
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Programa de Pós-Graduação em Química

**ESTUDO DA VIABILIDADE DE USO DA TÉCNICA DE
CROMATOGRAFIA GASOSA BIDIMENSIONAL ABRANGENTE
(GC×GC) NO ESTUDO DE HIDROCARBONETOS POLIAROMÁTICOS
(HPA) EM SEDIMENTOS**

Msc. Luiza Placidina da Luz

Tese de Doutorado

Porto Alegre, dezembro de 2010.

Luiza Placidina da Luz

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Programa de Pós-Graduação em Química**

MsC. Luiza Placidina da Luz

**ESTUDO DA VIABILIDADE DE USO DA TÉCNICA DE
CROMATOGRAFIA GASOSA BIDIMENSIONAL ABRANGENTE
(GC×GC) NO ESTUDO DE HIDROCARBONETOS POLIAROMÁTICOS
(HPA) EM SEDIMENTOS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul em preenchimento parcial dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Química.

**Prof. Dr. Elina Bastos Caramão
Orientadora**

Porto Alegre

2010

A presente Tese foi desenvolvida pela autora, orientada pela Prof^a Dra. Elina Bastos Caramão, no período entre agosto de 2005 e novembro de 2010, o trabalho foi desenvolvido no laboratório E202 do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e nos laboratórios CA 101 e CA 102, da Central Analítica do Instituto de Química da UFRGS. A Tese foi julgada adequada para a obtenção do título de Doutor em Química pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Fernando Mauro Lanças
Instituto de Química – USP/São Carlos

Profa. Dra. Maria Izabel Machado
Universidade Federal de Rio Grande/FURG

Prof. Dra. Maria Goreti Rodrigues Vale
Instituto de Química - UFRGS

Prof. Dra. Rosângela Assis Jacques
Instituto de Química - UFRGS

Profa. Dra. Elina Bastos Caramão
Instituto de Química - UFRGS
(orientadora)

Luiza Placidina da Luz
Doutoranda – PPGQ/IQ/UFRGS

Prof. Dr. Osvaldo de Lázaro Casagrande Jr. (coordenador do PPGQ)
Instituto de Química - UFRGS

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço à Deus por me dar disposição, força de vontade e saúde para realizar este trabalho.

A Prof. Dra Elina Bastos Caramão, pela orientação, por ter me recebido no grupo, pelo incentivo na ampliação dos meus horizontes, e por ter apoiado todas as minhas iniciativas durante a realização dessa tese.

Ao colega e amigo Pedro José Sanches Filho, pela parceria nos trabalhos, pelas diversas discussões técnicas, pela garra que sempre demonstrou na bruxca pelos seus ideais, e por incentivar-me em muitos momentos,

A todos os amigos e colegas do LAOO, aos que já concluíram suas atividades e aos atuais alunos. Agradeço o companheirismo, os bons momentos de descontração na hora do café e a colaboração durante a realização do doutorado.

A minha família pela compreensão e apoio incondicional a este trabalho. É a ela que dedico este trabalho.

Aos meus pais, pela vida, pelo seu carinho e amor e pelas suas preces, que sempre me ajudam a vencer os desafios.

Aos colegas do Curso de Química do IFSul, em especial a Eloisa, que me incentivaram e deram força para que eu prosseguisse, cujo carinho e amizade foram muito importantes.

A Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) pela oportunidade oferecida e ao Instituto Federal do Rio-grandense (IFSUL- Pelotas) que propiciou o meu afastamento das atividades de sala de aula.

Para a conclusão deste trabalho, a valiosa ajuda de várias pessoas, de diversas formas, foi fundamental e eu não poderia deixar de registrar os meus sinceros agradecimentos.

“A natureza achará uma solução para a poluição causada pela civilização. A questão que permanece é se os seres humanos estão incluídos ou não”

Mikhail Gorbachev

“Ao Grande Arquiteto do Universo, que sempre tem algo muito especial, reservado para mim..”

TRABALHOS GERADOS A PARTIR DESTA DISSERTAÇÃO

a) Artigos publicados:

Luz, Luiza Placidina; Sanches Filho, P. J.; de Sousa, Eloisa Elena Hasse; Kerstner, Talita; Caramão, Elina Bastos. Evaluation of surface sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in colony Z3 (Patos Lagoon, Brazil). *Microchemical Journal* (Print) ^{JCR}, **2010**, 96, 161-166

Sanches Filho, P. J.; Souza, E. E. H.; Luz, L. P.; Betemps, G. R.; Kerstner, T.; Caramão, E. B. . Avaliação ambiental e estudo qualitativo de hidrocarbonetos poliaromáticos da região da Colônia Z-3 - Laguna dos Patos, Pelotas RS. *Thema* ^{JCR}, **2010**, 7, 1-11,.

b) Trabalhos completos publicados em anais de congressos:

Kerstner, T; Sanches Filho, P. J.; Luz, L. P.; Hasse, E.. Avaliação Qualitativa de Hidrocarbonetos Poliaromáticos no Saco do Laranjal- Laguna dos Patos- Pelotas -RS. In: II Jornada da Produção Científica da Educação Profissional e Tecnológica da Região Sul, **2008**, Pelotas. II Jornada da Produção Científica da Educação Profissional e Tecnológica da Região Sul. Pelotas : CEFETRS.

c) Resumos expandidos publicados em anais de congressos:

Luz, L. P. ; Sanches Filho, P. J. ; Vieira, N. I. M. ; Moraes, M. S. A. ; Zini, C. A. ; Caramão, E. B. . Otimização de metodologia por GC X GC FID para análise de HPA. In: XV Encontro Nacional de Química Analítica, **2009**, Salvador. XV encontro nacional de química Analítica- o desafio da sustentabilidade. Salvador : SBQ-Divisão de química analítica..

d) Resumos publicados em anais de congressos:

Caramão, E. B.; Luz, L. P. ; Sanches Filho, P. J. ; Qualitative CG×CG studies of HPA in the Sediment of Patos Lagoon (Pelotas, RS, Brazil). In: The 34 International Symposium on Capillary Chromatography and the 7th GCxGC Symposium, **2010**, Riva del Garda. The 34 International Symposium on Capillary Chromatography and the 7th GCxGC Symposium,

Sanches Filho, P. J. ; Luz, L. P. ; Caramão, E. B. . Estudo da Variação Sazonal do Teor do Hidrocarbonetos Saturados no Sedimento da Colônia Z3-Laguna dos Patos-Laranjal-Pelotas RS. In: XLIX Congresso Brasileiro de Química - CBQ, **2009**, Porto Alegre. 49 Congresso Brasileiro de Química- A química e a Sustentabilidade. Rio de Janeiro : Associação Brasileira de Química.

Sanches Filho, P. J. ; Caramão, E. B. ; Luz, L. P. ; Avila, L. O. ; Souza, E. E. H. ; Kerstner, T . Estudo Quantitativo de HPA no Sedimento da Colônia Z3 - Laranjal (Laguna dos Patos/Pelotas/Brasil). In: XII Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas

Relacionadas (COLACRO XII), **2008**, Florianópolis. XII Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XII).

Sanches Filho, P. J. ; Caramão, E. B. ; Luz, L. P. ; Martinelli, M. ; Vieira, N. I. M. ; Zini, C. A. ; Silva, M. D. R. G. . Estudo de Hidrocarbonetos Saturados (quantitativo e Hidrocarbonetos Poliaromáticos (qualitativo) na Barragem Santa Bárbara - Pelotas - RS - Brasil. In: XII Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas, **2008**, Florianópolis. XII Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas. Florianópolis : Instituto Internacoinal de Cromatografia.

Sanches Filho, P. J. ; Pinto, R. F. L. ; Luz, L. P. ; Silva, M. D. R. G. . Characterization of the polutants profile in patos lagoon by HRGC/TOFMS and HRGCFID after SPE fractionation. In: 5 Encontro Nacional de Cromatografia - Portugal, **2007**, Aveiro. 5 Encontro Nacional de Cromatografia - Portugal. Aveiro: Sociedade Portuguesa de Química.

Luz, L. P. ; Sanches Filho, P. J. ; Moraes, G. S. De ; Wunsch, D. ; Zini, C. A. . Preliminary studies of petroleum hydrocarbons in the sediment of Patos Lagoon (Z3 colony, Pelotas,RS,-Brazil). In: II Simpósio de Cromatografia (SIMCROM), **2006**, São Pedro. II Simpósio de Cromatografia (SIMCROM).

Sanches Filho, P. J. ; Carúccio, D. C. ; Caramão, E. B. ; Luz, L. P. ; Vieira, N. I. M. . Aplicação da Cromatografia Líquida Preparativa para a caracterização da amostras de Petróleo e Derivados. In: 14 SBQ-Sul, **2006**, Erechim. 14 SBQ-Sul-Química na Sociedade :Significados e aplicações. Erechim.

Sanches Filho, P. J. ; Luz, L. P. ; Vieira, N. I. M. . Análise de Contaminantes em Amostras Ambientais. In: Mostra Internacional de Ciência e Tecnologia e Seminário Internacional de Educação Tecnológica, **2006**, Novo Hamburgo. Anais da 21 MOSTRATEC. Novo Hamburgo.

Sanches Filho, P. J. ; Luz, L. P. ; Zini, C. A. ; Caramão, E. B. ; Wunsch, D. . Petroleum Hydrocarbons in the Sediment of Santa Barbara Barraga (RS-Brazil). In: The 29 International Symposium on Capillary Chromatography and the 3 GCxGC Symposium, **2006**, Riva del Garda. The 29 International Symposium on Capillary Chromatography and the 3 GCxGC Symposium.

ÍNDICE GERAL

	pág
DECLARAÇÃO DE AUTORIA E ORIENTAÇÃO	i
AGRADECIMENTOS	ii
TRABALHOS GERADOS A PARTIR DESTA DISSERTAÇÃO	iv
ÍNDICE GERAL	vi
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	xii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xiii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvi
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Objetivos	3
1.1.1 Objetivo geral	3
1.1.2 Objetivos específicos	3
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Contaminação ambiental de água e sedimento	4
2.2 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA)	5
2.2.1 Distribuição dos HPA no meio aquático	5
2.2.2 Fonte de contaminação por HPA	7
2.2.3 Propriedades físicas e químicas dos HPA	7
2.2.4 Toxicidade dos HPA	9
2.3 Técnicas de extração e análise de HPA	12
2.3.1 Métodos de amostragem de HPA em sedimento	13
2.3.2 Métodos de secagem de sedimento para a análise de HPA	14
2.3.3 Métodos de extração de HPA em sedimento	14
2.3.3.1 Extração com aparelho soxhlet (SE)	15
2.3.3.2 Extração com ultra-som (USE)	15
2.3.3.3 Extração com líquido pressurizado (PLE)	16
2.3.4 Análise de HPA por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS).	19
2.3.5 Análise de HPA por cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC)	19
2.3.5.1 Aspectos gerais da GC×GC	19
2.3.5.1.1 Moduladores	21
2.3.5.1.2 Ortogonalidade	23
2.3.5.1.3 Interpretação dos dados	24
2.3.5.1.2 Detectores	25
3. EXPERIMENTAL	29
3.1 Solventes e reagentes	29
3.2 Limpeza e silanização da vidraria	29
3.3 Tratamento das fases sólidas e outros materiais	30
3.4 Preparo das soluções padrão	30
3.5 Coleta e caracterização inicial dos sedimentos	31
3.6 Procedimentos de extração	34
3.6.1 Extração com soxhlet (SE)	34
3.6.2 Extração com ultra-som (USE)	34

Continuação....

	pág
3.6.3 Extração com líquido pressurizado (PLE)	35
3.7 Fracionamento cromatográfico dos extratos	35
3.7.1 Procedimento de recuperação dos processos de extração	36
3.8 Análises cromatográficas	36
3.8.1 Cromatografia gasosa monodimensional (1DGC)	36
3.8.2 Cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC)	37
3.8.2.1 Descrição dos equipamentos usados	37
3.8.2.2 Otimização das condições cromatográficas por GC×GC-FID	38
3.8.3 Desenvolvimento do método cromatográfico para o sistema GC×GC/TOFMS	42
3.8.4 Validação dos métodos cromatográficos	42
3.8.5 Análise de amostras de sedimentos	44
3.8.5.1 Sedimento do ponto 1 da barragem	44
3.8.5.2 Outras amostras de sedimentos	44
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1 Caracterização inicial da amostra de sedimentos	45
4.2 Desenvolvimento dos processos de extração usados	46
4.3 Análise cromatográfica monodimensional	47
4.3.1 Cromatografia gasosa monodimensional acoplada à espectrometria de massas (GC/MS)	47
4.3.1.1 Análise cromatográfica dos padrões e validação da metodologia analítica	47
4.3.1.2 Análise cromatográfica monodimensional (GC-MS) dos extratos obtidos por USE dos sedimentos estudados	51
4.3.2 Análise cromatográfica bidimensional	60
4.3.2.1 Otimização das condições cromatográficas por GC×GC-FID	60
a) Conjunto de colunas 1, 2 e 3	60
b) Conjunto de colunas 4	65
c) Conjunto de colunas 5	65
d) Conjuntos de colunas com geometria inversa: 6 (DB-Waxter e DB-17) e 7 (DB-Waxter e DB-1)	65
e) Conjunto de colunas 8	67
f) Conjunto de coluna 9 (DB-5 e LC-50)	67
g) Resumo dos resultados de GC×GC-FID aplicado à mistura de padrões	68
h) Influência do fluxo	69
i) Influência do pulso de pressão	71
4.3.2.2 Otimização das condições cromatográficas para o GC×GC/TOFMS	71
a) Efeito do tempo de <i>splitless</i>	72
b) Efeito da temperatura da linha de transferência e da fonte de íons	73
c) Efeito da taxa de aquisição de espectros	74
d) Efeito da diferença de temperatura entre a primeira e a segunda dimensão	75
e) Efeito da temperatura do Injetor	75
f) Efeito do pulso de pressão na cabeça do injetor	76
4.3.2.3. Análise cromatográfica bidimensional dos extratos dos sedimentos estudados	77
4.3.2.3.1 Análise qualitativa: GC×GC/TOFMS	77
4.3.2.3.2 Análise quantitativa: GC×GC-FID	86
5 CONCLUSÃO	93

Continuação....

5.1 Em relação ao processo de extração e fracionamento usados:	pág
5.2 Em relação aos sistemas cromatográficos utilizados:	93
5.2.1 GC/MS	93
5.2.2 GC×GC	93
5.3 Em relação aos sedimentos estudados:	94
5.4 Em relação à diferença entre os dois procedimentos de análise cromatográfica:	95
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	96
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
ANEXO 1: Dados de contaminação mundial por HPA	105
ANEXO 2: Curvas analíticas obtidas para o processo de determinação quantitativa de HPA por GC/MS	107
ANEXO 3: Curvas analíticas obtidas para o processo de determinação quantitativa de HPA por GC/MS	109
ANEXO 4: Curvas analíticas obtidas para a determinação quantitativa de HPA por GC×GC-FID	111

LISTA DE FIGURAS

	pág
Fig. 1. Destino dos HPA no meio aquático	6
Fig. 2. Estrutura dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) prioritários segundo a US-EPA	9
Fig. 3. Ativação carcinogênica do benzo[a]pireno	10
Fig. 4. Amostrador tipo Van Veen	14
Fig. 5. Representação esquemática do sistema PLE	18
Fig. 6. Representação esquemática do sistema GC×GC	20
Fig. 7. Representação esquemática do sistema GC×GC com modulador criogênico com duplo jato frio e duplo jato quente (quad jet)	21
Fig. 8. (A) Imagem do modulador; (B) Representação dos estágios do modulador térmico	22
Fig. 9. Esquema geral da construção da representação gráfica gerada por um sistema cromatográfico bidimensional abrangente	25
Fig. 10. Representação esquemática da separação dos compostos que co-eluem utilizando um sistema de GC×GC/TOFMS	27
Fig. 11. Ilustração do procedimento de coleta das amostras de sedimento com amostrador tipo Van Veen	31
Fig. 12. Mapa com a localização dos pontos de amostragem de sedimentos	32
Fig. 13. Cromatograma pelo monitoramento de íons (GC/MS modo SIM) para a mistura de padrões de HPA deuterados com o padrão interno (bifenila).	48
Fig. 14. Cromatograma pelo monitoramento de íons (GC/MS modo SIM) para a mistura de 16 HPA.	49
Fig. 15. Cromatogramas pelo monitoramento de íons (GC/MS modo SIM) da fração F2 do extrato obtido a partir do sedimento do ponto 1, localizado na barragem Santa Bárbara.	52
Fig. 16. Cromatogramas pelo monitoramento de íons (GC/MS modo SIM) da fração F2 do extrato obtido a partir do sedimento do ponto 2, localizado na praia do Laranjal, região da Lagoa.	53
Fig. 17. Cromatograma pelo monitoramento de íons (GC/MS modo SIM) da fração F2 do extrato obtido a partir do sedimento do ponto 3A (sedimento bruto, não contaminado propositalmente), localizado na praia do Laranjal, região da Barra.	54
Fig. 18. Cromatograma pelo monitoramento de íons (GC/MS modo SIM) da fração F2 do extrato obtido a partir do sedimento do ponto 3B (contaminado pela adição direta de petróleo ao sedimento), localizado na praia do Laranjal, região da Barra.	55
Fig. 19. Cromatograma pelo monitoramento de íons (GC/MS modo SIM) da fração F2 do extrato obtido a partir do sedimento do ponto 3C (contaminado através de coluna de água), localizado na praia do Laranjal, região da Barra.	56
Fig. 20. Comparação entre os cromatogramas pelo monitoramento de íons (GC/MS modo SIM) da fração F2 dos extratos dos sedimentos dos 3 pontos analisados (1, 2, 3A, 3B e 3C).	58
Fig. 21. Cromatogramas reconstituídos na primeira dimensão para o conjunto de colunas 1, usando três condições diferentes de aquecimento	61

Continuação ...

	pág
Fig. 22. Detalhes do Cromatogramas reconstituído na primeira dimensão para a condição 1C	62
Fig. 23. Diagrama de cores obtido para os padrões de HPA utilizando o conjunto de colunas 3.	62
Fig. 24. Ampliação dos picos 9 e 10 nos tempos de duração do pulso quente de 1 s e 4s, para o diagrama de cores obtido para os padrões com o conjunto de colunas 2, $P_M = 10$ s.	63
Fig. 25. Diagrama de cores para o conjunto de colunas 3 com diferentes variações de temperatura entre o primeiro e segundo forno	64
Fig. 26. Diagrama 3D obtido para os padrões de HPA utilizando o conjunto de colunas 5.	66
Fig. 27. Diagrama de cores obtido para a fração F2 do extrato de sedimento, fortificada utilizando o conjunto de coluna 6.	66
Fig. 28. Diagrama de cores obtido para os 16 HPA utilizando-se o conjunto de coluna 9. Tempo total de corrida 48,8 min e $P_M = 5$ s.	68
Fig. 29. Diagrama de cores obtido para a fração F2 do extrato do sedimento, fortificada com os 16 HPA, utilizando-se o conjunto de coluna 1. Tempo total de corrida 53 min e $P_M = 6$ s.	69
Fig. 30. Diagrama de cores obtido para os padrões de HPA utilizando uma coluna DB-5 (30mx 0,25mmx 0,25 μ m) e DB-17(1mx0,18mmx 0,1 μ m) com diferentes fluxos.	70
Fig. 31. Influência do pulso de pressão na cabeça da coluna sobre a separação dos 16 HPA no sistema GC×GC-FID	71
Fig. 32. Variação da razão sinal/ruído para a análise dos HPA por GC×GC/TOFMS variando-se o tempo de <i>splitless</i> . (A) primeiros 10 HPA mais leves e (B) 6 últimos HPA	72
Fig. 33. Variação da razão sinal/ruído para a análise dos HPA por GC×GC/TOFMS variando-se a temperatura da linha de transferência e da fonte de íons. (A) primeiros 10 HPA mais leves e (B) 6 últimos HPA com maior peso molecular	73
Fig. 34. Variação da razão sinal/ruído para a análise dos HPA por GC×GC/TOFMS variando-se a taxa de aquisição de espectros. (A) primeiros 8 HPA mais leves e (B) 8 últimos HPA com maior peso molecular.	74
Fig. 35. Variação da razão sinal/ruído para a análise dos HPA por GC×GC/TOFMS variando-se a diferença de temperatura entre os dois fornos (1D e 2D).	75
Fig. 36. Variação da razão sinal/ruído para a análise dos HPA por GC×GC/TOFMS variando-se a temperatura do injetor.	76
Fig. 37. Variação da razão sinal/ruído para a análise dos HPA por GC×GC/TOFMS variando-se o pulso de pressão na cabeça da coluna.	77
Fig. 38. Diagrama de ápices para os compostos identificados na fração F2 do extrato do sedimento do ponto 1 (barragem Santa Bárbara) usando as condições otimizadas para o GC×GC/TOFMS.	78
Fig. 39. Diagrama de cores para os compostos identificados na fração F2 do extrato do sedimento do ponto 3C (sedimento contaminado com coluna d'água) usando as condições otimizadas para o GC×GC/TOFMS	84

Continuação ...

	pág
Fig. 40. Diagrama de pontos construído a partir da Tabela XIV para os compostos identificados na fração F2 do extrato do sedimento do ponto 3C usando as condições otimizadas para o GC×GC/TOFMS.	85
Fig. 41. Diagrama de cores (GC×GC-FID) obtido para a fração F2 do extrato do sedimento do Ponto 1, fortificada com os 16 HPA na concentração de 50 µg L ⁻¹ .	86
Fig. 42. Comparação entre os resultados quantitativos obtidos por GC/MS e por GC×GC-FID para os HPA extraídos dos sedimentos analisados (P1, P2, P3A e P3B).	91
Fig. 43. Comparação entre os resultados quantitativos obtidos por GC/MS e por GC×GC-FID para os HPA extraídos do sedimento do ponto 3C (contaminado com petróleo através de uma coluna d'água).	92

LISTA DE TABELAS

		pág
Tab. I.	Propriedades físico-químicas de alguns HPA e NHPA	8
Tab. II.	Carcinogenicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de alguns HPA	11
Tab. III.	Distribuição de HPA totais em sedimentos de várias regiões do Brasil	12
Tab. IV.	Coordenadas para a localização dos pontos de amostragem de sedimentos	32
Tab. V.	Dados relacionados aos padrões de HPA usados nas análises cromatográficas:	38
Tab. VI.	Conjunto de colunas testados neste trabalho para os sistemas GC×GC	40
Tab. VII.	Condições cromatográficas utilizadas para o conjunto de colunas 1 no sistema GC/MS	40
Tab. VIII.	Principais características físico-químicas dos sedimentos estudados	45
Tab. IX.	Resultados de recuperação para os procedimentos de extração (PLE e Ultrasom) usando o sedimento do ponto 1, marcado com HPA deuterados	46
Tab. X.	Figuras de mérito para o sistema GC/MS usando a mistura de HPA deuterados	50
Tab. XI.	Parâmetros de mérito e curvas analíticas obtidas por GC/MS para os 16 HPA.	51
Tab. XII.	Análise quantitativa dos HPA na fração F2 dos extratos dos pontos de amostragem estudados, usando o sistema GC/MS	57
Tab. XIII.	Compostos identificados (com o uso de padrões) e tentativamente identificados (apenas por similaridade com a biblioteca do equipamento) na fração F2 do extrato do sedimento do ponto 1 (Barragem Santa Bárbara) por GC×GC/TOFMS	78
Tab. XIV.	Compostos identificados (com o uso de padrões) e tentativamente identificados (apenas por similaridade com a biblioteca do equipamento) na fração F2 dos extratos dos três sedimentos estudados (1, 2 e 3A) e dos sedimentos contaminados artificialmente (3B e 3C) por GC×GC/TOFMS	79
Tab. XV.	Determinação da precisão intermediária e da repetitividade para a análise de HPA por GC×GC-FID	87
Tab. XVI.	Determinação da exatidão para a análise de HPA por GC×GC-FID	88
Tab. XVII.	Parâmetros de mérito e curvas analíticas obtidas por GC×GC-FID para os 16 HPA.	89
Tab. XVIII.	Análise quantitativa dos HPA na fração F2 dos extratos dos pontos de amostragem estudados, usando o sistema GC×GC-FID	90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

¹**D** – Primeira dimensão

²**D** – Segunda dimensão

1D-GC – Cromatografia gasosa monodimensional (do inglês *One-Dimensional Gas Chromatography*)

2D-GC – Cromatografia gasosa bidimensional (do inglês *Two-Dimensional Gas Chromatography*)

¹**t_R** – Tempo de retenção na primeira dimensão

²**t_R** – Tempo de retenção na segunda dimensão

ASE – Extração acelerada com solvente (do inglês *Accelerated Solvent Extraction*)

BPC – Bifenilas Policloradas

DCM – diclorometano

GC/MS – Cromatografia em Fase Gasosa com Detector de Espectrometria de Massas (do inglês *Gas Chromatography - Mass Spectrometry*)

GC×GC-FID – Cromatografia gasosa bidimensional abrangente com detecção por Ionização de Chama (do inglês, *Comprehensive Two-dimensional Gas Chromatography – Flame Ionization Detector*)

GC×GC/qMS – Cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada à espectrometria de massa do tipo quadrupolar (do inglês, *Comprehensive Two-dimensional Gas Chromatography – Quadrupole Mass Spectrometry*)

GC×GC/TOFMS – Cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada com à Espectrometria de Massa com Tempo de Vôo (do inglês, *Comprehensive Two-dimensional Gas Chromatography – Time Of Flight Spectroscopy*)

HPA – Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

IARC – Agência Internacional de Estudo do Câncer (do inglês, *International Agency of Research in Cancer*)

IR – Infravermelho (do inglês, *Infrared*)

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada (do inglês, *International Union of Pure and Applied Chemistry*)

k – fator de retenção

LC – Cromatografia Líquida (do inglês, *Liquid Chromatography*)

- LMCS** – sistema criogênico modulado longitudinalmente (do inglês, *Longitudinally Modulated Cryogenic System*)
- LD** – Limite de Detecção
- LQ** – Limite de Quantificação
- m/z** – razão massa carga
- MAE** – Extração assistida por microondas (do inglês, *Microwave Assisted Extraction*)
- MS** – Espectrometria de Massa (do inglês, *Mass Spectrometry*)
- NBR** – Norma Brasileira
- NHPA** - Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos Nitrogenados
- NMR** – Ressonância Magnética Nuclear (do inglês, *Nuclear Magnetic Resonance*)
- NOAA** – *National Oceanic and Atmospheric Administration*
- PLE** – Extração por líquido pressurizado (do inglês, *Pressurized Liquid Extraction*)
- P_M** – período de modulação
- P_V** – pressão de vapor
- R²** – Coeficiente de determinação
- RSD** – desvio padrão relativo (do inglês, *Relative Standard Deviation*)
- S/N** – Sinal Ruído (do inglês, *Signal to Noise*)
- SCAN** – varredura do espectro de massa
- SE** – Extração com aparelho Soxhlet (do inglês, *Soxhlet Extraction*)
- SFE** – Extração com fluido supercrítico (do inglês, *Supercritical Fluid Extraction*)
- SIM** – Monitoramento seletivo de íons (do inglês, *Single Ion Monitoring*)
- SPE** - Extração em fase sólida (do inglês, *Solid Phase Extraction*)
- Splitless** – tipo de injeção cromatográfica sem divisão de fluxo
- TIC** – Corrente Iônica Total (do inglês, *Total Ion Current*) ou
- TIC** – Cromatograma Total de íons (do inglês, *Total Ion Chromatogram*)
- UNEP** – União Nacional de Programas Ambientais (do inglês, *United Nations Environment Program*)
- USE** – Extração com ultra-som (do inglês, *Ultrasonic Extraction*)
- US-EPA** – Agência de Proteção Ambiental Americana (do inglês, *United States - Environmental Protection Agency*)
- UV-vis** – Ultravioleta e visível
- β** – razão de fase

RESUMO

Neste trabalho, desenvolveu-se uma metodologia de análise de hidrocarbonetos poliaromáticos (HPA) em sedimentos através da cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC) e compararam-se os resultados com aqueles obtidos por cromatografia gasosa monodimensional acoplada à espectrometria de massas (GC/MS). Para este estudo foi avaliada a contaminação de três sedimentos localizados em áreas potencialmente impactadas com HPA na região de Pelotas. Para o desenvolvimento deste trabalho estudaram-se as técnicas de extração com líquido pressurizado (PLE), com ultrassom (USE) e com Soxhlet, sendo escolhida a extração com Soxhlet para aplicação a todos os sedimentos estudados. Os extratos foram purificados através da cromatografia líquida preparativa com sílica e alumina, e analisados por GC/MS, no modo de monitoramento seletivo de íons, e GC×GC usando os detectores de ionização por chama e de espectrometria de massas por tempo de voo (GC×GC-FID e GC×GC/TOFMS). As duas técnicas foram desenvolvidas e otimizadas. A análise por GC×GC/TOFMS permitiu a identificação de um número maior de compostos em um mesmo tempo, e a análise por GC×GC-FID permitiu a quantificação dos HPA com maior exatidão que a GC monodimensional devido a possível co-eluição de alguns compostos nesta última. O método por GC×GC-FID foi validado com bons resultados.

ABSTRACT

In this study it was developed a methodology for the analysis of polyaromatic hydrocarbons (PAH) in sediments by comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC×GC) and the results were compared with those obtained by one-dimensional gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS). For this study it was evaluated the contamination of three sediments located in areas potentially impacted with PAH in the city of Pelotas. To develop this work, it was used the techniques of pressurized liquid extraction (PLE), ultrasonic extraction (USE), and Soxhlet extraction and it was chosen the soxhlet extraction for application to all sediments. The extracts were purified by preparative liquid chromatography with silica and alumina and analyzed by GC/MS (SIM mode - selected ion monitoring) and GC×GC using flame ionization and time of flight mass spectrometry detectors (GC×GC-FID and GC×GC/TOFMS). Both techniques were developed and optimized. The analysis by GC×GC/TOFMS allowed the identification of a greater number of compounds in the same time of analysis of GC/MS and the analysis by GC×GC-FID allowed quantification of the PAH with greater precision than the GC-dimensional due to possible co-elution of some compounds in this latter one. The method for GC×GC-FID was validated with good results.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o reconhecimento de grandes quantidades de agentes tóxicos e seus subprodutos originados de atividades industriais, aliado à persistência destes compostos no ambiente e sua influência nas atividades biológicas, demonstra a necessidade e a importância de avaliar seus riscos aos ecossistemas (rios, ambiente litorâneo aquático, lagos, atmosfera e solo).

Alguns compostos lipofílicos, como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), são, direta ou indiretamente, introduzidos no ambiente aquático. Estes compostos possuem um grande potencial de preservação nos sedimentos aquáticos devido ao seu caráter hidrofóbico, podendo persistir por várias décadas. Além disso, quando presentes no meio ambiente estão sujeitos a processos físicos, químicos e biológicos que alteram sua composição química, tornando um grande desafio sua identificação e quantificação em sedimentos e água. A investigação dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) nos sedimentos de lagos e rios se justifica porque o material no fundo dos rios e lagos apresenta maior estabilidade físico-química do que a água circundante.

A origem dos HPA está geralmente associada a fontes antropogênicas, como a queima incompleta de combustíveis fósseis (origem pirogênica) e a introdução de petróleo e produtos derivados (origem petrogênica) no ambiente. Muitos HPA estão listados como poluentes prioritários pela Agência Ambiental dos Estados Unidos e pela comunidade Européia devido à suspeita de carcinogenicidade e mutagenicidade atribuídas a estes compostos.

Nas últimas décadas, instrumentos sofisticados têm sido desenvolvidos para separação e detecção de compostos químicos em nível de traços. Neste campo, a cromatografia pode ser combinada a diferentes sistemas de detecção, tratando-se de uma das técnicas mais utilizadas e de melhor desempenho. Além disto, a detecção seletiva reduz o risco de falsa identificação de compostos e pode simplificar a otimização da separação cromatográfica, pois possibilita que os compostos de interesse possam ser discriminados de interferentes. A GC/MS (cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa) é hoje a técnica hífenada mais utilizada para fins de caracterização e identificação de HPA em sedimentos.

A cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC) é uma poderosa ferramenta analítica, podendo ser utilizada no estudo de amostras complexas ou de difícil caracterização por cromatografia gasosa convencional.

No sistema GC×GC, duas colunas diferentes estão conectadas em série, mediante uma interface apropriada, passando a amostra na sua totalidade pelas duas colunas ao longo da

análise. Os mecanismos de separação em ambas as colunas deverão ser sempre baseados em mecanismos de retenção diferentes e independentes, ou seja, ortogonais, conduzindo à maximização das capacidades separativas individuais. O resultado final é, não só um aumento da sensibilidade como também do poder de resolução, permitindo separar e identificar compostos de matrizes complexas sem prejuízo do tempo de análise. A maior vantagem da técnica de GC×GC está na grande capacidade de picos, ou seja, no maior número de compostos que podem ser separados em uma análise.

Existe uma grande variedade de métodos analíticos para análise de traços em sedimentos incluindo etapas que englobam desde a coleta da amostra até o registro final dos resultados. Os métodos de extração mais estudados fazem uso da extração com Soxhlet, com ultra-som, com fluido supercrítico, com microondas e com fluido pressurizado. É também necessária uma etapa de *clean-up* do extrato para isolar os analitos dos interferentes naturais da matriz. Esta etapa é, geralmente, realizada por cromatografia líquida em escala preparativa.

Neste trabalho, estudaram-se as técnicas de extração com líquido pressurizado (PLE) com ultra-som (USE) e com Soxhlet (SE) aplicadas a sedimentos superficiais de três pontos localizados na região de Pelotas, visando a análise de hidrocarbonetos poliaromáticos. Os extratos foram purificados por cromatografia líquida preparativa com sílica e alumina, e analisados por GC/MS, no modo de monitoramento seletivo de íons, e por GC×GC usando os detectores de ionização por chama (FID, do inglês *flame ionization detector*) e de espectrometria de massas por tempo de voo (TOFMS, do inglês *time of flight mass spectrometry*)

A técnica por GC×GC foi otimizada através de várias etapas envolvendo a escolha dos conjuntos de colunas a serem empregados, programação da temperatura do forno primário, diferença de temperatura entre os fornos primário e secundário, período de modulação, temperatura de modulação e duração dos pulsos quentes e frios. A análise por GC×GC-FID e por GC×GC/TOFMS foi aplicada aos padrões, aos extratos dos sedimentos brutos e de sedimentos contaminados propositalmente.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo Geral

Desenvolver uma metodologia cromatográfica bidimensional para a análise de hidrocarbonetos poliaromáticos (HPA) e aplicá-la na análise de extratos de sedimentos reais.

1.1.2 Objetivos Específicos:

- Comparar métodos de extração de HPA em sedimentos;
- Extrair HPA de sedimentos da Lagoa dos Patos e da Barragem Santa Bárbara
- Desenvolver a metodologia GC×GC-FID para a análise de HPA;
- Desenvolver a metodologia GC×GC/TOFMS para a análise de HPA;
- Validar a metodologia cromatográfica bidimensional proposta;
- Aplicar a metodologia cromatográfica bidimensional abrangente na análise dos extratos de amostras reais de sedimentos da Lagoa dos Patos e da Barragem Santa Bárbara, da cidade de Pelotas, RS; e
- Comparar os resultados obtidos através de GC/MS com a metodologia bidimensional desenvolvida e otimizada neste trabalho.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Contaminação ambiental de água e sedimento

A crescente demanda e oferta de novos produtos químicos pela sociedade industrializada do século XX levaram à entrada no meio ambiente, especialmente nos rios e lagos, de grandes quantidades de diversos compostos químicos provenientes das descargas industriais e de várias outras atividades antrópicas. Os compostos orgânicos liberados antropicamente compreendem uma ampla faixa de moléculas. Dentre estas substâncias que mesmo presente em baixas concentrações podem ser prejudiciais à saúde humana, estão os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA). Estes compostos apresentam como principais características: alta hidrofobicidade, baixa reatividade no meio ambiente e grande tendência para se acumular, ou bioconcentrar, nos tecidos dos organismos vivos.^{1,2}

Estes compostos ao entrarem na coluna d'água, através dos vários processos de transporte como lixiviação e arraste por água da chuva, serão incorporados ao material particulado rico em matéria orgânica, que ao decantarem se misturam a minerais de diversos tipos e granulações presentes no fundo dos rios, participando da formação dos sedimentos.³

A granulometria dos sedimentos é um fator muito importante para a acumulação e persistência dos hidrocarbonetos. Os sedimentos mais ricos em frações finas (silte + argila) são geralmente os mais ricos em HPA. Sedimentos mais grossos, excedendo a 80% de areia, não propiciam ligações com os hidrocarbonetos.⁴

Tipicamente os sedimentos consistem de partículas de tamanhos variados, desde argila (< 2 µm), seguido de silte (2 a 63 µm), até partículas de areia (63 µm a 2 mm), bem como pedras e detritos (> 2 mm).⁵ Os espaços vazios entre as partículas são preenchidos com água intersticial que chega a representar 50% do volume do sedimento. As propriedades das águas intersticiais (pH, condutividade, alcalinidade e carbono orgânico dissolvido) controlam a solubilidade dos contaminantes. Portanto, o destino final dos poluentes orgânicos lançados nas águas naturais é o sedimento de fundo do corpo aquático.^{3,6}

A matéria orgânica constitui a menor, mas importante fração dos sedimentos lacustres. As fontes biogênicas da matéria orgânica incluem a produção primária, introdução de material terrestre em bacias hidrográficas, e produtos da atividade microbiana em águas e em sedimentos.⁷ Fontes antropogênicas, como a descarga de efluentes industriais e domésticos, podem contribuir para alteração na composição da matéria orgânica de lagos.⁸

2.2 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA)

Os HPA são compostos com dois ou mais anéis aromáticos condensados, podendo estar ou não substituídos por cadeias alifáticas, ou ainda, conter heteroátomos, formando derivados nitrogenados e oxigenados.

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) podem ser encontrados em diferentes matrizes ambientais: dispersos na fase gasosa e aquosa ou, ainda, adsorvidos em materiais sólidos.⁹ Estes compostos raramente ocorrem individualmente, mas sempre como uma mistura complexa de vários HPA. A composição e a concentração desta mistura podem variar de acordo com a fonte de contaminação, o tipo de amostra (matriz) ou mesmo o tempo entre a contaminação e a análise.¹⁰

No meio ambiente a maioria dos HPA são introduzidos via deposição atmosférica através da combustão incompleta de combustíveis fósseis.^{6, 11}

2.2.1 Distribuição dos HPA no meio aquático

A atmosfera é o principal meio de transporte dos HPA, os quais, dependendo de suas propriedades físico-químicas, estão distribuídos entre o gás e a fase particulada, principalmente em associação com as partículas pequenas ($< 1 \mu\text{m}$).¹²

Os HPA associados às partículas atmosféricas podem ser transportadas para grandes distâncias antes de ser eliminados da atmosfera pela precipitação seca ou úmida, passando assim as águas ou ao solo.¹³ A **Figura 1** ilustra a distribuição dos HPA nas águas naturais.¹⁴

No ambiente aquático, os HPA associam-se com o material particulado em suspensão dependendo da hidrofobicidade da substância química e da natureza e da concentração das partículas.¹⁵⁻¹⁷

Contaminantes em sistemas aquáticos podem existir em várias formas, incluindo na fase livre dissolvida, fase ligada dissolvida na matéria orgânica, adsorvida no material particulado suspenso e associado nas superfícies dos sedimentos.⁸ A distribuição dos HPA entre estas fases é controlada principalmente pelas propriedades físico-químicas de cada composto, como a solubilidade, pressão de vapor e coeficiente de adsorção.¹⁸

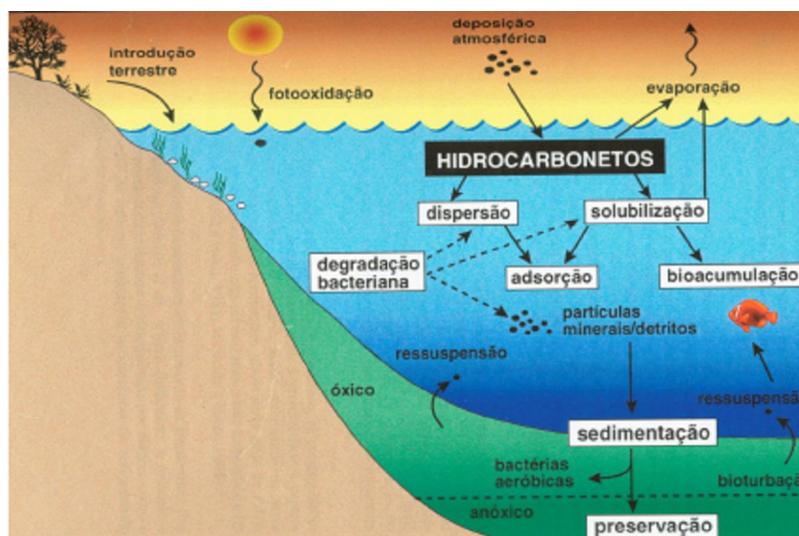


Figura 1: Destino dos HPA no meio aquático¹⁴

O tipo de partícula é importante para prever o comportamento dos HPA no meio. Quando associados com as partículas de sedimento (areia, silte e argila) apresentam maior mobilidade, quando comparados aos HPA associados com as partículas orgânicas. Talley et al.¹⁹ em estudos recentes mostraram uma afinidade dos HPA por partículas do tipo “fuligem”, com origem na queima de carvão, madeira e outros combustíveis, mais do que simplesmente uma afinidade determinada por tamanho de grão ou carbono orgânico. Readman et al.²⁰ sugerem que os HPA ficam “ocluos” em partículas de fuligem, inacessíveis aos processos de dissolução, assimilação por organismos e foto-oxidação, tanto no material em suspensão quanto no sedimento.

Para a maior parte dos HPA contidos na água, a sedimentação se constitui no principal mecanismo de eliminação. Os sedimentos são os depositários ambientais finais para a maior parte dos HPA, onde se processam modificações químicas e bioquímicas muito lentas.²¹

O tipo de matéria orgânica que constitui o sedimento, bem como as alterações diagenéticas que essa matéria orgânica sofre, podem aumentar o grau de interação dos compostos xenobióticos com o sedimento, gerando tempos de residência da ordem de anos. A sorção desses compostos no sedimento pode se tornar um processo contínuo, alcançando sítios de sorção no interior das partículas (menos superficiais). Os compostos associados aos sítios mais internos estarão fortemente associados ao sedimento, apresentando dessorção bastante lenta.²²

2.2.2 Fonte de contaminação por HPA

A origem dos HPA está geralmente associada a fontes antropogênicas, como a queima incompleta de combustíveis fósseis (origem pirogênica), derramamento de petróleo e derivados (origem petrogênica) ou fontes diagenéticas, como a transformação do ambiente deposicional por precursores biogênicos.²³⁻²⁶ A concentração dos HPA de origem biogênica é geralmente muito baixa em comparação com HPA de fontes antropogênicas no meio ambiente.²⁵

As fontes antrópicas incluem efluentes industriais e descarte de esgotos domésticos, queimadas de campos, operações de transporte, estocagem e refino de petróleo, emissão de motores de veículos.²⁸

Os HPA acumulados em solos e sedimentos representam um risco toxicológico para fauna e flora.²⁹ O tráfego de automóveis não é o maior responsável (menor ou igual 1%) pela contaminação de HPA, mas tem um impacto enorme em locais próximos a auto-estradas e rodovias.³⁰

2.2.3 Propriedades físicas e químicas dos HPA

As propriedades químicas e físicas dos HPA são determinadas por seus sistemas de duplas conjugadas, que variam com o número de anéis e, portanto com as suas massas moleculares.³¹

Os HPA podem apresentar ainda em sua estrutura átomos de oxigênio e nitrogênio, estas estruturas participam como misturas complexas e podem ser identificadas em segmentos ambientais variados.

Em razão da baixa solubilidade em água (10^{-7} a 10^{-10} mol m⁻³), os HPA associam-se com partículas orgânicas e inorgânicas em suspensão nos ambientes aquáticos.^{22,32}

Os HPA são pouco solúveis em água e sua solubilidade diminui com o aumento do peso molecular. Os HPA com peso molecular mais baixo são mais voláteis e apresentam maiores pressões de vapor que os mais pesados, assim, estes compostos são classificados como semi-voláteis. O aumento da cadeia carbônica está associado a uma menor mobilidade no solo. Segundo Netto et al.³¹ a concentração de HPA encontrada no solo varia de 0,8 ng/kg a 100 mg/kg.

Devido às características hidrofóbicas dos HPA, estes tendem a serem adsorvidos pelas partículas de sedimento, assim são encontrados em baixas concentrações em amostras de água. Portanto os sedimentos aquáticos podem ser considerados como um depósito destes poluentes.³³

A persistência dos HPA no meio ambiente também varia com a massa molar. Os HPA de baixas massas molares são degradados mais facilmente. Os tempos de meia vida para o naftaleno e fenantreno no sedimento são de menos de 125 e 2 dias, respectivamente, enquanto os HPA de massas molares mais altas apresentam tempos de vida em solos e sedimentos de alguns anos.³¹ As propriedades físico-químicas de alguns HPA e seus derivados nitrogenados (NHPA) estão expressas na **Tabela I**.

Tabela I: Propriedades físico-químicas de alguns HPA e NHPA³¹

substância	peso molecular (g/mol)	pressão de vapor (Pa. 25 °C)	solubilidade em água (mg/L)	meia vida no solo
naftaleno	128	36,8	31	< 125 dias
acenaftileno	152	4,14	16,1	43 a 60 dias
fluoreno	166	0,71	1,9	32 dias
fenantreno	178	0,113	1,1	2 dias
antraceno	178	0,0778	0,045	50 dias a 1,3 anos
pireno	202	0,0119	0,132	210 dias a 5,2 anos
benzo[a]pireno	252	$2,13 \cdot 10^{-5}$	0,0038	269 dias a 8,2 anos
benzo[g,h,i]perileno	276	$2,25 \cdot 10^{-5}$	0,00026	< 9,6 anos
coroneno	300	$1,98 \cdot 10^{-10}$	0,00014	---
1-nitronaftaleno	173	$6,38 \cdot 10^{-5}$	18	---
1-nitropireno	247	---	---	---

Os HPA destacam-se por serem estáveis e persistentes ao meio ambiente e podem apresentar efeitos tóxicos nos organismos aquáticos.³⁴

Os HPA de baixa massa molecular (constituídos de dois ou três anéis aromáticos em sua estrutura) apresentam toxicidade aguda significativa para organismos aquáticos, por serem mais hidrossolúveis, apresentarem maior concentração na água e por estarem mais bio-disponíveis. Entretanto alguns HPA com peso molecular mais alto podem apresentar efeito carcinogênico. Os diferentes compostos podem ter potencial carcinogênico diferenciado, pois há relação entre a estrutura molecular dos HPA e o mecanismo de carcinogênese.³⁵

Os HPA são muito estudados devido às propriedades mutagênicas e/ou carcinogênicas de alguns destes compostos. Em razão da sua larga disseminação no meio ambiente, estes compostos representam um risco latente, especialmente porque a sua incorporação através do ar e dos alimentos é inevitável.³⁶ Devido ao seu alto potencial cancerígeno e à presença abundante no meio ambiente, o benzo[a]pireno é freqüentemente usado como indicador da exposição humana aos HPA.³⁵

A presença comprovada de HPA na natureza, associada à toxicidade, ao comprovado potencial carcinogênico e ao fato de serem resistentes à biodegradação, determinaram, em nível

mundial, a inclusão de 16 deles na lista dos poluentes orgânicos prioritários pela US-EPA.³⁷ Dentre os mais tóxicos estão benzo[a]pireno, dibenzo[a,h]antraceno e indeno[1,2,3-cd]pireno.³⁷ As estruturas dos 16 HPA listados pela US-EPA são mostrados na **Figura 2**

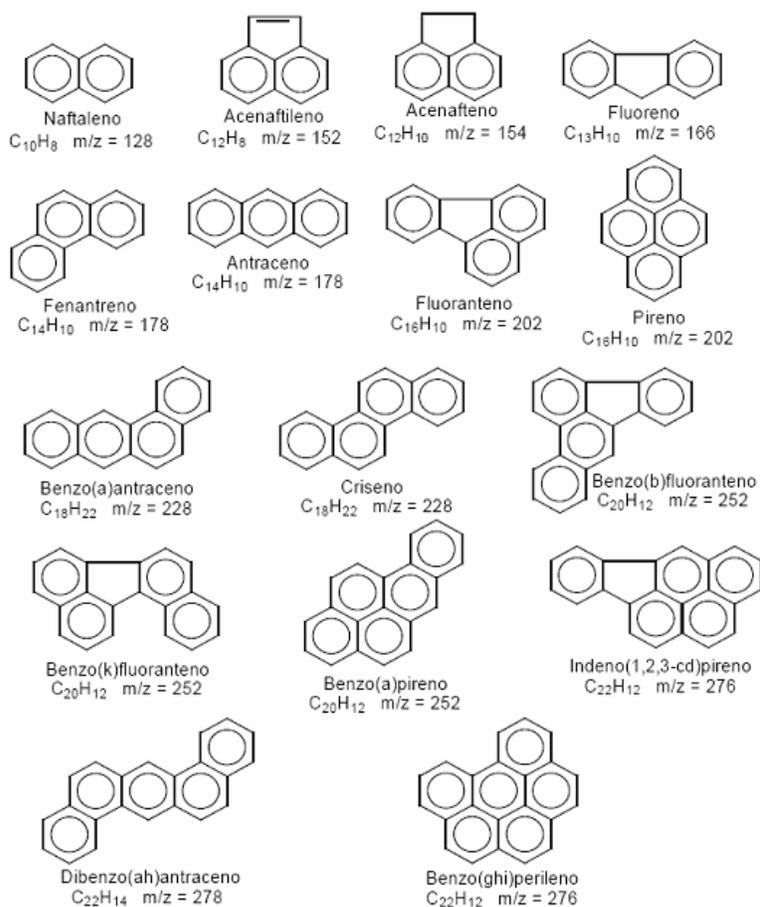


Figura 2. Estrutura dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) prioritários segundo a US-EPA³⁷

2.2.4 Toxicidade dos HPA

As primeiras referências sobre a carcinogênese dos hidrocarbonetos datam de 1775 quando Percival Pott atribuiu o tipo de câncer comum aos limpadores de chaminé, na Inglaterra, à sua exposição ocupacional à fuligem.³¹

O início da química dos HPA coincide com o isolamento do Benzo[a]pireno a partir do carvão em 1931 e posteriormente, à sua síntese e identificação, permitindo demonstrar que o Benzo[a]pireno é forte agente cancerígeno em animais.³⁵

Nos anos 70, foi introduzido um método muito sensível e eficaz para a determinação da mutagenicidade de substâncias químicas, usando bactérias do gênero *Salmonella*, denominado de “ensaio de mutagenicidade Ames-Salmonella”. Desde então um grande número de testes tem sido desenvolvido para estudar os efeitos nocivos destas substâncias químicas.^{10,38}

A atividade carcinogênica de cada composto individual é dependente da estrutura molecular, na presença de grupo alquila na cadeia carbônica e de um heteroátomo ao anel.^{35,39}

A **Figura 3** apresenta um dos mecanismos propostos para a ativação carcinogênica do BaP, através da ação do citocromo P450.³⁵

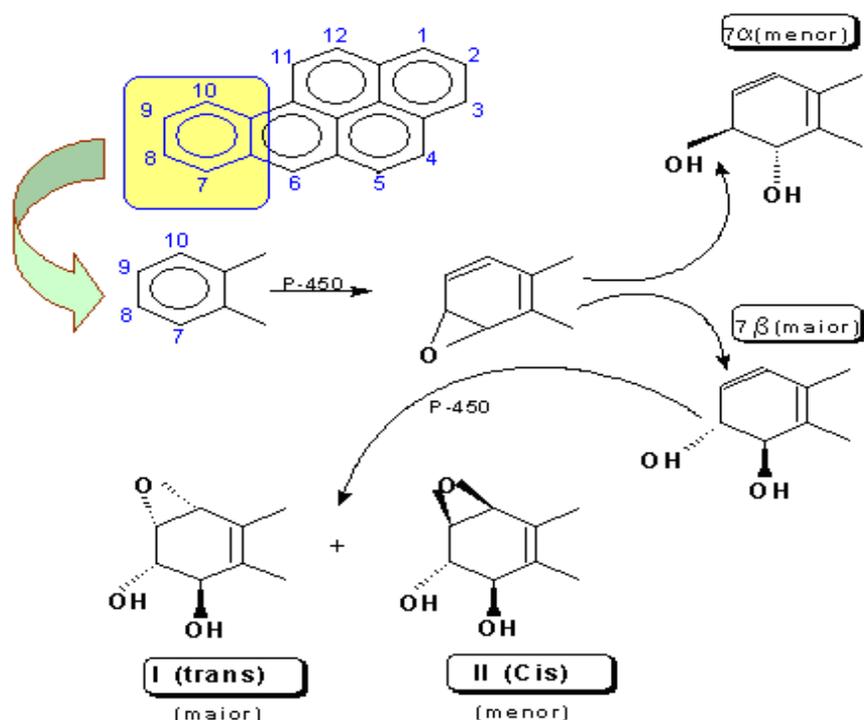


Figura 3: Ativação carcinogênica do benzo[a]pireno³⁵

Para os seres humanos, os HPA conferem riscos à saúde, principalmente em exposições crônicas e/ou ocupacionais. A ingestão de HPA pelo homem ocorre por diversas vias, tais como inalação de ar contaminado, ingestão de água, solo, poeira e alimentos contaminados e por contato através da pele.^{35,36} Atualmente, pesquisas da Agência Internacional de Estudo do Câncer (IARC) classificam alguns HPA como carcinogênicos e/ou mutagênicos e/ou genotóxicos, conforme pode ser visto na **Tabela II**.

Tabela II: Carcinogenicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de alguns HPA³¹

composto	carcinogenicidade	genotoxicidade	mutagenicidade
fluoreno	I	L	-
fenantreno	I	L	+
antraceno	N	N	-
fluoranteno	N	L	+
pireno	N	L	+
Benzo[a]antraceno	S	S	+
criseno	L	L	+
benzo[e]pireno	I	L	+
benzo[a]pireno	S	S	+
perileno	I	I	+
Indeno[1,2,3-cd]pireno	S	I	+
benzo[g,h,i]perileno	I	I	+
dibenzo[a,h]antraceno	S	S	+
coroneno	I	I	+

S= suficiente; I= insuficiente; L= limitado; N = não carcinogênico; Genotoxicidade avaliada através dos testes de deterioração do DNA; aberração cromossômica e mutagenicidade. Mutagenicidade (teste de Ames): + (positivo), - (negativo)

A toxicidade dos HPA está diretamente relacionada ao tempo de permanência nos sedimentos. Este tempo de permanência é dependente de diversos fatores: presença de oxigênio, presença de microorganismos e grau de interação com as partículas que compõem os sedimentos. A presença de oxigênio e de microorganismos está diretamente relacionada com o potencial de oxi-redução do sedimento, influenciando nos processos de degradação química e biológica.⁴⁰

A investigação dos hidrocarbonetos nos sedimentos se justifica pelo fato que o material de fundo apresenta maior estabilidade físico-química do que a água circundante, indicando um registro histórico dos processos de sedimentação. Esta investigação também fornece índices de referência mais estáveis para o monitoramento de aporte de hidrocarbonetos, que geralmente indicam a qualidade média da água.⁴¹

Em diversos locais são reportadas altas concentrações de HPA decorrentes de intenso uso de suas águas por diversas atividades humanas e pelo aporte de material em suspensão através da descarga fluvial.⁴²

As concentrações de HPA em sedimentos podem variar muito, dependendo principalmente do aporte desses compostos para o ambiente aquático. A sua distribuição dependerá de diversos processos atuantes, como a deposição, a degradação e outros fatores que variam de intensidade e importância dependendo do ambiente estudado. Estuários considerados moderadamente impactados apresentam concentrações por volta de 2000 ng g⁻¹ de HPA (somatório de todos)^{23,43} e estuários impactados apresentam concentrações globais de HPA na ordem de 5000 ng g⁻¹.⁴⁵ Conforme o Guia de Qualidade de Sedimentos da NOAA (*National*

Oceanic and Atmospheric Administration) os valores de concentração global de HPA não devem ultrapassar os 4000 ng g⁻¹.⁴⁵ Valores dentro da escala de 0,01 a 1 mg/kg peso seco⁴⁶ para a concentração de HPA em sedimentos são considerados adequados ou seja, dentro de padrões ambientais não impactados.

Na **Tabela III** têm-se níveis reportados para sedimentos marinhos e estuarinos no Brasil.

Tabela III: Distribuição de HPA totais em sedimentos de várias regiões do Brasil

local	Conc. de HPA($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Ref.
Cidade São Sebastião(RJ)	75,4 - 254,3 (Σ HPA)	47
Baía da Guanabara (RJ)	4,2 - 192 (24HPA)	48
Mangue do Rio Juquerique	11-210 (24 HPA)	48
Reservatório Santana (Barra Pirai) Rio Paraíba do Sul RJ	1,6- 1600 (13 HPA)	49
BR-116 – Rio Guandu RJ	3- 25(4 HPA)	49
Japeri - Rio Guandu RJ	0,3-627 (7 HPA)	49
Estuário da Lagoa dos Patos(RS)	50- 11800 (23 HPA)	50
Lagoa Rodrigo de Freitas (RJ)	405- 11734 (HPA e homólogos alquilados)	51
Rio Ceará (Ceará)	96,4 – 1859,272(16 HPA)	52
Lagoa dos Patos RS	49 a 72(15 HPA)	53
Baía de Todos os Santos (BA)	8- 4163 (23HPA)	54
Reservatório do Funil RJ	2-275 (16HPA)	55
Reservatório Santana RJ	2221-26720 (16HPA)	55
Baía Guaratuba (PR)	1,5- 3130 (14HPA)	56

Como referência geral, estão reunidos no **Anexo 1** alguns valores de concentração de HPA reportados na literatura para ambientes marinhos e estuarinos em diversos locais do mundo. Também no **Anexo 1** tem-se os valores de concentração de HPA utilizados pelos três principais órgãos ambientais do Canadá e Estados Unidos (em $\mu\text{g kg}^{-1}$) para sedimentos de acordo com estudos e revisões bibliográficas realizadas pelos pesquisadores da US-EPA.

2.3 Técnicas de extração e análise de HPA

Uma variedade de métodos analíticos para análises de traços em matrizes ambientais inclui etapas que englobam desde a coleta da amostra até o registro final dos resultados. Estágios intermediários envolvem estocagem e preparação da amostra, isolamento dos analitos e suas identificações e quantificações. Nas últimas décadas, instrumentos sofisticados têm sido desenvolvidos para separação e detecção de compostos químicos em nível de traços. Neste

campo, a Cromatografia Gasosa Capilar que associa a técnica de separação de cromatografia com vários tipos de detectores, tem sido constantemente aperfeiçoada.

A eficiência de extração de HPA em solos e sedimentos pode ser influenciada por vários fatores tais como a umidade, polaridade dos solventes usados, conteúdo de HPA nas amostras e a textura de solos.^{46,52}

2.3.1 Métodos de amostragem de HPA em sedimento

Uma grande parte do sucesso das análises de laboratório em estudos ambientais depende de procedimentos adequados durante a etapa de amostragem. É muito importante a escolha do método e dos equipamentos de coleta específicos para um determinado tipo de ambiente e de análise desejada. A definição de técnicas e equipamentos amostrais depende muito do conhecimento prévio das características gerais do ambiente a ser investigado, tais como a dimensão, profundidade, tipo de sedimento, entre outras.

As técnicas de amostragem são determinadas em função dos objetivos do estudo e das características do sistema ambiental. Existem várias estratégias para o estabelecimento dos pontos de coleta. As amostras de sedimento podem ser superficiais (de interesse particular nesse trabalho) ou sub-superficiais. As amostras superficiais são aquelas que se situam no topo da coluna sedimentar ou na interface sedimento/água (em depósitos subaquáticos). Existem 3 tipos principais de amostradores: *grab*, *core* e *dredge*.⁵⁷ O amostrador *grab* (os mais usados do tipo Van Veen e Ponar) é tipicamente usado para coletar sedimentos superficiais em uma variedade de ambiente como lagos, rios, estuários, água marinha. São mais eficazes para a maioria dos sedimentos superficiais e apropriadas para a coleta de sedimentos não muito consolidados e são recomendadas para ambientes com pequena correnteza.³ A **Figura 4** apresenta um amostrador do tipo Van Veen.

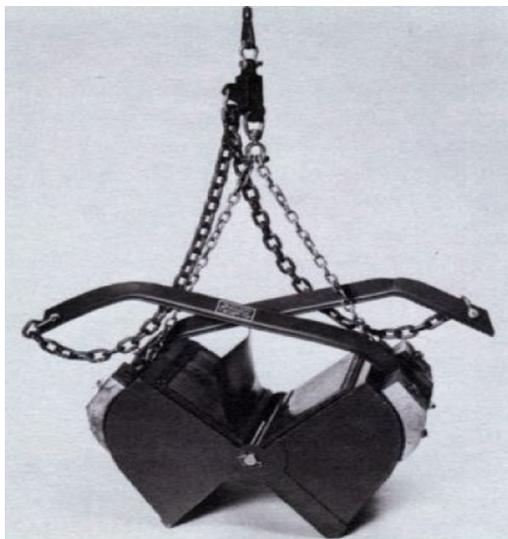


Figura 4: Amostrador tipo Van Veen

2.3.2 Métodos de secagem de sedimento para a análise de HPA

A preparação de sedimentos e matéria particulada suspensa freqüentemente inclui a secagem das amostras. Esta é alcançada por diferentes técnicas como secagem ao ar na temperatura ambiente, liofilização e a secagem química. Todos destes métodos consomem tempo e envolvem o risco de contaminação ou perda de analitos voláteis.⁵⁸

Berset e colaboradores⁵⁹ avaliaram as perdas HPA, em solos, com a técnica por secagem térmica em diferentes temperaturas (25°C, 40°C, 80°C e 105°C) e concluíram que ocorrem perdas significativas de analitos quando a temperatura excede 40 °C. Compararam também os diferentes métodos de secagem (secagem térmica - 25°C durante 5 dias, liofilização, por 40 h até a temperatura final de 25 °C e secagem química com sulfato de sódio e talco) e concluíram que a secagem térmica mostrou-se sem perdas para os compostos analisados, enquanto que na liofilização ocorre perda de compostos mais voláteis. A secagem química revelou-se similar a secagem térmica, porém com valores mais alto para o naftaleno.

2.3.3 Métodos de extração de HPA em sedimento

Várias técnicas podem ser utilizadas para a extração de HPA em sedimentos e solo.⁶⁰ Entre elas destacam-se a extração com Soxhlet, com ultra-som, com fluido supercrítico e com líquidos pressurizados. Com relação aos solventes utilizados nos métodos citados, o mais

utilizado nas extrações de sólidos é o diclorometano.⁶¹ A utilização de mistura de solventes com proporções fixas também é muito usada.

2.3.3.1 Extração com aparelho Soxhlet (SE)

A extração com aparelho Soxhlet (SE, do inglês *soxhlet extraction*) é o mais antigo e usado dos métodos para a extração de amostras sólidas.

A extração com Soxhlet é a técnica recomendada pela US-EPA (*United States - Environmental Protection Agency*) para a extração de compostos orgânicos voláteis.⁶² Tem sido o método preferido nas análises de sedimento, porque é uma técnica facilmente padronizada com altas recuperações, quando comparada com as técnicas dependentes da matriz como extração com microondas (MAE), com ultra-som (USE), com líquidos pressurizados (PLE) e especialmente a extração com fluido supercrítico (SFE).⁶³

Embora largamente usada na extração de compostos orgânicos de particulados, amostras de solo e de sedimentos, apresenta certas limitações.^{64,65} Estas restrições estão ligadas ao elevado tempo de extração e consumo de quantidade razoável de solvente. Neste processo o solvente extrai o material orgânico retido nos poros do sedimento, à temperatura ambiente, mas o material extraído permanece em contato com o solvente em ebulição.

O objetivo de reduzir o uso de solventes perigosos nos laboratórios de pesquisa tem levado pesquisadores ao desenvolvimento de novas tecnologias que usem menos solventes que este procedimento, considerado clássico.⁶⁶⁻⁶⁸

2.3.3.2 Extração com ultra-som (USE)

A extração com ultra-som (USE, do inglês *ultrasonic extraction*) faz uso da energia das ondas sonoras, que são transmitidas com frequência superior a 20,0 kHz, ou seja, acima da capacidade auditiva humana.⁶⁹

Existem dois tipos diferentes de aparelhos geradores de ondas ultra sonoras : o “banho de ultra-som” freqüentemente utilizados para a limpeza do material, extração de solos, carvão, plantas, alimentos, lamas e a sonda – normalmente utilizada em muitos campos da ciência, engenharia e medicina para testes e diagnósticos técnicos, solos.⁷⁰

No banho de ultra-som a energia ultra sonora é gerada a partir de uma cerâmica piezoelétrica colocada entre duas chapas metálicas, o que constitui o transdutor piezoelétrico. O gerador de frequência é preso diretamente no fundo da cuba do aparelho e a energia ultra-sonora

é transmitida através de um líquido, usualmente a água. A energia é irradiada verticalmente pelas ondas sonoras geradas na base do banho e transmitidas através das paredes do vaso para o frasco com a mistura extratora,⁷¹ há muita dispersão de energia ultra-sônica e, conseqüentemente, menor influência nos sistemas reacionais. É difícil o controle da temperatura do sistema, pois o equipamento tende a aquecer quando usado por longos períodos.⁷²

Dentre as vantagens do uso do ultra-som para preparação de amostras destacam-se redução do tempo de reação; redução da quantidade de solventes; seletividade; favorecimento de reações que normalmente não ocorrem em condições normais e na simplificação de sistemas reacionais o que implica na redução de custos.⁷¹

Song e et al.⁷³ compararam técnicas de extração, testando em amostras de solos e sedimentos contaminados com teores elevados e baixos de HPA. Seus resultados demonstraram que o número de anéis aromáticos, mais que os procedimentos de extração, influenciam significativamente nas razões de recuperação individual dos HPA e não há uma diferença significativa na eficiência de extração entre os quatro procedimentos adotados para amostras menos poluídas; recomenda o uso do método ultra-som para extração HPA para sedimentos pouco poluídos.

Como é reportado na literatura, muitos fatores governam a ação do ultra-som: a frequência do ultra-som, a pressão, a temperatura, o tempo de sonicação, sendo necessário otimizar estes parâmetros para a utilização desta técnica.

Banjoo e et al.⁶⁹ otimizaram a técnica com ultra-som para determinar HPA em sedimentos seco e úmidos e a compararam os procedimentos de refluxo (KOH/MeOH) e concluíram que USE com uma mistura de acetona:hexano (1:1,v/v) e utilizando 4 ciclos de quinze minutos é suficiente para extrair HPA de sedimentos úmidos.

Extração com ultra-som (método EPA-3550) é uma alternativa aprovada pela EPA⁷⁴ que é mais rápida que a extração com Soxhlet e usa menos solvente mas requer etapa de manuseio da amostra (filtração) com risco de perda de amostra e exposição de solventes.⁷⁵

2.3.3.3 Extração com líquido pressurizado (PLE)

A extração com líquido pressurizado (PLE, do inglês *pressurized liquid extraction*) ou extração acelerada com solvente (ASE, do inglês *accelerated solvent extraction*) é uma técnica de extração que utiliza solventes convencionais em elevada temperatura e pressão que pode ser aplicada a uma grande variedade de amostras.⁷⁶⁻⁷⁸

O sistema ASE foi introduzido como recurso analítico somente em 1995, modernizando significativamente a preparação de amostras ambientais sólidas ou semi-sólidas.⁷⁹

O processo de extração é realizado a temperaturas que excedem o ponto de ebulição do solvente, o que implica na manutenção de alta pressão na célula de extração para manter o solvente no estado líquido. Tanto a temperatura quanto a pressão influenciam na eficiência do processo.⁸⁰

A elevação da temperatura aumenta a solubilidade e razão de difusão e decresce a viscosidade e a tensão superficial dos solventes, isto permite uma melhor penetração nos poros e entre as partículas da matriz, obtendo-se um aumento na transferência de massa. Também desfavorece a interações soluto-matriz, causadas por forças de Van der Waals, pontes de hidrogênio, e interações de dipolo entre as moléculas do soluto e os sítios ativos da matriz.⁸¹

A PLE oferece também a possibilidade de controlar a seletividade da extração por carregar uma fase estacionária na extração da célula. A quantidade de interferentes co-extraídos podem ser reduzidos pela adição de diferentes sorventes as células do ASE. Além disso, a própria amostra também pode ser misturada e dispersada com a mesma ou com um absorvente diferentes. Assim, o método PLE evita a exaustiva limpeza dos extratos antes da análise aumentando a possibilidade de automação.⁸²

O processo de PLE consiste em várias etapas: a amostra é pesada e colocada em uma célula de extração, sendo carregada para dentro do forno (**Figura 5**) que se encontra na temperatura desejada; a célula é preenchida com solvente, em seguida ocorre uma extração no modo estático; a amostra é lavada com solvente novo (*flushing*); logo após, o sistema realiza a purga do solvente com liberação da pressão residual e, por fim, a descarga da célula. O extrato e o líquido de lavagem são coletados em frascos apropriados.⁸³

A PLE aplicada a amostras ambientais, como solo e sedimento, torna-se difícil devido à presença de misturas de diferentes espécies em níveis de concentrações diferentes. O processo de extração com temperatura e pressão elevada ocorre rápido, mas a seletividade é baixa porque não somente os analitos de interesse são solubilizados.⁸⁴

A técnica de extração com líquido pressurizado tem a vantagem de agilizar a preparação da amostra, reduzir o tempo de extração e a quantidade de solvente usada.⁸⁵ A US-EPA aceita a PLE como método oficial de extração para vários grupos de poluentes.⁷⁵

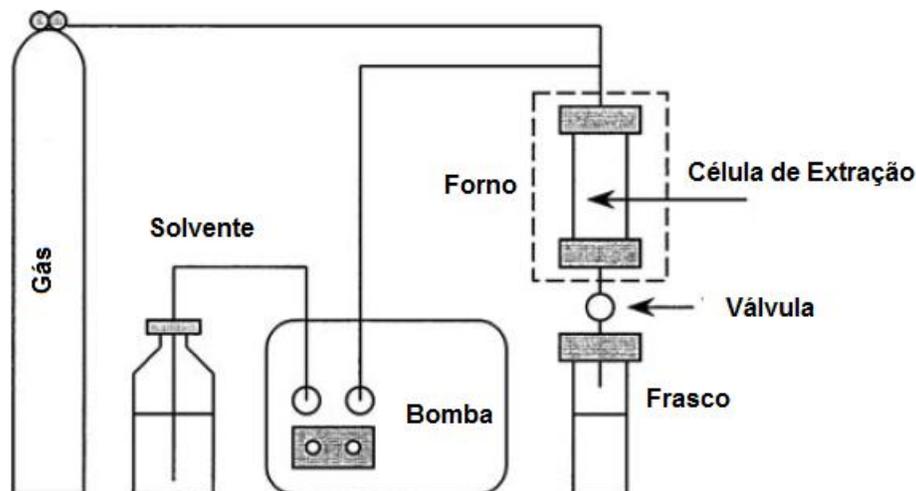


Figura 5: Representação esquemática do sistema PLE ⁸³

Alguns estudos comparativos entre PLE e técnicas convencionais, como extração com fluido supercrítico (SFE) e extração em Soxhlet, demonstraram que o desempenho de PLE é equivalente ou melhor que métodos tradicionais. ⁸⁶

Kim e et al. ⁸⁷ utilizaram PLE na extração de HPA de sedimentos e obtiveram bons resultados e concluíram que está técnica tem um reduzido tempo de análise e quase nenhum desperdício de solventes.

Burkhardt e et al. ⁸⁷ utilizaram PLE acoplada com a extração em fase sólida (SPE) para extração e fracionamento dos HPA e grupos homólogos alquilados em sedimentos. O método foi desenvolvido para reduzir o tempo de preparação da amostra, o consumo de solvente e minimizar o efeito da matriz na análise por GC-MS. Os resultados foram comparados com a extração por Soxhlet com diclorometano de material certificado. A extração dos compostos de HPA, como naftaleno e fenantreno, foi mais eficiente por PLE que por Soxhlet, possivelmente devido à maior penetração do solvente nas partículas de argila

Barco-Bonilla e et al. ⁸⁹ otimizaram a extração com líquido pressurizado para a determinação de policíclicos aromáticos em amostras de solo e compararam com a extração ultra-sônica e os extratos foram analisados por cromatografia gasosa com espectrometria de massas quadrupolo (GC- QqQ-MS/MS). Os parâmetros como tipo de solvente, tempo de extração, temperatura de extração e número de extrações foram otimizados. Não houve diferenças significativas entre os dois métodos de extração, embora melhor eficiências de extração obtidas por PLE houve minimização do tempo de extração e do consumo solvente.

2.3.4 Análise de HPA por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS).

As técnicas de análise cromatográficas e espectroscópicas são utilizadas para identificar, caracterizar e quantificar os analitos presentes na amostra de sedimentos.

As principais técnicas utilizadas são a cromatografia gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência, ambas associadas a diversos tipos de detectores que auxiliam na identificação dos HPA. Dentre as técnicas espectroscópicas destacam-se ultravioleta visível (UV-VIS), ressonância magnética nuclear (NMR), infravermelho (IR) e espectrometria de massas (MS).⁹⁰

Os analitos de baixa massa molecular e que apresentam pontos de ebulição inferiores a 300°C são analisados por cromatografia gasosa. Porém, compostos com massa molecular elevada ou que apresentam sensibilidade a altas temperaturas devem ser analisados por cromatografia líquida.⁹⁰

A espectroscopia de massas é difundida na identificação de compostos orgânicos devido à sua associação com a cromatografia gasosa e líquida.⁹¹ Na cromatografia gasosa, o analito é transportado por uma fase móvel gasosa conhecida como gás de arraste. A separação de analitos em uma coluna de separação apolar é dada na ordem crescente do ponto de ebulição.⁹²

Os compostos, eluídos na forma de um pico em cromatografia gasosa, pelo bombardeio com uma fonte ionizante (geralmente impacto por elétrons, nas versões mais simples) conseguem se fragmentar em uma grande diversidade de íons. Os íons são separados em um analisador, normalmente quadrupolar, e submetidos a um campo eletromagnético, gerando o espectro de massas do composto eluído.⁹³

Esta é uma das técnicas mais sensíveis e versáteis para análise de compostos voláteis. Pode-se obter o espectro de massas de cada composto (modo SCAN ou de varredura) permitindo a sua identificação. Também se pode aumentar a sensibilidade e, assim, promover a quantificação e a seletividade do processo usando-se o método SIM (*Single Ion Monitoring*) ou monitoramento seletivo de íons no qual apenas alguns íons específicos de determinados compostos são monitorados.

2.3.5 Análise de HPA por cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC)

2.3.5.1 Aspectos gerais da GC×GC

A cromatografia gasosa monodimensional (1D-GC, “*One-Dimensional Gas Chromatography*”) usa colunas capilares que oferecem alta capacidade de picos, entretanto esta

técnica falha quando aplicada à separação total de todos os constituintes individuais de amostras de matrizes muito complexas.⁹⁴

Nos últimos anos surgiu a cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC, “*Comprehensive Two-dimensional Gas Chromatography*”), que tem se mostrado uma técnica eficiente de separação e identificação de amostras complexas.^{95,96} A cromatografia multidimensional abrangente é uma técnica relativamente nova dentre as técnicas de separação e que tem experimentado rápido desenvolvimento em várias partes do mundo apresentando, também no Brasil, excelentes perspectivas de crescimento.⁹⁷

A GC×GC é uma técnica desenvolvida para aumentar a capacidade dos processos de separação dos picos cromatográficos. Esta técnica foi introduzida, em 1991, por Liu e Phillips e combina duas colunas com diferentes mecanismos de separação.^{97,98} A **Figura 6** ilustra as principais etapas de separação por GC×GC. No processo, a amostra é separada primeiramente em uma coluna capilar de alta resolução contendo uma fase estacionária normalmente não polar, em um processo sob temperatura programada. O efluente passa por um processo de modulação e, então é submetido à outra separação em uma coluna na segunda dimensão, que é mais curta, de menor diâmetro e mais polar que a primeira.⁹⁸ Conseqüentemente a separação na segunda coluna é bastante rápida (3 a 10 segundos) e eficiente, ocorrendo o fracionamento completo da amostra eluída, sem aumento significativo do tempo total de análise em relação a uma separação por 1D-GC.^{99,100} Para satisfazer esta necessidade, colunas capilares com diâmetro de 0,1 mm e um filme com espessura de 0,1 µm são normalmente usadas.¹⁰¹

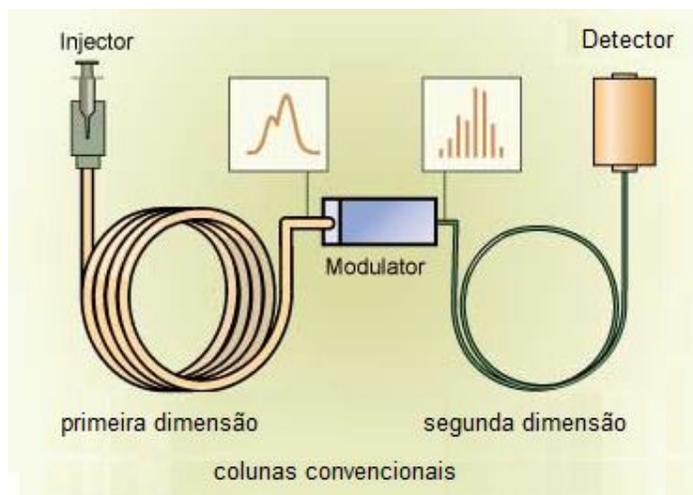


Figura 6: Representação esquemática do sistema GC×GC¹⁰²

Beens et al ¹⁰³ enfatizaram o potencial e a praticidade da técnica de GC×GC para a análise de amostras ambientais contendo misturas complexas de compostos orgânicos. GC×GC é uma técnica versátil que pode ser aplicada praticamente a todas amostras e classes de analitos submetidos a cromatográfica gasosa.

2.3.5.1.1 Moduladores

O elemento chave do sistema GC×GC é o modulador, que acumula continuamente pequenas frações do eluato da primeira coluna, reconcentra-as em uma banda estreita, e introduz cada fração modulada na segunda coluna a intervalos rápidos (períodos de modulação). ¹⁰⁴⁻¹⁰⁶ Os moduladores podem ser classificados em três tipos, de acordo com o seu princípio operacional. ¹⁰⁷ Dentre eles destacam-se os moduladores criogênicos baseados em jatos frios, nos quais o resfriamento é feito através de jatos de dióxido de carbono ou nitrogênio líquidos diretamente lançados no início da segunda coluna. O resfriamento é usado quase que exclusivamente para criar a exigida diferença de temperatura de retenção/liberação. ¹⁰⁸ Dentre os moduladores criogênicos de jatos destaca-se o *quad jet* (duplo jato frio e duplo jato quente) gerando duas armadilhas criogênicas em série denominadas de estágios pelos fabricantes. ¹⁰¹ A **Figura 7** ilustra o diagrama do modulador criogênico com duplo jato frio e duplo jato quente (*quad jet*). Os jatos frios e quentes são fornecidos por pulsos de N₂ (resfriamento por N₂ líquido) e ar aquecido, respectivamente.

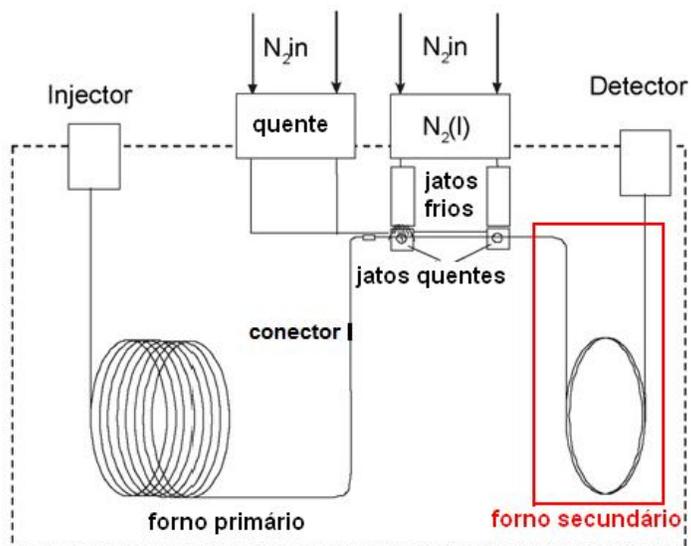


Figura 7: Representação esquemática do sistema GC×GC com modulador criogênico com duplo jato frio e duplo jato quente (*quad jet*). Adaptado de ¹⁰⁸

A **Figura 8** apresenta o processo de modulação gerado pelo modulador térmico de dois estágios.

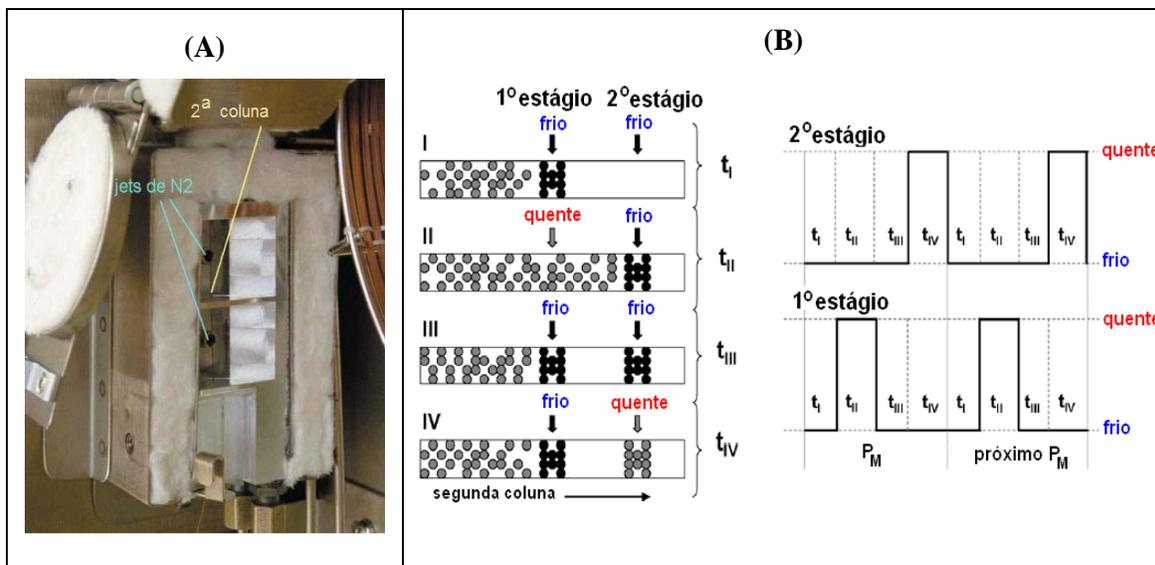


Figura 8: (A) Imagem do modulador; (B) Representação dos estágios do modulador térmico. ¹⁰¹

Este modulador opera em quatro etapas distintas: I – no primeiro estágio há o aprisionamento da banda proveniente da primeira coluna pela ação do jato frio; II – liberação dos analitos concentrados no primeiro estágio para o segundo estágio através do pulso quente; III – o segundo estágio continua retendo os analitos, enquanto no primeiro estágio ocorre novamente aprisionamento da banda cromatográfica; IV – no segundo estágio ocorre a liberação do analito amostrado para a coluna da segunda dimensão através do jato quente. A duração de cada etapa está representado na **Figura 8** pelo tempo t_I a t_{IV} . A soma dos valores para t_I e t_{II} é a metade do período de modulação (P_M). ¹⁰¹

Cavagnino et al. ¹⁰⁹ desenvolveram um método analítico para determinação de HPA em óleo diesel usando um sistema GXGC-FID com modulador criogênico de duplo jato e um novo sistema de injeção para grandes volumes de amostra, o que aumenta a sensibilidade do sistema e a sua eficiência foi comprovada pelo uso de uma mistura certificada de HPA em óleo diesel. A identificação dos compostos da mistura e os resultados quantitativos foram compatíveis com os dados certificados.

O tempo de um ciclo completo de modulação corresponde ao período de modulação (P_M), este deve ser ajustado a fim de ser compatível com o tempo de separação na segunda coluna, minimizando o alargamento da banda comprimida. Desta forma, a sensibilidade é incrementada e a resolução aumentada de forma expressiva se comparada à cromatografia gasosa monodimensional. ^{84, 110}

Begnaud et al.¹¹¹ buscaram entender melhor a captura e liberação de compostos ao longo de um vasto leque de volatilidades através de um número de diferentes configurações constantes da temperatura do modulador, e analisaram também um diferencial de temperatura entre o *cryo-trap* e forno cromatográfico. Estas investigações levaram os autores a modificar a capacidades de regulação da temperatura do sistema criogênico modulado longitudinalmente (LMCS), em contraste com o sistema atual, onde o usuário define uma temperatura constante para a câmara de resfriamento. O usuário agora define a diferença de temperatura entre o *cryo-trap* e o forno cromatográfico. Nesta configuração, a temperatura da câmara de resfriamento aumenta durante a corrida cromatográfica, acompanhando a rampa de temperatura do forno.

Este procedimento é mais eficiente, deixando a modulação dependente da volatilidade e amplia a gama de compostos voláteis que podem ser analisados sob condições ideais de aprisionamento e de liberação em uma única corrida analítica. Este sistema reduz também consumo de líquido criogênico.

2.3.5.1.2 Ortogonalidade

Ortogonalidade refere-se a associação de colunas de diferentes seletividade¹¹² Geralmente, uma coluna apolar, ou de baixa polaridade, é escolhida para primeira dimensão e uma coluna com fase estacionária polar, ou de média polaridade, é usada na segunda dimensão. Esta configuração leva a mecanismos de separação independentes para separações sob programação de temperatura.

O fator de retenção (k) de um composto em cromatografia gasosa está relacionado com sua pressão de vapor (P_v) e seu coeficiente de atividade na fase estacionária. Na separação monodimensional em coluna apolar, os coeficientes de atividades são aproximadamente iguais a um devido à falta de interações específicas, logo a retenção só depende da pressão de vapor dos compostos, portanto os solutos são separados de acordo com o seu ponto de ebulição usando um gradiente de temperatura. A separação na segunda dimensão pode ser considerada como isotérmica, uma vez que leva apenas alguns segundos. Assim para um ciclo de modulação, a separação 2D, é realizada a temperatura constante correspondendo a temperatura a que os solutos são re-injetados na segunda coluna.

Ortogonalidade da coluna não resulta necessariamente em promover uma ótima resolução cromatográfica, mas oferece a melhor oportunidade para o uso máximo da informação disponível do espaço de separação, e é somente através do instrumental correto que ortogonalidade pode ser explorada.¹¹³

A eficiência de separação não é dependente somente do mecanismo de separação e das propriedades dos solutos, mas também das condições de separação, tais como da seleção adequada das colunas relativa à razão de fase (β) dimensões da coluna, fluxo do gás carreador e da temperatura.¹¹⁴

Embora a ortogonalidade não seja o objetivo específico, através dela consegue-se ordenar e agrupar as estruturas dos compostos em um cromatograma de GC×GC, isto ocorre devido às similaridades das propriedades físico-químicas dos compostos, sendo os cromatogramas estruturados uma ferramenta muito valiosa.¹¹⁵

Dallüge et al.¹¹⁶ mencionaram que em princípio, os resultados obtidos numa separação GC×GC por uma combinação de colunas apolar × polar não serão encontrados utilizando uma combinação de colunas polar × apolar ou polar × polar. Nestas últimas combinações mencionadas, o resultado da primeira separação irá depender de uma mistura de efeitos de volatilidade e polaridade. Como consequência, a separação na primeira e segunda dimensão não será independente.

Um fenômeno que pode perturbar a distribuição ordenada de compostos assemelhados em grupamentos no espaço 2D é a ocorrência de picos fora de ciclo (*wrap around peaks*). Um pico fora de ciclo corresponde a um composto cujo tempo de retenção na segunda coluna é maior do que o período de modulação.

2.3.5.1.3 Interpretação dos dados

Para a GC×GC, um segundo cromatograma é gerado em cada ponto na primeira dimensão,¹¹⁷ e o resultado é de fato uma superfície no espaço tridimensional, no qual dois eixos representam os tempos de retenção do soluto na primeira e segunda coluna, respectivamente, enquanto que o terceiro representa a resposta do detector.

O funcionamento da GC×GC pode ser observado na **Figura 9**, onde se tem no cromatograma monodimensional co-eluição de três compostos.

Na primeira etapa ocorre a modulação do efluente da primeira coluna, onde é obtida uma série de cromatogramas rápidos. Na segunda etapa, estes cromatogramas são empilhados através de *softwares* e transformados em um diagrama, com uma dimensão representando o tempo de retenção na primeira coluna e a outra, o tempo de retenção na segunda coluna. Na terceira etapa se faz a visualização dos compostos presentes na amostra através de diagramas de cores, de contorno e também tridimensional.¹¹⁶

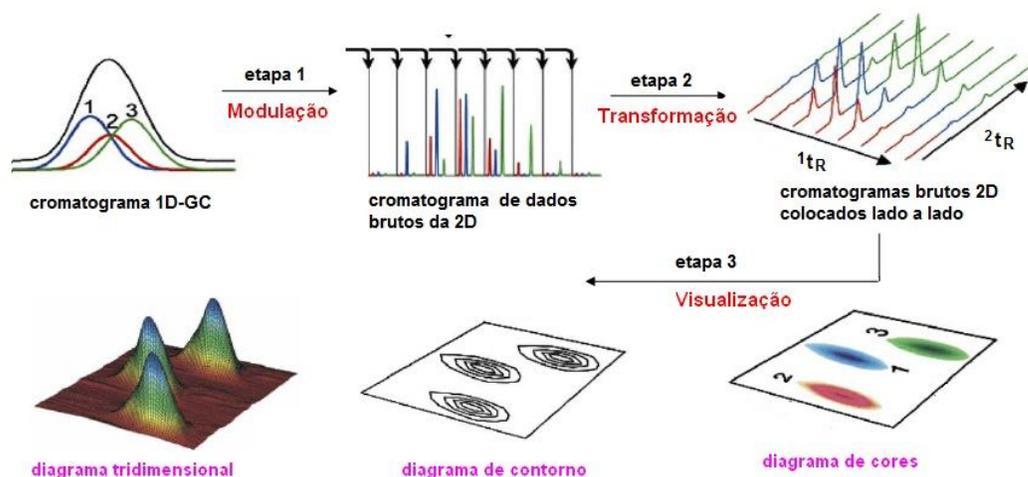


Figura 9. Esquema geral da construção da representação gráfica gerada por um sistema cromatográfico bidimensional abrangente.¹¹⁶

Sob o aspecto qualitativo, os cromatogramas de GC×GC têm uma característica única e poderosa, ausente na cromatografia convencional, que é a chamada estruturação ou orientação. Picos de substâncias relacionadas estruturalmente como séries homólogas definidas, isômeros de cadeia ou de posição aparecem agrupados em regiões claramente definidas como resultado de suas interações com a fase da segunda coluna.¹¹⁹

Dada a grande capacidade de resolução da GC×GC, o número de picos detectáveis tende a ser muito maior do que em cromatogramas convencionais e a presença de estruturação pode ser de grande valia na identificação dos analitos.¹¹⁹

A quantificação em GC×GC depende da medida da área dos picos detectados, ou seja, do seu volume, já que eles são definidos em três dimensões ($\text{sinal} \times {}^1t_R \times {}^2t_R$). A forma mais simples de integração de picos tridimensionais de GC×GC é a soma das áreas dos picos modulados usados para construir o diagrama tridimensional, o que tem que ser realizado por *softwares* específicos.

2.3.5.1.4 Detectores

As bandas cromatográficas em sistemas GC×GC são mais estreitas que as da cromatografia convencional, exigindo detectores com resposta rápida e com pequenos volumes internos, curto tempo de detecção e alta aquisição de dados.¹¹⁶

O detector cromatográfico mais usual é o Detector de Ionização de Chama (FID, *Flame Ionization Detector*), com volumes internos desprezíveis e possibilidade de taxas de coleta de até

200 Hz¹²⁰ e assim seu uso tem sido quase universal em GC×GC. Em GC×GC, o FID é utilizado como ferramenta para quantificação¹²¹ associado ou não a GC×GC/MS ou GC×GC/TOFMS.^{122,123} Os resultados obtidos com FID podem ser utilizados para a identificação de picos, devido à relação existente entre a estrutura química e a retenção no espaço cromatográfico bidimensional.¹²⁴ O potencial de identificação e diagnóstico do sistema GC×GC/FID tem sido muito aplicado para análise de amostras ambientais.¹²⁵

Os espectrômetros de massa com analisadores quadrupolares (qMS, *quadrupole mass detector*) não permitem a coleta de mais de 10 espectros por segundo, sendo muito lentos para as bandas cromatográficas estreitas de GC×GC, embora monitorando apenas alguns íons possa-se aumentar consideravelmente a frequência de coleta.¹²⁶ A quantificação por GC×GC/qMS tem sido investigada devido ao limitado número de pontos necessários para definir um pico. Cordero et al¹²⁷ comparam o número de pontos por pico obtidos através da varredura entre os valores de *m/z* 40-240 e pelo modo de monitoramento de íons selecionados. Foram obtidos, para os dois modos de aquisição, uma média de 14 pontos por pico, que foi considerado um número pequeno para a quantificação dos compostos, assim o detector qMS foi preterido em relação ao FID devido ao maior número de pontos, maior robustez e faixa linear. A importância da combinação entre GC×GC e detectores de MS foi resumida em uma recente revisão.¹²⁸ Entretanto, recentes avanços instrumentais têm sido obtidos no sentido de tornar mais rápida a varredura do espectrômetro de massas quadrupolar, permitindo a sua utilização em GC×GC.

A Espectrometria de Massas com Tempo de Vôo (TOFMS, *Time of Flight Mass Spectrometry*) tem sido utilizada na detecção em GC×GC, pois permite a coleta de até 500 espectros de massa por segundo e a identificação e confirmação de analitos, o que não pode ser realizado com outros detectores.^{106, 126} Os analisadores de TOFMS, baseados no fato de que após aceleração uniforme na fonte iônica, os íons chegam ao detector numa razão inversamente proporcional à sua massa, são instrumentos com detector multicanal que medem a intensidade de todos os *m/z*, na faixa de massas selecionadas, simultaneamente. Devido a sua elevada taxa de extração de íons e a detecção simultânea de todos os íons, que garante a ausência de deformação espectral ao longo do pico, o TOFMS permite, mesmo em perfis de co-eluição, a utilização de algoritmos de deconvolução espectral e a localização de determinados íons de interesse, bem como a apresentação de cromatogramas 2D de corrente iônica total (TIC, *total ion current*) e de cromatogramas 2D de íon extraído. A **Figura 10** ilustra combinação do poder de resolução cromatográfica da GC×GC com o poder de resolução analítica (uso de deconvolução para resolver as co-eluições na faixa espectral cromatográfica) do TOFMS permitindo resolver casos de misturas complexas de compostos.¹²⁹

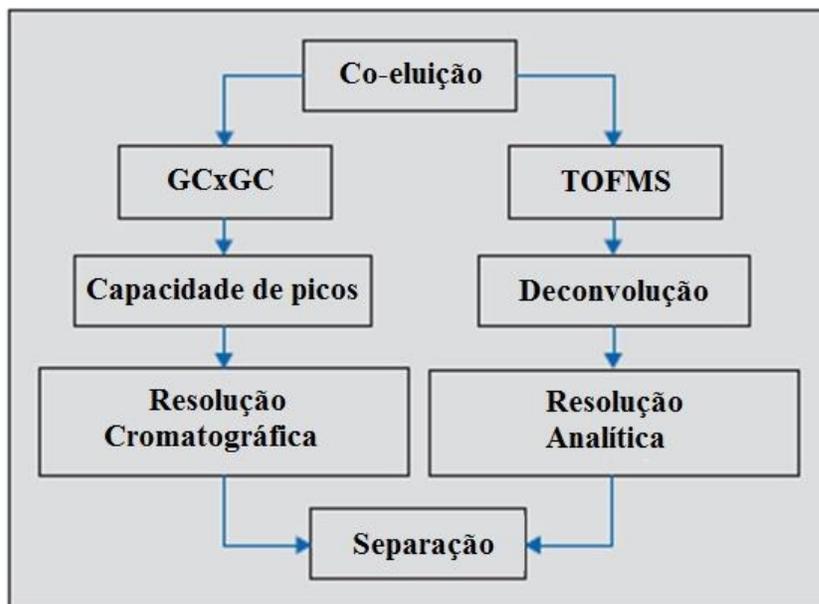


Figura 10: Representação esquemática da separação dos compostos que co-eluem utilizando um sistema de GC×GC/TOFMS ¹²⁹

A capacidade do GC×GC para resolver misturas complexas dos analitos tem sido bem sucedida quando aplicada no campo ambiental. Ong e et al ¹³⁰ compararam as técnicas de GC×GC/FID, GC/FID e GC/MS para determinação quantitativa de 24 HPA em amostras de solo. Todos os compostos foram identificados e quantificados por GC×GC nos extratos de solo, com exceção de dois pares de HPA: indeno(cd)pireno/dibenzo(a,c)antraceno e benzo(b)fluoranteno/benzo(k)fluoranteno nas condições cromatográficas empregadas. Observaram que a GC×GC apresentou os melhores resultados relativamente à separação e quantificação, para o mesmo tempo de análise. Entretanto, especialmente para os compostos de maior massa molecular, a recuperação foi mais baixa do que aquela obtida por GC/MS. Contudo os autores associaram a baixa recuperação ao sistema cromatográfico, especialmente na região onde ocorre a transferência dos analitos entre as duas colunas, e também a algumas limitações quanto ao sistema de dados utilizado para a integração dos picos. Segundo os autores, a GC×GC/FID demonstrou ser uma técnica alternativa robusta, que apresenta melhor precisão que a cromatografia gasosa monodimensional (1D-GC) e os resultados demonstraram que a associação da PLE (*pressurized liquid extraction*) e GC×GC consiste em uma ferramenta de grande potencial para a análise de poluentes em amostras ambientais.

Hyötylainen e et al. ¹⁰⁴ conduziram os experimentos para a análise quantitativa de HPA e BPC (bifenilas policloradas) em uma amostra certificada de solo, a fim de comprovar a eficiência do modulador criogênico de duplo jato com dióxido de carbono, desenvolvido por

eles. Os HPA e BPC foram separados em apenas uma corrida. Os resultados obtidos pelo método GC×GC desenvolvido foram compatíveis com valores certificados. Os índices de recuperação dos HPA ficaram em torno de 87 %, porém os compostos mais pesados não puderam ser quantificados. Os resultados de baixa recuperação para os HPA por GC×GC, ligeiramente menores que os valores certificados, foram atribuídos a perdas durante o fracionamento.

Em comparação com a cromatografia convencional, o método GC×GC demonstrou um aumento na sensibilidade e otimizou a separação de HPA apolares dos menos apolares. Segundo os autores os picos identificados com modulação foram em média de 17 vezes maiores para os HPA.

Muitas vezes a literatura relata que no sistema GC×GC, a corrida monodimensional (1D-GC) pode ajudar a reduzir consideravelmente a necessidade de limpeza da amostra. Kallio et al.¹³¹ estudaram este detalhe para a determinação de HPA em sedimento. Os resultados obtidos para sedimentos em extratos brutos e extratos limpos por meio de LC foram avaliados com base no desempenho analítico. Observaram que quando a quantidade da matriz aumenta, a largura e a assimetria do pico e a resolução não foram afetadas sensivelmente, porém, a repetibilidade dos tempos de retenção, as áreas ou os volumes dos picos decrescem. A quantificação da área do pico tende a subestimar traços HPA, especialmente para as amostras não-limpas.

Morales –Núñez et al.¹³² usaram GC×GC/TOFMS com um modulador criogênico para separar e identificar poluentes orgânicos presentes em sedimentos marinhos coletados na saída de uma planta de tratamentos de esgoto urbano. Todos os analitos foram identificados e facilmente localizados no diagrama de contorno, devido à grande estabilidade dos tempos de retenção em ambas as dimensões.

Dalluge et al.¹¹⁶ analisaram um extrato de uma amostra de sedimento do rio Vistula (Polônia) por GC×GC/TOFMS com uma coluna DB-1 na primeira dimensão e uma coluna BPX-50, polar na segunda dimensão. Um grande número de hidrocarbonetos saturados foram detectados bem como muitas substâncias identificadas tentativamente como compostos de 2 ou 3 anéis benzênicos não condensados e *clusters* de alquil substituintes de HPA de 1 a 6 anéis. Como esperado, os tempos de retenção de HPA na segunda dimensão aumentam com o número de anéis aromáticos.

O maior benefício da GC×GC nas análises ambientais é a melhora nas análises de traço pelo aumento da sensibilidade e a resolução de compostos alvos da co-extração de impurezas e interferentes.

3. EXPERIMENTAL

3.1 Solventes e Reagentes

Para desenvolvimento da metodologia foi utilizada uma mistura de padrões dos 16 Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos (HPA), classificados como poluentes prioritários pela EPA,¹³³ adquiridos da Supelco (99,99%, Bellefonte, USA), e padrões de HPA deuterados da Ultra Scientific Analytical Solution (North Kingstown, RI, USA). Todos os demais reagentes e solventes empregados neste trabalho foram grau p.a., marca Merck, sendo os solventes, bidestilados. Foram utilizados padrões sólidos de fenantreno, pireno e benzo(a)pireno (Aldrich Chemical Company, Inc. de Milwaukee, USA) na preparação das misturas sintéticas.

Outros materiais empregados foram: sílica gel 60 (Merck, Darmstadt, Germany), com tamanho de partículas entre 0,063 a 0,200 mm (70- 230 mesh ASTM), terra de diatomáceas Celite 545 (Labsynth, Diadema, São Paulo), alumina neutra (tipo 507, 70-290 mesh ASTM, Fluka AG, Switzerland.), grânulos metálicos de cobre com diâmetro médio de 0,9 mm e sulfato de sódio anidro grau analítico (Merck, Damstadt, Alemanha). Cartuchos de celulose para a extração em Soxhlet (20 mm d.i. e 80 mm comprimento) foram adquiridos da Whatman (Reino Unido).

3.2 Limpeza e Silanização da Vidraria

Todos os materiais empregados para o desenvolvimento deste trabalho, como vidraria, pérolas de vidro, células de extração, etc, foram limpos com água e detergente comum, enxaguados com água corrente, depois com água destilada, acetona e heptano. A seguir foram colocados em forno a 400°C por 30 minutos, com exceção do material volumétrico, que foi seco ao ar.

Para a silanização da vidraria, esta foi lavada com uma solução de Extran alcalino a 5% (Merck, Rio de Janeiro, BR), a fim de eliminar qualquer resíduo orgânico. O material foi então enxaguado em água corrente, água destilada, acetona e heptano. A secagem foi feita em estufa a 105°C por 30 minutos, com exceção do material volumétrico, que foi seco à temperatura ambiente. Os frascos foram preenchidos com a solução a 10%,v/v do agente silanizante (diclorodimetilsilano) em tolueno (Acros Organics, New Jersey, USA), os quais permaneceram em contato com esta solução por uma noite. Posteriormente foram enxaguados com tolueno e

metanol e sua secagem foi realizada como descrito anteriormente neste item. Os mesmos frascos foram armazenados envoltos em papel de alumínio até sua utilização.

3.3 Tratamento das fases sólidas e outros materiais

A sílica, a alumina, o sulfato de sódio e a celite foram colocados em cápsula de porcelana coberta com papel de alumínio perfurado e foram aquecidos em estufa a 400°C, durante 4 horas. Posteriormente, foram armazenados em frascos de vidro e estocados em dessecador sob vácuo, a fim de evitar absorção de água e de interferentes orgânicos. Antes da utilização da sílica, essa foi reativada em estufa a 200°C por 4 horas e resfriada em dessecador. Esta fase sólida permanece em condições adequadas de ativação por 2 dias.¹³⁴

Para a extração com líquido pressurizado foram utilizados cartuchos feitos de papel de filtro os quais foram extraídos em banho de ultra-som, por 30 minutos, com acetona e depois com hexano, para garantir a retirada de quaisquer impurezas presentes nesses materiais. O algodão usado em alguns procedimentos, como no preparo de colunas, também foi submetido ao mesmo processo de purificação.

Para retirar o enxofre, eventualmente presente nas amostras de sedimento, foram usados grânulos de cobre os quais foram previamente tratados de acordo com o seguinte procedimento: A um béquer contendo 5,0 g de cobre (grânulos metálicos com diâmetro médio de 0,9 mm) adiciona-se ácido clorídrico concentrado até que todo cobre fique imerso no ácido. Após alguns segundos de agitação, o béquer é deixado em repouso por um minuto, quando então o ácido é descartado. Esta operação é repetida até que o cobre fique com aspecto brilhante. Ao final, adiciona-se metanol até cobrir o cobre, promove-se a agitação e posterior repouso por 1 minuto. O metanol é retirado e são realizadas 3 lavagens com acetona e posteriormente com diclorometano.¹³⁴

3.4 Preparo das Soluções Padrão

Para as análises foram preparadas soluções estoque a 200 mg L⁻¹ em diclorometano a partir de mistura padrão disponível comercialmente em ampolas, contendo os 16 HPA (2000 µg L⁻¹). A partir desta solução estoque foram feitas as soluções de trabalho (1,0 a 10,0 mg L⁻¹), que foram armazenadas em ampolas de vidro âmbar a -4°C. A solução estoque de bifenila (padrão interno) foi preparada a uma concentração de 1000 µg L⁻¹ e a partir desta, foram feitas as soluções de trabalho. Para soluções sintéticas foram preparadas soluções estoque de

1000 mg L⁻¹ pesando-se os compostos em frascos individuais em balança analítica de precisão e dissolvendo-os em diclorometano. A partir destas soluções foram preparadas soluções de trabalho (10 mg L⁻¹ e 1 mg L⁻¹), as quais foram armazenadas em ampolas de vidro âmbar a -4°C,

Para o estudo e recuperação dos HPA deuterados foi preparada uma solução estoque de 200 mg L⁻¹ em diclorometano, a partir de uma mistura padrão contendo fenantreno-d₁₀; criseno-d₁₂ e perileno-d₁₂. A partir desta solução estoque foram feitas as soluções de trabalho (1 a 10 mg L⁻¹), as quais foram armazenadas em ampolas de vidro âmbar a -4°C.

3.5 Coleta e Caracterização Inicial dos Sedimentos

A etapa de coleta foi realizada em fase única com auxílio de um amostrador Van Veen. Algumas etapas da coleta dos sedimentos estão demonstradas na **Figura 11**.



Figura 11: Ilustração do procedimento de coleta das amostras de sedimento com amostrador tipo Van Veen

Foram amostrados apenas 5 cm superficiais do sedimento. Em cada ponto de amostragem, foi repetido o procedimento de retirada do material do fundo do leito ao menos 5 vezes, em locais não coincidentes. O material em contato com as bordas do amostrador e a

camada superior do sedimento foi, sistematicamente, descartado. O sedimento foi acondicionado em frascos de vidro protegidos com papel de alumínio e previamente identificados, mantidos em caixa de isopor com gelo até serem conduzidos ao laboratório. Os sedimentos foram resfriados (-4°C) até posterior processamento.

Os sedimentos da Barragem Santa Bárbara foram coletados no ponto 1, localizado na Sanga da Barbuda, em fevereiro de 2007 (**Figura 12.a**), enquanto os sedimentos dos pontos 2 e 3 foram coletados na praia do Laranjal (na Lagoa e Barra, respectivamente), que é uma região de água doce usada para banho, pesca e lazer, em maio de 2008 (**Figura 12.b**). Suas descrições detalhadas estão apresentadas na **Tabela IV** e suas exatas posições foram determinadas por medidas em um equipamento de GPS (modelo Garmin & Trex®) com precisão de ± 15 m.

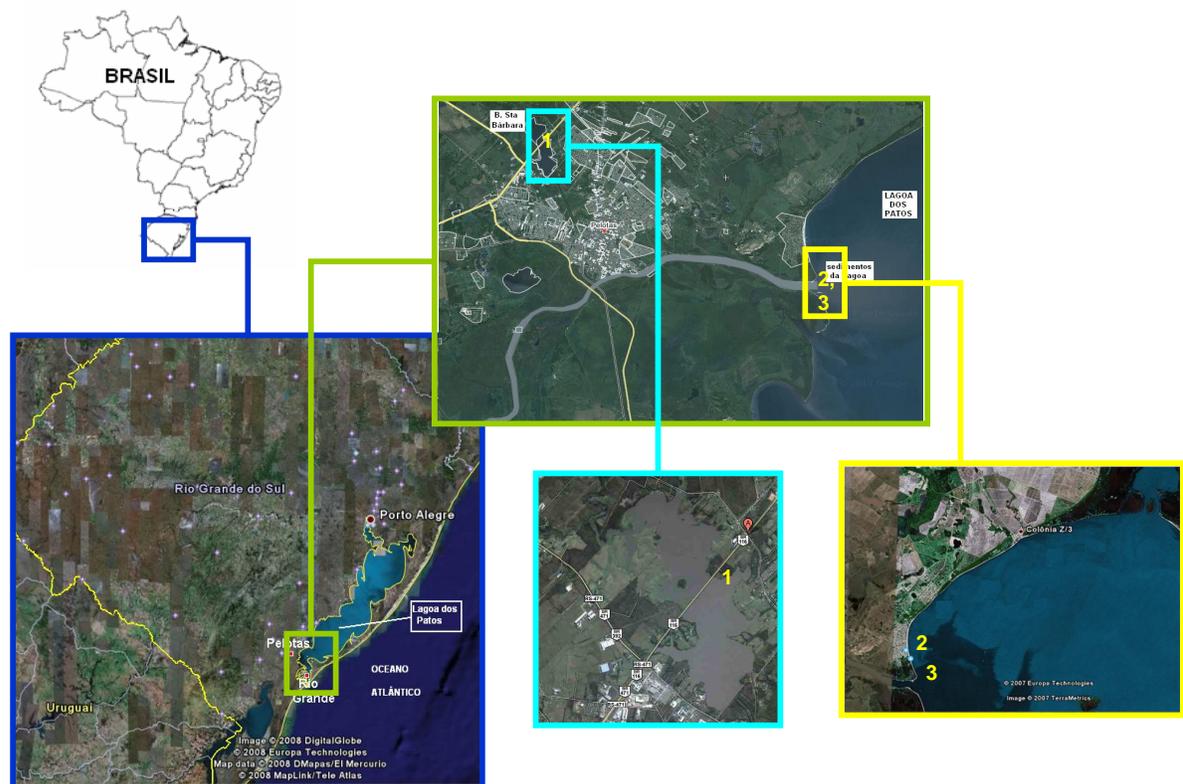


Figura 12: Mapa com a localização dos pontos de amostragem de sedimentos

Tabela IV: Coordenadas para a localização dos pontos de amostragem de sedimentos

ponto	local	latitude	longitude
1	Barragem Santa Bárbara	S31°42'57''	O52°22'43''
2	Lagoa	S31°76'44,4''	W52°19'19,9''
3	Barra	S31°78'92,9''	W52°21'57,2''

Os sedimentos coletados foram primeiramente caracterizados quando à granulometria, teor de umidade e teor de matéria orgânica.

Análise Granulométrica: Uma alíquota da amostra bruta foi encaminhada para análise granulométrica no Laboratório de Sedimentologia da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), seguindo a norma técnica NBR 7181/1982.¹³⁵ Os métodos utilizados foram de peneiramento para os sedimentos grosseiros e de pipetagem para sedimentos finos, classificando os tamanhos de grãos de acordo com a escala de Wentworth.¹³⁶

Teor de Umidade: Foram colocados 10 g da amostra de sedimento *in natura* em uma cápsula de porcelana previamente tarado, e levado à estufa a 100-110°C por 24 horas.¹³⁷ Após esse período, o sedimento foi resfriado em dessecador e pesado. Este procedimento foi repetido até se obter massa constante. A porcentagem de umidade foi calculada pela diferença entre a massa inicial de amostra e a massa de material seco após a queima, dividida pela massa inicial, multiplicada por 100. As análises foram feitas com três repetições, tomando-se a média como valor final.

Teor de Matéria Orgânica: O teor de matéria orgânica das amostras foi determinado por calcinação, empregando-se 2 g de sedimento em forno a 550°C, por 4 horas.¹³⁷ Após a queima total da matéria orgânica, o material inorgânico residual foi transferido para um dessecador. O teor de matéria orgânica (% MO) nas amostras foi calculado pela diferença entre a massa inicial de amostra e a massa de sedimento após ser submetido à combustão, dividida pela massa inicial, multiplicada por 100. As análises foram feitas com três repetições, tomando-se a média como valor final.

Alternativamente e para efeito de validação da metodologia, foram preparadas duas amostras contaminadas propositalmente com petróleo, usando-se para isso o ponto 3 (conforme **Figura 12 e Tabela IV**).

Procedimento para a primeira amostra contaminada: A 20 g de sedimento, colocados em frasco erlenmeyer, foram fortificados com 1,6 g de petróleo (2 mL), sendo deixado descoberto, em capela, por 7 dias. Esta amostra foi denominada sedimento 3B.

Procedimento para a segunda amostra contaminada: A 20 g de sedimento, colocados em um erlenmeyer, foram adicionados 60 mL de água, do mesmo ponto de coleta, e 1,6 g de petróleo (2 mL), agitado vigorosamente deixado em capela também por 7 dias. Após este período, a água foi removida e o sedimento foi submetido ao processo de extração. Esta amostra foi denominada sedimento 3C. O sedimento do ponto 3 sem qualquer contaminação inicial foi denominado, então, 3A.

3.6 Procedimentos de Extração

Todas as amostras de sedimentos, contaminados propositalmente ou não, foram secas a 30°C em estufa, segundo Berset et al.,⁵⁹ e estocadas em dessecador até sua utilização. A classificação granulométrica foi realizada apenas para caracterização da amostra, mas não para o preparo da mesma e para posterior extração. A presença de enxofre elementar nas amostras de sedimentos e, conseqüentemente, nos extratos que serão injetados no cromatógrafo gasoso, pode danificar a fase estacionária da coluna. Por esta razão, foi necessário procedimento prévio para a remoção do enxofre das amostras. O enxofre presente no sedimento é retido sobre grânulos de cobre, através da formação de sulfeto de cobre.

3.6.1 Extração com Soxhlet (SE)

A extração dos analitos dos sedimentos da Lagoa e Barra (pontos 2 e 3) foi realizada utilizando extrator de Soxhlet de acordo com o método EPA 3540. Foram utilizadas 20 g de sedimento úmido dos pontos 2 e 3 misturados com 20 g de Na₂SO₄ anidro. Estas amostras foram extraídas com uma mistura de acetona e hexano (1:1, v/v) por 16 horas. Grânulos de cobre foram adicionados ao balão de extração.

3.6.2 Extração com Ultra-som (USE)

Utilizou-se um aparelho de ultra-som (tipo banho) modelo Fischer Scientific - FS 14H, com potência de 90 W, frequência de 40 kHz, intensidade de radiação de 0,27 W/cm² e com as seguintes dimensões do banho: 24 cm x 14 cm x 10 cm. O método empregado foi o número EPA 3550.

Cerca de 10 g de sedimento da Barragem (sedimento 1) e 10 g de sulfato de sódio anidro foram misturados e colocados em erlenmeyer, para extração com 100 ml de solvente (mistura hexano: acetona, 1:1, v/v) no banho de ultra-som. A abertura do erlenmeyer foi protegida com papel alumínio, perfurado para a saída de vapores. Foram realizados 3 ciclos de extração, cada um de 30 minutos. Nos primeiros 15 minutos do primeiro ciclo, a extração ocorreu com 50 mL de acetona; no restante do tempo (15 minutos) foram adicionados 50 mL de hexano. No segundo e terceiro ciclos, foram adicionados 100 mL da mistura hexano/acetona (1:1, v/v). Os extratos foram recolhidos em um mesmo erlenmeyer e concentrados em evaporador rotatório.

Posteriormente, foram acondicionados em frascos de vidro, evaporados em fluxo suave de nitrogênio até a secura, pesados e armazenados até a análise em lugar fechado e ao abrigo da luz.

3.6.5 Extração com Líquido Pressurizado (PLE)

Usou-se o método EPA 3545¹³⁸ com extrator modelo ASE-300TM (Dionex, Sunnyvale, CA, USA). Foram utilizadas células de aço inoxidável para extração, com capacidade máxima de 34 mL e frascos de vidro com capacidade de 250 mL, empregando-se sedimentos secos marcados com padrões deuterados em uma concentração de 200 ng/g de sedimento. Trabalhos anteriores do Laboratório de Química Analítica Ambiental e Oleoquímica da UFRGS descrevem detalhadamente esta técnica.¹³⁹

A condição experimental adotada neste trabalho foi escolhida dentro da margem recomendada no método EPA 3545: 10 g de amostra (em base seca), extração a 100°C durante 5 minutos (extração estática) por 3 ciclos, usando 1500 psi de pressão, 60 segundos de purga e a mistura de hexano e acetona (1:1, v/v) com 100 % de preenchimento da célula como solventes extratores. Como agente secante foi usada Celite 545 uma vez que a acetona pode solubilizar o sulfato de sódio anidro, impedindo o uso deste agente que é o mais usado para este método. Assim, as 10 gramas de sedimento seco da Barragem (sedimento 1) foram misturadas a 1,0 g de Celite 545, obtendo-se um pó que foi transferido para a cela de extração, juntamente com algumas pérolas de vidro.

Após o término das extrações das amostras, o extrato foi transferido dos frascos coletores para copos de béquer de 250 mL e submetidos ao mesmo processo de redução de volume e posteriormente fracionado e analisado cromatograficamente.

3.7 Fracionamento Cromatográfico dos Extratos

As amostras (sedimento brutos 1, 2 e 3A e sedimentos propositalmente contaminados por petróleo, 3B e 3C) foram submetidas ao fracionamento segundo o protocolo da UNEP.¹⁴⁰

Os extratos secos foram fracionados por cromatografia líquida preparativa em uma coluna preenchida com uma camada formada por 1 g de Na₂SO₄ anidro, 3,2 g de sílica (SiO₂, 5% desativada) 1,8 g de alumina (Al₂O₃, 2% desativada) e um adicional de 1 g de Na₂SO₄ anidro no topo. Cada extrato foi dissolvido em 0,5 mL de diclorometano (DCM), sendo este volume misturado a 1,0 g de sílica. Depois que esta mistura foi seca ao ar, foi adicionada ao topo da coluna, e fracionada em três frações. A sequência de solventes para a eluição foi de 20 mL de

n-hexano (fração F1 - hidrocarbonetos saturados), 20 ml de uma mistura de DCM/n-hexano (1:5, v/v) e 20 ml de uma mistura de DCM/n-hexano (1:1, v/v). As duas últimas frações foram misturadas para a construção da F2, fração que potencialmente contém os compostos aromáticos policíclicos de interesse. Os HPA contidos na fração F2 foram concentrados sob um fluxo suave de nitrogênio para a análise cromatográfica. Este procedimento foi repetido três vezes para cada ponto de amostragem.

3.7.1 Procedimento de Recuperação dos Processos de Extração

Este estudo foi feito para os métodos de extração por ultra-som (USE) e por fluido pressurizado (PLE), usando o sedimento do ponto 1. Para o acompanhamento dos estudos de recuperação, as amostras de sedimento foram marcadas com 200 ug kg⁻¹ dos hidrocarbonetos aromáticos deuterados com 3, 4 e 5 anéis aromáticos.

A adição dos HPA deuterados foi conduzida através da adição de volumes de uma solução de trabalho de 40 mg L⁻¹, de forma que todas as amostras (secas) apresentassem a concentração final de 200 ug.kg⁻¹. Após a adição dos padrões, as amostras foram deixadas em repouso por uma noite com a evaporação do solvente e interação dos compostos padrão com a matriz.¹⁴¹ A seguir, cada amostra foi submetida à extração com ultra-som ou extração com líquido pressurizado, conduzidas conforme indicado nos itens anteriores. Este ensaio foi realizado em triplicata. Os extratos foram evaporados em capela até a secura e após submetidos ao procedimento de fracionamento já descrito. A fração F2 recebeu padrão interno cromatográfico (bifenila) a 1 mg L⁻¹ e o volume final das mesmas foi corrigido a 1 mL com DCM. As análises cromatográficas foram realizadas no modo SIM, considerando apenas os picos relacionados ao principal fragmento (m/z) de cada HPA deuterado e da bifenila.

Para avaliação da recuperação foram construídas curvas de calibração para cada composto na faixa de concentrações entre 2 a 10 mg L⁻¹ e nas mesmas condições de análise cromatográficas apresentadas anteriormente.

3.8 Análises Cromatográficas

3.8.1 Cromatografia Gasosa Monodimensional (¹D-GC)

Foi empregado um Cromatógrafo Gasoso com Detector Seletivo de Espectrometria de Massa (GC/MS, Shimadzu, modelo QP2010 *plus*) Para a otimização do processo cromatográfico

foram utilizadas soluções de trabalho preparadas a partir de uma solução padrão com 16 HPA ($2000 \mu\text{g L}^{-1}$) em n-hexano. A identificação dos HPA de interesse nas amostras de sedimento foi conduzida através da comparação dos tempos de retenção e dos espectros de massa obtidos no modo SCAN (varredura de espectro) para amostras e compostos padrão, enquanto que a quantificação foi realizada com o sistema MS no modo de monitoramento seletivo de íons (SIM, do inglês *Single Ion Monitoring*) com um volume de solução injetada de 1 μL e He (99,999 %, Linde Gases, Canoas, RS, Brasil) como gás de arraste em um fluxo de 1 mL/min.

descrição do equipamento usado: GC/qMS Shimadzu modelo QP2010 *plus*, coluna capilar de sílica fundida OV-5 (5 % de grupos fenila em metil silicone), com 30 m comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de espessura de fase), ionização por impacto eletrônico com 70 eV, analisador quadrupolar e injetor split/splitless, operando no modo splitless.

temperatura do Injetor e Detector: 280°C

rampa de aquecimento do forno cromatográfico: aquecimento de 80°C até 260°C a uma taxa de aquecimento 10°C/min, e desta temperatura até 280°C a uma taxa de 3°C/min, permanecendo 10 minutos nesta temperatura

Para a quantificação dos analitos, foram construídas curvas de calibração baseadas no método do padrão interno (solução de bifenila, 1mg L^{-1}) em duas faixas de concentração compreendidas entre de 10 a 70 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 1,0 a 1,5 mg L^{-1} da mistura dos 16 HPA prioritários. Também foram usados alguns HPA deuterados para testes de recuperação. A relação de padrões de HPA (e HPA deuterados) com os íons usados no monitoramento pelo modo SIM se encontra na **Tabela V**.

3.8.2 Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente (GC×GC)

3.8.2.1 Descrição dos equipamentos usados

Foram usados dois sistemas GC×GC constituídos por cromatógrafos Agilent 6890N (Agilent Technologies, St. Joseph, MI, USA), equipados com um forno secundário e acoplado a moduladores criogênicos *quad-jet* refrigerados com nitrogênio líquido.

O primeiro sistema - GC×GC -FID - compõe-se de um injetor convencional *split/splitless*, com amostrador automático CTC Combi-Pal (Leap Technologies, NC, USA), controlado pelo software *ChromaTof* (Agilent Technologies, St. Joseph, MI, USA). Usou-se o hidrogênio (99,999 %, Linde Gases, Canoas, RS, Brasil) como gás de arraste e o detector FID apresentou taxa de aquisição de 100 Hz.

Tabela V: Dados relacionados aos padrões de HPA usados nas análises cromatográficas:

Número	Composto (sigla usada)	Fórmula molecular	m/z*
1	Naftaleno (NAF)	C ₁₀ H ₈	128
2	Acenaftileno (ACI)	C ₁₂ H ₈	152
3	Acenafteno (ACE)	C ₁₂ H ₁₀	154
4	Fluoreno (FLU)	C ₁₃ H ₁₀	166
5	Fenantreno (FEN)	C ₁₄ H ₁₀	178
6	Antraceno (ANT)	C ₁₄ H ₁₀	178
7	Fluoranteno (FLT)	C ₁₆ H ₁₀	202
8	Pireno (PIR)	C ₁₆ H ₁₀	202
9	Benzo(a)antraceno (BaA)	C ₁₈ H ₂₂	228
10	Criseno (CRI)	C ₁₈ H ₂₂	228
11	Benzo(b)fluoranteno (BbF)	C ₂₀ H ₁₂	252
12	Benzo(k)fluoranteno (BkF)	C ₂₀ H ₁₂	252
13	Benzo(a)pireno (BaP)	C ₂₀ H ₁₂	252
14	Indeno(1,2,3-cd)pireno (IND)	C ₂₂ H ₁₂	276
15	Dibenzo(ah)antraceno (DBA)	C ₂₂ H ₁₄	278
16	Benzo(ghi)perileno (BGP)	C ₂₂ H ₁₂	276
17	Fenantreno-d ₁₀ (FEND)	C ₁₄ D ₁₀	188
18	Criseno-d ₁₂ (CRID)	C ₁₈ D ₁₂ H ₁₀	240
19	Perileno- d ₁₂ .(PERD)	C ₂₀ D ₁₂	264
20	Bifenila (PI)**	C ₁₂ H ₁₀	154

*m/z correspondente ao íon majoritário (= íon molecular)

**PI = padrão interno

O segundo sistema - GC×GC/TOFMS - é constituído de um sistema GC×GC, igual ao descrito acima, mas acoplado a um espectrômetro de massas de tempo de voo (TOFMS, do inglês *Time Of Fly Mass Spectrometer*), Pegasus IV D (LECO Coop., St. Joseph, MI, USA). Injetor, amostrador e *software* idênticos aos usados no sistema GC×GC-FID anterior. A voltagem aplicada do Detector foi de 1400 V, com o impacto de elétrons de 70 eV e o gás de arraste usado foi Hélio (Linde Gases, Canoas, RS, Brasil, com pureza de 99,999%).

3.8.2.2 Otimização das condições cromatográficas por GC×GC-FID

Em GC×GC, vários parâmetros têm grande influência na eficiência de separação. Entre esses parâmetros destacam-se (i) as dimensões (comprimento, diâmetro) das duas colunas, (ii) o tipo e espessura do filme das fases estacionárias, (iii) a velocidade do gás de arraste, (iv) o

regime de temperatura de ambas colunas e (v) período de modulação.¹⁴² Os parâmetros foram selecionados e otimizados para cada conjunto de colunas, os quais estão descritos na **Tabela VI**. Os métodos cromatográficos foram otimizados com relação aos seguintes parâmetros:

- programa da temperatura do forno primário e ΔT entre os fornos (¹D e ²D),
- temperatura do modulador e período de modulação;
- duração do pulso quente e frio;
- tipo de *splitless*: pulsado e não pulsado;
- velocidade do gás de arraste.

Conforme discutido por Zhu e colaboradores¹⁴³ o uso de um filme mais espesso na coluna da primeira dimensão pode aumentar a resolução no caso de sobrecarga na primeira dimensão, mas pode alargar os picos. Isto pode contribuir para um aumento do número de frações do pico primário na segunda coluna. Neste trabalho optou-se por fixar a espessura de filme (0,25 μm) e também o diâmetro interno (0,25 mm) da coluna da primeira dimensão.

Primeiro conjunto testado: A primeira estratégia adotada foi otimizar as condições cromatográficas com um conjunto convencional de colunas do tipo apolar na primeira dimensão e polar na segunda dimensão com diferentes comprimentos (conjunto 1) testando-se várias rampas de temperatura e diferentes tempos de análise (corridas mais rápidas ou mais lentas). A **Tabela VII** apresenta algumas das condições de temperatura testadas.

Segundo, terceiro e quarto conjuntos testados: A segunda estratégia adotada foi a utilização de colunas mais longas na segunda dimensão visando melhorar a separação. Neste objetivo foram testado os conjuntos de colunas 2 e 3 (**Tabela VI**), com colunas na segunda dimensão de 2,0 e 3,0 m, em comparação a 1,0 m do conjunto de colunas 1. Também modificou-se o comprimento da coluna da primeira dimensão (conjunto 4).

Com o conjunto 2 (convencional) e temperatura do forno secundário mantida em 10°C acima da temperatura do forno primário, foram avaliados diferentes períodos de modulação, permitindo-se que os picos modulados tivessem tempo apropriado para a eluição completa dentro do seu próprio ciclo. Os períodos de modulação escolhidos foram 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10 segundos com duração de pulso quente permanecendo 40% do período de modulação.

Tabela VI: Conjunto de colunas testados neste trabalho para os sistemas GC×GC

Conj.	primeira dimensão			segunda dimensão		
	coluna	fase	dimensões (m×mm×µm)	coluna	fase	dimensões (m×mm×µm)
1	DB-5*	5% difenil e 95% metilpolissiloxano	30×0,25×0,25	DB-17*	50% fenil 50% metilpolissiloxano	1×0,18×0,18
2	DB-5*	Idem a 1	30×0,25×0,25	DB-17*	Idem a 1	2×0,18×0,18
3	DB-5*	Idem a 1	30×0,25×0,25	DB-17*	Idem a 1	3×0,18×0,18
4	OV-5ms *	Idem a 1	50×0,25×0,25	DB-17*	Idem a 1	3×0,18×0,18
5	DB-5*	Idem a 1	30×0,25×0,25	DB-WA×*	polietilenoglicol	2×0,1×0,1
6	DBWAXTER*	polietilenoglicol	30×0,25×0,25	DB-17*	Idem a 1	3×0,18×0,18
7	DBWAXTER*	polietilenoglicol	30×0,25×0,25	DB-1ms*	polidimetilssiloxano	1,8×0,1×0,1
8	HP-50+*	50% fenil 50% metil-polissiloxano	30×0,25×0,25	DB-1ms*	polidimetilssiloxano	2×0,1×0,1
9	DB-5*	Idem a 1	30×0,25×0,25	LC-50**	50% de cristal liquido-metilpolissiloxano	1,1×0,1×0,1

*J & W Scientific, Folsom,USA; ** Restek, Bellefonte, USA

Tabela VII: Condições cromatográficas utilizadas para o conjunto de colunas 1 no sistema GC×GC-FID.

Condição	Temperatura do forno
A	100°C (0,2 min), 6°C/min até 220°C (0,2 min), 10°C /min até 260 °C (0,2 min) e 4°C /min até 280°C (5 min)
B	100°C (0,2 min), 5°C/min até 200°C (0,2 min), 10°C /min até 240 °C (0,2 min), 3°C /min até 280°C (5 min)
C	80°C (0,2 min), 5°C/min até 260°C (0,2 min), 3°C /min até 280°C (10 min)

Ainda com este mesmo conjunto, e com o objetivo de melhorar a separação obtida para o período de modulação de 10 s desenvolveu-se um estudo dos tempos de duração dos jatos frios e quentes. Foram testados a duração do pulso quente de 1, 1,2, 1,5, 2, 2,5, 3,5 e 4 segundos. A correspondente duração do pulso frio foi automaticamente ajustada pelo software como: 4, 3,8, 3,5, 3, 2,5 1,5 e 1 segundos para assegurar 50% de ciclos completos dentro do período de modulação.

A diferença de temperatura entre a primeira e a segunda coluna foi otimizada pelo uso de gradientes de temperatura na ordem de 10, 20 e 30°C em relação à temperatura do forno primário.

Quinto conjunto testado: Utilizando o conjunto de colunas 5 (DB-5 e DB-Wax), as condições cromatográficas precisaram ser modificadas, numa primeira rampa de 80 °C (0,2 min), 5 °C/min até 225 °C (30 min), e uma segunda rampa de 80 °C (0,2 min), 5 °C/min até 225 °C (50 min). A diferença de temperaturas entre os primeiros e segundo forno foi mantida de 10°C, também as temperaturas do injetor e detector de 250 °C.

Sexto, sétimo e oitavo conjuntos testados: A próxima estratégica foi utilização de conjuntos de colunas de geometria inversa, ou seja, uma coluna polar na primeira dimensão e uma coluna apolar na segunda dimensão (conjuntos 6, 7 e 8, **Tabela VI**).

O uso do conjunto de colunas 7 (coluna DB-WAXTER na primeira dimensão), a qual não suporta temperatura de aquecimento acima de 260 °C, implicou em modificações na temperatura final de análise, tendo-se então a seguinte rampa de aquecimento do forno: 40°C (0,2 min), 5°C/min até 260°C (20 min). A temperatura do modulador foi mantida a 30°C, acima da temperatura do forno.

Nono conjunto testado: O conjunto 9 foi testado com as condições cromatográficas um pouco diferentes a fim de reduzir o tempo total de análise: 100°C (0,2 min), 5°C/min até 260°C, 3°C/min até 280°C (10 min). O modulador foi mantido 30 °C acima da temperatura do primeiro forno e o período de modulação escolhido foi de 5 segundos com o tempo de pulso quente de 2,0 s e os demais parâmetros mantidos constantes.

Além destes parâmetros cromatográficos, foram utilizados para o desenvolvimento do método cromatográfico por GC×GC-FID aplicado aos padrões (solução a 1 mg L⁻¹ de 16 HPA) e também a fração F2 do extrato fortificado de uma amostra de sedimento do ponto 1, as seguintes condições:

injetor: split/splitless, operando no modo splitless com tempo de 1 minuto

fase móvel: H₂, com vazões otimizadas na faixa de 0,8, 0,9 e 1,0 mL/min

tratamento dos dados: o sinal foi registrado no software ChromaTOF versão 3.32.

3.8.3 Desenvolvimento do método cromatográfico para o sistema GC×GC/TOFMS

Para o desenvolvimento do método para análise por GC×GC/TOFMS foi utilizado o conjunto de colunas 1 (**Tabela VI**) e uma solução de trabalho contendo os 16 HPA na concentração de 1 µg L⁻¹. Foram usados os parâmetros do GC×GC-FID e otimizados alguns outros como:

tempo de splitless: O tempo de splitless foi aumentado de 30 s (usado no sistema GC×GC-FID) para 60, 90 e 120 s, para evitar a discriminação dos compostos mais pesados no injetor.

temperatura da linha de transferência e da fonte de íons: Foram avaliadas duas temperaturas para a linha de transferência e a fonte de íons: 250 e 280 °C.

taxa de aquisição de sinal: foram testada duas taxas: 10 e 100 Hz (ou seja, scans/s).

diferença de temperatura entre a primeira e a segunda dimensão: Os valores usados para o ΔT entre ¹D e ²D foram 5 e 15 °C.

temperatura do injetor: Aumentou-se a temperatura do injetor de 300 °C para 320 °C.

pulso de pressão na cabeça do injetor: Foram testados pulsos de pressão no injetor, usando a opção *pulse splitless* usando as pressões de 20, 40, 60, 80 e 100 psi.

3.8.4 Validação dos métodos cromatográficos

O processo de validação foi realizado através da comparação das duas técnicas de análise: GC/MS e GC×GC-FID. Os parâmetros de desempenho analítico usados foram a seletividade, a linearidade e curva de calibração, sensibilidade do método (representada pelos limites de detecção – LD – e de quantificação – LQ), a precisão (repetitividade e precisão intermediária) e exatidão (teste de recuperação).

A linearidade do método foi verificada através de injeções de solução padrão para obtenção da curva de calibração. A curva de calibração foi construída através de injeções de soluções padrão preparadas em diclorometano, em quintuplicata, na faixa de 10 a 200 µg L⁻¹, contendo o padrão interno (Bifenila) na concentração fixada 1 mg L⁻¹

(GC/MS) e $100 \mu\text{g L}^{-1}$ (GC×GC-FID). As injeções foram realizadas em ordem crescente de concentração e sendo o método de padronização interna o escolhido. As grandezas observadas foram o coeficiente de determinação (R^2), o coeficiente angular e a estimativa do desvio padrão relativo.

A repetitividade do método foi avaliada através do coeficiente de variação das áreas dos picos cromatográficos. Foram realizadas dez injeções sucessivas de uma solução com os padrões na concentração de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ (GC/MS) e $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (GC×GC-FID) com o padrão interno nas mesmas concentrações usadas na construção da curva de calibração. A precisão intermediária também foi avaliada através do coeficiente de variação das áreas geradas pelas injeções realizadas em dois dias diferentes e expressa pela estimativa do desvio padrão relativo (RSD, do inglês *Relative Standard Deviation*), também conhecido como coeficiente de variação (CV).

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram baseados em parâmetros da curva de calibração, conforme recomenda a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC, do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*),¹⁴⁵ e obtidos a partir das equações:

$$\text{LD} = Y_b + 3 S_B$$

e

$$\text{LQ} = Y_b + 10 S_B$$

Onde LD corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser detectada, LQ corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser quantificado, Y_b é a média das medidas do sinal analítico de um teste em branco (ausência dos analitos) e S_B é o desvio padrão das medidas do teste em branco.

Os estudos de exatidão para o sistema GC×GC-FID foram executados através da análise de três soluções sintéticas contendo três HPA (fenantreno, pireno e benzo[a]pireno) em concentrações variadas de cada componente: solução A (50, 100, $150 \mu\text{g L}^{-1}$), solução B (100, 150 e $50 \mu\text{g L}^{-1}$) e solução C (150, 50 e $100 \mu\text{g L}^{-1}$).

3.8.5 Análise de Amostras de Sedimentos

3.8.5.1 Sedimento do Ponto 1 da Barragem

Para a análise da fração F2 do extrato de sedimento do ponto 1 foi utilizada o conjunto de colunas 1 e 9, para o GC×GC-FID e apenas o conjunto 1 para o GC×GC/TOFMS, nas condições já otimizadas para os padrões. Para o conjunto 1 no sistema GC×GC-FID foram ainda testados os seguintes parâmetros:

velocidade da fase móvel: fluxos de 0,8 mL/min, 0,9 mL/min e 1,0 mL/min.

pulsos de pressão: de 40, 60 e 80 psi. tipo de injeção: *splitless* com e sem pulso.

3.8.5.2 Outras Amostras de Sedimentos

Os demais extratos dos sedimentos relacionados na **Tabela IV** e os extratos dos sedimentos contaminados por petróleo foram injetadas no sistema GC×GC/TOFMS e GC×GC-FID nas condições otimizadas para padrões (e também para o sedimento 1, no caso do GC×GC-FID) usando o conjunto de coluna 1 (**Tabela VI**). As condições finais estão resumidas abaixo:

Parâmetros comuns (GC×GC-FID e GC×GC/TOFMS):

injetor: *split/splitless*, modo *splitless* com 1 minuto de espera

temperatura do injetor: 280°C

aquecimento do forno: 80°C (0,2 min) 5°C/min, 260°C, 3°C/min, 280°C (10min)

Parâmetros diferenciados	GC×GC-FID	GC×GC/TOFMS
fase móvel/ fluxo	H ₂ (1,0 mL/min)	He (1,0 mL/min)
temperatura do modulador	30 °C	15 °C
período de modulação	6 s	6 s
corte de solvente (p/detector)	300 s	360 s

Parâmetros exclusivos do GC×GC/TOFMS:

modo de ionização: impacto eletrônico 70eV

temperatura da interface: 250 °C

temperatura da fonte de íons: 250°C

faixa de m/z: 45-450 Daltons

energia: 1400 volt

taxa de aquisição de sinal: 100 Hz

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização inicial da amostra de sedimentos

A **Tabela VIII** apresenta as principais propriedades físicas e químicas da amostra de sedimento coletada em fevereiro de 2007.

Tabela VIII: Principais características físico-químicas dos sedimentos estudados

Propriedades		Sedimento 1	Sedimento 2	Sedimento 3
propriedades químicas	pH água	7,3	7,3	6,8
	MO	10,3% (b.s.)	7,6% (b.s.)	10,9% (b.s.)
	MI	89,7% (b.s.)	92,4% (b.s.)	89,1% (b.s.)
	Umidade	51,5%.	79,8%	73,5%
classificação granulométrica do sedimento	Areia	11,2%	93,4%	87,4%
	Silte	69,6%	3,9%	7,1%
	Argila	19,2%	2,6%	5,5%

MO = matéria orgânica, MI = matéria inorgânica; b.s. = base seca

Segundo Kim e colaboradores¹⁴⁶, a concentração de HPA em sedimentos é afetada pela composição química dos sedimentos, tais como matéria orgânica e granulometria. Quando a matéria orgânica de sedimentos de origem natural se encontra acima de 10%, estes sedimentos são considerados orgânicos, e quando abaixo deste valor, são considerados sedimentos inorgânicos ou minerais. Neste trabalho, o sedimento em estudo apresenta características orgânicas. Este teor de matéria orgânica pode demonstrar, além da contribuição de origem natural, uma expressiva entrada de material oriundo da ação antrópica, tais como o uso e ocupação do solo, despejos domésticos, industriais e agrícolas. Uma vez que a matéria orgânica tem a característica de adsorver poluentes, o resultado representa um potencial de sorção destes, bastante favorecido pela afinidade entre estes poluentes e os sítios de ligação existente na matéria orgânica. Outra característica importante da presença da matéria orgânica é que ela auxilia na agregação das partículas silte, argila e areia.

A análise granulométrica fornece informações sobre as fontes geradoras e sobre a dispersão dos sedimentos, podendo ser inferidas relações relativas aos processos

fluviais ou ainda, refletir o resultado de atividades humanas como a dragagem de canais e a ocupação das margens de estuários. Os parâmetros granulométricos estudados foram porcentagens de silte e argila (% lama), os quais correspondem à soma das porcentagens relativas das frações granulométricas com tamanho inferior a 0,062 mm.

O resultado da análise granulométrica no sedimento do ponto 1 (Barragem Santa Bárbara) revelou a predominância da fração de finos (silte + argila = 88,8%), a qual corresponde às partículas com tamanho inferior a 0,250 mm, referente à fração granulométrica que potencialmente contém os hidrocarbonetos²¹. Já os pontos da lagoa e da Barra (2 e 3) apresentaram predominância de areia (93,4 e 87,4 %, respectivamente) o que favorece uma maior quantidade de água intersticial e, por conseguinte uma quantidade mais alta de umidade. O pequeno tamanho de partícula também é responsável por uma capacidade de adsorção alta³³. A matéria orgânica destes sedimentos variou de 7,6 a 10,9%, que pode ser considerada bastante elevada. O elevado teor de matéria orgânica é uma característica associada ao menor tamanho de grão, indicando que estes locais podem ser potenciais acumuladores de poluentes orgânicos como HPA.

4.2 Desenvolvimento dos Processos de Extração Usados

A **Tabela IX** apresenta os resultados de recuperação para o procedimento SE, PLE e USE, em termos percentuais para os HPA deuterados adicionados ao sedimento estudado na concentração de 200 ng g⁻¹, usando-se 10 g de sedimento seco.

Tabela IX: Resultados de recuperação e principais parâmetros para os procedimentos de extração (Soxhlet, PLE e USE) usando o sedimento do ponto 1, marcado com HPA deuterados

composto	Soxhlet(*)	USE(*)	PLE(*)
Fenantreno D	81,25 ± 3,28	18,75 ± 1,51	78,34 ± 2,57
Criseno D	82,17 ± 4,19	51,16 ± 5,21	83,21 ± 2,81
Perileno D	88,68 ± 2,21	37,09 ± 4,26	82,12 ± 3,12
Tempo de análise	~16 horas	~ 45 min	~15 min
Volume de solvente	~ 500 mL	~ 300 mL	~100 mL

(*) extrações realizadas em triplicata

Os intervalos aceitáveis de recuperação para a análise de resíduos geralmente se situam entre 70 a 120 % com precisão de até $\pm 15\%$ ¹⁴⁷. Como pode ser visualizado na **Tabela IX**, o sistema PLE e a extração com Soxhlet apresentaram melhores resultados. Entretanto, por problemas operacionais do equipamento ASE 300, optou-se pela extração com Soxhlet, apesar de reconhecer que o sistema PLE é mais rápido, mais seguro, com menor possibilidade de contaminação e usando menor quantidade de solvente. Como o objetivo principal deste trabalho está no desenvolvimento da metodologia cromatográfica e não na avaliação ambiental da área escolhida, para a análise dos HPA, optou-se por realizar todas as demais extrações com Soxhlet, especialmente por se tratar de um número pequeno de amostras.

4.3 Análise Cromatográfica

Os resultados serão apresentados e discutidos em duas etapas:

- Na primeira serão apresentados os resultados da análise cromatográfica monodimensional, incluindo o desenvolvimento do método cromatográfico, validação do mesmo e aplicação às amostras de sedimento; e
- Na segunda serão apresentados os resultados da técnica de cromatografia bidimensional abrangente, os quais serão também analisados para os dois detectores empregados: FID e TOFMS.

4.3.1 Cromatografia Gasosa Monodimensional acoplada à Espectrometria de Massas (GC/MS)

4.3.1.1 Análise Cromatográfica dos Padrões e Validação da Metodologia Analítica

A validação da técnica cromatográfica monodimensional foi realizada tanto para os padrões deuterados (que foram usados para a determinação da recuperação dos processos de extração) quanto para os 16 HPA usados no desenvolvimento dos métodos cromatográficos e na análise qualitativa e quantitativa dos sedimentos

A **Figura 13** apresenta o cromatograma (GC/MS modo SIM) da mistura de padrões de HPA deuterados na concentração de $1,0\text{ mg L}^{-1}$ e a **Figura 14** apresenta o cromatograma (GC/MS modo SIM) da mistura de padrões de 16 HPA na concentração de $20\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Foram monitorados apenas os íons relacionados na

Tabela V. Os compostos foram analisados em faixas de m/z que são representadas nestas figuras pelas regiões (A, B, C e D para a **Figura 13** e A, B, C, D e E, para a **Figura 14**) do cromatograma, que se encontram ampliadas permitindo a melhor visualização da separação cromatográfica. Verifica-se que os compostos foram adequadamente separados permitindo sua completa identificação e quantificação.

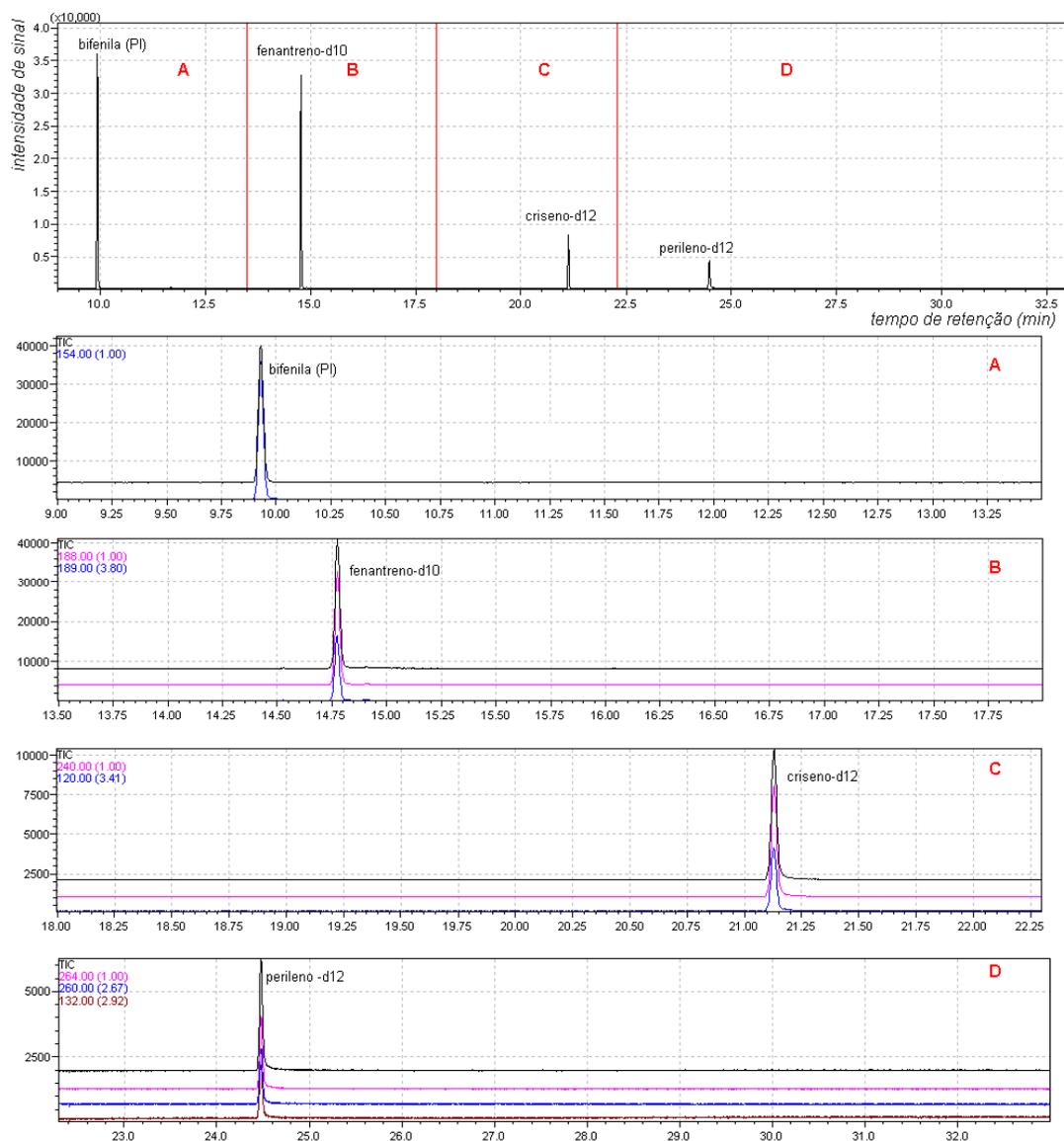


Figura 13: Cromatograma pelo monitoramento de íons (GC/MS modo SIM) para a mistura de padrões de HPA deuterados com o padrão interno (bifenila). As regiões A, B, C e D do cromatograma estão ampliadas para melhor visualização da separação entre os compostos. *Condições cromatográficas descritas no item 3.8.1, página 36.*

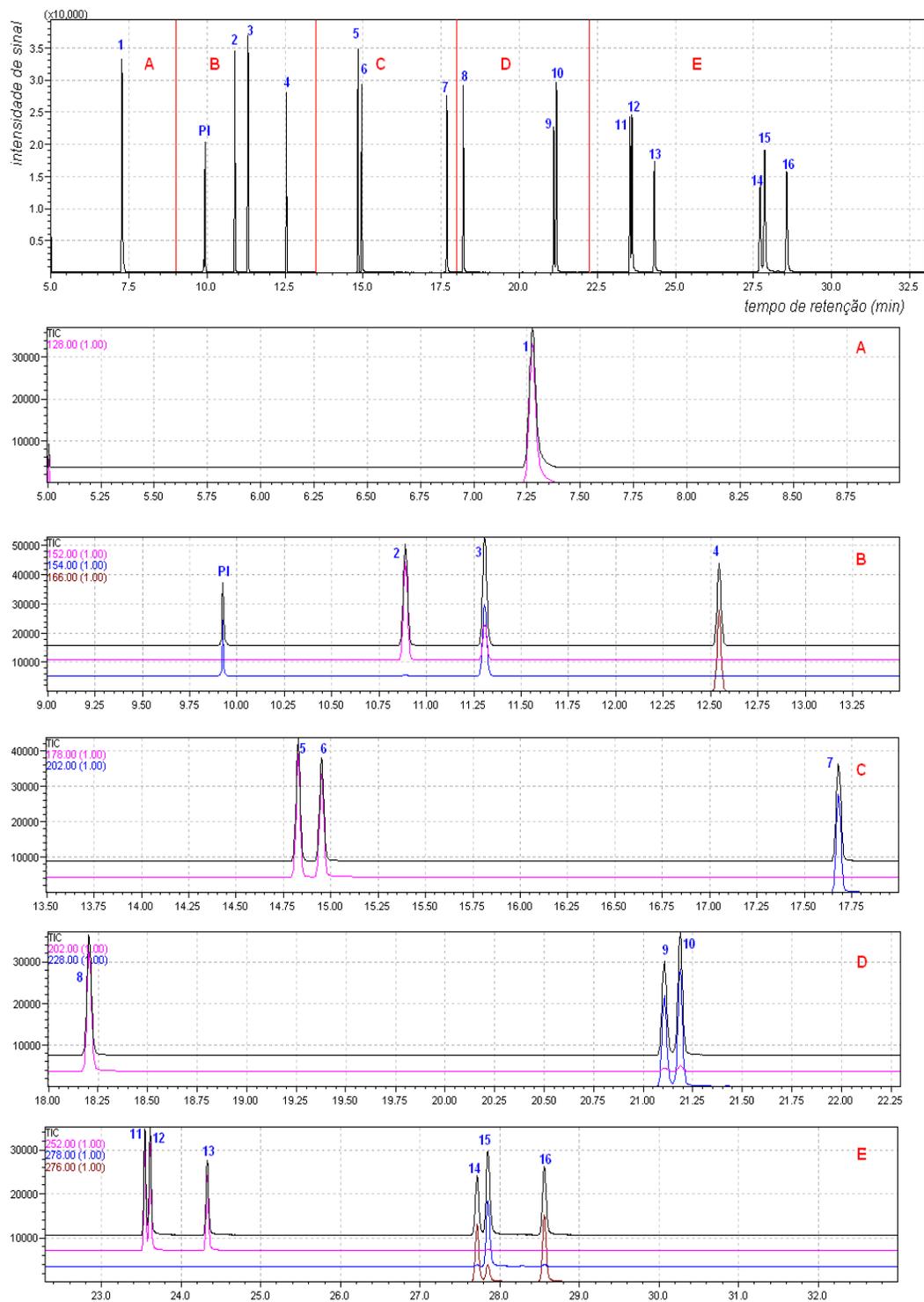


Figura 14: Cromatograma pelo monitoramento de íons (GC/MS modo SIM) para a mistura de 16 HPA. As regiões A, B, C, D e E do cromatograma estão ampliadas para melhor visualização da separação entre os compostos. Identificação dos picos de acordo com a *Tabela V* e condições cromatográficas descritas no item 3.8.1, página 36.

Os resultados para a validação da técnica de GC/MS usando os HPA deuterados incluindo a equação da curva analítica, coeficiente de determinação (R^2), limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ) estão apresentados na **Tabela X**.

Tabela X: Figuras de Mérito para o sistema GC/MS usando a mistura de HPA deuterados

composto	Equação da reta* ($y = ax + b$)			LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)
	a	b	R^2		
Fenantreno D	1,82	-0,449	0,9967	0,576	1,92
Criseno D	1,41	-0,354	0,9963	0,771	2,57
Perileno D	1,95	-0,469	0,9919	0,729	2,43

(*) y = área relativa (A_i/A_{pi}) e x = concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram calculados a partir da média das áreas relativas do ruído do branco e seus desvios padrão, conforme descrito no item 3.8.4, página 44. Como critério de aceitação da curva analítica (linearidade), o valor mínimo aceitável para o coeficiente de determinação deve ser igual ou superior a 0,99¹⁴⁸ e observa-se pela **Tabela X** que o R^2 é maior que 0,9919 e os limites de detecção ficaram entre 0,576 a 0,771 $\mu\text{g L}^{-1}$ enquanto os limites de quantificação ficaram entre 1,92 e 2,57 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os valores foram calculados a partir de quintuplicatas, apresentando desvios padrão relativos inferiores a 4 %

Na **Tabela XI** são apresentados os resultados dos parâmetros das curvas analíticas para o sistema GC/MS aplicado à análise da mistura de padrões de 16 HPA. O limite de detecção encontrado para estes compostos variou entre 0,431 e 4,72 $\mu\text{g L}^{-1}$ enquanto que o limite de quantificação situou-se entre 1,50 e 15,73 $\mu\text{g L}^{-1}$. Também neste caso os valores foram calculados a partir de quintuplicatas, e os desvios padrão relativos estão apresentados na **Tabela XI**. O coeficiente de determinação mostrou-se adequado, visto que os valores de R^2 variaram entre 0,9802 e 0,9991.

Desta forma, a metodologia GC/MS mostrou-se adequada para a análise dos HPA estudados neste trabalho.

As curvas analíticas, tanto para os HPA deuterados como para os não deuterados, estão apresentadas no **Anexo 2**.

Tabela XI: Parâmetros de mérito e curvas analíticas obtidas por GC-MS para os 16 HPA, usando o sistema GC/MS

Padrão	Limites ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Limites ($\mu\text{g kg}^{-1}_{\text{sedimento}}$)		RSD*	Equação da reta $y = ax + b$		
	LD	LQ	LD	LQ		%	a	b
Naftaleno	4,72	15,73	0,472	1,57	5,1	0,0009	0,0012	0,9828
Acenaftileno	1,74	5,80	0,174	0,58	5,9	0,0006	0,0018	0,9934
Acenafteno	2,32	7,73	0,232	0,773	5,7	0,0006	0,0002	0,9919
Fluoreno	0,450	1,50	0,045	0,15	6,6	0,0004	0,0013	0,9915
Fenantreno	2,23	7,43	0,223	0,743	4,3	0,0006	0,0015	0,9865
Antraceno	3,81	12,70	0,381	1,27	8,5	0,0005	0,0006	0,9881
Fluoranteno	3,02	10,07	0,302	1,01	6,4	0,0004	0,0014	0,9868
Pireno	3,01	10,03	0,301	1,01	5,5	0,0005	0,0011	0,9872
Benzo[a]Antraceno	3,05	10,17	0,305	1,02	6,9	0,0004	0,0016	0,9802
Criseno	0,823	2,74	0,0823	0,274	8,4	0,0004	0,0012	0,9841
Benzo(b)fluoranteno	1,02	3,40	0,102	0,34	5,4	0,0004	0,0013	0,9889
Benzo(k)fluoranteno	0,834	2,78	0,0834	0,278	5,9	0,0004	0,0007	0,9951
Benzo(a)pireno	0,431	1,44	0,0431	0,144	6,5	0,0003	0,0005	0,9974
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0,942	3,14	0,0942	0,314	5,4	0,0004	0,000003	0,9991
Dibenzo(ah)antraceno	2,91	9,70	0,291	0,97	8,4	0,0003	0,0002	0,9841
Benzo(ghi)perileno	1,44	4,80	0,144	0,48	7,6	0,0002	0,0004	0,9923

* n=5

4.3.1.2 Análise Cromatográfica monodimensional (GC/MS) dos extratos obtidos por Soxhlet dos sedimentos estudados

As Figuras 15, 16, 17, 18 e 19 apresentam os cromatogramas referentes à Fração 2 dos extratos dos sedimentos dos pontos 1, 2, 3A, 3B e 3C, respectivamente. A **Tabela XII** apresenta os resultados para a análise quantitativa destas amostras. Também nesta tabela estão apresentados o LD e LQ em $\mu\text{g kg}^{-1}$ de sedimento em base seca.

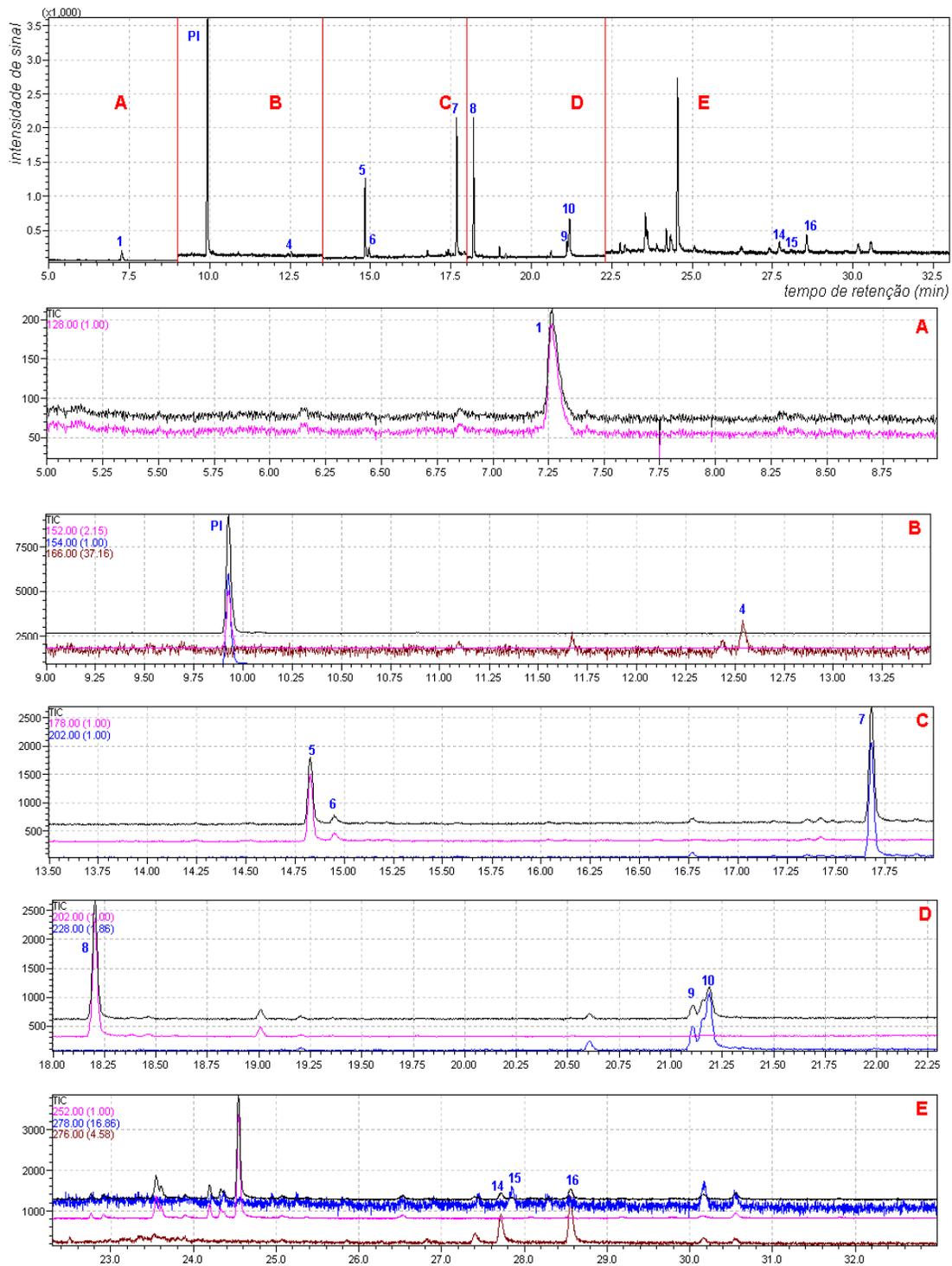


Figura 15: Cromatogramas pelo monitoramento de íons (GC/MS modo SIM) da fração F2 do extrato obtido a partir do sedimento do ponto 1, localizado na Barragem Santa Bárbara. As regiões A, B, C, D e E do cromatograma estão ampliadas para melhor visualização da separação entre os compostos. *Identificação dos picos de acordo com a Tabela V. Condições cromatográficas descritas no item 3.8.1, página 36.*

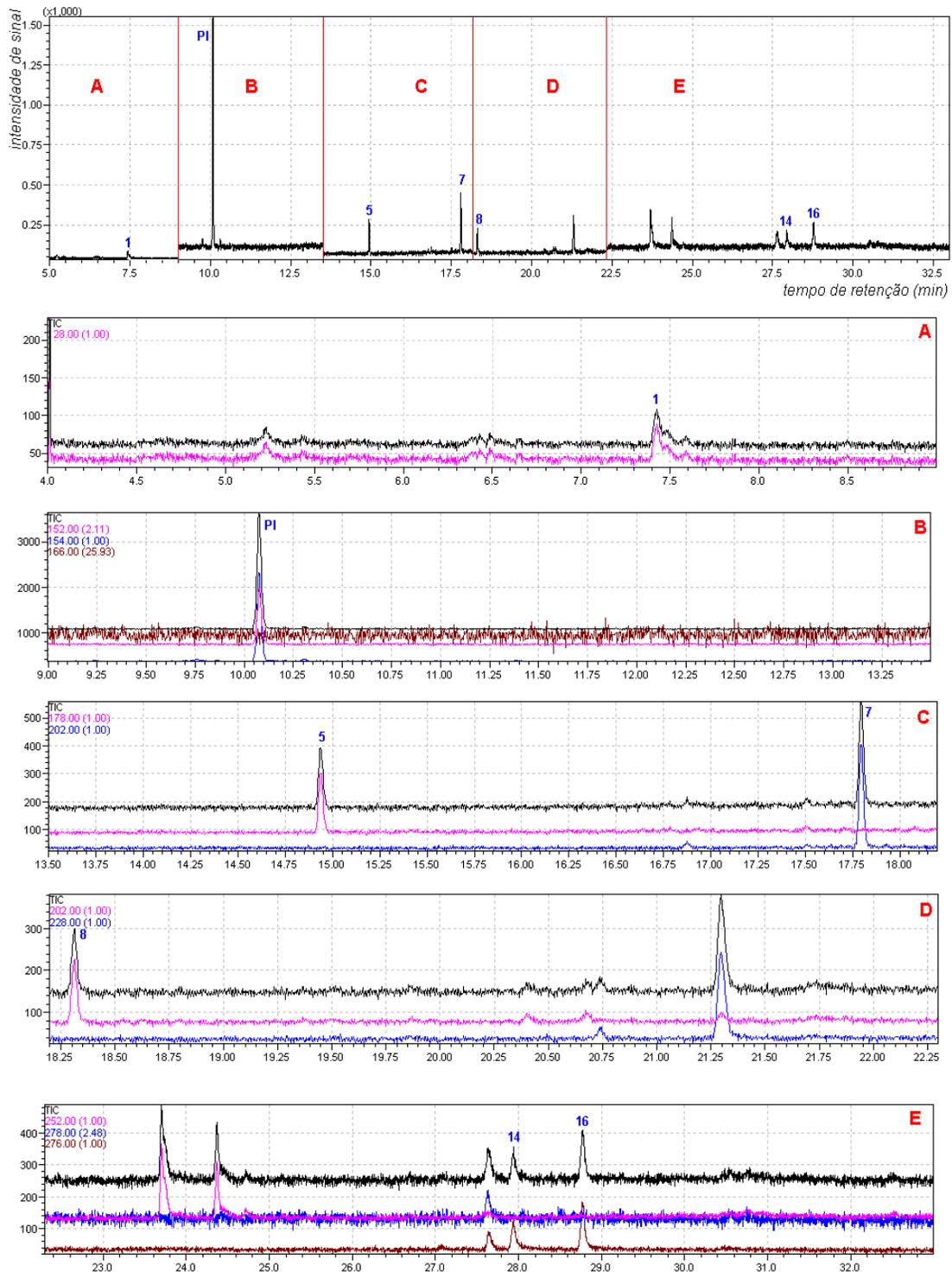


Figura 16: Cromatogramas pelo monitoramento de íons (GC/MS modo SIM) da fração F2 do extrato obtido a partir do sedimento do ponto 2, localizado na Praia do Laranjal, região da Lagoa. As regiões A, B, C, D e E do cromatograma estão ampliadas para melhor visualização da separação entre os compostos. *Identificação dos picos de acordo com a Tabela V. Condições cromatográficas descritas no item 3.8.1, página 36.*

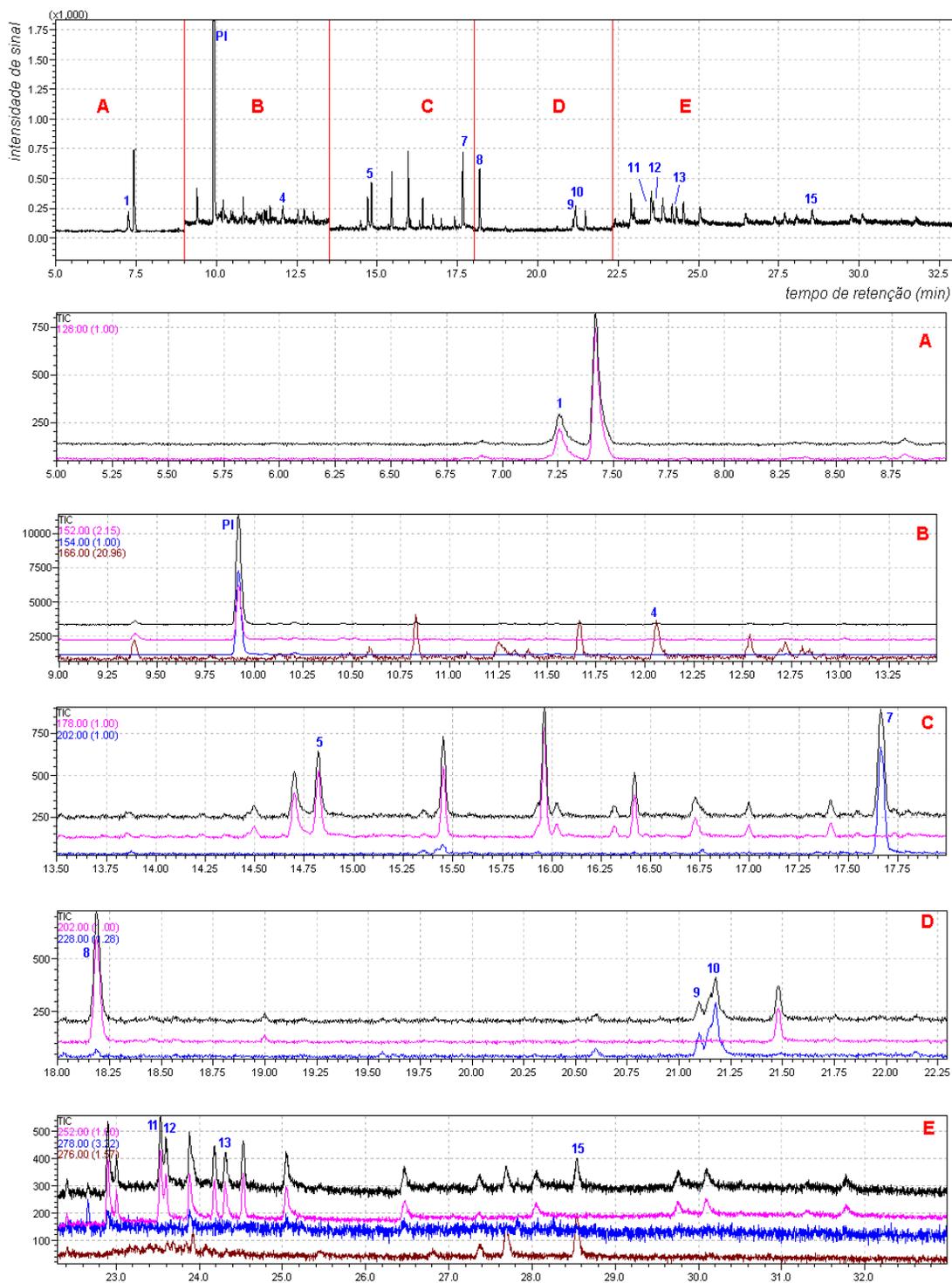


Figura 17: Cromatograma pelo monitoramento de íons (GC/MS modo SIM) da fração F2 do extrato obtido a partir do sedimento do ponto 3A (sedimento bruto, não contaminado propositalmente), localizado na Praia do Laranjal, região da Barra. As regiões A, B, C, D e E do cromatograma estão ampliadas para melhor visualização da separação entre os compostos. Identificação dos picos de acordo com a *Tabela V*. Condições cromatográficas descritas no item 3.8.1, página 36.

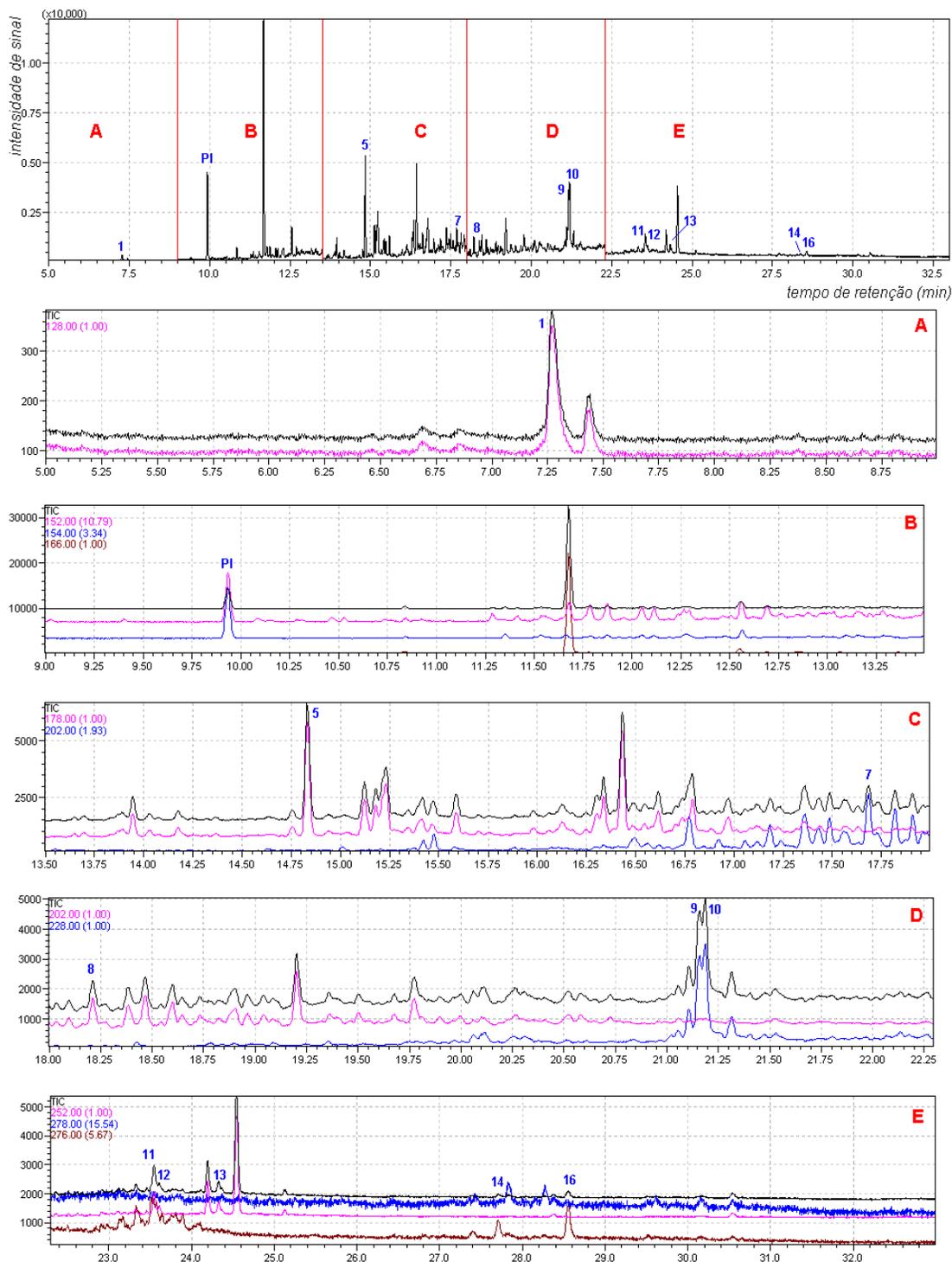


Figura 18: Cromatograma pelo monitoramento de íons (GC/MS modo SIM) da fração F2 do extrato obtido a partir do sedimento do ponto 3B (contaminado pela adição direta de petróleo ao sedimento), localizado na Praia do Laranjal, região da Barra. As regiões A, B, C, D e E do cromatograma estão ampliadas para melhor visualização da separação entre os compostos. Identificação dos picos de acordo com a **Tabela V**. Condições cromatográficas descritas no item 3.8.1, página 36.

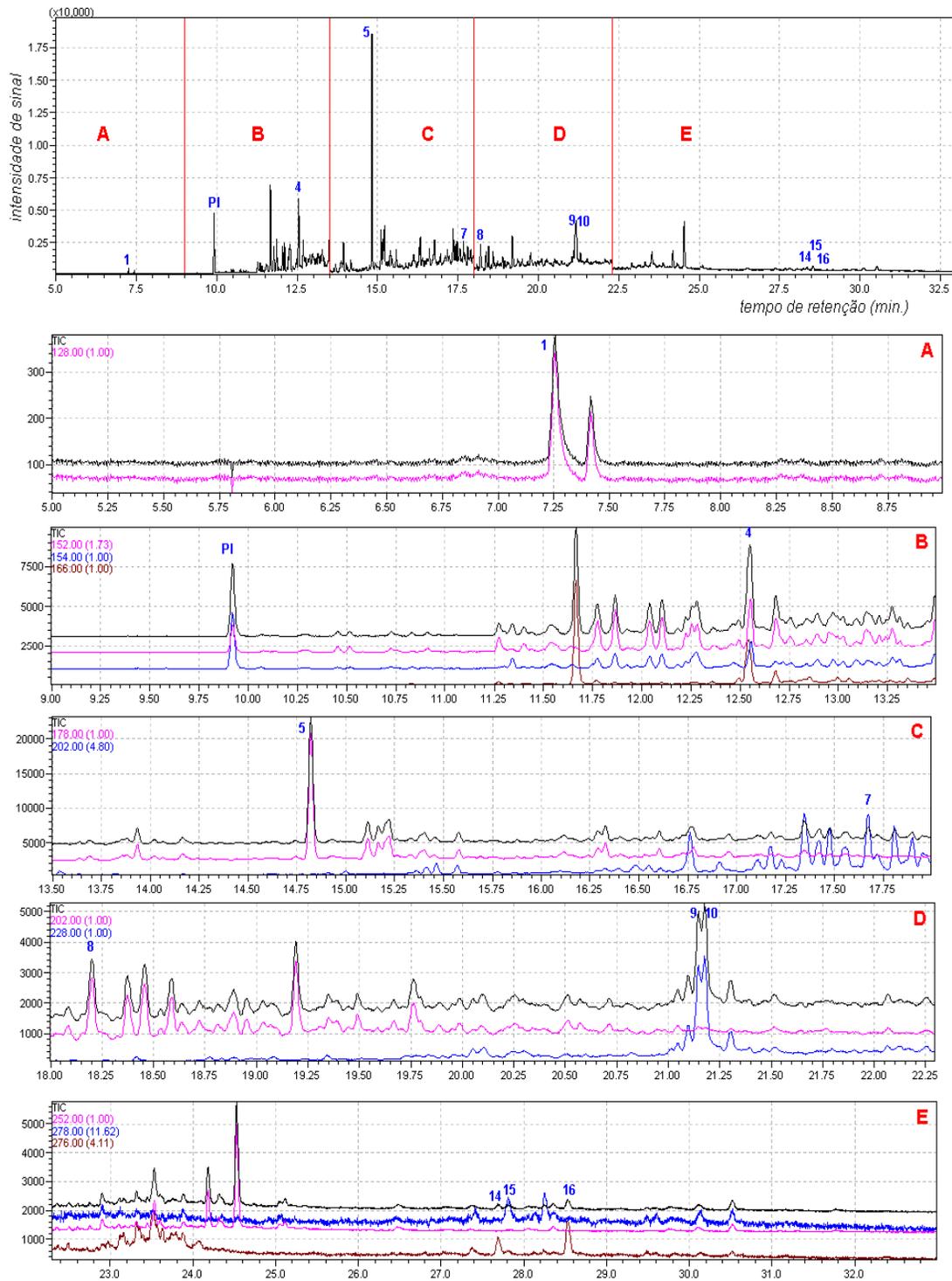


Figura 19: Cromatograma pelo monitoramento de íons (GC/MS modo SIM) da fração F2 do extrato obtido a partir do sedimento do ponto 3C (contaminado através de coluna de água), localizado na Praia do Laranjal, região da Barra. As regiões A, B, C, D e E do cromatograma estão ampliadas para melhor visualização da separação entre os compostos. Identificação dos picos de acordo com a *Tabela V*. Condições cromatográficas descritas no item 3.8.1, página 36.

Tabela XII: Análise quantitativa dos HPA na fração F2 dos extratos dos pontos de amostragem estudados

Pico	composto	Concentração de HPA em cada ponto amostrado (*)					Limites (*)	
		P1	P2	P3A	P3B	P3C	LD	LQ
1	Naftaleno	< LQ	1,20±8,1	2,96±7,2	2,21±5,3	10,2±4,2	0,472	1,57
2	Acenaftileno	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,174	0,580
3	Acenafteno	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,232	0,773
4	Fluoreno	< LQ	< LQ	0,167±8,1	< LQ	38,8±5,3	0,045	0,150
5	Fenantreno	1,02 ± 9,2	< LQ	< LQ	0,962±6,2	209,8±6,1	0,223	0,743
6	Antraceno	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,381	1,27
7	Fluoranteno	6,33 ± 8,2	1,91±2,2	< LQ	2,17±1,2	178,3±8,2	0,302	1,01
8	Pireno	6,26 ± 7,2	1,52±2,7	< LQ 2	1,64±1,4	30,2±2,3	0,301	1,01
9	Benzo(a)antraceno	22,3 ± 6,6	< LQ	< LQ	4,59±2,4	20,4±2,4	0,305	1,02
10	Criseno	12,8 ± 8,4	8,81±5,9	0,341±1,5	3,44±3,5	21,4±3,2	0,0823	0,274
11	Benzo(b)fluoranteno	< LQ	6,62±3,3	0,412±3,7	2,16±5,2	< LQ	0,102	0,340
12	Benzo(k)fluoranteno	< LQ	2,05±2,8	< LQ	0,524±2,3	< LQ	0,0834	0,278
13	Benzo(a)pireno	< LQ	1,04±5,5	0,192±2,4	6,91±2,6	< LQ	0,0431	0,144
14	Indeno(1,2,3-cd)pireno	< LQ	< LQ	< LQ	0,256±1,7	0,982±3,1	0,0942	0,314
15	Dibenzo(ah)antraceno	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	1,22±2,5	0,291	0,970
16	Benzo(ghi)perileno	< LQ	2,81±5,7	< LQ	0,543±1,8	2,97±,6	0,144	0,480
	ΣHPA (µg kg ⁻¹)	48,7	25,8	4,07	25,4	514		

(*) µg kg⁻¹ ± RSD (%) (n = 5) em base seca

Na **Figura 20** tem-se uma comparação visual entre os extratos dos sedimentos analisados.

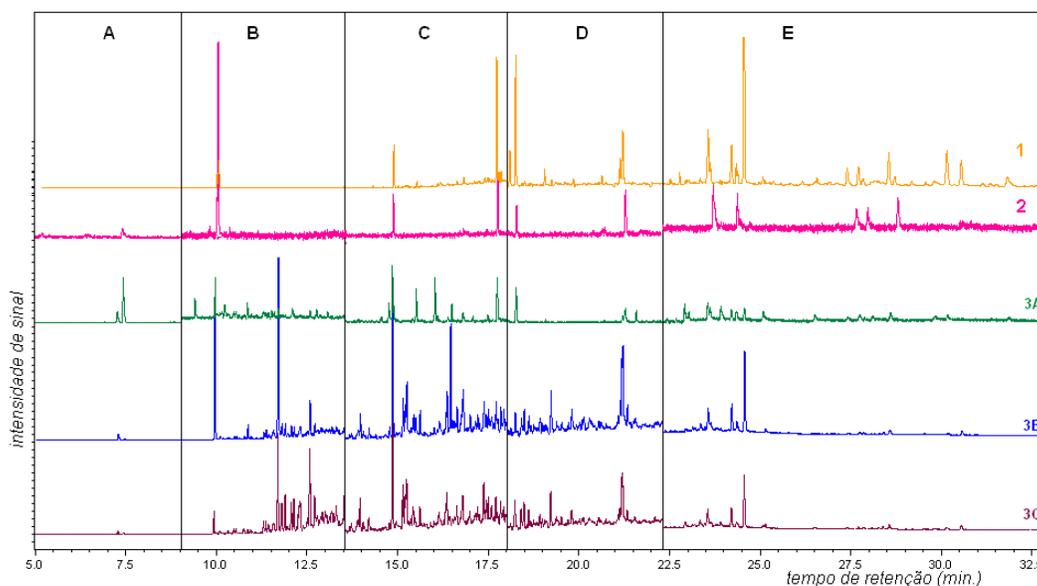


Figura 20: Comparação entre os cromatogramas pelo monitoramento de íons (GC/MS modo SIM) da fração F2 dos extratos dos sedimentos dos 3 pontos analisados (1, 2, 3A, 3B e 3C). Condições cromatográficas descritas no item 3.8.1, página 36.

Apesar da comparação da **Figura 20** não estar em escala, é possível avaliar visualmente a diferença no perfil cromatográfico, especialmente entre os três pontos brutos (1, 2 e 3). Esta diferença fica bastante clara na análise da **Tabela XII** onde se verifica que o ponto 1 (sedimento da Barragem) apresentou-se mais contaminado que os demais pontos (2 e 3). A seguir faz-se uma discussão mais detalhada destes resultados.

Observa-se a predominância dos HPA que contém 3 e 4 anéis, o que pode ser devido ao comportamento diferenciado dos HPA no ambiente, de acordo com seus pesos moleculares. Os HPA de peso molecular mais alto apresentam menores solubilidades, favorecendo a sua associação com as partículas¹⁴⁹.

Os HPA leves, que são mais sujeitos aos processos de volatilização e degradação que atuam no ambiente, indicam uma influência mais recente e/ou uma maior proximidade da fonte de contaminação.

A análise e a comparação em níveis de HPA com outras regiões no Brasil (**Tabela III**, página 12) indicam que os valores do sedimento 1 (mais contaminado entre os três estudados) semelhantes aos observados por Zanardi⁴⁷ e Brito⁵⁵ e maiores do que os observados no rio Guandu/RJ⁴⁹.

A concentração individual de HPA encontrada foi menor que o critério de qualidade NOAA, segundo Cordeiro et al.²¹, por exemplo, para o fluoranteno o valor é de 600 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e para o fenantreno de 240 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

O ponto 3 apresentou o menor nível de contaminação com HPA, justificando, assim, a sua escolha com o sedimento a ser contaminado artificialmente. Praticamente todos os HPA neste ponto estão bem abaixo dos valores ambientalmente aceitos, incluindo o próprio somatório de HPA ($\cong 4,0 \mu\text{g kg}^{-1}$). O ponto 2 apresentou concentrações intermediárias entre o 1 e o 3, porém ainda com baixa concentração, se comparado a outras partes do mundo e o do Brasil^{21,47,49,55}.

Os 3 pontos apresentaram em comum pequenas quantidades de Fenantreno, Fluoranteno, Pireno e Criseno. O HPA majoritário no sedimento 1 foi o Benzo(a)antraceno, no sedimento 2 o Criseno e o Naftaleno apareceu como pico majoritário no sedimento 3 não contaminado.

Uma vez que os sedimentos escolhidos não apresentaram contaminação relevante, escolheu-se o ponto localizado na Praia do Laranjal, Barra, que apresentou menor nível de contaminação, para avaliar a aplicação de todo o método (incluindo extração e análise) a um sedimento com uma contaminação propositalmente adicionada, conforme descrito na parte experimental, item 3.5 página 34. Este ponto foi estudado em 3 situações: sem contaminar (denominado 3A), contaminado diretamente com petróleo (3B) e contaminado através de uma coluna d'água a qual foi previamente adicionada uma alíquota de petróleo (3C).

O sedimento que apresentou maior número de compostos foi o correspondente à contaminação com coluna d'água (3C) e cujo cromatograma é apresentado na **Figura 19**, no qual o somatório de HPA foi de 514 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

4.3.2 Análise Cromatográfica Bidimensional

4.3.2.1 Otimização das condições cromatográficas por GC×GC-FID

a) Conjunto de colunas 1, 2 e 3

A primeira estratégia adotada foi otimizar as condições cromatográficas com um conjunto de colunas do tipo convencional, onde se tem uma coluna apolar na primeira dimensão e polar na segunda dimensão com diferentes comprimentos (**Tabela VI**, página 41).

A separação cromatográfica foi inicialmente otimizada para o conjunto colunas 1 (convencional), testando-se várias rampas de aquecimento. Entretanto, para essa combinação não foi possível eliminar picos fora de ciclo e co-eluição de picos, nas diversas programações de temperatura testadas. Os picos fora de ciclo são considerados indesejáveis por produzirem um alargamento da banda cromatográfica, e pela possibilidade de sobreposição dos mesmos com picos eluídos no ciclo de modulação subsequente. Na busca da redução do tempo cromatográfico sem co-eluição dos analitos aumentou-se o número de rampas de aquecimento, porém tal procedimento prejudicou a separação de alguns isômeros. Em geral ocorre a co-eluição dos compostos benzo[b]fluoranteno (pico 11) e benzo[k]fluoranteno (pico 12), independente da condição de temperatura usada.

A **Figura 21** (A, B e C) apresenta os cromatogramas (1D) obtidos nas três diferentes condições de aquecimento conforme descrito na **Tabela VII**, página 41. Na **Figura 21(A)** observa-se ausência do pico número 1 (naftaleno) e dos últimos HPA (picos 14, 15 e 16) além de uma resolução ineficiente para os compostos benzo[b]fluoranteno (pico 11) e benzo[k]fluoranteno (pico 12). A **Figura 21(B)** apresenta o cromatograma com uma rampa de programação de temperatura mais lenta, com três diferentes velocidades de aquecimento (3, 5 e 10 °C/min) observando-se o aparecimento dos picos não detectados na condição anterior, entretanto com a mesma superposição dos picos 11 e 12, acrescida da co-eluição dos picos 9 e 10. O naftaleno ainda aparece junto à cauda do solvente, indicando a necessidade de melhorar esta parte do cromatograma. Na **Figura 21(C)** houve uma redução da temperatura inicial (de 100 para 80°C), permitindo a melhor separação e detecção do naftaleno (pico 1). Além disso, a redução da segunda taxa de aquecimento para 3°C/min permitiu a separação completa dos picos 9 e 10, mantendo entretanto a co-eluição dos picos 11 e 12.

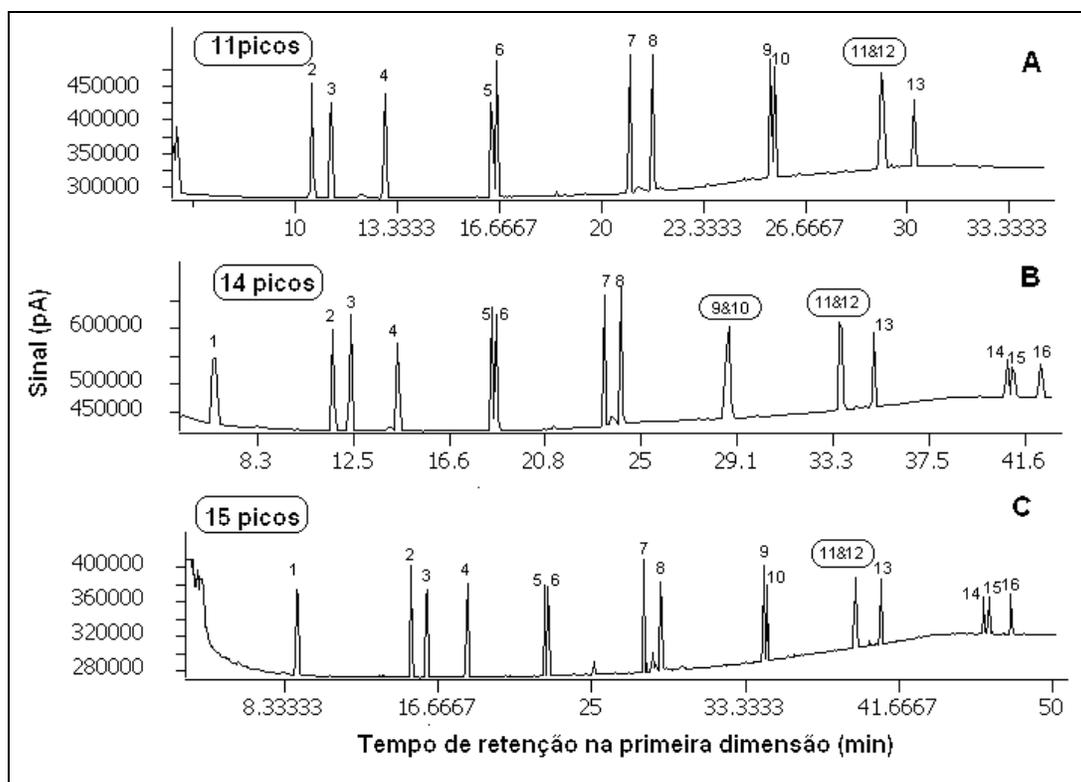


Figura 21: Cromatogramas reconstituídos na primeira dimensão para o conjunto de colunas 1, usando três condições diferentes de aquecimento (conforme **Tabela XII**, página 40)

A **Figura 22** apresenta alguns detalhes da separação na segunda dimensão. Verifica-se os isômeros criseno (pico 10) e Benzo[a]antraceno (pico 9) bem resolvidos assim como a co-eluição dos isômeros benzo[b]fluoranteno (pico 11) e benzo[k]fluoranteno (pico 12). Também se pode observar uma co-eluição com a sangria da coluna do composto benzo[ghi]perileno (pico 16).

A **Figura 23** ilustra a melhor separação dos padrões de HPA atingida nas condições testadas com os três conjuntos de colunas (1, 2 e 3) com comprimento de coluna de primeira dimensão de 30 m. Dentre as dimensões estudadas a coluna de 1 m apresentou o melhor resultado, com alguns picos fora de ciclo. A impossibilidade de eliminar a pequena incidência destes picos não se configura como problema, pois este efeito mostra uma interessante utilização do espaço de separação não utilizado pelos picos do ciclo, além de não perturbar a separação cromatográfica. Por essas razões, o conjunto de colunas 1 foi escolhido para futuros estudos.

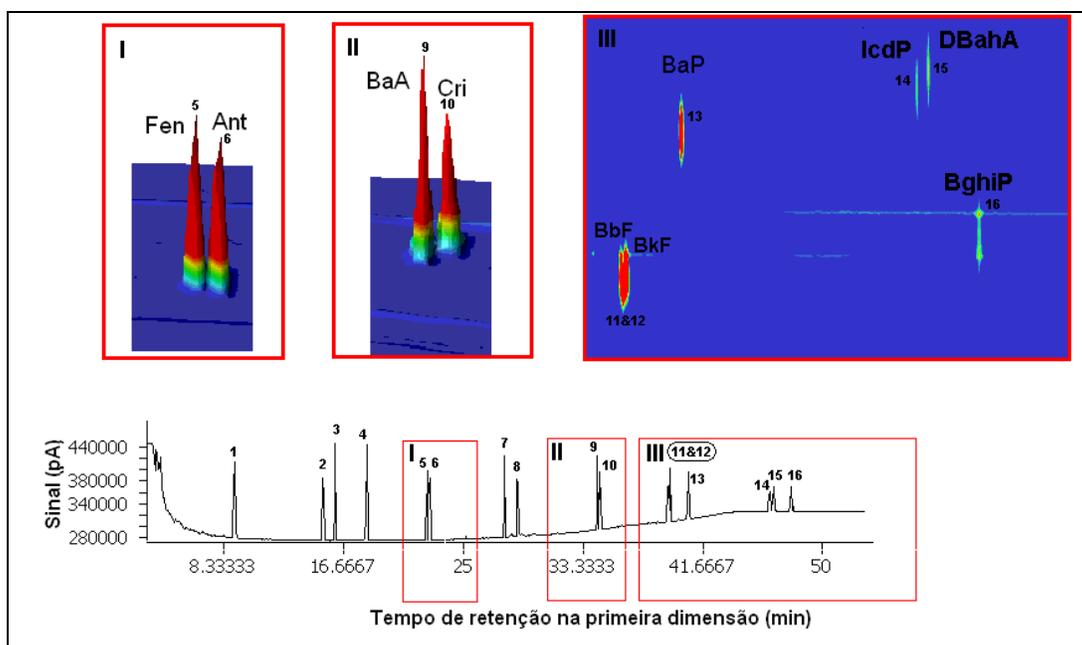


Figura 22: Detalhes do Cromatogramas reconstituído na primeira dimensão para a condição 1C (conforme **Tabela XII**, página 40).

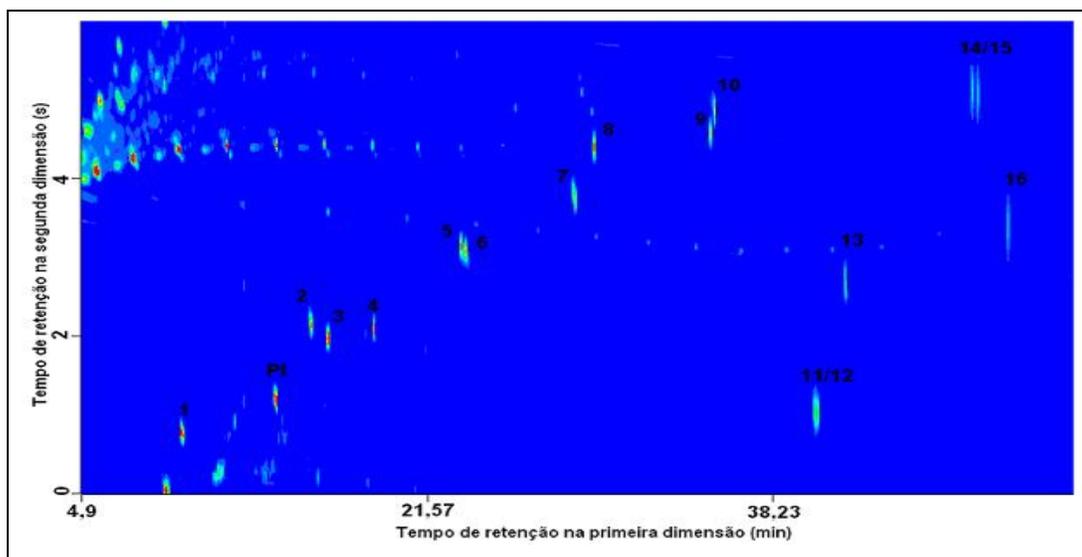


Figura 23. Diagrama de cores obtido para os padrões de HPA utilizando o conjunto de colunas 3. Condições cromatográficas descritas no item 3.8.2.2..

O modulador afeta o desempenho da separação, a largura dos picos e a sensibilidade através do processo de criofocalização^{134, 150}, portanto o teste de análise de diferentes períodos de modulação permitiu avaliar a distribuição dos analitos e dos interferentes no espaço cromatográfico. O tempo de modulação tem que ser ajustado de acordo com o tempo de retenção do analito com mais alto tempo de retenção na segunda dimensão¹³⁰. No **Anexo 3**

tem-se os cromatogramas 2D gerados para os 7 períodos de modulação (3 a 10 segundos) testados, com uma coluna de 2 m na segunda dimensão (conjunto 2). Observa-se através da análise dos diagramas de cores que o efeito de co-eluição é menos atuante num período de 6 segundos, sendo este o P_M escolhido para as demais análises.

A **Figura 24** apresenta a influência da duração no tempo de aplicação do pulso quente e frio.

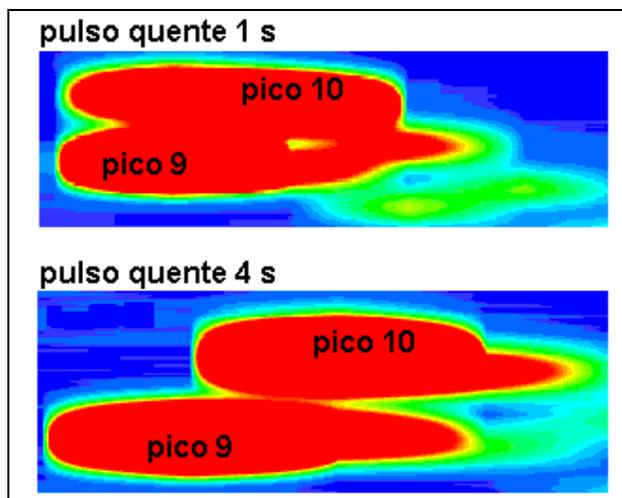


Figura 24. Ampliação dos picos 9 e 10 nos tempos de duração do pulso quente de 1 s e 4s, para o diagrama de cores obtido para os padrões com o conjunto de colunas 2, $P_M= 10$ s. Condições cromatográficas descritas no item 3.8.2.2..

Nesta **Figura** percebe-se que, quando a duração do pulso quente foi de 1 segundo, houve perda da sensibilidade, como resultado da maior retenção na segunda coluna e da baixa transferência de analitos do modulador para o resto da segunda coluna, resultando em picos distorcidos (largos ou amplos) ¹³⁴ para os compostos benzo[a]antraceno e criseno (picos 9 e 10 respectivamente) que co-eluem. Os tempo de retenção desses isômeros são $^1t_R=1200$ s, $^2t_R = 7,85$ s e $^1t_R=1210$ s, $^2t_R =8,23$ s, respectivamente O tempo de duração do pulso quente em 4 s levou a uma melhor separação dos isômeros, produzindo picos mais estreitos, volumes menores, com alturas maiores e bases mais estreitas, e com os tempos de retenção para o benzo[a]antraceno de 1190s e 7,74s enquanto que para o criseno os tempos foram de 1200s e 8,17s, para primeira e segunda dimensão respectivamente.

A **Figura 25** apresenta o efeito da diferença de temperatura entre o forno principal e o forno da segunda dimensão. Os picos que co-eluíram estão contornados por uma linha vermelha, enquanto os picos cortados pela modulação, ou seja, que saem em dois ciclos, estão circundados por uma linha verde.

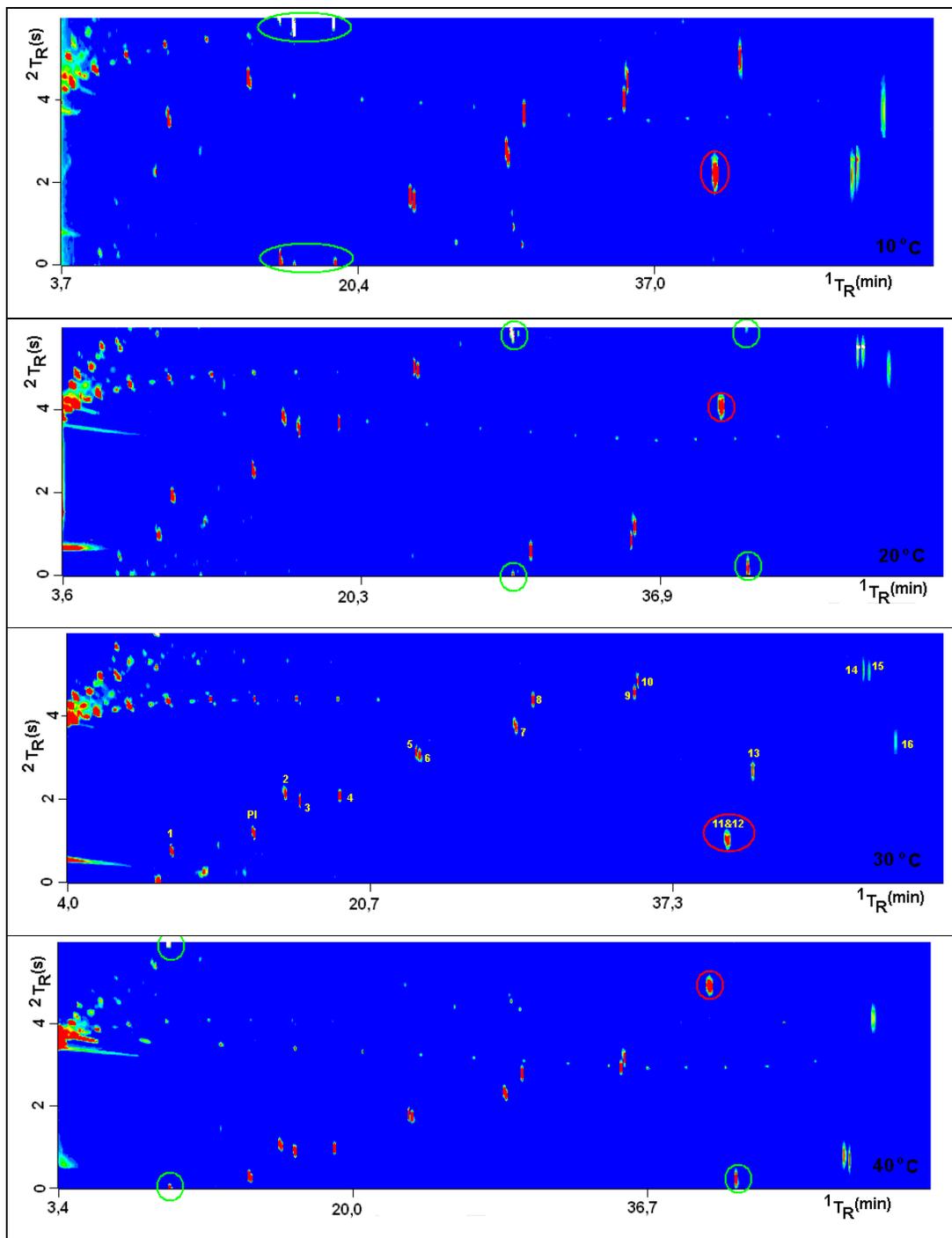


Figura 25. Diagrama de cores para o conjunto de colunas 3 com diferentes variações de temperatura entre o primeiro e segundo forno. Condições cromatográficas descritas no item 3.8.2.2.

Comparando os diagramas de cores obtidos usando-se um conjunto de coluna convencional (conjunto 3) percebe-se que quando a diferença temperatura entre os fornos foi de 30°C, tem-se um melhor aproveitamento do espaço cromatográfico, com todos os picos distribuídos neste espaço. Ocorre uma co-eluição (picos 11 e 12), mas os picos fora de ciclo

não ficam cortados. Desta forma esta variação de temperatura entre os dois fornos foi escolhida para os demais experimentos.

b) Conjunto de colunas 4

A principal modificação neste conjunto está no maior comprimento da coluna da primeira dimensão (50 m). Como não houve diferenças significativas na separação dos padrões, manteve-se a escolha de colunas na 1D com 30 m de comprimento.

c) Conjunto de colunas 5

Neste caso tem-se a modificação da coluna da segunda dimensão, sendo usada a mesma coluna da primeira dimensão (dos conjuntos anteriores) – DB-5 – e uma coluna fortemente polar (DB-Wax) na segunda dimensão. Observa-se pela **Figura 26**, que os três últimos picos não eluíram, num tempo total de 59 min e apresentando três pares não resolvidos. Na busca da eluição de todos os padrões fez a reprogramação do forno aumentando o tempo final, com uma corrida de 79 minutos. Mesmo com este tempo de análise não apareceram os últimos componentes, indicando que a baixa temperatura de trabalho, imposta pela fase estacionária da 2D, exige tempos maiores de análise. A confirmação da identidade dos alguns picos foi feita pelo estudo individual de cada padrão. Como ocorreu a co-eluição de alguns picos e retenção de outros, este conjunto de colunas não foi mais utilizado.

d) Conjuntos de colunas com geometria inversa: 6 (DB-Waxter e DB-17) e 7 (DB-Waxter e DB-1)

Neste caso os dois conjuntos apresentam uma coluna polar na primeira dimensão e uma coluna menos polar na segunda dimensão. O conjunto 7 apresenta uma diferença máxima de polaridade entre as duas colunas. A **Figura 27** apresenta o cromatograma dos padrões de HPA, para o conjunto 6, onde se observa que apenas eluíram os compostos mais leves (acenaftileno, fluoreno, antraceno/fenantreno, fluoranteno e pireno).

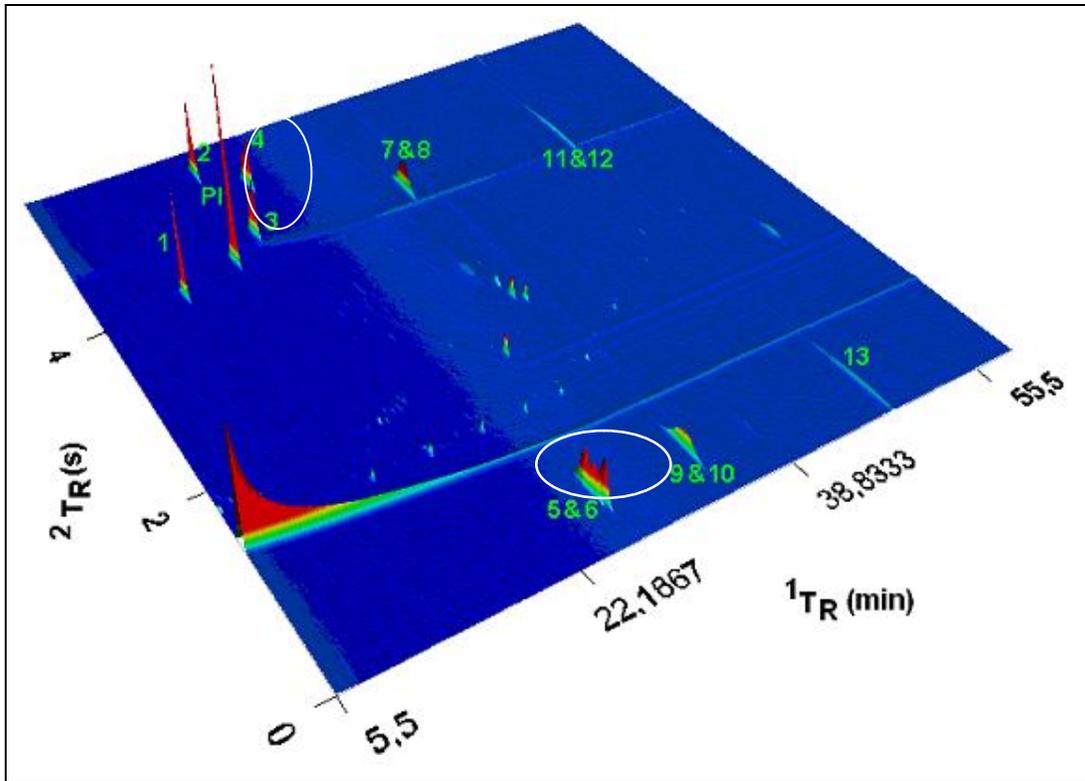


Figura 26. Diagrama 3D obtido para os padrões de HPA utilizando o conjunto de colunas 5. Condições cromatográficas descritas no item 3.8.2.2.

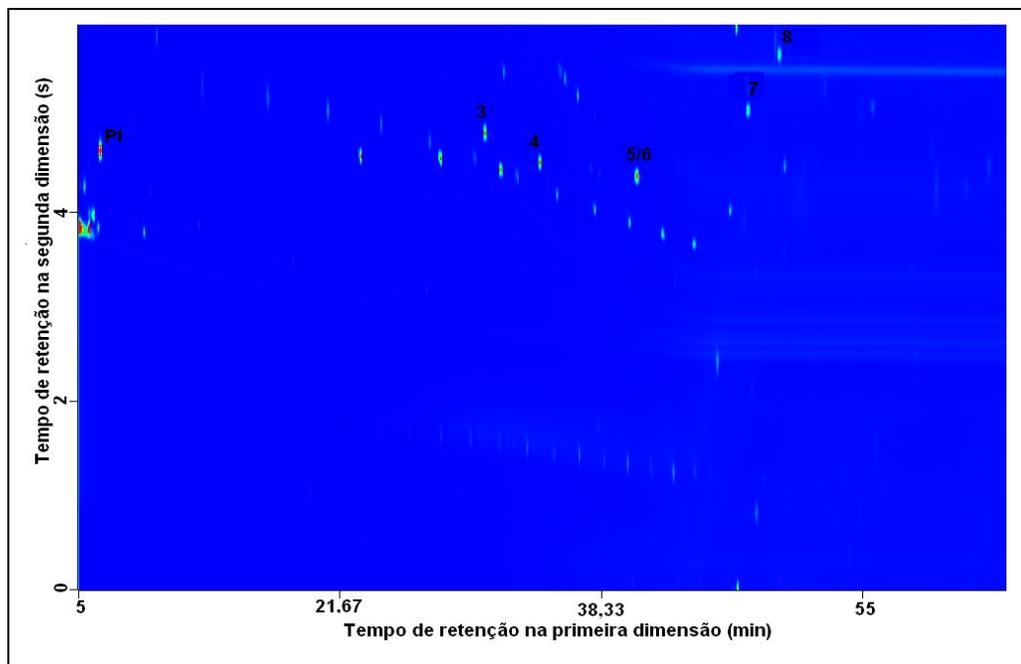


Figura 27. Diagrama de cores obtido para a fração F2 do extrato de sedimento, fortificada utilizando o conjunto de coluna 6. Condições cromatográficas descritas no item 3.8.2.2..

O estudo individual do padrão criseno, nas mesmas condições GCxGC-FID apresentou um tempo de retenção na primeira dimensão de 69,3 minutos. Isto comprova que esta coluna, por ser polar e por apresentar uma temperatura máxima de trabalho de 260°C retém os HPA mais pesados (com maior número de anéis aromáticos) e eleva o tempo de análise. Entre os compostos que eluíram observou-se a co-eluição dos compostos 5 e 6. O mesmo comportamento ocorreu para o conjunto 7, sendo então descartado o uso destes conjuntos de colunas pelos fatores citados.

Com o conjunto 7 foi possível somente a identificação de oito HPA, os compostos mais leves como naftaleno, acenafteno, acenaftileno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno e pireno.

e) Conjunto de colunas 8

Neste caso usou-se uma coluna HP-50 na primeira dimensão e uma coluna DB-1 na segunda. Não foi possível a eluição dos últimos compostos presentes na solução padrão além de não apresentar uma distribuição homogênea no espaço de separação, pois os compostos se localizam preferencialmente no espaço inferior do cromatograma, porque este conjunto de coluna separa primeiramente por polaridade e depois por volatilidade. Desta forma, também este conjunto de colunas foi descartado.

f) Conjunto de coluna 9 (DB-5 e LC-50)

A **Figura 28** ilustra o diagrama de cores obtido para os padrões de HPA utilizando o conjunto de colunas 9, que faz uso de uma coluna DB-5 na primeira dimensão e uma nova coluna produzida pela Restek com 50% de cristal de líquido iônico-metilpolisiloxano (LC-50).

Nas condições utilizadas para este conjunto de colunas observa-se a co-eluição de três pares de isômeros: 5 e 6; 9 e 10, e 11 e 12, sendo que este último par também não é separado na literatura⁷³

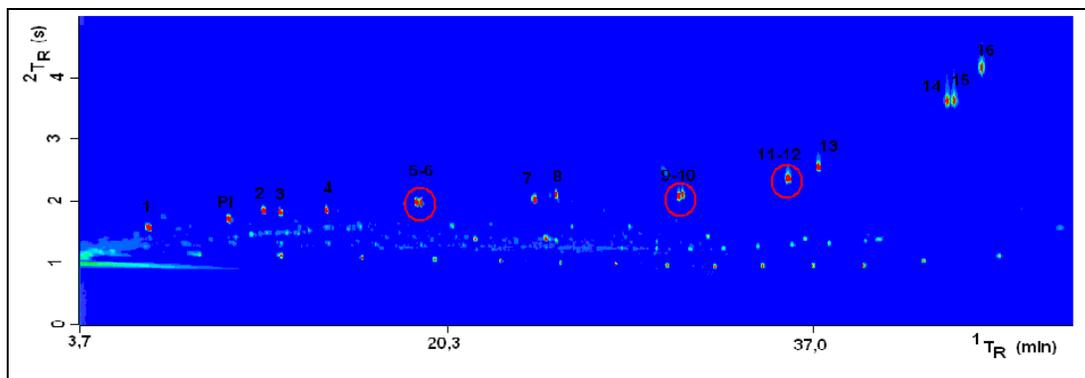


Figura 28. Diagrama de cores obtido para os 16HPA utilizando-se o conjunto de coluna 9. Tempo total de corrida 48,8 min e $P_M=5s$. Condições cromatográficas descritas no item 3.8.2.2..

g) Resumo dos resultados de GC×GC-FID aplicado à mistura de padrões

Em resumo, o melhor conjunto de coluna foi o de número 1, com a coluna DB-5 de 30 m da primeira dimensão e a DB-17 com 1 m na segunda dimensão. Este é um conjunto considerado convencional para este tipo de análise.

Entretanto, o tempo total de análise usando esta técnica é maior quando se compara com a cromatografia gasosa monodimensional.

Aplicando-se este conjunto de colunas à fração 2 do extrato do sedimento tem-se o diagrama apresentado na **Figura 29**. Neste caso, percebe-se que há uma separação muito boa entre os interferentes da matriz e os analitos. Esta é, portanto, a maior vantagem da aplicação desta técnica para a análise de HPA em sedimento.

Os HPA foram separados cromatograficamente dos analitos co-extraídos e dos interferentes com exceção dos isômeros benzo[b]fluoranteno e benzo[k]fluoranteno (picos 11 e 12) que co-eluem no tempo de retenção 40,4 min e 7,04s na primeira e segunda dimensão respectivamente. Os compostos eluindo a partir 36 min têm um tempo de retenção na segunda dimensão que excedem o período de modulação, exibindo picos fora de ciclos (*wrap-around*).

A resolução dos HPA obtida é aceitável porque as modificações experimentais na tentativa de reduzir o efeito de picos fora de ciclos não melhoram tal efeito. Uma relação entre a estrutura e a retenção parece ser aplicada para GC×GC. Os compostos estão distribuídos de acordo com volatilidade / polaridade e o diagrama de cores ilustram as relações químicas da amostra fornecendo, então, mais informações sobre a abundância relativa dos diferentes constituintes da mistura de HPA.

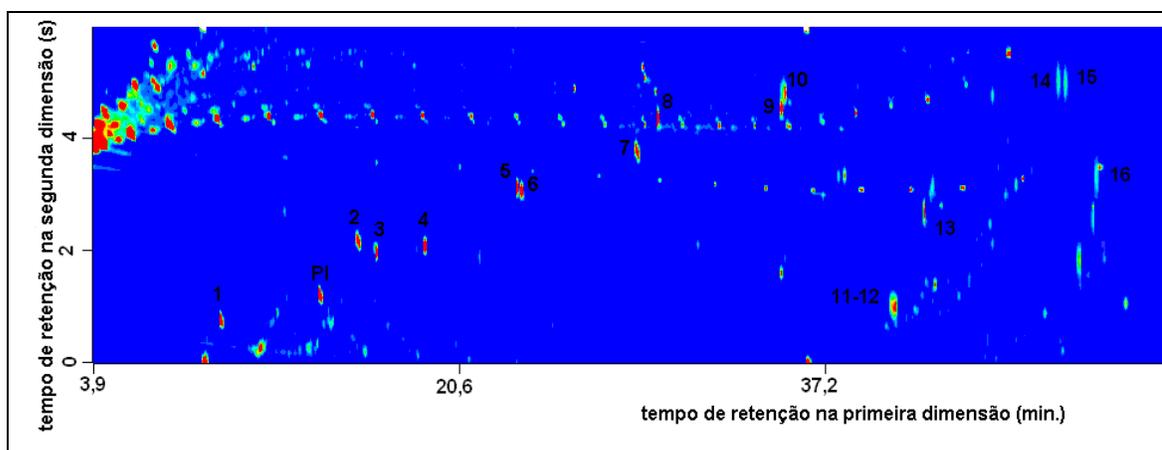


Figura 29: Diagrama de cores obtido para a fração F2 do extrato do sedimento, fortificada com os 16 HPA, utilizando-se o conjunto de coluna 1. Tempo total de corrida 53 min e $P_M = 6s$. Condições cromatográficas descritas no item 3.8.2.2..

h) Influência do fluxo

A **Figura 30** apresenta a influência da variação do fluxo sobre o tempo de retenção na coluna tanto da primeira dimensão como da segunda. Nesta **Figura** percebe-se que, quando o fluxo foi de 0,8 mL/min, a distribuição dos padrões de HPA numerados de 1 a 10 estão localizados na parte superior do espaço cromatográfico, enquanto que os HPA mais pesados estão na parte inferior, com picos fora de ciclo. O benzo(a)pireno apresenta tempos de retenção de 42,2 min e 7,37s para primeira e segunda dimensão, respectivamente, e posicionado junto a sangria da coluna. Observa-se que quando o fluxo aumenta para 0,9 e 1,0 ml/min, este composto apresenta tempos de retenção na primeira dimensão de 41,2 min e 41,0 min e na segunda dimensão de 6,96 s e 6,62s respectivamente.

Observa-se também esta variação para o benzo(g,h,i)perileno com tempos de retenção na segunda dimensão de 12,17 s e 11,82 s. Com um fluxo de 1 ml/min tem-se um maior número de compostos dentro do período de modulação. Observa-se que quando o fluxo dentro da coluna aumenta ocorre a diminuição do tempo de eluição dos compostos na 1D e 2D.

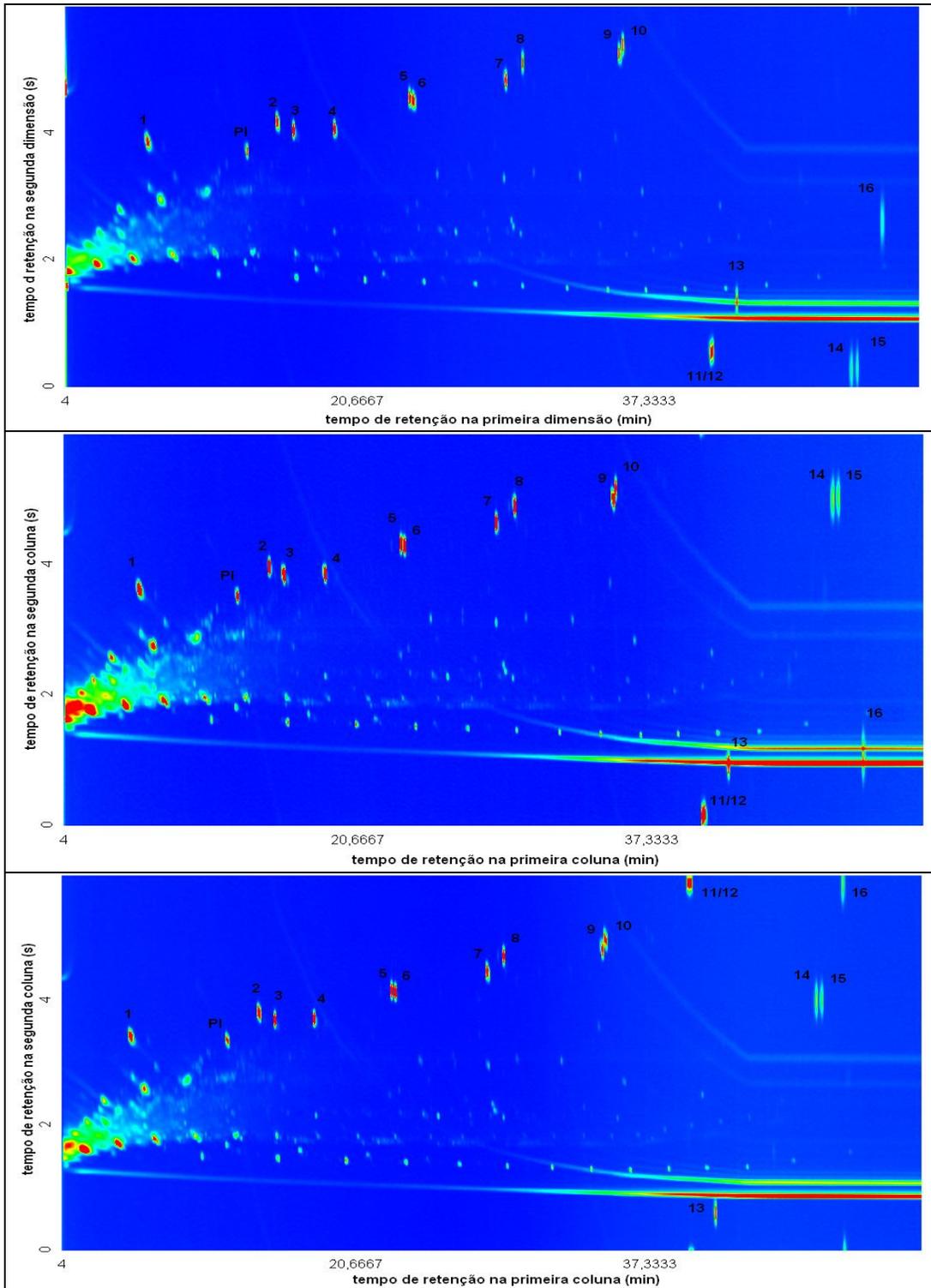


Figura 30: Diagrama de cores obtido para os padrões de HPA utilizando uma coluna DB-5 (30mx 0,25mmx 0,25 μm) e DB-17(1mx0,18mmx 0,1 μm) com diferentes fluxos. Condições cromatográficas descritas no item 3.8.2.2..

i) Influência do pulso de pressão

Foram testadas duas situações: com pulso de 60 psi durante 1 minuto e sem pulso de pressão na cabeça da coluna. Os resultados estão apresentados na **Figura 31**. Percebe-se melhor resolução para o método pulsado, sendo, então o método escolhido para as demais análises a serem realizadas com esta técnica.

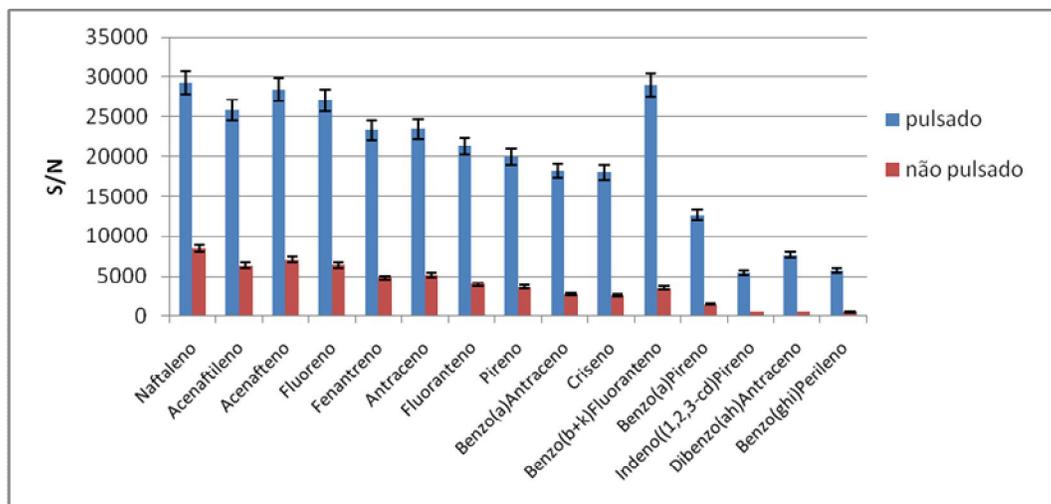


Figura 31: Influência do pulso de pressão na cabeça da coluna sobre a separação dos 16 HPA no sistema GC×GC-FID

4.3.2.2 Otimização das condições cromatográficas para o GC×GC/TOFMS

A complexidade de GC×GC implica em que, ao substituir um detector de sinal único, como é o caso do FID, por um detector de análise espectroscópica, como o TOFMS, seja necessário alguma adaptação. O próprio software indica a maior parte destas alterações, entretanto alguns parâmetros ainda precisam ser otimizados.

Com esta finalidade, usou-se uma mistura padrão com os 16 HPA na concentração de 1 ppm ($\mu\text{g L}^{-1}$) e um volume injetado de 1 μL . Mantiveram-se os parâmetros otimizados no GC×GC-FID (conjunto de colunas e rampas de temperatura), sendo variados os parâmetros de tempo de *splitless*, temperatura de injetor, temperatura da interface, temperatura da fonte de íons, diferença de temperatura entre a primeira e a segunda dimensão e pulso de pressão na cabeça da coluna.

a) Efeito do tempo de *splitless*

Usaram-se os tempos de *splitless* de 30, 60, 90 e 120 s como tentativa de evitar a discriminação dos compostos mais pesados no injetor, uma vez que estes apresentam a menor relação sinal/ruído. A **Figura 32** apresenta os resultados para os compostos mais leves (**Fig. 32A**) que apresentam maior razão sinal/ruído e para os mais pesados (**Fig. 32B**), com menor razão sinal/ruído.

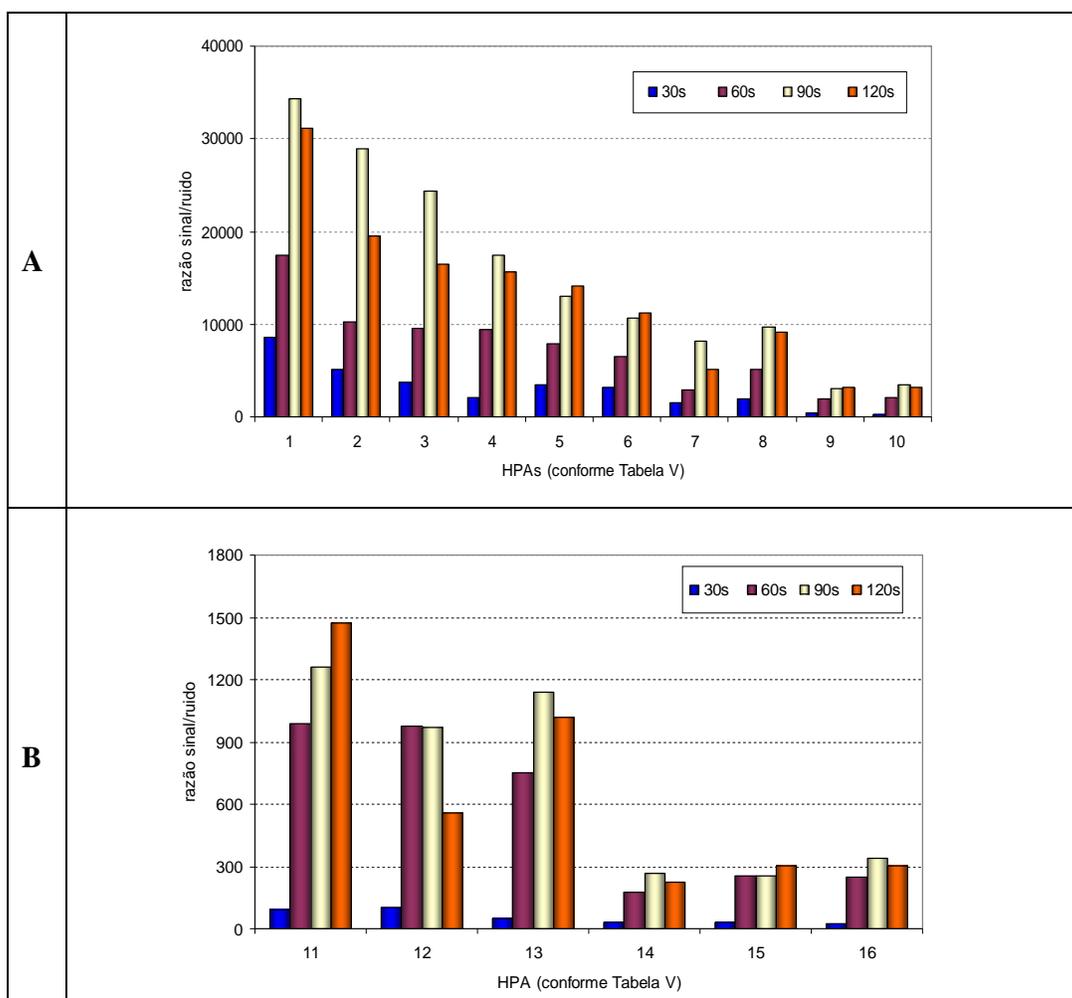


Figura 32: Variação da razão sinal/ruído para a análise dos HPA por GC×GC/TOFMS variando-se o tempo de *splitless*. (A) primeiros 10 HPA mais leves e (B) 6 últimos HPA com maior peso molecular.

Observou-se melhor desempenho para o tempo de 90 s, sendo este escolhido para a continuação dos trabalhos.

b) Efeito da temperatura da linha de transferência e da fonte de íons

Usou-se como parâmetro de referência a linha de transferência e a fonte de íons a 250 °C. Na **Figura 33** tem-se os resultados para a mudança de 250°C para 280°C tanto na linha de transferência como na fonte de íons, sendo a **Fig. 33A** para os HPA mais leves e a **Fig. 33B** para os mais pesados. Como o efeito não foi significativo para os HPA mais pesados, razão pela qual este parâmetro não foi alterado optou-se por continuar trabalhando com 250 °C que é uma temperatura padrão para este tipo de equipamento e que não causa grande desgaste na fonte de íons.

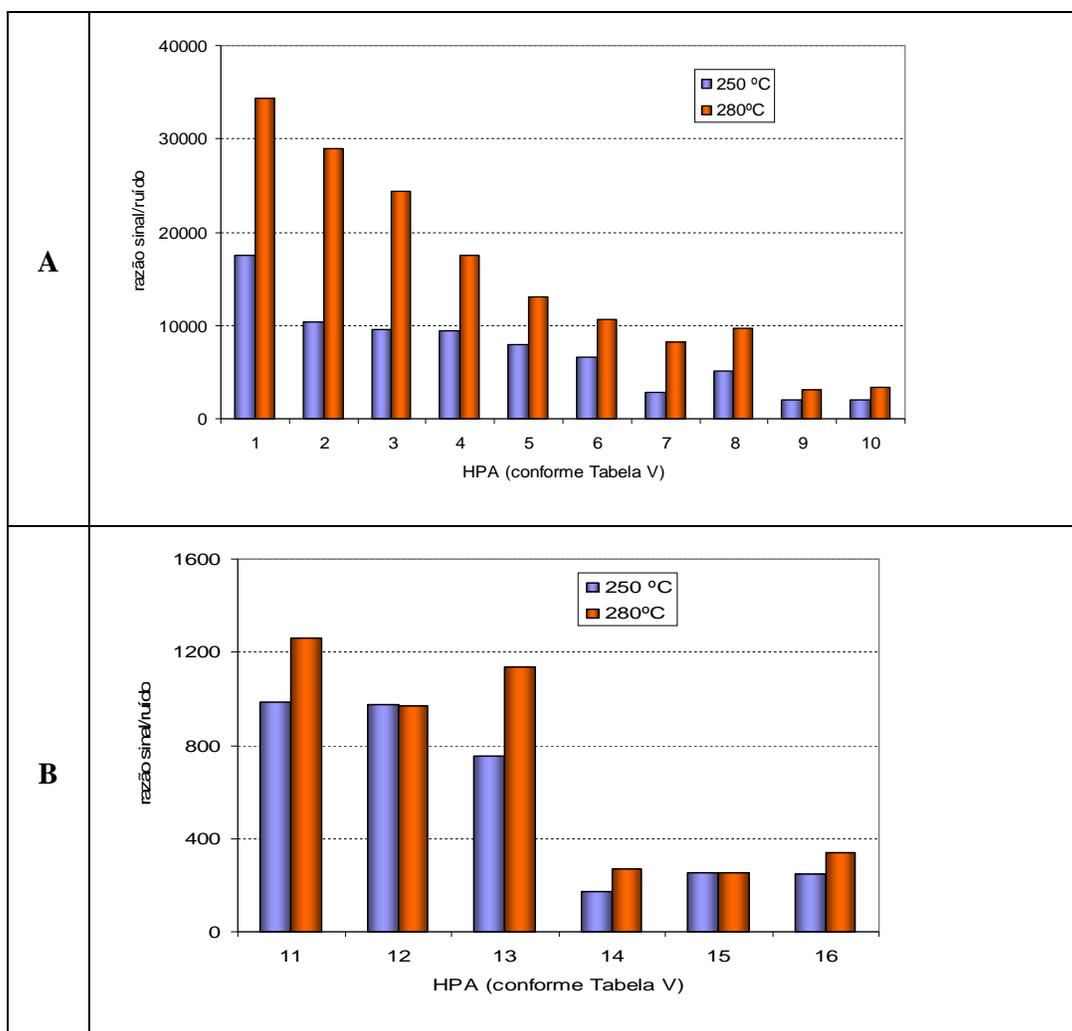


Figura 33: Variação da razão sinal/ruído para a análise dos HPA por GC×GC/TOFMS variando-se a temperatura da linha de transferência e da fonte de íons. (A) primeiros 10 HPA mais leves e (B) 6 últimos HPA com maior peso molecular

c) Efeito da taxa de aquisição de espectros

A **Figura 34** apresenta o efeito da variação da taxa de aquisição de espectros para a análise dos HPA por GC×GC/TOFMS. Usou-se a taxa de 10 Hz e 100 Hz. Percebe-se que o aumento da taxa de aquisição de sinal para 100 Hz aumentou a relação sinal/ruído para toda a faixa de pesos moleculares dos HPA estudados. Os HPA também foram divididos em faixas de peso molecular para melhor visualizar o efeito. Desta forma optou-se por trabalhar com a taxa de aquisição de 100 Hz.

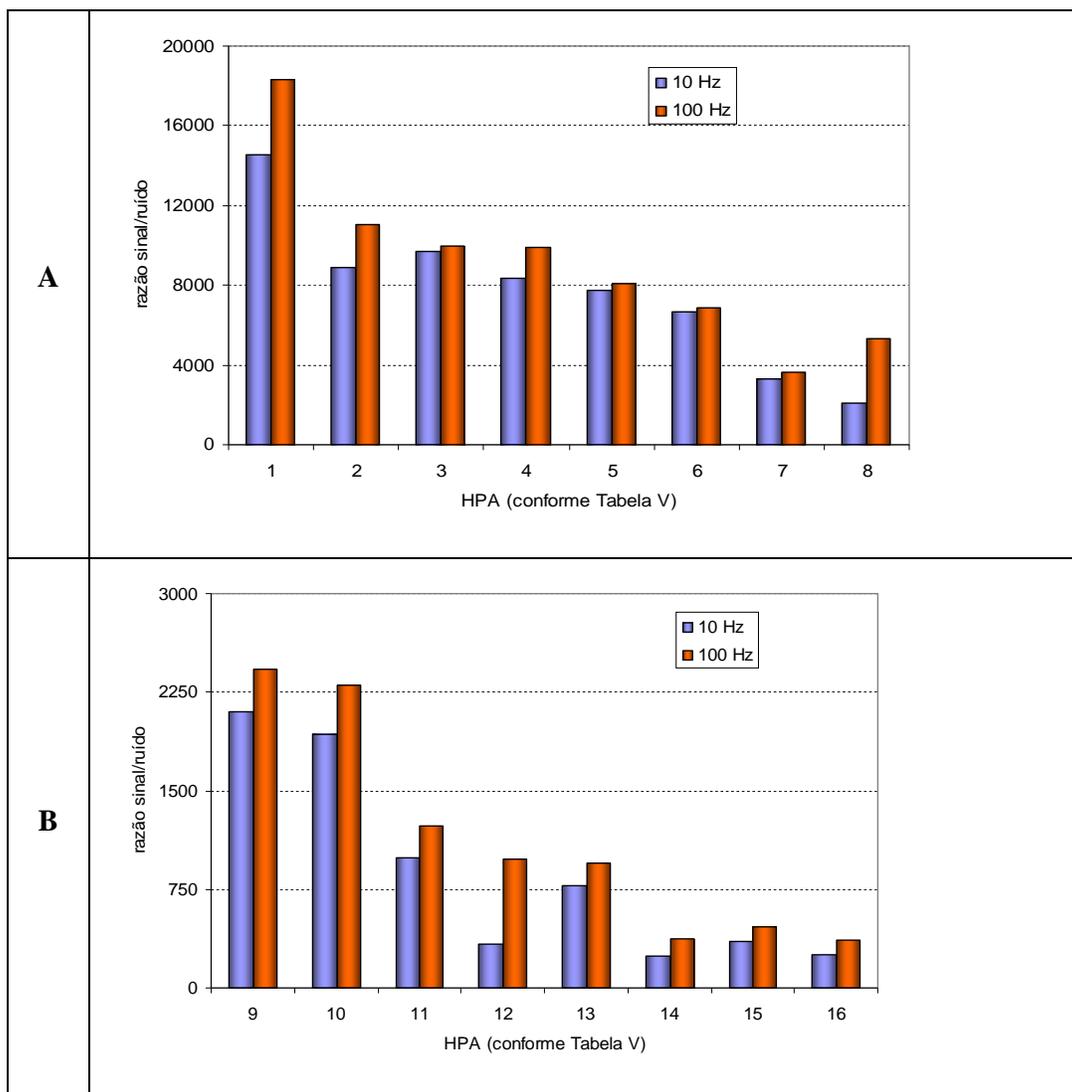


Figura 34: Variação da razão sinal/ruído para a análise dos HPA por GC×GC/TOFMS variando-se a taxa de aquisição de espectros. (A) primeiros 8 HPA mais leves e (B) 8 últimos HPA com maior peso molecular.

d) Efeito da diferença de temperatura entre a primeira e a segunda dimensão

A diferença de temperatura entre a primeira e a segunda dimensão foi avaliada através dos valores de 5 e 15 °C. Os resultados estão ilustrados na **Figura 35**. Houve um efeito mais significativo do S/N dos compostos formados com 3 e 5 anéis, que foram melhor discriminados com a maior diferença entre as temperaturas, portanto a diferença entre os fornos foi estabelecida de 15 °C para os demais testes.

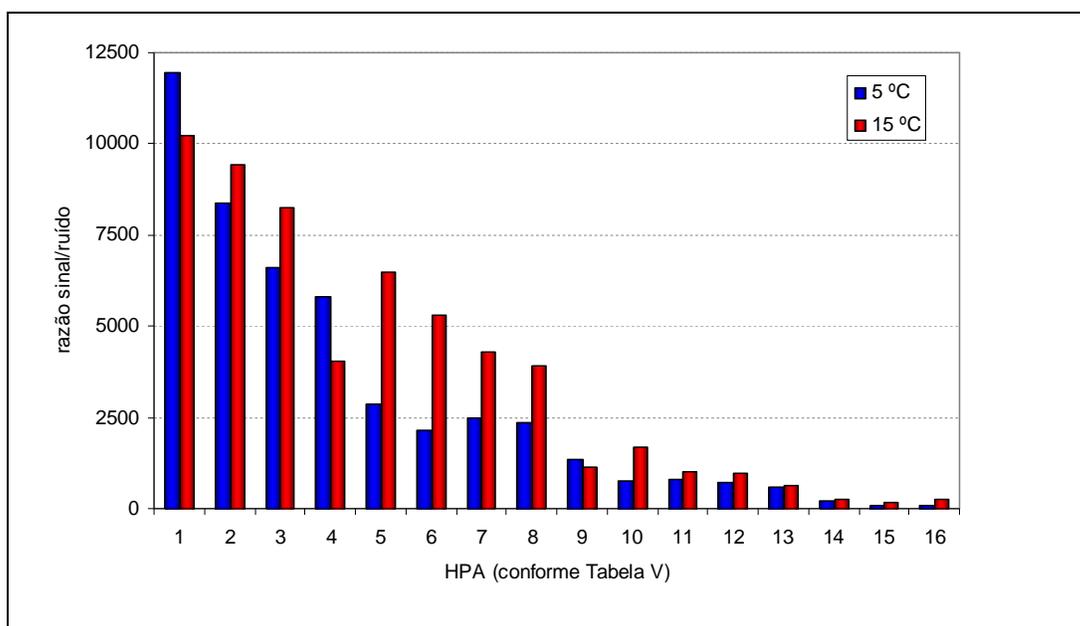


Figura 35: Variação da razão sinal/ruído para a análise dos HPA por GC×GC/TOFMS variando-se a diferença de temperatura entre os dois fornos (1D e 2D).

e) Efeito da Temperatura do Injetor

A temperatura do injetor foi aumentada de 300 °C para 320 °C. Foi observada uma melhora significativa na resposta, conforme apresentado na **Figura 36**, sendo, então, adotada esta temperatura para o injetor nas demais análises realizadas por GC×GC/TOFMS.

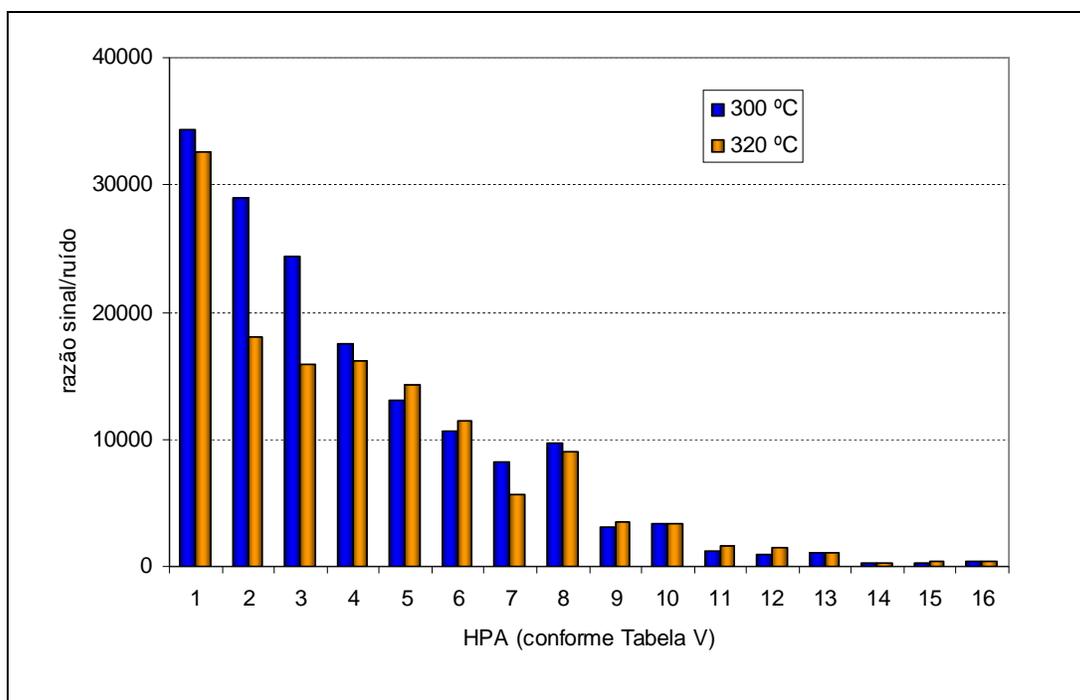


Figura 36: Variação da razão sinal/ruído para a análise dos HPA por GCxGC/TOFMS variando-se a temperatura do injetor.

f) Efeito do Pulso de pressão na cabeça da coluna

O pulso de pressão na cabeça do injetor também pode exercer um efeito positivo na análise. Por essa razão foram testados pulsos de pressão no injetor, usando a opção “*pulse splitless*”. Foram testadas as pressões de 20, 40, 60, 80 e 100 psi. Os resultados obtidos na pressão de 20, 40 e 60 psi estão apresentados na **Figura 37**. Os compostos acenaftileno e fluoreno apresentaram valores de S/N maiores no pulso de 40 psi do que a 60 psi. Para os demais compostos, o pulso a 60 psi apresentou maiores valores de S/N. O equipamento entrou em *shutdown* (desligamento automático) quando da utilização do pulso de pressão de 100 psi devido a possíveis vazamentos. Os resultados do teste realizados com o aumento da pressão de injeção de 80 psi foram negativos, sendo descartados. Sendo assim, o pulso da pressão na cabeça da coluna para a análise posteriores foi 60 psi.

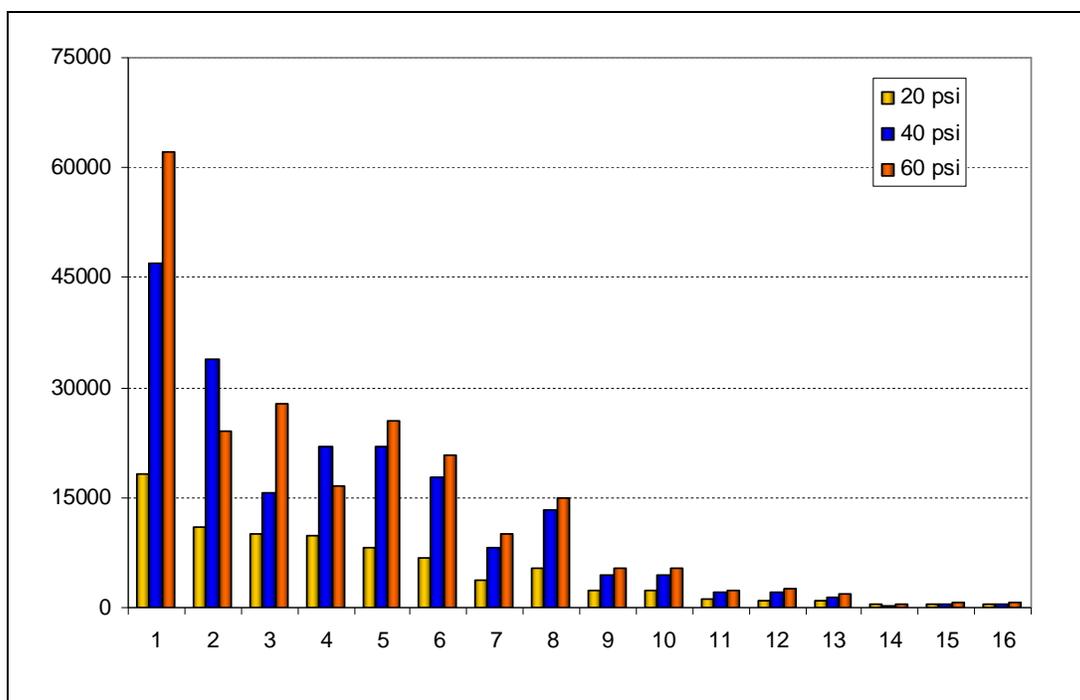


Figura 37: Variação da razão sinal/ruído para a análise dos HPA por GC×GC/TOFMS variando-se o pulso de pressão na cabeça da coluna.

4.3.2.3. Análise Cromatográfica Bidimensional dos Extratos dos Sedimentos estudados

Para a análise cromatográfica da fração de HPA dos extratos estudados por GC×GC foram empregadas as condições que apresentaram os melhores resultados tanto na otimização por GC×GC-FID como na GC×GC/TOFMS, quais sejam: conjunto de colunas 1 (¹D - DB-5 (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm) e ²D - DB-17 (1 m × 0,18 mm × 0,18 μm) e condições de aquecimento do forno: 80 °C (0,2min), 5°C/min, 260 °C (0 min), 3°C/min, 280°C 10 min).

A análise qualitativa foi realizada por GC×GC/TOFMS permitindo a identificação qualitativa dos HPA estudados e de alguns HPA com cadeias laterais. Já a análise quantitativa foi realizada por GC×GC-FID e baseou-se apenas nos 16 HPA estudados, os quais são padrão cromatográfico.

4.3.2.3.1 Análise Qualitativa: GC×GC/TOFMS

A **Figura 38** ilustra os diagramas de ápices obtidos para a fração F2 do extrato do sedimento do ponto 1 (Barragem Santa Bárbara). Foram identificados apenas 9 compostos, sendo cinco usando padrões e 4 sem o uso de padrões (HPA ramificados).

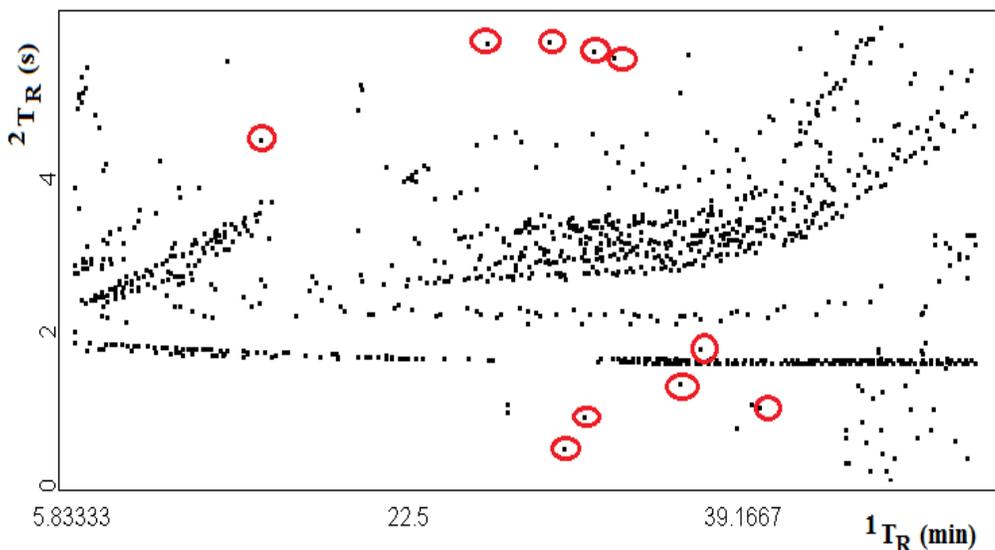


Figura 38: Diagrama de ápices para os compostos identificados na fração F2 do extrato do sedimento do ponto 1 (Barragem Santa Bárbara) usando as condições otimizadas para o GC×GC/TOFMS.

Verifica-se que a amostra tem ainda um grande efeito de matriz representado pelos demais pontos no diagrama de ápices, o que, no entanto, não atrapalha a identificação dos compostos, uma vez que estes picos estão perfeitamente separados no espaço bidimensional.

A **Tabela XIII** apresenta os compostos identificados pelo software ChromaTOF, juntamente com os tempos de retenção na primeira e na segunda dimensões, os valores de similaridade (S) e massa única (U) dos compostos.

Tabela XIII: Compostos identificados (com o uso de padrões) e tentativamente identificados (apenas por similaridade com a biblioteca do equipamento) na fração F2 do extrato do sedimento do ponto 1 (Barragem Santa Bárbara) por GC×GC/TOFMS

Compostos(*)	$1T_R$ (min)	$2T_R$ (s)	U (massa única) (Daltons)	Similaridade
Bifenila (PI)	15,23	4,50	154	940
Fenantreno	24,63	5,89	178	856
C1- Fenantreno	27,43	5,95	192	873
C2- Fenantreno	29,53	5,79	206	846
Fluoranteno	30,23	0,52	202	907
Pireno	31,23	0,94	202	904
C4-Fenantreno	32,73	5,60	234	894
Benzo[ghi]Fluoranteno	36,03	1,37	226	761
Benzo[a]Antraceno	37,03	1,80	228	824
C3-Antraceno	39,93	1,06	218	716

(*) cadeia lateral representada pela letra C seguida do número de átomos de carbono

De maneira semelhante, foram identificados os HPA nos sedimentos 2, 3A, 3B e 3C, que estão apresentados na **Tabela XIV**.

Tabela XIV: Compostos identificados (com o uso de padrões) e tentativamente identificados (apenas por similaridade com a biblioteca do equipamento) na fração F2 dos extratos dos três sedimentos estudados (1, 2 e 3A) e dos sedimentos contaminados artificialmente (3B e 3C) por GC×GC/TOFMS.

ordem	nº de anéis	compostos	1tR	2tR	U	Fórmula	1	2	3A	3B	3C
1.	2 anéis	naftaleno	10,93	2,66	128	C8H10	X	X	X		
2.	2 anéis	C2 naftaleno	17,03	4,73	156	C12H12					X
3.	2 anéis	C2 naftaleno	15,83	4,36	156	C12H12			X	X	X
4.	2 anéis	C2 naftaleno	16,23	4,50	156	C12H12			X	X	X
5.	2 anéis	C3 naftaleno	18,03	4,49	170	C13H14					X
6.	2 anéis	C3 naftaleno	17,03	4,27	170	C13H14					X
7.	2 anéis	C3 naftaleno	18,43	4,51	170	C13H14				X	X
8.	2 anéis	C3 naftaleno	19,33	4,50	170	C13H14					X
9.	2 anéis	C3 naftaleno	20,53	4,94	170	C13H14					X
10.	2 anéis	C3 naftaleno	19,63	4,63	170	C13H14					X
11.	2 anéis	C3 naftaleno	21,63	4,18	170	C13H14					X
12.	2 anéis	C3 naftaleno	22,83	4,33	170	C13H14					X
13.	2 anéis	C3 naftaleno	20,13	4,86	170	C13H14				X	X
14.	2 anéis	C3 naftaleno	18,23	4,34	170	C13H14					X
15.	2 anéis	C3 naftaleno	20,23	4,81	170	C13H14				X	X
16.	2 anéis	C3 naftaleno	18,83	4,46	170	C13H14				X	X
17.	2 anéis	C3 naftaleno	18,33	4,43	170	C13H14					X
18.	2 anéis	C3 naftaleno	21,83	4,24	170	C13H14					X
19.	2 anéis	C3 naftaleno	20,73	5,14	168	C13H12					X
20.	2 anéis	C3 naftaleno	20,43	5,32	168	C13H12					X
21.	2 anéis	C3 naftaleno	17,83	4,35	170	C13H14				X	X
22.	2 anéis	C4 naftaleno	19,13	4,28	184	C14H16					X
23.	2 anéis	C4 naftaleno	20,43	4,31	184	C14H16				X	X
24.	2 anéis	C4 naftaleno	20,73	4,61	184	C14H16					X
25.	2 anéis	C4 naftaleno	20,53	4,45	184	C14H16					X
26.	2 anéis	C4 naftaleno	22,63	4,62	184	C14H16				X	X
27.	2 anéis	C4 naftaleno	22,03	4,55	184	C14H16				X	X
28.	2 anéis	C4 naftaleno	19,13	4,23	184	C14H16				X	X
29.	2 anéis	C4 naftaleno	21,03	4,41	184	C14H16				X	X
30.	2 anéis	C4 naftaleno	20,03	4,38	184	C14H16				X	X
31.	2 anéis	C4 naftaleno	22,83	4,76	184	C14H16					X
32.	2 anéis	C4 naftaleno	21,63	4,45	184	C14H16					X
33.	2 anéis	C4 naftaleno	23,03	4,81	184	C14H16				X	X
34.	2 anéis	C4 naftaleno	19,63	4,24	184	C14H16				X	X
35.	2 anéis	C4 naftaleno	20,23	4,43	184	C14H16					X
36.	2 anéis	C4 naftaleno	25,43	4,34	184	C14H16					X
37.	2 anéis	C4 naftaleno	20,83	4,48	184	C14H16					X

Continuação da Tabela XIV:

ordem	nº de anéis	compostos	1iR	2iR	U	Fórmula	1	2	3A	3B	3C
38.	2 anéis	C4 naftaleno	23,43	4,94	184	C14H16				X	X
39.	2 anéis	C4 naftaleno	19,73	4,37	184	C14H16				X	X
40.	2 anéis	C5 naftaleno	25,03	4,37	198	C15H18					X
41.	2 anéis	C5 naftaleno	22,13	4,39	198	C15H18				X	X
42.	2 anéis	C5 naftaleno	26,43	5,03	198	C15H18					X
43.	2 anéis	C5 naftaleno	23,43	4,49	198	C15H18					X
44.	2 anéis	C5 naftaleno	23,33	4,44	198	C15H18					X
45.	2 anéis	C5 naftaleno	23,63	4,47	198	C15H18					X
46.	2 anéis	C6 naftaleno	24,23	4,29	212	C16H20			X		X
47.	2 anéis	C6 naftaleno	21,43	4,32	210	C16H18					X
48.	2 anéis	C6 naftaleno	23,73	4,72	210	C16H18				X	X
49.	2 anéis	C6 naftaleno	26,23	4,76	210	C16H18					X
50.	2 anéis	C6 naftaleno	23,13	4,55	210	C16H18					X
51.	2 anéis	C6 naftaleno	24,63	4,74	210	C16H18					X
52.	2 anéis	C6 naftaleno	25,73	4,86	210	C16H18					X
53.	2 anéis	C6 naftaleno	24,43	4,88	210	C16H18					X
54.	2 anéis	C6 naftaleno	24,13	4,67	210	C16H18					X
55.	2 anéis	C3 tetra hidro naftaleno	21,33	3,62	174	C13H18					X
56.	2 anéis	C4 tetra hidro naftaleno	17,73	3,91	188	C14H20					X
57.	2 anéis	C8 tetra hidro naftaleno	23,93	3,66	202	C16H10					X
58.	2 anéis	C8 tetra hidro naftaleno	24,93	3,74	202	C16H10					X
59.	3 anéis	C1 feniletilnaftaleno	36,83	0,59	244	C19H16					X
60.	3 anéis	C1 feniletilnaftaleno	37,03	0,73	244	C19H16					X
61.	3 anéis	C1 feniletilnaftaleno	37,23	0,83	244	C19H16					X
62.	3 anéis	Acenafteno	20,53	5,09	154	C12H10					X
63.	3 anéis	fluoreno	20,13	5,20	166	C13H10			X	X	X
64.	3 anéis	C1 fluoreno	23,13	5,35	180	C14H12		X	X		X
65.	3 anéis	C1 fluoreno	22,73	5,11	180	C14H12				X	X
66.	3 anéis	C1 fluoreno	20,63	4,98	180	C14H12				X	X
67.	3 anéis	C1 fluoreno	22,83	5,25	180	C14H12				X	X
68.	3 anéis	C2 fluoreno	24,83	5,15	194	C15H14				X	X
69.	3 anéis	C2 fluoreno	22,23	4,96	194	C15H14					X
70.	3 anéis	C2 fluoreno	23,33	5,11	194	C15H14		X	X	X	X
71.	3 anéis	C2 fluoreno	23,03	4,93	194	C15H14		X		X	X
72.	3 anéis	C2 fluoreno	26,03	5,39	194	C15H14		X			X
73.	3 anéis	C2 fluoreno	20,03	4,70	194	C15H14				X	X
74.	3 anéis	C2 fluoreno	25,73	5,36	194	C15H14				X	X
75.	3 anéis	tetrahydro antraceno	23,93	5,31	182	C14H14					X
76.	3 anéis	C1 dihidro antraceno	25,13	5,11	194	C15H14				X	X
77.	3 anéis	C1 dihidro antraceno	25,33	5,20	194	C15H14				X	X

Continuação da Tabela XIV:

ordem	nº de anéis	compostos	1tR	2tR	U	Fórmula	1	2	3A	3B	3C
78.	3 anéis	C1 dihidro antraceno	25,53	5,27	194	C15H14		X	X	X	X
79.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	27,93	5,28	208	C16H16		X			X
80.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	27,43	5,02	208	C16H16		X			X
81.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	28,03	5,34	208	C16H16				X	X
82.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	22,83	4,90	208	C16H16					X
83.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	27,53	5,11	208	C16H16				X	X
84.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	25,33	4,88	208	C16H16					X
85.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	28,73	5,49	208	C16H16				X	X
86.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	27,63	5,18	208	C16H16				X	X
87.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	25,63	5,04	208	C16H16				X	X
88.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	28,33	5,29	208	C16H16					X
89.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	28,43	5,35	208	C16H16				X	X
90.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	31,23	4,94	222	C17H18					X
91.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	31,13	5,37	222	C17H18				X	X
92.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	30,43	5,28	222	C17H18				X	X
93.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	29,73	5,13	222	C17H18				X	X
94.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	31,03	5,39	222	C17H18					X
95.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	24,93	4,83	222	C17H18					X
96.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	30,23	5,15	222	C17H18				X	X
97.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	24,63	4,55	222	C17H18					X
98.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	24,83	4,75	222	C17H18		X	X		X
99.	3 anéis	C2 dihidro antraceno	24,53	4,62	222	C17H18		X	X		X
100.	3 anéis	C3 dihidro antraceno	29,73	5,18	222	C17H18				X	X
101.	3 anéis	C3 dihidro antraceno	29,03	5,00	222	C17H18				X	X
102.	3 anéis	C3 dihidro antraceno	29,23	5,02	222	C17H18				X	X
103.	3 anéis	C3 dihidro antraceno	29,53	5,18	222	C17H18				X	X
104.	3 anéis	C2 antraceno	30,03	0,01	206	C16H14				X	X
105.	3 anéis	C2 antraceno	29,03	5,67	206	C16H14				X	X
106.	3 anéis	C3 antraceno	29,63	5,39	220	C17H16		X			X
107.	3 anéis	C3 antraceno	30,43	5,73	218	C17H14					X
108.	3 anéis	C3 antraceno	33,53	0,80	218	C17H14					X
109.	3 anéis	C3 antraceno	32,13	0,12	218	C17H14					X
110.	3 anéis	C3 antraceno	39,93	1,07	218	C17H14	X				X
111.	4 anéis	Benz[a]antraceno	37,03	1,82	228	C18H12	X	X	X	X	X
112.	4 anéis	C1 Benz[a]antraceno	39,63	2,62	242	C19H14		X			X
113.	4 anéis	C1 Benz[a]antraceno	39,33	2,45	242	C19H14					X
114.	3 anéis	fenantreno	24,53	5,95	178	C14H10	X	X	X	X	X
115.	3 anéis	C1 fenantreno	26,93	5,72	192	C15H12		X	X	X	X
116.	3 anéis	C1 fenantreno	27,53	0,00	192	C15H12		X			X
117.	3 anéis	C1 fenantreno	27,43	0,02	192	C15H12		X		X	X

Continuação da Tabela XIV:

ordem	nº de anéis	compostos	1IR	2IR	U	Fórmula	1	2	3A	3B	3C
118.	3 anéis	C1 fenantreno	27,53	5,98	192	C15H12	X	X		X	X
119.	3 anéis	C2 fenantreno	29,33	5,71	206	C16H14		X		X	X
120.	3 anéis	C2 fenantreno	29,63	5,86	206	C16H14		X	X	X	X
121.	3 anéis	C2 fenantreno	29,73	5,95	206	C16H14		X	X	X	X
122.	3 anéis	C2 fenantreno	30,33	0,06	206	C16H14		X	X		X
123.	3 anéis	C2 fenantreno	29,03	5,58	206	C16H14		X	X	X	X
124.	3 anéis	C2 fenantreno	28,73	5,57	206	C16H14		X	X		X
125.	3 anéis	C2 fenantreno	29,23	5,64	206	C16H14	X	X	X		X
126.	3 anéis	C2 fenantreno	30,63	0,14	206	C16H14		X		X	X
127.	3 anéis	C3 fenantreno	31,23	5,64	220	C17H16		X		X	X
128.	3 anéis	C3 fenantreno	30,93	5,53	220	C17H16		X			X
129.	3 anéis	C3 fenantreno	30,73	5,43	220	C17H16		X			X
130.	3 anéis	C3 fenantreno	32,93	0,14	220	C17H16		X		X	X
131.	3 anéis	C3 fenantreno	31,73	5,66	220	C17H16		X		X	X
132.	3 anéis	C3 fenantreno	31,93	5,86	220	C17H16		X		X	X
133.	3 anéis	C4 fenantreno	32,73	5,58	234	C18H18	X	X			X
134.	3 anéis	C4 fenantreno	33,53	5,68	234	C18H18				X	X
135.	3 anéis	C4 fenantreno	33,43	5,66	234	C18H18					X
136.	3 anéis	C4 fenantreno	33,13	5,55	234	C18H18				X	X
137.	3 anéis	C4 fenantreno	33,03	5,53	234	C18H18					X
138.	3 anéis	C4 fenantreno	35,33	0,17	234	C18H18		X			X
139.	3 anéis	C4 fenantreno	34,23	5,76	234	C18H18		X			X
140.	3 anéis	C4 fenantreno	33,73	5,70	234	C18H18		X			X
141.	3 anéis	C4 fenantreno	34,03	5,74	234	C18H18		X		X	X
142.	3 anéis	C4 fenantreno	35,03	0,04	234	C18H18		X			X
143.	4 anéis	C2 Benzo[c]fenantreno	41,63	2,82	256	C20H16					X
144.	4 anéis	C2 Benzo[c]fenantreno	41,73	3,08	256	C20H16					X
145.	4 anéis	pireno	31,23	0,94	202	C16H10	X	X	X	X	X
146.	4 anéis	C1 pireno	32,93	0,64	216	C17H12		X		X	X
147.	4 anéis	C1 pireno	33,93	0,97	216	C17H12		X			X
148.	4 anéis	C2 pireno	35,33	0,72	230	C18H14				X	X
149.	4 anéis	C2 pireno	36,13	1,02	230	C18H14					X
150.	4 anéis	C2 pireno	34,93	0,50	230	C18H14				X	X
151.	4 anéis	C2 pireno	35,53	0,77	230	C18H14				X	X
152.	4 anéis	C2 pireno	35,73	0,83	230	C18H14					X
153.	4 anéis	C2 pireno	35,03	0,55	230	C18H14				X	X
154.	4 anéis	fluoranteno	30,23	0,52	202	C16H10	X	X	X	X	X
155.	4 anéis	C1 fluoranteno	33,23	0,76	216	C17H12					X
156.	4 anéis	criseno	38,63	5,76	228	C18H12	X	X	X	X	X
157.	4 anéis	C1 Criseno	38,93	2,08	242	C19H14					X

Continuação da Tabela XIV:

ordem	nº de anéis	compostos	1tR	2tR	U	Fórmula	1	2	3A	3B	3C
158.	5 anéis	benzo[a]pireno	46,63	5,05	252	C20H12			X		X
159.	5 anéis	Benzo(b e k)Fluoranteno	45,13	5,00	252	C20H12	X	X	X		X
160.	5 anéis	Perileno	44,43	0,67	252	C20H12		X		X	X
161.	6 anéis	benzo[ghi]perileno	54,23	3,94	276	C22H12					x

(*) cadeia lateral representada pela letra C seguida do número de átomos de carbono

Muitos dos compostos foram detectados com intensidades muito baixas, o que dificulta a visualização do pico no diagrama do ion total (TDI, do inglês “total diagram ion”). Verificou-se que mesmo após o procedimento de *clean-up* por cromatografia líquida em coluna preparativa, muitos compostos ainda permanecem com impurezas nas amostras, em especial quando provenientes da matriz (sedimento).

Os demais cromatogramas foram semelhantes ao do ponto 1 e, como o sedimento mais contaminado foi o 3C (contaminado propositalmente com petróleo através de coluna de água) também se apresenta o diagrama de cores para a F2 do extrato deste sedimento, na **Figura 39**.

Uma maneira prática de apresentar os resultados é a re-construção do cromatograma bidimensional através da marcação dos picos identificados sem definição de área, ou seja, apenas como um ponto em um sistema bidimensional cujas coordenadas são o tR1 e tR2. Identificando-se primeiramente os compostos através de seus íons característicos, obtém-se um cromatograma mais limpo e onde podem ser visualizadas as correlações típicas da GC×GC (ordenação no espaço, efeito telhado, ...). Este diagrama para o sedimento 3C está apresentado na **Figura 40**, construída a partir da **Tabela XIV**.

Nestas Figuras observa-se que os HPA apresentam o padrão estruturado do espaço de separação quando valores m/z específicos foram selecionados. Os picos fora de ciclo também podem ser visualizados com maior clareza, sendo que este efeito não é considerado um problema, porque garante uma melhor distribuição dos analitos no espaço cromatográfico.

Os compostos pertencentes a famílias de homólogos são geralmente alinhados ao longo do primeiro eixo (tR1), de acordo com seus pontos de ebulição, e ao longo do segundo eixo de acordo com suas polaridades. O agrupamento de homólogos é uma ajuda importante na interpretação qualitativa do cromatograma em 2D porque fornece uma rápida idéia da composição da amostra.

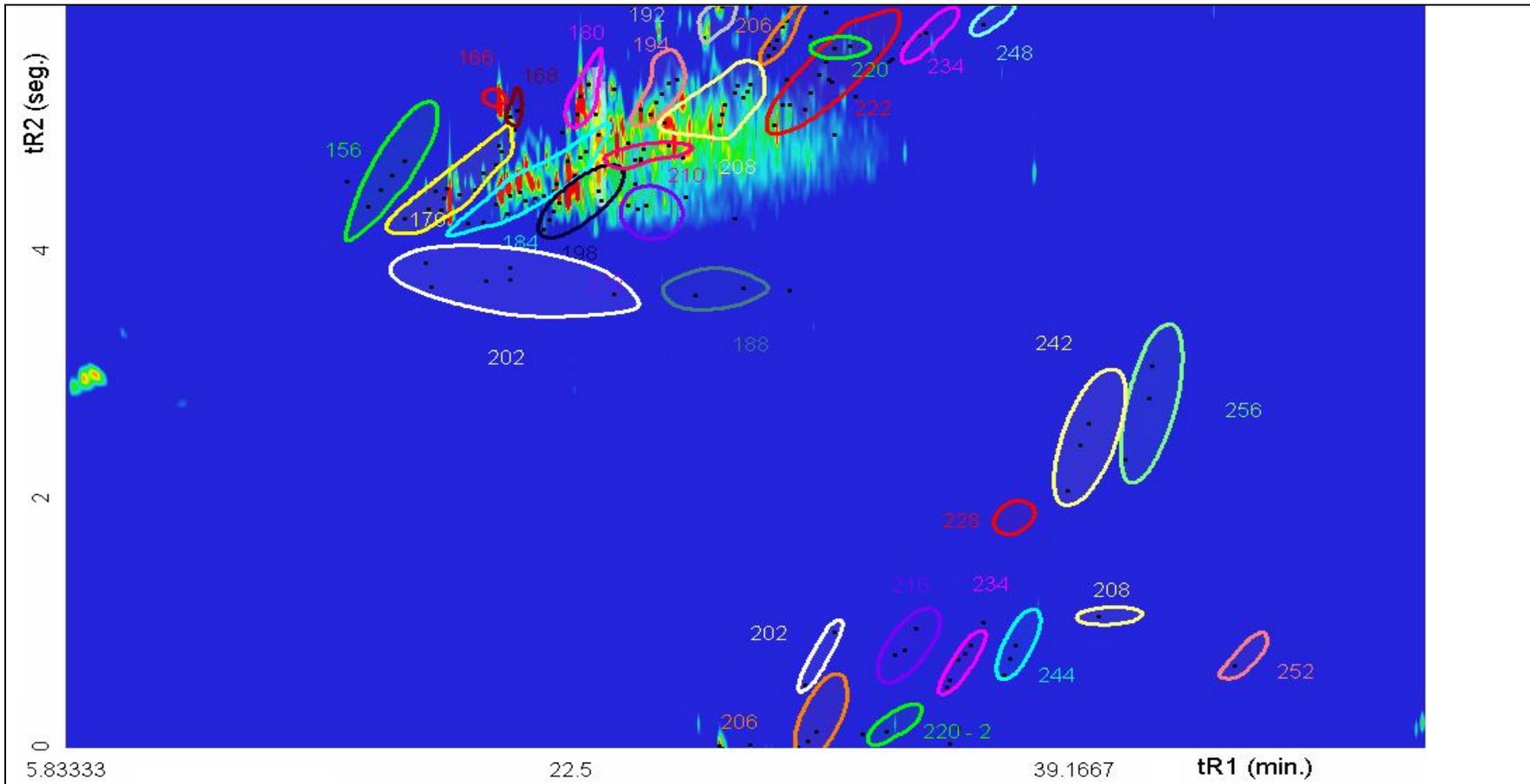


Figura 39: Diagrama de cores para os compostos identificados na fração F2 do extrato do sedimento do ponto 3C (sedimento contaminado com coluna d'água) usando as condições otimizadas para o GC×GC/TOFMS.

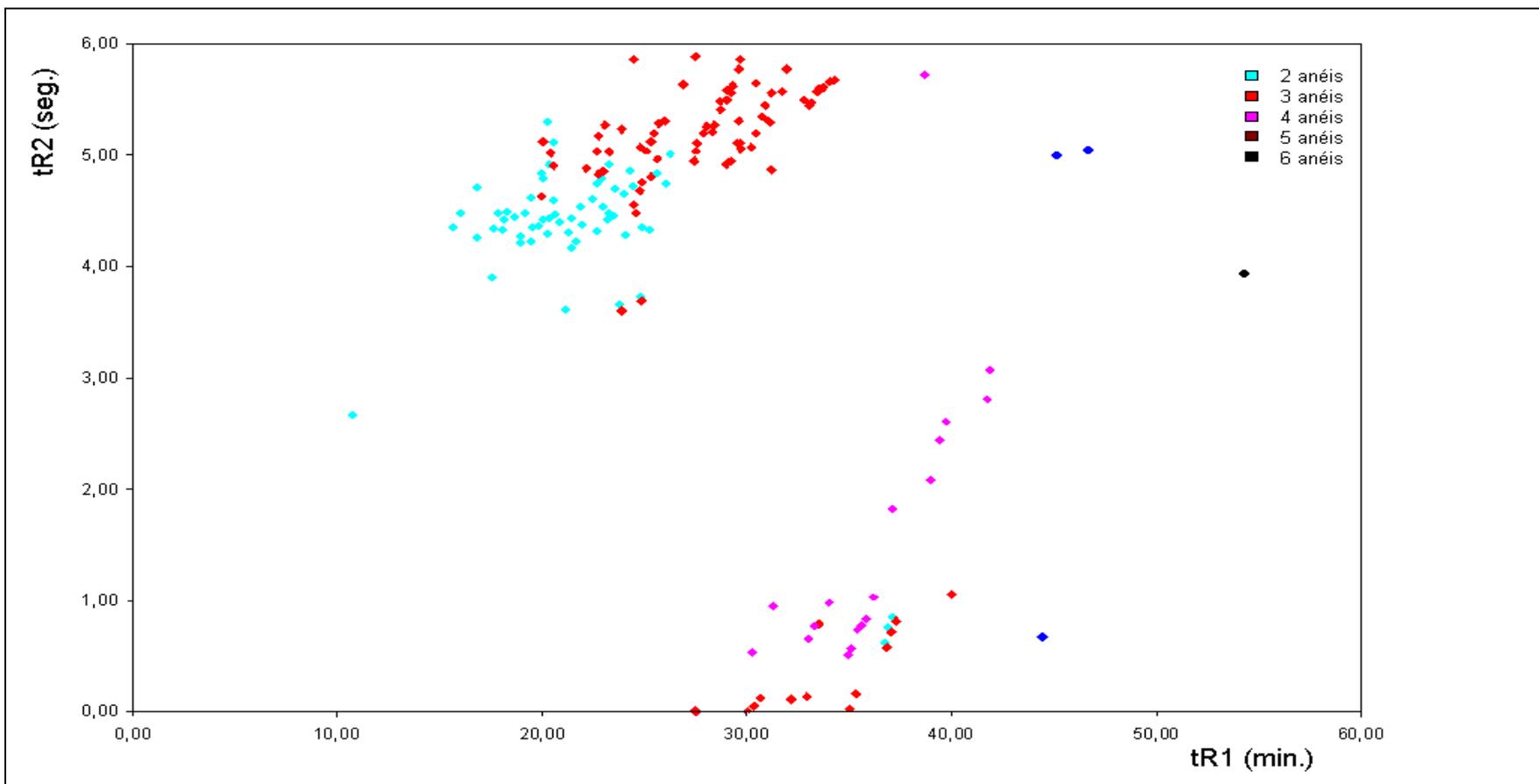


Figura 40: Diagrama de pontos construído a partir da **Tabela XIV** para os compostos identificados na fração F2 do extrato do sedimento do ponto 3C usando as condições otimizadas para o GC×GC/TOFMS.

A **Figura 40** permite uma visualização mais clara da estruturação conforme o número de anéis. As diversas co-eluições que ocorrem na GC 1D são resolvidas em grande parte na GC 2D, permitindo a visualização individual dos compostos.

4.3.2.3.2 Análise Quantitativa: GC×GC-FID

A **Figura 41** apresenta o diagrama de cores (GC×GC-FID) da F2 do extrato do sedimento do Ponto 1 previamente fortificada com uma mistura de 16 HPA na concentração 50 µg/L. Esta análise permite verificar que os 16 HPA podem ser perfeitamente determinados quantitativamente por esta técnica uma vez que se situam em uma região cromatográfica diferente dos interferentes da matriz, razoavelmente separados o que permite sua total quantificação. Ressalte-se a co-eluição dos compostos 11 e 12 (Benzo(b)fluoranteno e Benzo(k)fluoranteno) os quais foram determinados em conjunto, ou seja, como somatório das duas áreas.

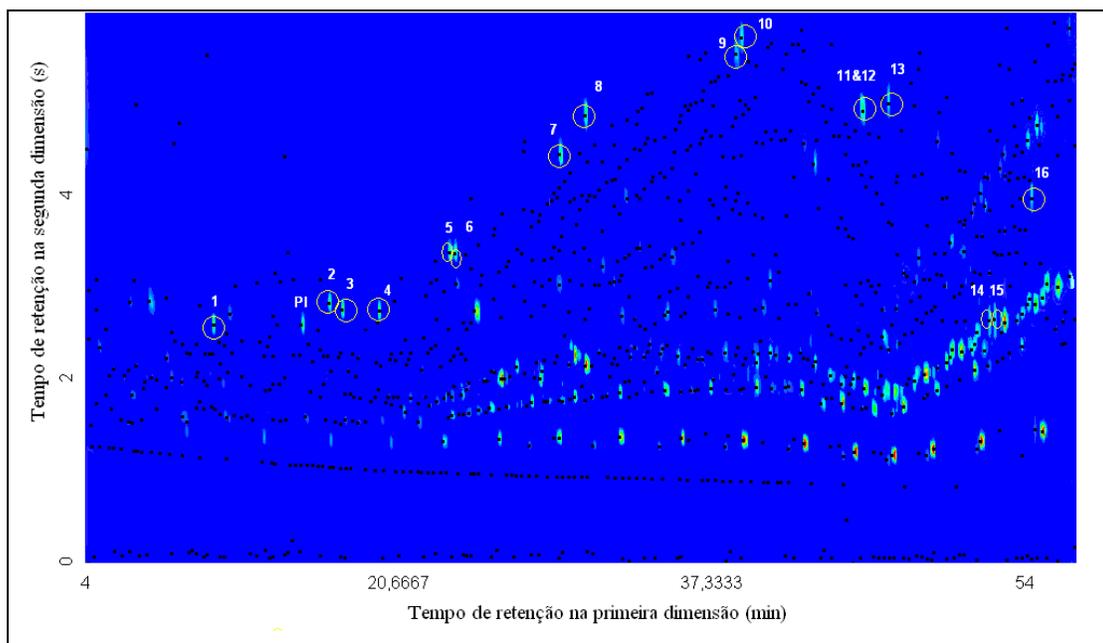


Figura 41: Diagrama de cores (GC×GC-FID) obtido para a fração F2 do extrato do sedimento do Ponto 1, fortificada com os 16 HPA na concentração de 50 µg L⁻¹. Condições cromatográficas descritas no texto.

Considerando que o sistema detector FID tem resposta linear, é robusto e bastante sensível e que a separação no sistema GC×GC-FID apresentou bons resultados, nas condições

otimizadas, conforme pode ser visualizado na **Figura 41**, realizou-se a análise quantitativa aos sedimentos estudados neste trabalho.

Para a validação da metodologia por GC×GC-FID estudou-se a precisão da técnica através da determinação da precisão intermediária que avalia os resultados obtidos no mesmo laboratório em diferentes dias. Para isto usou-se uma solução dos 16 HPA a $50 \mu\text{g L}^{-1}$ analisada duas vezes com a segunda análise realizada exatamente uma semana após a primeira. Para avaliação da repetitividade, cada uma destas análises de precisão intermediária foi realizada em quintuplicata no mesmo dia e com todos os demais parâmetros constantes. Os resultados se encontram na **Tabela XV** em que é possível observar que, para todos os HPA, não excedeu o limite de 5 %, podendo ser considerados bastante satisfatórios.

Tabela XV: Determinação da precisão intermediária e da repetitividade para a análise de HPA por GC×GC-FID

Composto	A/Ai (\pm RSD %)		diferença (%)
	primeira medida*	segunda medida*	
Naftaleno	18,6 \pm 0,74	18,1 \pm 0,77	2,68
Acenaftileno	9,35 \pm 0,63	9,16 \pm 0,69	2,03
Acenafteno	8,93 \pm 0,92	8,87 \pm 0,92	0,67
Fluoreno	8,44 \pm 1,2	8,36 \pm 1,2	0,95
Fenantreno	8,67 \pm 0,12	8,92 \pm 1,4	2,88
Antraceno	7,80 \pm 0,67	7,43 \pm 0,78	4,74
Fluoranteno	8,94 \pm 0,95	8,82 \pm 0,99	1,34
Pireno	8,81 \pm 0,89	8,73 \pm 0,98	0,91
Benzo(a)Antraceno	9,44 \pm 0,73	9,21 \pm 0,63	2,44
Criseno	12,4 \pm 1,2	12,6 \pm 1,4	1,29
Benzo(b+ k)Fluoranteno	13,01 \pm 1,2	12,8 \pm 2,0	2,22
Benzo(a)Pireno	9,92 \pm 1,3	9,98 \pm 1,6	0,60
Indeno(1,2,3-cd)Pireno	10,2 \pm 5,9	9,69 \pm 2,7	4,72
Dibenzo(a,h)Antraceno	11,8 \pm 3,0	11,3 \pm 2,8	4,33
Benzo(g,h,i)Perileno	11,4 \pm 1,6	11,9 \pm 2,0	4,91

(*) n = 5

A repetitividade é um parâmetro estatístico considerado aceito quando os critérios de avaliação do sistema apresentam uma variação de 2 % ¹⁵¹, enquanto valores acima de 5% indicam problemas com erros aleatórios. Segundo a Resolução No. 899 da ANVISA, não se admitem valores superiores a 5%. Portanto, o presente método instrumental, apresentou uma

repetitividade considerada satisfatória para as concentrações dentro dos limites permitidos para as concentrações utilizadas.

Também realizou-se a determinação da exatidão do método usando três soluções de concentrações diferentes com três dos HPA estudados (fenantreno – pico 5, pireno – pico 8 e benzo[a]pireno – pico 13) representando os hidrocarbonetos poliaromáticos com 3, 4 e 5 anéis, respectivamente. Os resultados estão apresentados na **Tabela XVI**, para análises realizadas em triplicata.

Tabela XVI: Determinação da exatidão para a análise de HPA por GC×GC-FID

pico	conc. ($\mu\text{g L}^{-1}$)			E**	conc. ($\mu\text{g L}^{-1}$)			E**	conc. ($\mu\text{g L}^{-1}$)			E**
	real	determinada*			real	determinada*			real	determinada*		
5	50	$49,38 \pm 1,2$	-1,24	100	$99,87 \pm 0,13$	-0,130	150	$150,00 \pm 0,0$	0,000			
8	100	$98,95 \pm 1,1$	-1,05	150	$148,50 \pm 1,0$	-1,00	50	$49,48 \pm 1,0$	-1,04			
13	150	$149,03 \pm 0,60$	-0,647	50	$48,92 \pm 2,1$	-2,16	100	$99,06 \pm 0,94$	-0,940			

(*) n=3 e (**) E = exatidão percentual = [(valor determinado – valor real)/valor real] × 100

Observa-se que a diferença entre as medidas não ultrapassou 3 %, podendo ser considerada excelente para a metodologia cromatográfica utilizada..

A **Tabela XVII** apresenta os parâmetros de mérito e a equação da curva analítica para a metodologia GC×GC-FID aplicada à análise de HPA. As curvas analíticas para cada HPA estão apresentadas no **Anexo 4**.

O limite de detecção encontrado para esses compostos variou entre 0,390 e 9,81 $\mu\text{g L}^{-1}$ enquanto que o de quantificação compreendido entre 1,30 e 32,7 $\mu\text{g L}^{-1}$. O coeficiente de determinação situou-se entre de 0,9931 e 0,9990, portanto muito próximo a 1,0 mostrando pouca dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados. Um coeficiente de correlação maior que 0,99 é considerado uma evidência de um ajuste ideal dos dados para a linha de regressão¹⁴⁷. Podemos então concluir que o modelo de regressão linear proposto foi adequado para a quantificação dos analitos na faixa de trabalho estudada.

Tabela XVII: Parâmetros de mérito e curva analítica obtidas por GC×GC-FID para os 16 HPA

padrão	Limites ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Limites ($\mu\text{g kg}^{-1}$ <i>sedimento</i>)		RSD*	Equação da reta $y = ax + b$		
	LD	LQ	LD	LQ	%	a	b	R ²
Naftaleno	3,00	10,0	0,300	1,00	6,5	0,0106	-0,0613	0,9963
Acenaftileno	4,59	15,3	0,459	1,53	8,1	0,0099	-0,0342	0,9963
Acenafteno	5,61	18,7	0,561	1,87	2,9	0,0105	-0,0478	0,9983
Fluoreno	6,00	20,0	0,600	2,00	4,8	0,0106	-0,0524	0,9987
Fenantreno	0,570	1,90	0,057	0,190	4,9	0,0103	0,0375	0,9981
Antraceno	6,51	21,7	0,651	2,17	7,2	0,0105	-0,0572	0,9981
Fluoranteno	2,16	7,20	0,216	0,720	5,7	0,0103	-0,0419	0,9975
Pireno	0,840	2,80	0,0840	0,280	4,6	0,0106	-0,0566	0,9973
Benzo[a]Antraceno	3,00	10,0	0,300	1,00	5,2	0,01	-0,004	0,999
Criseno	0,690	2,30	0,0690	0,230	4,1	0,009	0,0053	0,9972
Benzo(b+k)fluoranteno(*)	0,570	1,90	0,0570	0,190	2,5	0,0203	-0,0782	0,9977
Benzo(a)pireno	0,390	1,30	0,0390	0,130	6,5	0,0104	-0,0672	0,9972
Indeno(1,2,3-cd)pireno	5,70	19,0	0,570	1,90	7,1	0,0104	-0,0476	0,9931
Dibenzo(ah)antraceno	4,59	15,3	0,459	1,53	7,5	0,01	-0,0345	0,9931
Benzo(ghi)perileno	9,81	32,7	0,981	3,27	6,3	0,01	-0,0867	0,9946

(*) *determinados como um composto só por impossibilidade de evitar a co-eluição*

A **Tabela XVIII** apresenta os resultados da análise quantitativa dos HPA nos sedimentos estudados, através da análise por GC×GC-FID.

Observa-se também a predominância dos HPA que contém 3 e 4 anéis, concordando com os resultados encontrados por GC 1D.

Os pontos 1, 2 e 3A apresentaram níveis muito baixos de contaminação, podendo ser considerados áreas livres de impacto ambiental por hidrocarbonetos poliaromáticos. Os compostos identificados foram os mesmos encontrados na GC 1D, apenas em menores concentrações, com destaque para criseno e a soma de benzo(b)fluoranteno benzo(k)fluoranteno (8,68 e 12,8 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente) no ponto 1 e fluoranteno e pireno (6,47 e 6,02 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente) no ponto 2.

O sedimento que apresentou maior número de compostos foi o correspondente à contaminação com coluna d'água (3C) e cujo cromatograma também concordando com os resultados já apresentados para GC 1D.

Tabela XVIII: Análise quantitativa dos HPA na fração F2 dos extratos dos pontos de amostragem estudados, usando o sistema GC×GC-FID

Pico	composto	Concentração de HPA em cada ponto amostrado (*)				
		P1	P2	P3A	P3B	P3C
1	Naftaleno	1,08 ± 2,9	1,07 ± 2,2	2,19 ± 1,5	< LQ	< LQ
2	Acenaftileno	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
3	Acenafteno	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	6,08 ± 2,9
4	Fluoreno	< LQ	< LQ	< LQ	2,25 ± 2,3	27,58 ± 3,6
5	Fenantreno	1,06 ± 0,81	2,80 ± 0,55	0,25 ± 0,99	1,77 ± 3,9	180,32 ± 4,1
6	Antraceno	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
7	Fluoranteno	2,58 ± 0,63	6,47 ± 0,46	0,96 ± 6,5	2,35 ± 3,9	127,20 ± 2,8
8	Pireno	1,85 ± 0,38	6,02 ± 0,10	0,35 ± 0,61	1,63 ± 3,9	25,79 ± 4,2
9	Benzo(a)antraceno	2,40 ± 0,41	1,29 ± 8,2	< LQ	1,37 ± 3,2	22,29 ± 7,6
10	Criseno	8,68 ± 3,2	3,21 ± 8,5	0,31 ± 0,83	8,65 ± 4,9	19,13 ± 6,5
11,12	Benzo(b+k)fluoranteno	12,8 ± 8,1	0,24 ± 7,2	0,25 ± 3,4	< LQ	2,85 ± 5,3
13	Benzo(a)pireno	< LQ	< LQ	0,20 ± 6,1	< LQ	0,82 ± 6,3
14	Indeno(1,2,3-cd)pireno	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
15	Dibenzo(ah)antraceno	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
16	Benzo(ghi)perileno	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	8,87 ± 8,2
ΣHPA (µg kg ⁻¹)		30,4	21,1	4,51	18,0	421

(*) µg kg⁻¹ ± RSD (%) (n = 5) em base seca

Para facilitar a comparação entre os resultados quantitativos da GC 1D com os resultados da GC×GC, construiu-se a **Figura 42**, onde são apresentados os valores encontrados para cada HPA nas duas técnicas e em cada amostra analisada, para os pontos 1, 2 e 3 (A e B). Como o ponto 3C apresentou valores mais elevados, seus resultados são comparados na **Figura 43**.

A diferença dos resultados, uma vez que, em geral, os valores encontrados para os HPA individuais e também o somatório dos HPA foram inferiores para o sistema GC×GC, pode ser explicada pela possível co-eluição ocorrida no sistema GC 1D e também pela não discriminação da matriz através da existência de contaminantes na linha de base que pode afetar a determinação da área sob o pico e, conseqüentemente, a concentração do composto considerado.

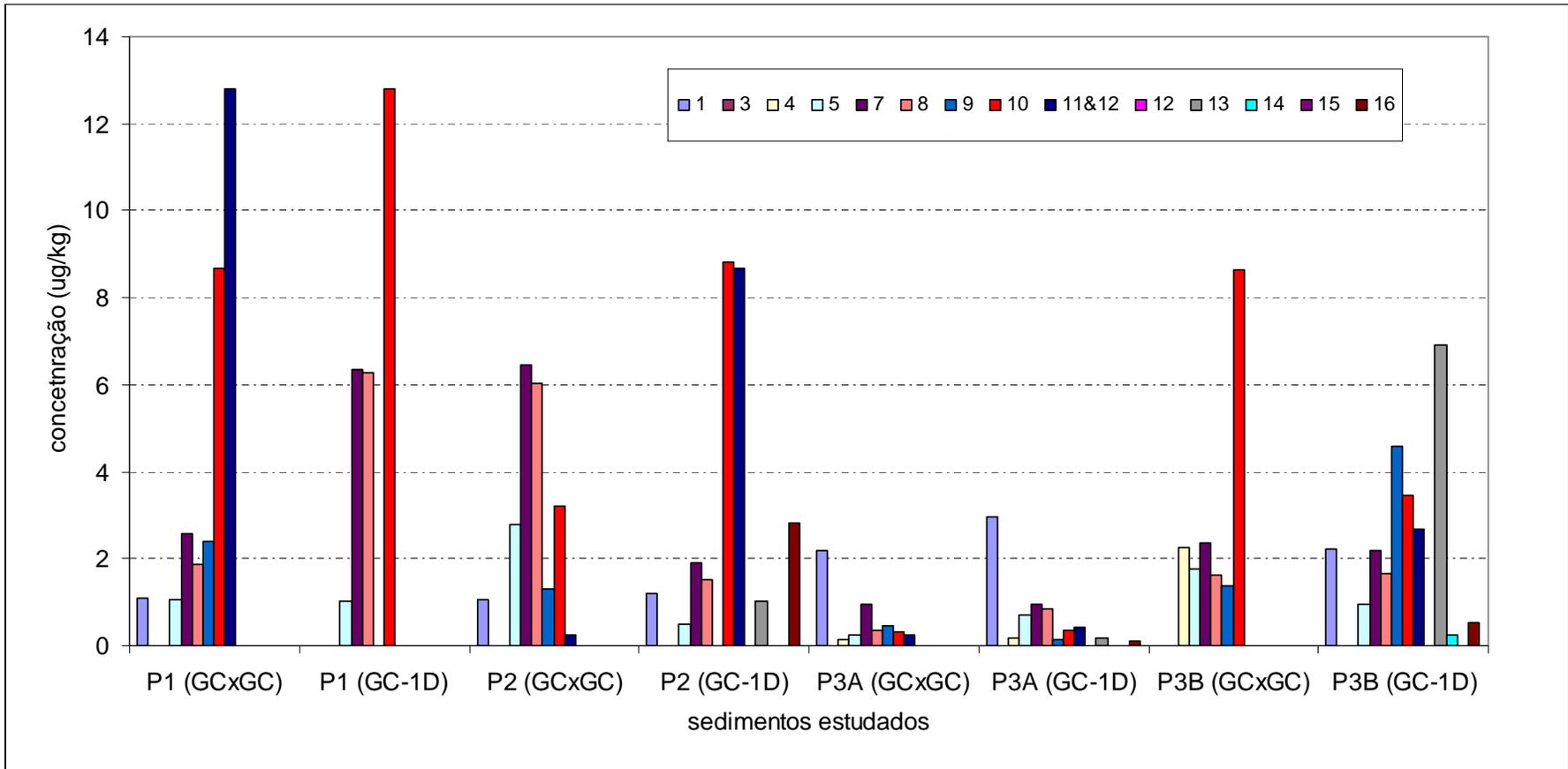


Figura 42: Comparação entre os resultados quantitativos obtidos por GC/MS e por GCxGC-FID para os HPA extraídos dos sedimentos analisados (P1, P2, P3A e P3B).

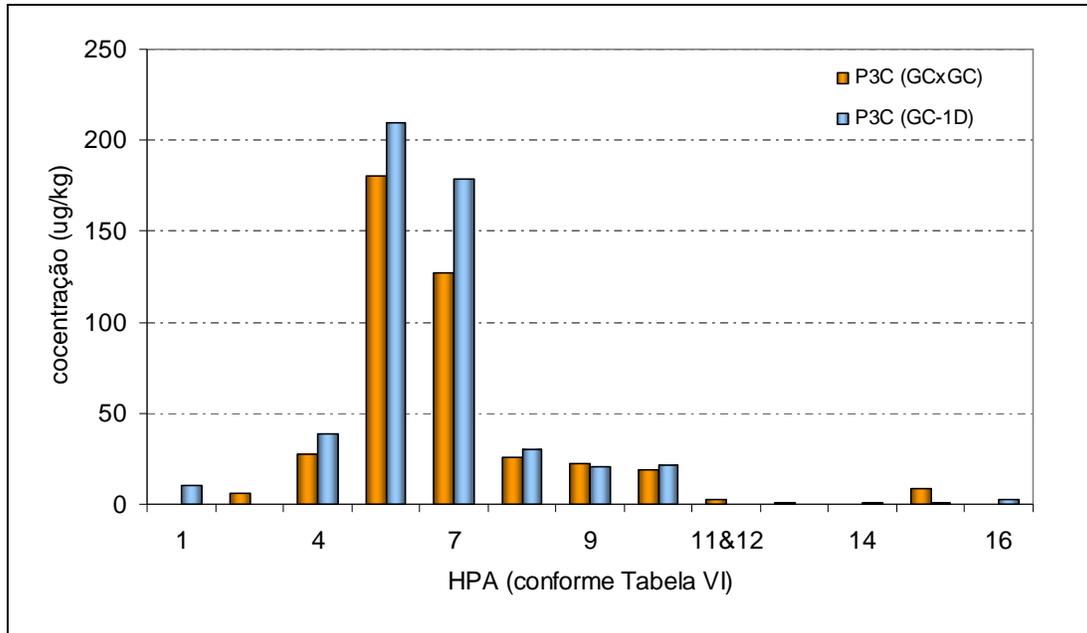


Figura 43: Comparação entre os resultados quantitativos obtidos por GC/MS e por GCxGC-FID para os HPA extraídos do sedimento do ponto 3C (contaminado com petróleo através de uma coluna d'água).

5. CONCLUSÕES

5.1 Em relação ao processo de extração e fracionamento usados:

- o método de extração acelerada com solventes e a extração com Soxhlet apresentaram melhores resultados, com intervalos de recuperação compreendidos entre 78,34 a 82,12 % e 81,25 a 88,68 % respectivamente, permitindo a escolha do método clássico de extração com Soxhlet para uso nas mostras neste trabalho, sem prejuízo ao resultado analítico obtido.
- o fracionamento cromatográfico adotado permitiu a separação dos HPA em uma fração mais livre de interferentes, facilitando assim sua identificação e quantificação.

5.2 Em relação aos sistemas cromatográficos utilizados:

5.2.1 GC/MS

- A cromatografia gasosa capilar monodimensional associada ao detector de espectrometria de massas, em sua forma de monitoramento de íons, mostrou ser uma ferramenta útil na identificação e quantificação dos HPA nos padrões e nos extratos dos sedimentos analisados com tempo de análise de 34 minutos.
- Os limites de detecção para esta técnica ficaram entre 0,431 e 4,72 $\mu\text{g L}^{-1}$ e o limite de quantificação de 1,44 e 15,73 $\mu\text{g L}^{-1}$ enquanto o coeficiente de determinação variou entre 0,9802 a 0,9991, indicando bom desempenho para esta técnica de análise.

5.2.2 GC×GC

- O sistema GC×GC permitiu uma separação adequada para os padrões, sendo particularmente mais interessante quando aplicado à análise das amostras devido à fácil separação da matriz, melhorando assim a detecção e quantificação;
- O GC×GC/TOFMS mostrou-se uma técnica adequada para a identificação dos HPA isolados, tanto nos padrões como na matriz.

- A otimização dos parâmetros para o sistema GC×GC levou à escolha do conjunto de colunas composto por uma coluna DB-05 (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm) na primeira dimensão e uma coluna DB-17 (1 m × 0,18 mm × 0,18 μm) na segunda dimensão.
- Devido à complexidade da técnica, vários parâmetros que influenciam na eficiência de separação foram otimizados levando a um tempo de análise maior que a GC monodimensional, porém com melhor resolução e número de picos. Entre estes parâmetros tiveram maior influência no processo de separação a programação da temperatura de análise, a diferença de temperatura entre os fornos e o período de modulação.
- No sistema GC×GC-FID, todos os HPA foram resolvidos cromatograficamente com exceção do benzo[b]fluoranteno e benzo[k] fluoranteno que co-eluíram em todas as condições testadas. Os compostos que eluem a partir de 36 minutos na primeira dimensão têm um tempo de retenção na segunda coluna que excedem o período de modulação, exibindo picos fora de ciclos.
- Os limites de detecção para esta técnica ficaram entre 0,390 e 9,81 μg L⁻¹ e o limite de quantificação de 1,30 e 32,7 μg L⁻¹ enquanto o coeficiente de determinação variou entre 0,9931 a 0,9990, indicando excelente desempenho para esta técnica de análise.

5.3 Em relação aos sedimentos estudados:

- O sedimento do ponto 1 apresentou-se com um nível de contaminação maior que os sedimentos dos pontos 2 e 3, porém ainda com valores bem abaixo dos valores ambientalmente aceitos e com baixa concentração se comparada a outras áreas no Brasil.
- Observou-se a predominância dos HPA que contém 3 a 4 anéis tais como:fenantreno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno e seus derivados alquilados, em todos os sedimentos analisados.
- O sedimento contaminado por petróleo através de coluna d'água (3C) apresentou ΣHPA de 514 μg kg⁻¹.

5.4. Em relação à diferença entre os dois procedimentos de análise cromatográfica:

- Os dois procedimentos cromatográficos permitem a análise dos HPA em sedimentos com vantagens distintas:

- O sistema GC/MS é rápido, mais barato, mais robusto e de aplicação universal na análise de contaminantes ambientais. Seus resultados aqui apresentados indicam a possibilidade de uso sem comprometimento do resultado analítico, com bons limites de detecção e quantificação e excelente linearidade e recuperação.

- O sistema GC×GC/TOFMS tem a desvantagem de ser mais caro, não ser robusto, tendo um sistema de tratamento de dados bastante demorado e ainda ser uma técnica de aplicação mais restrita à área de pesquisa, não sendo comum em monitoramentos e análises de rotina. Por outro lado, sua grande capacidade de separação e estruturação no espaço bidimensional, aliadas à possibilidade de identificação com o uso do TOFMS e de ferramentas de deconvolução espectral permitem uma maior segurança na identificação inequívoca de compostos e de famílias de compostos.

- O sistema GC×GC-FID apresenta menos desvantagens que GC×GC/TOFMS tanto no que se refere aos custos operacionais, como na robustez da técnica e na facilidade de operação, associadas ao uso de um detector de aplicação universal. Sua utilização na quantificação dos compostos permite que resultados “falso positivos” eventualmente obtidos por GC 1D, em função de co-eluição e deslocamento da linha de base por efeito de matriz, sejam corrigidos indicando valores quantitativos mais confiáveis.

6. SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

Como sugestão para trabalhos futuros pode-se citar:

- Aplicar a metodologia aqui desenvolvida para monitoramento da região da Barragem Santa Bárbara e da Praia do Laranjal com um maior número de pontos, permitindo um tratamento estatístico dos resultados, o que não foi objeto deste estudo;
- Trabalhar com um sistema GC×GC/qMS (MS quadrupolar), no modo SIM, o que acreditamos que permitirá maior exatidão na medida por uma apresentação mais “limpa” dos resultados no diagrama de cores;
- Determinar quantitativamente um maior número de HPA, em especial os alquilados com até 4 anéis, que se apresentaram majoritários nas amostras estudadas; e
- Testar outras técnicas de extração e fracionamento de HPA a partir de sedimentos, visando aprimorar a metodologia analítica global.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Silva, M. R. C., *Estudo de Sedimentos da Bacia Hidrográfica do Mogi-Guaçu, com ênfase na determinação de metais*; Dissertação de Mestrado Instituto de Química de São Carlos: Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002, p 113.
2. Srogi K. *Environ. Chem. Lett*, **2000**, 5, 169.
3. Almeida, F.V. *Bases Técnico-Científicas para o Desenvolvimento de Critérios de Qualidade de Sedimentos Referentes a Compostos Orgânicos Persistentes*; Instituto de Química. Universidade Estadual de Campinas: Campinas. (SP), 2003, p. 114
4. Zanardi, Z. *Hidrocarbonetos no Canal de São Sebastião e Influência na Plataforma Interna Adjacente - Influência do Derrame de Maio de 1994*, Instituto Oceanográfico. Universidade de São Paulo: São Paulo (SP), 1996, p 112.
5. Chen, G.; White, P.A.; *Mutat. Res.* **2004**, 567,151.
6. Baumard, P.; Budzinski, H.; Michon, Q.; Garrigues, P.; Burgeot, T.; Bellocq, J.; *Estuar. Coast. Shelf Sci*, **1998**, 47, 77.
7. Muri, G.; Wakeham, S.G.; Pease, T.K.; Faganeli, J. *Org. Geochem*, **2004**, 35, 1083.
8. Fernandes, M. B.; Sicre, M.-A.; Boireau, A.; Tronczynskif, J.; *Mar. Pollut. Bull.* **1997**, 34(11), 857.
9. Zhou, J. L.; Fileman, T. W.; Evans, S.; Donkin, P.; Llewellyn, C.; Readman, J. W.; Fauzi, R.; Matoura, C.; Rowland, S.J.; *Mar. Pollut. Bull.* **1998**, 8, 587.
10. Fähnrich, K. A.; Pravda, M.; Guilbault, G.G.; *Anal. Lett.* **2002**. 35, 1269.
11. Dallarosa, J.B.; Mõnego, J.G.; Teixeira, E.C.; Stefens, J.L.; Wiegand, F.; *Atmos. Environ* **2005**, 39, 1609.
12. Grimalt, J. O.; van Drooge, B. L.; Ribes, A.; Fernández, P.; Appleby, P.; *Environ. Pollut.*, **2004**, 131, 13.
13. Manoli, E.; Sâmara, C.; *Trends Anal. Chem.* **1999**, 18, 6, 417.
14. Lima, A.L.C., *Geocronologia de Hidrocarbonetos Poliaromáticos (PAHs). Estudo de caso: Baía de Guanabara*; Inst. de Química. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro: Rio de Janeiro (RJ), **1996**, p 106.
15. Olivella, A. *Chemosphere* **2006**, 63, 116.
16. Li, H.; Chen, J., Wu, W.; Piao, X.; *J. Hazard. Mater.* **2010**, 176, 729.
17. García-Alonso, S.; Pérez-Pastor, R.M.; Devillano-Castaño S.; Escolano, O.; Garcá-

- Frutos, F.J.; *Polycyclic Aromatic Compounds* **2007**, 28, 67.
18. Shi, Z.; Tao, S.; Pan, B.; Fan, W.; He, X.C.; Zuo, Q.; Wu, S.P.; Li, B.G.; Cao, J.; Liu, W.X.; Xu, F.L.; Wang, X.J.; Shen, W.R.; Wong, P.K.; *Environ. Pollut.* **2005**, 134, 97.
 19. Talley, J.W.; Ghosh, U.; Tucker, S.G.; Furey, J.S.; Luthy, R.G.; *Environ. Sci. Technol.* **2002**, 36, 477.
 20. Readman, J. W.; Mantoura, C.; Rhead, M. M.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1984**. 319, 126.
 21. Cordeiro, L.H. *Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos nos sedimentos do estuário da Lagoa dos Patos*; FURG: Rio Grande (RS), 2003, p111.
 22. Chiou, C. T.; McGroddy, S. E.; Kile, D. E.; *Environ. Sci. Technol.* **1998**. 32, 264.
 23. Tolosa, I.; Mora, S. J.; Fowler, S. W.; Villeneuve, J-P.; Bartocci, J.; Cattini, C.; *Mar. Pollut. Bull.* **2005**, 50, 1619.
 24. Mostafa, A.R.; Wade, T.L.; Sweet, S.T.; Al-Alimi, A.K.A.; *J. Mar. Syst.* **2009**, 78, 1.
 25. Meire, R.O.; Azevedo, A.; Pereira, M.S.; Torres, J.P.M.; Malm, O.; *Chemosphere* **2008**, 73, S180.
 26. Garner, T.R. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **2009**, 57, 103.
 27. Viñas, L.; Franco, J.A.; Soriano, M.A.; González, J.J.; Pon, J.; Albaigés, J.; *Environ. Pollut.* **2010**, 158, 1551.
 28. Yunker, M.B.; Macdonald, R.W.; *Org. Geochem.* **2003**, 34, 1429.
 29. Pino, V.; Ayala, J. H.; Afonso, A. M.; González, V.; *Talant*, **2001**, 54,15.
 30. Tuhacková, J. *J. Environ. Pollut.* **2001**. 113, 255.
 31. Pereira Netto, A. D., Moreira, J. C.; Dias, A. E. X. O.; Arbilla, G.; Ferreira, L. F.V.; Oliveira, A. S.; Barek, J.; *Quim. Nova* **2000**, 23(6), 765.
 32. Notar, M.; Leskovsek, H.; Faganeli, J.; *Mar. Pollut. Bull.* **2001**, 42(1), 36.
 33. Vinãs, L.; Franco, J.A.; González, J.J.; *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **2009**, 57, 42.
 34. Hellou, J.; Steller, S.; Zitko, V., Leonard, J.; King, T.; Milligan, T. G.; Yeats, P.; *Mar. Environ. Res.* **2002**, 53, 357.
 35. Baird, C., *Química Ambiental*; 2º ed. Bookman Companhia Editora: Porto Alegre (RS), **2002**, p 622.
 36. Camargo, M.C.R.; Toledo, M. C. F.; *SBCT*, **2002**, 36(1), 69.

37. Veyrand, B.; Brosseau, A.; Sarcher, L.; Varlet, V., Monteau, F.; Marchand, P.; Andre, F.; Bizec, B.L.; *J. Chromatogr. A* **2007**, 1149, 333.
38. Costa, C.R.; Olivi, P.; Bottá, C.M.R.; Espindola, E.L.G.; *Quim. Nova.* **2008**, 32 (7), 1820.
39. Lopes, W.A.; Andrade, J.B.; *Quim. Nova* **1996**, 19(5), 497.
40. Wang, Z., Fingas, M.F., *Mar. Pollut. Bull.* **2003**, 47,423.
41. Holt, M.S. *Food Chem. Toxicol.* **2000**, 38, S21.
42. Readman, J.W.; Fillamn, G.; Tolosa, I.; Villeneuve, J.-P.; Catinni, C.; Mee, L.D.; *Mar. Pollut. Bull.* **2002**, 44, 48.
43. Soclo, H. H., Garrigues, P., Ewald M., *Mar. Pollut. Bull.*, **2000**, 40(5), 387.
44. Budzinski, H.; Jones, I.; Bellocq, J.; Picard, C. Garrigue, P.; *Mar. Chem.* **1997**, 58, 85.
45. Long, E. R.; MacDonald, D. D.; Smith, S. L.; Calder, F.D.; *Environ. Manage.* **1995**, 19(1), 81.
46. Culotta, L.; De Stefano, C.; Gianguzza, A.; Mannino, M.R.; Orecchio, S.; *Mar. Chem.* **2006**, 99, 117.
47. Zanardi, Z.; Bicego, M.C.; Miranda, L.B.; Weber, R.R.; *Mar. Pollut. Bull.* **1999**, 38(4), 261.
48. Meniconi, M. F. G.; Gabardo, I. T.; Carneiro, M .E. R.; Barbanti, S. M.; Silva, G.C.; Massone, C.G.; *Environ. Forensics* **2002**, 3, 303.
49. Torres, J. P. M.; Malm, O.; Vieira, E. D. R.; Japenga, J.; Koopmans, G. F.; *Cad. Saúde Pública* **2002**, 18(2), 477.
50. Zamboni, A.J., *Caracterização ecotoxicológica do estuário da Lagoa dos Patos no entorno de Rio Grande, RS: Fundamentos e técnicas*; Universidade de São Carlos: São Carlos (SP), 2000, p. 185
51. Stefens, J.L.; Santos, J.H.; Mendonça Filho, J.G.; Peralba, M.C.U.; *J. Environ. Sci. Health*, **2007**, 42, 399.
52. Cavalcante, R.M.; Lima, D.M.; Correia, L.M.; Nascimento, R.F.; *Quim. Nova* 2008, 31(6), 1371.
53. Medeiros, P. M.; Bicego, M. C.; Castela, R .M.; Del Rosso, C.; Fillmann, G.; Zamboni, A. J.; *Environ. Int.* **2005**, 31, 77.
54. Venturini, N.; Tommasi, L.R.; *Mar. Pollut. Bull.* **2004**, 48, 97.
55. Brito, E. M. S.; Vieira, E. D. R. V.; Torres, J. P. M.; Malm, O.; *Quim. Nova* **2005**,

- 28(6), 941.
- 56 Pietzsch, R.; Patchineelam, S.R.; Torres, J.P.M.; *Mar. Chem.* **2010**, 118, 56.
- 57 US-EPA, *Methods for Collection, Storage, and Manipulation of Sediments for Chemical and Toxicological Analyses*, Collection of Whole Sediments, **2003**, p17.
- 58 Heemken, O.; Theobald, N.; Wenclawiak, B.; *Anal. Chem.* **1997**, 69, 2171.
59. Berset, J. D.; Ejem, M.; Holzer, R., Lischer, P., *Anal. Chim. Acta* **1999**, 383, 263.
- 60 Shimmo, M.; Adler, H.; Hyötyläinen, T.; Hartonen, K.; Kulmala, M.; Riekkola, M-L.; *Atmos. Environ.* **2002**, 36, 2985.
- 61 Jonker, T.; Koelmans, A.; *Environ Sci. Technol.* **2002**, 36, 4107.
- 62 US-EPA, *Soxhlet Extraction: Method 3540C*. **1996**, US Government Printing Office, Washington, DC. p. 1-8.
- 63 Ramos, L.; Vreuls, J.J.; Brinkman, U.A.T.; *J. Chromatogr. A* **2000**. 891, 275.
- 64 Chung, M.K.; Hu, R.; Cheun, K.C.; Wong, M.H.; *Chemosphere* **2007**, 67, 464.
- 65 Orecchio, S.; *J. Hazard. Mater.* **2010**, 176, 339.
- 66 Gonzales-Pinuela, C., *J. Chromatogr. A*, **2006**, 1129, 189.
- 67 Zhan, Z.; Troqued, J.; Vachelard, C.; *Int. J. Environ. Sci. Tech.*, 2005, 2(3), 275.
- 68 García-Falcón, M.S.; Pérez-Lamela, C.; Simal-Gándara, J.; *Anal. Chim. Acta* **2004**, 508, 177.
- 69 Banjoo, D. R.; Nelson P. K.; *J. Chromatogr. A* **2005**, 1006, 9.
- 70 Shol, A., *Ultrasonic Kirk-Ohmer Encyclopedia of Chemical Technology*. 3 ed. Vol. 23. **1981**, New York: Ed. John Wiley & Inc. 462-490
- 71 Da Luz, L. P., Dissertação de Mestrado: *Estudo do ultra-som como técnica de extração de carvões e caracterização dos hidrocarbonetos poliaromáticos*. IQ. UFRGS, Porto Alegre (RS), 1998, p. 109.
- 72 P-Capote, F., Castro, M. D. L.; *Trends Anal. Chem.* **2004**. 23(9), 644.
- 73 Song, Y.F.; Jing, X., Fleischmann, S., Wilke, B.-M., *Chemosphere*, **2002**, 48, 991.
- 74 Castro, M. D. L.; P-Capote, F.; *Anal. Chim. Acta* **2007**. 583, 2.
- 75 Olivella, M. A. *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, 383, 107.
- 76 Lundstedt, S.; Bavel, B.; Haglund, P.; Tysklind, M.; Oberg, L., *J. Chromatogr. A* **2000**, 883, 151.
- 77 Martínez, R. C.; Bavel, B.; Haglund, P.; Tysklind, M.; Oberg, L.; *J. Chromatogr. A* **2005**, 1089, 1.
- 78 Martinez, E.; Gros, M.; Lacorte, S.; Barceló, D.; *J. Chromatogr. A* **2004**, 1047, 181.

- 79 Richter, B.E.; Jones, B.A.; Ezzell, J.L.; Porter, N.L.; Avdalovic, N.; Pohl, C.; *Anal. Chem.* **1996**, 68, 1033.
- 80 Richter, B.E., *J. Chromatogr. A*, **2000**, 874, 217.
- 81 Mozajska, H. G.; Dabrowski, L.; Namiesnik, J.; *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **2001**, 31(3), 149.
- 82 Pena, M.T.; Casais, M.C.; Mejuto, M.C.; Cela, R.; *J. Chromatogr. A* **2010**, 1217, 425.
- 83 Koning, S., *Chromatographia*, **2009**, 69, S33.
- 84 Pörschmann, J.; Plugge, J.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1999**, 364, 643.
- 85 Zougagh, M. Valcárcel, M.; Ríos, A.; *Trends Anal. Chem.* **2004**, 23(5), 399
- 86 Bandh, Bjorklund, E.; Mathiasson, L.; *Environ. Sci. Technol.* **2000**, 34, 4995.
- 87 Kim, J. H.; Moon, J. K.; Li, Q. X.; Cho, J. Y.; *Anal. Chim. Acta* **2003**, 498, 55.
- 88 Burkhardt, M.R.; Zaugg, S.D.; Burbank, T.L.; Olson, M.C.; Iverson, J.L.; *Anal. Chim. Acta* **2005**, 549, 104.
- 89 Barco-Bonilla, N., Vidal, J.L.M., Fenich, G., Romero-González, R., ET al. *Talanta* **2009**, 78, 156.
- 90 Silverstein, R. M., Bassier, G. C., Morrill, T. C., *Spectrometric Identification the Organic Compounds*. 4 ed. California (USA): Willey, 1981.
- 91 Lanças, F.M.; *Cromatografia em fase Gasosa*. ACTA: São Paulo (SP), 1993.
- 92 Santos, F.J.; Galceran, M.T.; *J. Chromatogr. A* **2003**, 1000, 125.
- 93 Harris, D.C. *Análise Química Quantitativa*: 6º ed, Ed. LTC: Rio de Janeiro (RJ), 2005.
- 94 Kristenson, E.A.; Korytár, P.; Danielsson, C.; Kallio, M.; Brandt, M.; Mäkelä, J.; Vreuls, J. J.; Beens, J.; Brinkman, U.A.Th.; *J. Chromatogr. A* **2003**, 1019, 65.
- 95 Dallüge, J.; van Stee, L. L. P.; Xu, X.; Williams, J.; Beens, J.; Vreuls, R. J. J.; Brinkman, U.A.Th., *J. Chromatogr. A* **2002**, 974, 169.
- 96 Frysinger, G. S.; Gaines, R. B.; Xu, L.; Reddy, C. M.; *Environ. Sci. Technol.* **2003**, 37, 1653.
- 97 von Mühlen, C.; Zini, C.A.; Caramão, E.B.; Marriott, P.J.; *Quim. Nova* **2006**, 29(4), 765.
- 98 Tranchida, P. Q.; Donato, P.; Dugo, P.; Dugo, G.; Mondelo, G; *Trends Anal. Chem.* **2007**, 26(3), 191.
- 99 Danielsson, C.; Wiberg, K.; Korytár, P.; Bergeka, S.; Brinkman, U. A. Th.; Haglund, P.; *J. Chromatogr. A* **2005**, 1086, 61.

- 100 Kallio, M., Hyötyläinen, T., *J. Chromatogr. A* **2007**, 1148, 228.
- 101 Hoh, E.; Mastovska, K.; Lehotay, S.J.; *J. Chromatogr. A* **2007**, 1145, 210.
- 102 Vendeuvre, C.; Guerrero, R.R.; Bertoncini, F.; Duva, L.; Thiébau, D.; *Oil & Gas Science and Technology – Rev. IFP*, **2007**, 62 (1), 43.
- 103 Beens, J.; Brinkman, U.A.Th.; *Anal Bioanal. Chem.* **2004**, 378, 1939.
- 104 Hyötyläinen, T.; Kallio, M.; Hartonen, K.; Jussila, M.; Palonen, S.; Riekkola, M-L.; *Anal. Chem.* **2002**, 74, 4441.
- 105 Marriott, P.; Shellie, R.; *Trends Anal. Chem.* **2002**, 21(9, 10), 573.
- 106 Phillips, J. B.; Beens, J.; *J. Chromatogr. A* **1999**, 856, 331.
- 107 Pedroso, M.P.; Godoy, L.A.F.; Fidélis, C.H.D.; Ferreira, E.C.; Poppi, R.J.; Augusto, F.; *Quim. Nova* **2009**, 32, 421.
- 108 Marriott, P., *Anal. Quim.*, **1997**, 69, 3456.
- 109 Cavagnino, D.; Magni, P.; Zilioli, G.; Trestianu, S.; *J. Chromatogr. A* **2003**, 1019, 211.
- 110 Dallüge, J.; Beens, J.; Brinkman, U. A. T.; *J. Chromatogr. A* **2003**, 1000, 69.
- 111 Begnaud, F.; Debonneville, C.; Probst, J-P.; Chaintreau, A.; Morrison, P.D.; Adcock, J.L.; Marriott, P.J.; *J. Sep. Sci*, **2009**, 32, 3144.
- 112 Venkatramani, C. J.; Xu, J.; Phillips, J.B.; *Anal. Chem.* **1996**, 68, 1486.
- 113 Ryan, D.; Morrison, P.; Marriott, P.J.; *J. Chromatogr. A* **2005**, 1071, 47
- 114 Zhu, S. *J. Chromatogr. A* **2009**, 1216, 3312.
- 115 Adahchour, M.; Beens, J.; Vreuls, R.J.J.; Brinkman, U.A.Th.; *Trends Anal. Chem.* **2006**, 25(5), 438.
- 116 Dallüge, J.; Beens, J.; Brinkman, U.A.Th.; *J. Chromatogr. A* **2003**, 1000, 19.
- 117 Korytár, P.; Haglund, P.; Boer, J.; Brinkman, U.A.Th.; *Trends Anal.Chem.* **2006**, 25(4), 373.
- 118 Marriott, P. J.; Haglund, P.; Ong, R. C. Y.; *Anal. Chim. Acta* **2003**, 328, 1.
- 119 Harju, M.; Danielsson, C.; Haglund, P.; *J. Chromatogr. A* **2003**, 1019, 111.
- 120 Beens, J.; Boelens, H.; Tijssen, R.; *J. High Resol. Chromatogr.* **1998**, 21, 47.
- 121 Fraga, C.G.; Prazen, B.J.; Synovec, R.E.; *J. High Resol. Chromatogr.* **2000**, 23, 215.
- 122 Kallio, M.; Hyötyläinen, T.; Lehtonen, M.; Jussila, M.; Hartonen, K.; Shimmo, M.; Riekkola, M-L.; *J. Chromatogr. A* **2003**, 1019, 251.
- 123 Zhu, S. *J. Chromatogr. A* **2005**, 1086, 107.
- 124 von Mühlen, C.; Khummueng, W.; Zini, C. A.; Caramão, E. B.; Marriott, P. J.; *J.*

- Sep. Sci.* **2006**, 29, 540.
- 125 Reddy, C.M.; Elinton, T.I.; Hounshell, A.; White, H.K.; Xu, L.; Gaines, R.B.; Frysinger, G.S.; *Environ. Sci. Technol.* **2002**, 36, 4754.
- 126 Fidélis, C. H. V.; Pedrozo, M. P.; Ferreira, E. C.; Godoy, L. A. F.; Poppi, R. J.; Augusto, F.; *Quim. Nova* **2007**,
- 127 Cordero, C.; Bicchi, C.; Joulain, D.; Rubiolo, P.; *J. Chromatogr. A* **2007**, 1150, 37.
- 128 Mondello, L.; Tranchida, P.Q.; Dugo, P.; Dugo, G.; *Mass Spectrometry Reviews* **2008**, 27, 101.
- 129 Focant, J-F., *Environnement, Risques & Santé*, **2006**, 5(6), 489.
- 130 Ong, R., Lundstedt, S., Haglund, P., Marriott, P., *J. Chromatogr. A*, **2003**, 1019, 221.
- 131 Kallio, M.; Hyötyläinen, T.; *J. Chromatogr. A* **2007**, 1148, 228.
- 132 Morales-Munoz, S.; Vreuls R.J.J.; Castro, M.D.L.; *J. Chromatogr. A* **2005**, 1086, 122.
- 133 Liguori, L.; Verde, J.; Irabien, A.; *Anal. Chim. Acta* **2006**, 573-574, 181.
- 134 Xu, J.; Yu, Y.; Wang, P.; Guo, W.; Dai, S.; Sun, H.; *Chemosphere* **2007**, 67, 1408.
- 135 ABNT, *Análise Granulométrica de solo/ Método de ensaio*. Associação Brasileira de Normas Técnicas-ABNT: Rio de Janeiro, 1982.
- 136 Suguio, K. *Introdução a sedimentologia*; Ed. Edgard Blücher: São Paulo (SP), 1973, p 317.
- 137 Cotta, J.A.O., *Diagnóstico Ambiental do Solo e Sedimento do Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR)*, Instituto de Química de São Carlos., Universidade de São Carlos: São Carlos (SP), **2003**, p 130.
- 138 US Environmental Protection Agency, *Methods 3545, Pressurized fluid extraction*, US Government Printing Office, Washington, DC., 1996, p 11
- 139 Freitas, L.S.; Caramão, E.B.; Jacques, R.A.; Pérez, L.; Dariva, C.; Oliveira, A.P.; Oliveira, J.V.; *J. Sep. Sci.* **2006** 29 (29), 2780.
- 140 UNEP (*United Nations Environment Programme*), *Determination of petroleum hydrocarbons in sediments. References Methods for Marine Pollution Studies*. UNEP, 1992. Vol. 20, p 97.
- 141 Itoh, N.; Numata, M.; Aoyagi, Y.; Yarita, T.; *J. Chromatogr. A* **2007**. 1138, 26.
- 142 Adahchour, M.; Assöz, A.; Beens, J.; Vreuls, J. J. R.; Batenburg, A. M.; Brinkman, U. A. Th.; *J. Sep. Sci.* **2003**, 26, 753.

- 143 Zhu, Z.; Harynuk, J.; Górecki, T.; *J. Chromatogr. A* **2006**, 1105, 17.
- 145 Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). *Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos*, DOQ-CGCRE-008, **2003**, 36.
- 146 Kim, G.B.; Maruya, K.A.; Lee, R.H.; Koh, C.H.; Tanabe, S.S.; *Mar. Pollut. Bull.* **1999**, 28, 166.
- 147 Ribani, M.; Bottoli, C.B.G; Collins, C.H.; Jardim, I.C.S.F.; Melo, L.F.C.; *J. Chromatogr. A* **2008**, 1186, 325.
- 148 Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); Resolução RE No. 899, de 29/05/2003.
- 149 Pérez, S.; Guillamón, M.; Barceló, D.; *J. Chromatogr. A* 2001, 938, 57.
- 150 Banerjee, K.; Patil, S. H.; Dasgupta, S.; Oulkar, D. P.; Patil, S. B.; Savant, Adsule, P. G.; et al., *J. Chromatogr. A* **2008**, 1190, 350.
- 151 Leite, F., *Validação em Análise Química*, Ed. Átomo, 2002, cap. 13 e 14, pp. 53 a 69, Campinas, SP.

ANEXO 1: Dados de contaminação mundial por HPA

Tabela 1.1: Distribuição de HPA totais em sedimentos de várias regiões do mundo

área	Conc. de HPA (ng g ⁻¹)	Ref.
Mar Mediterrâneo, França	36- 6900 (18 HPA)	Baumard, P.; Budzinski, H.; Michon, Q.; Garrigues, P.; Burgeot, T., Bellocq, J.; Estuar.; <i>Coast. Shelf Sci.</i> , 1998 , 47, 77.
Lagoa de Cotonou, França	25-1450	Soclo, H. H., Garrigues, P., Ewald M., <i>Mar. Pollut. Bull.</i> , 2000 , 40(5), 387.
Aquitaine, França	4-855	Soclo, H. H.; Garrigues, P.; Ewald M.; <i>Mar. Pollut. Bull.</i> 2000 , 40(5), 387.
Izmit Bay (Marmara Sea)	120- 8900	Tolun, L.; Martens, D.; Okay, O.S.; Schramm, K-W.; <i>Environ. International</i> ; 2006 , 32, 758.
Todos Santos Bay, B.C. México	7,6 – 813 (16 HPA)	Macías-Zamora, J. V.; Mendoza-Veja, E.; Villaescura-Celaya, J. A.; <i>Chemosphere</i> 2002 , 46, 459
Ya-Er Lake, Hubei, China	68-2242 (16 HPA)	Chen, G. S.; Schramm, K-W.; Klimm, C., Xu, Y.; Zhang, Y. Y.; Kettrup, A.; <i>Fresenius J. Anal. Chem.</i> 1997 , 359, 280
Gulf of Trieste, Northehen Adriatic Sea	30-600	Notar, M.; Leskovsek, H.; Faganeli, J.; <i>Mar. Pollut. Bull.</i> 2001 . 42(1), 36.
Daya Bay, China	42,5- 158,2 (16HPA)	Yan, W.; Chi, J.; Wang, Z.; Huang, W.; Zhang, G.; <i>Environ. Pollut.</i> 2009 , 157, 1823.
Região Niger Delta, Nigéria	3,15-144,89 (16HPA)	Anyakona, C.; Ogbeche, A.; Palmer, P., Coker, H.; Ukpo, G.; Ogah, C.; <i>Chemosphere</i> 2005 , 60, 900.
Yellow River, China	464-2621 (16HPA)	Xu, J.; Yu, Y.; Wang, P.; Guo, W.; Dai S.; Sun, H.; <i>Chemosphere</i> 2007 , 67, 1408.
Santander Bay, Espanha	0,02-344,6 (16HPA)	Viguri, J.; Verde, J.; Irabien, A.; <i>Chemosphere</i> 2002 ,48, 157
Porto Torres Harbor, Italia	0,07-1,21 (16HPA)	De Luca, G.; Furesi, A.; Leardi, R.; Micera, G.; Panzanelli, A.; Piu, P. C.; Sanna, G.; <i>Mar. Chem.</i> 2004 , 8,15.
Yeongil Bay, Korea	10,0-1870 (16HPA)	Koh, C.-H.; Khim, J. S.; Villeneuve, D. L.; Kannan, K.; Giesy, J. P.; <i>Environ. Pollut.</i> 2006 , 142, 39.

Tabela 1.2: Níveis de concentração de HPA ($\mu\text{g kg}^{-1}$) considerados baixos e altos, disponibilizados no ambiente e que causam efeitos sobre a biota [Celino, J.J., Revista da Escola de Minas Gerais, 2006, 59(3), 265.]

	HPAs	Carcinogenicidade ⁴	Canadian AET Baixa concentração	NOAA		Ontario Ministry		Nº do CA
				Nível de efeito baixo	Nível de efeito alto	Nível de efeito baixo	Nível de efeito alto	
1	Naftaleno	D	<500	<160	>2.100	-	-	91-20-3
2	Acenaftaleno	D	<560	-	-	-	-	208-96-8
3	Acenafteno	A	<150	<16	>500	-	-	83-32-9
4	Fluoreno	D	<350	<19	>540	<190.000 ¹	>160.000 ¹	86-73-7
5	Fenantreno	D	<260	<560	>950	<240	>1.500	85-01-8
6	Antraceno	D	<300	<85,3	>1.100	<220	>370	120-12-7
7	Fluoranteno	D	<1.700	<600	>5.100	<750	>1.020	206-44-0
8	Pireno	D	<2.600	<665	>2.600	<490	>850	129-00-0
9	Benzo(a)antraceno	B2	<550	<261	>1.600	<320	>1.480	56-55-3
10	Criseno	B2	<900	<384	>2.800	<340	>460	218-01-9
11	Benzo(b)fluoranteno ²	B2	-	-	-	-	-	205-99-2
12	Benzo(k)fluoranteno	B2	<3.200	-	-	<240	>1.340	207-08-9
13	Benzo(a)pireno	B2	<700	<430	>1.600	<370	>1.440	50-32-8
14	Dibenzo(a,h)antraceno	B2	<230	<63,5	>260	<60	>130	53-70-3
15	Indeno(1,2,3-cd)pireno	B2	<600	-	-	<200	>320.000 ¹	193-39-5
16	Benzo(g,h,i)perileno	D	<670	-	-	<170	>320	191-24-2
	Σ HPA²		-	-	-	<4.000	>10.000	-

1-Concentrações altíssimas

2-Σ das concentrações do HPA^s considerados como valores mínimos para o efeito na biota.

3-Valores de concentração não disponíveis para *Canadian AET* (Associated Environmental Technologies), do Canadá, *NOAA* (National Oceanic and Atmospheric Administration), dos Estados Unidos e *Ontario Ministry*, também do Canadá nos relatórios da *Environmental Protection Agency* (EPA). Os valores apresentados são do *St. Lawrence River Interim Freshwater Sediment Criteria*, desenvolvido pelo *Environment Canada St. Lawrence Center*.

- Contaminação baixa: < 1.000 $\mu\text{g.kg}^{-1}$

- Contaminação moderada: 1.000-35.000 $\mu\text{g.kg}^{-1}$

- Contaminação alta: > 35.000

4-Efeito carcinogênico: A: Sem efeito carcinogênico; B2: Provável efeito carcinogênico; D: Não classificado. (Modificado ref. 24)

ANEXO 2: Curvas analíticas obtidas para o processo de determinação quantitativa de HPA por GC/MS

TABELA 2.1: Curvas analíticas obtidas para a determinação quantitativa dos HPA deuterados por GC/MS

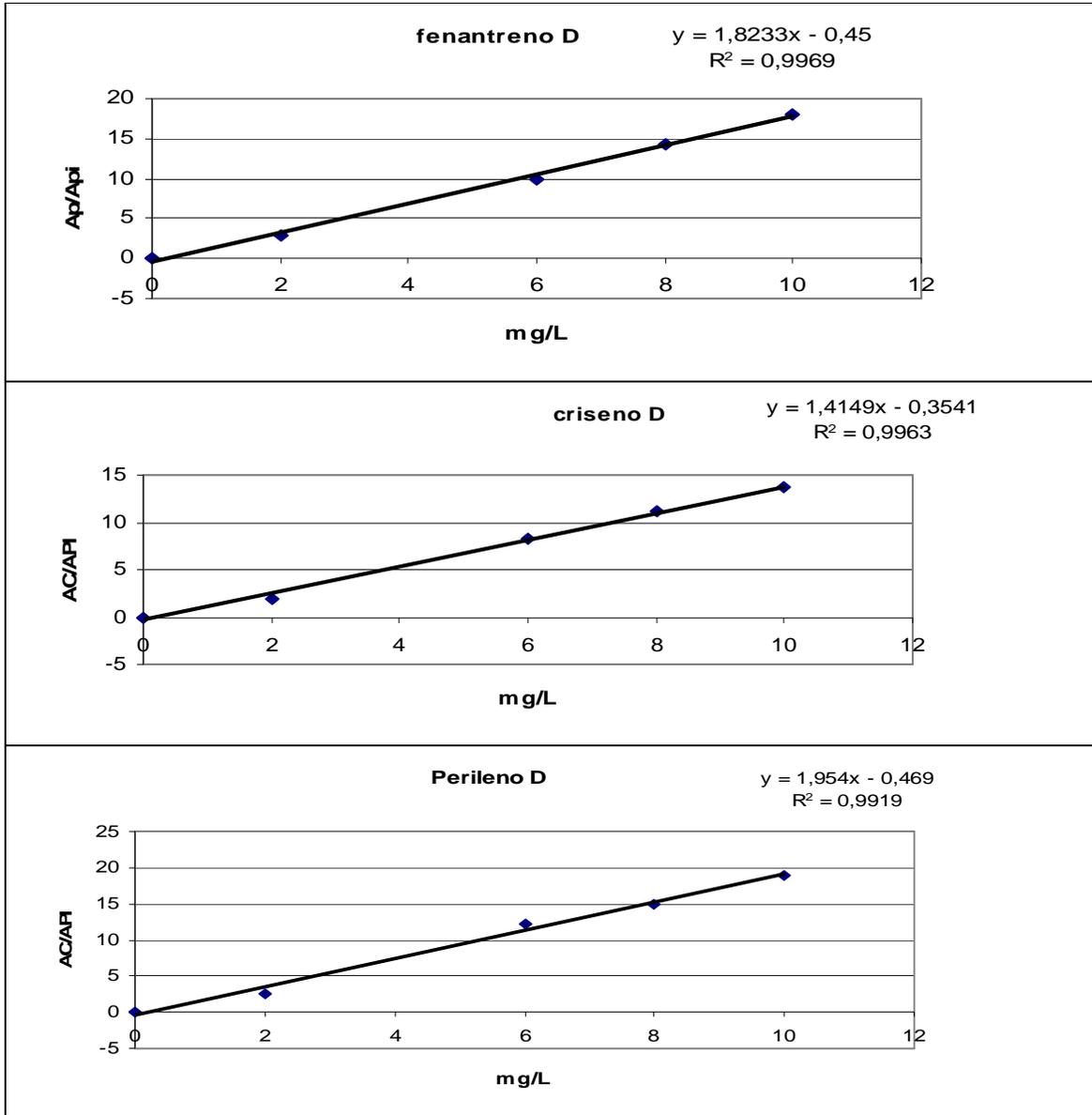
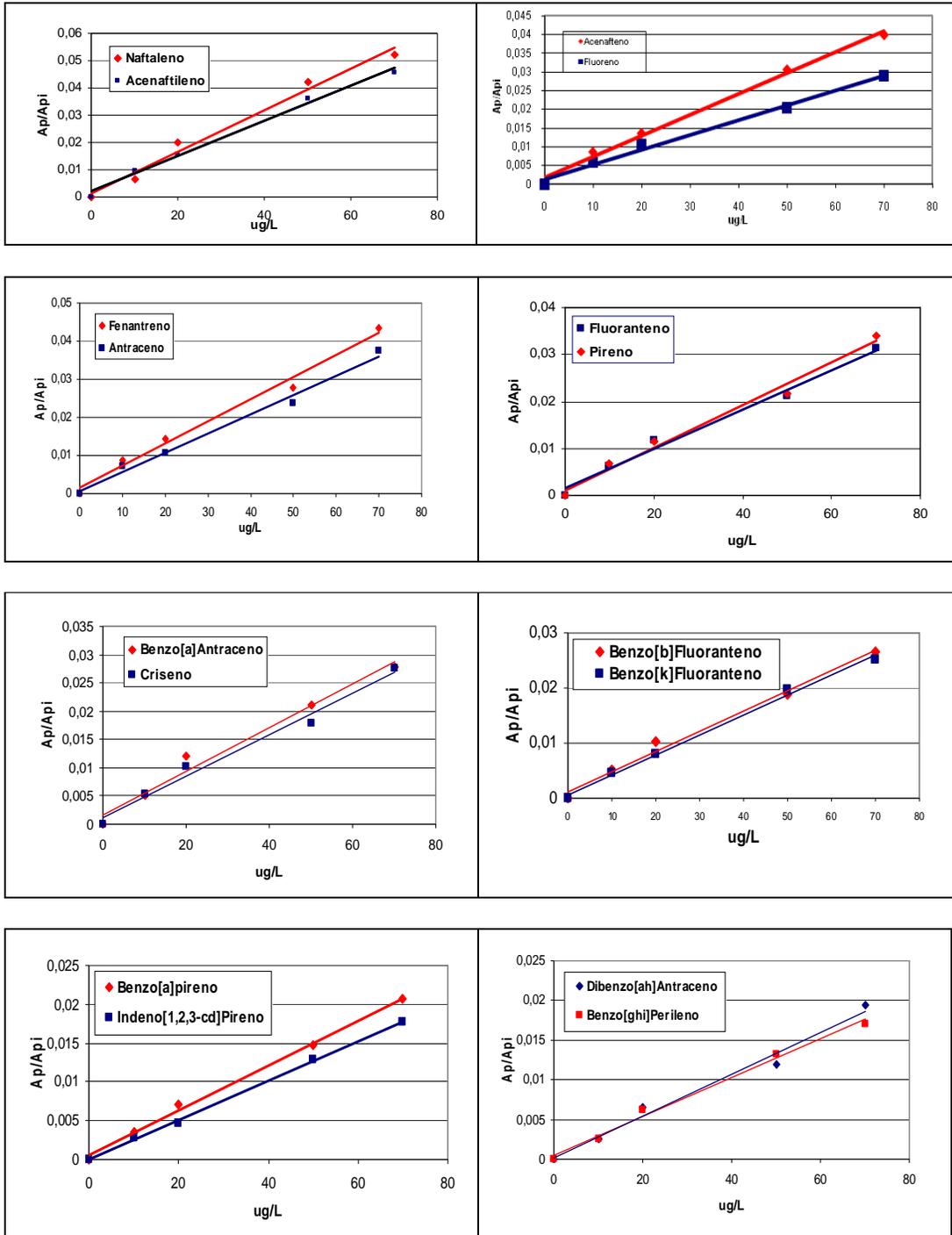
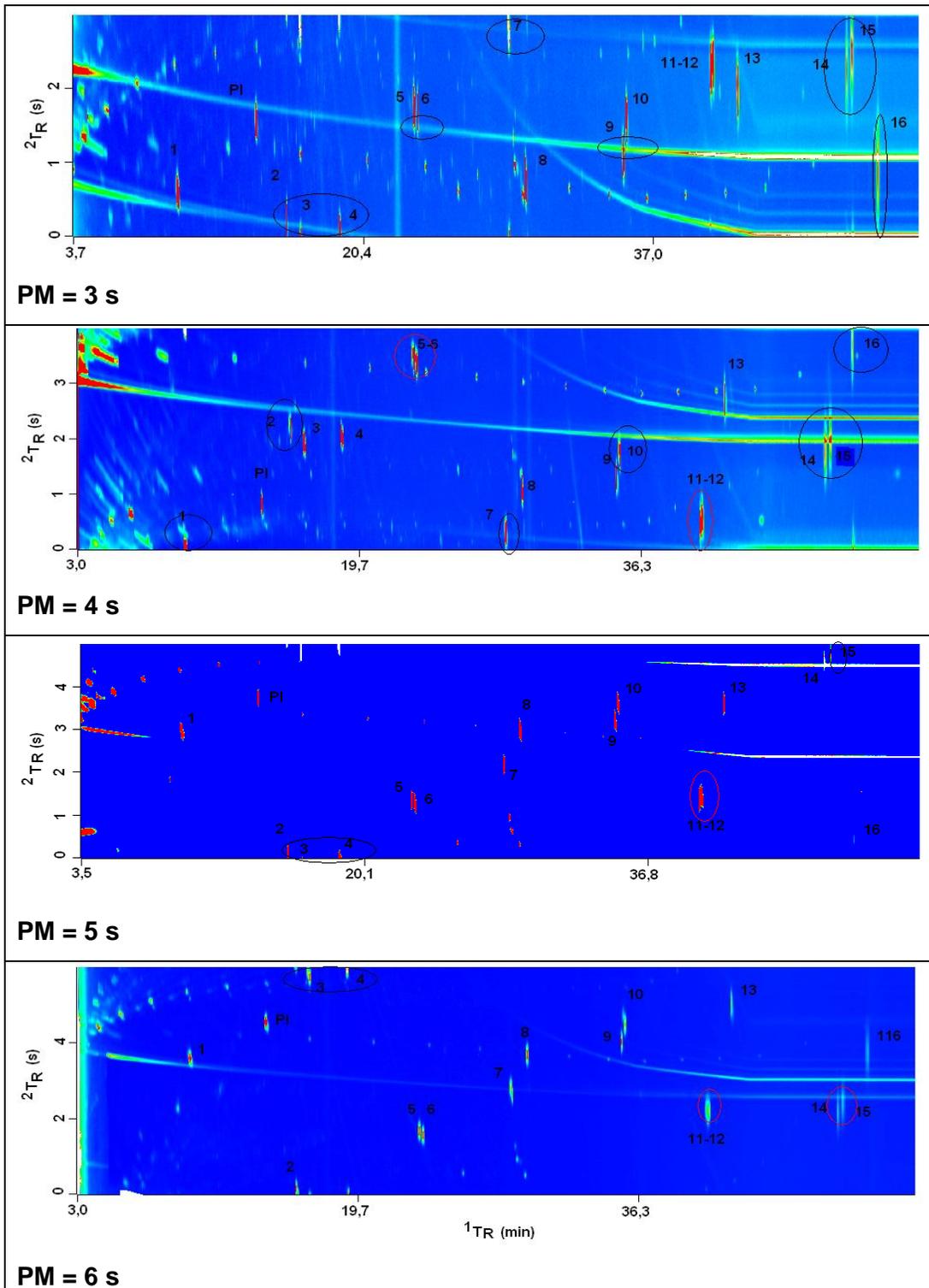
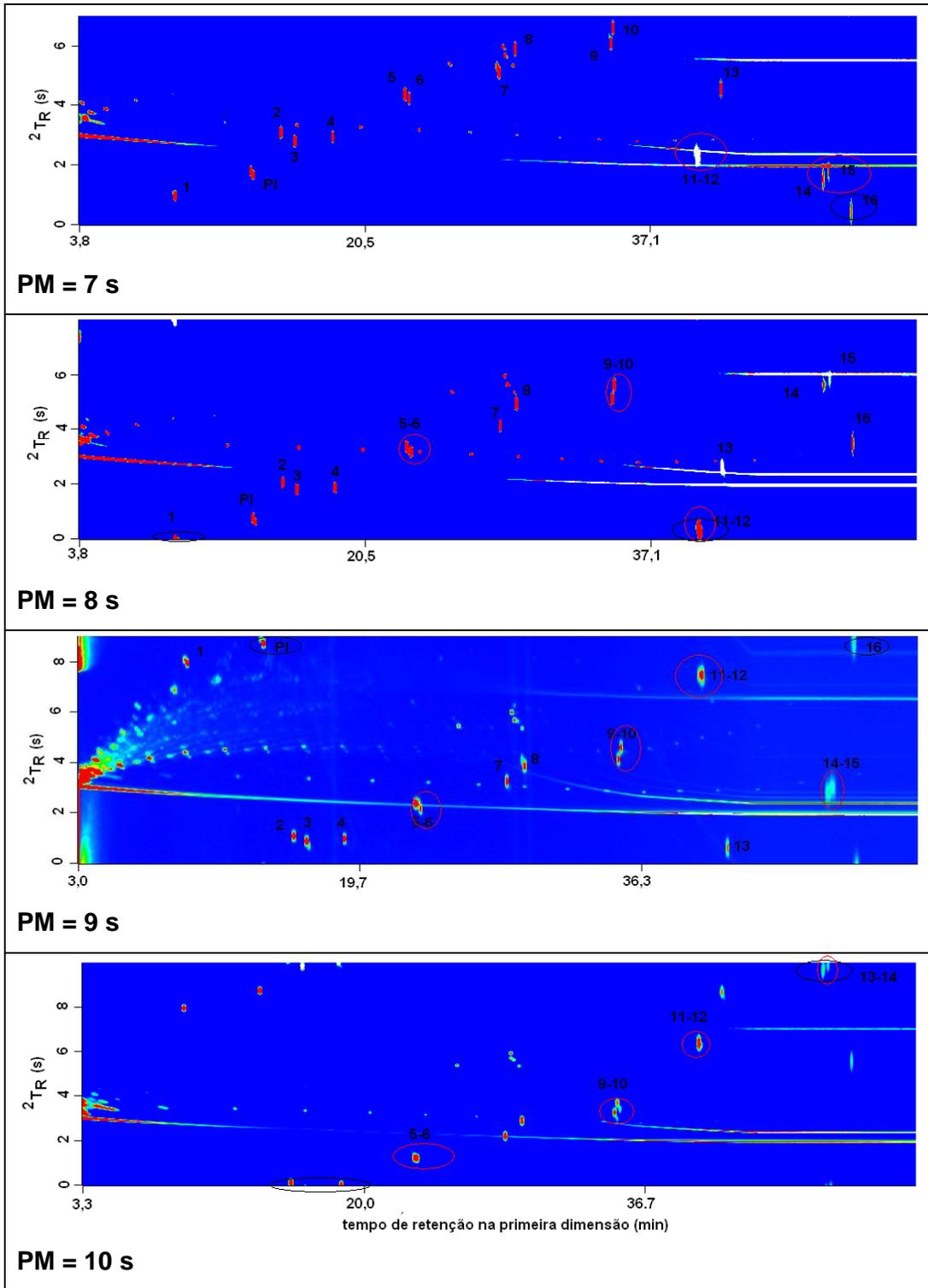


TABELA 2.2: Curvas analíticas obtidas para a determinação quantitativa dos 16 HPA por GC/MS



ANEXO 3: Diagramas de cores obtido nos sete (de 3 a 10 segundos) diferentes períodos de modulação usados, com o conjunto de colunas 2.





ANEXO 4: Curvas analíticas obtidas para a determinação quantitativa de HPA por GC×GC-FID

