

4 Especificação de Compostos Orgânicos de Estanho em Sedimentos Marinhos

A especificação química descreve as diferentes formas (espécies) em que um elemento existe num sistema. As espécies de metais em sistemas aquáticos incluem o íon livre hidratado, complexos orgânicos e inorgânicos, íons ligados às partículas sólidas, coloidais ou microorganismos. A biodisponibilidade, toxicidade e mobilidade dos íons metálicos estão diretamente ligados à sua especificação (Almeida, 2003).

O procedimento analítico utilizado para a análise de especificação de organoestânicos em sedimentos envolve etapas críticas como amostragem, armazenamento da amostra, extração (transferência de uma analito de interesse de uma matriz complexa para uma solução simples), derivação (torna o composto que se deseja determinar mais volátil) e “cleanup”, eliminação de impurezas extraídas juntamente com o(s) composto(s) de interesse, que podem interferir na qualidade dos resultados, devido a possíveis fenômenos de degradação e contaminação por reagentes (Quevauviller *et al.*, 1992).

Os métodos mais amplamente utilizados são baseados na cromatografia em fase gasosa (CG), pois apresentam maior resolução e maior versatilidade de detecção, permitindo a determinação dos compostos butílicos de estanho (Encinar *et al.*, 2002; Thomaidis *et al.*, 2001). Outra vantagem da CG é a possibilidade de utilização de vários padrões internos e sub-rogados (este último, utilizados para avaliar perdas durante a manipulação, a eficiência da extração, a conversão durante a derivação, as perdas por evaporação etc). A principal desvantagem deste método é que este requer a produção de derivados voláteis para proceder a separação (Abalos *et al.*, 1997).

Os compostos organoestânicos mono-, di- e trissubstituídos não são voláteis, e algumas formas de derivação são necessárias. A técnica mais amplamente utilizada é a formação de um derivado tetrassubstituído via reação de “Grignard”, utilizando brometo ou cloreto de etil, butil ou pentilmagnésio. (Gómez-Ariza *et al.*, 1994; Vella *et al.*, 2000).

Do ponto de vista de detecção, a cromatografia a gás é altamente versátil, podendo ser utilizado para detecção de organoestanhos os seguintes detectores: FID (detecção por ionização de chama), ECD (detecção por captura de elétrons), AAS (espectrometria de absorção atômica), FPD (detecção fotométrica de chama), AED (detecção por emissão atômica) e MSD (espectrometria de massas) (Godoi *et al.*, 2003)c. Para este trabalho foi utilizado o PFPD (detector fotométrico de chama pulsante).

4.1 Amostragem e Armazenagem

Como as concentrações ambientais de compostos organoestânicos são geralmente muito baixas (ng L^{-1} em amostra de água e ng g^{-1} em sedimentos e amostras biológicas) deve-se ter particular atenção no processo de amostragem.

As variabilidades espacial e temporal na concentração de organoestanhos devem ser levadas em conta na escolha dos pontos de amostragem (Quevauviller *et al.*, 1992). No caso da amostragem em sedimentos, somente as camadas superficiais com pouca perturbação devem ser amostradas (Mobarito, 1995).

Altas concentrações de organoestanhos podem ser encontrados na interface água-sedimento. O produto de degradação primária do TBT em sedimentos parece ser o DBT (Chiavarini *et al.*, 1991; Stang *et al.*, 1992), cuja hidrofiliidade permite que entre na coluna d'água pouco tempo depois de sua formação. O fenômeno de ressuspensão sedimentar pode conduzir a resolubilização do organoestanho adsorvido. Sedimentos coletados até uma extensão de 10 metros podem mostrar diferenças significantes em concentrações de organoestanho em locais de amostragem com grandes atividades marítimas (estaleiros e embarcações) (Chiavarini *et al.*, 1991).

Variações sazonais nas concentrações de organoestanhos freqüentemente ocorrem devido ao aumento de fontes antropogênicas durante o verão (grandes quantidades de barcos) e à extensão diferente do fenômeno de degradação entre as estações quentes e frias. Altas concentrações de organoestanho são determinadas durante a primavera e o verão (Cleary e Stebbing, 1987; Caricchia *et al.*, 1992).

O armazenamento das amostras é um dos aspectos mais críticos de todo o procedimento analítico devido ao risco de alterações físico-químicas que podem afetar a concentração destes compostos, principalmente em amostras biológicas e

de sedimento (Quevauviller e Donard, 1991; Li *et al.*, 1990; Caricchia *et al.*, 1994).

Foi observado que o TBT permaneceu por 4 meses em amostras de água do mar filtradas e acidificadas a pH 2 e, armazenadas no escuro a +4°C e a +20°C; DBT e MBT foram estáveis apenas em +4°C (Quevauviller e Donard, 1991). Nenhuma variação significativa nas concentrações de TBT e DBT foi observada em amostras de sedimentos armazenados a +4°C e a +20°C, o contrário foi verificado com o MBT, que apresentou uma significativa degradação (Li *et al.*, 1990).

Para minimizar os riscos de degradação é preferível armazenar as amostras em freezer imediatamente após a amostragem. O armazenamento a -20°C, no escuro, assegura uma boa estabilidade a longo prazo dos organoestanhos (Caricchia *et al.*, 1994).

4.2 Especificação de compostos butílicos de estanho

A especificação dos compostos butílicos de estanho envolve etapas de extração, derivação, purificação, pré-concentração e dessulfurização.

Os compostos organoestânicos são encontrados no ambiente aquático associados a uma variedade de contra-íons (carbonatos, cloretos, sulfatos, sulfetos, hidróxidos e biopolímeros) ou como óxidos, e podem interagir com matrizes abióticas em diferentes formas (iônica e/ou hidrofóbica). Os procedimentos analíticos para a especificação dos organoestanhos geralmente visam preservar apenas o radical orgânico durante a extração, enquanto o contra-íon e outros ligantes são eliminados (Godoi *et al.*, 2003)c.

A extração é feita usando um solvente orgânico e um ácido (clorídrico, acético e bromídrico são os mais comumente utilizados) por ultra-som, agitação mecânica ou por “soxhlet”. Este processo promove a liberação dos organoestanhos do sedimento. O ultra-som tem sido amplamente utilizado devido ao menor tempo de extração e utilização de menor volume de solvente quando comparado às técnicas convencionais. A combinação do solvente orgânico de baixa a média polaridade com um ácido complexante (como o ácido acético) caracteriza mais de 50% dos procedimentos de extração. Solventes como hexano, tolueno ou diclorometano são comumente empregados. Um solvente de

polaridade elevada é necessário para favorecer a extração dos OTs mais polares como o MBT (Abalos *et al.*, 1998).

A adição de agentes complexantes é essencial para o aumento da eficiência da extração, especialmente para os compostos alquilados de estanho di- e monossustituídos (Ceulemans e Adams, 1995). A tropolona, em uma variedade de solventes não-próticos (diclorometano, benzeno, éter dietílico, tolueno e hexano), tem sido amplamente utilizada (Abalos *et al.*, 1997). Os carbamatos também apresentam bom desempenho, embora sejam menos utilizados. Entre eles estão o ácido dietilditiocarbâmico (DDTC), pirrolidinoditiocarbamato de amônio (APDC) e dietilditiocarbamato de sódio (NaDDC).

A tropolona apresenta a vantagem de ser estável em solventes orgânicos, enquanto que os carbamatos têm que ser preparados antes do uso. No entanto, o uso da tropolona na extração de OTs com solventes líquidos a partir de matrizes bióticas e abióticas aumenta também a solubilidade de compostos que são co-extraídos, o que torna a purificação indispensável antes da análise cromatográfica (Abalos *et al.*, 1997 ; Ceulemans e Adams, 1995).

A utilização de uma solução aquosa de 0,5% de pirrolidino- ditiocarbamato de amônio (APDC), forma complexos neutros com OTs, aumentando sua partição para a fase orgânica. A extração líquido-líquido do extrato tolueno-ácido acético com uma solução aquosa de APDC é, portanto, recomendada para remover o ácido acético (Abalos *et al.*, 1998).

Os métodos de conversão dos alquilestanhos iônicos em espécies determináveis por cromatografia em fase gasosa incluem: hibridização “in situ” utilizando NaBH_4 (tetrahidroborato de sódio) ou etilação com NaBEt_4 (tetraetilborato de sódio), derivação usando reagentes de “Grignard” (brometos/cloretos de metil-, etil-, propil-, pentil- ou hexilmagnésio), que compreende 53% dos procedimentos utilizados (Abalos *et al.*, 1997), e halogenação. A reação de alquilação de “Grignard” (figura 4.1) processa-se quantitativamente levando a derivados estáveis (Dirkx *et al.*, 1994).

O tempo de reação, a temperatura e a agitação da amostra durante a reação não afetam os produtos de derivação (de la Calle – Guntiñas *et al.*, 1997).

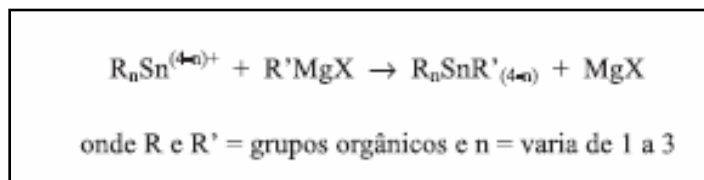


Figura 4.1. Reação de alquilação com reagente de Grignard.

Na análise de compostos organoestânicos há a interferência de compostos sulfurados. O enxofre, em seu estado elementar está presente em sedimentos anóxicos devido às atividades microbiológicas que convertem sulfatos e sulfetos em enxofre elementar. Esse enxofre é co-extraído com os organoestanhos e também é alquilado na derivação. A principal desvantagem da reação de “Grignard” é a formação simultânea de mono- e dissulfetos alquilados quando o enxofre está presente, que são coeluídos com os organoestanhos alquilados e, portanto, interferem na determinação destes compostos usando GC-FPD (cromatografia em fase gasosa com detector fotométrico de chama) (Godoi *et al.*, 2003)c. Mesmo utilizando-se o filtro de 610 nm na análise por CG-FPD, CG-PFPD ou no modo SIM por CG/MSD, altas concentrações de compostos contendo enxofre podem afetar a quantificação dos derivados de organoestanhos propilados, pentilados ou hexilados devido aos tempos de retenção coincidentes (Schubert *et al.*, 1998). Um método efetivo para a eliminação quantitativa de compostos sulfurados é essencial para a determinação dos organoestanhos.

Três técnicas de dessulfuração já foram registradas na literatura e adaptadas à análise de organoestanhos: (a) retenção seletiva do enxofre em uma coluna preenchida com cobre em pó ativado, (b) adsorção de enxofre por uma amálgama de mercúrio e (c) precipitação de enxofre por sulfito de tetrabutylamônio. No entanto, com todas essas técnicas, apenas o enxofre elementar pode ser removido e os alquilsulfetos interferentes permanecem no extrato (Schubert *et al.*, 1998).

A eliminação de compostos sulfurados por cromatografia vem sendo utilizada recentemente e baseia-se na formação de ligações coordenativas entre o enxofre e íons metálicos utilizando-se sais de mercúrio, cobre, zinco e outros. Na cromatografia de adsorção com sílica-gel recoberta com 25% de nitrato de prata (AgNO₃), todos os compostos sulfurados interferentes presentes no extrato de sedimento derivado (neste caso um sedimento de marina com grandes quantidades de enxofre elementar) foram removidos quantitativamente (figura 4.2). No

entanto, apenas os compostos butílicos de estanho foram recuperados, os fenílicos não foram eluídos (Schubert *et al.*, 1998). Portanto, este método não é completamente útil para a determinação de organoestanhos, já que os compostos fenílicos de estanho são adsorvidos irreversivelmente sobre a sílica com AgNO_3 .

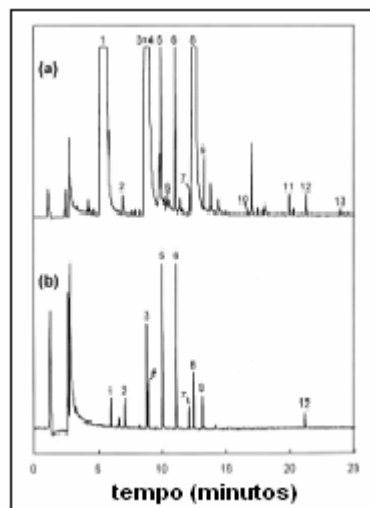


Figura 4.2.(a) Cromatograma do extrato derivado de sedimento marinho, após do “clean-up” com Al_2O_3 , mostrando altas quantidades de alquil sulfetos e enxofre elementar.(b) Cromatograma do mesmo extrato de (a) após do “clean-up” com 25% AgNO_3 ligado à sílica gel. Identificação dos compostos: 1= Pe_2S , 2=TPrT, 3= Pe_2S_2 , 4=TeBT,5=TBT, 6=DBT, 7=MBT, 8= Pe_2S_3 , 9=TPeT, 10=MPhT, 11=DPhT, 12=TCyT, 13=TPhT, S=enxofre elementar.

Foi proposto um método baseado na oxidação de todas as espécies de enxofre presentes com dimetildioxirano (DMD), formando sulfonas ou óxidos de enxofre (Godoi *et al.*; 2003)c. Enquanto as sulfonas são facilmente eliminadas pela purificação com alumina, devido à sua polaridade maior que a dos organoestanhos, os óxidos de enxofre são evaporados espontaneamente. A quimioseletividade do DMD favorece a oxidação dos compostos de enxofre em sulfonas (figura 4.3) em poucos minutos, enquanto que os organoestanhos permanecem sem reagir. Além disso, o excesso de DMD é facilmente removido pela evaporação sob vazão de N_2 antes da purificação. Sua aplicação em análises de rotina apresenta ainda outras vantagens: fácil preparação em solução de

acetona e alta reatividade em fase orgânica (sem necessidade de extração líquido-líquido).

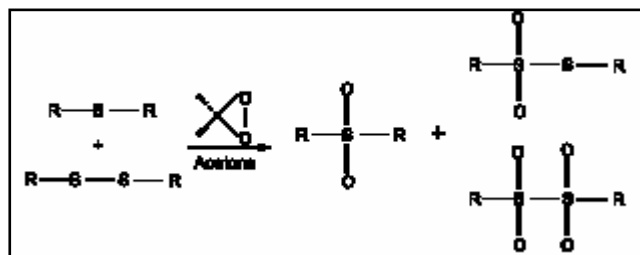


Figura 4.3. Oxidação dos compostos de enxofre por dimetildioxirano (DMD)

Extratos de amostras ricas em matéria orgânica geralmente carregam substâncias que são co-extraídas e que podem se depositar na coluna cromatográfica, influenciando a separação. O processo de purificação possui, portanto, a função de remover os principais interferentes da amostra, resultando em análises mais consistentes e reprodutíveis. O principal mecanismo envolvido no processo de purificação é o de adsorção, e os sólidos empregados, conhecidos como adsorventes, em geral são caracterizados por uma grande área superficial e pela presença de sítios específicos de adsorção (Anderson, 1987). A adsorção pode ser física, onde as moléculas são retidas na superfície do sólido simplesmente por forças atrativas entre as moléculas (forças de “Van der Waals”), ou química, onde as moléculas são retidas mais firme e especificamente por ligação química reversível na superfície do adsorvente como, por exemplo, pontes de hidrogênio. A propriedade básica da força de adsorção é a polaridade e, portanto, é o fator limitante do processo de dessorção. Se as moléculas adsorvidas são eluídas com solvente, o que comumente ocorre, estas podem ser extraídas da superfície do adsorvente por solubilização ou deslocadas dos sítios de adsorção por um solvente que fique fortemente adsorvido (Godoi *et al.*, 2003)c.

Os adsorventes mais utilizados são a sílica gel (sítios ativos Si-OH), alumina (com sítios ativos Al-OH) e Florisil (preferido para matrizes bióticas com alto conteúdo lipídico) (FAO e WHO, 1993). Normalmente devem ser ativados

por aquecimento antes do uso para dessorver a água ou outras moléculas que tenham sido adsorvidas da atmosfera.

Entre os métodos de pré-concentração, a evaporação é o método mais utilizado. É preferido purgar o extrato com uma vazão branda de um gás inerte à evaporação em evaporador rotativo, que submete a amostra a condições desnecessárias de vácuo e aquecimento. No entanto, a evaporação do extrato derivado leva à pré-concentração simultânea de interferentes. Mesmo quando um detector seletivo é utilizado, até mesmo o solvente extraído sozinho e submetido à derivação com reagente de “Grignard” pode apresentar, após a pré-concentração, alguns interferentes (Dirkx *et al.*, 1994).

4.3 O Detector Fotométrico de Chama Pulsante (PFPD)

O detector fotométrico de chama pulsante (PFPD) foi desenvolvido nos anos de 1990 pelo Dr. Aviv Amirav da Escola de Química da Universidade de Tel Aviv, Israel (figura 4.4). O detector opera com chama pulsada, para a geração de quimiluminescência da chama, e uma mistura rica de gases combustíveis, hidrogênio e ar. A mistura de gases hidrogênio e ar, onde a vazão e composição são separadamente controlados, é alimentada por tubos de gás (3 e 4). A mistura de gás combustível rica em H₂ flui através de um suporte do combustor (5) diretamente dentro de um tubo combustor de quartzo aberto (6), onde a chama quimiluminescente ocorre. A emissão da chama é vista através de uma janela de safira (7), uma haste de quartzo (8), e um filtro de vidro colorido (9) e detectado por um fotomultiplicador (10). Enquanto o combustor é preenchido com os gases eluentes vindos da coluna e a mistura de gás combustível (3), uma mistura de gás combustível separada, rica em ar (4), passa ao redor do combustor, mistura-se com os gases queimados de um primeiro pulso e enche o volume do ignitor blindado (11). O pulso da chama é iniciado pelo aquecimento do fio ignitor (12) e se propaga através do ignitor blindado (11), passa através do combustor (6), e termina no suporte do combustor (5) (Amirav e Jing, 1995). O suporte do combustor tem um orifício pequeno, o que previne a propagação da chama. A vazão de gás cria uma nova ignição após alguns milissegundos em um pulso periódico de cerca de 3 Hz.

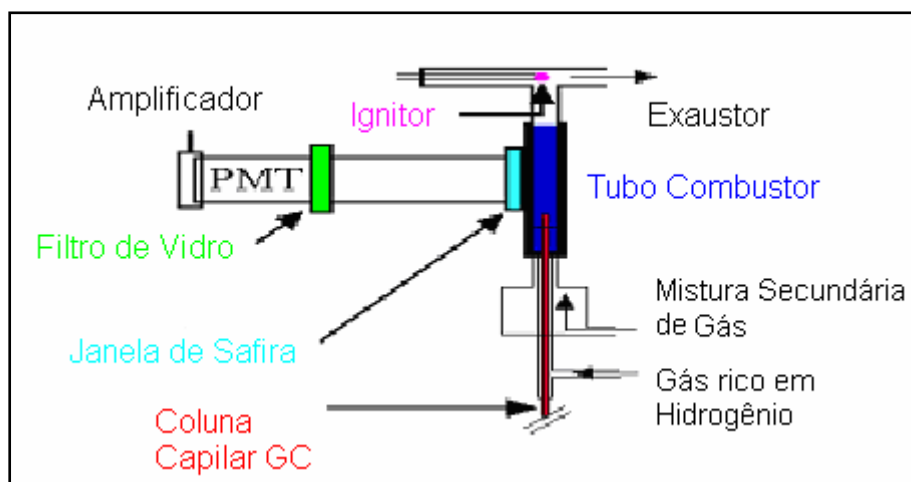
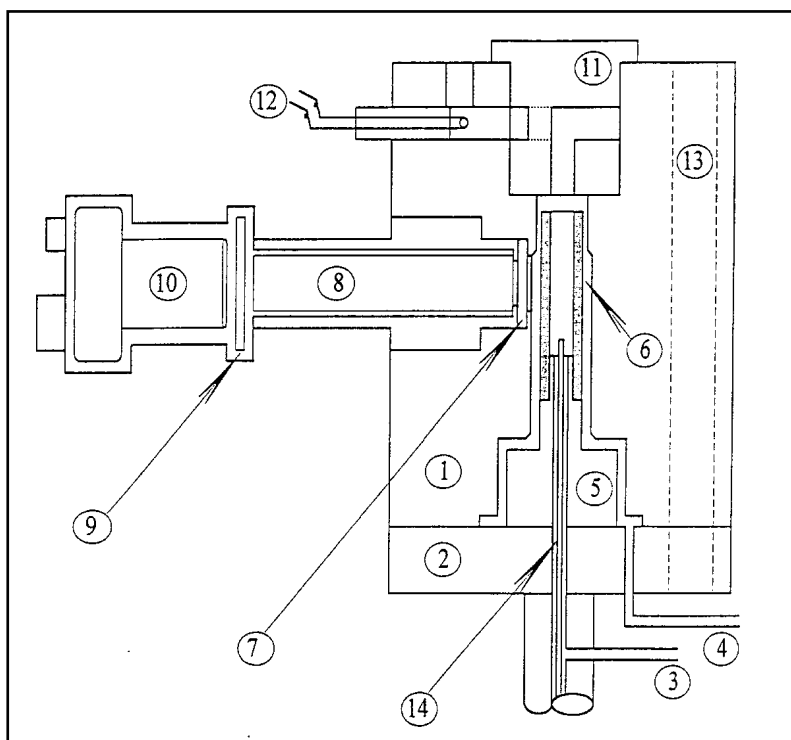


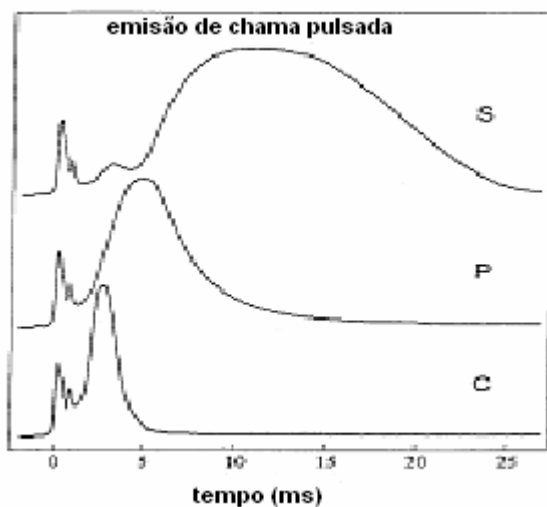
Figura 4.4. Estruturas do detector fotométrico de chama pulsante (PFPD):

- (a) desenvolvido por Amirav e colaboradores (Amirav e Jing, 1995; Amirav *et al.*, 2002) e
 (b) esquema do PFPD- Varian 2001

Os perfis dos tempos de emissão são característicos das espécies envolvidas (Amirav e Jing, 1995). A figura 4.5 (b) mostra a emissão dos principais interferentes sobre o estanho, hidrocarbonetos (produtos de combustão) e compostos de enxofre.

O período de tempo da emissão para ser integrado e gerar um sinal no detector pode ser selecionado pelo ajuste do início (“gate delay”) e da duração (“gate with”) da detecção de acordo com perfil das espécies estudadas. Outro parâmetro que deve ser controlado é o nível de sinal, em milivolts, requerido para disparar os contadores de tempo (“Trigger level”). Com estes controles, uma alta seletividade é obtida para detecção de compostos de estanho. A diferença nos tempos de emissão está representada na figura 4.5 (a) (Varian, 1995; Jacobsen *et al.*, 1997; Bacon-Montigny, 2000).

(a)



(b)

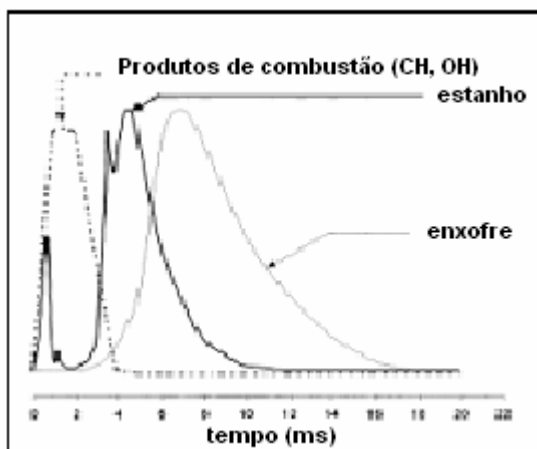


Figura 4.5. Tempos de emissão no PFPD para (a) enxofre (S), fósforo (P) e carbono (C) (Varian, 1995) e (b) perfis de emissão de estanho e de elementos interferentes (Jing e Amirav, 1998).

O estanho pode ser detectado pelo PFPD com alta sensibilidade e seletividade sem a interferência de hidrocarbonetos e compostos de enxofre, dependendo do combustor, filtro, temperatura e a composição de gases utilizada. Segundo Jing e Amirav (1998), para se obter uma melhor seletividade frente aos compostos de enxofre, recomenda-se a utilização de filtro de estanho de 610 nm, mas a utilização do filtro 390 nm (BG-12) e fotomultiplicador (PMT - R647) é mais comum, uma vez que a sensibilidade para os compostos orgânicos de estanho é muito maior que com o filtro de 610 nm (figura 4.6). No desenvolvimento deste trabalho, utilizou-se o filtro de 610 nm, devido à presença de muitos compostos de enxofre nas amostras impossibilitando a quantificação de OTs. Para evitar emissão de fundo o “gate delay” utilizado é de 3,5 ms e são recomendadas a utilização de combustor de quartzo de diâmetro interno de 3 mm, chama rica em hidrogênio (relação O_2/H_2 menor que 0,5) e temperatura do detector igual a 350°C (Varian, 1995; Jacobsen *et al.*, 1997; Jing e Amirav, 1998; Varian, 2001).

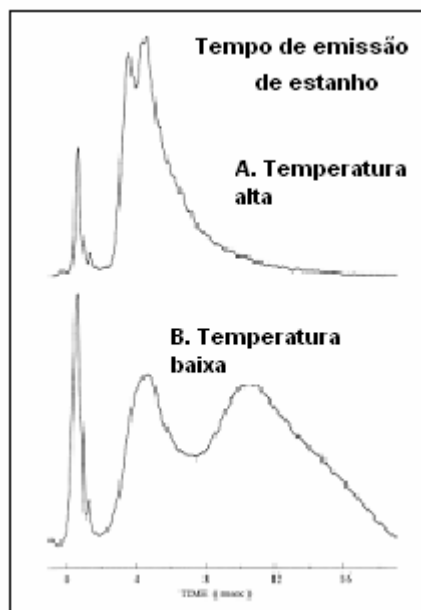


Figura 4.6. Espectro de emissão do estanho no PFPD em temperaturas : (a) 350°C; (b) 180°C. Foi utilizado filtro BG-12 e fotomultiplicadora R647 (Amirav *et al.*, 1998).

A grande vantagem deste detector é a redução da vazão de gás e pequena acumulação de gás na câmara, permitindo a separação de emissão de fundo de produtos moleculares como CH^* , CH_2^* e OH^* normalmente produzidos em chamas ricas em hidrogênio. A desvantagem em se utilizar este detector é o comportamento não linear, que requer a construção de mais de uma curva de calibração para maioria dos compostos estudados (Godoi *et al.*, 2003)c.