



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS
AROMÁTICOS EM SOLOS POR EXTRAÇÃO EM DISCO
ROTATÓRIO, ESPECTROFLUORIMETRIA E CALIBRAÇÃO DE
ORDEM SUPERIOR

Anne Caroline Pinheiro de Freitas



*João Pessoa – PB - Brasil
junho/2021*

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM SOLOS POR EXTRAÇÃO EM DISCO ROTATÓRIO, ESPECTROFLUORIMETRIA E CALIBRAÇÃO DE ORDEM SUPERIOR

Anne Caroline Pinheiro de Freitas (CAPES)

**Dissertação apresentada
como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre
em Química pela
Universidade Federal da
Paraíba.**

Orientador: Prof. Dr. Wallace Duarte Fragoso

***João Pessoa – PB - Brasil
junho/2021***

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

F862d Freitas, Anne Caroline Pinheiro de.

Determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em solos por extração em disco rotatório, espectrofluorimetria e calibração de ordem superior / Anne Caroline Pinheiro de Freitas. - João Pessoa, 2021.
72 f. : il.

Orientação: Wallace Duarte Fragoso.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. Poluentes Orgânicos Persistentes. 2. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos - HPAs. 3. Espectroscopia de fluorescência. 4. Disco rotatório. 5. Poluição - Solo.
I. Fragoso, Wallace Duarte. II. Título.

UFPB/BC

CDU 504.5(043)

Determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em solos por extração em discorotativo, espectrofluorimetria e calibração de ordem superior.

Dissertação de Mestrado apresentada pela aluna Anne Caroline Pinheiro de Freitas e aprovada pela banca examinadora em 30 de junho de 2021.

Prof. Dr. Wallace Duarte Fragoso
Departamento de Química-UFPB
Orientador/Presidente

Prof.^a Dr.^a Graciela Mônica Escandar
Universidad Nacional de Rosario/Argentina
Examinadora Externa

Prof.^a Dr.^a Liliana de Fátima Bezerra Liraa Pontes
Departamento de Química-UFPB
Examinadora Interna

Assinaturas da Banca realizadas em modo Webconferência em 30/06/2021, digitalizadas e certificadas pelo Prof. Dr. Wallace Duarte Fragoso (SIAPE 1352049) em 30/06/2021

DEDICATÓRIA

À minha família, pelo apoio e por sempre acreditar em mim.

"Os químicos são uma estranha classe de mortais, impelidos por um impulso quase insano a procurar seus prazeres em meio a fumaça e vapor, fuligem e chamas, venenos e pobreza, e no entanto, entre todos esses males, tenho a impressão de viver tão agradavelmente que preferiria morrer a trocar de lugar com o rei da Pérsia."

Johann Joachim Becher

AGRADECIMENTOS

Ao meu Criador, que me deu forças para chegar até este momento e não desistiu de mim.

A meus pais “Bena” e Elizete pelo incansável apoio e compreensão, que mesmo com a longa distância não me deixavam sozinha. Meus irmãos que me alegravam nos momentos mais inoportunos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Wallace Duarte Fragoso pela confiança e orientação. Pelos inúmeros momentos de socorro quando a pesquisa “apertava” e pelos momentos extra-laboratório que ajudavam na distração.

Aos meus amigos e colegas que estiveram comigo nesta caminhada, em especial Alcides, Ingrid, Kelvin, Levi, Nayara e Rafael pela amizade formada e que foram essenciais desde o início até os últimos momentos da pesquisa.

Ao Grupo de Estudos Avançados em Química Analítica – GEAQA pelo conhecimento compartilhado.

À Profa. Dra. Ilda Toscano pela cessão das amostras de solo utilizadas neste trabalho.

Às professoras Graciela Escandar e Liliana Lira pela disponibilidade na participação da banca de defesa.

A todos os professores da Universidade Federal da Paraíba que propuseram momentos de aprendizados e ensinados que levarei para o restante de minha vida. Em especial, Profa. Karen Weber que me acompanhou desde a graduação.

Às agências de fomento, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e Financiadora de Estudos e Projetos – FINEP pelos recursos e bolsa concedidos.

Àqueles que contruíram direta e indiretamente no meu percurso até aqui.

Muito obrigada!

TÍTULO: DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM SOLOS POR EXTRAÇÃO EM DISCO ROTATÓRIO, ESPECTROFLUORIMETRIA E CALIBRAÇÃO DE ORDEM SUPERIOR

RESUMO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) constituem um grupo de micropoluentes orgânicos persistentes no ambiente e de elevada capacidade mutagênica e carcinogênica. O monitoramento ambiental de níveis de HPAs, faz-se necessário, justamente, por tais riscos. Na análise e determinação de HPAs a técnica utilizada é a cromatografia, no entanto, ela é de alto custo financeiro e temporal. Sendo assim, a espectrofluorimetria em membrana filtrante e calibração de segunda ordem surge como alternativa para a determinação desses componentes. Neste trabalho, empregamos a pré-concentração em membrana de náilon por disco rotatório para a determinação de quatro HPAs: antraceno, fenantreno, benzo[a]pireno e criseno em oito tipos de solos a partir de extração com acetonitrila/H₂O (1:1, v/v), seguido de concentração em membrana de náilon em disco rotatório. O PARAFAC foi utilizado como método de ordem superior para a deconvolução dos perfis e previsão dos HPAs nas amostras. As recuperações permaneceram na faixa de 83-116% e o erro percentual de previsão entre 5-6,2%. Dessa forma foram previstos os analitos na presença de interferentes o que traz a possibilidade de ampliarmos a determinação a outras matrizes complexas e reais.

PALAVRAS-CHAVE: HPAs; Espectroscopia de fluorescência; Disco rotatório.

DETERMINATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN SOILS BY ROTATING-DISK EXTRACTION, SPECTROFLUORIMETRY, AND HIGH-ORDER CALIBRATION

ABSTRACT

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) are organic micropollutants substances that are persistent in the environment and have a high mutagenic and carcinogenic capacity. Environmental monitoring of PAH levels is necessary because of such risks. In the analysis and determination of PAH, the most used technique is chromatography. However, it has high financial and temporal costs. Thus, membrane filtering spectrofluorimetry and second-order calibration appear as an alternative for the determination of these components. In this work, we used pre-concentration in nylon membrane by rotating-disk to determine four PAH: anthracene, phenanthrene, benzo[a]pyrene, and chrysene in eight types of soils from extraction with acetonitrile/H₂O (1:1, v/v), followed by concentration on nylon membrane in a rotating-disk. PARAFAC was used as a higher-order method for the deconvolution of the profiles and prediction of the PAH in the samples. Recoveries remained in the 83-116% range and, the Percentual Relative Error of Prediction the percent forecast error between 5-6.2%. Thus, the analytes were predicted in the presence of interferents, which brings the possibility of extending the determination to others complex and real matrices.

Keywords: PAHs; Spectrofluorimetry; Rotating-disk.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Superfície de contorno para uma EEM. Fonte: a autora.	24
Figura 2. Esquema de um espectrofluorímetro. Fonte: Adap. LAKOWICZ, 2006.	26
Figura 3. Parafusos e ajustes para ângulo, altura e posição para melhor detecção da amostra. Fonte: a autora.....	27
Figura 4. Diagrama para disco rotatório. Fonte: Adaptado de Richter et al. (2009).	28
Figura 5. Uma representação gráfica do modelo PARAFAC. Fonte: a autora.	34
Figura 6. Foto das amostras de solo. Fonte: a autora.	36
Figura 7. Coluna para extração de solos utilizando lã de vidro e ponteira de 5 mL. Fonte: a autora.	40
Figura 8. (a) Partes do disco rotatório para condicionar a membrana; (b) Montagem do disco rotatório.	41
Figura 9. Suporte para sólidos do espectrofluorímetro com a membrana de náilon. Fonte: acervo a autora.	42
Figura 10. Interface MVC2 utilizada neste modelo. Fonte: a autora.	43
Figura 11. Testes com Pireno ao adicionar NaCl no sistema. Fonte: a autora.	45
Figura 12. Testes com BaP e adição de NaCl No sistema. Fonte: a autora. ...	45
Figura 13. Representação espacial do planejamento fatorial 2^3 . Fonte: a autora.	46
Figura 14. Testes de volume para extração de HPAs do solo. Fonte: a autora.	48
Figura 15. Teste de reprodutibilidade e transferência de HPA. Fonte:a autora.	49
Figura 16. Gráfico de superfície da A11. Fonte: a autora	50
Figura 17. Gráfico sfít x N (número de componentes). Fonte: a autora	51
Figura 18. Decomposição dos componentes puros realizada pelo PARAFAC para os HPAs em mistura. Fonte: a autora.	52
Figura 19. Curvas de calibração para antraceno, benzo[a]pireno, criseno e fenatreno, sucessivamente. Fonte: a autora.	53
Figura 20. Gráfico de recuperação para ANT – referência x previsto. Fonte: a	

autora.	56
Figura 21. Gráfico de recuperação para BaP – referência x previsto. Fonte: a	
autora.	56
Figura 22. Gráfico de recuperação para CRI – referência x previsto. Fonte: a	
autora.	57
Figura 23. Gráfico de recuperação para FEN – referência x previsto. Fonte: a	
autora.	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - 16 HPAs prioritários e classificação quanto a carcinogenicidade. ...	18
Tabela 2 – Massa Molar e Propriedades Físico-Químicas dos 16 HPAs prioritários.....	20
Tabela 3 - HPAs que contaminam o solo segundo a resolução nº 420 CONAMA.	23
Tabela 4. Resultados estatísticos do PARAFAC para BaP, DBA, BaA e CHRY em amostras sem interferências (conjunto de validação) e com BbF, BghiP, IcdP e PYR como interferências (conjunto de teste).	29
Tabela 5 - Representação esquemática dos tipos de dados, ordem e calibração. (PINTO, 2015 - Adaptado).....	31
Tabela 6 - Solos e classificação quanto ao tipo de areia ou silte e % de matéria orgânica.....	36
Tabela 7 - Composição das misturas de HPAs nos solos (μg de HPA/kg de solo).	37
Tabela 8 - Contaminação prevista para cada HPA e concentrações referentes às amostras de solo (μg de HPA/kg de solo).	388
Tabela 9. Níveis das variáveis do sistema estudadas no planejamento.	39
Tabela 10. Planejamento fatorial 23 para otimização das condições de transferência de HPAs para a membrana.	47
Tabela 11. Valores de RMSEP para cada analito em solos diferentes.	54
Tabela 12. Previsões do branco para os 4 HPAs e valores de LoB.....	58
Tabela 13. Valores para menor concentração (ppb) de analito nas amostras.	58
Tabela 14. Valores de LoB, LoD e LoQ encontrados para cada analito.	59

LISTA DE ABREVIATURAS

HPA – Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

ANT – Antraceno

BaP – Benzo[a]Pireno

CRI – Criseno

FEN – Fenantreno

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

ACN – Acetonitrila

IARC – Agência Internacional de Investigação em Câncer

CG/EM/EM – Cromatografia Gasosa associada a Espectroscopia de Massas
acoplada a Espectroscopia de Massas

EEM – *excitation-emission-matriz*

USEPA - Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

PARAFAC – Análise de Fatores Paralelos

RDSE – Extração por Sorção em Disco Rotativo

LoD – limite de detecção, do inglês *Limit of Detection*

LoB – limite do branco, do inglês *Limit of Blank*

LoQ – limite de quantificação, do inglês *Limit of Quantitation*

PIR - Pireno

RMSEP – erro quadrático médio de predição, do inglês, *Root Mean Square Error of Prediction*.

REP% - erro relativo percentual de previsão, do inglês, *Percentual Relative Error of Prediction*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
2.1. <i>Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos</i>	17
2.2. <i>Contaminação de solos por HPAs</i>	21
2.3. <i>Espectroscopia de Fluorescência</i>	23
2.3.1. <i>Configuração geral de um espectrofluorímetro – Instrumentação</i>	25
2.3.2. <i>Análise front-face</i>	26
2.4. <i>Extração por sorção em disco rotativo (RDSE) e membrana de náilon</i>	27
2.5. <i>Planejamento fatorial: conceitos gerais</i>	30
2.6. <i>Calibração de Segunda Ordem</i>	31
2.7. <i>Análise de Fatores Paralelos – PARAFAC</i>	33
3. OBJETIVOS	35
3.1. <i>Objetivo Geral</i>	35
3.2. <i>Objetivos específicos</i>	35
4. METODOLOGIA	36
4.1. <i>Características das amostras de solo</i>	36
4.2. <i>Contaminação dos solos com a mistura de HPAs</i>	37
4.3. <i>Planejamento Fatorial 2³</i>	39
4.4. <i>Extração e preparação da amostra analítica</i>	39
4.5. <i>Preparação dos padrões para a curva de calibração</i>	40
4.6. <i>Extração por sorção em disco rotatório (RDSE)</i>	40
4.7. <i>Medidas espectrofluorimétricas e tratamento de dados</i>	41
4.8. <i>RMSEP e REP</i>	42
4.9. <i>Cálculo do LoB, LoD e LoQ</i>	43
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1. <i>Otimização dos parâmetros do método</i>	44
5.1.1. <i>Análise da polaridade da solução</i>	44
5.1.2. <i>Estudo das respostas do planejamento fatorial 2³</i>	46
5.2. <i>Reprodutibilidade de extração e transferência de HPA para a membrana</i>	48
5.3. <i>Construção do modelo e número de componentes</i>	50
5.4. <i>Curvas de calibração e recuperação</i>	53
5.5. <i>Limite de Detecção e Limite de Quantificação (LOD e LOQ)</i>	57
6. CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS	61
ANEXOS	70

1. INTRODUÇÃO

As questões ambientais têm alçado estudos acerca de contaminantes gerados por atividades antropogênicas. Estes contaminantes, embora em concentrações baixas, tornam-se prejudicial, alterando química, física ou biologicamente o ecossistema (CARUSO e ALABURDA, 2007).

Os hidocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são uma classe de compostos amplamente estudados. A principal razão desses estudos é devido ao potencial carcinogênico e mutagênico apresentado por compostos que fazem parte desse grupo. Diversos estudos reportam o desenvolvimento de métodos e técnicas que auxiliem na análise destes compostos e têm surgido em várias áreas, principalmente na Química Analítica (ABDEL-SHAFY e MANSOUR, 2016).

Entre as matrizes ambientais afetadas por este tipo de contaminante está o solo, que tem recebido cargas diversas de poluentes. A contaminação do solo pode se tornar um problema ao atingir águas subterrâneas, pois alcançará a população que depende desse tipo de recurso (SENA *et al.*, 2000)

Estima-se que o ramo petroquímico é um dos maiores responsáveis das contaminações, tendo em vista a possibilidade de estender a contaminação ao ar, águas e solos, por conter uma série de compostos considerados de elevada toxicidade e poluição (HELALEH *et al.*, 2005).

As agências de controle e proteção de meio ambiente apresentam dados de vários países revelando as áreas atingidas por causa dos derramamentos que têm provocado a contaminação desses locais. Em um levantamento da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), apresentou em seu relatório que existiam 4.572 áreas contaminadas por este tipo de poluente e dessas áreas 77% são atribuídas a postos de gasolina (SÃO PAULO. ESTADO, 2013).

Devido à complexidade dessas matrizes e as baixas concentrações em que são encontradas essas substâncias, torna-se um desafio o monitoramento considerando a detecção e quantificação dos HPAs. Assim, alguns procedimentos têm sido adotados no pré-tratamento das amostras, no entanto, muitos regulamentos propõem a utilização de solventes orgânicos e etapas como a extração. Observa-se que tratam de processos laboriosos, além de não

contribuir com os aspectos da Química Verde. Entre os métodos para a análise de HPAs descritos na literatura estão a cromatografia líquida de alta eficiência com detector de UV/Vis (CLAE – UV/Vis), CLAE com detector de fluorescência, a partir de amostras de sedimentos submetidas à extração soxhlet e concentração dos extratos (US-EPA METHOD 3450C) e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG – EM) (SUN *et al.* 1998; SOXHLET EXTRACTION, METHOD 3540C),

Os equipamentos utilizados para fornecer os dados tem como resposta um conjunto de dados que dependem do tipo de técnica aplicada. Sendo assim, a concentração do analito de interesse, por exemplo, não é a resposta do instrumento analítico. A partir desses dados, faz-se um pré-processamento ao associar uma expressão matemática que seja relacionada aos dados obtidos e concentração dos analitos na amostra (FERREIRA, 2015). Por conseguinte, alguns estudos sugerem o tratamento desses dados a partir da análise multivariada. Esse tipo de análise utiliza dados químicos que considera a correspondência de muitas variáveis investigadas simultaneamente, possuindo grande potencial para tratar dados provenientes de matrizes ambientais, tal como o solo (SENA *et al.*, 2000; GEMPERLINE, 2006).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) consistem em um grupo de compostos caracterizados por possuírem dois ou mais anéis aromáticos condensados. Eles constituem uma grande classe de moléculas orgânicas, representando um grupo de centenas de substâncias consideradas ambientalmente persistentes. Os HPAs quase sempre ocorrem como misturas devido à forma como são gerados (ABDEL-SHAFY E MANSOUR, 2016).

Estes tipos de compostos podem ser formados durante os processos biológicos e como produtos da combustão incompleta de fontes naturais de combustão (incêndios florestais, vulcões, síntese de algas e bactérias, etc.) ou de origem antrópicas (emissões de automóveis, fumaça de cigarro e derramamento de petróleo). Assim, os HPAs são comumente detectados no ar, solo e água. Baklanov *et al* (2007) afirmam que as atividades naturais são de menor escala quando comparadas com as fontes antropogênicas (LATIMER e ZHENG, 2003; FERNANDO, SHAW *et al.*, 2016; LAWAL, 2017).

Os HPAs são sólidos à temperatura ambiente e se ligam fortemente à fuligem, solo ou partículas de poeira. Eles podem ser transportados por longas distâncias devido à sua persistência. As poeiras contendo HPA retornam à superfície por meio de chuva, nevoeiro ou neve, e assim eles são depositados no solo e nas plantas, sendo possível a entrada em águas superficiais. Podem ser encontrados longe de fontes de entrada humanas, como em lagos de montanha remotos nas regiões Árticas e Antárticas (QUIROZ *et al.*, 2010).

Destaca-se que a combustão incompleta, sendo ela de origem natural ou antropogênica, foi identificada como o maior “contribuinte” individual de HPAs para o meio ambiente (ZHANG e TAO, 2009; WHANG *et al.* 2012).

Sendo assim, os HPAs caracterizam-se como poluentes orgânicos de extrema importância ambiental, havendo a necessidade de controle, pois muitos apresentam propriedades pré-carcinogênicas e/ou mutagênicas tanto para homens quanto para animais (KIM *et al.* 1981; GROS *et al.* 2008; WILK *et al.* 2013; HOSEINI, YUNESIAN *et al.* 2016).

As propriedades dos HPAs estão relacionadas ao número de anéis aromáticos presentes. Eles são geralmente lipofílicos, ou seja, que se dissolvem

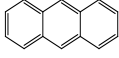
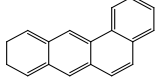
mal em água, mas bem em gorduras e óleos. Neste caso, essa disposição aumenta com um número crescente de anéis, ou seja, quanto mais anéis estão presentes, mais solúvel em gordura é a substância e mais facilmente se acumula no tecido adiposo dos organismos.

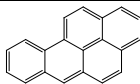
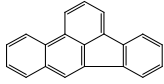
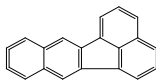
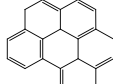
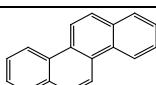
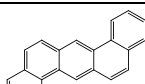
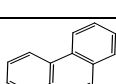
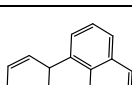
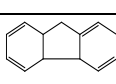
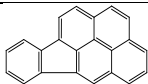
As características gerais dos HPAs são apresentar altas temperaturas de fusão e ebulição, baixas pressão de vapor e solubilidade em água (hidrofóbicos). Para as duas últimas propriedades é esperado a diminuição com o aumento da massa molecular (MASIH *et al*, 2006).

De acordo com alguns estudos de Crone e Tolstoy (2010) se esses produtos químicos forem liberados, eles podem não ser mais removidos do ambiente devido a suas características. Pelo contrário: eles se acumulam e podem prejudicar plantas, animais e, finalmente, humanos.

Como já fora mencionado, o aumento de número de anéis favorece a bioacumulação no organismo. Sendo assim, a United States Environmental Protection Agency (USEPA) afirma que há 16 HPAs que são considerados poluentes orgânicos prioritários e importantes no monitoramento ambiental, tais podem ser observados na Tabela 1. A Agência Internacional de Investigação em Câncer (IARC) apresenta a classificação quanto a carcinogenicidade de HPAs e divide em quatro grupos. O Grupo 1 abrange os carcinogênicos para humanos, o Grupo 2A são prováveis carcinogênicos para humanos, o Grupo 2B surgem como possíveis carcinogênicos e o Grupo 3 não classifica-se quanto a carcinogenicidade para humanos.

Tabela 1 - 16 HPAs prioritários e classificação quanto a carcinogenicidade.

Composto	Massa Molecular (g.mol⁻¹)	Grupo¹	Estrutura
Acenaftaleno	124,1	3	
Acenaftileno	152,2	3	
Antraceno	178,23	3	
Benzo[a]antraceno	228,29	2B	

Composto	Massa Molecular (g.mol⁻¹)	Grupo¹	Estrutura
Benzo[a]Pireno	252,32	1	
Benzo[b]Fluoranteno	252,32	2B	
Benzo[k]Fluoranteno	252,32	2B	
Benzo[g,h,i]Perileno	276,34	3	
Criseno	228,29	2B	
Dibenzo(a,h)antraceno	278,35	2A	
Fenantreno	178,23	3	
Fluoranteno	202,26	3	
Fluoreno	166,22	3	
Indeno(1,2,3-c,d)Pireno	276,34	2B	
Naftaleno	128,17	3	
Pireno	202,26	3	

¹IARC, 1983

Dado a alta lipossolubilidade destes compostos na membrana celular, eles são absorvidos no organismo via inalação, exposição oral ou através da pele, acumulando-se no tecido adiposo (PEREIRA NETO, 2000). Segundo dados da IARC (2013), os HPAs podem produzir tumores tanto no local de contato quanto em local distante da exposição. Além disso, o potencial carcinogênico do composto pode variar de acordo com a rota de exposição (MANOLI, KOURAS *et al.*, 2016).

De acordo com as características físico-químicas dos HPAs é possível compreender o comportamento dessas substâncias quando citamos transporte, toxicidade, bioacumulação, distribuição de HPAs. Como é possível observar na tabela 2, o aumento do número de anéis tem relação com a pressão de vapor e solubilidade.

Tabela 2 – Massa Molar e Propriedades Físico-Químicas dos 16 HPAs prioritários.

HPA	nº de anéis	M.M.	S (mg.L ⁻¹)	Log K _{ow}	P (Torr a 20°)
Naftaleno	2	128	30	3,37	4,90E-02
Acenaftileno	3	152	3,93	4,07	2,10E-02
Acenafteno	3	154	3,47	4,33	2,00E-02
Fluoreno	3	166	1,98	4,18	1,30E-02
Fenantreno	3	178	1,29	4,46	6,80E-04
Antraceno	3	178	7,00E-02	4,45	1,90E-04
Fluoranteno	4	202	2,60E-01	5,33	6,00E-06
Pireno	4	202	1,40E-01	5,32	6,80E-07
Benzo(a)antraceno	4	228	1,40E-02	5,61	5,00E-07
Criseno	4	228	2,00E-03	5,61	6,30E-07
Benzo(b)fluoranteno	5	252	1,20E-03	6,57	5,00E-07
Benzo(k)fluoranteno	5	252	5,50E-04	6,84	5,00E-07
Benzo(a)pireno	5	252	3,80E-03	6,04	5,00E-07
Indeno(1,2,3-cd)pireno	6	276	6,20E-02	7,66	1,00E-10
Dibenzo(ah)antraceno	5	278	5,00E-03	5,97	1,00E-10
Benzo(g,h,i)perileno	6	276	2,60E-04	7,23	1,00E-10

M.M: Massa Molar; S: solubilidade; K_{ow}: coeficiente de partição octanol-água; P: pressão de vapor

FONTE: Lundstedt (2003, adaptado)

Além disso, a tabela 2 traz dados referentes à massa molar e a relação com solubilidade e pressão de vapor. A solubilidade e pressão de vapor diminuem com o aumento da massa molar, que é esperado para esse tipo de composto. Sendo assim, aqueles que apresentam menor peso molecular são menos lipofílicos, tem maior volatilidade e mais solúveis em água quando em comparação com os de maior massa/número de anéis (ZANDER, 1983; LUNDSTEDT, 2006; JOHNSTON, LINEMAN *et al.* 2015).

Ainda em relação à tabela 2 apresenta, são observados dados sobre o coeficiente de partição octanol-água K_{ow} para os referentes HPAs. O K_{ow} é uma propriedade que pode ser usada para avaliar a afinidade comopostos pela

matéria orgânica. Quanto maior o valor desse coeficiente, mais hidrofóbica será considerada a substância. Os valores descritos na tabela 2, permitem afirmar que este tipo de composto terá mais afinidade pela fase orgânica, que corrobora com os dados referentes a solubilidade e pressão de vapor.

Outra característica sobre os HPAs, diz respeito aos espectros de absorvância Ultravioleta Visível dos HPAs. Estes apresentam características bem distintas e por isso eles são bastante úteis para a identificação dessas substâncias. Além disso, a maioria destas moléculas absorvem e emitem luz em comprimentos de onda característicos ao serem excitados (SKOOG, 2006).

2.2. Contaminação de solos por HPAs

Os grandes centros urbanos são considerados locais com maior potencial de contaminação dos HPAs, mesmo que não haja atividade industrial, devido aos postos de combustíveis podem contaminar solo, ar, águas subterrâneas, além de subsolo como resultado de vazamentos do armazenamento de combustíveis.

Sendo assim, devido a estas atividades, o solo recebe anualmente quantidades consideráveis de HPAs. Em função da complexidade de sua estruturação química, alguns HPAs apresentam muito baixa solubilidade em água o que possibilita a permanência por longos períodos em ambientes, aumentando a possibilidade de seres humanos, fauna e flora serem expostos a estes compostos (LI *et al.*, 2014).

Segundo Wilcke (2000) a maioria dos HPAs atinge o solo por meio da deposição na atmosfera. Ao atingir o solo, a movimentação de HPAs influencia-se pela variação de suas concentrações na atmosfera. Quando os HPAs são depositados em solo podem se tornar móveis pelo fato desses compostos se ligarem às próprias partículas dos solos, influenciando a mobilidade das partículas (MASIH, 2006). Além disso, quando presentes em solo, o HPA interage rapidamente com a matéria orgânica devido a sua propriedade de repelir água (MCBRIDE, 1994; TANG *et al.*, 2005; LOUVADO *et al.* 2015). Estudos apontam que a tendência para que HPAs possam sorver ao solo irá depender tanto das propriedades destes compostos quanto do solo (BERIRO, CAVE *et al.* 2016)

No que tange às metodologias para a determinação desses compostos,

haverá necessidade do pré-tratamento das amostras. Geralmente ocorre da seguinte forma: (1) extração com solvente; (2) concentração do extrato; (3) limpeza através da cromatografia com eluente apropriado; (4) utilização de um cromatógrafo a gás (LAWAL, A. T., 2017). Quando em solo, o HPA é extraído em solvente orgânico adequado antes de ser introduzido nos equipamentos para a separação analítica dos compostos (ZHOU e GAO, 2014).

A Cromatografia Gasosa associada a Espectroscopia de Massas acoplada a Espectroscopia de Massas (CG/EM/EM) tem sido a técnica empregada para uma determinação rápida de 18 hidrocarbonetos aromáticos policíclicos no solo. Consiste em uma técnica amplamente utilizada na detecção de compostos presentes em baixas concentrações considerando matrizes complexas, quando acoplada à cromatografia, pois possibilita um aumento na detectabilidade e reduz a interferência espectral de compostos presentes na matriz, além de aumentar a quantidade de informação estrutural que se pode obter, segundo do autor, o CG/EM/EM deve ser operado no modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM) (SHANG *et al.*, 2014; SHAMSIPUR, GHOLIVAND *et al.* 2015).

Quanto ao monitoramento destes compostos no meio ambiente, destaca-se os dados que constam na legislação brasileira, a resolução num. 420 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) de 28 de dezembro de 2009, que explicita em seu documento os HPAs encontrados em solos agrícolas, residenciais e industriais, bem como valores de prevenção dos mesmos, como podemos verificar na Tabela 3.

A tabela 3 apresenta valores de prevenção e/ou valores detectados em solos agrícola, residencial e industrial para 10 HPAs. Não existem atualizações para esta resolução.

Tabela 3 - HPAs que contaminam o solo segundo a resolução nº 420 CONAMA.

Substância	CAS	Solo (mg.kg ⁻¹ de peso seco)*			
		Prevenção	Agrícola	Residencial	Industrial
Antraceno	07/12/2020	0,039	nd	nd	nd
Benzo(a)antraceno	56-55-3	0,025	9	20	65
Benzo(k)fluoranteno	207-06-9	0,38	nd	nd	nd
Benzo(g,h,i) perileno	191-24-2	0,57	nd	nd	nd
Benzo[a]pireno	50-32-8	0,052	0,4	1,5	3,5
Criseno	218-01-9	8,1	nd	nd	nd
Dibenzo(a,h)antraceno	53-70-3	0,08	0,15	0,6	1,3
Fenantreno	85-01-8	3,3	15	40	95
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	193-39-5	0,031	2	25	130
Naftaleno	91-20-3	0,12	30	60	90

*Resolução nº 420 CONAMA, 28/12/2009

2.3. Espectroscopia de Fluorescência

A espectroscopia de fluorescência, também conhecida como espectrofluorimetria, é uma técnica, que convencionalmente, diz a respeito da aquisição de espectros de emissão que se dá pela varredura em determinada faixa de comprimento de onda de emissão - λ_{em} (nm) enquanto a amostra sofre radiação em um comprimento de onda de excitação λ_{exc} (nm) fixo. Da mesma forma, o espectro de excitação é obtido pela varredura de diferentes λ_{exc} enquanto registra o sinal de emissão em único comprimento de onda (ATKINS, 2001).

Seu princípio teórico é que luz emitida é proporcional à concentração do composto analisado. A forma de luz emitida tem, quase sempre, comprimento de onda maior de que a luz absorvida (lei de Stokes) (SKOOG, 2014).

As matrizes formadas por espectros de excitação-emissão (*excitation-emission matrix* – EEM) são obtidos a partir dos espectros de emissão e excitação da amostra. Neste caso, essas matrizes possuem dimensões independentes de comprimento de onda, no qual uma dessas dimensões é caracterizada pelos perfis de excitação e a outra traz informações referentes aos perfis de emissão. Esta situação é demonstrada na figura 1, para o criseno.

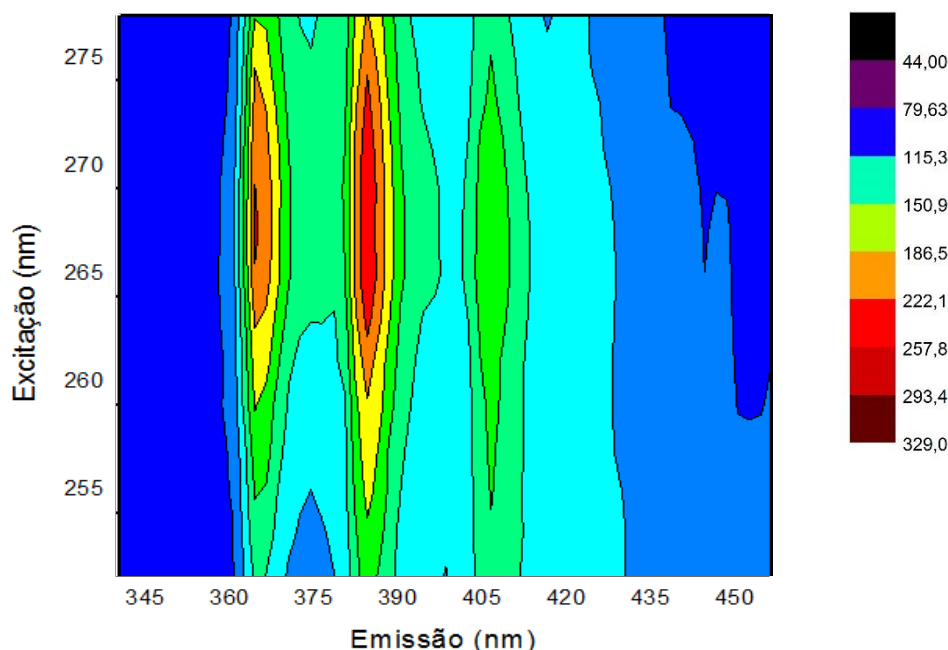


Figura 1. Superfície de contorno para uma EEM.

Esta técnica analítica tem sido amplamente utilizada em função de suas diversas vantagens, tais como, rapidez, simplicidade, sensibilidade e seletividade. Outra característica importante desta técnica é que ela não é destrutiva, ou seja, é possível a utilização da amostra em outras análises, pois esta não terá sofrido nenhuma modificação (HENDRICKS, 1968; PATTERSON E WILSON, 1986)

Algumas interferências podem surgir durante a análise. Por exemplo, os sinais de fluorescência são aditivos, ou seja, quando há duas substâncias emitindo no mesmo comprimento de onda, o que veremos será uma junção dos sinais. O efeito do filtro interno que surge quando uma parte significativa da luz incidente é absorvida antes de chegar ao ponto que fluorescência pode ser observada, ou seja, ocorrendo sobreposição espectral entre a absorção e a fluorescência. Além disso, existem interferências causadas por espalhamentos, no qual a energia que incide em uma direção é desviada para outras direções.

Vale ressaltar a versatilidade desta técnica para compostos fluorescentes. Várias pesquisas reportam a utilização da espectrofluorimetria para análise de fármacos, alimentos, análise em matrizes ambientais e monitoramento de poluentes orgânicos (SANTOS e GIL, 2010; LI, LI *et al.* 2011; PENA, RIDLEY *et al.* 2015;). Além disso, essa técnica permite a identificação de diferentes tipos

de compostos, visto que os processos de emissão e excitação de luz ajustados, apresentam as características e identidades de cada substância a nível molecular (CAI, ZHU, ZHANG, 2008 ;NA ZHOU *et al*, 2009).

2.3.1. Configuração geral de um espectrofluorímetro - Instrumentação

A configuração geral de um espectrômetro de fluorescência consiste de lâmpada, monocromador, área de amostra e detector. A lâmpada atua como fonte de radiação, emitindo luz através de uma faixa de comprimentos de onda. As lâmpadas mais comuns são a de xenônio que tem espectro de emissão contínua com intensidade quase constante de 300 a 800 nm e a de vapor de mercúrio (SKOOG, 2014).

O monocromador seleciona os comprimentos de onda de emissão e excitação. Ao selecionar um comprimento de onda de excitação, a radiação será emitida e analisada pelo monocromador de emissão, sendo assim, chegará de forma selecionada ao detector (LAKOWICZ, 2006).

A área de amostra mantém a amostra, o analito absorve a luz, enquanto a luz é transmitida e medida em um detector. No caso do espectrofluorímetro, a amostra pode ser analisada em uma cubeta (para soluções) ou em suporte para sólidos (COOBLE *et al.*, 1993).

O detector é um tubo fotomultiplicador (TFM) é considerado como uma fonte de corrente. Essa corrente é proporcional a intensidade da luz. O TFM converterá os fótons emitidos da amostra em elétrons, causando a corrente elétrica que passa a ser medida e é proporcional à concentração de analito (LAKOWICZ, 2006).

Os filtros são para filtrar os comprimentos de onda que não é absorvido pelo analito (excitação). No caso da emissão, é utilizado, geralmente, para filtrar a luz difusa de espalhamentos Raman e Rayleigh (LAKOWICZ, 2006). O esquema para este sistema está demonstrado na figura 2.

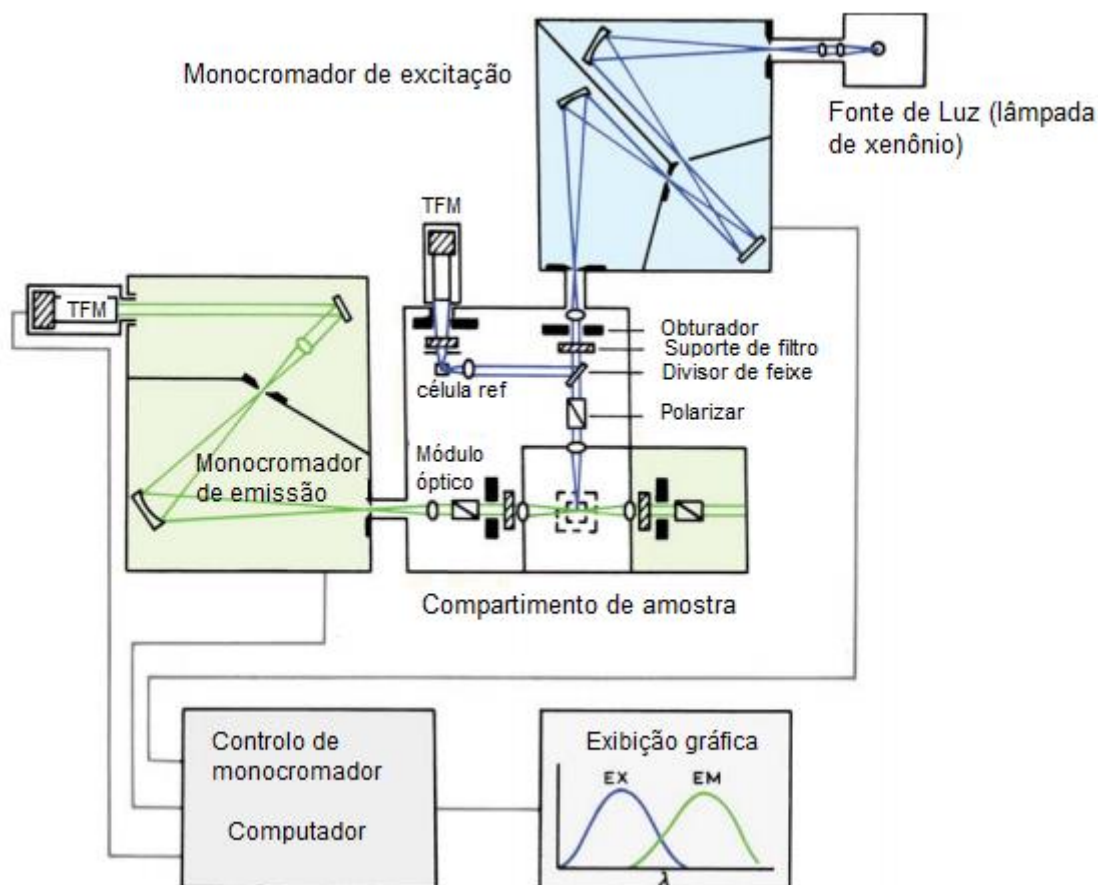


Figura 2. Esquema de um espectrofluorímetro. Fonte: Adap. LAKOWICZ, 2006.

2.3.2. Análise front-face

As técnicas tradicionais de espectroscopia de fluorescência, utilizam uma cubeta para condicionar a amostra. No entanto, a fluorescência em ângulo reto não pode ser aplicada a substâncias espessas, devido ao espalhamento de luz e absorbância (GENOT *et al.*, 1992). Assim, análises em superfícies sólidas poderiam ser feitas ao trocar a cubeta por um acessório que tem ajuste de ângulo até a maximização do sinal fluorescente, evitando a reflexão da luz da fonte para o detector.

Parker (1968) desenvolveu uma técnica que reduziu o efeito do espalhamento, alterando o ângulo de incidência de 90° para 56°, fornecendo informações a níveis moleculares. A amostra é sujeita a um suporte apropriado para sólidos equipada com uma janela de quartzo (GENOT *et al.*, 1992).

A figura 3 ilustra o acessório utilizado no espectrofluorímetro deste trabalho. Consiste de um suporte removível para detecção de sólidos, que possui

ajustes de ângulo e altura. É fixado na câmara de detecção, substituindo o acessório que condiciona a cubeta.



Figura 3. Parafusos e ajustes para ângulo, altura e posição para melhor detecção da amostra.

2.4 Extração por sorção em disco rotativo (RDSE) e membrana de náilon

Várias metodologias alternativas vêm sendo desenvolvidas para as técnicas de pré-concentração de HPAs, tais como extração em fase sólida (EFS), extração sorptiva, microextração de fase sólida de *headspace*, extração sorptiva em barra de agitação (PIZZALE *et al.*, 2005; ZUIN, MONTERO *et al.* 2005; ANKLAM *et al.*, 2006; XU, TANG *et al.* 2015; SØRENSEN, SILVA *et al.* 2016; ZHENG, DING *et al.* 2016; MOLLAHOSSEINI, ROKUE *et al.* 2016).

Para esta finalidade, surge uma técnica que permite a extração de compostos de baixa polaridade presentes em uma solução a partir de um aparato denominado de Extração Sorptiva de Disco Rotativo do inglês *Rotating-disk Sorptive Extraction* (RDSE), que consiste em um disco giratório de Teflon revestido com um filme de polidimetilsiloxano (PDMS). A disposição do disco permite que uma área maior possa ser imobilizada e pode ser executada sobre

alta velocidade (RICHTER *et al.*, 2009). O dispositivo desenvolvido pode ser observado na figura 4.

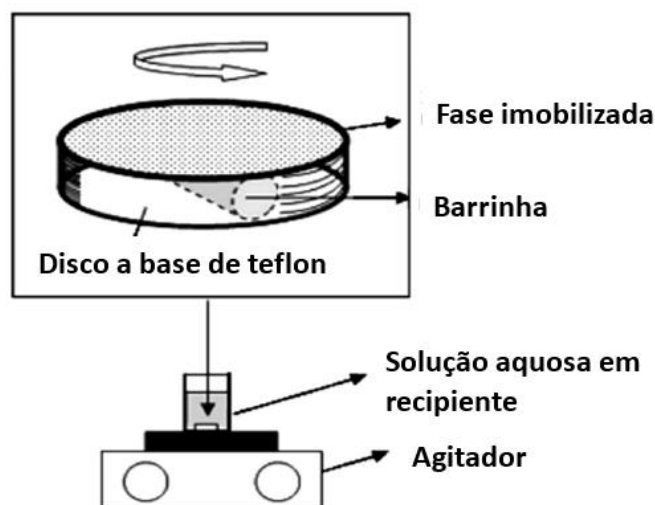


Figura 4. Diagrama para disco rotatório. Fonte: Adaptado de Richter *et al.* (2009).

A RDSE apresenta-se como um método simples e rápido sobre os processos de extração tradicionais tais como extração líquido-líquido, extração em fase sólida (EFS), entre outros sistemas. Essa técnica proporciona uma abordagem de baixo custo, permitindo utilizar volume conveniente para a área de superfície e realizar extrações a partir de pequenas quantidades de amostras aquosas e fase adsorviva (GIORDANO *et al.*, 2011).

Com o objetivo de determinar HPAs de alta massa molecular, reporta-se pela primeira vez a utilização de membrana de náilon acoplada ao sistema RDSE (CAÑAS *et al.*, 2014).

Para avaliação do método, um experimento foi executado para determinar HPAs de alta massa molecular em água. Os HPAs visados à determinação foram: benzo [a] pireno (BaP), dibenz [a,h] antraceno (DBA), dibenzo[a] antraceno (BaA) e criseno (CRI). Além destes HPAs, são adicionados no preparo das misturas o benzo [b] fluoranteno (BbF), benzo [g, h, i]perileno (BghiP), indeno [1,2,3- d]pireno (IcdP) e pireno (PIR) que tem sinais que sobrepõem o DBA, BaA, BaP e CRI, e foram tratados como agentes interferentes (CAÑAS *et al.*, 2014).

Foram utilizadas 10 amostras para o conjunto de calibração, contendo os quatro analitos nos intervalos de 50-300 ng/L (para BaP e BaA) e 50-600 ng/L (para DBA e CHRY). Um conjunto de teste de 10 amostras foi preparado

contendo concentrações aleatórias de BaP, DBA, BaA e CRI em intervalos avaliados acima, bem como as concentrações de cada agente interferente, variando entre 600 e 1000 ng/L (CAÑAS *et al.*, 2014).

A membrana foi fixada ao dispositivo, contendo uma barra de agitação magnética e é adicionado um recipiente contendo 25 mL de solução aquosa contendo HPAs, sendo agitado por 20 min a 1250 rpm em temperatura ambiente. Após a secagem da membrana, esta é introduzida, com o auxílio de um suporte, em um espectrofluorímetro para a medição e foram analisados com calibração multivariada. Através dos resultados estatísticos, erro quadrático médio de predição (RMSEP), erro relativo de predição (REP %) e limite de detecção (LOD), como apresentados na tabela 5 (CAÑAS *et al.*, 2014).

Tabela 4. Resultados estatísticos do PARAFAC para BaP, DBA, BaA e CHRY em amostras sem interferências (conjunto de validação) e com BbF, BghiP, IcdP e PYR como interferências (conjunto de teste).

	Bap (ppb)	DBA (ppb)	BaA (ppb)	CHRY (ppb)
Conjunto de Validação				
RMSEP	10	14	8	21
REP (%)	7	5	5	7
LOD	30	70	20	100
Conjunto de Teste				
RMSEP	10	16	8	21
REP	7	5	5	7
LOD	30	100	30	100

Fonte: CAÑAS *et al.*, 2014.

A partir dos dados obtidos, foi possível a quantificação com o auxílio do algoritmo PARAFAC em níveis de parte por trilhão em meio contendo interferentes. Assim, com esta proposta obtiveram alta sensibilidade e seletividade e com o excelente resultado, sugerem que o método possa competir com outros mais sofisticados, sendo uma boa escolha para determinação rápida de HPAs em água.

Reportam sobre a capacidade de extração em disco rotatório para amostras aquosas, além de oferecer a possibilidade de trabalhar de acordo com os aspectos da química verde (CAÑAS *et al.*, 2014).

O náilon foi associado a este sistema por apresentar capacidade de reter

e concentrar estes compostos em sua superfície. O náilon mostrou ser um suporte adequado para sua determinação espectrofluorimétrica. A transferência de massa em direção à membrana é beneficiada pelo fato de que os HPAs são pouco solúveis em fase aquosa, preferindo migrar para o ambiente mais apolar do náilon. (BORTOLATO *et al.*, 2008a; 2008b).

2.5. Planejamento fatorial: conceitos gerais

Diversos tipos de planejamentos experimentais são utilizados visando a otimização de variáveis (BRASIL *et al.*, 2007). O planejamento fatorial destaca-se por permitir avaliar um grande número de variáveis, simultaneamente, partindo de um número reduzido de ensaios experimentais, quando comparado a outros processos que avaliam o efeito de uma variável por vez (univariado). Sendo assim, tem se apresentado como ferramenta estatística para avaliação e otimização dos parâmetros envolvidos na pesquisa (PERALTA-ZAMORA *et al.*, 2005).

Entre alguns conceitos gerais de experimentação estão: fator, indica cada variável do sistema a ser estudado; níveis, geralmente o mais baixo (-) e o mais alto (+) para os fatores do estudo. Os efeitos podem ser definidos quando ocorre mudança de resposta ao sair de um nível para o outro (BRASIL *et al.*, 2007).

O efeito principal é observado na diferença média da resposta quando se muda o nível do fator em questão e pode ser representado matematicamente na equação 1.

$$\text{Efeito principal} = 2(\sum y^+ - \sum y^-)/(b^a) \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde, y é a média dos efeitos individuais da medida, (-) e (+) diz a respeito dos níveis alto e baixo e b^a refere-se ao número total de ensaios.

A interação entre os efeitos ocorre quando o comportamento de um fator não é o mesmo nos dois níveis de outro fator, ou seja, quando dois ou mais fatores dependem da resposta dos outros fatores (BRASIL *et al.*, 2007).

Dentre as vantagens associadas podemos destacar a redução do número de experimentos sem prejudicar a obtenção dos dados, seleção de variáveis, estudo das variáveis simultaneamente e análise dos efeitos, confiabilidade dos resultados entre outros (BUTTON, 2005).

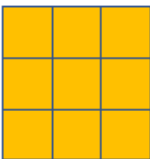
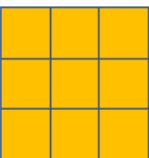
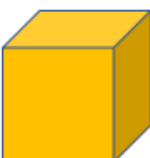
2.6 Calibração de Segunda Ordem

A quimiometria surge ao final dos anos 70 como proposta para descrição de técnicas e operações relacionadas ao tratamento matemático e interpretação de dados na área da química de natureza multivariada. De acordo com os dados apresentados na literatura, possibilita-se a otimização da resposta analítica, tempo e preparação de amostra (SENA, TREVISAN e POPPI; 2005).

O grande quantitativo de dados que são gerados a partir de diferentes instrumentos e modernização dos mesmos, pode ocasionar limitações durante a análise, principalmente se não usarmos o método adequado. Sendo assim, com a complexidade dos dados gerados, as ferramentas quimiométricas passaram a “traduzir” esses dados. Um exemplo é a possibilidade de analisar uma amostra mesmo na presença de interferentes desconhecidos, ou seja, não estão presentes na construção do modelo (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2006) (OLIVEIRA, 2006).

Para classificação dos métodos de calibração, devemos verificar a dimensão dos dados analisados. Sendo assim, utilizaremos a tabela 4 para ilustrar os dados de acordo com o tipo de amostra e ordem.

Tabela 5 - Representação esquemática dos tipos de dados, ordem e calibração. (PINTO, 2015 - Adaptado)

Dados	0 ordem	1ª ordem	2ª ordem
Amostra			
	Escalar	Vetor	Matriz
Conjunto de Amostras			
	Vetor	Matriz	3 vias
Calibração	Univariada		Multivariada
			

Métodos de ordem zero são utilizados no tratamento de dados univariados, por exemplo, dados adquiridos de pHmetros. Neste modelo de calibração usa-se um único valor da medida experimental para cada amostra (na forma de escalar) e a seletividade ocorre apenas para o analito de interesse. Esses métodos não funcionam bem na presença de interferentes, uma vez que não podem distinguir entre eles e os analitos (VALDERRAMA *et al.*, 2009).

Método de primeira ordem são os tradicionais métodos de análise multivariada. Para cada conjunto de amostras podem ser medidos vetores de dados (tensor de 1ª ordem), como cromatogramas e espectros. Esses métodos podem lidar com medidas feitas na presença de interferentes desde que eles estejam presentes no conjunto de calibração utilizados para a construção do modelo. Essa característica de lidar com interferências conhecidas é chamada de vantagem de primeira ordem. Entre os modelos mais utilizados estão Regressão Linear Múltipla (MLR – *Multiple linear regression*), Regressão de Componente Principal (PCR – *Principal Component Regression*) e Mínimos Quadrados Parciais (PLS – *Partial Least Squares*) (SENA *et al.*, 2005; VALDERRAMA *et al.*, 2009).

O método de segunda ordem é aplicado no tratamento de dados obtidos em instrumentos que proveem como resposta uma matriz de dados para cada uma das amostras. Uma das vantagens deste modelo é a possibilidade de calibração mesmo na presença de interferentes desconhecidos, ou seja, que não estão presentes no conjunto que foi utilizado para a construção do modelo. Essa característica é chamada de vantagem de segunda ordem (VALDERRAMA *et al.*, 2009; OLIVIERI, 2014).

Para os dados de segunda ordem, pode ser obtido um arranjo em três vias, conforme observado na tabela 4. Neste caso, os mesmos conjuntos de dados de perfis espectrais e de concentração irão manifestar a variação em mais de uma matriz, apenas em diferentes proporções. Esta situação é chamada de trilinearidade e é representada pela equação 2 (TAULER *et al.*, 1998; OLIVIERI e ESCANDAR, 2014).

$$D_k = C Z_k S^T + E \quad (\text{Eq. 2})$$

Z se refere à matriz diagonal que guarda as proporções relacionadas a cada componente em cada matriz D_k .

A trilinearidade é um fator importante na análise de misturas, pois ao tratar-se de amostras reais, na presença de interferentes desconhecidos e que não fazem parte do conjunto de calibração. Sendo assim, pode ser resolvido sem tratamento prévio (OLIVIERI e ESCANDAR, 2014).

A vantagem de segunda ordem minimiza a preparação de padrões em laboratório e aplicá-los para previsão de amostras reais. Torna-se possível o estudo de sistemas complexos, por exemplo, matrizes ambientais, alimentos, sem se preocupar com os interferentes desconhecidos nas amostras (OLIVIERI, 2014).

Além da justificativa relacionada aos interferentes, calibração de segunda ordem está associada às seguintes vantagens: rapidez na determinação; baixo custo de reagentes; a amostra pode ser preparada de forma simplificada e, conseqüentemente, a diminuição dos erros durante a execução (SENA *et al.*, 2005).

2.7. Análise de Fatores Paralelos – PARAFAC

Um método de calibração de segunda ordem que vem sendo difundido no meio científico para tratar dados de segunda ordem é a Análise de Fatores Paralelos (*Parallel Factor Analysis* - PARAFAC), que se apresenta como um método de decomposição de dados de ordem superior e é um dos vários métodos de deconvolução para dados trilineares. Tem como vantagem em sua aplicação a possibilidade de adquirir espectros puros de cada componente do sistema, além da possibilidade de fazer previsões na presença de interferentes desconhecidos, que não estavam presentes no conjunto de calibração, conhecida como vantagem de segunda ordem (BRO, 1997).

Uma decomposição dos dados é feita em tríades ou componentes trilineares. Um modelo PARAFAC de uma matriz de três vias é dado por três matrizes de carregamento, A, B e C, com os elementos a_{if} , b_{jf} e c_{kf} , que são relativos as três dimensões de dados e é representado através da equação 3.

$$x_{ijk} = \sum_{f=1}^F a_{if} b_{jf} c_{kf} + e_{ijk} \quad (\text{Eq.3})$$

A figura 5 mostra uma representação gráfica da equação (1) que mostra a decomposição trilinear de um arranjo tridimensional.

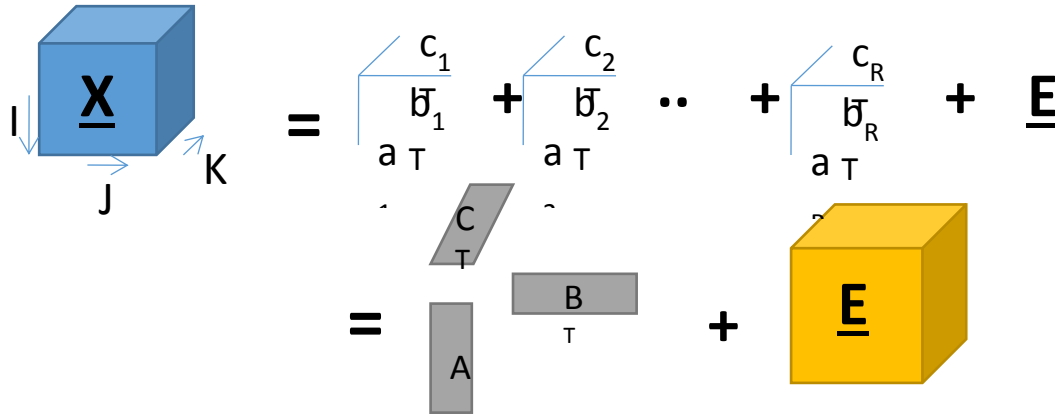


Figura 5. Uma representação gráfica do modelo PARAFAC.

Nesta representação, $\underline{\mathbf{X}}$ corresponde ao arranjo de dados tridimensional, $\mathbf{A}$ é a matriz que está associada às concentrações relativas, enquanto $\mathbf{B}$ e $\mathbf{C}$ são os modos experimentais, nesse caso, espectros de emissão e excitação. Como as matrizes $\mathbf{B}$ e $\mathbf{C}$ estão normalizadas, todas as informações de concentração irão para a matriz $\mathbf{A}$ e assim poderá ser traçada a curva de calibração.

Como ferramenta associada ao PARAFAC, utilizamos o s_{fit} , para estimar o número de componentes. Representado como a raiz da soma residual dos quadrados (SSR - *Residual Sum of Squares*) dividida pelo produto do número de sensores em cada um dos modos, como demonstrado na equação 4,

$$s_{fit} = \sqrt{\frac{SSR}{I \times J \times K}} \quad (\text{Eq. 4})$$

onde I é o número total de amostras na matriz de três vias e J e K são o número de pontos de dados em ambos os modos de dados instrumentais para cada amostra. O s_{fit} tem sido um bom indicador e a partir da decomposição bem sucedida e decomposição correta dos perfis espectrais dos modos de emissão e excitação da amostra (OLIVIERI e ESCANDAR, 2014).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Desenvolver um método para determinação de HPAs em solos utilizando pré-concentração em membrana de náilon através de extração por sorção em disco rotativo, espectroscopia de fluorescência total e Análise de Fatores Paralelos (PARAFAC).

3.2. Objetivos específicos

- 1 – Estudar os parâmetros referentes à extração de HPA dos solos contaminados ao adicionar solvente orgânico;
- 2 - Avaliar a eficiência da adsorção dos HPAs da solução para membrana, haja vista a afinidade do HPA com a fase apolar da solução e a dificuldade da transferência dos analitos para a membrana de náilon;
- 3 – Otimizar os parâmetros para escolha do solvente, tempo e adição de NaCl em um planejamento fatorial 2^3 ;
- 4 – Adquirir espectros a partir da concentração dos HPAs na membrana e obtenção de curvas de calibração;
- 5 – Preparar os modelos de calibração a partir da faixa espectral a fim de obter os perfis espectrais de cada analito;
- 6 – Validar os modelos com os testes de recuperação através do erro quadrático médio de predição (RMSEP) erro percentual de predição (REP%).

4. METODOLOGIA

4.1. Características das amostras de solo

Foram utilizadas 8 amostras de solos como matriz. Os solos foram coletados no escopo do **projeto** de caracterização sedimentológica de alguns pontos de dois rios do litoral sul da Paraíba (Gramame e Abiaí) e cedidos pela Prof. Ilda Antonieta, da UFPB. A tabela 6 mostra as coordenadas do ponto de coleta e as características dos solos. A figura 6 mostra fotos dos 8 solos que foram utilizados neste trabalho.

Tabela 6 - Solos e classificação quanto ao tipo de areia ou silte e % de matéria orgânica.

Solos	Classificação granulométrica	% MO	Longitude	Latitude	Altitude
1	Areia muito fina	0.02	34° 50' 14"	7° 26' 05"	6
2	Areia grossa	0.53	34° 55' 23"	7° 11' 57"	9
3	Areia grossa	0.68	34° 54' 33"	7° 12' 31"	6
4	Silte médio	6.1	35° 08' 30"	7° 23' 28"	139
5	Areia média	1.98	35° 07' 54"	7° 22' 12"	139
6	Silte médio	1.7	34° 57' 59"	7° 19' 44"	40
7	Areia média	2.62	34° 50' 36"	7° 14' 10"	6
8	Areia média	1.04	35° 00' 56"	7° 16' 09"	38

Fonte: Relatório Mapeamento do uso e ocupação do solo, cooperação PPGQ/UFPB/MPF.

A figura 6 tem como objetivo mostrar a diferença visual dos solos utilizados para contaminação.

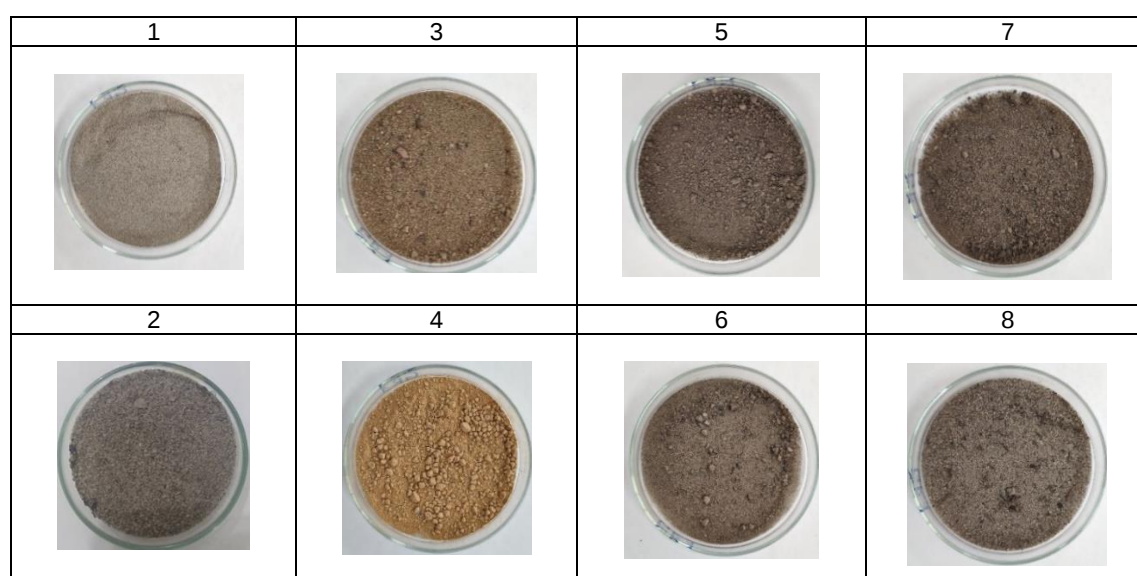


Figura 6. Foto das amostras de solo.

4.2. Contaminação dos solos com a mistura de HPAs para gerar as amostras

Amostras de solo foram preparadas de modo a alcançar as concentrações de Antraceno (ANT), Benzo[a]Pireno (BaP), Criseno (CRI) e Fenantreno (FEN), apresentadas na tabela 7.

Tabela 7 - Composição das misturas de HPAs nos solos (μg de HPA/kg de solo).

Mistura	ANT	FEN	BaP	CRI
M1	150	3750	62,5	275
M2	300	3250	112,5	125
M3	450	2750	87,5	325
M4	600	2250	37,5	375
M5	750	1750	162,5	175
M6	900	1250	137,5	225

Os oito tipos de solo e seis composições da mistura de HPAs perfazem 48 amostras de solo contaminadas com quatro HPAs.

Para cada amostra, foi pesada e contaminada uma massa de aproximadamente de 2,00000 g com precisão de centésimo de miligrama. Em seguida, uma alíquota de aproximadamente 0,50000 g, pesada com a mesma precisão, foi usada para prosseguir com as etapas de extração, pré-concentração em membrana de náilon e medidas espectrofluorimétricas. A tabela 8 apresenta as concentrações dos HPAs em solo ajustadas para cada amostra.

Tabela 8 - Contaminação prevista para cada HPA e concentrações referentes às amostras de solo (μg de HPA/kg de solo).

Amostra* SM	Massa do solo preparado (2,0 g)	Massa do solo para extração (0,5 g)	ANT¹	BaP¹	CRI¹	FEN¹
A11	2,00152	0,50028	150,0	62,5	274,9	3749,3
A12	2,01035	0,50094	299,0	112,1	124,6	3239,3
A13	2,00586	0,50146	450,0	87,5	325,0	2750,0
A14	2,00754	0,50188	600,0	37,5	375,0	2250,0
A15	2,01034	0,50085	747,4	161,9	174,4	1744,0
A16	2,01452	0,50109	895,5	136,8	223,9	1243,7
A21	2,00638	0,50014	149,6	62,3	274,2	3739,1
A22	2,00105	0,50078	300,3	112,6	125,1	3253,4
A23	2,00481	0,50121	450,0	87,5	325,0	2750,0
A24	2,00364	0,50091	600,0	37,5	375,0	2250,0
A25	2,00489	0,50122	750,0	162,5	175,0	1750,0
A26	2,01047	0,50017	895,6	136,8	223,9	1243,9
A31	2,01034	0,50058	149,4	62,3	273,9	3735,0
A32	2,00982	0,50049	298,8	112,1	124,5	3237,3
A33	2,00469	0,50072	449,6	87,4	324,7	2747,5
A34	2,00715	0,50077	598,8	37,4	374,2	2245,4
A35	2,01851	0,50046	743,8	161,2	173,6	1735,5
A36	2,00584	0,50027	897,9	137,2	224,5	1247,0
A41	2,00716	0,50079	149,7	62,4	274,5	3742,5
A42	2,01154	0,50063	298,7	112,0	124,4	3235,4
A43	2,00967	0,50019	448,0	87,1	323,6	2737,8
A44	2,00453	0,50104	599,9	37,5	374,9	2249,6
A45	2,00981	0,50073	747,4	161,9	174,4	1744,0
A46	2,01506	0,50049	894,1	136,6	223,5	1241,9
A51	2,00325	0,50009	149,8	62,4	274,6	3744,6
A52	2,00574	0,50036	299,4	112,3	124,7	3243,0
A53	2,00821	0,50081	448,9	87,3	324,2	2743,2
A54	2,00643	0,50041	598,6	37,4	374,1	2246,6
A55	2,00814	0,50097	748,4	162,2	174,6	1746,3
A56	2,00759	0,50077	898,0	137,2	224,5	1247,2
A61	2,00364	0,50119	150,1	62,5	275,2	3752,1
A62	2,00251	0,50031	299,8	112,4	124,9	3247,9
A63	2,00528	0,50024	449,0	87,3	324,3	2744,1
A64	2,00625	0,50132	599,7	37,5	374,8	2248,9
A65	2,00457	0,50122	750,1	162,5	175,0	1750,3
A66	2,00135	0,50059	900,5	137,6	225,1	1250,6
A71	2,01023	0,50102	149,5	62,3	274,2	3738,5
A72	2,00042	0,50011	300,0	112,5	124,6	3250,0

Amostra* SM	Massa do solo preparado (2,0 g)	Massa do solo para extração (0,5 g)	ANT¹	BaP¹	CRI¹	FEN¹
A73	2,00481	0,50124	450,0	87,5	324,0	2750,2
A74	2,00367	0,50091	600,0	37,5	375,0	2250,0
A75	2,01112	0,50062	746,8	161,8	174,2	1742,5
A76	2,00973	0,50024	896,1	136,9	224,0	1244,5
A81	2,03514	0,50068	147,6	61,5	270,6	3690,3
A82	2,00635	0,50017	299,2	112,2	124,6	3240,8
A83	2,00745	0,50062	448,9	87,3	324,2	2743,2
A84	2,00618	0,50054	598,8	37,4	374,2	2245,5
A85	2,00394	0,50092	749,9	162,5	175,0	1749,8
A86	2,01368	0,50037	894,5	136,7	223,6	1242,4

*S=solo; M=mistura; ¹(µg/kg)

4.3. Planejamento Fatorial 2³

A fim de verificar as condições satisfatórias para a execução dos experimentos, foi montado um planejamento fatorial 2³, avaliando os efeitos de concentração de sal, tempo de agitação em disco rotatório e solvente, com os níveis apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Níveis das variáveis do sistema estudadas no planejamento.

Níveis	Concentração de NaCl (M)	Tempo (min)	Solvente
+1	0,2	30	Acetonitrila
-1	0,1	20	Acetona

4.4. Extração e preparação da amostra analítica

Em uma coluna (utilizando uma ponteira de pipeta automática de 5 mL) é colocada lã de vidro e feita a compactação com o bastão de vidro para que a altura da lã esteja em aproximadamente um centímetro. Em seguida 0,5 g de solo contaminado, pesado com precisão de centésimo de miligrama, é adicionado à coluna e coberto com mais uma camada de lã de vidro, fazendo a compactação da lã, de modo que fique no formato demonstrado na figura 7.



Figura 7. Coluna para extração de solos utilizando lã de vidro e ponteira de 5 mL.

Com o auxílio de uma pipeta volumétrica, é adicionado o volume de 2 mL de uma solução extratora previamente preparada de Acetonitrila/H₂O (1:1 v/v), que é adicionado à coluna, recolhendo o sobrenadante diretamente no balão de 25 mL. Para a mesma amostra de solo, esta etapa é repetida por mais duas vezes, totalizando um volume de 6 mL de solvente extrator. Com o extrato já no balão, auxiliado por uma pipeta, é feita a adição de 5 mL da solução NaCl 1 mol.L⁻¹ e ajustado o volume até o menisco do balão com a água ultrapura do Milli-Q. Procedendo desta forma, para as amostras com concentrações de acordo com a tabela 7, a solução no balão de 25 mL terá concentrações de HPA na seguinte faixa, supondo a extração completa: ANT 3-18 (ppb); BaP 0,75-3,25 (ppb); CRI 2,5-7,5 (ppb) e FEN 25-75 (ppb).

4.5. Preparação dos padrões para a curva de calibração

Os padrões do conjunto de calibração e validação foram preparados para Antraceno (ANT), Fenantreno (FEN), Criseno (CRI) e Benzo[a]Pireno (BaP) considerando a solubilidade e a faixa de concentração encontrada em solos e todas com cinco pontos, incluindo o branco.

As soluções padrão para a curva de calibração foram preparadas em balão volumétrico de 25 mL, adição do volume do HPA correspondente, 6 mL uma solução Acetonitrila/H₂O (1:1 v/v), adição de 5 mL de solução 1 M de NaCl e o volume do balão foi completado com água ultrapura do Milli-Q. Assim, os

padrões da curva de calibração são preparados utilizando as mesmas quantidades de solução extratora, solução salina e água ultrapura que as amostras analíticas, de modo a possuir a polaridade similar na solução final. As faixas de concentração para os padrões de HPAs foram equivalentes a 0 a 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de ANT, 0 a 80 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de FEN, 0 a 8 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de CRI e 0 a 4 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de BaP, em amostras de solo.

4.6. Extração por sorção em disco rotatório (RDSE)

Um pedaço circular de 1,0 cm de diâmetro de filtro de nylon de 0,45 μm foi colocado em um suporte construído no laboratório com tampas de tubo Falcon de 15 mL e uma barra magnética como mostrado, ilustrativamente, na figura 8. O suporte foi colocado com o filme de náilon voltado para cima em um copo de formato trapezoide e fundo plano, contendo 25 mL de solução preparada a partir do padrão (para a curva de calibração) ou extrato de amostra de solo, sobre um agitador magnético. A velocidade de agitação foi ajustada até que o vórtice formado sobre o suporte tangenciasse o filme de náilon.

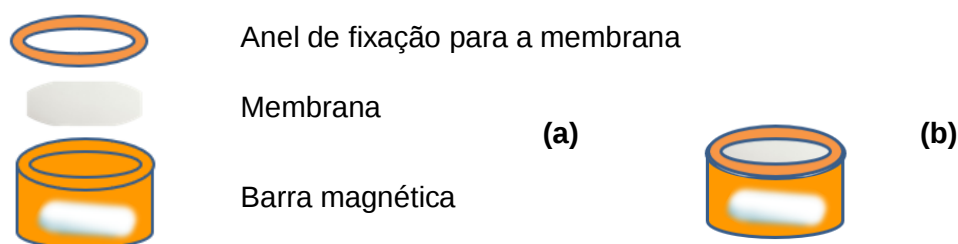


Figura 8. (a) Partes do disco rotatório para condicionar a membrana; (b) Montagem do disco rotatório.

O filme é mantido em rotação na solução durante 30 minutos. Em seguida a membrana é seca a temperatura ambiente. Após a membrana estar completamente seca, ela é inserida no suporte para sólidos do espectrofluorímetro e são adquiridos os espectros de cada amostra.

4.7. Medidas espectrofluorimétricas e tratamento de dados

Para obtenção dos espectros foi utilizado um Espectrômetro de Fluorescência – Agilent Cary Eclipse®, tendo como fonte de radiação uma lâmpada pulsada de xenônio. As medidas foram feitas diretamente na membrana

dos padrões e das amostras utilizando o suporte para sólidos do próprio equipamento, com diâmetro de 1 cm, como demonstrado na figura 9.



Figura 9. Suporte para sólidos do espectrofluorímetro com a membrana de náilon.

Os parâmetros observados para as medidas espectrais em 3D tiveram variação em emissão (nm) de 340-456, excitação (nm) 251-277, passos de 2 nm para ambos, as fendas de excitação e emissão correspondem a 20 e 2.5 nm, respectivamente e tensão da fotomultiplicadora em 490 V.

Os dados foram tratados no MVC2 (OLVIERI *et al*, 2009), uma interface gráfica executada no Matlab para aplicação de métodos de calibração de segunda ordem (BRO, 1997; ANDERSEN e BRO, 2003).

É esperado que o número de componentes deve ser no mínimo 4, neste caso, referente aos 4 analitos. Assim, foi feito o pré-tratamento de dados, aplicando o parâmetro “centrado na média” (*mean center*) para que fosse possível ter os dados na mesma magnitude. O algoritmo foi executado uma vez para cada amostra, como é comum em calibração de segunda ordem para garantir a robustez do modelo na presença de interferentes desconhecidos. A interface do MVC2 pode ser observada na figura 10.

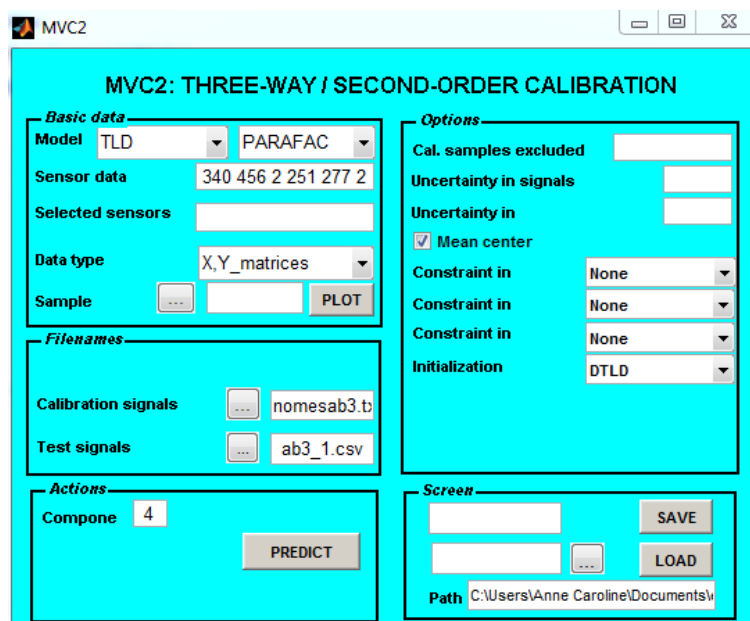


Figura 10. Interface MVC2 utilizada neste modelo.

4.8. RMSEP e REP

Para obtermos uma estimativa de erro associado ao modelo utilizado na predição, podemos utilizar a raiz quadrada do erro médio quadrático de predição (RMSEP – *Root Mean Square Error of Prediction*). Essa estimativa está representada na equação 4.

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{m}} \quad \text{eq. (4)}$$

Onde y_i é o valor de referência para o conjunto de predição, $\hat{y}_i$ é o valor predito pelo modelo e m é a quantidade de amostras de predição.

Para este trabalho, o RMSEP foi calculado para cada amostra de solo contaminado com os quatros HPAs. Isto é, a quantidade de amostras de predição é 6 para cada analito. Foi calculado também o RMSEP geral, para um total de 48 amostras.

O erro percentual de predição (REP%) foi calculado a partir do RMSEP calculado para cada analito ao longo das 48 amostras tendo como divisor o ponto médio da faixa de calibração e o resultado desta divisão é multiplicado por 100, como demonstrado na equação 5.

$$REP\% = 100 * \left(\frac{RMSEP_{geral}}{ponto\ médio} \right) \quad (\text{Eq.5})$$

4.9 Cálculo do LoB, LoD e LoQ

O LoB é estimado a partir de repetições de amostras em branco, calcula-se a média e o desvio padrão (SD). A expressão $t_{N-1,95\%}$ é o valor t de Student para N graus de liberdade e 95% de confiança como demonstrado na equação 6.

$$\text{LoB} = \text{média do branco} + t_{N-1,95\%} * (\text{SD branco}) \quad (\text{Eq. 6})$$

De forma geral, o Limite de Detecção (Limit of Detection – LoD) é definido como a menor concentração ou massa de analito que possa ser detectado com certa confiança e que seja distinto do LoB (THOMPSON et al., 2002). Para o cálculo do LoD, utilizamos a equação do Limite do Branco (*Limit of Blank* – LoB).

A equação 7, que descreve o cálculo, pode ser observada abaixo.

$$\text{LoD} = \text{LoB} + t_{N-1,95\%} * (\text{SD amostra de baixa concentração}) \quad (\text{Eq. 7})$$

A menor concentração que pode ser quantificada foi calculada a partir do Limite de Quantificação (*Limit of Quantitation* - LoQ), que exprime o valor com exatidão e precisão aceitáveis. Em geral, o LoQ pode ser estimado a partir do LoD, como descrito na equação 8.

$$\text{LoQ} = 3 * \text{LoD} \quad (\text{Eq. 8})$$

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Otimização dos parâmetros do método

5.1.1 Análise da polaridade da solução

Inicialmente, alguns cuidados com a extração do HPA do solo foram observados, pois deveríamos adotar um solvente que tivesse mais afinidade com o HPA e, assim, extraí-lo da amostra. Como a água é polar, não haveria facilidade dos analitos migrarem para a fase aquosa, então a proposta foi adicionar um solvente orgânico 1:1 v/v com água. Neste caso, acetona e acetonitrila (ACN) foram os solventes utilizados para estes testes iniciais de extração, sendo possível a extração desses compostos do solo.

A partir do extrato adquirido, a próxima etapa é transferir o HPA da solução para a membrana de náilon. O extrato é diluído, a fim de obtermos volume suficiente para continuidade do experimento. Porém, a migração dos analitos não acontece de forma eficiente. Isto se dá ao fato de o HPA ter forte afinidade pelo solvente, maior do que pela membrana.

Sendo assim, é adicionado ao sistema uma concentração de sal inorgânico, NaCl, para aumentar a polaridade do solvente. Os testes foram feitos, inicialmente com o Pireno (PIR). Três experimentos foram executados a partir do extrato, de modo que a primeira solução é o extrato diluído apenas com água; o segundo é diluído com água e adição de NaCl, tendo como concentração final 0,1 M de sal e a terceira solução deve ter concentração final 0,2 M de NaCl.

O pico de intensidade se encontra no comprimento de onda de 380 nm e observa-se o aumento em mais de 200 unidades de intensidade quando comparamos o espectro do PIR proveniente de uma solução sem adição de NaCl com o espectro do PIR adquirido da solução que continha a concentração de 0,2 M do sal.

Os resultados podem ser observados na figura 11.

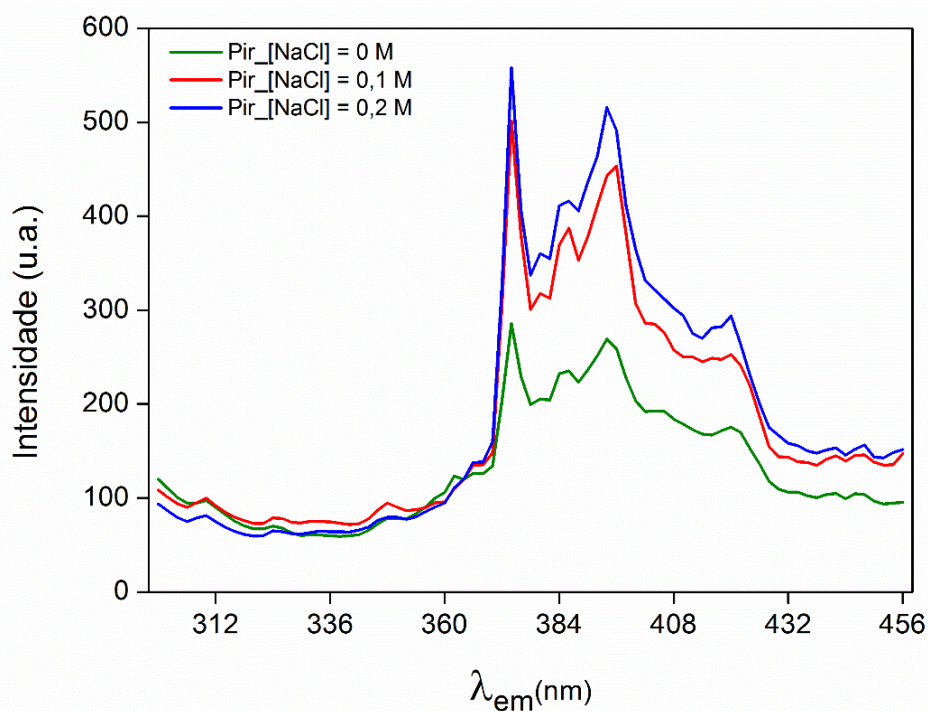


Figura 11. Testes com Pireno ao adicionar NaCl no sistema.

Outro teste foi feito utilizando o BaP, como analito, para verificar se essas condições eram favoráveis a outros HPA's. Observamos, na figura 12, a variação de intensidade do BaP quando a $[\text{NaCl}] = 0,0 \text{ M}$ para $[\text{NaCl}] = 0,1 \text{ M}$. Essa variação é pronunciada em mais de 50 unidades de intensidade, ao observarmos a diferença quando temos $[\text{NaCl}] = 0,1 \text{ M}$ para $[\text{NaCl}] = 0,2 \text{ M}$.

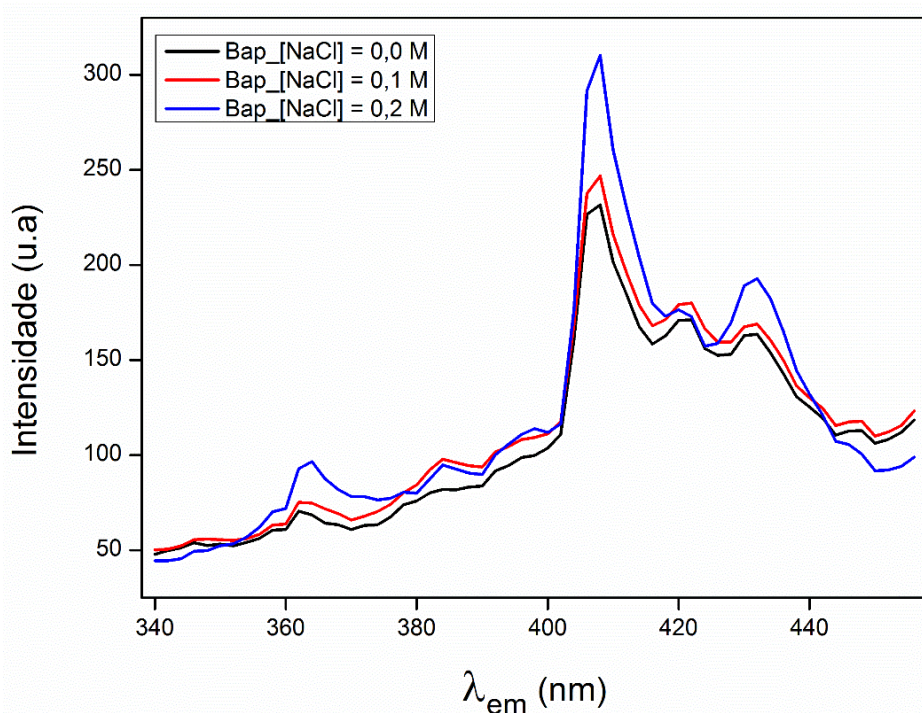


Figura 12. Testes com BaP e adição de NaCl No sistema.

A partir desses testes, foi possível verificar que a a adição de sal agregava diferença significativa na transferência do HPA para a membrana, em consequência o aumento da concentração dos analitos.

5.1.2 Estudo das respostas do planejamento fatorial 2^3

A partir das respostas obtidas, foi possível a análise detalhada verifica-se a variação dos níveis e diferença entre as respostas. As respostas são em forma de intensidade do sinal. Isso nos permite avaliar individualmente cada experimento e essa variação é ilustrada na figura 13.

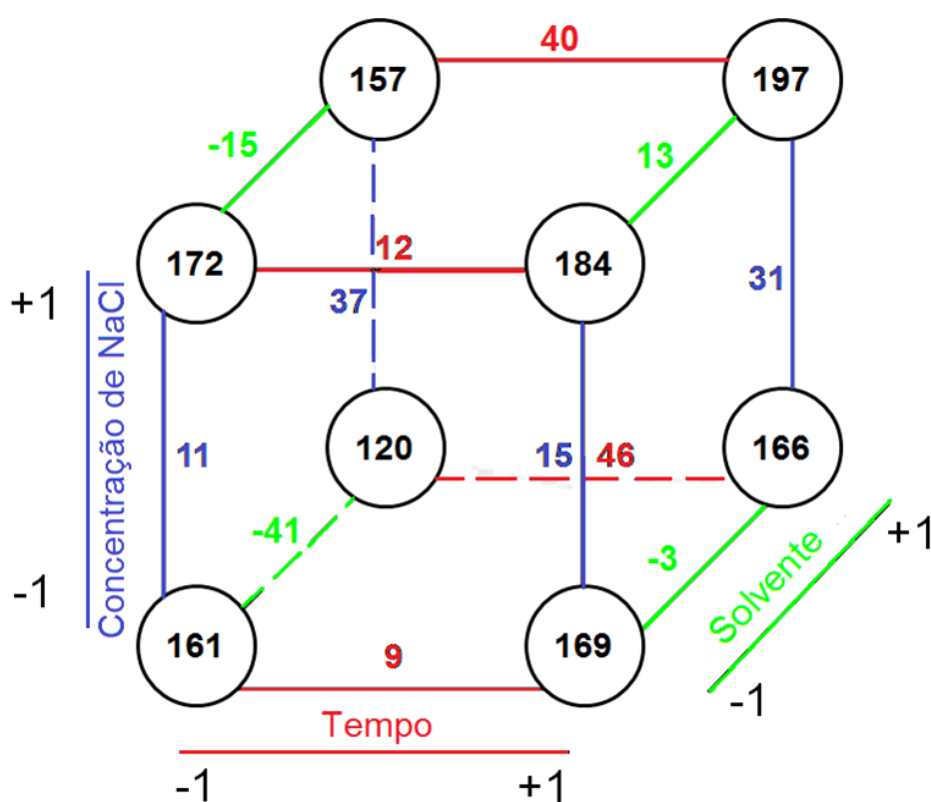


Figura 13. Representação espacial do planejamento fatorial 2^3 .

Ao analisarmos a concentração de sal, verificamos que quando saímos do nível -1 para +1 há sempre o aumento do sinal do HPA, ocorrendo variação positiva, comparando a face da esquerda com a direita, que é elevado quando o solvente é ACN.

O efeito do tempo é acentuado quando saímos do nível -1 para o +1, temos cerca de 4 vezes diferença na variação, sendo o tempo de 30 minutos o mais recomendado para realizar os experimentos. Neste caso, verificamos que

tem efeito em conjunto com o solvente, que tende a um sinal maior quando o solvente é acetona, no entanto, quando temos a concentração de sal em nível +1 o solvente que melhor responde a estas variações é a ACN.

Observamos que o efeito principal do solvente, em geral, é maior com acetona do que com ACN, no entanto, esses valores, geralmente aparecem quando temos tempo e concentração de NaCl nos nível -1.

Seguindo o planejamento, são obtidas as respostas e é possível analisar os efeitos principais e de interação que são demonstrados na Tabela 10.

Tabela 10. Planejamento fatorial 2³ para otimização das condições de transferência de HPAs para a membrana.

Experimento	Variáveis						Resposta
	[NaCl] =a	Tempo=b	Solvente=c	ab	ac	bc	
1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	161
2	+1	-1	-1	-1	-1	+1	172
3	-1	+1	-1	-1	+1	-1	169
4	+1	+1	-1	+1	-1	-1	184
5	-1	-1	+1	+1	-1	-1	120
6	+1	-1	+1	-1	+1	-1	157
7	-1	+1	+1	-1	-1	+1	166
8	+1	+1	+1	+1	+1	+1	197
Efeitos	23,475	26,675	-11,325	0,425	10,475	16,675	

a= [NaCl]; b= tempo; c= solvente

A média geral de intensidade é de 165 (u.a). Sendo assim, podemos concluir que o efeito da concentração do sal é aumentar o sinal do HPA na membrana, em média 23,5. Esse efeito é muito mais pronunciado quando o solvente é Acetonitrila:H₂O (1:1 v/v), que é em média 10,5 maior quando utilizamos este solvente. Como há grande efeito de interação, torna-se importante a utilização dos níveis +1 dessas variáveis, pois potencializa o aumento de sinal.

Analogamente, o efeito do tempo proporciona o aumento de sinal, em média 26,5 maior e quando combinado com solvente Acetonitrila:H₂O (1:1 v/v) apresenta interação positiva em média de 16,7 unidades de intensidade.

O efeito principal do solvente em média diminui 11,3 e favorece a utilização da acetona como solvente. No entanto, o uso de acetonitrila é justificada pelos efeitos de interação.

Observa-se que tempo e concentração são variáveis independentes, pois, praticamente não interagem. Porém, é necessário sal e tempo suficientes para que a transferência seja eficiente.

Devido às fortes sinergias do sistema, estes resultados são melhores em níveis máximos, sendo mais conveniente para maximizar os sinais referentes aos HPAs.

Foram testados tempos de até 1h e concentração de NaCl até 0,3 M, mas percebeu-se que não havia aumento de sinal ao mudar para estes parâmetros. Sendo assim, as condições escolhidas para o método foram concentração de NaCl 0,2 M; tempo 30 min e solvente acetonitrila:água (1:1 v/v).

5.2. Reprodutibilidade de extração e transferência de HPA para a membrana

Com a escolha do solvente, era necessário avaliar o volume que possibilitava a extração total do HPA contido no solo. Os volumes testados de ACN:H₂O (1:1 v/v), foram de 2, 4, 6 e 8 mL, para quatro amostras de solo contendo a mesma mistura de HPAs. Com a obtenção dos espectros, foi possível determinar que o volume satisfatório para a extração é de 6 mL da mistura ACN e água. Estes dados podem ser observados na figura 14.

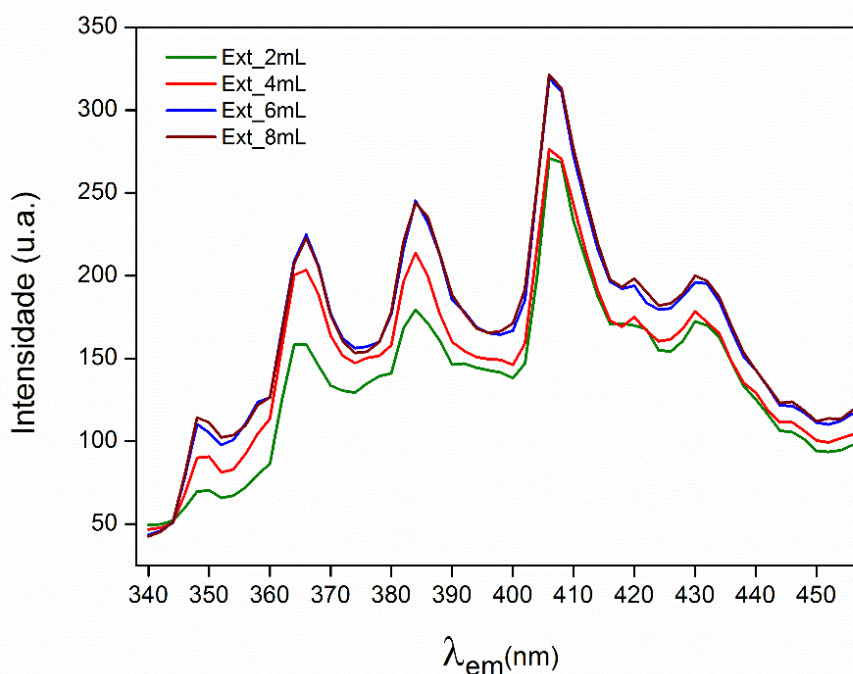


Figura 14. Testes de volume para extração de HPAs do solo.

Sendo assim, o volume de 6 mL foi escolhido como padrão para ser

utilizado nos demais experimentos que deverão seguir, haja vista o volume de 8 mL não apresentar diferença significativa.

Vale ressaltar sobre o sinal referente ao BaP (408 nm). Este é semelhante para os volumes de 2 e 4 mL. Porém, com 6 mL há o aumento desse sinal que se estabiliza, juntamente com os outros picos dos HPAs contidos na mistura. Assim, é possível verificar que os 4 analitos não se comportam igual na extração, mas quando chegamos ao volume ideal, temos os compostos extraídos eficazmente.

Tendo em vista avaliar a reprodutibilidade de extração, foi realizado um teste com as seguintes condições: dois diferentes solos foram contaminados com a mesma mistura e então, adicionado à solução final ao sistema de agitação e disco rotatório, obtivemos espectros de intensidade aproximadas e com o perfil semelhante. Em seguida, a mesma solução foi utilizada para uma segunda agitação e membrana, a fim de verificar se ainda tínhamos HPA que não foi transferido. A figura 15 apresenta os resultados desse experimento.

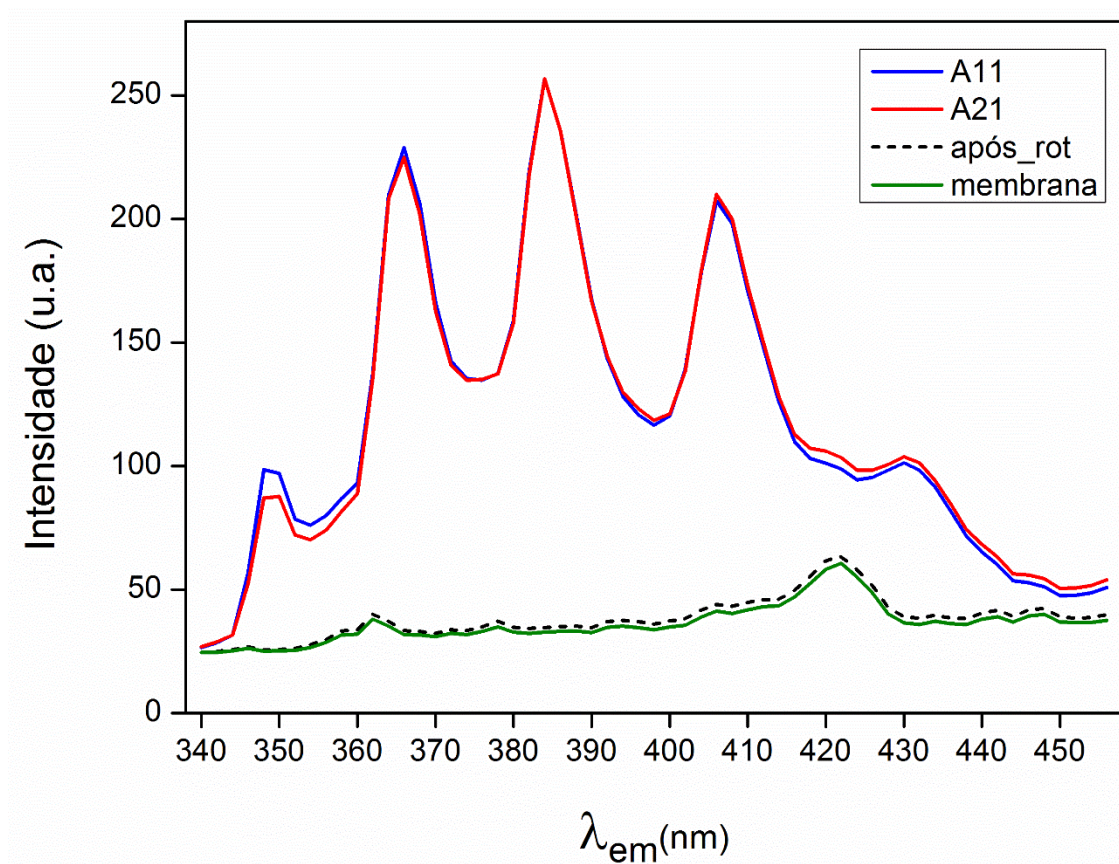


Figura 15. Teste de reprodutibilidade e transferência de HPA.

Diante do que pode ser observado na figura 15, após o procedimento de extração os HPAs foram extraídos quantitativamente para a membrana, uma vez que após uma segunda extração com uma nova membrana na mesma solução, não foi verificado sinal diferente do branco.

5.3. Construção do modelo e número de componentes

A faixa espectral variou de 340 a 456 nm em comprimentos de onda de emissão e 251 a 277 nm para comprimentos de onda de excitação, com fenda de 2 nm para ambos. Esta variação foi escolhida por conter todos os picos do antraceno, fenantreno, criseno e benzo[a]pireno. Os dados apresentam-se em forma de matriz e não é possível distinguir os perfis de cada HPA, como demonstrado no gráfico de superfície da A11 que é apresentado na figura 16.

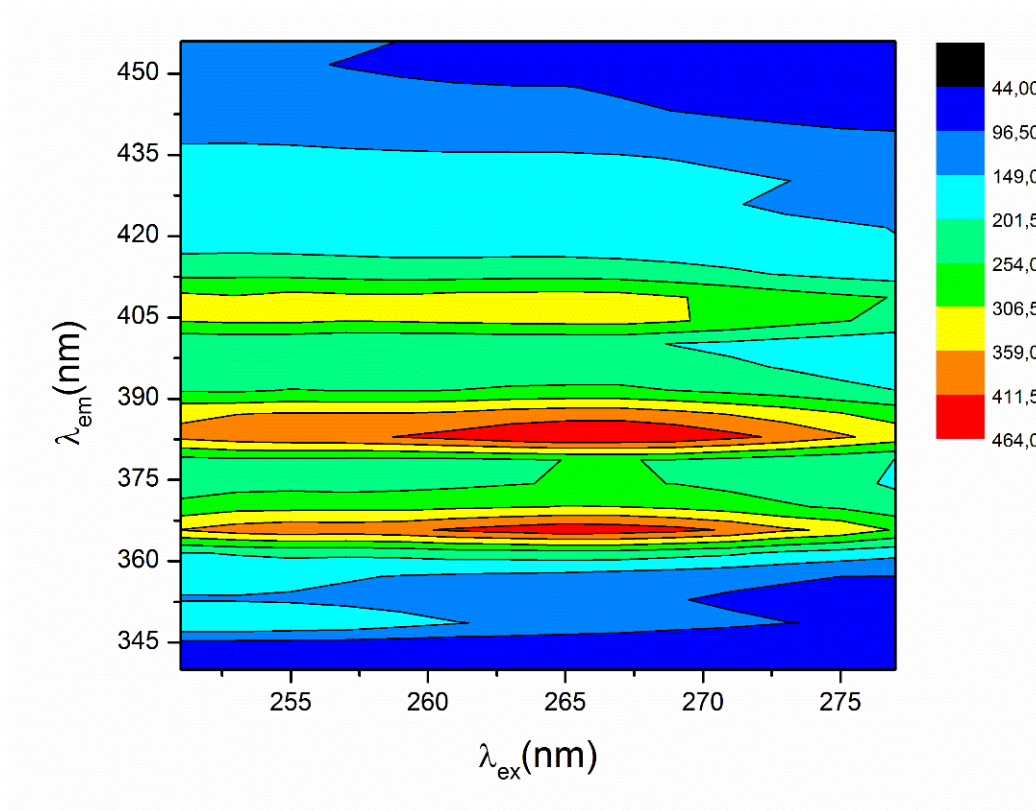


Figura 16. Gráfico de superfície da A11.

O PARAFAC é o modelo aplicado para a decomposição e quantificação dos quatro HPAs presentes nas amostras. Foi possível organizar os parâmetros para a escolha do número de componentes a serem empregados na decomposição dos dados e, para esse estudo, utilizamos o s_{fit} para estimar o número de componentes. Os componentes podem ser associados aos

constituintes conhecidos do sistema em estudo (OLIVIERI e ESCANDAR, 2014).

Um *script* para análise preliminar do conjunto de dados desenvolvido por pelo grupo de pesquisa foi utilizado neste estudo para adquirir o gráfico s_{fit} versus número de componentes – N.

Os gráficos que sugerem 4 componentes podem ser observados na figura 17.

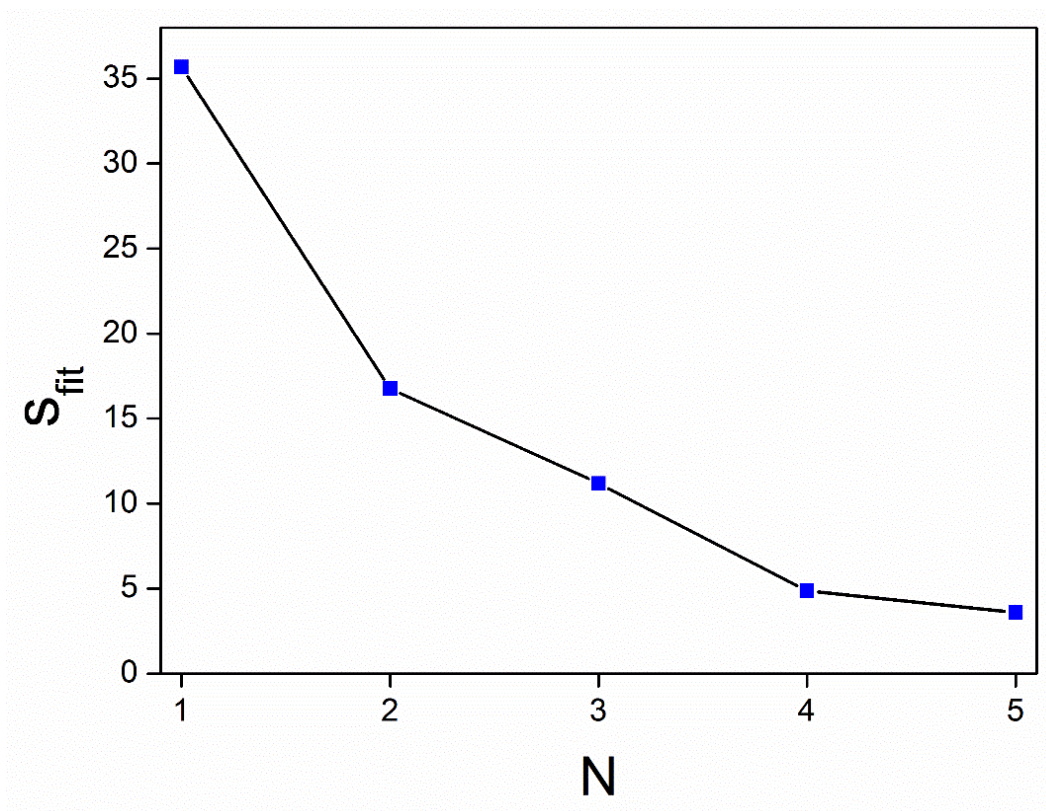


Figura 17. Gráfico s_{fit} x N (número de componentes).

Era esperado, para este trabalho que o número de componentes fosse no mínimo 4 relativo aos HPAs adicionados na mistura como analitos de interesse. Os dados apresentados no gráfico s_{fit} x N corroboram com este número de componentes. Podemos concluir isto ao analisar que o valor do ajuste residual deve diminuir com o aumento do número de componentes do PARAFAC, até que seja estabilizado em um determinado valor. Neste caso, ao aumentar o número de componentes, temos o decréscimo no valor do ajuste até 4 componentes. Quando o N passa de 4 para 5 componentes, apresenta determinada estabilidade e que este último valor, para 5 componentes, pode ser comparado ao nível de ruído (OLIVIERI e ESCANDAR, 2014).

Neste caso, qualquer outro interferente não aparece no nosso conjunto de dados e torna-se possível a obtenção dos perfis espectrais de emissão e excitação para ANT, BaP, CRI e FEN. A figura 18 mostra a decomposição dos componentes nos modos B e C do PARAFAC.

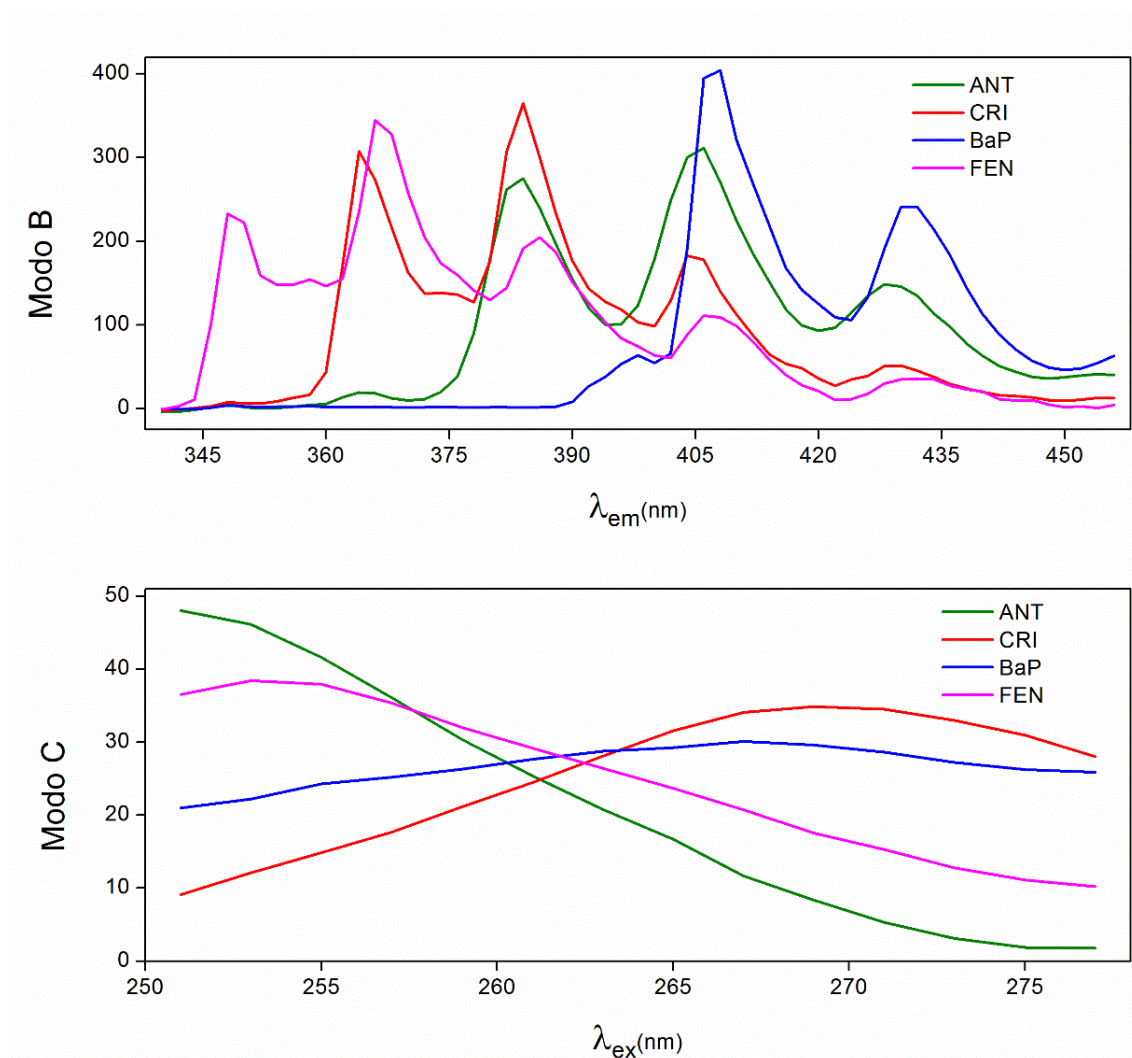


Figura 18. Decomposição dos componentes puros realizada pelo PARAFAC para os HPAs em mistura.

Essa decomposição mostra o potencial do PARAFAC em recuperar os perfis espectrais dos analitos mesmo em meio à uma mistura. Haja vista, cada HPA se comporta como interferente em relação ao outro. Outro fator é a intensidade do sinal analítico que é diretamente relacionado à concentração do mesmo nas amostras.

5.4. Curvas de calibração e recuperação

As curvas para cada HPA foram preparadas levando em consideração os valores preconizados para cada composto e que foram apresentados na tabela 3 da resolução do CONAMA. A figura 19, mostra as curvas adquiridas através da concentração em membrana dos quatro HPAs estudados nesse trabalho.

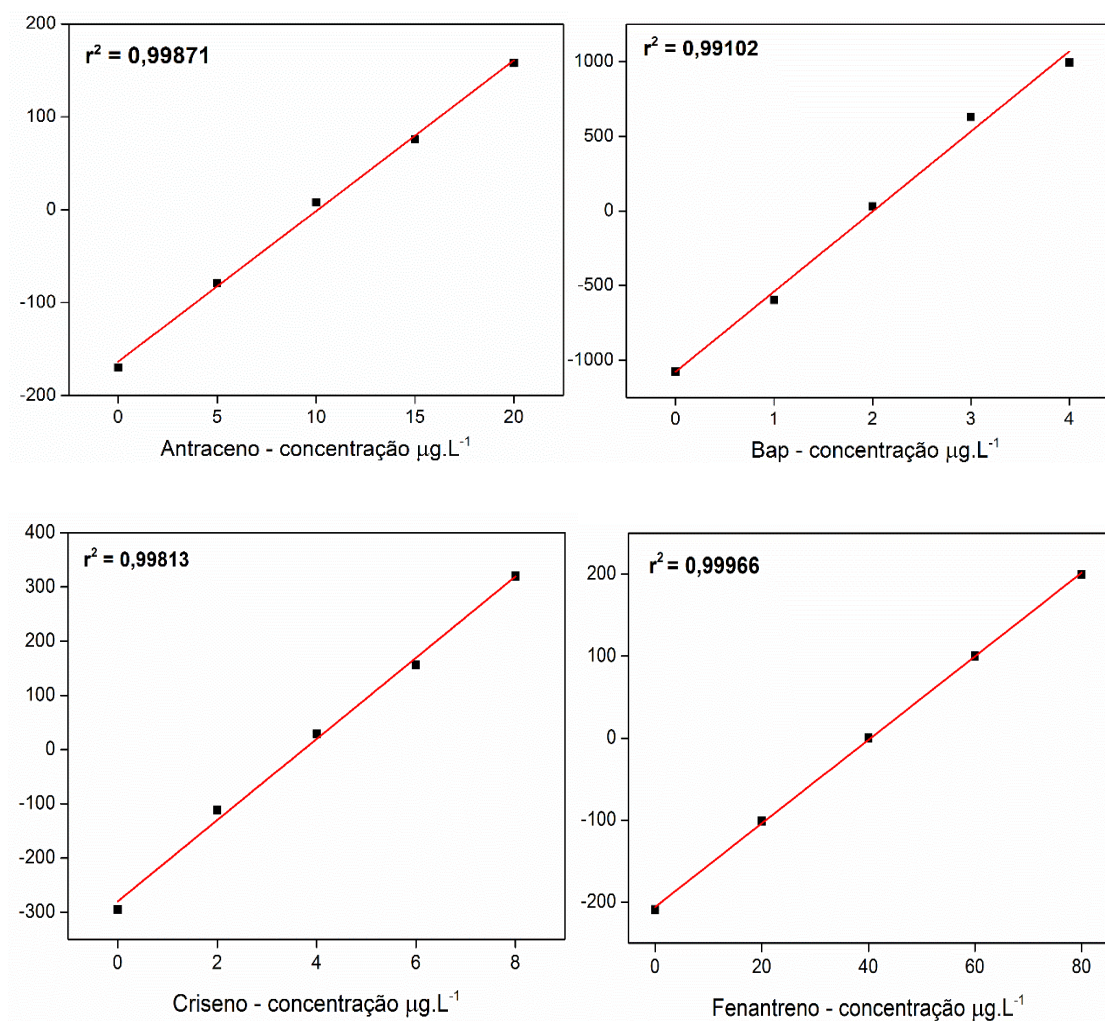


Figura 19. Curvas de calibração para antraceno, benzo[a]pireno, criseno e fenatreno, sucessivamente

Analisando as curvas, podemos verificar a linearidade para todos os 4 HPAs e, a partir disto, as amostras podem ser tratadas juntamente com a curva para o respectivo HPA, auxiliado pelo algoritmo PARAFAC será possível a quantificação dos analitos presentes nas amostras de solo contaminadas.

A quantificação utilizando o PARAFAC pode ser observada para cada

analito, variando as 6 concentrações em 8 solos diferentes. A eficácia do modelo será avaliada pelo erro quadrático médio de predição (RMSEP) para analito nos diferentes solos, bem como a porcentagem de recuperação mínima e máxima obtidas estão dispostas na tabela 11.

Tabela 11. Valores de RMSEP para cada analito em solos diferentes.

Solos	ANT*	BaP*	CRI*	FEN*
1	35,3	7,8	16,2	94,9
2	37,0	7,5	15,9	151,6
3	22,6	3,1	23,6	109,4
4	31,2	4,2	13,2	131,0
5	40,6	4,4	5,1	179,7
6	25,7	5,3	11,2	211,6
7	19,1	2,3	21,6	103,1
8	21,7	1,4	3,8	105,9
<i>Geral**</i>	31,0	5,0	15,4	141,5
<i>mín.</i>	150,0	37,5	125,0	1245,0
<i>máx.</i>	900,0	162,5	375,0	3750,0
<i>P. médio</i>	525,0	100,0	250,0	2497,5
<i>REP (%)*</i>	5,9	5,0	6,2	5,7
<i>%rec. min.*</i>	89,7	83,8	84,3	88,5
<i>%rec. max.*</i>	108,4	109,6	116,0	109,4

* ppb

**Calculado ao longo das 48 amostras.

Os valores de RMSEP validam a capacidade de predição do método. Ou seja, quanto menor RMSEP, maior a eficácia de predição do método. Para os analitos estudados, os valores de RMSEP encontram-se abaixo de 10% da concentração do ponto médio da curva de calibração, e disso conclui-se que o método apresenta eficácia na predição.

O erro relativo percentual de previsão (*percentual relative error of prediction* – REP%) é um indicador estatístico empregado para avaliar predições. Os valores de REP, para este trabalho, estão entre 5 a 6,2% que se aproximam dos valores de REP em comparação à metodologia aplicada com RDSE no trabalho de Cañas, Richter e Escandar (2014) para determinação de HPAs em água. Os valores de REP estavam entre 5-7%.

O método de referência 3540C da US-EPA para determinação de HPAs em solo, apresenta etapas laboriosas de preparação de amostra (12-24h) e alto

consumo de solvente, entre outros gastos de energia. Esse método apresentou recuperações (%) para o: ANT: 102-105, BaP 106-107; CRI: 103-105; FEN: 107- 109 em escala de mg.kg^{-1} (SANCHEZ-URIA e CASTILLO-BUSTO, 2018). Enquanto as recuperações (%) obtidas no trabalho desenvolvido são para o ANT: 85-107; BaP: 84-106; CRI: 88-116 e FEN: 89-107 em escala de $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Tendo em vista as 48 amostras para cada analito e considerando que os analitos estavam em misturas de diferentes concentrações. Além disso, a metodologia empregada neste trabalho desde as etapas de pré-tratamento da amostra são consideradas de baixo custo, rapidez, baixo volume de solvente e de extração eficaz. Assim, podemos considerar que o preparo da amostra e extração são confiáveis.

Outro método para detecção por HPLC com Detecção de Fluorescência foi desenvolvido e validado para a determinação simultânea de 16 HPAs em níveis de partes por bilhão. Entre os 16 HPAs estavam ANT, BaP, CRI e FEN. Consiste na preparação de amostra baseado no método QuEChERS procedimento adotado pela Associação de Comunidades Analíticas (AOAC) Método Oficial 2007.01 para extração e limpeza. As recuperações para os 4 HPAs variaram de 88-99,2% (MMUALEFE, 2010).

Em geral, as recuperações para os analitos estudados neste trabalho variam entre 83-116%, que estão próximas de recuperações descritas na literatura.

Para que possamos visualizar de forma geral as recuperações das 48 amostras para cada analito, apresentaremos figuras com estas variações nos solos. A figura 20 apresenta o gráfico de recuperação (previsto x referência) para as amostras de solo referente ao ANT.

Podemos observar a aleatoriedade e distribuição das amostras em solo que não correspondem a um padrão para determinada amostra. Isto contribui de forma significativa, pois observamos que a metodologia aplicada é eficiente para as amostras de solo que foram estudadas e aplicadas nesse trabalho. As figuras 21, 22 e 23 para BaP, CRI e FEN também apresentam as variações que são observadas para o ANT.

As recuperações para todas as amostras e referente ao quatro analitos, encontram-se no anexo I deste trabalho.

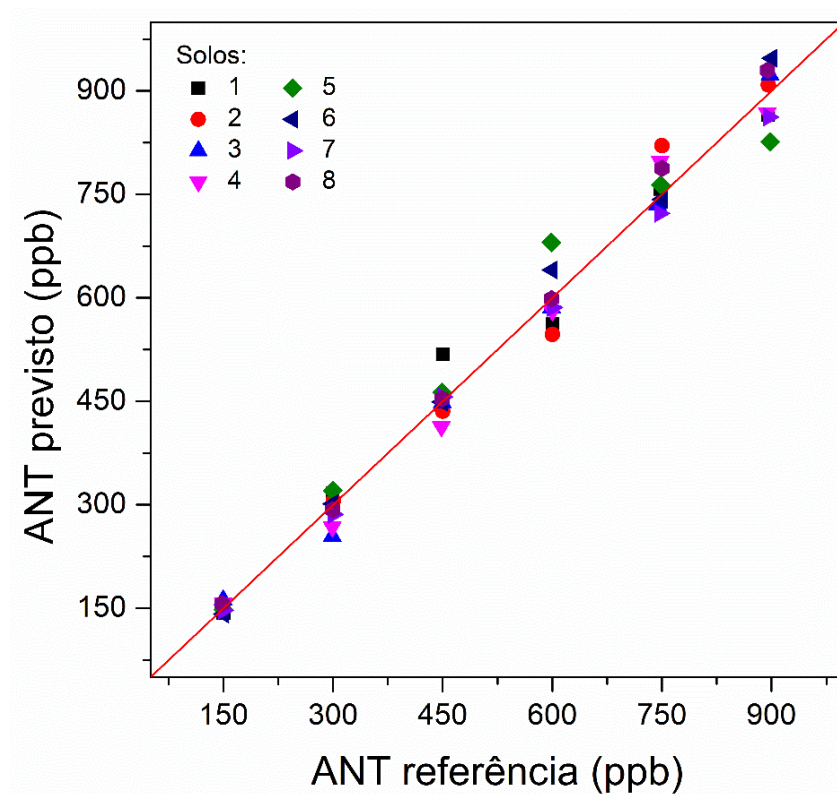


Figura 20. Gráfico de recuperação para ANT – referência x previsto.

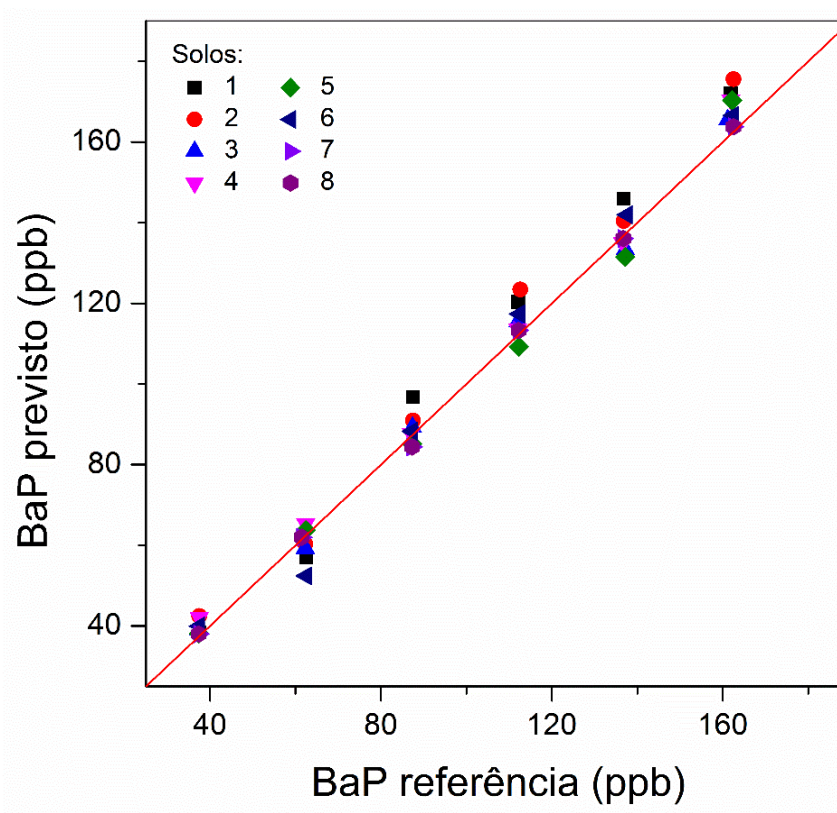


Figura 21. Gráfico de recuperação para BaP – referência x previsto.

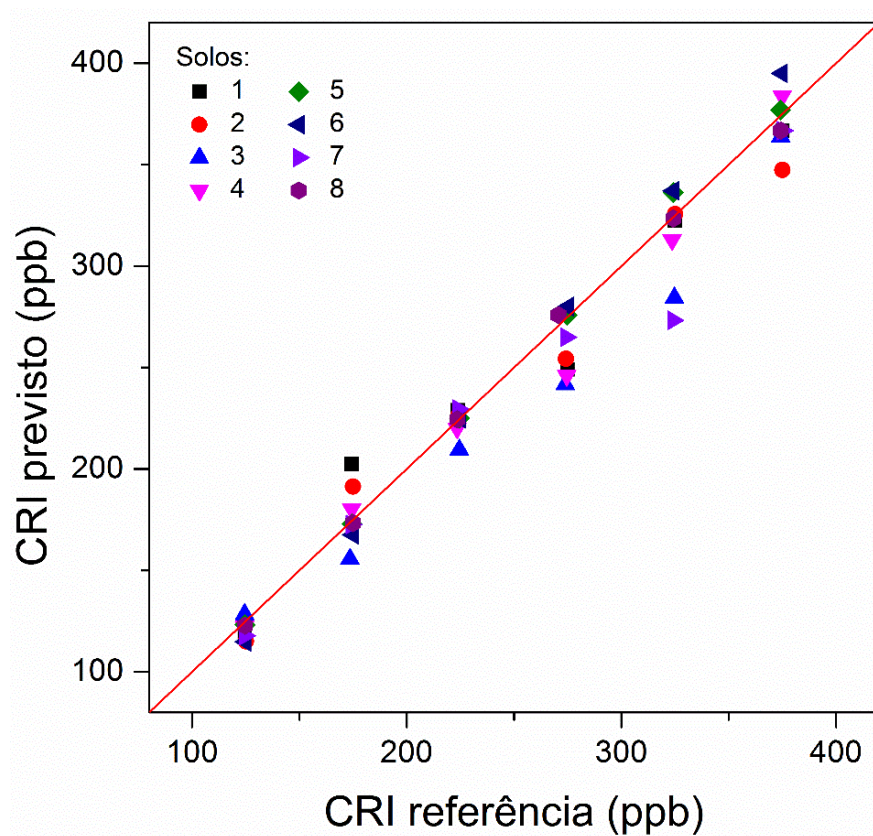


Figura 22. Gráfico de recuperação para CRI – referência x previsto.

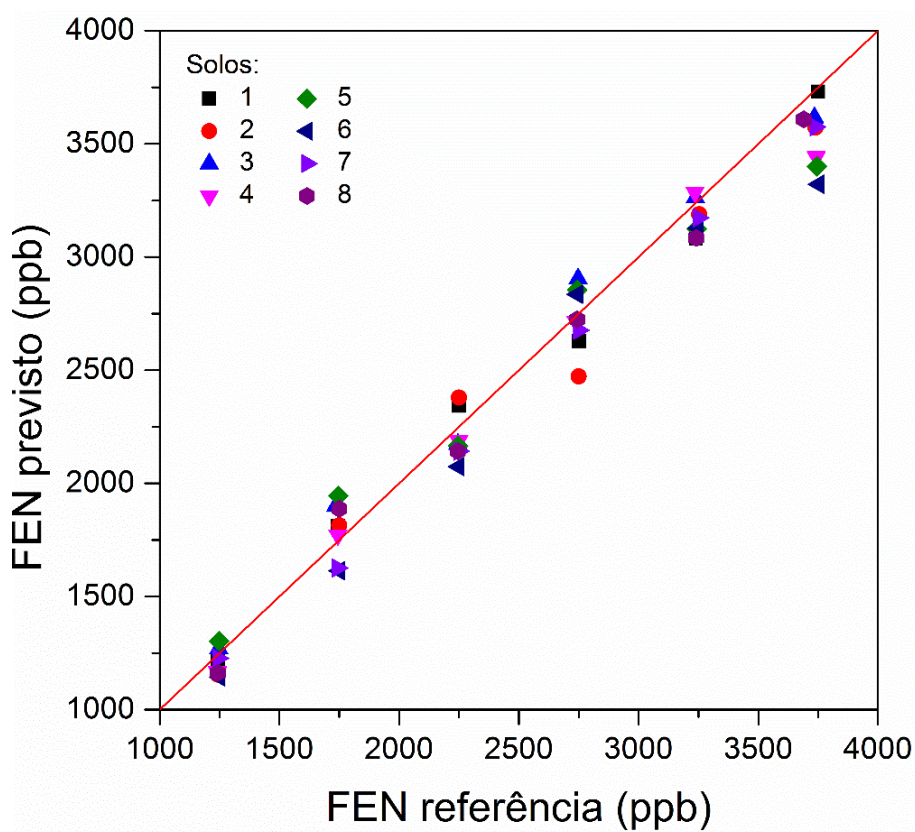


Figura 23. Gráfico de recuperação para FEN – referência x previsto.

Vale destacar, de acordo com as figuras, que não existe um padrão para cada solo, todas as amostras variam aleatoriamente, sem um modelo predisposto. Ou seja, a estratégia utilizada desde a inserção de solvente até a adição de NaCl mostram a eficiência em extração, o potencial da membrana utilizada na concentração e as medidas que foram reprodutíveis, além disso, o potencial do modelo ajustado no PARAFAC mostrou-se eficaz na separação dos componentes e quantificação dos mesmos nas amostras.

5. 5. Limite de Detecção e Limite de Quantificação (LOD e LOQ)

O LoB é definido como a maior concentração aparente de analito que é esperado encontrar quando as réplicas de uma amostra não contendo analitos são testadas (ARMBRUSTER e PRY, 2008).

Para o cálculo do LoB, utilizamos o seguinte conjunto de previsões do branco, detalhadas na Tabela 12.

Tabela 12. Previsões do branco para os 4 HPAs e valores de LoB.

Previsão do branco (ppb)			
Ant	Bap	Cri	Fen
0,00085	-0,0007	-0,0028	-0,0022
0,00089	3,1E-05	0,02162	0,00185
-0,0029	0,00542	-0,0028	0,00023
-0,0066	0,00104	-0,0025	-0,0032
0,00021	-0,0004	-0,0041	-0,0023
-0,0039	-0,0002	-0,0026	-0,0026

Com os valores calculados para o LoB, é possível obter os valores do LoD. Utiliza-se o desvio padrão das concentrações mais baixas de cada analito presente nas amostras, que são apresentados na tabela 13.

Tabela 13. Valores para menor concentração (ppb) de analito nas amostras.

Menores concentrações de analito nas amostras de solo (ppb)			
Ant	BaP	Cri	Fen
142,7	38,4	118,4	1223,9
150,2	42,4	115,1	1154,5
162	39,1	128,4	1269,8
157,9	42	122,3	1167,4
147,9	38,1	123,2	1302,4

Menores concentrações de analito nas amostras de solo (ppb)			
141,7	40	114,8	1144,1
147,1	34,8	117,8	1226,9
156,6	38	122,8	1162,6

Os valores obtidos para LoB, LoD e LoQ estão dispostos na tabela 14.

Tabela 14. Valores de LoB, LoD e LoQ encontrados para cada analito.

Valores encontrados para cada analito (ppb)				
Analito	Ant	BaP	Cri	Fen
LoB	0,0060	0,0068	0,0270	0,0037
LoD	17,44	5,75	11,03	138,42
LoQ	57,55	18,98	36,39	456,77
Con. Mín.	150	37,5	125	1250
Con. Máx.	900	162,5	375	3750

Os valores de LoD e LoQ são satisfatórios frente ao método desenvolvido, já que temos valores abaixo das menores concentrações dos analitos. Isso mostra o potencial da técnica quanto à sensibilidade, pois permite quantificar concentrações aproximadamente 3 vezes menores do que foram estudadas nesse trabalho.

Observa-se ainda, que a técnica permite a detecção e quantificação de amostras nos níveis da legislação da CONAMA, acerca dos valores de prevenção e/ou valores encontrados no meio ambiente. Os valores de concentração máxima, segundo a legislação, para os HPAs foram: ANT, 0,039 ppm; BaP, 3,5 ppm; CRI, 8,1 ppm e FEN, 95 ppm. Enquanto a sensibilidade da técnica permite detectar concentrações a níveis de ppb, conforme foi possível visualizar na tabela 14.

6. CONCLUSÃO

Diante de uma matriz complexa como o solo, que agrega matéria orgânica e composição química diferente, a extração deve ser eficiente para que seja possível a quantificação dos analitos presentes na amostra. Através de uma mistura Acetonitrila:H₂O e de acordo com os dados obtidos, podemos concluir que o volume de solvente extrator, utilizado para as condições aplicadas neste trabalho, são de 6 mL.

Segundo os dados adquiridos, a membrana de náilon apresenta eficiência em adsorver os analitos do estudo. Foi observado, que a membrana retém os HPAs e mostra alto potencial de adsorção, pois a metodologia utilizada permite a migração eficiente dos analitos em solução para a membrana.

A escolha de Acetonitrila:H₂O, combinada com o tempo de 30 minutos e adição de NaCl mostrou ser a condição ótima para a realização dos experimentos, a partir das respostas obtidas de um planejamento fatorial 2³. Sendo assim, foi possível a obtenção dos espectros com a medição em espectrofluorímetro a partir da medida diretamente na membrana.

Os modelos de calibração foram preparados partindo de ANT, BaP, CRI e FEN. As curvas foram construídas para cada analito e apresentam linearidade. As amostras de solos contaminados foram usadas como pontos de teste e com auxílio do algoritmo PARAFAC, obtivemos as recuperações dos perfis espectrais e previsões dos compostos nas amostras.

O modelo mostrou-se eficiente na separação dos perfis e para a quantificação dos quatro HPAs, tendo em vista todos as etapas desde a preparação da amostra, extração e concentração em membrana. Assim, amostras reais de solo podem ser estudadas a partir da metodologia desenvolvida e a aplicação pode ser ampliada a outras matrizes ambientais.

Quando em comparação a outros métodos na dispostos na literatura, como por exemplo o método de referência (METHOD 4530C, US-EPA), apresenta valores próximos ao que encontramos nesse trabalho.

Os valores de LoD e LoQ nos permitem avaliar os limites de aplicabilidade da técnica e torna-se útil para determinação e quantificação de outros HPAs em solo nas concentrações especificadas na Resolução nº 420 CONAMA de 28/12/2009.

REFERÊNCIAS

ABDEL-SHAFY H.I., MANSOUR, M.S.M. **A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: source, environmental impact, effect on human health and remediation** Egypt. J. Pet., 25 (2016), pp. 107-123.

ANDERSEN C.M., BRO R. (2003). **Practical aspects of PARAFAC modeling of fluorescence excitation-emission data.** Journal of Chemometrics. 17. 200 - 215. 10.1002/cem.790. MATLAB R2011b, The MathWorks Inc Natick, MA, EUA.

ARMBRUSTER, D. e PRY, T. (2008). **Limit of Blank, Limit of Detection and Limit of Quantitation.** The Clinical biochemist. Reviews / Australian Association of Clinical Biochemists. 29 Suppl 1. S49-52.

ATKINS, P. **Físico-Química Fundamentos**, 3ª ed., LTC: Rio de Janeiro, 2001.

BAKLANOV A., O. HÄNNINEN, L. H. SLØRDAL, J. KUKKONEN, N. BJERGENE, B. FAY, S. FINARDI, S. C. HOE, M. JANTUNEN, A. KARPPINEN, A. RASMUSSEN, A. SKOULLOUDIS, R. S. SOKHI, J. H. SØRENSEN, E V. ØDEGAARD. **Integrated Systems for Forecasting Urban Meteorology, Air Pollution and Population Exposure.** Atmos. Chem. Phys. 7: 855–874. Atmospheric Chemistry and Physics. (2007) 855-874.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **25 anos de quimiometria no Brasil.** Química. Nova. v.29, n.6, p. 1401-1406, 2006.

BERIRO, D. J., CAVE, M. R., WRAGG, J., THOMAS, R., WILLS, G., EVANS, F. (2016). **A review of the current state of the art of physiologically-based tests for measuring human dermal in vitro bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in soil.** Journal of Hazardous Materials, 305, 240–259.

BORTOLATO S.A., ARANCIBIA J.A., ESCANDAR G.M, **Chemometrics-assisted excitation-emission fluorescence spectroscopy on nylon membranes. Simultaneous determination of benzo[a]pyrene and dibenz[a,h]anthracene at parts-pertrillion levels in the presence of the remaining EPA PAH priority pollutants as interferences,** Anal. Chem. 80 (2008) 8276–8286.

BORTOLATO S.A., ARANCIBIA J.A., ESCANDAR G.M., **A novel application of nylon membranes to the luminescent determination of benzo[a]pyrene at ultra trace levels in water samples**, Anal. Chim. Acta 613 (2008) 218–227.

BROOKSH K. S., KOWALSKY B. R., **Theory of analytical chemistry**, v. 66, p.782A791A, 1994

CAI, Z. Q.; ZHU, Y. X.; ZHANG, Y. **Simultaneous determination of dissolved anthracene and pyrene in aqueous solution by synchronous fluorimetry**. Spectrochimica Acta, v. 69, p. 130–133, 2008.

CAÑAS A., RICHTER P., ESCANDAR G. M. **Chemometrics-assisted excitation-emission fluorescence spectroscopy on nylon-attached rotating disks. Simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in the presence of interferences**. Anal Chim Acta. (2014) 10;852:105-11

CARUSO M. S. F.; ALABURDA J. **Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - benzo(a)pireno: uma revisão**. Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.), São Paulo, v.67, n.1, abr. 2008.

COBLE, P. G., SCHULTZ, C. A., MOPPER, K. (1993). **Fluorescence contouring analysis of DOC intercalibration experiment samples: a comparison of techniques**, Marine Chemistry, Volume 41, Issues 1–3, Pages 173-178, ISSN 0304-4203.

CRONE T. J., TOLSTOY M. Oct. **Magnitude of the 2010 Gulf of Mexico oil leak**. Science 330(6004):634, 2010.

DABESTANI, R., IVANOV, I. N. **A Compilation of Physical, Spectroscopic and Photophysical Properties of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons**. Photochemistry and Photobiology, 1999, 70(1), 10-34.

EPRI (Instituto de Pesquisas de Energia Elétrica). **Revisão da literatura sobre hidrocarbonetos aromáticos policíclicos de fundo**. Relatório final; Março de 2000.

FERNANDO, S., SHAW, L., SHAW, D., GALLEA, M., VANDENENDEN, L.,

HOUSE, R., MCCARRY, B. E. (2016). **Evaluation of Firefighter Exposure to Wood Smoke during Training Exercises at Burn Houses**. Environmental Science and Technology, 50, 1536–1543

GROS, M., PETROVIC, M. E BARCELO, D. (2008). **Analysis of Emerging Contaminants of Municipal and Industrial Origin**. 10.1007/698_5_102.
J. Masih , R. Singhvi , K. Kumar , VK Jain , A. Taneja .Aerosol Air Qual. Res, 12 (2012) , pp. 515 – 525.

HELALEH, M.I.H.; AL-OMAIR, A.; NISAN, A.; GEVAO, B.; **Validation of various extraction techniques for the quantitative analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludges using gas chromatography-ion trap mass spectrometry**. Journal Chromatography 2005, 1083, 153.

HENDRICKS S. B. **How light interacts with living matter**. Sci. Am. 1968; 219: 174 – 86.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6ª edição, Bookman, Porto Alegre, 2009.

HOSEINI, M., YUNESIAN, M., NABIZADEH, R., YAGHMAEIAN, K., AHMADKHANIHA, R., RASTKARI, N., NADDAFI, K. (2016). **Characterization and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in urban atmospheric Particulate of Tehran, Iran**. Environmental Science and Pollution Research, 23, 1820–1832.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER – IARC. **Agents classified by the IARC monographs**. Lyon: IARC, 2013. v. 1.

KIM, Y. H., TISHBEE, A., GIL-AV, E. (1981). **Optical resolution of mutagenic and carcinogenic derivatives of polyaromatic hydrocarbons by high pressure liquid chromatography on a chiral support**. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications, 3, 75–76.

KULMYRZAEV A. A., LEVIEUX D., DUFOUR E. (2005). **Front-Face Fluorescence Spectroscopy Allows the Characterization of Mild Heat Treatments Applied to Milk. Relations with the Denaturation of Milk**

Proteins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(3), 502–507.

LAKOWICZ, J. R. **Principles of fluorescence spectroscopy**, 3rd edn. Springer, New York, 2006.

LATIMER, J. & ZHENG, J. (2003). **The Sources, Transport, and Fate of PAHs in the Marine Environment**. 10.1002/0470867132.ch2. Y. Zhang, S. Tao. *Atmos Environ* , 43 (2009) , pp. 812 – 819.

LAWAL, A. T. (2017). **Polycyclic aromatic hydrocarbons. A review**. *Cogent Environmental Science*, 3(1).

LI W., WANG C., WANG H., CHEN J., SHEN H., SHEN G., HUANG Y., WANG R., WANG B., ZHANG Y., CHEN H., CHEN Y., SU S., LIN N., TANG J., LI Q., WANG X., LIU J., TAO S. **Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons in rural and urban areas of northern China**. *Environmental Pollution*, Volume 192, 2014, Pages 83-90, ISSN 0269-7491.

Li, X. Y., Li, N., Luo, H. D., Lin, L. R., Zou, Z. X., Jia, Y. Z., & Li, Y. Q. (2011). **A novel synchronous fluorescence spectroscopic approach for the rapid determination of three polycyclic aromatic hydrocarbons in tea with simple microwaveassisted pretreatment of sample**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 5899–5905.

LIMA, E. R. V.; VIANNA, P. C. G.; SEGUNDO-NETO, F. V. A.; PEDROSA, E. C. T. Relatório: Mapeamento do uso e ocupação do solo. PPGQ/UFPB. Termo de cooperação com o MPF/PRPB/PRDC no âmbito do INQUÉRITO CIVIL Nº.1.24.000.000257/200759.

LOUVADO, A., GOMES, N. C. M., SIMÕES, M. M. Q., ALMEIDA, A., CLEARY, D. F. R., CUNHA, A. (2015). **Polycyclic aromatic hydrocarbons in deep sea sediments: Microbe-pollutant interactions in a remote environment**. *Science of the Total Environment*, 526, 312–328.

LUNDSTEDT, S.; HAGLUND, P.; OBERG, L. **Simultaneous extraction and fractionation of polycyclic aromatic hydrocarbons and their oxygenated derivatives in soil using selective pressurized liquid extraction**. *Analitical Chemistry*, 78, 9, 2993-3000, 2006.

MANOLI, E., KOURAS, A., KARAGKIOZIDOU, O., ARGYROPOULOS, G., VOUTSA, D., SAMARA, C. (2016). **Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) at traffic and urban background sites of northern Greece: source apportionment of ambient PAH levels and PAH-induced lung cancer risk.** Environmental Science and Pollution Research, 23, 3556–3568.

MASIH A. e TANEJA A. (2006). **Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) concentrations and related carcinogenic potencies in soil at a semi-arid region of India.** Chemosphere. 65. 449-56. 10.1016.

MCBRIDE, M B. **Environmental Chemistry of Soils.** New York: Oxford University Press, 1994.

MMUALEFE, L. (2010). Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil with Agilent SampliQ QuEChERS AOAC Kit and HPLC-FLD.

MOLLAHOSSEINI, A., ROKUE, M., MOJTAHEDI, M. M., TOGHROLI, M., KAMANKESH, M., MOTAHARIAN, A. (2016). **Mechanical stir bar sorptive extraction followed by gas chromatography as a new method for determining polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples.** Microchemical Journal, 126, 431–437.

NA ZHOU *et al.* **Highly sensitive and selective spectrofluorimetric approach for the rapid determination of trace benzo[α]pyrene in drinking water and in solutions leached from disposable paper cups.** Luminescence, v. 26, p. 35–43, 2011

NETTO, A. D. P. et al; **Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica.** Química Nova, v. 23, n.6, p. 765-773, 2000.

OLIVEIRA, F. C. C. **Modelos de calibração multivariada associados a espectroscopia vibracional para análise de misturas diesel – óleos vegetais.** 2006. 120 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de química, UnB, Brasília, 2006.

OLIVIERI, A. C., WU H., YU R., **MVC2: A MATLAB graphical interface toolbox**

for second-order multivariate calibration. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, Volume 96, Issue 2, 2009, pág. 246-251, ISSN 0169-7439.

OLIVIERI, A.C.; ESCANDAR, G.M. (2014). **Practical Three-Way Calibration.** Practical Three-Way Calibration. 1-314.

PATTERSON M. S., WILSON B. C. **The physics of photodynamics therapy.** Phys Med Biol 1986; 31(4): 327 – 60.

PENA, E. A., RIDLEY, L. M., MURPHY, W. R., SOWA, J. R., BENTIVEGNA, C. S. (2015). **Detection of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in raw menhaden fish oil using fluorescence spectroscopy: Method development.** Environmental Toxicology and Chemistry, 34, 1946–1958.

QUIROZ R, GRIMALT JO, FERNANDEZ P. (2010) **Toxicity assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from European high mountain lakes.** Ecotoxicol Environ Saf 73:559-564.

R. BRO, **Chemom. Intell.** (1998) Lab. Syst., 38, 149

RICHTER P., LEIVA C., CHOQUE C. GIORDANO A., SEPÚLVEDA B. (2009). **Rotating-Disk Sorptive Extraction of Nonylphenol from Water Samples.** Journal of chromatography. A. 1216. 8598-602. 10.1016/j.chroma.2009.10.044.

SANCHEZ, E., KOWALSKI, B.R. (1988), **Tensorial calibration: II. Second-order calibration.** J. Chemometrics, 2: 265-280.

SANCHEZ-URIA, J. E., CASTILLO-BUSTO, E. (2018). **Analytical performance of microwave-assisted solvent extraction (mase) for the routine determination of pahs in polluted soils by gas chromatographic-mass spectrometry (gc-ms).** Rev. Int. Contam. Ambient [online]. vol.34, n.2, pp.355-366. ISSN 0188-4999.

SANTOS, D. I. V.; GIL, E.S. **Fluorimetria na análise farmacêutica: uma revisão.** Revista Eletrônica de Farmácia, v. 7, n. 1, p. 24-38. 2010.

SÃO PAULO (ESTADO). Companhia Ambiental (CETESB). Disponível em:

SENA M. M., TREVISAN M. G., POPPI R.J. (2005) **PARAFAC: uma Ferramenta Químiométrica para Tratamento de Dados Multidimensionais, Aplicações na Determinação Direta de Fármacos em Plasma Humano por Espectrofluorimetria**, Química Nova, v.28, p. 910-920.

SENA, M. M., POPPI, R. J., FRIGHETTO, R., VALARINI, P. J. (2000). **Avaliação do uso de métodos quimiométricos em análise de solos**. Química Nova. 23.

SHAMSIPUR, M., GHOLIVAND, M. B., SHAMIZADEH, M., HASHEMI, P. (2015). **Preparation and Evaluation of a Novel Solid-Phase Microextraction Fiber Based on Functionalized Nanoporous Silica Coating for Extraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons From Water Samples Followed by GC–MS Detection**. Chromatographia, 78, 795–803.

SHANG, D., KIM, M., & HABERL, M. (2014). **Rapid and sensitive method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils using pseudo multiple reaction monitoring gas chromatography/tandem mass spectrometry**. Journal of chromatography. A, 1334, 118–125.

SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH, Fundamentos de **Química Analítica**, Tradução da 9ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo-SP, 2014.

SØRENSEN, L., SILVA, M. S., BOOTH, A. M., MEIER, S. (2016). **Optimization and comparison of miniaturized extraction techniques for PAHs from crude oil exposed Atlantic cod and haddock eggs**. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 408, 1023–1032.

Soxhlet Extraction (1996). Method 3540 C, US-EPA - Environmental Protection Agency. USA.

SU, MING-CHIEN.; CHRISTENSEN, E.R., KARLS, J.F. (1998). **Determination of PAH sources in dated sediments from Green Bay, Wisconsin, by a chemical mass balance model**. Env. Pollution. 98, 411-419.

TANG, L.; TANG, X., ZHU, Y., ZHENG, M., MIAO, Q. (2005) **Contamination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in urban soils in Beijing, China**. Environment International, 31, 822 - 828.

TAULER, R., MARQUÉS, I., CASASSAS, E. (1998), **Multivariate curve resolution applied to three-way trilinear data: Study of a spectrofluorimetric acid–base titration of salicylic acid at three excitation wavelengths.** J. Chemometrics, 12: 55-75.

THOMPSON, M.; STEPHEN, L. R.; WOOD, R.; Pure Appl. Chem. 2002, 74, 835.

VALDERRAMA P., BRAGA J. W. B., POPPI R. J.,(2009) **Estudo da Arte de Figuras de Mérito em Calibração Multivariada**, Química Nova, v. 32, p. 1278-1287.

VICHI, S., PIZZALE, L., CONTE, L. S., BUXADERAS, S., LÓPEZ TAMAMES, E. (2005). **Simultaneous determination of volatile and semi-volatile aromatic hydrocarbons in virgin olive oil by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography/mass spectrometry.** Journal of Chromatography A, 1090, 146–154

WANG, Y., TIAN, Z., ZHU, H., CHENG, Z., KANG, M., LUO, C., ZHANG, G. (2012). **Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils and vegetation near an e-waste recycling site in South China: Concentration, distribution, source, and risk assessment.** Science of The Total Environment, 439, 187–193.

WENZL T., SIMON R., KLEINER J., ANKLAM E. **Analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in food and the environment needed for new food legislation in the European Union**, Trends Anal. Chem. 25 (2006) 716– 725.

WILCKE W. (2000). **Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Soil - a Review.** Journal of Plant Nutrition and Soil Science. 163. 229 - 248.

XU, T., TANG, H., CHEN, D., DONG, H., & LI, L. (2015). **Simultaneous determination of 24 polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oil by tandem solid-phase extraction and gas chromatography coupled/tandem mass spectrometry.** Journal of AOAC International, 98, 529–537.

ZANDER, M. (1983). **Physical and chemical properties of polycyclic**

aromatic hydrocarbons. New York, NY: Marcel Dekker Inc.

ZHENG, H. B., DING, J., ZHENG, S. J., ZHU, G. T., YUAN, B. F., FENG, Y. Q. (2016). **Facile synthesis of magnetic carbon nitride nanosheets and its application in magnetic solid phase extraction for polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oil samples.** *Talanta*, 148, 46–53.

ZUIN, V. G., MONTERO, L., BAUER, C., POPP, P. (2005). **Stir bar sorptive extraction and high-performance liquid chromatography-fluorescence detection for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Mate teas.** *Journal of Chromatography A*, 1091, 2–10.

ANEXOS

ANEXO I

Tabela de recuperação para Antraceno e Benzo[a]pireno em µg/kg.

Amostra	Antraceno			Benzo[a]pireno		
	Previsto*	Rec.*	Rec. (%)	Previsto*	Rec.*	Rec.(%)
A11	150,0	142,7	95,1	62,5	57,0	91,1
A12	299,0	316,6	105,9	112,1	120,3	107,3
A13	450,0	517,9	115,1	87,5	96,7	110,5
A14	600,0	561,7	93,6	37,5	38,4	102,5
A15	747,4	757,8	101,4	161,9	172,1	106,3
A16	895,5	865,2	96,6	136,8	145,9	106,7
A21	149,6	150,2	100,4	62,3	60,3	96,8
A22	300,3	305,9	101,9	112,6	123,4	109,6
A23	450,0	435,5	96,8	87,5	90,9	103,9
A24	600,0	546,9	91,1	37,5	42,4	113,2
A25	750,0	820,6	109,4	162,5	175,6	108,0
A26	895,6	908,4	101,4	136,8	140,4	102,6
A31	149,4	162,0	108,4	62,3	59,2	95,1
A32	298,8	254,2	85,1	112,1	115,4	103,0
A33	449,6	448,0	99,6	87,4	89,3	102,1
A34	598,8	585,4	97,8	37,4	39,1	104,4
A35	743,8	734,6	98,8	161,2	165,5	102,7
A36	897,9	923,3	102,8	137,2	133,4	97,2
A41	149,7	157,9	105,5	62,4	65,3	104,6
A42	298,7	267,8	89,7	112,0	113,7	101,5
A43	448,0	413,0	92,2	87,1	87,7	100,6
A44	599,9	580,6	96,8	37,5	42,0	112,1
A45	747,4	797,8	106,7	161,9	170,4	105,3
A46	894,1	868,1	97,1	136,6	135,0	98,8
A51	149,8	147,9	98,7	62,4	63,7	102,1
A52	299,4	320,4	107,0	112,3	109,2	97,3
A53	448,9	463,0	103,1	87,3	85,1	97,5
A54	598,6	680,1	113,6	37,4	38,1	102,0
A55	748,4	763,3	102,0	162,2	170,3	105,0
A56	898,0	826,1	92,0	137,2	131,5	95,8
A61	150,1	141,7	94,4	62,5	52,4	83,8
A62	299,8	301,4	100,5	112,4	117,4	104,4
A63	449,0	449,0	100,0	87,3	88,3	101,1
A64	599,7	640,4	106,8	37,5	40,0	106,5
A65	750,1	742,3	99,0	162,5	166,6	102,5
A66	900,5	947,3	105,2	137,6	141,9	103,2
A71	149,5	147,1	98,4	62,3	62,0	99,6
A72	300,0	286,0	95,3	112,5	117,4	104,3

Amostra	Antraceno			Benzo[a]pireno		
	Previsto*	Rec.*	Rec. (%)	Previsto*	Rec.*	Rec. (%)
A73	450,0	456,4	101,4	87,5	86,9	99,4
A74	600,0	585,9	97,6	37,5	34,8	92,8
A75	746,8	722,4	96,7	161,8	161,0	99,5
A76	896,1	862,1	96,2	136,9	135,9	99,3
A81	147,6	156,6	106,1	61,5	62,0	100,8
A82	299,2	292,8	97,9	112,2	113,3	101,0
A83	448,9	453,8	101,1	87,3	84,4	96,7
A84	598,8	598,5	100,0	37,4	38,0	101,7
A85	749,9	787,6	105,0	162,5	163,8	100,8
A86	894,5	929,9	104,0	136,7	136,1	99,5

*(µg/kg)

Tabelas de recuperação para Criseno e Fenantreno em (µg/kg).

Amostra	Criseno			Fenantreno		
	Previsto*	Rec.*	Rec. (%)	Previsto*	Rec.*	Rec. (%)
A11	274,9	249,1	90,6	3749,3	3729,9	99,5
A12	124,6	118,4	95,0	3239,3	3080,2	95,1
A13	325,0	322,3	99,2	2750,0	2629,1	95,6
A14	375,0	366,6	97,8	2250,0	2342,5	104,1
A15	174,4	202,3	116,0	1744,0	1813,3	104,0
A16	223,9	228,9	102,2	1243,7	1223,9	98,4
A21	274,2	254,3	92,8	3739,1	3571,5	95,5
A22	125,1	115,1	92,0	3253,4	3188,7	98,0
A23	325,0	325,6	100,2	2750,0	2472,5	89,9
A24	375,0	347,4	92,6	2250,0	2379,2	105,7
A25	175,0	191,3	109,3	1750,0	1813,9	103,7
A26	223,9	225,8	100,9	1243,9	1154,5	92,8
A31	273,9	241,7	88,3	3735,0	3615,7	96,8
A32	124,5	128,4	103,1	3237,3	3262,5	100,8
A33	324,7	284,3	87,6	2747,5	2903,9	105,7
A34	374,2	363,7	97,2	2245,4	2173,0	96,8
A35	173,6	155,6	89,6	1735,5	1899,3	109,4
A36	224,5	209,4	93,3	1247,0	1269,8	101,8
A41	274,5	246,0	89,6	3742,5	3442,6	92,0
A42	124,4	122,3	98,3	3235,4	3285,7	101,6
A43	323,6	312,9	96,7	2737,8	2715,5	99,2
A44	374,9	383,8	102,4	2249,6	2187,7	97,3
A45	174,4	180,2	103,3	1744,0	1771,7	101,6
A46	223,5	220,1	98,5	1241,9	1167,4	94,0
A51	274,6	275,8	100,4	3744,6	3400,7	90,8
A52	124,7	123,2	98,8	3243,0	3123,7	96,3
A53	324,2	336,3	103,7	2743,2	2854,5	104,1

Amostra	Criseno			Fenantreno		
	Previsto*	Rec.*	Rec. (%)	Previsto*	Rec.*	Rec. (%)
A54	374,1	376,9	100,8	2246,6	2164,9	96,4
A55	174,6	172,9	99,0	1746,3	1944,5	111,3
A56	224,5	225,0	100,2	1247,2	1302,4	104,4
A61	275,2	280,0	101,8	3752,1	3321,8	88,5
A62	124,9	114,8	91,9	3247,9	3127,7	96,3
A63	324,3	337,1	103,9	2744,1	2835,1	103,3
A64	374,8	395,0	105,4	2248,9	2073,4	92,2
A65	175,0	167,6	95,7	1750,3	1613,6	92,2
A66	225,1	224,7	99,8	1250,6	1144,1	91,5
A71	274,2	264,9	96,6	3738,5	3574,5	95,6
A72	124,6	117,8	94,5	3250,0	3173,1	97,6
A73	324,0	273,2	84,3	2750,2	2676,5	97,3
A74	375,0	366,7	97,8	2250,0	2142,0	95,2
A75	174,2	172,6	99,1	1742,5	1625,7	93,3
A76	224,0	229,5	102,5	1244,5	1226,9	98,6
A81	270,6	275,9	102,0	3690,3	3608,5	97,8
A82	124,6	122,8	98,5	3240,8	3084,6	95,2
A83	324,2	323,4	99,7	2743,2	2724,1	99,3
A84	374,2	366,8	98,0	2245,5	2141,9	95,4
A85	175,0	173,4	99,1	1749,8	1887,0	107,8
A86	223,6	224,4	100,4	1242,4	1162,6	93,6

*(µg/kg)

