

CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS

Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais

**PROTOTIPAGEM PARA ANÁLISE DE VOLÁTEIS EM  
HEADSPACE  
POR CROMATOGRÁFIA GASOSA**

Mestrando: Geraldo Paulo do Carmo

Orientador: Prof. Dr. Patterson Patricio de Souza

Coorientador: Prof. Dr. Emerson Fernandes Pedroso

**Belo Horizonte**

**2021**

# **PROTOTIPAGEM PARA ANÁLISE DE VOLÁTEIS EM HEADSPACE POR CROMATOGRAFIA GASOSA**

Dissertação apresentada ao Centro Federal  
de Educação Tecnológica como parte das  
exigências do Programa de Pós-Graduação  
Multicêntrico em Química para a obtenção  
do título de Mestre

Discente: Geraldo Paulo do Carmo  
Orientador: Prof. Dr. Patterson Patrício de Souza  
Co-Orientador: Prof. Dr. Emerson Fernandes Pedroso

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, “causa primária do universo”, pela oportunidade e pelos desafios disponibilizados para meu crescimento profissional e pessoal.

Aos meus pais Oswaldo Gonçalo do Carmo (*in memorian*) e Maria Auxiliadora do Carmo (*in memorian*): GRATIDÃO! Somente hoje tenho uma dimensão do que vocês foram, são e serão para mim. À minha filhinha J. C. C. (*in memorian*) que, mesmo tendo partido tão cedo, me ensinou muito sobre a vida!

Aos meus filhos Pedro, Cecília e Júlia por serem minhas eternas fontes de inspiração.

A Cláudia Roberta Correia pela paciência e compreensão.

Aos meus irmãos e aos meus grandes amigos Ronaldo Linares Sanches e Rosa Francisca Leite por todo o apoio e incentivo de que precisei.

A todos os professores que eu tive ao longo da minha existência. Os conhecimentos de que humildemente disponho devo a contribuição generosa de todos eles. Em especial a todos os professores do CEFET-MG (curso técnico de química, licenciatura e do mestrado multicêntrico). Eternamente serei grato a essa “Oficina de Luz e Instrução”.

A Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro, sem o qual este trabalho não seria possível ser realizado.

Ao professor Dr. Patterson Patrício pelo apoio irrestrito e por acreditar no meu trabalho. Gratidão sincera pela oportunidade!

Ao professor Dr. Emerson Fernandes Pedroso pelas orientações e sugestões.

Aos professores Dra. Priscila Pereira Silva Caldeira e Dr. Ildelfonso Binatti pelas críticas, correções e sugestões.

Ao professor Dr. Rodinei Augusti pelo auxílio na interpretação das estruturas envolvidas na espectrometria de massas.

A professora Carla Maria França pela ajuda na correção do texto.

A Mariza Martins Coelho, bibliotecária do SENAI/ARG, pela ajuda valiosa na revisão das referências.

A toda equipe do INTECHLAB do CEFET-MG pelo suporte e pelo companheirismo.

A todos os colegas do mestrado multicêntrico, em especial, Gabriel Dias dos Reis, Desirée Marianne Sales Silveira, Gabriela Santos Caldeira e Stephanie Vertelo Porto por compartilhar os projetos e por terem me auxiliado. Aprendi muito com todos vocês!

“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo,  
qualquer um pode começar agora a fazer um novo fim.”

(Chico Xavier)

## LISTA DAS ABREVIações

HPAs = Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos  
POPs = Poluentes Orgânicos Persistentes  
INCA = Instituto Nacional do Câncer  
USEPA = *United States Environmental Protection Agency*, Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos  
HS-IT-FEX = *HeadSpace Intra-tube Flux Extraction Device* (Dispositivo de Extração de Fluxo em tubo HS)  
PAHs = *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*, Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos  
LPAHs = *Low molecular weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*, Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos de baixo peso molecular  
HPAHs = *High molecular weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*, Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos de alto peso molecular  
CETESB = Companhia de Tecnologia de Saneamento de Saneamento Ambiental  
FEAM = Fundação Estadual do Meio Ambiente  
BTEX = Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno, Xileno  
ISO = *International Organization for Standardization*  
IEC = *International Electrotechnical Commission*  
ACP = Acenafteno  
ACY = Acenaftileno  
ANT = Antraceno  
FLT = Fluoranteno  
FLR = Fluoreno  
NAP = Naftaleno  
PHE = Fenantreno  
PYR = Pireno  
BaA = Benzo(a)antraceno  
BbF = Benzo(b)fluoranteno  
BjF = Benzo(j)fluoranteno  
BkF = Benzo(k)fluoranteno  
BgP = Benzo(ghi)perileno  
BaP = Benzo(a)pireno  
CHR = Criseno  
CPP = Ciclopenta(cd)pireno  
DhA = Dibenzo(a,h)antraceno  
DeP = Dibenzo(a,e)pireno  
DhP = Dibenzo(a,h)pireno  
DiP = Dibenzo(a,i)pireno  
DλP = Dibenzo(a,λ)pireno  
IcP = Indeno(1,2,3-cd)pireno  
5MC = 5-metilcriseno  
SPE = *Solid Phase Extraction*, Extração em Fase Sólida  
SPME = *Solid Phase Micro-Extraction*, Micro Extração em Fase Sólida  
GC = *Gas Chromatography*, Cromatografia Gasosa  
MS = *Mass Spectrometry*, Espectrometria de Massas  
PDMS = PoliDiMetilSiloxano  
PA = PoliAcrilato  
DVB = DiVinilBenzeno  
CAR/PDMS = Carboxeno/Polidimetilsiloxano  
ppm = partes por milhão(mg/kg)  
ppb = partes por bilhão (µg/kg)

ppt = partes por trilhão (ng/kg)

D- $\mu$ -SPME = *Dispersive micro-solid phase extraction* (microextração em fase sólida dispersiva)

SBSE = *Stir Bar sorptive Extraction* (extração por sorção com barra de agitação)

S/N = *Signal/Noise* (relação “sinal/ruído”)

LD = Limite de Detecção

LQ = Limite de Quantificação

ng/L = nanograma por litro

RSD = *Relative Standard Deviation* (desvio padrão relativo)

ACIT-SPME = *Array Capillary In-Tube Solid Phase Microextraction* (Microextração em fase sólida com arranjo capilar em tubo)

FID = *Flame Ionization Detector* (Detector de Ionização de Chama)

SIM = *Single Ion Monitoring* (Monitoramento de Íon Único)

SRM = *Selected Reaction Monitoring* (Monitoramento de Reações Múltiplas)

FAB = *Fast Atoms Bombardments* (Bombardeamento por Átomos Rápidos)

API = *Atmospheric Pressure Ionization* (Ionização a Pressão Atmosférica)

APCI = *Atmospheric Pressure Chemical Ionization* (Ionização Química a Pressão Atmosférica)

APPI = *Atmospheric Pressure Photo Ionization* (Fotoionização a Pressão Atmosférica)

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Representação dos modos de extração por SPME: (a) injeção direta, (b) headspace.....	3
<b>Figura 2</b>	Classificação de HPAs (alternantes e não alternantes).....	5
<b>Figura 3</b>	Estruturas químicas dos 16 HPAs prioritários.....	6
<b>Figura 4</b>	Fontes de HPAs.....	7
<b>Figura 5</b>	Estruturas químicas de alguns HPAs.....	8
<b>Figura 6</b>	Estruturas de HPAs não substituídos Carcinogênicos e não carcinogênicos.	10
<b>Figura 7</b>	Esquema simplificado da ativação enzimática do benzo(a)pireno.....	13
<b>Figura 8</b>	Estruturas da “região de baía” correspondente a epóxidos de di-hidrodiol.....	14
<b>Figura 9</b>	A rota do metabolismo do epóxido di-hidrodiol na região de baía do benzo(a)pireno.....	14
<b>Figura 10</b>	Fluxograma mostrando os efeitos à saúde a curto e longo prazo da exposição aos HPAs.....	15
<b>Figura 11</b>	Percentual de ocorrência de grupos de substâncias químicas de interesse nas áreas contaminadas cadastradas pela Feam.....	16
<b>Figura 12</b>	Representação esquemática da extração LLE.....	17
<b>Figura 13</b>	Cartucho típico empregado em SPE.....	18
<b>Figura 14</b>	Etapas da Extração em Fase Sólida (SPE) .....	19
<b>Figura 15</b>	Dispositivo da fibra de SPME.....	21
<b>Figura 16</b>	Partes de uma fibra comercial de SPME.....	21
<b>Figura 17</b>	Mecanismo de adsorção do revestimento da fibra.....	22
<b>Figura 18</b>	Mecanismo de absorção do revestimento da fibra.....	23
<b>Figura 19</b>	Estrutura química dos sorventes mais comumente utilizados em fibras de SPME.....	23
<b>Figura 20</b>	Uso do amostrador de SPME para extração/dessorção.....	24
<b>Figura 21</b>	Adsorção molecular e gráfico ilustrando adsorção do analito em função do tempo.....	26
<b>Figura 22</b>	A comparação da eficiência de extração de 16 HPAs com cinco fibras diferentes.....	27
<b>Figura 23</b>	Ilustração para o equilíbrio entre o headspace e a amostra.....	28
<b>Figura 24</b>	Ilustração para as etapas de extração no modo headspace usando fibras de SPME (HS-SPME).....	29
<b>Figura 25</b>	Comparação das extrações de HPAs de amostras entre imersão e headspace.....	31
<b>Figura 26</b>	Configurações da coluna capilar para IT-SPME.....	32
<b>Figura 27</b>	Fotografia do cartucho ACIT-SPME.....	33
<b>Figura 28</b>	Esquema de separação dos analitos no interior da coluna cromatográfica....	42
<b>Figura 29</b>	Componentes do espectrômetro de massas.....	43

<b>Figura 30</b>	Esquema de geração de íons e analisador de massas.....	44
<b>Figura 31</b>	Quadrupolos.....	44
<b>Figura 32</b>	Espectro de massas do naftaleno.....	45
<b>Figura 33</b>	Fragmentação da molécula do naftaleno.....	46
<b>Figura 34</b>	Etapas do processo de impressão 3D.....	47
<b>Figura 35</b>	Esquema representativo do procedimento de deposição do polímero PDMS no liner.....	49
<b>Figura 36</b>	Fotografia de perfil de um liner de vidro.....	49
<b>Figura 37</b>	Protótipo HS-IT-FEX.....	50
<b>Figura 38</b>	Diagrama esquemático dos componentes do Protótipo HS-FEX.....	51
<b>Figura 39</b>	GC FID Agilent (modelo 6990N) utilizado para a dessorção térmica do liner.	52
<b>Figura 40</b>	Adição de solução e de NaCl no protótipo.....	55
<b>Figura 41</b>	Ilustração apresentando a corrente de convecção gerada devido ao aquecimento.....	55
<b>Figura 42</b>	Componentes do cromatógrafo gasoso.....	56
<b>Figura 43</b>	Desacoplamento do sistema de injeção.....	57
<b>Figura 44</b>	Liner sendo acondicionado no compartimento do injetor.....	58
<b>Figura 45</b>	Condições de temperatura do forno do cromatógrafo GC 7890A.....	59
<b>Figura 46</b>	Correlação entre as temperaturas.....	60
<b>Figura 47</b>	Montagem para aferição de temperatura na entrada do liner superior.....	61
<b>Figura 48</b>	Correlação entre as temperaturas do display e do liner superior.....	61
<b>Figura 49</b>	Cromatogramas correspondentes aos ensaios: (a) Branco da Coluna e (b) Branco do Liner.....	62
<b>Figura 50</b>	Cromatograma obtido usando solução de HPAs.....	63
<b>Figura 51</b>	Estimativa para o tempo de equilíbrio para o naftaleno.....	66
<b>Figura 52</b>	Estimativa para o tempo de equilíbrio para o acenaftileno.....	66
<b>Figura 53</b>	Estimativa para o tempo de equilíbrio para o acenafteno.....	67
<b>Figura 54</b>	Estimativa para o tempo de equilíbrio para o fluoreno.....	67
<b>Figura 55</b>	Hipótese do vazamento de vapor por meio das conexões do protótipo.....	68
<b>Figura 56</b>	Variação de temperatura ao longo do liner usado no protótipo.....	70
<b>Figura 57</b>	Variação de temperatura durante 30 minutos de contato do headspace no liner.....	70

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Classificação dos HPAs quanto à carcinogenicidade.....	11
<b>Tabela 2</b>	Códigos de classificação.....	12
<b>Tabela 3</b>	Fibras de SPME disponíveis comercialmente.....	22
<b>Tabela 4</b>	Comparação do método ACIT-SPME/GC-FID proposto com outros métodos usados em pré-concentração e determinação de HPAs.....	33
<b>Tabela 5</b>	Comparação de eficiência de técnicas para a extração de HPAs.....	35
<b>Tabela 6</b>	Condições e limites de detecção do método por HPLC.....	37
<b>Tabela 7</b>	Condições do método por GC.....	37
<b>Tabela 8</b>	Condições cromatográficas, limites de detecção e massas características.....	38
<b>Tabela 9</b>	Resumo dos principais parâmetros de validação do método otimizado para água potável e águas residuais.....	40
<b>Tabela 10</b>	Concentrações de HPAs no padrão Supelco.....	53
<b>Tabela 11</b>	Concentrações de HPAs na “Solução de Trabalho”.....	53
<b>Tabela 12</b>	Íons quantificadores e qualificadores de alguns HPAs.....	64
<b>Tabela 13</b>	Tempos de retenção (RT) médios observados para os HPAs.....	64

## RESUMO

Nos vários métodos de análises químicas convencionais a etapa de preparação da amostra e extração de analitos é uma das que requer bastante cuidado e envolve frequentemente várias etapas utilizando expressiva quantidade de solventes orgânicos. Além de serem relativamente demoradas, envolvem um custo operacional considerável gerando um volume expressivo de resíduos a serem tratados. O desenvolvimento de novos métodos de extração que utilizem pouco (ou nenhum) solvente é uma das necessidades mais imprescindíveis dos laboratórios de análise tanto pela diminuição da quantidade de resíduos, quanto pela redução do tempo empregado e também na minimização de custos.

A recente patente n<sup>o</sup>. BR1020180731670 obtida pelo INTECHLAB (Laboratório de Tecnologias Integradas do CEFET-MG) apresentou o desenvolvimento de uma tecnologia inovadora com esta finalidade. O protótipo denominado IT-FEX (IntraTube Flux Extraction Device) utiliza um tubo de vidro (*liner*) revestido internamente com fase polimérica para realizar a captura de analitos presentes em amostras líquidas. O êxito dessa inovação tecnológica fomentou, nesse trabalho, o desenvolvimento de um novo protótipo, denominado de HS-IT-FEX. O novo dispositivo, que também utiliza um tubo de vidro revestido internamente com polímero PDMS (polidimetilsiloxano) foi desenvolvido para operar no modo headspace o que possibilita a captura de analitos voláteis. Após o trapeamento dos analitos estes são dessorvidos termicamente e analisados por meio de cromatografia gasosa acoplada com espectrômetro de massas como detector.

Os ensaios de laboratório com o novo protótipo HS-IT-FEX foram realizados com soluções de HPAs (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos), poluentes orgânicos persistentes que requerem atenção quanto ao monitoramento ambiental. Os resultados preliminares desse trabalho demonstram a possibilidade de realizar o trapeamento dos HPAs (como naftaleno, acenaftileno, acenafteno e fluoreno) a partir do *headspace* gerado a partir de soluções aquosas sem utilização de solventes orgânicos e a baixos custos. Devido a falta de reprodutibilidade dos dados cromatográficos em alguns ensaios foi constatada a necessidade de aperfeiçoamento do protótipo, sobretudo no sistema de vedação.

Palavras-chave: Amostragem, Protótipo, GC-MS, Quantificação, HPAs, Headspace

## ABSTRACT

In the various methods of analysis defined, a stage of sample preparation and extraction analytes is one that requires a lot of care and involves several steps using an expressive amount of organic solvents. In addition to being relatively time-consuming, they involve a considerable operational cost and generate a volume of waste to be treated. The development of new extraction methods that use little or no solvent is one of the most essential needs of laboratories analysis, both for reduction of amount of waste, as well as for the reduction of the reduced time and also in the minimization of costs.

The recent patent number BR1020180731670, obtained by INTECHLAB (Laboratory of Integrated Technologies of CEFET-MG) presented the development of an innovative technology for this purpose. The prototype called IT-FEX (IntraTube Flux Extraction Device), uses an internally polymeric phase coated glass tube (*liner*) to capture analytes present in liquid samples allowing the creation of a new prototype called HS-IT-FEX. This new prototype, which also uses an internally coated glass tube with PDMS polymer (polydimethylsiloxane), was developed to operate in headspace mode which allows the capture of volatile analytes. After trapping the analytes, these are thermally desorbed and analyzed by gas chromatography coupled with mass spectrometer as a detector.

Laboratory tests with the new prototype HS-IT-FEX were carried out with solutions of PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons), Persistent Organic Pollutants) that require attention regarding environmental monitoring. The preliminary results of this work demonstrate the possibility of trapping PAHs (such as naphthalene, acenaphthene, acenaphthylene and fluorene) from headspace generated from aqueous solutions without using organic and at low costs. Due to the lack of reproducibility of the chromatographic data in some tests, the need to improve the prototype was found, especially in the sealing system.

Keywords: Sampling, Prototype, GC-MS, Quantification, HPAs, Headspace

# Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	1
2.	OBJETIVOS.....	4
2.1	Objetivo geral.....	4
2.2	Objetivos específicos.....	4
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos – características.....	5
3.2	Técnicas de extração.....	17
3.2.1	Extração Líquido Líquido.....	17
3.2.2	Extração em Fase Sólida.....	18
3.2.3	Microextração em Fase Sólida.....	20
3.2.4	Headspace.....	28
3.2.5	Microextração em Fase Sólida No Tubo.....	31
3.3	Métodos de Análise.....	36
3.3.1	Métodos da USEPA.....	36
3.3.2	Métodos utilizados pela União Europeia.....	39
3.4	Utilização da Cromatografia Gasosa.....	41
3.5	O Processo de Prototipagem.....	46
4	METODOLOGIA.....	49
4.1	Preparo do revestimento do liner.....	49
4.2	Descrição do protótipo.....	50
4.2.1	Operação do Protótipo.....	51
4.3	Condições do Método Cromatográfico GC-MS.....	58
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	60
5.1	Ensaio preliminares do protótipo HS-IT-FEX.....	60
5.2	Ensaio do “branco” do liner.....	62
5.3	Identificação dos HPAs.....	63
5.4	Estimativa para o tempo de equilíbrio.....	65
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	72
7	PERSPECTIVAS FUTURAS. ....	74
8	REFERÊNCIAS.....	75

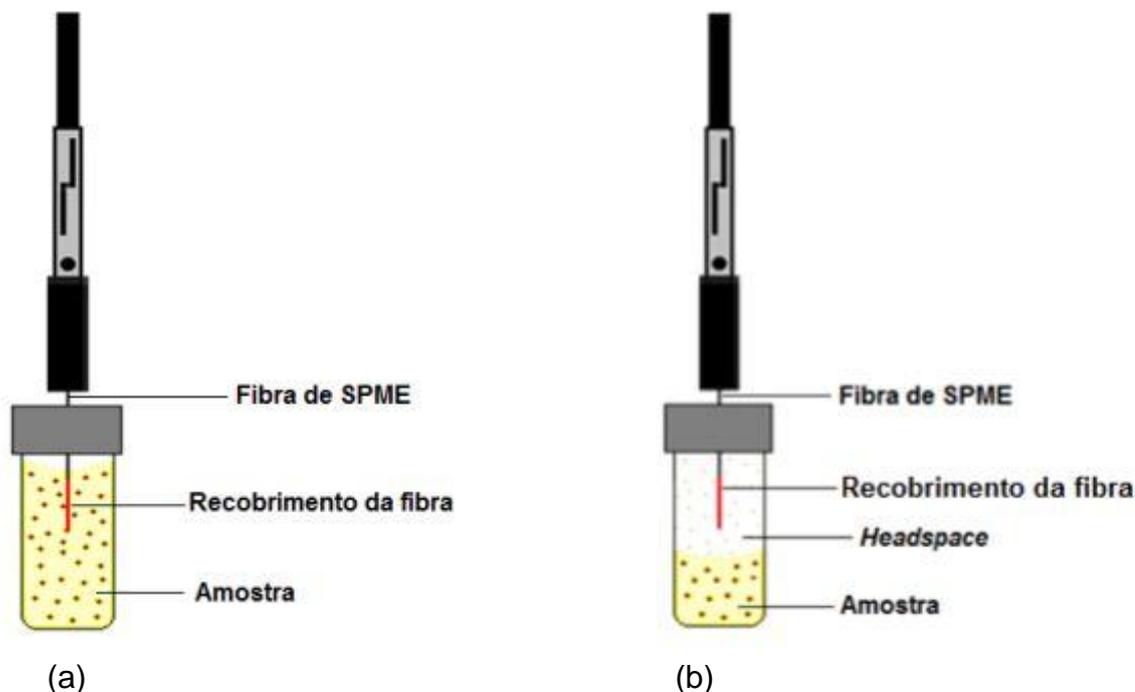
## 1. INTRODUÇÃO

A análise química (em suas modalidades qualitativa e quantitativa) representa uma importante ferramenta em diversas áreas como pesquisa, desenvolvimento de novos produtos, controle de qualidade, gestão ambiental, dentre outros. A utilização da química analítica como importante ferramenta no controle de qualidade dos vários segmentos industriais tem um elevado impacto econômico no produto interno bruto de um país, sobretudo levando-se em consideração os mercados de importação e exportação, cada vez mais exigentes e rigorosos. [1] Conclui-se que a pesquisa de novas metodologias de ensaios, que sejam seguras, rápidas e, sobretudo que causem o mínimo de impacto ao meio ambiente é extremamente necessária. [2]

Conciliar a eficiência de uma metodologia analítica com os preceitos da chamada “química verde” certamente é o novo desafio dos pesquisadores da área da química analítica. Desde 1999, quando a expressão “Química Verde” foi criada diversas técnicas e metodologias vem sendo desenvolvidas com a finalidade de reduzir ao máximo o uso de insumos químicos prejudiciais à saúde humana ou ao meio ambiente, como os solventes orgânicos usados na fase de extração, diminuindo a quantidade de resíduos gerados nestes processos. Os mesmos princípios foram aplicados à química analítica e o desenvolvimento de procedimentos inovadores, que conciliam a eficácia dos métodos analíticos com a necessidade de preservar o meio ambiente, apresentam-se como uma tendência. [3]

Como uma alternativa aos métodos tradicionais de extração a técnica de microextração em fase sólida (SPME do inglês Solid Phase Micro Extraction) já havia sido proposta no início dos anos 1990 pelo Dr. Janus Pawliszyn como um método sem solventes, econômico, simples e rápido. SPME consiste em fazer a extração utilizando uma fase extratora (contendo um filme de determinado polímero) afixada sobre um suporte sólido, que é exposta para a amostra para a extração de compostos, sendo seguida de acoplamento a instrumentos analíticos apropriados para dessorção e determinação que incluem cromatografia gasosa ou líquida, acoplada a um espectrômetro de massas como um detector. [4]

Foram desenvolvidas basicamente duas formas principais de se efetuar a amostragem por SPME: por imersão e por headspace, conforme se pode observar na figura 1. Na amostragem por imersão, a fibra é imersa na fase aquosa e é a abordagem mais frequente, quando se menciona a técnica de SPME. Na amostragem por headspace a fibra é exposta acima do líquido da amostra, e mais adequada para compostos voláteis e amostras sujas. Para análises de HPAs os dois processos foram investigados sendo observado que o método de SPME por imersão resultou na detecção de todos os HPAs enquanto o método de headspace extraía eficientemente apenas os HPAs de baixo peso molecular, mesmo quando aplicadas temperaturas da ordem de 80°C. [5]



**Figura 1** – Representação dos modos de extração por SPME: (a) injeção direta, (b) headspace [4]

Uma variante da técnica de SPME denominada de IT-SPME (In-Tube Solid Phase Micro Extraction) vem fazendo parte do desenvolvimento da extração verde, combinando miniaturização, automação e redução do consumo de solvente. [6]

Uma maneira de desenvolver novas tecnologias a serem utilizadas em etapas essenciais no processo analítico químico, como a amostragem, é através da utilização de protótipos. A criação de objetos tridimensionais a partir de modelos digitais pode ser realizada com relativa rapidez e baixo custo por meio do uso de impressoras em 3 D. A prototipagem é uma importante ferramenta de inovação e desenvolvimento tecnológico, pois permite modificações no *design* do produto desejado até que suas características estejam próximas do ideal e, a partir daí, possa se engendrar as demais fases do projeto, como a patente e a produção industrial futuramente. [7]

O laboratório de tecnologias integradas (INTECHLAB) do CEFET-MG vem desenvolvendo importantes contribuições para facilitar o trapeamento de analitos combinando a tecnologia de microextração em fase sólida com o uso conjugado de protótipos que favorecem o contato da amostra nesta etapa essencial do processo de análise química.

O trabalho pioneiro de REIS [8] propôs o desenvolvimento de um protótipo tubular de vidro (liner) revestido com polímero líquido de polidimetilsiloxano para amostragem estática de compostos orgânicos em soluções aquosas e posterior análise cromatográfica. Os resultados promissores obtidos com soluções de fenol ensejaram a equipe do INTECHLAB a continuarem novos trabalhos. SILVEIRA [9] aperfeiçoou o dispositivo denominado IT-FEX (*In-Tube Flux Device Extraction*) e demonstrou a viabilidade da utilização do liner de vidro com revestimento

de polimetilmetacrilato para promover a extração de 1-dodecanol em soluções aquosas. Continuando as pesquisas com o novo protótipo desenvolvido, CALDEIRA [10] demonstrou a viabilidade do uso do dispositivo para análise de compostos BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos) em amostras de água, utilizando o polidimetilsiloxano como revestimento do liner de vidro. O sucesso da aplicação desse protótipo ensejou uma nova perspectiva de pesquisa que seria o estudo da viabilidade do uso de um novo modelo de protótipo para operar em modo headspace para o trapeamento de compostos voláteis a serem analisados por cromatografia gasosa.

A presente dissertação de mestrado discorre sobre uma tecnologia em desenvolvimento no INTECHLAB, como alternativa para extração de HPAs em solução aquosa combinando as tecnologias de SPME e a amostragem por headspace. Consiste em um protótipo de amostrador, em que a amostra aquosa é adicionada em um recipiente metálico que por aquecimento controlado gera uma corrente de convecção do vapor da amostra sendo o mesmo conduzido a passar por um liner de vidro, que possui internamente um revestimento do polímero PDMS (polidimetilsiloxano). As moléculas dos analitos de interesse são então trapeadas no interior do liner e conduzidas para a análise por meio da cromatografia gasosa. A tecnologia em desenvolvimento apresenta vantagens significativas como baixo custo, robustez durante o uso e fácil manuseio, indicando uma possível alternativa para a extração de voláteis de acordo com os preceitos da química verde sem contudo perder a qualidade analítica. Para os ensaios laboratoriais foram utilizados os HPAs considerados prioritários pela USEPA (*United States Environmental Protection Agency*- Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos) para o monitoramento ambiental. As propriedades carcinogênicas e mutagênicas dessas substâncias justificam a sua inclusão na maioria dos programas de monitoramento ambiental e saúde humana em diferentes países do mundo. [11]

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Desenvolvimento de metodologia analítica para amostragem de HPAs em água no modo Headspace.

### **2.2 Objetivos Específicos**

Os objetivos específicos do trabalho são:

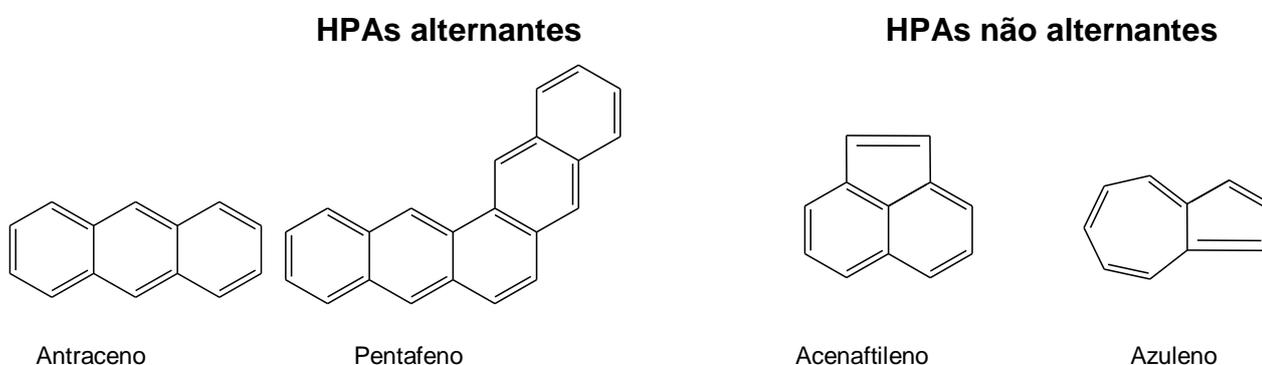
- 1) Desenvolver novo modo de amostragem por meio do protótipo HS-IT-FEX
- 2) Determinar as condições de operação do protótipo
- 3) Testar o novo protótipo para extração de HPAs em água

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos – características

Os HPAs são hidrocarbonetos aromáticos contendo dois ou mais anéis de benzeno unidos em várias configurações estruturais. [12] Os HPAs podem ser classificados em duas categorias: alternantes e não alternantes. Os HPAs alternantes contêm apenas anéis de seis membros, enquanto os HPAs não alternantes possuem anéis de seis membros e ímpares (como por exemplo, anéis de cinco ou sete membros). Se os anéis benzenóides são fundidos de forma linear, o HPA é denominado aceno (por exemplo: antraceno, nafaceno, tetraceno, pentaceno, etc), Quando os anéis benzenóides são fundidos em conjunto em um arranjo angular, seu nome termina com “feno” (por exemplo, pentafeno). [13]

Alguns exemplos representativos das duas categorias são mostrados na figura 2.



**Figura 2** Classificação de HPAs (alternantes e não alternantes)

Devidos aos vários sistemas de anéis aromáticos “ímpares”, os HPAs têm uma grande diversidade de características físicas, químicas e toxicológicas. [14]

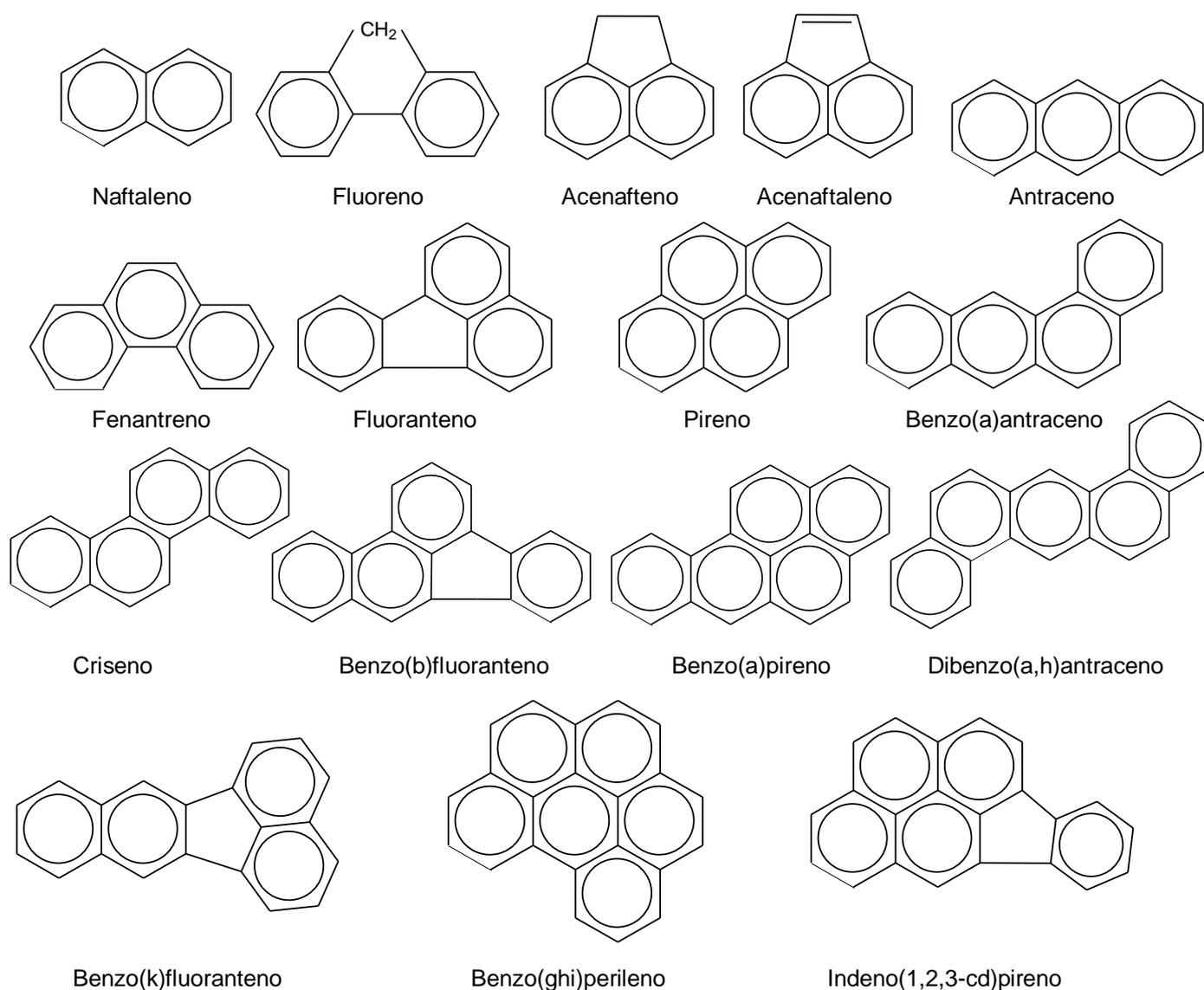
As propriedades físicas e químicas dos HPAs são determinadas, de maneira geral, pelo sistema de duplas conjugadas presentes nas estruturas desta classe de compostos. À temperatura ambiente todos os HPAs são sólidos e apresentam, normalmente, baixa pressão de vapor e solubilidade em água. Alguns HPAs são semi-voláteis, porém, muitos deles podem ser transportados até longas distâncias e serem adsorvidos em material particulado (como a fuligem, por exemplo, proveniente da combustão incompleta de combustíveis fósseis). HPAs com dois ou três anéis aromáticos estão quase totalmente na fase de vapor; aqueles com quatro anéis encontram-se numa posição intermediária. Os HPAs com cinco ou mais anéis aromáticos são encontrados predominantemente em particulados (cinzas ou fuligens cujas partículas são menores que 2,5  $\mu\text{m}$ ). [15]

A solubilidade dos HPAs em água é geralmente baixa devido à baixa polaridade das suas moléculas. Porém, seus derivados oxidados tais como ácidos, cetonas, fenóis e outros

são mais polares, e conseqüentemente se tornam mais solúveis em água. É por esse motivo que essa classe de compostos se torna fonte de contaminação para água e o meio ambiente em geral. [16]

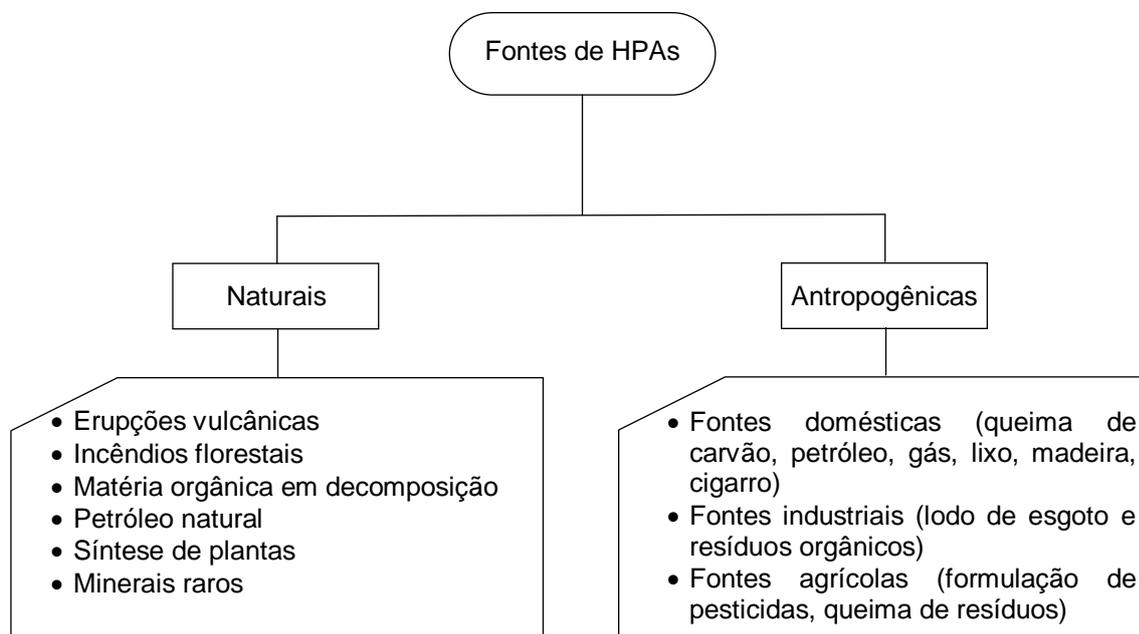
Atualmente 16 HPAs (acenafteno, acenaftileno, antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(ghi)perileno, benzo(k)fluoranteno, criseno, dibenzo(a,h)antraceno, fluoranteno, fluoreno, indeno [1,2,3-c,d] pireno, fenantreno, pireno e naftaleno) estão na lista de poluentes prioritários por este órgão. São consideradas substâncias tóxicas persistentes prioritárias na América do Sul, como descrito no documento *Regionally Based Assessment of Persistent Toxic Substances – Eastern na Western South America Regional Report*, se enquadrando nas substâncias consideradas subprodutos não intencionais. Por sua potente ação carcinogênica o benzo(a)pireno é frequentemente utilizado como indicador de contaminação por HPAs totais, em resíduos industriais e em compartimentos ambientais. [17]

As estruturas químicas dos 16 HPAs prioritários se encontram representadas na figura 3.



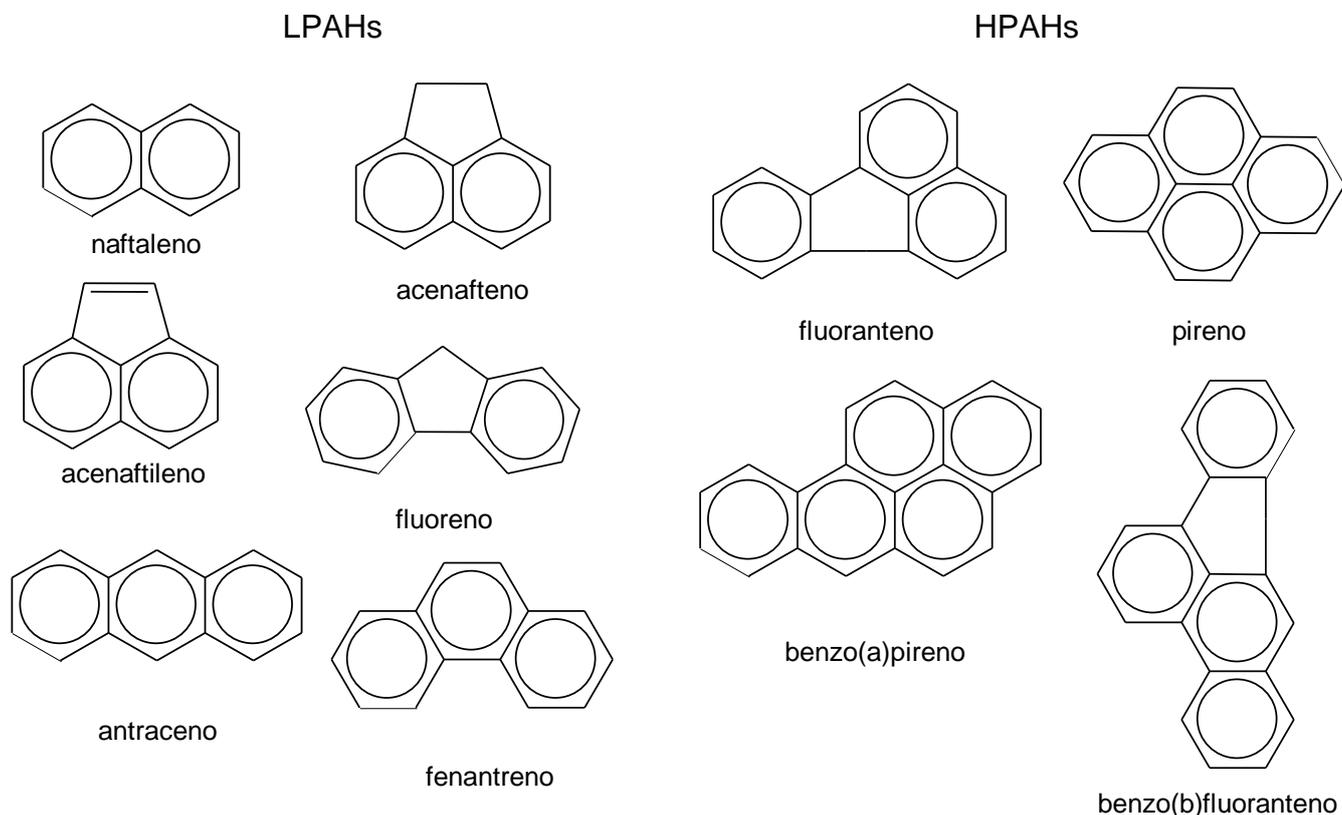
**Figura 3** Estruturas químicas dos 16 HPAs prioritários

Os HPAs podem estar presentes no ar atmosférico (devido à queima incompleta de combustíveis), no solo, nos alimentos e também nas águas, conforme se pode observar na figura 4, pois embora sejam compostos que apresentam características hidrofóbicas podem ser dissolvidos em pequenas quantidades. [18]



**Figura 4** – Fontes de HPAs [18]

Os HPAs são basicamente classificados em dois grupos: HPAs de baixo peso molecular (LPAHs – *Low molecular weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*) e HPAs de alto peso molecular (HPAHs - *High molecular weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*). LPAHs (por exemplo, naftaleno, acenafteno, acenaftileno, fluoreno, antraceno, fenantreno) tendem a ter uma estrutura central de dois a três anéis benzenóides (anéis aromáticos de carbono de seis membros), enquanto os HPAHs possuem estruturas moleculares de quatro ou mais anéis benzenóides (por exemplo, fluoranteno, pireno, benzo(a)pireno e benzofluorantenos). As estruturas químicas desses HPAs se encontram representadas na figura 5. A hidrofobicidade, tendência de bioacumulação, resistência à biodegradação, a persistência ambiental geral dos compostos geralmente aumenta com o aumento do peso molecular. Os HPAs alquilados que são formados através de processos diagenéticos (processos geológicos que ocorrem em depósitos sedimentares devido a mudanças nas condições físico químicas) são mais tóxicos que os compostos originais. Eles geralmente coexistem com seus compostos parentais nas matrizes ambientais. [19].



**Figura 5** – Estruturas químicas de alguns HPAs

Os riscos oferecidos pelos hidrocarbonetos aromáticos polinucleares para peixes e outros organismos aquáticos em sistemas naturais são incertos, devido à ocorrência de misturas complexas e incompletamente caracterizadas desses produtos químicos. Isso é devido, dentre vários fatores, os controles biológicos e físicos da exposição dos peixes à luz UV e a bioacumulação de HPA. Essas incertezas são especialmente grandes para peixes em estágio inicial de desenvolvimento, que podem ser particularmente suscetíveis à ativação por UV devido ao seu pequeno tamanho, falta de pigmentação protetora e coberturas branquiais e rápido acúmulo de HPA. [20]

Estudos recentes mostraram a ocorrência de poluentes orgânicos, como os HPAs, em vários sistemas aquáticos como afluentes e efluentes de estações de tratamento de águas residuais, águas subterrâneas, superficiais ou marítimas. Pesquisadores relataram a presença desses compostos orgânicos na América, África, Ásia, Europa e Oceania. [18]

Diversos estudos mostraram evidências da presença de HPAs, tais como: antraceno, fluoreno, pireno e naftaleno em águas superficiais, e isto sugere que as principais fontes de HPAs são os efluentes industriais e domésticos seguido pela decomposição atmosférica, sobretudo em áreas urbanas com altos níveis de poluição. Em relação aos mananciais subterrâneos, as fontes pontuais de contaminação podem ocasionar a presença dessas substâncias. [17]

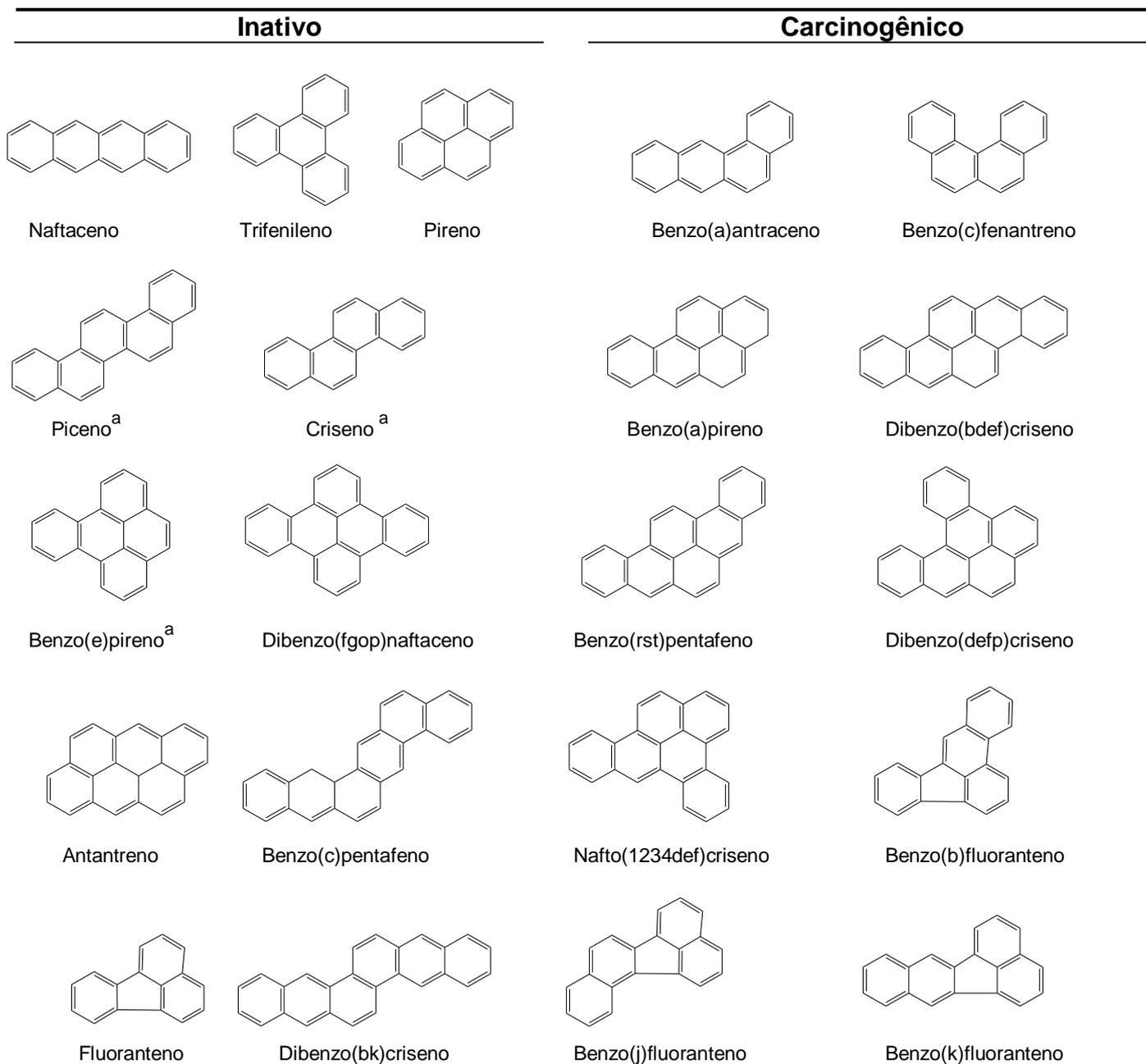
Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são considerados poluentes orgânicos prioritários em estudos ambientais, sendo alguns desses contaminantes descritos como precursores de ações mutagênicas e tumorais em sistemas biológicos. [21]

Os primeiros casos de câncer em limpadores de chaminé expostos a produtos de combustão orgânica foram documentados em 1775 na cidade de Londres. [21] O mesmo foi também retratado com trabalhadores alemães no início do século 19, que manipulavam carvão e piche. [21] Posteriormente, matrizes como carvão e óleo bruto (e seus derivados) foram testados em animais de laboratório e apresentaram efeitos cancerígenos e tumorais. [21] Apesar da complexidade das misturas testadas em laboratório com a presença significativa de diferentes HPAs, os estudos identificaram principalmente o benzo(a)pireno como um dos mais importantes princípios ativos cancerígenos desta classe de compostos. [21] Em 1951, através do trabalho de Miller, evidenciou-se que o benzo(a)pireno quando era metabolizado produzia compostos intermediários carcinogênicos. [21] Outras investigações subsequentes indicaram que a aplicação de benzo(a)pireno e outros HPAs carcinogênicos, também em pele de rato, resultava na ligação covalente dos metabólitos a proteínas, DNA e RNA. Estas transformações sofridas pelos HPAs em diversos tecidos e órgãos como pele, fígado e pulmões produzem intermediários carcinogênicos por uma cascata de reações enzimáticas.

Imediatamente após os primeiros hidrocarbonetos carcinogênicos terem sido identificados, os cientistas ficaram intrigados e tentaram estabelecer alguma relação entre a estrutura química e a atividade carcinogênica. [22]

Para hidrocarbonetos aromáticos policíclicos não substituídos, parece que é necessário um mínimo de quatro anéis de benzeno para a atividade carcinogênica. Assim, apenas dois dos seis arranjos possíveis de quatro anéis de benzeno representam compostos com atividades carcinogênicas definidas, embora fraca. Estes são benzo(c)fenantreno e benzo(a)antraceno, ambos derivados de fenantreno. [22]

A figura 6 apresenta as estruturas de alguns HPAs não substituídos carcinogênicos e não carcinogênicos.



<sup>a</sup> Estes compostos mostram atividade de iniciação tumoral

**Figura 6** Estruturas de HPAs não substituídos carcinogênicos e não carcinogênicos [22]

Uma vez absorvido pelas células, os HPAs são metabolicamente ativados e, desta maneira, tornam-se reativos a grupos nucleofílicos presentes em macromoléculas celulares. A formação de adutos de DNA é considerada essencial na carcinogenicidade química desses xenobiontes (compostos químicos estranhos ao organismos). A biotransformação dos HPAs abrange uma série de reações de oxidação, redução, hidrólise e de conjugação que são realizadas principalmente no fígado por enzimas do sistema de monooxigenases de função mista da super família dos Citocromos P450. [21] Este tipo de transformação tem um suposto objetivo biológico de fazer com que um determinado metabólito seja mais hidrofílico que o seu precursor, e com isso facilitar a excreção através dos fluidos biológicos. [21]

A **Tabela 1** apresenta uma classificação quanto à carcinogenicidade estabelecida pela IARC (International Agency for Research on Cancer) e da USEPA (United States Environmental Protection Agency) dos 16 HPAs considerados prioritários, além do valor da dose de referência e da relação dos efeitos críticos oriundos da ingestão de cada HPA, segundo o *Integrated Risk Information System (IRIS)*, da USEPA, um dos mais completos bancos de dados de informações toxicológicas. Muitos HPAs não possuem valores de dose de referência e de efeitos críticos, devido à ausência de estudos com animais e dados epidemiológicos. [17]

**Tabela 1** Classificação quanto à carcinogenicidade, dose de referência e efeitos críticos aos humanos dos 16 HPAs prioritários pela USEPA. [17]

HPA	Classificação IARC*	Classificação EPA**	Dose de Referência*** (mg/kg/dia)	Efeitos Críticos***
Acenafteno	3	Não classificado	$6 \times 10^{-2}$	Hepatotoxicidade
Acenaftileno	Sem classificação	D	Não avaliado	Não avaliado
Antraceno	3	D	$3 \times 10^{-1}$	Sem efeitos observados
Benzo(a)antraceno	2B	B2	Não avaliado	Sem efeitos observados
Benzo(a)pireno	1	B2	Não avaliado	Não avaliado
Benzo(b)fluoranteno	2B	B2	Não avaliado	Não avaliado
Benzo(ghi)perileno	3	D	Não avaliado	Não avaliado
Benzo(k)fluoranteno	2B	B2	Não avaliado	Não avaliado
Criseno	2B	B2	Não avaliado	Não avaliado
Dibenzo(a,h)antraceno	2A	B2	Não avaliado	Não avaliado
Fenantreno	3	D	Não avaliado	Não avaliado
Fluoranteno	3	D	$4 \times 10^{-2}$	Nefropatia, aumento do peso do fígado, alterações hematológicas.
Fluoreno	3	D	$4 \times 10^{-2}$	Diminuição do volume globular: hematócrito e hemoglobina
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	2B	B2	Não avaliado	Não avaliado
Naftaleno	2B	C	$2 \times 10^{-2}$	Efeitos nasais: hiperplasia e metaplasia no epitélio respiratório e olfativo.
Pireno	3	D	$3 \times 10^{-2}$	Efeitos renais: patologia tubular renal.

\*IARC, 2010 (*International Agency for Research Cancer*)

\*\*USEPA – Guideline Cancer Risk, 1986

\*\*\*USEPA - *Integrated Risk Information System (IRIS)*, 2014

A descrição dos códigos de classificação apresentados acima encontra-se descrita na Tabela 2.

**Tabela 2** Códigos de classificação. [23]

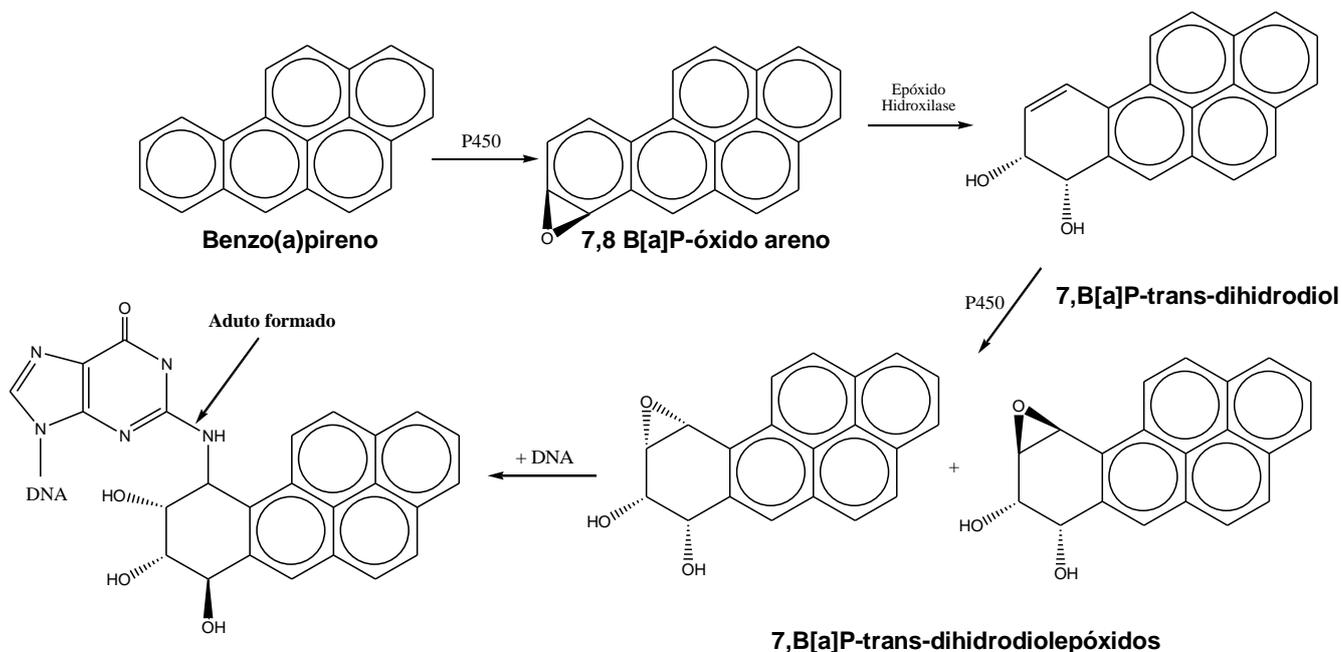
Classificação [23]		Descrição
IARC	USEPA	
Grupo 1	Grupo A	Carcinogênico humano
Grupo 2A	Grupo B	Provável carcinogênico humano
	Grupo B1	Evidências limitadas para seres humanos
	Grupo B2	Evidências inadequadas para seres humanos, evidências suficientes para animais
Grupo 2B	Grupo C	Possível carcinogênico humano
Grupo 3	Grupo D	Não-classificável quanto à carcinogenicidade humana
Grupo 4	Grupo E	Provavelmente não carcinogênico para humanos

Não há estudos suficientes em humanos que sumarizem os efeitos resultantes da exposição aos HPAs em certos níveis (concentrações), individualmente e/ou em misturas complexas, por rota de exposição. Contudo, testes *in vitro* com cultura de células/tecidos humanos demonstraram a ação de benzo(a)pireno em relação à genotoxicidade, como indução a aberrações cromossômicas e troca de cromátide-irmã. [17]

A exposição dérmica por HPAs pode representar um risco adicional para desenvolvimento de lesões. Yan *et al.* [17], num estudo experimental com *Salmonella typhimurium*, demonstraram o potencial mutagênico de benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, criseno, acenaftileno e fluoreno, ativado pela exposição à luz, evidenciando o potencial risco do contato dérmico com HPAs. Efeitos adversos em humanos são observados em indivíduos expostos a benzo(a)pireno, via contato dérmico, especialmente na presença de lesões dérmicas pré-existentes como verrugas, úlceras e despigmentação. [17]

O processo de oxidação enzimática seguida de hidrólise com a formação de diol-epóxidos é considerado um dos mecanismos de ativação mais aceito atualmente na literatura para bioativação dos HPAs carcinogênicos (figura 7). A ativação desses compostos é conduzida pela enzima citocromo P450, especialmente sob duas isoformas principais: P4501A1 e P4501A2. [84] No caso do benzo(a)pireno, o citocromo P450 é responsável pelo seu metabolismo em benzo(a)pireno-7,8-óxido, que por ação subsequente da epóxido hidrolase é transformado em benzo(a)pireno-7,8-diol. Estes dióis sofrem novamente ação do citocromo P450 e transformam-se em benzo(a)pireno -7,8-diol-9,10-epóxido. O benzo(a)pireno-7,8-diol-9,10-epóxido é apontado como o metabólito final de efeito carcinogênico e mutagênico, devido seu alto poder de se ligar covalentemente ao grupo 2-amino da guanina na fita dupla de DNA. [21]

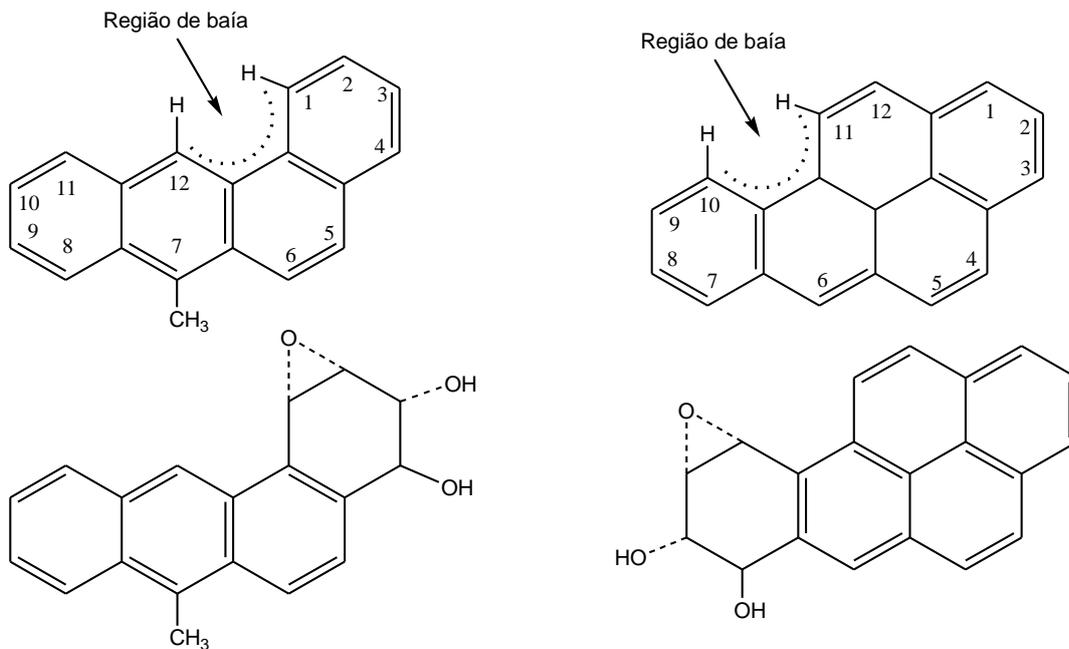
A figura 7 apresenta o esquema simplificado da ativação enzimática do benzo[a]pireno em diol epóxidos, na formação de adutos de DNA.



**Figura 7** Esquema simplificado da ativação enzimática do benzo(a)pireno em diol epóxidos, na formação de adutos de DNA. [21]

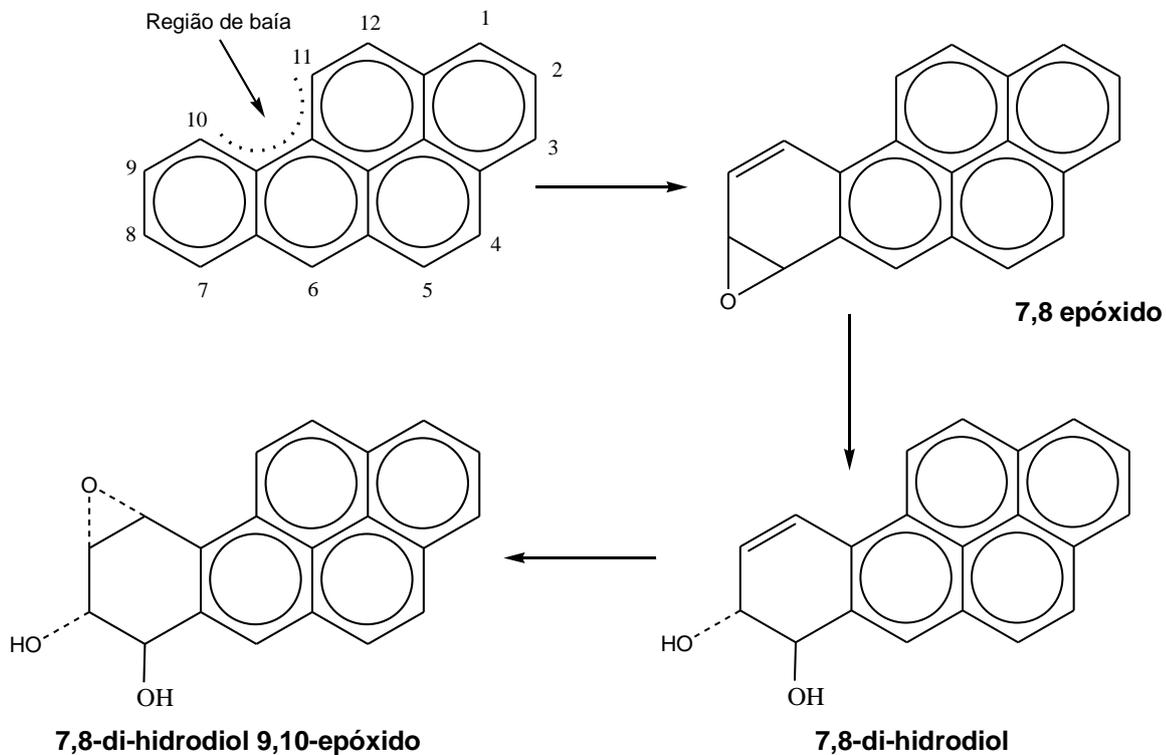
Uma vez considerado que um epóxido di-hidrodiol vicinal poderia ser o metabólito do benzo(a)pireno responsável pela atividade carcinogênica, os pesquisadores Jerina e Daly. [22] propuseram que a existência de uma “região de baía” era a característica estrutural da molécula necessária para a atividade de carcinogênese e que os metabólitos ativos para muitos hidrocarbonetos seriam encontrados epóxidos de di-hidrodiol na “região de baía”, isto é, epóxidos di-hidrodiol vicinais em que o epóxido é adjacente para uma “região de baía”, conforme pode ser observado na figura 34. (O termo “região de baía” passou a ser usado para descrever uma área côncava da periferia dos hidrocarbonetos aromáticos e foi inicialmente introduzido porque os prótons nesta região, isto é, em 1 e 12 no 7-metilbenzo(a)antraceno ou 10 e 11 no benzo(a)pireno exibe propriedades distintas de RMN (Ressonância Magnética Nuclear). [22]

A figura 8 apresenta as “regiões de baía” existentes no 7-metilbenzo(a)antraceno e benzo(a)pireno.



**Figura 8** 7-metilbenzo(a)antraceno e benzo(a)pireno indicando as regiões definidas como “regiões de baía” e as estruturas da região de baía correspondente a epóxidos de di-hidrodiol.[24]

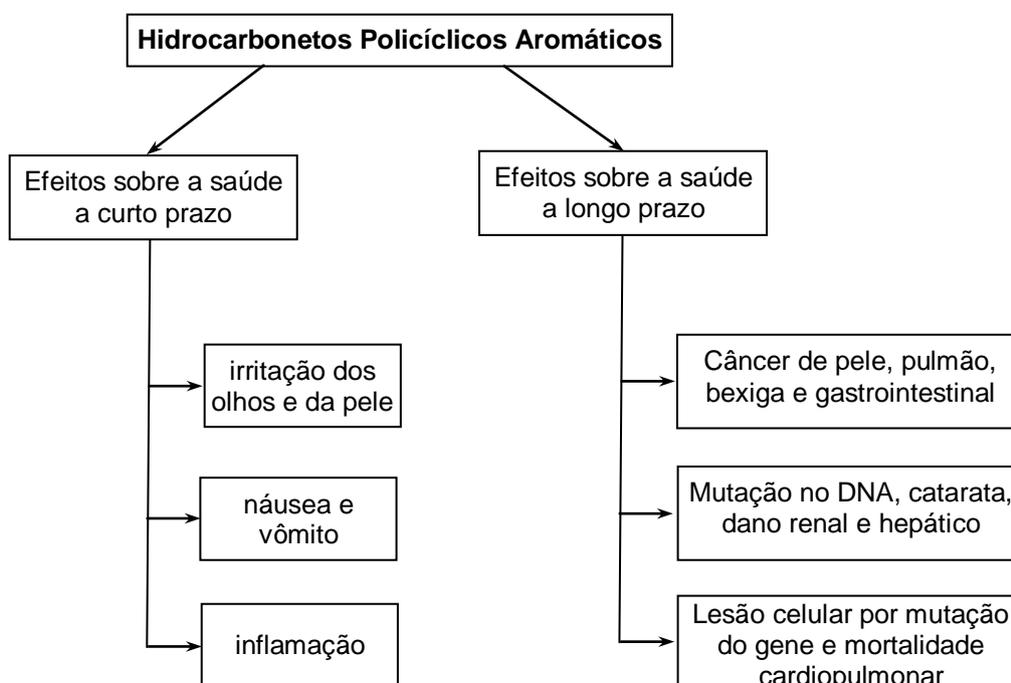
A figura 9 apresenta a rota do metabolismo do epóxido di-hidrodiol na região de baía do benzo(a)pireno.



**Figura 9** A rota do metabolismo do epóxido di-hidrodiol na região de baía do benzo(a)pireno [15]

A alta atividade carcinogênica do 7,8-di-hidrodiol (bem como a alta atividade de dióis análogos de outros hidrocarbonetos) indica fortemente que a rota de ativação do epóxido de di-hidrodiol está envolvida na carcinogênese dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. [22]

Os efeitos sobre a saúde provocados pela exposição (a curto e longo prazo) aos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos se encontram representados sob a forma de um fluxograma, ilustrado na figura 10.



**Figura 10** Fluxograma mostrando os efeitos à saúde a curto e longo prazo da exposição aos HPAs. [12]

A exposição a poluentes contendo HPAs são conhecidas por resultar em sintomas como irritações nos olhos, náuseas, vômitos e diarreia além de causar irritação e inflamação na pele. A exposição a longo prazo é suspeita de aumentar os riscos de danos celulares via mutação genética. [12]

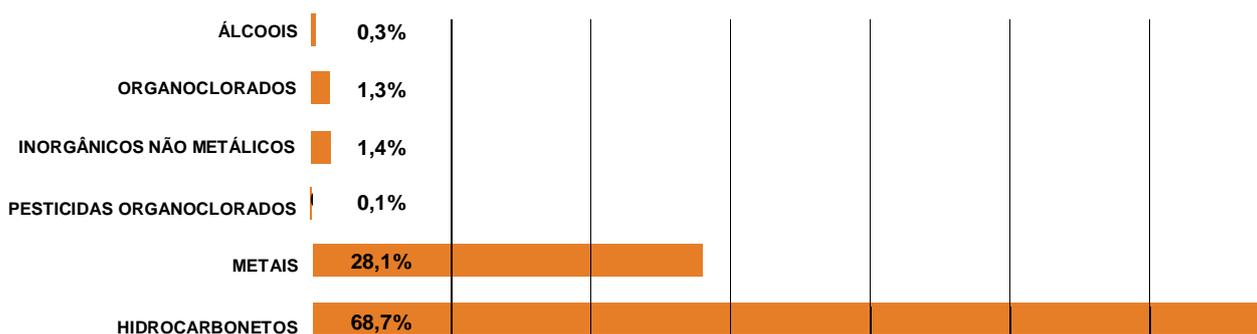
No Brasil, a Portaria de Consolidação N<sup>o</sup> 5, de 28/09/2017 (do Ministério da Saúde) preconiza somente o benzo(a)pireno como umas das substâncias de análise semestral obrigatória por responsáveis pelo sistema de abastecimento público e de soluções alternativas coletivas de água em todo o Brasil. Embora ainda não haja no Brasil um mapeamento real das áreas contaminadas, diversos órgãos estaduais de controle ambiental (como a CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo - em São Paulo, a FEAM – Fundação Estadual do Meio Ambiente - em Minas Gerais, dentre outros) tem procurado fazer o gerenciamento das áreas contaminadas. [17]

No estado de São Paulo a CETESB, responsável pelo gerenciamento ambiental de áreas contaminadas, publicou em 2014 a relação de áreas contaminadas do Estado (ano base 2013), totalizando 4.771 áreas. Destas, em 1.902 áreas havia a presença de HPAs, o que

evidencia a necessidade de ações do setor saúde visando garantir a prevenção do risco à população. [17]

A FEAM começou a fazer sistematicamente um inventário de áreas contaminadas para melhor controle ambiental, não só dessa classe de compostos, como outros. O inventário de áreas contaminadas do estado de Minas Gerais, publicado em dezembro de 2019, informa que os principais grupos de contaminantes encontrados nas áreas contaminadas são os dos compostos orgânicos, destacando-se os hidrocarbonetos aromáticos (BTEX – benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno) e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA). Estes compostos são encontrados principalmente em combustíveis e derivado de petróleo, incluídos solventes, óleos e graxas. [25]

Como se pode observar pela figura 11, a ocorrência dos hidrocarbonetos é a que apresenta o maior percentual e, portanto, requerem maior atenção. Os empreendimentos que registram maior número de áreas cadastradas segundo o relatório, são os postos de gasolina (73%), incluindo o comércio varejista de combustíveis e revendedores de gasolina, álcool e diesel.



**Figura 11** - Percentual de ocorrência de grupos de substâncias químicas de interesse nas áreas contaminadas cadastradas pela Feam e SMMA/PBH - Minas Gerais, 2019. [25]

Além dos corpos d'água a contaminação por HPAs ocorre de maneiras muito diversas como na própria atmosfera (devido à combustão incompleta dos combustíveis), no solo e em diversos alimentos (dissolvidos nas camadas lipídicas) bem como alguns tipos de bebidas (como uísque e cachaça). Dessa forma a importância de se ter processos analíticos seguros, eficientes e rápidos é fundamental para assegurar um monitoramento confiável. [26]

Existem diversos métodos para fazer-se a análise dos HPAs, entretanto é importante ressaltar que todos eles envolvem uma etapa crítica que é a preparação da amostra. Dependendo da complexidade da matriz envolvida uma ou mais operações são necessárias para se extrair os HPAs das amostras de maneira a se garantir uma confiabilidade analítica mínima. A norma internacional ISO/IEC 17.025:2017 estabelece os requisitos gerais para

competência de laboratórios de ensaio e calibração e é a principal norma ISO usada por laboratórios de teste e calibração e, portanto, os laboratórios que são acreditados pela norma e seguem suas recomendações são considerados tecnicamente competentes. [27]

### 3.2 Técnicas de extração

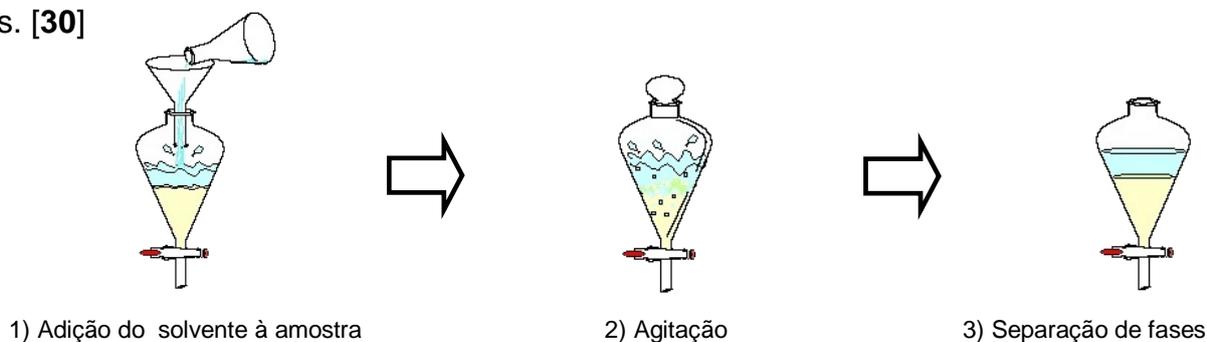
Alguns dos principais problemas com o monitoramento de HPAs são as concentrações muito baixas dos analitos e a elevada complexidade das matrizes envolvidas, sobretudo as ambientais. A pré-concentração e a pré-separação são, portanto, necessárias para alcançar a sensibilidade e a seletividade necessárias envolvidas nos métodos analíticos. [28]

De acordo com as normas adotadas pela Comunidade Europeia, por exemplo, a concentração para o HPA mais perigoso, o benzo(a)pireno, nas águas subterrâneas é de 10 ng/L; para o fluoranteno e pireno, 20 ng/L; e para fenantreno e antraceno, 100 ng/L. [28] Vários métodos têm sido utilizados para estes fins (como a técnica de SPE); no entanto, eles geralmente exigem grandes volumes de solventes, são demorados, caros e têm sua própria limitação. [29]

#### 3.2.1 Extração Líquido Líquido

A extração líquido-líquido (do inglês, liquid-liquid extraction, LLE) é uma das técnicas mais antigas e baseia-se na partição seletiva de um soluto entre duas fases líquidas. Embora o método possa ser usado na extração e pré-concentração de muitas espécies solubilizadas em água que têm volatilidade relativamente alta, com equipamentos de rotina de laboratório, ele está em declínio porque utiliza-se grandes volumes de solventes, é um método demorado e o descarte dos resíduos gerados após o uso é problemático. [29]

Basicamente, a extração líquido-líquido consiste em adicionar em um funil de decantação um solvente orgânico adequado à uma solução aquosa (geralmente), que contém o(s) analito(s) que se deseja(m) extrair, conforme ilustrado na figura 12. Agita-se o sistema vigorosamente e depois deixa-se o sistema em repouso para que ocorra a separação das fases. [30]



**Figura 12** Representação esquemática da extração LLE

Quando a fase contendo o soluto “S” é mantida em contato com uma segunda fase, o soluto particiona entre as duas fases, conforme representado na equação genérica abaixo:



A constante de equilíbrio se encontra representada na equação (1) a seguir:

$$K_D = \frac{[S]_{\text{fase 2}}}{[S]_{\text{fase 1}}} \quad (1)$$

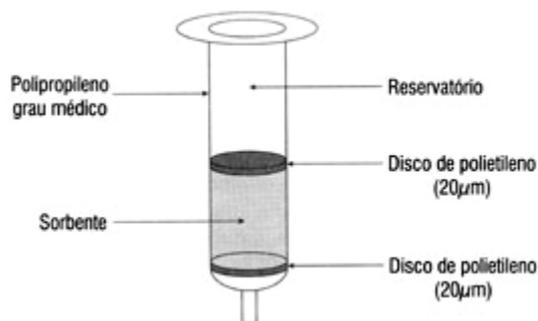
$K_D$  é chamada de constante de distribuição ou coeficiente de partição. Se  $K_D$  é grande, então o soluto se move da fase 1 para a fase 2 com facilidade. Se uma fase contendo dois solutos é colocada em contato com uma segunda fase, e  $K_D$  é favorável somente para um dos solutos, então a separação será possível. [31]

O método EPA 610 (desenvolvido pela USEPA – United States *Environmental Protection Agency* – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos) foi projetado especificamente para a determinação de HPAs em águas residuais, após extração líquido-líquido. [32]

### 3.2.2 Extração em Fase Sólida

A extração em fase sólida (SPE – *Solid Phase Extraction*) tornou-se uma boa opção para substituição da clássica extração líquido-líquido, devido à utilização de um volume reduzido da solução da amostra e solventes. [33]

Na técnica de SPE, os analitos a serem extraídos são divididos entre uma fase sólida (sorvente de leito) e uma fase líquido-líquido (amostra). Isso usualmente é feito em um cartucho de polipropileno contendo uma fase de sorção, conforme se pode observar na figura 13. [34]



**Figura 13** Cartucho típico empregado em SPE [34]

Esses analitos devem ter uma maior afinidade para a fase sólida do que para a amostra.

Geralmente a SPE consiste em quatro etapas:

- preparação da coluna;
- carregamento da amostra;
- pós-lavagem;
- dessorção da amostra

Essas etapas se encontram representadas na figura 14.

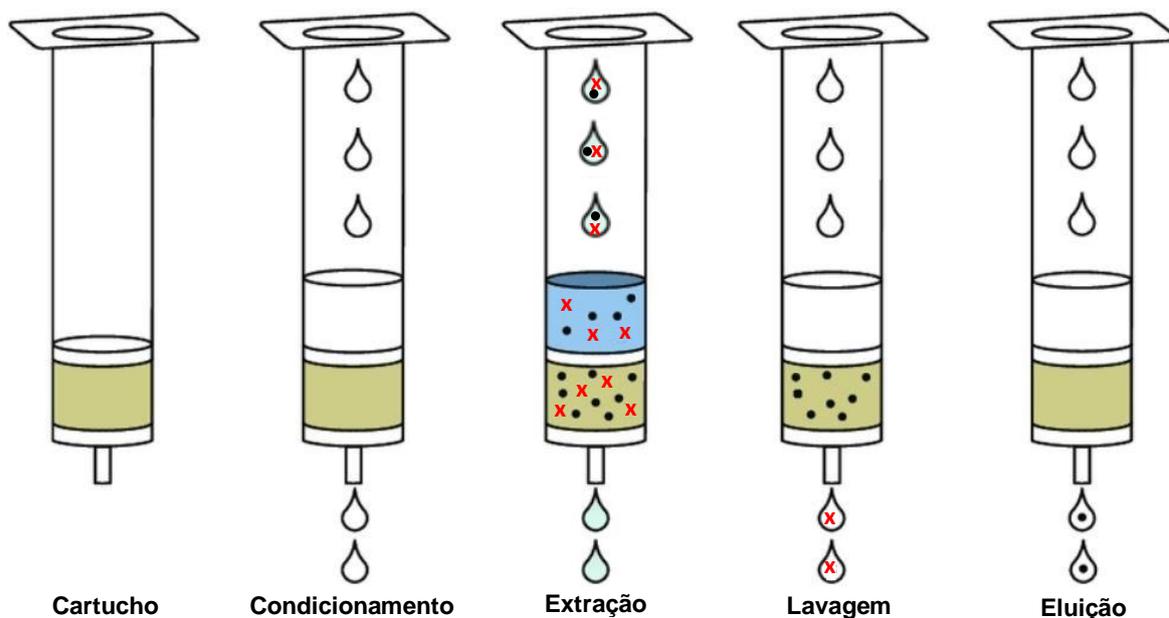


Figura 14 Etapas da Extração em Fase Sólida (SPE) [34]

Legenda: ● analito  
x impureza

**Cartucho:** corpo de uma seringa dentro do qual o sorvente – a fase sólida – é compactado entre dois filtros.

**Condicionamento:** prepara o cartucho com o sorvente para reter os contaminantes, deixando-o em condições físico-químicas adequadas para promover as interações responsáveis pela retenção dos analitos. Usam-se solventes apropriados.

**Extração:** consiste em percolar a amostra pela fase sólida, sob pressão positiva ou negativa, em uma vazão pré-determinada usando um solvente diferente do usado no condicionamento. Analitos de interesse (●) e impurezas (x) ficam retidos.

**Lavagem:** a lavagem do material é feita com solvente apropriado para retirar impurezas (x) e manter os analitos (●).

**Eluição:** é a etapa em que se recuperam os analitos retidos na fase sólida pela percolação de um baixo volume (ordem de  $\mu\text{L}$  –  $\text{mL}$ ) de solvente, resultando em uma amostra pré-concentrada.

Durante o desenvolvimento de uma metodologia de extração espera-se que a concentração dos analitos seja elevada em um nível suficiente para garantir sua detecção e

quantificação pelos equipamentos utilizados. Além disso, deseja-se que o uso de solventes seja o mínimo possível para evitar a geração de grandes volumes de resíduos. [35]

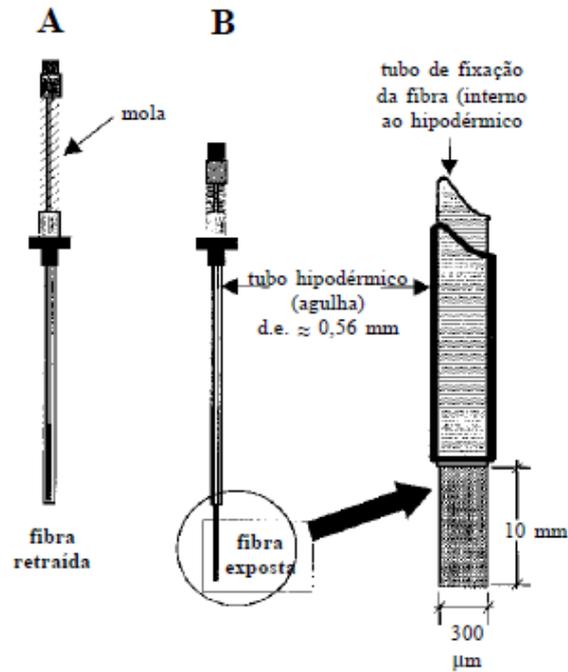
Segundo Ramezani *et al.* [36] pode-se aproveitar as vantagens da extração dispersiva em fase sólida (SPE) e a amostragem por *headspace*, pois essa combinação simples não requer uso de instrumentos complexos e elimina solventes orgânicos perigosos usados na maioria das preparações de amostras. Nanotubos de carbono de múltiplas paredes (MWCNTs, do inglês *Multiples-Walled Carbon NanoTubes*) foram usados como sorvente para análise de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. [36]

### 3.2.3 Microextração em Fase Sólida

Outra técnica de extração que vem sendo amplamente utilizada é a microextração em fase sólida (SPME, do inglês *solid phase microextraction*). A microextração em fase sólida, uma técnica de extração introduzida pela primeira vez, pela equipe de Pawliszyn [37], que oferece soluções para muitos dos problemas de amostragem. Essa técnica representa um avanço adicional importante na extração eficiente de vários poluentes em níveis residuais de amostras líquidas, sólidas e gasosas. [38]

O dispositivo básico de SPME consiste de um bastão de fibra ótica, de sílica fundida (FS) de 100 mm de diâmetro, com 10 mm de uma extremidade recoberto com um filme fino de um polímero (exemplos: polidimetilsiloxano (PDMS), poliacrilato (PA), carbowax (Cwx)) ou de um sólido adsorvente (como o carvão ativado). Para uso geral, o polidimetilsiloxano é o preferido, porque combina boas propriedades de absorção com a elevada estabilidade mecânica do filme, o que permite o uso repetido. [33]

Os componentes da fibra de SPME são ilustrados na figura 15. No detalhe são mostradas as dimensões típicas da seção com recobrimento de 100 mm de espessura.



**Figura 15** Dispositivo da fibra de SPME: (A) Posição com a fibra retraída na agulha (tubo hipodérmico de diâmetro externo 0,56 mm), (B) posição com a fibra exposta. [37]

Na figura 16 são ilustradas as partes de uma fibra comercial de SPME.



**Figura 16** Partes de uma fibra comercial de SPME [39]

As espessuras dos recobrimentos ( $L_f$ ) de fibras comerciais variam de 7 μm a 100 μm e seus volumes de 0,03 μL a 0,7 μL.

A tabela 3 apresenta alguns tipos de fibras de SPME disponíveis.

**Tabela 3** Fibras de SPME disponíveis comercialmente [40]

Tipo <sup>a</sup>	Composição Química	Lf / $\mu\text{m}$	$\Delta T$ ( $^{\circ}\text{C}$ ) <sup>b</sup>	Aplicação sugerida
Não-polares	Polidimetilsiloxano (PDMS)	7; 30; 100	200 - 270	Compostos apolares
Polares	Poliacrilato (PA)	85	220 - 320	Medianamente a altamente polares, como fenóis, pesticidas organofosforados. Cetonas, alcoóis. Voláteis de média e alta polaridade
Bi-polares	Carbowax/divinilbenzeno (CW/DVB)	65	200 - 260	Voláteis e não voláteis de baixa a alta polaridade.
	PDMS-DVB	65	200 - 270	
	Carboxen-PDMS	75	-----	

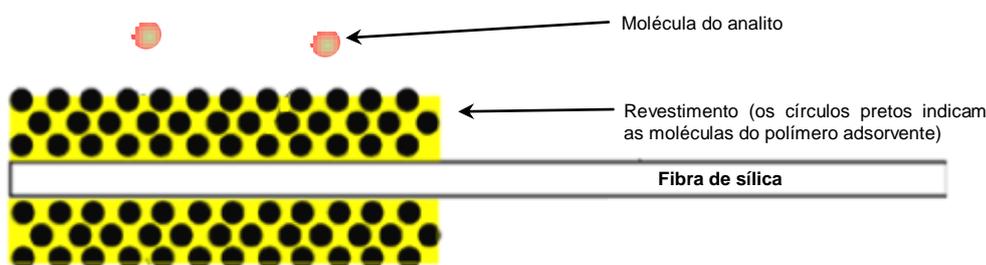
<sup>a</sup> Fibras mais usadas na técnica de cromatografia gasosa

<sup>b</sup> Faixa de temperatura recomendada para dessorção

L<sub>f</sub> : espessura do revestimento

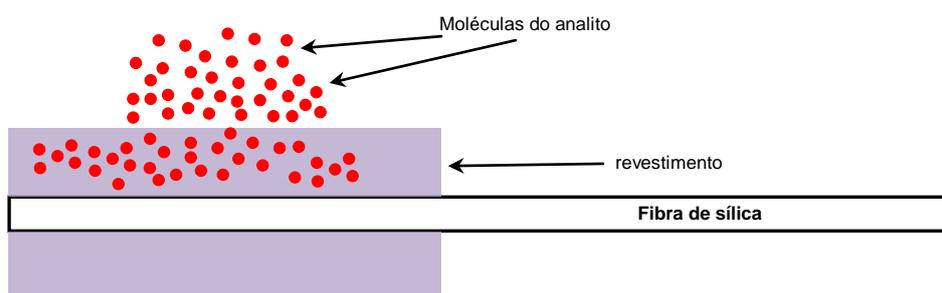
O mecanismo de sorção do revestimento das fibras de SPME pode ser classificado como adsorção ou absorção. [41]

Segundo Schmidt [41] em revestimentos do tipo adsorvente, polímero poroso sólido, carbono poroso ou sílica é ligado a um material líquido revestido em um núcleo de fibra. Moléculas da amostra penetram pelos poros do adsorvente e podem interagir com suas partículas via ligação de hidrogênio, interação  $\pi - \pi$  ou interações de Van der Waals (conforme mostrado na figura 17). A retenção aqui é baseada no tamanho das moléculas da amostra e, em seguida, o diâmetro dos poros e a porosidade. Os poros são classificados em três tipos: macro (aberturas com diâmetro  $> 500 \text{ \AA}$ ), meso (aberturas com diâmetro entre  $20 - 500 \text{ \AA}$ ) e micro (com diâmetros entre  $2 - 20 \text{ \AA}$ ). [41] Existem disponíveis, comercialmente três tipos de fases estacionárias do tipo adsorvente para extração de compostos orgânicos voláteis: CAR-PDMS (carboxeno-polidimetilsiloxano), PDMS-DVB (polidimetilsiloxano-divinilbenzeno) e DVB-CAR-PDMS (divinilbenzeno-carboxeno-polidimetilsiloxano).



**Figura 17** Mecanismo de adsorção do revestimento da fibra

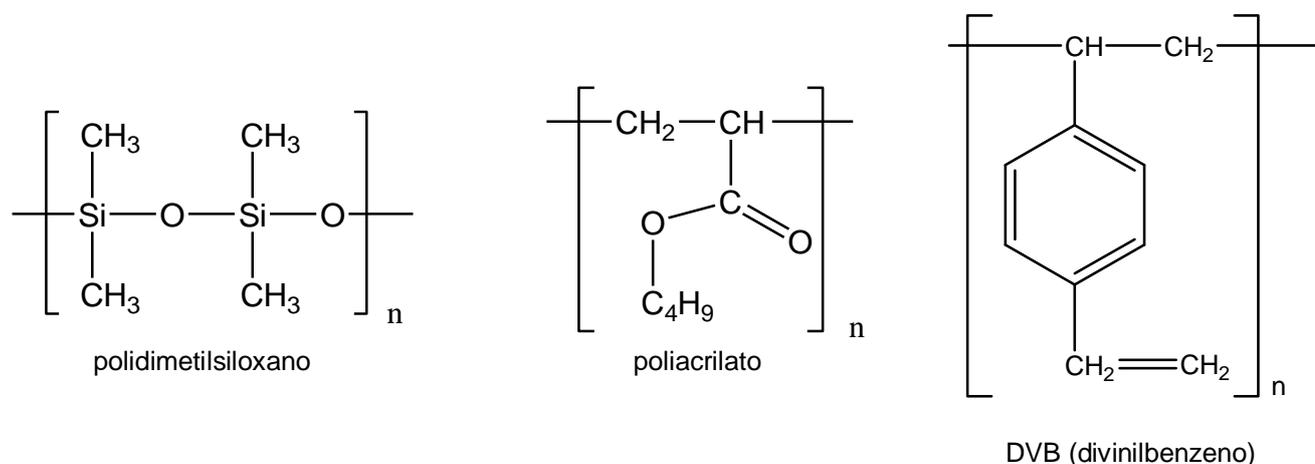
Durante o processo de absorção, os analitos particionam, preferencialmente em equilíbrio no material poroso da fase polimérica líquida, conforme apresentado na figura 18. Nesse tipo de revestimento, os analitos percorrem a fase estacionária para a qual são atraídos com base na sua polaridade. A retenção depende principalmente da espessura da fase estacionária. Moléculas maiores de analito são retidas por mais tempo pelo revestimento, enquanto percorrem menos rapidamente do que moléculas menores. O revestimento com fase mais espessa causa uma retenção mais longa de moléculas, portanto, a escolha da espessura depende do tamanho das moléculas analisadas. [29] Existem disponíveis, comercialmente, três tipos de fases estacionárias do tipo absorvente: PDMS não polar, PA moderadamente polar e PEG polar.



**Figura 18** Mecanismo de absorção do revestimento da fibra

De acordo com a literatura, para extração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos os revestimentos mais utilizados nas fibras de SPME são PDMS, DVB (divinilbenzeno), CAR/PDMS e PA (poliacrilato). [33]

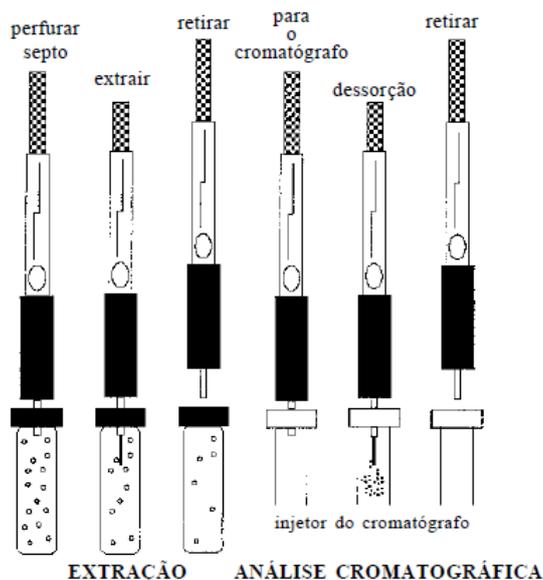
As estruturas dos polímeros se encontram representadas na figura 19.



**Figura 19** Estrutura química dos sorventes mais comumente utilizados em fibras de SPME

A extração ocorre mergulhando-se a seção recoberta na amostra ou no seu *headspace*. Durante a extração as moléculas do analito se deslocam da matriz de origem e penetram no recobrimento e, portanto, tem de vencer a resistência a transferência de massa até que o equilíbrio de partição (ou de adsorção, no caso de recobrimento sólido) seja alcançado entre o analito e a fibra e o meio que a envolve. [40]

Uma vez realizada a extração, a fibra é retirada da amostra e inserida no injetor do cromatógrafo gasoso, onde os analitos são termicamente desorvidos sob fluxo do gás de arraste e carregados para a coluna cromatográfica. As etapas do uso do amostrador de SPME encontram-se ilustradas na figura 20.



**Figura 20** Uso do amostrador de SPME para o processo de extração e o de dessorção do material extraído para análise por GC (do inglês *Gas Chromatography*, cromatografia gasosa). [37]

Os fundamentos da distribuição de massas na extração podem ser descritos a partir do que ocorreria num sistema ideal trifásico: antes da extração,  $n_o$  moles do analito estariam presentes, com uma concentração  $C_o$ , em um volume  $V_m$  da matriz; quando completada a extração, os  $n_o$  moles se distribuiriam entre as fases, isto é,  $n_m^e$  na matriz aquosa ( $^e \equiv$  equilíbrio),  $n_h^e$  no headspace e  $n_f^e$  na fibra. [28]

A conservação de massa no processo é expressa conforme mostrado na equação (2):

$$n_o = n_m^e + n_h^e + n_f^e \quad (2)$$

A equação 3 correlaciona as constantes de distribuição fibra-matriz,  $K_{fm} = C_f^e/C_m^e$ , fibra-headspace,  $K_{fh} = C_f^e/C_h^e$  e headspace-matriz,  $K_{hm} = C_h^e/C_m^e$ ; esta equação é obtida da equação (2) com as substituições dos volumes e concentrações das fases em equilíbrio, respectivamente, para a matriz, o headspace e a fibra,  $V_m^e$  e  $C_m^e$ ,  $V_h^e$  e  $C_h^e$ ,  $V_f^e$  e  $C_f^e$ :

$$K_{fm} = K_{fh}K_{hm} \quad (3)$$

Após substituição das constantes de distribuição e da equação (3) na equação (2) e rearranjos algébricos, obtém-se a equação (4), que fornece a quantidade de analito extraído no sistema em equilíbrio.

$$n^{\circ}_f = \frac{K_{fm}V_f C_o V_m}{K_{fm}V_f + K_{hm}V_h + V_m} = (4)$$

Desta maneira, a equação (4) correlaciona a quantidade extraída do analito com os parâmetros fundamentais dos equilíbrios simultâneos e descreve o aspecto termodinâmico da SPME. Contudo, a equação (4) não se relaciona com o intervalo de tempo necessário para atingir o equilíbrio. Este intervalo de tempo, que é fundamental do ponto de vista experimental, depende da cinética de transferência de massa no sistema. [40]

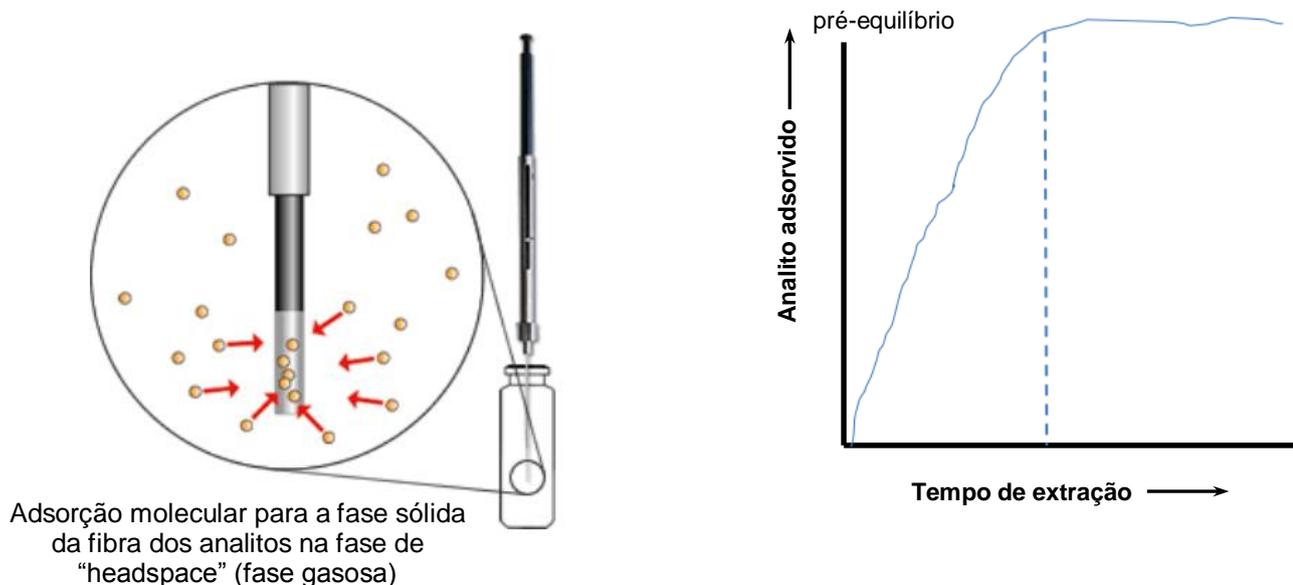
Levando-se em consideração os aspectos cinéticos envolvidos no processo de transferência de massa do analito até atingir o tempo de equilíbrio,  $t_e$ , este pode ser avaliado em função da espessura do filme de recobrimento ( $L_f$ ) e do coeficiente de difusão do soluto nessa camada ( $D_f$ ) através do modelo matemático expresso pela equação (5):

$$t_e \approx t_{95} = \frac{L_f^2}{2 D_f} \quad (5)$$

De acordo com esta equação, o tempo necessário para atingir o equilíbrio seria infinito, mas devido às incertezas experimentais inerentes às extrações por SPME, considera-se, como mostrado na equação (5), um tempo de equilíbrio prático,  $t_{95}$ , que correspondente à extração de 95% da massa que seria extraída após um tempo infinito de extração. [40]

Evidentemente, a correlação entre o modelo matemático expresso pela equação (5) e a situação experimental sempre deve ser feita de forma cautelosa, considerando-se fatores não descritos pelo modelo. [40]

A figura 21 ilustra o processo de adsorção molecular na fibra de SPME e o gráfico ao lado representa o comportamento da quantidade de analito adsorvido em função do tempo de extração.



**Figura 21** Adsorção molecular e gráfico ilustrando adsorção do analito em função do tempo [42]

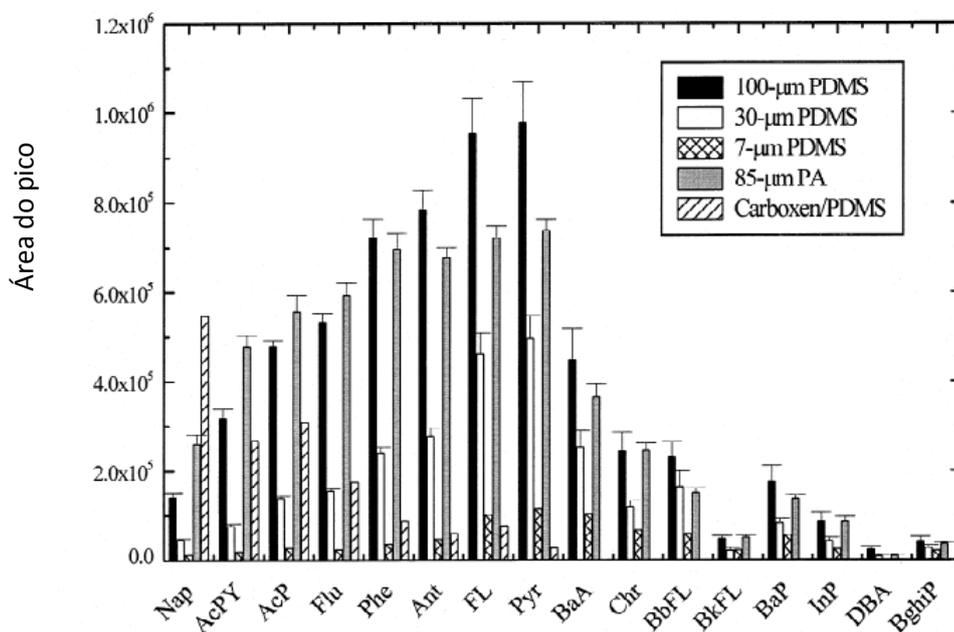
Segundo Doong *et al.* [43], a fibra CAR-PDMS de 65  $\mu\text{m}$  forneceu boa eficiência de extração (fibra imersa na solução aquosa) para HPAs de dois e três anéis (naftaleno, acenaftileno e acenafteno). No entanto, a extração do CAR-PDMS diminuiu com o aumento da massa molecular e apenas oito HPAs ( $\text{MM} < 202$ ) foram extraídos em níveis superiores aos limites de detecção do método dentro de 90 min. Quando as fibras de PDMS (imersa em solução) foram usadas, todos os 16 HPAs podem ser extraídos da água dentro de um tempo de sorção de 90 min. As eficiências de extração diminuíram com a diminuição da espessura do revestimento e a fibra PDMS de 100  $\mu\text{m}$  extraiu as maiores quantidades de HPAs. HPAs de três e quatro anéis, como fenaninteno, antraceno, fluoranteno e pireno foram os compostos mais amplamente absorvidos.

A utilização de fibra PA (imersa em solução aquosa) mostrou um aumento entre a resposta do sinal cromatográfico de HPAs de dois e três anéis em relação à fibra de PDMS, demonstrando que a fibra de PA poderia melhorar a eficiência de extração dos HPAs de baixa massa molecular. Pelo contrário, os HPAs de alta massa molecular (acima de quatro anéis) foram extraídos com menos eficácia usando a fibra PA devido ao fato de que a fibra PA tem um revestimento mais polar e tem uma baixa afinidade para os HPAs contendo mais anéis. [43]

Os HPAs que foram investigados no trabalho de Doong *et al.* [43] se enquadram na classe não polar, com coeficientes de partição octanol-água relativamente altos e baixa solubilidade em água. O revestimento polimérico de PDMS com maior espessura de filme mostrou uma boa sorção para os HPAs. Além disso, a eficiência da extração aumentou com o aumento da massa molecular do naftaleno para o pireno. Embora a fibra PA seja projetada com a finalidade de extrair compostos polares, comportamentos similares de sorção também

foram observados neste caso, o que permitiu que essas duas fibras fossem selecionadas para mais experimentos de otimização.

O comportamento das diferentes fibras frente a capacidade de extração se encontra representado na figura 22.



**Figura 22** A comparação da eficiência de extração de 16 HPAs com cinco fibras diferentes, Solução aquosa (10 ng/mL) foi extraída em um tempo de extração de 90 minutos à temperatura ambiente sob agitação magnética. [44]

A técnica SPME também pode ser usada para extrações do headspace, mas nessa situação deve-se levar em consideração que a transferência de massa em um sistema trifásico *fibra-headspace-matriz* depende dos equilíbrios de partição entre as três fases, das dimensões das fases e dos coeficientes de difusão do soluto nelas. A correlação entre estes fatores e o tempo para atingir o equilíbrio, válida para extrações sem agitação pode ser feita por meio do modelo matemático descrito pela equação (6):

$$t_e \approx t_{95} = 1,8 \left( \frac{L_h}{K_{hm}D_h} + \frac{L_m}{1,6 D_m} \right) K_{fm}L_f \quad (6)$$

onde  $t_e$  : tempo para atingir o equilíbrio;  $L_h$  : espessura do *headspace*;  $L_m$ : espessura da matriz;  $L_f$  : espessura da fibra;  $K_{hm}$ : constante de distribuição *headspace*-matriz;  $K_{fm}$ : constante de distribuição fibra-matriz;  $D_h$  : coeficiente de difusão do soluto no *headspace*;  $D_m$  : coeficiente de difusão do soluto na matriz.

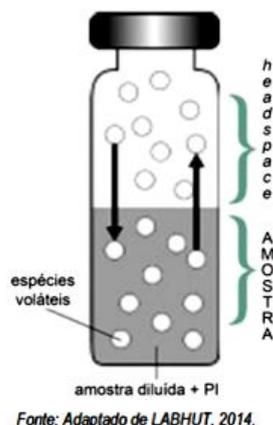
Segundo Zhang e Pawliszyn [45] na análise no modo de headspace, o espaço deve ser o menor possível, pois esse procedimento aumenta a concentração dos compostos analisados no headspace e diminui o tempo para atingir o equilíbrio. [45]

### 3.2.4 Headspace

O termo *headspace* representa o volume de material gasoso que existe acima de uma amostra contida em um recipiente, como um vial por exemplo. [46]

A ideia de se analisar amostras de vapor (acima de um líquido ou um sólido), para se avaliar o seu conteúdo, tem sua origem muito antes do desenvolvimento da própria cromatografia gasosa. Pode-se utilizar como uma citação importante o trabalho dos pesquisadores Harger, Bridwell e Raney em 1939, que propusera a determinação do teor alcoólico de soluções aquosas, a partir da análise do vapor das mesmas. [47] Para determinarem a concentração do álcool na fase de vapor, os pesquisadores submeteram um determinado volume conhecido do vapor a passar através de uma solução aquosa de ácido sulfúrico 1:1 e posteriormente determinaram a concentração por meio de reação de oxirredução usando solução de dicromato de potássio. A concentração do etanol na fase de vapor foi então determinada multiplicando-se a concentração do etanol no líquido pela razão de partição ar/líquido a temperatura usada no experimento. [48]

A figura 23 ilustra o headspace em um frasco.



**Figura 23** Ilustração para o equilíbrio entre o headspace e a amostra.

O primeiro relato na literatura acadêmica para o uso de *headspace* estático acoplado com cromatógrafo a gás foi descrito em 1958 [49] e a primeira utilização amplamente divulgada sobre *headspace* dinâmico (conhecido como *purge and trap*) também acoplado com GC ocorreu na década de 70 após a introdução do adsorvente comercial “Tenax”. [49]

A técnica de *Headspace*-SPME foi desenvolvida em 1993 [50] e consiste em uma fibra de sílica fundida revestida com determinado polímero cujo objetivo é capturar e concentrar analitos. Esta técnica vem apresentando muita utilização em pesquisas nos últimos anos.

Normalmente, é empregada em amostras com concentrações de analitos na faixa de ppb – ppm, sendo que algumas aplicações foram descritas para a faixa de ppt. [50]

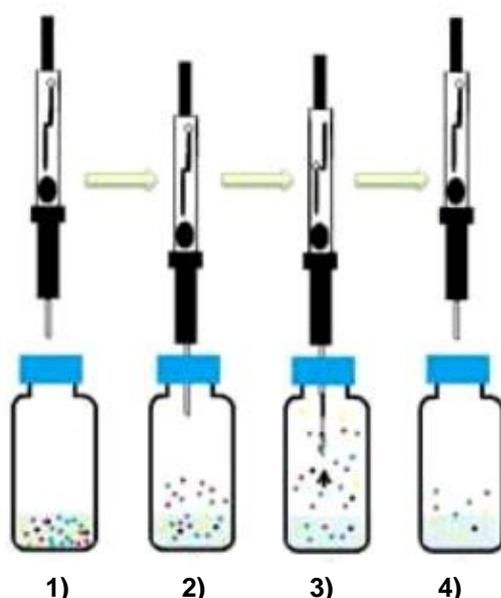
Uma vez que o modo de extração Headspace envolve os analitos na fase gasosa, é necessário observar a importância do parâmetro temperatura, pois esta influencia diretamente sobre a pressão de vapor e, conseqüentemente, a cinética do processo também é afetada. Em geral o tempo de equilíbrio para compostos voláteis é inferior ao tempo de extração com imersão da fibra na amostra (o chamado método direto, DI, do inglês *direct injection*), pois uma expressiva fração do analito está presente no *headspace* antes do início do processo de extração e normalmente o coeficiente de difusão na fase gasosa é muito maior ao da fase líquida. [51]

São quatro etapas que ocorrem durante a extração.

**Etapas: O que ocorre:**

- (1) a amostra é colocada em um frasco headspace
- (2) o sistema alcança o equilíbrio
- (3) a fibra é exposta e extrai o analito
- (4) a fibra é retraída e retira-se a agulha do frasco

A figura 24 ilustra as quatro etapas de extração no modo headspace.



**Figura 24** Ilustração para as etapas de extração no modo headspace usando fibras de SPME (HS-SPME)

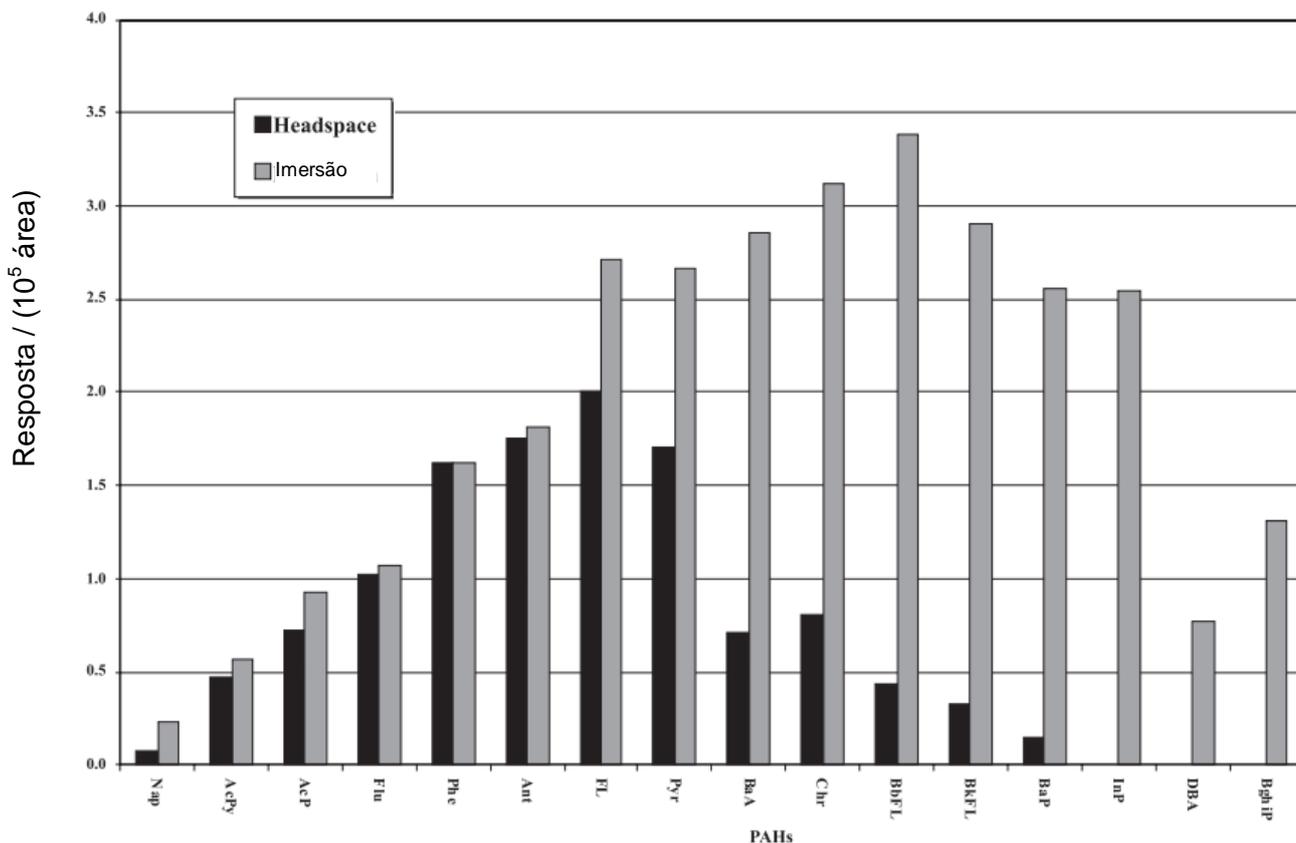
Segundo Jiu Ai [52] considerando o processo dinâmico do headspace, durante a extração headspace com fibra de SPME, existem três fases envolvidas: a fase condensada, seu espaço superior e o polímero de revestimento da fibra de SPME. Existem duas interfaces a serem consideradas, a interface condensado - gás e a interface gás - polímero. Na interface gás - polímero, a transferência de massa é a difusão do analito do volume da fase gasosa para o filme de polímero da fibra SPME.

Durante uma amostragem no headspace com fibra de SPME, analitos na fase gasosa são extraídos no filme do polímero. O equilíbrio original do analito entre a fase condensada e fase gás no headspace é interrompido antes da extração SPME. Uma vez que a concentração do analito no headspace é reduzida devido a absorção SPME, o analito na fase condensada irá evaporar para o headspace. Na interface condensado - gás, a força motriz da evaporação do analito líquido da fase condensada é o seu desvio da concentração em relação ao valor de equilíbrio.

Segundo Coelho *et al.* [50] para análise de HPAs em matrizes aquosas, podem ser empregados as técnicas de extração de SPME com imersão direta e em headspace. Verificou-se que o SPME headspace extraiu eficientemente apenas os hidrocarbonetos de baixo peso molecular (mesmo quando altas temperaturas foram aplicadas, ou seja, 80°C) enquanto a imersão da fibra de SPME resultou na detecção de todos os HPAs. [53]

Na análise SPME dos HPAs, o tempo de extração é um fator crucial porque esses compostos têm muitos tempos de equilíbrio. O tempo de equilíbrio aumenta com a massa molecular dos HPAs. Doong *et al.*, relataram tempos de equilíbrio superiores a 60 h para HPAs superiores a 6 anéis. [43]

Após a extração utilizando fibra SPME 30  $\mu\text{m}$  de PDMS (tanto por imersão direta quanto por headspace) o método analítico utilizado foi cromatografia em fase gasosa com detecção por ionização de chamas (GC-FID) para investigar 16 HPAs em amostras de água. Os resultados se encontram representados na figura 25.



**Figura 25** Comparação das extrações de HPAs de amostras entre imersão e headspace SPME a 60°C durante 30 min com fibra de PDMS 30 µm a 1500 rpm

Conforme se pode observar no gráfico apresentado na figura 18, à medida que os HPAs vão apresentando maior massa molecular (e conseqüentemente irão apresentar menor volatilidade) a resposta dos sinais obtidos para as amostras coletadas por headspace tendem a ficar cada vez menores quando comparados com os sinais das amostras obtidas por imersão da fibra. Conclui-se, portanto, que a eficiência da técnica de *headspace*-SPME é melhor para analitos de maior volatilidade.

### 3.2.5 Microextração em Fase Sólida No Tubo

Após o desenvolvimento da técnica de SPME, as primeiras fibras comercialmente desenvolvidas apresentaram algumas limitações tais como baixa capacidade de absorção, eficácia limitada para compostos termicamente lábeis e ainda baixa eficácia contra alguns solventes usados na técnica de HPLC. Em 1997, Eisert e Pawliszyn [54] introduziram uma nova técnica denominada *In-Tube Solid Phase Micro Extraction*, IT-SPME, ou microextração em fase sólida no tubo, com a finalidade de superar as dificuldades apresentadas pelas fibras da chamada primeira geração. [54] A técnica de IT-SPME foi desenvolvida de forma a permitir o acoplamento direto em sistemas de HPLC (cromatografia líquida e alta eficiência). [54]

Esta nova técnica consiste em um tubo sílica fundida (um tubo capilar) contendo em sua superfície interna um revestimento fino da fase de extração (uma peça da coluna capilar do GC

aberta) ou um tubo capilar empacotado com a fase de extração dispersa em um material de suporte inerte. [55]

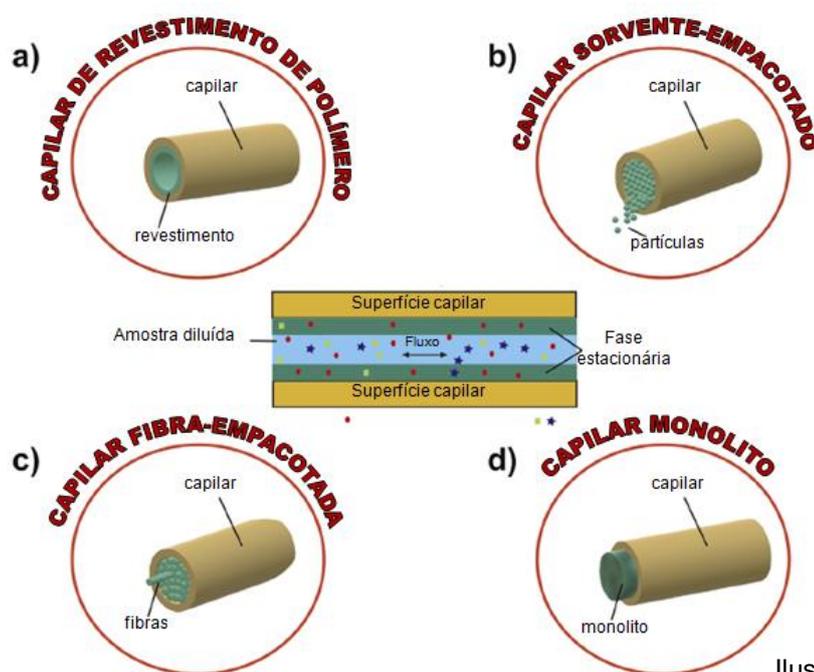
A figura 26 apresenta as quatro principais configurações para os dispositivos de IT-SPME.

A configuração representada em (a) mostra o revestimento do polímero.

A representada em (b) mostra o sorvente empacotado.

Em (c) observa-se a configuração da fibra empacotada.

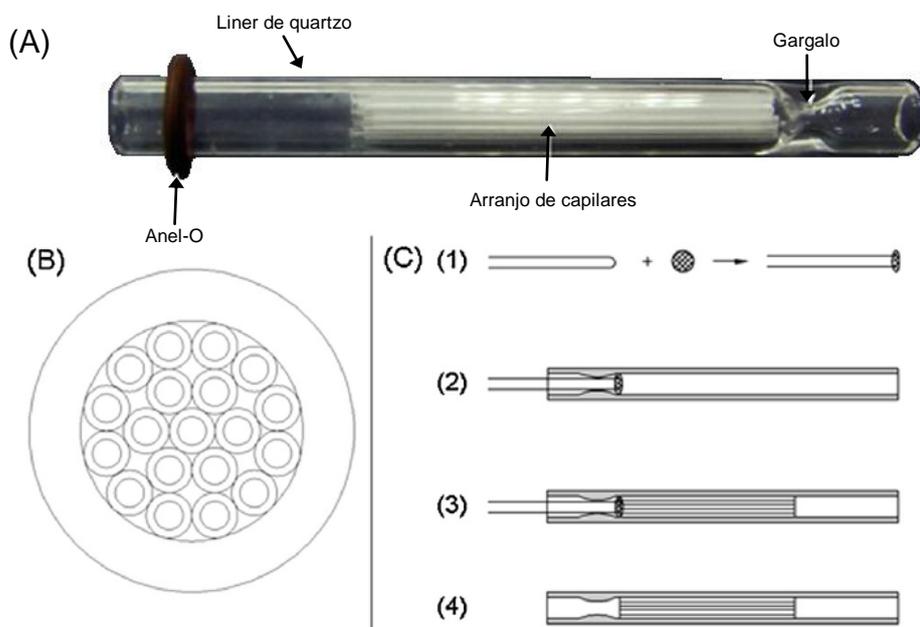
Na configuração (d) observa-se o monólito do tipo haste.



Ilustrações adaptadas de [49]

**Figura 26** Configurações da coluna capilar para IT-SPME. [54]

Yan *et al.* [56] descrevem uma técnica de preparação rápida de extração de HPAs de amostras de água. A técnica consiste na microextração em fase sólida capilar em tubo capilar (ACIT-SPME do inglês *Array Capillary In-Tube Solid Phase Microextraction*), sendo o cartucho constituído de tubos capilares de vidro de 0,5 mm de D.I. x 30 mm contidos no interior de um liner de quartzo de 4 mm de D.I. conforme pode ser observado na figura 28.



**Figura 27** Fotografia do cartucho ACIT-SPME (A), diagrama esquemáticos de sua seção transversal (B) e o procedimento de fabricação (C). [56]

Os capilares são revestidos internamente com a fase de extração (polidimetilsiloxano) e centenas de mL de amostra de água podem ser passadas através do cartucho em poucos minutos, e a grande área superficial da fase de extração (PDMS) é uma vantagem, pois melhora o processo dinâmico de transferência de analitos entre a amostra e a fase de extração. Após a extração os analitos foram dessorvidos termicamente e rapidamente introduzidos no cromatógrafo gasoso. [56]

O trabalho de validação foi realizado utilizando os seguintes HPAs: naftaleno, acenafteno, fenantreno, antraceno, fluoranteno e pireno. A tabela 4 apresenta uma comparação com o método proposto (ACIT-SPME) e outras metodologias para pré-concentração de HPAs.

**Tabela 4** Comparação do método ACIT-SPME/GC-FID proposto com outros métodos usados em pré-concentração e determinação de HPAs. [53]

Analitos	ACIT-SPME/GC-FID		SPME/GC-MS (SIM) <sup>a</sup>		SPSE/GC-MS (SIM) <sup>b</sup>	
	LD (ng/L)	Amostragem	LD (ng/L)	Amostragem	LD (ng/L)	Amostragem
Naftaleno	0,85		0,49		0,24	
Acenafteno	1,23		0,37		0,13	
Fenantreno	1,36	350 mL	0,16	18 mL	0,17	200 mL
Antraceno	1,73	2min	0,18	60min	0,32	60min
Fluoranteno	1,55		0,17		0,86	
Pireno	1,55		0,16		0,71	

<sup>a</sup> Foi usada fibra de PDMS/DVB de 65  $\mu$ m. O LD foi calculado como  $X_b + 3S_b$ , onde  $X_b$  é o valor médio e  $S_b$  é o desvio padrão de background em baixa concentração de padrão

<sup>b</sup> A barra de agitação utilizada tinha 2 cm de comprimento e espessura de polímero de 0,5 mm. Os LD foram determinados com base em S/N de 3.

LD: limite de detecção

GC-MS: cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas (do inglês *Gas Chromatography - Mass Spectrometry*)

Conforme se observa na tabela 4 o método ACIT-SPME levou apenas 2 minutos em vez de dezenas de minutos pelo método SPME ou mesmo horas pelo SBSE (do inglês *Stir Bar sorptive Extraction*, extração por sorção com barra de agitação). Além disso, os limites de detecção estão em níveis de ng/L, que foi apenas um pouco superior aos resultados obtidos pelos métodos por SPME/GC-MS e SBSE/GC-MS.

Independentemente se as amostras a serem analisadas sejam de água do mar, rios, lagos, superfícies, resíduos industriais, solos ou mesmo água potável, diferentes técnicas de extração foram e vem sendo desenvolvidas para extrair os HPAs. Em termos de eficiência de extração, uma vez otimizadas as condições corretamente de acordo com cada matriz, todas as diferentes técnicas são comparáveis. [57]

Diferentes técnicas de extração foram desenvolvidas e aplicadas para extrair HPAs de amostras de água. Para ilustrar melhor as condições de extração, o tempo e o tratamento adicional necessários, foram feitas comparações para algumas das aplicações conforme se pode observar na tabela 5.

**Tabela 5** Comparação de eficiência de técnicas para a extração de HPAs.

Técnica	Solvente	Pré-condicionamento	Condição	Tratamento após extração	Taxa de recuperação para HPA (%)	Ref.
SPE coluna C <sub>18</sub>	Metanol, ciclohexano	5 mL metanol sob vácuo seguido de 5 mL de água ultra pura	1000 mL de água, fluxo de 20 mL/min	Centrífuga, concentração	36,28 – 132,57	[58]
SPE coluna C <sub>18</sub>	Metanol, acetona:THF (1:1)	5 mL de metanol, depois 5 mL metanol- água (40:60)	1000 mL de água com 10% metanol, eluição em 3 mL acetona: THF (1:1), fluxo 0,5 mL/mim	Concentração	81 - 135	[59]
SPE C <sub>18</sub> Microcolunas (6 mL, 1000 mg)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , ACN	10 mL de diclorometano, isopropanol, etanol, metanol, água destilada e água deionizada	1000 mL de água, fluxo 2 – 3 mL/min, eluido em 10 mL ACN e CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Concentração	28,28 – 104,38	[60]
LLE	n-hexano e diclorometano (1:1 v/v)	Todas as vidrarias lavadas com detergente e água quente e depois enxaguadas com água destilada	800 mL de água e 100 mL de solvente, agitar por 2 min.	Concentração	96,80	[61]
LLE	isopropanol		0,5 – 1 L de água extraída duas vezes com 150 e 100 mL de solvente	Concentração	80 - 120	[62]
SPE automatizado	isopropanol	O cartucho, loop, injetor e linhas de amostra limpas e equilibradas	10 mL de água introduzida para o loop de amostra MPS 3XL	Concentração automática	97	[63]
D-μ-SPE	diclorometano	CaCO <sub>3</sub> nanoporoso condicionado com diclorometano por 5 min	5 mL água em 5 mL de solvente extraído por 30 min	Centrífuga	84 - 110	[64]
SPME	Isento de solventes	Fibra condicionada na temperatura da porta de injeção por 2 h	Fibra inserida em 14 mL de água a temperatura ambiente por 60 min	Nenhum	75,6 - 107	[65]
SBSE	Isento de solventes	A barra de agitação foi condicionada a 50 °C por 24 h, colocada em um tubo de ensaio contendo 10 mL de MeOH/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (50:50 v/v), submetida ao ultrassom por 30 min e seca a 50 °C por 1 h	A barra de agitação foi imersa em uma amostra de 20 mL de água extraída com barras de agitação, à temperatura ambiente em um agitador magnético.	Dessorção em misturas de equivolumes de acetoneitrila- metanol	93 - 101	[66]

SPE: extração em fase sólida

LLE: extração líquido líquido

D-μ-SPE: microextração em fase sólida dispersiva

SPME: microextração em fase sólida

SBSE: extração sortiva em barra de agitação

### 3.3 Métodos de Análise

Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos com seus derivados são determinados globalmente após a extração de amostras alimentícias, ambientais ou biológicas usando métodos aprovados por determinadas agências e/ou organizações, como a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA, do inglês *United States Environmental Protection Agency*). Basicamente, os métodos se subdividem em três tipos: imunoenensaio, espectrometria e cromatografia. [19]

#### 3.3.1 Métodos da USEPA

Os métodos cromatográficos (líquidos e gasosos) são os mais utilizados para a análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. Os métodos disponíveis de cromatografia líquida incluem a cromatografia de alta eficiência (HPLC do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) com detectores por ultravioleta e fluorescência, espectrômetro de massas, detector por ionização de chamas (FID, do inglês *Flame Ionization Detector*), detector de arranjo de diodos (PDA, do inglês *PhotoDiode Array*), detector de arranjo de fotomultiplicadoras, dispositivos de transferências de cargas (CTD, do inglês *Charge Transfer Devices*) ou combinação desses detectores. Os métodos de cromatografia gasosa (GC) utilizam geralmente como detector o espectrômetro de massas. [67]

O método número 610 da USEPA, por exemplo, fornece abordagens de HPLC e GC para a determinação de HPAs. O procedimento de cromatografia gasosa não resolve de forma adequada a separação dos quatros pares de substâncias (antraceno e fenantreno; criseno e benzo(a)antraceno; benzo(b)fluoranteno e benzo(k)fluoranteno; e dibenzo(a,h)antraceno e indeno(1,2,3-cd) pireno). No caso dessas substâncias mencionadas a abordagem da cromatografia líquida no método 610 é mais apropriada. [32]

O método de HPLC utiliza coluna de fase reversa HC-ODS Sil-X, diâmetro de partículas de 5 microns, em coluna de aço inoxidável de 25 cm x 2,6 mm ID (Perkin Elmer n° 089-0716 ou equivalente). Eluição isocrática por cinco minutos usando acetonitrila/água (4:6), depois eluição gradiente linear até 100 % de acetonitrila durante 25 minutos a 0,5 mL/min. O detector de UV é recomendado para a determinação de naftaleno, acenaftileno, acenafteno e fluoreno e o detector de fluorescência é recomendado para os demais HPAs. A identificação dos HPAs e os limites de detecção neste método se encontram apresentados na tabela 6.

**Tabela 6.** Condições e limites de detecção do método por HPLC

HPA	tempo de retenção (min)	Limite de Detecção do método ( $\mu\text{g/L}$ )
Naftaleno	16,6	1,8
Acenaftileno	18,5	2,3
Acenafteno	20,5	1,8
Fluoreno	21,2	0,21
Fenantreno	22,1	0,64
Antraceno	23,4	0,66
Fluoranteno	24,5	0,21
Pireno	25,4	0,27
Benzo(a)antraceno	28,5	0,013
Criseno	29,3	0,15
Benzo(b)fluoranteno	31,6	0,018
Benzo(k)fluoranteno	32,9	0,017
Benzo(a)pireno	33,9	0,023
Dibenzo (a,h) antraceno	35,7	0,030
Benzo(ghi)perileno	36,3	0,076
Indeno(1,2,3-cd)pireno	37,4	0,043

O método por GC do método 610 EPA utiliza coluna Chromosorb W-AW-DCMS (malha 100/120 ou equivalente) revestido com 3% OV-17 embalado em uma coluna de vidro de 1,8 m de comprimento x 2 mm de DI. O gás de arraste é o nitrogênio em vazão de 40 mL/min. A temperatura da coluna foi mantida a 100°C por quatro minutos e depois programada a 8°C/min até temperatura final de 280°C. O detector utilizado foi o de ionização de chamas (FID) que se provou ser eficaz na análise de águas residuais. A sequência dos HPAs identificados por este método encontra-se apresentado na tabela 7.

**Tabela 7.** Condições do método por GC

HPA	tempo de retenção (min)
Naftaleno	4,5
Acenaftileno	10,4
Acenafteno	10,8
Fluoreno	12,6
Fenantreno	15,9
Antraceno	15,9
Fluoranteno	19,8
Pireno	20,6
Benzo(a)antraceno	24,7
Criseno	24,7
Benzo(b)fluoranteno	28,0
Benzo(k)fluoranteno	28,0
Benzo(a)pireno	29,4
Dibenzo (a,h) antraceno	36,2
Indeno(1,2,3-cd)pireno	36,2
Benzo(ghi)perileno	38,6

O método número 625 (“Method 625: Base/Neutrals and Acids”) é um método de cromatografia gasosa / espectrometria de massas que abrange a determinação de vários compostos orgânicos particionados em um solvente orgânico. [68]

As condições do método são: coluna Supelcoport (malha 100/120) revestida com 3% de SP-2250 embalado em uma coluna de vidro de 1,8 m de comprimento x 2 mm de diâmetro interno com gás de arraste hélio em vazão de 30 mL/min. A temperatura da coluna foi mantida isotérmica a 50°C por quatro minutos e depois programada uma rampa de aquecimento de 8°C/min até 270°C e mantida por 30 minutos. [68]

Os parâmetros instrumentais para o espectrômetro de massas são:

- Energia eletrônica: 70 V (nominal)
- Faixa de massas: 35 – 450 uma
- Tempo de digitalização: para realizar pelo menos cinco exames por pico, mas não exceder sete segundos por varredura

Os dados referentes a este método se encontram apresentados na tabela 8.

**Tabela 8.** Condições cromatográficas, limites de detecção e massas características.

HPA	tempo de retenção (min)	Limite de Detecção do método (µg/L)	Massas características					
			Impacto eletrônico			Ionização química		
			primária	secundária	secundária	metano	metano	metano
Acenafteno	17,8	1,9	154	153	152	154	155	183
Acenaftileno	17,4	3,5	152	151	153	152	153	181
Antraceno	22,8	1,9	178	179	176	178	179	207
Benzo(a)antraceno	31,5	7,8	228	229	226	228	229	257
Benzo(b)fluoranteno	34,9	4,8	252	253	125	252	253	281
Benzo(k)fluoranteno	34,9	2,5	252	253	125	252	253	281
Benzo(a)pireno	36,4	2,5	252	253	125	252	253	281
Benzo(ghi)perileno	45,1	4,1	276	138	277	276	277	305
Criseno	31,5	2,5	228	226	229	228	229	257
Dibenzo(a,h)antraceno	43,7	2,5	278	139	279	278	279	307
Fluoranteno	26,5	2,2	202	101	100	203	231	243
Fluoreno	19,5	1,9	166	165	167	166	167	195
Indeno(1,2,3-cd)pireno	42,7	3,7	276	138	277	276	277	305
Naftaleno	12,1	1,6	128	129	127	129	157	169
Fenantreno	22,8	5,4	178	179	176	178	179	207
Pireno	27,3	1,9	202	101	100	203	231	243

De acordo com o método 625 após a obtenção dos perfis atuais de íons extraídos para a relação m/z, os seguintes critérios devem ser atendidos para fazer a identificação qualitativa:

- ⇒ O tempo de retenção deve cair dentro de  $\pm 30$  segundos após o tempo de retenção do composto autêntico.
- ⇒ As alturas dos picos relativas das três massas características nos EICPs (“extracted current ion profile” – perfil atual de íons extraídos) devem estar dentro de  $\pm 20$  % das intensidades relativas dessas massas em um espectro de massas de referência. O espectro de massas de referência pode ser obtido a partir de um padrão analisado no sistema GC/MS ou de uma biblioteca de referência.

- ⇒ Isômeros estruturais que têm espectros de massa muito semelhantes e menos de 30 segundos de diferença no tempo de retenção, podem ser identificados explicitamente apenas se a resolução entre isômeros autênticos em uma mistura padrão for aceitável. A resolução é alcançada se a altura da linha de base até o vale entre os isômeros for inferior a 25% da soma das duas alturas de pico. Caso contrário, os isômeros estruturais são identificados como pares isoméricos.

### 3.3.2 Métodos utilizados pela União Européia

Além dos métodos elaborados pela USEPA dos EUA, procedimentos padrão foram publicados pela ISO para análise de HPAs. A norma ISO 13877:1998 descreve um método para a determinação de HPAs no solo por HPLC, enquanto a norma ISO 18287:2006 especifica um método para a determinação de HPAs no solo por GC-MS. Os métodos cromatográficos não diferem muito daqueles aplicados para a análise de solo ou ar. No entanto, o enriquecimento do analito é um pré-requisito para a análise de HPAs na água. Várias técnicas foram desenvolvidas para esse fim, como extração líquido-líquido (LLE), extração em fase sólida (SPE), microextração em fase sólida (SPME) ou extração barra de agitação (SBSE). Sistemas de extração por membrana para o isolamento de contaminantes não polares de amostras também foram investigados. [69]

Um método analítico sensível foi desenvolvido para a determinação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos na água, incluindo poluentes prioritários de acordo com a União Europeia, por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas de triplo quadrupolo em tandem (GC-QqQ-MS/MS). O tratamento da amostra foi baseado em uma extração, em fase sólida, validado em quatro tipos diferentes de água: água do mar, água potável, águas interiores não tratadas e águas residuais de acordo com CD 2002/657/EC e diretrizes SANTE/11813/2017. O método validado foi acreditado com sucesso de acordo com a norma internacional ISO/IEC 17025:2017 (incluindo cálculo da incerteza) e aplicado à análise de rotina de amostras reais de água. [70]

A análise GC-MS/MS foi realizada usando um cromatógrafo a gás Varian 3800 (Varian Instruments, Sunnyvale, CA, EUA) equipados com controle eletrônico de fluxo. As injeções foram realizado com um auto-amostrador CombiPal (CTC Analytics AG, Zwingen, Suíça) com uma seringa de 100 µL e um injetor de temperatura programado / sem divisão SPI / 1079 split/splitless operando no modo de injeção de grande volume e temperatura de vaporização programada. Um revestimento ultra-inerte poroso (3,4 mm, 5 µm, Agilent, EUA) e uma coluna capilar Agilent Select PAH (filme de 30 m x 0,25 mm i.d. x 0,15 µm espessura) foi utilizada. O gás de arraste era hélio (99,9999% de pureza) a uma taxa de fluxo constante de 2 mL/min. O

GC foi conectado a um espectrômetro de massa Varian 320 triplo quadrupolo (QqQ) operando no modo de ionização eletrônica (EI) a 70 eV com uma corrente de emissão programada de 50  $\mu$ A. Argônio (99,999% de pureza) foi empregado como gás de colisão. [70]

O espectrômetro de massa QqQ (triplo quadrupolo) foi operado após selecionado o modo de monitoramento de reações múltiplas (SRM, do inglês *Selected Reaction Monitoring*). As temperaturas da linha de transferência do coletor e da fonte de ionização foram fixadas em 300, 40 e 280°C, respectivamente. Os valores ideais para o tempo de varredura variou de 0,3 a 0,6 s. As larguras de pico definidos no primeiro e terceiro quadrupolos foram m/z 2,0 e 1,5, respectivamente, e a análise foi realizada com um atraso (*delay*) de 9,5 min no multiplicador de filamentos. [70]

As condições otimizadas de espectrometria de massas estão listadas na Tabela 9 para todos os HPAs.

**Tabela 9.** Resumo dos principais parâmetros de validação do método otimizado para água potável e águas residuais

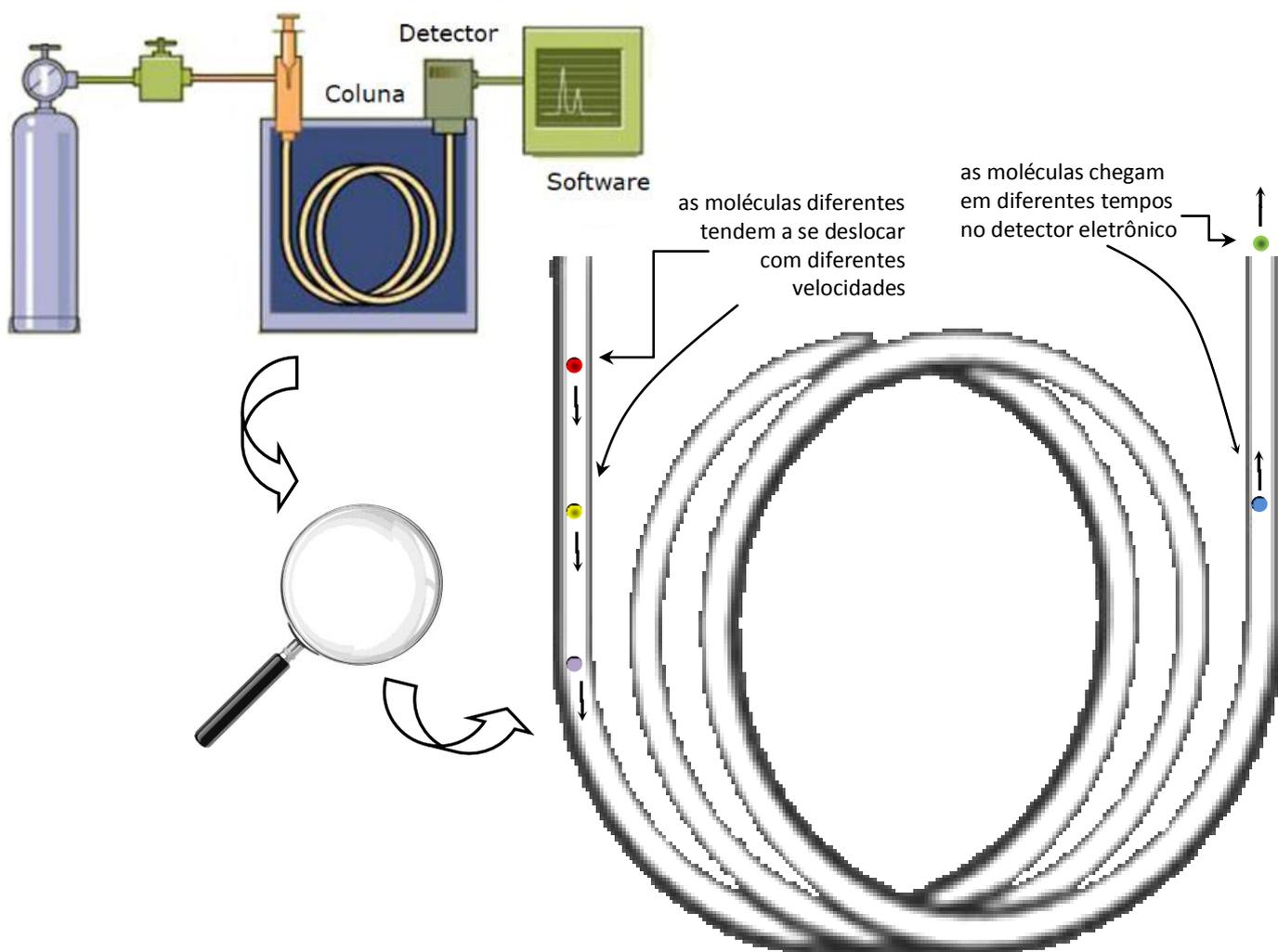
HPAs	Tr (min)	Faixa de linearidade (ng/L)	R <sup>2</sup>	Recuperação (%)						LD (ng/L)	LQ (ng/L)
				(RSD intra-dia,%)		(RSD inter-dia,%)		Incerteza (%)			
				nível de fortificação (ng/L)		nível de fortificação (ng/L)		nível de fortificação (ng/L)			
				5,6	25.0	5,6	25.0	5,6	25.0		
<i>Água potável</i>											
ANT	11,42–11,54	5 - 100	0,9995	89	82	14	7	24	10	3	5
FA	17,33–17,55	5 - 100	0,9998	98	92	9	5	23	10	3	5
BcL	21,56–21,82	5 - 100	0,9999	94	93	7	6	21	10	3	5
BaA	29,12–29,29	5 - 100	0,9994	94	92	14	10	22	12	3	5
MCH	31,42–31,47	5 - 100	0,9990	99	93	10	5	16	9	3	5
BbFA	34,07–34,12	5 - 100	0,9991	98	93	11	6	19	10	3	5
BjFA	34,29–34,33	5 - 100	0,9987	99	93	12	7	22	11	3	5
BkFA	34,20–34,25	5 - 100	0,9988	96	94	11	5	20	9	3	5
BaP	36,32–36,36	5 - 100	0,9977	94	79	11	7	21	11	3	5
IP	43,22–43,29	5 - 100	0,9975	102	94	10	9	32	13	3	5
DBahA	43,26–43,34	5 - 100	0,9976	98	90	11	9	25	13	3	5
BghiP	44,26–44,33	5 - 100	0,9980	98	87	10	7	30	12	3	5
<i>Águas residuais</i>											
ANT	11,10–11,28	5 - 100	0,9995	92	84	11	9	35	18	3	5
FA	16,82–17,09	5 - 100	0,9998	119	103	13	6	25	16	3	5
BcL	20,96–21,27	5 - 100	0,9999	86	99	16	12	27	19	3	5
BaA	28,31–28,64	5 - 100	0,9994	110	118	15	12	21	20	3	5
MCH	31,09–31,22	5 - 100	0,9990	103	102	12	11	25	19	3	5
BbFA	33,69–33,80	5 - 100	0,9991	110	120	11	10	20	19	3	5
BjFA	33,88–33,98	5 - 100	0,9987	104	120	11	8	20	17	3	5
BkFA	33,80–33,92	5 - 100	0,9988	113	120	14	13	31	21	3	5
BaP	35,84–35,94	5 - 100	0,9977	89	105	16	15	34	21	3	5
IP	42,95–43,04	5 - 100	0,9975	87	103	15	13	23	21	3	5
DBahA	42,91–42,99	5 - 100	0,9976	85	91	12	11	25	19	3	5
BghiP	44,00–44,07	5 - 100	0,9980	84	94	15	13	21	19	3	5

### 3.4 Utilização da cromatografia gasosa

Para a condução dos experimentos referentes a esta dissertação foi utilizada a técnica de cromatografia gasosa usando o espectrômetro de massas como detector. A cromatografia gasosa é uma técnica analítica bastante versátil que permite separações, identificações e também medidas quantitativas de componentes de uma mistura praticamente impossíveis de serem efetuadas pelos meios convencionais. [67] A seguir será apresentado um breve resumo sobre a técnica.

A amostra pode ser injetada no cromatógrafo a gás de maneira manual ou automatizada, por meio do controle do software do equipamento. Uma vez no interior do equipamento, embora a vazão do gás de arraste seja constante as diferentes moléculas dos analitos investigados (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos no caso da presente dissertação) se deslocam com diferentes velocidades no interior da coluna capilar. Tal fato se deve a uma combinação de vários fatores dentre eles as diferentes massas moleculares e polarizabilidades (do ponto de vista molecular) e a programação de temperatura do forno. A consequência dessa combinação de fatores é que as moléculas tendem a chegar em diferentes tempos no detector (estes tempos são denominados de “tempos de retenção”) e normalmente esses tempos são o parâmetro que permite fazer a identificação qualitativa dos analitos quando as condições cromatográficas são mantidas constantes. [46] Entretanto existem situações em que podem ocorrer co-eluições, ou seja, dois ou mais analitos podem sair no mesmo tempo de retenção. Dessa maneira o tempo de retenção não deve ser considerado de forma absoluta em termos de uma análise qualitativa (poderia ser usado como um primeiro indicador); havendo disponibilidade do detector de espectrometria de massas, os padrões de fragmentação seriam a maneira mais segura de se identificar um determinado composto.

Este processo pode ser compreendido de forma resumida como apresentado na ilustração esquemática da figura 28.



**Figura 28** Esquema de separação dos analitos no interior da coluna cromatográfica.

Conforme ilustrado na figura 28 após a amostra (contendo uma mistura de moléculas) ser injetada no cromatógrafo, o gás de arraste promove o deslocamento das moléculas no interior da coluna capilar.

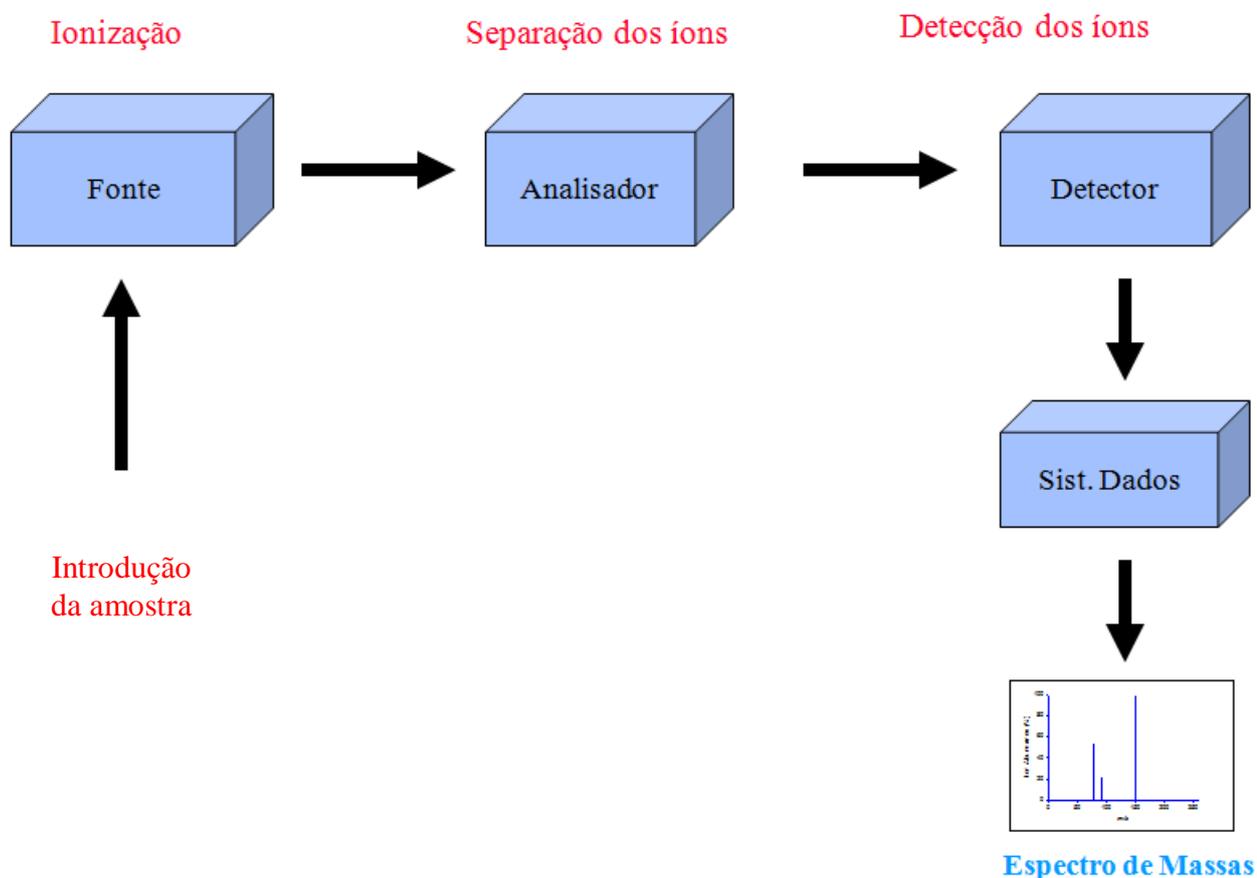
As moléculas quando saem da coluna capilar chegam até o detector (neste trabalho o espectrômetro de massas Agilent modelo 7975C) onde são gerados os sinais elétricos que permitem fazer a identificação das moléculas por meio dos padrões de fragmentação molecular (estes padrões são identificados pelas relações entre as massas e as cargas, cuja proporção é representada pelo símbolo  $m/z$ ). O espectrômetro de massas opera com os modos de aquisição *full scan* (intervalo de varredura de  $m/z$  entre 70 e 350) e SIM (do inglês *selected ion monitoring*, monitoramento de íon selecionado) utilizando-se ionização por elétrons com energia de 70 eV.

O modo de aquisição denominado *FULL SCAN* monitora o espectro completo das moléculas, ou seja, todos os fragmentos obtidos a partir do íon precursor da molécula original são registrados. Já no modo de monitoramento por íon selecionado (SIM) somente será

computado o fragmento que tiver uma determinada razão massa/carga previamente selecionada, ou seja, mesmo que diferentes fragmentos tenham se formado o software do equipamento irá fazer uma “seleção” de apenas um íon fragmento para ser registrado.

No interior do espectrômetro de massas ocorrem vários processos. A amostra após ser injetada no equipamento é submetida a uma fonte de elétrons de alta energia que promove a fragmentação das moléculas em íons. Os íons, por sua vez, são separados no analisador de acordo com as suas proporções de massa/carga ( $m/z$ ) e estes por sua vez são conduzidos ao detector que gera os sinais que permitirão a obtenção do espectro de massas. [71]

De maneira simplificada estes processos se encontram representados na figura 29.



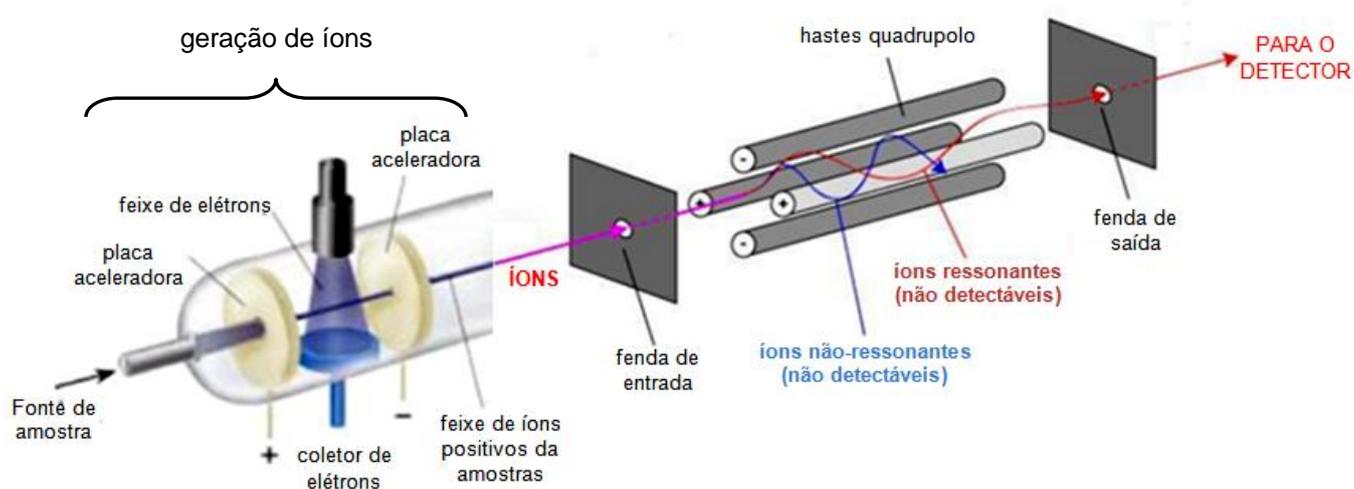
**Figura 29** Componentes do espectrômetro de massas [71]

A espectrometria de massas clássica (ou seja, a espectrometria não sequencial) é fundamentada, basicamente, nos seguintes princípios:

- Geração de íons gasosos a partir da amostra (formação de íons positivos radicalares). Este processo ocorre na fonte;
- Seleção destes íons de acordo com sua relação massa/carga ( $m/z$ ). Este processo ocorre no detector;

- Medida da abundância relativa de íons fragmentos de cada  $m/z$ . Este processo ocorre no sistema de dados.

Quando o espectrômetro de massas está acoplado a um cromatógrafo gasoso, o processo de geração de íons gasosos pode ser feito por dois mecanismos como impacto de elétrons (EI) e ionização química (CI, do inglês *chemical ionization*). [72] O equipamento utilizado no laboratório de cromatografia do CEFET-MG, o espectrômetro Agilent modelo 7995 C, opera no modo de ionização por impacto eletrônico cujo esquema de funcionamento se encontra simplificado representado na figura 30.



(Adaptação de <http://www.espectrometriademassas.com.br/img/assuntos/imagens/17/56.gif>)

**Figura 30** Esquema de geração de íons e analisador de massas [73]

A figura 31 apresenta um modelo de quadrupolo, que é uma peça essencial pois funciona como uma espécie de “filtro” dos fragmentos obtidos.

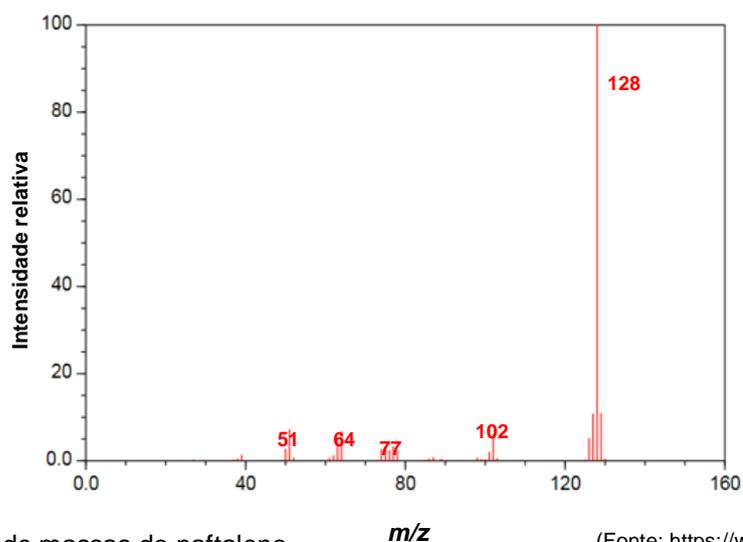


**Figura 31** Quadrupolos [73]

Os íons após atravessarem o analisador de massas chegam ao detector eletrônico que passam a gerar um sinal elétrico que é computado pelo software. Com base nos fragmentos obtidos, suas massas relativas ( $m/z$ ) e suas abundâncias, são gerados os espectros de massas. [71]

As condições de fragmentação (energia do quadrupolo, temperatura, etc.) são padronizadas e cada substância química apresenta normalmente um padrão conhecido de fragmentação e a identificação das relações massa/carga ( $m/z$ ) pode ser usadas para a identificação qualitativa da substância. Existem algumas bibliotecas como a do NIST (*National Institute of Standards and Technology*) que já ficam disponibilizadas no próprio software dos espectrômetros de massa.

Como exemplificação o espectro de massas típico para o naftaleno (o hidrocarboneto policíclico aromático de menor massa molecular) é apresentado na figura 32

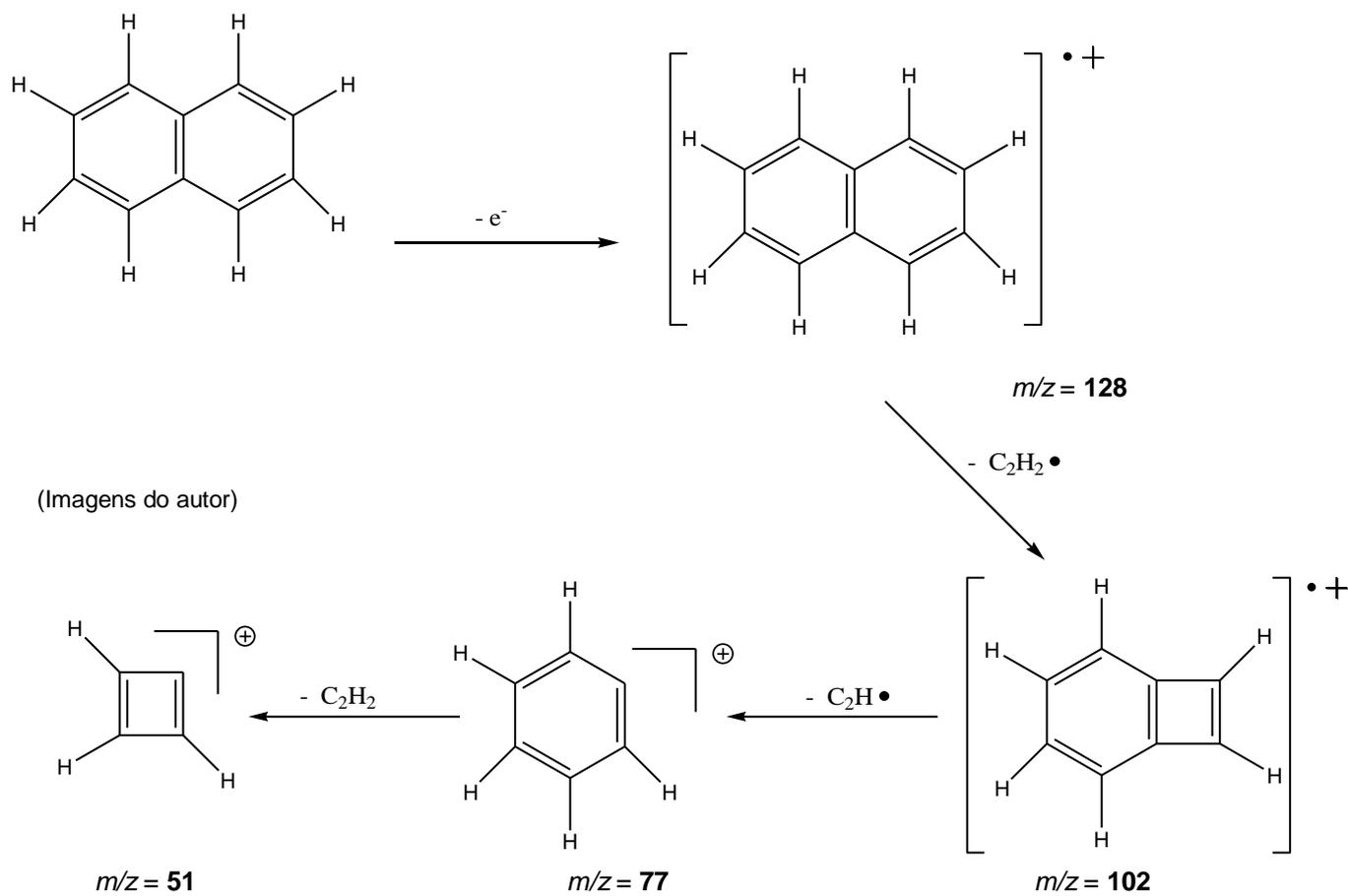


**Figura 32** Espectro de massas do naftaleno

(Fonte: <https://webbook.nist.gov/chemistry>)

Estas relações  $m/z$  estão associadas aos diversos íons positivos originados a partir da molécula neutra original de naftaleno ( $C_{10}H_8$ ) a partir da ionização eletrônica. A figura 33 apresenta a esquematização para a formação dos diversos íons obtidos a partir da formação do íon molecular.

O naftaleno ( $C_{10}H_8$ ) se transforma inicialmente no íon molecular  $C_{10}H_8^+$ . Este após a liberação do radical  $\cdot C_2H_2$  origina o íon  $C_8H_6^+$  cuja razão massa/carga é 102. Após nova fragmentação em que é liberado o radical  $\cdot C_2H$  ocorre a formação do íon  $C_6H_5^+$  cuja razão massa/carga é 77. Em uma etapa o íon  $C_6H_5^+$  libera um radical  $\cdot C_2H_2$  original o íon  $C_4H_3^+$  cuja razão massa/carga é 51.

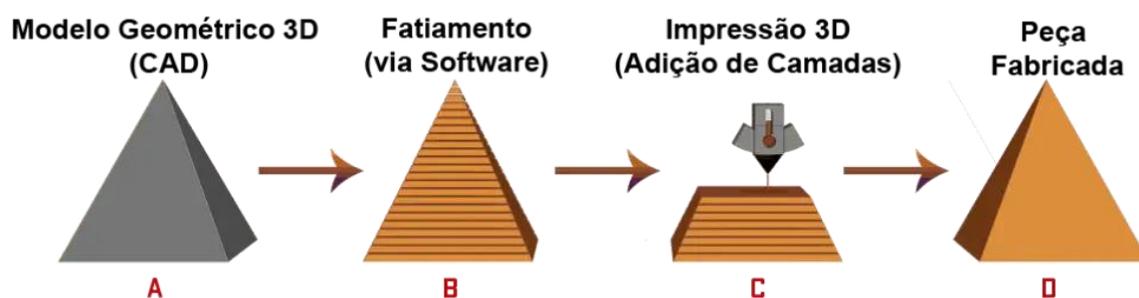


**Figura 33** Fragmentação da molécula do naftaleno.

### 3.5 O processo de prototipagem

No âmbito do desenvolvimento e concepção de novos artefatos, é comum a utilização da prototipagem para a realização de testes. Os protótipos são versões preliminares de novos produtos e apresentam como vantagens a possibilidade de execução de testes, permitindo que haja a verificação das características e funções que o objeto deve apresentar na prática, bem como a eliminação de conceitos possivelmente falhos na parte inicial do desenvolvimento do produto. [74]

Nesse contexto, a impressão em três dimensões (3D) pode ser aplicada, tratando-se de um processo de prototipagem rápida e de baixo custo. Esta prototipagem consiste em um processo de adição de material na forma de camadas planas sucessivas de um material polimérico possibilitando, conseqüentemente, a criação de modelos em três dimensões. [76] O processo completo é mostrado na Figura 34.



CAD: computer aided design (“desenho assistido por computador”, nome dado aos sistemas computacionais utilizados para facilitar o projeto e desenhos técnicos)

Figura 34 - Etapas do processo de impressão 3D. [76]

Como pode ser observado na figura 28, o processo dá-se inicialmente a partir da criação de um modelo digital da peça desejada, em *software* de desenho tridimensional (representado pela etapa A). O modelo é então transferido para outro *software*, denominado “fatiador” (etapa B), responsável pela execução de um fatiamento eletrônico da peça em 3D, transformando-a em uma malha simplificada estruturada em camadas. [77]. O arquivo gerado é então processado eletronicamente pelo *software* da impressora 3D, iniciando-se na base e finalizando-se no topo do objeto (etapa C), produzindo a peça física (etapa D).

Dentre as diferentes técnicas [65] de impressão 3D, a modelagem por fusão e deposição (FDM, do inglês *Fused Deposition Modeling*) ocorre por meio do uso de um cabeçote aquecido, que gera a extrusão de um filamento polimérico, formando camadas bidimensionais de material impresso. Estas, por sua vez, são depositadas consecutivamente em um suporte de impressão, geralmente aquecido, formando o objeto em 3D desejado, a partir do endurecimento das camadas do material impresso. Esta técnica apresenta como vantagens a abrangência de impressoras e filamentos com custo relativamente baixo, a existência de uma grande gama de materiais de impressão disponíveis e a facilidade no uso e manuseio das impressoras. [78]

Em se tratando dos filamentos de impressão 3D, o copolímero acrilonitrila butadieno estireno (ABS, do inglês *Acrylonitrile Butadiene Styrene*) garante propriedades de robustez e durabilidade às peças impressas. Pelo fato de ter como propriedade uma temperatura de transição vítrea mais alta, o ABS pode suportar altas temperaturas antes de começar um processo de deformação, o que torna este material uma boa escolha para aplicações que envolvam calor. Ao se realizar a impressão utilizando este material, há a liberação de um leve odor, devendo ser utilizada uma impressora fechada ou a realizada a impressão em local com boa ventilação. [79]

Utilizando-se as vantagens da impressão 3D para a construção de protótipos, atualmente podem ser encontradas diversas aplicações, como por exemplo, no ramo de tecnologias assistivas, na produção de órteses e próteses em medicina [80], bem como no meio acadêmico, com funcionalidades aplicadas na área de química, empregando-se também o uso de microcontroladores para automatização dos produtos concebidos. [81]

Dadas as características de resistência mecânica e térmica do ABS ele foi utilizado para a criação do protótipo HS-IT-FEX uma vez que para o estudo do *headspace* é necessário o aquecimento das amostras até sua vaporização e, portanto, a caixa de controle com os componentes eletrônicos precisa ter boa resistência térmica devido a proximidade do controlador com o resistor acoplado ao cilindro metálico.

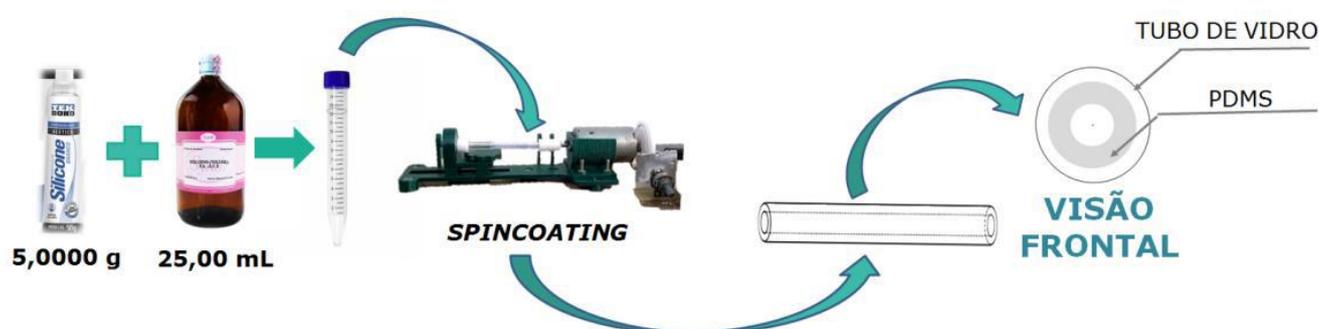
Os experimentos utilizados no desenvolvimento do presente trabalho consistiram na utilização do protótipo previamente projetado no Intechlab (Laboratório de Tecnologias Integradas do CEFET-MG) que proporciona as condições técnicas necessárias para gerar, por meio de aquecimento, um *headspace* da amostra aquosa contendo os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos dissolvidos. Estes são “trapeados” no interior de um liner de vidro com revestimento interno de polidimetilsiloxano para posteriormente serem analisados por meio da técnica de cromatografia gasosa, sendo utilizado um detector de espectrometria por massas.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 Preparo do revestimento do liner

Para se preparar o liner com o polímero de PDMS inicialmente foi feita a extração do mesmo utilizando-se 5,0000 g de cola de silicone com 25,0 mL de tolueno. A mistura foi homogeneizada por três horas com auxílio de agitador magnético. Em seguida centrifugou-se a solução a 1500 rpm por cerca de 15 minutos para a separação das fases. A parte correspondente ao sobrenadante foi utilizada nos processos subsequentes. [10]

Para se realizar a deposição do polímero foi injetado 70  $\mu\text{L}$  do extrato em tolueno no interior do liner seguindo a técnica de *spincoating* (desenvolvida pela equipe do laboratório INTECHLAB) a 250 rpm. A figura 35 apresenta o esquema completo.



**Figura 35** Esquema representativo do procedimento de deposição do polímero PDMS no liner

Após a realização desse procedimento o liner contendo o polímero depositado internamente foi submetido a um tratamento térmico com temperatura de 290°C, por 3 horas em uma mufla. Finalizada a deposição e o tratamento térmico, a camada polimérica foi avaliada por microscopia utilizando microscópio Digital Electronic Magnifier marca NOVA, com câmara de aumento de 1000 vezes sendo possível estimar a espessura como próxima de 60  $\mu\text{m}$ . [10]

A imagem de um liner de vidro se encontra na figura 36.



**Figura 36** Fotografia de perfil de um liner de vidro. No detalhe foto obtida pelo microscópio Digital Electronic Magnifier, representando parte do revestimento interno do liner com o polímero PDMS.

## 4.2 Descrição do Protótipo

O protótipo utilizado nos experimentos foi denominado de HS - IT- FEX (*HeadSpace – Intra Tube - Flux Extraction Device*). Consiste de um recipiente metálico cilíndrico de aço inox 416L com sistema de aquecimento (via resistor elétrico) em sua base acoplado a outro recipiente cilíndrico de teflon. A conexão entre os dois recipientes, metálico e plástico (teflon), é feita por meio de dois liners de vidro que se unem às paredes laterais dos recipientes através de anel de teflon. Os dois recipientes são providos de tampa de teflon.

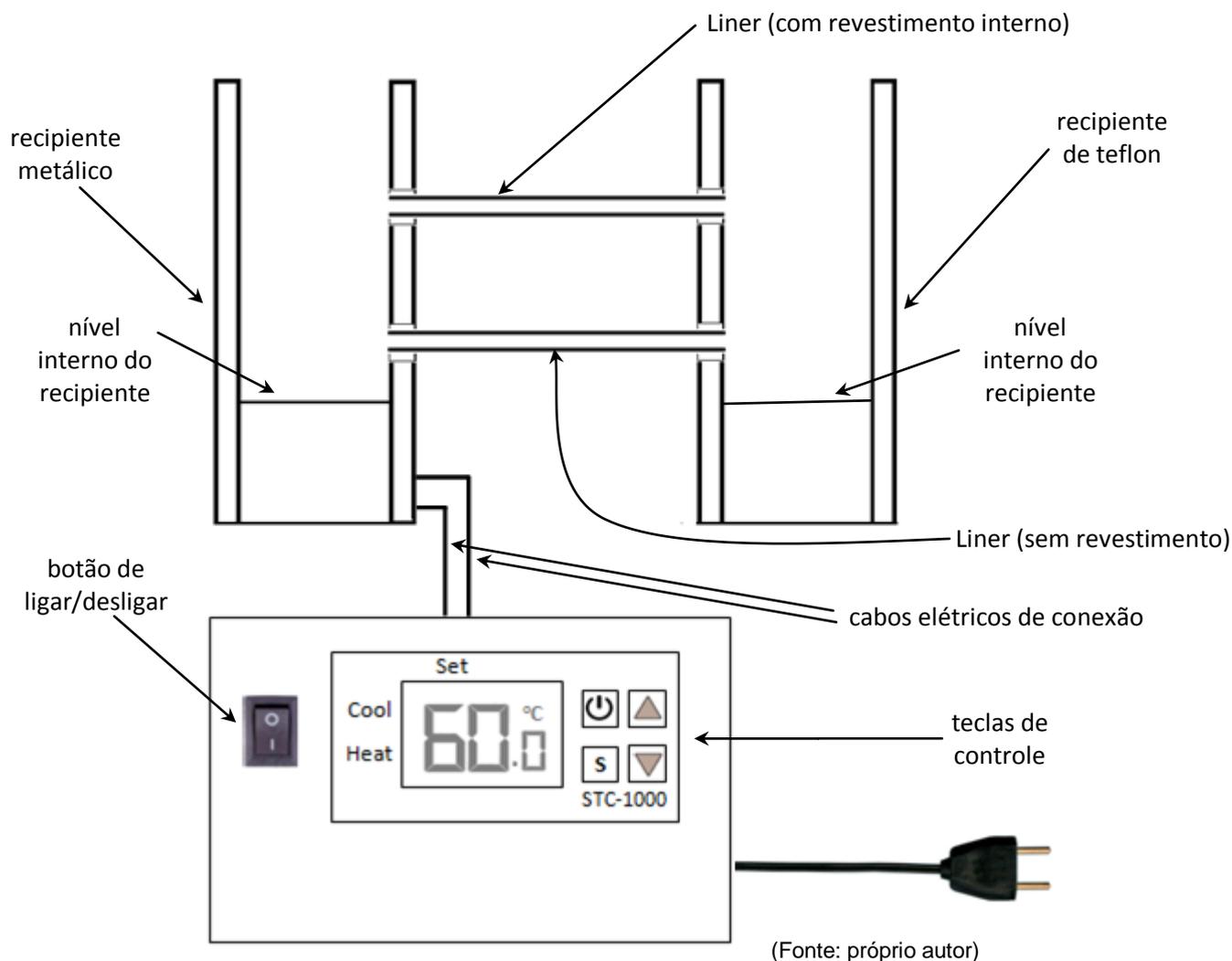
A figura 37 apresenta a visão frontal do protótipo HS-IT-FEX.



**Figura 37** Protótipo HS-IT-FEX

O recipiente metálico feito com bloco de aço inox 340 contém, na parte inferior, duas entradas sendo uma para o resistor (acoplado a um termostato) e a outra para o termômetro digital. Essas duas entradas por sua vez são conectadas à caixa de controle, que permite ajustar a temperatura com um controlador Letotek modelo STC-1000 (este controlador mede a temperatura por meio de um sensor de temperatura do tipo NTC). O controlador utiliza um cartucho aquecedor com potência 40 watts a 12 volts. O liner inferior não apresenta nenhum revestimento interno polimérico, servindo apenas como uma conexão física. O liner superior é o dispositivo utilizado para fazer o trapeamento dos analitos de interesse (no estudo foram utilizados HPAs) e apresenta um revestimento de PDMS (polidimetilsiloxano).

Os principais componentes do protótipo HS-IT-FEX se encontram esquematicamente representados na figura 38.

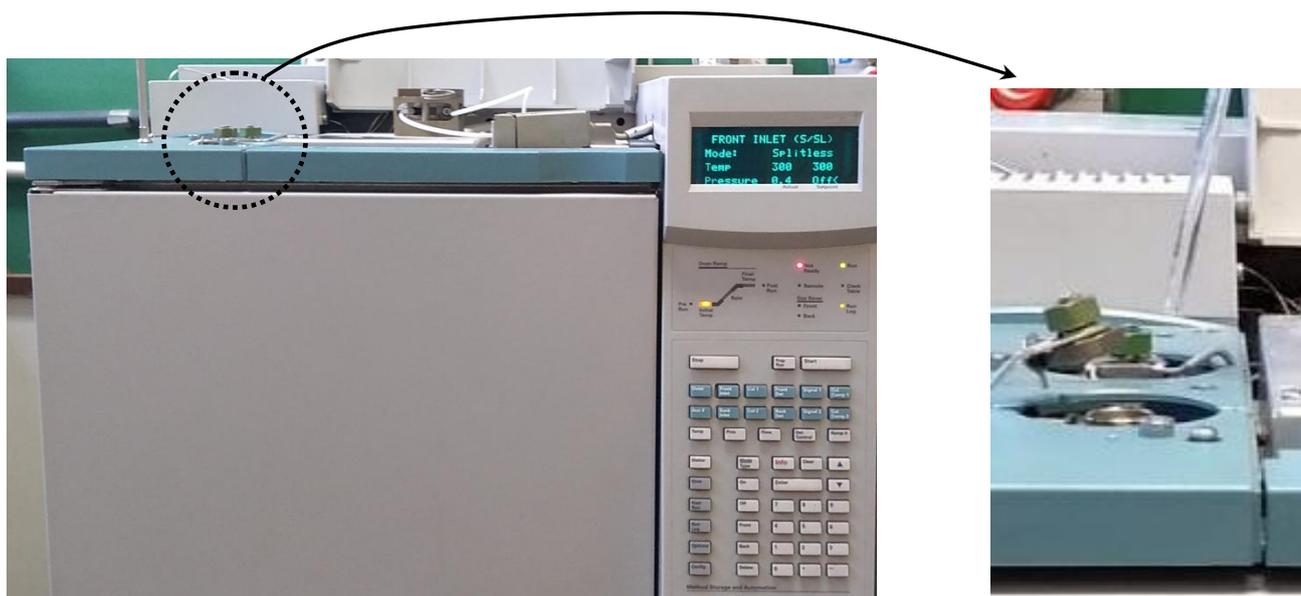


**Figura 38** Diagrama esquemático dos componentes do Protótipo HS-IT-FEX

#### 4.2.1 Operação do Protótipo

Para se iniciar o processo de amostragem por headspace deve-se certificar que o liner contendo o revestimento interno de polidimetilsiloxano deve estar isento de algum analito que possa ter sido absorvido. Como uma forma de minimização de custos, optou-se por efetuar a dessorção térmica do liner na câmara de aquecimento do detector FID (do inglês *Flame Ionization Detector*), pois assim não seria necessário consumir o gás de arraste durante este processo. O procedimento adotado foi inserir o liner na câmara de aquecimento do equipamento GC – FID (Agilent Technologies modelo 6990N) aquecida a 300°C por 30 minutos.

A figura 39 apresenta o equipamento usado para efetuar a dessorção térmica.



Fonte: o autor

**Figura 39** GC FID Agilent (modelo 6990N) utilizado para a dessorção térmica do liner. No detalhe o compartimento onde o liner é posto para a dessorção térmica

Após a dessorção do liner no equipamento GC FID, o liner é colocado no compartimento de injeção do cromatógrafo gasoso Agilent modelo 7890A, e então um ensaio prévio é feito com o objetivo de verificar se o processo de dessorção térmica foi eficaz para a eliminação de algum possível analito que possa estar aderido ao polímero de PDMS do revestimento interno do liner. Este ensaio (denominado “Branco do Liner”) é executado nas mesmas condições dos demais testes e seus detalhes se encontram descritos no item 5.2.

Para realização dos experimentos iniciais uma solução estoque foi preparada a partir de um padrão contendo 16 HPAs (Padrão Supelco Part Number 4-8743 EPA 610 Polynuclear Aromatic Hydrocarbons Mix 100 – 2000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(1:1)). Os dados desse padrão se encontram na tabela 10.

**Tabela 10** Concentrações de HPAs no padrão Supelco.

HPA	Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ )
Acenafteno	1000
Acenaftileno	2000
Antraceno	100
Benzo(a)antraceno	100
Benzo(b)fluoranteno	200
Benzo(k)fluoranteno	100
Benzo(ghi)perileno	200
Benzo(a)pireno	100
Criseno	100
Dibenzo(a,h)antraceno	200
Fluoranteno	200
Fluoreno	200
Indeno(1,2,3-cd)pireno	100
Naftaleno	1000
Fenantreno	100
Pireno	100

O conteúdo de uma ampola de (1 mL) foi dissolvido em metanol (60 mL) e em seguida o volume foi completado para 100 mL com água ultra pura. Esta mistura (que passou a ser denominada de “solução estoque”) foi homogeneizada por meio de ultrassom. Porém, com o passar do tempo, observou-se a formação de uma suspensão. Devido a esta característica sempre que a solução estoque era utilizada, a mesma era submetida ao ultrassom para melhor homogeneização do conteúdo. Esta “solução estoque” foi armazenada sob refrigeração.

Da solução estoque 37,5 mL foram diluídos para 500 mL com água ultra pura, originando a solução que passou a ser denominada de “solução de trabalho”. A concentração dos analitos na solução de trabalho se encontra na tabela 11.

**Tabela 11** Concentrações de HPAs na “Solução de Trabalho”

HPA	Concentração ( $\mu\text{g/L}$ )
Acenafteno	750
Acenaftileno	1.500
Antraceno	75
Benzo(a)antraceno	75
Benzo(b)fluoranteno	150
Benzo(k)fluoranteno	75
Benzo(ghi)perileno	150
Benzo(a)pireno	75
Criseno	75
Dibenzo(a,h)antraceno	150
Fluoranteno	150
Fluoreno	150
Indeno (1,2,3-cd) pireno	75
Naftaleno	750
Fenantreno	75
Pireno	75

O procedimento adotado durante os experimentos foi adicionar 1000  $\mu\text{L}$  da solução de trabalho no recipiente metálico juntamente com 0,5 g de NaCl de pureza analítica para promover o efeito *salting out*. O efeito *salting out* se baseia no aumento do coeficiente de distribuição, pois estando os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em solução aquosa e as moléculas de água tendo preferência para solvatar, o cloreto de sódio do que as moléculas orgânicas, isto favorece a passagem dos HPAs para a fase gasosa. [82]

O particionamento de compostos orgânicos entre a água e outras fases como ar, matéria orgânica, polímeros e tecidos biológicos é influenciada pelo teor de sal na fase aquosa. Sais estruturantes, como NaCl e outros sais constituídos por íons pequenos aprimora a estruturação de fases aquosas e, portanto, a energia coesa na água devido às suas fortes interações com dipolos da água. Outro exemplo dos efeitos do sal é uma mudança do equilíbrio da partição de solutos orgânicos neutros para fases não aquosas. Este efeito é referido como efeito *salting out* e pode ser relevante para a dinâmica de contaminantes no meio ambiente, por exemplo, para a partição de contaminantes de/para a água do mar ou para a formação de aerossóis secundários. Além disso, o efeito *salting out* é deliberadamente usado para maximizar a eficiência da extração em procedimentos analíticos adicionando sal a amostras de água. [82]

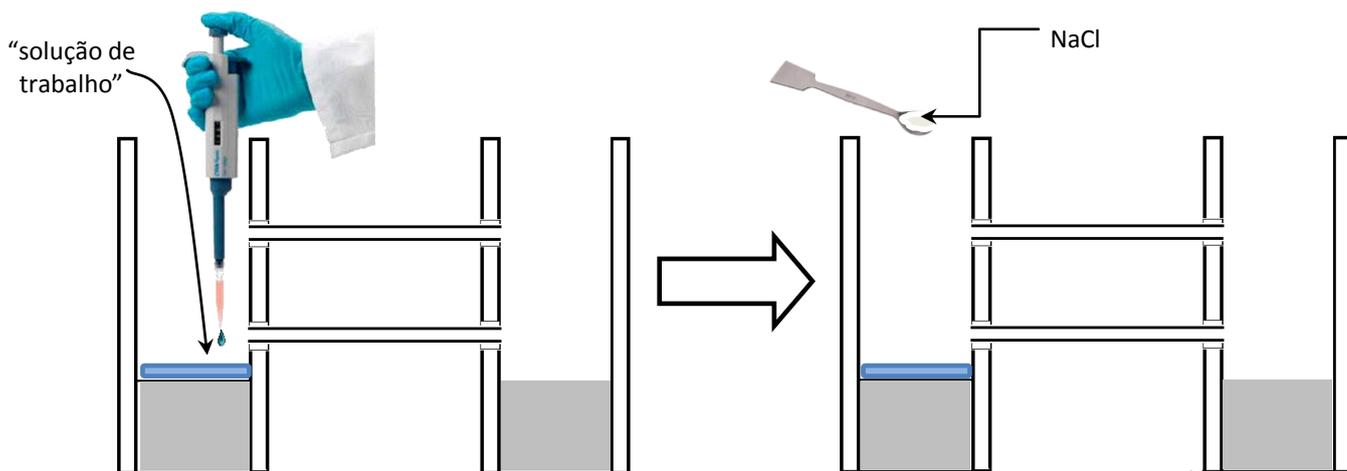
Uma descrição quantitativa do efeito *salting out* para solutos orgânicos neutros é fornecida pela equação 7:

$$\log (K_{1/\text{água salgada}}/K_{1/\text{água}}) = K^s [\text{sal}] \quad (7)$$

Nesta expressão (conhecida como relação de Setschenow)  $K_{1/\text{água salgada}}$  é o coeficiente de partição de um dado soluto neutro entre a fase 1 e uma fase de água salgada,  $K_{1/\text{água}}$  é o coeficiente de partição do soluto entre a fase 1 e a fase água pura,  $[\text{sal}]$  é a concentração de sal em mol/L e  $K^s$  é o Coeficiente de Setschenow ( $\text{M}^{-1}$ ), um número empírico que depende do tipo de soluto orgânico, bem como do tipo de sal envolvido. [82]

Como esse efeito favorece o desprendimento dos solutos orgânicos (no caso os HPAs) da solução aquosa para a fase *headspace*, em todos os experimentos ele foi utilizado.

A adição da solução de trabalho (contendo os HPAs) no interior do recipiente metálico do protótipo e a adição de NaCl na forma sólida para promover o efeito *salting out* estão representadas na figura 40.

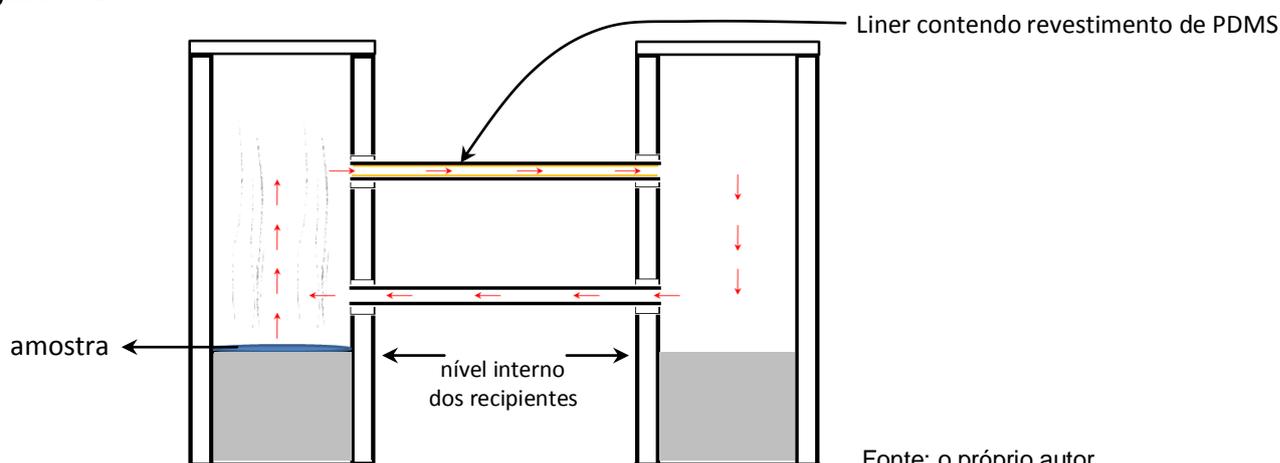


Fonte: o próprio autor

**Figura 40** Adição de solução e de NaCl no protótipo

Após a adição de 1.000  $\mu\text{L}$  da “solução de trabalho” e de 0,5000g de NaCl, os recipientes são tampados com tampas de teflon, o liner contendo o revestimento interno de PDMS que havia sido previamente dessorvido termicamente é acoplado na parte superior e outro liner de vidro comum (sem revestimento) é colocado na parte inferior. O sistema é programado para aquecer e manter a temperatura em torno de 60,0°C por um tempo pré-definido.

Com o aquecimento ocorre internamente uma corrente de convecção conforme ilustrado na figura 41.



Fonte: o próprio autor

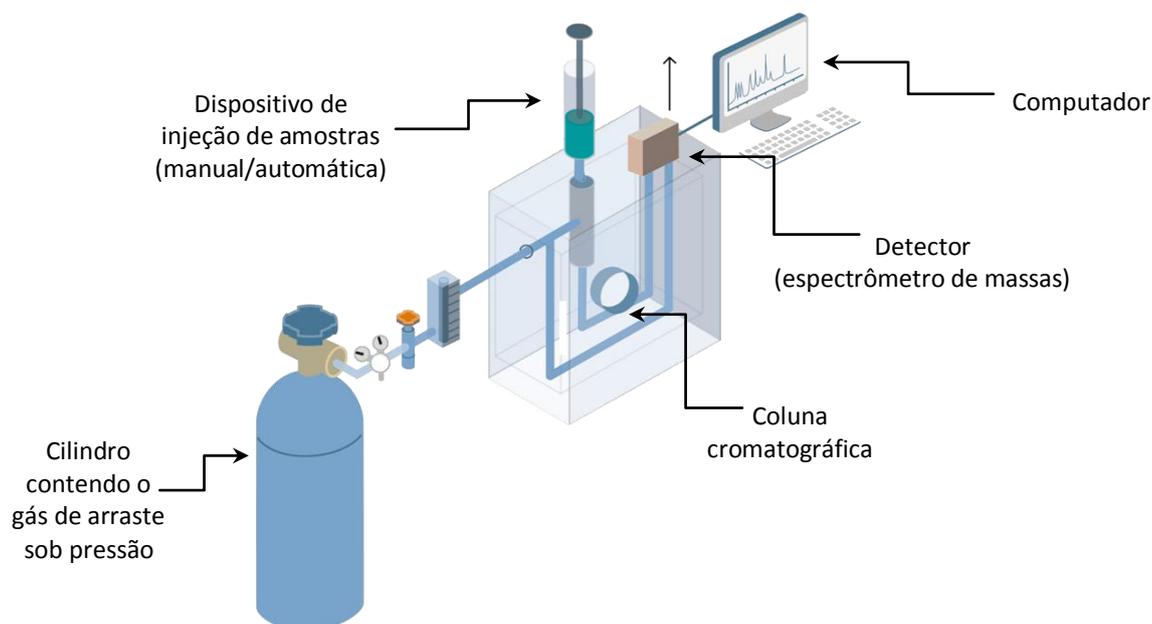
**Figura 41** Ilustração apresentando a corrente de convecção gerada devido ao aquecimento

Durante a convecção gerada no interior do protótipo as moléculas de HPAs com maior volatilidade entram em contato direto com o polímero de PDMS no interior do liner superior, onde são eventualmente capturadas.

Após o sistema ficar determinado tempo sob o aquecimento, o sistema é desligado. O liner contendo o revestimento de PDMS é retirado do protótipo e, por meio de agitação manual, é removido todo líquido que porventura tenha se condensado em seu interior.

Uma vez o liner estando devidamente preparado a etapa seguinte é submetê-lo o mesmo a análise em cromatógrafo gasoso, usando gás hélio como gás de arraste.

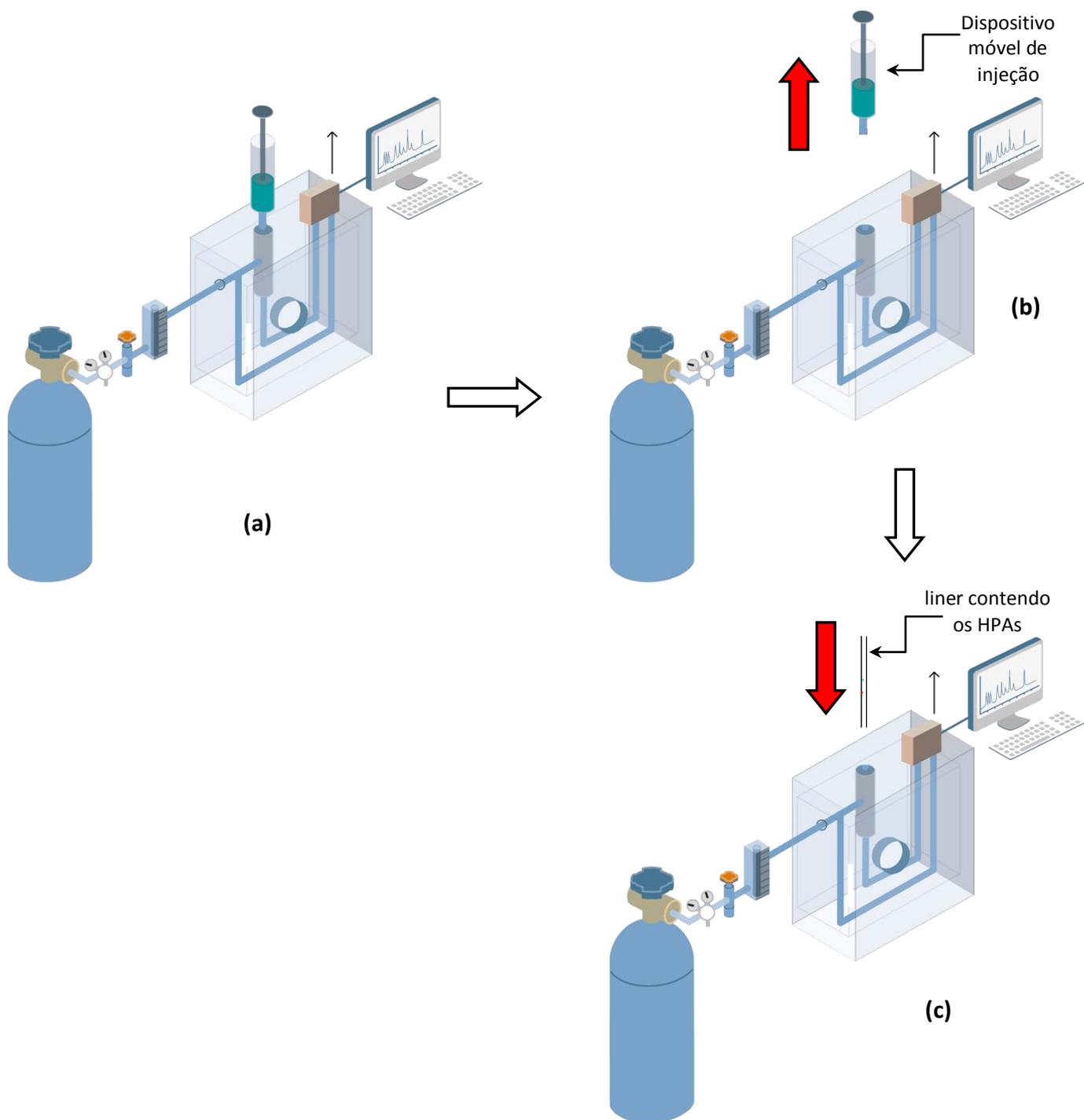
A figura 42 apresenta de forma esquemática os principais componentes do cromatógrafo.



**Figura 42** Componentes do cromatógrafo gasoso [83]

Embora usualmente o processo de injeção de amostras seja feito na forma de uma solução (usando uma seringa no caso de injeção manual para poucas amostras ou usando o injetor automático quando se efetua uma sucessão de injeções) [72] os ensaios foram conduzidos de outra maneira, uma vez que os analitos já foram extraídos do *headspace* das soluções e trapeados para o interior do liner contendo o revestimento de PDMS. Neste caso fez-se necessário desacoplar o sistema de injeção do cromatógrafo para permitir que o liner pudesse ser inserido.

A figura 43 (a, b e c) ilustra de forma esquemática o desacoplamento do sistema de injeção.



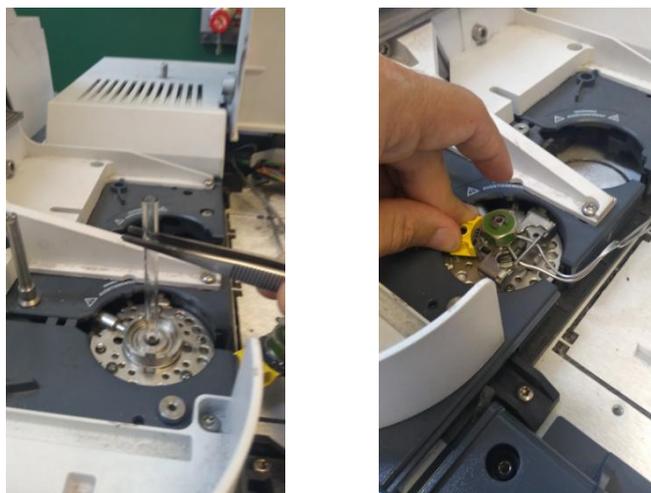
**Figura 43** Desacoplamento do sistema de injeção [83]

(a) sistema completo

(b) sistema de injeção sendo desacoplado do cromatógrafo

(c) liner sendo inserido no compartimento de injeção de amostras

Depois de desacoplar o injetor, o liner é então acondicionado no compartimento de injeção de amostras do cromatógrafo gasoso Agilent GC modelo 7890 A conforme pode ser observado na figura 44.



**Figura 44** Liner sendo acondicionado no compartimento do injetor

Para que este procedimento fosse executado sem que ocorresse perda de gás de arraste, clicava-se no botão “front inlet” do GC e após selecionar o parâmetro “pressure” este era desabilitado enquanto se fazia o procedimento da inserção do liner, sendo em seguida novamente habilitado.

Após o compartimento do injetor ser convenientemente fechado e os parâmetros de controle estarem devidamente estabilizados, o método cromatográfico é então posto para funcionar.

### **4.3 Condições do Método Cromatográfico GC-MS**

Os experimentos foram realizados no cromatógrafo gasoso Agilent modelo 7890A, utilizando uma coluna HP-5MS (5% phenilmethylsilox), de 30 m de comprimento, 250  $\mu\text{m}$  de diâmetro interno e 0,25  $\mu\text{m}$  de espessura do filme. O cromatógrafo se encontrava acoplado a um detector de espectrometria de massas Agilent modelo 5975C.

As condições estabelecidas para o método cromatográfico são:

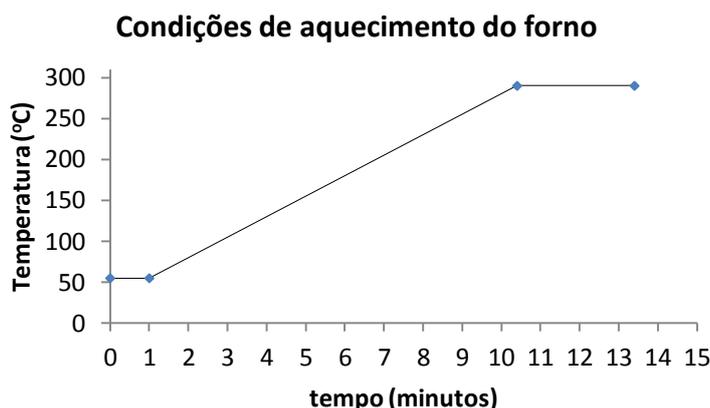
Temperatura do injetor: 290°C

Gás de arraste: Hélio; Fluxo: 1,5 mL/min

Temperatura inicial do forno: 55°C (mantido por 1 minuto)

Rampa de aquecimento: 25°C/min até 290°C (mantido por 3 minutos)

As condições de aquecimento do forno se encontram representadas na figura 45.



**Figura 45** Condições de temperatura do forno do cromatógrafo GC 7890A

O espectrômetro de massas Agilent-5975 foi operado nos modos de aquisição *full scan* (intervalo de varredura entre 70 e 350 m/z) e SIM (do inglês *select ion monitoring*) utilizando-se ionização por elétrons com energia de 70 eV, para avaliação da performance de obtenção dos dados cromatográficos.

Para que a execução dos experimentos pudesse ser realizada com a segurança de que o mínimo possível de interferentes fosse interferir na obtenção dos resultados algumas precauções analíticas foram tomadas. Primeiramente, era feito um ensaio denominado “Branco da Coluna” cuja finalidade é verificar se fragmentos de analitos devido a utilização anterior do equipamento estivesse ainda presentes no interior da coluna cromatográfica. Para isso, basicamente, o método é posto para ser executado sem injetar nenhum tipo de substância.

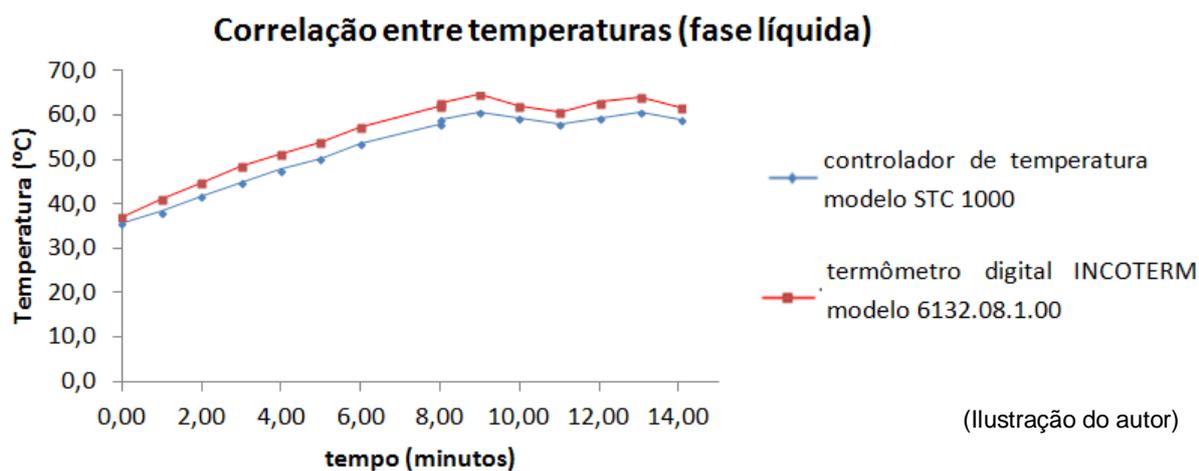
Após realizar o ensaio do “Branco da Coluna” é feito outro ensaio denominado “Branco do Liner”, onde o liner contendo o revestimento de PDMS (após ter sido submetido ao processo de dessorção térmica) é inserido no compartimento do injetor do cromatógrafo gasoso e em seguida coloca-se o método cromatográfico para ser executado. Após a execução destes dois procedimentos (“Branco da Coluna” e “Branco do Liner”) comparam-se os dois cromatogramas obtidos.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Ensaios preliminares do protótipo HS-IT-FEX

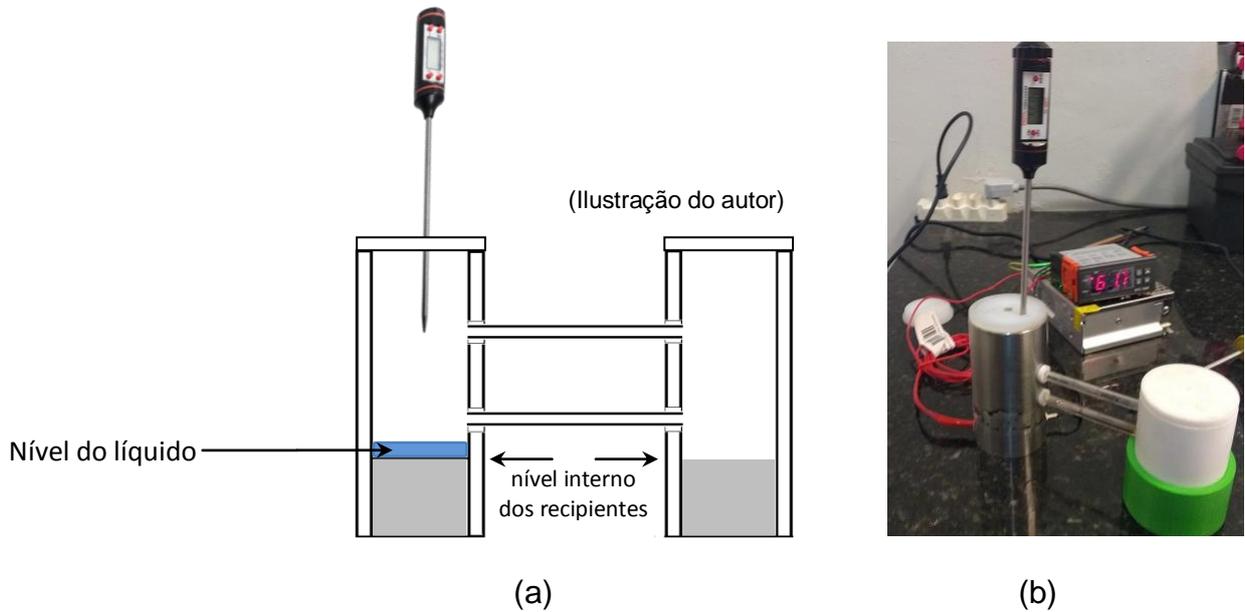
Experimentalmente foi observado que ao se aquecer água destilada no interior do recipiente metálico do protótipo HS-IT-FEX, a temperatura indicada no display apresentava uma pequena diferença quando comparada com um termômetro digital (modelo 6132.08.1.00 ICOTERM) imerso no líquido.

Para o experimento realizado com aproximadamente 20 mL de água observou-se que o sistema precisava de 9 minutos para aquecer da temperatura ambiente até 60,0°C que foi a temperatura definida para os estudos. O monitoramento das temperaturas permitiu avaliar, que a temperatura do líquido registrada pelo termômetro digital era em média, 3,2°C superior em relação à temperatura indicada no display do protótipo, conforme indicado na figura 46.



**Figura 46** Correlação entre as temperaturas

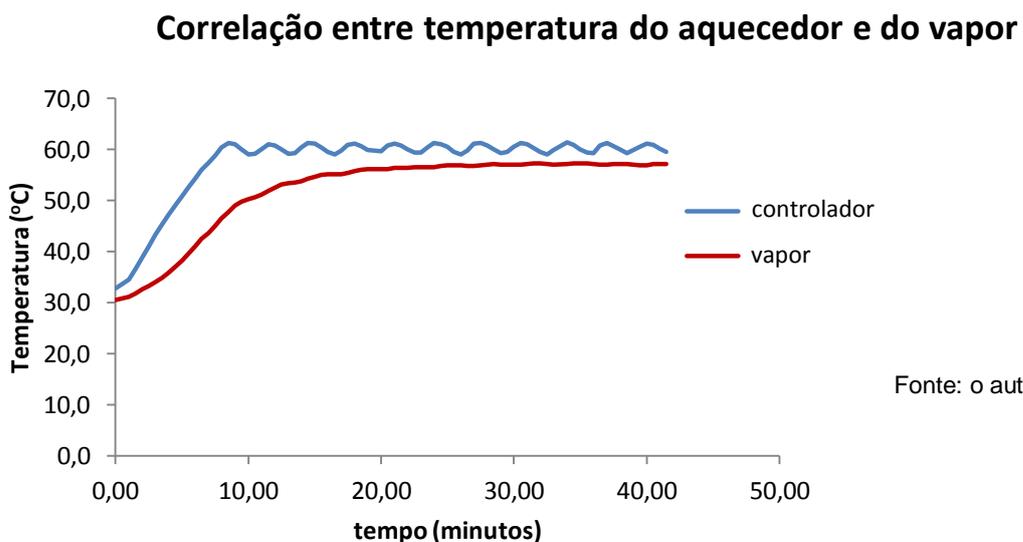
De modo semelhante outro experimento foi conduzido a fim de verificar quais seriam as temperaturas indicadas pelo controlador de temperatura modelo STC 1000 comparadas com as temperaturas indicadas no termômetro digital, posicionado na altura do liner superior onde o processo de amostragem por headspace seria conduzido, conforme pode ser observado na figura 47.



**Figura 47** Montagem para aferição de temperatura na entrada do liner superior  
 (a) representação esquemática e (b) foto do protótipo

A temperatura do recipiente contendo o líquido (indicada pelo display no protótipo) em comparação com a temperatura do liner durante o processo de aquecimento apresentou-se, em média,  $5,7^{\circ}\text{C}$  menor. Esta diferença torna-se em média  $3,3^{\circ}\text{C}$  menor a partir do tempo de equilíbrio da temperatura. Provavelmente essa diferença entre as temperaturas registradas deve-se ao fato de o termopar estar acoplado à base metálica do recipiente e como este não contém nenhum revestimento isolante ao seu redor possivelmente ocorrem dissipações de calor.

Os dados correspondentes a este experimento se encontram representados na figura 48.

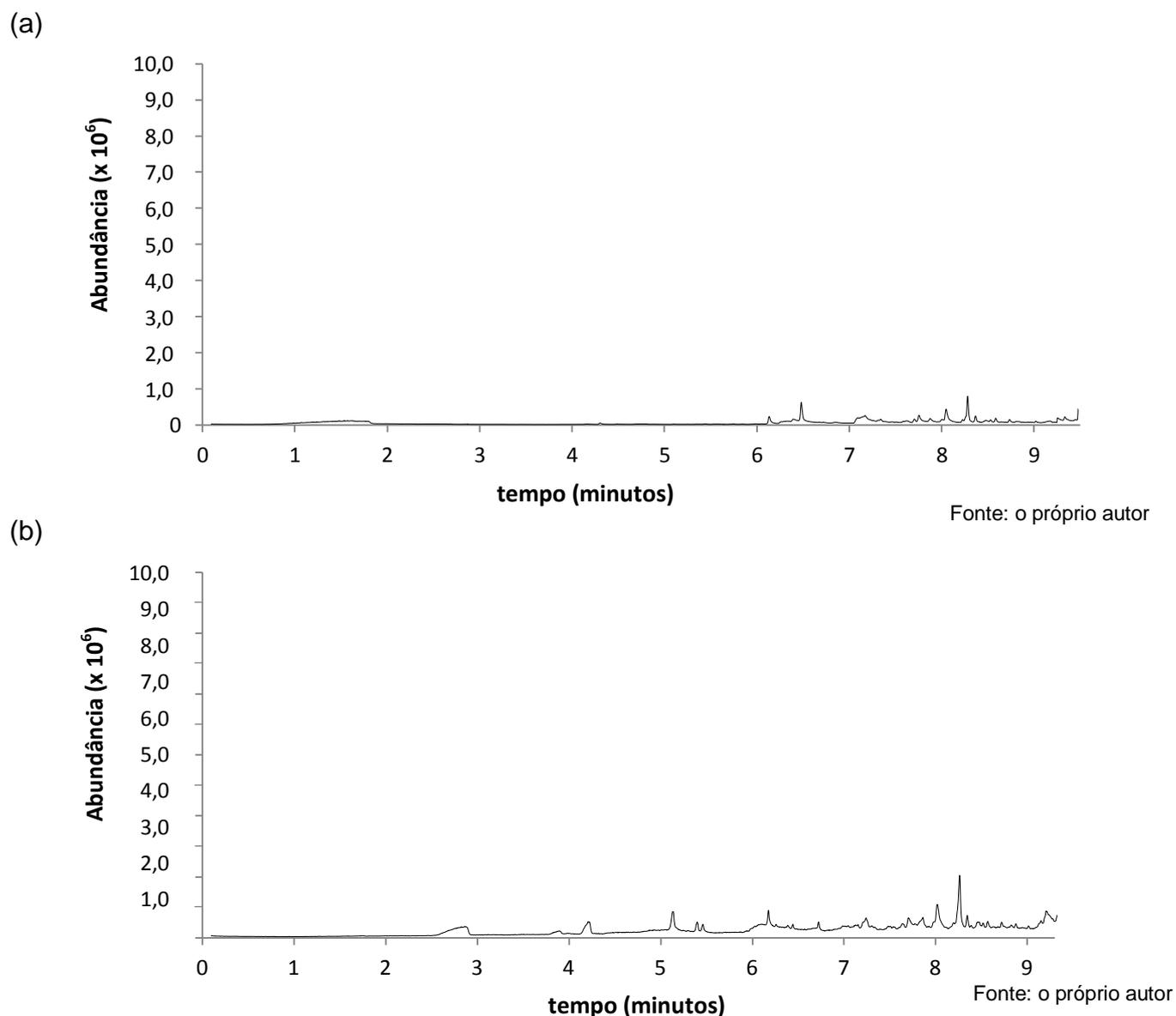


**Figura 48** Correlação entre as temperaturas do aquecedor e do vapor na altura do liner superior

## 5.2 Ensaio do “branco” do liner

Após a realização do ensaio denominado “Branco da Coluna” em que se observa o cromatograma obtido sem a adição de nenhuma amostra (e também sem a utilização do liner contendo o revestimento de PDMS), é feito outro ensaio denominado “Branco do Liner”, onde o liner contendo o revestimento de PDMS (após ter sido submetido ao processo de dessorção térmica) é inserido no compartimento do injetor do cromatógrafo gasoso e em seguida coloca-se o método cromatográfico para ser executado. Após a execução destes dois procedimentos (“Branco da Coluna” e “Branco do Liner”) comparam-se os dois cromatogramas obtidos.

Numa situação considerada ideal, os sinais eletrônicos registrados em ambos os cromatogramas obtidos nestes testes não devem apresentar nenhum ruído significativo na linha de base, sobretudo nos tempos de retenção dos HPAs em estudo, conforme pode ser exemplificado na figura 49.



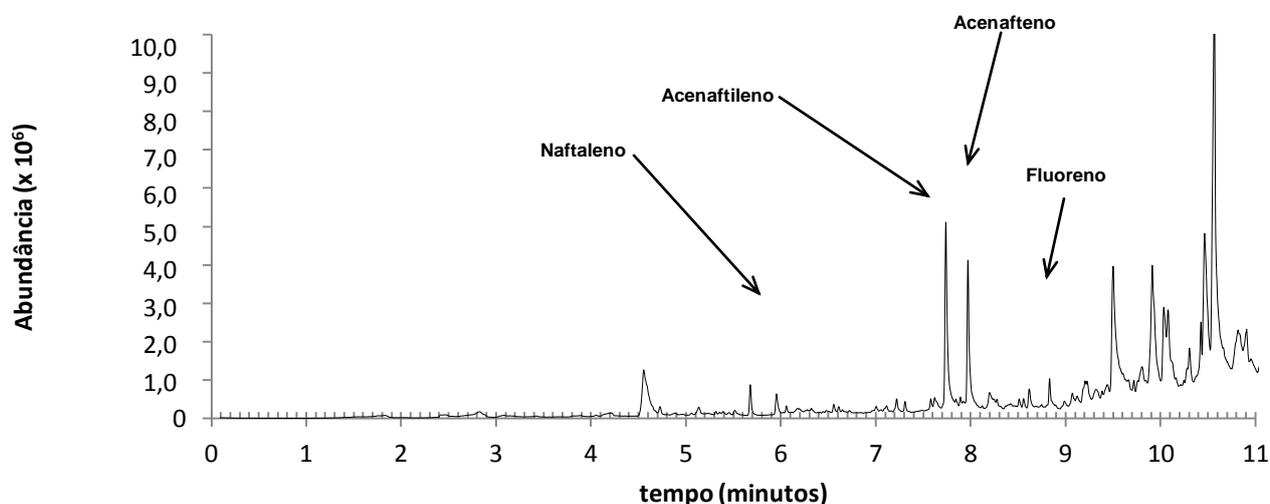
**Figura 49** Cromatogramas correspondentes aos ensaios: (a) Branco da Coluna e (b) Branco do Liner

Caso seja observado algum ruído (nos tempos de retenção onde os HPAs são identificados) que possa comprometer o desempenho dos experimentos, novamente os ensaios de “Branco” são realizados, após o liner ser submetido novamente ao processo de dessorção térmica.

### 5.3 Identificação dos HPAs

Como descrito nos itens 4.2.1 (Operação do Protótipo) e 4.3 (Condições do Método Cromatográfico) após o liner contendo o revestimento de PDMS ser submetido ao processo de dessorção térmica no compartimento de aquecimento do GC-FID, é necessário fazer uma verificação prévia para averiguar se algum tipo de analito se encontrava absorvido no revestimento de PDMS. Este teste (denominado “branco do liner”) consiste basicamente em colocar o liner no compartimento do injetor do GC e acionar o método cromatográfico. Pela avaliação da linha de base obtida no cromatograma correspondente, é possível avaliar se o liner se encontrava adequado para o teste com a solução de trabalho contendo os 16 HPAs ou se seria necessário efetuar novamente a dessorção térmica para se garantir a “limpeza”.

Quando o teste do “Branco do Liner” se mostrava adequado, o liner era então acoplado ao protótipo HS-IT-FEX (conforme descrito no item 4.3) em cujo compartimento metálico era adicionada a solução de trabalho contendo o mix de 16 HPAs em concentrações diferentes. Nas situações em que o teste do “Branco do Liner” acusava a presença de interferentes, o liner era novamente submetido ao processo de dessorção e testado novamente. Os testes preliminares visavam a verificação de quais foram os HPAs que haviam sido absorvidos pelo PDMS bem como se resolução (a “separação” dos picos) estava adequada ou se estariam ocorrendo co-eluições de moléculas de HPAs. A figura 50 apresenta um cromatograma típico obtido utilizando o método cromatográfico cujos parâmetros de controle foram descritos no item 4.3.



**Figura 50** Cromatograma obtido usando solução de HPAs

A identificação dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos presentes na solução trabalho foi realizada por meio da ajuda dos íons quantificadores e qualificadores, conforme apresentado na tabela 12. [84]

**Tabela 12** Íons quantificadores e qualificadores de alguns HPAs [21]

HPA	Relação (m/z)	
	Ion Quantificador	Íons Qualificadores
Naftaleno	128	127, 129
Acenaftileno	152	153, 151
Acenafteno	153	154, 152
Fluoreno	166	165, 167
Fenantreno	178	176, 179
Antraceno	178	176, 179
Fluoranteno	202	200, 101
Pireno	202	200, 101
Benzo(a)antraceno	228	226, 229
Criseno	228	226, 229
Benzo(b)fluoranteno	252	263, 126
Benzo(k)fluoranteno	252	263, 126
Benzo(a)pireno	252	263, 126
Indeno(1,2,3-cd)pireno	276	138, 277
Dibenzo(a,h)antraceno	278	138, 239
Benzo(ghi)perileno	276	138, 277

Os 16 HPAs presentes na “solução de trabalho” foram identificados, porém muitos deles apresentavam tempos de retenção da ordem de 40 minutos. Como forma de redução de custos (economia do gás de arraste) e otimização dos experimentos (principalmente para que se pudesse realizar o maior número de ensaios dentro da disponibilidade de horário de uso do laboratório), durante os ensaios preliminares optou-se por fazer uma investigação prévia nos dez primeiros minutos de corrida cromatográfica. Nesse período de tempo pré-definido foram identificados de forma satisfatória quatro HPAs (naftaleno, acenaftileno, acenafteno e fluoreno). Dessa forma as avaliações apresentadas nesse trabalho foram focadas nos dados obtidos para as quatro substâncias supramencionadas.

Os diversos experimentos realizados permitiram identificar os tempos de retenção para estes quatro HPAs. Os resultados se encontram na tabela 13.

**Tabela 13** Tempos de retenção (RT) médios observados para os HPAs

HPA	RT (min)
Naftaleno	5,80 ± 0,10
Acenaftileno	7,80 ± 0,04
Acenafteno	8,00 ± 0,05
Fluoreno	8,64 ± 0,02

## 5.4 Estimativa para o tempo de equilíbrio

Para se estabelecer um tempo mínimo de equilíbrio para o processo de extração, estabeleceu-se a temperatura em 60,0°C como a temperatura inicial para os estudos e variou-se o tempo de permanência da amostra em contato com o liner contendo o revestimento.

Um dos desafios para essa fase dos experimentos foi estabelecer os critérios para definir a partir de que momento o tempo começaria a ser cronometrado devido basicamente a dois fatores:

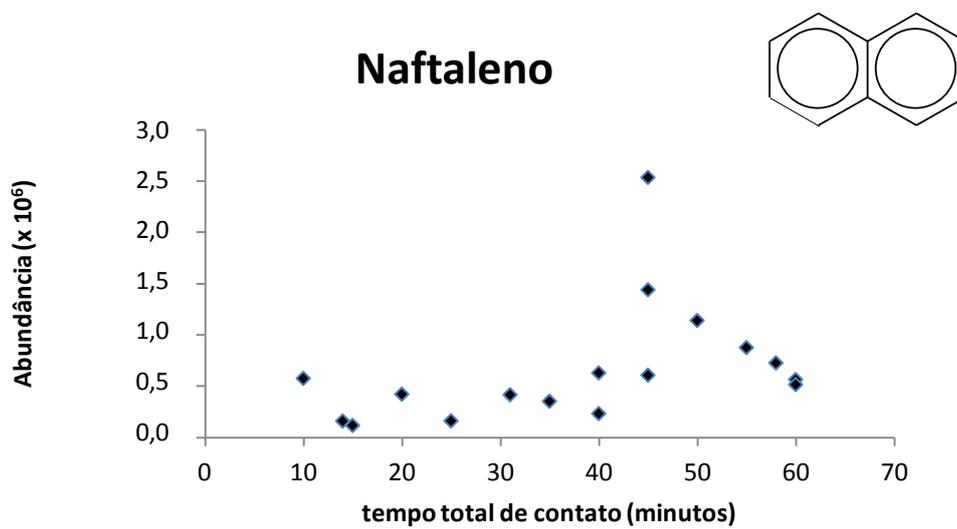
- ⇒ a oscilação natural da temperatura ambiente no ambiente do laboratório e
- ⇒ o regime transiente de transferência de calor no interior do protótipo HS-IT-FEX

Como um dos principais objetivos do projeto foi avaliar a eficiência do processo de trapeamento dos analitos no modo *headspace* usando o protótipo que promove o aquecimento das amostras inicialmente em fase líquida, foi necessário levar em consideração que o dispositivo leva um determinado tempo para elevar a temperatura do sistema, da temperatura ambiente até a temperatura definida para o estudo. Observou-se experimentalmente que o protótipo leva um tempo médio de 10 minutos para elevar a temperatura até 60°C. A determinação do tempo nos experimentos preliminares iniciou-se a partir do momento em que o protótipo era ligado.

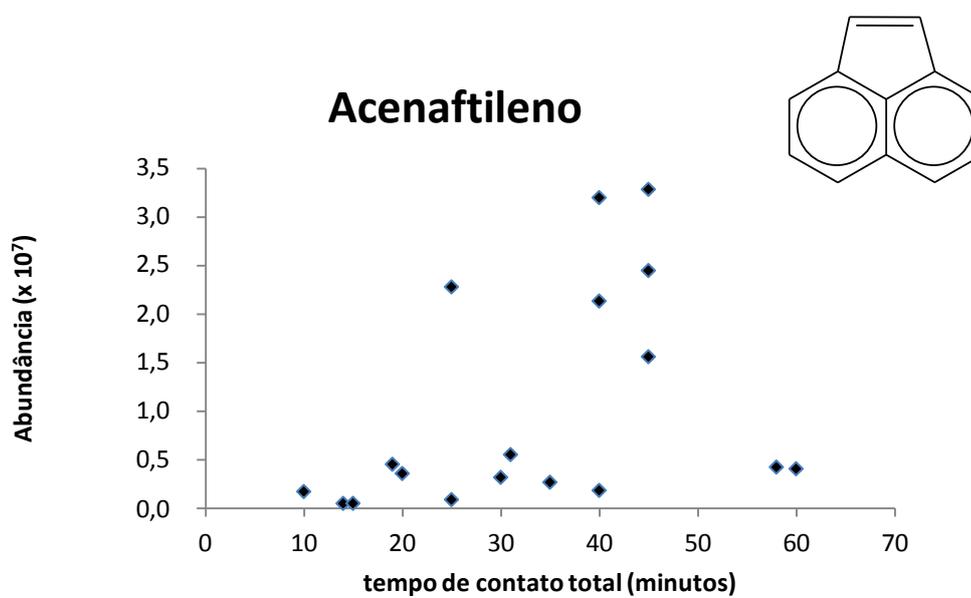
O espectrômetro de massas disponível para os experimentos possuía quadrupolo simples e o monitoramento dos sinais foi realizado através do modo de aquisição full scan. No modo full scan (varredura completa) é realizada uma varredura onde uma faixa relativamente extensa de razão massa carga ( $m/z$ ) é analisada (a faixa de varredura para o equipamento utilizado foi de 70 a 350). Essa varredura detectará fragmentos de compostos durante um período de tempo. Com auxílio da biblioteca (NIST) pode-se então realizar a comparação dos espectros de massas gerados para busca de similaridade facilitando enormemente a análise qualitativa da identificação das estruturas dos compostos analisados. [85]

Diversos experimentos foram realizados utilizando diferentes intervalos de tempo de contato total entre o liner contendo o revestimento interno de PDMS. Após o procedimento de “integração” das áreas dos picos (onde foram identificados os HPAs) foi possível estabelecer a construção de gráficos entre a abundância dos sinais e o tempo total de contato (considerando o tempo total que o liner ficou acoplado ao protótipo desde o início do aquecimento até a sua retirada do mesmo).

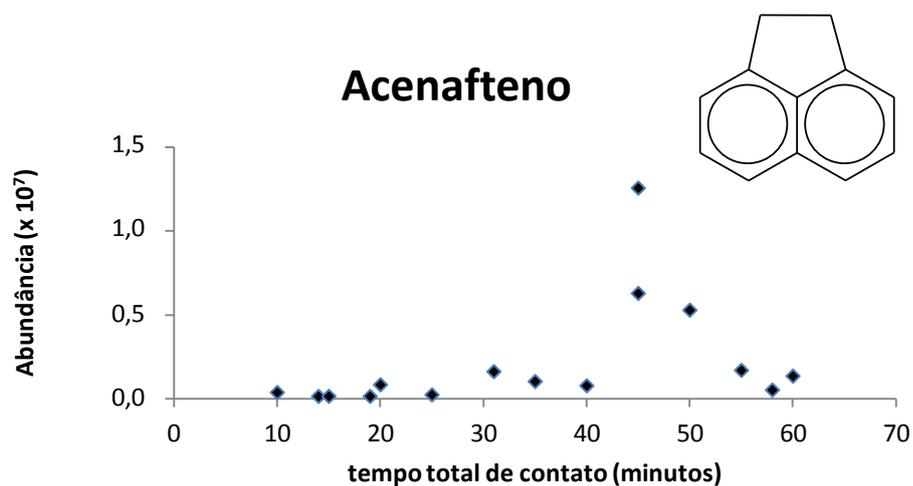
As figuras 51, 52, 53 e 54 a seguir apresentam os resultados (Abundância relativa *versus* tempo total de contato) que foram utilizados para se fazer a avaliação do tempo de equilíbrio para os HPAs naftaleno, acenaftileno, acenafteno e fluoreno.



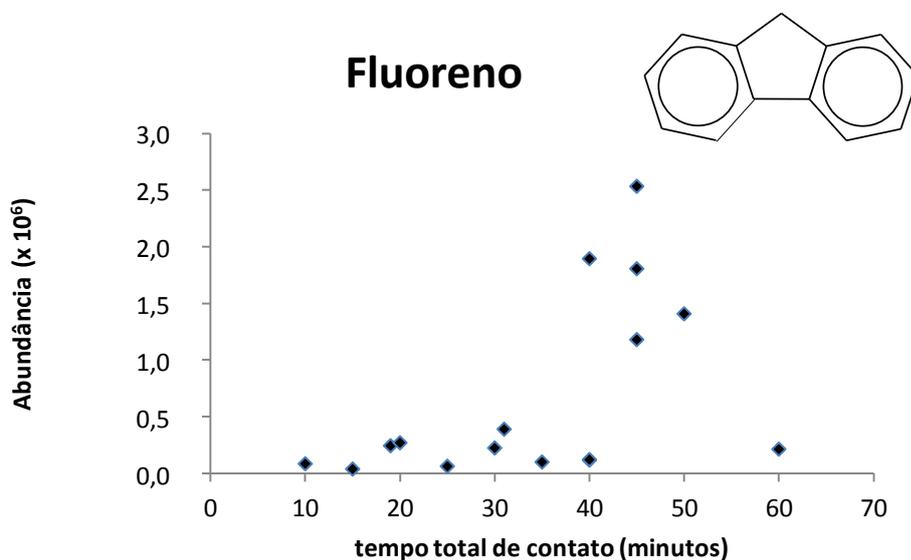
**Figura 51** Estimativa para o tempo de equilíbrio para o naftaleno



**Figura 52** Estimativa para o tempo de equilíbrio para o acenaftileno



**Figura 53** Estimativa para o tempo de equilíbrio para o acenafteno



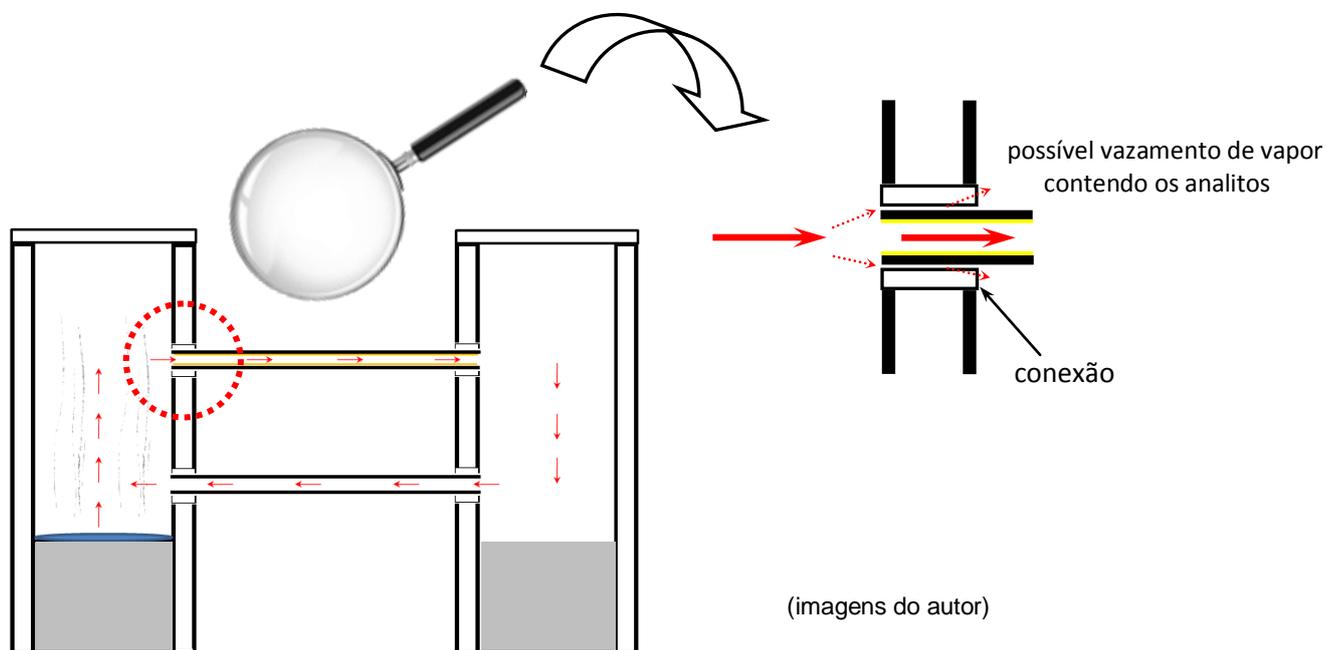
**Figura 54** Estimativa para o tempo de equilíbrio para o fluoreno

Como se pode observar nenhum dos gráficos obtidos apresentou boa repetitividade nos dados e também não foi observada uma correlação entre o tempo de contato e a abundância. Desse modo não foi possível estabelecer de forma segura um parâmetro para o tempo de equilíbrio.

Duas hipóteses são aventadas para explicar a falta de reprodutibilidade dos dados e consequente impossibilidade de determinação do tempo de equilíbrio:

- 1) vazamento nas conexões entre os liners e os recipientes do protótipo de extração;
- 2) variações de temperatura durante a operação do protótipo.

Considerando a hipótese de as conexões entre o liner e o protótipo apresentarem uma vedação inadequada, faz-se necessário considerar que parte do vapor produzido pelo aquecimento no protótipo pode ter sido perdida em pequenos vazamentos conforme sugere a ilustração apresentada na figura 55.



**Figura 55** Hipótese do vazamento de vapor por meio das conexões do protótipo

Supondo que as vedações não estejam funcionando da maneira ideal, estes hipotéticos vazamentos do protótipo comprometem inevitavelmente todos os equilíbrios envolvidos.

A segunda hipótese que pode ser aventada para explicar a falta de reprodutibilidade dos dados experimentais é a existência de variações de temperatura durante a maior parte do tempo de operação do protótipo HS-IT-FEX, uma vez que um dos preceitos termodinâmicos para a existência de alguma espécie de equilíbrio é a existência de temperatura constante. [86]

O processo de extração ocorrido no protótipo HS-IT-FEX pode ser comparado ao processo ocorrido na microextração em fase sólida (SPME) em headspace. Como o SPME trata-se de processo multifásico pode-se simplificar o sistema considerando-se apenas três fases: o revestimento da fibra, o headspace e a matriz aquosa. [86] Durante a extração os analitos migram entre as três fases até o equilíbrio ser alcançado, o que pressupõe temperatura mantida constante.

Em todas as técnicas de extração conhecidas, o princípio termodinâmico básico comum a todas as metodologias está relacionada a distribuição do analito entre a matriz da amostra e a fase de extração. No headspace SPME (que é a técnica mais semelhante ao método de

extração objeto do presente trabalho), existem dois processos envolvidos: a liberação de analitos de sua matriz e a absorção de analitos vaporizados pelo revestimento de fibra.

O coeficiente de distribuição,  $K_{fs}$ , do analito entre o revestimento de fibra e matriz de amostra é normalmente definido por meio da equação (8)

$$K_{fs} = \frac{C_f^{\infty}}{C_s^{\infty}} \quad (8)$$

Onde:  $K_{fs}$ : coeficiente de distribuição

$C_f$ : concentração do analito na fibra, após o equilíbrio

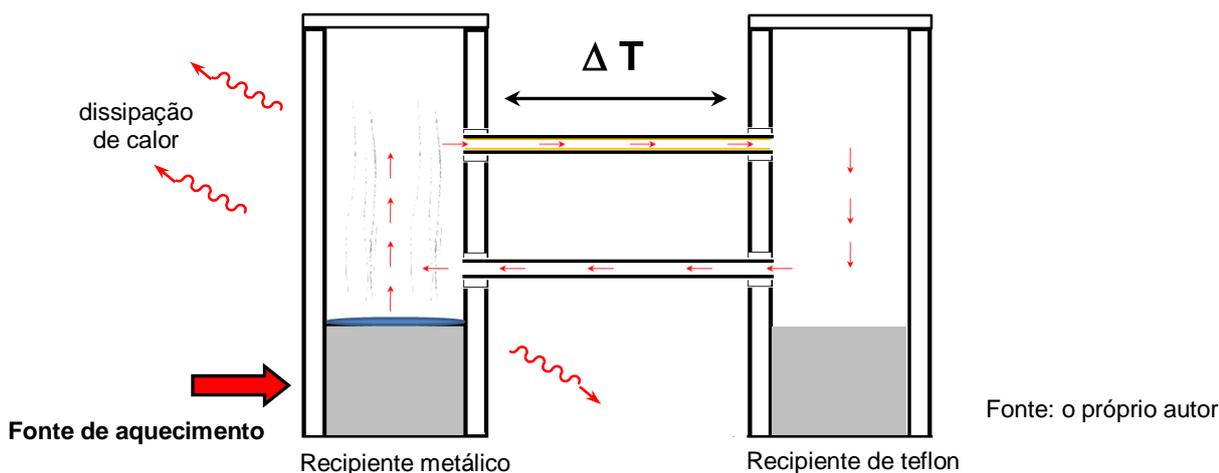
$C_s$ : concentração do analito na amostra, após o equilíbrio

Segundo o Dr Pawliszyn [87], se a temperatura da amostra e da fibra mudar de  $T_0$  para  $T$ , a constante de distribuição muda de acordo com a equação (9):

$$K_{fs} = K_0 \exp \left[ -\frac{\Delta H}{R} \left( \frac{1}{T} - \frac{1}{T_0} \right) \right] \quad (9)$$

onde  $K_0$  é a constante de distribuição quando a fibra e a amostra estão na temperatura  $T_0$  (em graus Kelvin),  $\Delta H$  é a mudança molar na entalpia do analito quando ele se move da amostra para o revestimento de fibra e  $R$  é a constante de gás. A mudança de entalpia,  $\Delta H$ , é considerado constante acima das faixas de temperatura típicas para experimentos com SPME. Pode ser determinado medindo  $K_{fs}$  a duas temperaturas diferentes. Para constantes de revestimento / distribuição de gás,  $\Delta H$  para um composto volátil é bem aproximado pelo calor de vaporização do composto puro  $\Delta H_v$  para PDMS. [86] Como a solução de trabalho usada para o desenvolvimento da pesquisa com o protótipo HS-IT-FEX continha um mix de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos de diversas massas moleculares, o grupo de analitos envolvidos são considerados de baixa e média volatilidade e por isso o aquecimento foi empregado no protótipo como forma de facilitar a sua liberação da matriz aquosa. Segundo as considerações do Dr Pawliszyn [86] a extração a temperaturas elevadas permite aumentar as concentrações dos analitos no heaspace. Isso resulta em extração rápida pela fase de extração.

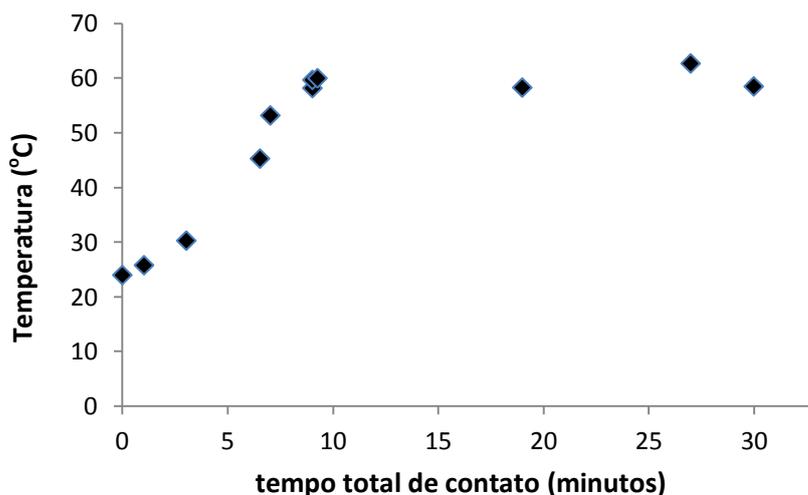
A variação de temperatura ao longo do liner durante o funcionamento do protótipo se encontra ilustrada na figura 56.



**Figura 56** Variação de temperatura ao longo do liner usado no protótipo

A figura 57 a seguir apresenta as variações de temperatura *versus* tempo, monitoradas durante 30 minutos (a temperatura do aquecedor foi programada para atingir 60°C).

tempo (min)	T (°C)
0,00	24,0
1,03	25,8
3,04	30,3
6,54	45,3
7,03	53,2
9,03	58,2
9,03	59,7
9,27	60,0
19,00	58,3
27,00	62,7
30,00	58,5



**Figura 57** Variação de temperatura durante 30 minutos de contato do headspace no liner

Como já descrito anteriormente, o protótipo HS-IT-FEX não tem isolamento térmico em seu entorno e isso implica que ao longo do liner que fica conectado com o recipiente metálico e o recipiente de teflon, existe uma variação de temperatura  $\Delta T$ , conforme ilustrado na figura 57. Este argumento implica na hipótese de que, para os tempos de contato que foram estudados, as variações significativas de temperatura não permitiram que o equilíbrio de partição fosse atingido corretamente entre o headspace e o revestimento interno do liner o que explicaria em parte a não reprodutibilidade dos dados bem como a impossibilidade de ser estimado um tempo de equilíbrio para os analitos que foram investigados.

A possibilidade de ter ocorrido vazamentos entre a fase gasosa nas conexões do protótipo e variação de temperatura são, portanto, as hipóteses mais adequadas para explicar satisfatoriamente a falta de reprodutibilidade dos dados obtidos em laboratório.

É importante salientar que a técnica inovadora apresentada nesta pesquisa demonstra a possibilidade de se efetuar o trapeamento dos analitos presentes no *headspace* utilizando um protótipo de baixo custo de produção, mais resistente do que as fibras convencionais de SPME (extremamente frágeis) e de fácil operação.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização do protótipo HS-IT-FEX como técnica de extração de compostos de média volatilidade se mostrou bastante promissora. A utilização de cola de silicone comercial como matéria prima para produção do revestimento interno do liner com o polímero PDMS conforme apresentada no trabalho de REIS [8] apresentou-se como uma alternativa economicamente viável, entretanto, a determinação final da espessura do polímero ainda é uma técnica que requer aprimoramento para que se possa permitir o controle de qualidade da produção dos liners.

O manuseio do protótipo se mostrou extremamente simples e com a grande vantagem de que em nenhuma etapa foram empregados solventes orgânicos para extração, o que torna o projeto um diferencial em termos das preocupações com os descartes de resíduos, tema tão importante dentro das discussões da chamada Química Verde tão debatida na atualidade.

Os 16 hidrocarbonetos existentes na solução de trabalho foram identificados cromatograficamente, porém, somente quatro deles foram devidamente caracterizados devido ao elevado tempo de análise que seria demandado para todos. Novos estudos serão necessários para determinar quais parâmetros podem ser ajustados como temperatura de aquecimento, tempo de contato, espessura do revestimento (que exerce um papel crítico no processo de extração) bem como parâmetros do método de cromatografia gasosa também poderão ser mais bem avaliados (uma vez que existe a possibilidade de HPAs sofrerem co-eluições).

A pesquisa foi conduzida de maneira a verificar as alterações na abundância dos sinais cromatográficos em função da variação do tempo de exposição do *headspace* no liner contendo o revestimento. Foi observado que ao longo destes experimentos a reprodutibilidade dos sinais não estava acontecendo como se previa. Foram levantadas duas hipóteses para explicar este comportamento: um possível vazamento nas conexões entre o liner e os recipientes (metálico e de teflon) e a variação de temperatura durante a maior parte do processo de extração pelo protótipo HS-FEX, o que dificultaria o estabelecimento de equilíbrio entre as fases envolvidas (*headspace* e revestimento de PDMS).

Para verificar se a hipótese do vazamento procede, novos estudos serão realizados com um sistema de vedação mais aprimorado entre os liners e os recipientes. Para avaliar a possibilidade das variações de temperatura estar comprometendo o equilíbrio do processo de extração, novos experimentos poderão ser realizados com um sistema de isolamento térmico ao redor do protótipo e comparar os resultados obtidos sem esse revestimento.

Quando o sistema de vedação entre os liners e os recipientes do protótipo, mencionadas anteriormente, estiver apresentando condições satisfatórias de operação, serão realizados novos ensaios utilizando soluções de HPAs em concentrações mais baixas para verificar o limite de detecção do método de extração proposto, bem como avaliar a eficiência do processo de extração em outras faixas de temperatura. A verificação de limites de detecção mais baixos será extremamente importante para aplicações futuras do protótipo HS-IT-FEX. O desenvolvimento (e aprimoramento) do protótipo HS-FEX se mostra como uma potencial ferramenta a ser utilizada futuramente de forma prática e economicamente viável para a complementação dos estudos de monitoramento ambiental, tão necessários para o controle de poluentes.

Serão testadas outras faixas de temperatura de maneira a verificar qual delas se mostrará mais eficiente para a extração da maior quantidade possível de HPAs presentes na solução de trabalho. Outro parâmetro a ser otimizado nos futuros estudos é a massa de cloreto de sódio (empregada para promover o efeito *salting out* durante a extração) e o volume de solução.

## 7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Como perspectivas futuras, os novos pesquisadores que darão continuidade ao trabalho após sanarem os problemas descritos anteriormente (como os vazamentos de vapor nas conexões) precisarão averiguar a eficiência do trapeamento avaliando novas faixas de espessura do polímero PDMS depositados no interior do liner. Após a definição da faixa de espessura polimérica mais apropriada, será necessária a realização de novos experimentos operando o protótipo em outras temperaturas e também estendendo o tempo de contato entre o *headspace* e o liner, para determinar as condições mais adequadas de amostragem. Além destes novos testes será imperioso a avaliação do tempo de vida útil do liner revestido, de forma a se ter um controle seguro sobre a qualidade analítica dos resultados.

Após a definição das melhores condições operacionais a próxima etapa será a realização do processo de validação do novo método de amostragem seguindo todas as recomendações técnicas no documento de caráter orientativo DOQ-CGCRE-008 do INMETRO.

Nessa etapa futura será essencial a determinação dos limites de detecção e quantificação, pois estes parâmetros são fundamentais para a garantia da qualidade de uma análise química. A partir de então testes com amostras reais deverão ser realizados para avaliar o desempenho do protótipo e também a existência de efeito de matriz.

Finalmente estendendo a investigação da aplicabilidade do protótipo HS-IT-FEX para amostragem de outras classes de compostos químicos como pesticidas, por exemplo, uma nova etapa será a solicitação do pedido de patente para o amostrador e sua posterior produção em escala industrial.

## 8. REFERÊNCIAS

- [1] Os investimentos do governo em química analítica. **Revista Analytica**. Disponível em: <https://revistaanalytica.com.br/os-investimentos-do-governo-em-quimica-analitica/>. Acesso em: 04 ago.2019
- [2] GONDIM, Carina de Souza; JUNQUEIRA, Roberto Gonçalves; SOUZA, Scheilla Vitorino Carvalho de. Tendências em validação de métodos de ensaios qualitativos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 70 n. 4, p.433 2011.
- [3] GAMA, Mariana R. et al. **An overview of the Brazilian contributions to Green Analytical Chemistry**. In: Academia Brasileira de Ciências, 9., 2018.
- [4] PIRI-MOGHADAM, Hamed; AHMADI, Fardin; PAWLISZYN, Janusz. A critical review of solid phase microextraction for analysis of water samples. **Trends in Analytical Chemistry**, Ontario, v.85, p. 133-143, 2016.
- [5] COELHO, Emanuel; FERREIRA, Célia; ALMEIDA, Cristina M. M. **Analysis of polynuclear aromatic hydrocarbons by SPME-GC-FID in environmental and tap waters**. Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Portugal. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 19, n..6, 2008.
- [6] MOLINER-MARTINEZ, Y. et al. Recent advances of in-tube solid-phase microextraction. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 205-213. 2015.
- [7] BROMMER et al. **Categorical prototyping: incorporating molecular mechanisms into 3D printing**. Nanotechnology, United Kingdom, v. 27, p. 1-8, 2015. DOI: 10.1088/0957-4484/27/2/024002.
- [8] REIS, Gabriel Dias. **Desenvolvimento de protótipo para amostragem estática e pré-concentração de compostos orgânicos em solução aquosa**. 2019. Dissertação (Mestrado em Química). CEFET-MG, Belo Horizonte 2019
- [9] SILVEIRA, D. M. S. **Novo dispositivo de preparo de amostras: validação de um método rápido, barato e ecológico para analisar amostras aquosas por cromatografia gasosa**. 2020. Dissertação (Mestrado em Química). CEFET-MG, Belo Horizonte 2020
- [10] CALDEIRA, Gabriela Santos. **Estudo da reprodução na confecção do dispositivo de captura IT-FEX com diferentes deposições de PDMS para análise de BTEX em águas subterrâneas**. 2020. Dissertação (Mestrado em Química). CEFET-MG, Belo Horizonte 2020
- [11] WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans: Polynuclear Aromatic Compounds, Part 1, chemical environmental and experimental data**. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1983. p 483.(PDF). Disponível em: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Monographs-On-The-Identification-Of-Carcinogenic-Hazards-To-Humans/Polynuclear-Aromatic-Compounds-Part-1-Chemical-Environmental-And-Experimental-Data-1983>. Acesso em: 04 ago. 2019.

- [12] LAWAL, Abdulazeez T. Polycyclic aromatic hydrocarbons. A review. **Cogent Environmental Science**, v. 3, n.1, 2017. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/23311843.2017.1339841>. Acesso em: 05 jun 2019
- [13] DABESTANI, Reza; LVANOV, Iliia N. A Compilation of Physical, Spectroscopic and Photophysical Properties of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. **Photochemistry and Photobiology**, v. 70, n. 1, p. 10-34, Jul 1999.
- [14] CERNIGLIA, Carl E. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 4, n. 3, p. 331-338, June 1993.
- [15] CARUSO, Miriam Solange Fernandes; ALABURDA, Janete. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - benzo(a)pireno: uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. Disponível em: [http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0073-98552008000100001&lng=p&nrm=iso&tlng=pt](http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552008000100001&lng=p&nrm=iso&tlng=pt). Acesso em: 05 abr. 2019
- [16] MENEZES, Helvécio Costa. **Análise ambiental de benzeno e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos por microextração em fase sólida e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas**. 2011. 193 f. Tese (Doutorado em Ciência –Química)- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011. Disponível em: [https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/SFSA-8LVQSS/1/tese\\_helvecio\\_v10\\_1.pdf](https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/SFSA-8LVQSS/1/tese_helvecio_v10_1.pdf). Acesso em: 04 jun. 2019
- [17] ROCHA, Sabrina Mesquita; NISHIO, Fernando Yoshiki. Contaminação por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) em Mananciais: evidências de risco à saúde no Município de São Paulo. **InterfacEHS Saúde, Meio Ambiente e Sustentabilidade**, v. 11, n.1, p. 74-92, june. 2016 Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/304040070\\_Contaminacao\\_por\\_Hidrocarbonetos\\_Policiclicos\\_Aromaticos\\_HPAs\\_em\\_Mananciais\\_evidencias\\_de\\_risco\\_a\\_saude\\_no\\_Municipio\\_de\\_Sao\\_Paulo](https://www.researchgate.net/publication/304040070_Contaminacao_por_Hidrocarbonetos_Policiclicos_Aromaticos_HPAs_em_Mananciais_evidencias_de_risco_a_saude_no_Municipio_de_Sao_Paulo). Acesso em: 19 dez 2020
- [18] MOJIRI, Amin et al. Comprehensive review of polycyclic aromatic hydrocarbons in water sources, their effects and treatments. **Science of The Total Environment**, v. 696, dec. 2019.
- [19] ADENIJI, Abiodun Olagoke.; OKOH, Omobola Oluranti; OKOH, Anthony Ifeanyi. **Analytical Methods for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and their Global Trend of Distribution in Water and Sediment: a review**. Dec. 2017. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/recent-insights-in-petroleum-science-and-engineering/analytical-methods-for-polycyclic-aromatic-hydrocarbons-and-their-global-trend-of-distribution-in-wa>. Acesso em: 18 out 2019
- [20] UNITED STATES. Environmental Protection Agency. **Risks to fish and other aquatic organisms from pahs in natural systems**. 2006 Disponível em: [https://cfpub.epa.gov/si/si\\_public\\_record\\_report.cfm?Lab=NHEERL&dirEntryId=72551](https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_report.cfm?Lab=NHEERL&dirEntryId=72551). Acesso em: 16 ago 2019
- [21] MEIRE, Rodrigo Ornellas; AZEREDO, Antonio; TORRES, João Paulo Machado. Aspectos Ecotoxicológicos de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos. **Oecol. Bras.**, v. 11, n.2, p. 188-201, 2007.

- [22] DIPPLE, Anthony. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Carcinogenesis. **American Chemical Society**, Washington, 1985. 17 p.
- [23] UNITED STATES. **Environmental Protection Agency. Risk Assessment for Carcinogenic Effects**. 31 jan 2017. Disponível em: <https://www.epa.gov/fera/risk-assessment-carcinogenic-effects>. Acesso em 18 de fev 2021.
- [24] FRENKLACH, Michael et al. Detailed kinetic modeling of soot formation in shock-tube pyrolysis of acetylene. **Symposium (International) on Combustion**, v.20, n.1, p. 887–901, 1985.
- [25] MINAS GERAIS. Fundação Estadual do Meio Ambiente. **Inventário de áreas contaminadas Estado de Minas Gerais: 2019**. Belo Horizonte: Fundação Estadual do Meio Ambiente, 2019. 35p.
- [26] GALINARO, Carlos Alexandre; FRANCO, Douglas Wagner. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em cachaça, rum, uísque e álcool combustível. **Revista Química Nova**, São Paulo, v. 32 n. 6, 2009.
- [27] OLIVARES, Igor Renato B.; **Sistema de Gestão da Qualidade em Laboratórios: Norma ISO/IEC 17.025**. In: Workshop de Laboratórios de Alimentação Animal, I., 2017. Pedro Leopoldo: LANAGRO. 2017. 25 Slides
- [28] NETTO, Annibal D. Pereira et al. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica. **Revista Química Nova**, São Paulo, v. 23 n. 6, 2000.
- [29] CAVALCANTE, Rivelino Martins. **Otimização de metodologias de extração e análise de HPAs para determinação da distribuição ambiental e estimativa de fontes na cidade de Fortaleza**. 2007 Tese (Doutorado em Química) UFC Fortaleza. 2007
- [30] BAPTISTÃO, Mariana; **Preparo de Amostras para Cromatografia**. Webinar Agilent Química Instituto de Química UFCAT Disponível em: [https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/516/o/Webinar\\_Agilent\\_QuimicaUFCAT\\_Preparo\\_de\\_Amostra\\_para\\_Cromatografia.pdf](https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/516/o/Webinar_Agilent_QuimicaUFCAT_Preparo_de_Amostra_para_Cromatografia.pdf) Acesso em 13 dez 2020
- [31] VAZ, Fernando Antonio Simas Vaz; **Métodos clássicos de separação**. 2016 Disponível em: <https://www.ufjf.br/quimica/files/2016/08/M%c3%a9todos-cl%c3%a1ssicos-de-separa%c3%a7%c3%a3o-REVISADO-2016.pdf> Acesso em 12 dez 2020
- [32] UNITED STATES. Environmental Protection Agency. **Method 610: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons**. 1984. 25 p. Disponível em: [https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/method\\_610\\_1984.pdf](https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/method_610_1984.pdf). Acesso em: 03 ago. 2019.
- [33] MENDHAN, J. et al. **Vogel: Análise Química Quantitativa**. 6.ed. Rio de Janeiro: LTC, c2002. xviii, 462 p.
- [34] LANÇAS, Fernando Mauro. **Extração em Fase Sólida: (SPE)**. São Carlos: Rima, 2004. 96 p.

- [35] SOQUETTA, Marcela Bromberger; TERRA, Lisiane de Marsillar; BASTOS, Caroline Peixoto. Green technologies for the extraction of bioactive compounds in fruits and vegetables. Reino Unido. **CyTA - Journal of Food**, 16:1, 400-412, 2018
- [36] RAMEZANI, Zahra et al. Dispersive Solid Phase Extraction Headspace Sampling in Gas Chromatography Mass Spectrometric Analysis of Volatiles: Application to Separation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n.4, São Paulo, Apr. 2019. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-50532019000400764](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532019000400764). Acesso em: 02 ago 2019
- [37] BELARDI, Robert P.; PAWLISZYN, Janusz B. **The application of chemically modified fused silica fibers in the extraction of organics from water matrix samples and their rapid transfer to capillary columns**. 13 p. Disponível em: <https://iwaponline.com/wqri/article-pdf/24/1/179/233230/wqri0240179.pdf> Acesso em 13 ago 2019
- [38] DJOZAN, Dj.; ASSADI, Y. Monitoring of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water Using Headspace Solid-Phase Microextraction and Capillary Gas Chromatography. **Microchemical Journal**, v.63, n.2, p. 276-284, oct. 1999.
- [39] NASCIMENTO, Simone. **Nova Fibra de SPME Arrow**: Melhor tempo de análise e sensibilidade. Agilent, 39 slides, out. 2019.
- [40] VALENTE, Antônio Luiz Pires; AUGUSTO, Fábio. **Microextração por fase sólida**. Química Nova, v. 23, n. 4, p. 523-530. 2000.
- [41] SCHMIDT, Kamila; PODMORE, Ian. Solid Phase Microextraction (SPME) Method Development in Analysis of Volatile Organic Compounds (VOC's) as Potential Biomarkers of Cancer. *Journal of Molecular Biomarkers J & Diagnosis*, v.6, n.6, jan. 2015. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/287974185\\_Solid\\_Phase\\_Microextraction\\_SPME\\_Method\\_Development\\_in\\_Analysis\\_of\\_Volatile\\_Organic\\_Compounds\\_VOCS\\_as\\_Potential\\_Biomarkers\\_of\\_Cancer](https://www.researchgate.net/publication/287974185_Solid_Phase_Microextraction_SPME_Method_Development_in_Analysis_of_Volatile_Organic_Compounds_VOCS_as_Potential_Biomarkers_of_Cancer). Acesso em: 22 fev 2020
- [42] CHEMICAL Analysis Problem. 16 slides. Disponível em: <https://www2.chemistry.msu.edu/courses/cem434/SPE.pdf> Acesso em: 11 mai 2020
- [43] DOONG, Ruey-na; CHANG, Sue-min; SUN, Yuh-chang. Solid-phase microextraction for determining the distribution of sixteen US Environmental Protection Agency polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. **Journal of Chromatography**, v. 879, n. 2, p. 177-188, may 2000.
- [44] WEI, Ming-Chi; JEN, Jen-Fon. Determination of polycyclic hydrocarbons in aqueous samples by microwave assisted headspace solid-phase microextraction and gas chromatography / flame ionization detection. **Talanta**, v. 72, n.4, june-2007
- [45] ZHANG, Z.; PAWLISZYN, J. **Headspace solid-phase microextraction**. *Anal. Chem.* **1993**, 65, 1843–1852.
- [46] SKOOG, West; HOLLER, Crouch. **Fundamentos de Química Analítica**, Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo-SP, 2006.

- [47] SNOW, Nicholas H.; SLACK, Gregory C. Head-space in modern gas chromatography. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v.21, n. 10, p.608-617, set 2002.
- [48] HARGER, R. N. **An Aerometric Method for Quickly Estimating and Identifying Ethanol in Aqueous Fluids** Toronto, 1953 9 p. Disponível em: [http://mail.icadtsinternational.com/files/documents/1953\\_023.pdf](http://mail.icadtsinternational.com/files/documents/1953_023.pdf) Acesso em 04 jul 2019.
- [49] BOVIJN, L.; PIROTTE, J.; BERGER, A. **Gas Chromatography 1958** (Amsterdam Symposium), in: D.H. Desty (Editor), Butterworths, London, 1958, p. 310.
- [50] PAWLISZYN, Janusz **Comprehensive Sampling and Sample Preparation Analytical Technique for Scientists Academic Press** 2012
- [51] PIRES, Bruna Amorim. **Otimização de um método analítico para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos (HPAs) em sedimentos estuarinos.** 2012. Tese (Mestre em Química) - Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Porto., 2012. Disponível em: <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/65148/2/24221.pdf>. Acesso em: 17 ago. 2019
- [52] AI, Jiu. **Headspace Solid Phase Microextraction. Dynamics and Quantitative Analysis before Reaching a Partition Equilibrium** *Anal. Chem.* 1997, 69, 3260-3266
- [53] COELHO, Emanuel; FERREIRA, Célia; ALMEIDA, Cristina M. M. Analysis of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons by SPME-GC-FID in Environmental and Tap Waters. **J. Braz. Chem. Soc.**, São Paulo, v. 19, n. 6, p.1084-1097, 2008.
- [54] QUEIROZ, Maria Eugênia Costa; SOUZA, Israel Donizeti de; MARCHIORI, Camila. Current advances and applications of in-tube solid-phase microextraction. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 111, p. 261-278, feb.2019.
- [55] EISERT, Ralf; PAWLISZYN, Janusz. Automated In-Tube Solid Phase Microextraction Coupled to High- Performance Liquid Chromatography, **Anal. Chem.**, v.69, n. 16, p. 3140-3147, 1997.
- [56] YAN, Xiaohui et al. Array capillary in-tube solid-phase microextraction: A rapid preparation technique for water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1244, p. 69-76, 2012
- [57] MAHGOUB, Hiba Abdalla. Extraction Techniques for Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water Samples. **International Journal of Science and Research**, v. 5, n.1, p. 268-272, 2016.
- [58] KARYAB, Hamid Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in drinking water of Tehran, Iran. **Journal of Environmental Health Sciences and Engineering**, v. 11, n. 1. 7 p., .aug. 2013.
- [59] SIBIYAA, P. et al. Development and application of solid phase extraction method for polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples in Johannesburg Area, South Africa. **S. Afr. J. Chem.**, Johannesburg, v. 65, p. 206–213, 2012. Disponível em: [http://www.scielo.org.za/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0379-43502012000100034&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.za/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0379-43502012000100034&lng=en&nrm=iso). Acesso em: 13 set 2019

- [60] KABZINSKI, A.K.M.; CYRAN, J.; JUSZCZAK, R. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water (including drinking water) of Lodz. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 11, n. 6, p. 695-706. 2002. Disponível em: <http://www.pjoes.com/Determination-of-Polycyclic-aromatic-hydrocarbons-in-water-including-drinking-water,87510,0,2.html>. Acesso em: 13 set 2019
- [61] KAFILZADEH, Farshid; SHIVA, Amir Houshang S.; MALEKPOUR, Rokhsareh, M., (2011). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in water and sediments of the Kor River, Iran. **Middle-East Journal of Scientific Research**, v. 10, n.1, p. 1-7, 2011. Disponível em: file:///C:/Users/marizac/Documents/TCC/A.H.Shiva2.pdf. Acesso em: 13 set. 2019
- [62] MANOLI, E. ; SAMARA, C. ; KONSTANTINOU, I. ; ALBANIS, T., (2000). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the bulk precipitation and surface waters of Northern Greece. **Chemosphere**, v. 41, n. 12, p. 1845-1855, dec. 2000.
- [63] PAUL, R., (2009). Automated Analysis of PAHs by HPLC. **AWE international**, 2009.
- [64] NUHU, Abdulmumin A. et al. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water using nanoporous material prepared from waste avian egg shell. **Journal of Nanomaterials**, v. 2012, article ID 305691. 7 p. Disponível em: <https://downloads.hindawi.com/journals/jnm/2012/305691.pdf>. Acesso em: 13 set 2019
- [65] QINGLING, Li et al. Determination of trace PAHs in seawater and sediment pore-water by solid-phase microextraction (SPME) coupled with GC/MS. **Science in China Series B, Chemistry**, v.49, n.6, p. 481-491, 2006. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/41349914.pdf>. Acesso em: 14 set 2019
- [66] MARGOUM, Christelle et al. Stir bar sorptive extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of pesticides in water samples: method validation and measurement uncertainty. **Talanta**, v. 116, n. 15, p. 1-7, 2013
- [67] WISE, Stephen A.; SANDER, Lane C.; SCHANTZ, Michele M. Analytical Methods for Determination Hydrocarbons (PAHs) – A Historical Perspective on the 16 U.S. EPA Priority Pollutant PAHs **Polycyclic Aromatic Compounds**, 35:1-65, 2015
- [68] UNITED STATES. Environmental Protection Agency. **Method 625: Base/Neutrals and Acids**. 48 p. 1984. Disponível em: [https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/method\\_625\\_1984.pdf](https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/method_625_1984.pdf). Acesso em: 03 ago. 2019
- [69] WENZL, Thomas; SIMON, Rupert; KLEINER, Uliane; ANKLAM, Elke. Analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons in food and the environment need for new food legislation in the European Union TrAC **Trends in Analytical Chemistry**. v. 25, p. 716-735 7, Jul-Aug. 2006.
- [70] VALERA-TARIFA, Noelia María Valera et al. Development and validation of a GC-MS/MS method for priority PAH quantification in different types of water samples. **Sep. Sci Plus**, v.1, n. 8, p. 539-548, 2018.
- [71] AUGUSTI, Rodinei. **Espectrometria de Massas: Conceitos Gerais**. [Belo Horizonte]: Universidade Federal de Minas Gerais. (Apostila)

- [72] CIENFUEGOS, Freddy; VAITSMAN, Delmo. Cromatografia gasosa. In: CIENFUEGOS, Freddy; VAITSMAN, Delmo. **Análise Instrumental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2000. 606p. Cap. 7, p. 277-283
- [73] Espectrometria de Massas 55 slides Disponível em :<https://ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/frankimica/Quimica%20Analitica%20Aplicada%20II/Espectrometria%20de%20massas%20-%20Parte%202.pdf> Acesso em: 05 mai 2020
- [74] BROMMER, B. Dieter; GIESA, Tristan; SPIVAK, David I.; BUEHLER, Markus J. Categorical prototyping: incorporating molecular mechanisms into 3 D printing. **Nanotechnology**, United Kingdon, v.27, p. 1-8
- [74] VOLPATO, Neri (Ed.). **Prototipagem rápida: tecnologias e aplicações**. São Paulo: Edgard Blucher, c2007. 244 p
- [76] SIGMA PROTÓTIPOS. Impressão 3D. São Paulo: Disponível em: <https://sigmaprototipos.com.br/impressao-3d/#1-processo-da-impress%C3%A3o-3d>. Acesso em: 17 nov. 2020
- [77] CARVALHO, João Gabriel Gomes; CAMEIRA, Renato Florido. O desenvolvimento de protótipos nas indústrias: uma visão geral e perspectivas futuras. In: ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO, 24., João Pessoa. **Anais eletrônicos...** João Pessoa: ABEPRO, 2016. Disponível em: [http://www.abepro.org.br/biblioteca/TN\\_STO\\_230\\_345\\_29079.pdf](http://www.abepro.org.br/biblioteca/TN_STO_230_345_29079.pdf). Acesso em: 17 nov. 2020.
- [78] ROMANOV, Valentin; FDM 3D printing of high pressure, heat resistant, transparent microfluidic devices. **Analytical Chemistry**, v. 90, n. 17, p. 10450-104656, 2018.
- [79] SIMPLIFY 3D. **ABS**. Disponível em: <https://www.simplify3d.com/support/materials-guide/abs/>. Acesso em: 17 nov. 2020.
- [80] ZYLBERMAN, Patrícia. Impressora 3D promete revolucionar mercado de próteses de mão. **Entre Teses**, São Paulo, n. 4, p. 108-110, jun. 2015. Disponível em: [https://issuu.com/unifesp/docs/entreteses4\\_jun2015](https://issuu.com/unifesp/docs/entreteses4_jun2015). Acesso em: 17 nov. 2020.
- [81] ANISHCHENKO, I. M. *et al.* Modular and reconfigurable gas chromatography/differential mobility spectrometry (GC/DMS) package for detection of volatile organic compounds (VOCs). **Int J Ion Mob. Spectrom.** n. 21, p. 125-136, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12127-018-0240-4>. Acesso em: 17 nov. 2020.
- [82] Aqueous NaCl Solutions: Trends with Size and Polarity of Solute Molecules. **Environmental Science & Technology**, n.46, 2012. p.1496-1503. DOI 10.1021/es203183z.
- [83] Gas chromatography. **Specialty Gases E Specialty Equipment**, 2021. Disponível em: [http://hiq.linde-gas.com/en/analytical\\_methods/gas\\_chromatography/index.html](http://hiq.linde-gas.com/en/analytical_methods/gas_chromatography/index.html) Acesso em 20 out 2019
- [84] FENG, Shuang; HOM, Brian J. **Sensitive and Reproducible Detection of PAHs Using the Agilent 5977A Series GC/MSD**. 4 p. Disponível em: <https://hpst.cz/sites/default/files/oldfiles/5991-1811en-sensitive-and-reproducible-detection-pahs-using-agilent-5977a-series-gc-msd.pdf>. Acesso em: 03 jun 2019

- [85] NORONHA, Barbara Viero de. Membrana de Celulose Modificada com Polipirrol para Extração de Contaminantes de Preocupação Emergente em Matriz Aquosa. 2018. 155 f. Tese de doutorado (Pós-Graduação em Química)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2018. Disponível em: <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/trabalhoConclusaoWS?idpessoal=3186&idprograma=40001016026P2&anobase=2018&idtc=1384>. Acesso em: 15 jul 2019
- [86] PAWLISZYN, Janusz. Theory of Solid-Phase Microextraction. **Handbook of Solid Phase Microextraction**, p. 13-59. 2012
- [87] MUMTAZ, Moiz; GEORGE, Julia. **Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons**. U.S. Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta: Aug.1995. 487 p. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp69.pdf>. Acesso em: 05 jun 2019