

# MONITORIZAÇÃO DE PESTICIDAS EM ÁGUAS PARA CONSUMO HUMANO

Um desafio tecnológico para os laboratórios



Cristina Tendinha

A qualidade da água que consumimos é hoje uma preocupação transversal, partilhada por todos nós, um tema sempre em foco e em constante debate. Nesta área de actividade, a contínua inovação tecnológica e o crescente nível de exigência por parte de todos os intervenientes impõem aos laboratórios grande dinamismo e constante desenvolvimento, bem como a necessidade de implementação frequente de novos métodos de ensaio e adaptação constante às exigências do mercado.

Entre os vários parâmetros a controlar nas águas para consumo humano, a determinação de pesticidas coloca aos laboratórios desafios que têm de ser ultrapassados, dos quais salientamos os mais relevantes: necessidade de equipamento sofisticado e tecnologia de ponta, dada a exigência cada vez maior para a detecção de níveis muito baixos dos compostos de interesse, analistas altamente qualificados, actualização científica permanente, forte e constante inovação, culminando com investimentos extremamente elevados.

Importa aqui referir as principais etapas dos métodos de ensaio para determinação de resíduos de pesticidas, dando especial destaque a técnicas emergentes, como a extracção sorptiva em barra de agitação (SBSE) e a análise cromatográfica por cromatografia líquida de alta resolução acoplada a um espectrometro de massa triplo quadropólo (Triplo Quadropólo LC-MS/MS).

A legislação em vigor, o Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de Agosto, relativo à qualidade da água destinada ao consumo humano, define parâmetros a analisar e valores paramétricos. No que diz respeito a pesticidas, os valores paramétricos são 0,10 µg/L 0,50 µg/L, respectivamente para pesticida individual e pesticidas totais (soma de todos os pesticidas quantificados durante o controlo da qualidade da água). Anualmente é emitido um documento pela Direcção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural (DGADR), que define pesticidas a analisar em águas para consumo humano por regiões do país e época de amostragem.

## Extracção dos compostos de interesse

À análise cromatográfica estão associadas diversas etapas para preparação das amostras dependendo do tipo de matrizes e analitos em estudo, nomeadamente compostos voláteis, semivoláteis ou não-voláteis. Estas etapas podem incluir extracção ou enriquecimento dos analitos da matriz, processos de filtração, limpeza, concentração e, em certos casos, derivatização, tendo em

conta todas as vantagens intrínsecas a cada sistema analítico em particular.

São usadas variadas técnicas para extrair os compostos de interesse da matriz da amostra, de modo a obter a eficiência máxima de extracção dos resíduos e a mínima co-extracção de quaisquer substâncias que possam originar interferências na determinação. O principal objectivo dos métodos de preparação de amostras é a transferência dos compostos alvo da matriz numa forma mais adequada para introdução no sistema cromatográfico.

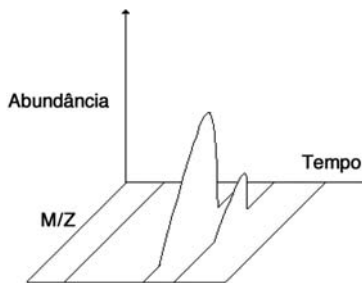
Podem ser usadas técnicas de extracção líquido-líquido (LLE), extracção em fase sólida (SPE), micro-extracção em fase sólida (SPME) e, mais recentemente, a extracção sorptiva em barra de agitação (SBSE) "Stir Bar Sorptive Extraction" baseada numa nova metodologia de enriquecimento, utilizada para análise de inúmeros compostos orgânicos. Esta técnica consiste numa barra de agitação revestida por um filme em polidimetilsiloxano (PDMS) colocada directamente na amostra sob agitação, de modo a promover o movimento de rotação na matriz líquida e a extracção dos compostos de interesse. A barra é retirada da amostra, introduzida num tubo de vidro e colocada numa unidade de desorção térmica (TDU) acoplada a um injector de vaporização a temperatura programada (PTV).

Os analitos são termicamente desorvidos e criofocados, sendo de seguida analisados por cromatografia gasosa capilar hifenada a um espectrometro de massa (GC-MS) (Fig. 1). A eficiência da extracção dos analitos é descrita pelos respectivos coeficientes de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ), uma vez que é uma medida da polaridade dos compostos orgânicos. A eficiência de recuperação é influenciada pelo tempo de extracção, velocidade de agitação, força iónica, temperatura e pH.

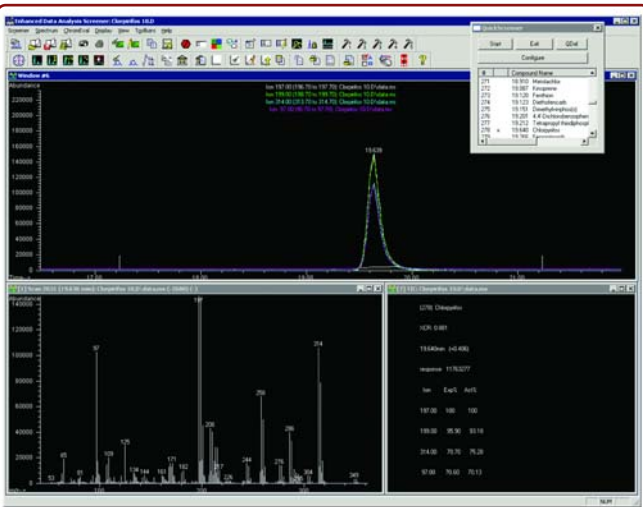
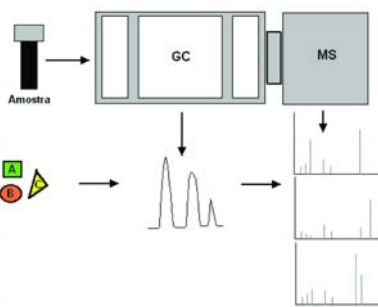


**Fig. 1**  
Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)  
in Manual do equipamento da Gerstel  
"Operation Manual Twister Desorption Unit TDU"

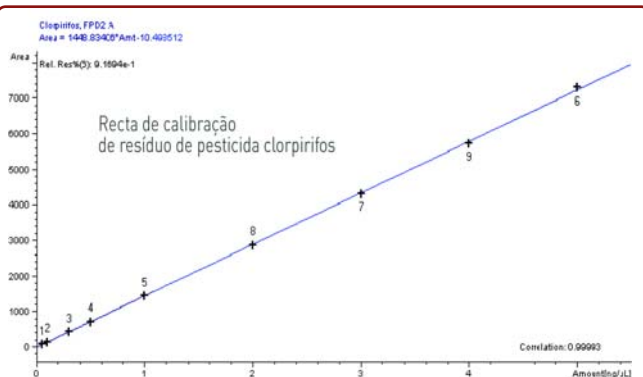
**Fig. 2**  
in Manual do equipamento Agilent "Hardware Manual 5973 Mass Selective Detector"



**Fig. 3**  
in Manual do equipamento Agilent "Hardware Manual 5973 Mass Selective Detector"



**Fig. 4** – Análise espectral de uma amostra por GC-MS



**Fig. 5** – Quantificação do pesticida clorpirifos

Esta técnica apresenta inúmeras vantagens, das quais salientamos: isenção de solventes orgânicos tóxicos “solventless”, rapidez, facilidade de manipulação, requer reduzida quantidade de amostra, é altamente sensível e possibilita automatização e alocplação a instrumentação analítica de topo.

**Deteccção, quantificação e confirmação dos compostos de interesse**

Para análise de resíduos de pesticidas são usadas várias técnicas instrumentais de análise, nomeadamente: cromatografia em fase gasosa (GC), cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) e estas técnicas hífenadas à espectrometria de massa (MS). Consistem em poderosas ferramentas analíticas cuja principal finalidade é a separação de compostos de misturas complexas, permitindo a identificação e quantificação de compostos puros e desconhecidos. Os resultados obtidos por espectrometria de massa (MS) constituem a prova mais conclusiva da confirmação/identificação dos pesticidas encontrados na amostra.

◦ **Cromatografia gasosa alocplada à espectrometria de massa (GC-MS)**

A cromatografia gasosa capilar alocplada à espectrometria de massa (GC-MS) é muito útil na identificação e quantificação de compostos puros e desconhecidos, na confirmação da massa molecular de compostos e caracterização da estrutura através dos dados espectrais. Esta técnica combina a separação cromatográfica e a informação espectral, resultando na informação analítica a três dimensões, qualitativa e quantitativa.

O processo MS compreende três fases (Fig. 2 e 3):

- ➔ **Ionização na fonte** – São criados iões em fase gasosa. Destaca-se os modos de ionização por impacte electrónico (EI) e ionização química (CI);
- ➔ **Analizador de massa** – Separação de iões m/z no espaço e no tempo, sendo o quadropólo o analisador mais comum;
- ➔ **Deteccção** – Nesta fase mede-se a quantidade de iões m/z.

Existem dois modos de operação: modo de varrimento total (registo de espectros de massa totais – Full-Scan) ou monitorização selectiva de iões (SIM). Após todo o processo analítico é feita a confirmação da identidade do composto de interesse e sua quantificação (Fig. 4 e 5).

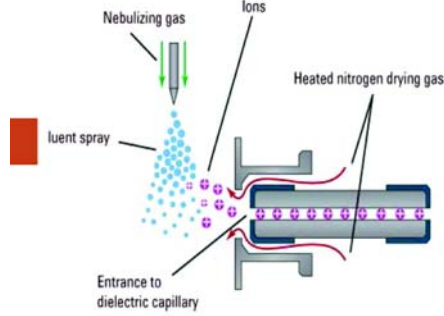
◦ **Cromatografia líquida de alta resolução alocplada a um espectrómetro de massa – Triplo Quadropólo LC-MS/MS**

Esta técnica é utilizada para determinação de resíduos de pesticidas, permitindo limiares de detecccção extremamente baixos. Em que consiste e como funciona um espectrómetro de massa triplo quadropólo? Após realizada a extracção as amostras são introduzidas no sistema cromatográfico que opera em modo “multiple reaction monitoring” (MRM), sendo seleccionados um ião precursor e dois “products ions” característicos.

Logo a seguir à separação por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), a amostra é bombeada para o espectrómetro de

**Fig. 6**  
Introdução  
ortogonal e  
ionização  
electrospray  
(ESI)

in Manual do  
equipamento  
"Agilent 6410  
Triple Quad LC/MS  
Concepts guide"



massa triplo quadropólo que consiste numa fonte iónica externa, a qual trabalha em modo de ionização "electrospray" (ESI), na qual se dá a nebulização e desolvatação da amostra (Fig. 6).

Segue-se um sistema óptico de iões que transfere os iões para o primeiro quadropólo posicionado à direita da fonte. O quadropólo é constituído por quatro hastes hiperbólicas paralelas através das quais os iões seleccionados são filtrados antes de chegarem à célula de colisão onde são fragmentados. A célula de colisão é tipicamente chamada de segundo quadropólo mas, neste caso, geometricamente é um hexapólo preenchido com azoto, o mesmo gás que é usado na fonte iónica.

Os fragmentos de iões formados na célula de colisão são depois enviados para o terceiro quadropólo por um segundo passo de filtração de iões, que permite ao operador isolar e analisar ao pormenor um ião precursor e um ião filho ("product ion") (Fig. 7).

Representando o analisador de massa quadropólo como correias em andamento, a célula de colisão pode ser colocada entre as correias para fragmentar os iões. A primeira correia pode ser fixa para seleccionar qual o ião precursor que é transportado para a célula de colisão.

A célula representa outro quadropólo, independentemente da sua geometria é necessário um gás de colisão inerte, não reactivo como o azoto. A voltagem aplicada na célula de colisão deve ser diferente daquela aplicada nos quadropólos para melhorar o movimento de todos os "iões filhos" em direcção ao terceiro quadropólo.

O ião precursor é seleccionado através do primeiro quadropólo e é enviado para a célula de colisão para fragmentação. Os fragmentos são varridos através do terceiro quadropólo resultando num varrimento dos iões filhos "product ions" (Fig. 8).

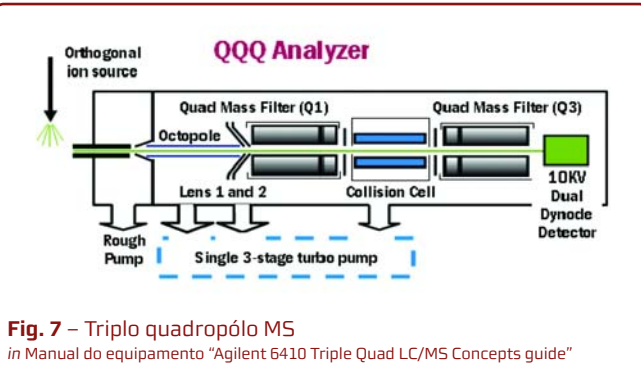
Desde que os iões fragmentados constituam parte de um precursor, representam porções da estrutura completa da molécula precursora. Um espectrómetro de massa triplo quadropólo pode ser usado desta forma para identificação e quantificação de compostos, nomeadamente estudo das suas "impresões digitais".

Nesta área de actividade em constante mudança, o conhecimento é a base da geração de riqueza e a investigação e desenvolvimento um dos pilares de criação desse conhecimento. Toda e qualquer aposta na inovação conduz ao desenvolvimento económico de um país.

**BIBLIOGRAFIA**

- Manual do equipamento da Gerstel "Operation Manual Twister Desorption Unit TDU"
- Manual do equipamento "Agilent 6410 Triple Quad LC/MS Concepts guide"
- Manual do equipamento Agilent "Hardware Manual 5973 Mass Selective Detector"
- Procedimentos técnicos do Labiagro

**Cristina Tendinha**, responsável Labiagro – Laboratório Químico, Agroalimentar e Microbiológico

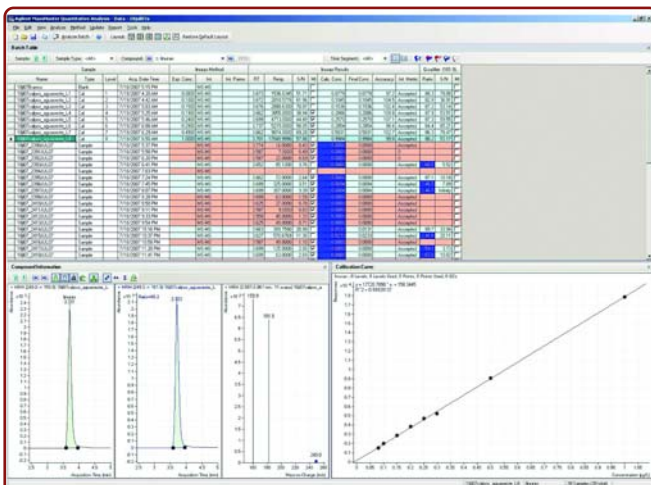
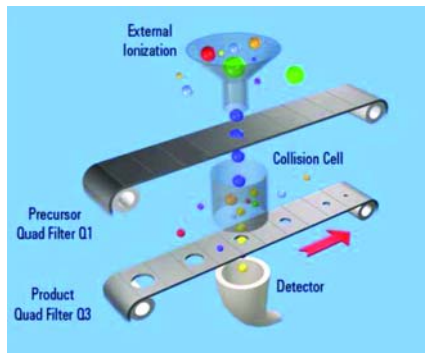


**Fig. 7** – Triplo quadropólo MS

in Manual do equipamento "Agilent 6410 Triple Quad LC/MS Concepts guide"

**Fig. 8**  
Modo de  
funcionamento  
triplo quadropólo,

in Manual do  
equipamento "Agilent  
6410 Triple Quad LC/MS  
Concepts guide"



**Fig. 9** – Análise em modo MRM e quantificação do composto de interesse