



Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP

Instituto de Química – IQ

Laboratório de Química Ambiental – LQA

CADERNO TEMÁTICO

VOLUME 02

O EMPREGO DE TÉCNICAS ANALÍTICAS NA ESPECIAÇÃO DE METAIS PESADOS E A SUA IMPORTÂNCIA PARA O ESTUDO DO AMBIENTE

Autores: Márcia Cristina Bisinoti (IQ/Unicamp)

Wilson de Figueiredo Jardim (IQ/Unicamp)

Campinas, Julho de 2004

RESUMO

A determinação das espécies orgânicas de metais pesados nas diversas matrizes ambientais é de extrema importância para a avaliação da contaminação de cada ambiente, uma vez que a determinação da concentração de metal total não é suficiente para prever a sua toxicidade. Neste trabalho foi realizada uma revisão dos principais métodos e técnicas analíticas descritas na literatura para este fim. Foi observado que apesar das técnicas eletro e espectroquímicas terem menor custo, só é possível determinar a concentração total do composto orgânico, não sendo possível realizar a especificação de sua forma orgânica. O emprego de técnicas cromatográficas e principalmente hífenadas torna possível a especificação dos compostos orgânicos de metais, porém seu custo é mais elevado. Dentre as técnicas disponíveis, as hífenadas têm apresentado grande êxito, sendo que ainda há muito a ser desenvolvido neste ramo. Apesar do desenvolvimento de novos métodos de especificação, na maioria das vezes os valores encontrados nas amostras ambientais estão abaixo dos limites de detecção dos métodos analíticos disponíveis. Um outro fator que deve ser considerado é a complexidade de cada matriz ambiental, sendo que, para a avaliação da contaminação e ecotoxicidade de determinado ambiente é de extrema importância a realização de uma amostragem representativa, uma extração completa do analito de interesse e quantificação por um método que apresente baixo limite de detecção, elevada seletividade e baixo custo.

Palavras-chave: especificação de metais, técnicas analíticas, qualidade ambiental.

INTRODUÇÃO

A industrialização aliada ao rápido crescimento populacional, bem como de algumas atividades agrícolas, aumentou os riscos de contaminação de ambientes naturais, como água, solo, ar e principalmente sedimento nos últimos 150 anos [1]. Os problemas de contaminação com metais pesados* tiveram início na idade Média com o início das atividades mineradoras, mas foi acelerado no início do século XIX com o processamento de metais em indústrias químicas e de fundição [2].

A determinação da concentração total de um metal em uma dada matriz ambiental é importante, porém não é suficiente para prever a ecotoxicologia deste no ambiente. Com exceção do As e Si, as formas orgânicas de metais são bem mais tóxicas do que o metal na sua forma inorgânica. Os metais pesados mais investigados em estudos de especiação no ambiente são o Sn, Pb, Hg e As, devido suas formas orgânicas serem tóxicas para o sistema nervoso central [3, 4].

O composto orgânico de metal pode ser introduzido no ambiente de maneira direta. Isto ocorre com os compostos orgânicos de estanho, trimetilestano [TMT] e trifenilestano [TPT] principalmente, que foram e ainda são empregados em pintura anti-encrustações, pesticida na agricultura, nas indústrias de polímeros [estabilizadores de PVC], preservação da madeira, tratamento de vidro, sendo que para os dois primeiros fins, seu uso é restrito ou proibido. Outra classe de composto que teve sua entrada no ambiente de maneira semelhante foram os organomercuriais (uso proibido nos dias atuais) e os compostos orgânicos do chumbo, como o tetraetilchumbo que foi empregado (não mais no Brasil) como aditivo na gasolina. No entanto, outra rota indireta de entrada dos compostos organometálicos no ambiente é através da bioconversão da forma inorgânica do metal, que pode ocorrer com o Hg, Se, As e Pb [5, 6].

O desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de espécies orgânicas de metais em amostras ambientais não é trivial devido aos problemas relacionados à amostragem, à extração e ao método de quantificação final utilizado.

*Recentemente a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) publicou um artigo [7] no qual foram discutidos os vários empregos do termo metal pesado pela comunidade científica. Neste caderno temático o termo metal pesado está definido com base na densidade.

A etapa de preparo e quantificação dos compostos orgânicos de metais envolve muitas etapas analíticas como extração, derivatização, separação e detecção, e todas estas são fontes de erro, pois para alguns destes compostos pode ocorrer metilação acidental. Além disto, durante esta etapa pode ocorrer baixa recuperação do analito na extração, inibição da reação de derivatização, separação incompleta da fração orgânica e inorgânica, interferência na detecção, além de muitas outras [7-11].

Outro grande problema é que os compostos orgânicos de metais se apresentam no meio ambiente em concentrações extremamente baixas. Desta maneira, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos analíticos cada vez mais seletivos, precisos e sensíveis [12]. No entanto, a maioria dos métodos não atende às necessidades ambientais, necessitando de várias etapas de preparo de amostra, além da adição de padrão para que se possa quantificar de modo confiável o composto de interesse. Entre as técnicas analíticas empregadas para a especiação de formas orgânicas de metais pesados, estão a cromatografia gasosa [GC], a cromatografia líquida [LC] e recentemente a eletroforese capilar [CE].

Além destas, as técnicas hífenadas, bastante difundidas na década de 90 têm sido de grande interesse e vêm obtendo grande êxito na especiação de compostos orgânicos de metais. Estas técnicas consistem no acoplamento de dois equipamentos diferentes, buscando unir requisitos essenciais à quantificação como sensibilidade, seletividade e rapidez, como é o caso de HPLC-AAS (Cromatógrafo Líquido acoplado a Espectrometria de Absorção Atômica); GC-ICP-MS (Cromatógrafo à Gás acoplado ao Espectrômetro de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado) e GC-MS/HPLC-MS (Cromatógrafo a Gás ou Cromatógrafo Líquido acoplado ao Espectrômetro de Massa). Nestes tipos de acoplamentos as estratégias de análise em fluxo são convenientes para executar todas as etapas necessárias num menor intervalo de tempo, evitando riscos de contaminação.

Neste trabalho serão apresentadas as técnicas analíticas empregadas na especiação de compostos orgânicos de metais, tais como, Sn, Pb, Se, As e Hg. Além disto, serão apresentadas algumas aplicações destes enfatizando a importância da especiação dos compostos orgânicos de metais no estudo do ambiente.

1. IMPORTÂNCIA DA ESPECIAÇÃO DE METAIS PESADOS NO AMBIENTE

A importância de determinar as espécies orgânicas de metais no ambiente se deve à necessidade de avaliar o impacto que a forma orgânica do metal causa ao meio ambiente, bem como avaliar sua toxicologia clínica e ecológica, seus efeitos para saúde humana (medicina, farmácia, alimento e indústria) e também ajudar a desenvolver estratégias de descontaminação de ambientes contaminados [13].

As formas orgânicas de metais podem acumular-se nos sedimentos, o que é observado principalmente para o Hg e o Sn, os quais podem apresentar o fenômeno conhecido como biomagnificação, em que a concentração destas espécies sofre um aumento progressivo ao longo da cadeia alimentar ecológica [6]. Por outro lado, as formas orgânicas dos metais podem ser transformadas no ambiente para formas menos tóxicas pelas bactérias, bem como ser degradados pela luz solar.

O grau de contaminação de cada ambiente depende da especiação de cada metal ali presente, e para os metais Pb, Hg e Sn a toxicidade varia na seguinte ordem $MR_4 > MR_3^+ > MR_2^+ > MR^+ > M^+$, onde M é o metal e R é um grupo aril ou alquil. Dentre os três, os compostos orgânicos do estanho são consideravelmente menos tóxico que os similares compostos orgânicos do chumbo e compostos orgânicos do mercúrio [5].

A persistência dos compostos orgânicos do estanho no ambiente se deve ao caráter lipofílico, podendo acumular-se em bivalves acima de $5\mu\text{g/g}$ de tributilestanho (TBT). Peixes e crustáceos acumulam menos por apresentarem um mecanismo enzimático de degradação do TBT. Uma vez no ambiente, o TBT pode degradar para formas menos substituídas e finalmente para Sn (IV). Há evidências de que o TBT e o trifenilestanho (TPT) podem causar alteração no sistema endócrino, no nível de 1 ng/L [4].

O chumbo no ambiente pode ser proveniente da mineração, de refinarias, baterias, da fundição de chumbo e de outros metais. Os compostos orgânicos do chumbo começaram a ser empregados como aditivo da gasolina nos EUA em 1923, mas hoje estão em declínio ao redor do mundo. Uma mistura de tetrametilchumbo (Me_4Pb), tetraetilchumbo (Et_4Pb), e compostos intermediários de etil e metil substituídos (EtMe_3Pb , $\text{Et}_2\text{Me}_2\text{Pb}$ e Et_3MePb) foram adicionados na gasolina para

prevenir a combustão incompleta da mistura gasolina/ar, porém desde a década de 70 estão proibidos no Brasil [5, 13].

O selênio, diferentemente dos outros metais, é um elemento essencial à saúde humana. Ele protege as células do organismo contra danos oxidativos, catalisa as reações do mecanismo intermediário, bem como apresenta ação inibidora do efeito tóxico de metais pesados como As, Cd, Hg e Sn. Valores de concentrações acima de 50-200g por dia são consideradas tóxicas mesmo na forma inorgânica [14, 16]. Os compostos de metilselênio (MSe) são análogos aos de enxofre e apresentam uma função importante no ciclo biogeoquímico global do elemento. As formas mais tóxicas do Se são as formas orgânicas como trimetilselênio (TMSe) presente na água e urina, bem como as formas orgânicas voláteis dimetilselênio (DMSe) e dimetildiselênio (DMDSel) produzidos através da biometilação do Se inorgânico [13,17].

Os compostos de arsênio (As) podem ser empregados como preservantes ou biocidas, e serem lançados no ambiente como sub-produto da mineração e fundição, além da queima de combustível fóssil. As espécies metiladas como ácido metilarsênio (MMA) e ácido dimetilarsênio (DMAA), são produzidas pelas bactérias, fungos e fitoplânctons. No entanto, as formas metiladas do arsênio como citadas anteriormente são menos tóxicas para os animais do que as orgânicas, sendo que o As é conhecido por ser cancerígeno aos seres humanos [6].

O mercúrio apresenta-se na natureza na forma elementar e como sulfeto de mercúrio, sendo proveniente do solo, de minas, de atividade garimpeira, de atividade industrial de lâmpadas, baterias, termômetros, da indústria cloro-alcáli, e outros. O mercúrio inorgânico é a forma predominante no ambiente, mas a formação do metilmercúrio (forma orgânica mais tóxica entre os compostos orgânicos de metais) pela metilação via processos bióticos e abióticos é bem conhecida. Na década de 50 ocorreu em Minamata o maior acidente já conhecido de contaminação por metilHg, o qual ocasionou mais de 1552 óbitos, além de milhares de pessoas contaminadas [5, 6].

Quanto à ecotoxicologia, o metilHg é o composto organometálico mais tóxico existente, sendo a dose letal (DL-50) para ratos de 1,95 mg/kg [18]. Sua meia-vida no corpo humano é de 70 dias, que é bem maior que a do mercúrio inorgânico

devido à afinidade pelos átomos de enxofre e grupos sulfídricas e sua maior solubilidade lipídica. Conseqüentemente o metilHg pode se acumular no organismo em uma concentração bem mais elevada que sua dose diária consumida. A Organização Mundial da Saúde concluiu que níveis de 10-20 ppm de metilHg no cabelo de mulheres grávidas podem afetar o desenvolvimento do feto. O dimetilHg (outro composto orgânico de mercúrio de elevada toxicidade) é volátil e, portanto, raramente encontrado em corpos aquáticos, solos ou sedimentos. Recentemente (1997) uma pesquisadora americana trabalhando na Universidade de Dartmouth, EUA, foi vítima fatal da contaminação com dimetilHg em consequência da proteção inadequada à exposição dérmica deste composto [6].

2. TÉCNICAS ANALÍTICAS EMPREGADAS NA ESPECIAÇÃO DE FORMAS ORGÂNICAS DE METAIS PESADOS NO AMBIENTE.

Para o sucesso da análise química, além da escolha da técnica analítica é imprescindível que seja feita uma correta amostragem, transporte e armazenamento da amostra. Outro fator de extrema importância é o preparo da amostra, o qual consiste na primeira etapa de uma análise química, sendo responsável pelas maiores fontes de erro como perdas do analito, contaminações pelo ambiente, extração incompleta do analito da amostra, entre outras.

A extração dos compostos orgânicos de metais de matrizes ambientais pode ser feita empregando solventes polares, apolares, pouco polares, fluido supercrítico, hidrólise enzimática e básica, além de agentes complexantes. A extração muitas vezes também é uma pré-concentração, a qual pode ser feita de várias formas, tais como pela extração em fase sólida-SPE, microextração em fase sólida-SPME, resinas trocadoras iônicas e catiônicas, etc. Finalmente, em muitos casos pode ser necessária uma etapa de derivatização [18].

A escolha do método de preparo de amostra e do equipamento a ser utilizado para quantificação final dependerá de uma série de fatores, tais como: disponibilidade, adaptabilidade, capacidade total do método, tempo de análise, facilidade de recuperação, custos envolvidos, seletividade ou especificidade, sensibilidade, exatidão, precisão, repetibilidade, reprodutibilidade, robustez, faixa linear, limites de detecção e quantificação, dentre outros.

Hoje, há um elevado número de técnicas analíticas disponíveis para realizar a especiação de formas orgânicas de metais pesados no ambiente, aqui exemplificado para o estanho. A seguir encontram-se descritas as principais técnicas analíticas empregadas para este fim.

2.1 Técnicas Eletroanalíticas

No campo da eletroanalítica, a voltametria apresenta inúmeras vantagens, entre elas o baixo custo, a sensibilidade e seletividade, e no caso da Redissolução Anódica ou Catódica, a capacidade multielementar. A maioria dos trabalhos publicados enfoca a especiação do metal na forma inorgânica (estado de oxidação), e são poucos os trabalhos que tentam o emprego deste método para analisar a especiação de compostos orgânicos de metais [20].

Oschsenkühn-Petropoulou e Tsopeles [21] investigaram a determinação de espécies orgânicas e inorgânicas de selênio (Se(IV), Se(VI), Se-Cyst, $(\text{CH}_3)_2\text{Se}_2$) usando a Voltametria de Redissolução Catódica de Pulso Diferencial (DPCSV). Este foi um dos poucos trabalhos encontrados na literatura empregando esta técnica para compostos orgânicos de metais. A determinação do composto orgânico de selênio foi realizado em meio ácido/orgânico composto por diclorometano, etanol e HCl 0,03 mol/L, o tempo de deposição foi de 180s a -50 mV com agitação e de 20s a -100 mV sem agitação.

O método proposto mostrou-se eficaz na determinação das espécies de selênio, alcançando sensibilidade de $0,2 \mu\text{g/L}$ (comparável e até menor que a maioria das outras técnicas empregadas para este mesmo fim) e desvio padrão menor que 3% entre as replicatas. A recuperação do material no material certificado SRM 1633a (cinza) ficou entre 90 e 103%. Os valores obtidos foram comparados com o método de ICP-AES após extração em resina trocadora aniônica (SAX), e foram similares. O método apresentou inúmeras vantagens como baixo custo, ampla faixa linear, reprodutibilidade, exatidão.

2.2 Técnicas Espectroquímicas

Os métodos espectrométricos de absorção estão entre os procedimentos mais sensíveis e seletivos para determinação de metal e são particularmente atrativos

para estes estudos, uma vez que este equipamento é comum em muitos laboratórios. Recentemente, a emissão atômica, devido ao desenvolvimento dos sistemas de atomização por plasma, têm sido muito empregada para os estudos de especiação de formas orgânicas de metal [20].

Bermejo-Barrera e colaboradores [22] determinaram MBT, DBT e TBT em amostras de água do mar utilizando ETAAS (Espectrofotômetro de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica). A extração e pré-concentração das espécies orgânicas de estanho foram realizadas através da passagem da amostra por uma coluna contendo uma resina de amberlite (XAD-2). Realizou-se a otimização do método estudando o melhor eluente, pH e temperaturas de pirólise e atomização. O limite de detecção (LD) para a soma dos compostos orgânicos de estanho foi de 13 ng/L e o limite de quantificação (LQ) de 45 ng/L. Por este método não é possível realizar a especiação do composto, sendo determinado apenas à quantidade de composto orgânico total. O método foi aplicado em amostras de água do mar provenientes de portos de Galícia (Espanha), mas os resultados estiveram abaixo do LD, sendo encontrado apenas Sn inorgânico na faixa de 0,15 µg/L.

Em outro trabalho [24], também empregando ETAAS para determinação de composto orgânico do estanho em sedimento, obteve-se um LD de 0,08 µg/g e recuperação de 82% (CRM (PACS-2)). O método foi aplicado para quantificação em amostras de sedimentos da Gipuzkoa (Espanha) com valores variando de 0,7-7,7 mg/kg.

O emprego de FI-HG-AAS (Espectrofotômetro de Absorção Atômica com Geração de Hidreto e Injeção em fluxo Direto) para determinação de trimetilselênio em água e urina foi avaliado recentemente por Chatterjee e Shibata [25]. O LD do método foi de 1 µg/L e faixa linear até 30 µg/L e as recuperações foram de 89-95% para água e 50-58% para urina. O método de Geração de Hidreto é baseado na redução do elemento de um estado de oxidação maior para o hidreto gasoso gerado com NaBH₄. Outro método empregando Injeção em Fluxo foi desenvolvido para a determinação de compostos orgânicos de chumbo (TMT, TEL e Pb²⁺) empregando um Espectrofotômetro de Absorção Atômica de Chama com Injeção em Fluxo (FI-FAAS) após extração e pré-concentração em resina de amostras líquidas sintéticas, obtendo LD na faixa de 1-4 µg/L [26].

Coelho *et alii* [27] empregando a técnica GFAAS conseguiu quantificar TBT e DBT em amostras de água, sedimentos e moluscos. O método descrito apresentou LD de 1 ng/L para água, 0,01 mg/kg para tecidos de moluscos e 0,005 mg/kg para sedimento. Um dos grandes problemas das técnicas analíticas empregadas para a especificação de formas orgânicas de metais é a necessidade de adição de padrão para que seja minimizado o efeito de matriz, tornando possível à quantificação do composto.

Dos poucos trabalhos encontrados na literatura sobre a determinação simultânea de compostos orgânicos de estanho através da Espectrometria de Absorção Molecular em Fase Gasosa com Geração de Hidreto (GPMAS), em amostra de água sintética. Esta técnica é baseada nas medidas de absorção de espécies moleculares na fase gasosa, geradas a temperatura ambiente. Considerando que os espectros de absorção obtidos das espécies orgânicas são muito semelhantes, é imprescindível o emprego de métodos multivariados como a regressão linear múltipla (MLR), regressão de componentes principais (PCR), mínimos quadrados parciais (PLS) ou outros. Neste trabalho empregou-se PCR e PLS e foi demonstrado que não houve diferença significativa entre os dois métodos estatísticos aplicados [28].

Com base nos trabalhos apresentados até o momento observa-se a possibilidade de fazer a extração seletiva das formas orgânicas de metais na presença do metal na forma inorgânica, e em seguida, quantificá-lo sem qualquer separação cromatográfica, ou simplesmente quantificar a forma orgânica total. É importante ressaltar, como já citado anteriormente, que o preparo de amostra será a etapa fundamental para a obtenção de sucesso nestes métodos, sendo que alguns autores questionam a seletividade dos métodos empregados para a extração do composto orgânico de metal e quantificação sem separação cromatográfica [29]. Convém ressaltar que esta é uma alternativa muito importante, principalmente quando o laboratório dispõe de material referência certificado para avaliar a exatidão do método proposto e não dispõe de técnicas cromatográficas. Desta maneira, é imprescindível a quantificação destes compostos nas diversas matrizes ambientais, devido à escassez dos dados existentes sobre o estoque destes compostos orgânicos de metais no ambiente.

2.3 Técnicas cromatográficas de separação

A maior parte dos métodos empregados na análise da especiação de formas orgânicas de metais é baseado nos métodos de separação cromatográfica antes da detecção. Entre as técnicas de separação comumente empregadas para a análise da especiação de compostos orgânicos de metais encontra-se GC (60% dos métodos disponíveis), HPLC (25%) e CE (15%) já incluso as técnicas hífenadas que serão abordadas no item 3.4.

2.3.1 Cromatografia Gasosa (GC)

A GC possui inúmeras vantagens, dentre elas, elevada resolução, alta eficiência na introdução de amostra, baixo ruído de fundo devido à elevada pureza do gás inerte empregado como fase móvel (FM) e possibilidade de emprego de padrão interno. Desvantagens típicas do emprego da GC para especiação de composto orgânico de metais estão no fato destes se apresentarem na forma moderadamente iônica, de baixa estabilidade térmica e alta reatividade, sendo então necessário realizar uma etapa de derivatização anterior à análise, que pode afetar a exatidão, a precisão, particularmente para análise da especiação de amostras complexas, tais como as ambientais ou biológicas (13, 18).

Para transformar o composto orgânico de metal na forma volátil pode-se realizar a alquilação com o reagente de Grignard, que é o mais comum, num procedimento tedioso e demorado. A etilação com o tetraetilborato de sódio tem sido a proposta mais simples para a obtenção do composto orgânico do metal na forma volátil [30]. Entre os compostos orgânicos de metais, é possível separar diretamente por GC as espécies de tetraalquilchumbo em gasolina e no ambiente e os compostos de metilselênio. Eles devem ser rapidamente purgados com um gás inerte ou extraído em um solvente apolar e posteriormente dessorvidos termicamente por GC.

Os detectores comumente empregados em GC são ECD (detector de captura de elétrons), TCD (detector de condutividade térmica), FID (detector de ionização em chama), IRD (detector de infravermelho), NPD (detector nitrogênio-fósforo) e detector termiônico. Outros detectores empregados são os ópticos que medem a absorção, emissão ou fluorescência da radiação em um comprimento de onda específico.

Arambarri e colaboradores [31] determinaram estanho e suas espécies orgânicas (MBT, DBT e TBT) em sedimentos provenientes de 5 rios (Deba, Urola, Oria, Oiartzun e Bidasoa) no norte da Espanha, sendo os locais de coleta escolhidos de acordo com atividade industrial e pesqueira. A quantificação do organo-estanho foi realizada por adição de padrão seguida de extração com HCl/metanol (1:1 v/v), e derivatização com tetraetilborato de sódio. A pré-concentração foi feita com o auxílio de uma fibra de PDMS (100 µm de polidimetilsiloxano) exposta nas mesmas condições em headspace por 15 minutos, que apresenta a vantagem de não necessitar do emprego de solventes orgânicos [tóxicos]. A quantificação foi realizada por inserção da fibra em um GC-FID. A exatidão do método foi realizada pela análise do CRM [PACS-2], sendo obtido 96% de recuperação para DBT, 89% para o TBT. Em 2001 estes mesmos autores haviam publicado um trabalho empregando os mesmos sedimentos (coletados em outubro de 2000) para análise de organo-estanho por ETAAS (item 3.2), sendo os valores encontrados na mesma ordem de grandeza (organo-estanho total 1,3-9,1 mg/kg). É importante destacar que mesmo empregando GC-FID, a única diferença foi a possibilidade de especiar (TBT, DBT, MBT), não sendo possível avaliar a exatidão do método para MBT. Além disto, foi necessário empregar a técnica de adição de padrão nos dois trabalhos para conseguir quantificar os compostos analisados, uma vez que o LD estava bem acima dos valores necessários para quantificação das amostras.

2.3.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Uma técnica alternativa que não necessita de etapa prévia de derivatização é a cromatografia líquida [LC], além de ser mais rápida e simples do que GC [32]. O mais usado é a LC de troca iônica, sendo o ponto crítico relacionado à força da interação entre os compostos monoorgânicos de metais com a fase estacionária, sendo que a melhor separação entre o mono, di e tri derivados é obtida por variação do complexante da fase móvel ou o pH do gradiente de eluição. A LC de fase reversa tem sido aceita e emprega fase móvel relativamente simples [13, 32].

Os detectores usados atualmente em HPLC não são versáteis nem universais, e muitas vezes também não apresentam sensibilidade elevada quando comparados com os utilizados em GC. Entretanto, oferecem uma ampla faixa de aplicação. Dentre

eles, os mais empregados são: detector por absorvância no UV-VIS, detector por fluorescência (FL), detector por índice de refração (RI), detector eletroquímico (ED) e detector por condutividade elétrica (CE).

Da Silva *et alii* [34] determinaram formas orgânicas de mercúrio ([MeHg, EtHg, PhHg) em amostra de água natural após complexação das espécies orgânicas com pirrolidino ditiocarbamato [PDTC] e separação usando como fase móvel uma mistura de etanol-água [75:35] contendo KNO₃ como eletrólito suporte. A quantificação foi realizada por LC em fase reversa. Os LD variaram de 30-80 µg/L (para 100 mL de amostra) para os compostos orgânicos de mercúrio. Para aplicação em amostra natural (coletadas no Rio Jarama, Espanha), foi necessário pré-concentrar a amostra usando uma coluna Sep-pack C₁₈. A exatidão do método foi determinada por recuperação de padrão adicionada à amostra e variou de 96-103%.

2.3.3 Eletroforese Capilar (CE)

Uma técnica promissora para a determinação de compostos orgânicos de metais é a CE [35]. Ela é uma técnica de separação recente e baseada na migração diferencial de analitos carregados ao longo de um capilar preenchido com um eletrólito condutor. A migração é dependente dos efeitos combinados dos fluxos eletroforéticos e eletroosmótico gerado pela aplicação do campo elétrico ao capilar. Entre os diferentes modos de CE, destacam-se a Eletroforese de Zona Capilar (CZE) e a Cromatografia Capilar Eletrocínética Micelar (MEKC) [36].

A separação de compostos orgânicos de metais por CE precisa ser otimizada, uma vez que diferentes espécies de alquil e aril substituídos apresentam mobilidade similar. Isto pode ser feito pela seleção adequada de um aditivo com um reagente complexante fraco como a β-ciclodextrina (CD), que é capaz de formar complexos com as espécies orgânicas de metais. Além disto pode ser variado o pH e o tipo de contra-íon no tampão eletroforético. As principais vantagens são a simplicidade, velocidade de análise e pouco problema de efeito de matriz [36].

A determinação simultânea de formas orgânicas de chumbo (TEL, DPL, TML), mercúrio (PHg) e selênio (Pse), (DPSe) tem sido feita em amostra de água superficial (1,5L), empregando o modo de injeção denominado de "*Field-Amplified Sample*

Injection" - FASI, e extração com agentes complexantes para detecção por CE. Os LD foram da ordem de 0,3 µg/L e recuperações de 95% [37].

2.4 Técnicas Hifenadas

A maioria dos estudos tem focado a aplicação de técnicas hifenadas para a especiação de compostos orgânicos de metais, no entanto, as aplicações em amostras naturais ainda são bem escassas. O primeiro acoplamento realizado foi do GC com o Espectrômetro de Massa em 1957, feito por Holmens e Morrel. Este consta de um cromatógrafo com uma interface para ligação dos dois sistemas, uma câmara de ionização, um analisador de massa e um sistema para a detecção dos íons. A maior dificuldade no acoplamento é a redução da pressão de saída da coluna (com vazão do gás de até 50 mL/min) para valores menores que 10^{-3} Pa (vácuo) na câmara de ionização para GC [38].

O acoplamento do LC/MS começou a ser desenvolvido no início da década de 80. Basicamente, ele opera de maneira similar ao GC/MS, com uma única diferença: a ionização ocorre na interface. Por este motivo, seu desenvolvimento foi retardado, uma vez que havia uma enorme dificuldade no acoplamento de um HPLC, operando em altas pressões e contendo um volume da fase móvel relativamente grande que deveria ser vaporizado na entrada do espectrômetro sem que fossem geradas interferências durante a etapa de ionização. O LC/MS apresenta excelente sensibilidade, ampla faixa linear, elevada velocidade de análise, uma variedade de FM e fases estacionárias (FE) disponíveis, possibilidade de separação a temperatura ambiente, redução das perdas durante o processo de separação e habilidade para executar análises isotópicas [32].

Uma recente revisão na literatura mostra que a maior parte dos trabalhos sobre especiação das formas orgânicas dos metais explora as técnicas hifenadas. Desta maneira, algumas foram selecionadas e apresentadas na Tabela 1, juntamente com algumas características e referências recentes. Fazendo uma análise crítica dos trabalhos contidos na Tabela 1, conclui-se que de todas as técnicas hifenadas apresentadas, as que apresentam menores LD são LC-ESMS, GC-ICPMS, GC-FPD e GC-AFS, ou seja, empregando MS, FPD ou para as espécies de Hg o emprego de detector de Fluorescência é excelente devido à seletividade deste para as espécies

de Hg. No entanto, em nenhum destes métodos os valores de LD estão próximos dos valores requeridos pelas amostras ambientais, sendo necessário, etapas de extração e pré-concentração, bem como o emprego da técnica de adição padrão para diminuir o efeito de matriz e conseguir resultados mais fidedignos. A LC-ICP-MS é uma técnica poderosa para análise da especiação de compostos orgânicos de metais e, portanto, tem chamado a atenção nestes últimos anos. No entanto, o elevado custo de aquisição faz com que haja um aumento pela procura de detectores mais baratos com a mesma sensibilidade, empregando LC.

Ainda são poucos os empregos da CE em técnicas acopladas devido à incompatibilidade das interfaces com o equipamento. Desta maneira é necessário o desenvolvimento de interfaces para CE para que novos métodos possam ser desenvolvidos e empregados na avaliação da contaminação de determinado ambiente por compostos orgânicos de metais.

No trabalho de González-Toledo *et alii* [32] foi realizada a especiação dos compostos orgânicos de estanho (TPT, TBT e tripropilestanho-TPPT) em amostra de água (proveniente do mar, da área urbana, de rio e da área agrícola) através da técnica hifenada LC-ES-MS (Cromatógrafo Líquido-Eletrospray-Espectrômetro de Massa). A pré-concentração dos analitos foi feita empregando um cartucho C₁₈ com metanol e a amostra levada a pH=2. A eluição foi feita com ácido trifluoracético em acetonitrila água (50:50, v/v), sendo o volume injetado no sistema cromatográfico de 100 µL. O método apresentou boa recuperação em todas as amostras empregadas na faixa de 80-110%. Entre os métodos apresentados na Tabela 1, esta é uma técnica promissora que após alguns aprimoramentos poderá ser aplicada no monitoramento ambiental.

3 APLICAÇÕES E IMPORTÂNCIA DA ESPECIAÇÃO DE METAIS PESADOS PARA O ESTUDO DO AMBIENTE

O conhecimento das formas orgânicas de metais no ambiente é extremamente importante pois normalmente estas espécies são neurotóxicas e possíveis interferentes endócrinos, além de ocorrerem em níveis muito baixos. Como fator complicador, são poucos os países que dispõem de uma legislação que preconize valores de referência para esta classe de compostos. Nesta realidade, o Estado se

omite da monitoração ambiental, uma omissão que pode ter um custo ambiental elevado.

Entre os poucos trabalhos recentes encontrados na literatura, destacam-se o de Godoi e colaboradores [49]. Eles realizaram um estudo da especiação de compostos orgânicos de estanho em sedimentos marinhos do estado de São Paulo (região de Cananéia, Santos, Guarujá, São Sebastião e Ubatuba) empregando GC-FPD. Os autores encontraram valores mais elevados de compostos orgânicos do estanho no mês de dezembro (90-847 $\mu\text{g}/\text{kg}$) quando comparado ao mês de abril (20-224 $\mu\text{g}/\text{kg}$) do mesmo ano, e aliaram isto ao fato de dezembro ser mês de férias e haver um aumento no número de embarcações nas regiões coletadas. Os resultados obtidos por Arambarri e colaboradores [31], como já descrito no item 3.3.1, indicaram a presença de MBT na faixa de 0,86 a 2,87 mg/kg; DBT de 0,15 a 0,71 mg/kg e TBT de 0,05 a 5,48 mg/kg em sedimentos de cinco rios na Espanha. O valor permitido para TBT em sedimentos é de 1-2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, todos com base sedimento seco. Comparando com os valores encontrados observa-se que os valores destes compostos encontrados no litoral de São Paulo são extremamente elevados. Os autores ainda afirmam que os valores encontrados são mais elevados do que os encontrados em qualquer outra área que apresentasse problemas de contaminação.

Recentemente Hsia e Liu [50] avaliaram a contaminação com MBT, DBT e TBT de ostras coletadas na costa leste de Taiwan nos meses de março, maio, agosto e novembro de 2002, empregando GC-FPD. Os resultados médios encontrados foram MBT (30 $\mu\text{g}/\text{kg}$), DBT (15 $\mu\text{g}/\text{kg}$), TBT (43 $\mu\text{g}/\text{kg}$). A avaliação ambiental dos resultados obtidos é complexa, pois ocorreu grande variação nos resultados (resultados não apresentados) para os diferentes meses, bem como para o ponto coletado. Em alguns pontos, os valores de TBT ora foram maiores e ora menores que os de DBT e MBT, ocorrendo desta maneira, variação espacial e temporal dos compostos orgânicos do estanho. Isto reflete a complexa interação que há entre taxa de absorção, metabolismo e excreção destes compostos pelas ostras.

CONCLUSÕES

A especificação de compostos organometálicos é uma necessidade atual. Este estudo é de grande importância para o entendimento do ciclo biogeoquímico dos elementos químicos, a avaliação da toxicidade e ecotoxicologia dos elementos, o controle de qualidade de produtos alimentícios e outros.

A escolha do método para determinar o composto orgânico do metal dependerá do equipamento disponível, da relação custo-benefício, da espécie a ser determinada, da concentração do analito de interesse. Para análises de rotinas as técnicas fluorimétrica ou MS podem ser usadas. Se estas técnicas não apresentarem sensibilidade suficiente, o ICP-MS pode ser empregado.

Apesar dos avanços nos métodos analíticos incluindo aí GC, HPLC e CE, a técnica que apresenta mais sucesso e é mais frequentemente usada é a GC. A explicação para isto é devido à elevada eficiência de separação, versatilidade dos métodos de detecção, estratégias de modificação dos analitos bem desenvolvidos, ampla faixa de procedimentos de extração do analito da amostra.

É importante observar que apesar da quantidade de métodos disponíveis para a especificação de compostos orgânicos de metais, muito pouco vem sendo aplicado a quantificação em amostras ambientais e pouco se conhece sobre quais regiões ou matrizes apresentam-se como fonte ou tóxico destes compostos para o ambiente.

Um problema encontrado nas extrações destes compostos das matrizes ambientais é a extração incompleta ou a conversão da espécie de interesse em outras devido ao próprio método de preparo de amostra escolhido, gerando os indesejáveis artefatos positivos ou negativos. Isto explica o porquê muitas técnicas são desenvolvidas para especificação, mas raramente são aplicadas. Outro fator é a falta de Material Referência Certificado e seu elevado custo.

É ainda importante destacar, que a escolha do método será feita de acordo com a concentração do composto orgânico de metal, do interesse do analista, do tipo de matriz, da relação custo/benefício e principalmente da infra-estrutura oferecida pelo laboratório de análise química.

Nesta área as perspectivas futuras são o emprego da SPME como método de extração e pré-concentração e das técnicas hífenadas como métodos de quantificação. Desta maneira, as pesquisas devem estar voltadas à obtenção de

métodos ideais, que sejam sensíveis, seletivos, de baixo custo e com o mínimo de etapas no preparo de amostra.

REFERÊNCIAS

1. Santoyo, E.; Santoyo-Gutiérrez, S.; Verma, S. P.; *J. Chromatogr. A* **2000**, 884, 229.
2. Vink, R.; Behrendt, H.; Salomons, W.; *Wat. Sci. Tech.* **1999**, 39, 215.
3. Hamasaki, T.; Nagase, H.; Yoshioka, Y.; Sato, T.; *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **1995**, 25, 45.
4. Templeton, D. M.; Ariese, F.; Cronelis, R.; Danielsson, L. G.; Muntau, H.; Van Leeuwen, H. P. Lobinski, R.; *Pure Appl. Chem.* **2000**, 72, 1453.
5. Connell, D. W.; *Basic Concepts of Environmental Chemistry*, CRC Press LLC, U. S. A., **1997**.
6. Baird, C.; *Environmental Chemistry*, Freeman and Company, U. S. A., **2001**.
7. Duffus, J. H.; *Pure Appl. Chem.* **2002**, 74, 793-807.
8. Quevauviller, P.; *Spectrochimica Acta Part B* **1998**, 53, 1261.
9. Alpendurada, M. F.; *Journal of Chromatogr. A* **2001**, 889, 3.
10. Prosen, H.; Zupancic-Kralj, L.; *Analytical Chemistry* **1999**, 18, 272.
11. Encinar, J. R.; Villar, M. I. M.; Santamaría, V. G.; Alonso, J. I. G.; Sanz-Mendel, A.; *Anal. Chem.* **2001**, 73, 3174.
12. Carlier-Pinasseau, C.; Astruc, A.; Lespes, G.; Astruc, M.; *J. Chromat. A* **1996**, 750, 317.
13. Lobinski, R.; Adans, F. C.; *Spectrochimica Acta* **1997**, 52, 1865.
14. Rüdél, H.; *Exotoxocology and Environ. Safety in press*.
15. Pyrzyńska, K.; *Anal. Sci.* **1998**, 14, 479.
16. Kölbl, G.; *Marine Chemistry* **1995**, 48, 185.
17. Lemly, A. D.; *Biomedical and Environmental Sciences* **1997**, 10, 415.
18. WHO-World Health Organization. **Methylmercury**. Geneva: Environment Healthy Criteria, 1990, v. 118, 144 p.
19. Pawliszyn, J.; Sampling and Sample Preparation for Field and Laboratory; Wilson & Wilson's, Amsterdam, **2002**.
20. Wang, J.; Stripping Analysis, V.C.H. Publishers, U.S. A., **1985**.
21. Oschsenkühn-Petropoulou, M.; Tsoelas, F.; *Anal. Chim. Acta* **2002**, 467, 167.
22. Arambarri, I.; Garcia, R.; Millán, E.; *Chemosphere* **2003**, 51, 643.

23. Bermejo-Barrera, P.; Gozález-Campos, G.; Ferrón-Novais, M.; Bermejo-Barrera, A.; *Talanta* **1998**, 46, 1479.
24. Arambarri, I.; Garcia, R.; Millán, E.; *Fres. J. Anal. Chem.* **2001**, 371, 955.
25. Chatterjee, A.; Shibata, Y.; *Anal. Chim. Acta* **1999**, 398, 273.
26. Baena, J. R.; Gallego, M.; Valcárcel, M.; *Spectrochim. Acta B* **1999**, 54, 1869.
27. Coelho, M. R.; Bebianno, M. J.; Langston, W. J.; *Appl. Organ. Chem.* **2002**, 16, 384.
28. Sanz-Asensio, J.; Martínez-Soria, M. T.; Plaza-Medina, M.; Clavijo, M. P.; *Talanta* **2001**, 54, 953.
29. Stewart, C.; Mora, S. J.; *Appl. Organomet. Chem.* **1992**, 6, 507.
30. Abalos, M.; Bayona, J. M.; Compañó, R.; Granados, M.; Leal, C.; Prat, M.D.; *J. Chromatogr. A* **1997**, 788, 1.
31. Arambarri, I.; Garcia, R.; Millán, E.; *Chemosphere* **2003**, 51, 643.
32. González-Toledo, E.; Campañó, R.; Prat, M. D.; Granados, M.; *J. Chromatogr. A* **2002**, 946, 1.
33. Rosenberg, E.; Kmetov, V.; Grasserbauer; *Fres. J. Anal. Chem.* **2000**, 366, 400.
34. Da Silva, M. P.; Procopio, J. R.; Hernández, L.; *J. Chromatogr. A* **1997**, 761, 139.
35. Dabek-Zlotorzynska, E.; Lai, E. P. C.; Timerbaev, A. R.; *Anal. Chim. Acta* **1998**, 359, 1.
36. Weston, A.; Brown, P. R.; HPLC and CE: Principles and Practice; Academic Press, U. S. A., **1997**.
37. Liu, W.; Lee, H.; *J. Chrom. A* **1998a**, 796, 385.
38. Scott, R. P. W.; Techniques and Practice of Chromatography, Marcel Dekker Inc., New York, USA, **1995**.
39. Borghi, V.; Porte, C.; *Environ. Sci. Technol.* **2002**, 36, 4224.
40. Vella, A. J.; Mintoff, B.; Axiak, V.; *Sci. Total Environ.* **2000**, 258, 81.
41. Albalat, A.; Potrykus, J.; Pempkowiak, J.; Porte, C.; *Chemosphere* **2002**, 47, 165.
42. Gac, M. L.; Lespes, G.; Potin-Gautier, M.; *J. Chromatogr. A* **2003**, 999, 123.
43. Cai, Y.; Jaffé, R.; Alli, A.; Jones, R. D.; *Anal. Chim. Acta* **1996**, 334, 251.
44. Bouyssiere, B.; Baco, F.; Savary, L.; Lobinski, R.; *J. Chromatogr. A* **2002**, 976, 431.

45. Montperrus, M.; Bohari, Y.; Bueno, M.; Astruc, A.; Astruc, M.; *Appl. Organ. Chem.* **2002**, 16, 347.
46. González-Toledo, E.; Compañó, R.; Granados, M.; Prat, M. D.; *Trends in Analytical Chemistry* **2003**, 22, 26.
47. Jones-Lepp, T. L.; Varner, K. E.; Hilton, B. A.; *Appl. Organ. Chem.* **2002**, 15, 933.
48. Liu, W. P.; Lee, H. K.; *Anal. Chem.* **1998b**, 70, 2666.
49. Godoi, A. F. L.; Montone, R. C.; Santiago-Silva, M.; *J. Chromatogr. A* **2003**, 985, 205.
50. Hsia, M.; Liu, S.; *Sci. Total Environ* **in press**.