

I-354 – DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO ANALÍTICO PARA A DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS BTEX EM AMOSTRAS AQUOSAS UTILIZANDO EXTRAÇÃO POR *HEADSPACE* (HS)

Patrícia Marques Carneiro

Tecnóloga em Processos Químicos pelo Instituto Federal do Ceará (UFC). Mestre em Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Doutoranda em Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC).

Paulo Igor Milen Firmino

Engenheiro Civil pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Mestre em Saneamento Ambiental pela UFC. Doutorando em Saneamento Ambiental pela UFC.

Mayara Carantino Costa

Engenheira Civil pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Mestre em Saneamento Ambiental pela UFC. Doutora em Saneamento Ambiental pela UFC. Pesquisadora pós-doc (Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental - UFC).

Alexandre Colzi Lopes

Engenheiro Civil pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Mestre em Engenharia Hidráulica e Saneamento pela Universidade de São Paulo. Doutor em Engenharia Química e Tecnologia do Meio ambiente pela Universidad de Valladolid. Pesquisador pós-doc (Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental - UFC).

André Bezerra dos Santos⁽¹⁾

Engenheiro Civil pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Mestre em Saneamento Ambiental pela UFC. Doutor em Saneamento Ambiental pela Wageningen University. Professor Adjunto IV do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental na UFC.

Endereço⁽¹⁾: Avenida Mister Hull S/N - Campus do Pici - Bloco 713 - Pici.- Fortaleza – Ceará – CEP: 60455-900 – Brasil - Tel: (85) 3366-9490 - e-mail: andre23@ufc.br

RESUMO

O objetivo deste estudo foi otimizar e validar um método analítico para determinação e quantificação de BTEX em águas e efluentes, utilizando a extração por *headspace*, seguido por cromatografia gasosa com detector de fotoionização. Os parâmetros de extração otimizados, empregando delineamento composto central rotacional, foram: salinidade, volume da amostra, tempo de incubação e temperatura de extração. Os resultados obtidos revelaram que o volume da amostra foi o parâmetro com maior influência sobre o processo de extração, enquanto o efeito da salinidade foi insignificante, indicando a aplicabilidade do método proposto na análise de águas com diferentes salinidades. Por fim, o método estudado apresentou-se bastante seletivo e, com as condições de extração ótimas (15 mL volume de amostra de 15 min de tempo de incubação e temperatura de 70°C), apresentou boa repetibilidade (<4%), linearidade ($r > 0,999$ para cada composto) e sensibilidade, haja vista os baixos limites de detecção (0,13-0,48 µg/ L) e quantificação (0,43-1,61 µg/ L) obtidos.

PALAVRAS-CHAVE: BTEX, *Headspace*, Otimização, Validação, Cromatografia gasosa.

INTRODUÇÃO

Benzeno, tolueno, etilbenzeno e os isômeros de xileno (BTEX) são os hidrocarbonetos monoaromáticos que agregam maior risco ao meio ambiente e à saúde humana. Mesmo quando presente em baixas concentrações, em águas contaminadas, esses compostos podem causar uma série de danos, haja vista que são compostos tóxicos potencialmente carcinogênicos e possuem elevada mobilidade em água, podendo alcançar grandes volumes de contaminação (CERVANTES *et al.*, 2011; HELENO *et al.*, 2010; SARAFAZ-YAZDI, VATANI, 2013). Esses compostos são frequentemente encontrados no ambiente como resultado de vazamentos dos tanques de armazenamento subterrâneo de combustíveis, má disposição de efluentes, derrames acidentais e lixiviação dos aterros (TRIGUEROS *et al.*, 2010).

A determinação e quantificação dos BTEX de matrizes ambientais aquosas requerem técnicas analíticas precisas e exatas, tais como a cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama (FID) e por fotoionização (PID), haja vista que consegue manter grande eficiência na separação, identificação e quantificação dessas espécies químicas (CAVALCANTI *et al.*, 2010; DEMEESTERE *et al.*, 2007; GOBATO, LANÇAS, 2001). Entretanto, os compostos em estudo se apresentam geralmente em baixas concentrações (em ng/L ou µg/L), necessitando de um processo de pré-concentração, como: análise por *headspace* (HS) e micro-extração em fase sólida (MEFS) (ES'HAGHIA, EBRAHIMIB, HOSSEINIB, 2011; HELENO *et al.*, 2010).

Portanto, devido às características voláteis dos BTEX, a técnica de extração por *headspace* aliado a sua determinação por cromatografia gasosa (HS-CG) tem se mostrado bastante eficiente, obtendo vantagens como boa repetibilidade, simples instrumentação e elevadas recuperações (MENÉNDEZ *et al.*, 2000; SAFAROVA *et al.*, 2004). A fim de aumentar a sensibilidade das análises e melhorar a extração dos analitos em estudo, técnicas estatísticas envolvendo o planejamento fatorial multivariado vêm sendo utilizadas na otimização dos processos de extração (FERREIRA *et al.*, 2007; GAUJAC *et al.*, 2008), bem como a validação das metodologias de análise (CAVALCANTI *et al.*, 2010), visando a confiabilidade dos dados amostrais, também têm sido práticas constantes.

Assim, o objetivo deste estudo foi desenvolver e validar um método analítico para determinação e quantificação de compostos BTEX em amostras aquosas, utilizando a extração por *headspace* seguida por cromatografia gasosa acoplada com detecção por fotoionização (HS-GC-PID). Além disso, o processo de extração foi otimizado utilizando planejamento fatorial multivariado, por meio do delineamento composto central rotacional (DCCR) e o método analítico foi validado, a fim de garantir que este forneça informações confiáveis com relação às amostras em estudo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Otimização das condições de extração BTEX

As soluções padrão de BTEX utilizadas nas análises cromatográficas eram sempre preparadas imediatamente antes do uso, em água ultrapura (sistema - Milli-Q), a partir da diluição de uma solução metanólica estoque de 1000 mg.L⁻¹ de BTEX. Em todas as determinações de BTEX, os padrões eram preparados diretamente em vials para *headspace* (20 mL) de vidro borossilicato, previamente lavados em banho ultrassônico, e lacrados imediatamente, após a adição dos padrões, com septos de PTFE/silicone e lacres de alumínio, evitando a volatilização dos compostos em estudo.

Visando otimizar as condições de extração dos compostos por *headspace* e, por conseguinte, aumentar a sensibilidade das análises cromatográficas, utilizou-se um modelo fatorial completo 24 (quatro fatores e dois níveis), com oito pontos axiais e triplicata no ponto central, resultando num total de 27 experimentos, os quais foram realizados de forma aleatória. Os parâmetros otimizados foram: salinidade, para avaliar o efeito da força iônica (variando de 0 a 2 g.L⁻¹ de NaCl), o volume de amostra dentro do frasco *headspace* (5 a 15 mL), o tempo de incubação (5 a 25 minutos) e temperatura de extração (50 a 90°C). A otimização das condições de extração foram realizadas utilizando o programa *Statgraphics Centurion XV*, em que as variáveis de resposta foram as áreas cromatográficas dos picos de cada composto.

Determinação de BTEX – análises cromatográficas

Os compostos foram determinados utilizando a técnica de extração por *headspace*, seguida de determinação e quantificação dos mesmos por cromatografia gasosa em um cromatógrafo a gás Trace GC Ultra, equipado com dois detectores em série - detector por fotoionização (PID) e por ionização em chama (FID) – e um amostrador automático para *headspace* (HS), o qual dispõe de uma unidade de extração por *headspace* estático, equipada com forno para aquecer e agitar as amostras.

A calibração do método cromatográfico foi realizada utilizando o método do padrão interno, ou seja, introdução de quantidades iguais do clorobenzeno (padrão interno) em amostras contendo concentrações conhecidas de BTEX (0,5; 5; 10; 25; 50; 100; 250; 500 e 1000 µg/L), a partir das quais foi elaborada a curva de analítica para cada analito.

Após a extração, cujas condições otimizadas são apresentadas na Tabela 1, 0,3 mL do *headspace* da amostra foi injetado no modo de *splitless* e, em seguida, a separação cromatográfica foi realizada em um OV-5 capilar

coluna (5% a 95% de dimetilpolisiloxano difenilo, 30 m, 0,25 mm ID, espessura de filme 0,25 μm). As condições cromatográficas utilizadas na determinação e quantificação estão dispostas na Tabela 1.

Tabela 1: Condições cromatográficas GC-HS-PID-FID.

Parâmetros	HS	PID	FID
Temperatura de extração ($^{\circ}\text{C}$)	70	-	-
Tempo de incubação (min) ^a	15	-	-
Temperatura da seringa ($^{\circ}\text{C}$)	110	-	-
Temperatura do injetor ($^{\circ}\text{C}$)	-	250	-
Temperatura do detector ($^{\circ}\text{C}$)	-	240 ^b	250
Programa de temperatura (forno)	35 $^{\circ}\text{C}$ (7 min); 35-120 $^{\circ}\text{C}$, taxa de 35 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; 120 $^{\circ}\text{C}$ (2.14 min)		
Gás de arraste (N_2) ($\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$)	-	40	-
Gás <i>Make-up</i> (N_2) ($\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$)	-	7	30
Ar sintético (chama) ($\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$)	-	-	350
Hidrogênio (chama) ($\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$)	-	-	35

Nota: HS, headspace; PID, detector por fotoionização; FID, detector por ionização de chama.

^aAgitação (10s agitando e 20s em repouso, continuamente). ^bLâmpada 10,6 eV.

Validação do método analítico

A validação do método analítico foi realizada por meio dos testes de seletividade, linearidade, precisão (repetibilidade), limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ), segundo as recomendações contidas na Resolução Anvisa nº 889/2003 (ANVISA, 2003). Ressalta-se que a seletividade foi determinada pela análise de uma amostra aquosa da torre de destilação a vácuo da refinaria LUBNOR (Lubrificantes e Derivados de Petróleo Nordeste, Fortaleza, Ceará, Brasil). A amostra foi coletada em recipiente apropriado, refrigerada a 4 $^{\circ}\text{C}$ e, em seguida, transportada para o laboratório, sendo a análise cromatográfica realizada imediatamente após a coleta.

RESULTADOS

Antes da otimização dos parâmetros de extração, algumas condições cromatográficas, tais como temperaturas do forno, injetor e detector, bem como o fluxo de gás de arraste, foram estabelecidos, a fim de se obter alta resolução dos picos cromatográficos e reduzir o tempo de análise. No entanto, o m-xileno e p-xileno foram identificados e quantificados de maneira conjunta (Figura 1). A otimização do método analítico e de validação foram realizados apenas para o PID (Figura 1a), haja vista que este detector se mostrou mais sensível aos analitos em estudo, quando comparado à detecção por FID (Figura 1b), conforme observado em estudos anteriores (CAVALCANTI *et al.*, 2010).

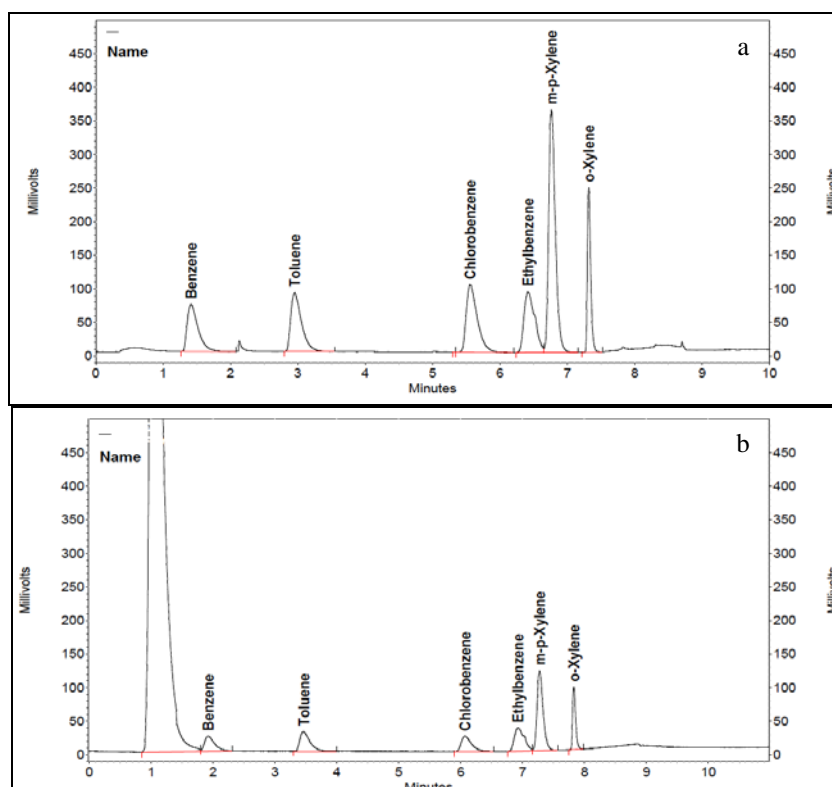


Figura 1: Cromatogramas de solução padrão de $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de cada composto BTEX, Legenda: (a) HS-GC-PID e (b) HS-GC-FID.

Otimização multivariada das condições de extração

Fazendo a otimização multivariada das condições de extração, ou seja, encontrar um ponto ótimo para a extração de todos os compostos, a um nível de confiança de 95%, observou-se que a salinidade não teve efeito significativo para todos os casos, demonstrando, assim, que o método de extração proposto pode ser utilizado para a detecção destes compostos em diferentes matrizes ambientais aquosas.

Adicionalmente, constatou-se que o volume de amostra apresentou maior influência sobre a extração dos compostos por *headspace*, cujo valor ótimo foi de 15 mL (Figura 2). No entanto, para o etilbenzeno e o o-xileno, o tempo de incubação foi também muito significativo, provavelmente devido ao elevado ponto de ebulição destes compostos, o que exigia, portanto, um tempo mais longo para que atingisse o equilíbrio entre as fases (aquosa e gasosa).

Embora a temperatura não tenha sido um fator significante, temperaturas mais elevadas favoreceram o processo de extração para a maioria dos compostos, com exceção do benzeno, permitindo uma melhor resposta (maiores áreas dos picos) a ser alcançada. No entanto, trabalhar com temperaturas elevadas pode acarretar aumento da pressão dentro do *vial*, e, por consequência a quebra da seringa no momento da amostragem (MENÉNDEZ *et al.*, 2000). Por isso, optou-se por utilizar uma temperatura mais baixa (70°C), mas sem que houvesse perda da eficiência e sensibilidade do método de extração. Representando a otimização por meio do gráfico de superfície de resposta (Figura 2) pode-se observar que em relação ao tempo de incubação, a uma temperatura de extração de 70°C , a resposta máxima (o valor ideal) só foi atingido após cerca de 23 min. No entanto, a conveniência de quase 0,90 (ou seja, 90% da resposta máxima) foi alcançada com um tempo de incubação de 15 min, o que, consequentemente, permitiu a redução do tempo de análise sem haver perdas significativas na sensibilidade da análise.

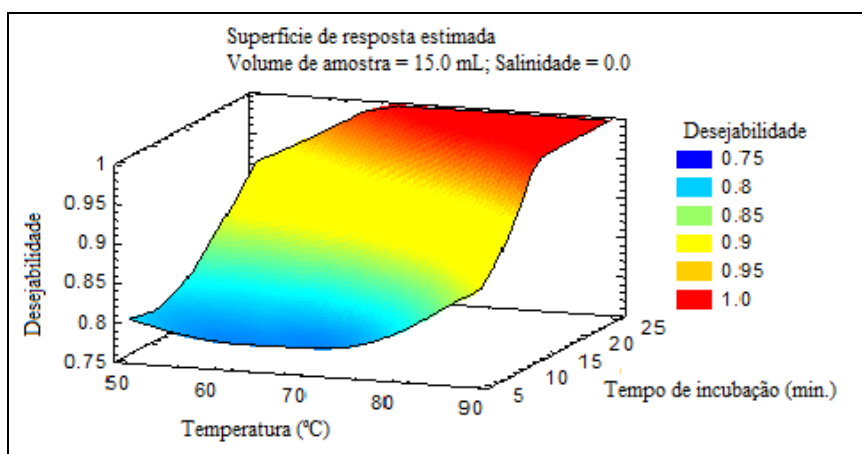


Figura 2 : Superfície de resposta para a mistura de BTEX com valores fixados de volume de amostra (15 mL) e salinidade (0,0).

Validação do método analítico (HS-CG-PID)

O método desenvolvido foi bastante seletivo, haja vista que os cromatogramas obtidos a partir da análise da amostra da LUBNOR apresentaram somente os analitos em estudo nos seus tempos de retenção (Figura 3). Por meio dos coeficientes de correlação (r), os quais se mantiveram acima de 0,999, obtidos nas curvas de calibração pelo método do padrão interno (PI), observou-se que, para todos os compostos, o método apresentou boa linearidade para a faixa estudada (0,5 a 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), como pode ser observado na Tabela 2. A repetibilidade do método variou entre 0,05% e 0,26% para o tempo de retenção (análise qualitativa) e 1,46% a 3,76% para a área do pico (análise quantitativa), demonstrando uma precisão satisfatória (Tabela 2), haja vista que nenhum dos analitos apresentou desvio padrão relativo (DPR) acima de 5%, valor que não deve ser ultrapassado para este teste (ANVISA, 2003).

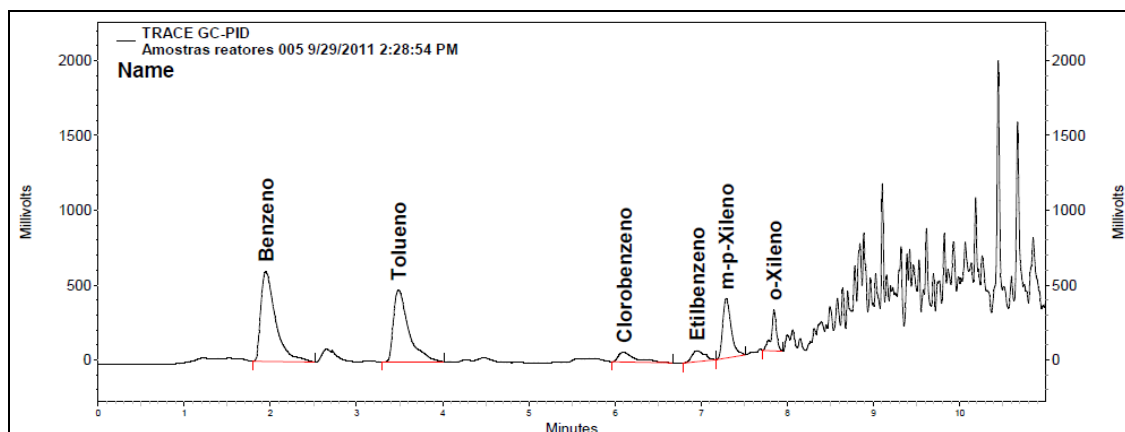


Figura 3 : Cromatograma dos BTEX presentes na amostra da LUBNOR.

O LD e o LQ alcançados para cada composto variou entre 0,13 e 0,43 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e de 0,43-1,61 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente, apresentando-se inferiores aos encontrados por outros autores (ES'HAGHI, EBRAHIMI, HOSSEINI, 2011; PÉREZ-PAVÓN *et al.*, 2007), inclusive utilizando a mesma técnica de extração avaliada nesse trabalho (CAVALCANTI *et al.*, 2010; HELENO *et al.* 2010; MENÉNDEZ *et al.*, 2000), confirmando a elevada sensibilidade do detector (PID) para tais compostos aromáticos (Tabela 2). Além disso, os valores de LD e LQ foram menores do que as concentrações máximas permitidas destes compostos estabelecidas pelas legislações brasileiras, para água potável ou para águas residuárias (BRASIL, 2011; CONAMA, 2011). Portanto, o método HS-GC-PID pode ser utilizado de maneira eficaz para a determinação e controle de BTEX em diferentes matrizes aquosas.

Tabela 2: Parâmetros analíticos obtidos na validação do método de determinação de BTEX.

Analitos	Linearidade				Repetibilidade ^a		
	Eq. da reta	Faixa da curva (µg/L)	Coefficiente de correlação (r)	LD (µg/L)	LQ (µg/L)	t _r (%)	Área do pico (%)
BZ	y= 0,0061x + 0,0301	0,5-1000	0,9997	0,43	1,44	0,26	3,76
TO	y= 0,0114x + 0,0136	0,5-1000	0,9999	0,48	1,61	0,20	3,17
EB	y= 0,0113x + 0,0214	0,5-1000	0,9999	0,13	0,43	0,19	1,69
PX/MX	y= 0,013x + 0,0567	0,5-1000	0,9999	0,41	1,37	0,09	1,46
OX	y= 0,0098 + 0,0268	0,5-1000	0,9999	0,20	0,66	0,05	1,46

Nota: ^a DPR dos tempos de retenção e as áreas dos picos dos analitos obtidos a partir da análise de 10 replicatas de 100 µg/L de BTEX; ^b t_r: tempo de retenção.

CONCLUSÕES

A técnica de planejamento experimental multivariado permitiu a otimização das condições de extração por HS seguido por análise de GC-PID para a determinação de BTEX em matrizes ambientais aquosas, na qual o volume da amostra foi o parâmetro mais significativo para a determinação de BTEX, enquanto a salinidade não influenciou significativamente no processo.

O método cromatográfico apresentou excelente seletividade, linearidade e precisão na determinação de BTEX. Apresentou-se também bastante sensível a estes compostos, uma vez que foram observados baixos limites de detecção e quantificação, sendo mais baixos que os valores estabelecidos pelas legislações vigentes.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Processo 481270/2010-8), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES (Processo PNPd 3022/2010) e Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Funcap (Processo 078.01.00/09) pelo financiamento da pesquisa e bolsas de estudos. Gostaríamos de agradecer também a LUBNOR – Petrobrás pelo fornecimento da amostra usada na validação do método.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos, Resolução RE nº 899, de 29/05/2003. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 02 jun. 2003.
2. BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução nº. 430/2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente, Brasília, 2011.
3. CAVALCANTI, R. M. ; ANDRADE, M. V. F. ; MARINS, R. V. ; OLIVEIRA, L. D. M. Development of a headspace-gas chromatography (HS-GC-PID-FID) method for the determination of VOCs in environmental aqueous matrices: Optimization, verification and elimination of matrix effect and VOC distribution on the Fortaleza Coast, Brazil. Microchemical Journal, v. 96, p. 337–343, 2010.
4. CERVANTES, J. F.; MANCILLA, A. R.; TORO, E. E. R.; SOLIS, A. G. L.; MONTOYA-LORENZA, L. Anaerobic degradation of benzene by enriched consortia with humic acids as terminal electron acceptors. Journal of Hazardous Materials, v. 195, p 201– 207, 2011.
5. DEMEESTERE, K. J.; DEWULF, J.; WITTE, B.; LANGENHOVE, V. Sample preparation for the analysis of volatile organic compounds in air and water matrices, Journal of Chromatography A, v. 1153, p. 130-137, 2007.
6. ES: HAGHIA, Z.; EBRAHIMI, M.; HOSSENI, M. S. Optimization of a novel method for determination of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes in hair and waste water samples by carbon nanotubes reinforced

- sol-gel based hollow fiber solid phase microextraction and gas chromatography using factorial experimental design. *Journal of Chromatography A*, v. 1218, p. 3400–3406, 2011.
7. FERREIRA, S. L. C. et al. Statistical designs and response surface techniques for the optimization of chromatographic systems. *Journal of Chromatography A*, v. 1158, p. 2–14, 2007.
 8. GAUJAC, A.; EMÍDIO, E. S.; NAVICKIENE, S.; FERREIRA, S. L. C.; DÓREA, H. S. Multivariate optimization of a solid phase microextraction-headspace procedure for the determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in effluent samples from a waste treatment plant. *Journal of Chromatography A*, v. 1203, p. 99–104, 2008.
 9. GOBATO, E. A. A. F.; LANÇAS, F. M. Comparação entre injeção na coluna (“on-column”) e headspace dinâmico na determinação de benzeno, tolueno e xilenos (BTX) em amostras de água. *Química Nova*, v. 24, nº. 2, p. 176-179, 2001.
 10. HELENO, F. F.; LIMA, A. C.; AFONSO, R. J. C. F.; COUTRIM, M. X.. Otimização e validação de métodos analíticos para determinação de BTEX em água utilizando extração por headspace e microextração em fase sólida. *Química Nova*, v. 33, n. 2, p. 329-336, 2010.
 11. MENÉNDEZ, J. C. F.; SÁNCHEZ, M. L. F.; URÍA, J. E. S.; MARTÍNEZ, E. F.; SANZ-MEDEL, A. Static headspace, solid-phase microextraction and headspace solid-phase microextraction for BTEX determination in aqueous samples by gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 971, p. 173–184, 2000.
 12. PÉREZ-PAVÓN, J. L.; SÁNCHEZ, M. N.; LAESPADA, M. E.F.; CORDERO, B. M.; Simultaneous determination of gasoline oxygenates and benzene, toluene, ethylbenzene and xylene in water samples using headspace-programmed temperature vaporization-fast gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v. 1175, p. 106-111, 2007.
 13. SAFAROVA, V. I.; SAPELNIKOVA, S. V.; DJAZHENKO, E. V.; TEPLOVA, G. I.; SHAJDULINA, G. F.; KUDASHEVA, F. K. Gas chromatography-mass spectrometry with headspace for the analysis of volatile organic compounds in waste water. *Journal of Chromatography B*, v. 800, p. 325-335, 2004.
 14. SARAFRAZ-YAZDI, A.; VATANI, H. A Solid Phase Microextraction coating based on Ionic Liquid Sol-Gel technique for determination of Benzene, Toluene, Ethylbenzene and o-Xylene in water samples using Gas Chromatography Flame Ionization Detector. *Journal of Chromatography A*. In Press, 2013.
 15. TRIGUEROS, D. E. G.; MÓDENES, A. N.; KROUMOV, A. D.; ESPINOZA-QUINONES, F. R. Modeling of biodegradation process of BTEX compounds: Kinetic parameters estimation by using Particle Swarm Global Optimizer. *Process Biochemistry*, v. 45, p. 1355–1361, 2010.