

## OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS PARA QUANTIFICAÇÃO DE DDT POR HPLC-DAD

Lorena Maria G. Alves<sup>1</sup>, Lucas Victor P. Freitas<sup>2</sup>, Lázaro C. Sicupira<sup>1</sup>, Flaviano O. Silvério<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina-MG, Brasil  
(lorenaalves.enq@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros-MG, Brasil

**Resumo:** O diclorodifeniltricloroetano é um poluente orgânico persistente e tóxico que pode ser encontrado em várias matrizes. O objetivo desse trabalho foi otimizar as condições de análise do DDT por HPLC-DAD. Os parâmetros avaliados foram coluna cromatográfica, fase móvel, comprimento de onda ( $\lambda$ ), temperatura e fluxo. Os melhores resultados foram obtidos com coluna Poroshell, T = 30 °C, fluxo = 0,5 mL min<sup>-1</sup>,  $\lambda$  = 235 nm e fase móvel 100% de metanol. A técnica foi sensível e seletiva para análise do DDT.

**Palavras-chave:** Diclorodifeniltricloroetano; Cromatografia líquida de alta eficiência; Detector de arranjo de diodo.

### INTRODUÇÃO

O diclorodifeniltricloroetano (DDT) é um inseticida organoclorado de uso proibido e classificado como poluente orgânico persistente (POP). O DDT possui alta estabilidade e persistência no meio, e caráter lipofílico, podendo se bioacumular e biomagnificar na cadeia alimentar (Mansouri et al., 2016). O DDT pode ser encontrado em água, solo e alimentos devido ao uso intenso na agricultura e no controle de vetores de doenças (Mendes et al., 2019). A exposição prolongada a este praguicida pode prejudicar a saúde das pessoas e levar a morte (D'Amato et al., 2002).

As técnicas cromatográficas são utilizadas para separar, identificar e quantificar compostos em diferentes matrizes (Pinho et al., 2009). Dentre as técnicas cromatográficas a cromatografia em fase gasosa é a mais comum para análise de praguicidas (Farina et al., 2016). Contudo, a cromatografia em fase líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos (HPLC-DAD) também vem se mostrando eficaz na separação de praguicidas de baixa volatilidade. O HPLC-DAD apresenta como vantagens análises rápidas e sensibilidade na detecção de compostos a nível de traços (Hercegová et al., 2007; Samsidar et al., 2018).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi otimizar as condições cromatográficas de análise para determinação e quantificação do DDT por HPLC-DAD.

### MATERIAL E MÉTODOS

O padrão de DDT na concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup> foi quantificado por cromatografia em fase líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD, modelo 1290, Agilent Technologies, Alemanha). O volume de injeção foi 20  $\mu$ L e a eluição isocrática. As variáveis estudadas para otimizar as condições cromatográficas são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1. Condições cromatográficas otimizadas

Parâmetros	
Comprimento de onda ( $\lambda$ )	200 nm 235 nm
Coluna cromatográfica	Poroshell (4,6 mm x 50 mm, 2,7 $\mu$ m, Agilent Technologies) Zorbax (2,1 mm x 50 mm, 1,8 $\mu$ m, Agilent Technologies).
Composição da fase móvel (v/v)	Acetonitrila (ACN) e água (H <sub>2</sub> O) Proporções: 100:0; 90:10 (v/v) Metanol (MeOH) e água (H <sub>2</sub> O) Proporções: 100:0; 90:10 (v/v)
Taxa de fluxo	0,5 mL min <sup>-1</sup> 1,0 mL min <sup>-1</sup>
Temperatura (T)	30 °C 40 °C

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O primeiro parâmetro otimizado foi o comprimento de onda. O sinal cromatográfico do DDT apresentou alta absorção no comprimento de onda de 200 nm, no entanto, a intensidade dos picos interferentes também foi maior. Similarmente a outros trabalhos, o

monitoramento em 235 nm apresentou interferentes com menor intensidade e cromatograma mais limpo, sendo possível detectar o DDT com maior

seletividade (Kueseng et al., 2011; Zhou et al., 2006; Wang et al., 2012). A Figura 1 mostra os cromatogramas obtidos.

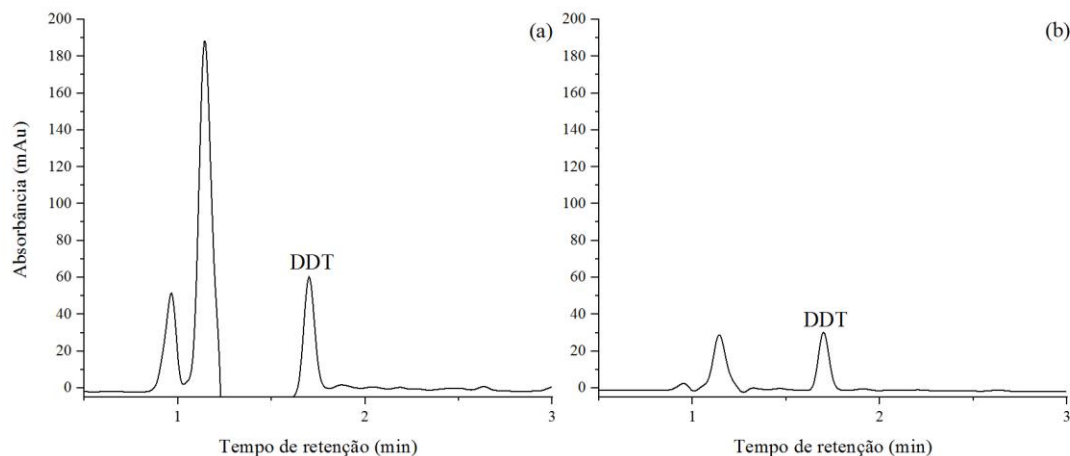


Figura 1. Cromatogramas da solução padrão de DDT em metanol na concentração de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ . Condições cromatográficas: coluna Poroshell, fase móvel  $\text{MeOH:H}_2\text{O} = 100:0$ , taxa de fluxo =  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $\lambda = 200 \text{ nm}$  (a) e  $\lambda = 235 \text{ nm}$  (b).

Posteriormente, foram avaliados os parâmetros coluna cromatográfica e proporção da fase móvel. Os cromatogramas obtidos com a coluna Zorbax não foram seletivos pois apresentaram picos atribuídos a interferentes no mesmo tempo de retenção do DDT.

Mesmo com o aumento da polaridade, empregando o solvente metanol e elevando a proporção de água na fase móvel, não houve a separação entre o DDT e interferentes, como mostrado na Figura 2.

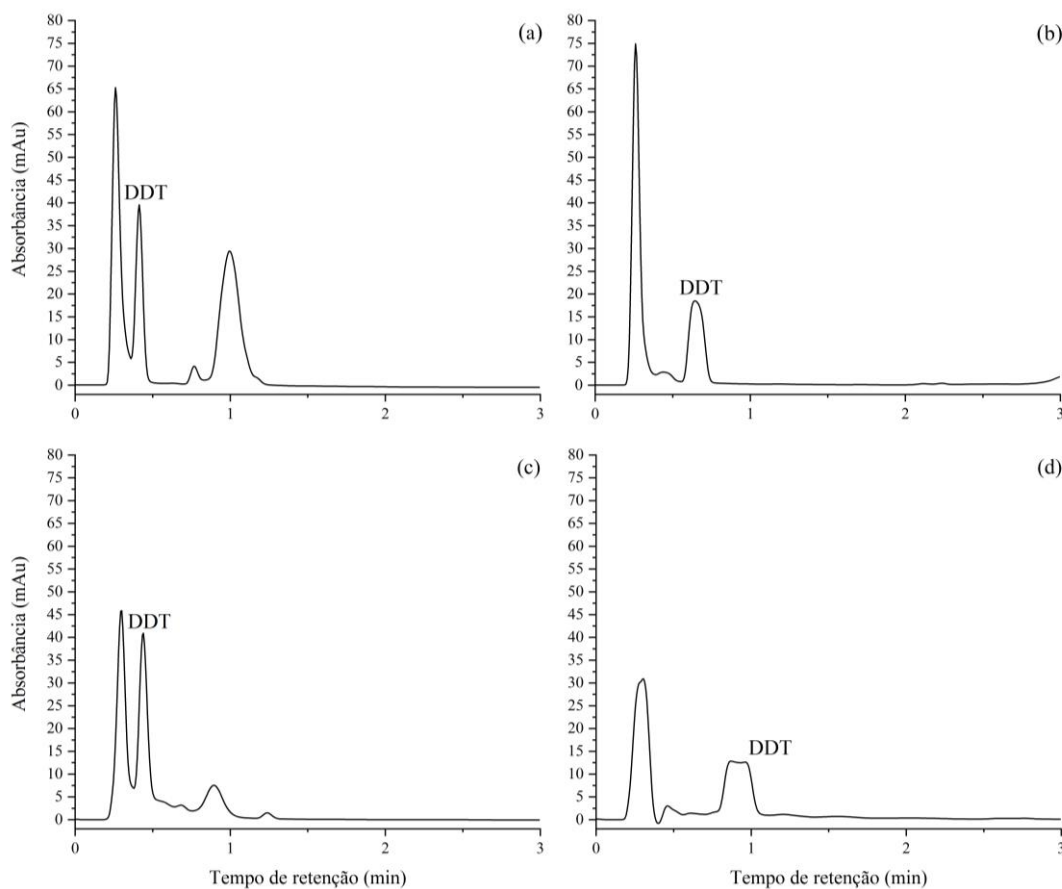


Figura 2. Cromatogramas da solução padrão de DDT em metanol na concentração de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ . Coluna Zorbax, taxa de fluxo =  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\lambda = 235 \text{ nm}$  e fase móvel constituída por  $\text{ACN:H}_2\text{O} = 100:0$  (v/v) (a),  $\text{ACN:H}_2\text{O} = 90:10$  (v/v) (b),  $\text{MeOH:H}_2\text{O} = 100:0$  (v/v) (c) e  $\text{MeOH:H}_2\text{O} = 90:10$  (v/v) (d).

Por outro lado, a coluna Poroshell foi seletiva nas proporções 100% de acetonitrila e 100% de metanol, sendo a fase móvel 100% de metanol escolhida para as próximas etapas deste trabalho, por ter

apresentado maior área cromatográfica e interferentes de menor intensidade, conforme observado na Figura 3.

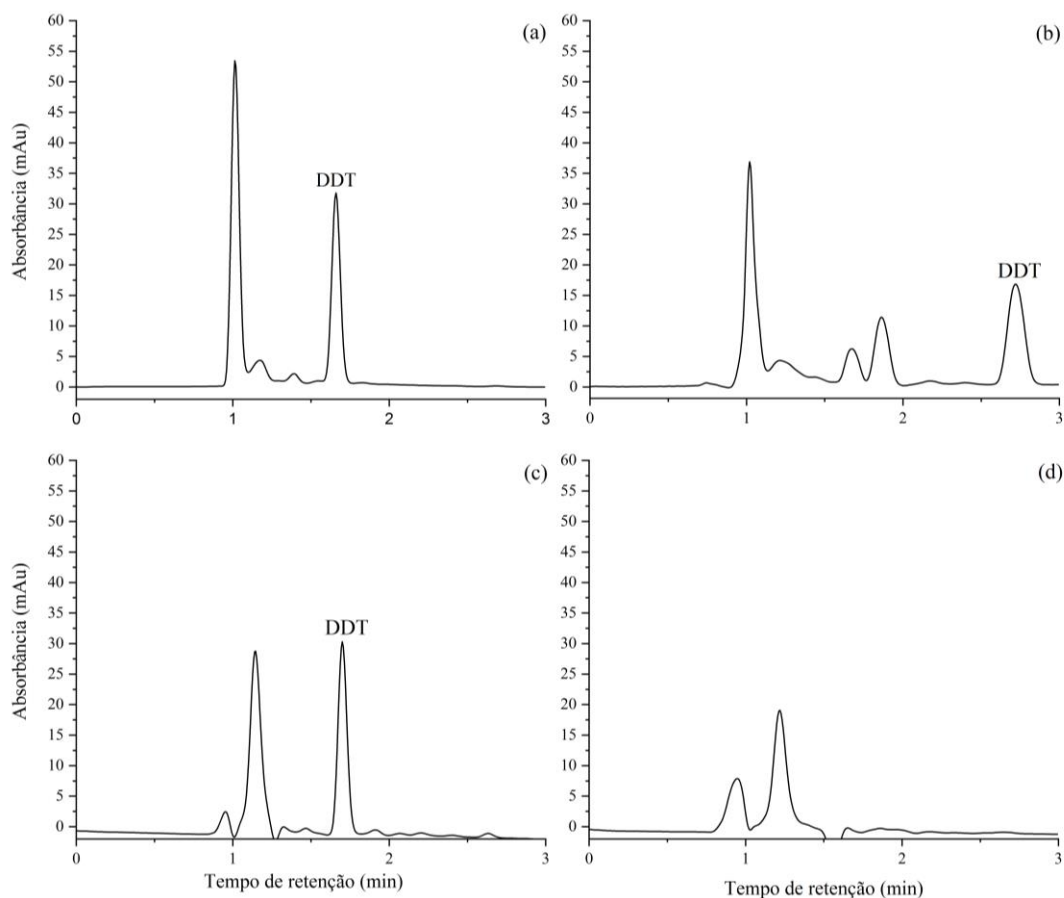


Figura 3. Cromatogramas da solução padrão de DDT em metanol na concentração de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ . Coluna Poroshell, taxa de fluxo =  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $T = 30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\lambda = 235 \text{ nm}$  e fase móvel constituída por ACN:H<sub>2</sub>O = 100:0 (v/v) (a), ACN:H<sub>2</sub>O = 90:10 (v/v) (b), MeOH:H<sub>2</sub>O = 100:0 (v/v) (c) e MeOH:H<sub>2</sub>O = 90:10 (v/v) (d).

A próxima etapa foi definir o melhor fluxo para a fase móvel, sendo avaliados os fluxos de  $0,5$  e  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ . Conforme pode ser observado nos cromatogramas apresentados na Figura 4, o fluxo de

$0,5 \text{ mL min}^{-1}$  favoreceu a transferência de massa entre as fases móvel e estacionária, sendo obtido sinal cromatográfico, atribuído ao DDT, com maior intensidade e área.

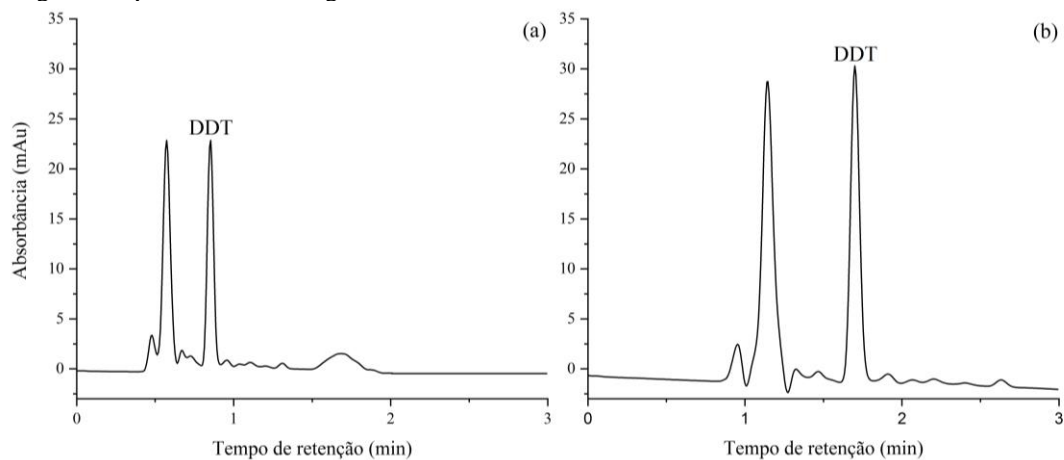


Figura 4. Cromatogramas da solução padrão de DDT em metanol, na concentração de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ . Coluna Poroshell, fase móvel MeOH:H<sub>2</sub>O = 100:0,  $T = 30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\lambda = 235 \text{ nm}$ , taxa de fluxo =  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$  (a) e  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$  (b).

O último parâmetro avaliado foi a melhor temperatura de trabalho para a coluna cromatográfica. Os cromatogramas obtidos, conforme mostra a Figura 5, foram semelhantes,

sendo escolhida a temperatura de 30 °C. Este resultado é similar ao observado no trabalho realizado por Asi et al., 2007.

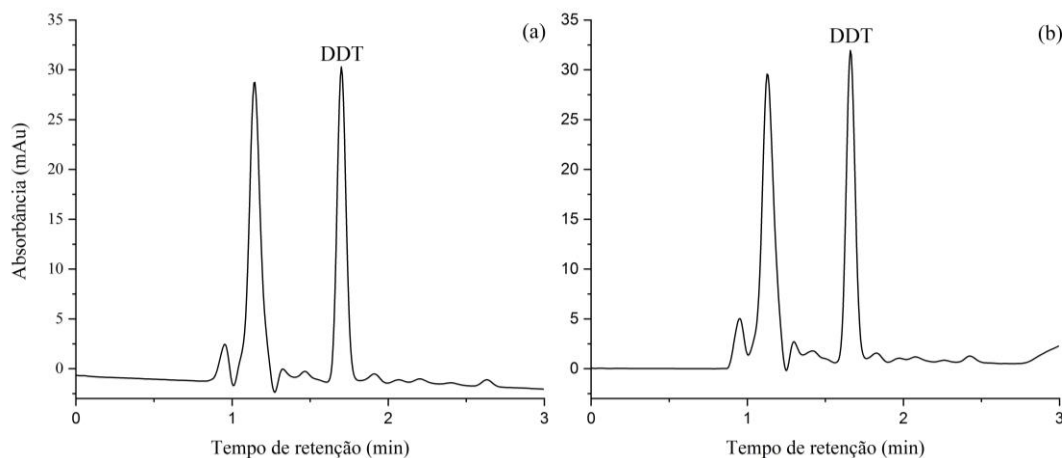


Figura 5. Cromatogramas da solução padrão de DDT em metanol, na concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup>. Coluna Poroshell, fase móvel MeOH:H<sub>2</sub>O = 100:0, taxa de fluxo = 0,5 mL min<sup>-1</sup>, λ = 235 nm, T = 30 °C (a) e T = 40 °C (b).

## CONCLUSÃO

A otimização das condições cromatográficas usando HPLC-DAD para detectar e quantificar o DDT foi realizada com sucesso. As melhores condições foram obtidas utilizando a coluna Poroshell, realizando análise no comprimento de onda de 235 nm, fase móvel contendo apenas metanol, utilizando taxa de fluxo 0,5 mL min<sup>-1</sup> e temperatura da coluna de 30 °C.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos a FAPEMIG, CNPQ, CAPES, UFMG e UFVJM.

## REFERÊNCIAS

Asi, M. R.; Hussain, A.; Muhmood, S. T. Solid phase extraction of pesticide residues in water samples: DDT and its metabolites. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 2, p. 43-48, 2007.

DAmato, Claudio; Torres, João P. M.; Malm, Olaf. DDT (Diclorodifeniltricloroetano): Toxicidade e contaminação ambiental - uma revisão. **Química Nova**, 995-1002, 2002.

Farina, Yang; Abdullah, Pauzi Bin; Bibi, Nusrat. Extraction procedures in gas chromatographic determination of pesticides. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 71, p. 339-350, 2016.

Hercegová, Andrea; Dömötöróvá, Milena; Matisová, Eva. Sample preparation methods in the analysis of pesticide residues in baby food with subsequent chromatographic determination. **Journal of Chromatography A**, v. 1153, p. 54-73, 2007.

Kueseng, P. et al. Custom-made C<sub>18</sub> column for simultaneous determination of endocrine disrupting substances in water by diode-array and fluorescence detectors. **Analytical Letters**, v. 44, p.787-799, 2011.

Mansouri, Ahlem et al. The Environmental Issues of DDT Pollution and Bioremediation: a multidisciplinary review: a Multidisciplinary Review. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 181, p. 309-339, 2016.

Pinho, Gevany P. et al. Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa. **Química Nova**, v. 32, p. 987-995, 2009.

Samsidar, Anwar; Siddiquee, Shafiquzzaman; Shaarani, Sharifudin Md. A review of extraction, analytical and advanced methods for determination of pesticides in environment and foodstuffs. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p. 188-201, 2018.

Silveira, Taciana Maria da et al. Study of Analytical Techniques to Determine Chlorpyrifos in the Surface Waterways of the Rural Zone of Ouro Branco, Brazil: a case study. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 227, p. 1-15, 2016.

Tette, Patrícia Amaral Souza et al. Pesticides in honey: a review on chromatographic analytical methods. **Talanta**, v. 149, p. 124-141, 2016.

Valdovinos-Flores, Cesar et al. Agricultural pesticide residues in honey and wax combs from Southeastern, Central and Northeastern Mexico. **Journal of Apicultural Research**, v. 56, p.667-679, 2017.

Wang, Xia et al. Rapid determination of ddt and its metabolites in environmental water samples with mixed ionic liquids dispersive liquid-liquid microextraction prior to HPLC-UV. **Chromatographia**, v.75, p.1081-1085, 2012.

Wolff, Luis Fernando. Medidas para combater a mortandade de abelhas. **Embrapa Clima Temperado**, v. 1, p.1-74, 2018.

Zhou, You-ya et al. Evaluation of expanded graphite as on-line solid-phase extraction sorbent for high performance liquid chromatographic determination of trace levels of DDTs in water samples. **Talanta**, v. 69, p.970-975, 2006.