

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

MARIANA SOSA KANAAN DA SILVA

**DETERMINAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DO *CLEAN UP* DE *n*-ALCANOS EM
ÁGUA, SOLO E SEDIMENTO POR CROMATOGRAFIA GASOSA:
VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA**

PORTO ALEGRE

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

MARIANA SOSA KANAAN DA SILVA

**DETERMINAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DO *CLEAN UP* DE *n*-ALCANOS EM
ÁGUA, SOLO E SEDIMENTO POR CROMATOGRAFIA GASOSA:
VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA**

Monografia apresentada junto à atividade de ensino
“Projeto tecnológico” do Curso de Química
Industrial, como requisito parcial para obtenção do
grau de Químico Industrial.

Prof. Dr. João Henrique Zimnoch dos Santos
Orientador

PORTO ALEGRE

2016

AGRADECIMENTOS

À UFRGS, pelas oportunidades de crescimento pessoal e profissional.

Ao professor João Henrique Zimnoch dos Santos pela paciência, calma, grande ajuda e motivação de realização deste trabalho.

À professora Deborah Dick por ter me introduzido à cromatografia no meu segundo semestre de graduação em Química Industrial.

À professora Nádyá Pesce da Silveira por todo aprendizado em nanotecnologia no período em que fui aluna de iniciação científica no LINDIM.

Ao meu chefe Vinicius Praia Carvalho por ter me proporcionado a oportunidade de trabalhar na NSF Bioensaios e contribuição com o meu crescimento profissional estando sempre disposto a me ajudar e ensinar, mesmo com toda a minha ansiedade.

A todos os colegas da NSF Bioensaios por fazer o meu período de estágio na empresa ser alegre todos os dias, em especial a Ana Paula Petrecheli Lima, Camila Kauer e Marina Ferreira por terem aguentado as minhas loucuras todos os dias e pelo grande crescimento profissional que me proporcionaram.

A todos os meus amigos e colegas que contribuíram para a minha formação na UFRGS, em especial a Letícia Nieto, Débora Lutz, Vitória Müller e Pedro Vontobel.

Ao Rodrigo Araujo Barcella por toda ajuda ao longo da graduação e por ainda ser meu amigo depois de sete anos de convivência diária.

Ao meu namorado Doyle Mello Barboza pelo carinho, compreensão, motivação, paixão, paciência, calma e ajuda ao longo dos nossos quatro anos de namoro.

À minha família, principalmente aos meus pais, por estarem sempre ao meu lado e por todo amor, paciência, carinho, ajuda, cuidado e incentivo em toda a minha vida.

RESUMO

Este trabalho apresenta a avaliação de diferentes fases inorgânicas para otimização da etapa de *clean up* em amostras de água, solo e sedimento para análise de TPH utilizando cromatografia gasosa com detector de ionização por chama (GC-FID) e sua posterior validação. O trabalho foi desenvolvido em uma empresa de consultoria ambiental da região metropolitana de Porto Alegre. A extração dos analitos foi realizada por Extração Líquido-Líquido (ELL) para as amostras de água e por Extração por Ultrassom para as amostras de solo e sedimento. Reduziu-se o volume do extrato obtido da extração e transferiu-se o volume resultante para uma coluna de *clean up*, quantitativamente, utilizando as diferentes fases inorgânicas, para em seguida ser novamente concentrado, filtrado em filtro PTFE $\leq 0,45 \mu\text{m}$ e analisado. Os parâmetros avaliados para validação foram a linearidade, a seletividade, a exatidão, a precisão, por meio da precisão intermediária e da repetitividade, e os limites de detecção e quantificação do método. Também foi avaliada a incerteza de medição, de forma a verificar a contribuição de diferentes fontes de incerteza. A partir dos critérios de aceitação de cada parâmetro de validação, verificou-se que a fase inorgânica mais adequada para a etapa de *clean up* e que, conseqüentemente, foi utilizada no método para validação foi a sílica gel. Entretanto, a quantidade utilizada foi sete vezes maior que a sugerida pela EPA 3630. Na análise da linearidade, foi construída uma curva analítica, utilizando seis níveis de concentração, variando de 0,6 a 15 mg.L^{-1} . Os limites de detecção e quantificação obtidos foram de 0,3 e 1 mg.L^{-1} , respectivamente, ficando dentro do limite estipulado pela legislação vigente. A verificação da precisão intermediária, repetitividade e exatidão ficaram de acordo com o critério de aceitação empregado, sendo então considerados satisfatórios. Com os devidos parâmetros analisados, a confiabilidade da metodologia é assegurada para a implementação desse ensaio para com o fim de estabelecer o controle de qualidade de amostras de água, solo e sedimento em análises de TPH por GC-FID.

Palavras-chave: *clean up*, TPH, *n*-alcanos, GC-FID, fase inorgânica, água, solo.

ABSTRACT

This paper presents the evaluation of different inorganic phases to optimize the clean up stage in water, soil and sediment samples for TPH analysis using gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID) and its subsequent validation. The study was conducted in an environmental consulting firm in the metropolitan region of Porto Alegre. The extraction of the analytes was performed by liquid-liquid extraction (LLE) for the water sample and ultrasonic extraction for soil and sediment samples. The volume of the obtained extract was reduced and the resulting volume was transferred to a column of clean up quantitatively using different inorganic phases, to then be again concentrated, filtered $\leq 0.45 \mu\text{m}$ PTFE filter and analyzed. The parameters evaluated for validation were linearity, selectivity, accuracy, precision, through the intermediate precision and repeatability, and limits of detection and quantification of the method. Also the measurement uncertainty was evaluated in order to check the contribution of different sources of uncertainty. From the acceptance of each parameter validation criteria, it was found that the most suitable inorganic phase to clean up step and, consequently, was used in the method for validating was silica gel. However, the amount used was seven times higher than that suggested by EPA 3630. In the analysis of linearity, an analytical curve was constructed using six concentration levels ranging from 0.6 to 15 mg.L^{-1} . The limits of detection and quantification obtained were 0.3 and 1 mg.L^{-1} , respectively, which was within the limit set by current legislation. The verification of intermediate precision, repeatability and accuracy were according to the acceptance criteria, and then considered satisfactory. With proper parameters analyzed, the reliability of the methodology is provided for the implementation of this assay in order to establish the quality control samples of water, soil and sediment for TPH analysis by GC-FID.

Keywords: clean up, TPH, n-alkanes, GC-FID, inorganic phase, water, soil.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Divisão de TPH pela faixa de carbono analisada	14
Tabela 2 – Comparação de métodos mais comumente utilizados de extração para análise de TPH	19
Tabela 3 – Métodos sugeridos pela EPA para <i>clean up</i> dos extratos para análise de TPH	20
Tabela 4 – Comparação de métodos mais comumente utilizados para medição dos analitos em análises de TPH	21
Tabela 5 – Níveis de calibração da curva analítica a partir da solução estoque de <i>n</i> -alcanos (20 mg.L ⁻¹) com diluição de 1 mL em diclorometano	28
Tabela 6 – Parâmetro de validação <i>versus</i> Critério de aceitação	31
Tabela 7 – Coeficiente de variação e limites de detecção e quantificação dos extratos de <i>n</i> -alcanos	39
Tabela 8 – Custo de solventes e consumíveis para a análise de TPH em amostras de água, solo e sedimento	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Formação na natureza do pristano e fitano a partir do fitol adaptado Tissot e Welte	16
Figura 2 – Perfil cromatográfico do branco de cada fase inorgânica: (a) sílica gel, (b) zeólita beta, (c) R-816, (d) NoA e (e) RS-56	32
Figura 3 – Perfil cromatográfico do branco de cada fase inorgânica: (f) RS-60, (g) alumina, (h) florisil e (i) C18 ácida	33
Figura 4 – Perfil cromatográfico do extrato da amostra real de solo de cada fase inorgânica: (a) sílica gel, (b) zeólita beta, (c) R-816, (d) NoA e (e) RS-56	34
Figura 5 – Perfil cromatográfico do extrato da amostra real de solo de cada fase inorgânica: (f) RS-60, (g) alumina, (h) florisil e (i) C18 ácida	34
Figura 6 – Perfil cromatográfico da amostra real de solo sem <i>clean up</i>	35
Figura 7 – Perfil cromatográfico do branco (a) e do extrato da amostra real (b) para 7 g de sílica gel	36
Figura 8 – Cromatograma do nível quatro de 5 mg.L^{-1} da curva analítica obtida do padrão de referência de 20 mg.L^{-1} .	38
Figura 9 – Curva de calibração para análise de TPH em água, solo e sedimento	39
Figura 10 – Cromatogramas obtidos na avaliação da repetitividade do método de determinação de TPH em solo e sedimento	41
Figura 11 – Cromatogramas obtidos na avaliação da precisão intermediária do método de determinação de TPH em solo e sedimento	42

LISTA DE ABREVIACÕES

GC – Cromatografia Gasosa

FID – Detector de Ionização por Chama

EPA – Environmental Protection Agency

HPA – Hidrocarbonetos Poli-Aromáticos

MCNR – Mistura Complexa não-Resolvida

USEPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

TPH-DRO – Hidrocarbonetos na Faixa de Orgânicos do Diesel

TPH-GRO – Hidrocarbonetos na Faixa dos Orgânicos referentes à Gasolina

ELL – Extração Líquido-Líquido

SPE – Extração em Fase Sólida

IR – Infravermelho

BTEX – Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno, Xilenos

DMSO – Dimetilsulfóxido

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

LD – Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

CV – Coeficiente de Variância

PTFE – Politetrafluoretileno

IM – Incerteza de Medição

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	ESTADO DA ARTE	13
2.1	CONTAMINAÇÃO POR ÓLEO DE PETRÓLEO	13
2.2	HIDROCARBONETOS TOTAIS DO PETRÓLEO (TPH)	13
2.3	<i>n</i> -ALCANOS	15
2.4	ALCANOS ISOPRENÓIDES	15
2.5	MISTURA COMPLEXA NÃO-RESOLVIDA (MCNR)	16
2.6	SITUAÇÃO ATUAL	17
2.6.1	TÉCNICAS DE ANÁLISE	17
2.6.2	EXTRAÇÃO DOS ANALITOS	18
2.6.3	<i>CLEAN UP</i>	19
2.6.4	MEDIÇÃO DOS ANALITOS	20
3	OBJETIVOS	22
3.1	OBJETIVO GERAL	22
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
4	PROPOSTA TECNOLÓGICA	23
5	METODOLOGIA	24
5.1	MATERIAIS E SOLVENTES	24
5.2	PREPARO DAS SOLUÇÕES	24
5.3	EXTRAÇÕES	25
5.3.1	EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DA MATRIZ ÁGUA	25
5.3.2	EXTRAÇÃO POR ULTRASSOM DAS MATRIZES SOLO E SEDIMENTO	25
5.4	<i>CLEAN UP</i> DOS EXTRATOS DE SOLO E SEDIMENTO	26

5.5	INSTRUMENTAÇÃO	26
5.6	VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA	27
5.6.1	SELETIVIDADE	27
5.6.2	LINEARIDADE	27
5.6.3	LIMITES DE DETECÇÃO (LD) E QUANTIFICAÇÃO (LQ)	28
5.6.4	PRECISÃO	29
5.6.5	EXATIDÃO	29
5.6.6	INCERTEZA DE MEDIÇÃO (IM)	30
5.6.7	CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO	30
6	RESULTADOS E DISCUSSÕES	32
6.1	AVALIAÇÃO DAS FASES INORGÂNICAS	32
6.2	VALIDAÇÃO	37
6.2.1	SELETIVIDADE	37
6.2.2	LINEARIDADE	37
6.2.3	LIMITES DE DETECÇÃO (LD) E QUANTIFICAÇÃO (LQ)	38
6.2.4	REPETITIVIDADE	39
6.2.5	PRECISÃO INTERMEDIÁRIA	40
6.2.6	EXATIDÃO	41
6.2.7	INCERTEZA DE MEDIÇÃO (IM)	42
7	CUSTO DA ANÁLISE	43
8	CONCLUSÃO	44
9	REFERÊNCIAS	45
10	ANEXOS	48

1 INTRODUÇÃO

Um derramamento de óleo no meio ambiente pode causar diversos problemas para a flora e fauna do sistema devido à elevada introdução de hidrocarbonetos que são tóxicos para os animais marinhos, além de prejudicar a população que vive no litoral das áreas atingidas. A origem mais comum de vazamento de óleo é em sistemas petroleiros, onde podem ocorrer nos navios, nas plataformas de extração e nos oleodutos de distribuição. Esses derramamentos acontecem em razão de falhas humanas na execução e também de falhas estruturais dos equipamentos provocando escapamentos de gás ou óleo¹.

Um dos parâmetros utilizados para verificar uma contaminação de óleo e afins é a análise de TPH (Hidrocarbonetos do Petróleo), ou HTP (Hidrocarbonetos Totais do Petróleo), que fornece informações sobre a concentração dos hidrocarbonetos totais presentes em determinada amostra. Conforme a Cetesb 6530 - Lista holandesa de valores de qualidade do solo e da água subterrânea o menor limite de TPH para intervenção é de 600 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para água subterrânea e de 5000 mg.kg^{-1} para solo². Esse parâmetro pode ser avaliado por diversos métodos, porém o que se destaca é o método EPA 8015B. A EPA, *Environmental Protection Agency*, é um órgão do governo federal dos Estados Unidos da América, que é encarregada de proteger a saúde humana e o meio ambiente, com base na aplicação de normas vinculadas a leis aprovadas pelo Congresso Norte-americano. Pela EPA 3510C, a preparação das amostras de água é realizada por extração líquido-líquido e, pela EPA 3550C, a preparação das amostras de solo e sedimento é realizada por extração ultrassônica. A análise de TPH é realizada por cromatografia em fase gasosa com detector de ionização por chama (GC-FID) conforme a EPA 8015B^{2,3,4}.

Dentro dos compostos orgânicos que podem compor o TPH pode-se destacar os alcanos lineares (*n*-alcanos), ramificados, cíclicos; hidrocarbonetos aromáticos e hidrocarbonetos poli-aromáticos (HPAs). A quantificação direta de *n*-alcanos em solos imediatamente após sua extração por cromatografia é geralmente ineficiente resultando em baixas resoluções dos picos devido à complexidade da amostra. Por consequência, uma etapa importante antes de uma análise por cromatografia é a etapa de *clean up* para retirada de interferentes presentes na amostra que podem impedir a quantificação dos analitos a serem analisados. De acordo com a EPA 3600C, alumina (EPA 3610 e 3611), florissil (EPA 3620) e sílica gel (EPA 3630) são as fases úteis para *clean up* de um grupo químico específico de analitos relativamente apolares, ou seja, pesticidas organoclorados, hidrocarbonetos não-

aromáticos, nitrosaminas, hidrocarbonetos aromáticos polinucleares (HPAs), etc... Porém, estas fases não retêm uma grande quantidade de interferentes o que ocasiona em baixas resoluções e a quantidade de fase utilizada tende a ser maior do que a sugerida pela EPA 3600C em amostras de solo em razão da presença de grandes concentrações de interferentes^{3,4,5}.

Portanto, o escopo do presente trabalho de graduação consiste em avaliar diferentes fases inorgânicas para otimização do *clean up* de amostras reais. Para, conseqüentemente, implementar e validar uma metodologia analítica para determinação de TPH em matrizes de água, solo e sedimento em uma empresa de consultoria ambiental da região metropolitana de Porto Alegre.

2 ESTADO DA ARTE

2.1 CONTAMINAÇÃO POR ÓLEO DE PETRÓLEO

A definição de óleo como “petróleo em qualquer forma, incluindo óleo cru, óleo combustível, graxa, refugo de óleo e produtos refinados” foi dada pela Convenção Internacional para a Prevenção da Poluição Marinha (IMO/Marpol 73-78, 1997), em seu Anexo I⁶. A Lei nº 9.478, de 6 de agosto de 1997, define o petróleo como “todo e qualquer hidrocarboneto líquido em seu estado natural, a exemplo do óleo cru e condensando”, na Seção II, Artigo 6º enquanto a Lei nº 9.966, de 28 de abril de 2000, Capítulo I, Artigo 2º, define óleo como “qualquer forma de hidrocarboneto (petróleo e seus derivados), incluindo óleo cru, óleo combustível, borra, resíduos de petróleo e produtos refinados”^{7,8}.

A contaminação causada por produtos petrolíferos pode conter uma variedade de substâncias químicas. Assim sendo, não é prática a medida individual de cada uma dessas substâncias separadamente para efeito de monitoramento de uma área contaminada. Entretanto, é útil medir a quantidade total de todos os hidrocarbonetos encontrados em conjunto em uma determinada amostra de água, solo ou sedimento^{9,10}.

2.2 HIDROCARBONETOS TOTAIS DO PETRÓLEO (TPH)

Um meio de avaliar uma contaminação proveniente de um vazamento de petróleo é pela avaliação do parâmetro “*Total petroleum hydrocarbon*” (TPH), termo usado para descrever uma ampla família de compostos químicos de origem do petróleo bruto^{9,10}. Esses compostos são em sua maioria hidrocarbonetos não aromáticos tais como *n*-alcanos, uma mistura de hidrocarbonetos ramificados e cíclicos como, mistura complexa não-resolvida (MCNR) e hidrocarbonetos aromáticos como, por exemplo, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA)¹².

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) emprega dois conceitos de definição para TPH. Um desses conceitos é o uso do fracionamento como uma alternativa para medir os constituintes da mistura de petróleo, onde tudo que for medido é somado resultando no dado TPH. O outro sugere que TPH são todos os hidrocarbonetos que foram extraídos de uma amostra e detectados por uma técnica em particular¹⁰.

Frequentemente, o TPH é dividido em faixas para ser analisado. Essa divisão é baseada na relação do tamanho da cadeia carbônica dos hidrocarbonetos. Conforme Tabela 1, as faixas mais utilizadas para análise são TPH-GRO e TPH-DRO. A Tabela 1 mostra também a relação entre o intervalo aproximado de temperatura de ebulição e número de carbonos de alguns outros importantes produtos petrolíferos comuns. Nela podemos perceber claramente a sobreposição entre faixas de carbono de produtos diferentes, bem como a sobreposição no correspondente método analítico, por exemplo: um método analítico concebido para a faixa de carbono referente à gasolina alcance alguns dos hidrocarbonetos presentes no diesel combustível. Assim, essa terminologia ambígua associada à análise de TPH pode apresentar dificuldades adicionais na interpretação de resultados. Cada análise tem a sua própria designação: TPH-DRO significa hidrocarbonetos na faixa de orgânicos do diesel, enquanto TPH-GRO significa faixa dos orgânicos referente à gasolina^{13,14}.

Tabela 1 – Divisão de TPH pela faixa de carbono analisada.

Faixa de Temperatura de Ebulição (°C)	Análise	Típica Faixa de Carbono
60-600	Faixa de Orgânicos de Óleo Bruto	C6-C56
60-170	Faixa de Orgânicos da Gasolina (GRO)	C6-C10
170-290	Faixa de Orgânicos do Querosene	C10-C16
170-430	Faixa de Orgânicos do Diesel (DRO)	C10-C28
250-580	Faixa de Orgânicos de Óleo Lubrificante	C14-C50
340-580	Faixa de Orgânicos de Ceras	C20-C50
390-600	Faixa de Orgânicos de Asfalto e Piche	C24-C60

¹³ Adaptado CASLAB

Porém, os parâmetros mais utilizados para realizar uma avaliação ambiental, são:

- TPH Total (C6 – C40)
- *n*-Alcanos
- Isoprenoides (Pristano e Fitano)
- MCNR (mistura complexa não-resolvida)

2.3 *n*-ALCANOS

Os *n*-alcanos, também chamados hidrocarbonetos parafínicos, parafinas, alcanos normais ou *n*-parafinas, são hidrocarbonetos alifáticos saturados, formados por cadeias lineares. Esses compostos são oriundos de amplas fontes de hidrocarbonetos que vão desde material biológico, como plantas terrestres e algas marinhas, até o petróleo. Na avaliação de contaminação ambiental utilizam-se *n*-alcanos de 6 a 60 carbonos, que podem ser originários de processos biológicos (sintetizados por organismos terrestres ou marinhos), ou durante o processo da diagênese (processos físico-químicos sofridos pelo sedimento da sua deposição até a consolidação)¹⁵.

Os *n*-alcanos de origem fóssil ocorrem no petróleo bruto e em seus derivados numa proporção que está atrelada a natureza da matéria orgânica original, às condições físico-químicas durante sua formação e ao ambiente deposicional. Óleos derivados de matéria orgânica terrestre normalmente contêm uma abundância maior de *n*-alcanos de alta massa molecular ($>nC_{20}$), enquanto que aqueles derivados de matéria orgânica marinha são mais ricos em compostos cíclicos e em *n*-alcanos de baixo massa molecular ($<nC_{20}$). No petróleo, a distribuição desses alcanos normais ocorre de maneira uniforme, não sendo identificado normalmente o predomínio de cadeias com número par ou ímpar de átomos de carbono^{16,17,18}.

2.4 ALCANOS ISOPRENÓIDES

Os alcanos isoprenóides são hidrocarbonetos ramificados alifáticos caracterizados por uma estrutura comum ao isopreno. São conhecidos por serem biomarcadores, que por definição são moléculas orgânicas que fazem parte da composição do petróleo, sendo resistentes a alterações químicas e cuja estrutura molecular carrega uma forte indicação de que tenham sido criados em quantidades significativas por processos biológicos. Portanto, proporcionam informações sobre a constituição do ambiente deposicional, o tipo de organismo vivo presente naquele ambiente, a era geológica em que foi formado o petróleo e, também, do estágio de maturação e degradação deste petróleo^{19,20}.

As duas moléculas mais abundantes e conhecidas como biomarcadores isoprenóides são o pristano (2,6,10,14-tetrametil-pentadecano) e o fitano (2,6,10,14-tetrametil-hexadecano), produzidos, principalmente, pela degradação do fitol, álcool constituinte da

clorofila. Em ambientes oxidantes, a degradação do fitol produz pristano, enquanto em ambientes redutores, o fitano é preferencialmente formado, conforme ilustra a Figura 1¹⁶. Esses compostos podem ser encontrados no óleo bruto e juntos somam mais de 55% de todos os isoprenóides acíclicos, porém não há predominância entre pristano e fitano nesse tipo de amostra^{19,20}.

As razões (pristano/nC17 e fitano/nC18) podem ser utilizadas para avaliar o grau de biodegradação de óleos. Assim sendo, em óleos de biodegradação moderada, essas razões apresentam valores mais elevados que os óleos não-biodegradados¹⁹.

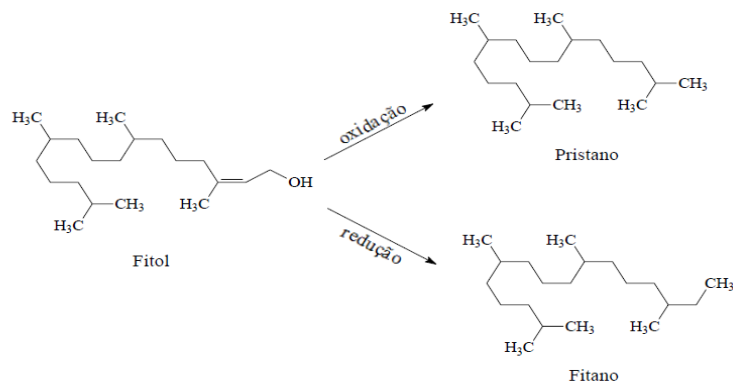


Figura 1 – Formação na natureza do pristano e fitano a partir do fitol adaptado Tissot e Welte¹⁶.

2.5 MISTURA COMPLEXA NÃO-RESOLVIDA (MCNR)

O petróleo e seus produtos derivados, ao serem introduzidos no ambiente, sofrem intemperismo natural, resultando no desaparecimento inicial dos hidrocarbonetos mais voláteis, ou seja, o desaparecimento dos *n*-alcanos de cadeia curta. A presença da sequência completa de *n*-alcanos em amostras ambientais contaminadas indica um derramamento recente ou óleo pouco biodegradado²⁰. A elevação da linha de base num cromatograma de uma amostra contaminada está relacionada com a presença de óleo biodegradado, essa característica no cromatograma é conhecida como Mistura Complexa não-Resolvida (MCNR). Desse modo, em amostras contaminadas com óleo biodegradado, observa-se elevada linha de base e baixa presença de hidrocarbonetos alifáticos. Porém, a composição do

MCNR, que corresponde a uma mistura de hidrocarbonetos ramificados e cíclicos, não pode ser resolvida por cromatografia de uma dimensão^{21,22}.

O trabalho do Mansuy et al.²³ apresenta o aumento de MCNR e a diminuição dos sinais referentes aos *n*-alcanos numa amostra de óleo bruto submetida a um processo de biogradeação artificial em laboratório. O cromatograma do óleo inicial era em grande quantidade dominada por moléculas de *n*-alcanos de baixa massa molecular. Após um período de 4 anos, teve uma diminuição dos *n*-alcanos mais voláteis devido ao processo de evaporação e depois de 38 dias a amostra teste foi lavada com água ocorrendo a diminuição de *n*-alcanos com cadeias menores do que 15 carbonos. Após um mês do processo de lavagem, o cromatograma da amostra apresentou diminuição de *n*-alcanos de maior massa molecular pelo processo de biodegradação. Nos dois meses seguintes, observou-se que os *n*-alcanos de maior massa molecular foram gravemente afetados pelo processo de biodegradação e notou-se uma maior contribuição de hidrocarbonetos não resolvidos (MCNR) em comparação com os hidrocarbonetos resolvidos no cromatograma. Por fim, após quatro meses da lavagem com água, os *n*-alcanos foram completamente removidos e apenas alguns compostos ainda puderam ser identificados, observando-se uma maior predominância do MCNR no cromatograma^{23,24}.

2.6 SITUAÇÃO ATUAL

2.6.1 TÉCNICAS DE ANÁLISE

Existem muitas técnicas e métodos analíticos disponíveis para medir as concentrações de TPH no ambiente. Porém, devido à complexidade das amostras de petróleo e seus derivados, nenhum único método consegue analisar todos os compostos presentes nas amostras. Alguns métodos determinam mais compostos do que outros por empregarem técnicas mais rigorosas de extração dos analitos da amostra ou por utilizarem solventes mais eficientes ou, também, por fazer uso da etapa de *clean up* das amostras após sua extração para minimizar a quantidade de interferentes que podem ter sido extraídos junto. A escolha de um método de análise deve ser baseada na compatibilidade com o tipo de contaminação por hidrocarbonetos a ser medido. A escolha pode até depender de requisitos regulatórios estaduais para o tipo de contaminação por hidrocarbonetos suspeita de estar presente^{14,24}.

Nos últimos tempos, a análise de TPH é delimitada pela escolha da extração, eficiência da etapa de *clean up* e pelos limites de detecção do método de análise. A maior parte das etapas analíticas consistem, basicamente, em^{14,24}:

- Extração – separação dos analitos de interesse da matriz de uma amostra;
- *Clean up* – pode ser necessária para remoção de interferentes;
- Medição – quantifica os analitos.

Cada etapa afeta o resultado final e um entendimento básico de cada passo é fundamental para uma melhor interpretação dos resultados a serem obtidos^{14,24}.

2.6.2 EXTRAÇÃO DOS ANALITOS

Para a maioria das análises, faz-se necessária a separação dos analitos de interesse de sua matriz (água, solo ou sedimento). A extração desses analitos pode ser realizada seguindo um ou mais dos seguintes passos^{14,25}:

- Extração dos analitos por solventes;
- Aquecimento da amostra;
- Arraste dos analitos da amostra por gases inertes.

Na Tabela 2 podemos observar que existe uma grande variedade de métodos utilizados para extração dos analitos de uma amostra. Para estes métodos, a capacidade de extrair os hidrocarbonetos do petróleo depende do solvente utilizado e do tipo de matriz da amostra de água, solo ou sedimento^{14,25}.

Tabela 2 – Comparação de métodos mais comumente utilizados de extração para análise de TPH.

Método de Extração	Identificação US SW-846	Matriz	Componentes Extraídos
Extração Líquido-Líquido (ELL)	3520, 3510	Água	Semi Voláteis e Não Voláteis
Extração em Fase Sólida (SPE)	3535	Água	Semi Voláteis e Não Voláteis
<i>Purge and Trap</i>	5030, 5035	Água e Solo	Voláteis
<i>Headspace</i>	3810, 5021	Água e Solo	Voláteis
Soxhlet	3540, 3541	Solo	Semi Voláteis e Não Voláteis
Ultrassom	3350, 3550	Solo	Semi Voláteis e Não Voláteis
Fluido Super Crítico	3560, 3561	Solo	Semi Voláteis e Não Voláteis
Fluido Sub Crítico	3545	Solo	Semi Voláteis e Não Voláteis

¹⁴ Adaptado TPH Criteria Group.

2.6.3 CLEAN UP

Os métodos de extração dos analitos de interesse de uma amostra, muitas vezes podem extrair também compostos que interfiram na análise dos analitos posteriormente. Em análises de TPH, compostos polares como: gorduras animais e vegetais, proteínas e moléculas biológicas, podem ser erroneamente identificadas como hidrocarbonetos de petróleo. As técnicas de *clean up* podem ser usadas para remover esses interferentes e melhorar a quantificação dos analitos de interesse. Idealmente, o *clean up* removeria somente os interferentes do extrato, porém, na realidade, alguns compostos polares do petróleo também podem ser removidos^{14,26}.

O *clean up* dos extratos não é comumente realizado em análises de TPH, porém quando há necessidade, a escolha da fase que será utilizada se dá seguindo os seguintes objetivos^{14,26}:

- Remoção de compostos que não sejam hidrocarbonetos do petróleo;
- Isolamento de uma fração específica do petróleo;
- Concentração dos analitos de interesse.

Na Tabela 3, estão apresentados três métodos de *clean up* sugeridos pela EPA para análises de TPH, que envolvem colunas de vidro contendo fases inorgânicas que retêm os interferentes presentes no extrato da amostra⁴.

Tabela 3 – Métodos sugeridos pela EPA para *clean up* dos extratos para análise de TPH.

Fase	Identificação US SW-846	Finalidade
Alumina	3610 e 3611	Fracionamento do extrato em alifático e aromático
Sílica Gel	3630	Análises de HPAs e Fenóis
Florisil	3620	Análises de <i>n</i> -alcanos

⁴ Adaptado EPA.

Existem várias limitações que podem ocorrer ao longo da etapa de *clean up* dos extratos diminuindo a eficiência desta. Abaixo estão listadas algumas das possíveis razões dessas ocorrências^{14,16}:

- Quantidade de extrato pode exceder a capacidade da coluna de *clean up*;
- Presença de compostos com estruturas e comportamentos químicos semelhantes aos compostos do petróleo;
- Alguns analitos de interesse podem ser removidos juntamente com os interferentes;
- Um único método de *clean up* não é suficiente para remoção de todos interferentes.

2.6.4 MEDIÇÃO DOS ANALITOS

Uma vez que a preparação de uma amostra é finalizada (extração e *clean up*), uma grande variedade de técnicas de detecção e quantificação dos compostos do petróleo pode ser utilizada. De fato, TPH é definido pela técnica de medição utilizada, visto que, diferentes técnicas fornecem diferentes resultados, pois são elaborados para analisar diferentes frações do petróleo. As técnicas mais utilizadas e suas frações típicas de análise estão descritas na Tabela 4^{14,16}.

Tabela 4 – Comparação de métodos mais comumente utilizados para medição dos analitos em análises de TPH.

Técnica de Medição	Tipo de Detector	Identificação US SW-846	Matriz	Típica Faixa de Carbono
Cromatografia Gasosa (GC)	Detector por Ionização de Chama (FID)	8015B	Pode ser adaptado para todos os tipos	C8–C40
Infravermelho (IR)	Espectrômetro de IR	418.1	Água e Solo	Todos exceto voláteis
Gravimetria	Balança Gravimétrica	9071 e 1664	Águas Residuais, Lamas e Sedimentos	Todos possíveis de serem extraídos exceto voláteis
Imunoensaio	Kit Portátil	4030	Água e Solo	Hidrocarbonetos Aromáticos (ex. BTEX, HPA)

¹⁴ Adaptado TPH Criteria Group.

Em suma, diversas técnicas e métodos são descritos para analisar TPH em água, solo e sedimento, desde diferentes métodos de extração dos analitos, alguns métodos de *clean up* dos extratos da extração e, por fim, muitas técnicas de medição desses analitos. Recentemente, alguns trabalhos otimizaram o *clean up* em amostras de solo e sedimento utilizando sílica gel como fase inorgânica. Porém, nem todos esses trabalhos tinham como objetivo a análise de TPH^{3,5,27,28}. Devido ao número limitado de trabalhos descritos na literatura destinados à otimização dessa importante etapa em análises de TPH, esse trabalho visou a avaliação de diversas fases inorgânicas a fim de determinar a mais adequada para o *clean up* em amostras reais de água, solo e sedimento. Desse modo, a potencialidade de uma série de fases inorgânicas, comerciais e sintetizadas, foram avaliadas na eliminação de interferentes. Para tanto, foi utilizada a cromatografia gasosa com detector de ionização por chama como técnica de medição dos analitos, visando alta resolução dos cromatogramas obtidos dessas análises.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste estudo é avaliar diferentes fases inorgânicas para otimização da etapa de *clean up* em amostras reais, a fim de minimizar interferentes nas análises e, conseqüentemente, validação de um método analítico simples, de rotina, para quantificar hidrocarbonetos totais do petróleo (TPH) em água, solo e sedimento, pela técnica de cromatografia gasosa com detector de ionização por chama.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Comparar as diferentes fases inorgânicas para otimização da etapa de *clean up* estabelecendo uma metodologia confiável para instalações de controle de qualidade;
- Avaliar a viabilidade de enquadramento do ensaio em normas técnicas de qualidade laboratorial (ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005);
- Validar a metodologia proposta.

4 PROPOSTA TECNOLÓGICA

A proposta tecnológica desse trabalho é otimizar e validar uma metodologia de análise para *n*-alcanos em água, solo e sedimento em uma empresa de consultoria ambiental na região metropolitana de Porto Alegre, visando à conformidade com a ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005. Análises de TPH por GC-FID apresentam uma baixa resolução devido às fases de *clean up* sugeridas pela EPA que não retém uma grande quantidade de interferentes, principalmente, em amostras de solo. Tendo em vista que a empresa deseja melhorar a resolução dos cromatogramas e diminuir seus limites de detecção e quantificação em análises de TPH, esse trabalho visa auxiliar a empresa a melhorar suas análises de *n*-alcanos e ampliar seu escopo de análises.

Embora existam vários métodos de extração sugeridos pela EPA, nesse trabalho fez-se a escolha de extração líquido-líquido para as análises de TPH em água e, extração por ultrassom para matrizes de solo ou sedimento, uma vez que esses métodos são simples, rápidos, eficientes na extração de *n*-alcanos, ou seja, fáceis de serem utilizados em análises de rotina. Além disso, esses métodos já são utilizados e validados pela empresa como métodos de extração de *n*-alcanos.

Ainda que o uso de uma fase de *clean up* sugerida pela EPA seja suficiente para as análises de TPH realizadas na empresa, o teste com outras fases para o *clean up* é justificado visando à escolha de uma fase que melhore a resolução dos cromatogramas de análise utilizando pouca quantidade de material, minimizando os custos da análise e seu impacto ambiental, sem comprometer a confiabilidade dos resultados.

A decisão pelo uso de um método de análise envolvendo GC-FID é justificada pela facilidade e rapidez de operação do instrumento e, especialmente, sua alta seletividade e sensibilidade a hidrocarbonetos, imprescindíveis para a determinação de *n*-alcanos a uma concentração que atenda ao Projeto Cetesb 6530 - Lista holandesa de valores de qualidade do solo e da água subterrânea.

5 METODOLOGIA

5.1 MATERIAIS E SOLVENTES

Os solventes empregados nas extrações e análises cromatográficas foram metanol, acetona, diclorometano, éter de petróleo e *n*-hexano, grau pesticida ou equivalente da AppliChem Panreac. A água utilizada foi tratada pelo sistema Milli-Q da Millipore.

As fases inorgânicas utilizadas na etapa de *clean up* dos extratos foram sílica gel 60 da Merck, alumina 90 neutra da Macherey-Nagel, florisil (0,150–0,250 mm) da Merck, aerosil R 816 e aerosil R 106 da Evonik Industries, zeólita beta da Zeolyst International e, as fases inorgânicas sintetizadas pelo grupo de pesquisa do Prof. Dr. João Henrique Zimnoch dos Santos, RS–56, RS–60, NoA, DDS, C18 ácida e C18 básica.

Os gases utilizados nas análises cromatográficas foram os gases hidrogênio, nitrogênio e ar comprimido. O gás hidrogênio e o gás nitrogênio, ambos com pureza de 99,9999%, foram adquiridos da Linde. Já o ar comprimido utilizado passa por dois filtros diferentes, DDx 11 e PDx 11 da Atlas Copco.

O padrão de *n*-alcanos (C08–C40), com grau de pureza acima de 99,5%, foi adquirido da AccuStandard®, Inc.

5.2 PREPARO DAS SOLUÇÕES

Foi preparada uma solução estoque de *n*-alcanos (C08–C40) em diclorometano, na concentração de 20 mg.L⁻¹. A validade dessa solução é de aproximadamente 6 meses. Em seguida, a partir dessa solução estoque, foram preparadas as soluções usadas para a construção da curva de calibração e para a fortificação das matrizes. As concentrações e os solventes foram estabelecidos com base na Cetesb 6530 - Lista holandesa de valores de qualidade do solo e da água subterrânea e na experiência do próprio laboratório.

5.3 EXTRAÇÕES

Todas as vidrarias foram previamente ambientadas com uma sequência de solventes: metanol, acetona, diclorometano, éter de petróleo e *n*-hexano, grau pesticida ou equivalente.

5.3.1 EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DA MATRIZ ÁGUA

Em funil de separação foram extraídos 1000 mL de solução aquosa de *n*-alcanos com 60 mL de diclorometano grau pesticida, sob agitação vigorosa (alternando com a abertura da torneira, para despressurizar), durante 2 minutos. Após aguardar a separação das fases, a fase orgânica (fase inferior) foi recolhida passando por um funil analítico contendo aproximadamente 30 g de sulfato de sódio anidro calcinado (durante 4 horas em forno mufla a uma temperatura de 400 °C). A extração foi repetida mais duas vezes recolhendo as fases orgânicas em um mesmo frasco garantindo que no mínimo 80% do diclorometano utilizado fosse recolhido.

Nas matrizes de água não foi necessária a realização da etapa de *clean up*, portanto, o extrato orgânico oriundo da extração foi concentrado a um volume de 1 mL utilizando equipamento adequado com controle de temperatura (temperatura aproximadamente de 45 °C). O extrato final de 1 mL foi, por fim, filtrado em membrana \leq 0,45 μ m de PTFE em um vial para posterior análise por GC-FID.

5.3.2 EXTRAÇÃO POR ULTRASSOM DAS MATRIZES SOLO E SEDIMENTO

Em recipiente de vidro foi pesado aproximadamente 60 g de amostra e 30 g de sulfato de sódio anidro calcinado (durante 4 horas em forno mufla a uma temperatura de 400 °C) e, adicionados 100 mL de diclorometano grau pesticida. A mistura foi deixada em banho de ultrassom por 30 minutos. A extração foi repetida mais duas vezes recolhendo as fases orgânicas em um mesmo frasco passando por filtro de papel Whatman nº 41 (ou equivalente).

O extrato foi recolhido em um balão de redução de volume adicionando-se 10 gotas de DMSO (*holder*). Realizou-se a redução do volume até aproximadamente 2 mL em concentrador apropriado (temperatura aproximadamente de 45 °C). Após a redução do

volume, transferiu-se o volume resultante para a coluna de *clean up*, quantitativamente, lavando o frasco com 3 alíquotas de 1 mL de *n*-hexano.

5.4 CLEAN UP DOS EXTRATOS DE SOLO E SEDIMENTO

Em uma coluna de vidro foi adicionada uma pequena quantidade de lã de vidro e, em seguida, 20 mL de *n*-hexano. Logo após, adicionou-se 1 g da fase inorgânica lentamente para garantir uma coluna compacta. Transferiu-se o extrato oriundo da extração por ultrassom para a coluna, eluindo os analitos da coluna em duas etapas:

- ETAPA 1 (EXTRATO 1): eluido com 20 mL de *n*-hexano (fração de hidrocarbonetos alifáticos – *n*-alcanos);
- ETAPA 2 (EXTRATO 2): eluido com 20 mL de uma mistura *n*-hexano:diclorometano (3:1) e mais 30 mL de uma mistura *n*-hexano:diclorometano (1:1) (fração de hidrocarbonetos aromáticos – HPAs).

Juntou-se os extratos 1 e 2, e concentrou-se em multievaporador (temperatura aproximadamente de 45 °C) a um volume aproximado de 1 mL. O extrato final de 1 mL foi, por fim, filtrado em membrana $\leq 0,45 \mu\text{m}$ de PTFE em um vial para posterior análise por GC-FID.

5.5 INSTRUMENTAÇÃO

Para o desenvolvimento desse trabalho foi utilizado um cromatógrafo a gás, marca Shimadzu, modelo GC 2010, utilizando detector do tipo FID. Foi utilizada uma coluna capilar ZB-1 (fase estacionária contendo 99% de dimetil polisiloxano e 1% de grupamentos fenila), com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de espessura de fase estacionária. O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio, com um fluxo de 1,49 mL.min⁻¹. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 280 °C e 325 °C, respectivamente. O tipo de ionização empregado foi por ionização de chama (FID), operando sob ar comprimido e hidrogênio gasoso. O volume de injeção foi de 1 μL no modo *split*, sendo esse, 10:01. A temperatura inicial do forno foi de 50 °C, permanecendo nessa temperatura por 5 minutos. Em seguida, a temperatura foi elevada a 325 °C com taxa de aquecimento de 20 °C/min, onde

permaneceu por 12 minutos. Para o tratamento dos dados, foi utilizado o *software* GC Solution da Shimadzu.

5.6 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA

A metodologia de validação utilizada foi baseada no documento INMETRO DOQ-CGCRE-008, revisão 04 de Julho de 2011, na Resolução nº 899, de 29 de Maio de 2003 da ANVISA e, no Guia para a Expressão de Incerteza de Medição do INMETRO de 2008. Sendo que, os parâmetros e a estratégia utilizada estão descritos a seguir^{29,30,31}.

5.6.1 SELETIVIDADE

Devido à possibilidade da existência de componentes na matriz ou nas fases inorgânicas que pudessem interferir na análise, aumentando ou reduzindo os sinais, afetando o desempenho da medição, experimentos característicos foram realizados.

A verificação da seletividade sucedeu da seguinte forma: comparação entre o cromatograma obtido da análise do branco de cada fase inorgânica, preparados a partir da extração da matriz sem adição do padrão e, o cromatograma obtido pela análise da matriz fortificada com o padrão de referência de *n*-alcanos (C08–C40).

5.6.2 LINEARIDADE

A comprovação da linearidade do método foi feita pela construção de uma curva de calibração. Foram preparadas soluções em diclorometano, em seis níveis de concentração, variando entre 0,6 a 15 mg.L⁻¹ (Tabela 5). Cada ponto da curva foi feito e analisado em duplicata e, avaliada pelo método de regressão linear.

Tabela 5 – Níveis de calibração da curva analítica a partir da solução estoque de *n*-alcanos (20 mg.L⁻¹) com diluição de 1 mL em diclorometano.

Nível	Alíquota (µL)	Concentração (mg.L ⁻¹)
1	30	0,6
2	50	1
3	150	3
4	250	5
5	400	8
6	750	15

Para a validação do método final com a fase inorgânica definida, o número de réplicas independentes foi sempre maior ou igual a 7, dentro da faixa linear com um fator de determinação (r^2) maior que 0,989.

5.6.3 LIMITES DE DETECÇÃO (LD) E QUANTIFICAÇÃO (LQ)

Para determinação do LD, que representa a menor concentração detectável para a metodologia e, do LQ, representando a menor concentração que pode ser quantificada utilizando o método validado, foram analisadas 7 réplicas da amostra fortificada com a concentração do nível 2 da curva de calibração (1 mg.L⁻¹). Assim, o LD e o LQ podem ser expressos por meio das equações (1) e (2).

$$LD = t_{(n-1)} \cdot S \quad (1)$$

$$LQ = 10 \cdot S \quad (2)$$

Sendo

S = desvio padrão amostral das replicatas das amostras fortificadas;

$t_{(n-1)}$ = valor da distribuição de *Student* para n replicatas;

(n-1) = graus de liberdade.

5.6.4 PRECISÃO

A precisão representa a dispersão dos resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra ou amostras semelhantes sob as mesmas condições. A precisão foi avaliada de duas formas: repetitividade e precisão intermediária. Para avaliação da repetitividade foram preparadas sete amostras fortificadas com o padrão de referência na concentração do nível 4 da curva de calibração (5 mg.L^{-1}), sendo essas analisadas no mesmo dia, pelo mesmo analista e no mesmo equipamento.

A precisão intermediária foi avaliada, também, a partir da análise de sete amostras fortificadas com o padrão de referência na concentração do nível 4 da curva de calibração (5 mg.L^{-1}), porém essas preparadas e analisadas no dia seguinte à preparação e análise das replicatas referentes a avaliação da repetitividade.

Com base nesses resultados, foram calculados o desvio padrão entre as replicatas, o coeficiente de variação (CV%) e as recuperações.

5.6.5 EXATIDÃO

Representa o grau de proximidade entre os resultados obtidos em um determinado ensaio e o valor verdadeiro. Porém, o valor verdadeiro é uma medida obtida em uma análise perfeita, sendo esse valor impossível de ser obter. Assim, o valor verdadeiro é aquele estimado e convencionalmente aceito como verdadeiro.

Os procedimentos mais utilizados na verificação da exatidão de um método analítico são: materiais de referência, comparação de métodos, ensaios de recuperação e adição de padrão.

Para a verificação da exatidão foram analisadas seis amostras fortificadas, sendo duas de concentração baixa (1 mg.L^{-1}), duas de concentração média (5 mg.L^{-1}) e duas de concentração alta (8 mg.L^{-1}). A partir desses resultados, determinou-se a recuperação média do método.

5.6.6 INCERTEZA DE MEDIÇÃO (IM)

A incerteza de medição é um parâmetro associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão dos valores que podem ser razoavelmente atribuídos ao mensurado. Portanto, é necessário caracterizar a qualidade do resultado de medição, isto é, para avaliar e expressar sua incerteza.

Para o cálculo da incerteza de medição, foi realizada uma análise crítica das etapas do método analítico a fim de identificar todos os componentes de incerteza. Assim, foram consideradas as incertezas dos certificados de calibração dos materiais utilizados, a incerteza do certificado do padrão de *n*-alcanos e os desvios obtidos nas análises de precisão.

5.6.7 CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO

Os critérios de aceitação são definidos a partir de legislação vigente dentro do território nacional. Caso não haja uma legislação que tenha abrangência na quantificação do analito em estudo, podem ser usadas organizações internacionais como guia, podendo ser estipulados os critérios de aceitação dentro da empresa que usará o método em seu controle de qualidade.

Os critérios de aceitação utilizados para a validação do método utilizado estão apresentados na Tabela 6. Esses critérios foram utilizados para definir se o método validado pode ser usado para a finalidade a qual se destina.

Tabela 6 – Parâmetro de validação *versus* Critério de aceitação.

Parâmetro de Validação	Critérios de Aceitação
Seletividade	O branco não deve apresentar pico no tempo de retenção do <i>n</i> -alcano correspondente
Linearidade	Fator de determinação (r^2) maior que 0,989
Limite de Detecção e Limite de Quantificação	Menor ou igual a 600 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para água e 5000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ para solo conforme Cetesb 6530 – Lista holandesa de valores de qualidade do solo e da água
Exatidão	Recuperação de 80 a 120% da concentração alvo
Repetitividade	Recuperação de 80 a 120% da concentração alvo e Coeficiente de variação menor que 20%
Precisão Intermediária	Recuperação de 80 a 120% da concentração alvo e Coeficiente de variação menor que 20%

6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 AVALIAÇÃO DAS FASES INORGÂNICAS

As diferentes fases inorgânicas foram analisadas pela extração sem a presença dos analitos de interesse (branco) e pela extração de uma amostra real de solo contendo *n*-alcanos. Nas Figuras 2 e 3 estão demonstrados os cromatogramas dos brancos para cada fase inorgânica. As fases inorgânicas R-106, C18 básica e DDS não foram analisadas por GC-FID, pois a fase R-106 reteve todo o solvente e as fases C18 básica e DDS foram solúveis em *n*-hexano.

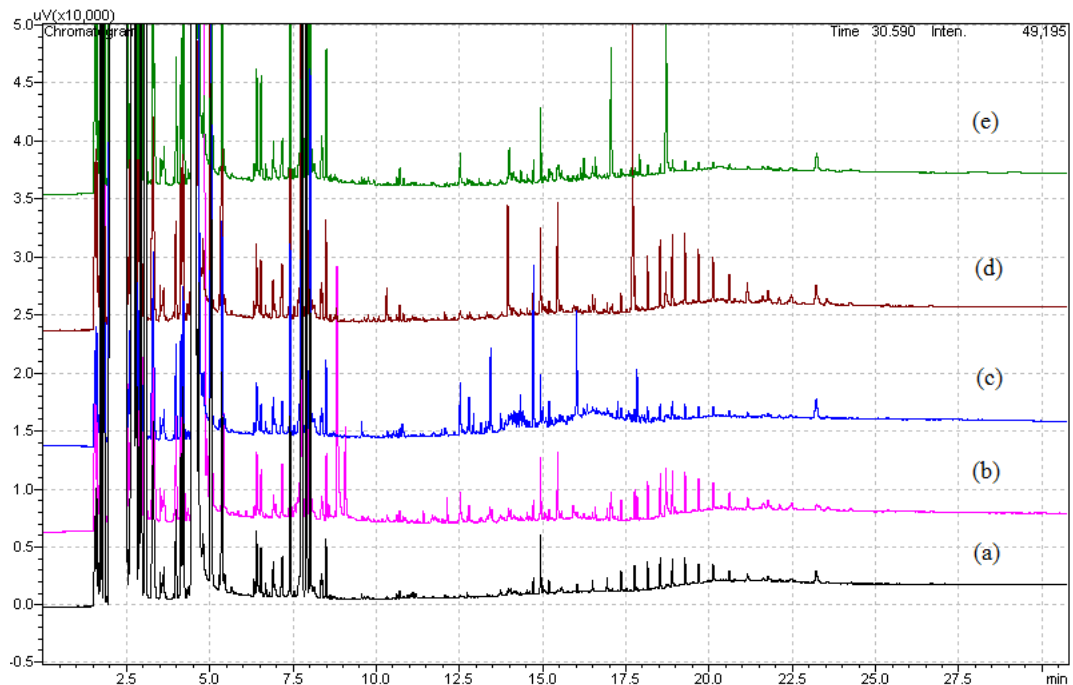


Figura 2 – Perfil cromatográfico do branco de cada fase inorgânica: (a) sílica gel, (b) zeólita beta, (c) R-816, (d) NoA e (e) RS-56.

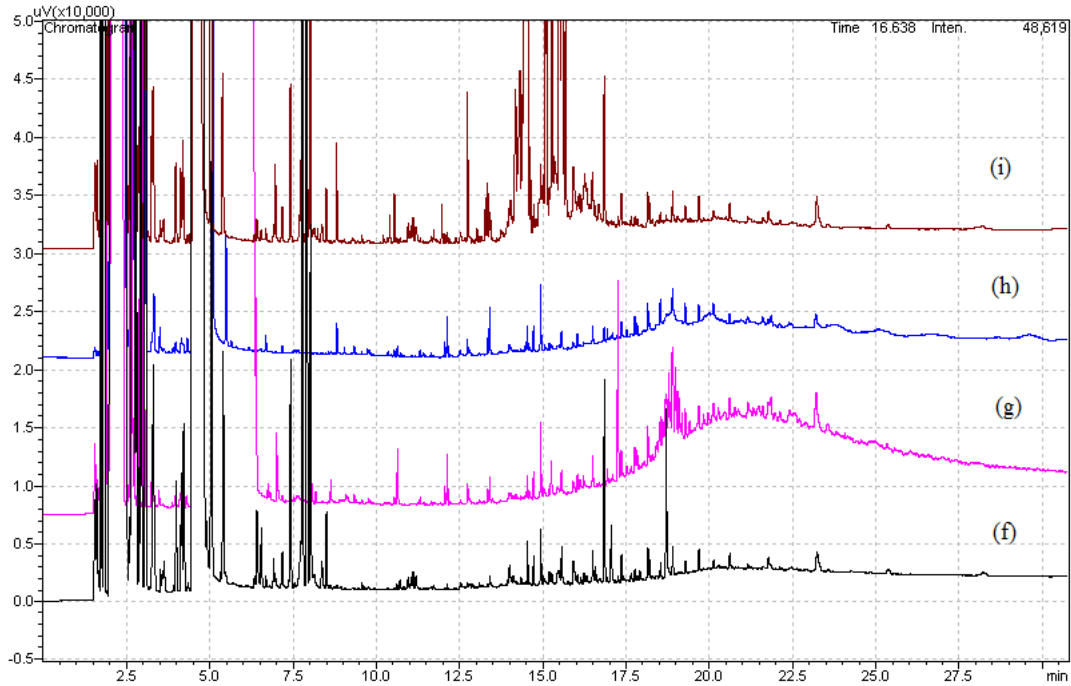


Figura 3 – Perfil cromatográfico do branco de cada fase inorgânica: (f) RS-60, (g) alumina, (h) florisil e (i) C18 ácida.

A partir desses resultados, podemos perceber que as fases sílica gel, zeólita beta e florisil foram as que apresentaram uma menor quantidade de picos na análise de seu branco e seriam possíveis escolhas para validação de metodologia. Porém, nas Figuras 4 e 5 pode-se observar que a passagem da amostra de solo pela fase florisil não apresentou diferença visível em seu cromatograma em comparação ao seu branco. Já a fase sílica gel, aparentemente, não foi sucedida em reter os interferentes presentes na amostra. Contudo, a fase zeólita beta ao que tudo indica foi sucedida em reter os interferentes e somente passar os analitos de interesse, dobrando de tamanho os picos apresentados no branco.

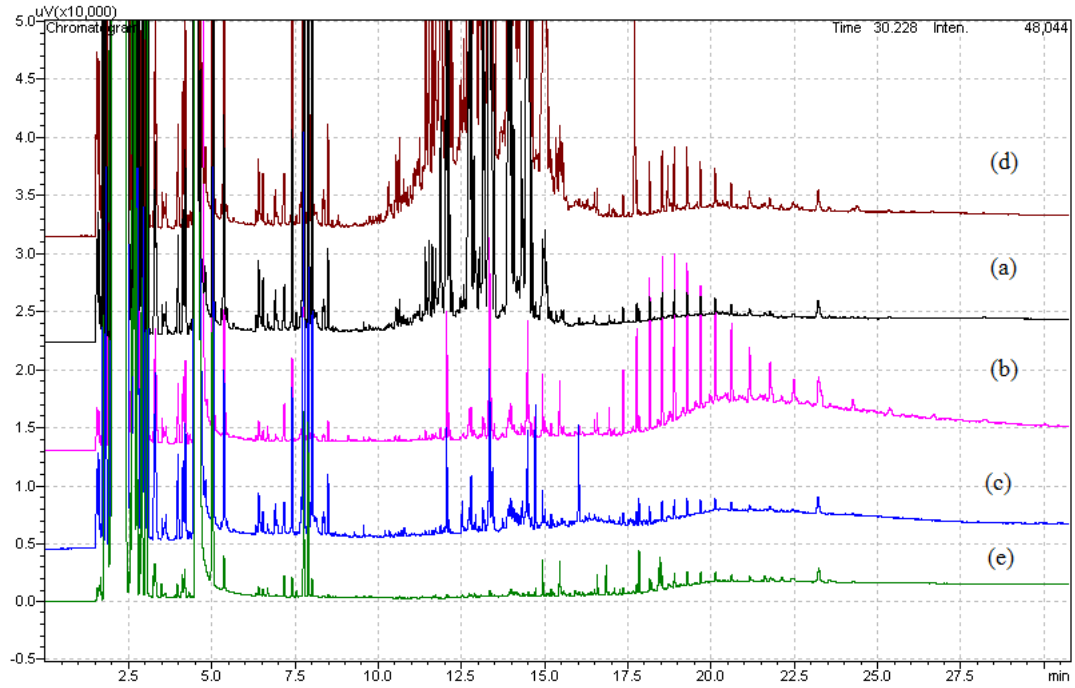


Figura 4 – Perfil cromatográfico do extrato da amostra real de solo de cada fase inorgânica:
(a) sílica gel, (b) zeólita beta, (c) R-816, (d) NoA e (e) RS-56.

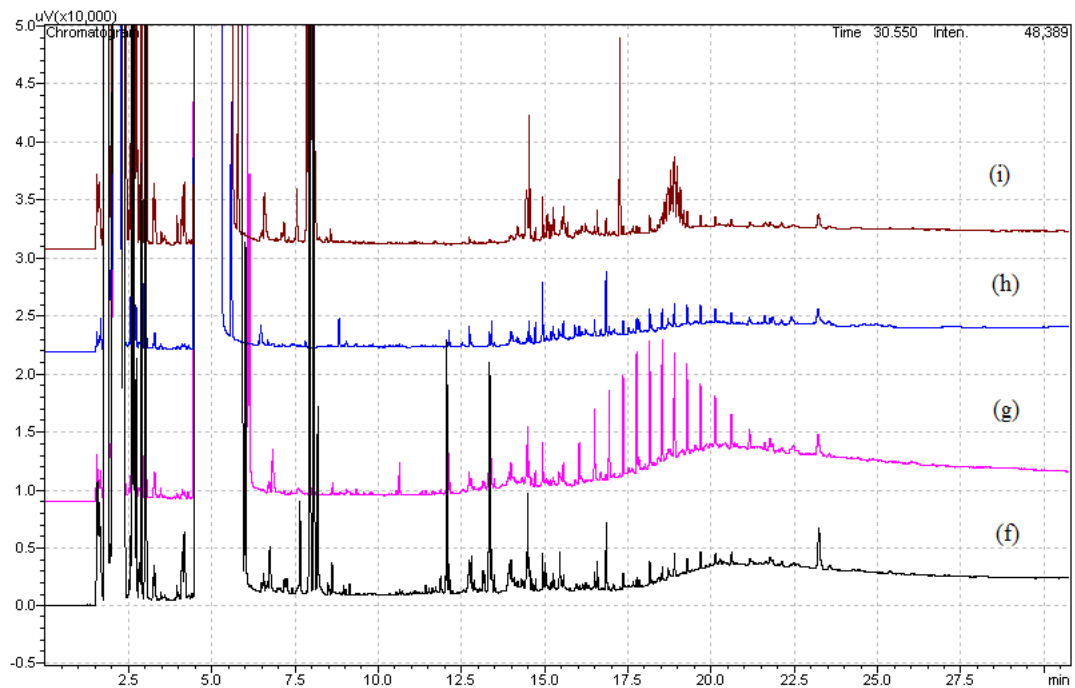


Figura 5 – Perfil cromatográfico do extrato da amostra real de solo de cada fase inorgânica:
(f) RS-60, (g) alumina, (h) florisil e (i) C18 ácida.

A quantificação das análises se deu pela integração dos picos do branco e do extrato da amostra real de cada fase inorgânica. Os resultados das integrações podem ser observados no Anexo 1.

A fim de determinar se alguma fase inorgânica apresentou concentrações de *n*-alcanos próximas às da amostra real, fez-se a análise cromatográfica do extrato da amostra real sem passar pela etapa de *clean up* (Figura 6). As concentrações encontradas para a amostra sem tratamento foram comparadas com as concentrações do extrato descontadas das concentrações do branco de cada fase inorgânica, demonstradas no Anexo 2.

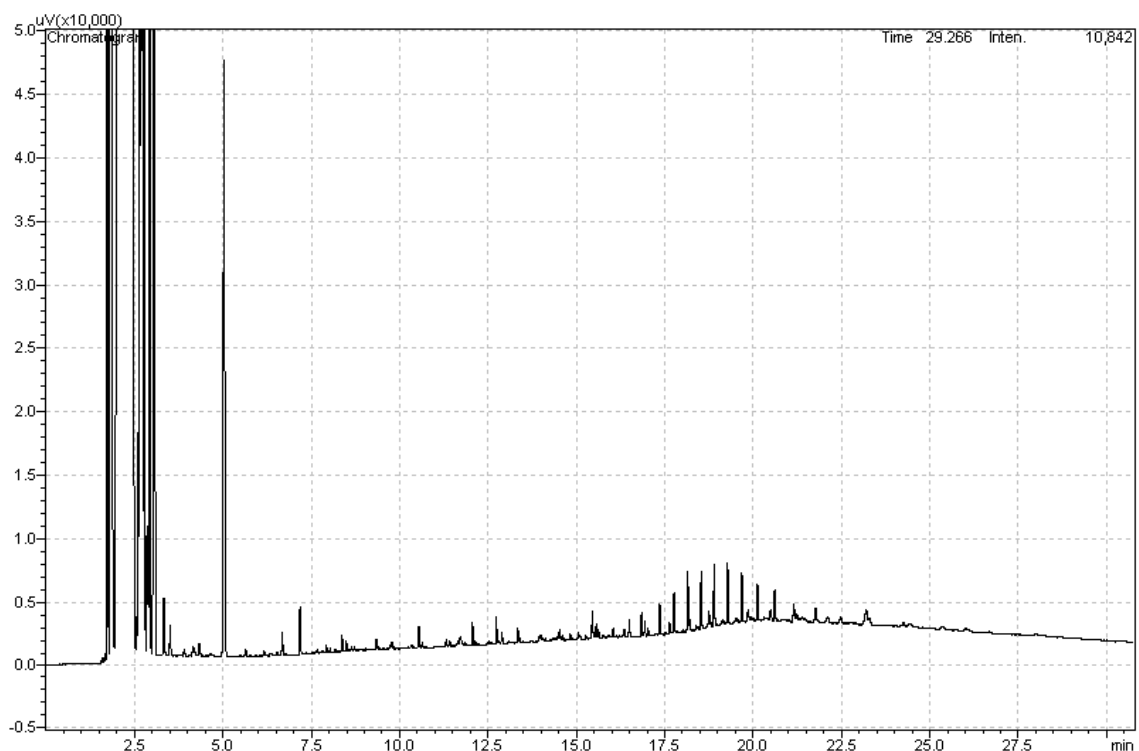


Figura 6 – Perfil cromatográfico da amostra real de solo sem *clean up*.

Ao se tratar de uma amostra real, pela análise do cromatograma percebe-se uma contaminação muito grande de C08 que possui tempo de retenção igual a 5,0 minutos. Porém, não apresenta outras contaminações tão significantes no restante do tempo de análise. Contudo, pelos resultados das integrações do cromatograma nota-se uma presença maior de *n*-alcanos na faixa de TPH-DRO e de orgânicos de óleo lubrificante. Esse fato pode ser explicado pela localização da coleta dessa amostra, tendo em vista que é uma amostra de solo marítimo coletado próximo a uma plataforma petroquímica.

O Anexo 2 evidencia que a fase inorgânica zeólita beta apresentou concentrações muito próximas a partir de C15 até C40 em comparação às concentrações encontradas para a amostra real sem tratamento. Enquanto que algumas fases foram boas nas faixas baixas de TPH e ineficientes nas faixas altas, como a R 816 e a RS-60, outras fases foram ineficientes nas faixas baixas e boas nas faixas altas, como NoA e alumina. Contudo, a possibilidade de combinar duas ou mais dessas fases não seria viável devido à alta quantidade de interferentes presentes nos brancos das mesmas.

Entretanto, tendo em vista que o critério de aceitação para a seletividade, parâmetro de validação, é o branco de cada fase inorgânica não apresentar pico no tempo de retenção do *n*-alcano correspondente, e, visando também o baixo custo da fase sílica gel, fez-se um teste com 7 g de sílica gel na etapa de *clean up*, demonstrado na Figura 7. Porém, um teste com 7 g de zeólita beta não foi realizado, dado que o custo da zeólita beta é muito elevado em comparação com a sílica gel e, o tempo de passagem do extrato por 1 g dessa fase foi significativamente superior ao tempo de passagem do extrato por 1 g de sílica gel, aumentando demasiadamente o tempo de extração dos analitos, conseqüentemente, também elevando o custo da análise.

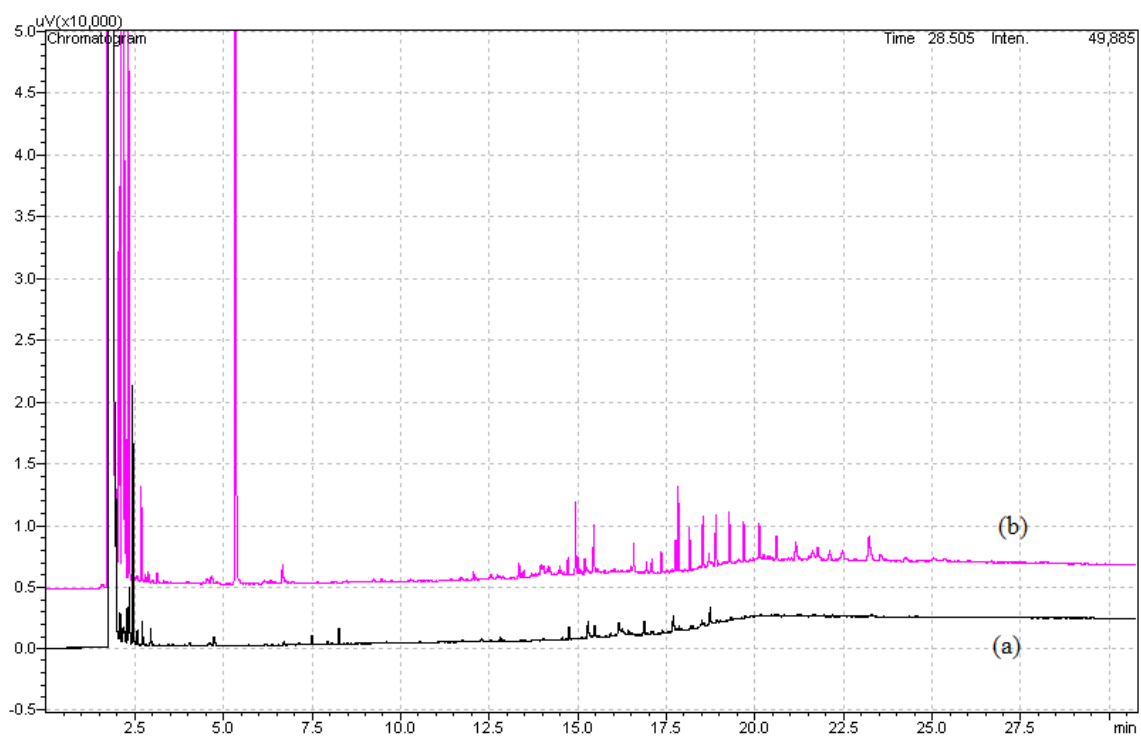


Figura 7 – Perfil cromatográfico do branco (a) e do extrato da amostra real (b) para 7 g de sílica gel.

A partir da visualização do cromatograma obtido da análise do branco, foi observado que utilizando 7 g da fase sílica gel na etapa de *clean up*, a presença de substâncias eluindo na região do tempo de retenção dos *n*-alcanos de interesse foi reduzida ao ponto de não ser quantificável. Além disso, a análise do extrato da amostra real de solo, antes com baixa resolução, foi satisfatória e com alta resolução. Para comprovação da seletividade e eficiência, compararam-se as concentrações encontradas para a amostra real sem *clean up* com as concentrações do extrato descontadas das concentrações do branco de 7 g de sílica gel evidenciado no Anexo 3.

A proximidade das concentrações obtidas do extrato da amostra real que passou pela etapa de *clean up* com 7 g de sílica gel com as concentrações da amostra real sem tratamento e, a ausência de substâncias eluindo na região do tempo de retenção dos *n*-alcanos de interesse demonstra que essa fase é a melhor indicada para aplicação nas análises de TPH em água, solo e sedimento. Tendo isso em vista, adotou-se a utilização de 7 g de sílica gel como fase inorgânica da etapa de *clean up* de amostras de água, solo e sedimento para análises de TPH.

6.2 VALIDAÇÃO

6.2.1 SELETIVIDADE

A partir da comparação com o cromatograma do nível quatro de 5 mg.L^{-1} da curva analítica obtida do padrão de referência de 20 mg.L^{-1} na Figura 8 com o perfil cromatográfico obtido da análise do branco de 7 g da fase sílica gel (Figura 7), constatou-se que a presença de substâncias eluindo na região do tempo de retenção dos *n*-alcanos de interesse não é quantificável. Logo, não é verificada a presença de interferentes na matriz que possam proporcionar um “falso-positivo”, Portanto, o método utilizando 7 g de sílica gel como fase inorgânica da etapa de *clean up* de amostras de água, solo e sedimento para análises de TPH pode ser considerado seletivo.

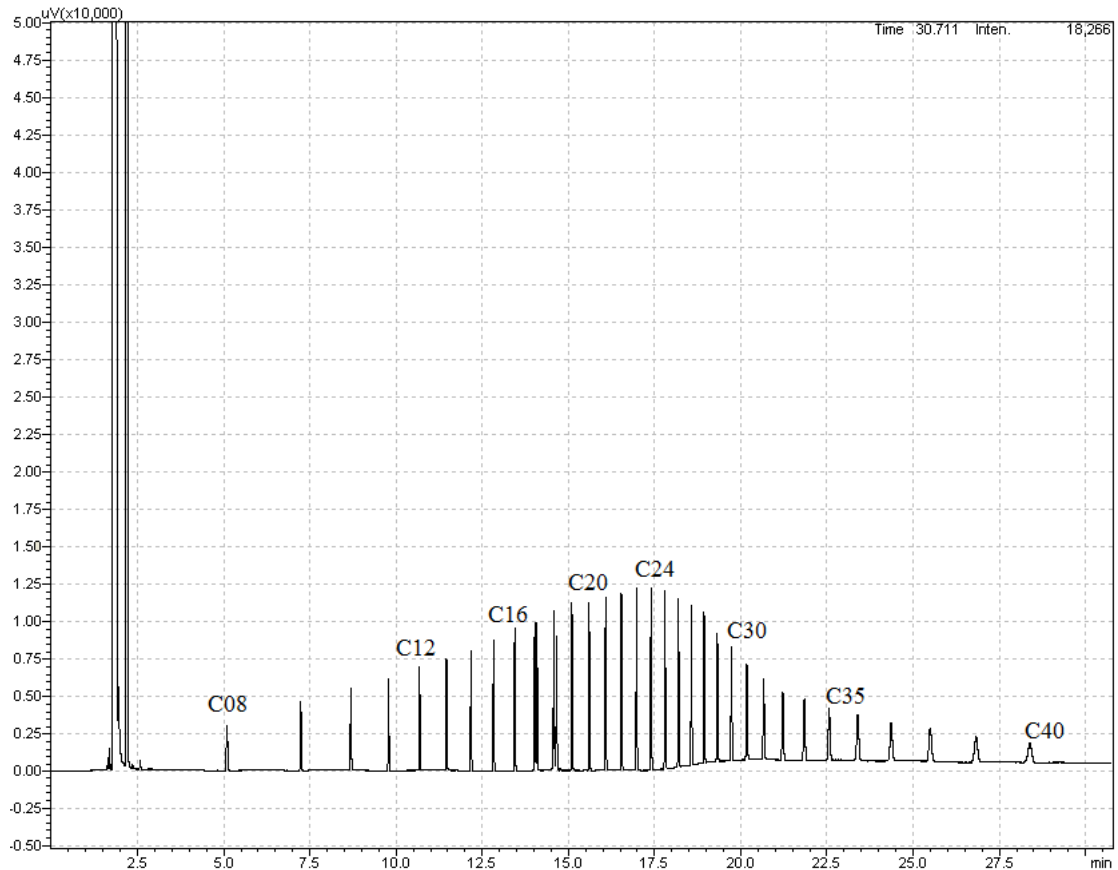


Figura 8 – Cromatograma do nível quatro de 5 mg.L^{-1} da curva analítica obtida do padrão de referência de 20 mg.L^{-1} .

6.2.2 LINEARIDADE

A partir do método dos mínimos quadrados, com o auxílio do *software* GC Solution da Shimadzu, foi possível estimar a equação da reta que define a relação entre a área do pico cromatográfico e a concentração de pristano, fitano e cada *n*-alcano e, seu coeficiente de correlação linear (r^2). Com a média da somatória das áreas de cada composto e auxílio do *software* Excel, construiu-se uma curva de calibração (Figura 9) para a análise de TPH em água, solo e sedimento do método validado.

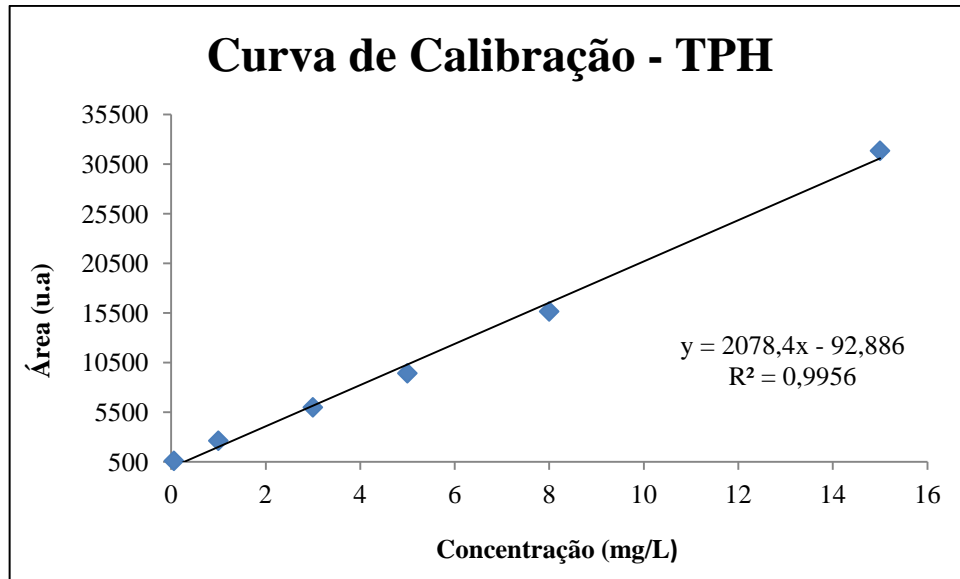


Figura 9 – Curva de calibração para análise de TPH em água, solo e sedimento.

O coeficiente de correlação obtido foi de 0,9956, acima de 0,989, ficando dentro do critério de aceitação proposto pelo INMETRO DOQ–CGCRE–008, revisão 04 de Julho de 2011.

6.2.3 LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

O LD foi determinado por meio da equação (1), utilizando um “t” de *Student* relativo ao nível de confiança de 99%.

$$LD = t_{(n-1)} \cdot S \quad (1)$$

O LQ foi calculado mediante a equação (2), como 10 vezes o desvio padrão.

$$LQ = 10 \cdot S \quad (2)$$

A Tabela 7 apresenta os resultados do LD e do LQ para a metodologia validada.

Tabela 7 – Coeficiente de variação e limites de detecção e quantificação dos extratos de *n*-alcanos.

	Água	Solo e Sedimento
CV	3,7%	1,1%
LD	0,3 $\mu\text{g.L}^{-1}$	30 $\mu\text{g.kg}^{-1}$
LQ	1 $\mu\text{g.L}^{-1}$	100 $\mu\text{g.kg}^{-1}$

Uma vez que a amostra foi concentrada em um fator de 1000 vezes para água e 30 vezes para solo e sedimento, o LD de 0,3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e 30 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ e, o LQ de 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e 100 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ são adequados para a determinação de TPH em amostras de água e solo e sedimento, respectivamente. Uma vez que, esses limites estão dentro do que é estabelecido pela Cetesb 6530 - Lista holandesa de valores de qualidade do solo e da água subterrânea onde o limite de TPH para intervenção é de 600 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para água subterrânea e de 5000 mg.kg^{-1} para solo.

6.2.4 REPETITIVIDADE

A repetitividade foi avaliada pelo coeficiente de variação (CV%), obtido através dos resultados da análise de sete amostras fortificadas com o padrão de referência na concentração do nível 4 da curva de calibração (5 mg.L^{-1}), sendo essas analisadas no mesmo dia, pelo mesmo analista e no mesmo equipamento. Os cromatogramas obtidos para solo e sedimento podem ser observados na Figura 10.

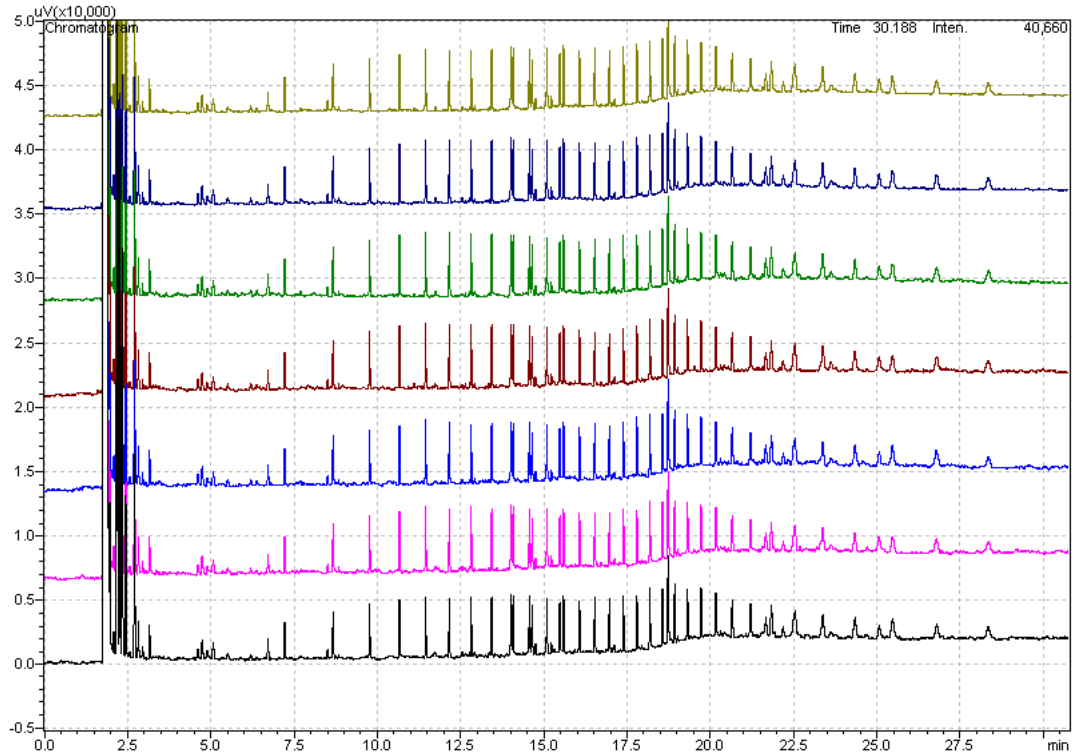


Figura 10 – Cromatogramas obtidos na avaliação da repetitividade do método de determinação de TPH em solo e sedimento.

Foi obtida uma concentração média de $5,05 \text{ mg.L}^{-1}$ com $0,66 \text{ CV}\%$. Além disso, as recuperações foram superiores a 80% , demonstrando que a repetitividade do método está de acordo com o critério de aceitação adotado.

6.2.5 PRECISÃO INTERMEDIÁRIA

Os cromatogramas obtidos para a análise das replicatas das amostras fortificadas na avaliação da precisão intermediária podem ser observados na Figura 11. Para avaliação desse parâmetro, foi utilizado o coeficiente de variação entre os dias e a recuperação.

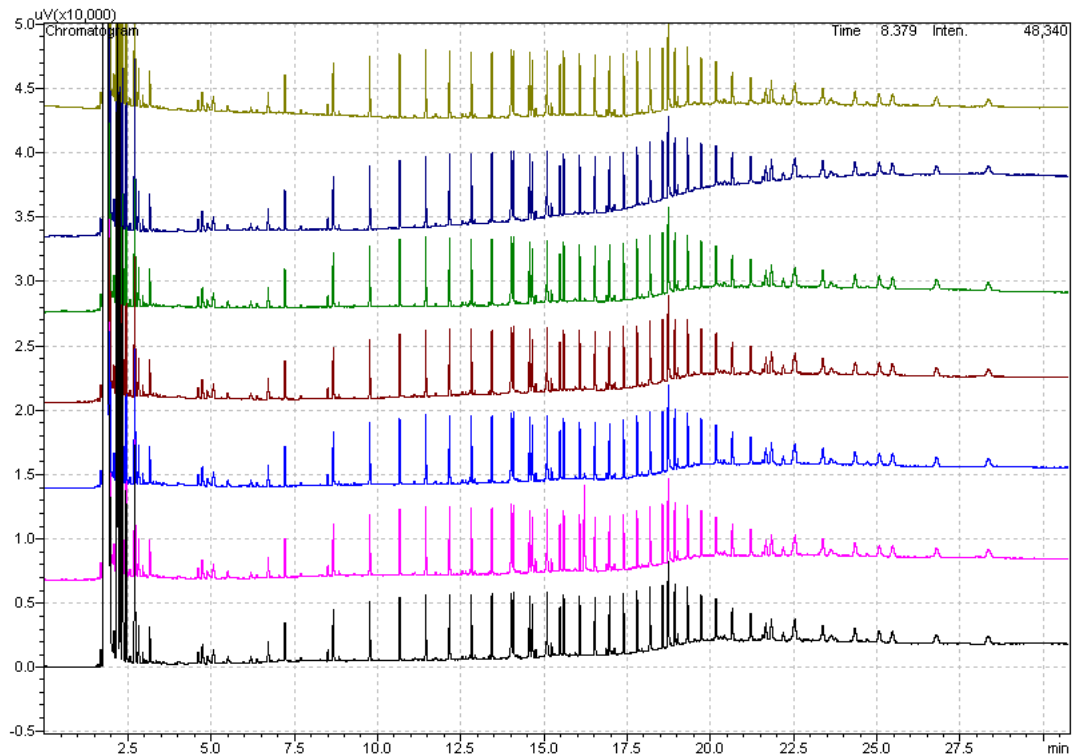


Figura 11 – Cromatogramas obtidos na avaliação da precisão intermediária do método de determinação de TPH em solo e sedimento.

O coeficiente de variação médio entre os dias foi de 0,68% e as recuperações obtidas foram superiores a 80%. Portanto, de acordo com os critérios de aceitação estabelecidos, o método possui uma precisão intermediária adequada.

6.2.6 EXATIDÃO

A exatidão foi avaliada a partir da recuperação obtida na análise em duplicata de amostras fortificadas em três níveis de concentração: 1 mg.L^{-1} , 5 mg.L^{-1} e 8 mg.L^{-1} . A recuperação foi calculada de acordo com a equação (3) e, mediante os resultados, foi possível verificar que o método possui uma exatidão adequada, uma vez que a média das recuperações obtidas para água foi de 104,75% e para solo e sedimento foi de 101,19%, ambos dentro do critério de aceitação de 80 a 120% de recuperação.

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{(C_2)}{(C_1)} \cdot 100 \quad (3)$$

Sendo

C_2 = concentração obtida através da análise da amostra fortificada;

C_1 = concentração esperada.

6.2.7 INCERTEZA DE MEDIÇÃO (IM)

Para o cálculo da incerteza de medição, foram consideradas as contribuições do Tipo A, desvio padrão proveniente da avaliação da repetitividade e precisão intermediária e, do Tipo B, proveniente das incertezas dos certificados de calibração dos balões volumétricos, micropipetas e provetas utilizadas, além da incerteza da concentração do padrão e o desvio padrão da curva de calibração. Assim sendo, a incerteza de medição foi obtida através da equação (4).

$$U_{(95\%,k=2,16)} = \frac{k \cdot \text{desvio padrão expandido}}{\sqrt{n}} \quad (4)$$

Sendo

k = fator *t* de *Student* para um limite de confiança de 95%, considerando um conjunto de dados igual a 14 (repetitividade e precisão intermediária);

desvio padrão expandido = conjunto de dados anteriormente descritos.

Assim, se obteve um valor médio de $\pm 0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ para amostras de água e $\pm 2 \mu\text{g.kg}^{-1}$ para amostras de solo e sedimento. Dessa maneira, foi possível verificar que a utilização de um padrão de pureza elevada, além da utilização de equipamentos volumétricos devidamente calibrados são os pontos críticos de controle durante a execução de metodologia analítica quando se deseja reduzir os valores de U .

7 CUSTO DA ANÁLISE

Os custos para análise de TPH em uma amostra de água ou solo estão apresentados na Tabela 8. Os custos com os gases nitrogênio e hidrogênio foram calculados pelo valor aproximado para 30 minutos de análise. O custo da coluna foi avaliado, partindo de uma vida-útil média de seis meses, também calculando o custo equivalente a 30 minutos de análise.

Tabela 8 – Custo de solventes e consumíveis para a análise de TPH em amostras de água, solo e sedimento.

Material	Quantidade Utilizada	Valor (R\$)
Metanol	20 mL	0,42
Acetona	20 mL	0,98
Diclorometano	350 mL	17,80
Hexano	80 mL	2,20
Éter de Petróleo	20 mL	1,11
Sulfato de Sódio Anidro	30 g	0,52
Nitrogênio	–	0,26
Hidrogênio	–	0,35
Ponteira 100 µL	1 un	0,03
Ponteira 1000 µL	1 un	0,05
Seringa Descartável 3 mL	1 un	0,13
Filtro de Papel Whatman nº 41	1 un	1,8
Filtro PTFE ≤ 0,45 µm	1 un	2,10
Vial, Tampa e Septo	1 un	0,45
Pipeta Pasteur	1 un	0,12
Energia Elétrica	–	14,70
Coluna Zebron ZB-1 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)	–	0,73
TOTAL		43,75

A média de amostras a serem analisadas por mês é de aproximadamente 250 amostras. O valor a ser cobrado por cada análise é de aproximadamente R\$ 300,00 para solo ou água. Logo, o lucro mensal da empresa utilizando essa metodologia de análise é de R\$ 64.062,50, desconsiderando os custos relacionados a serviços administrativos, impostos, à coleta das amostras e a remuneração do técnico responsável pela execução da análise.

8 CONCLUSÃO

A fase inorgânica que melhor se enquadra nas condições e exigências para a etapa de *clean up* para análises de TPH em água, solo e sedimento é a sílica gel. O método utilizado necessitou de 7 g de sílica gel para apresentar uma boa seletividade de *n*-alcanos, quantidade sete vezes superior àquela sugerida pela EPA 3630. A determinação de TPH pela análise de *n*-alcanos por GC-FID apresentou uma boa linearidade, além de mostrar boa precisão e exatidão. Além disso, o método atingiu um limite de detecção e quantificação adequados, obtendo-se valores dentro do limite estipulado pela Cetesb 6530 - Lista holandesa de valores de qualidade do solo e da água subterrânea. O método validado mostrou ser confiável para instalações de controle de qualidade, uma vez que os critérios de aceitação estipulados no início do estudo para os parâmetros de validação foram atendidos.

No que diz respeito à viabilidade econômica, o método mostrou-se adequado, visto que é estimado um lucro mensal de aproximadamente R\$ 64.062,50, desconsiderando os custos relacionados a serviços administrativos, impostos e à coleta das amostras. Além disso, o tempo de análise e sua complexidade foram compatíveis com os interesses da empresa, uma vez que ela já utiliza metodologias semelhantes na determinação de outros parâmetros.

O enquadramento do ensaio em normas técnicas de qualidade laboratorial (ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005) é plenamente viável, porém exige treinamento adequado e enquadramento nas normas de trabalho da empresa.

9 REFERÊNCIAS

- ¹ Teresa Rauchy, Slawomir Zak, Zenon Pawlak and Adekunle Oloyede. Determination of oil and grease, total petroleum hydrocarbons and volatile aromatic compounds in soil and sediment samples. **Journal of Environmental Engineering and Landscape Management**, v. 18, n. 3, p. 163–169, 2010.
- ² **Projeto CETESB**. Disponível em: <<http://areascontaminadas.cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/sites/45/2013/11/6530.pdf>> Acesso em: 26 de Julho de 2016.
- ³ Barry Muijs, Michiel T.O. Jonker. Evaluation of clean-up agents for total petroleum hydrocarbon analysis in biota and sediments. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 5182–5189, 2009.
- ⁴ United States Environmental Protection Agency (**EPA**). Disponível em: <<https://www3.epa.gov/>> Acesso em: 26 de Julho de 2016.
- ⁵ D. A. Zemo et al. Comparison of shake and column silica gel cleanup methods for groundwater extracts to be analyzed for TPHd/DRO. **Groundwater Monitoring & Remediation**, v. 33, n. 4, p. 108–112, 2013.
- ⁶ **MARPOL**. Disponível em: <https://www.ccaimo.mar.mil.br/sites/default/files/marpol_anexo1-11ago.pdf> Acesso em: 26 de Setembro de 2016.
- ⁷ **Lei nº 9.478, de 6 de Agosto de 1997**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L9478.htm> Acesso em: 26 de Setembro de 2016.
- ⁸ **Lei nº 9.966, de 28 de Abril de 2000**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L9966.htm> Acesso em: 26 de Setembro de 2016.
- ⁹ Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Public health statement for total petroleum hydrocarbons (TPH). Atlanta, GA: U.S. **Department of Health and Human Services**, Public Health Service, 1999.
- ¹⁰ A. R. Nascimento, R. L. Ziolli, J. T. Ararun, Jr., C. S. Pires, T. B. Silva. Avaliação do desempenho analítico do método de determinação de TPH (Total Petroleum Hydrocarbon) por detecção no infravermelho. **Eclética Química**, v. 33, n. 1, p. 35–42, 2008.

- ¹¹ Zakir A. Ansari, Classy Desilva, Shahin Badesab. Total petroleum hydrocarbon in the tissue of some commercially important fishes of Bay of Bengal. **Marine Pollution Bulletin** **64**, v. 64, p. 2564-2568, 2012.
- ¹² Denis A. M. da Silva, Márcia C. Bicego. Polycyclic aromatic hydrocarbons and petroleum biomarkers in São Sebastião Channel, Brazil: Assessment of petroleum contamination. **Marine Environmental Research**, v. 69, p. 277–286, 2010.
- ¹³ **CASLAB**. Disponível em: <<http://www.caslab.com/Petroleum-Hydrocarbon-Ranges/>> Acesso em: 27 de Setembro de 2016.
- ¹⁴ **TPH Criteria Working Group**. Analysis of petroleum hydrocarbons in environmental media: volume 1. Massachusetts. Amherst Scientific Publishers, 1998. 98 p.
- ¹⁵ C. G. Silva. Caracterização geoquímica orgânica das rochas geradoras de petróleo das formações Irati e Ponta Grossa da Bacia do Paraná. **Dissertação**. UFRGS. Porto Alegre. 2007.
- ¹⁶ B. P. Tissot and D. H. Welte. **Petroleum formation and occurrence**. s.l. Springer-Verlag, 1984.
- ¹⁷ C. Riccardi, P. Di Filippo, D. Pomata, M. Di Basilio, S. Spicaglia, F. Buiarelli. Identification of hydrocarbon sources in contaminated soils of three industrial areas. **The Science of Total Environment**, v. 450–451, p. 13–21, 2013.
- ¹⁸ J. K. Volkman, D. G. Holdsworth and G. Neil. Identification of natural, anthropogenic and petroleum hydrocarbons in aquatic sediments. **The Science of the Total Environment**. v. 112, 1992.
- ¹⁹ C. von Mühlen, C. A. Zini e E. B. Caramão. Caracterização de amostras petroquímicas e derivados utilizando cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GCxGC). **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 765–775, 2006.
- ²⁰ Mauricio Antônio Covre Coimbra. Avaliação dos resultados analíticos de hidrocarbonetos como instrumento jurídico em caso de derrames de petróleo: mangue de Bertiooga. **Dissertação**. USP. São Paulo. 2006.
- ²¹ J.W. Readman et al. Petroleum and PAH contamination of the Black Sea. **Marine Pollution Bulletin**, v. 44, p. 48–62, 2002.
- ²² G. T. Ventura et. al. Analysis of unresolved complex mixtures of hydrocarbons extracted from Late Archean sediments by comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCXGC). **Organic Geochemistry**, v. 39, p. 846–867, 2008.

- ²³ L. Mansuy, R. P. Philp e J. Allen. Source identification of oil spills based on the isotopic composition of individual components in weathered oil samples. **Environmental Science Technology**, v. 31, p. 3417–3425, 1997.
- ²⁴ B. L. Murphy e R. D. Morrison. **Introduction to Environmental Forensics**. s.l. Academic Press, 2002.
- ²⁵ D. Barceló. **Sample handling and trace analysis of pollutants: techniques, applications and quality assurance**. Barcelona: Elsevier Science, v. 21, n. 1, 1999.
- ²⁶ Stephen and Vanessa Killops. **Introduction to organic geochemistry**. s.l.: Blackwell Publishing, 2005.
- ²⁷ Xuewei Peng, Guofang Yan, Xianguo Li, Xinyun Guo, Xiao Zhou and Yan Wang. Optimization of ultrasonic extraction and clean-up protocol for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments by high-performance liquid chromatography coupled with fluorescence detection. **Journal of Ocean University of China**, v. 11, n. 3, p. 331–338, 2012.
- ²⁸ Fei Yang, Yiming Long, Rui Shen, Chunyan Chen, Di Pan, Qianli Zhang, Qingyun Cai and Shouzhao Yao. Ultrasonication extraction coupled with magnetic solid-phase clean-up for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils by high-performance liquid chromatography. **Journal of Separation Science**, v. 34, p. 716–723, 2011.
- ²⁹ DOQ-CGCRE-008. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. INMETRO, rev. 04, Julho 2011.
- ³⁰ **Resolução nº 899, de 29 de Maio de 2003**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RE_899_2003.pdf/10773d22-ab7f-473c-ab4e-6827dd5f4d42> Acesso em: 25 de Outubro de 2016.
- ³¹ GUM. **Guia para a expressão de incerteza de medição**. INMETRO, 2008.

10 ANEXOS

Anexo 1 – Concentrações do branco e do extrato da amostra real de solo para cada fase inorgânica.

	Br R-816	R-816	Br BETA	BETA	Br Florisil	Florisil	Br Silica	Silica
	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
C08	44,71	41,59	67,04	49,66	0,00	0,00	54,44	61,09
C09	3,39	3,02	5,12	3,34	0,44	0,00	3,82	4,20
C10	0,03	0,18	0,28	0,10	0,00	0,00	0,09	0,12
C11	0,16	0,20	0,23	0,00	0,25	0,00	0,33	0,42
C12	0,27	0,21	0,71	0,29	0,58	0,02	0,26	1,80
C13	0,41	0,17	0,56	0,47	0,01	0,00	0,15	5,49
C14	0,01	0,48	1,42	1,32	2,48	0,79	0,35	20,41
C15	2,00	3,09	0,83	2,58	0,77	1,76	0,00	34,31
C16	5,71	4,03	0,82	2,95	2,92	1,44	0,01	93,35
C17	1,48	1,15	0,70	1,23	1,12	1,15	0,70	36,77
Pristano	0,38	0,73	0,03	0,23	0,52	0,29	0,11	11,40
C18	0,39	0,42	0,00	2,71	1,84	0,89	0,16	157,40
Fitano	0,31	0,51	0,00	0,55	0,76	0,24	0,49	12,18
C19	0,32	0,00	0,00	0,39	0,51	0,37	0,08	5,35
C20	0,00	0,94	0,00	0,09	1,50	0,61	0,37	1,35
C21	9,06	8,06	0,00	0,19	0,66	0,33	0,27	1,09
C22	0,28	0,51	0,13	0,66	1,39	1,08	0,80	0,81
C23	0,45	0,12	0,84	1,94	0,50	0,10	0,77	0,24
C24	1,05	0,85	1,37	4,90	1,13	0,76	1,43	1,18
C25	0,43	0,58	2,18	7,79	1,05	0,50	1,73	1,05
C26	1,00	1,22	2,67	12,10	1,39	1,05	1,90	1,68
C27	0,98	1,58	3,59	14,32	1,89	1,36	2,52	2,15
C28	1,56	1,52	3,47	14,28	2,50	1,69	2,30	2,08
C29	1,22	1,58	3,56	14,10	1,89	1,78	2,46	2,19
C30	0,81	0,97	2,83	11,91	1,68	1,51	1,81	1,68
C31	0,77	1,11	2,56	11,04	1,49	1,22	1,69	1,81
C32	0,66	0,97	1,99	9,11	1,11	1,29	1,08	1,20
C33	0,49	1,02	2,06	7,45	0,59	0,68	1,10	1,16
C34	0,37	0,87	0,90	7,33	0,59	0,60	0,75	0,82
C35	0,63	0,49	1,97	4,17	1,24	2,39	0,71	0,94
C36	4,35	3,75	1,51	8,06	3,40	4,39	2,68	4,33
C37	0,95	0,45	0,69	2,28	0,85	0,28	0,74	1,19
C38	0,61	0,38	0,33	2,17	0,33	0,31	0,80	0,37
C39	0,00	0,00	0,00	1,29	0,86	0,42	0,00	0,51
C40	0,00	0,00	0,13	1,10	0,15	0,28	0,00	1,36

Anexo 1 – Concentrações do branco e do extrato da amostra real de solo para cada fase inorgânica (continuação).

Br Alumina	Alumina	Br RS-60	RS-60	Br C18 ÁCIDA	C18 ÁCIDA	Br RS-56	RS-56	Br NoA	NoA
mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
0,00	0,00	0,00	0,00	45,47	0,00	53,03	29,11	72,76	69,54
0,28	0,19	3,70	1,46	3,22	1,81	5,33	1,63	5,62	5,96
1,46	0,61	0,11	2,44	0,30	0,00	0,34	0,03	0,29	0,48
0,00	0,00	0,02	0,72	0,48	0,00	0,49	0,01	0,38	1,44
3,71	2,14	0,29	0,89	0,20	0,00	0,58	0,01	0,35	6,00
0,00	0,01	0,02	0,41	0,08	0,00	0,06	0,00	0,45	21,60
3,25	2,46	0,00	1,48	0,48	0,00	0,17	0,00	0,30	92,21
1,69	0,24	0,05	2,78	11,26	0,00	0,53	0,09	0,62	468,53
1,45	1,39	0,99	3,42	1,87	0,01	0,49	0,00	0,10	2027,22
0,83	1,91	1,58	3,02	4,02	0,57	3,50	0,56	9,82	594,47
0,12	1,03	0,60	2,32	0,00	0,72	0,57	0,11	0,73	78,99
1,02	0,58	2,88	2,59	227,29	10,58	0,49	0,00	0,15	1303,74
0,20	0,19	0,12	1,27	8,35	0,89	0,25	0,07	0,29	65,73
0,38	0,18	0,32	0,49	43,31	2,00	0,12	0,00	0,00	25,02
1,38	1,03	2,87	1,11	68,84	4,28	0,38	0,00	0,40	3,42
0,81	2,58	0,06	0,14	0,82	0,18	0,34	0,27	0,18	1,16
2,48	5,86	2,35	1,02	4,46	0,61	1,00	0,06	1,01	1,90
0,55	6,82	0,02	0,30	0,83	0,14	0,07	0,00	0,39	1,27
1,48	7,94	1,57	0,87	2,64	0,31	0,54	0,24	1,23	1,77
1,32	8,87	0,46	0,24	0,26	0,17	0,42	0,28	2,55	2,75
2,20	10,22	2,59	1,54	1,72	0,88	0,79	0,40	4,23	4,73
3,27	10,45	1,05	1,01	0,50	0,86	0,74	0,97	5,72	7,35
10,59	9,14	2,26	1,77	2,50	7,98	0,69	1,11	5,92	6,66
2,91	8,95	0,98	1,13	1,67	1,95	0,69	1,07	6,61	7,70
1,54	5,92	1,80	1,51	2,37	0,70	0,50	0,77	5,24	5,27
3,27	5,77	0,73	1,22	1,26	0,97	0,26	0,93	4,66	5,54
2,43	4,09	1,79	1,47	2,12	0,72	0,46	0,73	3,27	4,28
2,17	2,69	0,58	1,19	2,12	0,57	0,54	0,63	3,20	4,66
1,83	1,45	1,67	1,83	3,04	0,66	0,69	0,58	1,32	2,78
1,04	2,02	1,01	1,90	0,39	0,88	0,82	1,58	2,00	2,32
9,82	0,00	5,34	8,76	6,63	3,23	3,79	2,96	4,56	6,55
2,20	0,31	0,83	1,38	0,92	0,69	0,75	0,72	0,95	2,51
3,68	0,31	1,28	0,62	0,92	0,71	0,00	0,33	0,52	3,20
2,33	0,02	0,00	0,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,66	3,02
1,67	0,00	1,21	0,92	1,69	0,00	0,00	0,00	0,00	1,28

Anexo 2 – Concentração da amostra real de solo sem *clean up* comparada com as concentrações do extrato da amostra real de solo descontadas do branco de cada fase inorgânica.

	Amostra	R-816	BETA	Florisil	Silica	Alumina	RS-60	C18 ÁCIDA	RS-56	NoA
	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
C08	528,30	0,00	0,00	0,00	6,64	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C09	1,97	0,00	0,00	0,00	0,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,34
C10	0,00	0,15	0,00	0,00	0,03	0,00	2,32	0,00	0,00	0,19
C11	0,00	0,04	0,00	0,00	0,09	0,00	0,71	0,00	0,00	1,06
C12	0,00	0,00	0,00	0,00	1,55	0,00	0,60	0,00	0,00	5,65
C13	0,00	0,00	0,00	0,00	5,34	0,01	0,39	0,00	0,00	21,15
C14	0,00	0,47	0,00	0,00	20,06	0,00	1,47	0,00	0,00	91,91
C15	1,35	1,10	1,75	0,99	34,31	0,00	2,73	0,00	0,00	467,90
C16	1,99	0,00	2,13	0,00	93,34	0,00	2,43	0,00	0,00	2027,12
C17	0,55	0,00	0,53	0,04	36,08	1,08	1,44	0,00	0,00	584,65
Pris.	0,24	0,34	0,20	0,00	11,29	0,91	1,73	0,72	0,00	78,26
C18	1,66	0,04	2,71	0,00	157,24	0,00	0,00	0,00	0,00	1303,59
Fit.	0,55	0,20	0,55	0,00	11,70	0,00	1,16	0,00	0,00	65,44
C19	0,28	0,00	0,39	0,00	5,26	0,00	0,17	0,00	0,00	25,02
C20	0,07	0,94	0,09	0,00	0,98	0,00	0,00	0,00	0,00	3,01
C21	0,20	0,00	0,19	0,00	0,82	1,77	0,08	0,00	0,00	0,98
C22	0,54	0,23	0,53	0,00	0,02	3,39	0,00	0,00	0,00	0,89
C23	1,13	0,00	1,10	0,00	0,00	6,27	0,29	0,00	0,00	0,88
C24	2,73	0,00	3,53	0,00	0,00	6,46	0,00	0,00	0,00	0,54
C25	5,16	0,15	5,61	0,00	0,00	7,55	0,00	0,00	0,00	0,20
C26	8,53	0,22	9,42	0,00	0,00	8,02	0,00	0,00	0,00	0,50
C27	10,02	0,60	10,73	0,00	0,00	7,18	0,00	0,36	0,24	1,62
C28	10,92	0,00	10,81	0,00	0,00	0,00	0,00	5,48	0,42	0,74
C29	10,41	0,35	10,53	0,00	0,00	6,04	0,16	0,28	0,38	1,09
C30	9,17	0,16	9,09	0,00	0,00	4,38	0,00	0,00	0,28	0,03
C31	8,25	0,34	8,48	0,00	0,12	2,50	0,49	0,00	0,68	0,88
C32	6,63	0,31	7,12	0,18	0,13	1,66	0,00	0,00	0,27	1,01
C33	5,28	0,53	5,39	0,10	0,06	0,53	0,62	0,00	0,09	1,45
C34	6,28	0,49	6,43	0,01	0,06	0,00	0,16	0,00	0,00	1,46
C35	2,22	0,00	2,19	1,15	0,23	0,98	0,89	0,49	0,75	0,32
C36	6,49	0,00	6,55	0,98	1,65	0,00	3,42	0,00	0,00	1,99
C37	1,38	0,00	1,59	0,00	0,44	0,00	0,55	0,00	0,00	1,56
C38	1,49	0,00	1,84	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	2,67
C39	1,32	0,00	1,29	0,00	0,51	0,00	0,57	0,00	0,00	2,37
C40	0,96	0,00	0,97	0,13	1,36	0,00	0,00	0,00	0,00	1,28

* Pristano (Pris.) e Fitano (Fit.)

Anexo 3 – Concentração da amostra real de solo sem *clean up* comparada com as concentrações do extrato da amostra real de solo descontadas do branco de 7 g de sílica gel.

	Amostra	Br Sílica 7 g	Amostra (<i>clean up</i> 7 g de sílica)
	mg/L	mg/L	mg/L
C08	528,30	0,00	768,23
C09	1,97	0,00	1,84
C10	0,00	0,00	0,00
C11	0,00	0,00	0,00
C12	0,00	0,00	0,00
C13	0,00	0,00	0,00
C14	0,00	0,00	0,00
C15	1,35	0,00	1,36
C16	1,99	0,00	2,07
C17	0,55	0,00	0,54
Pristano	0,24	0,00	0,19
C18	1,66	0,00	2,17
Fitano	0,55	0,00	0,47
C19	0,28	0,00	0,28
C20	0,07	0,00	0,08
C21	0,20	0,00	0,18
C22	0,54	0,00	0,52
C23	1,13	0,00	1,06
C24	2,73	0,00	2,95
C25	5,16	0,00	5,40
C26	8,53	0,00	9,17
C27	10,02	0,00	10,70
C28	10,92	0,00	10,57
C29	10,41	0,00	10,46
C30	9,17	0,00	9,20
C31	8,25	0,00	8,34
C32	6,63	0,00	6,75
C33	5,28	0,00	5,63
C34	6,28	0,00	6,36
C35	2,22	0,00	2,34
C36	6,49	0,00	6,67
C37	1,38	0,00	1,70
C38	1,49	0,00	1,55
C39	1,32	0,00	1,39
C40	0,96	0,00	1,01