

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA**

MATHEUS NICHELE GRAF

**OTIMIZAÇÃO DE UM MÉTODO DE EXTRAÇÃO PARA  
HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM ÁGUA E  
ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A  
ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

Porto Alegre  
2019

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA**

MATHEUS NICHELE GRAF

**OTIMIZAÇÃO DE UM MÉTODO DE EXTRAÇÃO PARA  
HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM ÁGUA E  
ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A  
ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado junto à disciplina “Projeto Tecnológico” do curso de Química Industrial como pré-requisito para obtenção do grau de Químico Industrial.

**Prof. Dr. João Henrique Zimnoch dos Santos**  
Orientador

Porto Alegre

2019

## RESUMO

Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos ou HPAs são poluentes persistentes em praticamente todas as esferas ambientais, sejam elas aquáticas, terrestres ou atmosféricas. Estes compostos são composições comuns do petróleo, carvão e xisto, sendo também produzidos através da queima incompleta de matéria orgânica, e o monitoramento é fundamental devido às características prejudiciais como a carcinogenicidade de algumas espécies.

A análise dos HPAs é feita majoritariamente por cromatografia gasosa com detectores de ionização por chama e espectrometria de massas, principalmente. O procedimento envolve a extração dos compostos utilizando uma técnica apropriada, como a extração líquido-líquido para matrizes aquosas, que é o objeto de investigação no presente trabalho.

Pela importância de detecção e quantificação dos HPAs, este trabalho se propôs a investigar um método de extração líquido-líquido já estabelecido e avaliar as potencialidade e limitações da redução do solvente extrator. Os experimentos foram realizados utilizando diclorometano a volumes e quantidade de extrações por experimento variáveis. Os extratos finais foram analisados por cromatografia gasosa com detector de espectrometria de massas.

Os dados obtidos foram tratados estatisticamente utilizando o método One-Way ANOVA de Bonferroni e foi estudada a relação entre as áreas de pico obtidas em função dos volumes de solvente, identificando possíveis tendências. Foi observado um aumento esperado na quantidade extraída de acordo com o volume total de solvente utilizado, assim como um aumento considerável da linha de base dos cromatogramas. Além disso, os resultados também sugerem que o procedimento é otimizado quando se utilizam 3 extrações consecutivas por experimento, utilizando um maior volume de solvente.

Palavras-chave: Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos. Cromatografia Gasosa. Extração Líquido-Líquido.

## ABSTRACT

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons or PAHs are persistent pollutants present in all environmental spheres: aquatic, terrestrial or atmospheric. These compounds are found in petroleum, coal and shale, also produced by incomplete combustion of organic matter and its monitoring is of fundamental importance considering its health effects like carcinogenic properties of some species.

PAHs analyses is usually carried out by means of gas chromatography coupled with flame ionization detector and mass spectrometry detectors. The analytical procedure involves compounds extraction using a suitable extraction technique, like liquid-liquid extraction for aqueous matrices, which is object of the present study.

Considering the importance of detection and quantification of PAHs, this work proposes an investigation of a well-established method for liquid-liquid extraction and check the potentialities and limitations of extraction solvent volume reduction. The experiments were made using dichloromethane with varying total volumes and number of extractions per experiment. The final extracts were analyzed by gas chromatography coupled with mass spectrometry detector.

Data obtained were statistically treated using Bonferroni's test in One-Way ANOVA method and the relationship between peak areas and solvent volumes was studied for identification of possible trends. It was observed an expected increase for the extracted quantity according with the total solvent volume used. It was also observed a significant increase of the base line for the chromatograms. Results also suggest that the procedure is optimized with three consecutive extractions per experiment, using a larger solvent volume in each extraction.

**Keywords:** Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Gas Chromatography. Liquid-Liquid Extraction.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – Emissões de HPAs para as principais fontes e países.....	8
<b>Figura 2</b> – Estrutura molecular dos 16 compostos HPAs prioritários segundo a US-EPA. ....	12
<b>Figura 3</b> – Cromatograma de uma solução padrão de 0,1 mg/L contendo os 16 HPAs prioritários da US-EPA. ....	20
<b>Figura 4</b> – Comparação de cromatogramas entre os experimentos de 3 X 60, 3 X 30 e 3 X 20 mL de solvente.....	26
<b>Figura 5</b> – Comparação de cromatogramas com 180 mL de solvente total utilizado. ....	27
<b>Figura 6</b> – Comparação de cromatogramas entre experimentos realizados com mesmo volume de extrações.....	28
<b>Figura 7</b> – Área de pico em função da massa molar para analitos representativos de cada grupo de HPAs. ....	29
<b>Figura 8</b> – Dendograma obtido a partir de Análise Hierárquica de Agrupamentos...	30

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Relação de métodos propostos para extração de HPAs.....	16
<b>Tabela 2</b> – Planejamento experimental de extrações. ....	19
<b>Tabela 3</b> – Propriedades estruturais e físico-químicas dos 16 HPAs prioritários segundo a US-EPA. ....	21
<b>Tabela 4</b> – Relação das áreas e desvio padrão relativo de cada analito obtida para os experimentos de extração com amostras fortificadas com 1 mL de uma solução 0,05 mg/L do grupo de HPAs prioritários da US-EPA. ....	24
<b>Tabela 5</b> – Custo para amostras em função do método de extração e preço do solvente igual a R\$ 70,64 por litro utilizado. Custos relativos aos padrões utilizados inclusos. ....	31

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	7
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	10
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	11
3.1	EFEITOS AMBIENTAIS E TOXICIDADE HUMANA.....	13
3.2	MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO .....	14
3.3	DESAFIOS DAS TÉCNICAS ATUAIS .....	15
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	17
4.1	PADRÕES E REAGENTES .....	17
4.2	INTRUMENTAÇÃO E CONDIÇÕES DE ANÁLISE .....	17
4.3	PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO .....	18
4.4	ANÁLISE DOS RESULTADOS .....	19
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	20
5.1	ANÁLISE DOS DADOS.....	23
5.2	COMPARAÇÃO DE CROMATOGRAMAS.....	25
5.2.1	Número de Extrações.....	25
5.2.2	Volume Total.....	26
5.2.3	Volume de Extração .....	27
5.3	INFLUÊNCIA DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.....	28
<b>6</b>	<b>AVALIAÇÃO DE CUSTOS</b> .....	31
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	32
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	33

## 1 INTRODUÇÃO

O monitoramento ambiental é uma demanda cada vez mais importante para instituições focadas em garantir a saúde e o bem-estar humano, assim como o equilíbrio dos ecossistemas dos quais dependem. Para controlar a quantidade e a presença de contaminantes no meio ambiente, o papel da química analítica se torna fundamental ao desenvolver métodos para detecção e quantificação de poluentes, sejam em meio terrestre, aquático ou atmosférico.

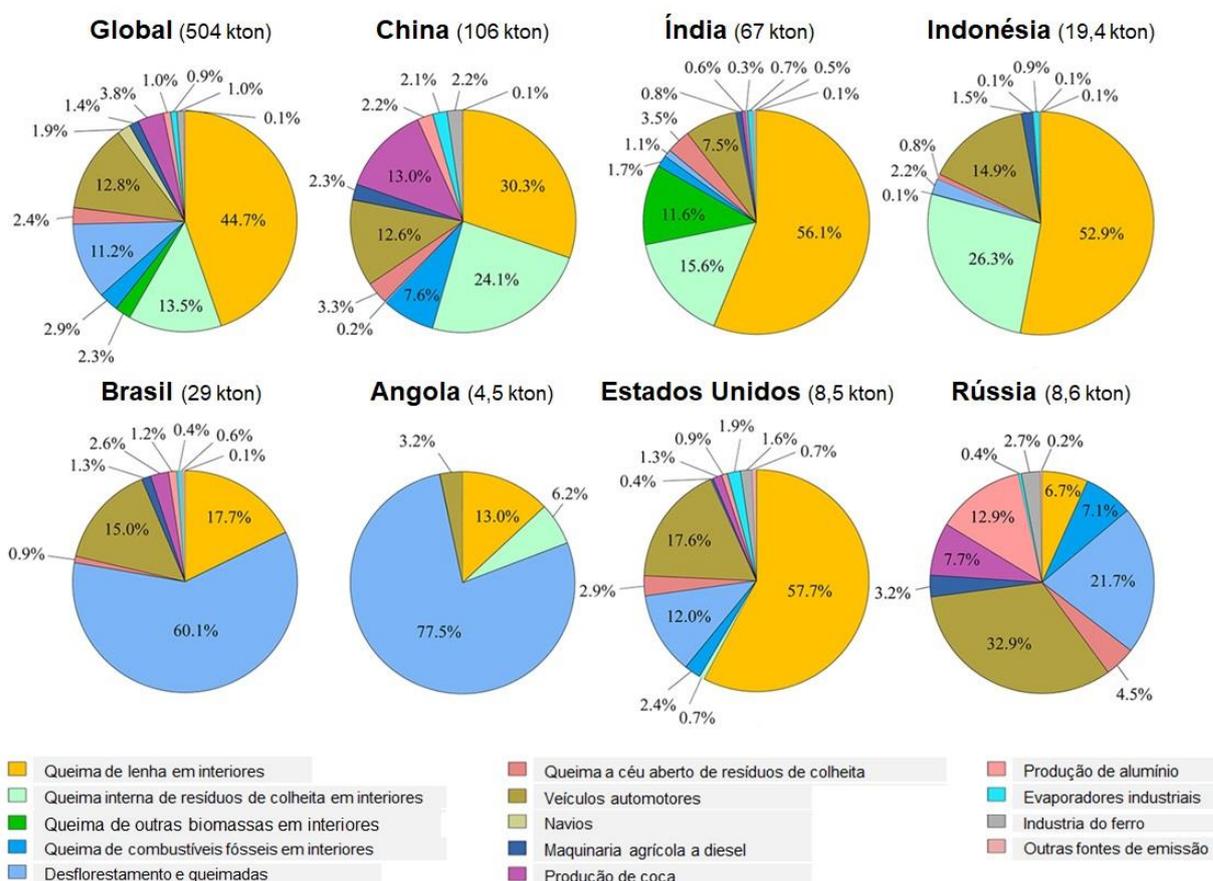
Dentre os grupos de poluentes mais comumente monitorados estão os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), presentes no petróleo, carvão, xisto e produzidos a partir da queima de matéria orgânica no uso de combustíveis, queimadas florestais e liberações naturais como, por exemplo, na atividade de vulcões. Estes compostos são conhecidos pela elevada persistência no ambiente e pelos potenciais efeitos danosos à saúde humana e de outros seres vivos, pelos quais podem avançar na cadeia alimentar sofrendo um processo de bioacumulação, principalmente em sistemas aquáticos, onde têm tendência de se concentrarem em tecidos de peixes ou mamíferos. Além dos efeitos adversos em ecossistemas, os HPAs são classificados por diversos órgãos de controle ambiental e saúde populacional como prováveis carcinógenos humanos e como agentes mutagênicos.

Dados compilados de 2007 demonstram que as emissões de HPAs atingiram mais de 500 mil toneladas globalmente e os países como a China, Índia e Brasil são os países que mais contribuíram para estas emissões, chegando a 106, 67 e 29 quilotoneladas neste ano, respectivamente. Na Figura 1 é apresentada a distribuição das emissões de acordo com diferentes fontes, globalmente e para alguns dos principais países poluidores. Fontes importantes de HPAs presentes na maioria dos países incluem veículos automotores e queima de matéria orgânica em residências ou estabelecimentos comerciais e agrícolas, representando mais de 70% das emissões globais. Em países em desenvolvimento observa-se uma grande contribuição proveniente de queimadas e desflorestamentos, como no Brasil e na Angola, causados pela expansão do setor agrícola e pecuário.

Atualmente existem diversas instituições nacionais e internacionais destinadas a garantir a saúde e bem-estar humano e dos ecossistemas habitados por meio do controle de poluentes como os HPAs. Instituições como a US-EPA (*United States Environmental Protection Agency*) nos Estados Unidos são geralmente acatadas

como referência no desenvolvimento de métodos analíticos de poluentes ambientais diversos. No Brasil, existe um esforço conjunto entre o Ministério da Saúde e do Meio Ambiente, e a Anvisa para o monitoramento e fiscalização dos recursos naturais e humanos. Embora as técnicas de extração, análise e remediação destes poluentes estejam bem estabelecidas por tais órgãos de controle, pesquisas nestas áreas são extensas devido principalmente ao avanço tecnológico dos últimos anos, buscando desenvolver métodos mais rápidos de análise, de baixo custo e mais seguros para os analistas envolvidos.

**Figura 1 – Emissões de HPAs para as principais fontes e países.**



Fonte: adaptado de Shen *et al.* [1]

A análise específica de HPAs ocorre por métodos cromatográficos na grande maioria dos casos, por cromatografia gasosa ou líquida, após uma etapa de preparo das amostras sólidas ou líquidas. A extração e preparo das amostras exibe grande variedade atualmente, abrangendo técnicas como a extração em fase sólida (SPE),

extração por fluídos supercríticos (SFE), por barra magnética adsorvente (SBSE), micro-extração em fase sólida (SPME), extração por água superaquecida (SHWE) e a extração líquido-líquido (LLE), por exemplo. Apesar dos avanços nas tecnologias de extração para HPAs, técnicas mais consolidadas como a LLE ainda são bastante utilizadas por serem simples e menos custosas, mesmo que apresentem riscos significativos devido à necessidade de utilização de solventes orgânicos em quantidades relativamente altas, contrapondo técnicas isentas de solventes como no caso de extrações em fase sólida.

Com a importância da determinação de HPAs exposta na literatura e a necessidade do constante desenvolvimento metodológico para este fim, a otimização de sistemas pré-existentes e bem estabelecidos são muitas vezes desejáveis em contraponto à aquisição de sistemas mais sofisticados para análise destes compostos. Para otimizar um sistema de extração e análise devem ser considerados diversas variáveis, muitas vezes de maneira empírica, que dependem tanto da matriz da qual os analitos serão extraídos quanto das propriedades físico-químicas dos próprios analitos, além das condições do ambiente ao qual o método está sendo submetido.

## **2 OBJETIVOS**

Considerando a importância do controle da concentração ambiental dos HPAs em diversos sistemas e os possíveis efeitos nocivos aos seres humanos, animais e ecossistemas aos quais persistem, este trabalho tem como objetivo investigar as potencialidades e limitações na redução de volume do solvente para extração de HPAs em matrizes aquosas.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são uma família de compostos orgânicos contendo carbono, hidrogênio e no mínimo dois anéis aromáticos condensados em diferentes estruturas. Embora sejam hidrocarbonetos, nitrogênio, enxofre e oxigênio podem substituir ligações nos grupos aromáticos, formando HPAs heterocíclicos e podem ser encontrados também com grupos alquil substituídos. Devido à estrutura altamente apolar estes compostos também são altamente hidrofóbicos, possuindo uma baixa pressão de vapor e temperaturas de fusão e ebulição relativamente altas, sendo classificados como semivoláteis. [2]

Os compostos puros de HPAs existem como sólidos cristalinos incolores, brancos ou em uma coloração pálida amarelo esverdeada, com odor fraco e agradável. No ambiente, os HPAs de baixa massa molecular se encontram em boa parte na sua forma gasosa devido à volatilidade mais elevada, enquanto os HPAs de alta massa molecular são encontrados adsorvidos em partículas. O grupo de compostos pode ser encontrado no ar, solo, águas subterrâneas e superficiais assim como em sedimentos e alimentos.

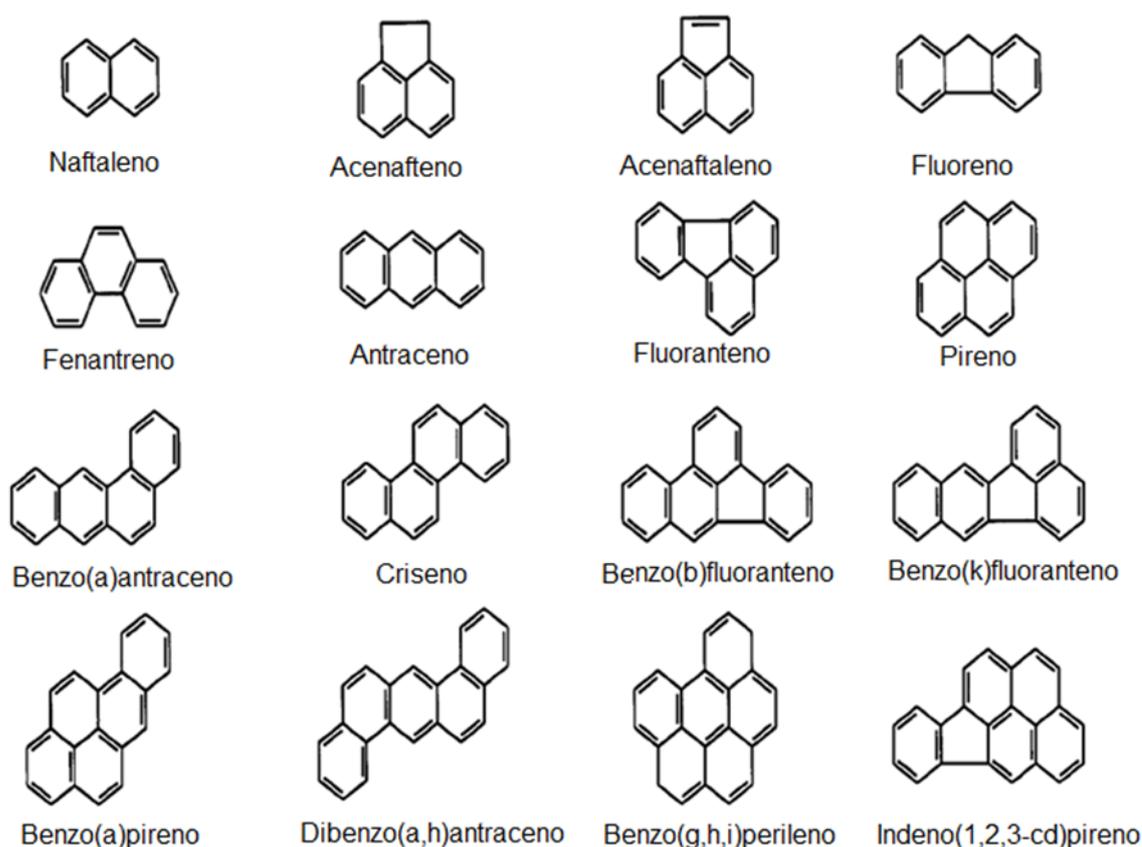
Geralmente, os HPAs são classificados levando em conta a massa molecular. A fração mais leve contém até três anéis aromáticos condensados, incluindo o naftaleno, composto mais simples, fluoreno, antraceno e fenantreno. A fração mais pesada contém quatro ou mais anéis aromáticos condensados e inclui o pireno, benzo(a)pireno, dibenzo(a,c)antraceno e benzo(g,h,i)perileno. Compostos mais leves como o naftaleno volatilizam mais facilmente e são mais suscetíveis a degradações químicas, enquanto os compostos mais pesados possuem temperaturas de ebulição mais altas e maior hidrofobicidade, desta forma sendo mais estáveis e persistentes quimicamente. Pesquisas indicam que a meia vida de HPAs tricíclicos como fenantreno varia na faixa de 16 a 126 dias no solo, enquanto HPAs pentacíclicos como o benzo(a)pireno a meia vida pode atingir valores que variam entre 229 e 1500 dias. Esta diferença se dá basicamente pela baixa solubilidade em água, baixa volatilidade, resistência à lixiviação e à natureza recalcitrante. [3]

A solubilidade dos HPAs tende a ser menor com a substituição por grupos alquila na maioria dos casos, não sendo o caso do benzo(a)antraceno, por exemplo, que tem solubilidade menor que a sua molécula derivada metil- ou etilbenzo(a)antraceno. Moléculas com arranjos lineares tendem a ser menos solúveis

do que moléculas com estruturas angulares. A solubilidade em água ainda pode aumentar em três ou cinco vezes com um aumento da temperatura de 5 para 30°C, devido à relativa fragilização das ligações de hidrogênio. Além disso, frações orgânicas dissolvidas e coloidais também aumentam a solubilidade através da incorporação dos HPAs em micelas. [4]

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US-EPA – United States Environmental Protection Agency) designou 16 dos principais HPAs como poluidores ambientais prioritários para o constante monitoramento e controle da concentração destes compostos no ambiente. Na Figura 2, estão listados os 16 compostos prioritários designados pela US-EPA e suas respectivas estruturas químicas.

**Figura 2** – Estrutura molecular dos 16 compostos HPAs prioritários segundo a US-EPA.



Fonte: adaptado de Rogers et al. "Natural Attenuation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Contaminated Sites: Review." [5]

### 3.1 EFEITOS AMBIENTAIS E TOXICIDADE HUMANA

Os HPAs são poluentes ambientais comuns encontrados em diversos tipos de matrizes e são conhecidos pela sua capacidade bioacumulativa, persistência e toxicidade para organismos vivos e ao ecossistema. A capacidade destes compostos de se associar a metabólitos reativos, como epóxidos e dihidrodíóis, tem grande potencial de ligação a estruturas de proteínas e ao DNA, elevando os riscos de toxicidade e mutagenicidade de seres vivos. As principais rotas de exposição de HPAs em humanos se dão por inalação de ar contaminado, ingestão de alimentos ou água e por contato dérmico. [6]

Os efeitos em seres humanos variam dependendo do indivíduo, faixa etária, rota de exposição e concentração do poluente. No entanto, a caracterização dos efeitos individuais a cada HPA é uma tarefa difícil pelo fato de que estes compostos ocorrem geralmente como misturas complexas e quase sempre é esperado que os efeitos estudados tenham sido causados por uma variedade de HPAs diferentes. Sintomas comuns atribuídos pela exposição à maioria dos HPAs incluem náusea, vômito, diarreia, taquicardia, dor abdominal, confusão, agitação, febre, suor excessivo, entre outros [7]. A condição mais preocupante, no entanto, diz respeito à capacidade mutagênica e carcinogênica das moléculas. Diversas instituições atualmente possuem estudos próprios quanto aos efeitos carcinogênicos e mutagênicos com poucas discrepâncias entre cada composto. Em geral, os compostos mais pesados e persistentes no meio ambiente são classificados como mais nocivos. Atualmente a US-EPA classifica o benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, criseno, dibenzo(a,h)antraceno e o indeno(1,2,3-cd)pireno como prováveis carcinógenos humanos, enquanto que o acenaftaleno, acenafteno, antraceno, benzo(g,h,i)perileno, fluoranteno, fluoreno, fenantreno e pireno não são classificados quanto ao potencial carcinogênico em humanos.

Além das complicações para seres humanos, HPAs também foram vastamente estudados quanto aos efeitos na microbiota em solos. Foram identificadas alterações importantes na biodiversidade e no equilíbrio de espécies microbianas em solos contaminados através do favorecimento de certas espécies em detrimento de outras, essenciais para a manutenção das funções do ecossistema. A poluição causada por HPAs geralmente impulsiona o aparecimento de bactérias que degradam hidrocarbonetos no solo, suprimindo a dominância pré-contaminação de bactérias

como as do gênero *Pseudomonas* e *Actinobacteria* [8]. Além dos efeitos na biodiversidade dos solos, existe um grande potencial de contaminação de vegetais, verduras e frutas, onde também ocorre bioacumulação de HPAs levando a efeitos indesejáveis diretos ou indiretos à saúde humana.

Nos ecossistemas aquáticos, os HPAs podem induzir o aparecimento de tumores, câncer, mutagenicidade e são também disruptores endócrinos para mamíferos aquáticos e peixes. A exposição aos poluentes torna a produção de ovos deficitária em peixes e causa alterações no desenvolvimento dos filhotes, como malformação craniana e cardíaca, morte de células neuronais, hemorragias, alterações das funções cardíacas e dificuldades para nadar [9]. Além de peixes e mamíferos aquáticos, espécies menores como o zooplâncton, essenciais para o balanceamento dos ecossistemas aquáticos, também são largamente afetados pela concentração de HPAs no meio aquático. Estudos realizados demonstraram que a população de zooplâncton em áreas afetadas é significativamente reduzida pela ação do benzo(a)pireno. Em ecossistemas aquáticos, a bioacumulação de HPAs é mais pronunciada do que em solos ou sedimentos devido à alta lipofilicidade destes compostos, que tendem a se acumular em tecidos de gordura de peixes e mamíferos aquáticos. [10]

### 3.2 MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO

Os HPAs estão geralmente presentes em amostras aquosas em níveis traço devido à baixa solubilidade causada pela ausência de grupos polares em sua estrutura. Portanto, os métodos analíticos a serem utilizados devem apresentar fator de enriquecimento suficiente para que as baixas concentrações possam ser detectadas instrumentalmente. As técnicas de extração mais comumente utilizadas para amostras aquosas são a extração líquido-líquido (LLE) e a extração em fase sólida (SPE). Algumas técnicas de diferentes abordagens também estão sendo exploradas atualmente e demonstrando eficiência semelhante, como no caso da extração por barra de adsorção (SBSE). [11]

Amostras de solo ou sedimento exigem um tratamento mais cuidadoso para o isolamento ou extração de HPAs precedendo a análise instrumental devido à afinidade destes compostos com o material orgânico. É essencial que os extratos sejam submetidos a uma etapa de *clean up* para remover o máximo de interferentes

presentes na matriz de amostra. O *clean up* é feito por colunas com material empacotado adsorvente como sílica, alumina ou PDMS (polidimetilsiloxano).

A análise de HPAs ocorre por técnicas cromatográficas acopladas a uma variedade de detectores. Detectores de absorção ultravioleta e espectroscopia de fluorescência são os mais frequentemente utilizados em sistemas de HPLCs, enquanto detectores de ionização por chama, captura de elétrons e espectrometria de massas são os mais usuais para sistemas de GC. Alguns destes métodos são extremamente sensíveis e podem identificar e quantificar a maioria dos HPAs. No entanto, as técnicas são relativamente demoradas e exigem trabalho intensivo nas etapas de extração, além da instrumentação representar um custo expressivo para os laboratórios. [12]

Atualmente, uma variedade de métodos analíticos e de extração são descritos na literatura para as mais diversas matrizes ambientais. É importante notar que embora os métodos sejam igualmente sensíveis à detecção de HPAs, cada método resulta em uma faixa abrangente de eficiência devido à baixa concentração destes compostos em algumas matrizes e presença de interferentes. A Tabela 1 apresenta alguns dos métodos mais atuais para extração e detecção de HPAs em matrizes aquosas ambientais, descrevendo brevemente o método utilizado e as respectivas recuperações dos analitos estudados.

### 3.3 DESAFIOS DAS TÉCNICAS ATUAIS

A importância do controle dos HPAs como poluentes ambientais reflete diretamente no crescente interesse e no desenvolvimento de diversos métodos inovadores para a determinação destes compostos. A consolidação de técnicas sustentáveis nos processos de preparo de amostras e análise é de fundamental importância, visando reduzir a quantidade de reagentes utilizados, a escala dos processos, custos de execução e reduzir os riscos associados aos analistas diretamente expostos em ambiente de laboratório. Considerando estes aspectos, este trabalho tem como objetivo otimizar os processos de extração relativos aos HPAs buscando atender às demandas atuais de sustentabilidade e segurança em um laboratório químico. Assim, buscou-se estudar a viabilidade de redução de materiais utilizados em um procedimento bem estabelecido de extração para HPAs: a extração líquido-líquido, por meio de experimentos com volumes de agente extrator variáveis.

**Tabela 1 –** Relação de métodos propostos para extração de HPAs.

<b>Método</b>	<b>Aditivo</b>	<b>Solvente</b>	<b>Deteção</b>	<b>Recuperação (%)</b>	<b>Ref.</b>
<b>LLE</b>	NaCl	Tolueno	GC-MS	93 - 102	[13]
<b>LLE</b>	NaCl	Diclorometano 1:1 Hexano	GC-MS	54 – 127	[14]
<b>MSPE</b>	Meso-tetra (4-carboxifenil) porfirina	Metanol 1:1 Acetona	GC-MS	71 – 107	[15]
<b>MSPE</b>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> em grafeno	Tolueno 3:1 Acetona	GC-MS	76 – 112	[16]
<b>SBME</b>	Barra sortiva com fibra oca	Hexano	GC-MS	76 - 127	[17]
<b>SBSE</b>	Barra de polidimetilsiloxano	Acetonitrila	HPLC-FD	100	[18]
<b>SBSE</b>	Barra de polipirrol-polianilina	Acetona	GC-FID	86 – 100	[19]
<b>CPE</b>	p-tert-octilfenol polioxietileno	Água	GC-MS	71 - 98	[20]
<b>CPE</b>	Polioxietileno-10-lauril éter	Água	HPLC-FD	86 - 101	[21]

Fonte: O Autor.

LLE: Extração líquido-líquido; MSPE: Microextração em fase sólida; SBME: Microextração com barra sortiva e fibra oca; SBSE: Extração por barra de agitação sortiva; CPE: Extração por ponto de névoa.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 PADRÕES E REAGENTES

A mistura de padrões em solução de 50% de diclorometano e 50% de benzeno contendo 18 HPAs, dentre os quais 16 são prioritários pela US-EPA, foi obtida da *AccuStandard®*, *Inc.* com as respectivas concentrações certificadas: 2011 µg/mL de acenafteno, 1985 µg/mL de acenaftaleno, 2001 µg/mL de antraceno, 2014 µg/mL de benz(a)antraceno, 2014 µg/mL de benzo(a)pireno, 2011 µg/mL de benzo(b)fluoranteno, 1976 µg/mL benzo(g,h,i)perileno, 2008 µg/mL benzo(k)fluoranteno, 2002 µg/mL de criseno, 1978 µg/mL de dizenz(a,h)antraceno, 1972 µg/mL de fluoranteno, 1992 µg/mL de fluoreno, 2004 µg/mL de indeno(1,2,3-cd)pireno, 1985 µg/mL de naftaleno, 2009 µg/mL de fenantreno, 1978 µg/mL de pireno, 2000 µg/mL de 1-metilnaftaleno e 1994 µg/mL de 2-metilnaftaleno. Diclorometano *CHROMASOLV™* para cromatografia gasosa foi obtido da Honeywell. Em todos os procedimentos foi utilizada água ultrapura produzida diretamente no purificador *Milli-Q® Direct* da Merck. Foi utilizado Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro com pureza ≥ 99% obtido da Dinâmica® Química Contemporânea Ltda. Foi utilizado hélio como gás de arraste obtido da Linde com pureza de 99,999%.

### 4.2 INSTRUMENTAÇÃO E CONDIÇÕES DE ANÁLISE

A concentração dos extratos foi realizada utilizando um equipamento concentrador multiamostras da Büchi, modelo Syncore® Polyvap R-6 com seis copos de evaporação.

A análise dos experimentos preparados foi realizada em equipamento de cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massas Shimadzu modelo GCMS-QP2020 com injetor automático de amostras modelo AOC-20i. O volume de injeção da amostra foi de 1 µL em modo *splitless*, utilizando hélio como gás de arraste a um fluxo de 0,50 mL/min e velocidade linear de 44,3 cm/s. Foi utilizada uma coluna cromatográfica capilar ZB-5ms com dimensões de 10 m x 0,1 mm x 0,1 µm a uma pressão do gás de arraste de 292,5 kPa. O forno utilizou programa de temperatura iniciando em 50°C por 1 minuto, aumentando para 150°C a uma taxa de 50°C/min,

em seguida para 250°C a uma taxa de 40°C/min e finalmente para 300°C a uma taxa de 25°C/min permanecendo nesta temperatura durante 2 minutos. A ionização foi por impacto eletrônico de 70 eV. O modo SIM foi utilizado com temperatura da fonte de íons de 200°C e temperatura da interface GC-MS de 320°C. Os íons monitorados para cada HPA estão de acordo com o método da US-EPA para determinação de compostos orgânicos semivoláteis. [22]

#### 4.3 PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO

A partir da solução padrão de 2000 µg/mL foi preparado uma solução estoque em diclorometano na concentração de 10 mg/L da qual alíquotas foram retiradas para preparar sucessivamente uma solução de 1,0 mg/L, 0,1 mg/L e 0,05 mg/L. A solução padrão de 0,05 mg/L foi escolhida para ser utilizada como padrão de fortificação.

Foram realizados seis procedimentos em triplicata onde o efeito da quantidade de solvente e o número de extrações por procedimento foi estudado. Utilizou-se um total de 180, 90 e 60 mL de diclorometano divididos em três frações de 60, 30 e 20 mL, respectivamente. Além disso, para as quantidades de 180 e 120 mL também foram realizados procedimentos divididos em quatro frações de 45 e 30 mL, respectivamente. O planejamento experimental está disposto na Tabela 2. Para cada experimento 1 L de água Milli-Q foi medido em proveta e foi transferido para funis de separação de PTFE. Em seguida a água foi fortificada com 1 mL da solução de 0,05 mg/L da mistura padrão de HPAs, seguido da adição de diclorometano em capela de exaustão. A mistura heterogênea foi agitada vigorosamente em cada extração durante 2 minutos utilizando um cronômetro digital. Após a completa separação das fases, a fração orgânica que permanece na parte inferior do funil de separação foi retirada para um frasco Schott® de borosilicato através de um funil contendo um papel filtro e aproximadamente 50g de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, previamente calcinado em estufa durante 4 horas a 400°C. As frações de extrações subsequentes foram realizadas da mesma forma e adicionadas ao mesmo frasco, sendo a quantidade total transferida para copos de concentração. Os extratos foram concentrados a temperatura de 45°C, pressão de 500 mbar e agitação de 200 rpm por tempo suficiente para que o volume atingisse a marca aproximada de 1 mL no copo de evaporação. Os extratos concentrados foram avolumados em balões volumétricos à marca de 1 mL em casos em que a evaporação ultrapassou a marca no copo de concentração. Os extratos

concentrados foram transferidos para seringa com filtro e dispensados em vials de 2 mL. Os vials foram fechados por tampas com septo de PTFE e submetidos a análise por GC-MS.

**Tabela 2** – Planejamento experimental de extrações.

Frações de solvente	Volume total (mL)			
	180	120	90	60
3	60	-	30	20
4	45	30	-	-

Fonte: O Autor.

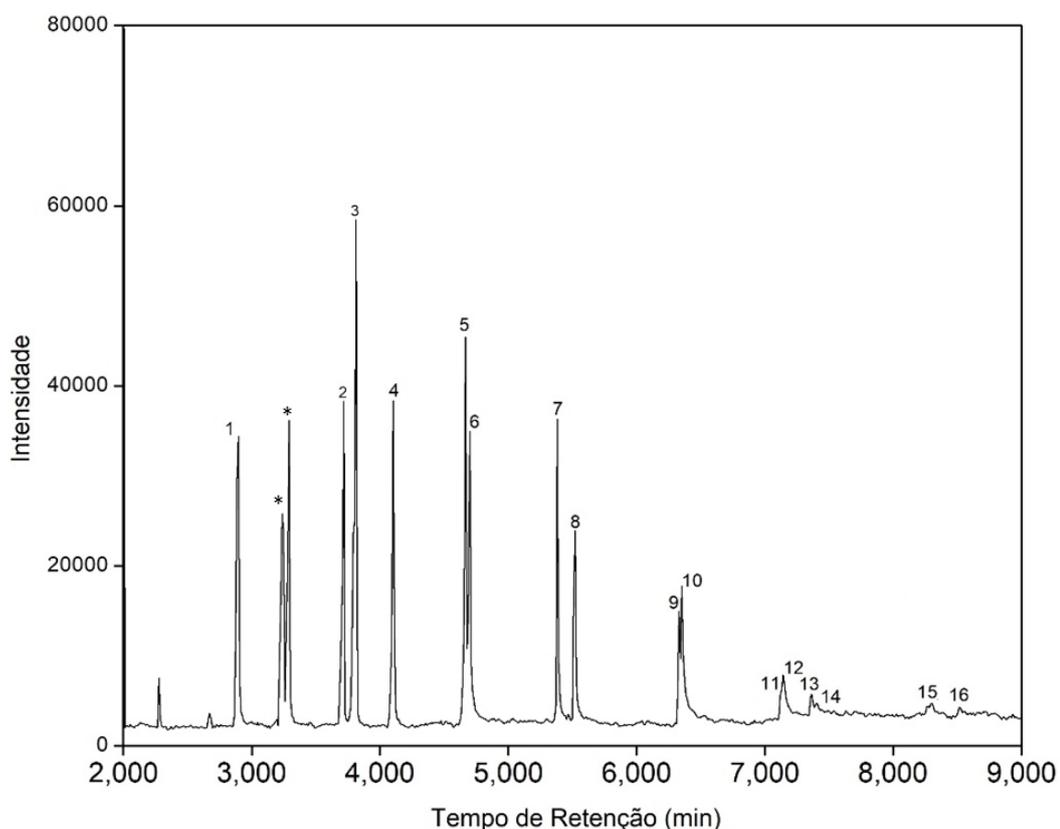
#### 4.4 ANÁLISE DOS RESULTADOS

Os resultados foram expressos em termos de área. Testes de ANOVA foram realizados utilizando o software Origin v8.5. Os testes de correlação bivariada de Spearman e o método de agrupamento hierárquico (HCA) foram realizados no software SPSS (Statistical Package for Social Sciences) v20.0.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os HPAs prioritários da US-EPA possuem características físico-químicas proporcionais ao número de anéis benzênicos acoplados em sua estrutura. Deste modo, o comportamento de outras propriedades como a temperatura de ebulição e a solubilidade em água são previsíveis na maioria dos compostos. Em colunas cromatográficas como a ZB-5ms, a ordem de eluição dos HPAs é controlada principalmente pela temperatura de ebulição pois a polaridade da maioria dos compostos não acarreta diferenças significativas. Um cromatograma típico de HPAs da US-EPA utilizando uma coluna ZB-5ms está representado na Figura 3, devidamente identificados quanto a sua ordem de eluição e com propriedades estruturais e físico-químicas disponíveis na Tabela 3.

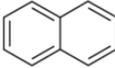
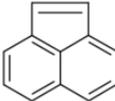
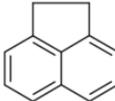
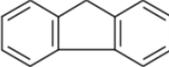
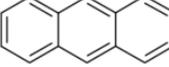
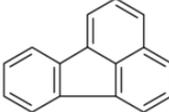
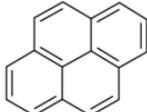
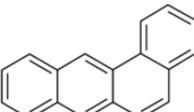
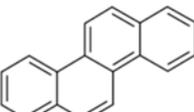
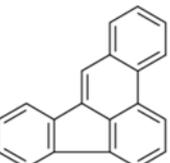
**Figura 3** – Cromatograma de uma solução padrão de 0,1 mg/L contendo os 16 HPAs prioritários da US-EPA.



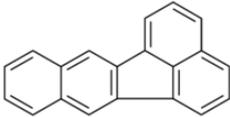
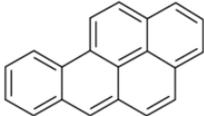
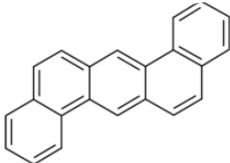
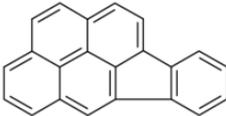
\* Picos de compostos presentes no padrão que não fazem parte do grupo de 16 HPAs prioritários da US-EPA que, para este trabalho, não foram relevantes.

Fonte: O Autor.

**Tabela 3 – Propriedades estruturais e físico-químicas dos 16 HPAs prioritários segundo a US-EPA.**

Pico	Composto	Estrutura	Massa molecular (g/mol)	Temperatura de ebulição (°C)	Solubilidade em água (mg/L)	Log K <sub>ow</sub>
1	Naftaleno		128,2	218	32	3,5
2	Acenafteno		152,2	279	5,3	3,95
3	Acenaftaleno		154,2	280	3,93	3,94
4	Fluoreno		166,2	295	1,85	4,28
5	Fenantreno		178,2	340	1,24	5,62
6	Antraceno		178,2	340	0,64	5,33
7	Fluoranteno		202,3	384	0,25	4,62
8	Pireno		202,3	404	0,14	4,47
9	Benzo(a)antraceno		228,3	438	0,01	5,30
10	Criseno		228,3	448	0,002	5,30
11	Benzo(b)fluoranteno		252,3	480	0,0015	5,74

(conclusão)

Pico	Composto	Estrutura	Massa molecular (g/mol)	Temperatura de ebulição (°C)	Solubilidade em água (mg/L)	Log K <sub>ow</sub>
12	Benzo(k)fluoranteno		252,3	480	ND	6,06
13	Benzo(a)pireno		252,3	495	0,0038	5,74
14	Indeno(1,2,3-cd)pireno		276,3	536	Insolúvel	6,20
15	Dibenzo(a,h)antraceno		278,3	524	0,0005	6,84
16	Benzo(g,h,i)perileno		276,3	550	0,00026	6,20

Log K<sub>ow</sub>: coeficiente de partição n-octanol/água ; ND: não determinado

Fonte: adaptado de Rogers *et al.*, Alegbeleye *et al.* e de "CRC Handbook of Chemistry and Physics".  
[5],[23],[24]

Em análises por cromatografia gasosa, a sensibilidade de detecção e quantificação dos HPAs é decrescente de acordo com o aumento da massa molecular, como fica exposto no cromatograma da Figura 2. Compostos mais leves como o naftaleno, acenaftaleno e fluoreno (picos 1, 3 e 4, respectivamente), exibem boa sensibilidade com picos gaussianos bem definidos. À medida que a massa molecular aumenta os picos tendem a sofrer um alargamento de base por difusão longitudinal, acarretado pelo aumento da temperatura de ebulição. A altura dos picos dos HPAs de maior massa molecular é ainda mais prejudicada quando os compostos passam por um processo de extração em água, efeito acarretado pela alta hidrofobicidade.

Compostos semelhantes estruturalmente também possuem baixa resolução devido à temperatura de ebulição semelhante. Esse fenômeno é observado entre o

fenantreno e antraceno (picos 5 e 6), benzo(a)antraceno e criseno (picos 9 e 10), e entre o benzo(k)fluoranteno e benzo(b)fluoranteno (picos 11 e 12). Esse efeito é mais intenso neste caso principalmente pela utilização de uma coluna de 10 metros. Embora compostos semelhantes tenham menor resolução, o tempo de análise é reduzido consideravelmente com a utilização deste tipo de coluna.

## 5.1 ANÁLISE DOS DADOS

Todas as extrações foram realizadas em condições idênticas, variando apenas o volume de solvente total utilizado e a quantidade de frações em cada experimento. Devido a discrepâncias identificadas como *outliers* em uma das triplicatas, foram consideradas as duplicatas para o cálculo da média e do desvio padrão relativo. Estes resultados estão dispostos na Tabela 4, relacionando o tipo de experimento realizado com o analito específico de interesse.

Em geral, todos os HPAs contendo 4 anéis condensados ou mais apresentam alguma dificuldade de determinação durante as análises por GC-MS. A baixa resolução dos picos entre os isômeros benzo(b)fluoranteno e benzo(k)fluoranteno é uma fonte de erro considerável, mesmo que em alguns casos essa sobreposição não venha a impedir a detecção e quantificação dos dois compostos. Do benzo(a)pireno ao benzo(g,h,i)perileno, a baixa sensibilidade de detecção é esperada em certo grau devido a alguns fatores já mencionados como a alta temperatura de ebulição e baixa polaridade, levando à maior retenção destes compostos nas colunas, além da baixa concentração utilizada nas fortificações. É importante considerar também a capacidade de adsorção dos HPAs mais pesados em vidros de borossilicato, tipo de vidraria utilizada neste trabalho. Em trabalhos futuros pode ser considerada a utilização de 5 a 10% de metanol em mistura com o solvente extrator, com possibilidade de redução da adsorção em 30 a 100% [25]. Outras perdas que não se aplicam somente aos HPAs mais pesados podem ser em relação à manipulação durante a extração, que envolve uma quantidade considerável de etapas.

A relevância estatística dos resultados obtidos foi avaliada por meio da análise de variâncias utilizando modelo *One-Way ANOVA* de *Bonferroni*. Os analitos exibiram comportamento previsível na maioria das comparações com algumas exceções inesperadas. Entre os experimentos 4 X 45 e 3 X 30 a diferença não foi significativa para um nível de significância igual a 0,05 para o acenaftaleno [ $F(4, 5) = 209$ ,  $p =$

1,00], acenafteno [F(4, 5) = 362,  $p = 0,13$ ], fluoreno [F(4, 5) = 647,  $p = 1,00$ ], antraceno [F(4, 5) = 165,  $p = 1,00$ ] e benzo(a)antraceno [F(4, 5) = 67,  $p = 0,15$ ].

**Tabela 4** – Relação das áreas e desvio padrão relativo de cada analito obtida para os experimentos de extração com amostras fortificadas com 1 mL de uma solução 0,05 mg/L do grupo de HPAs prioritários da US-EPA.

Analito	Área por Tipo de Extração				
	3 x 60	3 x 30	3 x 20	4 x 45	4 x 30
Naftaleno	8014 ± 0,6	5010 ± 3,0	810 ± 23,3	3553 ± 13,1	3050 ± 8,1
Acenaftaleno	6340 ± 8,4	3675 ± 0,02	698 ± 18,0	3532 ± 0,2	1920 ± 4,6
Acenafteno	4343 ± 5,4	2731 ± 0,1	424 ± 1,3	2315 ± 3,2	1303 ± 2,6
Fluoreno	5880 ± 1,0	2182 ± 1,7	375 ± 0,4	2234 ± 8,8	1710 ± 11,1
Fenantreno	5604 ± 9,9	2091 ± 2,0	390 ± 4,9	3444 ± 0,8	1780 ± 2,9
Antraceno	8187 ± 7,4	4505 ± 3,6	461 ± 7,1	4247 ± 3,6	1908 ± 17,3
Fluoranteno	8149 ± 2,5	3481 ± 0,4	590 ± 9,0	4962 ± 2,4	1762 ± 2,1
Pireno	8062 ± 6,3	4018 ± 3,2	855 ± 3,1	6971 ± 8,0	2012 ± 0,2
Benzo(a)antraceno	2160 ± 11,5	795 ± 1,3	430 ± 6,9	1260 ± 10,7	374 ± 8,3
Criseno	9850 ± 1,4	2893 ± 6,2	929 ± 11,1	4440 ± 4,3	1332 ± 2,9
Benzo(b)fluoranteno	1152 ± 15,2	ND	1016 ± 2,0	736 ± 4,6	ND
Benzo(k)fluoranteno	3792 ± 2,0	ND	1488 ± 1,7	2093 ± 11,6	ND
Benzo(a)pireno	3184 ± 7,2	ND	497 ± 17,2	1515 ± 18,8	ND
Dibenzo(a,h)antraceno	ND	ND	ND	411 ± 8,3	ND
Indeno(1,2,3-cd)pireno	ND	ND	ND	545 ± 2,6	ND
Benzo(g,h,i)perileno	ND	ND	ND	1018 ± 11,8	ND

ND: não detectado

Fonte: O Autor.

Estes resultados sugerem que ambas as extrações são iguais para esses analitos e que o corte de 180 para 90 mL de solvente não acarretaria perdas significativas. Porém, é improvável que a mesma quantidade de analitos tenha sido extraída nos dois experimentos e provavelmente ocorreram perdas durante a extração com volumes maiores, levando à equiparação das recuperações dos dois experimentos. As perdas podem ter sido causadas pela maior manipulação da amostra e maior tempo de concentração no equipamento evaporador para o experimento de 4 extrações, já que o volume a ser concentrado é maior.

Quando comparados os experimentos 3 X 60 e 4 X 45, o experimento realizado com 3 extrações sucessivas mostrou melhores recuperações, indicando que o equilíbrio de partição favorece o enriquecimento da fase orgânica quando é utilizado um volume maior por extração, em detrimento de um maior número de repetições considerando o mesmo volume total utilizado. A diferença foi significativa para um nível de significância igual a 0,05 para o naftaleno [ $F(4, 5) = 209, p = 1,24 \times 10^{-4}$ ], acenaftaleno [ $F(4, 5) = 147, p = 9,44 \times 10^{-4}$ ], acenafteno [ $F(4, 5) = 362, p = 8,86 \times 10^{-5}$ ], fluoreno [ $F(4, 5) = 647, p = 4,09 \times 10^{-6}$ ], fenantreno [ $F(4, 5) = 123, p = 3,52 \times 10^{-3}$ ], antraceno [ $F(4, 5) = 165, p = 6,67 \times 10^{-4}$ ], fluoranteno [ $F(4, 5) = 1449, p = 9,03 \times 10^{-6}$ ], benzo(a)antraceno [ $F(4, 5) = 67, p = 8,84 \times 10^{-3}$ ], criseno [ $F(4, 5) = 1313, p = 2,26 \times 10^{-6}$ ] e benzo(k)fluoranteno [ $F(2, 3) = 132, p = 4,19 \times 10^{-3}$ ]. Além disso, utilizar maior número de extrações também aumenta o tempo de manipulação da amostra, podendo acarretar perdas significativas.

## 5.2 COMPARAÇÃO DE CROMATOGRAMAS

Os cromatogramas foram categorizados de acordo com um parâmetro comum constante: o número de extrações, volume total e volume de extração, de forma que possam ser comparados quanto à qualidade de separação, resposta obtida e identificação para cada analito. Os cromatogramas representam a somatória de íons totais para cada amostra analisada e alguns íons não foram possíveis de serem identificados devido à altura da linha de base. Desta forma, os fragmentos de HPAs mais pesados estão sobrepostos por picos não representativos em alguns casos, e a quantificação das áreas foi possível utilizando o espectro de massas destes compostos. Os analitos detectados estão identificados de acordo com a numeração exposta na Tabela 3.

### 5.2.1 Número de Extrações

A Figura 4 ilustra a comparação entre os experimentos realizados utilizando 3 extrações consecutivas com alíquotas de 60, 30 e 20 mL de solvente.

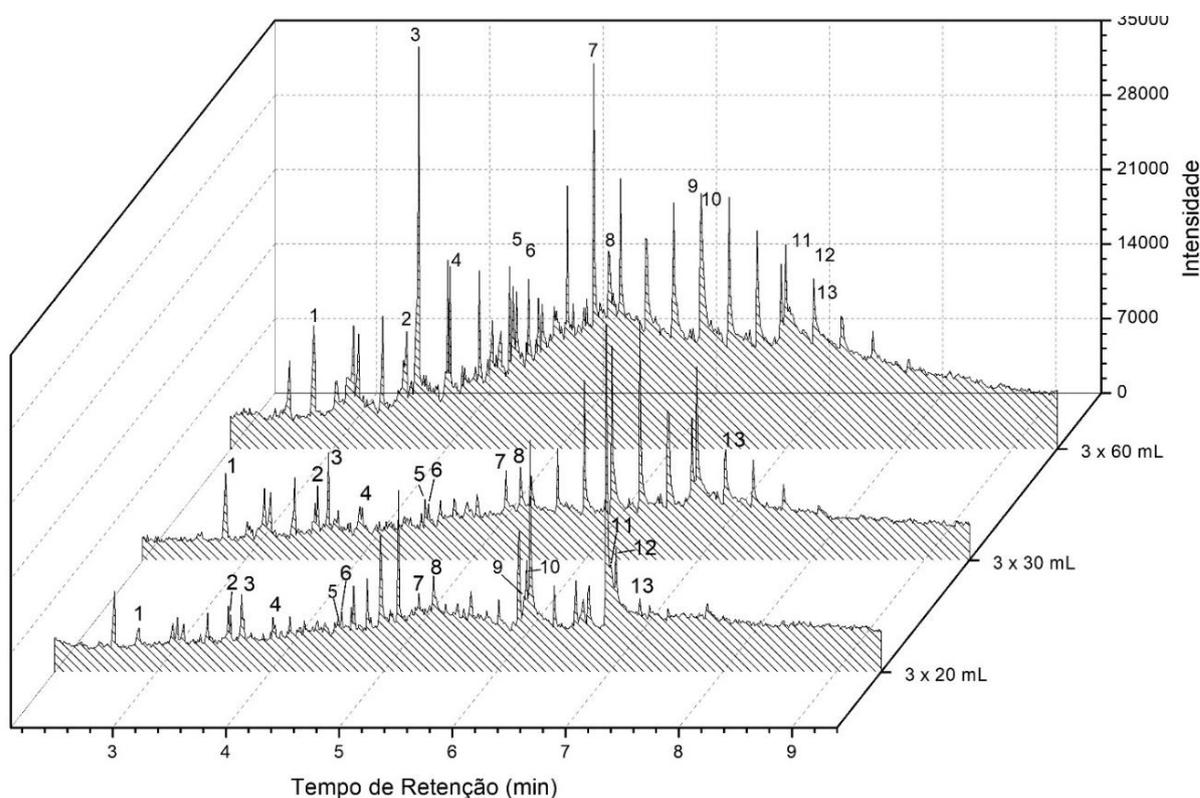
Observa-se evidentemente que em geral as áreas obtidas para os picos aumentam proporcionalmente à quantidade de solvente utilizada em cada fração, além de um aumento da linha de base, também proporcional à quantidade de solvente.

Entre os tempos de retenção 6 e 8 minutos há um perfil característico de hidrocarbonetos lineares acarretado provavelmente pela rotina diária de análises do laboratório que incluem determinação de hidrocarbonetos totais do petróleo, causando uma sobreposição dos picos para HPAs mais pesados. Devido a isso, não foi possível identificar os compostos 10, 11 e 12 para o experimento com 30 mL de diclorometano. Os três últimos compostos não exibiram resposta adequada ou exibiram respostas ambíguas sem definição e não foram identificados.

### 5.2.2 Volume Total

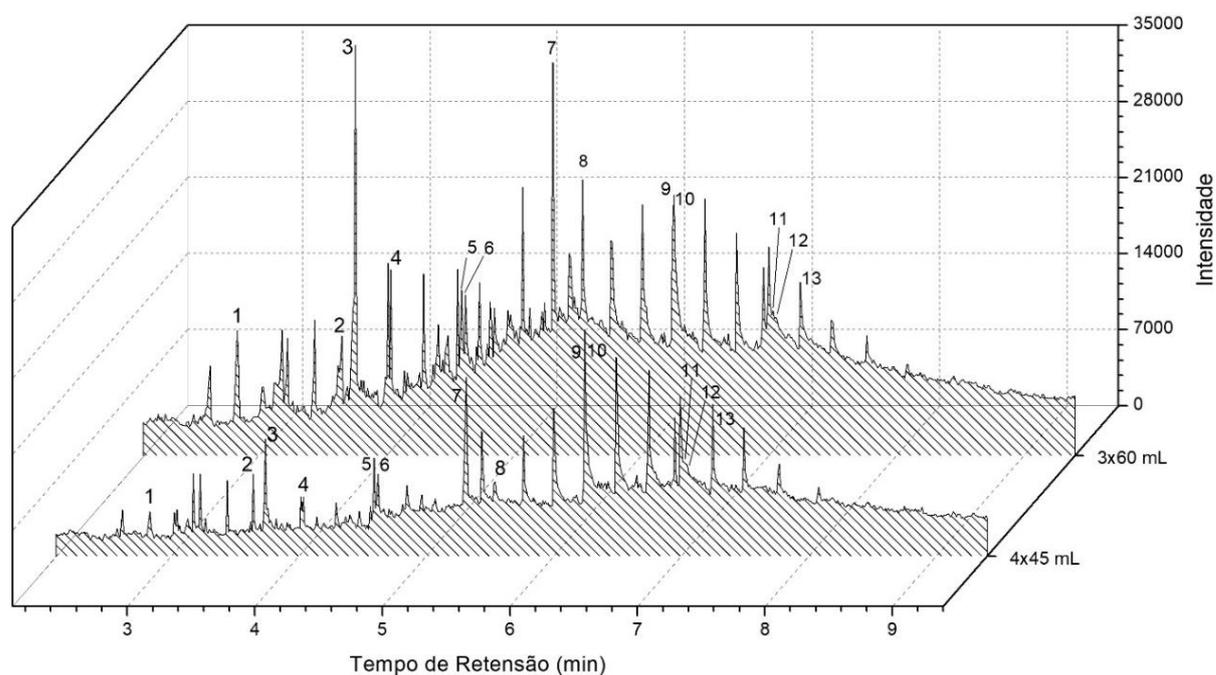
A Figura 5 compara dois cromatogramas para os experimentos realizados utilizando a mesma quantidade total de solvente, independentemente do número de extrações.

**Figura 4** – Comparação de cromatogramas entre os experimentos de 3 X 60, 3 X 30 e 3 X 20 mL de solvente.



Fonte: O Autor.

**Figura 5** – Comparação de cromatogramas com 180 mL de solvente total utilizado.



Fonte: O Autor.

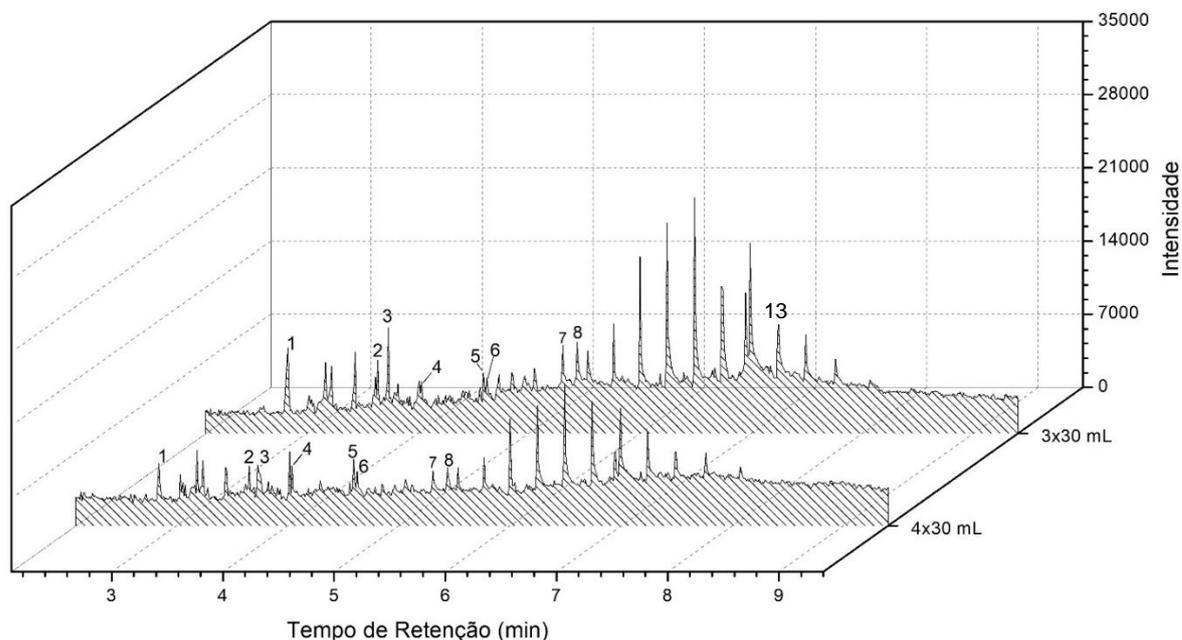
Embora a quantidade total de solvente tenha sido a mesma, a diferença obtida na linha de base para a análise com 45 mL de diclorometano sugere que a redução do volume de solvente por extração causa uma menor interferência de matriz no resultado. No entanto, a resposta obtida para cada analito também difere consideravelmente, em concordância com os resultados estatísticos expostos na Tabela 5.

### 5.2.3 Volume de Extração

A Figura 6 estabelece uma comparação entre os experimentos realizados com o mesmo volume de solvente por extração, independentemente do número de frações utilizadas.

Observa-se que em geral os cromatogramas apresentaram resultados similares em termos de linha de base e altura dos picos para cada analito, sugerindo que para estes experimentos não houve diferenças significativas de interferência de matriz.

**Figura 6** – Comparação de cromatogramas entre experimentos realizados com mesmo volume de extrações.



Fonte: O Autor.

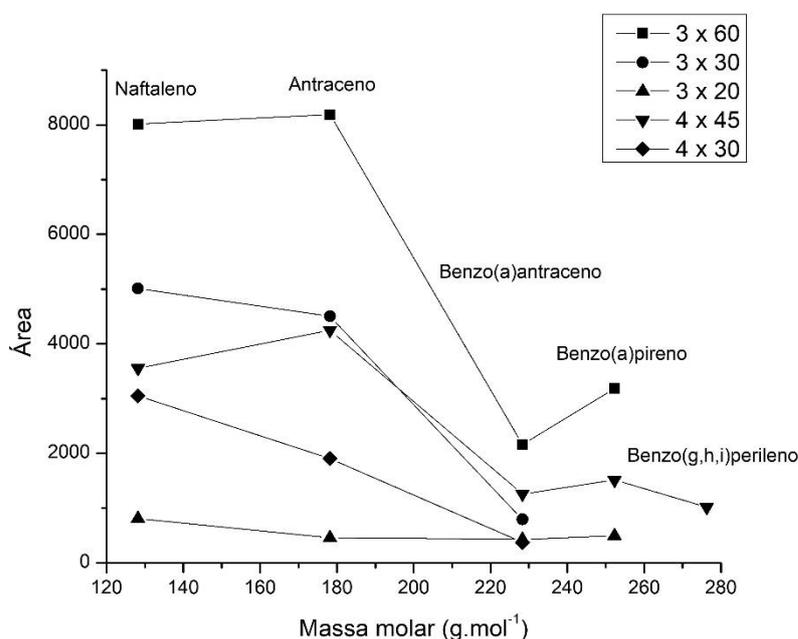
### 5.3 INFLUÊNCIA DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Em geral os HPAs possuem propriedades bem previsíveis à medida que o número de anéis benzênicos condensados aumenta. Para explicar as recuperações obtidas, os analitos foram divididos em grupos conforme o número de anéis em suas estruturas. Na Figura 7 está representado um gráfico da área média de pico obtida em função da massa molar dos analitos representativos de cada grupo.

É evidente a tendência decrescente da área obtida conforme a massa molar aumenta. Testes de correlação de Spearman mostraram correlações fortes entre a massa molar e as condições de extração:  $r_{Sp} = -0,679$ ,  $p < 0,01$ ) para 3 X 60,  $r_{Sp} = -0,822$ ,  $p < 0,01$ ) para 3 X 30,  $r_{Sp} = -0,669$ ,  $p < 0,01$ ) para 4 X 45,  $r_{Sp} = -0,842$ ,  $p < 0,01$ ) para 4 X 30. Outras propriedades também proporcionais a massa molar contribuem de forma igualmente importante como a temperatura de ebulição e a solubilidade em água. No caso da solubilidade, seria esperado que analitos mais pesados fossem extraídos mais facilmente devido a relação inversamente proporcional com a massa molar. No entanto, estes analitos sofrem perdas mais expressivas devido à dificuldade de vaporização durante a análise instrumental e a

maior tendência de adsorção em vidrarias ou outros materiais de laboratório. De toda forma, correlações positivas significativas foram observadas nos seguintes casos:  $r_{Sp} = 0,780$ ,  $p < 0,01$ ) para 3 X 30 e  $r_{Sp} = 0,819$ ,  $p < 0,01$ ) para 4 X 30. No caso de  $K_{ow}$ , correlações inversamente proporcionais foram identificadas:  $r_{Sp} = - 0,817$ ,  $p < 0,01$ ) para 3 X 30,  $r_{Sp} = - 0,685$ ,  $p < 0,01$ ) para 4 X 45,  $r_{Sp} = - 0,782$ ,  $p < 0,01$ ) para 4 X 30.

**Figura 7** – Área de pico em função da massa molar para analitos representativos de cada grupo de HPAs.

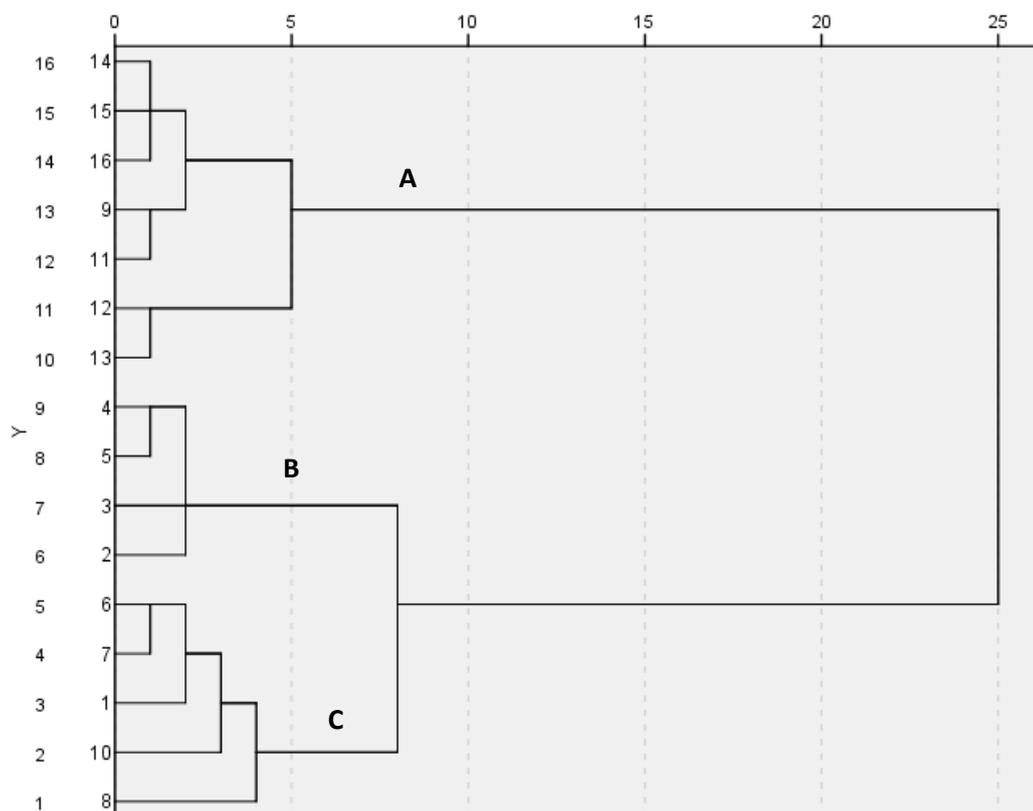


Fonte: O Autor.

Analisando o dendograma na Figura 8, nota-se que há três grandes grupos classificados como HPAs de massa molar alta (A), baixa (B) e média (C). Como a temperatura de ebulição é proporcional à massa molecular e a solubilidade é inversamente proporcional, os grupos também apresentaram classificações quanto a estas propriedades. A única exceção observada foi para o naftaleno que está agrupado aos HPAs de massa molecular e solubilidade média, embora seja o composto mais leve estudado e o mais solúvel. Esta observação pode ser explicada pelas propriedades mais discrepantes em relação aos outros HPAs. Como exemplo, o naftaleno possui uma solubilidade 6 vezes maior do que o acenafteno, embora a diferença das massas moleculares não seja muito grande quando se comparam

outros HPAs. Em relação ao coeficiente de partição, não foi observado nenhum padrão quando este parâmetro é avaliado.

**Figura 8** – Dendograma obtido a partir de Análise Hierárquica de Agrupamentos.



1: naftaleno; 2: acenaftaleno; 3: acenafteno; 4: fluoreno; 5: fenantreno; 6: antraceno; 7: fluoranteno; 8: pireno; 9: benzo(a)antraceno; 10: criseno; 11: benzo(b)fluoranteno; 12: benzo(k)fluoranteno; 13: benzo(a)pireno; 14: indeno(1,2,3-cd)pireno; 15: dibenzo(a,h)antraceno; 16: benzo(g,h,i)perileno; A: grupo de HPAs de massa molar alta; B: grupo de HPAs de massa molar baixa; C: grupo de HPAs de massa molar média.

Fonte: O Autor.

## 6 AVALIAÇÃO DE CUSTOS

A avaliação de custos foi calculada considerando o preço total para a realização da extração de uma única amostra em função do volume de diclorometano utilizado. Além do solvente, foi considerado o custo do padrão de verificação e padrões internos deuterados necessários para análises de HPAs. Na Tabela 5 está disposta a relação entre o método utilizado com o custo de diclorometano grau pesticida, da Honeywell, fornecido pela Carvalhaes. O preço respectivo foi de R\$ 70,64 por litro de solvente. O padrão de verificação (p-Terfenil-d<sub>14</sub>), na concentração de 1000 mg/L, e os padrões internos (acenaftaleno-d<sub>10</sub>, naftaleno-d<sub>8</sub>, fenantreno-d<sub>10</sub>, criseno-d<sub>12</sub> e perileno-d<sub>12</sub>), na concentração de 4000 mg/L, custaram R\$ 94,25 e R\$ 301,60, respectivamente, para 1 mL de solução padrão. Considerando que são utilizados 1 mL de uma solução de 10 mg/L do padrão de verificação e 75 µL de uma solução de 1,0 mg/L dos padrões internos para cada amostra, o custo adicional para estes padrões é igual a R\$ 0,95 por amostra.

A tabela exposta é respectiva à cotação do solvente e dos padrões no dia em que os experimentos foram realizados, podendo não refletir a situação atual de custo.

**Tabela 5** – Custo para amostras em função do método de extração e preço do solvente igual a R\$ 70,64 por litro utilizado. Custos relativos aos padrões utilizados inclusos.

Frações de solvente	Volume da fração (mL)			
	60	45	30	20
3	R\$ 13,67	R\$ 10,49	R\$ 7,31	R\$ 5,19
4	R\$ 17,90	R\$ 13,67	R\$ 9,43	R\$ 6,60

Fonte: O Autor.

Considerando a possibilidade de alteração do método atual de 3 X 60 mL de diclorometano pelo método de 3 X 30 mL, que se mostrou relativamente promissor neste trabalho, a redução do custo por amostra seria de aproximadamente metade do custo original.

## 7 CONCLUSÕES

A crescente demanda pelo desenvolvimento de métodos inovadores é constante, incentivado pela procura de técnicas com custo reduzido, ausência de toxicidade, escala reduzida, sensibilidade e facilidade de execução. Buscando atender a estas características desejáveis, o presente trabalho estudou uma alteração metodológica para a redução do custo e da potencial toxicidade de uma técnica de extração para HPAs em matrizes aquosas, dado que estes poluentes em concentrações consideráveis possuem efeitos danosos a saúde humana, ao meio ambiente e aos seres vivos que habitam os meios terrestres e aquáticos.

Os experimentos de redução de solvente na extração líquido-líquido apresentaram resultados não muito distantes daquele do método consolidado. Diversos fatores podem afetar a recuperação de HPAs, explicando alguns resultados discrepantes. A baixa solubilidade em água, capacidade de adsorção em vidrarias e perdas por manipulação de amostras são alguns dos fatores que podem ter influenciado nos resultados obtidos. Os testes estatísticos realizados também demonstraram que a quantidade de volume por extração tem contribuição maior do que o número de extrações por procedimento. No entanto, o resultado inverso foi observado em relação à linha de base nos cromatogramas, sugerindo menor concentração de impurezas e efeitos de matriz.

Para avaliar com acurácia a viabilidade de aplicação do método proposto, outros estudos futuros podem ser realizados. O efeito *salting-out* é uma possibilidade promissora para aumentar as recuperações e melhorar a sensibilidade do método. O efeito funciona a partir da adição de um sal na amostra que alteraria o equilíbrio de partição entre as duas fases, aumentando a concentração dos HPAs na fase orgânica. Outra possibilidade seria estudar a implementação de um método por extração com barra sortiva, o que levaria a uma redução drástica de solvente, dado que estudos na literatura demonstram recuperações semelhantes ou maiores do que o método de extração líquido-líquido. Finalmente, uma otimização considerando outras variáveis é necessária, visto que parâmetros como a temperatura de concentração e a pressão utilizada não foram avaliados.

## REFERÊNCIAS

- [1] SHEN, H. et al. Global Atmospheric Emissions of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from 1960 to 2008 and Future Predictions. **Environmental Science & Technology**, [s.l.], v. 47, n. 12, p.6415-6424, 31 maio 2013.
- [2] KOSTKA, J. E. et al. Hydrocarbon-Degrading Bacteria and the Bacterial Community Response in Gulf of Mexico Beach Sands Impacted by the Deepwater Horizon Oil Spill. **Applied and Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 77, n. 22, p.7962-7974, 23 set. 2011.
- [3] ALEGBELEYE, O. O. OPEOLU, B. O. JACKSON, V. A. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: A Critical Review of Environmental Occurrence and Bioremediation. **Environmental Management**, [s.l.], v. 60, n. 4, p.758-783, 1 jun. 2017.
- [4] LUCH, A. The carcinogenic effects of polycyclic aromatic hydrocarbons. Londres: Imperial College Press, pp. 223–300, 2005.
- [5] ROGERS, S. W. et al. Natural Attenuation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Contaminated Sites: Review. **Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management**, [s.l.], v. 6, n. 3, p.141-155, jul. 2002.
- [6] International Programme on Chemical Safety. Human exposure assessment. Environmental Health Criteria, 214. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/ehc/214>>. Acessado em: 19 maio. 2019.
- [7] MUMTAZ, M. GEORGE, J. Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. **Centers for Disease Control and Prevention**. Disponível em 8 de abril de 2019, <<http://www.atsdr.cdc.gov>>. Acessado em: 19 maio. 2019.
- [8] BENEDEK, T. et al. Remarkable impact of PAHs and TPHs on the richness and diversity of bacterial species in surface soils exposed to long-term hydrocarbon pollution. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [s.l.], v. 29, n. 11, p.1989-2002, 30 abr. 2013.
- [9] BARRON, M. G. et al. Photoenhanced toxicity of aqueous phase and chemically dispersed weathered Alaska North Slope crude oil to Pacific herring eggs and larvae. **Environmental Toxicology and Chemistry**, [s.l.], v. 22, n. 3, p.650-660, mar. 2003.
- [10] IKENAKA, Y. et al. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on an aquatic ecosystem: acute toxicity and community-level toxic impact tests of benzo[a]pyrene using lake zooplankton community. **The Journal of Toxicological Sciences**, [s.l.], v. 38, n. 1, p.131-136, 2013.
- [11] ADENIJI, A. O. et al. Analytical Methods for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Their Global Trend of Distribution in Water and Sediment: A Review. **Recent**

**Insights in Petroleum Science and Engineering**, Mansoor Zoveidavianpoor, IntechOpen, 20 dec. 2018.

[12] LAWAL, A. T. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: A Review. **Cogent Environmental Science**, vol. 3, no. 1, 2017.

[13] ERARPAT, S. et al. A Novel Liquid-Liquid Extraction for the Determination of Naphthalene by GC-MS with Deuterated Anthracene as Internal Standard. **Environmental Monitoring and Assessment**, vol. 189, no. 10, 2017.

[14] ZHU, T. et al. Simultaneous Determination of 32 Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Derivatives and Parent PAHs Using Gas Chromatography–Mass Spectrometry: Application in Groundwater Screening. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, [s.l.], vol. 101, no. 5, pp. 664–671, 13 out. 2018.

[15] YU, J. et al. Porphyrin-based magnetic nanocomposites for efficient extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from water samples. **Journal of Chromatography A**, [s.l.], v. 1540, p.1-10, mar. 2018.

[16] Pang, L. et al. Magnetic Graphene Solid-Phase Extraction in the Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water. **RSC Advances**, [s.l.], vol. 7, no. 85, pp. 53720–53727, 2017.

[17] LÓPEZ-LÓPEZ, J. A. et al. Solvent bar micro-extraction (SBME) based determination of PAHs in seawater samples. **Science of The Total Environment**, [s.l.], v. 598, p.58-63, nov. 2017.

[18] GARCÍA-FALCÓN, M. et al. Stirring Bar Sorptive Extraction in the Determination of PAHs in Drinking Waters. **Water Research**, vol. 38, no. 7, pp. 1679–1684, 2004.

[19] MOLLAHOSSEINI, A. et al. Mechanical Stir Bar Sorptive Extraction Followed by Gas Chromatography as a New Method for Determining Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water Samples. **Microchemical Journal**, vol. 126, pp. 431–437, 2016.

[20] SOARES, Sarah A. R., et al. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Groundwater Samples by Gas Chromatography-Mass Spectrometry After Pre-Concentration Using Cloud-Point Extraction with Surfactant Derivatization. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Salvador, 15 maio. 2015.

[21] FERRERA, Z. S. et al. The use of micellar systems in the extraction and pre-concentration of organic pollutants in environmental samples. **Trac Trends in Analytical Chemistry**, [s.l.], v. 23, n. 7, p.469-479, jul. 2004.

[22] US-Environmental Protection Agency. Method 8270E - Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS). EPA, jun. 2018. Disponível em: <<https://www.epa.gov>>. Acessado em: 13 abr. 2019.

- [23] Alegbeleye, O. O. et al. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: A Critical Review of Environmental Occurrence and Bioremediation. **Environmental Management**, vol. 60, no. 4, pp. 758–783, 2017.
- [24] LIDE, D. R. **Handbook of Chemistry and Physics**. 85nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2004.
- [25] LEÓN, V. M. et al. Analysis of 35 Priority Semivolatile Compounds in Water by Stir Bar Sorptive Extraction–Thermal Desorption–Gas Chromatography–Mass Spectrometry. **Journal of Chromatography A**, vol. 999, no. 1-2, pp. 91–101, 2003.