

# Determinação de compostos organoalogenados em adubo orgânico empregando extração com auxílio de ultrassom e cromatografia gasosa com detecção por captura de elétrons

*Determination of organohalogenated compounds in organic fertilizer using extraction with the aid of ultrasound and gas chromatography with electron capture detection*

**Cristine Wickert**  
**Martha B. Adaime**  
**Renato Zanella\***

Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP), Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 Santa Maria - RS, Brasil  
\*renato.zanella@ufsm.br

Recebido: 29/09/2015

Aceito: 28/10/2015

## Resumo

O uso de dejetos da produção de animais, tais como camas de aviário, é muito empregado na agricultura como adubo orgânico. Entretanto, estes podem conter resíduos de preservantes de madeira, tais como compostos organoalogenados, na maravalha e serragem utilizada. No presente trabalho foi desenvolvido e validado um método para a determinação de resíduos de pentaclorofenol, 2,4,6-trichlorofenol, 2,4,6-trichloroanisol, 2,4,6-tribromofenol e 2,4,6-tribromoanisol em adubo orgânico utilizando cromatografia gasosa com detecção por captura de elétrons (GC-ECD). Vários procedimentos de extração, utilizando banho e sonda de ultrassom, bem como a associação de agitação mecânica com banho de ultrassom em diferentes condições foram avaliados e otimizados. Os melhores resultados foram obtidos com agitação mecânica associada ao ultrassom, etanol/ácido acético 9:1 (v/v) como solvente de extração e florisil® para a limpeza dos extratos antes da derivação com anidrido acético. O método validado apresentou limite de detecção entre 11,3 e 22,5  $\mu\text{g kg}^{-1}$  e boa linearidade. A exatidão, em termos de recuperação, variou entre 81,3 e 110,8%, com adequada precisão (RSD <12,4%). Os resultados das etapas de validação e aplicação permitem concluir que o método proposto é apropriado para a determinação de compostos organoalogenados em adubo orgânico em análises de rotina.

**Palavras-chave:** compostos organoalogenados, adubo orgânico, GC-ECD.

## Abstract

The use of waste from livestock, such as poultry litter, is often employed in the agriculture as organic fertilizer. However, they may contain residues of wood preservatives, like organohalogenated compounds, from the shavings and sawdust used. In the present work a method for the determination of pentachlorophenol, 2,4,6-trichlorophenol, 2,4,6-trichloroanisole, 2,4,6-tribromophenol and 2,4,6-tribromoanisole residues in organic fertilizer using gas chromatography with electron capture detection (GC-ECD) was developed and validated. Several extraction procedures, using ultrasonic bath and probe, as well the association of mechanical agitation with ultrasonic bath in different conditions were evaluated and optimized. Better results were obtained using mechanical agitation associated to the ultrasonic bath, ethanol/acetic acid 9:1 (v/v) as solvent for extraction and florisil® for the extract clean-up before derivatization with anhydride acetic. The validated method presented detection limit from 11.3 to 22.5  $\mu\text{g kg}^{-1}$  and good linearity. Accuracy, in terms of recovery, ranged from 81.3 to 110.8%, with adequate precision (RSD <12.4%). Results from the validation and application steps allow to conclude that the proposed method is appropriate for the determination of organohalogenated compounds in organic fertilizer in routine analyses.

**Keywords:** organohalogenated compounds, organic fertilizer, GC-ECD.

## 1. Introdução

A preocupação mundial a respeito da qualidade de vida, especialmente no que se refere à preservação e uso adequado dos recursos naturais e à qualidade dos alimentos, reflete nos sistemas produtivos. Dentro dessa nova tendência, a agroecologia desponta como uma alternativa viável. O manejo ecológico do solo, através do uso de dejetos de animais e do plantio direto, visa o equilíbrio e o fortalecimento dos sistemas produtivos. A cama de aviários é bastante empregada com esse propósito, contudo, a maravalha pode conter resíduos de preservantes de madeira, em especial compostos organoalogenados.

Fertilizante orgânico é o resultado de um processo de fermentação, sendo classificado como adubo orgânico vegetal ou animal. De acordo com o Ministério da Agricultura, os fertilizantes orgânicos simples podem ser divididos em cinco classes de materiais: esterco animais, restos vegetais, resíduos agroindustriais, turfa e linhito<sup>[1]</sup>. O aumento do número de animais criados em sistemas intensivos contribuiu para aumentar a quantidade de esterco gerado, criando a necessidade de disposição final controlada desses resíduos. A avicultura brasileira destaca-se no mercado internacional de carnes, ocupando desde 2011 a liderança na exportação de carne de frango e a terceira posição em produção mundial desse produto. Segundo dados da União Brasileira de Avicultura (UBABEF), em 2013 o Brasil produzindo um total de 12,3 milhões de toneladas de carne de frango, ficando atrás apenas dos EUA, que produz 16,9 milhões de toneladas e a China com produção de 13,5 milhões de toneladas<sup>[2]</sup>.

Para frango de corte, a produção anual de esterco por animal pode ser estimada em 2,5 kg, em base seca<sup>[3]</sup>. As camas ou forrações usadas para os animais facilitam a limpeza do local e podem ser de diferentes materiais com propriedades absorventes como capins, ramos de leguminosas, serragem de madeira, maravalha, palhas e cascas de cereais. A utilização de serragem de madeira, maravalha e o reaproveitamento de madeira usada pode

resultar na exposição a compostos organoalogenados que foram utilizados em larga escala como preservantes de madeira.

Dentre as substâncias já empregadas como preservante de madeira destaca-se o pentaclorofenol que foi introduzido em 1936 e foi muito utilizado para esta finalidade e, inclusive como herbicida e fungicida<sup>[4]</sup>. A preocupação com a toxicidade desses compostos fez surgir uma avalanche de novos preservantes de menor toxicidade. Esses novos produtos, no entanto, têm se mostrado menos eficientes, mais caros e de efeito residual mais curto<sup>[5]</sup>. Os preservantes de madeira a base de solventes orgânicos foram introduzidos entre 1920 e 1930 e são produzidos a partir de inseticidas e/ou fungicidas dissolvidos em um solvente orgânico apolar. Em geral, quando se fala sobre preservantes a base de solventes orgânicos, refere-se àqueles preparados a base de solventes leves ou àqueles formulados com óleo pesado, como é o caso do pentaclorofenol (PCP). Por muitos anos, pentaclorofenolato de sódio (NaPCP) foi preferencialmente usado para este propósito, mas como é muito solúvel em água seu uso foi proibido na maioria dos países<sup>[6]</sup>.

Segundo Sgai<sup>[5]</sup>, a única forma economicamente viável pela qual a madeira pode ser protegida contra agentes responsáveis pelo fenômeno natural de degradação é através da aplicação de preservantes. Os prejuízos advindos do uso irracional de compostos organoalogenados são evidentes. Através do Conselho de Rotterdam, em 1998, a maioria dos países adotaram voluntariamente um procedimento de controle da comercialização de vários produtos químicos listados pela FAO, entre eles o pentaclorofenol<sup>[7]</sup>. Entretanto, a produção e a utilização desses produtos dentro de cada um dos países membros continuam sendo regulamentadas por leis federais. No Brasil, o uso de pentaclorofenol foi inicialmente restrito ao tratamento de madeiras destinadas a dormentes, postes, cruzetas, mourões para cercas rurais, esteios e vigas (Lei nº 4797 de 20/10/1965; Portaria Interministerial nº 292 de 28/04/1998; Portarias

nº 11 de 08/01/1998 e nº 329 de 02/09/1985, do Ministério da Saúde e Resolução RE nº 165 de 29/08/03). O uso do pentaclorofenol na agricultura foi proibido em 1985 e o uso como preservante de madeira foi proibido em 2007. A partir da proibição do uso do pentaclorofenol, a indústria madeireira passou a utilizar principalmente o 2,4,6-tribromofenol<sup>[8]</sup>.

Os halofenóis podem ser convertidos em seus respectivos anisóis por ação microbiana, conferindo odores e sabores desagradáveis a alimentos e água, mesmo quando em concentrações muito baixas<sup>[9,10]</sup>.

Em termos ambientais, os compostos organoalogenados selecionados neste estudo (Figura 1) mesmo em baixa concentração, são motivos de preocupação por apresentarem elevada toxicidade, mesmo em baixos níveis de concentração.

Pentaclorofenol, como produto comercial, apresenta pureza entre 90-95% e é contaminada com tri- (6,2%) e tetraclorofenóis (4,4%), policlorado-dibenzoparadioxinas, policlorado-dibenzofuranos e

ésteres difenólicos<sup>[11]</sup>. Na tentativa de reduzir as impurezas tóxicas presentes no PCP, diferentes formulações de clorofenóis foram empregadas em vários países. A  $DL_{50}$  de PCP em ratos está entre 27 e 175 mg kg<sup>-1</sup>, e em macacos entre 36 e 177 mg kg<sup>-1</sup>. A  $CL_{50}$  de NaPCP em trutas é estimada em 0,17 mg L<sup>-1</sup><sup>[12]</sup>.

Em 1993, a Organização Mundial da Saúde estabeleceu um limite de 9 µg L<sup>-1</sup> para PCP em água potável<sup>[13]</sup>. Para 2,4,6-TCP o limite estabelecido é de 2 µg L<sup>-1</sup><sup>[14]</sup>. No Brasil, a Portaria nº 2914 do Ministério da Saúde, de 12/12/2011, estabelece os limites para PCP e 2,4,6-TCP em 9 e 0,2 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente<sup>[15]</sup>.

As legislações nacionais e internacionais não fazem menção quanto à contaminação de fertilizantes orgânicos por compostos organoalogenados. No Brasil, onde PCP e TBP no foi largamente utilizado no tratamento de madeira não há norma que regulamente os limites máximos de resíduos na madeira tratada ou nos produtos que utilizam esta madeira. A Alemanha estabeleceu o LMR de PCP em madeira tratada em 5 mg kg<sup>-1</sup><sup>[16]</sup>.

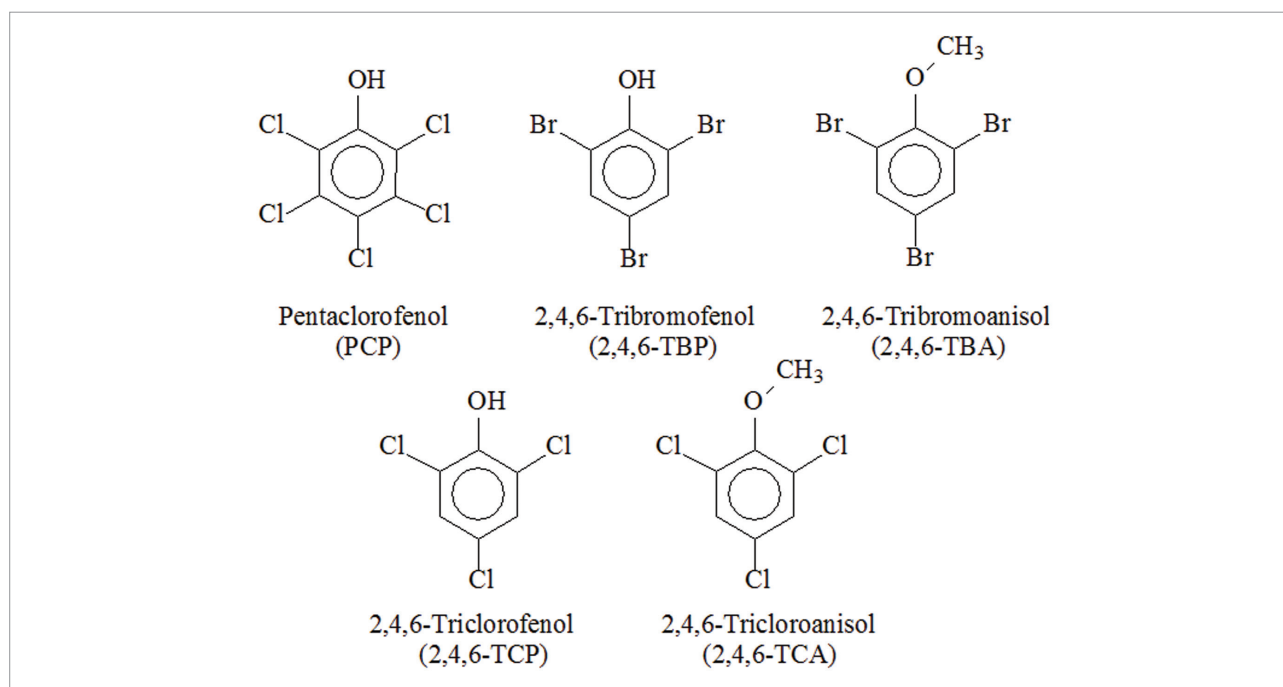


Figura 1. Estruturas químicas dos compostos organoalogenados estudados.

A importância ambiental destes compostos tem movido esforços, em âmbito internacional, para o desenvolvimento de métodos analíticos adequadas para diferentes matrizes e a técnica de cromatografia gasosa tem prevalecido<sup>[10]</sup>. Não há relatos na literatura a respeito da determinação de organoalogenados em fertilizantes orgânicos, entretanto alguns destes compostos foram determinados em outras matrizes, tais como pentaclorofenol (PCP) em água<sup>[17]</sup>, postes de madeira<sup>[18]</sup> e em madeira<sup>[19,20]</sup>, PCP e tribromofenol (TBP) em serragem<sup>[8]</sup> e em produtos hortícolas<sup>[21]</sup>; bem como PCP, TBP e pentacloroanisol em aspargos<sup>[22]</sup>. Em geral estes métodos analíticos empregam cromatografia gasosa após um extensivo preparo de amostra.

Os procedimentos analíticos aplicados para a determinação de compostos organoalogenados em amostras ambientais são geralmente baseados na extração *off-line* dos analitos a partir da amostra por um procedimento adequado, seguido de limpeza de extrato e derivação do extrato e, finalmente, a análise. Os métodos oficiais do EPA 604, 525 e 8270 são usados para a determinação de clorofenóis em geral. A técnica mais sensível envolve a formação de derivados éteres pentafluorbenzeno com valores de limites de detecção (LOD) de 0,5 a 5 µg L<sup>-1</sup>. Clorofenóis também podem ser determinados por GC-ECD, com LOD entre 1 e 10 µg L<sup>-1</sup> para monoclorofenóis, 0,5 µg L<sup>-1</sup> para diclorofenóis e 0,01 µg L<sup>-1</sup> para triclorofenóis<sup>[14]</sup>. GC-ECD é a técnica mais utilizada para a determinação de PCP, metilado ou acetilado, após extração com solvente orgânico em meio levemente acidificado. A técnica GC-ECD possibilita a detecção de quantidades extremamente baixas de compostos organoalogenados e outros analitos eletrofilicos<sup>[23]</sup>.

Considerando a importância de monitorar a presença de compostos organoalogenados em produtos contendo madeira tratada, os objetivos deste trabalho foram desenvolver e validar um método analítico para a determinação de 2,4,6-tribromoanisol (2,4,6-TBA), 2,4,6-tribromofenol (2,4,6-TBP), 2,4,6-tricloroanisol

(2,4,6-TCA), 2,4,6-triclorofenol (2,4,6-TCP) e pentaclorofenol (PCP) em fertilizante orgânico empregando cromatografia gasosa com detecção por captura de elétrons (GC-ECD). Este trabalho foi desenvolvido segundo as seguintes etapas: seleção de compostos orgânicos empregados como preservantes de madeira e alguns de seus metabólitos suspeitos de ocorrer em fertilizantes orgânicos; estudo da eficiência de extração e limpeza do extrato; otimização das condições cromatográficas; validação do método e aplicação em amostras comerciais.

## 2. Experimental

### 2.1. Reagentes e padrões

Os compostos 2,4,6-tribromoanisol (2,4,6-TBA), 2,4,6-tribromofenol (2,4,6-TBP), 2,4,6-tricloroanisol (2,4,6-TCA), 2,4,6-triclorofenol (2,4,6-TCP), pentaclorofenol (PCP) e o padrão interno (PI) clorpirifós metílico, todos com purezas >98%, foram adquiridos da Sigma-Aldrich (EUA).

Os seguintes reagentes e materiais foram utilizados: sulfato de sódio anidro, grau pesticida (Merck, Alemanha), florisil® 60-100 mesh (Mallinckrodt, EUA), lâ de vidro silanizada; água purificada em sistema Milli-Q®; metanol, tolueno, acetona, éter de petróleo, acetato de etila e hexano Nanograde® (Mallinckrodt, EUA); ácido sulfúrico grau analítico, carbonato de potássio, etanol 96%, ácido acético glacial 100%, anidrido acético 97%, todos grau analítico (Merck, Brasil) e diclorodimetilsilano (Sigma-Aldrich, Alemanha). Os gases foram adquiridos da White Martins (Brasil) com 99,999% de pureza: gás de arraste hélio e gás de make-up nitrogênio.

### 2.2. Instrumentação

Para as análises foi empregado um cromatógrafo a gás Varian 3800 (Califórnia, EUA), equipado com amostrador automático, injetor PTV 1079, controle eletrônico de fluxo, detector de captura de elétrons (ECD) com <sup>63</sup>Ni e software Workstation Star 4.5 para

aquisição de dados. Foi utilizada coluna capilar DB-5 (30 m x 0,25 mm d.i. x 0,25 µm de espessura de filme) da J & W Scientific (Folsom, CA, EUA) com 5% fenil e 95% metilpolisiloxano. As condições do sistema GC-ECD foram as seguintes: temperatura do injetor, 250 °C; volume de injeção 2 µL, sem divisão de fluxo; detector ECD, 330 °C; programa de temperatura da coluna: 80 °C (1 min), 4 °C min<sup>-1</sup> até 200 °C e 40 °C min<sup>-1</sup> até 300 °C, mantido até o final da análise.

Cada composto foi identificado injetando-se individualmente a solução analítica de cada analito. Posteriormente, injetou-se uma solução analítica contendo todos os analitos estudados. Todas as injeções foram realizadas nas mesmas condições cromatográficas para observar e confirmar o tempo de retenção de cada composto.

Para o preparo de amostra foi utilizado agitador pendular (Tecnal, Brasil); banho de ultrassom modelo 2210 (Branson, Canadá); sonda de ultrassom modelo 500 com ponteira MicroPoint cônica para pequenos volumes (Fischer Scientific, EUA), moinho analítico modelo A11 (IKA, Alemanha); sistema de purificação de água Milli-Q® (Millipore, EUA) e balança analítica UX-420H (Shimadzu, Japão) e APX-200 (Denver, Brasil).

### 2.3. Preparo da amostra

Amostras de adubo orgânico (1 kg) foram adquiridas em estabelecimentos comerciais. As amostras foram trituradas para tornar o material mais uniforme e passadas em peneira de 1,0 mm e 300 g de amostra foram armazenadas em frasco de vidro âmbar em freezer a -18 °C. Para as análises o material foi descongelado e moído.

#### 2.3.1. Testes para a extração dos analitos e limpeza dos extratos

Uma amostra “branco” foi usada para avaliar a eficiência dos diferentes procedimentos de extração propostos. O material de vidro foi silanizado para evitar perdas por adsorção. Ensaios de extração preliminares foram realizados com a mistura de etanol:ácido acético

9:1 (v/v) em banho de ultrassom e em sonda de ultrassom por 1 h. Diferentes quantidades de amostra (2,5, 5,0 e 10,0 g) e volumes de solução de extração foram testadas (10, 15 e 20 mL). A fortificação das amostras foi efetuada no nível intermediário. Finalmente, os testes comparativos foram efetuados utilizando diferentes misturas de solventes de extração: etanol/ácido acético 9:1 (v/v); tolueno/solução aquosa de ácido sulfúrico 1 mol L<sup>-1</sup> 60:1 (v/v) e acetona/metanol 1:1 (v/v). Uma etapa de 30 min de agitação mecânica foi adicionada antes da extração empregando banho de ultrassom para aumentar a eficiência de extração.

A etapa de limpeza do extrato foi incluída em função da complexidade da matriz. Para esta etapa minicolunas de vidro de borossilicato com 1,0 cm de diâmetro interno e 12 cm de comprimento foram utilizadas, contendo florisil® na camada inferior e sulfato de sódio anidro na camada superior. Diferentes quantidades de florisil® (0,9, 1,3 e 1,7 g) foram avaliadas para cada minicoluna, com quantidade fixa de sulfato de sódio anidro (3,5 g) e volume de extrato de 5 mL. A necessidade de condicionamento do florisil® com o eluente também foi avaliada. A mistura de éter de petróleo/acetato de etila como eluente foi testada em três diferentes proporções: 2:8, 4:6 e 6:4 (v/v). Também foi avaliada a influência do volume de eluente (10, 20 e 30 mL) empregados para remover os analitos da coluna. O volume final, após limpeza, foi aferido em balão volumétrico.

#### 2.3.2. Etapa de derivação dos analitos

A derivação foi efetuada em condições alcalinas com 35 mL de uma solução aquosa de carbonato de potássio 0,1 mol L<sup>-1</sup>. A eficiência desta etapa foi testada com 2 e 4 mL de extrato. Uma alíquota de 1 mL de anidrido acético foi usada para a reação de derivação e 5 mL de hexano para a partição dos compostos derivados. Os frascos com a mistura de reagentes foram agitados mecanicamente na mesa agitadora pendular por 4 min com a tampa semiaberta para permitir a libertação dos gases formados na reação de derivação. O volume final foi aferido em balão volumétrico de 5 mL.

Amostras de fertilizante selecionados como amostra “branco”, sem a presença dos compostos organoalogenados, e brancos dos solventes e reagentes foram analisados após empregar as etapas do método otimizado (extração, limpeza e derivação) para confirmação da ausência dos analitos.

#### 2.4. Validação do método desenvolvido

Definidas as melhores condições de separação dos compostos estudados, validou-se o método proposto. Os compostos foram quantificados utilizando-se o método de padronização externa após derivação e verificou-se a linearidade do método.

Para a determinação dos limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) do instrumento foram efetuadas injeções em ordem crescente de concentração até que o pico atingisse uma altura referente a três e dez vezes o ruído da linha de base, respectivamente. A faixa de concentração usada para definição do LOD e do LOQ foi de 0,1 a 2,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

A exatidão do método foi avaliada através da recuperação obtida empregando-se amostras branco fortificadas em três níveis de concentração: próximo ao LOQ, dez vezes o LOQ e em concentração intermediária

da faixa linear de trabalho. A precisão do método foi avaliada em termos de desvio padrão relativo (RSD) dos resultados. A repetitividade do método (RSD<sub>dm</sub>) foi avaliada através das extrações realizadas em triplicata num mesmo dia. Para o estudo da precisão intermediária do método (RSD<sub>pim</sub>) repetiu-se o mesmo procedimento de análise em dias diferentes.

#### 2.5. Aplicação do método desenvolvido

Para avaliar a aplicabilidade do método desenvolvido foram analisadas 8 amostras de adubo orgânico produzidas a partir de cama de aviário que utilizaram maravalha de madeira. As amostras foram adquiridas em estabelecimentos comerciais.

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Otimização das condições do sistema GC-ECD

Soluções analíticas contendo a mistura de todos os analitos foram injetadas nas mesmas condições. A coluna DB-5 proporcionou a separação dos compostos, não ocorrendo a sobreposição dos picos na programação de temperatura utilizada, como demonstrado na Figura 2, sendo empregada para a separação dos compostos em estudo.

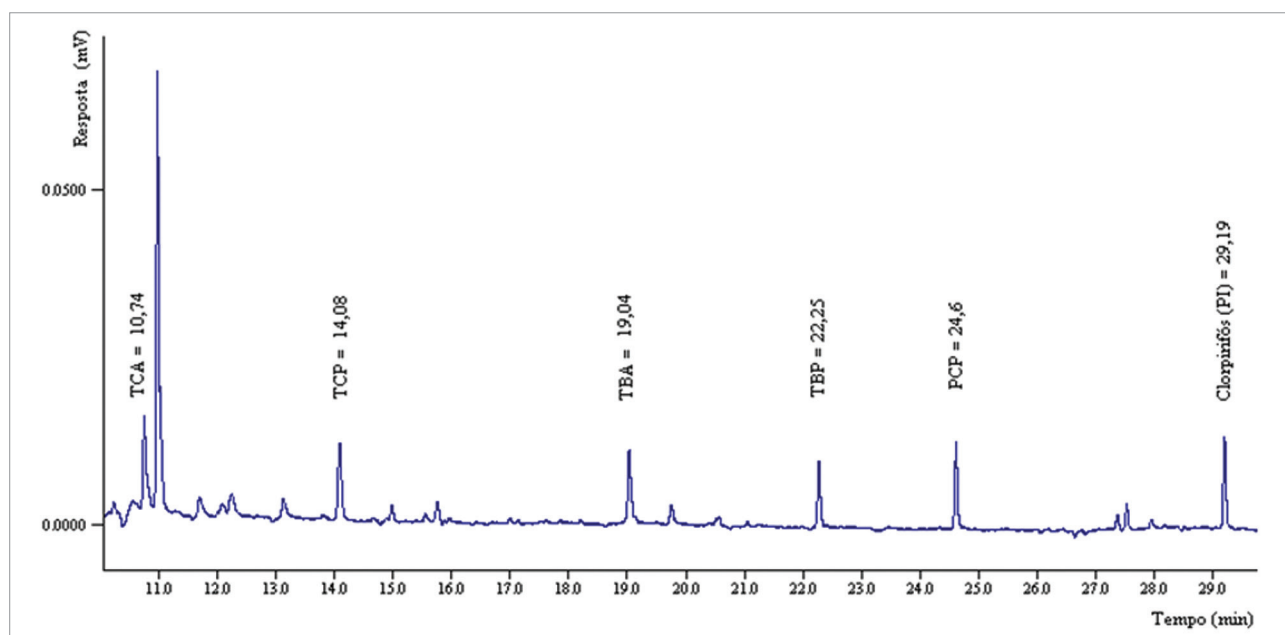


Figura 2. Cromatograma obtido por GC-ECD da solução analítica 4  $\mu\text{g L}^{-1}$  dos 5 organoalogenados em estudo e o padrão interno clorpirifós metílico.



A influência do diâmetro interno (0,5 e 2 mm) do insersor de vidro silanizado foi avaliada. Picos mais simétricos foram obtidos com o insersor de 2 mm de diâmetro interno. Conforme o fabricante, este insersor é mais indicado para compostos termolábeis menos polares, como é o caso dos compostos fenólicos após sofrerem metilação (anisóis).

As melhores condições cromatográficas para a separação dos 5 compostos organoalogenados e do PI no GC-ECD foram as seguintes: Temperatura do injetor: 250 °C; programação de temperatura do forno da coluna DB-5: 80 °C (1 min), rampa de 4 °C min<sup>-1</sup> até 200 °C, após rampa de 40 °C min<sup>-1</sup> até 300 °C; temperatura do detector ECD: 330 °C; volume de injeção de 2 µL (sem divisão de fluxo); pressão do gás de arraste (He) na entrada da coluna mantida constante em 24,0 psi.

### 3.2. Procedimento de preparo de amostra

De maneira geral, o procedimento de análise de compostos organoalogenados em matrizes sólidas, como fertilizantes orgânicos, envolve uma série de etapas. Testes preliminares foram executados, empregando volumes variáveis de etanol/ácido acético 9:1 (v/v) como solvente extrator. Banho de ultrassom foi usado para extração dos analitos em diferentes níveis de concentração e diferentes quantidades de amostra. As recuperações obtidas empregando-se estas condições não foram satisfatórias. Considerando-se que a sonicação tem recebido destaque na extração de compostos organoalogenados em matrizes ambientais<sup>[16]</sup>, avaliou-se comparativamente banho de ultrassom e sonda de ultrassom, empregando-se etanol/ácido acético 9:1 (v/v) como solvente extrator. O percentual de recuperação dos compostos foi similar em ambas as técnicas, ficando muito próximo de 70%. O banho de ultrassom foi escolhido para os demais testes considerando-se que o mesmo permite o preparo de várias amostras simultaneamente e tem um custo de aquisição menor que a sondas, além de ter um risco menor de contaminação cruzada pela introdução da sonda nas amostras.

Das misturas de solventes etanol/ácido acético 9:1 (v/v), tolueno/solução aquosa de ácido sulfúrico 1 mol L<sup>-1</sup> 60:1 (v/v) e acetona/metanol 1:1 (v/v) testados, etanol/ácido acético 9:1 (v/v) e acetona/metanol 1:1 (v/v) apresentaram valores de recuperações adequados e semelhantes. Optou-se por trabalhar com a primeira mistura em virtude da menor toxicidade. Melhores resultados de recuperação foram obtidos associando-se ao banho de ultrassom uma etapa de agitação mecânica. A proporção entre a quantidade de amostra e o volume de solvente extrator está de acordo com outros procedimentos de extração descritos na literatura<sup>[9,24]</sup>.

A utilização de minicolunas preenchidas com 1,3 g de florisil<sup>®</sup> e 3,5 g sulfato de sódio anidro demonstrou ser eficiente para a limpeza dos extratos. Os volumes de 5 mL de extrato e 20 mL da mistura éter de petróleo/acetato de etila 4:6 (v/v) apresentaram os melhores resultados de recuperação. Não foi necessário o condicionamento da minicoluna com o eluente. O volume final foi aferido em balão volumétrico de 25 mL.

Para a etapa de derivação dos analitos, alíquotas de 2 mL de extrato limpo foram adicionados a 35 mL solução de aquosa de carbonato de potássio 0,1 mol L<sup>-1</sup> em frasco de vidro de 100 mL silanizado, com tampa rosca. O frasco foi fechado e agitado por 30 s. Em seguida, adicionou-se 5 mL de hexano e 1 mL de anidrido acético, agitando-se o frasco em mesa agitadora pendular durante 4 min com a tampa semiaberta para liberação dos gases formados. A fase orgânica foi transferida com o auxílio de pipeta de Pauster para um balão volumétrico de 5 mL, onde o volume foi aferido com hexano. Com auxílio de micropipetador, transferiu-se uma alíquota de 1 mL para vial de 2 mL, e adicionou-se 10 µL de solução do PI clorpirifós metílico 1 mg L<sup>-1</sup> preparado em isoctano/tolueno 9:1 (v/v) e procedeu-se a análise injetando-se 2 µL no sistema GC-ECD.

Assim, no procedimento otimizado de preparo de amostra, transferiu-se 5 g de amostra de fertilizante orgânico para frasco de vidro silanizado de 100 mL, com tampa rosca, adicionou-se 15 mL de etanol/ácido acético

9:1 (v/v) e agitou-se o frasco fechado em mesa agitadora pendular por 30 min. Em seguida, aplicou-se banho de ultrassom por 60 min. Uma alíquota de 5 mL de extrato foi limpa em minicoluna com florisil® e sulfato de sódio anidro e eluíu-se com mais 20 mL de éter de petróleo/acetato de etila 4:6 (v/v) aferindo-se o volume final em 25 mL. Procedeu-se a derivação de 2 mL do extrato e extraiu-se em 5 mL de hexano para a análise.

### 3.3. Validação do método proposto

A Tabela 1 apresenta os valores das faixas lineares e  $r^2$  das curvas analíticas, LOD e LOQ do instrumento e do método obtidos para os princípios ativos em etanol/ácido acético 9:1 (v/v). De acordo com as equações obtidas

das curvas analíticas, o método é linear e adequado para os todos os analitos em estudo. O coeficiente de determinação  $r^2$  é maior que 0,99, considerado satisfatório para a análise de resíduos. Os valores de LOD e LOQ do instrumento são satisfatórios e, apesar do método não apresentar nenhuma etapa de concentração, os resultados de LOD e LOQ do método são adequados.

A precisão do instrumento em termos de repetitividade apresentou valores de RSD entre 0,6 e 6,4% e de precisão intermediária entre 2,6 e 6,9%.

A Tabela 2 apresenta resultados de recuperação e precisão obtidos empregando amostras branco fortificadas em três níveis de concentração em ensaio

**Tabela 1.** Parâmetros do método cromatográfico.

Composto	Faixa linear ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	$r^2$	Instrumento		Método	
			LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOD ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	LOQ ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )
2,4,6-TCA	1,5 – 15,0	0,9986	0,6	1,5	22,5	56,3
2,4,6-TCP	2,0 – 20,0	0,9995	0,6	2,0	22,5	75,0
2,4,6-TBA	0,8 – 8,0	0,9978	0,3	0,8	11,3	30,0
2,4,6-TBP	1,0 – 10,0	0,9984	0,3	1,0	11,3	37,5
PCP	1,0 – 10,0	0,9996	0,3	1,0	11,3	37,5

**Tabela 2.** Valores de recuperação (Rec) e RSD%, em 3 níveis de fortificação, obtidos nos ensaios de repetitividade e de precisão intermediária do método.

Composto	Nível de Fortificação ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	Repetitividade Rec $\pm$ RSD%*	Precisão intermediária Rec $\pm$ RSD%*
2,4,6-TCA	56,3	102,6 $\pm$ 2,8	97,1 $\pm$ 7,8
	281,3	88,0 $\pm$ 4,8	96,9 $\pm$ 5,2
	562,5	100,4 $\pm$ 2,5	98,4 $\pm$ 3,7
2,4,6-TCP	75,0	98,7 $\pm$ 1,3	104,1 $\pm$ 12,4
	375,0	84,8 $\pm$ 1,6	81,3 $\pm$ 5,9
	750,0	97,1 $\pm$ 2,1	96,0 $\pm$ 4,3
2,4,6-TBA	30,0	110,8 $\pm$ 3,4	102,7 $\pm$ 12,0
	150,0	83,0 $\pm$ 1,8	87,3 $\pm$ 4,8
	300,0	97,0 $\pm$ 2,7	94,1 $\pm$ 3,9
2,4,6-TBP	37,5	106,7 $\pm$ 8,7	97,1 $\pm$ 10,3
	187,5	85,2 $\pm$ 4,4	82,9 $\pm$ 5,6
	375,0	88,2 $\pm$ 5,3	93,2 $\pm$ 6,1
PCP	37,5	96,8 $\pm$ 5,1	92,5 $\pm$ 10,3
	187,5	85,3 $\pm$ 4,3	87,9 $\pm$ 6,2
	375,0	99,5 $\pm$ 2,6	96,8 $\pm$ 5,0

\* n= 6.



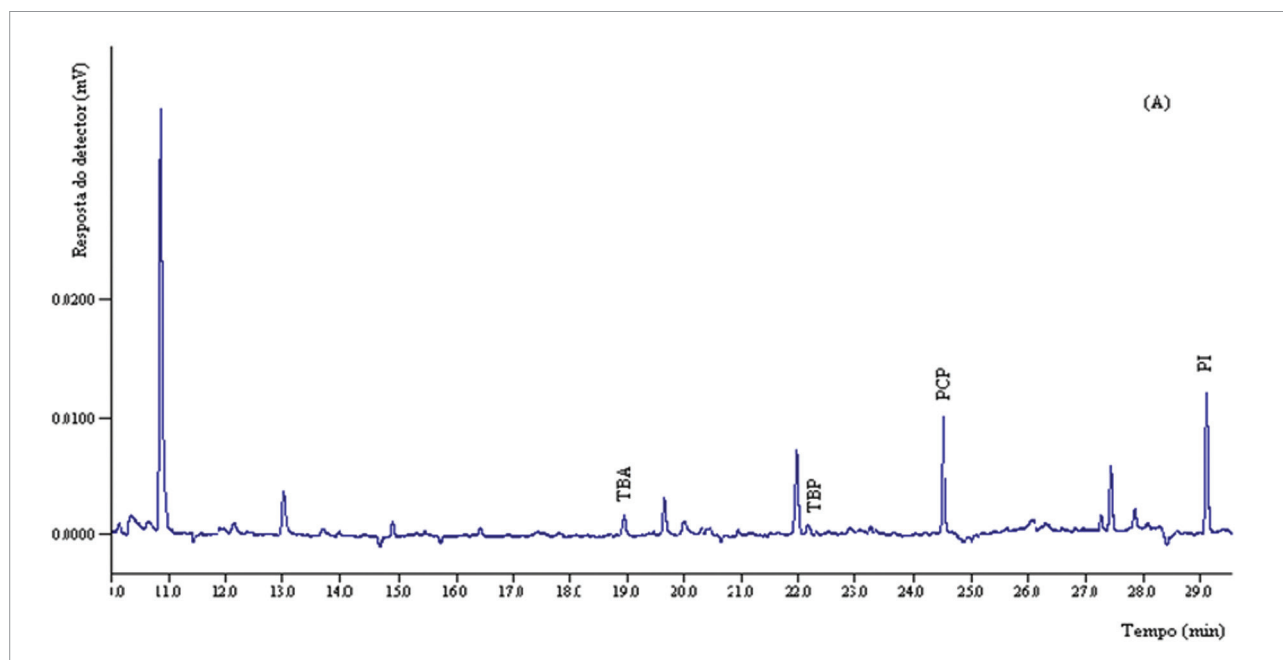


Figura 3. Cromatograma obtido por GC-ECD para a amostra de comerciais de fertilizante orgânico FO 6.

Tabela 3. Concentração dos compostos estudados encontrados em três amostras comerciais de fertilizante orgânico.

Amostra	2,4,6-TBA ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	2,4,6-TBP ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	PCP ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )
FO 6	< LOQ	< LOD	128,8 $\pm$ 7,2
FO 7	61,6 $\pm$ 2,7	444,4 $\pm$ 36,3	1295,5 $\pm$ 164,5
FO 8	< LOD	155,2 $\pm$ 4,0	691,8 $\pm$ 77,3

n= 6.

de repetitividade (interdia) e de precisão intermediária (intradia) do método ( $RDS_{\text{pim}}$ ). Os resultados de exatidão (recuperação) e precisão (RSD) dos compostos são satisfatórios para todos os níveis de concentração e ensaios pois estão dentro dos valores aceitáveis, conforme descrito recomendado para métodos cromatográficos aplicados na determinação de resíduos de pesticidas<sup>[25]</sup>, os quais devem estar entre 70 e 120%, com valores de  $RSD \leq 20\%$ .

### 3.4. Aplicação do método desenvolvido

O método desenvolvido foi aplicado em oito amostras comerciais de fertilizante orgânico. A aplicação do método desenvolvido não apresentou dificuldades, pois durante as etapas de desenvolvimento e validação empregou-se amostra real para os testes de recuperação

dos compostos. A Tabela 3 apresenta os valores de concentração, em  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , e RSD% obtidos em três amostras que apresentaram contaminação. Nas demais amostras os compostos estudados não foram detectados. Apenas os compostos 2,4,6-TBA, 2,4,6-TBP e PCP foram quantificados nas amostras analisadas.

A Figura 3 apresenta o cromatograma obtido por GC-ECD para uma amostra de comerciais de fertilizante orgânico que apresentou resíduos de TBA, TBP e PCP.

## 4. Conclusão

Nenhum trabalho referente à análise de resíduos de organoalogenados em fertilizante orgânico foi encontrado na literatura. Assim, foi desenvolvido e validado um método para a determinação simultânea dos 5 compostos organoalogenados (2,4,6-tricloroanisol, 2,4,6-triclorofenol, 2,4,6-tribromoanisol, 2,4,6-tribromofenol e pentaclorofenol) em amostras de fertilizante orgânico. As etapas de extração, limpeza do extrato e derivação mostraram-se adequadas à matriz e a quantificação utilizando GC-ECD forneceu resultados com boa precisão e sensibilidade. Os parâmetros avaliados durante a etapa de validação do método foram considerados satisfatórios. A determinação

por GC-ECD exigiu a limpeza dos extratos para reduzir as interferências provenientes da matriz, mas isso não acarretou perdas significativas dos analitos. O emprego de anidrido acético facilita a etapa de derivação dos compostos fenólicos permitindo uma melhor separação e resposta cromatográfica. A determinação com ECD é seletiva e de elevada sensibilidade, permitindo a quantificação dos analitos em baixas concentrações.

Avaliando-se os resultados obtidos na aplicação do método para amostras comerciais de fertilizante orgânico, conclui-se que a presença da madeira tratada com compostos organoalogenados em formulações de

adubos pode provocar a contaminação dos mesmos. Levando-se em consideração a grande estabilidade e resistência dos compostos organoalogenados em matrizes ambientais, pode-se concluir também que os produtos cultivados com tais fertilizantes estão sendo expostos a concentrações consideráveis de contaminantes prejudiciais à saúde.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) o apoio financeiro e as bolsas concedidas.

## References

- [1] Kiehl, E.J. Fertilizantes orgânicos. Piracicaba, Editora Agronômica Ceres Ltda, 1985. 492p.
- [2] União Brasileira de Avicultura - UBABEF. Relatório anual 2014. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/files/publicacoes/8ca705e70f0cb110ae3aed67d29c8842.pdf> Acesso em: 28 de setembro de 2015.
- [3] Miele A, Milan PA. Composição mineral de cama de aviário de frangos de corte e sua utilização na adubação de vinhedos. *Pesq. Agropec. Bras.* 18 (1983) 729-733.
- [4] Kiehl EJ. Fertilizantes Organominerais. Piracicaba: Ceres, 1993. 189p.
- [5] Sgai RD. Fatores que afetam o tratamento para preservação de madeiras. Dissertação de Mestrado, Campinas: UNICAMP, 2000. 109f.
- [6] Eaton RA, Hale MDC. *Wood: Decay, Pests and Protection.* 1993. 253p.
- [7] FAO. *Productos quimicos.* 1998. Disponível em: [http://www.pic.int/es/viewpage.asp?Id\\_Cat=92&mTitre=PRODUCTOS+QU%CDM/COS](http://www.pic.int/es/viewpage.asp?Id_Cat=92&mTitre=PRODUCTOS+QU%CDM/COS).
- [8] Mardones C, von Baer D, Hidalgo A, Contreras A, Sepúlveda C. Determination of pentachlorophenol and tribromophenol in sawdust by ultrasound-assisted extraction and MEKC. *Journal of Separation Science* 31 (2008) 1124-1129.
- [9] Wilkins JPG, Yorke CP, Tinkler MR. Investigating the Use of Deuterodiazomethane Derivatization for Enhancing Trace Gas Chromatography/Mass Spectrometry Determination of Halophenols in the Presence of Haloanisoles. *Rapid Comm. Mass Spectr.* 11 (1997) 206-208.
- [10] Hajslová J, Kocourek V, Zemanová I, Pudil F, Davidek J. Gas chromatographic determination of chlorinated phenols in the form of various derivatives. *J. Chromatogr. A* 439 (1988) 307-326.
- [11] Baird C. *Química Ambiental.* Maria Angeles Lobo Recio e Luiz Carlos Marques Carrera (Trad.). 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. p. 319-359.
- [12] Tomlin CDS. *The Pesticide Manual;* BCPC Publications, Berkshire, UK, 2000, 1276 pp.
- [13] World Health Organization (WHO). *Addendum v. 2,* 2nd ed. Geneva: WHO, 1998. p. 229-243.
- [14] World Health Organization (WHO). *Guidelines for Drinking-Water Quality: Health Criteria and Other Supporting Information.* v. 2, 2nd ed. Geneva, 1996. p. 828-837.
- [15] BRASIL, 2011. Portaria Nº 2.914 do Ministério da Saúde, de 12 de dezembro de 2011.
- [16] Buhr A, Genning C, Salthammer T. Trace analysis of pentachlorophenol (PCP) in wood and wood-based products--comparison of sample preparation procedures. *Fresenius J. Anal. Chem.* 367 (2000) 73-78.
- [17] Kusumi TA, Lemes VRR, Rocha SB, Barretto HHC. Resíduos de pentaclorofenol em água de consumo de uma região próxima a madeireira. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 63 (2004) 31-34.
- [18] Leblanc YG, Gilbert R, Hubert J. Determination of Pentachlorophenol and Its Oil Solvent in Wood Pole Samples by SFE and GC with Postcolumn Flow Splitting for Simultaneous Detection of the Species *Anal. Chem.* 71 (1999) 78-85.
- [19] Buhr A, Genning C, Salthammer T. Trace analysis of pentachlorophenol (PCP) in wood and wood-based products - comparison of sample preparation procedures. *Fresenius J. Anal. Chem.* 367 (2000) 73-8.
- [20] Goewie CE, Berkhof RJ, Maris FA, Treskes M, Brinkman UA. Determination of pentachlorophenol in wood samples using liquid chromatography with UV absorbance, amperometric and electron-capture detection. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 26 (1986) 305-318.
- [21] Mardones C, Von Baer D, Silva J, Ruff A, Gutierrez L, Berg A. Tribromophenol and pentachlorophenol uptake from sawdust to horticultural products. *Food Additives & Contaminants: Part A* 26 (2009) 1362-1371.
- [22] Mardones C, Palma J, Sepúlveda J, Alex Berg A, von Baer D. Determination of tribromophenol and pentachlorophenol and its metabolite pentachloroanisole in *Asparagus officinalis* by gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Separation Science* 26 (2003) 923-926.
- [23] Augusto F. Sub-produtos de desinfecção de águas potáveis: antigos e novos desafios. *Scientia Chromatographica* 2 (2010) 59-69.
- [24] Martens D, Prachar V, Amberg S, Oxynos K, Schramm K-W, Kettrup A. Determination of Pentachlorophenol (PCP) in Samples of the Environmental Specimen Bank Using Isotope Dilution. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 68 (1997) 415-427.
- [25] SANCO. Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Commission of the European communities. SANCO/12571/2013.