



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

Tese de Doutorado

DETERMINAÇÃO DE HPAs EM AMOSTRAS AMBIENTAIS POR PRÉ-CONCENTRAÇÃO
EM MEMBRANA DE NÁILON, ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA E CALIBRAÇÃO
DE SEGUNDA ORDEM



Alcides da Silva Siqueira

João Pessoa – PB – Brasil

Fevereiro/2024



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

Tese de Doutorado

DETERMINAÇÃO DE HPAs EM AMOSTRAS AMBIENTAIS POR PRÉ-CONCENTRAÇÃO
EM MEMBRANA DE NÁILON, ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA E CALIBRAÇÃO
DE SEGUNDA ORDEM

Alcides da Silva Siqueira*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba como requisito para obtenção do título de Doutor em Química, área de concentração Química Analítica.

Orientador 1: Prof. Dr. Wallace Duarte Fragoso

Orientador 2: Prof. Dr. Luciano Farias de Almeida

* Bolsista da [Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior](#)

João Pessoa – PB – Brasil

Fevereiro/2024

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S618m Siqueira, Alcides da Silva.

METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DE HPAS LEVES EM ÁGUAS E SOLOS POR EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA COM MEMBRANA DE NÁILON, ESPECTROFLUORIMETRIA E CALIBRAÇÃO DE SEGUNDA ORDEM / Alcides da Silva Siqueira. - João Pessoa, 2019.

65 f.

Orientação: Wallace Duarte Fragoso, Luciano Farias de Almeida.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. 2. PARAFAC, espectrofluorimetria. 3. extração em fase sólida com membrana. I. Fragoso, Wallace Duarte. II. Almeida, Luciano Farias de. III. Título.

UFPB/CCEN

DETERMINAÇÃO DE HPAs EM AMOSTRAS AMBIENTAIS POR PRÉ-CONCENTRAÇÃO EM MEMBRANA DE NÁILON, ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA E CALIBRAÇÃO DE SEGUNDA ORDEM

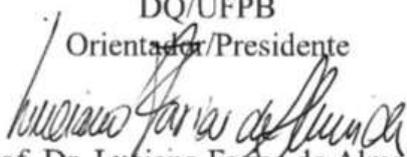
Tese de Doutorado apresentada pelo aluno Alcides da Silva Siqueira e aprovada pela banca examinadora em 23 de fevereiro de 2024.



Prof. Dr. Wallace Duarte Fragoso

DQ/UFPB

Orientador/Presidente



Prof. Dr. Luciano Farias de Almeida

DQ/UFPB

Co-Orientador

Prof. Dr. Juan Alberto Arancibia

UNR/Argentina-AR

Examinador

Documento assinado digitalmente

gov.br

ADRIANO DE ARAUJO GOMES

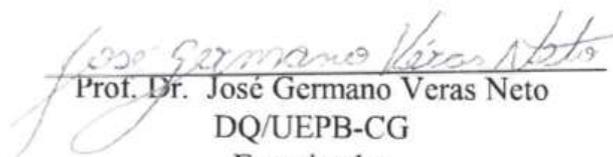
Data: 09/05/2024 10:13:53-0300

Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. Adriano de Araújo Gomes

UFRS/Porto Alegre-RS

Examinador



Prof. Dr. José Germano Veras Neto

DQ/UEPB-CG

Examinador



Prof. Dr. Wagner de Mendonça Faustino

DQ/UFPB

Examinador

Aos meus pais José Siqueira e Maria Siqueira.

Dedico.

“O mundo, assim como a gente, nunca tá pronto.

Vive mudando.

Muda pra viver.

*Ser contra todas as transformações faz tão
pouco sentido quanto ser a favor de todas elas”.*

Humberto Gessinger

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me colocado em caminhos que me possibilitaram crescimento pessoal para servir cada vez mais e melhor.

A minha família, principalmente meus pais José e Maria, pelo amor, união, companheirismo, compreensão e apoio incondicional.

A meus amigos do GEAQA, especialmente Anne, Kelvin, Ingrid e Larissa, junto a eles, foi mais fácil e agradável desempenhar as atividades acadêmicas.

Aos meus orientadores Prof. Dr. Wallace Duarte Fragoso (orientador 1) e Prof. Dr. Luciano Farias de Almeida (orientador 2) por toda a atenção e dedicação, pelo imenso suporte, por seus ensinamentos, motivações e orientações durante este processo.

A Universidade Federal da Paraíba (UFPB) e ao Programa de Pós-Graduação em Química que possibilitaram, através de toda sua estrutura (espaço físico, corpo docente, direção e administração) e organização, uma formação com seriedade e qualidade.

RESUMO

Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos são compostos formados por anéis aromáticos condensados. Das mais de cem substâncias que compõem esse grupo, dezesseis são monitoradas devido à maior exposição humana e por estarem associados a problemas respiratórios, gastrointestinais, geniturinários, dermatológicos, cardiovasculares e inclusive cânceres. Eles são gerados de forma contínua por atividades humanas como refino de petróleo, queimadas, queima de combustíveis, entre outras. Como possuem afinidade por matéria orgânica, os solos ou sedimentos são os principais destinos dos HPAs provenientes da atmosfera. A determinação desses compostos demanda métodos cromatográficos demorados, com alto consumo de solventes e apresentam perda de HPAs leves nas etapas de extração e concentração do extrato orgânico. A extração em fase sólida em membrana de náilon seguida de espectrofluorimetria com detecção diretamente na membrana e calibração de segunda ordem é uma alternativa sensível, rápida e de baixo custo que permite quantificar HPAs em matrizes simples, principalmente águas. Uma limitação para a detecção na membrana em amostras mais complexas é que partículas provenientes da solução ficam retidas na superfície da membrana, comprometendo a detecção do sinal. Esse trabalho apresenta uma alternativa para a realização das detecções no verso da membrana (face oposta à filtração), evitando a interferência do material particulado. Para isso, estudou-se a polaridade do solvente e a eluição dos analitos para o verso da membrana. A detecção no verso da membrana foi aplicada na determinação simultânea de antraceno, fenantreno e fluoreno em água potável nas faixas de concentração de 0,4-2 $\mu\text{g L}^{-1}$, 0,8-7,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 6-30 $\mu\text{g L}^{-1}$, obtendo-se recuperações médias 96%, 98% e 104%, respectivamente. Também foi aplicada em extratos de sedimentos de rio nas faixas de concentração de 30-90 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (antraceno), 120-360 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (fenantreno) e 300-900 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (fluoreno), obtendo-se recuperações médias 93%, 91% e 93%, respectivamente.

Palavras Chave: Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, membrana de náilon, extração em fase sólida, espectrofluorimetria, calibração de ordem superior, PARAFAC.

ABSTRACT

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons are compounds formed by condensed aromatic rings. Of the more than one hundred substances that make up this group, sixteen are monitored due to greater human exposure and because they are associated with respiratory, gastrointestinal, genitourinary, dermatological, cardiovascular problems and even cancer. They are generated continuously by human activities such as oil refining, fires, fuel burning, among others. As they have an affinity for organic matter, soils or sediments are the main destinations for PAHs coming from the atmosphere. The determination of these compounds requires time-consuming chromatographic methods, with a high consumption of solvents and presents loss of light PAHs in the extraction and concentration stages of the organic extract. Solid phase extraction on a nylon membrane followed by spectrofluorimetry with detection directly on the membrane and second-order calibration is a sensitive, fast and low-cost alternative that allows the quantification of PAHs in simple matrices, mainly water. A limitation for membrane detection in more complex samples is that particles from the solution are retained on the membrane surface, compromising signal detection. This work presents an alternative for carrying out detections on the back of the membrane (opposite side to filtration), avoiding interference from particulate matter. For this, the polarity of the solvent and the elution of the analytes to the back of the membrane were studied. Membrane-back detection has been applied to the simultaneous determination of anthracene, phenanthrene and fluorene in drinking water in the concentration ranges of 0.4-2 $\mu\text{g L}^{-1}$, 0.8-7.2 $\mu\text{g L}^{-1}$ and 6-30 $\mu\text{g L}^{-1}$, obtaining average recoveries of 96%, 98% and 104%, respectively. It was also applied to river sediment extracts in the concentration ranges of 30-90 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (anthracene), 120-360 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (phenanthrene) and 300-900 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (fluorene), obtaining average recoveries 93%, 91% and 93%, respectively.

Keywords: Polycyclic aromatic hydrocarbons, nylon membrane, solid phase extraction, fluorescence spectroscopy, second order calibration, PARAFAC.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1.	fontes de HPAs, e rotas de dispersão dos mesmos entre os compartimentos ambientais. Fonte:[7].....	16
Figura 1.2.	representação gráfica do modelo PARAFAC. (Ref [34], Figura 3).....	24
Figura 1.3.	cadeias de diferentes tipos de náilon (Fonte: figura 4 da ref. [37]).....	25
Figura 1.4.	estrutura do náilon 6-6 (Fonte: https://tecnologiadelospolimeros.wordpress.com/2017/06/27/reacciones-de-polimerizacion-por-condensacion/).....	26
Figura 1.5.	sinais de fluorescência da membrana polimérica e da membrana após a adsorção do BaP (Fonte: fig. 2 da ref. [41]).....	27
Figura 1.6.	avaliação do potencial do náilon-6,6 como fase extratora para BaP (Fonte: fig. 5 da ref. [41]).....	28
Figura 1.7.	espectros de fluorescência de antraceno em matriz de C18 em função da concentração após duas horas de exposição da membrana a soluções de antraceno com concentrações variando entre 1 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$. Fonte: Referência [43].....	29
Figura 1.8.	espectros de fluorescência de antraceno em matriz de C18 em função do tempo de exposição da membrana a uma solução 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de antraceno. Fonte: Referência [43].....	29
Figura 1.9.	representação esquemática do procedimento de filtração sob pressão reduzida em filme de náilon e detecção direta na membrana. (Fonte: fig. 1 da ref. [41]).....	30
Figura 1.10.	sinais de fosforescência de fenantreno medidos diretamente na membrana após EFS de 1 L de solução 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ (A) e, após aplicação do método convencional, depositando 5 μL dessa solução sobre a membrana (B). (Fonte: fig 4 da ref. [44]).....	30
Figura 1.11.	diagrama esquemático do sistema de extração por filtração em seringa (Fonte: referência [45]).....	32
Figura 1.12.	espectros de excitação x emissão da mistura de seis HPAs. O espectro do BaP é livre de interferência dos demais HPAs na excitação de 400 nm em toda a faixa do visível do espectro de emissão. (Fonte: fig. 6 da ref. [45]).....	32
Figura 1.13.	espectros de fluorescência em solução aquosa de (—) 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de piridoxina, (----) 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de piroxicam e (---) 0,66 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de piroxicam; λ_{exc}	

	= 320 nm; pH = 3; T = 20 °C.(Fonte: fig. 1A da ref. [46]).....	40
Figura 1.14.	sobreposição dos espectros de (B) excitação e (A) emissão de fluorescência de (····) carbamazepina e (—) carbamazepina epóxido depositados em membrana de náilon. (Fonte fig. 5 da ref. [40]).....	34
Figura 1.15.	espectros de fluorescência (excitação x emissão) medidos em náilon após a passagem de 30 mL de (A) água; (B) solução de 27,2 ng·L ⁻¹ de BaP e 28,0 ng·L ⁻¹ de DBA, (C) solução de 25,6 ng·L ⁻¹ de BaP, 16,0 ng·L ⁻¹ de DBA, 220 ng·L ⁻¹ de BbF, 80 ng·L ⁻¹ de BkF, 140 ng·L ⁻¹ de BaA, 700 ng·L ⁻¹ de ACEN e 160 ng·L ⁻¹ de BghiP e (D) solução contendo um total de 6000 ng·L ⁻¹ dos 16 HPAs prioritários (USEPA). (Fonte: fig 4 da ref. [39]).....	36
Figura 1.16.	espectros (excitação A e emissão B) deconvoluídos das misturas dos sete HPAs; BbF (ciano), BkF (rosa), BaA (azul), ACEN (cinza), BghiP(vermelho), BaP (violeta) e DahA (verde). (Fonte. fig 3B da ref. [39]).....	37
Figura 1.17.	sistema de EFS desenvolvido, e a descrição de seus componentes. (Fonte: fig. 9, ref [48]).....	38
Figura 2.1.	porta amostra para filmes finos e sólidos do equipamento Cary Eclipse (a) Foto do catálogo do equipamento mostrando opções de acessórios, (b) Foto da montagem usada nesse trabalho, (c) detalhe da membrana no centro do suporte.....	45
Figura 3.1.	membrana de náilon após a filtração de água potável. (a) verso da membrana e (b) frente da membrana.....	48
Figura 3.2.	sinal dos analitos na frente e verso da membrana após a filtração de 25,00 mL de solução dos analitos em água pura e com adição de 3,0 mL de acetonitrila.	49
Figura 3.3.	variação da intensidade de sinal dos analitos com o aumento do volume de acetonitrila em solução. Detecção no verso da membrana (A) e na frente da membrana (B).....	50
Figura 3.4.	espectros tridimensionais medidos no verso da membrana que adsorveu (a) antraceno, (b) fenantreno, (c) fluoreno e (d) de uma mistura desses três HPAs (d).....	52
Figura 3.5.	gráfico do s_{fit} versus o número de componentes para amostras de água potável	52
Figura 3.6.	perfis do PARAFAC para as amostras de água potável contaminadas com HPAs leves.....	53
Figura 3.7.	faces frontais das membranas após EFS dos extratos dos quatro diferentes	

sedimentos. O número na figura corresponde a descrição do sedimento na tabela 2.3 da metodologia.....	56
Figura 3.8. valor do s_{fit} versus número de componentes do PARAFAC para uma amostra representativa de extrato de sedimento fortificado com HPAs leves.....	57
Figura 3.9. perfis do PARAFAC para as amostras de sedimentos contaminadas com HPAs leves. É mostrada uma amostra do sedimento 3 em representação das demais.....	57
Figura 3.10. perfis espectrais de emissão do sinal de fundo (magenta) para os 4 solos distintos.....	58
Figura 3.11. gráfico de recuperações versus referência (linha vermelha) para o antraceno em água potável (A) e sedimentos (B).....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1.	faixas de concentrações de HPAs encontrados em diversos compartimentos ambientais e em alimentos [10].....	17
Tabela 1.2.	fórmulas estruturais e massas molares de HPAs monitorados pela USEPA e suas propriedades de solubilidade e pressão de vapor [18].....	18
Tabela 1.3.	classificação dos HPAs quanto a carcinogenicidade de acordo com a IARC [19].....	19
Tabela 1.4.	limites de prevenção e intervenção para 10 dos 16 HPAs (monitorados pela USEPA) em solos e águas subterrâneas segundo o CONAMA [21].....	20
Tabela 1.5.	ordens, números de vias e natureza dos dados e suas relações com o empilhamento de amostras e efeito de interferentes.....	22
Tabela 1.6.	parâmetros de desempenho obtidos com EFS e LoD com e sem EFS. (Reproduzida da tabela 1 da Referência [45]).....	31
Tabela 1.7.	determinação de piroxican em soro sanguíneo humano por PARAFAC com $n = 3$. (Reproduzida da tabela 1 de [47]).....	33
Tabela 1.8.	parâmetros analíticos obtidos com detecção por fluorescência e fosforescência para diferentes volumes de solução extraída. (Fonte: tab. 1 da ref [38]).....	35
Tabela 2.1.	composições das misturas de calibração dos HPAs em $\mu\text{g L}^{-1}$	41
Tabela 2.2.	concentração dos analitos nas amostras fortificadas usadas na validação do modelo, expressas em $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	42
Tabela 2.3.	características das amostras de sedimento.....	43
Tabela 2.4.	concentração nos HPAs nas amostras fortificadas de sedimentos ($\mu\text{g Kg}^{-1}$).....	43
Tabela 2.5.	concentrações corrigidas dos HPAs nas amostras do conjunto de validação para os extratos de sedimento (em $\mu\text{g Kg}^{-1}$)	44
Tabela 3.1.	HPAs em água de torneira ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Espectros medidos no verso da membrana de náilon. Modelos PARAFAC construídos com 4 fatores e centrado na média. As predições são realizadas uma amostra por vez.....	54
Tabela 3.2.	valores de mérito para a determinação de ANT, FEN e FLU por PARAFAC em amostras de água potável. Concentração dos analitos em $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	54
Tabela 3.3.	HPAs em amostras de sedimento (ppb). Espectros medidos no verso da membrana de náilon. Modelos PARAFAC construídos com 4 fatores e centrado na média. As predições são realizadas uma amostra por vez.....	59
Tabela 3.4.	valores de mérito para a determinação de ANT, FEN e FLU por PARAFAC em amostras de sedimento. Concentração dos analitos em $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de sedimento.....	59
Tabela 3.5.	Comparação do desempenho de diferentes métodos analíticos destinados à determinação de ANT, PHE e FLU em amostras de água potável e sedimentos.....	61

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

HPAs	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
USEPA	United States Environmental Protection Agency
IARC	International Agency for Research on Cancer
CONAMA	Concelho Nacional do Meio Ambiente
CG	Cromatografia Gasosa
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
MEFS	Microextração em Fase Sólida
MLR	Multiple Linear Regression
PCR	Principal Component Regression
PLS	Partial Least Squares
EEM	Excitation/Emission Matrix
HPLC-DAD	High Performance Liquid Chromatography/Diode arrangement Detector
GC-MS	Gas Chromatography/Mass Spectrometry
PARAFAC	Parallel Factor Analysis
MCR-ALS	Multivariate curve resolution alternating least square
U-PLS/RBL	Unfolded partial least square with residual bilinearization
N-PLS	N-way Partial Least Squares
MATLAB	MATLAB MATrix LABoratory
CORCONDIA	CORe CONSistency, DIAgnostic
MCA	nitrato de celulose
CA	acetato de celulose
PES	polietersulfona
PTFE	politetrafluoretileno
ANT	Antraceno
FEN	Fenantreno
FLU	Fluoreno
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
LB	Limite do Branco
EEFM	Excitation/Emission fluorescence Matrix
GC-MS	Gas chromatography–mass spectrometry
GC-FID	Gas chromatography with flame ionization detector

SUMÁRIO

1	Introdução	14
1.1	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs).....	15
1.2	Técnicas utilizadas nas análises de HPAs.....	20
1.3	Calibração de segunda ordem e análise de fatores paralelos (PARAFAC).....	21
1.4	Membranas filtrantes de náilon e suas interações com os analitos.....	25
1.5	Espectroscopia de fluorescência molecular em membrana filtrante.....	28
1.6	Objetivos.....	39
2	Metodologia.....	40
2.1	Soluções padrão e amostras.....	41
2.2	Procedimento de pré-concentração em membrana de náilon.....	44
2.3	Aquisição dos espectros.....	45
2.4	Tratamento de dados.....	45
2.5	Limite de Branco, Limite de Detecção e Limite de Quantificação	46
3	Resultados e discussão.....	47
3.1	Detecção diretamente na membrana e resíduo pós-filtração.....	48
3.2	Determinação simultânea de ANT, FEN e FLU em água potável.....	51
3.3	Determinação simultânea de ANT, FEN e FLU em sedimentos.....	55
3.4	Comparação com outros métodos.....	60
4	Conclusões	62
	Referências.....	64

Capítulo 1

Introdução

1.1 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs)

Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) constituem um grupo abrangente de mais de 100 compostos químicos formados por dois ou mais anéis aromáticos condensados. São poluentes persistentes e generalizados formados a partir da combustão incompleta de matéria orgânica em altas temperaturas [1,2]. Processos de combustão podem ocorrer de forma natural (por exemplo, erupções vulcânicas e incêndios florestais naturais) ou antropogênica (por exemplo, veículos automotivos, máquinas industriais e dispositivos domésticos) [3]. Como existe uma grande quantidade e variedade de atividades humanas relacionadas esses processos, as fontes antropogênicas predominam em relação às fontes naturais [4]. Dessa forma, espera-se que em ambientes urbanos e/ou industriais, locais com grande atividade industrial e uso massivo de combustíveis fósseis, as concentrações de HPAs sejam consideravelmente maiores que em localidades rurais ou com densidade demográfica muito baixa, distantes das fontes de contaminação [5].

HPAs podem ser encontrados em praticamente todos os compartimentos ambientais, os de menor massa molar (dois ou três anéis aromáticos) encontram-se, em parte, sob forma de vapor na atmosfera, enquanto os mais pesados (cinco anéis aromáticos ou mais) tendem a agregarem-se ao material particulado em suspensão. Dessa forma os HPAs se dispersam amplamente através da atmosfera e depositam-se em ambientes aquáticos e terrestres [6]. Na figura 1.1 são mostradas algumas fontes de HPAs, os compartimentos contaminados, assim como, possíveis dispersões desses contaminantes entre estes compartimentos.

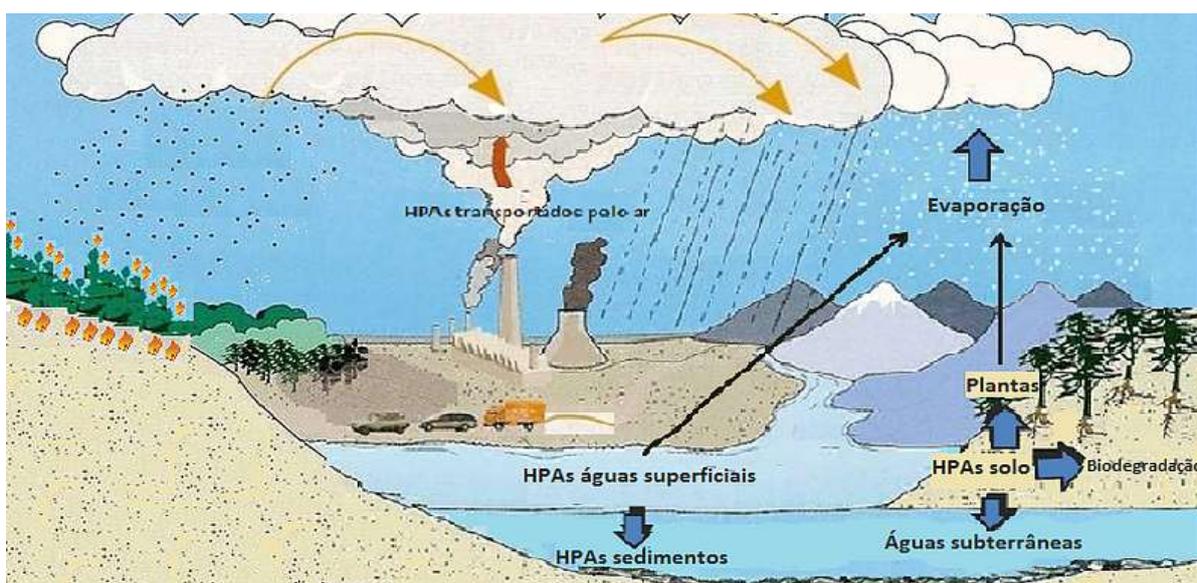


Figura 1.1: fontes de HPAs, e rotas de dispersão dos mesmos entre os compartimentos ambientais. Fonte: [7].

As propriedades físico-químicas dos HPAs definem sua tendência a se acumularem em solos, ou de permanecerem no sedimento e na matéria orgânica em suspensão quando em ambientes aquáticos. Normalmente, quanto maior hidrofobicidade (HPAs de 4 ou mais anéis), maior será sua quantidade adsorvida na superfície do solo e menor será sua solubilidade em água [2]. Nesse contexto, os solos e sedimentos de rios podem ser considerados os principais destinos dos HPAs oriundos da atmosfera, cujas faixas de concentração são muito mais largas que aquelas observadas em outros compartimentos e até mesmo em amostras de alimentos, e variam normalmente em função da proximidade das fontes de emissão [8-9]. As grandes divergências nas concentrações de HPAs nos diversos compartimentos ambientais e em alimentos são apresentados na Tabela 1.1 [10].

Tabela 1.1: faixas de concentrações de HPAs encontrados em diversos compartimentos ambientais e em alimentos [10].

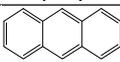
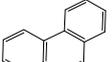
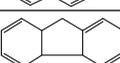
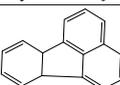
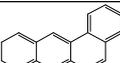
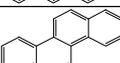
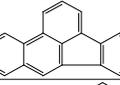
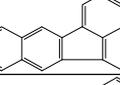
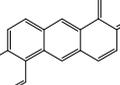
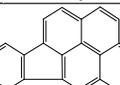
Tipo de amostra	Concentração
Ar	1,3 a 500 ng/m ³
Solo	0,8 ng/kg a 100 mg/kg
Água	2,5 a 500 ng/L
Plantas	< 150 µg/kg
Alimentos	0,1 a 20 µg/kg

A alta hidrofobicidade e termoestabilidade garantem sua persistência na atmosfera, nos solos e até mesmo em ecossistemas aquáticos [11]. A exposição aos HPAs tem efeitos perigosos na maioria dos seres vivos, incluindo microorganismos e animais, inclusive humanos. A gravidade de tais efeitos depende do modo de exposição, duração da exposição e dose de exposição [12-14]. Os HPAs também têm efeitos mutagênicos, carcinogênicos, teratogênicos e imunotóxicos em seres humanos [11][15]. Por exemplo, o naftaleno e o antraceno podem causar doenças reprodutivas; Irritação na pele; olho; danos renais e hepáticos e mau funcionamento pulmonar em animais e humanos [16, 2]. Embora não haja evidências conclusivas da toxicidade do fluoreno em seres humanos, este composto tem efeitos tóxicos duradouros na vida aquática [17]. Assim, a detecção de HPAs em amostras ambientais podem ser uma ferramenta importante para melhorar a tomada de decisão processos das agências reguladoras.

Em meio a grande variedade desses compostos, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA, do inglês, *United States Environmental Protection Agency*) monitora continuamente amostras ambientais na detecção e quantificação de dezesseis HPAs, por serem

considerados agentes nocivos mais perigosos que o restante e por apresentarem grande exposição aos seres humanos. Na Tabela 1.2 são apresentadas as estruturas moleculares desses HPAs e algumas propriedades que têm influência no seu transporte e em sua afinidade por determinados compartimentos [18].

Tabela 1.2: fórmulas estruturais e massas molares de HPAs monitorados pela USEPA e suas propriedades de solubilidade e pressão de vapor [18].

COMPOSTOS	MASSA MOLAR (g/mol)	SOLUBILIDADE EM ÁGUA (mg/L)	PRESSÃO DE VAPOR (mmHg)	MOLÉCULA
Naftaleno	128,17	31	$8,89 \times 10^{-2}$	
Acenafteno	154,21	3,8	$3,75 \times 10^{-3}$	
Acenaftaleno	152,20	16,1	$2,90 \times 10^{-2}$	
Antraceno	178,23	0,045	$2,55 \times 10^{-5}$	
Fenantreno	178,23	1,1	$6,80 \times 10^{-4}$	
Fluoreno	166,22	1,9	$3,24 \times 10^{-3}$	
Fluoranteno	202,26	0,26	$8,13 \times 10^{-6}$	
Benzo[a]antraceno	228,29	0,011	$1,54 \times 10^{-7}$	
Criseno	228,29	0,0015	$7,80 \times 10^{-9}$	
Pireno	202,26	0,132	$4,25 \times 10^{-6}$	
Benzo[a]pireno	252,32	0,0038	$4,89 \times 10^{-9}$	
Benzo[b]fluoranteno	252,32	0,0015	$8,06 \times 10^{-8}$	
Benzo[k]fluoranteno	252,32	0,0008	$9,59 \times 10^{-11}$	
Dibenzo[a,h]antraceno	278,35	0,0005	$2,10 \times 10^{-11}$	
Benzo[g,h,i]perileno	276,34	0,00026	$1,00 \times 10^{-10}$	
Indeno[1,2,3-cd]pireno	276,34	0,062	$1,40 \times 10^{-10}$	

Considerando o número de pesquisas que comprovam o fato, a Agência Internacional de Investigação em Câncer (IARC, do inglês, *International Agency for Research on Cancer*) classificou 16 HPAs em quatro grupos segundo o potencial carcinogênico como mostrado na Tabela 1.3.

Tabela 1.3: classificação dos HPAs quanto a carcinogenicidade para humanos de acordo com a IARC [19].

GRUPO 1	GRUPO 2A	GRUPO 2B	GRUPO 3
Carcinogênico	Provavelmente carcinogênico	Possivelmente carcinogênico	Não classificado quanto a carcinogenicidade
Benzo[a]pireno	Dibenzo[a,h]antraceno	Benzo[a]antraceno Benzo[b]fluoranteno Benzo[k]fluoranteno Criseno Indeno Naftaleno	Acenafteno Antraceno Fluoreno Fluoranteno Fenantreno Pireno Benzo[e]pireno Benzo[g,h,i]perileno

O CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) através da resolução nº 420/2009 [20] determina que deve haver intervenção quando as concentrações de contaminantes apresentem riscos à saúde humana e/ou ao meio ambiente. Alguns valores de prevenção e intervenção para alguns HPAs em solos e água subterrânea podem ser vistos na tabela 1.4.

Tabela 1.4: limites mínimos de prevenção e intervenção para 10 dos 16 HPAs (monitorados pela USEPA) em solos e águas subterrâneas segundo o CONAMA [21].

Substância	Solo (mg kg ⁻¹ de peso seco)				Água subterrânea (µg L ⁻¹)
	Prevenção	Intervenção			Intervenção
		Agrícola	Residencial	Industrial	
Antraceno	0,039	-	-	-	-
Benzo[a]antraceno	0,025	9	20	65	1,75
Benzo[k]fluoranteno	0,38	-	-	-	-
Benzo[g,h,i]perileno	0,57	-	-	-	-
Benzo[a]pireno	0,052	0,4	1,5	3,5	0,7
Criseno	8,1	-	-	-	-
Dibenzo[a,h]antraceno	0,08	0,15	0,6	1,3	0,18
Fenantreno	3,3	15	40	95	140
Indeno[1,2,3- c,d]pireno	0,031	2	25	130	0,17
Naftaleno	0,12	30	60	90	140

Com base no exposto, justifica-se o empenho de esforços no desenvolvimento de tecnologias analíticas que viabilizem o monitoramento desses contaminantes em diversas matrizes, de forma confiável e com mais acessibilidade a laboratórios de pesquisa, acadêmicos e órgãos governamentais de fiscalização.

1.2 Técnicas utilizadas nas análises de HPAs

Em diversas matrizes complexas é necessário determinar os HPAs em níveis de traços ou menos (mg L⁻¹ ou menos) com uso de técnicas sofisticadas de análise, como cromatografia gasosa (GC) [22-25] e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) [26,27] combinada com

técnicas de pré-tratamento de amostra, frequentemente usadas para isolar e/ou pré-concentrar analitos. Diversas técnicas de microextração em fase sólida (SPME) têm sido amplamente empregadas, incluindo aquelas baseadas em revestimento sorvente para superar as desvantagens do SPME tradicional [28]. No entanto, o revestimento sorvente é demorado, pode envolver diversas etapas de fabricação, requer ensaios de caracterização para confirmação da estrutura e utilizam reagentes e equipamentos de alto custo para obter dispositivos de extração reproduzíveis. Além disso, condicionamento, carregamento de amostras, lavagem, e eluição são as etapas mais demoradas e/ou propensas a erros da extração em fase sólida

1.3 Calibração de segunda ordem e análise de fatores paralelos (PARAFAC)

Na química analítica atual, a escolha do método de calibração está diretamente relacionada à dimensionalidade dos dados analíticos obtidos. Dados univariados são aqueles em que a resposta analítica é composta por apenas um valor escalar (tensor de ordem zero) por amostra. Os valores obtidos de um conjunto de amostras podem ser empilhados gerando uma estrutura de dados de uma via (um vetor). Na Tabela 1.5 são apresentados de forma pictórica as ordens dos dados e suas relações com a natureza dos dados e elementos formados pelo empilhamento de amostras. Na calibração de ordem zero, usa-se uma curva analítica para modelar dados desse tipo, que podem ser gerados por instrumentos de respostas pontuais como pHmetros, colorímetros e eletrodos íons-seletivos, o que exige grande seletividade para o analito na aquisição dos sinais. Se não há seletividade suficiente nos métodos de ordem zero, os resultados obtidos perdem confiabilidade devido à possível presença de interferentes, pois os sinais dos analitos e dos interferentes se somam e as previsões são superestimadas. Os problemas de seletividade nos métodos de calibração de ordem zero podem ser minimizados ou eliminados quando estes são associados a técnicas de separação tal como a cromatografia, onde os interferentes são fisicamente separados dos analitos.

Várias técnicas de detecção podem gerar dados multivariados. Nesse caso, cada amostra gera um vetor (tensor de primeira ordem) de dados como resposta e, agrupando os dados de um conjunto de amostras obtém-se um arranjo de duas vias, ou seja, uma matriz (linha 2 da Tabela 1). Esses dados devem ser modelados com métodos de primeira ordem, como regressão linear múltipla (MLR, do inglês, *Multiple Linear Regression*), regressão por componentes principais (PCR, do inglês, *Principal Component Regression*) ou mínimos quadrados parciais (PLS, do inglês, *Partial Least Squares*), que são robustos à presença de interferentes caso eles sejam modelados no

conjunto de calibração. Essa característica é chamada de vantagem de primeira ordem.

Os métodos de calibração de segunda ordem são aplicados a dados cuja resposta analítica gerada para cada amostra é uma matriz bidimensional (tensor de segunda ordem). Assim, um conjunto de amostras forma uma estrutura de três vias formada por matrizes empilhadas (linha 3 da tabela 1.5). Dados desse tipo podem ser gerados por técnicas tais como espectrofluorimetria de matriz de excitação e emissão (EEM, do inglês, *Excitation/Emission Matrix*), cromatografia gasosa com espectrometria de massas (GC-MS, do inglês, *Gas Chromatography/Mass Spectrometry*) entre outras, fornecendo uma grande quantidade de informações químicas por amostra, o que possibilita a recuperação do sinal analítico puro de cada componente do sistema e até mesmo a calibração na presença de interferentes desconhecidos, ou seja, sem a necessidade dos mesmos estarem presentes no conjunto de calibração. Esta é a chamada vantagem de segunda ordem. Métodos de calibração de ordem três ou maiores são possíveis, porém ainda não são relatados em aplicações na literatura. Dados de segunda ordem ou superiores são denominados dados de ordem superior.

Tabela 1.5: ordens, números de vias e natureza dos dados e suas relações com o empilhamento de amostras e efeito de interferentes.

Ordem (# de vias)	Natureza da medida	Empilhamento das amostras gera	Efeito do interferente
ordem 0 (1 via)	 pontual	 um vetor	Sensível, produz resultados superestimados
1ª ordem (2 vias)	 vetorial	 uma matriz	Robusto a interferentes conhecidos
2ª ordem (3 vias)	 matricial	 um tensor 3D	Robusto a interferentes, mesmo desconhecidos

A trilinearidade é um parâmetro importante para o tratamento de dados de ordem superior. São considerados trilineares o conjunto de dados onde, mantendo-se duas vias invariáveis, e varrendo a terceira, a contribuição para o sinal analítico de cada componente puro da

mistura da amostra varia apenas em intensidade, sem o surgimento de novas estruturas no sinal analítico. A trilinearidade em um arranjo de três vias pode ser descrita matematicamente pela equação 1.1:

$$x_{ijk} = \sum_{f=1}^F a_{if} b_{jf} c_{kf} + e_{ijk} \quad (\text{eq. 1.1})$$

onde x_{ijk} representa os elementos do arranjo trilinear de dados, a_{if} , b_{jf} e c_{kf} são os elementos das matrizes bilineares correspondentes a cada uma das vias nas direções i , j e k do tensor tridimensional, F é a melhor aproximação do posto de x_{ijk} e $e_{i,j,k}$ é a matriz de resíduos.

A Análise de Fatores Paralelos (PARAFAC, do inglês, *Parallel Factor Analysis*) é um método de calibração de segunda ordem que requer dados trilineares e, que pode ser descrito pela equação 1. Em um modelo PARAFAC i é a dimensão da amostra, enquanto j e k são os canais do instrumento de medida. a_{if} são coeficientes proporcionais a concentração dos F componentes da mistura e b_{jf} e c_{kf} são os perfis instrumentais dos componentes puros em suas respectivas dimensões

Um exemplo de dados trilineares são espectros de fluorescência de matriz de emissão-excitação (EEM) medidos em um espectrofluorímetro. Dados arranjados em três vias podem não ser trilineares, por exemplo, em HPLC-DAD, onde a trilinearidade é perdida na via do tempo devido a pequenos deslocamentos de picos comuns nessa técnica. Neste caso a trilinearidade é perdida em uma via, embora a bilinearidade seja mantida. Se os dados obtidos por amostra são imagens, estas podem ser empilhadas em um arranjo de três vias, porém, como a distribuição dos pixels nas duas vias de cada imagem são independentes entre as amostras, esse arranjo não será trilinear, e nem mesmo bilinear. Outros métodos como a resolução multivariada de curvas por mínimos quadrados alternados (MCR-ALS, do inglês, *Multivariate curve resolution alternating least square*) [29] e o método de mínimos quadrados parciais em matriz desdobrada com bilinearização residual (U-PLS/RBL) [30] são mais apropriados para arranjos de três vias onde a trilinearidade não está presente.

O desenvolvimento dos métodos multidimensionais surgiu na década de 1960 quando pesquisadores psicometristas precisaram aplicar técnicas de estatística multivariada para analisar a grande quantidade de dados obtidos através da aplicação de questionários buscando identificar

influências ou padrões comportamentais, pois, havia uma tendência de valorização das análises quantitativas nas ciências humanas. Bro [31] contribuiu significativamente para a difusão dos métodos quimiométricos PARAFAC e N-PLS (Mínimos Quadrados Parciais Multilinear) ao descrever, de forma didática e com clareza, os métodos e algoritmos, assim como, suas aplicações em química analítica. Outra contribuição de grande importância para a propagação do uso desses algoritmos, foi a disponibilização gratuita dos algoritmos na forma do pacote *N-way toolbox* desenvolvidos na plataforma MATLAB [32]. Olivieri e colaboradores [33] disponibilizaram a interface gráfica MVC2 para MATLAB, o que tornou ainda mais fácil para o usuário final a execução dos algoritmos do PARAFAC implementados no *N-way toolbox*.

No caso da espectroscopia EEM, as vias **B** e **C** são normalizadas e correspondem aos perfis espectrais de emissão e excitação dos componentes da amostra. A via **A** corresponde ao perfil de intensidade e pode ser associada a concentração do componente por meio de uma calibração pseudo-univariada contra a concentração conhecida dos padrões incluídos no tensor de dados. Na prática ocorre uma fatoração trilinear que decompõe o tensor de dados em três vias, de acordo com o esquema na Figura 1.2, extraída de Sena, 2005 [34].

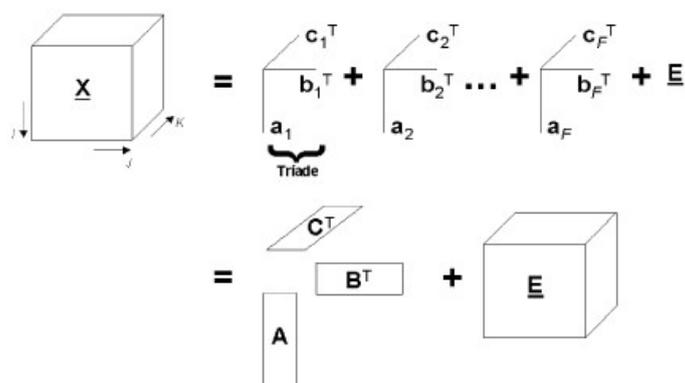


Figura 1.2: representação gráfica do modelo PARAFAC. (Ref [34], Figura 3)

O número de fatores pode ser escolhido pela variância explicada, conhecimento químico do sistema, validação cruzada, métodos de reamostragem ou testes de consistência trilinear (CORCONDIA, do inglês, CORE CONSistency, DIAGnostic) [35]. De acordo com o CORCONDIA, resultados acima de 90 % indicam trilinearidade adequada ao PARAFAC, próximos de 50 % representam deficiência de trilinearidade e valores negativos ou em torno de 0 % indicam inconsistência trilinear. Atualmente tem-se questionado a eficiência do CORCONDIA, sobretudo porque em aplicações reais e quantitativas do PARAFAC têm apresentado desempenho satisfatório mesmo quando o CORCONDIA indica inconsistência trilinear. Olivieri e Escandar [36] sugerem

avaliar o ajuste residual (desvio padrão dos resíduos) dado pela equação 1.2.

$$s_{\text{fit}} = \sqrt{\frac{\text{SSE}}{I \times J \times K}} \quad (\text{eq. 1.2})$$

Onde SSE é a soma quadrática dos erros dada pela equação 1.3

$$\text{SSE} = \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J \sum_{k=1}^K e_{ijk}^2 \quad (\text{eq. 1.3})$$

onde I é o número total de amostras no arranjo trilinear (conjunto de calibração + 1, e J e K são os números de sensores em ambos os modos instrumentais.

1.4 Membranas filtrantes de náilon e suas interações com os analitos

Náilons ou poliamidas são polímeros semicristalinos que possuem grupos amida e carboxílicos em sua estrutura. De acordo com a formação da poliamida pode-se classificá-los em dois tipos: AB (por exemplo, náilons-6 e -11), formados a partir de uma espécie química que possui essas duas funções; e AABB (náilons-6,6, -6,10 e -6,12, por exemplo), formados a partir de duas espécies diferentes, um diácido e uma diamina. Os dois tipos de náilons mais comuns para as indústrias têxteis e plásticas são o 6 e o 6,6. A Figura 1.3, extraída da referência [37] mostra algumas estruturas das cadeias de alguns tipos de náilon.

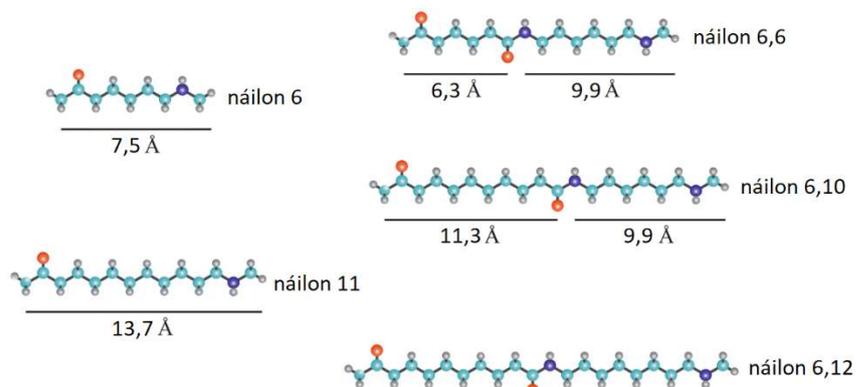


Figura 1.3: cadeias de diferentes tipos de náilon (Fonte: figura 4 da ref. [37]).

Entre as aplicações do náilon como insumo para pesquisa científica, destaca-se a

produção de membranas filtrantes altamente eficientes e disponíveis comercialmente em diversos tamanhos e marcas. Essas membranas são encontradas com diâmetros de poro de 0,22 μm ou 0,45 μm e são amplamente utilizadas por serem adequadas para filtração tanto em soluções polares quanto apolares. Embora essas membranas tenham sido concebidas originalmente para filtração, não é incomum que algumas substâncias sejam fortemente adsorvidas por elas, o que levou ao seu uso como suportes para extração em fase sólida (EFS)[38] [39].

O náilon 6,6 tem apresentado bom desempenho como suporte sólido de vários compostos orgânicos, em especial os HPAs, para detecção por fluorescência e fosforescência. Em algumas aplicações [40] uma pequena quantidade de solução é depositada sobre a membrana e, após a secagem, é realizada a detecção diretamente na superfície da membrana. Já em outros trabalhos a membrana de náilon é utilizada para extração em fase sólida (EFS) através da filtração da solução, onde o(s) analito(s) adsorve na membrana por ter afinidade pelo náilon. A poliamida é um polímero de ácido adípico e hexametileno diamina, onde a estrutura primária contém grupos amida separados por cadeias metilênicas. Os grupos amida são fundamentalmente planares devido ao caráter de dupla ligação entre carbono e nitrogênio. As cadeias estão orientadas de forma a priorizar a formação de ligações de hidrogênio entre os grupos amida e carbonila, como mostrado na Figura 1.4.

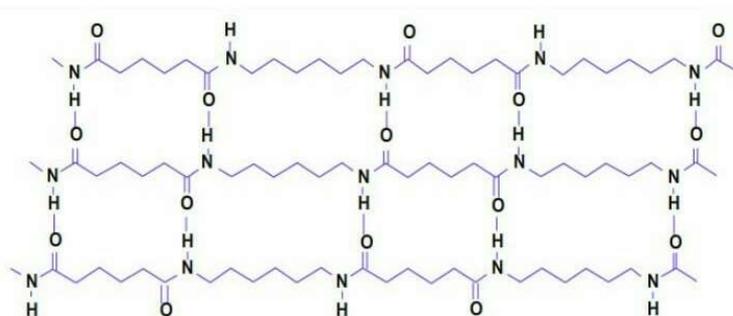


Figura 1.4: estrutura do náilon 6-6 (Fonte: <https://tecnologiadelospolimeros.wordpress.com/2017/06/27/reacciones-de-polimerizacion-por-condensacion/>, acessado em 15/10/2020).

Na EFS, o solvente utilizado para carregar o analito (hidrofóbico) através da membrana de náilon é um dos fatores mais importantes para o sucesso da extração. Devido à natureza hidrofóbica do analito, interações apolares são esperadas entre o composto e as cadeias metilênicas do náilon. Em contrapartida, espera-se que os grupos hidrofílicos amida facilitem o movimento do solvente (polar) através da membrana, melhorando a transferência de massa e

tornando-a mais eficiente. [38]

Em 2016, Wang e colaboradores [41] avaliaram o desempenho de cinco membranas de diferentes composições para pré-concentração de benzo(a)pireno (BaP) com detecção por fluorescência diretamente na membrana. Foram avaliados a intensidade do sinal de fundo e a intensidade do sinal de fluorescência do analito adsorvido na membrana após a EFS. O uso do náilon promoveu a maior relação sinal/ruído quando comparado aos outros polímeros, a saber: nitrato de celulose (MCA), acetato de celulose (CA), polietersulfona (PES) e politetrafluoretileno (PTFE), cujos dados são apresentados na Figura 1.5. Percebe-se que alguns polímeros como o CA e o PES até apresentam sinais comparáveis ao do náilon, mas também apresentam maior sinal de fundo, o que resulta uma menor relação sinal-ruído.

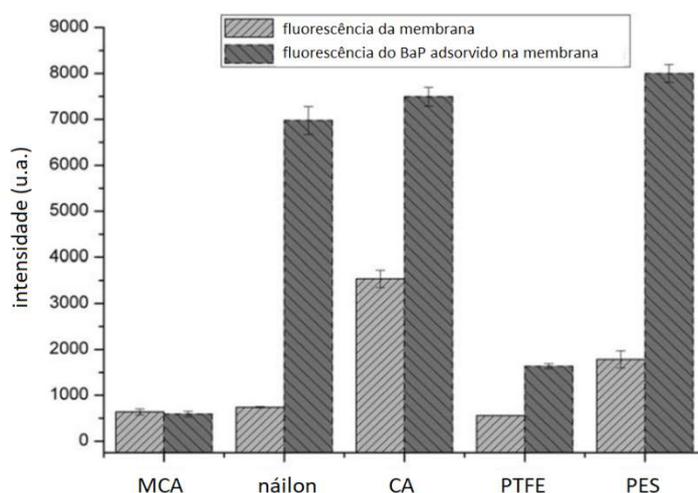


Figura 1.5: sinais de fluorescência da membrana polimérica e da membrana após a adsorção do BaP (Fonte: fig. 2 da ref. [41]).

Nesse mesmo trabalho foi avaliado o potencial do náilon para EFS do BaP em água (na faixa de 0,1 a 8,0 $\mu\text{g L}^{-1}$). Após a realização de uma extração com duas membranas sobrepostas, o sinal medido na segunda membrana foi indistinguível quando comparado ao branco, por outro lado, o sinal da primeira membrana apresentou intensidade comparável ao sinal medido após a pré-concentração com o uso de apenas uma membrana, como mostrado na Figura 1.6.

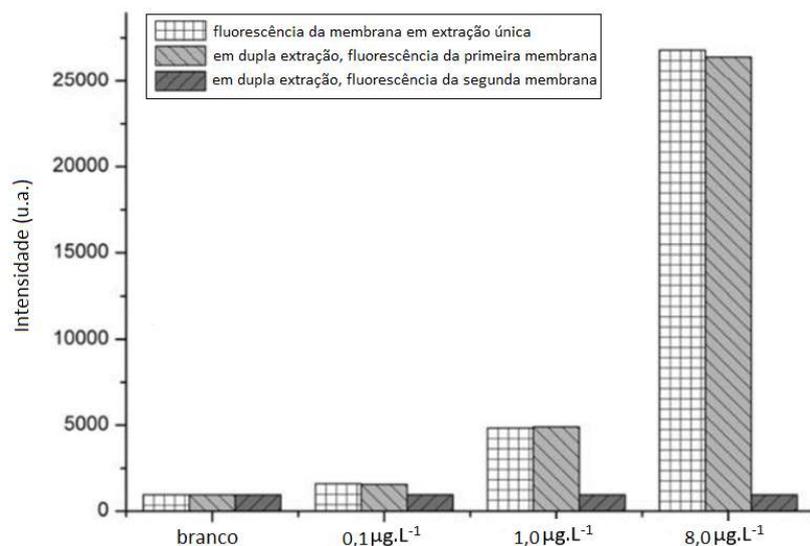


Figura 1.6: avaliação do potencial do náilon-6,6 como fase extratora para BaP (Fonte: fig. 5 da ref. [41]).

1.5 Espectroscopia de fluorescência molecular em membrana filtrante

A EFS em substituição à extração líquido-líquido ganhou maior popularidade a partir do artigo de MacCarthy e Klusman, sobre análises de águas em 1989 [42]. Os sistemas comumente utilizavam pequenas colunas ou cartuchos, contendo adsorventes sólidos. Nesse contexto, o uso de membrana para pré-concentração por adsorção ganhou aceitação, sendo que os analitos pré-concentrados no suporte eram usualmente extraídos com um solvente apropriado e, posteriormente determinados por cromatografia em fase gasosa ou líquida.

Poziomek e colaboradores [43] propuseram um método baseado na medição direta na superfície adsorvente para monitoramento de poluentes em água por EFS. Foram realizadas medidas de EFS em membranas (retangulares 1cm x 2cm) funcionalizadas com octadecil (C18). A membrana foi deixada em suspensão na solução de antraceno por determinado intervalo de tempo e, após isto, foi seca e levada à detecção. Uma curva analítica foi construída com base em um tempo fixo (2 h) de exposição do filme à solução padrão. Os espectros medidos diretamente na membrana C18 (figura 1.7) mostram que existe uma dependência da intensidade do sinal com a concentração do analito, mantendo-se constante o tempo de exposição. Também foi investigada a relação entre a intensidade do sinal e o tempo de exposição no intervalo de 1 a 29 h para uma solução de antraceno 10 µg L⁻¹ (Figura 1.8). Desse estudo verificou-se que a intensidade do sinal aumenta com o tempo, mostrando que o processo de pré-concentração do analito na membrana é contínuo, mas limitado pela constante de equilíbrio do processo de transferência de massa.

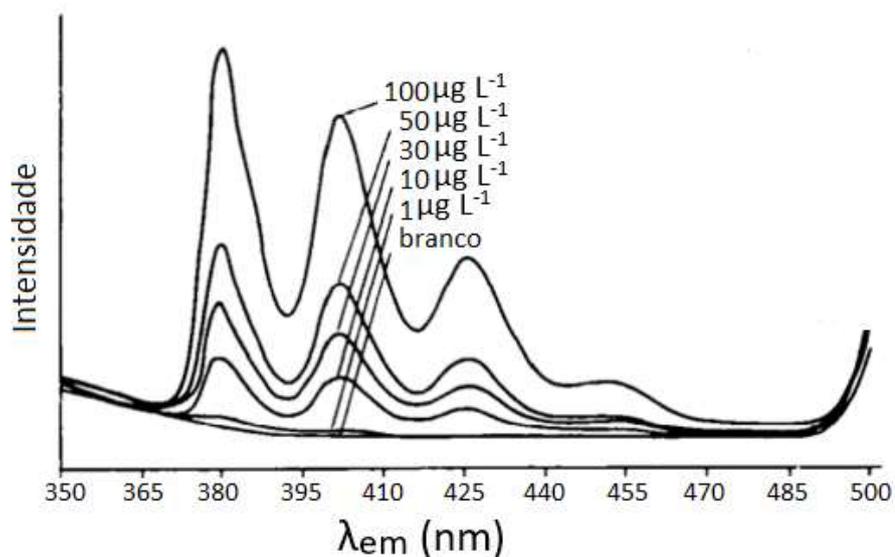


Figura 1.7: espectros de fluorescência de antraceno em matriz de C18 em função da concentração após duas horas de exposição da membrana a soluções de antraceno com concentrações variando entre 1 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$. Fonte: Referência [[43].

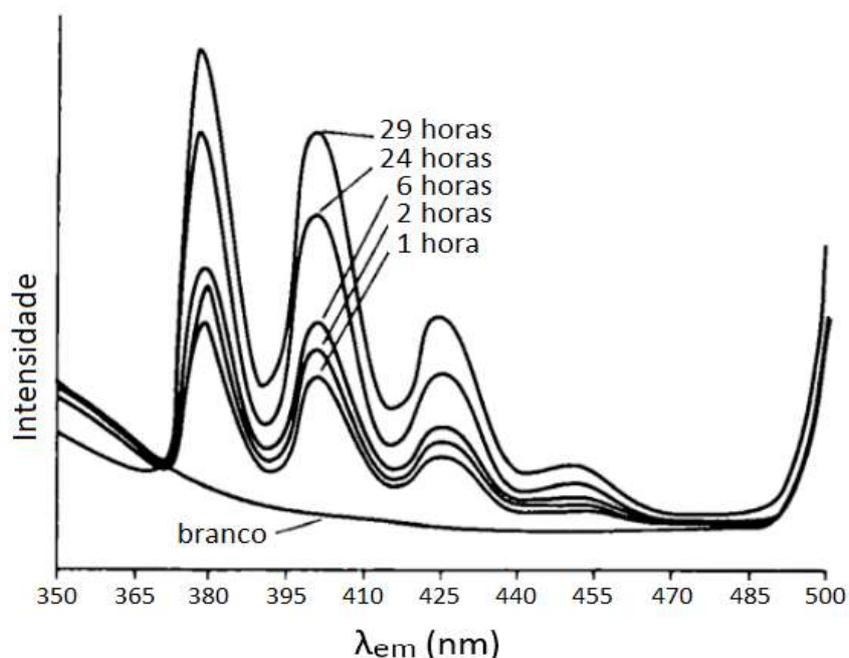


Figura 1.8: espectros de fluorescência de antraceno em matriz de C18 em função do tempo de exposição da membrana a uma solução $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de antraceno. Fonte: Referência [[43].

Campiglia e colaboradores [44] investigaram, individualmente, os 16 HPAs prioritários, de acordo com a USEPA em misturas de bifenilas policlorinadas, pesticidas e compostos orgânicos voláteis. Outra contribuição significativa foi a utilização de um sistema de filtração sob pressão reduzida (figura 1.9), que permitiu a filtração de 1 L de solução de fenantreno em uma membrana

de 38 mm de diâmetro funcionalizada com C18, pré-concentrando o analito e possibilitando a determinação do analito por EFS com um limite de detecção (*limit of detection* - LOD) de $0,2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Na figura 1.10 pode-se observar a diferença no sinal espectral para a adsorção por filtração de 1 L de amostra analítica, que envolve pré-concentração (Figura 1.10 A), e a deposição de $5 \mu\text{L}$ de solução na membrana (Figura 1.10 B).

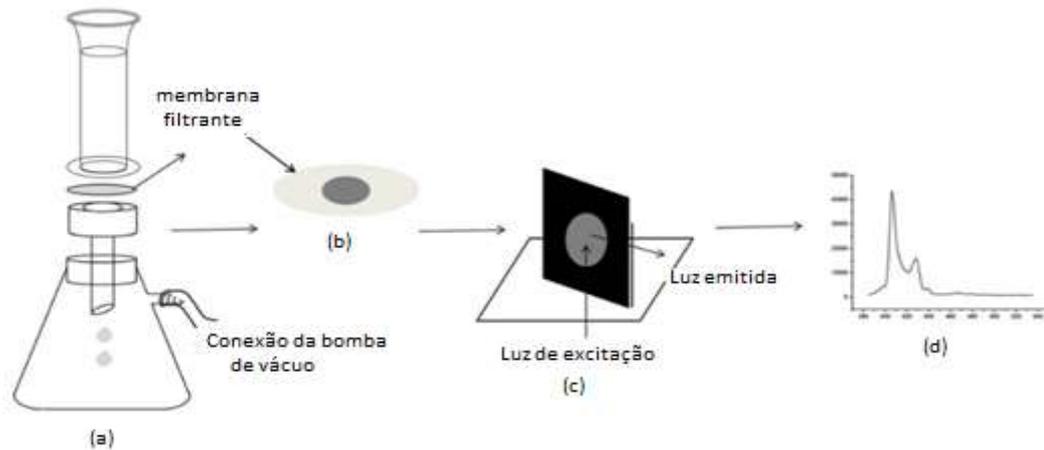
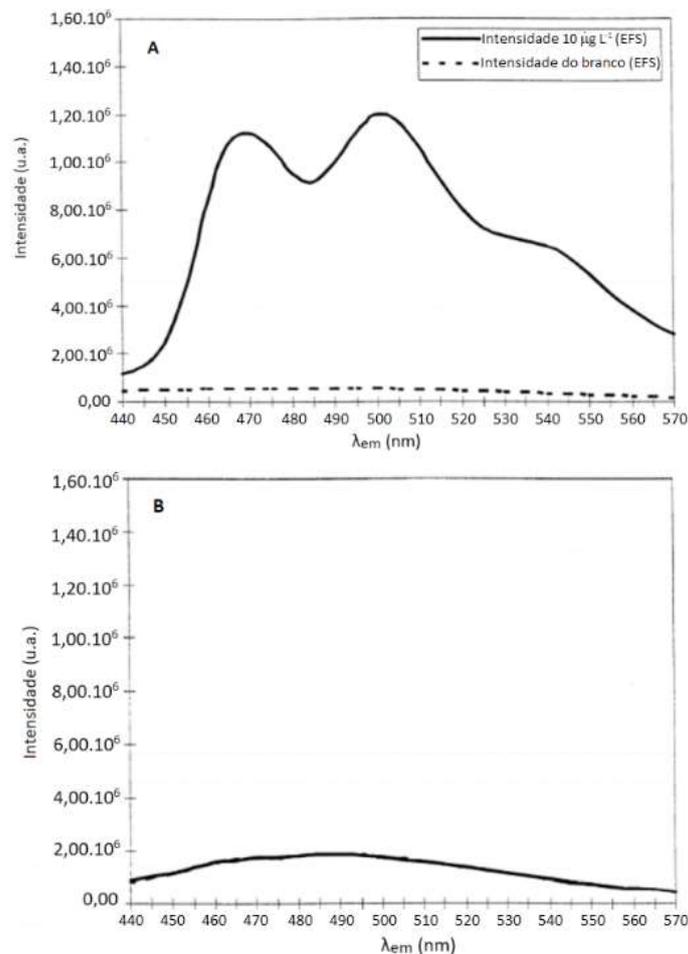


Figura 1.9: representação esquemática do procedimento de filtração sob pressão reduzida em filme de náilon e detecção direta na membrana. (Fonte: fig. 1 da ref. [41]).



Figuras 1.10: sinais de fosforescência de fenantreno medidos diretamente na membrana após EFS de 1 L de solução $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (A) e, após aplicação do método convencional, depositando $5 \mu\text{L}$ dessa solução sobre a membrana (B). (Fonte: fig 4 da ref. [44])

A EFS com espectroscopia de fosforescência foi aplicada para outros 5 HPAs (acenafteno, pireno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno e dibenz(a,h)antraceno) por Campiglia e colaboradores [45]. A Tabela 1.7, reproduzida do trabalho original, mostra os parâmetros de desempenho dos modelos obtidos para esses analitos. Nesse trabalho é proposto um melhoramento no sistema de pré-concentração, ao substituir o uso de vidrarias volumosas e bomba de vácuo por seringas de 10 mL e suporte de membrana de aço inoxidável (Figura 1.11). Reduzindo o volume de 1 L para 10 mL por amostra e o diâmetro ativo da membrana de 38 mm para 9 mm, os níveis de detecção foram mantidos, pois a distribuição analito/área é aproximadamente a mesma. O tempo de extração diminuiu de 45 min para 30 s por amostra. A secagem térmica da membrana utilizada anteriormente foi substituída por fluxo de ar forçando a passagem de ar através da membrana. Essa mudança resultou em aumentos na intensidade do sinal na faixa de 40 a 60%, com relação a técnica anterior onde, provavelmente havia perda de

analito por sublimação. Foram analisadas misturas de fenantreno, acenafteno, pireno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno e dibenz(a,h)antraceno, para demonstrar a possibilidade de separação destes compostos por seleção de comprimentos de onda de excitação e emissão, conforme observado nos espectros apresentados na figura 1.12.

Tabela 1.6: parâmetros de desempenho obtidos com EFS e LoD com e sem EFS. (Reproduzida da tabela 1 da Referência [45]).

Analito	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}(nm)^a$	FL (ng·mL ⁻¹) ^b	inclinação ^c	LOD (ng·mL ⁻¹) ^d	
				EFS-FoSS	FoSS
fenantreno	290/500	0,2-10	0,96	0,2	20
acenafteno	238/485	0,9-10	1,06	0,9	80
pireno	344/590	0,02-10	1,06	0,02	20
benzo(k)fluoranteno	410/570	0,02-10	0,95	0,02	6
benzo(a)pireno	400/685	0,1-3	1,07	0,1	80
dibenz(a,h)antraceno	304/555	0,02-3	0,94	0,02	4

^a FoSS excitação (λ_{ex}) e emissão (λ_{em}) nos máximos.

^b FL, faixa linear da curva analítica.

^c inclinação do $\log I_p$ versus $\log C$, sendo I_p a intensidade de fosforescência e C a concentração do analito.

^d LD, limite de detecção, LD foi estimado baseado na equação $LD = 3S_B/m$, sendo S_B o desvio padrão de 16 medidas do branco em $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ e m , a inclinação da curva analítica.

^e FoSS, procedimento clássico de FoSS, a solução de HPA (5 μ L) é depositada na membrana de extração previamente tratada com volumes iguais de 0,1 M de TINO₃, as membranas foram secas à 110 °C por 10 min antes de serem medidas.

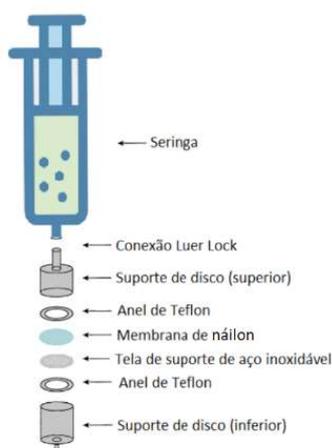


Figura 1.11: diagrama esquemático do sistema de extração por filtração em seringa (Fonte: referência [45]).

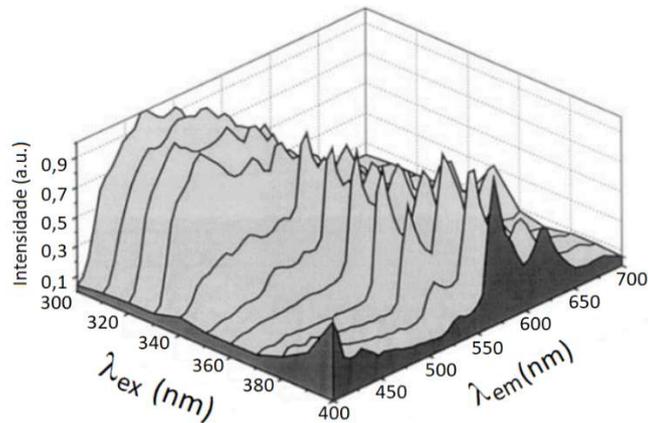


Figura 1.12: espectros de excitação x emissão da mistura de seis HPAs. O espectro do BaP é livre de interferência dos demais HPAs na excitação de 400 nm em toda a faixa do visível do espectro de emissão. (Fonte: fig. 6 da ref. [45]).

Escandar, Campiglia e Bystol [46] realizaram a primeira aplicação EFS com espectroscopia de fluorescência direto na superfície da membrana extratora para determinação dos fármacos piroxicam e piridoxina. Esses analitos possuem espectros de emissão de fluorescência que se sobrepõem (Figura 1.13) mas foram determinados simultaneamente na mesma amostra. O sistema de EFS foi o mesmo aplicado anteriormente (kit seringa e porta-filtro, membrana octadecil C18 e secagem por fluxo de ar). Em pH = 3, o piroxicam tem afinidade pela membrana e fica adsorvido na mesma, enquanto a piridoxina percola através da membrana para o filtrado. Assim, a piridoxina foi determinada por fluorescência na superfície da membrana e a piridina por fluorescência em solução.

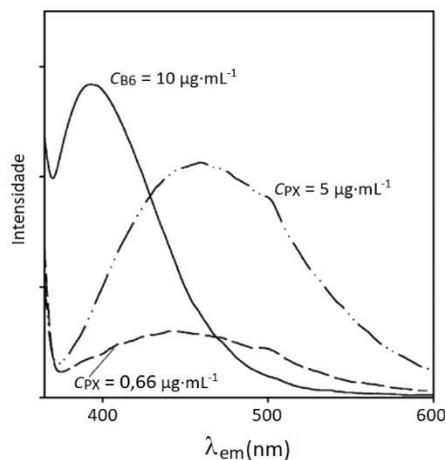


Figura 1.13: espectros de fluorescência em solução aquosa de (—) $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de piridoxina, (---) $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ de piroxicam e (-.-) $0,66 \mu\text{g mL}^{-1}$ de piroxicam; $\lambda_{\text{ex}} = 320 \text{ nm}$; pH = 3; T = 20 °C. (Fonte: fig. 1A da ref. [46]).

Escandar e Arancibia [47] determinaram piroxicam em soro sanguíneo utilizando dois métodos: detecção de fluorescência em solução e por EFS com detecção na membrana, ambos em conjunto com a calibração de segunda ordem para separar os interferentes espectrais. Nesse caso, não houve interferência espectral considerável e o piroxicam pôde ser determinado de forma direta, além disso, esse método apresentou menor LOD pelo fato de haver pré-concentração do analito na membrana. Na Tabela 1.8, reproduzida da referência [47] pode-se verificar o desempenho das metodologias propostas em comparação com o método de referência (HPLC).

Tabela 1.7: determinação de piroxicam em soro sanguíneo humano por PARAFAC com n = 3. (Reproduzida da tabela 1 de [47]).

Concentração nominal ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Concentração prevista ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) ^a			
	Dados de três vias		EFS	CLAE
	Adição de padrão	Calibração externa		
1,10	1,2(1) [109]	0,9 (1) [82]	1,05 (6) [95]	1,07
2,48	2,3(1) [93]	2,0(1) [81]	2,5(2) [101]	2,52
2,91	2,9(1) [100]	2,9(1) [100]	2,97(2) [102]	2,84
4,00	4,0(2)[100]	3,9(3) [98]	4,2(2) [105]	4,00
5,51	5,8(2) [105]	5,3(2) [96]	5,61(8) [102]	5,22
5,96	6,0(1) [101]	6,7(3) [112]	5,6(2) [94]	5,72
6,98	6,7(1) [96]	7,5(1) [107]	7,0(2) [100]	7,05
7,69	6,4(1) [83]	7,5(4) [98]	7,59(1) [99]	8,01
9,09	8,9(3) [98]	9,5(2) [105]	8,9(4) [98]	8,85
10,4	11,7(1) [112]	10,4(4) [100]	10,3(1) [99]	9,95
Amostra real	3,0(1) [114]	2,7(1) [103]	2,5(2) [95]	2,62

^a Desvio padrão entre parêntesis. As recuperações são apresentadas entre colchetes.

A partir de 2003, sobretudo nos trabalhos de Graciela Escandar e seu grupo de pesquisa, membranas filtrantes de náilon com porosidade de 0,22 μm passaram a ser usadas como material suporte sólido em estudos de luminescência substituindo o C18. Esse material é de fácil disponibilidade no mercado e de menor custo. Em sua primeira aplicação nesse contexto, discos de náilon de 8 mm foram usados como suporte para depositar um volume de 7 μL de solução, seguido de secagem por fluxo de ar para determinação de carbamazepina e carbamazepina epóxido (metabólito) em soro sanguíneo e em fármacos [40]. O náilon foi de fundamental importância na determinação de carbamazepina, pois esta não apresenta fluorescência em solução e nem em outros materiais de suporte testados (C18AR, celulose), porém, quando suportada em náilon emitiu fluorescência considerável. Foram utilizados algoritmos de calibração de segunda ordem como PARAFAC, SWATLD, N-PLS e PLS-1 para a determinação dos analitos que possuem

sinais que se sobrepõem (Figura 1.14), além de outros interferentes da matriz de soro sanguíneo.

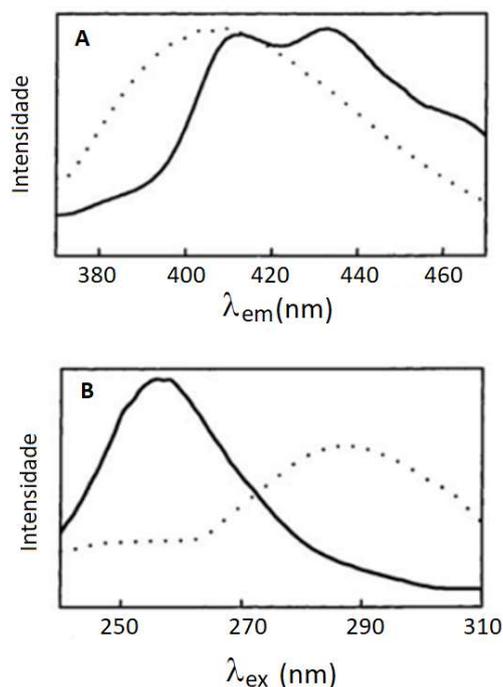


Figura 1.14: sobreposição dos espectros de (B) excitação e (A) emissão de fluorescência de (....) carbamazepina e (—) carbamazepina epóxido depositados em membrana de náilon. (Fonte fig. 5 da ref. [40]).

Escandar também aplicou a membrana de náilon pela primeira vez para fazer EFS, utilizando o kit de seringa e porta-filtro de 13 mm e secagem de 3 minutos a 100 °C. Aplicando a espectroluminescência diretamente na membrana de náilon, a pesquisadora teve sucesso na determinação de BaP em águas [38]. Devido à elevada afinidade do BaP pela membrana filtrante de náilon 6,6 (0,2 μm de poro), pôde-se aumentar o volume da solução e conseqüentemente a quantidade de analito adsorvida na membrana. Foram realizadas EFS de volumes entre 5 e 50 mL alcançando um LOD de até 0,14 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ como mostrado na Tabela 1.9. Vale ressaltar que o tempo de extração aumenta consideravelmente com o aumento do volume de 2 minutos (5 mL) para 30 minutos (50 mL).

Escandar e colaboradores também aplicaram a membrana de náilon para EFS e espectroscopia de fluorescência para determinação simultânea de BaP e D(a,h)A em águas na presença de outros 5 HPAs [39]. Para tanto, foi fundamental a utilização de algoritmos de segunda ordem, uma vez que os espectros de excitação e emissão dos analitos apresentavam-se totalmente sobrepostos na mistura. (figura 1.15 B e C).

Tabela 1.8: parâmetros analíticos obtidos com detecção por fluorescência e fosforescência para diferentes volumes de solução extraída. (Fonte: tab. 1 da ref [38]).

	Volume								
	5 mL		10 mL		25 mL		35 mL	50 mL	
	SMF	SMP	SMF	SMP	SMF	SMP	SMF	SMP	
F.L. ^a	1018- 6400	751- 9200	185- 2000	455- 2800	12,7- 80	45-275	17-120	0,4-3,6	
Inclinação ^b	0,063 (0,001)	0,0642 (0,0005)	0,110 (0,001)	0,270 (0,003)	0,438 (0,006)	0,493 (0,008)	0,649 (0,009)	10,4 (0,1)	
Intercepto	18 (3)	23 (2)	10 (1)	48 (4)	8,4 (0,3)	63 (1)	62,4 (0,6)	8,6 (0,2)	
($S_{y/x}$) ^c	9,55	7,17	2,95	11,3	0,78	3,2	1,6	0,60	
(γ^{-1}) ^d	152	112	27	42	1,8	6,5	2,4	0,06	
LD ^e	352	260	64,0	99	4,38	16	5,9	0,14	
LQ ^f	1018	751	185	286	12,7	45	17	0,40	
D.P.R. ^g	3,3 [2400]	1,1 [5200]	2,2 [600]	2,5 [960]	2,4 [35]	2,3 [144]	1,5 [80]	1,9 [1,5]	

O número de padrões de cada curva analítica corresponde a sete níveis de concentração, com triplicata para cada nível (n = 21).

^a Faixa linear em $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$.

^b O desvio padrão correspondente está entre parêntesis.

^c Desvio padrão residual.

^d Inverso da sensibilidade analítica (γ) expresso em $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ e representa a diferença mínima de concentração que pode ser medidas $y = m/S_{y/x}$.

^e Limite de detecção em $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$.

^f Limite de quantificação em $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ calculado com $(10/3,3) \times \text{LOD}$.

^g Desvio padrão relativo (%) para as concentrações ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$) dado entre colchetes.

SMF (solid-matrix fluorescence).

SMP (solid-matrix phosphorescence).

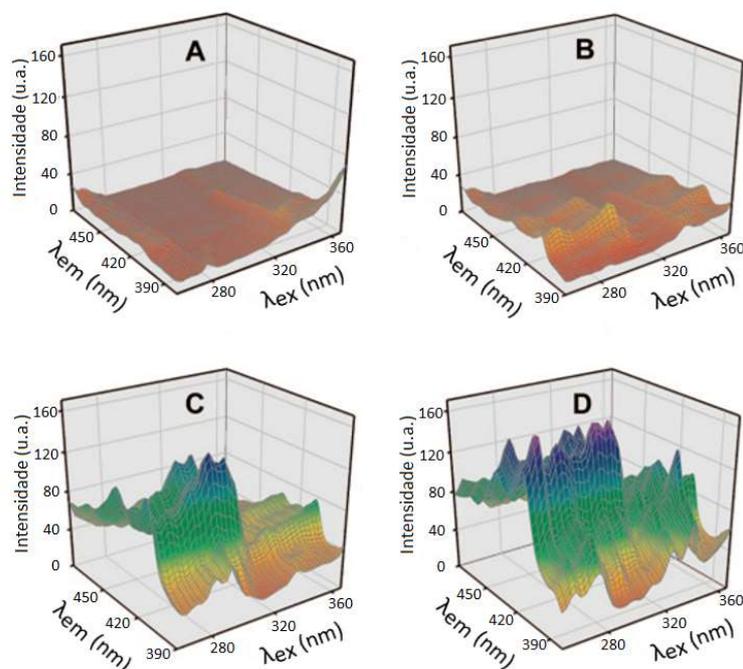


Figura 1.15: espectros de fluorescência (excitação x emissão) medidos em náilon após a passagem de 30 mL de (A) água; (B) solução de $27,2 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ de BaP e $28,0 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ de DBA, (C) solução de $25,6 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ de BaP, $16,0 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ de DBA, $220 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ de BbF, $80 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ de BkF, $140 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ de BaA, $700 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ de ACEN e $160 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ de BghiP e (D) solução contendo um total de $6000 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ dos 16 HPAs prioritários (USEPA). (Fonte: fig 4 da ref. [39]).

Os algoritmos utilizados foram o PARAFAC e o U-PLS/RBL. O PARAFAC possui a capacidade de recuperar os sinais individuais de cada componente da mistura, por exemplo, na figura 15 são apresentados os perfis espectrais individuais (de excitação e emissão) de sete HPAs, que foram identificados (separados) matematicamente a partir de um espectro onde todos os sinais encontravam-se sobrepostos. Com isso, percebe-se o potencial do PARAFAC para a análise qualitativa de amostras. Por outro lado, o U-PLS/RBL obteve melhor desempenho na quantificação dos analitos nas misturas. Isso foi comprovado em outro experimento feito na presença de outros 14 HPAs interferentes (Figura 1.16), onde foram obtidas previsões satisfatórias para os analitos investigados.

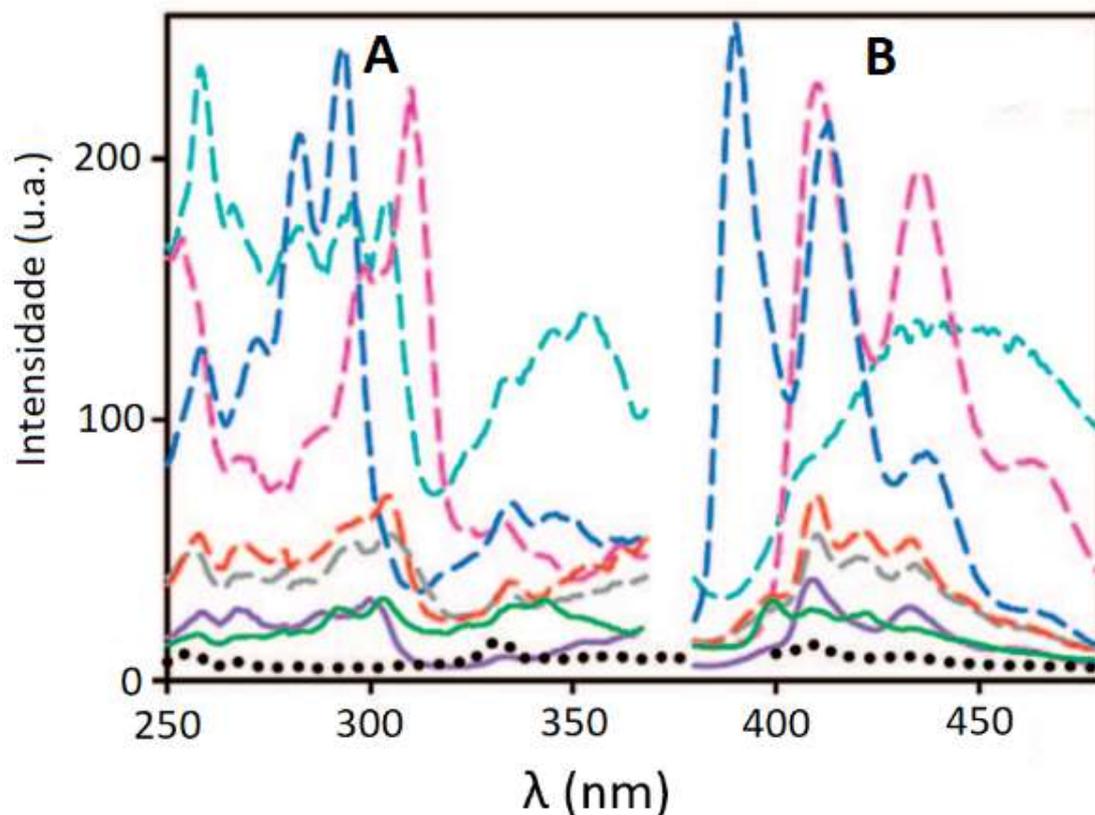


Figura 1.16: espectros (excitação A e emissão B) deconvoluídos das misturas dos sete HPAs; BbF (ciano), BKF (rosa), BaA (azul), ACEN (cinza), BghiP(vermelho), BaP (violeta) e DahA (verde). (Fonte. fig 3B da ref. [39]).

A contribuição mais significativa deste trabalho reside na quantificação confiável dos analitos mesmo na presença de interferentes. Essa característica é importante para aplicações em matrizes mais complexas como amostras ambientais contaminadas, uma vez que a presença de interferentes é esperada nesses sistemas. Os HPAs já haviam sido quantificados por EFS com

espectroscopia de fosforescência em superfície sólida anteriormente, porém, em misturas de apenas três HPAs e sem a sobreposição total dos sinais dos analitos, o que possibilita a seleção das variáveis sem interferência para analisá-lo isoladamente.

Em um trabalho anterior de nosso grupo de trabalho foi proposta uma estratégia diferente para a obtenção da matriz espectral de excitação-emissão em superfície sólida para determinação de HPAs leves (antraceno e fenantreno) em amostras de águas e extrato de sedimento [48]. Uma limitação da aplicação da EFS por filtração é que materiais em suspensão na solução podem ficar retidos na membrana após a extração. Isso compromete a detecção e inviabiliza a aplicação desta técnica em matrizes mais complexas. No trabalho, os efeitos da supressão de sinal são mostrados pelas baixas recuperações de antraceno (30,0% a 58,0%) e fenantreno (35,0% a 55,7%) em amostras de água potável com calibração externa (água ultrapura).

Considerando que o analito é adsorvido por toda a membrana, inclusive no verso, a estratégia utilizada para superar a interferência do material retido foi realizar a detecção na face oposta da membrana (seu verso). Com detecção realizada no verso, as recuperações em amostras de água potável foram substancialmente maiores para antraceno (50,0% a 87,0%) e fenantreno (79,0% e 100,7%). A detecção no verso também foi aplicada para determinar esses dois analitos em um extrato de sedimento, obtendo recuperações de 32,5% a 75,3% para antraceno e 74,7% a 112,9 para o fenantreno.

Adicionalmente, outra importante contribuição deste mesmo trabalho foi a substituição do acionamento manual da seringa por um sistema de propulsão por pressão positiva (Figura 1.18) desenvolvido em nosso laboratório. Esse sistema dispensa o acionamento manual da seringa e possui um maior controle de pressão além de aumentar a frequência analítica de 5 EFS.h⁻¹ (seringa, 25 mL) para 20 EFS h⁻¹ (sistema desenvolvido, 25 mL).

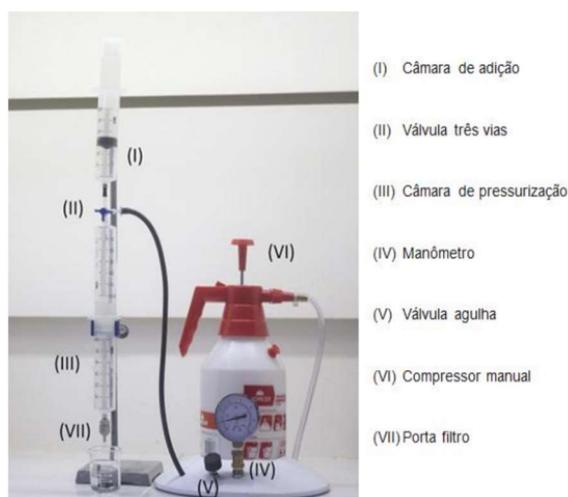


Figura 1.17: sistema de EFS desenvolvido, e a descrição de seus componentes. (Fonte: fig. 9, ref [48]).

1.6 Objetivo

O objetivo desse trabalho é desenvolver uma metodologia de detecção de HPAs leves adsorvidos em membrana de náilon por espectrofluorimetria e calibração de ordem superior aplicar a mesma em amostras ambientais de água e sedimento.

Objetivos específicos

- 1 – Estudar como os HPAs difundem e adsorvem na membrana de náilon em função da adição de solventes orgânicos apolares, buscando priorizar a concentração dos analitos no verso da membrana.
- 2 – Aplicar os escores do PARAFAC como parâmetro de intensidade em análises comparativas da quantidade de um mesmo analito em várias misturas.
- 3 – Estabelecer uma estratégia de construção de bancos de dados para calibração de segunda ordem com base em soluções padrão que aproveite as consequências da vantagem de segunda ordem.
- 4 – Construir e validar modelos quantitativos para os HPAs leves em suporte de membrana de náilon.
- 5 – Aplicar modelo em amostras de água de abastecimento e solos fortificados com os HPAs leves de interesse.

Capítulo 2

Metodologia

2.1 Soluções padrão e amostras

Soluções padrão estoques de antraceno (ANT), fenantreno (FEN) e fluoreno (FLU) foram preparados a partir de reagentes de alta pureza (Sigma-Aldrich) em metanol. As soluções padrão de trabalho foram preparadas por diluições adequadas das soluções estoque dos HPAs em balões volumétricos de 25 mL com 3,0 mL acetonitrila (Sigma-Aldrich) para análise das amostras de água potável e com 3,0 mL de metanol para análise das amostras de extratos de sedimentos, sendo aferidos com água ultrapura.

Para as amostras de água potável, as curvas de calibração dos HPAs usadas na elaboração dos modelos foram construídas com concentrações de 0,4, 0,8, 1,2, 1,6 e 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de ANT; 0,80, 2,40, 4,00, 5,60 e 7,20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de FEN e 6, 12, 18, 24 e 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ de FLU. Para os extratos de sedimento as concentrações foram de 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 e 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de ANT; 0,8, 1,6, 2,4, 3,2 e 4,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de FEN e 2, 4, 6, 8 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de FLU. Cada conjunto de calibração contém 15 misturas dos três HPAs, uma vez que cada uma das misturas está em triplicata, mas as 15 amostras possuem composições diferentes. As composições das misturas de calibração estão apresentadas na tabela 2.1.

Tabela 2.1: composições das misturas de calibração dos HPAs em $\mu\text{g L}^{-1}$

Mistura	Modelo para água			Modelo para sedimentos		
	ANT	FEN	FLU	ANT	FEN	FLU
1	0,4	7,2	6	0,2	4,0	2
2	0,8	5,6	30	0,4	3,2	10
3	1,2	4,0	12	0,6	2,4	4
4	1,6	2,4	24	0,8	1,6	8
5	2	0,8	18	1,0	0,8	6
6	0,4	0,8	30	0,2	0,8	10
7	0,8	7,2	24	0,4	3,2	8
8	1,2	2,4	18	0,6	1,6	6
9	1,6	5,6	12	0,8	3,2	4
10	2	4,0	6	0,8	2,4	2
11	2	0,8	6	1,0	0,8	2
12	1,6	7,2	12	0,6	4,0	4
13	1,2	2,4	18	1,0	1,6	6
14	0,8	5,6	24	0,4	4,0	8
15	0,4	4,0	30	0,2	2,4	10

As amostras usadas na validação do modelo para água potável foram preparadas com uso de água coletada na torneira do próprio laboratório. Em um balão de 25 mL com 3,0 mL de acetonitrila foram feitas as adições dos volumes apropriados dos estoques de ANT, FEN e FLU e posteriormente avolumado com a própria amostra de água potável. As concentrações dos analitos nas amostras de validação são apresentadas na tabela 2.2.

Tabela 2.2: concentração dos analitos nas amostras fortificadas usadas na validação do modelo, expressas em $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

Misturas	ANT	FEN	FLU
1	0,6	4,8	21
2	1	3,2	27
3	1,4	6,4	9
4	1,8	1,6	15
5	1,4	4,8	9
6	1,8	3,2	15
7	0,6	6,4	21
8	1	1,6	27
9	1,4	1,6	15
10	1,8	3,2	21
11	0,6	4,8	27
12	1	6,4	9

As amostras de sedimentos utilizados para construir o segundo conjunto de validação nesse trabalho gentilmente foram cedidos pela prof. Ilda Antonieta Salata Toscano do Laboratório de Estudos em Química Ambiental do Departamento de Química da UFPB (LEQA) tendo sido coletadas ao longo da bacia do Rio Gramame por seu grupo de trabalho. Na tabela 2.3 são apresentadas algumas características desses sedimentos.

Tabela 2.3: características das amostras de sedimento

Sedimento	Composição granulométrica (%)			Matéria Orgânica (%)	Imagem
	Cascalho $\phi > 2 \text{ mm}$	Areia $2 \text{ mm} > \phi > 63 \text{ }\mu\text{m}$	Silte+Argila $\phi < 63 \text{ }\mu\text{m}$		
1	6,143	44,85	49,00	6,10	
2	3,689	87,06	9,253	1,98	
3	5,494	92,34	2,169	0,68	
4	0,439	97,80	1,759	0,97	

A 2,0 g de cada amostra de sedimento foram adicionados volumes apropriados das soluções estoque de ANT, FEN e FLU, de modo que as concentrações finais destes HPAs nos sedimentos (expressos em $\mu\text{g Kg}^{-1}$) estivessem dentro das faixas de 30 a 90, 120 a 360 e 300 a 900, para ANT, FEN e FLU, respectivamente. Na tabela 2.4 são apresentadas quatro composições de misturas de HPAs usadas para preparar quatro amostras fortificadas para cada um dos quatro sedimentos da tabela 2.3. Dessa forma, para a validação do modelo com sedimentos foram preparadas 16 amostras fortificadas.

Tabela 2.4: concentração nos HPAs nas amostras fortificadas de sedimentos ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)

Composição	ANT	FEN	FLU
1	30	280	700
2	50	200	900
3	70	360	300
4	90	120	500

De cada amostra fortificada de sedimento foi retirada uma alíquota de 0,25 g para a validação do método. Cada alíquota foi levada para uma coluna de extração de vidro com um chumaço de lã de vidro em seu interior para a retenção do sedimento. A extração dos analitos foi realizada com a passagem de 6,0 mL de uma solução metanol + água (1:1) através da coluna. Em seguida, 4,0 mL de água ultrapura percolaram a coluna para garantir a lavagem do sedimento e arrastar traços do solvente. Os solventes que passaram na coluna foram coletados em um balão

de 25 mL e avolumados com água ultrapura. Considerando que a extração dos analitos foi de 100 % e contabilizando a diluição realizada, os extratos de sedimento (amostras brutas) devem apresentar concentração nominal nas faixas 0,3 e 0,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ para ANT, 1,2 e 3,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ para FEN e 3,0 e 9,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o FLU, que estão dentro das faixas de trabalho mostradas na tabela 2.1. Na tabela 2.5 são apresentadas as concentrações dos analitos para as 16 amostras fortificadas do conjunto validação para as amostras de sedimento já corrigidas pelas massas pesadas nas etapas de preparo das amostras (2,000 g) e de extração (0,2500 g).

Tabela 2.5: concentrações corrigidas dos HPAs nas amostras do conjunto de validação para os extratos de sedimento (em $\mu\text{g Kg}^{-1}$).

Composição	Sedimento	ANT	FEN	FLU
1	1	30,04	280,35	700,88
2	1	50,11	200,46	902,06
3	1	70,06	360,32	300,27
4	1	90,01	120,02	500,08
1	2	30,03	280,28	700,70
2	2	50,11	200,45	902,03
3	2	70,23	361,21	301,00
4	2	90,29	120,38	501,60
1	3	30,04	280,41	701,01
2	3	50,01	200,02	900,10
3	3	70,17	360,90	300,75
4	3	90,18	120,25	501,02
1	4	30,03	280,30	700,74
2	4	50,02	200,07	900,32
3	4	70,18	360,94	300,78
4	4	90,07	120,09	500,38

2.2 Procedimento de pré-concentração em membrana de náilon

Exatamente 25 mL de cada solução das misturas de calibração e amostras fortificadas (de água potável e extrato dos sedimentos) foram filtradas em membranas de náilon de 13 mm diâmetro e 0,22 μm de poro da marca Whatman[®]. Para a propulsão da solução através da membrana foi desenvolvido um sistema *labmade* de pressurização positiva (figura 1.X) acoplado a um porta-filtro Milipore <pegar referência>. O sistema de pressurização manteve constante a pressão exercida na superfície da solução em 2,0 bar. O porta-filtro utilizado possui um anel interno de politetrafluoretileno (PTFE) que restringe a superfície de filtração para 7,0 mm de diâmetro. Após a filtração, as membranas foram deixadas em temperatura ambiente por 40 min

para a secagem e, em seguida, os espectros adquiridos diretamente na superfície limpa (verso) da membrana. As membranas foram guardadas envoltas em papel vegetal e sob refrigeração (-20°C) para possíveis medições futuras.

2.3 Aquisição dos espectros

As medidas fluorimétricas foram realizadas em um espectrofluorímetro modelo Cary Eclipse (Agilent) equipado com porta-amostras para filmes finos e sólidos (Figura 2.1). Foram feitas varreduras nos comprimentos de onda de excitação (245 a 279 nm) e emissão (295 nm a 451 nm), ambas com passo de 2 nm e monocromadores de excitação e emissão com 2,5 nm de abertura de fenda. As matrizes espectrais de excitação e emissão (EEM) foram adquiridas diretamente sobre as membranas de náilon usadas na filtração. As medidas foram realizadas nas duas faces de cada membrana, frente (face exposta à solução durante a filtração) e verso (face oposta).

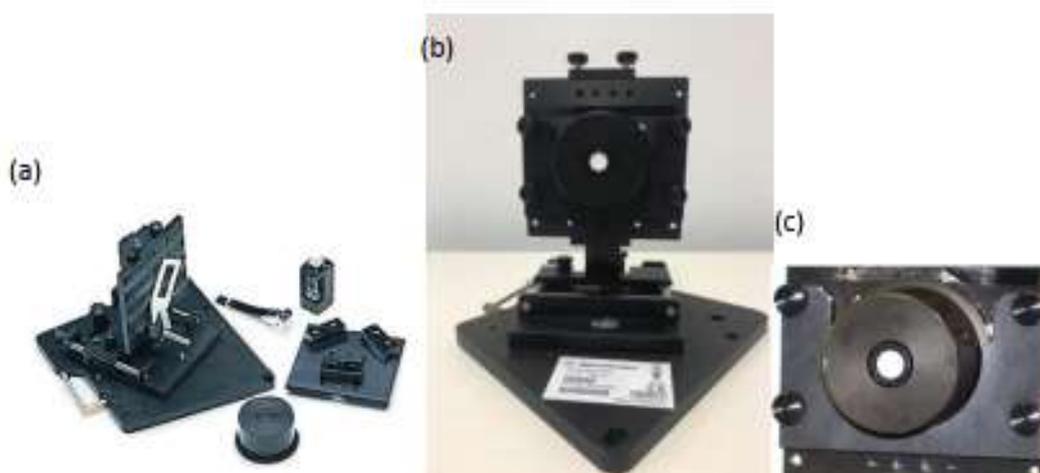


Figura 2.1: porta amostra para filmes finos e sólidos do equipamento Cary Eclipse (a) Foto do catálogo do equipamento mostrando opções de acessórios, (b) Foto da montagem usada nesse trabalho, (c) detalhe da membrana no centro do suporte.

2.4 Tratamento de dados

Após a aquisição dos dados, o primeiro pré-processamento realizado foi a subtração da matriz do branco das matrizes das demais amostras. Essa subtração foi feita usando uma rotina *labmade* escrita em ambiente MATLAB[®]. Nesse trabalho, foi adotado por convenção que os espectros de excitação correspondem às colunas da EEM e os espectros de emissão correspondem às linhas. As matrizes das amostras são empilhadas em um tensor tridimensional, que é um arranjo de dados de segunda ordem. Nesse contexto, a técnica empregada para decompor os espectros das amostras em componentes puros e quantificar por calibração pseudo-univariada foi

a análise de fatores paralelos (PARAFAC) com uso dos algoritmos para Mathworks Matlab do Nway Toolbox desenvolvidos por Bro [31, 32] e executado através da interface de usuário MVC2 desenvolvida por Olivieri e colaboradores [33]. Cada amostra foi modelada por vez junto aos padrões (curvas analíticas), o parâmetro utilizado para determinar o número de componentes foi o Sfit. Foi utilizada a restrição de não-negatividade nas três vias.

2.5 Limite de Branco, Limite de Detecção e Limite de Quantificação

Os limites de detecção (LDs) e quantificação (LQs) foram calculados a partir dos limites de branco (LBs) conforme proposto por Armbruster e Pry [49] e sugerido por Caldas et al. [50] para métodos de calibração de segunda ordem. Como esses números de mérito foram estimados a partir dos resultados de previsão em vez dos parâmetros do modelo, foi possível obter um único resultado geral estimativa do LD para o método proposto.

LB é a maior concentração aparente do analito esperada ao analisar réplicas de uma amostra livre de analito. A Equação 2.1 foi utilizada para estimar os valores de LB:

$$\overline{LB} = \bar{y}_b + t_{N-1,95\%}s(y_b) \quad (2.1)$$

onde \bar{y}_b é a média das concentrações previstas para as amostras em branco, $t_{N-1,95\%}$ é o valor t para N-1 graus de liberdade com um nível de confiança de 95% e $s(y_b)$ é o desvio padrão de as concentrações previstas para as amostras em branco. Por outro lado, os valores de LD foram calculados de acordo com a Equação 2.2:

$$LD = LB + t_{N-1,95\%}s(y_{min}) \quad (2.2)$$

onde $s(y_{min})$ é o desvio padrão das concentrações previstas para as soluções nas quais a concentração do analito era mínima. Neste trabalho, foram estimados valores de $s(y_b)$ com 11 e 39 graus de liberdade e $s(y_{min})$ com 5 e 4 graus de liberdade para amostras de água e sedimentos, respectivamente. Finalmente, os valores de LQ foram estimados em $3,3 \times LD$.

Capítulo 3

Resultados e discussão

3. Resultados e discussão

3.1 Detecção diretamente na membrana e resíduo pós-filtração

Na detecção do sinal de fluorescência do analito suportado na membrana de náilon, é importante que ao final da EFS não fique depositado material sobre a superfície da membrana. Caso contrário pode-se observar uma supressão na intensidade do sinal, visto que esse material depositado impede que parte da radiação de excitação alcance as moléculas adsorvidas na membrana, dessa forma, menos moléculas serão excitadas e menos emitirão fluorescência, ou seja, a emissão de fluorescência é atenuada de forma não reproduzível, comprometendo assim a informação quantitativa (intensidade) da medida. Geralmente em amostras ambientais, materiais particulados oriundos da matéria orgânica dissolvida são retidos pela membrana, cuja função primária é a filtração. Essa é a principal limitação da técnica de espectroscopia em suporte de náilon quando aplicada em amostras ambientais mais complexas.

Esse material retido permanece apenas na superfície do filtro que ficou exposta diretamente à solução, assim, o lado oposto à filtração permanece visualmente intacto. Veja abaixo na figura 3.1.

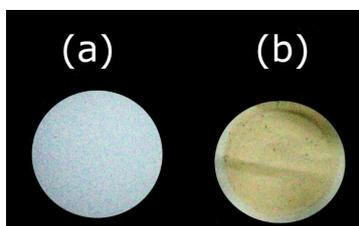


Figura 3.1: membrana de náilon após a filtração de água potável. (a) verso da membrana e (b) frente da membrana.

Considerando que o analito é adsorvido na membrana e encontra-se distribuído por toda ela, inclusive no verso da mesma, foi realizada a medição do sinal no verso para verificar se existe uma quantidade mensurável de analito na face oposta. A figura 3.2 mostra os espectros para 25 mL de soluções aquosas de ANT, FEN e FLU com 2, 7 e 30 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ respectivamente, filtradas em membranas de náilon e medidas nas duas faces da membrana.

Observou-se que ANT visualmente não possui sinal quando a medida é realizada no verso da membrana (Fig. 3.2 a, linha azul pontilhada), já FEN possui sinal quando medido no verso, porém, com intensidade consideravelmente baixa quando comparada ao sinal medido na frente

(Fig. 3.2 b). FLU apresentou maior intensidade de fluorescência quando medido no verso da membrana, no entanto a intensidade do sinal medido na frente também foi relativamente alta (Fig. 3.2 c).

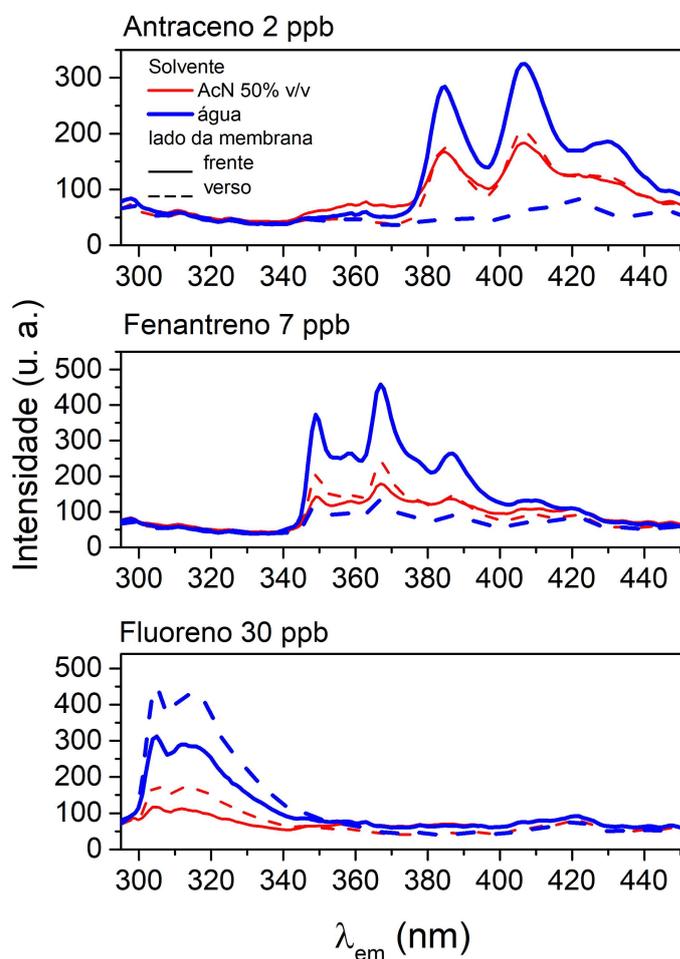


Figura 3.2: sinal dos analitos na frente e verso da membrana após a filtração de 25,00 mL de solução dos analitos em água pura e com adição de 3,0 mL de acetonitrila.

Esses resultados condizem com a relação de afinidade desses analitos com o solvente (água) FLU > FEN > ANT. Assim, ao passar pela membrana a água carrega com mais eficiência fluoreno, fenantreno e antraceno, respectivamente.

Como o antraceno não apresentou sinal mensurável quando medido no verso da membrana, foi cogitada a possibilidade de modificar a composição do solvente de modo a aumentar a afinidade do mesmo pelos HPAs. Com um solvente mais apolar se espera um arraste mais efetivo de antraceno e conseqüentemente o surgimento de sinal no verso da membrana.

Neste contexto, optou-se por adicionar acetonitrila a solução e foi realizado um experimento para otimizar o volume adicionado em função do aumento da intensidade do sinal dos.

A figura 3.3 mostra, para esses três HPAs, a relação entre o aumento do volume de acetonitrila no solvente e o escore do modo A do PARAFAC, referentes ao verso (Fig 3.3 A) e na frente (Fig 3.3 B) da membrana. Os escores do modo A são representações da intensidade de cada analito (colunas na matriz do modo A) em cada solução (linhas na matriz do modo A) obtidos na fatoração das EEMs dessas soluções pelo algoritmo do PARAFAC. Sempre é possível considerar as variações de escores do modo A como proporcionais a variações de intensidades ao longo de um mesmo analito. No entanto, entre dois analitos (colunas distintas da matriz do modo A) as intensidades não são comparáveis já que os escores também incluem propriedades típicas do analito como absorvância, rendimento quântico e força de oscilador.

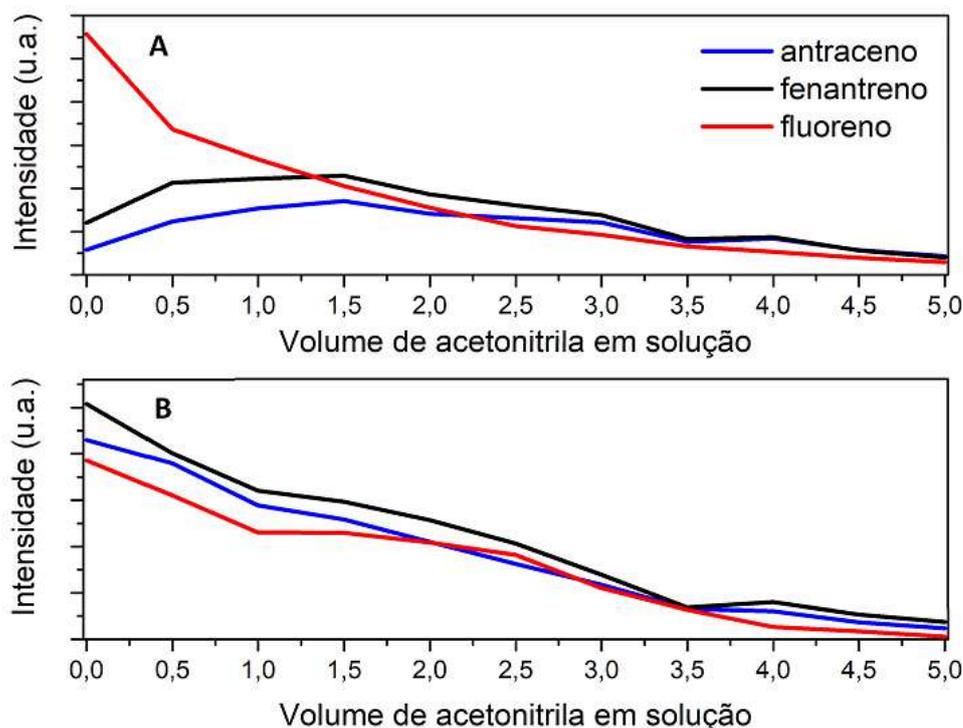


Figura 3.3: variação da intensidade de sinal dos analitos com o aumento do volume de acetonitrila em solução. Detecção no verso da membrana (A) e na frente da membrana (B).

O volume de acetonitrila escolhido para fazer a adição foi de 3 mL. Na figura 3.2, a diferença nas intensidades dos sinais dos três HPAs (frente e verso) quando filtrado apenas com água (em azul) e quando filtrado com adição de 3 mL de acetonitrila (em vermelho) é mostrada.

Com a adição de 3 mL acetonitrila no preparo da solução, o sinal do ANT diminuiu quando medido na frente da membrana (Fig 3.2 a, linha vermelha contínua) por outro lado,

quando medido no verso apresenta sinal com intensidade equivalente ao medido na frente (Fig 3.2 a, linha vermelha tracejada); a intensidade de fluorescência do FEN com a detecção na frente da membrana sofreu uma diminuição significativa (Fig 3.2 b, linha vermelha contínua), em contrapartida a intensidade do sinal medido no verso da membrana sofreu aumento, chegando a superar a intensidade medida na frente (Fig 3.2 b, linha vermelha tracejada) e; o FLU sofreu redução de intensidade do sinal com as medições em ambos os lados da membrana (Fig 3.2 c, linhas vermelhas), tendo eluído parcialmente com o solvente, porém, permanecendo com uma intensidade significativa quando medido no verso da membrana, por ser o HPA mais solúvel e, conseqüentemente, estar em maior concentração.

A medida espectroscópica realizada diretamente no verso da membrana de náilon elimina a necessidade da etapa de extração utilizada nas técnicas convencionais. As interferências dos demais constituintes da amostra são isoladas em uma série de etapas onde destaca-se a filtração, que separa o que é retido na membrana do que permeia através da mesma. Possíveis contaminantes solubilizados e que não tenham afinidade pelo náilon eluem com o filtrado sendo também eliminados da detecção. Os analitos e demais substâncias que possuem afinidade pelo náilon se distribuem pela membrana inclusive no verso, onde a medida é realizada. A matriz é simplificada, uma vez que passa a ser apenas náilon e os materiais que nele se adsorvem. Por fim, a vantagem de segunda ordem do PARAFAC resolve as interferências espectrais desconhecidas ao proceder da cromatografia virtual.

3.2 Determinação simultânea de ANT, FEN e FLU em água potável

A água potável é um tipo de amostra que apresentou problema por acúmulo de resíduo sobre a membrana. Nesse contexto, foi realizado um experimento para a determinação dos três HPAs (ANT, FEN e FLU) em amostra de água potável por EFS com membrana e detecção na face da membrana oposta a filtração. Vale ressaltar que foram adicionados 3 mL de acetonitrila em todos os padrões e amostras, de modo a possibilitar a detecção da fluorescência dos três HPAs no verso da membrana. A figura 3.4 mostra o espectro tridimensional (excitação, emissão e intensidade) dos três analitos e de uma mistura.

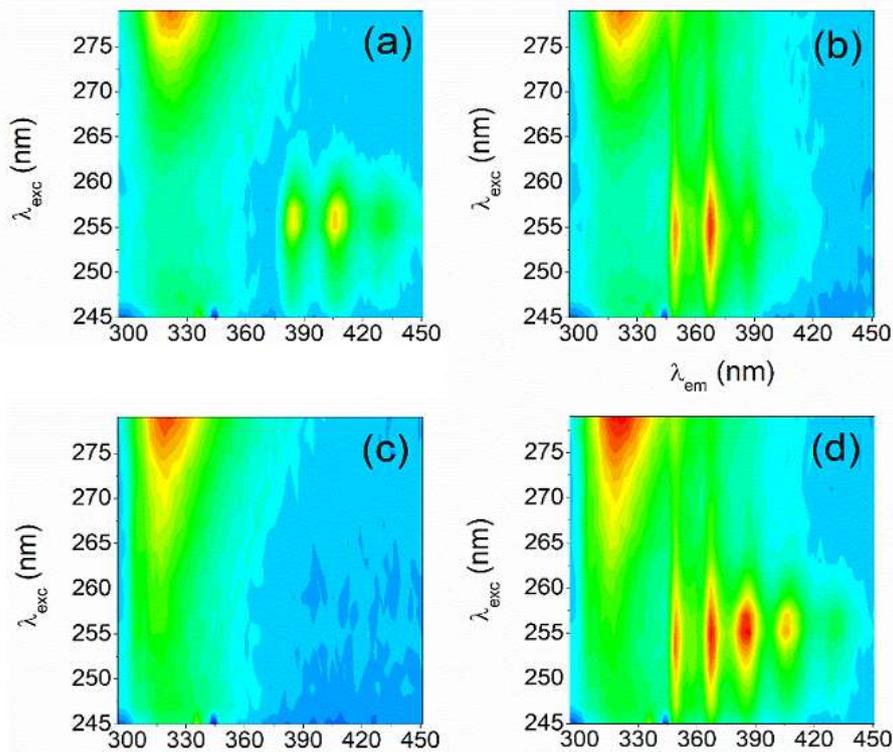


Figura 3.4: espectros tridimensionais medidos no verso da membrana que adsorveu (a) antraceno, (b) fenantreno, (c) fluoreno e (d) de uma mistura desses três HPAs (d).

Na modelagem pelo PARAFAC, o número de componentes nas amostras foi estimado através do ajuste residual (s_{fit}) que leva em conta o desvio padrão dos resíduos. Para todas as amostras de água potável o número de componentes estimado foi igual a quatro. A figura 3.5 é o gráfico da variação do s_{fit} de uma das amostras de água potável com o número de componentes no modelo FARAFAAC.

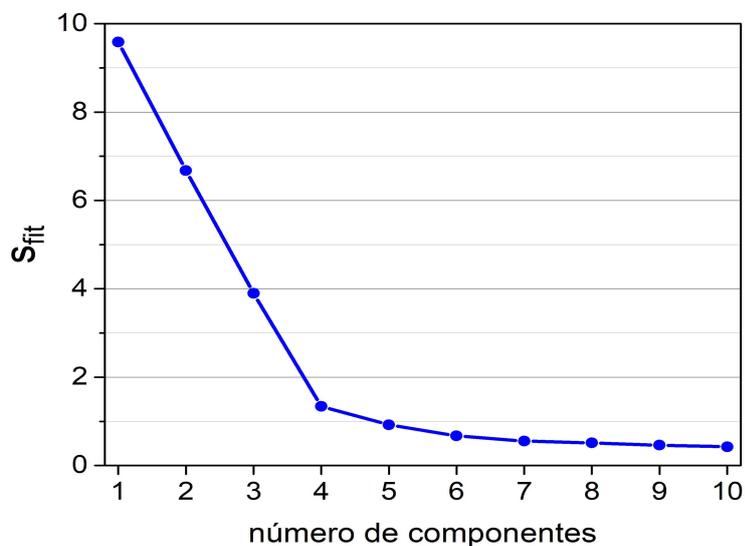


Figura 3.5: gráfico do s_{fit} versus o número de componentes para amostras de água potável.

A deconvolução dos dados com 4 componentes teve como resultado a separação dos perfis individuais de cada HPAs e um quarto perfil que remete ao sinal de fundo (bg). Na figura 3.6 pode-se ver os perfis deconvoluídos.

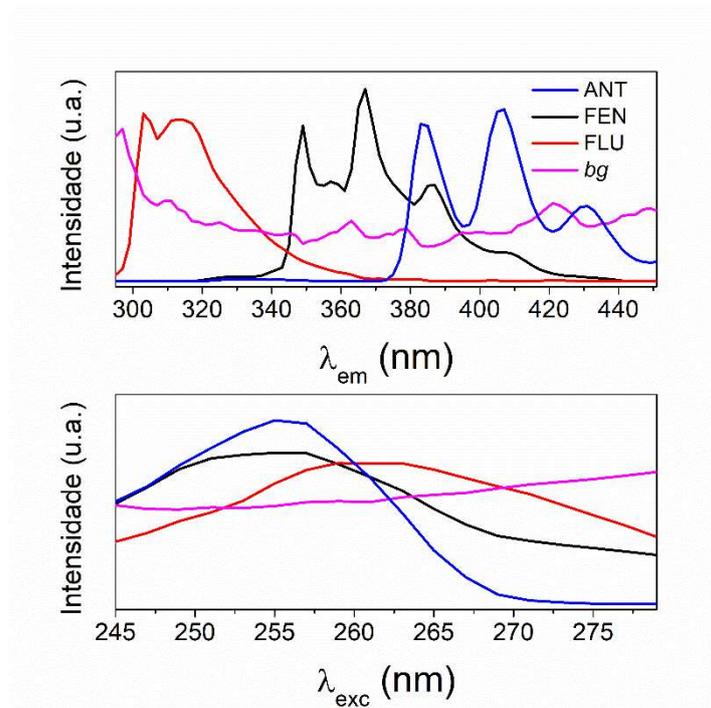


Figura 3.6: perfis do PARAFAC para as amostras de água potável contaminadas com HPAs leves.

Esses perfis espectrais separados matematicamente trazem consigo dados referentes a intensidade do sinal de cada componente na amostra, assim, cada perfil espectral recuperado da amostra foi quantificado com uso de sua respectiva curva analítica (calibração pseudo-univariada). Esse procedimento foi realizado individualmente para cada uma das 12 amostras de água potável. A tabela 3.1 apresenta o desempenho do método na quantificação dos analitos em água potável fortificada. A tabela 3.2 apresenta parâmetros dos modelos quantitativos obtidos com o PARAFAC. Os resultados mostram que o método é eficiente para essa aplicação, as recuperações médias dos três HPAs apresentam valores em torno de 100%.

Tabela 3.1: HPAs em água de torneira ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Espectros medidos no verso da membrana de náilon. Modelos PARAFAC construídos com 4 fatores e centrado na média. As predições são realizadas uma amostra por vez.

	Antraceno			Fenantreno			Fluoreno		
	Ref	Pred	Rec(%)	Ref	Pred	Rec(%)	Ref	Pred	Rec(%)
1	0,60	0,64	106,7	4,80	5,03	104,8	21,00	21,26	101,2
2	1,00	0,96	96,0	3,20	3,13	97,8	27,00	26,49	98,1
3	1,40	1,21	86,4	6,40	6,07	94,8	9,00	10,20	113,3
4	1,80	1,87	103,9	1,60	1,52	95,0	15,00	14,76	98,4
5	1,40	1,32	94,3	4,80	4,73	98,5	9,00	9,52	105,8
6	1,80	1,86	103,3	3,20	3,20	100,0	15,00	15,17	101,1
7	0,60	0,59	98,3	6,40	6,54	100,2	21,00	20,92	99,6
8	1,00	1,05	105,0	1,60	1,61	100,6	27,00	26,50	98,1
9	1,40	1,41	100,7	1,60	1,50	93,8	15,00	14,09	93,9
10	1,80	1,84	102,2	3,20	3,10	96,9	21,00	21,21	101,0
11	0,60	0,60	100,0	4,80	4,85	101,0	27,00	24,70	91,5
12	1,00	1,02	102,0	6,40	6,80	106,3	9,00	10,53	117,0

Tabela 3.2: valores de mérito para a determinação de ANT, FEN e FLU por PARAFAC em amostras de água potável. Concentração dos analitos em $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

Média dos valores de mérito dos modelos (desvio padrão) para 4 componentes			
CORCONDIA	91,23 (0,32)		
S_{fit}	6,07 (0,14)		
Valores de mérito por analito	ANT	FEN	FLU
Faixa de concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,2-1,0	0,8-4,0	2,0-10,0
RMSEP ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,029	0,18	0,53
Recuperação Média (desvio padrão)	96 (9)	98 (12)	104 (14)
r^2	0,99	0,98	0,94
LB*	-0,011	0,23	0,19
LD**	0,099	0,41	0,69
LQ	0,33	1,34	2,27

* Estimado com 39 graus de liberdade e 95% de confiança

** $S_{y_{\text{min}}}$ estimado com 3 graus de liberdade e 95% de confiança

Os valores de LD estiveram consistentemente abaixo dos intervalos de concentração utilizados para o tratamento simultâneo determinação de ANT, FEN e FLU em amostras de água de torneira. Neste trabalho, os valores de LD e LQ foram estimados com os resultados da previsão [49,50]. Para estimar os valores de LD, o software MVC2 usa parâmetros de modelo [51,33,52,53] para fornecer resultados altamente precisos, mas fornece apenas um valor estimado por amostra, o que não é adequado para a avaliação da precisão e exatidão do método proposto.

O tempo de filtração de cada amostra (25 mL) foi de aproximadamente 2,5 minutos. Há de se considerar o tempo de 40 minutos para a secagem da membrana entre a filtração e a aquisição do espectro. No entanto, esse é um tempo de espera não compromete a frequência analítica uma vez que outras amostras podem ser filtradas e/ou medidas no decorrer desse tempo. Mais 2,5 minutos são necessários para a aquisição do espectro tridimensional nas configurações usadas nesse trabalho. Em um computador de capacidade mediana a modelagem de uma amostra é realizada em no máximo 15 segundos. Metodologias tradicionais de pré-concentração em fase sólida incluem etapas de extração Soxhlet que podem demorar até 16 horas, seguidas de determinação cromatográfica cujo tempo de corrida a depender do método também demanda horas para a realização. [54]

As medições de EEFM realizadas diretamente nas membranas de náilon eliminam a necessidade de outras etapas de extração. Interferências espectrais de outros constituintes da amostra são isoladas em poucos passos. Durante a etapa de filtração, alguns sólidos suspensos e partículas materiais (como sólidos orgânicos dissolvidos) são retidos na face pressurizada da membrana enquanto os analitos se difundem em direção à sua face não pressurizada. Após a etapa de filtração, a amostra a matriz é reduzida apenas à membrana de náilon e às espécies adsorvidas em sua superfície. Finalmente, a vantagem de segunda ordem do PARAFAC pode discriminar qualquer interferente desconhecido e minimizar seus efeitos após realizar uma “microcromatografia” para obter sinais EEFM.

3.3 Determinação simultânea de ANT, FEN e FLU em sedimentos

Sedimentos são matrizes heterogêneas mais complexas que água potável. Diferentes características físicas, como granulometria e morfologia das partículas, e químicas, como composição e teor de matéria orgânica, podem dificultar o desenvolvimento de uma metodologia aplicável para diferentes tipos de sedimentos.

Uma aplicação mais ampla da técnica de detecção no verso da membrana foi realizada, dessa vez para determinação de HPAs leves (ANT, FEN e FLU) em sedimentos. Nesse tipo de amostra ocorre um acúmulo significativo de material sobre a superfície da membrana após a EFS, inviabilizando assim a detecção na frente da mesma. Por outro lado, o verso da membrana apresenta-se visualmente limpo, mesmo variando consideravelmente o tipo de sedimento, dessa forma, é provável que a mesma curva analítica possa ser utilizada para quantificar o(s) analito(s) em sedimentos diferentes. Veja na figura 3.7 as faces frontais de membranas após filtração de quatro sedimentos diferentes.



Figura 3.7: faces frontais das membranas após EFS dos extratos dos quatro diferentes sedimentos. O número na figura corresponde a descrição do sedimento na tabela 2.3 da metodologia.

Na etapa de extração, o uso do metanol apresentou um pouco mais de eficiência para extrair HPAs do sedimento em relação a acetonitrila. Por outro lado, o metanol tem o mesmo efeito de promover a eluição dos analitos para o verso da membrana. Assim, nessa aplicação foi utilizado o metanol em substituição a acetonitrila na preparação dos padrões, já que na preparação da amostra, o metanol já estaria presente como parte do extrato da amostra.

Quatro amostras de cada sedimento da tabela 2.3 foram contaminadas com concentrações variadas de cada HPA. Uma curva analítica de cada HPA, preparada em água ultrapura mais 3 mL de metanol (solvente utilizado na extração dos sedimentos), foi utilizada para quantificar os analitos em quatro diferentes sedimentos. O tratamento dos dados foi realizado com uso do PARAFAC, sendo o número de componentes definido pelo ajuste residual (S_{fit}) que indicou quatro componentes em todas as amostras. A figura 3.8 mostra o gráfico s_{fit} de uma das amostras de sedimento com a variação do número de componentes no modelo PARAFAC.

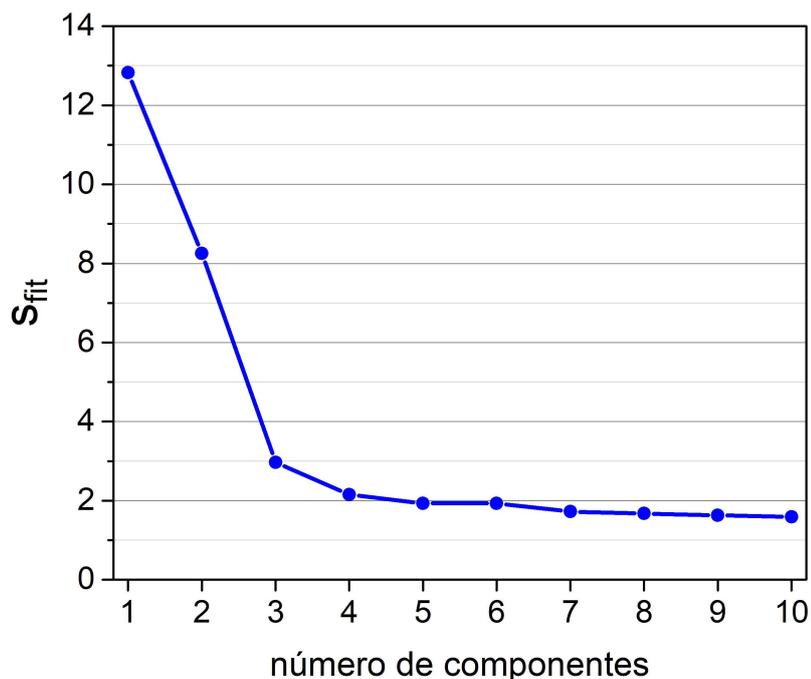


Figura 3.8: valor do S_{fit} versus número de componentes do PARAFAC para uma amostra representativa de extrato de sedimento fortificado com HPAs leves.

A deconvolução dos espectros com quatro componentes mostra os perfis espectrais dos três HPAs adicionados e mais um quarto perfil proveniente da composição do sedimento. A figura 3.9 mostra os perfis dos componentes modelados pelo PARAFAC para o sedimento 3.

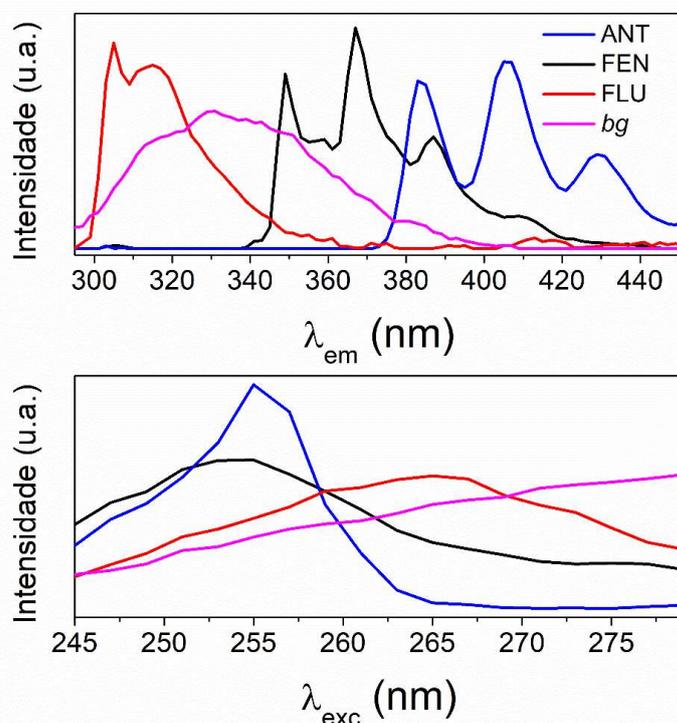


Figura 3.9: perfis do PARAFAC para as amostras de sedimentos contaminadas com HPAs leves. Amostra do sedimento 3.

Os perfis de emissão provenientes dos sedimentos (*bg*; cor magenta) apresentaram-se semelhantes para um mesmo sedimento, porém, em perfis de emissão de diferentes sedimentos percebe-se diferenças espectrais (figura 3.10).

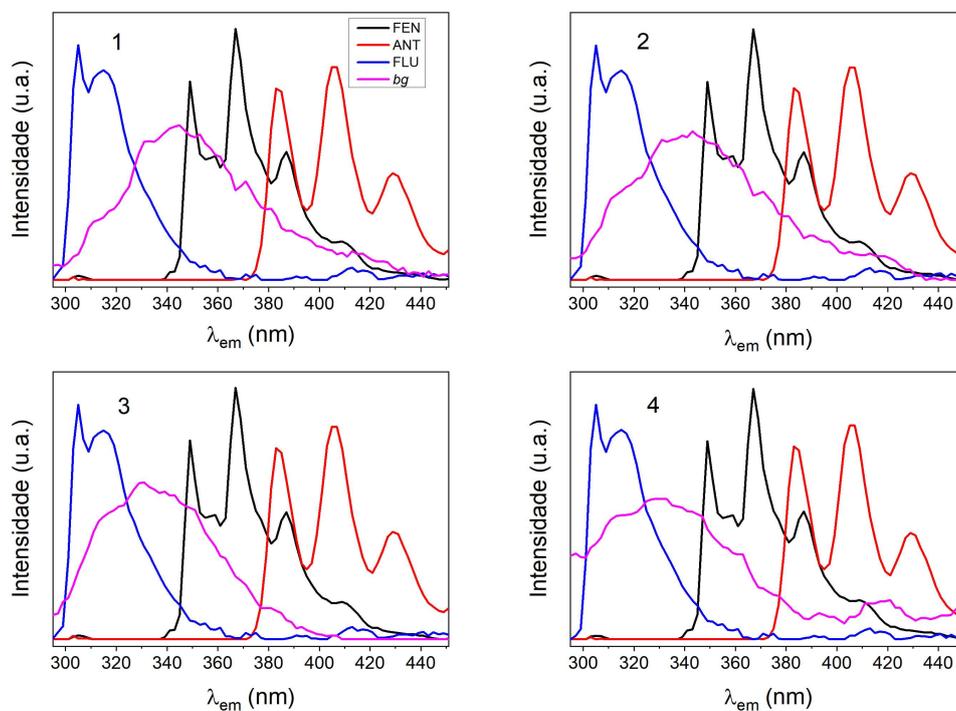


Figura 3.10: perfis espectrais de emissão do sinal de fundo (magenta) para os 4 solos distintos.

Já com os perfis individuais de cada HPA separados, foi feita a quantificação de cada analito com uso da curva analítica correspondente (calibração pseudounivariada). Esse procedimento foi realizado em todas as 16 amostras de sedimentos, uma por vez. Os resultados das quantificações encontram-se na tabela 3.3 e os valores de mérito na tabela 3.4

Table 3.3: HPAs em amostras de sedimento (ppb). Espectros medidos no verso da membrana de náilon. Modelos PARAFAC construídos com 4 fatores e centrado na média. As previsões são realizadas uma amostra por vez.

	Antraceno			Fenantreno			Fluoreno		
	Ref	Pred	Rec(%)	Ref	Pred	Rec(%)	Ref	Pred	Rec(%)
11	30,04	25,72	85,6	280,35	230,78	82,32	700,88	615,04	87,75
12	50,11	39,52	78,9	200,46	152,23	75,94	902,06	828,53	91,85
13	70,06	60,31	86,1	360,32	328,75	91,24	300,27	293,67	97,80
14	90,01	83,37	92,6	120,02	94,77	78,96	500,08	521,72	104,33
21	30,03	28,15	93,7	280,28	216,02	77,07	700,70	610,40	87,11
22	50,11	44,79	89,4	200,45	171,32	85,46	902,03	802,90	89,01
23	70,23	57,16	81,4	361,21	364,13	100,81	301,00	263,49	87,54
24	90,29	87,41	96,8	120,38	101,17	84,04	501,60	472,78	94,26
31	30,04	33,93	113,0	280,41	287,42	102,50	701,01	580,80	82,85
32	50,01	51,25	102,5	200,02	200,47	100,22	900,10	754,64	83,84
33	70,17	62,61	89,2	360,90	363,04	100,59	300,75	325,56	108,25
34	90,18	99,84	110,7	120,25	138,89	115,51	501,02	511,21	102,03
41	30,03	31,01	103,3	280,30	265,76	94,81	700,74	583,95	83,33
42	50,02	40,39	80,7	200,07	181,46	90,70	900,32	707,42	78,57
43	70,18	51,59	73,5	360,94	267,46	74,10	300,78	263,34	87,55
44	90,07	80,36	89,2	120,09	92,50	77,03	500,38	523,01	104,52

Tabela 3.4: valores de mérito para a determinação de ANT, FEN e FLU por PARAFAC em amostras de sedimentos. Concentração dos analitos em $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ de sedimento.

Média dos valores de mérito dos modelos (desvio padrão)			
CORCONDIA	97,46 (0,46)		
S_{fit}	2,20 (0,04)		
Valores de mérito por analito	ANT	FEN	FLU
Faixa de concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	30-90	120-360	300-900
RMSEP ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	25	110	264
Recuperação Média (desvio padrão)	93 (11)	91 (12)	93 (9)
r^2	0,96	0,96	0,98
LB*	3,7	14,7	26,3
LD**	10,6	30,6	94,2
LQ	35	101	311

* Estimado com 39 graus de liberdade e 95% de confiança

** $S_{y_{\text{min}}}$ estimado com 3 graus de liberdade e 95% de confiança

Os resultados demonstram que a espectroscopia de fluorescência suportado em membrana de náilon e associada com calibração de segunda ordem, em especial PARAFAC, é um método eficiente para a análise de HPAs leves em sedimentos. Porém, diferentemente da aplicação do método em água potável houve um claro desvio sistemático para valores menores de recuperação (figura 3.11), que em média ficaram em torno de 92%.

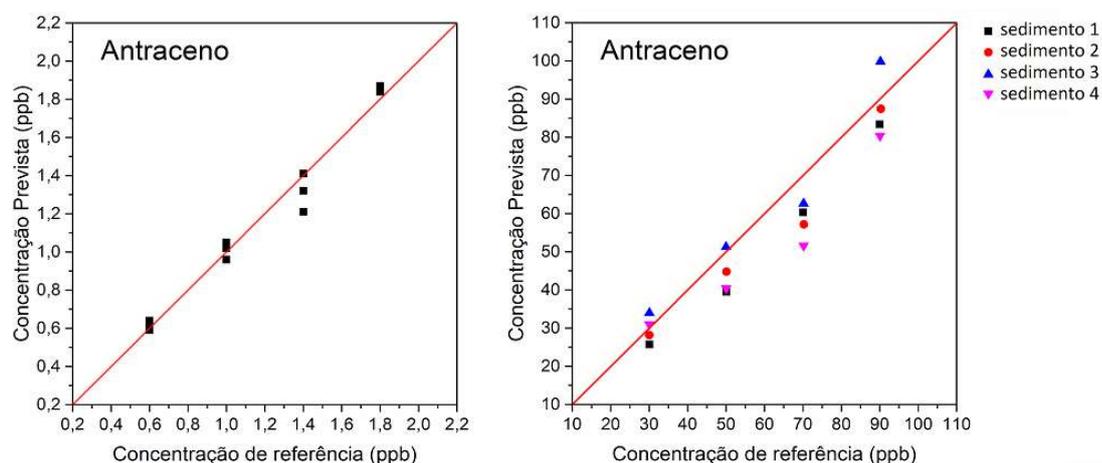


Figura 3.11: gráfico de recuperações versus referência (linha vermelha) para o antraceno em água potável (A) e sedimentos (B).

Essa diminuição da recuperação provavelmente está relacionada à etapa de extração dos analitos das amostras de sedimento. Esse problema também afeta significativamente a maioria dos métodos para determinação cromatográfica de analitos semelhantes, que envolvem etapas de extração e pré-concentração por evaporação do solvente. De modo geral, os órgãos ambientais aceitam recuperações entre 70 a 120 % e RSD<20% [55].

3.4 Comparação com outros métodos

A Tabela 4 compara as características analíticas do método usado nesse trabalho (NME-SID-EEFMS-PARAFAC) com aquelas relatadas em outros estudos [22-27]. Como esses estudos relataram métodos cromatográficos, eles se concentraram em melhorar as etapas de sorção e pré-concentração. O método proposto não requer a etapa de dessorção, o que economiza tempo. Por outro lado, é importante mencionar que os métodos cromatográficos são aplicados a um maior número de PAHs, enquanto apenas HPAs leves têm mobilidade em nylon. Além disso, o náilon pode ser adquirido facilmente. Os resultados indicam que o método proposto forneceu valores de LD e porcentagens de recuperação comparáveis aos outros métodos.

Tabela 3.5. Comparação do desempenho de diferentes métodos analíticos destinados à determinação de ANT, FEN e FLU em amostras de água potável e sedimentos.

	ANT	FEN	FLU	Método [Referência]
Faixa de concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,2-1,0	0,8-4,0	2,0-10,0	NME-SID-EEFMS- PARAFAC [este trabalho]
LD ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,099	0,41	0,69	
LQ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,33	1,34	2,27	
Faixa de recuperação (%)	77-113	83-117	81-132	
Faixa de concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	5-200	5-200	5-200	GC-MS [22]
LD ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	1,5	1,5	1,5	
LQ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	5,0	5,0	5,0	
Faixa de recuperação (%)	78-99	95-117	89-113	
Faixa de concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	6,25-100	6,25-100	6,25-100	GC-MS [23]
LD ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,15	0,29	0,38	
LQ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,52	0,96	1,28	
Faixa de recuperação (%)	81,9-104	81,9-104	83,6-99,2	
Faixa de concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	1,8-2000	0,9-2000	1,6-2000	GC-FID [24]
LD ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,6	0,3	0,4	
LQ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	2,4	2,4	2,4	
Faixa de concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,2-4000	0,1-4000	0,1-4000	GC-FID [25]
LD ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,013	0,010	0,010	
Faixa de concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	5,0-125	5,0-125	10,0-125	HPLC-DAD [26]
LD ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	1,5	1,5	3,0	
LQ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	5,0	5,0	10	
Recovery range (%)	91-101	92-107	72-113	
Calibration range	4,23- 1000	0,01-1000	4,57-1000	HPLC-FLD [27]
LD ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	1,27	0,004	1,37	
LQ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	4,47	0,01	4,23	
Recovery range (%)	71-91	79-88	80-87,5	

Capítulo 4

Conclusões

A adição de 3 mL de acetonitrila na preparação de 25 mL de solução de amostra garantiu a eluição quantitativa do antraceno, fenantreno e fluoreno para a face limpa (verso) da membrana filtrante de náilon. Volumes maiores de acetonitrila levam a eluição completa e consequente perda do analito no eluato. Volumes menores não permitiam a transferência do antraceno e do fenantreno para o verso da membrana.

Os escores do modo A foram efetivos como parâmetros globais da intensidade de emissão dos analitos isolados, mas medidos em soluções com mistura dos analitos. Isso permitiu que vários estudos de otimização da intensidade do sinal fossem feitos em paralelo usando misturas, evitando o preparo e manipulação de várias soluções por analito. Ressalta-se que o uso dos escores do modo A como parâmetro de intensidade é apropriado apenas se a comparação é feita para o mesmo analito ao longo de uma série de amostras, e não entre analitos distintos, uma vez que de uma coluna para outra, os escores do modo A representam escalas independentes.

Um protocolo de misturas para a construção de curvas de calibração para detecção simultânea usando calibração de segunda ordem foi proposto. Esse protocolo envolve a realização de três réplicas por ponto da curva de calibração e teste de robustez, já que as réplicas de analito não são réplicas de interferentes. Explorando a vantagem de segunda ordem, apenas 15 misturas são necessárias, independente do número de analitos modelados simultaneamente.

A aplicação da técnica de detecção no verso da membrana para a determinação de HPAs leves em água potável obteve êxito na quantificação de ANT, FEN e FLU nas concentrações em $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de 0,4 - 2, 0,8 - 7,2 e 6 - 30 respectivamente, com recuperações médias em torno de 100% indicando não haver perda dos analitos durante a aplicação do método, o que não seria possível caso a detecção convencional (realizada na frente da membrana) fosse aplicada devido ao acúmulo de resíduo sobre a superfície frontal.

A realização de detecção no verso da membrana não só possibilitou a aplicação da detecção na superfície da membrana em amostras consideravelmente mais complexas, como também se mostrou uma técnica muito versátil. Uma única curva analítica (preparada em água) de cada HPA foi utilizada para a determinação dos mesmos em 4 extratos sedimento distintos, com concentrações em $\mu\text{g kg}^{-1}$ de 30-90, 120-360 e 300-900 para ANT, FEN e FLU respectivamente. Além do mais, as recuperações obtidas para amostras de sedimentos apresentaram média de 92%, valor adequadamente dentro da faixa aceita pelos órgãos ambientais que varia de 70 a 120 % e $\text{RSD}<20\%$.

Referências

- [1] A. Mojiri, J.L. Zhou, A. Ohashi, N. Ozaki, and T. Kindaichi, Comprehensive review of polycyclic aromatic hydrocarbons in water sources, their effects and treatments, *Sci. Total Environ.*, 696 (2019) 133971. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133971>
- [2] H.I. Abdel-Shafy, and M.S. Mansour, A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: source, environmental impact, effect on human health and remediation, *Egypt. J. Pet.* 25 (2016) 107– 123. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2015.03.011>
- [3] K. Ravindra, R. Sokhi, and R. Van Grieken, Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: source attribution, emission factors and regulation, *Atmos. Environ.* 42 (2008) 2895–2921. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2007.12.010>
- [4] INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Some nonheterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures. In: *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, v. 92, 2010. Disponível em: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Monographs-On-The-IdentificationOf-Carcinogenic-Hazards-To-Humans/Some-Non-heterocyclic-Polycyclic-Aromatic-Hydrocarbons-And-Some-Related-Exposures-2010> Acesso em: 14/10/2022
- [5] R.O. Meire, A. Azeredo, M.J.P. Torres, Aspectos ecotoxicológicos de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. *Oecologia Brasiliensis*.v.11, n.2, p. 188-201, 2007.
- [6] B. Garban, H. Blanchoud, A. Motalay-Massei, M. Chevreuil, D. Ollivon, Atmospheric bulk deposition of PAHs onto France: trends from urban to remote sites. *Atmospheric Environment*, v. 36, p. 5395-5403, 2002.
- [7] Disponível em < <https://mundoeducacao.bol.uol.com.br/geografia/chuvasacidadas.htm> > Acesso : 05/01/2020.

- [8] M.F.C. Sampaio, Desenvolvimento e validação de método para determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em caranguejo-uçá (*ucides cordatus*) . 48 Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Sergipe. São Cristóvão, p. 7. 2016.
- [9] S.R. Wild, K.C. Jones, Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in the United Kingdom environment: a preliminary source inventory and budget. *Environmental Pollution*, v. 88, p.91–108, 1995.
- [10] J. Angerer, C. MANNUSCHRECK, J. Gundel, *Int. Arch Environ. Health* 1997, 70, 365.
- [11] <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.562813/full>
- [12] A.L. Bolden, J.R. Rochester, K. Schultz, and C.F. Kwiatkowski, Polycyclic aromatic hydrocarbons and female reproductive health: a scoping review, *Reprod. Toxicol.* 73 (2017) 61– 74. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2017.07.012>
- [13] R. Tong, X. Yang, H. Su, Y. Pan, Q. Zhang, J. Wang, et al., Levels, sources and probabilistic health risks of polycyclic aromatic hydrocarbons in the agricultural soils from sites neighboring suburban industries in Shanghai. *Sci. Total Environ.* 616 (2018) 1365–1373. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.179>
- [14] R.K. Rajpara, D.R. Dudhagara, J.K. Bhatt, H.B. Gosai, and B.P. Dave, Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) at the Gulf of Kutch, Gujarat, India: occurrence, source apportionment, and toxicity of PAHs as an emerging issue, *Mar. Pollut. Bull.* 119 (2017) 231–238. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.04.039>
- [15] Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSD). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). US Department of Health and Human Services, Public Health Service. Atlanta, 1996.
- [16] T. Rengarajan, P. Rajendran, N. Nandakumar, B. Lokeshkumar, P. Rajendran, and I. Nishigaki, Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons with special focus on cancer. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 5 (2015) 182–189. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(15\)30003-4](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(15)30003-4)

- [17] Safety data sheet from Sigma-Aldrich, Version 4.8 Revision Date 05/27/2016. <https://www.geneeseo.edu/sites/default/files/users/247/Fluorene.pdf>
- [18] H. K. Bojes, P. G. Pope, Characterization of EPA's 16 priority pollutant polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in tank bottom solids and associated contaminated soils at oil exploration and production sites in Texas. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v.47, p.288-295, 2007.
- [19] W.A. Lopes, J.B. Andrade, Fontes, formação, reatividade e quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) na atmosfera. *Química Nova*, v. 19, n. 5, p. 497-516, 1996.
- [20] CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE RESOLUÇÃO – CONAMA nº 420 2009 Disponível em < <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>> Acesso : 26/05/2020.
- [21] K.H. TAN, *Environmental soil science*. 2.ed. Nova York, Marcel Dekker, 2000. 480p.
- [22] M. Pereira-Coelho, L. Morés, W. C. Elias , V. L. A. F. Bascunan , L. A. S. Madureira, Development of hollow fiber-membrane microporous liquid–liquid extraction (HF-MMLLE) procedure based on palladium nanoparticles for determination of PAH in leached extracts, *Microchemical Journal* 169 (2021) 106562. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106562>
- [23] C.M.S. Vieira, G. Mafra, R. Brognolia, P. Richter, M. Rosero-Moreano, E. Carasek, A high throughput approach to rotating-disk sorptive extraction (RDSE) using laminar cork for the simultaneous determination of multiclass organic micro-pollutants in aqueous sample by GCMS, *Talanta* 208 (2020) 120459, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120459>
- [24] M. Beiranvand, A. Ghiasvand, Design and optimization of the VA-TV-SPME method for ultra-sensitive determination of the PAHs in polluted water, *Talanta* 212 (2020) 120809, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.120809>
- [25] F. Haratia, A. Ghiasvanda, K. Dalvanda, P.R. Haddad, Fused-silica capillary internally modified with nanostructured octadecyl silica for dynamic in-tube solid-phase microextraction of polycyclic

aromatic hydrocarbons from aqueous media, *Microchemical Journal* 155 (2020) 104672. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104672>

[26] F. C. Turazzi, L. Morés, E. Carasek, J. Merib, G.M.O. Barra, A rapid and environmentally friendly analytical method based on conductive polymer as extraction phase for disposable pipette extraction for the determination of hormones and polycyclic aromatic hydrocarbons in river water samples using high-performance liquid chromatography/diode array detection, *Journal of Environmental Chemical Engineering* 7 (2019) 103156, <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103156>

[27] X. Wang, F. Wang, H. Ji, X. Cui, Y. Liu, X. Du and X. Lu. Environ, ZIF-67 derived hollow nanomaterials as solid phase microextraction coatings for rapid capture of polycyclic aromatic hydrocarbons from water samples, *Sci.: Nano*, 8 (2021) 675-686. <https://doi.org/10.1039/d0en01176b>

[28] V. Jalili, A. Barkhordari, A. Ghiasvand, New extraction media in microextraction techniques. a review of reviews, *Microchem. J.* 153 (2020) 104386 <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104386>.

[29] J. Jaumot, R. Gargalo, A. de Juan, R. Tauler, A graphical user-friendly interface for MCR-ALS: a new tool for multivariate curve resolution in MATLAB. *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, v. 76, p. 101-110, 2005.

[30] A.C. Olivieri, On a versatile second-order multivariate calibration method based on partial least-squares and residual bilinearization: Second-order advantage and precision properties. *Journal of Chemometrics*, v. 19, p. 253–265, 2005.

[31] R. Bro, PARAFAC. Tutorial and applications, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 38 (1997) 149–171.

[32] C.A. Andersson, R. Bro, The N-way Toolbox for MATLAB, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 52 (2000) 1–4.

[33] A.C. Olivieri, H.-L. Wu, R.-Q. Yu, MVC2: A MATLAB graphical interface toolbox for second-order multivariate calibration, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 96 (2009) 246–251.

- [34] M.M. Sena, M.G. Trevisan, R.J. Poppi, PARAFAC: Uma ferramenta quimiométrica para tratamento de dados multidimensionais. Aplicações na determinação direta de fármacos em plasma humano por espectrofluorimetria, *Química Nova*. 28 (2005) 910–920.
- [35] R. Bro, H.A.L. Kiers, A new efficient method for determining the number of components in PARAFAC models, *Journal of Chemometrics*. 17 (2003) 274–286.
- [36] OLIVIERI, ESCANDAR, *Practical Three-Way Calibration*, 2000.
- [37] L.D.C. Baldi, T.D.Z. Atvars, Avaliação da polaridade superficial de náilons por espectroscopia de fluorescência, *Polímeros*. 15 (2005) 33–38. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282005000100009>
- [38] S.A. Bortolato, J.A. Arancibia, G.M. Escandar, A novel application of nylon membranes to the luminescent determination of benzo[a]pyrene at ultra trace levels in water samples, *Analytica Chimica Acta*. 613 (2008) 218–227.
- [39] S. A. Bortolato, J. A. Arancibia, G. M. Escandar, Chemometrics-Assisted Excitation–Emission Fluorescence Spectroscopy on Nylon Membranes. Simultaneous Determination of Benzo[a]pyrene and Dibenz[a,h]anthracene at Parts-Per-Trillion Levels in the Presence of the Remaining EPA PAH Priority Pollutants As Interferences, *Analytical Chemistry*. 80 (2008) 8276–8286.
- [40] G.M. Escandar, D. González Gómez, A. Espinosa Mansilla, A. Muñoz de la Peña, H.C. Goicoechea, Determination of carbamazepine in serum and pharmaceutical preparations using immobilization on a nylon support and fluorescence detection, *Analytica Chimica Acta*. 506 (2004) 161–170.
- [41] L. Wang, W. Li, F. Zhang, H. Li, G. Cai, B. Li, G. Qian, Y. Du, Rapid determination of benzo[a]pyrene by membrane enrichment coupled with solid-phase constant-wavelength synchronous fluorescence spectrometry., *Luminescence : The Journal of Biological and Chemical Luminescence*. 31 (2016) 1187–1193.

- [42] P. MacCarthy, R.W. Klusman, J.A. Rice, Water analysis, *Analytical Chemistry*. 61 (1989) 269–304.
- [43] E.J. Poziomek, D. Eastwood, R.L. Lidberg, G. Gibson, Solid-Phase Extraction and Solid-State Spectroscopy for Monitoring Water Pollution, *Analytical Letters*. 24 (1991) 1913–1921.
- [44] E.D. Hagestuen, A.D. Campiglia, New approach for screening polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples, *Talanta*. 49 (1999) 547–560.
- [45] E.D. Hagestuen, A.F. Arruda, A.D. Campiglia, On the improvement of solid-phase extraction room-temperature phosphorimetry for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples, *Talanta*. 52 (2000) 727–737.
- [46] G.M. Escandar, A.J. Bystol, A.D. Campiglia, Spectrofluorimetric method for the determination of piroxicam and pyridoxine, *Analytica Chimica Acta*. 466 (2002) 275–283.
- [47] J.A. Arancibia, G.M. Escandar, Two different strategies for the fluorimetric determination of piroxicam in serum, *Talanta*. 60 (2003) 1113–1121.
- [48] Alcides da Silva Siqueira, Metodologia analítica para determinação de HPAs leves em solos por extração em fase sólida com membrana de náilon, espectrofluorimetria e calibração de segunda ordem, Dissertação de Mestrado em Química UFPB, João Pessoa, 2019.
- [49] Armbruster, D. A., and Pry, T., Limit of Blank, Limit of Detection and Limit of Quantitation, *Clin Biochem Rev*, Vol 29 Suppl (i) August 2008 | S49-S52 PMID: 18852857; PMCID: PMC2556583.
- [50] M.C. Barreto, R.G. Braga, S.G. Lemos, W.D. Fragoso, Determination of melamine in milk by fluorescence spectroscopy and second-order calibration, *Food Chemistry*, 364 (2021) 130407. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130407>
- [51] A. C. Olivieri, G. M. Escandar, *Practical Three-Way Calibration*, first ed., Elsevier, Amsterdam, 2014

[52] F. Allegrini, A. C. Olivieri, Figures of Merit in Comprehensive Chemometrics, 2da. Edition, Brown, S, Tauler, R, Walczak, B, Editors, Elsevier, Amsterdam, 2020, pp. 441-463.

[53] A. C. Olivieri, S. Bortolato, F. Allegrini, Figures of merit in multiway calibration., in Data Handling in Science and Technology, Vol. 29, Fundamentals and analytical applications of multiway calibration, Muñoz de la Peña, A, Goicoechea, HC, Escandar, GM, Olivieri, AC, Editors, Elsevier, Amsterdam, 2015, Cap. 13, pp. 541-575.

[54] D.R. Banjoo, P.K. Nelson, J. Improved ultrasonic extraction procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments, Chromatography A., v. 1066, p. 9-18, 2005.

[55] M. Ribani, C. B. G. Bottoli, C. H. Collins, I. C. S. F. Jardim, L. F. C. Melo, validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos, Química Nova, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.]