37,1	8,2	0,25
2,3,6-triclorofenol	10	0,25 – 50	31,7	13,8	0,25
2,3,4-triclorofenol	10	0,25 – 50	30,8	9,2	0,25
2,3,4,6-tetraclorofenol	8	1 – 50	48,1	14,7	1,0
2,3,4,5-tetraclorofenol	10	0,25 – 50	24,3	20,3	0,005
2,3,5,6-tetraclorofenol	10	0,25 – 50	20,5	60,1	0,25
3,4,5-triclorofenol	10	0,25 – 50	42,8	50,6	0,25
Pentaclorofenol	10	0,25 – 50	22,8	25,5	0,005

Os resultados apresentados nesta tabela revelam, devido aos problemas já referidos, uma reprodutibilidade fraca para os clorofenóis que eluem mais tarde da coluna. A totalidade dos resultados deste estudo encontra-se no apêndice B (tabela B3). As eficiências médias de extracção relativamente aos padrões individuais, são de 17,2% para o 2-clorofenol, de 18,2% para o pentaclorofenol, de 65,0% para o 2,4-diclorofenol e 54,8% para o 2,4,6-triclorofenol.

4.6 ANÁLISE DE LIXIVIADOS POR GC/MS APÓS SPME

4.6.1 Estudo da importância do efeito de matriz

Para se quantificar o efeito de matriz calcularam-se as recuperações obtidas quando se substitui a água pura por um lixiviado. Assim, realizaram-se experiências de extracção por SPME, utilizando diluições da mistura padrão contendo 14 clorofenóis, utilizando como solvente um dos lixiviados que não continha qualquer clorofenol. Para a selecção de qual o lixiviado a utilizar como solvente, realizaram-se algumas injeções cromatográficas dos 3 tipos de lixiviado disponível. Após a análise dos respectivos espectros decidiu-se utilizar como solvente aquele que apresentava menor ruído de fundo (melhor separação dos picos cromatográficos, identificados individualmente pela massa e após confirmação de que não eram clorofenóis) seria aquele que se utilizaria como solvente. Na tabela 13 apresenta-se, em resumo, as recuperações médias obtidas na gama de concentrações indicada. Não se conseguiram detectar quantidades inferiores a 1 µg/L em matrizes de lixiviados.

Tabela 13 – Efeito de matriz, traduzido nas recuperações obtidas na extracção de clorofenóis em lixiviados.

Composto	Valores médios de Recuperação (%)	Gama de concentrações (µg/L)
Fenol	90,6	50 – 200
2-clorofenol	65,9	2,5 – 200
2,4-diclorofenol	52,6	1 – 200
2,6-diclorofenol	63,4	1 – 200
2,3,5-triclorofenol	49,7	1 – 200
2,4,6-triclorofenol	46,7	1 – 200
2,4,5-triclorofenol	49,4	1 – 200
2,3,6-triclorofenol	46,4	1 – 200
2,3,4-triclorofenol	48,4	1 – 200
2,3,4,6-tetraclorofenol	51,3	2,5 – 200
2,3,4,5-tetraclorofenol	29,8	2,5 – 200
2,3,5,6-tetraclorofenol	67,1	7,5 – 15
3,4,5-triclorofenol	45,9	5 – 200
Pentaclorofenol	41,3	5 – 200

Estes valores de recuperação não variam significativamente dos valores obtidos para as eficiências de extracção quando se utiliza água pura como solvente. Assim, não se pode confirmar um efeito de matriz do lixiviado, por outro lado, segundo Pawliszyn (1997), considera-se que as condições de extracção estão optimizadas quando as recuperações se aproximam às eficiências de extracção. Os resultados completos apresentam-se no apêndice B (tabela B4).

4.6.2 Análise de clorofenóis em lixiviados

Na tentativa de se detectarem clorofenóis em lixiviados de aterros sanitários, fizeram-se experiências de microextracção em fase sólida e posterior quantificação por GC/MS de três tipos de lixiviados distintos e de três anos consecutivos. Recolheram-se dois lixiviados sem tratamento: de uma parte do aterro sem qualquer tipo de controlo, de outra parte do aterro com controlo e um lixiviado com um pequeno tratamento prévio ainda dentro das instalações.

Com o objectivo de validar o método, realizaram-se análise por GC/MS após SPME de cada um dos três lixiviados referidos anteriormente, utilizando o método desenvolvido. O lixiviado proveniente da “lixreira” foi o que se apresentou “mais limpo” através da análise individual pelos espectros de massa de cada pico do cromatograma, sendo por isso utilizado como solvente nas diluições da mistura padrão. Na figura que se apresenta de seguida, representa-se um cromatograma da mistura padrão contendo os 14 clorofenóis estudados, diluídos no lixiviado da “lixreira”.

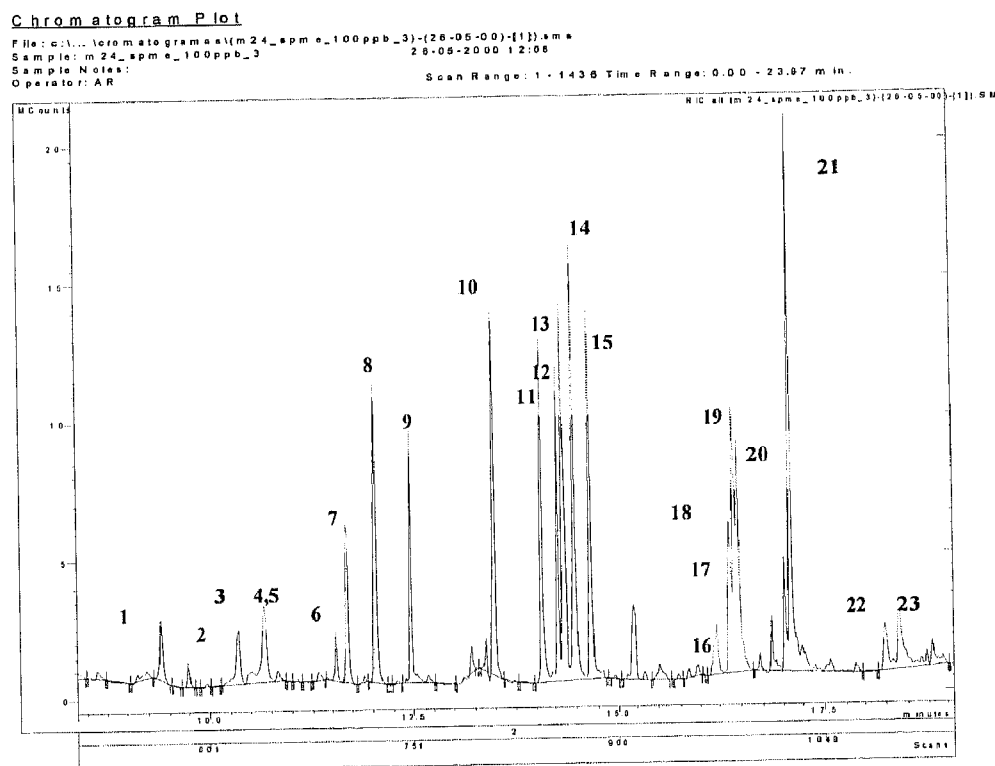


Figura 31 – Cromatograma de uma análise por GC/MS após SPME, da mistura padrão com uma concentração de 100 µg/L num lixiviado não contaminado (1 = fenol; 2 = 2-clorofenol; 3 = 2-metilfenol; 4 = 3-metilfenol; 5 = 4-metilfenol; 6 = 2-nitrofenol; 7 = 2,4-dimetilfenol; 8 = 2,4-diclorofenol; 9 = 2,6-diclorofenol; 10 = 4-cloro-3-metilfenol; 11 = 2,3,5-triclorofenol; 12 = 2,4,6-triclorofenol; 13 = 2,4,5-triclorofenol; 14 = 2,3,6-triclorofenol; 15 = 2,3,4-triclorofenol; 16 = 2,4-dinitrofenol; 17 = 4-nitrofenol; 18 = 2,3,4,5-tetraclorofenol; 19 = 2,3,4,6-tetraclorofenol; 20 = 2,3,5,6-tetraclorofenol; 21 = 3,4,5-triclorofenol; 22 = pentaclorofenol; 23 = dinoseb; 24 = 2-metil-4,6-dinitrofenol).

Após se ter otimizado o programa utilizado no sistema GC/MS para a identificação logo após a separação de todos os clorofenóis, realizaram-se experiências às amostras de lixiviados das três partes do aterro. Foi impossível detectar ou quantificar clorofenóis nas amostras provenientes da parte do aterro com controlo designadas aqui por “aterro”, uma vez que a detecção pela massa apresentava muito ruído. Contudo, quando se analisaram as amostras provenientes da “lagoa” conseguiu-se verificar que estavam contaminadas com 2 dos clorofenóis estudados. Na figura seguinte apresenta-se um dos cromatogramas obtidos nessas análises.

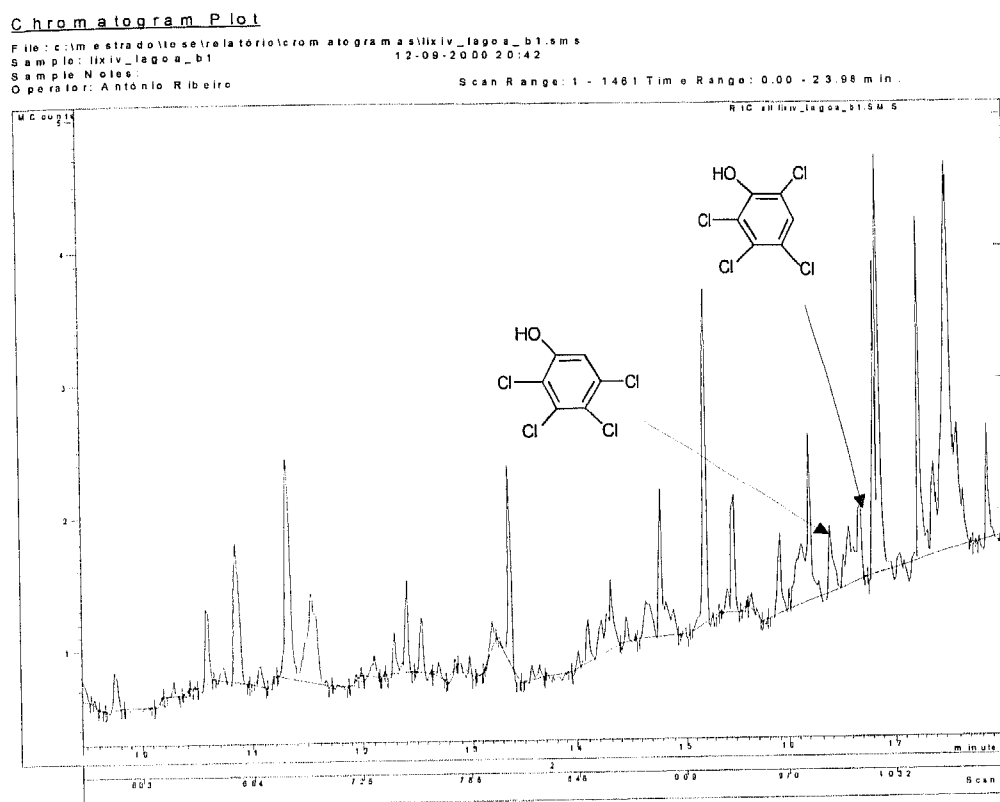


Figura 32 – Cromatograma de uma análise por GC/MS após SPME, de um lixiviado proveniente de uma parte do aterro onde se realiza um pequeno tratamento.

Nas análises efectuadas a estas amostras, conseguiu-se detectar pentaclorofenol e quantificar 2,3,4,5-tetrachlorofenol (0,11 µg/L) e 2,3,4,6-tetrachlorofenol (0,06 µg/L) num lixiviado recolhido da lagoa.

Finalmente realizaram-se análises às amostras da parte do aterro sem controlo, tendo-se detectado 3-metilfenol, 4-metilfenol (estes últimos co-eluem) e 4-cloro-3-metilfenol. Um dos cromatogramas obtidos para estes lixiviados apresenta-se na figura seguinte.

Chromatogram Plot

File: d:\... \m24_8040\spme\lixiviado\lixivirato\lixiviado\lixiv_lix_b2.sms

Sample: lixiv_lix_b2

Scan Range: 1 - 1456 Time Range: 0.00 - 23.97 min.

Operator: António Ribeiro

Date: 13/09/00 12:18

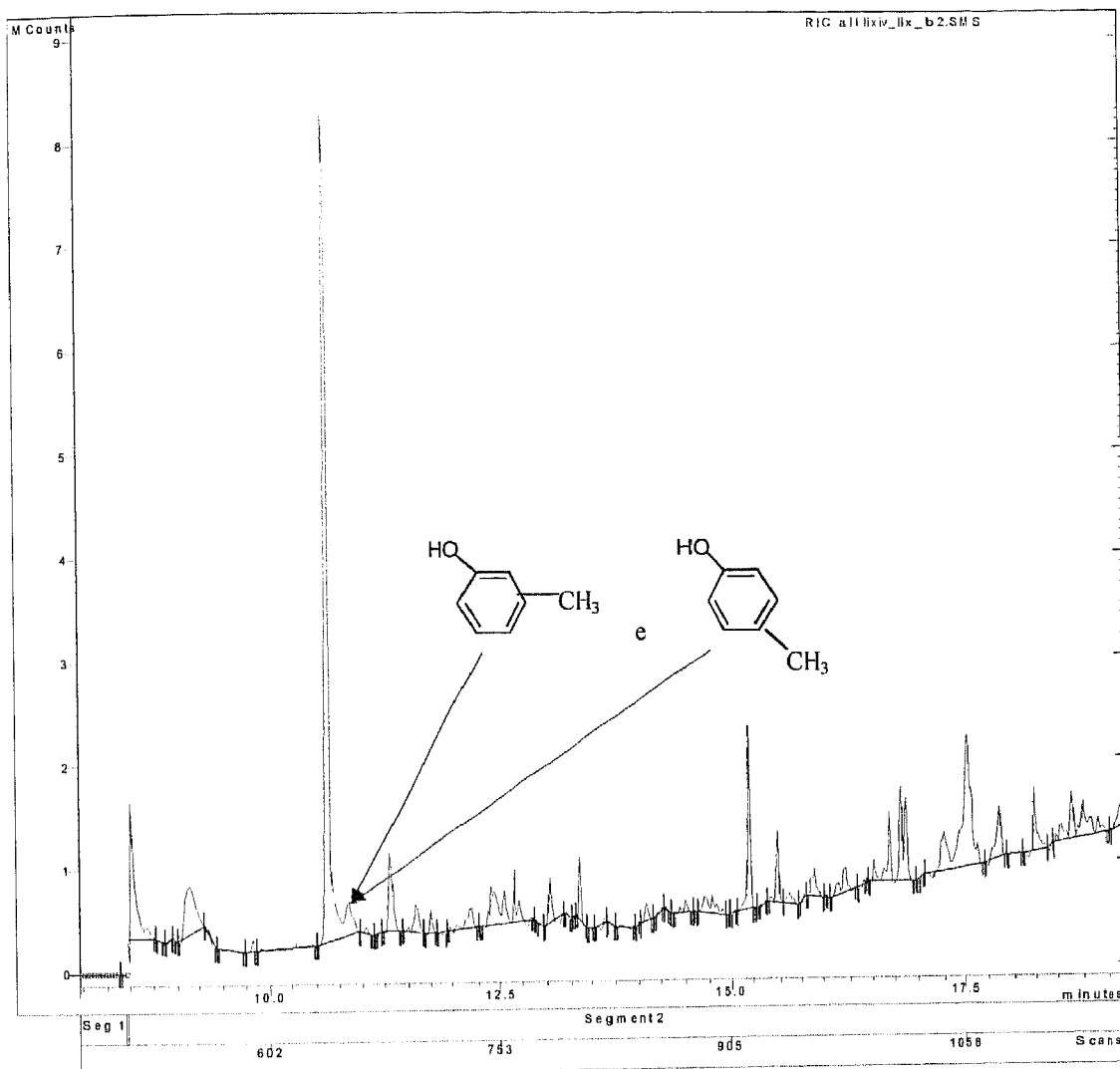


Figura 33 – Cromatograma de uma análise por GC/MS após SPME, de um lixiviado proveniente de uma parte do aterro sem controlo.

5. CONCLUSÕES E TRABALHO FUTURO

5.1 - CONCLUSÕES

Neste trabalho desenvolveu-se um método de análise para poluentes orgânicos prioritários que existam em lixiviados de aterros sanitários.

De entre a ampla gama de poluentes que existem nos lixiviados dos aterros, seleccionaram-se para este estudo, os clorofenóis. Esta escolha foi baseada, principalmente, no facto destes compostos estarem englobados na classe dos organoclorados, que devido à sua extrema toxicidade representam um elevado risco para a saúde de todos os organismos vivos, incluindo a saúde humana.

O método utilizado para a análise de clorofenóis, consiste na sua microextração em fase sólida e posterior separação e identificação por cromatografia gasosa acoplada a um detector de massa.

A utilização da extração por SPME, por um lado, melhora substancialmente o tempo necessário para a preparação das amostras para a análise, uma vez que os métodos tradicionais EPA requerem para a extração deste tipo de compostos, cerca de 6 a 8 horas. Por outro lado, esta técnica de extração, evita a utilização de solventes orgânicos tanto ou mais poluentes que propriamente os compostos que extraem, sendo ainda bastante dispendiosos. Finalmente, a selectividade/afinidade da fibra em relação aos compostos em estudo, constitui uma vantagem significativa relativamente às outras técnicas de extração devido à enorme complexidade das matrizes dos lixiviados. Além disso, como realiza a pré-concentração da amostra, permite quantificar quantidades vestigiárias de clorofenóis.

Na optimização dos parâmetros de extração por SPME, procurou-se comparar a microextração em fase gasosa (*Headspace*) e por imersão, estudou-se a influência do tempo de análise e da temperatura da extração, a influência do valor de pH e da concentração de sal das amostras e ainda o tempo que a fibra deve permanecer em dessorção no injectador.

Concluiu-se que os parâmetros otimizados para a extracção por SPME, consistem na microextracção por imersão directa da fibra na amostra (em fase líquida). A extracção deve ser realizada durante 60 minutos num banho com agitação constante de 750 rpm e com uma temperatura de 40 °C, as amostras devem ser saturadas com sal e o valor do seu pH deve ser 2. Finalmente, a fibra deve permanecer 3 minutos no injector para que ocorra a dessorção. Estes resultados estão bastante concordantes com os dados pesquisados na literatura.

Em relação à separação e identificação dos clorofenóis, a cromatografia gasosa quando acoplada com um detector de massa, além de permitir a análise em poucos minutos, possui a enorme vantagem da identificação quase imediata e com limites de detecção de 0,005 a 2,5 µg/L. Estes limites são bastante inferiores aos que se conseguem empregando os métodos 604 e 625 da EPA.

Com a coluna utilizada (CP Sil 8 CB MS), e com o programa de temperaturas otimizado: 4 minutos a 40 °C, uma rampa de 12 °C/minuto até 220 °C e 1 minuto a 220 °C, num total de 20 minutos, conseguiu-se separar 14 clorofenóis num total de 24 fenóis. Com o detector de massa (*Ion Trap*) a 160 °C identificou-se, por comparação com os espectros existentes numa base de dados, todos os 14 clorofenóis.

Para optimização do método analítico utilizou-se uma mistura padrão de 24 fenóis, na qual estavam contidos 14 clorofenóis. Com o método optimizado, conseguiu-se linearidade para a maior parte dos clorofenóis com valores entre 5 e 200 µg/L, com coeficientes de variação inferiores a 10%, para a maioria dos compostos.

Na determinação da eficiência da extracção, prepararam-se diluições da mistura padrão em água pura e compararam-se as áreas obtidas com as áreas resultantes de injeções directas de diluições da mesma mistura em isopropanol. Com a excepção do 2-clorofenol, para o qual a eficiência da extracção foi muito reduzida (menor do que 1%), obtiveram-se boas eficiências de extracção (na gama de 30 a 50%, para todas as diluições efectuadas) quando comparadas com os valores conseguidos com os métodos EPA (cerca de 30 a 40%).

Neste trabalho, procurou-se ainda estudar a existência de um efeito de matriz e na sua eventual quantificação. Após se terem determinado as recuperações, utilizando um lixiviado não

contaminado como solvente, não se verificou uma diminuição significativa comparativamente às eficiências de extracção calculadas, a partir da mistura padrão em água pura. Este facto permite-nos supor, apesar da matriz complexa dos lixiviados, que o método é válido para a extracção em lixiviados de aterros.

Na tentativa de identificação e posterior quantificação de clorofenóis em lixiviados de aterros sanitários, recolheram-se este estudo, 3 tipos de lixiviados em 3 anos consecutivos: um lixiviado de uma parte do aterro sem controlo “lixreira”, um lixiviado de uma parte do aterro sob controlo “aterro” e um lixiviado já com um pequeno tratamento “lagoa”.

As análises efectuadas ao lixiviado do “aterro” revelaram-se inconclusivas, uma vez que não foi possível a separação cromatográfica (resolução muito fraca), tanto em injeções sem extracção como em injeções com microextracção. Nestas experiências observou-se a obstrução da fibra com diversas partículas sólidas que se adsorviam à superfície da fibra, dificultando possivelmente a extracção dos compostos de interesse, o que constitui um problema da técnica de imersão em matrizes tão complexas como as que formam os lixiviados dos aterros.

O método permitiu a detecção de pentaclorofenol e quantificação de 2,3,4,5-tetraclorofenol e 2,3,4,6-tetraclorofenol num lixiviado da “lagoa” recolhido em setembro de 2000. Conseguiu-se ainda detectar 3-metilfenol, 4-metilfenol e 4-cloro-3-metilfenol num lixiviado recolhido no mesmo ano, da parte do aterro sem controlo “lixreira”. A análise destes compostos esteve fora do âmbito do trabalho, contudo como eles faziam parte da mistura padrão utilizada, foi possível identificá-los através da espectrometria de massa.

5.2 – SUGESTÕES PARA TRABALHO FUTURO

Com a realização deste trabalho de investigação não se esgotaram todas as possibilidades de evolução do método estudado, como aliás é normal em investigação. A evolução contínua dos métodos de análise, implica um aperfeiçoamento constante com uma melhoria dos resultados conseguidos. Assim, teremos sempre resultados mais exactos e obtidos mais rapidamente, sendo tal unicamente uma questão de tempo.

Concretamente no estudo desenvolvido no âmbito desta tese de mestrado, pode-se ainda desenvolver mais trabalho nesta área, e em aspectos como:

- Em relação às condições de preparação da amostra, poder-se-á estudar ainda a influência da temperatura do injector (neste estudo foi constante e igual a 280 °C) e da profundidade da fibra no injector (neste estudo foi sempre a máxima) na eficiência de extracção. Por outro lado atendendo às dificuldades obtidas na análise de amostras dos lixiviados provenientes da parte do aterro com controlo, designadas atrás por “aterro”, pode-se num estudo futuro, analisar a extracção por imersão mas com uma protecção da fibra com uma membrana, prevenindo a adsorção na fibra de certas partículas potencialmente competitivas com os clorofenóis;
- Outro campo a explorar poderá ser, se os meios técnicos assim o permitirem, a utilização de um sistema diferente de detecção, como sejam a detecção SIM ou MS/MS. Estas técnicas possibilitam a diminuição significativa dos níveis de detecção com bons valores de reprodutibilidade; Outra possibilidade será a utilização, atendendo a larga gama de compostos em estudo, a utilização de dois ou mesmo três padrões internos. Este procedimento, poderá aumentar a reprodutibilidade e sensibilidades do método.
- Em relação às amostras utilizadas, estas foram recolhidas de um aterro sanitário, no qual se depositam resíduos, na sua maioria desperdícios domésticos. A utilização de amostras provenientes de um aterro em que se incluem resíduos de indústrias como a farmacêutica, a de tintas, colas e produtos de tratamento e conservação de madeiras, iria aumentar significativamente a probabilidade de se encontrarem amostras contaminadas com clorofenóis em níveis bastantes superiores aos encontrados nas amostras que se utilizaram neste estudo. Ainda relativamente às amostras recolhidas, refira-se que o período de amostragem também não foi o ideal, já que em setembro de 2000, foi um período de grande pluviosidade o que provocou um efeito de diluição de todos os lixiviados. Propõe-se assim, que a recolha de amostras seja efectuada, se possível em vários períodos do ano.

O estudo desenvolvido, permite identificar e quantificar clorofenóis em lixiviados de um aterro sanitário. Contudo, a utilização do método validado, não se limita só à análise de lixiviados, podendo ser generalizada a sua aplicação a todas as matrizes aquosas. Genericamente, poderemos dizer que a sua aplicação poder-se-á estender à análise de efluentes aquosos de indústrias que utilizam ou sintetizam este tipo de compostos.

Após a identificação e quantificação dos poluentes referidos, o caminho a seguir será o estudo da possibilidade da sua eliminação ou pelo menos da redução dos seus níveis de toxicidade e poluição. Neste sentido, existem vários estudos de degradação que se poderão desenvolver, tendo sido já referidos alguns destes estudos, no capítulo 2 desta tese.

REFERÊNCIAS

- Alpendurada M.F., *Solid Phase Microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis*, J. Chromatogr. A, 889, 2000, pp. 3-14.
- Arthur C.L., Pawliszyn J., *Solid-Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers*, Anal. Chem., 62, 1990, pp. 2145-2148.
- Atuanya E. I., Purohit H. J., Chakrabarti T., *Anaerobic and aerobic biodegradation of chlorophenols using UASB and ASG bioreactors*, World J. Microbiol. Biotechnol., 16, 2000, pp. 95-98.
- Barceló D., *Environmental Protection Agency and other methods for the determination of priority pesticides and their transformation products in water*, Chromsymp., 2816, 1993, pp. 117-143.
- Barták P., Cáp L., *Determination of phenols by solid-phase microextraction*, J. Chromatogr. A, 767, 1997, pp. 171-175.
- Boaventura R., *Apontamentos da Disciplina de Tratamento Biológico de Efluentes do curso de Mestrado de Engenharia do Ambiente – FEUP*, 1998.
- Boncz M. A., Bruning H., Rulkens W. H., Sudhölter, Harmsen G. H., Bijsterbosch J. W., *Kinetic and Mechanistic Aspects of the Oxidation of Chlorophenols by Ozone*, Wat. Sci. Tech., 35 4, 1997, pp. 65-72.
- Brás I., Santos L., Alves A., *Monitoring Organochlorine Pesticides from Landfill Leachates by Gas Chromatography-Electron-Capture Detection after Solid-Phase Microextraction*, J. Chromatogr. A, 891, 2000, pp. 305-311.
- Buchholz K.D., Pawliszyn J., *Optimization of Solid-Phase Microextraction Conditions for Determination of Phenols*, Anal. Chem., 66, 1994, pp. 160-167.
- Cavalheiro A., *Protecção e Contaminação de Aquíferos - Apontamentos da Disciplina do curso de Mestrado em Engenharia do Ambiente, Ramo Geoambiente, Departamento de Minas da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto*, 1998.
- Cassady M. B., Mullineers H., Lee H., Trevors J. T., *Mineralization of pentachlorophenol in a contaminated soil by Pseudomonas sp UG30 cells encapsulated in k-carrageenan*, J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 19, 1997, pp. 43-48.
- Chai M., Arthur C., Pawliszyn J., Belardi R., Pratt K.F., *Determination of Volatile Chlorinated Hydrocarbons in Air and Water With Solid-Phase Microextraction*, Analyst., 118, 1993, pp. 1501-1505.
- Diário da República-I Série A, nº176 de 1 de Agosto de 1998, pp.3702.
- Directiva do Conselho do Parlamento Europeu 86/280/CEE.
(www.europa.eu.int/eur-lex/pt/consleg/pdf/1986/pt_1986L0280_do_001.pdf) activo em março 2001

- Eisert R., Levsen K., *Determination of organophosphorus, triazine and 2,6-dinitroaniline pesticides in aqueous samples via solid-phase microextraction (SPME) and gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection*, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **351**, **1995**, pp. 555-562.
- Eisert R., Levsen K., *Development of a prototype system for quasi-continuous analysis of organic contaminants in surface or sewage water based on on-line coupling of solid-phase microextraction to gas chromatography*, *J. Chromatogr. A*, **737**, **1996**, pp. 59-65.
- EPA Method 625 – *Determination of Organic Compounds in Drinking Waters by Liquid-Liquid Extraction and Capillary Column Gas Chromatography/Mass Spectrometry* – Spectrum Laboratories, **2001**.
(www.speclab.com/compound/m515d2.htm) activo em março 2001
- EPA Method 8040A – *Phenols by Gas Chromatography* – Spectrum Laboratories, **2001**.
(www.speclab.com/compound/m8040aa.htm) acesso em activo 2001
- EPA Method 8270B – *Semivolatile Organic Compounds by Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS): Capillary Column Technique* – Spectrum Laboratories, **2001**.
(www.speclab.com/compound/m8270bb.htm) activo em 2001
- EPA, *Decision-Makers Guide To Solid Waste Management*, vol. II, EPA R-95-023, **1995**.
- EPA, *Guia del ciudadano – Medidas biocorrectivas*, EPA 542-F-96-023, **1996**.
- EPA, *Guia del ciudadano – Medidas fitocorrectivas*, EPA 542-F-96-025, **1996**.
- EPA Environmental Protection Agency, **2001**.
(www.epa.gov/safewater/mcl.html) activo em março 2001
- Farrell A., Quilty B., *Degradation of mono-chlorophenols by a mixed microbial community via a meta-cleavage pathway*, *Biodegradation*, **10**, **2000**, pp. 353-362.
- Hollender J., Hopp J., Dott W., *Cooxidation of chloro- and methylphenols by *Alcaligenes xylosoxidans* JH1*, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **16**, **2000**, pp. 445-450.
- Hollender J., Hopp J., Dott W., *Degradation of 4-chlorophenol via meta cleavage pathway by *Comamonas testosteroni* JH5*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **63** **11**, **1997**, pp. 4567-4572.
- Hügül M., Apak R., Demirci S., *Modeling the kinetics of UV / hydrogen peroxide oxidation of some mono-, di-, and trichlorophenols*, *J. Hazard. Mater.*, **B77**, **2000**, pp. 193-208.
- James K.J., Stack M.A., *Rapid determination of volatile organic compound in environmentally hazardous wastewaters using solid phase microextraction*, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **358**, **1997**, pp. 833-837.
- Jennison C., Jennison J., *The Determination of Phenols in Extracts from Environmental Matrices*, GC/MS Varian Application Note 14, **1999**.
- Kao P. C., Tzeng J. H., Huang T. L., *Removal of chlorophenols from aqueous solution by fly ash*, *J. Hazard. Mater.*, **76**, **2000**, pp. 237-249.

- Lee M., Yeh Y., Hsiang W., Hwang B., *Solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for determining chlorophenols from landfill leachates and soil*, J. Chromatogr. A, 806, 1998, pp. 317-324.
- Lee M., Yeh Y., Hsiang W., Chen C., *Application of solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for the determination of chlorophenols in urine*, J. Chromatogr. B, 707, 1998, pp. 91-97.
- Lin K. S., Wang H. P., *Supercritical Water Oxidation of 2-Chlorophenol Catalyzed by Cu^{2+} Cations and Copper Oxide Clusters*, Environ. Sci. Technol., 34, 2000, pp. 4849-4854.
- Li X., Cabbage J. W., Jens W. S., *Photocatalytic Degradation of 4-Chlorophenol. 2 The 4-Chlorocatechol Pathway*, J. Org. Chem., 64, 1999, pp. 8525-8536.
- Llompart M., Li K., Fingas M., *Solid-Phase Microextraction and Headspace Solid-Phase Microextraction for the Determination of Polychlorinated Biphenyls in Water Samples*, Anal. Chem., 70, 1996, pp. 2510-2515.
- Lopes M., *Aplicação de Geossintéticos em Engenharia – Apontamentos da Disciplina de Gestão e Tratamento de Resíduos Sólidos Perigosos do curso de Mestrado de Engenharia do Ambiente – FEUP*, 1998.
- Madgic S., Pawliszyn J., *Analysis of organochlorine pesticides using solid-phase microextraction*, J. Chromatogr. A, 723, 1996, pp. 111-122.
- McCreanor P.T., Reinhart D.R., *Mathematical Modeling and Validation of Leachate Recirculation Hydrodynamics*, University of Central Florida, 1995.
- McMaster M., McMaster C., *GC/MS – a practical user's guide*, Wiley-VCH, New York, 1998.
- Melin E. S., Puhakka J. A., Ferguson J. F., *Enrichment and operation strategies for polychlorophenol degrading microbial cultures in an aerobic fluidized-bed reactor*, Water Environm. Res., 70 2, 1998, pp. 171-180.
- Moder M., Shrader S., Franck U., Popp P., *Determination of phenolic compounds in waste water by solid-phase micro extraction*, Fresenius J. Anal. Chem., 358, 1997, pp. 326-332.
- Nagata Y., Nakagawa M., Okuno H., Mizukoshi Y., Yim B., Maeda Y., *Sonochemical degradation of chlorophenols in water*, Ultrason. Sonochem., 7, 2000, pp. 115-120.
- Nilsson T., Ferrari R., Facchetti S., *Inter-Laboratory studies for the validation of solid-phase microextraction for the quantitative analysis of volatile organic compounds in aqueous samples*, Anal. Chim. Acta, 356, 1997, pp. 113-123.
- Onuska F.I., Terry K.A., *Determination of Chlorinated Benzenes in Bottom Sediment Samples by WCOT Column Gas Chromatography*, Anal. Chem., 57, 1985, pp. 801-805.
- Page B.D., Lacroix G., *Application of solid-phase microextraction to the headspace gas chromatographic analysis of semi-volatile organochlorine contaminants in aqueous matrices*, J. Chromatogr. A, 757, 1997, pp. 173-182.

- Paschke A., Popp P., Shurmann G., *Water solubility and octanol/water partitioning of hydrophobic chlorinated organic substances determined by using SPME/GC*, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 360, 1998, pp. 52-57.
- Pawliszyn J., *Solid Phase Microextraction – theory and practice*, Wiley-VHC; New York, 1997.
- Penton Z., SPME Varian Application Note 11, *Determination of Phenols in Water with Automated SPME and Agitation*, 1998.
- Polcaro A. M., Palmas S., *Electrochemical Oxidation of Chlorophenols*, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 36, 1997, pp. 1791-1798.
- Potter D.W., Pawliszyn J., *Rapid Determination of Polyaromatic Hydrocarbons and Polychlorinated Biphenyls in Water Using Solid-Phase Microextraction and GC/MS*, *Environ. Sci. Technol.*, 28, 1994, pp. 298-305.
- Public Health Assessment, Waste Inc. Landfill Michigan City, La Porte, Indiana – Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2001.
(www.atdsr.cd.gov/HAC/PHA) ativo em março 2001
- Puma G. L., Yue P. L., *Photocatalytic Oxidation of chlorophenols in single-component and multicomponent systems*, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 38, 1999, pp. 3238-3245.
- Remediation Technologies Screening Matrix and Reference Guide, 2001.
(www.plaii.com/Matrix/section1/toc.html) ativo em março 2001
- Rijks J., Curvers J., Noy T., Cramers C., *Possibilities and limitation of steam distillation-extraction as a pre-concentration technique for trace analysis of organics by capillary gas chromatography*, *Chromsymp.*, 095, 1983, pp. 395-407.
- Ronen Z., Vasiluk L., Abeliovich A. and Nejdat A., *Activity and survival of tribromophenol-degrading bacteria in a contaminated desert soil*, *Soil Biol. Biochem.*, 32, 2000, pp. 1643-1650.
- Seidel V., Linder W., *Universal Sample Enrichment Technique for Organochlorine Pesticides in Environmental and Biological Samples Using a Redesigned Simultaneous Steam Distillation-Solvent Extraction Apparatus*, *Anal. Chem.*, 65, 1993, pp. 3677-3683.
- Shin H. S., Yoo K. S., Park J. K., *Removal of polychlorinated phenols in sequential anaerobic-aerobic biofilm reactors packed with tire chips*, *Water Environ. Res.*, 71 3, 1999, pp. 363-367.
- SRC – PhysProp Database, 2001.
(esc.syrres.com/interkow/webprop.exe) ativo em março 2001
- Sung M.T., Lee F.K., Lakso H.A., *Solid-phase microextraction of organophosphorus pesticides from water*, *J. Chromatogr. A*, 759, 1997, pp. 225-230.
- Supelco, Application Note 17, *Polyacrilate Film Fiber for Solid Phase Microextraction of Polar Semivolatiles from Water*, Bellefonte, 1996.

- Supelco, Application Note 56, *Fast Analysis of Volatile Organic Compounds by Solid Phase Microextraction/Capillary GC*, Bellefonte, 1995.
- Supelco, Application Note 58, *Fast Screening for Chlorinated Pesticides by Solid Phase Microextraction/Capillary GC*, Bellefonte, 1996.
- Supelco, Application Note 61, *Solid Phase Microextraction/Capillary GC: Rapid, Sensitive Detection of Gasoline in Fire Debris*, Bellefonte, 1996.
- Supelco, Application Note 62, *Monitor Organic Volatile Impurities (OVIs) in Pharmaceutical Products, Using Solid Phase Microextraction/Capillary GC*, Bellefonte, 1994.
- Supelco, Application Note 81, *Monitor BTEX Compounds and Fuels in Water, Using Solid Phase Microextraction and Capillary GC*, Bellefonte, 1995.
- Supelco, Application Note 83, *Fast Accurate Detection of Amphetamines in Urine, Using Solid Phase Microextraction/Capillary GC*, Bellefonte, 1997.
- Supelco, Application Note 84, *Identification of Tobacco Varieties, Using Solid Phase Microextraction/Capillary GC*, Bellefonte, 1995.
- Supelco, Application Note 94, *Solid Phase Microextraction of Organophosphate Insecticides and Analysis by Capillary GC/MS*, Bellefonte, 1996.
- Supelco, Application Note 95, *Optimizing SPME: Parameters to Control to Ensure Consistent Results*, Bellefonte, 1996.
- Supelco, Application Note 98, *SPME/HPLC Interface Combines Fast Sample Extraction with Efficient analysis for Explosives*, Bellefonte, 1996.
- Supelco, Application Note 99, *SPME/HPLC A Rapid and Sensitive Analysis of Polynuclear Aromatics Hydrocarbons in Water*, Bellefonte, 1995.
- Supelco, Application Note 106, *Analysis of Surfactant in Water by SPME/HPLC*, Bellefonte, 1996.
- Theurich J., Lindner M., Bahnemann D. W., *Photocatalytic Degradation of 4-Chlorophenol in Aerated Aqueous Titanium Dioxide Suspensions: A Kinetic and Mechanistic Study*, *Langmuir*, 12, 1996, pp. 6368-6376.
- Varian – Chromatography systems, *Saturn GC/MS Workstation - Tutorials*, Version 5.2, 1998.
- Yang Y., Miller D.J., Hawthorne S.B., *Solid-phase microextraction of polychlorinated biphenyls*, *J. Chromatogr. A*, 800, 1998, pp. 257-266.
- Zhang Z., Pawliszyn J., *Headspace Solid-Phase Microextraction*, *Anal. Chem.*, 65, 1993, pp. 1843-1852.

ANEXOS A

Espectros de massa / Cromatogramas

Nestes anexos, apresentam-se para cada clorofenol, a sua localização no **cromatograma iónico reconstruído (RIC)**. Esta localização é realizada por uma pequena bandeira no apex do pico de eluição do composto correspondente. Após esta selecção, o *software* do sistema de GC/MS fornece o **espectro de massa desse composto**, imediatamente a seguir o **espectro de massa de referência**, ou seja o mais semelhante que existe na sua base de dados e ainda o resultado da subtração dos dois espectros de massa referidos.

A apresentação destes dados é realizada da seguinte forma:

Espectro de massa obtido experimentalmente
Espectro de massa de referência que mais se assemelha ao espectro anterior (existe na base de dados)
Espectro obtido pela subtracção dos dois espectros anteriores
Parte do cromatograma iónico reconstruído, onde se encontra o composto seleccionado

Fenol

Tempo de retenção: 9,727 min.

Íão molecular: 94

Chromatogram Plot

File: d:\... \m24_8040_iso\directas\iso1_5\m24_iso_1)-(09-05-00)-[1]).sms

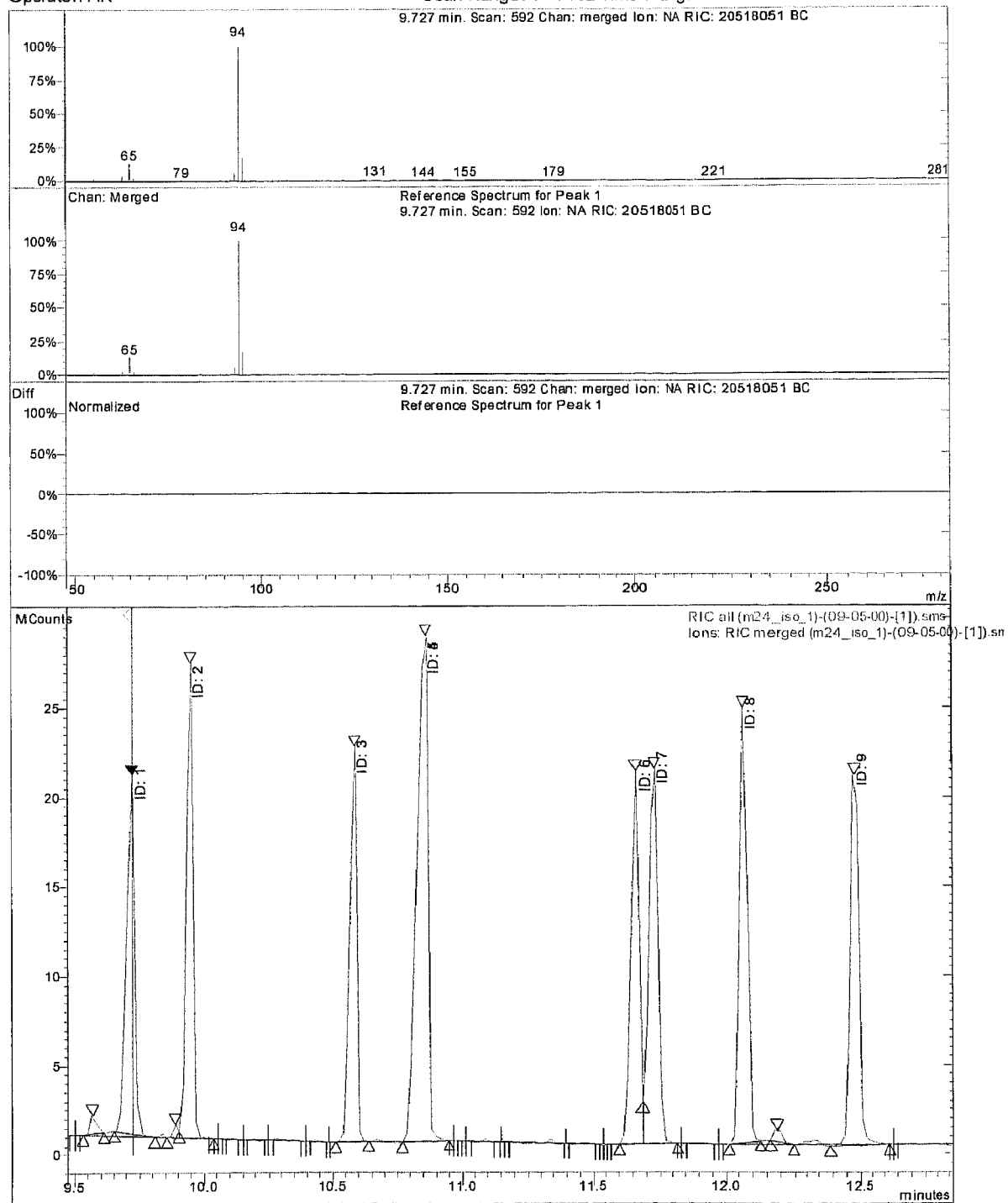
Sample: M24_iso_1

09/05/00 14:46

Sample Notes: m24 iso 50 ppm 1

Operator: AR

Scan Range: 1 - 1462 Time Range: 0.00 - 23.98 min.



2-clorofenol

Tempo de retenção: 9,955 min.

Ião molecular: 128

Chromatogram Plot

File: d:\... \m24_8040_isol\directas\iso1_5(m24_iso_1)-(09-05-00)-[1]).sms

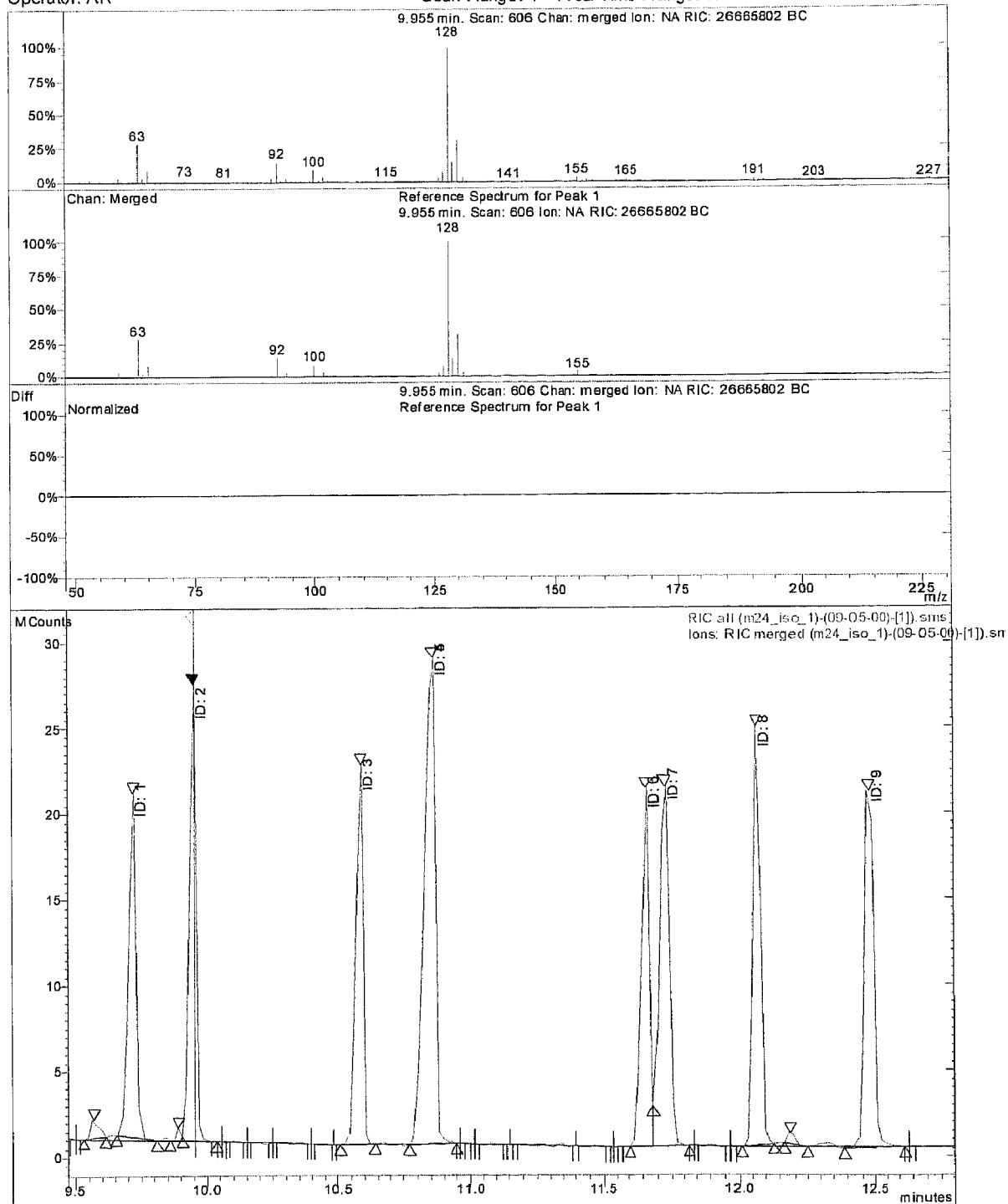
Sample: M24_iso_1

09/05/00 14:46

Sample Notes: m24 iso 50 ppm 1

Operator: AR

Scan Range: 1 - 1462 Time Range: 0.00 - 23.98 min.



2,4 – diclorofenol

Tempo de retenção: 12,066 min.
Íão molecular: 162

Chromatogram Plot

File: d:\... \m24_8040_iso\directas\iso1_5\m24_iso_1)-(09-05-00)-(1)).sms

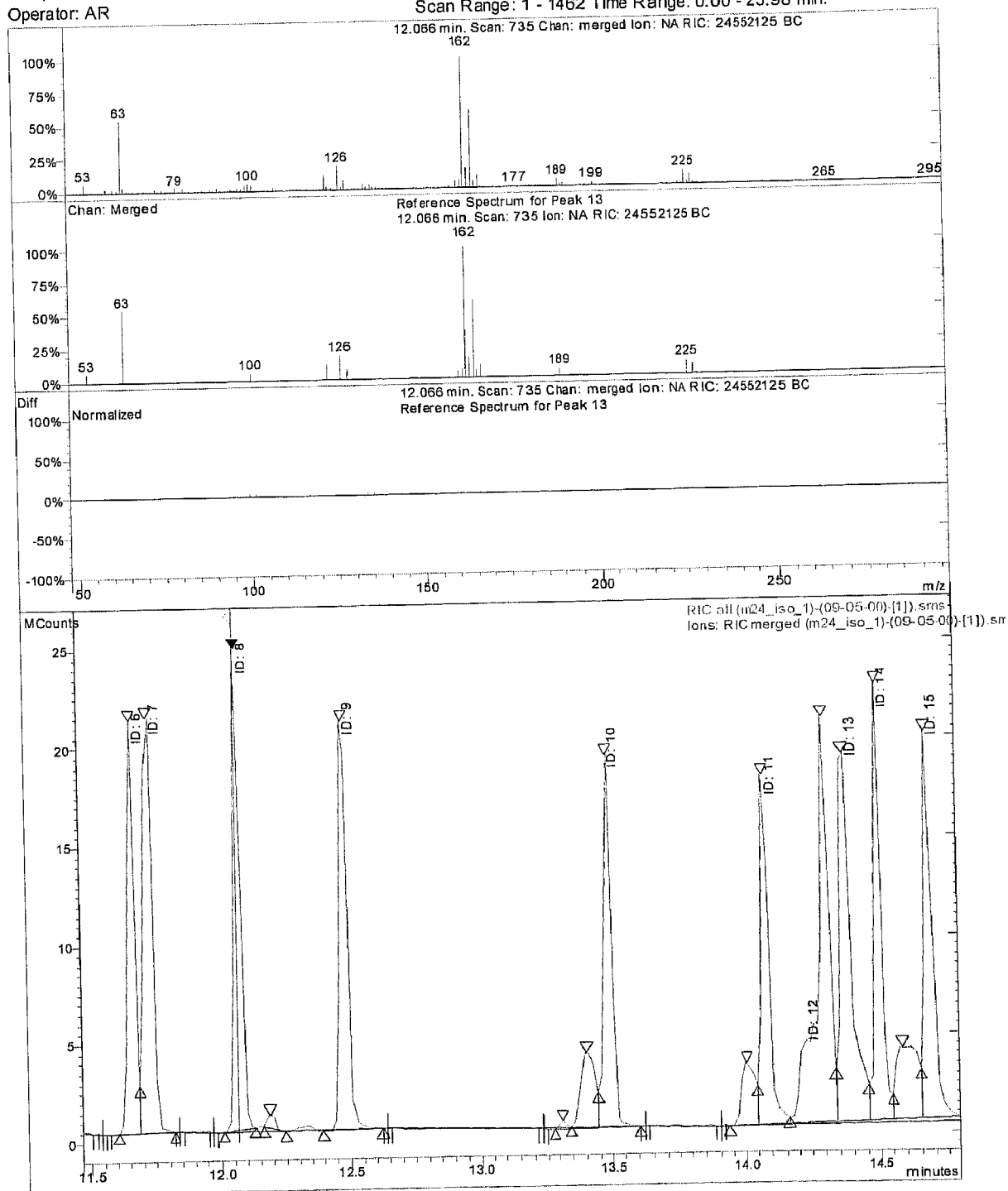
Sample: M24_iso_1

09/05/00 14:46

Sample Notes: m24 iso 50 ppm 1

Operator: AR

Scan Range: 1 - 1462 Time Range: 0.00 - 23.98 min.



2,6 – diclorofenol

Tempo de retenção: 12,475 min.

Ião molecular: 162

Chromatogram Plot

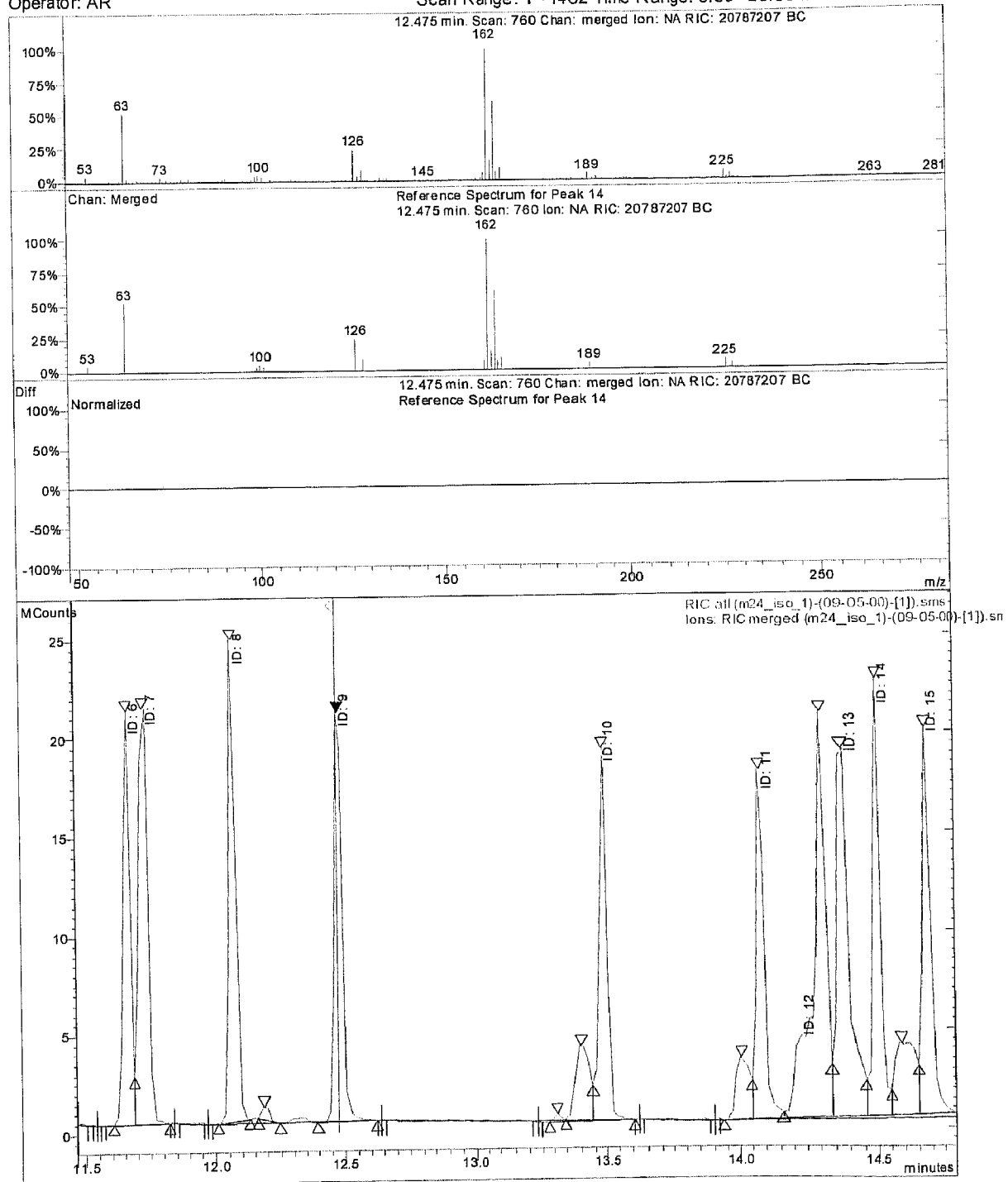
File: d:\... \m24_8040_iso\directas\iso1_5\m24_iso_1)-(09-05-00)-[1]).sms

Sample: M24_iso_1 09/05/00 14:46

Sample Notes: m24 iso 50 ppm 1

Operator: AR

Scan Range: 1 - 1462 Time Range: 0.00 - 23.98 min.



2,3,4 – triclórofenol

Tempo de retenção: 14,681 min.

Ião molecular: 196

Chromatogram Plot

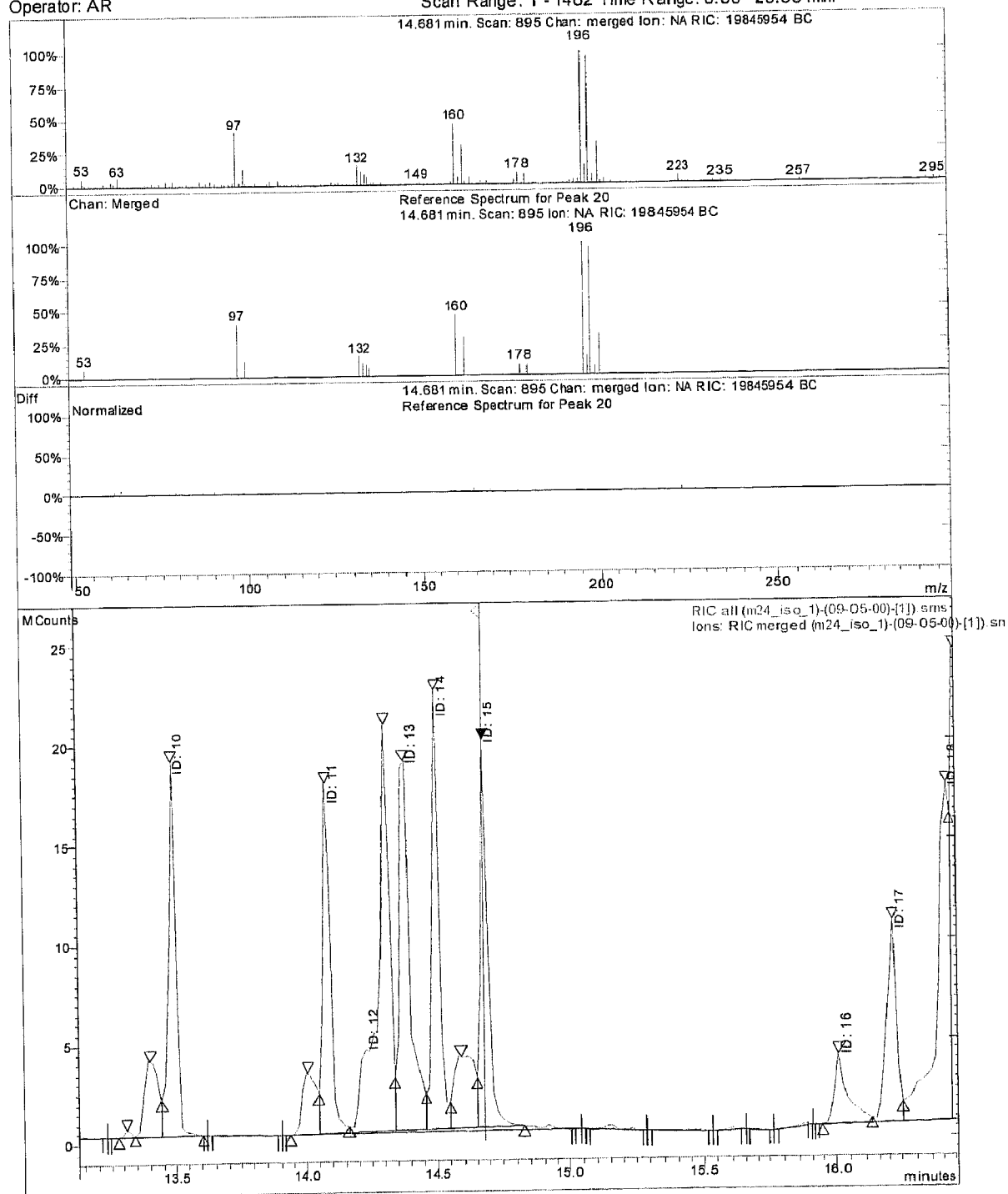
File: d:\... \m24_8040_iso\directas\iso1_5\m24_iso_1)-(09-05-00)-[1]).sms

Sample: M24_iso_1 09/05/00 14:46

Sample Notes: m24 iso 50 ppm 1

Operator: AR

Scan Range: 1 - 1462 Time Range: 0.00 - 23.98 min.



2,3,5 – trichlorofenol

Tempo de retenção: 14,080 min.

Ião molecular: 196

Chromatogram Plot

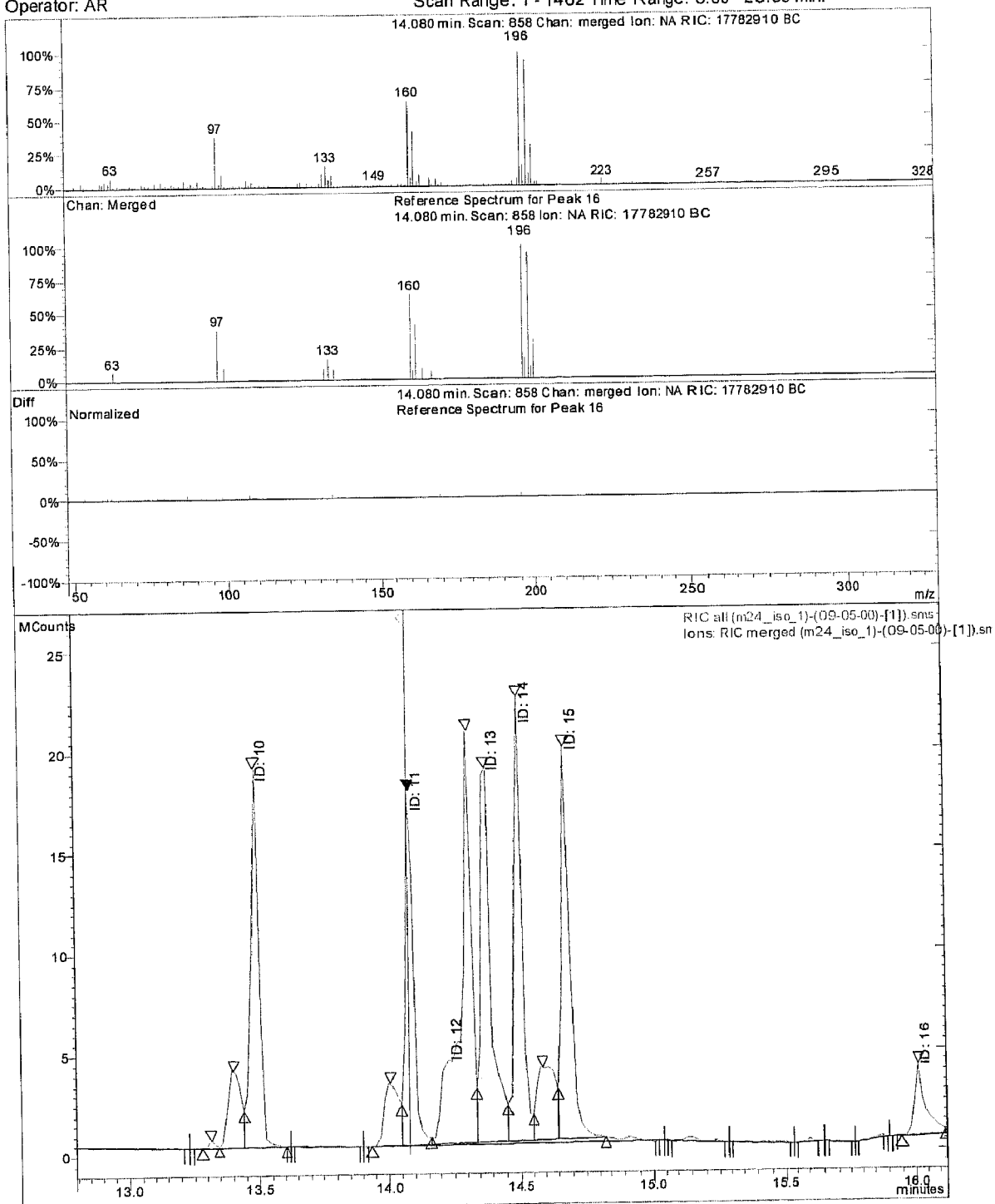
File: d:\... \m24_8040_iso\directas\iso1_5\m24_iso_1)-(09-05-00)-(1)).sms

Sample: M24_iso_1 09/05/00 14:46

Sample Notes: m24 iso 50 ppm 1

Operator: AR

Scan Range: 1 - 1462 Time Range: 0.00 - 23.98 min.



2,3,6 – triclórofenol

Tempo de retenção: 14,502 min.
Íão molecular: 196

Chromatogram Plot

File: d:\... \m24_8040_isol\directas\iso1_5(m24_iso_1)-(09-05-00)-(1)).sms

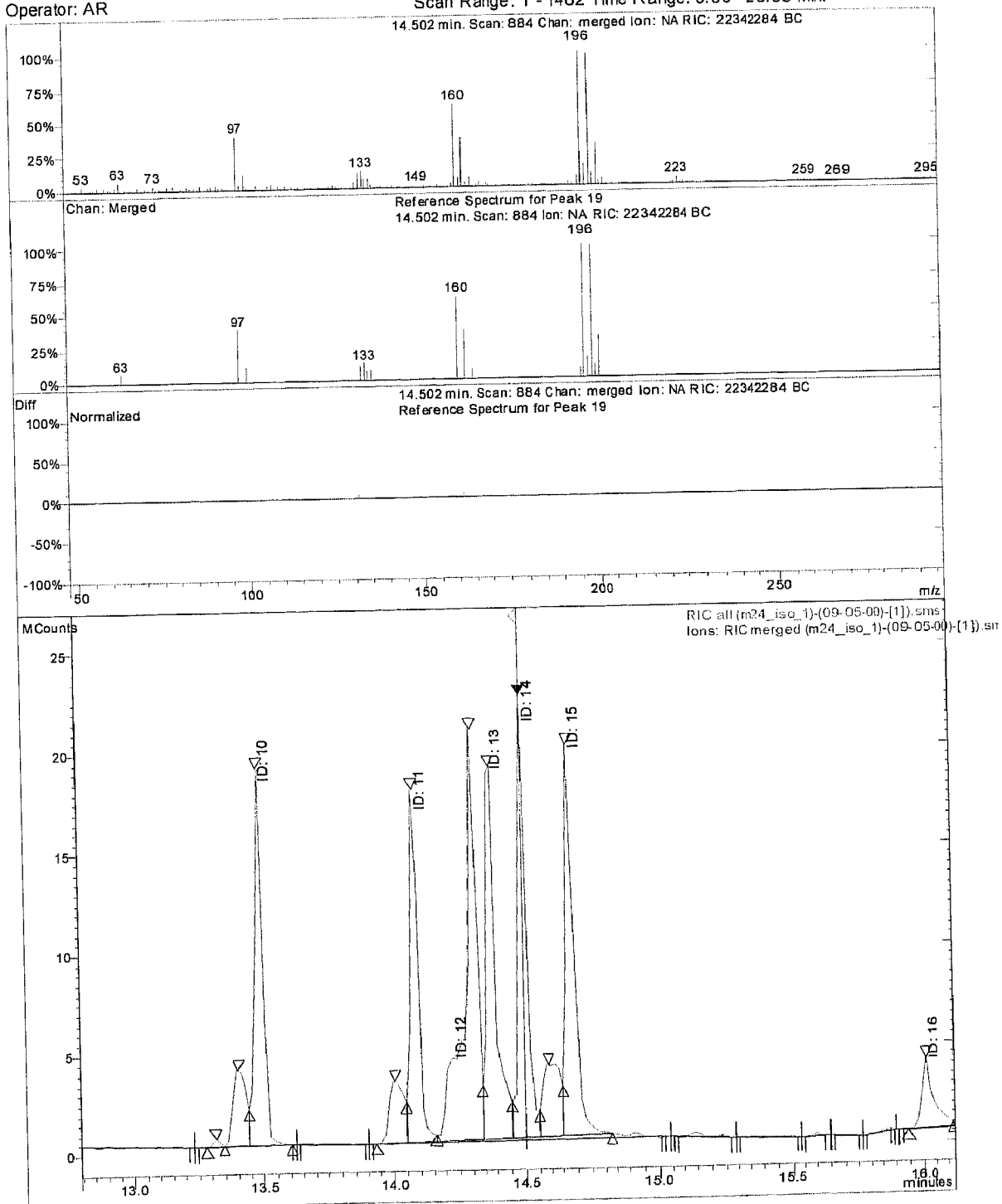
Sample: M24_iso_1

09/05/00 14:46

Sample Notes: m24 iso 50 ppm 1

Operator: AR

Scan Range: 1 - 1462 Time Range: 0.00 - 23.98 min.



2,4,5 – triclórofenol

Tempo de retenção: 14,389 min.

Ião molecular: 196

Chromatogram Plot

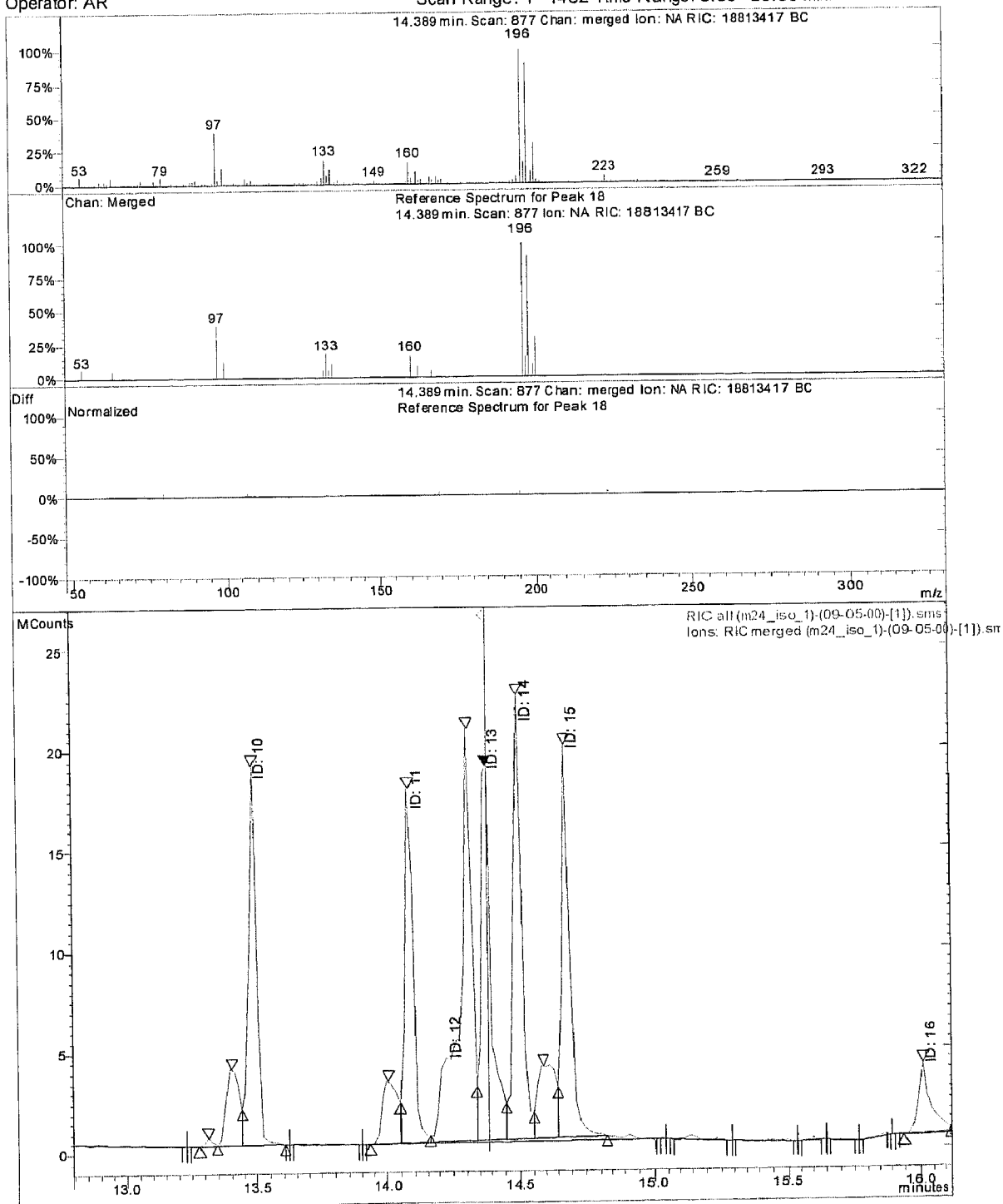
File: d:\... \m24_8040_iso\directas\iso1_5\m24_iso_1)-(09-05-00)-[1]).sms

Sample: M24_iso_1 09/05/00 14:46

Sample Notes: m24 iso 50 ppm 1

Operator: AR

Scan Range: 1 - 1462 Time Range: 0.00 - 23.98 min.



2,4,6 – trichlorofenol

Tempo de retenção: 14,308 min.

Íon molecular: 196

Chromatogram Plot

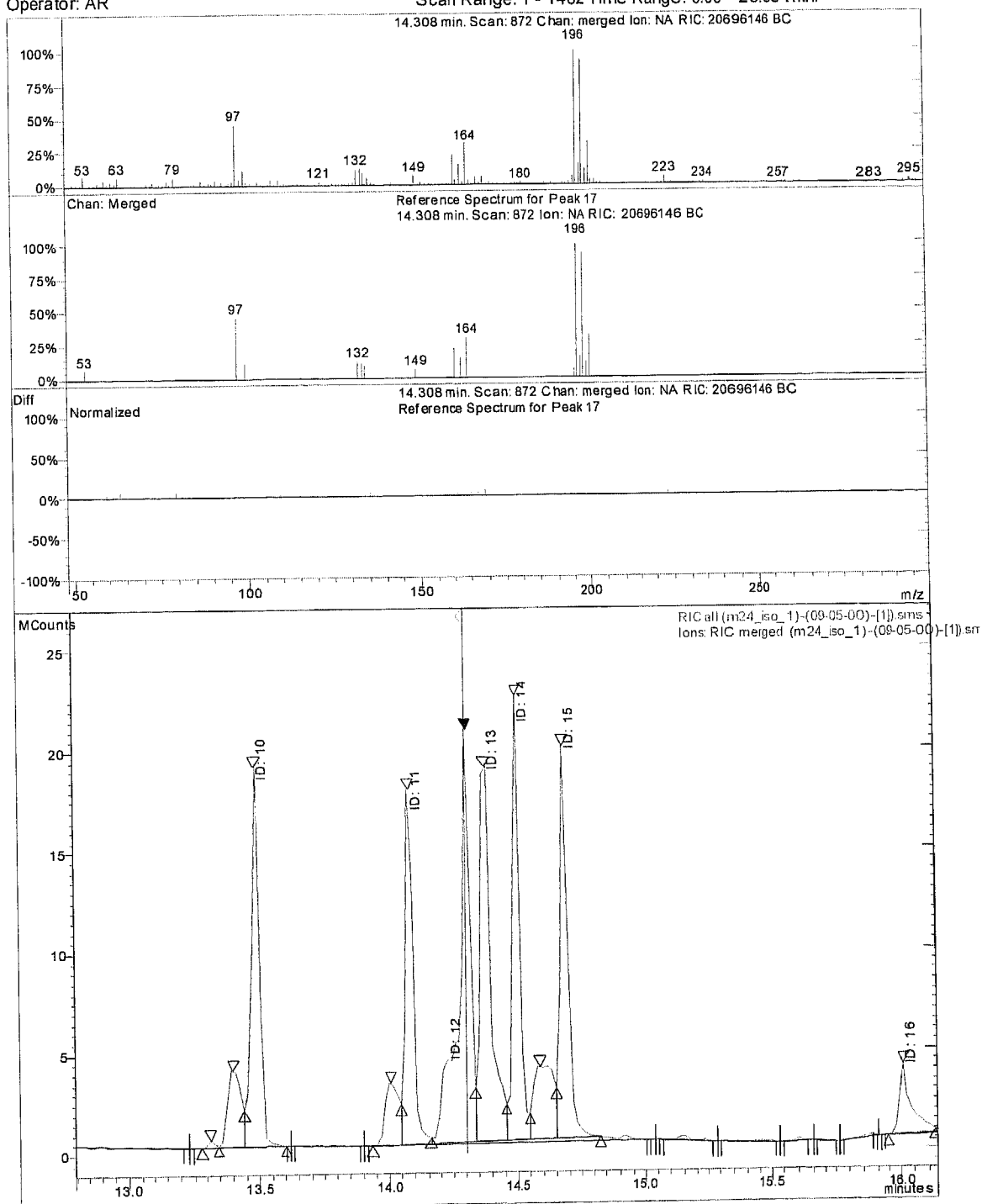
File: d:\... \m24_8040_isol\directas\iso1_5\m24_iso_1)-(09-05-00)-[1]).sms

Sample: M24_iso_1 09/05/00 14:46

Sample Notes: m24 iso 50 ppm 1

Operator: AR

Scan Range: 1 - 1462 Time Range: 0.00 - 23.98 min.



2,3,4,5 – tetraclorofenol

Tempo de retenção: 16,416 min.

Ião molecular: 232

Chromatogram Plot

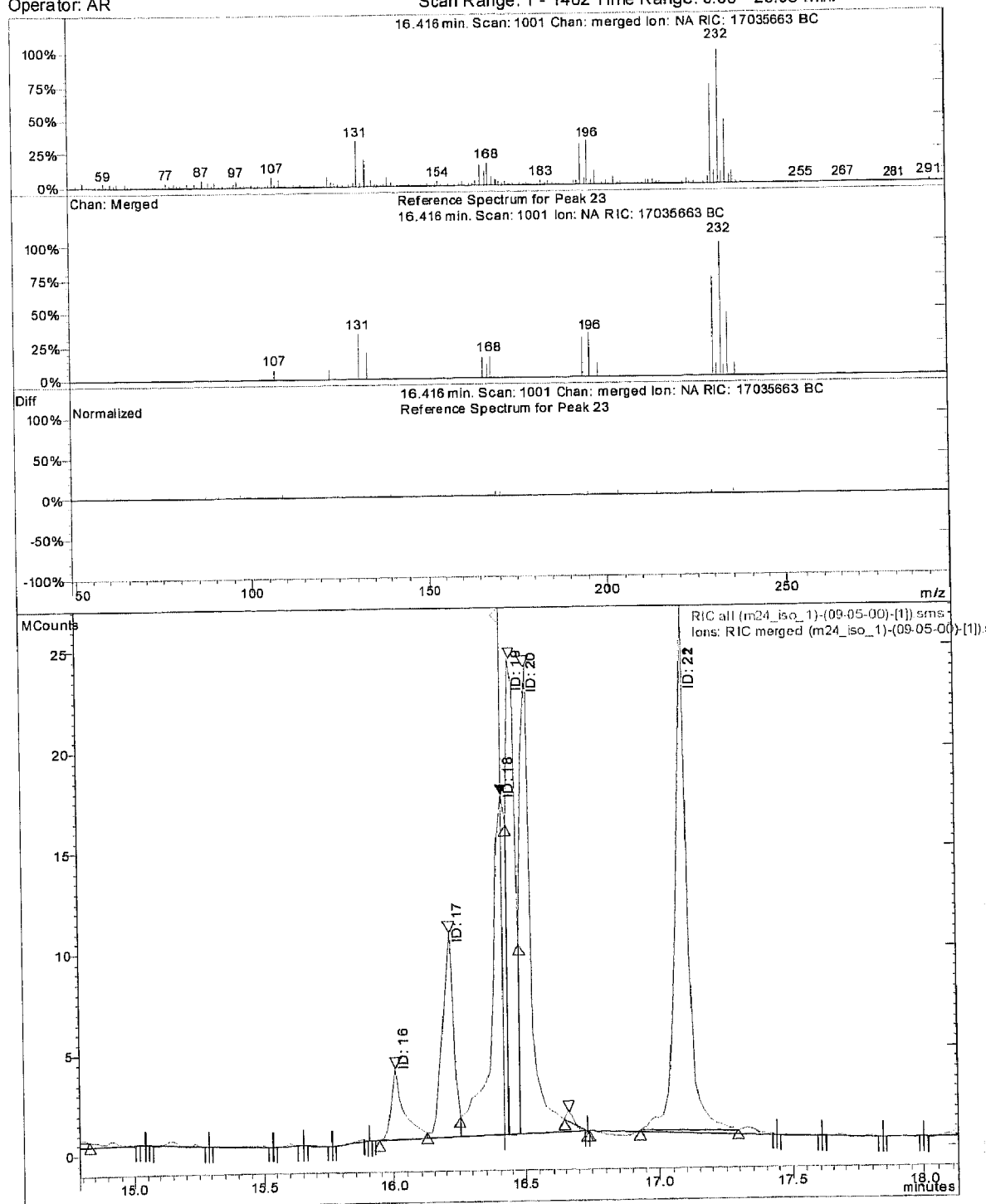
File: d:\... \m24_8040_iso\directas\iso1_5\m24_iso_1)-(09-05-00)-[1]).sms

Sample: M24_iso_1 09/05/00 14:46

Sample Notes: m24 iso 50 ppm 1

Operator: AR

Scan Range: 1 - 1462 Time Range: 0.00 - 23.98 min.



2,3,4,6 – tetrachlorofenol

Tempo de retenção: 16,448 min.

Ião molecular: 232

Chromatogram Plot

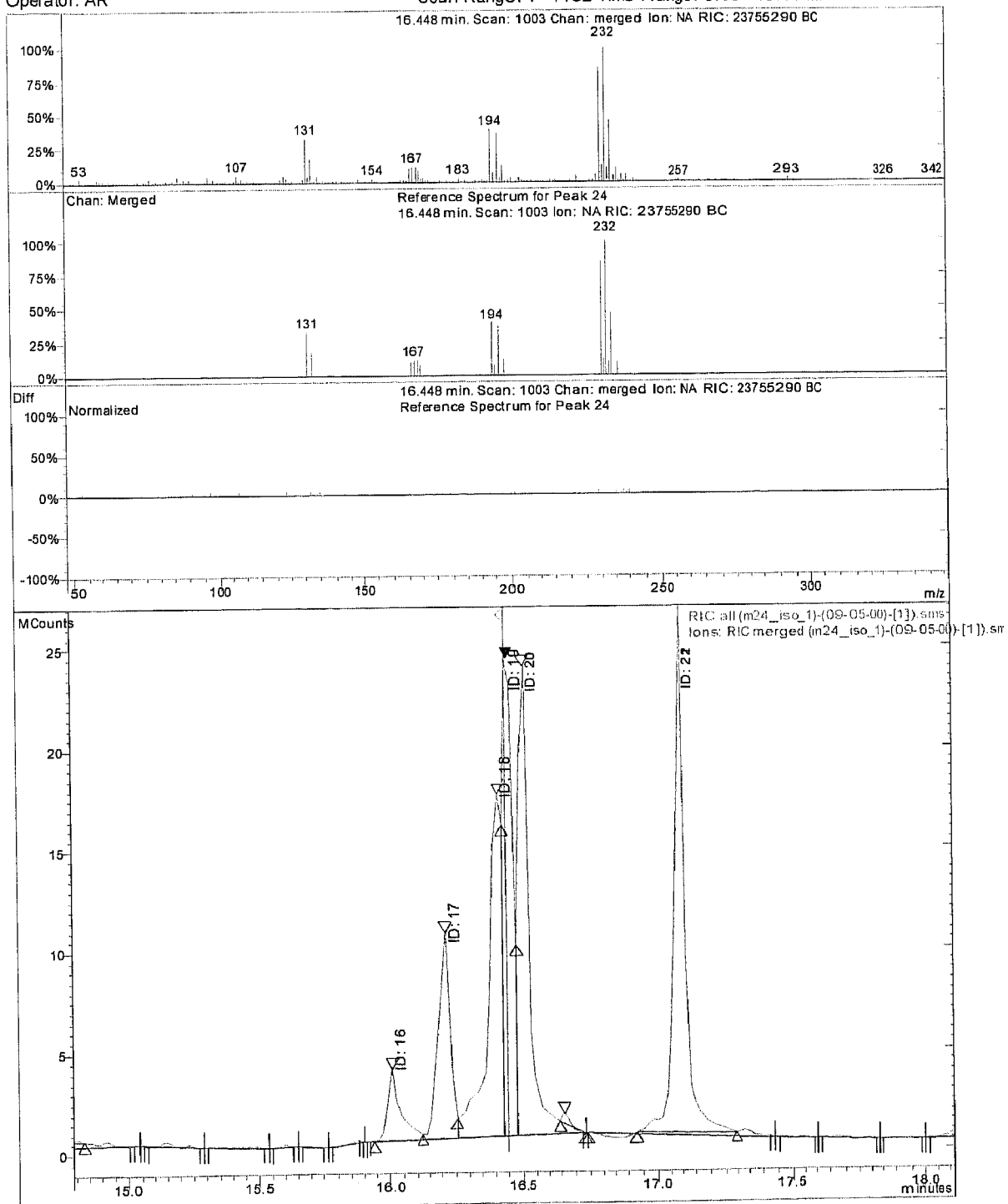
File: d:\... \m24_8040_isoldirectas\iso1_5\m24_iso_1)-(09-05-00)-[1]).sms

Sample: M24_iso_1 09/05/00 14:46

Sample Notes: m24 iso 50 ppm 1

Operator: AR

Scan Range: 1 - 1462 Time Range: 0.00 - 23.98 min.



2,3,5,6 – tetrachlorofenol

Tempo de retenção: 16,513 min.

Ião molecular: 232

Chromatogram Plot

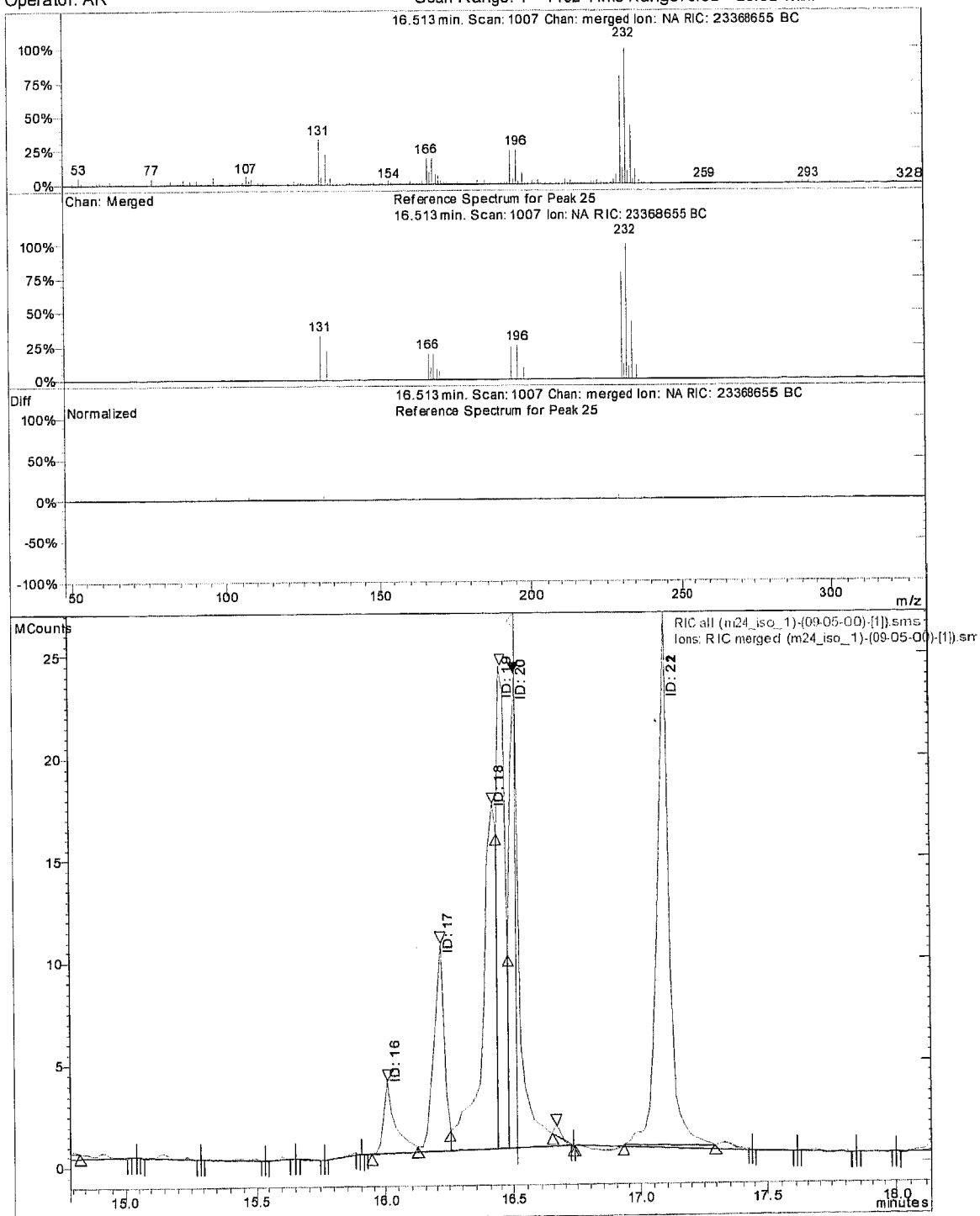
File: d:\... \m24_8040_isoldirectas\iso1_5\m24_iso_1)-(09-05-00)-[1].sms

Sample: M24_iso_1 09/05/00 14:46

Sample Notes: m24 iso 50 ppm 1

Operator: AR

Scan Range: 1 - 1462 Time Range: 0.00 - 23.98 min.



pentaclorofenol

Tempo de retenção: 18,425 min.
Íão molecular: 266

Chromatogram Plot

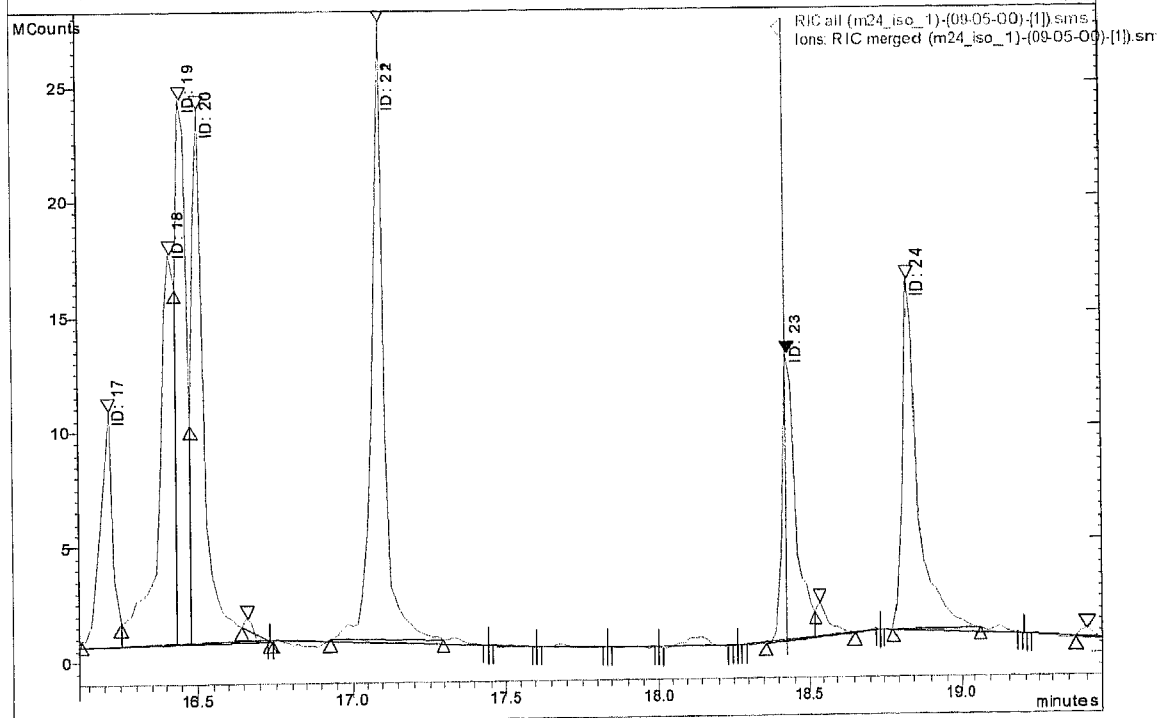
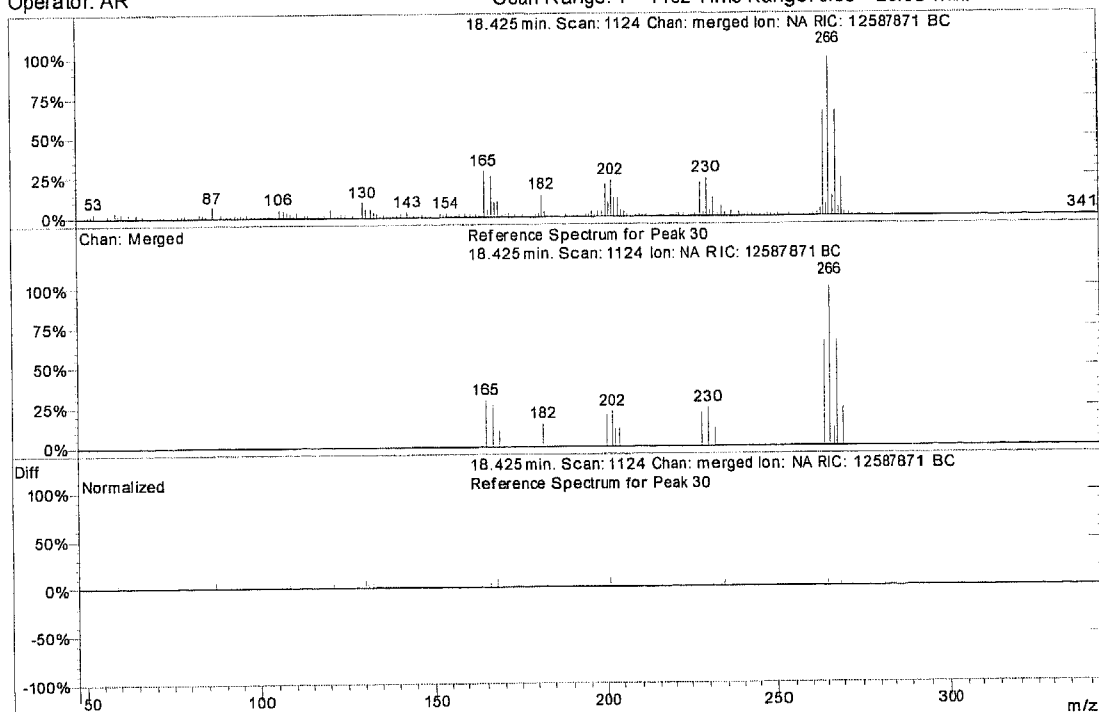
File: d:\... \m24_8040_isoldirectas\iso1_5\m24_iso_1)-(09-05-00)-(1)).sms

Sample: M24_iso_1 09/05/00 14:46

Sample Notes: m24 iso 50 ppm 1

Operator: AR

Scan Range: 1 - 1462 Time Range: 0.00 - 23.98 min.



ANEXOS B

Tabelas

Tabela B1 – Reprodutibilidades médias, associadas às injecções da mistura padrão em isopropanol (injecções sem extracção), em cada nível de concentração (seccção 4.3-tabela 10)

Composto	Nível de concentração (mg/L)						C.V. (%)
	0,2	1	5	10	25	50	médio
<i>Fenol</i>	20,0	4,0	1,0	11,0	12,0	10,8	9,8
<i>2CP</i>	18,2	6,5	5,0	7,2	4,8	7,9	8,2
<i>24DCP</i>	---	6,0	1,2	17,3	7,7	13,7	9,1
<i>26DCP</i>	15,2	5,5	3,3	11,3	15,5	11,0	10,2
<i>235TCP</i>	---	27,6	0,9	9,2	7,1	15,7	12,1
<i>246TCP</i>	---	16,5	3,3	6,3	6,3	28,8	12,2
<i>245TCP</i>	---	---	1,1	9,4	7,1	11,2	7,2
<i>236TCP</i>	---	13,6	1,0	3,9	4,1	10,3	6,5
<i>234TCP</i>	---	9,5	16,5	7,2	17,6	10,6	12,1
<i>2346TeCP</i>	---	29,8	5,6	40,3	1,5	57,0	17,5
<i>2345TeCP</i>	5,8	7,7	53,3	37,3	61,6	24,0	31,6
<i>2356TeCP</i>	---	---	---	0,2	0,1	16,6	5,6
<i>345TCP</i>	---	11,4	11,4	29,9	0,4	10,1	12,6
<i>PCP</i>	---	3,1	8,6	5,7	4,7	10,0	6,4

Tabela B2 – Reprodutibilidades médias, associadas às extracções da mistura padrão em água, em cada nível de concentração (seccção 4.5-tabela 11)

Composto	Nível de concentrações (µg/L)								C.V. (%)
	0,1	1	5	10	25	50	100	200	médio
<i>Fenol</i>	---	---	---	---	---	7,0	16,1	55,0	26,0
<i>2CP</i>	---	---	60,9	15,1	9,6	13,4	36,3	17,9	25,5
<i>24DCP</i>	---	14,9	38,5	23,3	13,0	5,2	31,0	33,7	22,8
<i>26DCP</i>	---	24,7	42,0	7,9	12,0	3,6	30,2	16,1	19,5
<i>235TCP</i>	---	22,1	19,5	20,0	9,5	4,9	39,1	12,9	18,2
<i>246TCP</i>	---	28,4	24,0	17,8	5,7	4,9	33,0	23,6	19,6
<i>245TCP</i>	---	---	13,6	10,7	12,5	4,2	46,6	23,6	18,5
<i>236TCP</i>	---	---	38,9	41,3	11,6	0,4	46,1	28,5	27,8
<i>234TCP</i>	---	---	28,8	72,2	5,6	4,5	54,7	---	33,1
<i>2346TeCP</i>	---	---	---	---	23,1	1,8	42,6	58,6	31,5
<i>2345TeCP</i>	96,2	54,5	19,9	46,0	56,5	60,5	---	---	55,6
<i>2356TeCP</i>	---	---	2,3	---	---	26,2	47,7	58,6	33,7
<i>345TCP</i>	---	---	13,9	15,8	28,3	23,5	52,5	60,3	32,3
<i>PCP</i>	71,0	71,0	125,8	---	27,2	26,6	33,4	33,1	55,4

Tabela B3 – Resultados de eficiências de extracção (em %) por SPME da mistura padrão. (secção 4.5 – tabela 12)

Composto	Concentração (µg/L)										médias	
	50	20	15	10	7,5	5	2,5	1	0,5	0,25	Eficiência	C.V. (%)
<i>Fenol</i>	14,1	13,4	9,6	17,8	5,0	17,4	8,5	---	---	---	12,2	14,7
<i>2CP</i>	0,7	0,5	0,0	1,1	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,31	43,4
<i>24DCP</i>	31,3	41,5	22,6	35,1	20,2	43,4	19,5	36,7	25,8	68,8	34,5	13,5
<i>26DCP</i>	30,1	35,1	21,5	34,5	14,8	38,0	18,8	34,0	24,5	28,4	27,9	8,8
<i>235TCP</i>	36,3	48,3	28,0	41,2	36,3	58,8	21,7	40,3	37,2	40,0	38,8	8,2
<i>246TCP</i>	38,5	44,9	28,7	34,1	30,0	56,9	15,3	39,4	36,3	0,0	32,4	15,3
<i>245TCP</i>	33,4	43,9	26,3	38,8	35,8	52,0	18,6	35,1	43,9	43,9	37,1	8,2
<i>236TCP</i>	33,5	43,5	26,5	37,1	33,9	50,6	20,0	34,3	37,8	0,0	31,7	13,8
<i>234TCP</i>	34,8	44,2	20,0	30,7	27,5	41,2	15,9	28,5	26,9	39,0	30,8	9,2
<i>2346TeCP</i>	38,4	51,5	26,8	84,4	62,9	54,3	22,1	44,7	---	---	48,1	14,7
<i>2345TeCP</i>	31,0	41,8	11,0	33,6	29,6	49,8	8,6	16,9	20,8	0,0	24,3	20,3
<i>2356TeCP</i>	0,4	0,0	44,0	0,0	41,3	0,0	119,5	0,0	0,0	0,0	20,5	60,1
<i>345TCP</i>	18,9	27,4	20,1	25,2	31,0	36,5	12,4	20,8	235,8	0,0	42,8	50,6
<i>PCP</i>	29,4	49,0	10,3	28,5	18,9	46,8	6,8	38,8	0,0	0,0	22,8	25,5

Tabela B4 – Efeito de matriz traduzido nas recuperações obtidos na extracção de clorofenóis em lixiviados.

Composto	Nível de concentração (µg/L)										média
	200	100	50	20	15	10	7,5	5	2,5	1	
<i>Fenol</i>	111,3	81,2	79,2	---	---	---	---	---	---	---	90,5
<i>2CP</i>	85,9	76,9	65,5	81,2	---	66,9	---	---	19,2	---	65,9
<i>24DCP</i>	77,6	88,6	61,7	43,6	24,9	72,4	32,7	---	13,7	57,8	52,5
<i>26DCP</i>	66,6	77,7	65,6	59,5	65,6	74,4	60,9	42,6	---	58,1	63,4
<i>235TCP</i>	65,2	85,8	52,4	47,3	66,8	63,5	23,7	38,6	7,2	46,3	49,6
<i>246TCP</i>	60,3	87,1	41,7	55,1	41,0	67,2	15,7	29,2	7,2	60,3	46,4
<i>245TCP</i>	57,1	85,0	52,0	50,6	32,1	64,1	23,5	37,0	11,4	81,0	49,3
<i>236TCP</i>	68,5	77,6	48,1	48,3	42,4	83,0	24,3	15,0	7,7	49,3	53,6
<i>234TCP</i>	60,7	61,4	13,0	51,6	48,3	81,0	23,4	56,2	12,8	75,5	48,3
<i>2346TeCP</i>	57,2	119,5	79,4	70,3	---	28,0	11,0	34,0	11,2	---	51,3
<i>2345TeCP</i>	51,1	58,5	36,0	18,4	33,1	---	12,6	16,3	12,5	---	29,8
<i>2356TeCP</i>	---	---	---	---	76,5	---	57,6	---	---	---	67,0
<i>345TCP</i>	57,0	88,3	60,8	56,7	21,4	35,8	14,5	32,9	---	---	45,9
<i>PCP</i>	24,8	38,5	29,1	18,5	95,7	71,1	---	11,5	---	---	41,3



Tabela B3 – Resultados de eficiências de extracção (em %) por SPME da mistura padrão. (secção 4.5 – tabela 12)

Composto	Concentração (µg/L)										médias	
	50	20	15	10	7,5	5	2,5	1	0,5	0,25	Eficiênci	CV. (%)
<i>Fenol</i>	14,1	13,4	9,6	17,8	5,0	17,4	8,5	---	---	---	12,2	14,7
<i>2CP</i>	0,7	0,5	0,0	1,1	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,31	43,4
<i>24DCP</i>	31,3	41,5	22,6	35,1	20,2	43,4	19,5	36,7	25,8	68,8	34,5	13,5
<i>26DCP</i>	30,1	35,1	21,5	34,5	14,8	38,0	18,8	34,0	24,5	28,4	27,9	8,8
<i>235TCP</i>	36,3	48,3	28,0	41,2	36,3	58,8	21,7	40,3	37,2	40,0	38,8	8,2
<i>246TCP</i>	38,5	44,9	28,7	34,1	30,0	56,9	15,3	39,4	36,3	0,0	32,4	15,3
<i>245TCP</i>	33,4	43,9	26,3	38,8	35,8	52,0	18,6	35,1	43,9	43,9	37,1	8,2
<i>236TCP</i>	33,5	43,5	26,5	37,1	33,9	50,6	20,0	34,3	37,8	0,0	31,7	13,8
<i>234TCP</i>	34,8	44,2	20,0	30,7	27,5	41,2	15,9	28,5	26,9	39,0	30,8	9,2
<i>2346TeCP</i>	38,4	51,5	26,8	84,4	62,9	54,3	22,1	44,7	---	---	48,1	14,7
<i>2345TeCP</i>	31,0	41,8	11,0	33,6	29,6	49,8	8,6	16,9	20,8	0,0	24,3	20,3
<i>2356TeCP</i>	0,4	0,0	44,0	0,0	41,3	0,0	119,5	0,0	0,0	0,0	20,5	60,1
<i>345TCP</i>	18,9	27,4	20,1	25,2	31,0	36,5	12,4	20,8	235,8	0,0	42,8	50,6
<i>PCP</i>	29,4	49,0	10,3	28,5	18,9	46,8	6,8	38,8	0,0	0,0	22,8	25,5

Tabela B4 – Efeito de matriz traduzido nas recuperações obtidos na extracção de clorofenóis em lixiviados.

Composto	Nível de concentração (µg/L)										média
	200	100	50	20	15	10	7,5	5	2,5	1	
<i>Fenol</i>	111,3	81,2	79,2	---	---	---	---	---	---	---	90,5
<i>2CP</i>	85,9	76,9	65,5	81,2	---	66,9	---	---	19,2	---	65,9
<i>24DCP</i>	77,6	88,6	61,7	43,6	24,9	72,4	32,7	---	13,7	57,8	52,5
<i>26DCP</i>	66,6	77,7	65,6	59,5	65,6	74,4	60,9	42,6	---	58,1	63,4
<i>235TCP</i>	65,2	85,8	52,4	47,3	66,8	63,5	23,7	38,6	7,2	46,3	49,6
<i>246TCP</i>	60,3	87,1	41,7	55,1	41,0	67,2	15,7	29,2	7,2	60,3	46,4
<i>245TCP</i>	57,1	85,0	52,0	50,6	32,1	64,1	23,5	37,0	11,4	81,0	49,3
<i>236TCP</i>	68,5	77,6	48,1	48,3	42,4	83,0	24,3	15,0	7,7	49,3	53,6
<i>234TCP</i>	60,7	61,4	13,0	51,6	48,3	81,0	23,4	56,2	12,8	75,5	48,3
<i>2346TeCP</i>	57,2	119,5	79,4	70,3	---	28,0	11,0	34,0	11,2	---	51,3
<i>2345TeCP</i>	51,1	58,5	36,0	18,4	33,1	---	12,6	16,3	12,5	---	29,8
<i>2356TeCP</i>	---	---	---	---	76,5	---	57,6	---	---	---	67,0
<i>345TCP</i>	57,0	88,3	60,8	56,7	21,4	35,8	14,5	32,9	---	---	45,9
<i>PCP</i>	24,8	38,5	29,1	18,5	95,7	71,1	---	11,5	---	---	41,3

