

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE EXTRAÇÃO SOXHLET E ULTRA-  
SOM PARA DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS  
POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM SEDIMENTOS DO ESTUÁRIO DO  
RIO SERGIPE POR CROMATOGRAFIA A GÁS ACOPLADA A  
ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

**ANTONIO SÉRGIO OLIVEIRA DOS SANTOS**

**SÃO CRISTOVÃO/SE**

**2011**

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE EXTRAÇÃO SOXHLET E ULTRA-  
SOM PARA DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS  
POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM SEDIMENTOS DO ESTUÁRIO DO  
RIO SERGIPE POR CROMATOGRAFIA A GÁS ACOPLADA A  
ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

**ANTONIO SÉRGIO OLIVEIRA DOS SANTOS**

Dissertação apresentada ao  
Núcleo de Pós-Graduação em  
Química da Universidade Federal  
de Sergipe como um dos  
requisitos para a obtenção do  
título de Mestre em Química.

**Orientador: Prof. Dr. Haroldo Silveira Dórea**  
**Co-Orientador: Prof. Dr. Marcelo da Rosa Alexandre**

**SÃO CRISTÓVÃO/SE**

**2011**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

S237e Santos, Antonio Sérgio Oliveira dos  
Estudo comparativo entre extração Soxhlet e ultra-som para  
determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em  
sedimentos do estuário do rio Sergipe por cromatografia a gás  
acoplada a espectrometria de massas / Antonio Sérgio Oliveira  
dos Santos. – São Cristóvão, 2011.  
81 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Química) – Núcleo de Pós-  
Graduação em Química, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e  
Pesquisa, Universidade Federal de Sergipe, 2011.

Orientador: Prof. Dr. Haroldo Silveira Dórea.

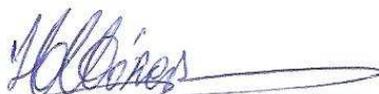
1. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos – Aspectos  
ambientais – Sergipe, Rio. 2. Soxhlet. 3. Ultra-som. 4.  
Sedimentos fluviais. I. Título.

CDU 547.53

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
NÚCLEO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

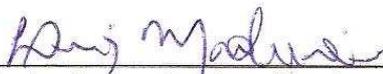
FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Dissertação de Mestrado de Antonio Sérgio Oliveira dos Santos apresentada ao Núcleo de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Sergipe em 26/08/2011.



---

Prof. Dr. Haroldo Silveira Dórea  
DQI, UFS



---

Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira  
QMC, UFSC



---

Prof. Dr. Adalberto Menezes Filho  
IFS, Aracaju

Aos meus pais e irmãos pelo exemplo de vida, a minha esposa Maria de Fátima, aos meus filhos Priscila Thaianne, Débora Raquel e Carlos César, pelo amor e compreensão, por abrir mão de minha companhia nas longas horas de estudos e confiança nas minhas decisões. Sem vocês nada disso seria possível. Agradeço a Deus a existência de vocês em minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Haroldo Silveira Dórea pela orientação neste trabalho e pela oportunidade em participar deste grupo de pesquisa (GAPO). Pessoa competente que transmite segurança e acreditou no meu potencial, sempre procurando me incentivar para a realização de novos projetos;

Ao Prof. Dr. Marcelo da Rosa Alexandre pela co-orientação e sugestões. Obrigado pela paciência, incentivo e amizade que foi estabelecida durante nossa convivência;

Ao Prof. Dr. Sandro Navickiene um profissional de grande potencial e estando sempre disponível para qualquer tipo de ajuda necessária e muito atencioso quando solicitado;

A todos os colegas do laboratório LCP que direta ou indiretamente participaram da realização deste trabalho. Agradeço especialmente aos amigos Elissandro, Vanessa, Danielle, Marcel, Michel e Ubirajara pelo companheirismo, amizade e pela agradável convivência e colaboração mútua;

Aos colegas do IFS-COQUI que tiveram participação importante neste trabalho. Agradeço especialmente Alexandre Praxedes, Adalberto Menezes, Rosanne Albuquerque, Francisco Lopes e Regivânia Franco;

A meu grande amigo Adailton Novais que muito incentivou para realizar o Mestrado;

Assim, agradeço a todos que tiveram presente durante esta caminhada, não só aqueles com os convivi e aprendi dentro do laboratório;

Enfim, agradeço a Deus por mais esta conquista e a todos vocês pelo crescimento que me proporcionaram.

# SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>i</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b>	<b>ii</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS</b>	<b>iv</b>
<b>RESUMO</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>vii</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVO</b>	<b>4</b>
2.1 Geral	4
2.2 Específicos	4
<b>3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	<b>5</b>
3.1 Contaminação por compostos orgânicos	5
3.2 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos	6
3.2.1 Propriedades físico-químicas dos HPA	8
3.2.2 Identificação das fontes de HPAs	9
3.2.3 Razão diagnóstica dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	10
3.3 Métodos de extração	11
3.3.1 Extração de HPAs por Soxhlet	12
3.3.2 Extração de HPAs por ultra-som	12
3.4 Validação de método analítico	13
3.4.1 Seletividade	13
3.4.2 Linearidade e curva analítica	14
3.4.3 Sensibilidade	15
3.4.4 Precisão	15
3.4.5 Recuperação	15
3.4.6 Robustez	16
3.4.7 Limites de Detecção e limites de Quantificação	16
<b>4. PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>17</b>
4.1 Materiais	17
4.2 Equipamentos	17
4.3 Limpeza do material	17

4.4 Reagentes e padrões analíticos dos HPAs	18
4.5 Procedimento de ativação de sulfato de sódio anidro, alumina neutra e sílica gel	18
4.6 Área de estudo	19
4.7. Coleta das amostras de sedimentos	20
4.8 Procedimento de extração de HPAs das amostras de sedimentos por Soxhlet	22
4.9 Etapa de fracionamento e ( <i>clean up</i> )	22
4.10 Montagem da coluna <i>clean up</i> otimizada	24
4.11 Procedimento de extração de HPAs das amostras de sedimento por ultra-som	25
4.12 Condições cromatográficas de análise	26
4.13 Validação	26
4.13.1 Seletividade	27
4.13.2 Linearidade	28
4.13.3 Precisão	30
4.13.4 Recuperação	30
4.13.4.1 Soxhlet	30
4.13.4.2 Ultra-som	31
4.13.5 Robustez	32
4.13.6 Limites de Detecção e Quantificação	33
4.14 Carbono Orgânico Total	33
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>34</b>
5.1 Otimização das condições cromatográficas para análise de HPA em sedimento	34
5.2 Otimização da coluna <i>clean up</i>	35
5.3 Comparação entre as colunas padrão e otimizada para o <i>clean up</i>	37
5.4 Seletividade	37
5.5 Curva analítica (linearidade)	38
5.6 Recuperação	39
5.7 Robustez	41
5.8 Limites de Detecção e Quantificação	41
5.9 Análise do teor de carbono orgânico e granulometria das amostras de sedimento no estuário do rio Sergipe	42

5.10 Análise das amostras de sedimento no estuário do rio Sergipe por ultrassom	43
5.11 Identificação das fontes de HPAs	47
<b>6. CONCLUSÃO</b>	<b>50</b>
<b>7. PERSPECTIVAS FUTURAS</b>	<b>52</b>
<b>8. REFERÊNCIAS</b>	<b>53</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>65</b>
Anexo I Fotos dos pontos de amostragem do estuário do rio Sergipe	66
Anexo II Curvas analíticas dos HPAs estudados	71
Anexo III Perfil dos HPAs em amostra de sedimentos	73
Anexo IV Gráficos de Pareto para os 16 HPAs	78

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Estruturas e nomenclaturas dos HPAs prioritários.	7
<b>Figura 2:</b> Localização dos pontos de amostragem no estuário do rio Sergipe (adaptado de PASSOS et al, 2011).	19
<b>Figura 3:</b> Amostrador tipo draga utilizado na coleta de amostra de sedimento superficial.	21
<b>Figura 4:</b> Ilustração do procedimento de extração de HPAs de sedimento utilizando a técnica Soxhlet.	22
<b>Figura 5:</b> Montagem da coluna padrão <i>clean up</i> .	23
<b>Figura 6:</b> Banho de ultra-som utilizado na extração dos HPAs em amostra de sedimento.	25
<b>Figura 7:</b> Procedimento de construção das curvas analíticas.	29
<b>Figura 8:</b> Cromatograma obtidos por GC-MS (modo SIM) da solução padrão do mix com os 16 HPAs na concentração 1000 ng mL <sup>-1</sup> em n-hexano.	34
<b>Figura 9:</b> Cromatogramas obtidos por GC-MS (modo SIM) de solução-padrão de HPAs em n-hexano na concentração de 1000 ng mL <sup>-1</sup> .	35
<b>Figura 10:</b> Porcentagem de HPAs que eluem na coluna otimizada nos volumes de solvente nas frações F1(alifáticos) e F2(aromáticos).	36
<b>Figura 11:</b> Comparação da eficiência de recuperação entre os métodos de extração, utilizando dois níveis de concentração (12,5 e 62,5 ng g <sup>-1</sup> ).	40
<b>Figura 12:</b> Gráfico de Pareto obtido do planejamento fatorial para o naftaleno	41
<b>Figura 13:</b> Perfil de HPAs em amostra de sedimento no ponto 7.	46
<b>Figura 14:</b> Diagrama cruzado de F1/(F1 +Pi versus BaA/(BaA + Cri).	48
<b>Figura 15:</b> Diagrama cruzado da razão F1/(F1+Pi) versus Ant/(Ant+Fen).	49

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Propriedades físico-químicas dos HPAs.	<b>8</b>
<b>Tabela 2:</b> Razões dos HPAs e a origem da fonte de contaminação	<b>10</b>
<b>Tabela 3:</b> Lista dos HPAs, padrões interno para quantificação, padrão de recuperação (P-terfenil d <sub>14</sub> ) e os íons de quantificação.	<b>18</b>
<b>Tabela 4:</b> Localização dos nove pontos de amostragem.	<b>21</b>
<b>Tabela 5:</b> Avaliação do branco da amostra para o teste de seletividade.	<b>27</b>
<b>Tabela 6:</b> Avaliação da amostra de sedimento para o teste de seletividade.	<b>27</b>
<b>Tabela 7:</b> Preparo das soluções-padrão intermediárias.	<b>28</b>
<b>Tabela 8:</b> Preparo das soluções- padrão de trabalho.	<b>28</b>
<b>Tabela 9:</b> Construção da curva de analítica.	<b>28</b>
<b>Tabela 10:</b> Massa de sedimento, concentração do mix de HPA, surrogate e padrão interno utilizado nos testes de recuperação e precisão.	<b>31</b>
<b>Tabela 11:</b> Massa de sedimento, concentração do mix de HPA, surrogate e padrão interno utilizado nos testes de recuperação e precisão.	<b>31</b>
<b>Tabela 12:</b> Matriz do planejamento fatorial para o teste de robustez do método.	<b>32</b>
<b>Tabela 13:</b> Porcentagem de HPA individual que sai na fração F1 (alifático).	<b>36</b>
<b>Tabela 14:</b> Consumo de adsorventes e solventes na montagem das colunas e no fracionamento dos hidrocarbonetos.	<b>37</b>
<b>Tabela 15:</b> Parâmetros das curvas analíticas para a primeira campanha (inverno).	<b>38</b>
<b>Tabela 16:</b> Parâmetros das curvas analíticas para a segunda campanha (verão).	<b>38</b>
<b>Tabela 17:</b> Comparação dos valores de recuperação (%) e dos desvios padrão relativos (RSD %) dos analitos em sedimento por ultra-som e Soxhlet	<b>40</b>
<b>Tabela 18:</b> Comparação entre os LD e LQ por ultra som e Soxhlet (ng g <sup>-1</sup> )	<b>42</b>
<b>Tabela 19:</b> Percentual do teor de carbono orgânico total e granulometria nas amostras de sedimento no estuário do rio Sergipe.	<b>43</b>
<b>Tabela 20:</b> Teores de HPA encontrados nas amostras de sedimento do estuário do rio Sergipe no inverno.	<b>43</b>

<b>Tabela 21:</b> Teores de HPA encontrados nas amostras de sedimento do estuário do rio Sergipe no verão.	<b>44</b>
<b>Tabela 22:</b> Comparação dos teores de HPAs determinados neste estudo com os descritos na literatura.	<b>46</b>
<b>Tabela 23:</b> Legislação Norte Americana e Canadense para níveis de HPAs em sedimentos.	<b>47</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

Ace - Acenaftileno

Acf - Acenafteno

Ant- Antraceno

AMM – Alta massa molar

BaA - Benzo(a)antraceno

BaP - Benzo(a)pireno

BbF - Benzo(b)fluoranteno

B[ghi]P - Benzo(g,h,i)perileno

BkF - Benzo(k)fluoranteno

BMM – Baixa massa molar

Cri - Criseno

CV – Coeficiente de variação

D[ah]A - Dibenzo(a,h)antraceno

DCM - Diclorometano

Fen - Fenantreno

Flu - Fluoreno

Flt – Fluoranteno

GC – Cromatografia gasosa, do inglês *gas chromatography*

GPS – Sistema de posicionamento global, do inglês *global positioning system*

HPA - Hidrocarboneto Policíclico Aromático

InP - Indeno (1,2,3-cd)pireno

IC – Intervalo de confiança

Kd – Coeficiente de partição sedimento/água

K<sub>H</sub>- Constante de Henry

Kow – Coeficiente de partição octanol-água

LD – Limite de detecção, do inglês *Limit of Detection*

LQ – Limite de quantificação, do inglês *Limit of Quantification*

MM - Massa molar

MS – Espectrometria de massas, do inglês *mass spectrometry*

m/z – Razão massa carga

Naf – Naftaleno

ng – Nanograma (10<sup>-9</sup> g)

NOAA – *National Oceanic and Atmospheric Administration*

PF e PE - ponto de fusão e ebulição

PI – Padrão interno

Pir – Pireno

PV- Pressão de vapor

$R^2$  – Coeficiente de determinação

RSD – Desvio padrão relativo, do inglês *Relative Standard Deviation*

s - Solubilidade em água

SIM – Monitoramento de íons selecionados, do inglês *Selected ion monitoring*

US EPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, do inglês *United States Environmental Protective Agency*

## RESUMO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são compostos que podem ser encontrados em diversos compartimentos ambientais tais como atmosfera, solo, sedimento e água. Por bioacumulação podem também estar incorporados aos organismos vegetais e animais. São originados, principalmente, de fontes e/ou atividades antrópicas, como a queima de combustíveis fósseis e da biomassa. Devido ao seu potencial tóxico, carcinogênico e mutagênico, eles devem ser cuidadosamente monitorados. O presente trabalho tem como objetivo a comparação de dois métodos de extração (ultra-som e Soxhlet), otimização de uma coluna (*clean up*) e das condições cromatográficas (GC-MS) para a separação e determinação dos 16 hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), estabelecidos como prioritários pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, em amostras de sedimentos coletadas no estuário do rio Sergipe. Os extratos foram analisados por GC-MS utilizando coluna capilar DB-5, injeção no modo splitless e operando no modo SIM, selecionando um íon principal e dois de confirmação de cada HPA. Foi realizado um estudo de validação dos métodos. As curvas analíticas apresentaram valores de coeficiente de determinação ( $R^2$ ) acima de 0,99 para os 16 HPAs. Pelo método de ultra-som, os valores médios de recuperação obtidos em dois níveis de fortificação (12,5 ng g<sup>-1</sup> e 62,5 ng g<sup>-1</sup>) não apresentaram diferenças significativas, obtendo recuperação média na faixa de 74 a 125,4% e RSD < 19,2% para os compostos analisados, com exceção do pireno. Os limites de detecção e quantificação por ultra-som variaram de 0,04 a 0,23 ng g<sup>-1</sup> e de 0,12 a 0,78 ng g<sup>-1</sup>, respectivamente, enquanto que por Soxhlet variaram de 0,03 a 0,3 ng g<sup>-1</sup> e de 0,11 a 1,0 ng g<sup>-1</sup>, respectivamente. Por outro lado, a extração por Soxhlet não apresentou boa recuperação para os HPAs de baixa massa molar, principalmente, o naftaleno, acenaftileno e o acenafteno, que variou de 9,5 a 98,4%. Portanto, o procedimento escolhido para análise de HPAs em sedimento foi o ultra-som, pois mostrou boa recuperação, rapidez, economia de solvente e adsorvente, baixo tempo de extração, além de permitir a extração simultânea de todas as amostras. As concentrações de HPAs totais nos sedimentos estudados variaram de 6,7 ng g<sup>-1</sup> a 377,7 ng g<sup>-1</sup> em peso seco. As espécies encontradas em maior concentração foram Benzo[ghi]Perileno (61,9 ng g<sup>-1</sup>), Criseno (52,7 ng g<sup>-1</sup>), Fluoranteno (47,9 ng g<sup>-1</sup>) e Pireno (34,1 ng g<sup>-1</sup>). A investigação da fonte dos HPAs sugere origem pirogênica para a maioria dos compostos.

Palavras-chave: HPAs; GC/MS; Soxhlet; ultra-som; sedimento; Rio Sergipe.

## ABSTRACT

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are compounds that can be found in environmental compartments such as atmosphere, soil, sediment and water. Throughout bioaccumulation, they can also be incorporated into vegetables and animals tissues. They are mainly originated from anthropogenic sources such as fossil fuels and biomass burnings. Due they potential toxicity, carcinogenicity and mutagenicity, they must be carefully monitored. The main goal of this study is to compare two extraction methods (ultrasound and Soxhlet) and the optimization of a cleanup column and chromatographic conditions (GC-MS) for separation and determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) established as priorities by the Environmental Protection Agency of the United States. Once optimized, the method was applied to evaluate HPAs in sediment samples collected in the Sergipe river estuarine system. The extracts were analyzed by GC-MS, using a DB-5 capillary column, splitless injection and operating in SIM mode, with three ions being monitored for each PAH, one ion principal and two others as confirmation ions. We conducted a validation study of the methods. The analytical curves showed coefficients of determination ( $R^2$ ) above 0.99 for all 16 PAHs. For the ultrasound method, the average recovery obtained in two fortification levels (12.5 ng g<sup>-1</sup> and 62.5 ng g<sup>-1</sup>) showed no significant differences, with a recovering average ranging from 74 to 125.4% and RSD <19.2% for all compounds analyzed, except for pyrene. The limits of detection and quantification by ultrasound ranged from 0.04 to 0.23 ng g<sup>-1</sup> and 0.12 to 0.78 ng g<sup>-1</sup>, respectively, and the limits of detection and quantification by Soxhlet ranged from 0.03 to 0.3 ng g<sup>-1</sup> and 0.11 to 1.0 ng g<sup>-1</sup>, respectively. On the other hand, the Soxhlet extraction did not show good recoveries for low molecular weight PAHs, especially naphthalene, acenaphthylene and acenaphthene, with values ranging from 9.5 to 98.4%. Therefore, the extraction method chosen for the analysis of PAHs in sediment was the ultrasound. It showed good recovery, speed, solvent and adsorbent economy and low extraction time. It also allows simultaneous extraction of several samples. The total concentrations of PAHs in the sediments studied ranged from 6.7 ng g<sup>-1</sup> to 377.7 ng g<sup>-1</sup> dry weight. The species found in higher concentrations were Benzo[ghi]Perylene (61.9 ng g<sup>-1</sup>), chrysene (52.7 ng g<sup>-1</sup>), fluoranthene (47.9 ng g<sup>-1</sup>) and pyrene (34.1 ng g<sup>-1</sup>). The investigation of the PAHs sources suggests pyrogenic origin for most of the compounds.

Keywords: PAHs; GC / MS; Soxhlet; ultrasound; sediment; Sergipe River.

## 1. INTRODUÇÃO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são amplamente distribuídos no ambiente marinho, em decorrência da queima de combustíveis fósseis (carvão e petróleo), da biomassa e também do derramamento de petróleo e seus derivados. Devido a preocupação com os poluentes orgânicos e em função das suas características tóxicas, mutagênicas e carcinogênicas, a Agência de Proteção Ambiental (US EPA) dos Estados Unidos, fixou 16 HPAs como poluentes prioritários, os quais podem ser detectados na água, solo, sedimentos, organismos aquáticos e alimentos. Ao serem introduzidos no ambiente marinho, aderem fortemente aos sedimentos de fração fina, devido à sua baixa solubilidade em água e sua natureza hidrofóbica (CELINO, 2006 e QUEIROZ, 2009; ORECCHIO e MANNINO, 2010). Os HPAs são divididos em duas classes em função da sua massa molar, os de baixa massa molar, com dois e três anéis aromáticos condensados e os de alta massa molar, com quatro a seis anéis aromáticos condensados (SILVA et al, 2007).

Os HPAs constituem uma ameaça potencial à saúde da população. A exposição humana se dá principalmente por meio da contaminação ambiental, o risco de contaminação humana por estes compostos é significativo, devido ao seu caráter lipofílico. Eles também são absorvidos pela pele, por ingestão ou por inalação, sendo rapidamente distribuídos no organismo (PEREIRA NETO, 2000). Como os HPAs têm sido encontrados tanto no meio ambiente como nos alimentos, eles devem ser cuidadosamente monitorados; utilizando técnicas de análise que identifiquem e quantifiquem estes compostos potencialmente tóxicos (DROSOS, 2010).

Os sedimentos podem ser definidos como materiais particulados, depositados no fundo dos ambientes aquáticos, imediatamente abaixo da camada de água. É na camada mais fina dos sedimentos que se apresenta a maior capacidade de sorção de contaminantes devido à elevada área superficial de seus grãos. Já a fração mais grossa, é relativamente inerte e não apresenta grande associação com contaminantes químicos. Como resultado da interação diferenciada com as partículas do sedimento, a concentração de poluentes ambientais e sua disponibilidade sofrem elevada variação. São nos ambientes estuarinos que ocorrem sedimentação de grandes quantidades de partículas, devido ao aumento da salinidade, aumentando o processo de aglomeração das partículas (floculação e coagulação), que são responsáveis pelas transferências de grandes quantidades de

contaminantes associados à coluna d'água para os sedimentos do ambiente costeiro estuarino (BAPTISTA NETO et al, 2008).

Estuário pode ser definido como um corpo de água costeiro semi-fechado com ligação livre com o mar aberto, entrando rio acima até o limite da influência da maré, sendo que em seu interior a água do mar é mensuravelmente diluída pela água doce oriunda da drenagem continental (ALVES, 2006). O estuário pode ser dividido em três regiões em função de águas continentais e marinhas: alto, médio e baixo estuário (SCHETTINI, 2002). As zonas de influência das marés são afetadas por variações nas características físico-químicas. As águas do mar exibem, em geral, pH alcalino (7,4 a 8,4), enquanto as águas dos rios têm, em geral, pH ácido (em torno de 5). Entretanto, as variações de pH em um ambiente estuarino podem induzir a floculação das suspensões argilosas, devido aos sais de metais que são eficientes como agentes floculantes (SUGUIO, 2003).

No ambiente estuarino a salinidade das águas apresenta variação sazonal. Nos meses com índices pluviométricos elevados, o fluxo de água doce aumenta e as águas do estuário ficam mais diluídas, ocorrendo o inverso nos meses de estiagem. Essa redução de entrada de água doce no sistema pode concentrar os poluentes (ALVES, 2006).

Em regiões estuarinas o sedimento do fundo é do tipo lamoso em sua maior parte (ALVES, 2006). As cores cinza e preta dos sedimentos, nos estuários, na maioria dos casos, estão relacionadas à matéria orgânica (carbono orgânico e substâncias húmicas) e são relativamente freqüentes a presença de compostos de enxofre. Pois a coloração escura dos sedimentos está ligada a quantidades variáveis de matéria orgânica e sulfetos, principalmente de ferro e mais raramente de cobre ou chumbo (SUGUIO, 2003).

O Estado de Sergipe compreende uma área de 22.050,3 km<sup>2</sup> e apresenta seis bacias hidrográficas, sendo três federais: rio São Francisco, rio Vaza Barris, rio Real e três estaduais: rio Japarutuba, rio Sergipe e rio Piauí. O quadro climático predominante na bacia do rio Sergipe é o semi-árido. As atividades predominantes são a pecuária extensiva, responsável pelos desmatamentos indiscriminados na região e os cultivos, principalmente da cana-de-açúcar. É na bacia do rio Sergipe onde se encontra cadastrado o maior percentual de estabelecimentos industriais do Estado (ALVES, 2006).

A área estuarina do rio Sergipe, formada ao norte pelo rio do Sal, ao sul pelo rio Poxim e ao leste pelo rio Sergipe, desempenha papel fundamental para as populações que vivem às suas margens, desenvolvendo atividades pesqueiras e utilizando o estuário como via de transporte, área para construção de atracadouros e para o lazer.

Os problemas ambientais do rio Sergipe vêm se agravando com o crescente aumento populacional das cidades localizadas em suas margens e em seus afluentes. Este aumento exerce uma pressão sobre o ecossistema, provocando perda de áreas naturais pelo desmatamento e aterro dos manguezais, além da extração de madeira, construção de habitações e pelo aporte de esgotos sanitários de cidades como Aracaju e Nossa Senhora do Socorro, as mais populosas do Estado de Sergipe (ALVES, 2006).

A determinação dos HPAs em amostras de sedimentos pode ser realizada por meio da cromatografia em fase gasosa (GC) acoplada à espectrometria de massas (MS) que apresenta versatilidade na identificação e quantificação desses compostos nos níveis de concentração desejados. No entanto, os extratos obtidos devem ser limpos e fracionados para a separação dos hidrocarbonetos aromáticos dos demais constituintes orgânicos presente no extrato sedimentar. Essa limpeza e o fracionamento normalmente são realizados por cromatografia de adsorção em coluna de sílica e alumina (BAPTISTA NETO et al, 2008), e com solventes apolares para eluição dos respectivos compostos (CAVALCANTE et al, 2008).

Este trabalho tem como foco a comparação de duas diferentes técnicas de extração dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em amostra de sedimento, avaliando-se a sensibilidade, rapidez, facilidade de adaptação nos laboratórios, custo, tempo de extração, precisão e exatidão, pois cada técnica apresenta vantagens e desvantagens.

Portanto, a primeira etapa deste trabalho consistiu em avaliar a eficiência analítica das técnicas de extração por Soxhlet e ultra-som; e, na segunda etapa, o método mais eficiente e vantajoso foi validado e aplicado na determinação dos HPAs em amostras de sedimento por GC-MS no estuário do rio Sergipe.

## **2. OBJETIVOS**

### ***2.1 Geral***

Estabelecer um método analítico para analisar hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em sedimentos.

### ***2.2 Específicos***

- Estabelecer as condições de análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) para analisar HPAs em sedimentos;
- Estabelecer um método analítico para determinação de HPAs em sedimentos a partir da comparação da extração por Soxhlet e por ultra-som;
- Otimizar a limpeza e fracionamento dos extratos de sedimentos para análise de HPAs por GC-MS;
- Comparar os métodos analíticos e validar o de maior desempenho, definindo parâmetros de recuperação, precisão, linearidade, robustez, limites de detecção e quantificação;
- Analisar as amostras de sedimento coletadas no estuário do rio Sergipe a fim de verificar a presença de HPAs.

### **3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

#### **3.1 Contaminação por compostos orgânicos**

Acidentes ambientais decorrentes de vazamentos e derramamentos de combustíveis fósseis e seus derivados produzidos pela indústria do petróleo são frequentes (D'AGOSTINHO e FLUES, 2006). O monitoramento e a avaliação do impacto das emissões da indústria petrolífera são importantes devido ao efeito adverso que causam ao meio ambiente e à população. Considerando-se a proximidade entre áreas residenciais e industriais, os efeitos nocivos dos compostos oriundos de emissões atmosféricas têm consequências sobre a saúde pública e a qualidade ambiental (GARCIA et al 2010). O destino e a migração de contaminantes no meio ambiente são controlados pelas propriedades físico-químicas dos compostos e pela natureza do meio físico para o qual os compostos migram (FROEHNER e MARTINS, 2008).

A introdução dos contaminantes no meio ambiente pode ser pelo despejo de efluentes industriais e domésticos, pois representam uma grande parcela da contribuição antrópica para a poluição ambiental. Os sedimentos são reconhecidos como destino final para poluentes como hidrocarbonetos, já que estes compostos são facilmente adsorvidos pelo material particulado. Assim sendo, o sedimento atua como um reservatório de contaminantes, constituindo-se em um arquivo útil para avaliação do grau de contaminação (SANCHES FILHO et al, 2010). No ambiente marinho, os sedimentos agem como um substrato cromatográfico, no qual pode ocorrer adsorção preferencial, fracionamento, eluição e dessorção de poluentes orgânicos (TANIGUCHI, 2002). Estes poluentes entram no ambiente marinho, resultando em efeitos desastrosos como danos à vida marinha, riscos a saúde humana, além de dificultar atividades, tais como a pesca, e comprometendo a qualidade da água (GODOI et al, 2003).

O petróleo e seus derivados são considerados os principais contaminantes em áreas costeiras marinhas. Várias fontes contribuem para esta contaminação, tais como: atividades industriais, extração e refino de petróleo, tráfego marítimo e terrestre etc. Os hidrocarbonetos de petróleo relacionados à poluição do ambiente marinho são de grande preocupação devido à sua persistência nos sedimentos e sua toxicidade para organismos (TORRE et al, 2010). Sua persistência no ambiente depende principalmente de suas características químicas e físicas. Quanto mais complexa a sua estrutura (maior número de anéis), menor é a polaridade da molécula e mais hidrofóbica ela é, conseqüentemente esses

poluentes tendem a se acumular nos sedimentos, onde a degradação de HPAs com alto peso molecular é particularmente lento (PERELO, 2010).

### **3.2 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos**

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos constituem uma família de compostos orgânicos caracterizada pela presença de dois ou mais anéis aromáticos condensados (Wu, et al 2007; Li, et al 2009; PEREIRA NETTO, et al 2000) (Figura 1). Estes compostos representam em média 7% da composição de um óleo cru e são resistentes a biodegradação microbiológica e bastante estável no ambiente. São fortemente adsorvidos nos sedimentos, persistindo por muitos anos no ambiente. As fontes de HPAs podem ser de origem natural ou antropogênica. As fontes naturais incluem queima acidental de florestas e emissão vulcânica, já as fontes antropogênicas podem ser separados em dois grupos: pirogênico (queima de combustíveis fósseis e derivados) e petrogênica (petróleo e derivados), que incluem queima da biomassa, incineração de resíduos sólidos e emissões veiculares entre outros (FURLAN JÚNIOR, 2006; DONG e LEE, 2008). Dos hidrocarbonetos presentes no petróleo, os HPAs são os compostos que apresentam maior toxicidade ao meio ambiente, no entanto, os HPAs presente no petróleo apresentam menor toxicidade que aqueles produzidos por processos de combustão (BAPTISTA NETO et al, 2008).

Os HPAs podem ser encontrados em diversos compartimentos ambientais e bioacumulação podem também estar incorporados aos organismos vegetais e animais. Os HPAs em amostras de solo encontram-se geralmente adsorvidos no material particulado constituinte (FURLAN JÚNIOR, 2006). Podem também ser facilmente encontrados em sedimentos marinhos ou de rios, apresentando concentrações altas ou baixas dependendo das propriedades da sedimentação e dos impactos sofridos por este ambiente (FURLAN JÚNIOR, 2006; QUEIROZ et al, 2009). As interações desses poluentes orgânicos (HPAs) com os sedimentos aquáticos estão diretamente relacionadas com a matéria orgânica presente no meio; que tem origem na mistura complexa de lipídeos, carboidratos, proteínas e outros componentes bioquímicos, produzidos por vários organismos vivos que habitaram determinada região. Por isso, determinar a concentração total de carbono é um indicador fundamental para descrever a abundância da matéria orgânica nos sedimentos, pois a concentração varia substancialmente de um lugar para outro dentro da mesma região pesquisada (MEYERS, 2003). Portanto, os processos que controlam os níveis de HPAs nos sedimentos são complexos. Mostrando que a natureza dos sedimentos, matéria orgânica e

granulometria influenciam na distribuição e concentração dos HPAs (MOSTAFA, et al, 2009).

Os HPAs com três ou mais anéis aromáticos possuem baixa solubilidade em água e baixa pressão de vapor, diminuindo à medida que aumenta a sua massa molar. Devido a estas propriedades, estes poluentes são encontrados no meio ambiente, principalmente em solos e sedimentos, algumas vezes em suspensão na água e no ar, podendo estar em todos os compartimentos ambientais (DONG e LEE, 2008).

O caráter lipofílico bem como outras propriedades físico-químicas e as características do compartimento ambiental são responsáveis pela persistência e acumulação de HPAs no meio ambiente. (FURLAN JÚNIOR, 2006; QUEIROZ et al, 2009). De acordo com Pereira Neto et al (2000) os HPAs carcinogênicos estudados neste trabalho são benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno e indeno[1,2,3-cd]pireno.

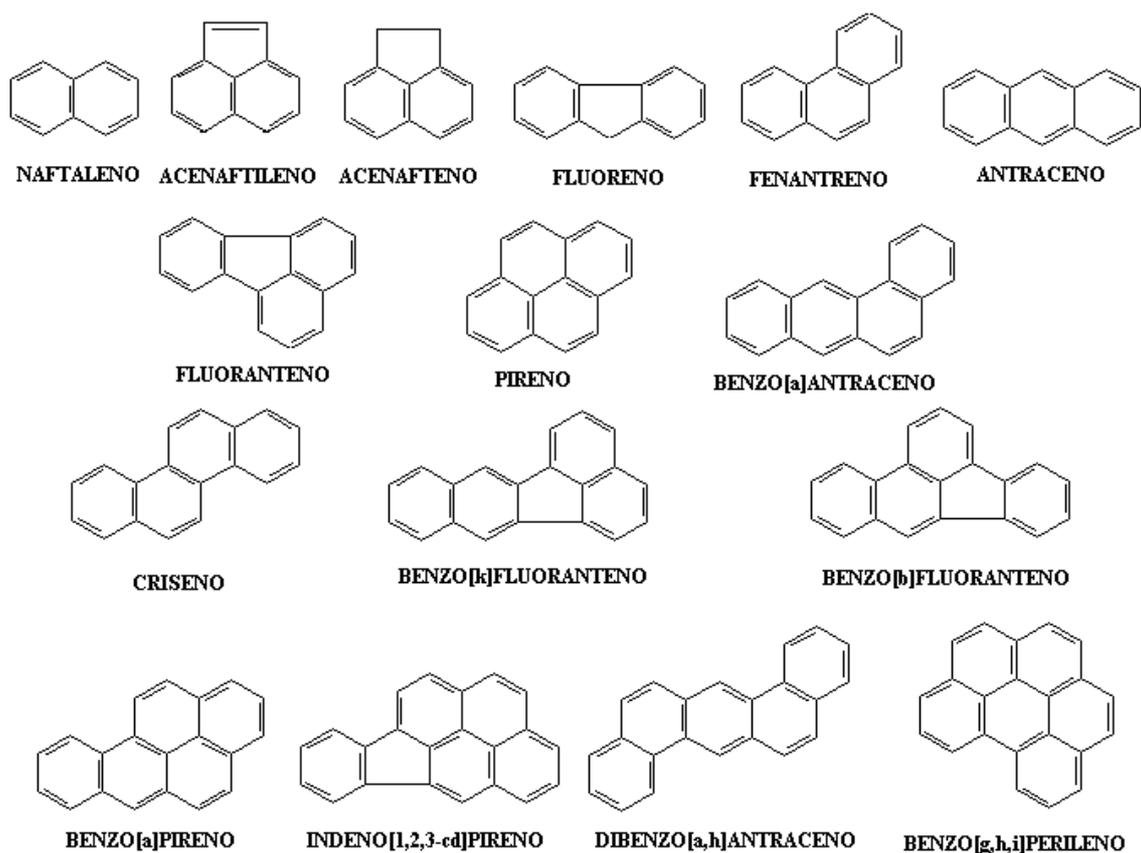


Figura 1: Estrutura e nomenclatura dos 16 HPAs prioritários

### 3.2.1 Propriedades físico-químicas dos HPAs

O destino e a migração de contaminantes no meio ambiente, tais como os HPAs, são controlados por diversos processos de natureza física, química e biológica, que estão relacionadas principalmente a solubilidade, volatilidade, coeficiente de partição octanol-água, constante de Henry e o coeficiente de partição sedimento-água. HPAs parcialmente dissolvidos em água tendem a se adsorver nos sólidos suspensos e nos sedimentos. Este fato é justificado pelo alto valor do coeficiente de partição destes compostos orgânicos (FROEHLER e MARTINS, 2008). O coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ) relaciona as propriedades hidrofílicas e lipofílicas de cada composto demonstrando a tendência de afinidade pela matriz rica em lipídios (MENEZES FILHO, 2010 e CABRERA et al, 2008). Com base nos valores de ( $\log K_{ow}$ ), os HPAs tendem a bioconcentrar no meio ambiente. Considera-se que uma substância que apresenta valores de  $\log K_{ow}$  maior que 3 podem apresentar acumulação (BARCELÓ e HENNION, 1997). Como observado na Tabela 1, todos os 16 HPAs prioritários apresentam  $\log K_{ow}$  maior que 3. Este valor aumenta com o número de anéis aromáticos da molécula. Portanto, quanto mais alto o valor de  $\log K_{ow}$  dos HPAs, maior será a sorção em solo diminuindo a sua mobilidade.

Tabela 1: Propriedades físico-químicas dos HPAs

Compostos	Nº de anéis	Fórmula	MM (g mol <sup>-1</sup> )	PF 25°C	PE 25°C	Pa 25°C	Sol.em água (g m <sup>-3</sup> 25°C)	Log Kow	Log Kd	K <sub>H</sub> (Atm m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> )
Naftaleno	2	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub>	128	80,5	218	10,4	31	3,37	1,7	4,5x10 <sup>-3</sup>
Acenaftileno	3	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub>	152	92	265	-	16,1	4,1	-	-
Acenafteno	3	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub>	154	96,2	277,5	0,3	3,8	4	-	2,4x10 <sup>-4</sup>
Fluoreno	3	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub>	166	116	295	0,09	1,9	4,18	-	7,4x10 <sup>-5</sup>
Fenantreno	3	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>	178	101	339	0,02	1,1	4,57	2,7	2,7x10 <sup>-4</sup>
Antraceno	3	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>	178	216,2	340	0,001	4,5 x10 <sup>-2</sup>	4,54	2,7	1,8x10 <sup>-6</sup>
Fluoranteno	4	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>	202	111	375	0,00123	2,6 x10 <sup>-1</sup>	5,22	3,7	2,0x10 <sup>-3</sup>
Pireno	4	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>	202	156	360	0,0006	1,3 x10 <sup>-1</sup>	5,18	3,7	1,3x10 <sup>-5</sup>
Benzo[a]antraceno	4	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub>	228	160	435	2,80x10 <sup>-5</sup>	1,1 x10 <sup>-2</sup>	5,91	4,2	1,2x10 <sup>-6</sup>
Criseno	4	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub>	228	255	448	5,70x10 <sup>-3</sup>	2,0 x10 <sup>-3</sup>	5,75	4,2	ne
Benzo[b]fluoranteno	5	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	252	167	-	6,0x10 <sup>-7</sup>	1,5 x10 <sup>-3</sup>	6,6	5,0	ne
Benzo[k]fluoranteno	5	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	252	-	-	-	7,6 x10 <sup>-4</sup>	6,8	4,9	2,7x10 <sup>-7</sup>
Benzo[a]pireno	5	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	252	175	495	7,0x10 <sup>-7</sup>	3,8 x10 <sup>-3</sup>	6,06	4,9	7,4x10 <sup>-5</sup>
Indeno[1,2,3-cd]pireno	6	C <sub>22</sub> H <sub>12</sub>	276	-	-	-	1,9 x10 <sup>-4</sup>	6,6	5,6	ne
Dibenzo[a,h]antraceno	5	C <sub>22</sub> H <sub>14</sub>	278	267	524	3,7x10 <sup>-10</sup>	6,0 x10 <sup>-4</sup>	6,75	5,6	2,0x10 <sup>-9</sup>
Benzo[g,h,i]perileno	6	C <sub>22</sub> H <sub>12</sub>	276	-	-	-	5,5 x10 <sup>-3</sup>	7,04	5,6	2,0x10 <sup>-7</sup>

Fonte: NEILSON (1998) e BISPO (2005)

MM- massa molar; PF- ponto de fusão; PE- ponto de ebulição; PV- pressão de vapor; K<sub>ow</sub>- coeficiente de partição octanol-água; K<sub>d</sub>- coeficiente de partição sedimento-água; K<sub>H</sub> - constante de Henry, ne- não encontrado.

O coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ), que é definido como a relação da concentração em equilíbrio de um contaminante orgânico na fase octanol em relação à concentração do contaminante na fase aquosa, é uma medida que pode ser usada para estimar a hidrofobicidade de compostos orgânicos em solo. É um parâmetro comumente utilizado na área ambiental. Por outro lado, a volatilidade destes compostos diminui com o aumento da massa molar e, conseqüentemente, HPAs de massas molares mais baixas são mais voláteis e apresentam maiores pressões de vapor que os mais pesados. O mesmo é observado com os valores da constante de Henry que diminui com o aumento da massa molar destas substâncias (PEREIRA NETTO et al, 2000). A constante da lei de Henry ( $H$  ou  $K_H$ ) é o coeficiente definido como a razão da concentração química no ar e a concentração na água em equilíbrio. Os valores de  $K_H$  são indicadores mais apropriados de sua volatilização que um simples valor de pressão de vapor porque eles representam coeficientes de partição. Considera-se que compostos com valores de  $K_H < 9,9 \times 10^{-10} \text{ atm m}^3 \text{ mol}^{-1}$  têm pouca tendência a volatilizar (BARCELÓ e HENNION, 1997). O coeficiente de partição sedimento/água ( $K_d$ ) é a razão entre a concentração de um composto adsorvido no sedimento e a concentração deste composto em solução aquosa em equilíbrio (MENICONI, 2007).

A solubilidade dos HPAs em água diminui com o aumento da massa molar, os quais apresentam ponto de fusão que variam de 80,5 a 267 °C e de ebulição que variam de 218 a 524 °C (Tabela 1). Com exceção do naftaleno, os demais HPAs estudados têm baixa pressão de vapor.

### **3.2.2 Identificação da fonte de HPA**

A contaminação do ambiente por hidrocarbonetos ocorre por meio de várias fontes (MENICONI, 2007), que podem ser divididas em três classes principais de acordo com suas características. Uma importante entrada de HPA no ambiente marinho é a partir de fontes pirogênicas, tais como: combustão de matéria orgânica, atividade industrial ou incêndios naturais. Estas fontes dão origem a uma mistura complexa de HPAs com grande abundância de HPA parental e uma baixa proporção de HPAs alquilados. O segundo grupo de contaminantes ambientais por HPA é constituído de hidrocarboneto do petróleo, devido ao transporte, a exploração off-shore ou ao derramamento de óleo natural. A composição dos hidrocarbonetos do petróleo é muito complexa e é caracterizado pela grande quantidade de HPAs alquilados. E, finalmente, alguns compostos podem ter origem

natural, ou diagenética (YIM et al, 2007; MOSTAFA, et al, 2009). Cada fonte (pirolítica, petrogênica e diagênica) dá origem a diferentes padrões de HPAs, e, por isso, é possível estimar os principais processos que geram estes compostos (MOSTAFA, et al, 2009). No entanto, há dificuldade na identificação de suas origens devido à possível coexistência de diversas fontes nos sedimentos, formando uma mistura complexa (SOCLO et al, 2000). Além disso, os hidrocarbonetos estão sujeitos a processos físicos, químicos e biológicos que alteram sua composição química, tornando um grande desafio a identificação de sua origem (MENICONI, 2007).

### 3.2.3 Razões diagnósticas dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Na literatura, as razões diagnósticas têm sido bastante utilizadas para identificar as fontes de HPAs em amostra ambientais (YUNKER et al, 2002; MAIOLI et al, 2010) (Tabela 2). Estas razões são baseadas nas diferenças de calor de formação dos isômeros, sempre em relação ao mais estável. Então, quanto maior esta diferença, melhor será a discriminação entre os HPAs de origem petrogênica e pirolítica. Os isômeros menos estáveis termodinamicamente, geralmente, são os formados por processos pirogênicos que são os processos de reação rápida, conhecidos como isômeros cinéticos. Já os isômeros mais estáveis são aqueles que levam bastante tempo para a sua formação, que são os de origem petrogênica (YUNKER et al, 2002).

Tabela 2: Razões dos HPAs e a origem da fonte de contaminação.

Razão	Faixa	Origem
Ant/(Ant + Fen)	razão < 0,10	Petrogênica
Ant/(Ant + Fen)	razão > 0,10	Pirolítica
Flt/(Flt + Pir)	razão < 0,40	Petrogênica
Flt/(Flt + Pir)	0,40 < razão < 0,50	Pirolítica (Combustão do petróleo)
Flt/(Flt + Pir)	razão > 0,50	Pirolítica (Combustão da matéria orgânica)
BaA/(BaA + Cri)	razão < 0,20	Petrogênica
BaA/(BaA + Cri)	0,20 < razão < 0,35	Mistura de fontes (petróleo ou combustão).
BaA/(BaA + Cri)	razão > 0,35	Pirolítica
InP/(InP + BghiP)	razão < 0,20	Derramamento de petróleo
InP/(InP + BghiP)	0,20 < razão < 0,50	Combustão de combustíveis fosseis
InP/(InP + BghiP)	razão > 0,50	Combustão da matéria orgânica
BMM/AMM	razão < 1	Pirolítica
BMM/AMM	razão > 1	Petrogênica

Fonte: Yunker et al, 2002 e Soclo et al, 2000

Ant- antraceno; Fen- fenantreno; Flt- fluoranteno; Pir- pireno; BaA- benzo[a]antraceno; Cri- criseno; InP- indeno[1,2,3-cd]pireno; BghiP- benzo[g,h,i]perileno; BMM- baixa massa molar; AMM- alta massa molar.

### 3.3 Métodos de extração

A preparação de amostras é uma etapa importante na análise, principalmente na determinação de analitos com baixas concentrações em matrizes ambientais complexas. (REZAEI et al, 2010). No entanto, a preparação das amostras e, especialmente, a extração são etapas críticas na análise de HPAs, porque estes compostos hidrofóbicos estão fortemente sorvidos no solo e sedimento, conseqüentemente a determinação é trabalhosa e em muitos casos, ocasiona erros na sua quantificação (BONILLA et al, 2009).

Na literatura é possível encontrar uma variedade de técnicas de extração para determinação de hidrocarbonetos em amostra de sedimento. Dentre as mais utilizadas estão a extração por Soxhlet, a extração por ultra-som, microondas, fluido supercrítico (OUKEBDANEA et al, 2010 e ITOH et al, 2008). PERRA et al (2011) utilizaram extração por ultra-som para a determinação dos 16 HPAs prioritários em sedimento, utilizando como solvente de extração diclorometano e n-hexano na proporção (1:1v/v). WANG et al (2010) utilizaram a extração por Soxhlet na determinação dos 16 HPAs, empregando como solvente de extração um mistura de diclorometano e acetona por um período que variou entre 16 e 18h. Ainda neste contexto, MORA et al (2010) utilizaram a extração por microondas para determinar tanto HPAs como os alquilados utilizando n-hexano e acetona como solvente de extração (9:1, v/v) e ZHENG et al (2011) utilizaram extração por fluido supercrítico na determinação de HPAs em amostra de sedimento. Alguns estudos compararam a eficiência destas técnicas na extração de HPAs em matrizes ambientais (WANG et al, 2007; ITOH et al, 2008 e OUKEBDANEA et al, 2010), buscando reduzir o tempo de extração, a quantidade de solvente de extração, bem como melhorar a precisão das recuperações dos analitos das amostras (WANG et al, 2007 e BONILLA et al, 2009). Já EMÍDIO e DÓREA (2010) comparam a extração ultra-som com a Soxhlet na determinação de 35 compostos da série dos n-alcenos (C<sub>8</sub>-C<sub>40</sub> e os isoprenóides pristano e fitano) em amostras de sedimento ambiental. Para estas metodologias houve a necessidade de uma etapa de limpeza devido à complexidade da matriz, tornando o processo mais demorado (SÀNCHEZ et AL, 2011).

Neste trabalho foram comparadas as técnicas de Soxhlet e ultra-som para avaliar a eficiência na extração dos 16 HPAs em amostras de sedimento.

### **3.3.1 Extração de HPAs por Soxhlet**

A extração de poluentes do solo é comumente realizada por métodos de extração líquido-sólido (QUINETE, 2005). Agitação mecânica, extração Soxhlet e extração por ultra-som são os métodos mais comumente utilizados para extração de HPAs em solos e sedimentos ambientais (SONG et al, 2002).

Para extrair poluentes orgânicos de polaridade variável de uma matriz que contém material orgânico é necessário usar solventes orgânicos ou misturas de solventes com polaridade variada (FURLAN JÚNIOR, 2006).

A extração em Soxhlet é o método recomendado pela US EPA para a extração de compostos orgânicos semi-voláteis e não voláteis de matrizes sólidas (US EPA, 1996). Apesar de alta eficiência, a desvantagem desta técnica está no tempo de extração muito longo e um gasto excessivo de solvente.

Na extração por Soxhlet pode-se utilizar um solvente ou uma combinação entre eles. Segundo Quinete (2005) normalmente os analitos extraídos devem possuir maior ponto de ebulição que o solvente de extração, assim são concentrados no balão, enquanto o solvente puro irá recircular. Desta forma, assegura-se que somente o solvente puro será utilizado para extrair os analitos da amostra de sedimento, no cartucho de celulose no extrator.

### **3.3.2 Extração de HPA por ultra-som**

As ondas sonoras, tais quais aquelas emitidas por equipamentos de ultra-som, são vibrações mecânicas em um sólido, líquido ou gás e são intrinsecamente diferentes das ondas eletromagnéticas. Enquanto as ondas de rádio, luz infravermelho, visível ou ultravioleta, raios-X, raios gama podem passar pelo vácuo, as ondas sonoras precisam de um meio material para se propagar, pois envolvem ciclos de expansão e compressão para viajar através de um meio. Em um líquido, o ciclo de expansão produz pressão negativa (LUQUE-GARCÍA e LUQUE de CASTRO, 2003; PRIEGO-CAPOTE e LUQUE de CASTRO, 2004).

A extração por ultra-som está relacionada aos efeitos provocados pelo fenômeno de cavitação que é crescimento e colapso de pequenas bolhas, que se formam no meio líquido, com energia suficiente para favorecer a extração de espécies químicas a partir de materiais sólidos, essas bolhas acentuam a interação entre o solvente e a superfície dos sólidos,

transferindo os analitos para o solvente de extração. A eficiência na extração é também favorecida pelo desempenho do solvente utilizado (KORN et al, 2003).

Vários estudos têm sido relatados sobre a eficiência do ultra-som para análise de poluentes orgânicos em solos e sedimentos. É uma extração eficiente quando comparado aos métodos de refluxo. O ultra-som apresenta várias vantagens que o tornam um método ideal para a análise de um grande número de amostras, que incluem alta eficiência de extração, redução de custos de equipamentos, facilidade de operação e capacidade de trabalhar com várias amostras simultaneamente (BANJOO e NELSON, 2005).

### **3.4 Validação de método analítico**

A validação do método analítico envolve um procedimento, no qual se mostra que o método fornece resultados esperados com credibilidade, precisão e exatidão adequadas (LANÇAS, 2004).

Os parâmetros analíticos normalmente encontrados para validação de métodos de extração são: seletividade; linearidade e faixa de trabalho; sensibilidade; precisão; exatidão (recuperação); robustez; limite de detecção e limite de quantificação (STAREK, 2011; RIBANI et al, 2004; INMETRO, 2010).

#### **3.4.1 Seletividade**

A seletividade corresponde à capacidade de um método instrumental de separação em determinar o analito de maneira inequívoca, na presença de outras substâncias susceptíveis de interferirem na determinação de componentes em uma amostra complexa (LANÇAS, 2004; RIBANI, 2004).

A seletividade é o primeiro passo no desenvolvimento e validação de um método instrumental de separação e deve ser reavaliada continuamente durante a validação e subsequente uso do método. A refutação contínua da seletividade deve acontecer, pois algumas amostras podem sofrer degradação, gerando compostos que não foram observados inicialmente e, que podem coeluir com a substância de interesse (RIBANI, 2004).

Uma amostra, de maneira geral, consiste dos analitos a serem medidos, da matriz e de outros componentes que podem ter algum efeito na medição, mas que não se quer quantificar. A especificidade e a seletividade estão relacionadas ao evento da detecção. Um método que produz resposta para apenas um analito é chamado específico. Um método que

produz respostas para vários analitos, mas que pode distinguir a resposta de um analito da de outros, é chamado seletivo. (INMETRO, 2003).

Em geral, uma forma simples de verificar a seletividade de um método cromatográfico é observar a presença de picos na região do tempo de retenção do analito de interesse injetando-se um branco obtido com a mesma matriz a ser analisada. Neste caso, devem-se empregar várias amostras, e a ausência de picos próximos ao tempo de retenção do analito de interesse deve ser observado. Entretanto, para matrizes complexas, somente esse critério poderá não ser suficiente para atestar a seletividade de um método (LANÇAS, 2004).

De acordo com RIBANI et al (2004), a seletividade pode ser obtida de várias maneiras, entre elas, estão: avaliar a seletividade comparando a matriz isenta da substância de interesse com a matriz fortificada com a solução padrão contendo os analitos de interesse, sendo que, nenhum interferente deve eluir no tempo de retenção dos analitos em estudo. Uma outra maneira é através da avaliação com detectores modernos (arranjo de diodos, espectrômetro de massas), que comparam os espectros do pico obtido na separação com o de um padrão. Se não for possível obter uma matriz isenta da substância de interesse, pode-se usar o método de adição de padrão. Neste caso, será necessária a construção de duas curvas analíticas, sendo que uma com adição de padrão, com os analitos de interesse, na amostra e outra sem a presença da matriz. Comparam-se então as duas curvas analíticas e caso elas sejam paralelas, pode-se dizer que não há interferência da matriz na determinação da substância de interesse, portanto o método é seletivo.

#### 3.4.2 Linearidade e curva analítica

A linearidade corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração dos analitos estudados, dentro de uma determinada faixa de aplicação (RIBANI et al, 2004).

A curva de calibração corresponde ao modelo matemático ( $y = ax + b$ ), estabelecendo uma relação entre a variável dependente ( $y$ ), que corresponde à resposta instrumental, relacionada com a área ou altura do pico cromatográfico, e a variável independente ( $x$ ) que está relacionada com as concentrações preparadas do padrão analítico da substância de interesse, sendo necessário elaborar uma curva de calibração, com no mínimo 5 a 6 pontos, para cada analito que se deseja determinar (LANÇAS, 2004 e CASSIANO et al, 2009).

### 3.4.3 Sensibilidade

A sensibilidade de um método indica a sua capacidade de discriminar, com uma fidelidade estabelecida, concentrações próximas de um analito. A sensibilidade pode ser determinada através do coeficiente angular do gráfico de calibração (LANÇAS, 2004). Se dois métodos têm igual precisão, o mais sensível é o que possui a curva de calibração com maior inclinação (LEITE, 2002).

### 3.4.4 Precisão

A precisão é a expressão da concordância entre vários resultados analíticos obtidos para uma mesma amostra. A precisão em validação de métodos é considerada em três níveis diferentes: repetibilidade; precisão intermediária; reprodutibilidade. Geralmente, é expressa como uma estimativa do desvio padrão (s) ou desvio padrão relativo (RSD), também conhecido como coeficiente de variação (CV%) (LANÇAS, 2004).

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (1)$$

$$\text{RSD}(\%) \text{ ou } \text{CV}(\%) = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad (2)$$

onde  $x_i$  é o valor individual de uma medição,  $n$  é o número de medições e  $\bar{x}$  é a média aritmética das determinações.

### 3.4.5 Recuperação

A recuperação avalia a eficiência do procedimento de extração e clean up dos analitos, quando são adicionados (fortificados) com soluções padrão de concentração conhecida à matriz (LANÇAS, 2004). Para avaliar a recuperação, deve-se utilizar concentrações em pelo menos três níveis: baixo, médio e alto, de acordo com a curva de calibração (CASSIANO et al, 2009 e INMETRO, 2010).

Para um branco da matriz, a recuperação é calculada com a equação (3)

$$\%R = \left( \frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100\% \quad (3)$$

Onde:

$C_1$  = concentração determinada na amostra adicionada,

$C_2$  = concentração determinada na amostra não adicionada,

$C_3$  = concentração adicionada.

#### 3.4.6 Robustez

A robustez de um método analítico mede a sensibilidade frente a pequenas variações que podem ocorrer durante as análises de rotina. Os testes de robustez são de fundamental importância para que os analistas conheçam quais fatores devem ser estritamente controlados durante a execução de um método. Diz-se que um método é robusto quando produzirem resultados dentro dos limites aceitáveis de seletividade, exatidão e precisão. A robustez de um método cromatográfico é avaliada, por exemplo, pela variação de parâmetros como a concentração do solvente orgânico, pH, programação da temperatura, natureza do gás de arraste em GC, bem como o tempo de extração, agitação, volume de solvente, etc. (CASSIANO et al, 2009 e RIBANI et al, 2004).

Segundo Ribani et al. (2004), em trabalhos nos quais há mudanças de fornecedores, marcas ou equipamentos ao longo do desenvolvimento e validação das metodologias, sem alteração significativa nos resultados, pode-se dizer que o método possui uma robustez intrínseca, pois manteve sua resposta em meio a mudanças de ambiente de análise.

#### 3.4.7 Limites de detecção e limites de quantificação

O limite de detecção corresponde a menor concentração de um analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, por um procedimento analítico. Já o limite de quantificação corresponde a menor concentração de um analito que pode ser medido com exatidão através de determinado método (RIBANI et al, 2004 e LANÇAS, 2004).

## **4. PARTE EXPERIMENTAL**

### **4.1 Materiais**

Extrator de Soxhlet, manta aquecedora, Béquer (50 e 100 mL), balão volumétrico (1; 2; 5 e 10 mL), balão de destilação de fundo redondo (50 e 250 mL), proveta (10 e 100 mL), tubo de ensaio com tampa, vial (2; 5 e 10 mL), pipeta Pasteur, micropipetas de 10-25 µL (Drummond Microdispenser, USA), micropipeta 50-100µL (Nichiryo model 800), coluna de fracionamento, vidro de relógio, bastão de vidro, espátula, pinça, cadinho, pistilo, papel filtro, centrífuga, mufla, evaporador rotatório (Fisatom 802D).

### **4.2 Equipamentos**

Cromatógrafo acoplado ao espectrômetro de massas marca Shimadzu (Quioto, Japão), modelo GCMS-QP2010 plus, com coluna capilar DB-5MS (5% fenil-95% polidimetilsiloxano; 30 m x 0,25 mm ID, 0,25 µm de espessura de filme; J&W Scientific, CA, USA), balança analítica (Sartorius-TE 214S), banho ultrassônico modelo ultracleaner 1400 (Unique), estufa TE-393/1 (Tecnal), liofilizador L101(Liotop), ultra-freezer UFR30(Liotop).

### **4.3 Limpeza do material**

As vidrarias e os materiais utilizados no estudo foram lavados e descontaminados antes do uso, conforme protocolo laboratorial, como segue;

- a) Enxaguar em água corrente por três vezes;
- b) Deixar a vidraria em solução de detergente Extran a 2% por 24 horas;
- c) Enxaguar em água corrente, por três vezes;
- d) Enxaguar com água destilada;
- e) Enxaguar com acetona, verificar se não há nenhum resíduo de água;
- f) Enxaguar com diclorometano;
- g) Secar ao ar as vidrarias graduadas e as não graduadas secar em estufa;
- h) Guardar todo o material em local adequado, com as extremidades envolvidas com papel alumínio.

#### 4.4 Reagentes e padrões analíticos dos HPAs

Diclorometano (Mallinckrodt Baker, USA) de grau pesticida, n-hexano (Tedia, USA) de grau HPLC, Sulfato de sódio anidro (Qhemis, Brasil), sílica-gel 60 (70–230 mesh; Silicycle, Canada), alumina neutra (70-270 mesh; Sorbent Technologies, USA). Os padrões certificados dos HPAs utilizados foram: padrão mix 16 HPAs (AccuStandard, USA) na concentração de 2000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  em diclorometano), padrão interno mix 5 compostos (AccuStandard, USA) na concentração de 4000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  em diclorometano) e Surrogate (AccuStandard, USA) na concentração de 2000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  em diclorometano) (Tabela 3)

Tabela 3: Lista dos HPAs, padrões interno para a quantificação, padrão de recuperação (P-terfenil  $\text{d}_{14}$ ) e os íons de quantificação.

Compostos	Abreviaturas	Íons de quantificação (m/z)	Íons de confirmação (m/z)	Padão interno (PI)
Naftaleno	Naf	128	129, 127	Naftaleno-d8
Acenaftileno	Aci	152	51, 153	Acenafteno-d <sub>10</sub>
Acenafteno	Ace	154	153, 152	Acenafteno-d <sub>10</sub>
Fluoreno	Fl	166	165, 167	Acenafteno-d <sub>10</sub>
Fenantreno	Fen	178	179, 176	Fenantreno-d <sub>10</sub>
Antraceno	Ant	178	179, 176	Fenantreno-d <sub>10</sub>
Fluoranteno	Flr	202	101, 203	Fenantreno-d <sub>10</sub>
Pireno	Pir	202	200, 203	Criseno-d <sub>12</sub>
P-terfenil-d <sub>14</sub> (surrogate)		244	-	Criseno-d <sub>12</sub>
Benzo[a]antraceno	B[a]A	228	229, 226	Criseno-d <sub>12</sub>
Criseno	Cri	228	229, 226	Criseno-d <sub>12</sub>
Benzo[b]fluoranteno	B[b]F	252	253, 125	Perileno-d <sub>12</sub>
Benzo[k]fluoranteno	B[k]F	252	253, 125	Perileno-d <sub>12</sub>
Benzo[a]pireno	B[a]P	252	253, 125	Perileno-d <sub>12</sub>
Indeno[1,2,3-cd]pireno	In[cd]P	276	138, 227	Perileno-d <sub>12</sub>
Dibenzo[a,h]antraceno	Db[ah]A	278	139, 279	Perileno-d <sub>12</sub>
Benzo[g,h,i]perileno	B[ghi]P	276	138, 277	Perileno-d <sub>12</sub>

Fonte: US EPA- método 8270D (1998)

#### 4.5 Procedimento de ativação do sulfato de sódio anidro, alumina neutra e sílica gel.

Os adsorventes foram calcinados em mufla a 400°C por 4 horas e guardados em recipiente de vidro com tampa rosqueável e acondicionados em dessecador. No momento da montagem das colunas *clean up*, estas substâncias foram desativadas da seguinte forma:

- ✓ Alumina neutra a 2%: adicionar 2 mL de água ultra-pura em 100 g de alumina neutra em balão e levar ao evaporador rotatório por 10 min;
- ✓ Sílica gel 5%: adicionar 5 mL de água ultra-pura em 100 g de sílica gel em balão e levar ao evaporador rotatório por 10 min;

#### 4.6 Área de estudo

A área escolhida para amostragem foi a região no entorno da cidade de Aracaju formada ao norte pelo rio do Sal, ao sul pelo rio Poxim e ao leste pelo rio Sergipe (Figura 2). A bacia do rio Sergipe é a que possui maior percentual de estabelecimentos industriais cadastrados, correspondendo a 47% do total do Estado (ALVES, 2006). Os municípios que registram a maior concentração de estabelecimentos industriais são Nossa Senhora do Socorro, Itabaiana e Aracaju. Existem indústrias de alumínio, de mármore e granitos, de ladrilhos, de artefatos de cimento, de artefatos de metal, de móveis e artefatos de madeira, têxteis, agroindústrias, de fertilizantes, de alimentos, de artefatos de gesso, químicas e farmacêuticas, de plásticos, de laticínios, de confecções, de colchões, de bebidas, de sabão, de velas, de cerâmicas, de construção de navios, frigoríficos, oficinas e metalúrgicas (ALVES, 2006).

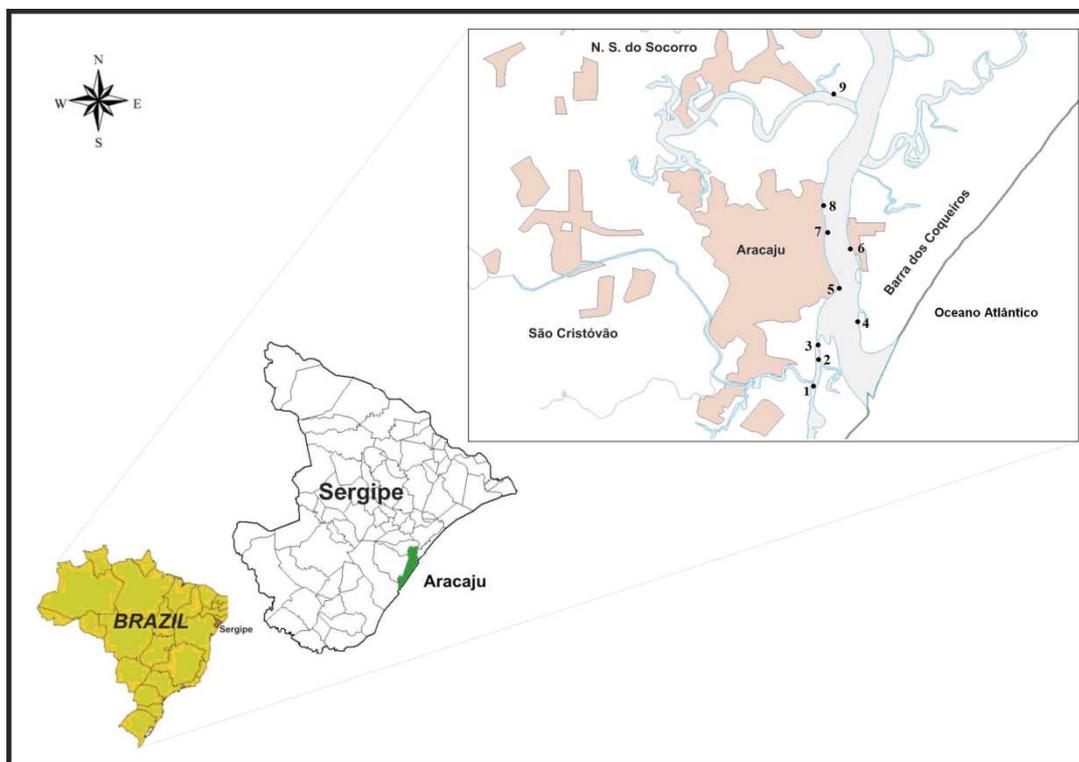


Figura 2: Localização dos pontos de amostragem no estuário do rio Sergipe (adaptado de PASSOS et al, 2011).

Os problemas ambientais do rio Sergipe vêm se agravando com o crescente aumento populacional das cidades localizadas em suas margens e no entorno de seus afluentes, principalmente a cidade de Aracaju e Nossa Senhora do Socorro (ALVES, 2006), com 570.937 e 160.829 habitantes, respectivamente (IBGE, 2010), como também o aumento da frota de veículos em Aracaju, passando de 50 mil em 2000, para 145 mil em 2011, segundo a Secretaria Municipal de Transporte Terrestre (SMTT). Esse aumento na frota de veículos gera uma preocupação com relação ao meio ambiente, devido à poluição ocasionada pelos combustíveis fósseis. Estes fatores exercem uma pressão sobre o ecossistema, provocando perda de áreas naturais pelo desmatamento e aterro dos manguezais, além da extração de madeira, construção de habitações, poluição pelo aumento do volume do esgoto sanitário descartado no ambiente e do lixo urbano, pesca predatória e ampliação do número de indústrias e empreendimentos agrícolas implantados na região.

O rio Sergipe nasce na Serra Negra, que faz divisa entre os estados da Bahia e de Sergipe, com uma extensão de 210 km desde sua nascente, até desaguar no Oceano Atlântico entre os municípios de Aracaju e Barra dos Coqueiros. A bacia hidrográfica do Rio Sergipe é constituída por 26 municípios, entre os quais oito possuem a totalidade de suas terras nela inseridas e os demais estão parcialmente inseridos (ALVES, 2006).

#### **4.7 Coleta das amostras de sedimentos**

As amostras de sedimento foram coletadas em nove pontos no estuário do rio Sergipe, no Estado de Sergipe, em julho de 2010 e março de 2011 (duas campanhas: inverno e verão). As amostras de sedimento superficial foram coletadas com um amostrador tipo draga (Figura 3) e acondicionadas em recipiente de vidro com tampa rosqueável recoberta com papel alumínio. A cada coleta, o amostrador foi lavado com a água do local de amostragem. Todas as amostras foram transportadas para o laboratório em caixa térmica refrigerada e guardadas em geladeira. No laboratório as amostras de sedimentos passaram pelo processo de liofilização por um período de 24h e em seguida homogêneas com gral e pistilo e armazenados em frasco com tampa rosqueável recoberta com papel alumínio e guardados na geladeira a 4°C até o momento da extração.



Figura 3: Amostrador tipo draga utilizado na coleta de amostra de sedimento superficial

Os pontos de coleta estão localizados na área urbana de Aracaju, que estão próximos a ocupações residenciais, comerciais, shopping e terminais de transporte hidroviário e rodoviário. Nestes locais foram observados a presença de lixos domésticos e comerciais, esgoto, além do tráfego intenso de veículos que circulam próximo a estes pontos de amostragem (Tabela 4).

Tabela 4: Localização dos nove pontos de amostragem

Pontos de Amostragem	Localização	Coordenadas	
		Latitude S	Longitude O
01	Parque dos Cajueiros	10°57'33,94''	37°3'12,68''
02	Shopping Rio Mar	10°56'49,98''	37°2'53,11''
03	Ponte da Coroa do Meio	10°56'29,97''	37°2'51,93''
04	Terminal Hidroviário da Atalaia Nova	10°56'24,52''	37°2'08,36''
05	Iate Clube	10°55'34,43''	37°2'33,88''
06	Barra dos Coqueiros	10°54'26,81''	37°2'21,46''
07	Porto (atracadouro) do mercado de peixes	10°54'19,41''	37°2'51,66''
08	Orlinha Bairro Industrial	10°53'31,15''	37°2'54,29''
09	Rio do Sal (próximo da ponte nova)	10°51'42,59''	37°3'10,87''

As amostras foram coletadas no médio e baixo estuário, em que há maior influência oceânica e onde normalmente os processos de sedimentação são mais efetivos (Anexo I).

#### 4.8 Procedimento de extração de HPAs das amostras de sedimento por Soxhlet

Foram pesados exatamente 10 g de amostra liofilizada diretamente no cartucho, no qual foi adicionado o cobre metálico ativado (HCl 10%) para retirada de enxofre e transferido para o extrator. Em seguida, foram adicionados o mix de HPA e o surrogate, deixando a amostra em repouso por 30 min. Posteriormente, foram adicionados 150 mL de diclorometano no balão. Em seguida, foi conectado o extrator ao condensador (Figura 4). O processo de extração permaneceu por 4h, a partir do primeiro ciclo. A temperatura do sistema foi controlada para que o solvente de extração diclorometano não entrasse em ebulição. Após o término do processo de extração, foi levado ao evaporador rotatório, e concentrado até aproximadamente 2 mL (70 rpm a 40°C). Fez-se a troca do solvente mediante a adição de 10 mL de n-hexano ao balão, contendo o extrato e novamente submetido ao evaporador rotatório (70 rpm a 45°C) até um volume aproximado de 2 mL.



Figura 4: Ilustração do procedimento de extração de HPAs de sedimento utilizando a técnica Soxhlet

#### 4.9 Etapa de fracionamento e *clean up*

A etapa de limpeza é importante, pois a presença de lipídios e impurezas podem reduzir significativamente o desempenho do GC-MS devido ao acúmulo de resíduos tanto no injetor como na fonte de íons (WANG et al, 2010). O empacotamento da coluna foi feito sem a presença de bolhas e o fluxo na coluna permaneceu constante (Figura 5). A montagem da coluna e a limpeza dos extratos são descritos abaixo:

1. Lavar a coluna de vidro com diclorometano;
2. Adicionar lã de vidro na base da coluna e lavar com diclorometano (torneira aberta);
3. Adicionar sulfato de sódio (nivelar a base da coluna);
4. Adicionar diclorometano aproximadamente 5 cm (torneira fechada);
5. Adicionar lentamente 10 g de alumina neutra desativada 2% na coluna (torneira fechada), de maneira que não haja formação de bolhas ou rachaduras;
6. Misturar 20g de sílica gel desativada 5% com diclorometano em um béquer (formação de uma espécie de gel) e lentamente adicionar na coluna com a torneira aberta para auxiliar na compactação;
7. Adicionar sulfato de sódio anidro, e escoar o excesso de solvente até atingir o nível do sulfato de sódio.

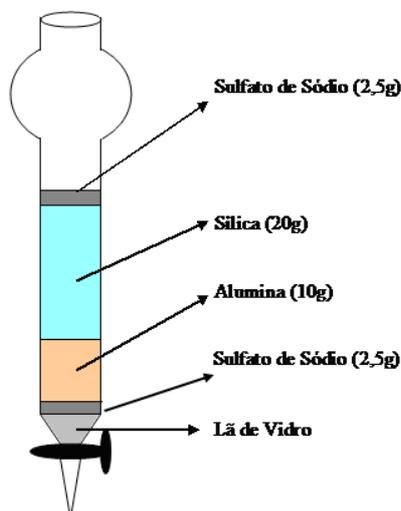


Figura 5: Montagem da coluna padrão *clean up*

#### **Troca de solvente da coluna de *clean up*:**

1. Adicionar lentamente 50 mL de n-hexano com auxílio de um bastão;
2. Escoar lentamente o solvente até o nível do sulfato de sódio.

#### **Fracionamento e Limpeza do Extrato:**

1. Transferir o extrato orgânico (1,0 mL) para coluna de *clean up*, utilizando pipeta Pasteur (lavar 3x com n-hexano);
2. Escoar o solvente até o nível do sulfato de sódio;
3. Eluir lentamente com 50 mL de n-hexano (fluxo lento e contínuo). F1: fração dos n-alcenos (saturados);

4. Escoar o solvente até o nível do sulfato de sódio; fechar a torneira e trocar o balão coletor;
5. Lavar o balão que continha o extrato com uma mistura de diclorometano/n-hexano (1:1) (3x);
6. Transferir para a coluna até próximo ao sulfato de sódio;
7. Eluir com 200 mL de solução diclorometano/n-hexano (1:1). F2: fração dos HPAs (aromáticos);
8. Concentrar as frações separadamente em evaporador rotatório (50°C, 60 rpm e 300 KPa para F1 e 45°C; 60 rpm e 300 KPa para F2) até um volume de cerca 1 mL;
9. Transferir quantitativamente as frações (separadamente) para balão volumétrico de 1mL, lavando o balão (2x com diclorometano), se necessário reduzir para 1mL em suave corrente de N<sub>2</sub>.
10. Adicionar o padrão interno

#### **4.10 Montagem da coluna *clean up* otimizada**

A coluna padrão é bastante eficiente quando utilizada para limpeza e fracionamento dos extratos proveniente de amostras que tem histórico de contaminação. Para este trabalho foi necessário a construção de uma coluna *clean up* que tivesse eficiência semelhante à coluna padrão, porém, com baixo consumo de adsorvente, solvente e com tempo reduzido, tanto na montagem da coluna como também na eluição dos analitos.

A coluna foi empacotada com 0,5 g de sulfato de sódio anidro, 1,0 g de alumina neutra e 2,0 g de sílica gel, utilizando diclorometano. Em seguida, foi adicionado 10 mL de n-hexano, troca do solvente da coluna. Para o procedimento de otimização foram adicionados 2 mL de n-hexano em um balão e 50 µL de 1000 ng mL<sup>-1</sup> do mix de HPAs e surrogate. A fração F1(alifático) foi eluída com 8 mL e a fração F2 (aromático) com cinco volumes de 10 mL de uma mistura de diclorometano/n-hexano (1:1, v/v). A fração foi concentrada em evaporador rotatório a 45°C, e o excesso de solvente foi reduzido com corrente de nitrogênio, e foi adicionado 10 µL de 5 µg mL<sup>-1</sup> de padrão interno e uma alíquota de 1µL foi injetado no GC-MS.

#### 4.11 Procedimento de extração de HPAs das amostras de sedimento por ultra – som.

Foram pesados exatamente 4 g de amostra liofilizada diretamente no tubo de ensaio, no qual foi adicionado o cobre metálico ativado (HCl 10%) para retirada de enxofre e transferido para o extrator. Em seguida, foram adicionados o mix de HPA e o surrogate, deixando a amostra em repouso por 30 min. Posteriormente, foram adicionados 6,0 mL de diclorometano no tubo de ensaio. A boca do tubo de ensaio foi coberta com papel alumínio e vedada com uma tampa. Em seguida, o tubo foi agitado para homogeneizar o sedimento e o solvente de extração. As amostras foram levadas ao ultra-som por 30 min (Figura 6). Após a extração, as amostras foram centrifugadas por 5 min e o sobrenadante foi coletado em um balão de 50 mL de fundo redondo com boca esmerilhada. O procedimento de extração foi repetido mais duas vezes, perfazendo um volume total de 18 mL de extrato. O extrato obtido foi levado ao evaporador rotativo e concentrado até aproximadamente 2 mL (70 rpm a 40°C). Feito isto, foram adicionados 10 mL de n-hexano ao balão e foi concentrado (70 rpm a 45°C) até aproximadamente 2 mL (troca de solvente).



Figura 6: Banho de ultra-som utilizado na extração dos HPAs em amostra de sedimento

As etapas de empacotamento e fracionamento da coluna é semelhante a citada no item 4.8, mudando apenas as quantidades de adsorventes e solventes. Ou seja, 1,0 g de alumina neutra e 2,0 g de sílica gel. Para a eluição dos analitos foram utilizados 8,0 mL de n-hexano e 20 mL de diclorometano/n-hexano (1:1, v/v).

#### 4.12 Condições cromatográficas de análise

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas, da Shimadzu, GC-MS-QP2010 plus. As condições cromatográficas foram: temperatura do injetor (300 °C), interface (300 °C). O gás de arraste foi Hélio (99,995%) com vazão na coluna de 1,2 mL min<sup>-1</sup>. O injetor split/splitless foi utilizado no modo sem divisão de fluxo (splitless) por 1 min. A temperatura de programação da coluna iniciou com 35°C permanecendo por 1 min, aumentando para 130°C com taxa de aquecimento de 45°C min<sup>-1</sup>, em seguida para 180°C a uma taxa de 10°C min<sup>-1</sup>, a temperatura passou para 240°C com uma taxa de 6°C min<sup>-1</sup> e finalmente chegando a uma temperatura de 310°C com uma taxa de 10°C min<sup>-1</sup> e permanecendo por 5 min. O tempo total de análise cromatográfica foi de 30,11min. O volume de injeção das soluções padrão e dos extratos foi de 1 µL, por meio de um sistema de injeção automática. O espectrômetro de massas foi operado no modo SIM (monitoramento de íons selecionados) com ionização por impacto de elétrons a 70 eV.

Antes de qualquer injeção no sistema cromatográfico, foi realizado uma análise do branco do solvente nas mesmas condições cromatográficas de análises, para avaliar a presença de interferente nos tempos de retenção dos HPAs.

A identificação dos HPAs nas amostras de sedimento foi determinada pelo tempo de retenção, e sua identificação foi confirmada pelos espectros de massas obtidos no espectrômetro por meio de um íon mais intenso e mais dois íons de confirmação. A quantificação dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos foi baseada na técnica de padronização interna, utilizando como padrão interno uma mistura de HPAs deuterados (vide tabela 3).

#### 4.13 Validação

Para validação do método, foram avaliados os seguintes parâmetros: de seletividade, confiabilidade, sensibilidade, rapidez no preparo e adaptação, baixo custo, precisão, exatidão, recuperação, robustez e limites de detecção e quantificação. Por fim, fizeram-se ensaios de recuperação e a análise de amostras coletadas no baixo e médio estuário do rio Sergipe, utilizando as condições otimizadas do método analítico.

#### 4.13.1 Seletividade

A seletividade foi determinada por meio da análise de dois grupos de amostras, um com a matriz e outro sem, ambos os grupos com a concentração do analito idêntica em cada nível de concentração de interesse. O processo de fortificação do sulfato de sódio anidro calcinado e da amostra de sedimento foi feito em sete replicatas (Tabelas 5 e 6).

O teste F foi utilizado para verificar se as variâncias das amostras podem ser consideradas iguais, calculando-se:

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad (4)$$

onde  $s_1^2$  e  $s_2^2$  são as variâncias de cada amostra de sedimento e sulfato de sódio, com a maior variância no numerador. Ao mesmo tempo, obtém-se o valor de  $F_{\text{tabelado}}$ , com  $(n_1-1)$  graus de liberdade no numerador e  $(n_2-1)$  graus de liberdade no denominador; usualmente, adota-se um nível de confiança de 95%. Se o teste F não for significativo, isto é, se  $F_{\text{calculado}}$  for menor que o  $F_{\text{tabelado}}$ , a matriz não tem um efeito importante sobre a precisão do método na faixa de concentração em estudo (INMETRO, 2003).

Tabela 5: Avaliação do branco da amostra para o teste de seletividade.

Tubos	Amostra	Massa (g)	Quantidade mix HPAs	Quantidade Padrão interno
01	Branco do sulfato de sódio anidro	4	-	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>
02	Sulfato de sódio anidro	4	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>
03	Sulfato de sódio anidro	4	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>
04	Sulfato de sódio anidro	4	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>
05	Sulfato de sódio anidro	4	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>
06	Sulfato de sódio anidro	4	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>
07	Sulfato de sódio anidro	4	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>
08	Sulfato de sódio anidro	4	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>

Tabela 6: Avaliação da amostra de sedimento para o teste de seletividade

Tubos	Amostra	Massa (g)	Quantidade mix HPAs	Quantidade Padrão interno
01	Branco da amostra de sedimento	4	-	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>
02	Amostra de sedimento	4	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>
03	Amostra de sedimento	4	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>
04	Amostra de sedimento	4	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>
05	Amostra de sedimento	4	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>
06	Amostra de sedimento	4	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>
07	Amostra de sedimento	4	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>
08	Amostra de sedimento	4	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>	50 µL 1000ng mL <sup>-1</sup>

#### 4.13.2 Linearidade

As soluções intermediárias foram preparadas por diluição sucessiva dos padrões certificados em n-hexano e guardadas em frascos sob refrigeração. A partir destas, foram preparadas as soluções de trabalho (Tabelas 7 e 8).

Tabela 7 - Preparo das soluções-padrão intermediárias

<b>Padrão certificado</b>	<b>Concentração inicial (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>	<b>Volume inicial (<math>\mu\text{L}</math>)</b>	<b>Solução intermediária (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>	<b>Volume final (<math>\mu\text{L}</math>)</b>
HPA MIX	2000	50	10	10000
Padrão Surrogate	2000	50	10	10000
Padrão Interno	2000	50	10	10000

Tabela 8 - Preparo das soluções-padrão de trabalho

<b>Soluções intermediárias</b>	<b>Concentração inicial (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>	<b>Volume inicial (<math>\mu\text{L}</math>)</b>	<b>Concentração das soluções de trabalho (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>	<b>Volume final (<math>\mu\text{L}</math>)</b>
HPA mix	10	100	0,50	2000
Padrão Surrogate	10	100	0,50	2000
Padrão Interno	10	100	0,50	2000

As soluções de trabalho foram utilizadas para obter as curvas analíticas, bem como nos ensaios de fortificação (Tabela 9).

Tabela 9 – Construção da curva analítica

<b>Ponto da curva</b>	<b>Concentração final (<math>\text{ng mL}^{-1}</math>)</b>	<b>Volume HPA mix (<math>\mu\text{L}</math>)</b>	<b>Conc. HPA mix (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>	<b>Volume surrogate (<math>\mu\text{L}</math>)</b>	<b>Conc. surrogate (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>	<b>Volume PI (<math>\mu\text{L}</math>)</b>	<b>Conc. PI (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>	<b>Volume final (<math>\mu\text{L}</math>)</b>
1	5	10,0	0,5	10,0	0,5	100	0,5	1000,0
2	10	20,0	0,5	20,0	0,5	100	0,5	1000,0
3	25	50,0	0,5	50,0	0,5	100	0,5	1000,0
4	50	100,0	0,5	100,0	0,5	100	0,5	1000,0
5	100	10,0	10,0	10,0	10,0	100	0,5	1000,0
6	250	25,0	10,0	25,0	10,0	100	0,5	1000,0
7	500	50,0	10,0	50,0	10,0	100	0,5	1000,0
8	750	75,0	10,0	75,0	10,0	100	0,5	1000,0
9	1000	100,0	10,0	100,0	10,0	100	0,5	1000,0

As soluções padrão estoque dos HPAs na concentração de  $2000 \mu\text{g mL}^{-1}$  foram obtidas individualmente em diclorometano e armazenadas em freezer a  $4^{\circ}\text{C}$  (as soluções padrão foram utilizadas durante 1 mês). A partir da diluição das soluções padrão estoque, foram preparadas as soluções intermediárias na concentração de  $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Da solução intermediária foram preparadas as soluções de trabalho com concentrações de  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  e  $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ , as quais foram utilizadas para a obtenção das curvas analíticas de baixa e alta concentração, variando de 5 a  $1000 \text{ ng mL}^{-1}$ , cinco pontos em cada curva (Figura 7). Para a primeira campanha (inverno) foram construídas duas curvas separadamente para garantir a linearidade nas faixas de concentração. Para a quantificação das amostras na segunda campanha (verão), foi utilizada apenas uma curva analítica variando de 5 a  $250 \text{ ng mL}^{-1}$ . A linearidade foi determinada pelos coeficientes de determinação das curvas analíticas dos 16 HPAs estudados.

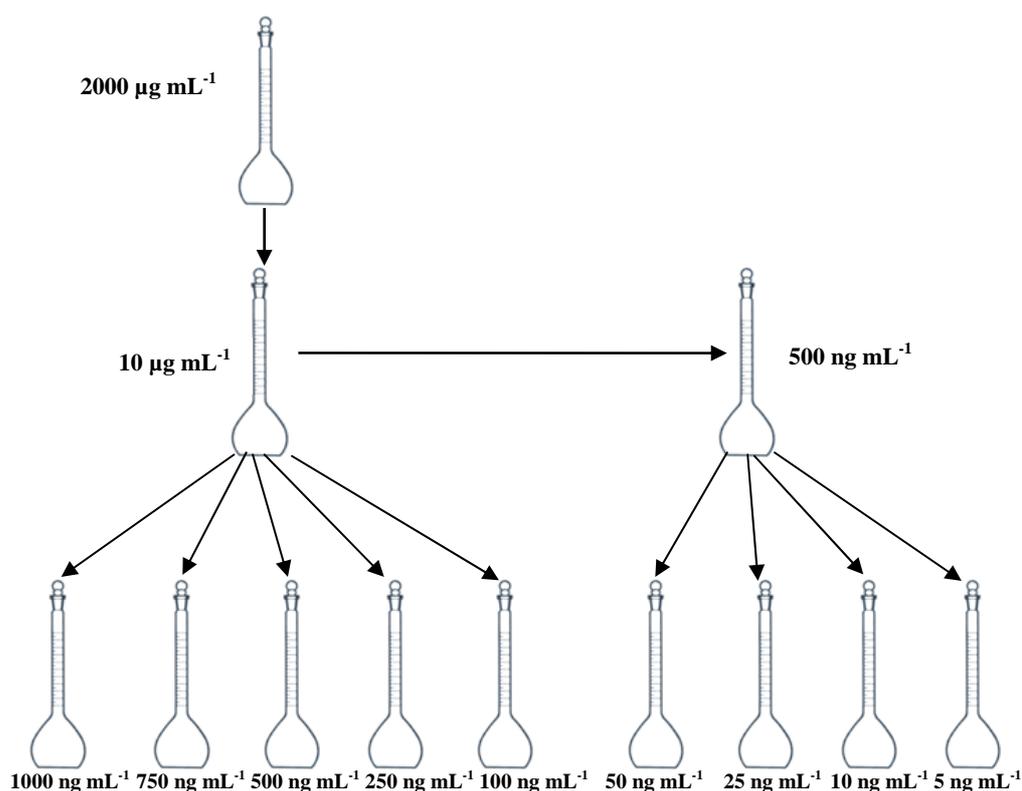


Figura 7. Procedimento de construção das curvas analíticas.

### 4.13.3 Precisão

A precisão do método foi realizada com o estudo da repetibilidade (precisão intermediária). Foram realizadas 6 extrações com cada técnica, Soxhlet e ultra-som, em dois níveis de concentração (12,5 ng g<sup>-1</sup> e 62,5 ng g<sup>-1</sup>). O objetivo destas duas concentrações é avaliar como o equipamento responde a valores altos e baixos de concentração em dias diferentes. A precisão intermediária de cada composto presente nas amostras de sedimento fortificado foi avaliada pelo valor do desvio padrão relativo (RSD%).

### 4.13.4 Recuperação

A recuperação (%R) foi determinada pela adição do mix de HPA em amostra de sedimento coletada no estuário do rio Sergipe. O procedimento de fortificação foi efetuado em dois diferentes níveis de concentração. As análises foram realizadas em triplicata, utilizando os dois métodos de extração.

#### 4.13.4.1 Soxhlet

O estudo da recuperação foi feito em triplicata com dois níveis de fortificação (12,5 e 62,5 ng g<sup>-1</sup>), em dias alternados, com o intuito de verificar a precisão dos dados obtidos pelo cromatógrafo. Por não dispor de material de referência certificado ou amostra isenta de HPAs, foi realizada uma extração com uma amostra de sedimento não fortificada. O extrato obtido foi fortificado nos mesmos níveis de concentração, momentos antes da injeção. Para calcular a eficiência da recuperação, foi utilizada a equação citada por KRUIVE et al (2008) (Equação 5). No numerador está a razão entre a área do analito fortificado pré extração pela área do padrão interno (1) correspondente e no denominador está a razão do analito fortificado após a extração e o padrão interno (2) correspondente. O extrato fortificado após a extração é considerado cem por cento, pois a sua fortificação foi feita no momento da injeção no cromatógrafo.

$$\%R = \frac{\frac{\text{Área}_{\text{(analito fortificado pré extração)}}}{\text{Área}_{\text{(padrão interno 1)}}}}{\frac{\text{Área}_{\text{(analito fortificado após a extração)}}}{\text{Área}_{\text{(padrão interno 2)}}}} \times 100\% \quad (5)$$

A análise da eficiência da recuperação foi realizada para avaliar se os resultados estão dentro da faixa aceita pelos órgãos ambientais, que varia de 70 a 120% e RSD < 20% (RIBANI et al, 2004). A escolha do método foi baseada no estudo da recuperação, viabilidade financeira e no tempo de execução do procedimento (Tabela 10).

Tabela 10: Massa de sedimento, concentração do mix de HPA, surrogate e padrão interno utilizados nos testes de recuperação e precisão.

Amostra	Dia para análise	Massa (g)	Fortificação mix HPAs (ng g <sup>-1</sup> )	Fortificação surrogate (ng g <sup>-1</sup> )	Concentração Padrão interno (ng mL <sup>-1</sup> )
Branco do sedimento	1	10	-	12,5	50
Sedimento fortificado	1	10	12,5	12,5	50
Sedimento fortificado	1	10	12,5	12,5	50
Sedimento fortificado	1	10	62,5	62,5	50
Sedimento fortificado	2	10	62,5	62,5	50
Sedimento fortificado	2	10	62,5	62,5	50
Sedimento fortificado	2	10	12,5	12,5	50
Extrato fortificado	3	10	12,5	12,5	50
Extrato fortificado	3	10	62,5	62,5	50

#### 4.13.4.2 Ultra-som

O estudo da recuperação foi feito em triplicata com dois níveis de fortificação (12,5 e 62,5 ng g<sup>-1</sup>), em dias alternados, com o intuito de verificar a precisão dos dados obtidos pelo cromatógrafo (Tabela 11). Para o cálculo da recuperação foi utilizado o mesmo procedimento descrito no item 4.13.4.1.

Tabela 11: Massa de sedimento, concentração do mix de HPA, surrogate e padrão interno utilizado nos testes de recuperação e precisão.

Amostra	Dia para análise	Massa (g)	Fortificação mix HPAs (ng g <sup>-1</sup> )	Fortificação surrogate (ng g <sup>-1</sup> )	Concentração Padrão interno (ng mL <sup>-1</sup> )
Branco do sedimento	1	4	-	12,5	50
Sedimento fortificado	1	4	12,5	12,5	50
Sedimento fortificado	1	4	12,5	12,5	50
Sedimento fortificado	1	4	62,5	62,5	50
Sedimento fortificado	2	4	62,5	62,5	50
Sedimento fortificado	2	4	62,5	62,5	50
Sedimento fortificado	2	4	12,5	12,5	50
Extrato fortificado	3	4	12,5	12,5	50
Extrato fortificado	3	4	62,5	62,5	50

#### 4.13.5 Robustez

A robustez do método proposto foi avaliada por meio de um planejamento fatorial de dois fatores (LEMOS et al, 2010). Os parâmetros avaliados na extração por ultra-som foi tempo de extração e volume do solvente de extração (Tabela 12). Os resultados obtidos em cada extração foram utilizados para a construção dos gráficos de Pareto para os dezesseis HPAs, utilizando o software Statistica, versão 6.0. O diagrama de Pareto ordena os efeitos das variáveis e calcula quais efeitos são estatisticamente significativos, ou seja, quais variáveis influenciam significativamente na resposta analítica (GEHRING et al, 2011).

O teste foi realizado com cerca de 4 g de sulfato de sódio anidro calcinado, colocados em tubo de ensaio com tampa rosqueável, adicionado do mix de HPA uma concentração de 12,5 ng g<sup>-1</sup>, e extraído por ultra-som, conforme protocolo previamente descrito

Tabela 12: Matriz do planejamento fatorial para o teste de robustez do método

Variáveis	Níveis		
	Baixo(-)	Central	Alto(+)
(A) Tempo de extração (min)	29	30	31
(B) Volume do solvente de extração (mL)	5	6	7
Experimento	A	B	
1	-1	-1	
2	-1	1	
3	1	-1	
4	0	0	
5	1	1	
6	0	0	

Tempo de extração (T<sub>E</sub>) e Volume de extração (V<sub>E</sub>)

#### 4.13.6 Limites de Detecção e Quantificação

Para determinar os limites de detecção e quantificação do método (INMETRO, 2010), foram realizadas três extrações por ultra-som com fortificação em sulfato de sódio anidro calcinado com adição da menor concentração aceitável dos HPAs (2 e 5 ng mL<sup>-1</sup> e adição de padrão interno na concentração de 50 ng mL<sup>-1</sup>), além de um branco. Os extratos foram injetados sete vezes cada um. Repetiu-se mesmo procedimento para extração por Soxhlet, porém com concentrações de HPAs de 5 e 12,5 ng mL<sup>-1</sup>. Para esse estudo do LD e LQ foi utilizada a curva analítica nas seguintes concentrações: 2, 5, 8, 12 e 20 ng mL<sup>-1</sup>. Para o cálculo do LD e LQ, foram utilizadas as equações (6) e (7), com o desvio padrão das replicatas das concentrações (s) em ng g<sup>-1</sup>.

$$LD = 0 + 3 \cdot s \quad (6)$$

$$LQ = 0 + 10 \cdot s \quad (7)$$

#### 4.14 Carbono Orgânico Total

As alíquotas das amostras de sedimento para a análise de carbono orgânico total foram secas em liofilizador e maceradas em gral de porcelana. Estas foram descarboxatadas com ácido clorídrico 0,1 mol L<sup>-1</sup>. A determinação da concentração de carbono foi obtida em analisador elementar (Itália, Thermo Finnigan – flash EA, série 1112)

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Otimização das condições cromatográficas para análise de HPA em sedimento

As condições cromatográficas foram otimizadas utilizando-se 1 $\mu$ L de uma solução padrão com os dezesseis HPAs na concentração de 1000 ng mL<sup>-1</sup> no modo SCAN, para obter uma separação satisfatória dos compostos. Após as condições estabelecidas, foi usado o modo de monitoramento de íons selecionados (SIM) para análise dos 16 HPAs prioritários em sedimento (Figura 8). O método apresentou resolução satisfatória como pode ser observado na figura 9, que mostra partes do cromatograma com os respectivos íons monitorados no modo SIM.

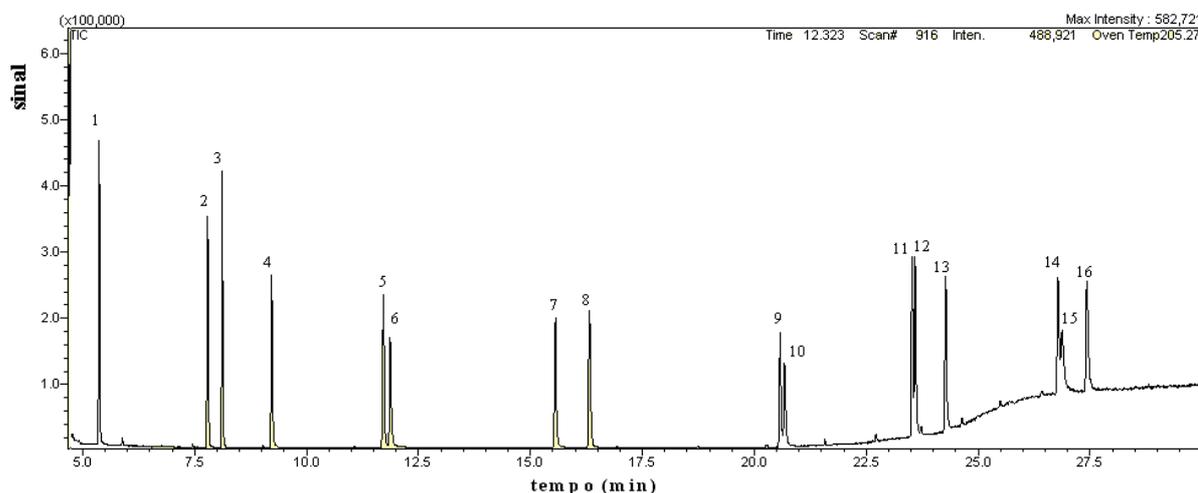


Figura 8: Cromatograma obtido por GC-MS (modo SIM) da solução padrão do mix dos 16 HPAs na concentração 1000 ng mL<sup>-1</sup> em n-hexano (1-naftaleno, 2-acenaftileno, 3-acenafteno, 4-fluoreno, 5-fenantreno, 6-antraceno, 7-fluoranteno, 8-pireno, 9-benzo[a]antraceno, 10-criseno, 11-benzo[b]fluoranteno, 12-benzo[k]fluoranteno, 13-benzo[a]pireno, 14-indeno[1,2,3-cd]pireno, 15-dibenzo[a,h]antraceno, 16-benzo[g,h,i]perileno). Para condições cromatográficas de análise, ver item 4.12.

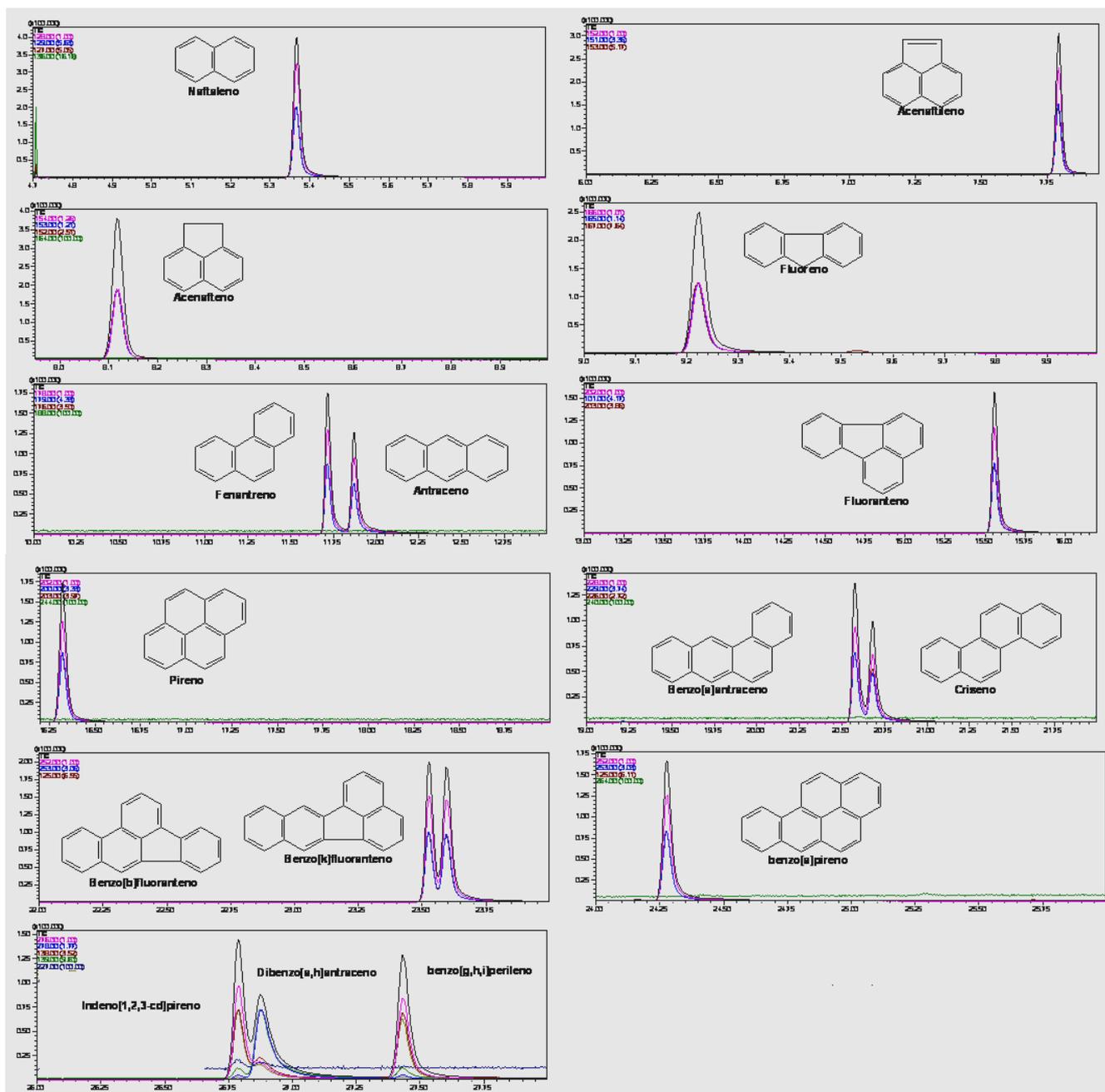


Figura 9: Cromatogramas obtidos por GC-MS (modo SIM) de solução padrão de HPAs em n-hexano na concentração de  $1000 \text{ ng mL}^{-1}$ . Para condições cromatográfica de análise, ver item 4.12.

## 5.2 Otimização da coluna *clean up*

Para verificar a eficiência da coluna *clean up* foram avaliadas a composição e volume do solvente de eluição, realizado-se testes com n-hexano e uma mistura de diclorometano/n-hexano (1:1 v/v). Com 8 mL de n-hexano, 2,7 % dos HPAs foram eluidos. Com 10 mL da mistura, 59,3 % dos HPAs foram eluidos. Adicionando-se mais 10 mL da mistura (volume total de 20 mL), mais 35,8 % dos HPAs foram eluidos (Figura 10).

Portanto, com o uso de um volume único de 20 mL de solvente (diclorometano/n-hexano 1:1, v/v), é possível recuperar 95,1 % dos HPAs. Sendo uma das razões pela qual o *clean up* otimizado foi utilizado neste trabalho.

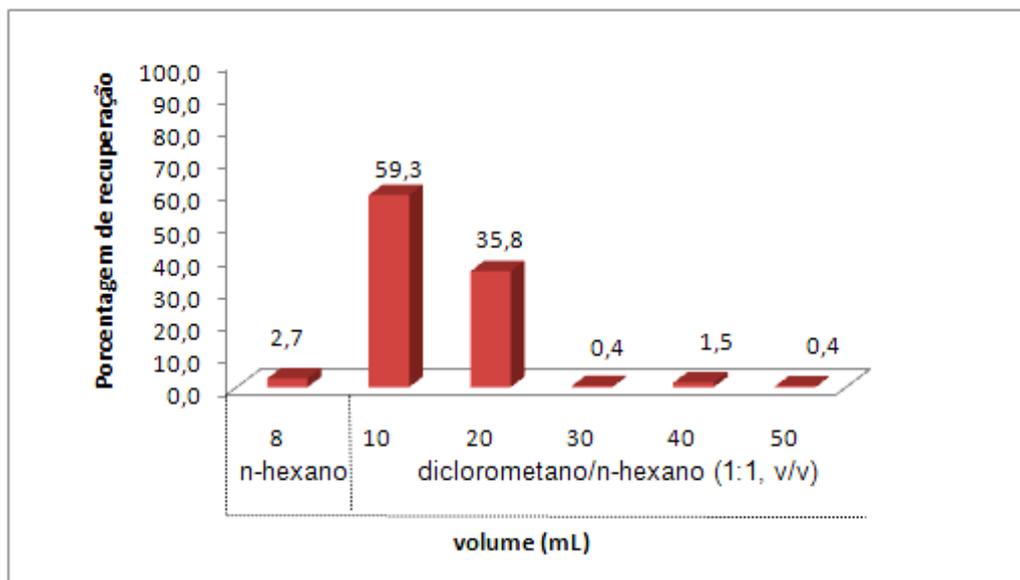


Figura 10: Porcentagem de HPAs que eluem na coluna otimizada nos volumes de solvente nas frações F1(alifáticos) e F2 (aromáticos).

Os HPAs que ainda saem na fração F1 são os de baixa massa molar. Apesar de esses compostos terem maior polaridade, quando comparados com os demais HPAs, há uma pequena perda, provavelmente devido a maior mobilidade destes compostos, caminhos preferenciais, proveniente de um maior volume de solvente de eluição, arraste mecânico. Ou mesmo pela saturação do adsorvente pelo excesso de HPAs diminuindo a capacidade de sorção do adsorvente (Tabela 13).

Tabela 13: Porcentagem de HPA individuais que sai na fração F<sub>1</sub> (alifático)

Compostos	Coluna otimizada (%)	Coluna padrão (%)
Naftaleno	10	4
Acenaftileno	1	-
Acenafteno	7	1
Fluoreno	3	1
Fenantreno	2	1

### 5.3 Comparação entre as colunas padrão e otimizada para o *clean up*

Apesar de a coluna padrão ser bastante eficiente, tanto na limpeza como no fracionamento dos hidrocarbonetos, é necessário uma grande quantidade de adsorvente e solvente para o seu uso. Portanto, optou-se por otimizar uma coluna que fosse ao mesmo tempo eficiente e econômica em relação a quantidade de reagentes (Tabela 14).

Tabela 14: Consumo de adsorventes e solventes na montagem das colunas e no fracionamento dos hidrocarbonetos.

Coluna	Adsorvente	Solvente na montagem da coluna	Volume de eluição	Total de solventes
Padrão (45,5 cm x 21,7 mm di)	20g de sílica gel 10g alumina neutra 2,5g sulfato de sódio	80 mL diclorometano	200 mL(1:1) diclorometano/n-hexano	180 mL de diclorometano
		50 mL n-hexano	50 mL n-hexano	200 mL de n-hexano
Otimizada (36,5 cm x 13,0 mm di)	2g de sílica gel 1g alumina neutra 0,5g sulfato de sódio	25 mL diclorometano	20 mL(1:1) diclorometano/n-hexano	35mL de diclorometano
		10 mL n-hexano	8 mL n-hexano	28mL de n-hexano

### 5.4 Seletividade

O efeito matriz, problema originado, provavelmente, pela competição entre um analito e a coeluição de um componente da matriz (CASSIANO et al, 2009) pode ter origem tanto na amostra como também no instrumento. A ocorrência e a intensidade do efeito matriz pode variar dependendo da natureza da matriz da amostra e do analito, ocasionando um acréscimo no valor da porcentagem da recuperação (SAARI et al, 2007), gerando resultados duvidosos e aumento ou redução da resposta cromatográfica (PINHO et al, 2010). Este efeito pode ser falso negativo, mascaramento do pico do analito de interesse, devido a perdas de quantidade do analito de interesse no sistema de injeção, ocasionando baixa resposta e dificuldade na integração. Já um resultado falso positivo ocorre quando a identificação do analito acontece de forma equivocada, devido à presença de componentes da matriz, quando, na verdade, os analitos estão ausentes (PINHO et al, 2009). Na análise dos dezesseis HPAs, foi constatado o efeito matriz para o acenafteno (m/z 154), fluoreno (m/z 166), fluoranteno (m/z 202) e benzo[a]pireno (m/z 252).

## 5.5 Curva analítica (linearidade)

As curvas analíticas foram preparadas com soluções do mix de HPAs em n-hexano e soluções de padrão interno deuterados. As equações obtidas das curvas analíticas foram satisfatórias para a análise dos HPAs estudados, tanto para a primeira campanha, no inverno, como também para a segunda campanha, verão, com coeficiente de determinação ( $R^2$ ) acima de 0,99 para todos os compostos (Tabelas 15 e 16). As curvas estão apresentadas no anexo II.

Tabela 15: Parâmetros das curvas analíticas para a primeira campanha (inverno)

Compostos	Íons (m/z)	Sensibilidade (S, sinal/ng mL <sup>-1</sup> )	Coefficiente linear	R <sup>2</sup>
Naftaleno	128	2,0044	-0,0071	0,9922
Acenaftileno	152	2,4334	+0,0556	0,9934
Acenafteno	154	1,9770	+0,0116	0,9963
Fluoreno	166	1,9220	-0,0616	0,9950
Fenantreno	178	2,7654	-0,0850	0,9914
Antraceno	178	2,5331	-0,1407	0,9922
Fluoranteno	202	2,8836	-0,1310	0,9901
Pireno	202	3,0225	-0,1310	0,9906
Benzo[a]antraceno	228	2,3861	-0,1011	0,9913
Criseno	228	2,2222	-0,1003	0,9900
Benzo[b]fluoranteno	252	2,7560	-0,1425	0,9905
Benzo[k]fluoranteno	252	3,2648	-0,1615	0,9926
Benzo[a]pireno	252	2,3376	-0,1143	0,9948
Indeno[1,2,3-cd]pireno	276	1,6279	-0,0441	0,9975
Dibenzo[a,h]antraceno	278	0,9758	-0,0776	0,9918
Benzo[g,h,i]perileno	276	2,2375	-0,1327	0,9933

Tabela 16: Parâmetros das curvas analíticas para a segunda campanha (verão)

Compostos	Íons (m/z)	Sensibilidade (S, sinal/ng mL <sup>-1</sup> )	Coefficiente linear	R <sup>2</sup>
Naftaleno	128	0,5493	-0,0067	0,9998
Acenaftileno	152	1,0514	-0,0543	0,9988
Acenafteno	154	0,5792	+0,0094	0,9999
Fluoreno	166	0,4174	+0,0461	0,9956
Fenantreno	178	0,5828	+0,0292	0,9991
Antraceno	178	0,5325	+0,0073	0,9998
Fluoranteno	202	0,5341	-0,0319	0,9983
Pireno	202	1,4116	-0,0728	0,9986
Benzo[a]antraceno	228	1,0980	-0,0754	0,9978
Criseno	228	0,6720	-0,0284	0,9992
Benzo[b]fluoranteno	252	1,3110	-0,0141	0,9999
Benzo[k]fluoranteno	252	1,4625	-0,0640	0,9993
Benzo[a]pireno	252	1,2792	-0,0556	0,9994
Indeno[1,2,3-cd]pireno	276	1,1502	+0,0816	0,9975
Dibenzo[a,h]antraceno	278	0,5558	+0,0467	0,9966
Benzo[g,h,i]perileno	276	0,5408	+0,0559	0,9949

## 5.6 Recuperação

Os valores percentuais de recuperação dos HPAs por ultra-som das amostras fortificadas com 12,5 ng g<sup>-1</sup> do mix de HPA variaram de 91,0 a 157,6 %. Já os valores percentuais de recuperação das amostras fortificadas com 62,5 ng g<sup>-1</sup> do mix de HPA variaram de 74,0 a 105,9 %. Estes valores estão dentro do intervalo aceitável de recuperação para análise de resíduos que é de 74 a 120 % (RIBANI et al, 2004), com um desvio padrão relativo abaixo de 20% e um intervalo de confiança com nível de 95%, com exceção do pireno (157,6%) e benzo[k]fluoranteno (125,4%), no nível de fortificação baixo. Comparando os resultados entre os dois níveis de fortificação, observa-se que o método por ultra-som responde muito bem tanto em concentrações baixas quanto em altas (Tabela 17).

Os valores de recuperação das amostras fortificadas com 12,5 ng g<sup>-1</sup> do mix de HPA variaram de 14,8 a 97,1 % por Soxhlet. Já os valores de recuperação das amostras fortificadas com 62,5 ng g<sup>-1</sup> do mix de HPA variaram de 9,5 a 98,4 %. Nos dois níveis de fortificação o desvio padrão relativo (RSD) ficou abaixo de 20% para os compostos no nível de confiança 95%. Os HPAs de baixa massa molar (dois e três anéis aromáticos) não apresentaram boa recuperação, ficando abaixo do intervalo de 70 a 120% (RIBANI et al, 2004), com exceção do fenantreno (Tabela 17).

Os resultados obtidos mostram claramente que a extração por ultra-som apresenta recuperação tão boa quanto aquela obtida pela extração por Soxhlet quando avaliados os HPAs de alta massa molar. Além disso, percebe-se que para os HPAs de baixa massa molar, a eficiência de extração por ultra-som supera em até 8 vezes a extração por Soxhlet (naftaleno) (Tabela 17) e (Figura 11).

Apesar de o método por Soxhlet ser recomendado pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA) para extração de semi-voláteis e não voláteis de compostos orgânicos de matriz sólida (BANJOO e NELSON, 2005; COTTA et al, 2009), não foi obtido uma boa recuperação. Além de ser um método trabalhoso, requer uma grande quantidade de solvente, podendo degradar compostos termicamente lábeis, devido as altas temperaturas durante a extração, e ocasionar perdas por volatilização durante a concentração no evaporador rotatório (BANJOO e NELSON, 2005; COTTA et al, 2009 ).

Por outro lado, a extração por ultra-som pode ser realizada com várias amostras ao mesmo tempo em um menor tempo (CAVALCANTE et al, 2008). O método de extração por ultra-som é uma técnica eficiente, quando comparado aos métodos de refluxo para a

extração de poluentes orgânicos de solos e sedimentos (BANJOO e NELSON, 2005). A extração por ultra-som é rápida, debaixo custo e eficiente (WANG e GUO, 2010). Além disso, o equipamento de ultra-som é muito simples e de fácil operacionalização (SUN et al, 1998).

Tabela 17: Comparação dos valores de recuperação (%) e dos desvios padrão relativos (RSD %) dos analitos em sedimento por ultra-som e Soxhlet

Compostos	Recuperação média e RSD (%) (n=3)			
	ultra-som		Soxhlet	
	12,5 ng g <sup>-1</sup>	62,5 ng g <sup>-1</sup>	12,5 ng g <sup>-1</sup>	62,5 ng g <sup>-1</sup>
Naftaleno	94,0 (19,2)	74,0 (8,2)	14,8 (12,4)	9,5 (9,6)
Acenaftileno	92,4 (4,0)	87,7 (5,0)	45,9 (17,4)	62,7 (11,0)
Acenafteno	94,6 (4,3)	87,9 (5,3)	51,2 (3,0)	66,7 (11,6)
Fluoreno	90,6 (0,7)	90,3 (3,5)	65,7(3,8)	80,5 (10,7)
Fenantreno	106,8 (1,2)	94,0 (3,9)	83,3 (16,9)	92,4 (9,3)
Antraceno	91,0 (6,4)	88,0 (5,4)	63,7 (4,4)	85,5 (7,0)
Fluoranteno	114,1 (2,1)	100,8 (4,3)	96,7 (19,1)	98,4 (7,8)
Pireno	157,6 (6,6)	105,9 (8,2)	97,1 (19,5)	95,9 (10,8)
Benzo[a]antraceno	113,2 (0,8)	98,3 (5,2)	91,0 (8,1)	93,4 (8,0)
Criseno	115,9 (17,6)	96,1 (3,7)	84,5 (9,4)	92,0 (7,8)
Benzo[b]fluoranteno	109,0 (2,40)	98,3 (4,7)	73,9 (6,9)	91,1 (5,1)
Benzo[k]fluoranteno	125,4 (4,8)	97,9 (8,9)	91,9 (5,2)	93,1 (13,1)
Benzo[a]pireno	106,5 (3,9)	98,5 (6,4)	88,1 (4,5)	90,0 (5,3)
Indeno[1,2,3-cd]pireno	116,7 (2,2)	103,5 (8,3)	79,3 (6,1)	90,3 (5,6)
Dibenzo[a,h]antraceno	92,7 (5,1)	99,0 (8,3)	83,9 (6,4)	88,6 (3,0)
Benzo[g,h,i]perileno	105,3 (2,6)	104,5 (6,9)	75,0 (7,5)	92,6 (2,4)

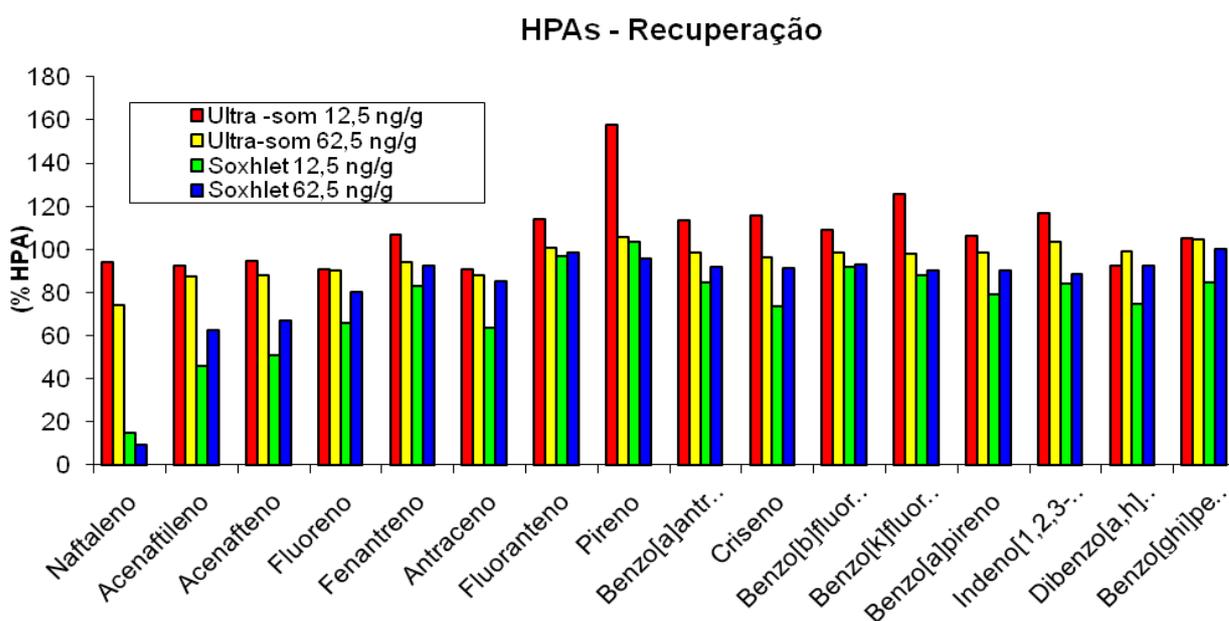


Figura 11: Comparação da eficiência de recuperação entre os métodos de extração, utilizando dois níveis de concentração (12,5 e 62,5ng g<sup>-1</sup>)

## 5.7 Robustez

Os gráficos de Pareto, obtidos através do planejamento fatorial, representam as estimativas dos efeitos para todos os analitos extraídos por ultra-som e analisado por GC-MS, que se encontram abaixo do limite delimitado por  $p$  (0,05). Como pode ser observado para o naftaleno (Figura12). Os demais gráficos encontram-se no anexo IV. Assim como para o naftaleno, nenhuma das variáveis analisadas modificou significativamente o sinal analítico gerado (a área dos picos cromatográficos) nesse nível de confiança para os demais HPAs, mostrando que o método é robusto nas variações estudadas (HELENO et al, 2010).

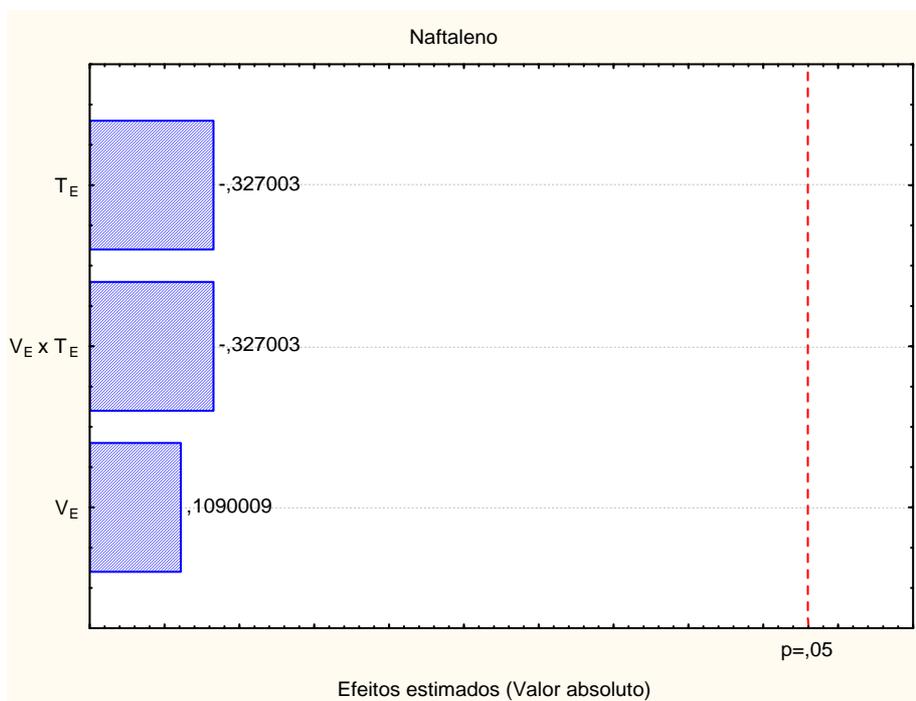


Figura 12: Gráfico de Pareto obtido do planejamento fatorial para o naftaleno

## 5.8 Limites de Detecção e Quantificação

Os limites de detecção e quantificação foram calculados a partir de 7 replicatas no menor nível de concentração aceitável do analito, tanto pelo método de ultra-som como também pelo método por Soxhlet. Para o método por ultra-som, os HPAs de massas molares mais baixas, a concentração usada foi de  $2 \text{ ng g}^{-1}$ , enquanto que os de maiores massas molares foi  $5 \text{ ng g}^{-1}$ . Os valores dos limites de detecção, em peso seco, variaram

entre 0,04 a 0,23 ng g<sup>-1</sup> e os valores dos limites de quantificação variaram de 0,12 a 0,78 ng g<sup>-1</sup> pelo método de ultra-som. Para o método de extração por Soxhlet, os limites de detecção e quantificação para os 16 HPAs foi possível calcular com a concentração de 5 ng g<sup>-1</sup>, que variaram de 0,03 a 0,30 ng g<sup>-1</sup> para LD e de 0,11 a 1,00 ng g<sup>-1</sup> para LQ (Tabela 18).

Tabela 18: Comparação entre os LD e LQ por ultra-som e Soxhlet

Compostos	ultra-som (ng g <sup>-1</sup> )		Soxhlet (ng g <sup>-1</sup> )	
	LD	LQ	LD	LQ
Naftaleno	0,12	0,39	0,03	0,11
Acenaftileno	0,08	0,27	0,03	0,11
Acenafteno	0,09	0,30	0,04	0,13
Fluoreno	0,04	0,12	0,15	0,49
Fenantreno	0,11	0,37	0,19	0,62
Antraceno	0,08	0,28	0,13	0,42
Fluoranteno	0,04	0,12	0,05	0,15
Pireno	0,07	0,51	0,06	0,21
Benzo[a]antraceno	0,09	0,30	0,07	0,22
Criseno	0,23	0,78	0,13	0,43
Benzo[b]fluoranteno	0,09	0,31	0,11	0,36
Benzo[k]fluoranteno	0,06	0,20	0,30	1,00
Benzo[a]pireno	0,08	0,28	0,07	0,23
Indeno[1,2,3-cd]pireno	0,07	0,22	0,06	0,19
Dibenzo[a,h]antraceno	0,08	0,28	0,05	0,16
Benzo[g,h,i]perileno	0,09	0,28	0,06	0,19

### 5.9 Análise do teor de carbono orgânico e granulometria das amostras de sedimento no estuário do rio Sergipe

O teor de carbono orgânico nas amostras de sedimento variaram de 0,13 % (ponto 4) a 3,17 % (ponto 6) no inverno, e de 0,04 % (ponto 4) a 2,51 % (ponto 6) no verão. Nos sedimentos superficiais do estuário do rio Sergipe, há uma concentração maior de carbono orgânico nos pontos (5, 6 e 7) tanto no inverno como no verão, comparado com os demais pontos (Tabela 19). Isto ocorre provavelmente pela granulometria destas áreas. Portanto, nas regiões em que o sedimento tem uma granulometria menor, são mais susceptíveis ao acúmulo de matéria orgânica em relação à granulometria maior, pois a ação da maré é mais eficiente na remoção de material depositado em sedimentos arenosos (FARIAS, 2006).

Tabela 19: Percentual do teor de carbono orgânico total e granulometria nas amostras de sedimento no estuário do rio Sergipe

Local de coleta	Época de coleta		Granulometria (silte + argila)
	Inverno (% carbono orgânico)	Verão (% carbono orgânico)	
P1	0,699	0,177	8,9
P2	2,369	2,052	22,3
P3	0,282	1,185	10,7
P4	0,130	0,040	0,2
P5	1,892	1,196	35,5
P6	3,166	2,513	17,5
P7	1,668	1,338	21,7
P8	0,154	0,103	2,8
P9	0,257	0,088	8,1

### 5.10 Análise das amostras de sedimento no estuário do rio Sergipe por ultra-som

Após a escolha do método por ultra-som, foram feitas as extrações das amostras de sedimentos coletados no estuário do rio Sergipe. A quantificação dos HPAs nas amostras foram realizadas com auxílio de curvas analíticas com coeficientes de determinação acima de 0,99 para todos os compostos, utilizando-se o método de padronização interna (Tabelas 20 e 21).

Tabela 20: Teores de HPA encontrados nas amostras de sedimento do estuário do rio Sergipe no inverno.

Compostos	Concentração na amostra (ng g <sup>-1</sup> )								
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
Naftaleno	2,4	2,7	1,9	6,1	2,5	4,6	11,0	3,7	2,0
Acenaftileno	nd	nd	nd	nd	nd	1,3	3,4	nd	nd
Acenafteno	4,4	1,3	3,4	3,7	3,8	4,9	4,8	3,8	4,1
Fluoreno	3,8	2,6	3,5	2,4	4,9	4,5	5,5	3,3	3,9
Fenantreno	3,2	2,6	4,5	5,2	5,1	6,3	7,7	3,2	4,6
Antraceno	2,0	1,7	2,2	nd	2,6	2,7	3,0	2,0	2,3
Fluoranteno	1,4	1,6	1,7	11,1	1,5	4,7	8,5	2,5	1,5
Pireno	nd	<LQ	nd	36,7	nd	6,3	11,6	3,6	nd
Benzo[a]antraceno	nd	nd	nd	nd	nd	3,2	10,9	2,4	nd
Criseno	1,3	1,4	1,3	nd	<LQ	4,2	14,8	2,8	<LQ
Benzo[b]fluoranteno	nd	nd	nd	nd	nd	4,5	16,4	3,6	nd
Benzo[k]fluoranteno	nd	nd	nd	nd	nd	2,4	6,0	<LQ	nd
Benzo[a]pireno	nd	<LQ	nd	nd	nd	3,1	8,8	2,6	nd
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	nd	nd	nd	nd	nd	3,1	11,7	2,4	nd
Dibenzo[a,h]antraceno	3,5	nd	2,6	nd	nd	7,8	10,3	3,8	2,3
Benzo[ghi]perileno	nd	nd	nd	nd	nd	3,1	9,2	2,5	nd
<b>Σ16 HPAs</b>	<b>22,0</b>	<b>14,0</b>	<b>21,1</b>	<b>65,1</b>	<b>20,4</b>	<b>66,8</b>	<b>143,6</b>	<b>42,1</b>	<b>20,7</b>

LQ- limite de quantificação; nd- não detectado

Tabela 21: Teores de HPA encontrados nas amostras de sedimento do estuário do rio Sergipe no verão.

Compostos	Concentração na amostra (ng g <sup>-1</sup> )								
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
Naftaleno	0,9	2,7	1,2	<LQ	1,9	3,8	2,7	1,4	1,1
Acenaftileno	0,9	1,1	0,9	<LQ	1,2	1,8	1,2	2,4	1,4
Acenafteno	1,4	1,8	nd	nd	1,6	1,8	<LQ	2,0	nd
Fluoreno	nd	nd	nd	nd	nd	1,8	nd	nd	nd
Fenantreno	nd	4,7	2,2	nd	5,8	9,9	20,9	15,0	nd
Antraceno	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	2,1	nd
Fluoranteno	1,9	8,2	10,5	3,3	13,2	20,4	11,2	47,9	3,8
Pireno	<LQ	13,5	14,7	8,2	21,9	20,8	16,8	34,1	30,0
Benzo[a]antraceno	nd	2,6	4,2	nd	2,7	9,5	8,6	26,1	3,4
Criseno	1,6	4,8	5,7	<LQ	5,4	15,0	29,5	52,7	18,6
Benzo[b]fluoranteno	nd	3,6	3,7	nd	3,1	10,3	6,8	37,5	16,7
Benzo[k]fluoranteno	nd	2,5	3,1	nd	2,4	7,2	4,8	26,8	13,4
Benzo[a]pireno	nd	3,1	3,6	nd	2,7	8,5	5,7	29,4	17,0
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	nd	<LQ	1,5	nd	nd	6,0	3,4	29,5	12,5
Dibenzo[a,h]antraceno	nd	nd	nd	nd	nd	1,7	nd	8,7	2,6
Benzo[ghi]perileno	nd	6,6	4,5	nd	6,9	17,7	11,7	61,9	28,6
<b>Σ 16 HPAs</b>	<b>6,7</b>	<b>55,4</b>	<b>56,1</b>	<b>11,5</b>	<b>68,9</b>	<b>136,0</b>	<b>123,6</b>	<b>377,7</b>	<b>149,4</b>

LQ- limite de quantificação; nd- não detectado

Os níveis de concentração total dos HPAs variaram de 14 ng g<sup>-1</sup> (ponto P2) a 143,6 ng g<sup>-1</sup> (ponto P7) no inverno. No verão, os valores encontrados variaram de 6,72 ng g<sup>-1</sup> (ponto P1) a 377,6 ng g<sup>-1</sup> (ponto P8).

Nas amostras há uma contribuição de HPAs de origem petrogênica (2 e 3 anéis aromáticos). No entanto, a contribuição pirogênica foi bastante superior nos pontos (P4, P6 e P7) no inverno e nos pontos (P3, P5, P6, P7, P8 e P9) no verão, com maiores níveis de concentrações na estação mais seca. Os histogramas mostraram a maior incidência de HPAs de alta massa molar (AMM: 4-6 anéis aromáticos), sugerindo predominância de compostos pirogênicos (WAGENER et al, 2010). Em todas as amostras de sedimento analisadas foi detectado a presença de HPAs (Figura 13 e anexo III). Os resultados estão compatíveis com as atividades nas imediações dos pontos de coleta, os quais têm influência do tráfego intenso de veículos (LUZ et al, 2010) e do transporte marinho na região.

Os pontos P7 e P8 foram os que apresentaram as maiores concentrações de HPAs, sendo P7 para amostragem no inverno e P8 para amostragem no verão. Além destes dois, os pontos P6 e P4 com 66,8 e 65,1 ng g<sup>-1</sup>, respectivamente, para amostragem no inverno e os pontos P9, P6, P7, P5, P3 e P2 com 149,4; 136,0; 123,6; 68,9; 56,1 e 55,4 ng g<sup>-1</sup>, respectivamente, para amostragem no verão, apresentaram concentrações de HPAs relativamente superior as concentrações encontradas nos pontos P2, P5, P9 e P1 na estação

chuvosa e nos pontos P1 e P4 na estação não-chuvosa. O ponto P9, apesar de estar em uma região com baixa presença de manuseio de produtos derivados de petróleo e de queima de combustíveis fósseis, apresentou concentrações totais um pouco superiores de HPAs em relação às encontradas em outras regiões com característica de poluição por combustíveis fósseis. Possivelmente, a região tem fluxos bem definidos de correntes de marés, caracterizando um potencial de acúmulo de compostos orgânicos (MACENO, 2010). Os pontos P2 e P1 foram os que apresentaram as menores concentrações de HPAs em todas as amostragens, tanto no inverno como no verão. Os pontos P2 e P1 estão localizados em região que apresenta pequeno fluxo de embarcações de atividade de pesca artesanal e atividades náuticas. Isto, de certa forma, pode explicar a baixa concentração de HPAs no sedimento desta região. Além disso, é possível que a granulometria tenha característica não favorável a adsorção de compostos orgânicos persistentes, dificultando a sua acumulação.

O ponto P7 está localizado nas proximidades do Mercado Central de Aracaju, onde se constatou que há várias fontes antropogênicas naquela área, contribuindo com os altos valores encontrados. Os pontos P4 e P6 são próximos aos Terminais Hidroviários da Atalaia Nova e Barra dos Coqueiros, que se encontram atualmente desativados. Porém, por muitos anos foram pontos de embarque e desembarque de passageiros. Os níveis de concentração encontrados foram  $65,1 \text{ ng g}^{-1}$  e  $66,8 \text{ ng g}^{-1}$  para os pontos P4 e P6, respectivamente. O nível de concentração encontrado nas amostras de sedimentos do estuário do rio Sergipe sugere que a maioria dos pontos estão consideravelmente contaminados, devido a similaridade com aqueles detectados em Feitsui, Taiwan (FAN et al, 2010), Baía Daya, China (YAN et al, 2009) e Mar de Bohai, China (QIN et al, 2011). No entanto, os valores encontrados estão abaixo dos níveis relatados por Silva et al (2007), Maioli et al (2010) e Taroza et al (2010), ver Tabela 22.

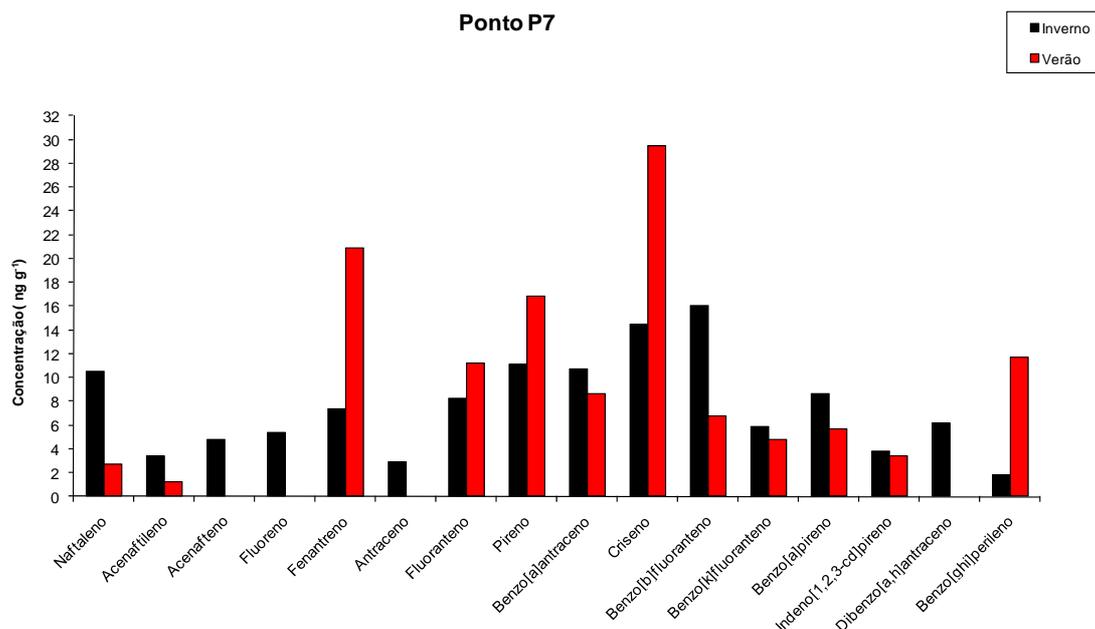


Figura 13: Perfil de HPAs em amostra de sedimento no ponto 7

Tabela 22. Comparação dos teores de HPAs determinados neste estudo com os descritos na literatura

Local de coleta	Nº de HPAs	Intervalo de concentração (ng g <sup>-1</sup> )	Referência
Estuário do rio Sergipe-SE (inverno) (Brasil)	16	14,0- 143,6	<b>Neste estudo</b>
Estuário do rio Sergipe-SE (verão) (Brasil)	16	6,7-377,7	<b>Neste estudo</b>
Estuário do rio Paraguaçu – BA (Brasil)	16	63-314	BARROS, et al, 2008.
Feitsui (Taiwan)	14	5-400	FAN et al, 2010.
Baía de Guanabara (Brasil)	16	77-7751	SILVA et al, 2007.
Rio Gao-ping (Taiwan)	16	8-356	DOONG et al 2004
Estuário da Gironde e Baía Arcachon (França)	14	3,5-853	SOCLO et al, 2000.
Hadhramout Golf de Aden (Iémen)	46	2,2-604	MOSTAFA et al, 2009.
Complexo Estuarino Lagunar Mundaú-Manguaba-AL e Estuário Rio Paraíba do Sul-RJ (Brasil)	16	2,9 - 9344,3	MAIOLI et al, 2010.
Sistema Estuarino de Laguna-SC (Brasil)	12	87,7-3.419,3	TAROZO et al, 2010.
Estuário do Yangtze (Xangai, China)	17	107 - 633	LIU et al, 2008.
Baía de Daya (China)	16	42,5 – 158,2	YAN et al, 2009.
Mar de Bohai (China)	16	37 - 537	QIN et al, 2011.

Em função da não existência de uma Legislação Brasileira com valores orientadores e de referência para HPAs em sedimentos costeiros, foram utilizados padrões adotados por agências regulamentadoras internacionais (Environment Canada e National Oceanic and Atmospheric Administration – NOAA). Ciente de que as condições climáticas brasileiras (clima tropical) são diferentes daquelas (clima temperado) utilizadas com parâmetro nestas agências (VEIGA, 2003). Temperaturas elevadas e alta intensidade de luz solar em ambientes tropicais aumentam a velocidade de degradação de hidrocarbonetos (WAGENER et al, 2010).

Portanto, em todos os pontos de amostragem da região estudada, as concentrações encontradas dos HPAs ficaram abaixo dos limites estabelecidos pelas agências ambientais citadas (Tabela 23)

Tabela 23: Legislação Norte Americana e Canadense para níveis de HPAs em sedimentos

Compostos	NOAA		Environment Canadá	
	ERL	ERM	PQT	NEP
	(ng g <sup>-1</sup> )		(ng g <sup>-1</sup> )	
Naftaleno	160	2.100	34,6	391
Acenaftileno	44	640	5,87	128
Acenafteno	16	500	6,71	88,9
Fluoreno	19	540	21,2	144
Fenantreno	240	1500	86,7	544
Antraceno	85,3	1100	46,9	245
Fluoranteno	600	5100	113	1494
Pireno	665	2600	153	1398
Benzo[a]antraceno	261	1600	74,8	693
Criseno	384	2800	108	846
Benzo[b]fluoranteno	-	-	-	-
Benzo[k]fluoranteno	-	-	-	-
Benzo[a]pireno	430	1600	88,8	763
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	-	-	-	-
Dibenzo[a,h]antraceno	63,4	260	6,2	135
Benzo[ghi]perileno	-	-	-	-
<b>Total HPAs</b>	<b>4022</b>	<b>44792</b>	<b>-</b>	<b>-</b>

TAM et al, 2001 e LEE & YI, 1999

NOAA: National Oceanic and Atmospheric Administration

ERL: limite inferior (effective range low); representam as concentrações mínimas, nos quais os valores observados abaixo destes ocasionam raros efeitos biológicos adversos.

ERM: limite médio (effective range medium); ocorrem frequentemente efeitos adversos nos sistemas biológicos.

Environment Canadá, 1998: PQT = padrões de qualidade temporários; NEP = níveis de efeitos prováveis.

### 5.11 Identificação das fontes de HPAs

As razões de diagnóstico foram utilizadas para identificar a origem dos HPAs presentes nas amostras de sedimento dos pontos de amostragem do Estuário do rio Sergipe. Foram utilizadas as razões de diagnósticos sugerida por YUNKER et al, (2002), que podem ser aplicadas para identificar as fontes de emissão de HPAs, tais como: Ant/(An + Fen), Fl/(Fl + Pi), BaA/(BaA + Pi) e IP/(IP + BghiPe). As razões de diagnóstico são frequentemente aplicadas a várias matrizes de amostras coletadas em regiões de diferentes

climas, mas não há relatos detalhados sobre a estimativa de sua confiabilidade como fontes indicadoras em ambientes tropicais. Devido às condições em regiões tropicais como temperatura elevada e atividade solar intensa, a degradação dos compostos menos persistentes podem ser aceleradas, modificando sua concentração, e, conseqüentemente, afetando a eficiência das razões de diagnósticas dos HPAs (WAGENER et al, 2010).

As razões  $BaA/(BaA+Cri)$  versus  $Fl/(Fl+Pi)$  (Figura 14) mostram os pontos (P2, P3, P5, P6, P7, P8 e P9) no inverno e os pontos (P1, P3, P6) no verão com indicação de HPAs de origem de processos pirogênicos. Já os pontos (P2, P5, P7 e P8) no verão têm características de HPAs de mistura de fontes. O ponto (P9) no verão com característica petrogênica e o ponto (P1) no inverno com origem na combustão da matéria orgânica. Portanto, existem diferentes fontes de contaminação na região estudada. Porém, há uma predominância de HPAs de origem pirogênica.

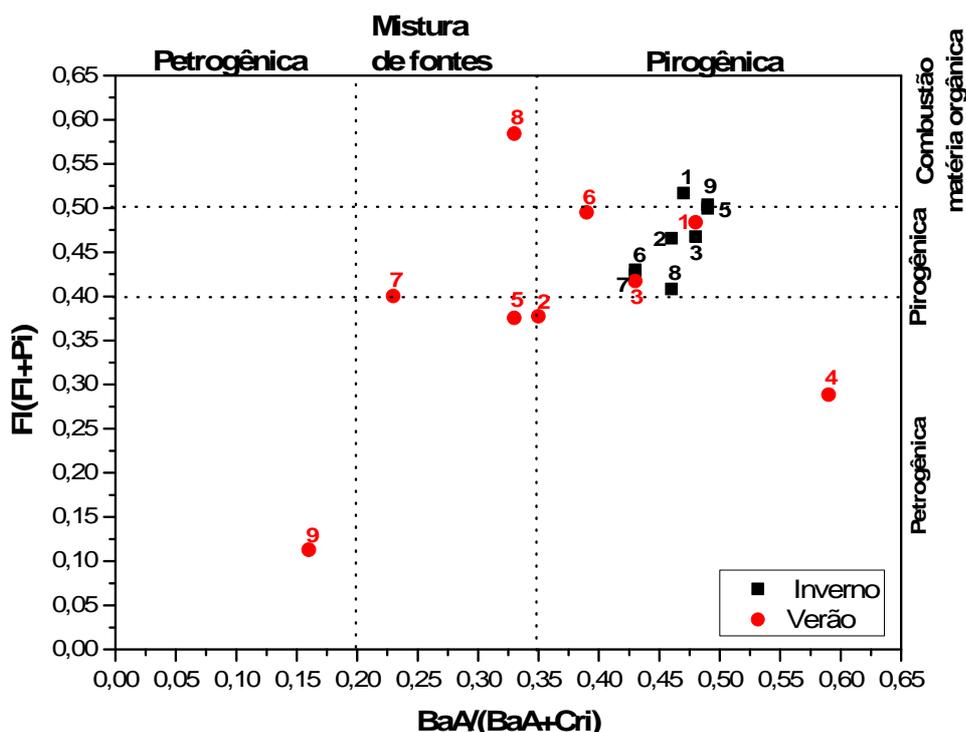


Figura 14: Diagrama cruzado de  $Fl/(Fl+Pi)$  versus  $BaA/(BaA+Cri)$

As razões  $Ant/(Ant+Fen)$  versus  $Fl/(Fl+Pi)$  (Figura 15) mostram que os pontos (P1, P2, P3, P5, P6, P7, P8 e P9) no inverno e os pontos (P3, P6 e P8) no verão têm indicação de HPAs de origem de processos pirogênicos. Já os pontos (P2, P5 e P7) no verão têm características de HPAs de origem petrogênica. Portanto, existem diferentes fontes de contaminação na região estudada. Porém, há uma predominância de HPAs de origem pirogênica. De acordo com Maiolli et al (2010), a relação  $Ant/(Ant+Fen)$  não é

recomendada, pois geralmente o antraceno tem um pico de baixa intensidade no perfil cromatográfico, induzindo a erros de análise. No entanto, neste trabalho foi possível identificar a origem dos HPAs utilizando esta relação.

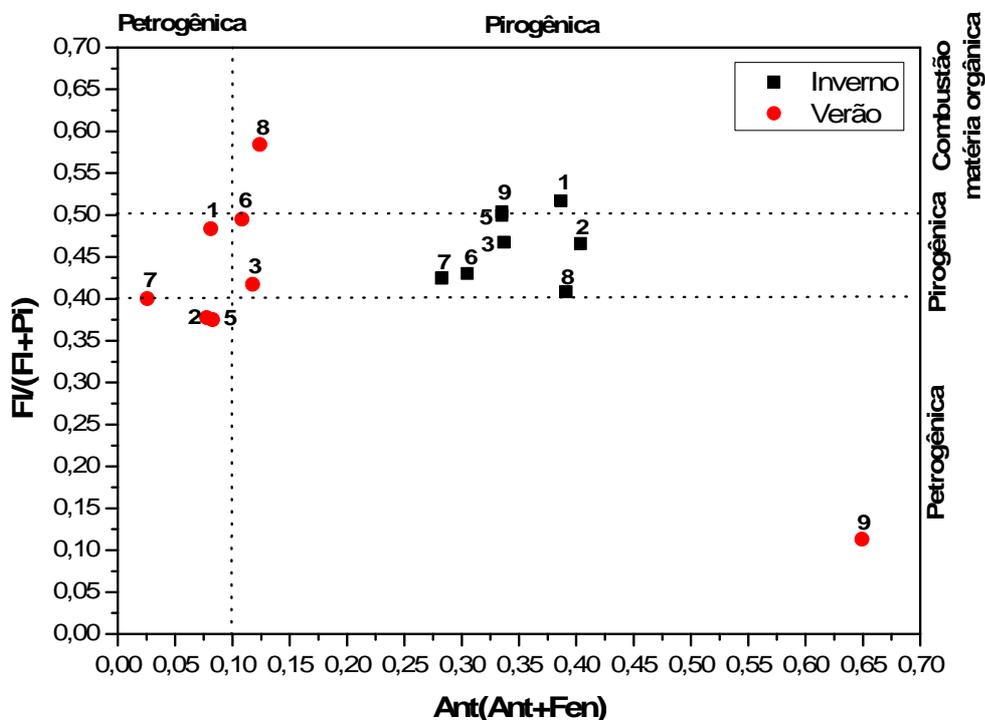


Figura 15: Diagrama cruzado da razão  $Fl/(Fl+Pi)$  versus  $Ant/(Ant+Fen)$

Devido a não detecção de alguns tipos de HPAs, o cálculo das razões destes hidrocarbonetos para identificação da origem da fonte de contaminação foi impossibilitado.

As amostras analisadas do estuário do rio Sergipe são bem diversificadas na sua contaminação. Portanto, os resultados das razões de diagnósticos mostram que a contaminação no sedimento do estuário do rio Sergipe por HPA é proveniente principalmente de mistura de fontes, tanto pirogênica como petrogênica, com ênfase aos HPAs de origem pirogênica. Apenas em dois pontos (P4 e P9) não ficou evidente a fonte de contaminação.

## 6. CONCLUSÃO

A técnica de GC-MS demonstrou ser fundamental para determinações que exigem extrema sensibilidade e seletividade para análise de compostos em concentrações na faixa de nanograma. Apresentando seletividade para possibilitar determinações de traços de HPAs em amostra de sedimento sem interferências significativas.

Na validação dos métodos os resultados obtidos foram satisfatórios. As curvas analíticas apresentaram valores de coeficiente de determinação,  $R^2$ , acima de 0,99 para todos os 16 HPAs. Os valores médios de recuperação obtidos em dois níveis de fortificação  $12,5 \text{ ng g}^{-1}$  e  $62,5 \text{ ng g}^{-1}$  não apresentaram diferenças significativas pelo método de ultra-som, que demonstrou ser uma técnica simples e precisa nas análises de HPAs em sedimento, obtendo recuperação média na faixa de 74 a 125,4% e  $\text{RSD} < 20\%$  para todos os compostos analisados, com exceção do pireno que obteve uma recuperação de 157,6%. Por outro lado, a extração por Soxhlet não apresentou recuperação adequada para os HPAs de baixa massa molar, principalmente para o naftaleno, acenaftileno e o acenafteno, que variaram de 9,8 a 98,4% e  $\text{RSD} < 20\%$ . Este método, além de ser bastante trabalhoso, consome uma grande quantidade de solvente. Os limites de detecção e quantificação por ultra-som variaram na faixa de

Os limites de detecção e quantificação por ultra-som variaram de  $0,04$  a  $0,23 \text{ ng g}^{-1}$  e de  $0,12$  a  $0,78 \text{ ng g}^{-1}$ , respectivamente, e os limites de detecção e quantificação por Soxhlet variaram de  $0,03$  a  $0,3 \text{ ng g}^{-1}$  e de  $0,11$  a  $1,0 \text{ ng g}^{-1}$ , respectivamente. O procedimento escolhido para análise de HPAs em sedimento foi o ultra-som, pois mostrou valores de recuperação adequado, rapidez, baixo consumo de solvente e adsorvente, reduzido tempo de extração, além de permitir executar a extração de nove amostras simultaneamente.

Os HPAs foram detectados em amostras de sedimentos coletadas em nove pontos de amostragem do estuário do rio Sergipe. As maiores concentrações de HPAs foram registradas nas amostras de sedimentos coletados nas proximidades da zona industrial, área de atividade pesqueira e nos pontos em que verifica intenso fluxo de veículos.

O cálculo das razões de diagnóstico  $\text{Fl}/(\text{Fl}+\text{Pi})$  versus  $\text{BaA}/(\text{BaA}+\text{Cri})$  e  $\text{Fl}/(\text{Fl}+\text{Pi})$  versus  $\text{Ant}/(\text{Ant}+\text{Fen})$  mostrou que os sedimentos do estuário do rio Sergipe podem ter uma contaminação de fontes tanto de origem petrogênica como pirogênica, sendo esta última a que apresentou maior contribuição para a contaminação do sedimento.

Os resultados obtidos neste estudo mostraram que as concentrações de HPAs totais e individuais em sedimentos de superfície variaram significativamente entre os locais de amostragem nas duas campanhas (inverno e verão). As concentrações de HPAs nos sedimentos revelaram que no estuário do rio Sergipe as fontes pirogênicas tiveram uma maior contribuição. Provavelmente devido a combustão incompleta de combustíveis fósseis de veículos, embarcações e atividades industriais, combustão do carvão, petróleo e madeira e incêndios naturais. Os HPAs de origem petrogênica foram encontrados em alguns pontos, provavelmente, devido a derramamentos de petróleo, produtos de petróleo, principalmente os refinados. A identificação das fontes de contaminação dos hidrocarbonetos nas amostras de sedimentos foi feita utilizando-se razões diagnósticas de HPAs, as quais permitiram distinguir fontes de hidrocarbonetos petrogênicas e pirogênicas.

Os resultados mostraram que as concentrações de HPAs foram semelhantes aos registrados na literatura científica. Portanto, este estudo é uma importante contribuição para o conhecimento dos níveis de concentração de HPAs no estuário do rio Sergipe, fornecendo uma base de dados para estudos futuros de monitoramento.

## **7. PERSPECTIVAS FUTURAS**

- ✓ Determinar os hopanos e esteranos nos sedimentos da mesma área de estudo desse trabalho, para melhor definição da fonte do hidrocarbonetos presentes;
- ✓ Determinar os HPAs alquilados no sedimento do estuário do rio Sergipe, visto que apresentaram evidências da presença de HPAs de baixa massa molar;
- ✓ Analisar amostras de sedimento de outras bacias hidrográficas em testemunho (perfis) de estuário das bacias Sergipanas;
- ✓ Adaptar a metodologia, para a determinação destes 16 HPAs prioritários em outras matrizes (atmosférica, alimento,...)

## 8. REFERÊNCIAS

ALVES, José do Patrocínio Hora, **Rio Sergipe: importância, vulnerabilidade e preservação** – Aracaju: Ós Editora, 2006. 222p.

BANJOO, Darry Ricardo; NELSON, Paul Kurt, **Improved ultrasonic extraction procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments** – Journal of Chromatography A, v. 1066, p. 9-18, 2005.

BARCELÓ, D.; HENNION, M. C. **Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry: Pesticides and their degradation products: Characteristics, usage and environmental behaviour** – ELSEVIER , capítulo 1, v. 19, p. 1-94, 1997.

BARROS, Francisco; HATJE, Vanessa; FIGUEIREDO, Maria Betânia; MAGALHÃES, Wagner Ferreira; DÓREA, Haroldo Silveira; EMÍDIO, Elissandro Soares. **The structure of the benthic macrofaunal assemblages and sediments characteristics of the Paraguaçu estuarine system, NE, Brazil.** Estuarine, Coastal and Shelf Science, v. 78, p. 753–762, 2008.

BAPTISTA NETO, José Antonio; WALLNER-KERSANACH, Mônica; PATCHINEELAM, Soraya Maria – **Poluição marinha**, 440p - Rio de Janeiro: Interciência, 2008.

BISPO, José Ricardo Lima; (Dissertação) **Determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em água produzida por extração em Fase Sólida e cromatografia gasosa com detector de ionização por chama**; Universidade Federal de Sergipe, UFS, 2005

BONILLA, N. Barco; VIDAL, J.L. Martínez; FRENICH, A. Garrido; GONZÁLEZ, R. Romero. **Comparison of ultrasonic and pressurized liquid extraction for the analysis of polycyclic aromatic compounds in soil samples by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry.** Talanta, v. 78, p. 156–164, 2009.

CABRERA, Liziara; COSTA, Fabiane Pinho; PRIMEL, Ednei Gilberto, **Estimativa de risco de contaminação das águas por pesticidas na região sul do estado do RS**, Química Nova, v. 31, n. 8, p. 1982-1986, 2008.

CASSIANO, Neila Maria; BARREIRO, Juliana Cristina; MARTINS, Lúcia Regina Rocha, OLIVEIRA, Regina Vincenzi e CASS, Quezia Bezerra. **Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas**; Química Nova, v. 32, n. 4, p. 1021-1030, 2009.

CAVALCANTE, Rivelino M.; LIMA, Danielle M. de; CORREIA, Leandro M.; NASCIMENTO, Ronaldo F.; SILVEIRA, Edilberto R.; FREIRE, George S. S.; VIANA, Rommel B. **Técnicas de extrações e procedimentos de clean-up para determinação de hidrocarboneto policíclicos aromáticos (HPA) em sedimentos da costa do Ceará** – Química Nova, v. 31, n. 6, p. 1371-1377, 2008.

CELINO, Joil José; QUEIROZ, Antonio Fernando de S. **Fonte e grau da contaminação por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) de baixa massa molecular em sedimentos da Baía de Todos os Santos, Bahia**, Geociências, 2006.

COTTA, Jussara Aparecida Oliveira; Rezende, Maria Olímpia Oliveira; Landgraf, Maria Diva. **Avaliação de solventes de extração por ultrassom usando-se cromatografia líquida de alta eficiência para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em solos contaminados** - Química Nova, v. 32, n. 8, p. 2026-2033, 2009.

D'AGOSTINHO, Adriana; FLUES, Marlene; **Determinação do coeficiente de distribuição (Kd) de benzo(a)pireno em solo por isotermas de sorção**; Química Nova, v. 29, n. 4, p. 657-661, 2006.

DONG, Trang T.T.; LEE, Byeong-Kyu; **Characteristics, toxicity, and source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in road dust of Ulsan, Korea**; Chemosphere, v. 74, p. 1245–1253, 2009.

DOONG, Ruey-an; LIN, Yu-tin; **Characterization and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminations in surface sediment and water from Gao-ping River, Taiwan**; Water Research, v. 38, p. 1733–1744, 2004.

DROSOS, Juan Carlos; VIOLA-RHENALS, Maricela; VIVAS-REYES, Ricardo - **Quantitative structure–retention relationships of polycyclic aromatic hydrocarbons gas-chromatographic retention indices**; Journal of Chromatography A, v. 1217, p. 4411–4421, 2010.

EMÍDIO, E. S.; DÓREA, H. S.; **Comparação entre as extrações ultra-som e Soxhlet para determinação de alcanos em sedimentos ambientais**; Scientia Plena, v. 6, n. 9, 2010.

FAN, Cheng-Wei; JANG, Tien-Nan; KAO, Shuh-Ji - **Characteristics of sedimentary polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the subtropical Feitsui Reservoir, Taiwan** - Journal of Hydrology, v. 391, p. 217–222, 2010.

FARIAS, Cássia de Oliveira; **Avaliação da degradação de óleo em sedimentos de manguezal: estudo de caso, Baía de Guanabara, RJ**; Tese (Doutorado): PUC- Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, 2006.

FROEHNER, Sandro e MARTINS, Raquel Fernandes, **Avaliação do destino e bioacumulação de benzo(a)pireno através de simulação computacional**, Química Nova, v. 31, n. 5, p. 1089-1093, 2008

FURLAN JÚNIOR, Orozimbo; (Dissertação) **Distribuição de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em solos na região da serra catarinense, comparação entre metodologias de extração e avaliação do impacto ambiental**; Universidade Regional de Blumenau, FURB, 2006.

GARCIA, Felipe Azevedo de Paula; MIRLEAN, Nicolai; BAISCH, Paulo Roberto; **Marcadores metálicos como avaliação do impactocrônico de emissões petroquímicas em zona urbana**; Química Nova, v. 33, n. 3, p. 716-720, 2010.

GEHRING, Patrícia Alves Franco; SANTOS, Olímpia Maria Martins; PEREIRA, Gislaíne Ribeiro; ARAÚJO, Magali Benjamim de; BONFÍLIO, Rudy – **Estabelecimento de condições para ensaio de dissolução de cápsulas de cinarizina empregando planejamento fatorial**; Química Nova, v. 34, n. 3, p. 455-461, 2011.

GODOI, Ana Flávia Locateli; FAVORETO, Rodrigo; SILVA, Santiago, **Contaminação ambiental por compostos organoestânicos**, Química Nova, v. 26, n. 5, p. 708-716, 2003.

HELENO, Fernanda F.; LIMA, Aniel C.; AFONSO, Robson J. C. F.; COUTRIM, Mauricio X. **Otimização e validação de métodos analíticos para determinação de BTEX em água utilizando extração por headspace e microextração em fase sólida**; Química Nova, v. 33, n. 2, p. 329-336, 2010.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, Censo populacional, 2010. ([http://www.censo2010.ibge.gov.br/resultados\\_do\\_censo2010.php](http://www.censo2010.ibge.gov.br/resultados_do_censo2010.php) (acesso em 12/04/2011))

INMETRO - **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos**. Revisão: 01. DOQ-CGCRE-008. Março, 2003.

INMETRO - **Orientações sobre Validação de Métodos Analíticos**. Revisão: 03. DOQ-CGCRE-008. Fevereiro, 2010.

ITOH, Nobuyasu; NUMATA, Masahiko; AOYAGI, Yoshie; YARITA, Takashi; **Comparison of low-level polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment revealed by Soxhlet extraction, microwave-assisted extraction, and pressurized liquid extraction**. Analytica Chimica Acta, v. 612, p. 44–52, 2008.

JÚNIOR, O. FURLAN, (Dissertação) **Distribuição de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em solos na região da serra catarinense, comparação entre metodologias de extração e avaliação do impacto ambiental**; Universidade Regional de Blumenau, 2006.

KORN, Mauro; ANDRADE, Marta Valéria Almeida Santana de; BORGES, Sivanildo da Silva; **Procedimentos Analíticos por ultra-som**; Revista Analytica; nº 03, fevereiro 2003.

KRUVE, Anneli; Künnapas, Allan; Herodes, Koit; Leito, Ivo, **Matrix effects in pesticide multi-residue analysis by liquid chromatography-mass spectrometry**, Journal of Chromatography A, v.1187, p. 58-66, 2008.

LANÇAS, Fernando M. **Validação de métodos cromatográficos de análises** – São Carlos: RiMa, 2004.

LEE, B.; YI, J. **A statistical approach for determining the environmental impact of polynuclear aromatic hydrocarbons in an oil spill-contaminated coastal area**; Environmental Pollution, v. 105, p. 391-396, 1999.

LEITE, F. **Validação em Análise Química**. Campinas - SP, 4ª ed. Editora Átomo, 2002.

LEMOS, Gisele da Silveira; SANTOS, José Soares dos; SANTOS, Maria Lúcia Pires dos; **Validação de métodos para a determinação de 5-Hidroximetilfurfural em mel por cromatografia líquida e sua influência na qualidade do produto**; Química Nova, v. 33, n. 08, p. 1682-1685, 2010.

LI, Mei; CHEN, Hong; WANG, Bi-Fei; YANG, Xin; LIAN, Jin-Jun; CHEN, Jian-Min. **Direct quantification of PAHs in biomass burning aerosols by desorption electrospray ionization mass spectrometry**, International Journal of Mass Spectrometry, v. 281, p. 31-36, 2009.

LIU, Ying; CHEN, Ling; JIANFU, Zhao; QINGHUI, Huang, ZHILIANG, Zhu; HONGWEN, Gao; **Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of rivers and an estuary in Shanghai, China**; Environmental Pollution, v. 154, p. 298 – 305, 2008.

LIU, Ying; CHEN, Ling; ZHAO, Jianfu; WEI, Yanping; PAN, Zhaoyu; MENG, Xiang-Zhou; HUANG, Qinghui; LI, Weiying; **Polycyclic aromatic hydrocarbons in the surface soil of Shanghai, China: Concentrations, distribution and sources**; Organic Geochemistry, v. 41, p. 355–362, 2010.

LUQUE-GARCIA, J.L.; LUQUE DE CASTRO, M.D. **Ultrasound: a powerful tool for Leaching**; Trends in Analytical Chemistry, v. 22, n. 1, 2003

LUZ, Letícia G.; carreira, Renato S.; FARIAS, Cassia O.; SCOFIELD, Arthur de L.; NUDI, Adriana H.; WAGENER, Angela de L.R.; **Trends in PAH and black carbon source and abundance in a tropical mangrove system and possible association with bioavailability**; Organic Geochemistry, v. 41, p. 1146–1155, 2010.

MACENO, Marcell Mariano Corrêa; (Mestrado) **Avaliação da presença, toxicidade e da possível biomagnificação de HPAs**; Universidade Federal do Paraná, 2010.

MAIOLI, Otávio L. G.; Rodrigues, Kamila C.; Knoppers, Bastiaan A.; Azevedo, Débora A. **Distribution and Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Sediments from Two Brazilian Estuarine Systems**; Journal Brazilian Chemical Society, v. 21, n. 08, p. 1543-1551, 2010.

MENEZES FILHO, Adalberto; (Tese) **Desenvolvimento, validação e aplicação de metodologias para determinação de resíduos de agrotóxicos em manga por SPME-GC-MS e SPME-HPLC-UV-Vis**; Universidade Federal da Bahia, 2010.

MENICONI, Maria de Fátima Guadalupe; (Tese) **hidrocarbonetos policíclicos aromáticos no meio ambiente: diferenciação de fontes em sedimentos e metabólitos em bile de peixe**; Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN, 2007.

MEYERS, P. A. **Applications of organic geochemistry to paleolimnological reconstructions: a summary of examples from the Laurentian Great Lakes**, Organic Geochemistry, v. 34, p. 261–289, 2003.

MORA, Stephen de; TOLOSA, Imma; FOWLER, Scott W.; VILLENEUVE, Jean-Pierre; CASSI, Roberto; CATTINI, Chantal. **Distribution of petroleum hydrocarbons and organochlorinated contaminants in marine biota and coastal sediments from the ROPME Sea Area during 2005**. Marine Pollution Bulletin, v. 60, p. 2323–2349, 2010.

MOSTAFA, Alaa R; WADE, Terry L.; SWEET, Stephen T.; AL-ALIMI, Abdel Kawi A; BARAKAT, Assem O.; **Distribution and characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments of Hadhramout coastal area, Gulf of Aden, Yemen;** Journal of Marine Systems, v. 78, p. 1–8, 2009.

NEILSON, Alasdair H. - **PAHs and Related Compounds Chemistry**, 412p. 1998, Springer

NOAA. (1999). National Oceanic Atmospheric Administration. Screening quick Reference Tables – SquiRTs.. USA

ORECCHIO, Santino; MANNINO, Maria Rosaria. **Chemical speciation of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments: Partitioning and extraction of humic substances;** Marine Pollution Bulletin, v. 60, p. 1175-1181, 2010.

OUKEBDANEA, K.; KOLTALOA, F. Portet; MACHOURA, N.; DIONNETB, F.; DESBÈNEA, P.L.; **Comparison of hot Soxhlet and accelerated solvent extractions with microwave and supercritical fluid extractions for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and nitrated derivatives strongly adsorbed on soot collected inside a diesel particulate filter,** Talanta, v. 82, p. 227–236, 2010.

PASSOS, Elisangela de Andrade; ALVES, Jose do Patrocínio H; GARCIA, Carlos Alexandre B.; COSTA, Antonio C. Spinola - **Metal Fractionation in the Sediments of Sergipe River, Northeast, Brazil;** Journal Brazilian Chemical Society, v. 22, n. 5, p. 828-835, 2011.

PEREIRA NETTO, A.D.; Moreira, J.C., Dias, Ana Elisa X. O.; Arbilla, Graciela; Ferreira, Luiz Filipe V., Anabela S. Oliveira; Jiri, Barek. **Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAS),** uma revisão metodológica, 2000.

PERELO, Louisa Wessels; **Review: In situ and bioremediation of organic pollutants in aquatic sediments** - Journal of Hazardous Materials, v. 177, p. 81–89, 2010.

PERRA, Guido; POZO, Karla; GUERRANTI, Cristiana; LAZZERI, Denise; VOLPI, Valerio; CORSOLINI, Simonetta e FOCARDI, Silvano. **Levels and spatial distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in superficial sediment from 15 Italian marine protected areas (MPA)**. Marine Pollution Bulletin, v. 62, p. 874-877, 2011.

PRIEGO-CAPOTE, F.; LUQUE DE CASTRO, M.D. **Analytical uses of ultrasound I. Sample preparation**, Trends in Analytical Chemistry, v. 23, n. 9, 2004.

PINHO, Gevany P.; NEVES, Antônio A.; QUEIROZ, Maria Eliana L. R.; SILVÉRIO, Flaviano O.; **Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa**; Química Nova, v. 32, n. 4, p. 987-995, 2009.

PINHO, Gevany Paulino de; SILVÉRIO, Flaviano Oliveira; NEVES, Antônio Augusto; QUEIROZ, Maria Eliana L. R.; STARLING, Maria Antônia V. M.; **Influência dos constituintes químicos dos extratos de diferentes matrizes na resposta cromatográfica de agrotóxicos**; Química Nova, v. 33, n. 4, p. 909-913, 2010.

QIN, Yanwen; ZHENG, Binghui; LEI, Kun; LIN, Tian; HU, Limin; GUO, Zhigang; **Distribution and mass inventory of polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of the south Bohai Sea, China**; Marine Pollution Bulletin, v. 62, p. 371–376, 2011.

QUEIROZ, S. C. N.; FERRACINI, V. L.; SOUZA, D. R. C. de; **Métodos de extração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostra de solo, sedimento e lodo**. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, 2009.

QUINETE, Natalia Soares; (Dissertação) **Extração de Poluentes organoclorados persistentes em fragmentos remanescentes da Mata Atlântica, RJ: comparação de métodos**; Universidade Federal Fluminense, 2005.

REZAEI, Mohammad; YAMINI, Yadollah; MORADI, Morteza; SALEH, Abolfazl; FARAJI, Mohammad; NAEENI, Mohammad Hosein.; **Supercritical fluid extraction combined with dispersive liquid–liquid microextraction as a sensitive and efficient**

**sample preparation method for determination of organic compounds in solid samples.**

Journal of Supercritical Fluids, v. 55, p. 161–168, 2010.

RIBANI, Marcelo; BOTTOLI, Carla Beatriz Grespan; COLLINS, Carol H. Collins; JARDIM, Isabel Cristina Sales Fontes; MELO, Lúcio Flávio Costa; **VALIDAÇÃO EM MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS E ELETROFORÉTICOS**, Química Nova, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

SAARI, Eija; PERÄMÄKI, Paavo; JALONEN, Jorma; **Effect of sample matrix on the determination of total petroleum hydrocarbons (TPH) in soil by Chromatography-flame ionization detection**; Microchemical Journal, v. 87, p. 113-118, 2007.

SÀNCHEZ, F.J. Camino; GÒMEZ, Alberto Zafra; TRUJILLO, J.P. Pérez; GONZÁLEZ, J.E. Conde; MARQUES, J.C.; VILCHEZ, José Luis. **Validation of a GC–MS/MS method for simultaneous determination of 86 persistent organic pollutants in marine sediments by pressurized liquid extraction followed by stir bar sorptive extraction**. Chemosphere, v. 84, p. 869-881, 2011.

SANCHES FILHO, Pedro José; SOUSA, Eloisa Elena Hasse de; LUZ, Luiza Placidina da; BATEMPS, Glauco Rasmussen; KERSTNER, Talita; CAMARÃO, Elina Bastos. **Avaliação ambiental e estudo de qualitativo hidrocarbonetos poliaromáticos da região da Colônia Z-3 - Laguna dos Patos, Pelotas – RS**; Revista Thema, v. 7, n. 01, 2010.

SCHETTINI, Carlos A. F. **Caracterização Física do Estuário do Rio Itajaí-açú, SC**, Revista Brasileira de Recursos Hídricos, v. 7, n. 1, p. 123-142, 2002.

SILVA, Taís Freitas da; AZEVEDO, Débora de Almeida e NETO, Francisco Radler de Aquino. **Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Sediments and Waters from Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil**; Journal Brazilian Chemical Society, v. 18, n. 3, p. 628-637, 2007.

SILVA, Wanilson Luiz, et al. **Variabilidade espacial e sazonal da concentração de elementos-traço em sedimentos do sistema estuarino de Santos-Cubatão (SP)**, Química Nova, v.29, n. 2, p. 256-263, 2006.

SOCLO, H. H.; GARRIGUES, PH.; EWALD M. **Origin of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Coastal Marine Sediments: Case Studies in Cotonou (Benin) and Aquitaine (France) Areas**. Marine Pollution Bulletin, v. 40, n. 5, p. 387-396, 2000.

SONG, Y.F.; JING, X.; FLEISCHMANN, S.; WILKE, B.-M.. **Comparative study of extraction methods for the determination of PAHs from contaminated soils and sediments**, Chemosphere, v. 48, p. 993-1001, 2002.

STAREK, Małgorzata **Review of the applications of different analytical techniques for coxibs research** **In Press**, Accepted Manuscript Available online 28 April 2011

SUGUIO, Kenitiro; **Geologia sedimentar** São Paulo: Blucher, 2003; 400p

SUN, Fusheng; LITTLEJOHNB, David; GIBSON, Mark David; **Ultrasonication extraction and solid phase extraction clean-up for determination of US EPA 16 priority pollutant polycyclic aromatic hydrocarbons in soils by reversed-phase liquid chromatography with ultraviolet absorption detection**; Analytica Chimica Acta, v. 364, p. 1-11, 1998.

TAM, N.F.Y.; KE, L.; XANG, X.H.; WONG, Y.S. **Contamination of PAH in surface sediments of mangroves swamps**; Environmental Pollution, v. 114, p. 255-263, 2001.

TANIGUCHI, Satie; (Tese) **Avaliação da contaminação por hidrocarboneto e organoclorados em diferentes compartimentos do ambiente marinho do Estado do Rio de Janeiro**; 160P; São Paulo 2002.

TAROZO, Rafael; FRENA, Morgan; MADUREIRA, Luiz Augusto S; **Geochemical Markers as a Tool to Assess Sedimentary Organic Matter Sources of the Laguna Estuarine System, South Brazil: Aliphatic and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons;** Journal Brazilian Chemical Society, v. 21, n. 12, p. 2308-2318, 2010.

TORRE, Camilla Della; CORSI, Ilaria; NARDI, Francesco; PERRA, Guido; TOMASINO, Maria Paola; FOCARDI, Silvano. **Transcriptional and post-transcriptional response of drug-metabolizing enzymes to PAHs contamination in red mullet (*Mullus barbatus*, Linnaeus, 1758): A field study,** Marine Environmental Research, v. 70, p. 95-101, 2010.

USEPA - **Method 8270D Semivolatile organic compounds by gas chromatography – mass spectrometry (GC/MS), January, 1998.**

USEPA- **Soxhlet extraction – Method 3540C,** 1996. Disponível em: <http://www.epa.gov>. Acessado em 10 de dezembro de 2010.

VEIGA, Isa Guimarães; (Dissertação de mestrado): **Avaliação da origem dos hidrocarbonetos em sedimentos superficiais de manguezais da região norte da Baía de Todos os Santos, Bahia;** Macaé –RJ, 2003

WAGENER, Angela; HAMACHER, Claudia; FARIAS, Cassia; GODOY, Jose Marcus; SCOFIELD, Arthur; **Evaluation of tools to identify hydrocarbon sources in recent and historical sediments of a tropical bay,** Marine Chemistry, v. 121, p. 67–79, 2010.

WANG, Jian-Hua; GUO, Cui - **Ultrasonication extraction and gel permeation chromatography clean-up for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oil by an isotope dilution gas chromatography–mass spectrometry -** Journal of Chromatography A, v. 1217, p. 4732-4737, 2010.

WANG, Wentao; MENG, Bingjun; LU, Xiaoxia; LIU, Yu; TAO, Shu; **Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides from soils: A comparison between Soxhlet extraction, microwave-assisted extraction and accelerated solvent extraction techniques,** Analytica Chimica Acta, v. 602, p. 211–222, 2007.

WANG, Hong-Sheng; LIANG, Peng; KANG, Yuan; SHAO, Ding-Ding; ZHENG, Gene J.; WU, Sheng-Chun; WONG, Chris K.C.; WONG, Ming H.; **Enrichment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in mariculture sediments of Hong Kong**, *Environmental Pollution*, v. 158, p. 3298-3308, 2010.

WU, Yucheng; Teng, Ying; Li, Zhengoa; Liao, Xuwei; Luo, Yongming, **Potential role of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) oxidation by fungal laccase in the remediation of an aged contaminated soil**, *Soil Biology & Biochemistry*, v. 40, p.789-796, 2008.

YAN, Wen; CHI, Jisong; WANG, Zhiyuan; HUANG, Weixia; ZHANG, Gan; **Spatial and temporal distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments from Daya Bay, South China**; *Environmental Pollution*, v. 157, p. 1823–1830, 2009.

YIM, U.H.; HONG, S.H.; SHIM, W.J. **Distribution and characteristics of PAHs in sediments from the marine environment of Korea**, *Chemosphere*, v. 68, p. 85–92, 2007.

YUNKER, Mark B.; MACDONALD, Robie W.; VINGARZAN, Roxanne; MITCHELL, Reginald H.; GOYETTE, Darcy; SYLVESTRE, Stephanie; **PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition**; *Organic Geochemistry*, v. 33, p. 489–515, 2002.

ZHENG, Wendi; LICHWA, Joseph; YAN, Tao. **Impact of different land uses on polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in coastal stream sediments**, *Chemosphere*, v. 84, p. 376–382, 2011.

## **ANEXOS**

**ANEXO I:** Pontos de amostragem do estuário do Rio Sergipe



Estuário do rio Sergipe, ponto de amostragem 1



Estuário do rio Sergipe, ponto de amostragem 2



Estuário do rio Sergipe, ponto de amostragem 3



Estuário do rio Sergipe, ponto de amostragem 4



Estuário do rio Sergipe, ponto de amostragem 5



Estuário do rio Sergipe, ponto de amostragem 6



Estuário do rio Sergipe, ponto de amostragem 7



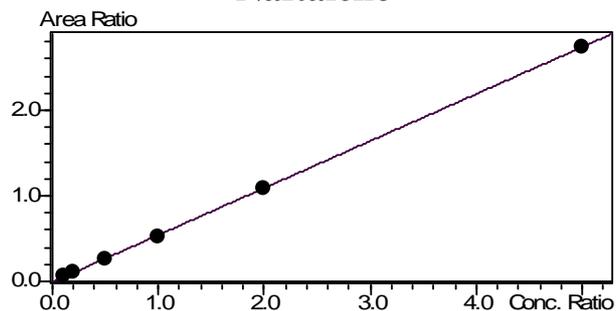
Estuário do rio Sergipe, ponto de amostragem 8



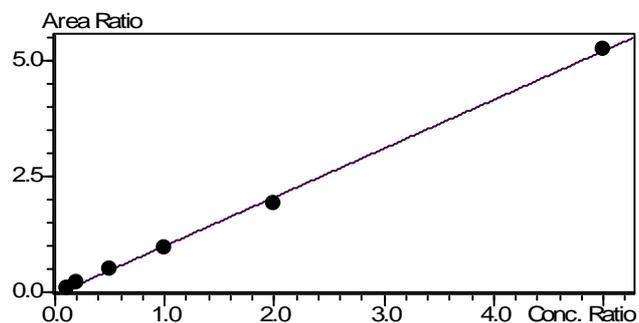
Estuário do rio Sergipe, ponto de amostragem 9

## ANEXO II. Curvas analíticas dos HPAs estudados

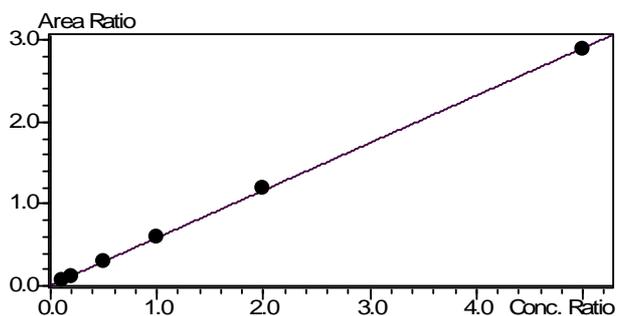
### Naftaleno



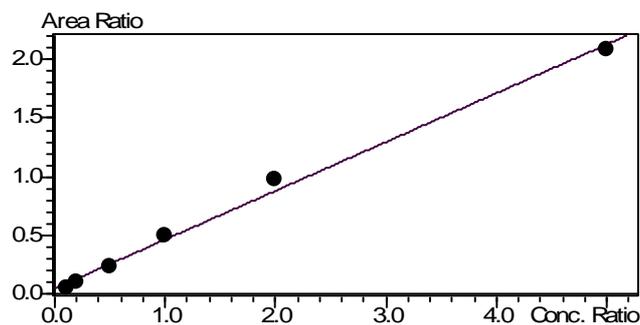
### Acenaftileno



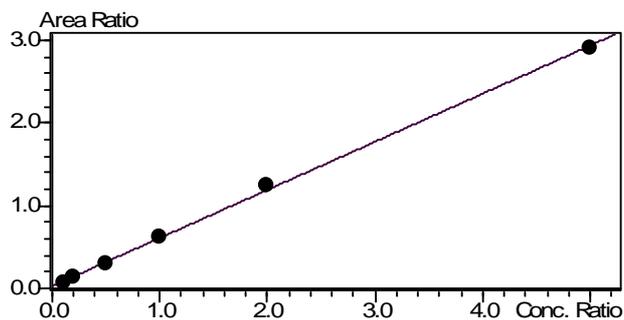
### Acenafteno



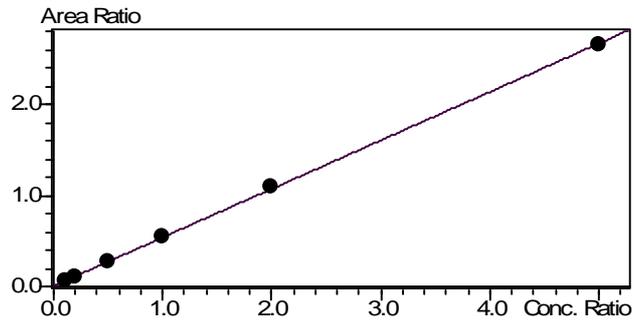
### Fluoreno



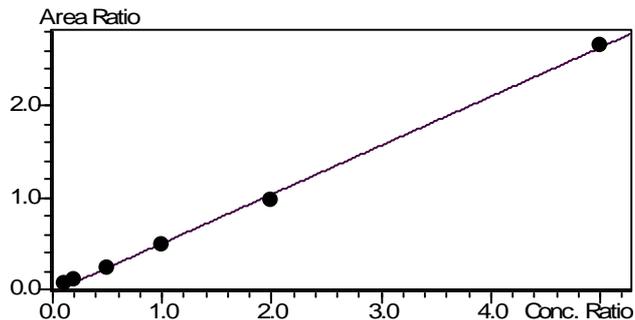
### Fenantreno



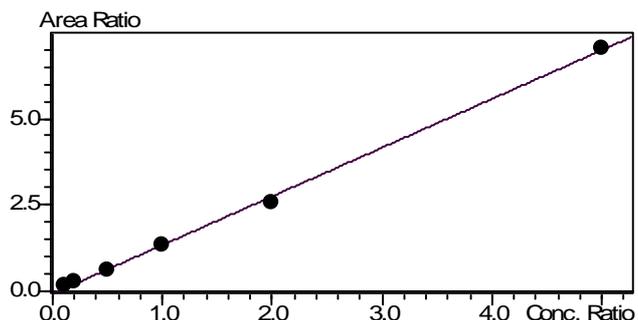
### Antraceno



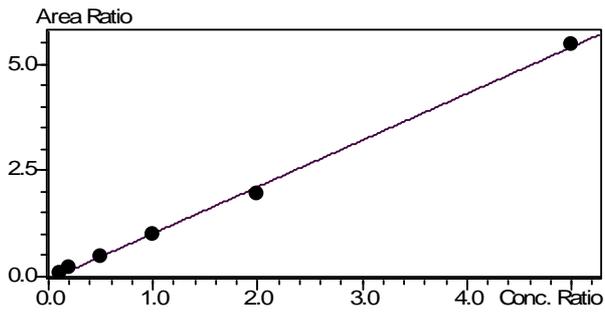
### Fluoranteno



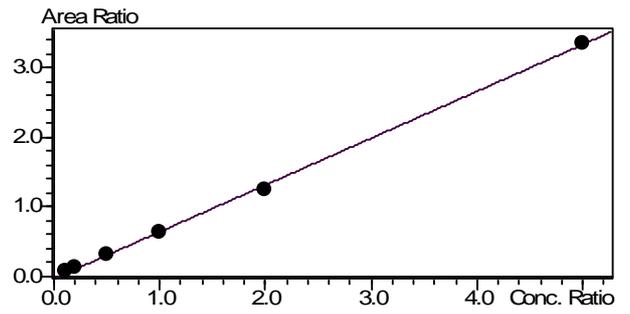
### Pireno



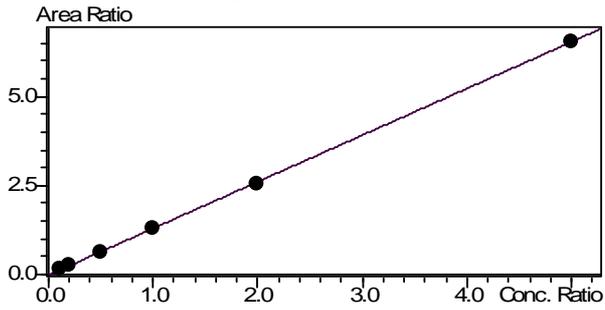
**Benzo[a]Antraceno**



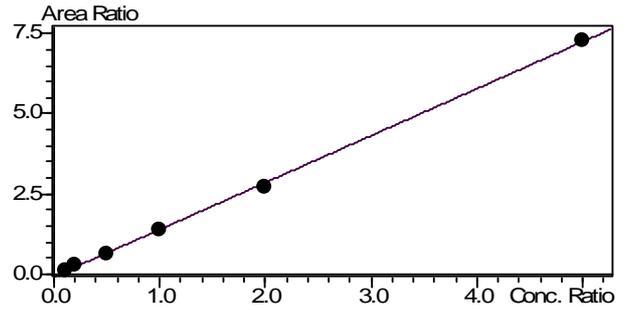
**Criseno**



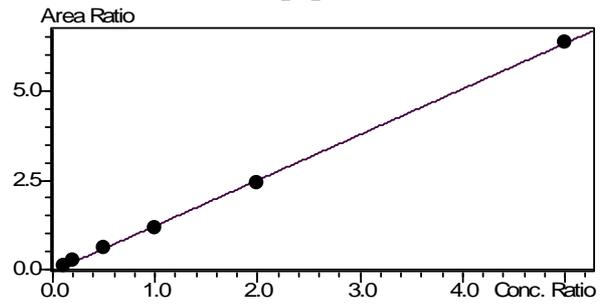
**Benzo[b]Fluoranteno**



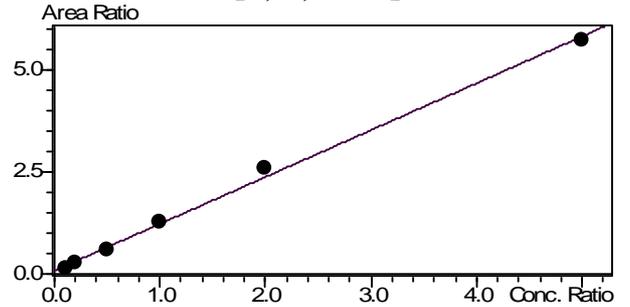
**Benzo[k]Fluoranteno**



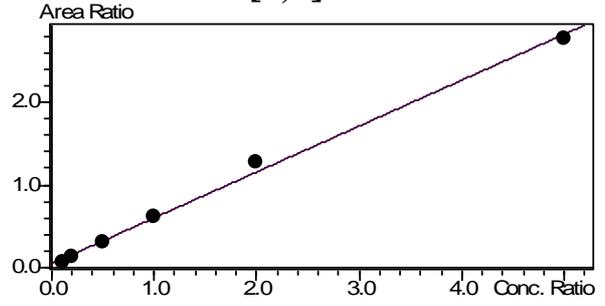
**Benzo[a]Pireno**



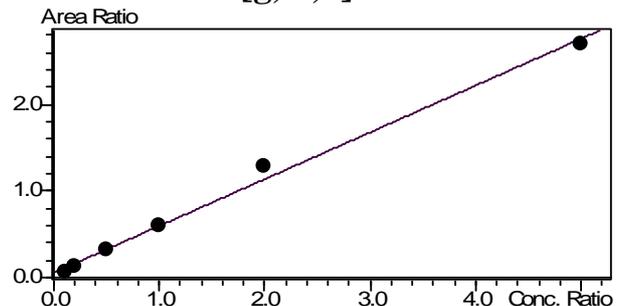
**Indeno[1, 2, 3-cd]Pireno**



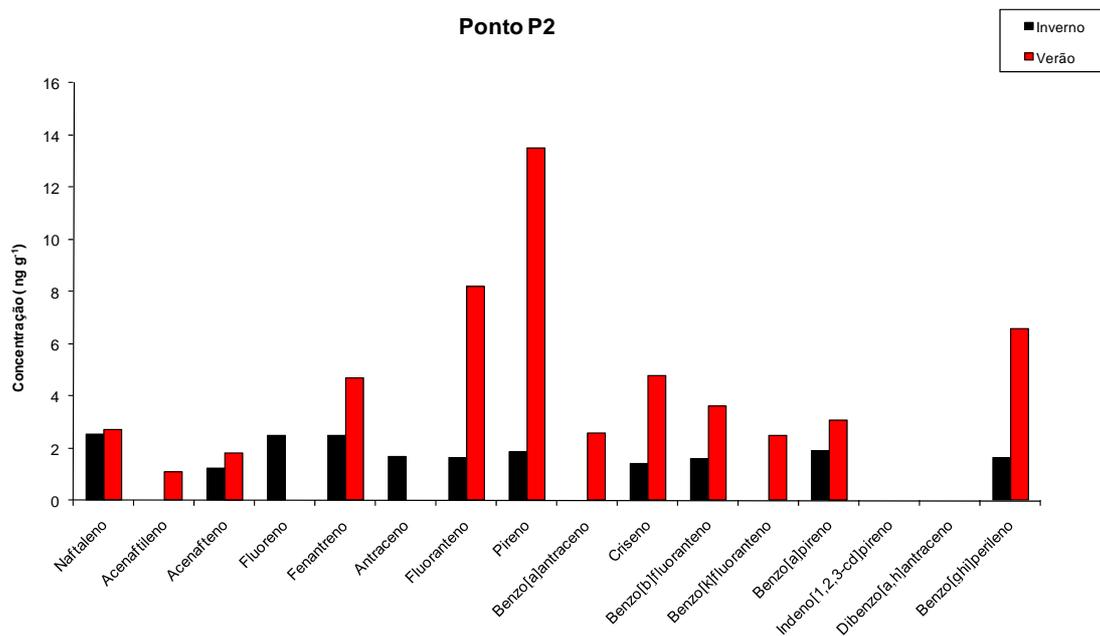
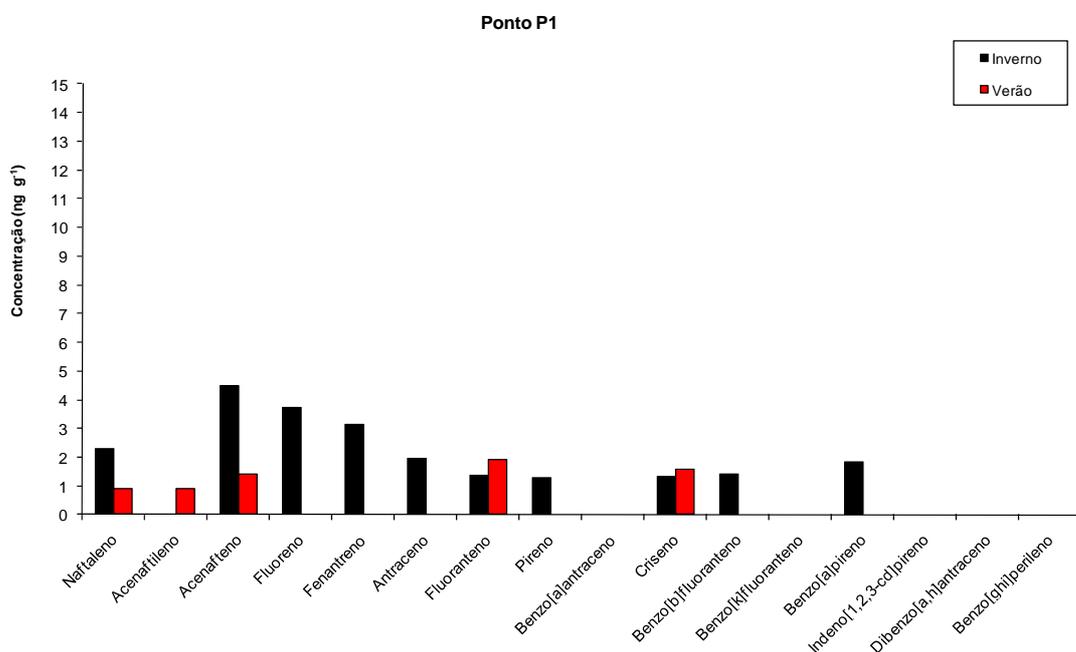
**Dibenzo[a,h]Antraceno**

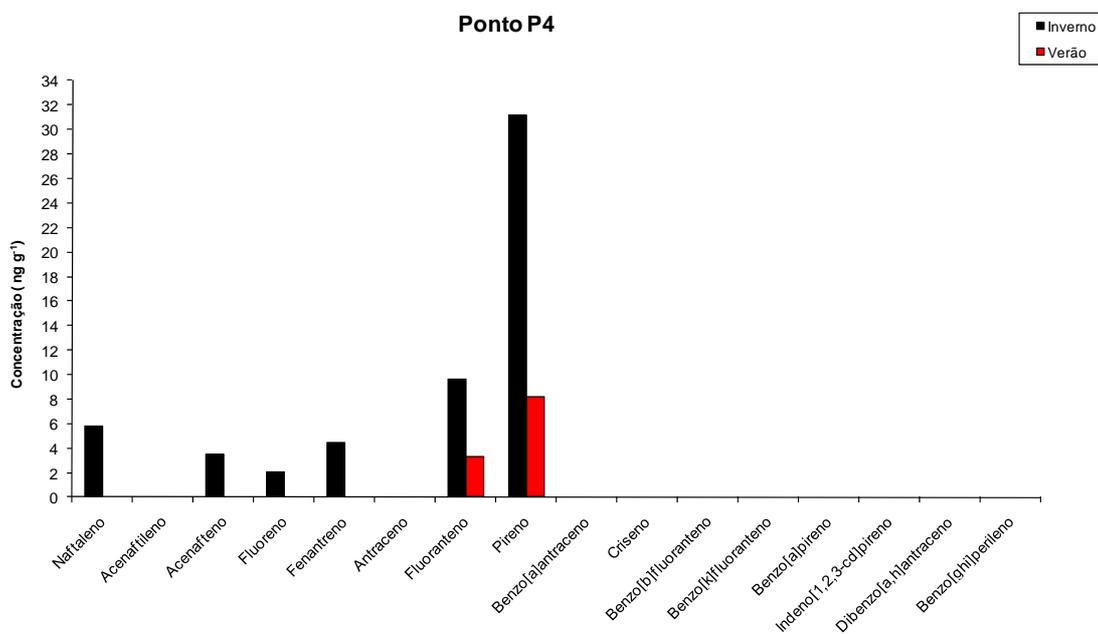
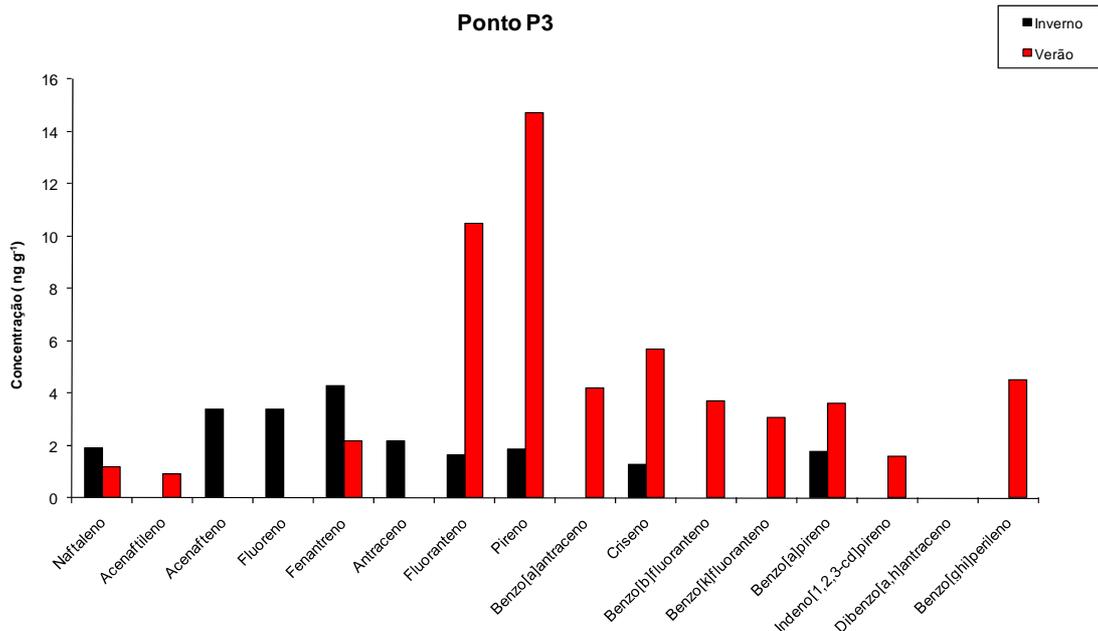


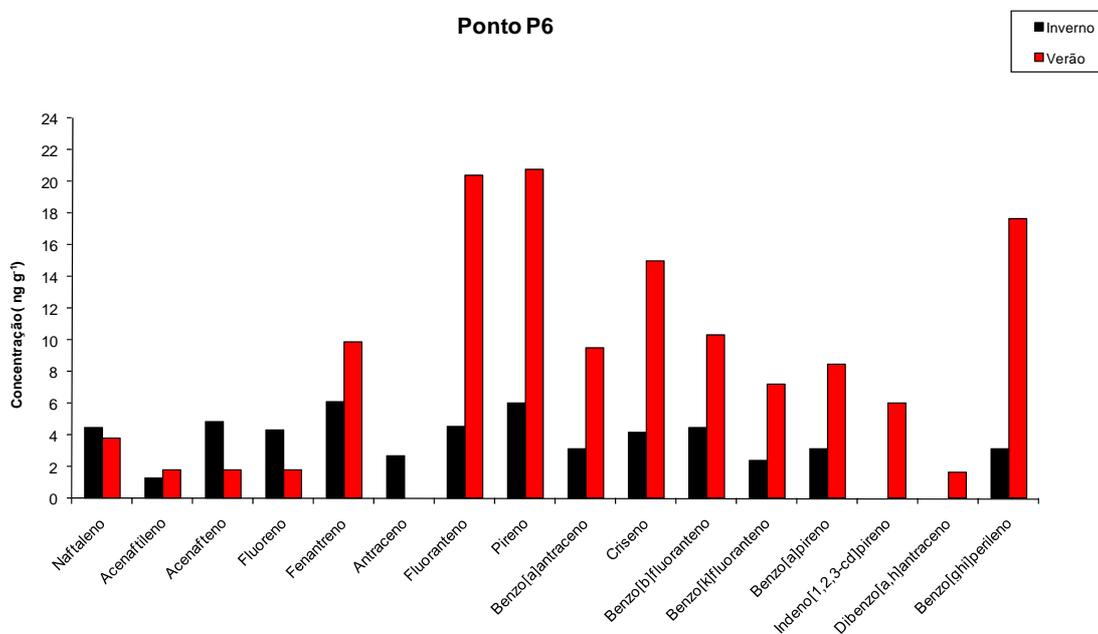
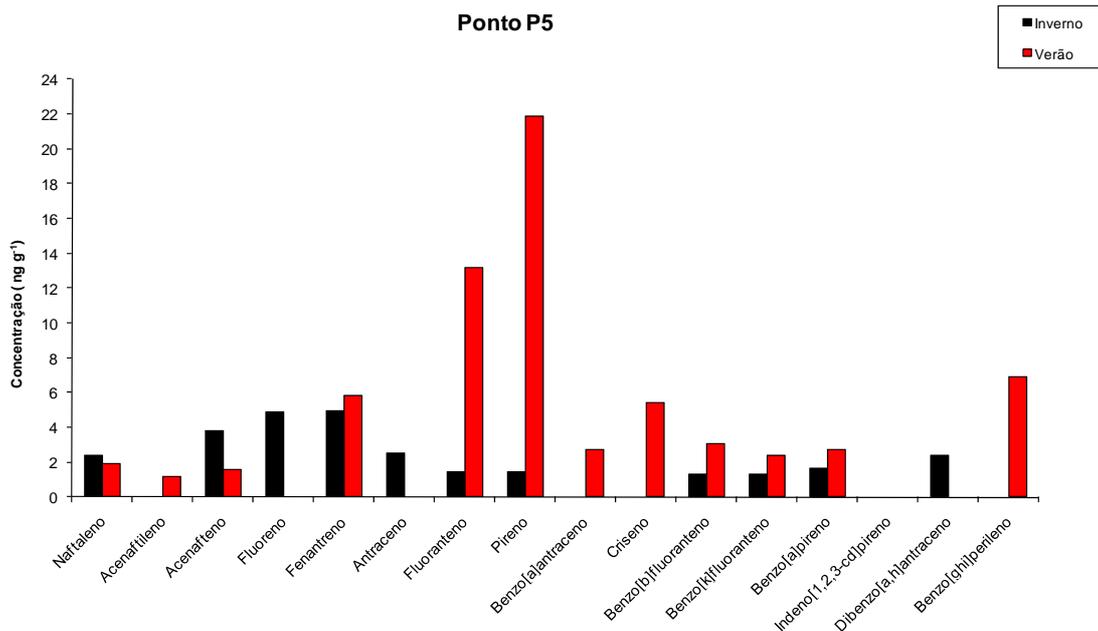
**Benzo[g, h, i]Perileno**



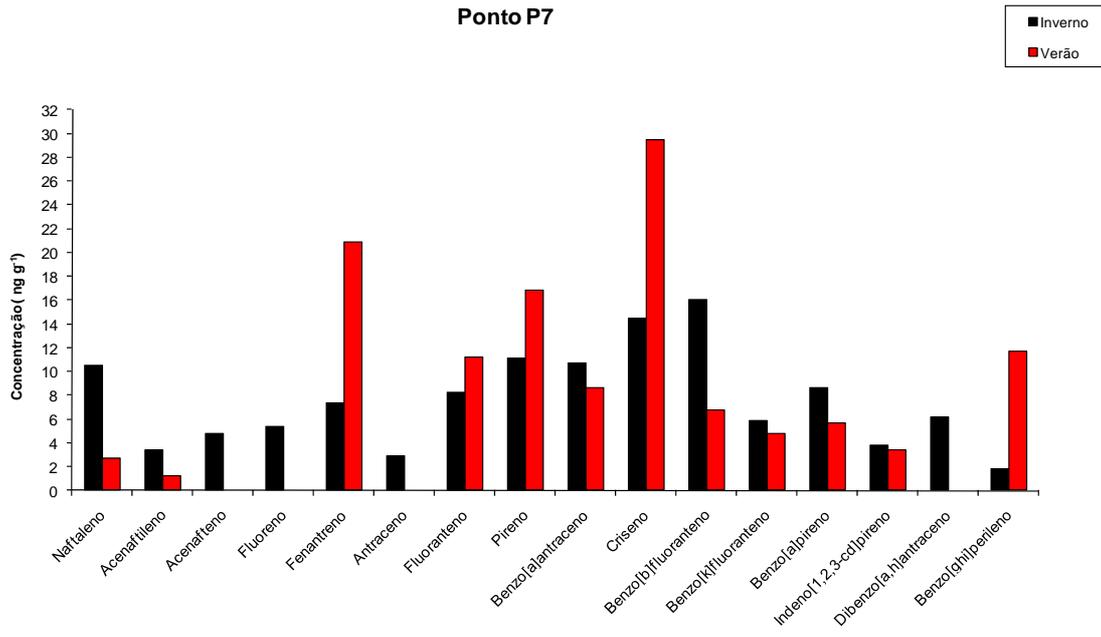
### ANEXO III. Perfil dos HPAs em amostra de sedimento.



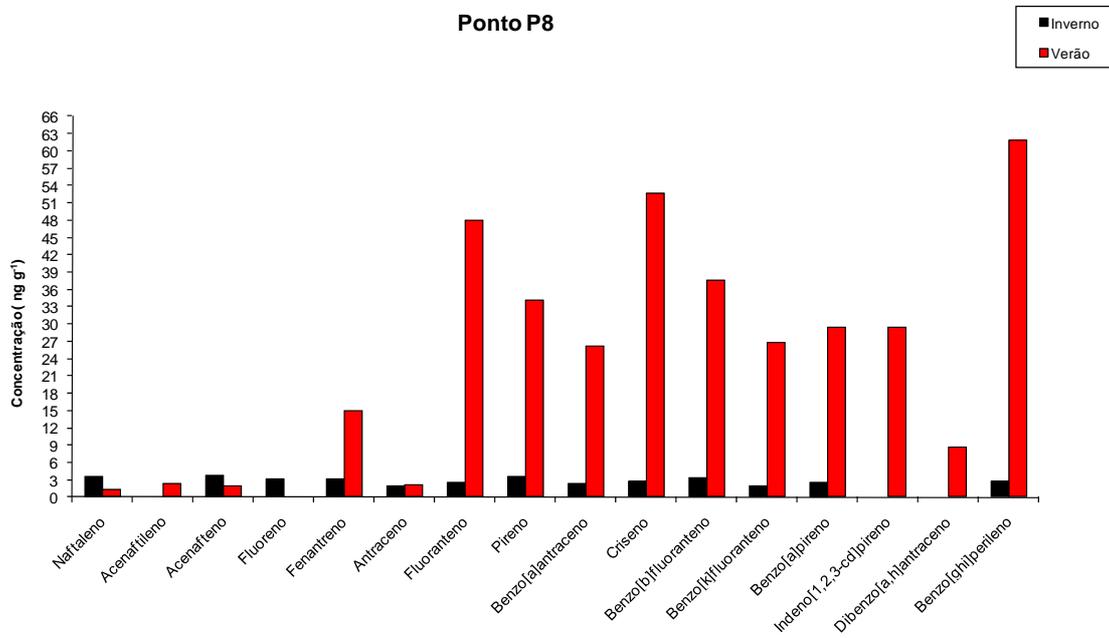




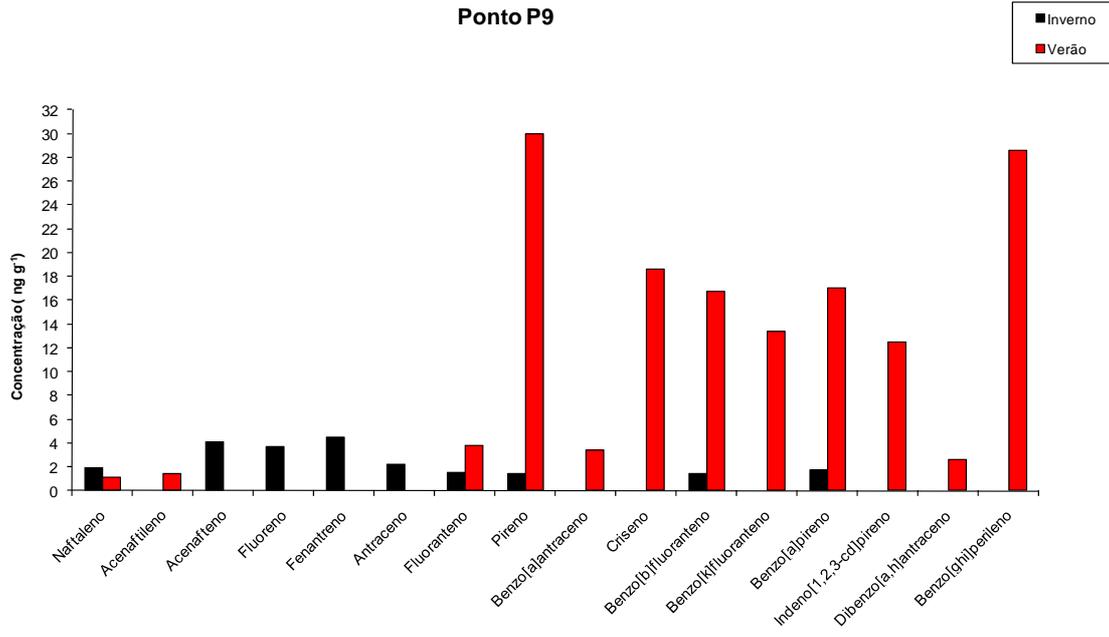
### Ponto P7



### Ponto P8



### Ponto P9



## ANEXO IV. Gráficos de Pareto para os 16 HPAs

